

Oligosaccharide und ihre Wechselwirkung mit Calciumionen –
Computerchemie von Biofilmkomponenten

Von der
Fakultät für Naturwissenschaften
der
Universität Duisburg-Essen
(Standort Duisburg)

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)
genehmigte Dissertation
von

Nicole Richter

aus
Duisburg

Referent: Prof. V. Buß

Korreferent: Prof. C. Mayer

Datum der Einreichung: 11.03.2004

Tag der mündlichen Prüfung: 30.06.2004

Diese Arbeit ist in Dankbarkeit meinen Eltern gewidmet, die mich während meines gesamten Studiums nicht nur finanziell, sondern auch moralisch unterstützt haben.

Für Christian

Words and Music by Jay Althouse – „Coming home“

I have traveled sea and mountain. Distant pathways I did roam.

Now it's time, my friend, for journey's end. I am coming home.

For my wand'ring now has ended. So, goodbye, farewell, shalom.

Now, at last I've found to you I'm bound, I am coming home.

Coming home to see you again. Coming home to you.

With the stars as my guide, I'll be there at your side. I am coming home.

When the tides are calm and gentle, when the sea is mist and foam,

then I think of you with love so true. I am coming home.

Coming home to see you again. Coming home to you.

With the stars as my guide, I'll be there at your side. I am coming home.

I have traveled sea and mountain. Distant pathways I did roam. Now it's time, my friend, for journey's end. I am coming home.

Bei meiner Schwester Babsi, meinem Schwager Michael und meinen beiden Neffen
Patrick und Mathias möchte ich mich für die immer offen stehende Tür,
für's Zuhören, Diskutieren und Streiten bedanken.

Mein Dank gilt besonders Herrn Prof. Ph.D. V. Buß für die interessante Themenstellung und die Freiheiten, die ich während meiner Arbeit genießen konnte. Ganz besonders möchte ich mich bei ihm für den Aufenthalt am OCWD („Orange County Water District“) Institut bei Herrn H. Ridgeway in Fountain Valley, Kalifornien bedanken, der in jeglicher Hinsicht meinen Horizont erweitert hat.

Des weiteren möchte ich den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe, J. Hufen, R. Knierim, K. Kolster, D. Richter, M. Schreiber, H. Sekels und O. Weingart, für das immer freundliche und hilfsbereite Arbeitsklima danken.

Dabei gilt mein besonderer Dank Oliver Weingart für seine herausragende Hilfsbereitschaft und Robert Knierim für zahlreiche aufmunternde Gespräche.

Herrn Prof. C. Mayer danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferats und interessante wissenschaftliche Gespräche.

Herrn Dr. H. Kuhn möchte ich danken, dass er mir die Möglichkeit gegeben hat die Computersoftware und Hardwareresourcen der Universität Essen zu nutzen sowie für den Kontakt zur Degussa Goldschmidt AG.

Den Mitarbeitern der Abteilung Homecare der Degussa Goldschmidt AG, Herrn Dr. F. Müller, W. Hilmes, U. Kuth, J. Peggau, V. Schlicht, H. Schramm und P. Winter, danke ich für die freundliche Aufnahme in ihren Kreis und kollegiale Offenheit.

An dieser Stelle möchte ich auch Herrn Prof. Rehage danken, der mich während der letzten zwei Jahre finanziell unterstützt hat und seiner gesamten Arbeitsgruppe für das freundliche Arbeitsklima.

„Oligosaccharide und ihre Wechselwirkung mit zweiwertigen Ionen –
Computerchemie von Biofilmkomponenten

1	Einleitung und Zielsetzung	1
2	Biofilme	4
2.1	Definition, Vorkommen und Bedeutung	4
2.2	Aufbau und Zusammensetzung	6
2.3	Stand der Forschung	15
3	Stereochemie der Kohlenhydrate	17
4	Methodischer Teil	24
4.1	Quantenmechanische Grundlagen der Molekültheorie	24
4.1.1	Schrödinger-Gleichung	24
4.1.2	Born-Oppenheimer-Näherung	26
4.1.3	LCAO-MO-Ansatz	27
4.1.4	ab initio-Methoden	30
4.1.4.1	Hartree-Fock-/Self Consistent Field Methoden	30
4.1.4.2	Dichtefunktionaltheorie	31
4.1.5	Semi-empirische Methoden	33
4.2	Kraftfeld-Methoden	35
4.2.1	Einleitung	35
4.2.2	Grundlagen	36
4.2.3	Energierterme	37
4.2.3.1	Bindungslängen	38
4.2.3.2	Bindungswinkel	41
4.2.3.3	„Out-of-plane-Deformierung“	43
4.2.3.4	Torsionswinkel	44
4.2.3.5	Nicht bindende Wechselwirkungen	47
4.2.3.6	Kreuzterme	50
4.2.4	Klassifizierung der Kraftfelder	51
4.2.4.1	„Class I“- und „Class II“- Kraftfelder	51
4.2.4.2	Rule-based Kraftfelder	53
4.2.4.3	Klassische Kraftfelder	54

4.2.4.4	Kraftfelder für spezielle Zwecke	54
4.2.5	Ausgewählte Kraftfelder	55
4.2.5.1	CVFF-Kraftfeld	55
4.2.5.2	CFF-Kraftfeldfamilien	58
4.2.5.3	ESFF-Kraftfeld	60
4.2.5.4	Amber-Kraftfeld	63
4.2.5.5	MM2-Kraftfeld	65
4.2.6	Anwendungen	67
4.2.6.1	Molekülmechanik	67
4.2.6.1.1	Steepest Descent-Methode	67
4.2.6.1.2	Conjugate Gradient-Methode	69
4.2.6.1.3	Newton-Raphson-Methode	70
4.2.6.2	Moleküldynamik	71
4.2.7	Beurteilung der Kraftfeldmethode	77
4.3	QM/MM-Methoden	78
5	Vorgehensweise	82
6	Ergebnisse	84
6.1	Monosaccharide	84
6.2	Disaccharide	97
6.3	Oligosaccharide	101
6.4	Hexamere Zucker	106
6.4.1	M ₆ -Hexamer	107
6.4.2	G ₆ -Hexamer	108
6.4.3	(MG) ₃ -Hexamer	109
6.5	Komplexe mit Calciumionen	112
6.5.1	Calciumalginat	112
6.5.2	Dimere mit einem Calciumion	114
6.5.3	Zwei Hexamere mit einem Calciumion	116
6.5.3.1	Vakuumsdynamik	116
6.5.3.2	Wasserdynamik	121
6.5.3.3	Vergleich der Vakuums- und Wasserdynamik	128
6.5.4	Zwei Hexamere mit drei Calciumionen	131
6.5.4.1	Wasserdynamik	131
6.5.5	Vergleich der Calciumkomplexe mit dem Egg-Box-Modell	138

7	Zusammenfassung	143
8	Literaturverzeichnis	146
9	Anhang	155
	9.1 Verwendete Hard- und Software	161
10	Lebenslauf	162

1 Einleitung und Zielsetzung

Biofilme sind in unserem Leben allgegenwärtig. Man kennt sie z. B. als glitschige Schicht auf Steinen in Bächen oder als übelriechenden Belag in Blumenvasen [1].

Sie entstehen bei der Anlagerung von Mikroorganismen auf nahezu allen Oberflächen, an denen sie schleimartige Filme ausbilden können [2]. Lediglich einen geringen Prozentanteil der Mikroorganismen findet man dann in suspendierter Form im Wasser [3].

Die besonderen Eigenschaften der Biofilme liegen in ihrer enormen Stabilität, z. B. als Plaque auf unseren Zähnen, aber auch ihr Wasserbindungsvermögen ist bemerkenswert, schliesslich bestehen Biofilme bis zu 95 % aus Wasser [4]. Diese und andere Eigenschaften (Organisation zu Mikrokonsortien) beeinflussen viele natürliche und technische Prozesse. In der Natur sind die Biofilme z. B. für den Abbau pflanzlicher und tierischer Biomasse verantwortlich. Sie nehmen in globalem Umfang am Kreislauf aller wichtigen Elemente teil und sind u. a. Träger der Selbstreinigungskraft von Böden und Sedimenten [3, 5, 8]. Biofilme werden technisch vielfältig genutzt, z. B. bei der Reinigung von Abwässern und der Aufbereitung vom Trinkwasser, wo man sogenannte „Biofilm-Reaktoren“ benutzt. Hierbei entziehen immobilisierte Mikroorganismen der Wasserphase abbaubare Stoffe, benutzen diese zum Wachstum und Stoffwechsel und akkumulieren diese lokal [6].

Biofilme können aber auch unerwünschte Konsequenzen haben, wenn sie sich beispielsweise auf Oberflächen technischer Anlagen absetzen und nur schwer zu entfernen sind, ein Effekt, der unter dem Begriff „Biofouling“ zusammengefasst wird [5, 6, 7]. In Trink- und Reinwassersystemen kann ein unerwünschter Biofilm zur Kontamination des Wassers mit Mikroorganismen führen, aber auch in Wärmetauscher-systemen, an Separationsmembranen, in Rohrleitungen und auf Schiffsböden können Biofilme sich durch unerwünschte Nebeneffekte bemerkbar machen [6]. Biofilme können sogar Flächen, die sie besiedeln, angreifen und teilweise abbauen; dies wird als „Biokorrosion“ oder mikrobiell induzierte Korrosion (MIC) bezeichnet [7]. Darunter fallen z. B. Metallkorrosion oder auch die Verwitterung von Gestein und Baumaterial. Biokorrosion kann zu hohen Schäden und Kosten

führen und man ist bemüht, unerwünschte Biofilme zu beseitigen oder, soweit es möglich ist, zu vermeiden.

Das Interesse an Biofilmen mit ihren nützlichen, aber auch unerwünschten Eigenschaften hat in den letzten Jahren stark zugenommen. In der Forschung gilt das Hauptaugenmerk einem *Pseudomonas aeruginosa*-Stamm, der in vielen Arbeitsgruppen hinsichtlich seiner Stabilität, Heterogenität, der Wechselwirkung mit Ionen und Farbstoffmolekülen, seines Wasserbindungsvermögens und seiner bis heute noch nicht im letzten aufgeklärten Struktur untersucht wird [155-157].

Gegenstand dieser Arbeit ist die Untersuchung einer bestimmten Komponente des *Pseudomonas aeruginosa*-Stammes, und zwar der Polysaccharide bzw. Oligosaccharide, sowie deren Wechselwirkung mit Calciumionen. Ziel der Untersuchung ist es, die Struktur und die besondere Stabilität dieser Komplexe, die möglicherweise durch die Bindung von Ionen hervorgerufen wird, zu verstehen.

Die vorliegende Studie konzentriert sich vornehmlich auf die Polysaccharide von Bakterialginaten, die sich von der β -D-Mannuronsäure (M) und α -L-Guluronsäure (G) ableiten. Der methodische Ansatz, auf den die Untersuchungen aufbauen, sind klassische Kraftfeldmethoden, mit denen die Monosaccharide und verschiedene Oligomere charakterisiert und analysiert werden.

Zur Validierung der Kraftfeldmethoden werden quantenmechanische Methoden eingesetzt, und zwar in Form der Dichtefunktionaltheorie mit dem B3LYP-Austauschfunktional, die wegen ihrer Schnelligkeit bei kleinen Molekülen vielfältige Anwendung findet. An die Untersuchung der Monosaccharide schließen sich vier verschiedene dimere Kombinationen an, die aus den beiden Monosacchariden M und G gebildet werden. Die Wechselwirkung dieser Dimeren mit Calciumionen in verschiedenen Komplexgeometrien wird mit Kraftfeldmethoden und quantenmechanischen Methoden analysiert.

Bakterialginatate können mit Calciumionen ein dreidimensionales Netzwerk in Form eines recht starren Gels ausbilden. Hierbei geht man davon aus, dass die Calciumionen als Netzwerkpunkte eine herausragende Rolle besitzen und dieses Netzwerk stabilisieren. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit ist es daher, auf Grundlage theoretischer Berechnungen Modelle zu entwickeln, wie Metallionen mit dimeren oder größeren

Bausteinen der Bakterienalginate und Oligosaccharide wechselwirken können und wie sie die Vernetzung der Ketten bewerkstelligen.

Hierzu werden hexamere Zucker (Oligosaccharide) mit Calciumionen als Modellverbindungen in einer Umgebung aus Wassermolekülen berechnet. Wegen der enormen Anzahl der Atome in einem solchen System können quantenmechanische Methoden zur Berechnung nicht mehr herangezogen werden. Hier ist man auf Kraftfeldmethoden mit anschließender Moleküldynamik angewiesen. Mit diesen Berechnungen kann man die zeitliche Entwicklung der zu untersuchenden Systeme verfolgen.

Vorrangig ist dabei die Untersuchung der Stabilität der Komplexe und die Struktur der Verknüpfungspunkte in einer wässrigen Umgebung. Dabei wird auch das in der Literatur viel diskutierte sogenannte „Egg-Box-Modell“ aus Poly- α -L-Guluronat und Calciumionen, das ein besonders stabiles Gel ausbilden soll, berücksichtigt.

2 Biofilme

2.1 Definition, Vorkommen und Bedeutung

Unter dem Begriff „Biofilm“ werden Mikroorganismen, die sich in einer organischen Matrix mikrobieller Herkunft befinden, zusammengefasst. Sie lagern sich an einer Grenzfläche an und bilden Aggregate aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) aus [8]. Man findet sie in Form von Schleimen, Flocken, Filmen und Schwämmen. Da fast alle Mikroorganismen in solchen Aggregaten zusammenleben, gibt es kaum Oberflächen, an denen sich keine Biofilme bilden [97]. Problematisch, und mit besonders hohen Kosten verbunden, ist dies im industriellen Bereich, wenn sich Biofilme in Rohrwandungen technischer Anlagen, z. B. in Wasserwerken, absetzen (Biofouling), oder diese sogar angreifen (Biokorrosion).

Seit geraumer Zeit versucht man, die Ursachen des Biofoulings und der Biokorrosion zu verstehen und Maßnahmen dagegen zu ergreifen. Dabei spielt der analytische Nachweis von Biofilmen eine herausragende Rolle. Wird ein Biofilm detektiert, kann er beseitigt und weiteres Wachstum verhindert werden.

Der Nachweis von Biofilmen ist nicht einfach, denn meistens werden Wasserproben genommen, die periodisch wiederkehrende erhöhte Koloniezahlen und relevante Keime im Wasser erkennen lassen [9]. Ursache dieses Problems ist, dass Biofilme das Wasser nicht kontinuierlich, sondern stoßweise kontaminieren. Teilweise lösen sich einzelne Zellen, es können sich aber auch größere Biofilmreste ablösen. Anhand der Wasserproben ist es daher nicht möglich, eine Aussage über den Ort oder die Größe des Biofilms zu treffen. In technischen Anlagen kann man die Kontamination mit Biofilmen also nur indirekt über Betriebsparameter identifizieren. Nimmt z. B. bei Wärmetauschern der Wirkungsgrad ab und der Wärmeübergangswiderstand zu, oder findet man Ablagerungen mineralischer Bestandteile im Rohwasser, dann liegt die Vermutung nahe, dass es sich hierbei um einen Biofilm als Störfaktor handeln könnte. Um diesen zu beseitigen, muss man ihn vollständig entfernen, denn ihn lediglich abzutöten bzw. das System zu desinfizieren ist nahezu unmöglich. Zum einen bieten tote Biofilme Aufwuchsfläche und Nahrung für nachfolgende Keime, zum anderen kann eine Anlage auf Dauer nicht steril gehalten werden. So liegt in allen unsterilen Systemen immer ein mehr oder weniger dünner Biofilm vor. Abhilfe schafft nur die Einhaltung einer „technischen Hygiene“, d. h. regelmäßige

mechanische Reinigung, Überwachung des Systems auf Biofilme und Verringerung des Nährstoffangebots [5].

Nicht nur bei der industriellen Anwendung, sondern auch im Bereich der Medizintechnik nehmen Biofilme eine bedeutende Rolle ein. Biofilme können sich im menschlichen Körper anlagern und Infektionen verursachen. So wird z. B. die chronische Lungenentzündung Mukoviszidose durch Biofilme hervorgerufen. Auslöser ist in den meisten Fällen ein *Pseudomonas aeruginosa*-Stamm, der sich in der Lunge festgesetzt hat. Aber auch auf Kontaktlinsen lagern sich Biofilme ab, wenn die Reinigungslösung mit Keimen kontaminiert ist. Liegen Verletzungen am Auge vor, kann dies sogar zu Hornhautentzündungen führen [1]. Um solchen Infektionen entgegenzuwirken, müsste man die Adhäsion des *Pseudomonas aeruginosa*-Stammes an der Oberfläche vermeiden. In vielen Labors wird deshalb nach Substanzen gesucht, die dieses Anheften verhindern oder erschweren.

Problematisch ist die Anlagerung eines Biofilms auf Kathetern, die z. B. bei der Bauchfell-Dialyse und bei künstlichen Herzen Einsatz finden. Auch hier setzen sich Keime auf dem Katheter ab und bilden einen schleimartigen Biofilm, der gefährliche Infektionen hervorrufen kann [10]. Die Bekämpfung mit Antibiotika und Desinfektionsmitteln ist hier nicht möglich, da nur einzelne Bakterienstämme damit abgetötet werden können. Der *Pseudomonas aeruginosa*-Stamm hingegen bildet stabile Mikrokonsortien aus, die resistent gegenüber Desinfektionsmitteln sind, sie sogar teilweise abbauen können.

Um dieses Problem zu lösen, wurde eine Methode entwickelt, bei der eine Silikonkautschuk-Manschette als Infektionsschutz zwischen Katheter und Körper fungiert [10]. Flüssiger Kautschuk wird hierbei durch ein Röhrchen entlang dem Katheter ins Körperinnere eingeleitet. Dort lagert er sich wie ein Mantel um den Katheter und bildet einen elastischen Schlauch. Füllt man flüssigen Kautschuk nach, schiebt sich die Manschette von innen weiter nach außen. So werden Keime, die an der Durchtrittsstelle des Katheters in die Haut gelangen, nach außen geschoben und sterben wegen Nährstoffmangels an der Luft ab.

Neben Biofilmen mit unerwünschten Eigenschaften gibt es aber auch Fälle, in denen Biofilme positive Wirkungen entfalten. Da die Mikroorganismen sich in Form von Aggregaten zusammenlagern, können sie toxische Substanzen schnell abbauen [11]. Diese Eigenschaft findet bei der Wasseraufbereitung und Abwasserreinigung große Anwendung. Bei der Trinkwasseraufbereitung benutzt man den Biofilm als sogenannten „biologischen Rasen“ auf Filtermaterialien [3].

Ein weiterer Vorteil liegt in der hohen Stabilität von Biofilmen, so dass sie als Bioreaktoren Verwendung finden können. Dabei wird mit Hilfe von Biofilmen eine hohe Prozessstabilität erreicht, da die Bakterien im Reaktor verbleiben und nicht vom Produktstrom separiert werden müssen.

Zu den ältesten Anwendungen der Biofilm-Technik gehört z. B. die Herstellung von Essig durch Mikroorganismen. Die Mikroorganismen haften dabei auf Buchenholzspänen und setzen den Alkohol aus der flüssigen Phase um [3]. Auch die Gewinnung von Nitrat für die Herstellung von Schiesspulver gehört zu den frühesten Biofilm-Techniken. Auf Bauernhöfen wurden Kalkmauern errichtet, die mit Jauche versetzt wurden. Da sich auf und in dem Gestein Nitrifikanten befanden, oxidierten diese das Ammonium zu Nitrat und bildeten Salpeter [5].

2.2 Aufbau und Zusammensetzung

Eine häufig verwendete Darstellung für die Biofilmstruktur wurde von Costerton [12] u. a. entwickelt (Abb. 1).

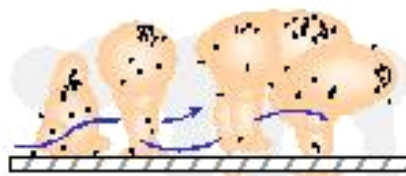


Abb. 1: Schematische Darstellung einer Biofilmstruktur

Danach bildet die EPS („extrazelluläre polymere Substanzen“) pilzförmige Strukturen aus, in denen sich Cluster von Mikroorganismen befinden. Wächst der Biofilm in einem durchströmten System, so bilden sich kleinere und größere Poren, bzw. Kanäle, in denen konvektiver Transport von Wasser u. a. gelösten Stoffen

möglich ist [13-15]. Innerhalb der „Pilzstrukturen“ findet hauptsächlich diffusiver Stofftransport statt [16]. Diese heterogene Struktur beeinflusst sehr stark die Eigenschaften des Biofilms.

Der große Vorteil des Lebens im Biofilm ist, dass die Zellen stabile „Mikrokonsortien“ ausbilden können, in denen verschiedene Mikroorganismen synergistisch zusammenleben. Die EPS-Matrix ermöglicht es, die Struktur über längere Zeit stabil zu halten. Das ist z. B. bei der Selbstreinigung von Gewässern, Sedimenten und Böden von Bedeutung, da eine sequentielle Verwertung von schwer abbaubaren Substanzen erfolgen kann [11, 17]. An einer Grenzfläche, die mit Luft in Kontakt steht, schützt die EPS-Matrix die Mikroorganismen vor Austrocknung bzw. vor zuviel Wasser [18]. In nährstoffarmer Umgebung kann der Biofilm sogar noch Spuren von Nährstoffen aus dem Wasser akkumulieren, um so zu überleben. Ein Nachteil des Lebens im Biofilm liegt in der Ortsansässigkeit, die die Nährstoffaufnahme erschweren könnte. Mit Hilfe der vorhandenen Poren und Kanäle (Abb. 1) innerhalb der EPS-Matrix erfolgt jedoch ein Stofftransport bis in die Tiefe des Biofilms [3].

Die EPS ist, wie in den vorstehenden Abschnitten beschrieben, für die Entstehung und den Zusammenhalt einer Vielzahl von mikrobiologischen Aggregaten wie Biofilme, Flocken und Schleime verantwortlich [8]. Sie formt und beeinflusst den Raum zwischen den Zellen und verleiht dem Biofilm seine biologischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften. Sie besteht im wesentlichen aus Polysacchariden und Proteinen, enthält aber auch Nucleinsäuren, Lipide u. a. [19]. Beispielhaft ist in Tab. 1 die EPS-Zusammensetzung des *Pseudomonas aeruginosa* SG 81 dargestellt [20].

Tabelle 1: Zusammensetzung der EPS von *Pseudomonas Aeruginosa* SG 81 [20]

Komponente	Biofilm ($\mu\text{g}/10^9$ Zellen)	EPS ($\mu\text{g}/10^9$ Zellen)	Anteil in den EPS	Anteil im Biofilm
Polysaccharide	1005.8	766.6	76.2 %	23.8 %
Uronsäuren (Alginat)	473.8	402.8	85.0 %	15.0 %
Proteine	585.0	266.4	45.5 %	54.5 %

Die Polysaccharide, die hier 76.2 % der EPS und 23.8 % im gesamten Biofilm ausmachen, kommen als anionische oder neutrale Moleküle vor. Acetylierte Polysaccharide und die Carboxylatgruppen der Uronsäuren (85 % Anteil) beeinflussen über Wasserstoff-Brückenbindungen und dipolare Wechselwirkungen die physikochemischen Eigenschaften des Biofilms [21, 22]. Die EPS enthält einen großen Anteil an Proteinen (45.5 %), bei denen es sich um extrazelluläre Enzyme (Exoenzyme) handelt. Der Hauptbestandteil dieser heterogenen Schleimmatrix ist jedoch Wasser, mit einem Anteil von bis zu 98 % [23, 24]. Je nachdem welche Mikroorganismen vorhanden sind, unter welchen Nährstoffbedingungen ein Biofilmwachstum möglich ist und welche hydrodynamischen Bedingungen vorliegen, findet man eine unterschiedliche Morphologie der Biofilme vor. So können sie z. B. glatt, rauh, filamentös oder zerklüftet sein.

Polysaccharide

Oligo- bzw. Polysaccharide sind wasserlösliche oder stark quellbare Stoffe, die kolloidale, hochviskose Lösungen oder Dispersionen mit plastischem und pseudoplastischem Fließverhalten bilden. Daraus leiten sich viele Anwendungen dieser Verbindungen ab, etwa als Verdickungsmittel, als Wasserbinder, als Zusätze oder als Stabilisatoren von Emulsionen und als Gelbildner [25].

Die Oligo- bzw. Polysaccharide, die am Aufbau der EPS beteiligt sind, bestehen aus mindestens 10 oder mehr Monosacchariden oder Monosaccharid-Derivaten, die glykosidisch miteinander verknüpft sind. Homopolysaccharide sind nur aus einem Monomertyp aufgebaut, Heteropolysaccharide hingegen bestehen aus zwei oder mehr verschiedenen Monomeren. Eine weitere Unterteilung erfolgt danach, ob die Ketten linear oder verzweigt sind [26].

Die wichtigsten natürlich vorkommenden Polysaccharide sind die als Reservestoffe wichtigen Biopolymere Stärke und Glykogen sowie die Cellulose. Wie Dextran, kann man sie als Polykondensationsprodukt der D-Glucose auffassen.

Die Stärke (Abb. 2) ist aus Glucosemolekülen aufgebaut, die überwiegend α -1,4-glykosidisch miteinander verbrückt sind. Daneben findet man auch α -1,6- sowie vereinzelt auch α -1,3-glykosidische Bindungen, an denen sich die Ketten verzweigen.

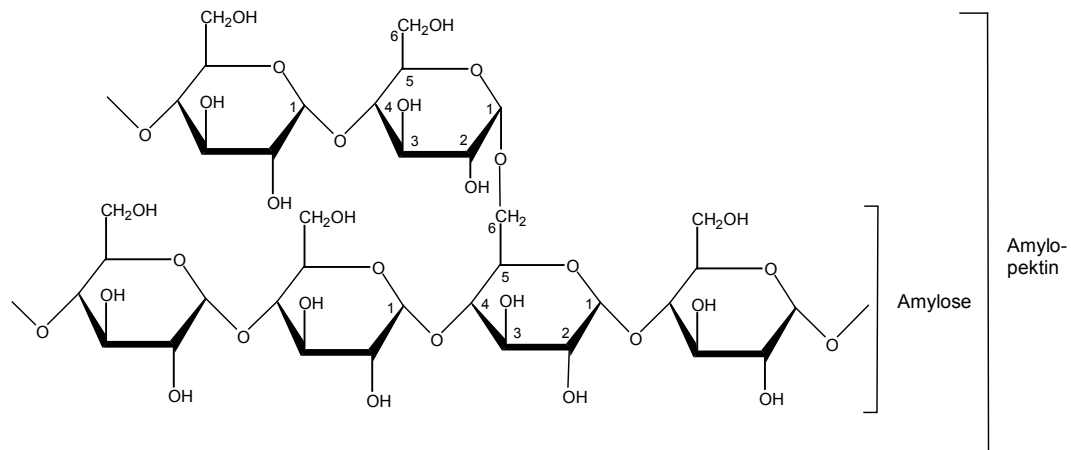


Abb. 2: Struktur der Stärke

Stärke wird von den grünen Pflanzen als Produkt der Photosynthese gebildet und ist in Form von z. B. Kartoffeln oder Reis der primäre Nährstoff von Mensch und Tier. Stärke findet auch in der technischen Industrie Anwendung, z. B. zur Herstellung von Kleistern und Klebstoffen, zur Fabrikation von Stärkezucker, Glucose-Sirup, Dextrin, aber auch zur Herstellung von Lakritzen, Farben, Bier u. a. Als Seifenzusatz und Steifungsmittel für die Wäsche findet die Stärke weiteren Einsatz.

Glykogen (Abb. 3) wird hauptsächlich in der Leber gespeichert, aber auch in anderen tierischen Zellen. Es dient im tierischen Organismus, wie die Stärke in den Pflanzen, als schwerlösliche, deponierbare Energiereserve („tierische Stärke“).

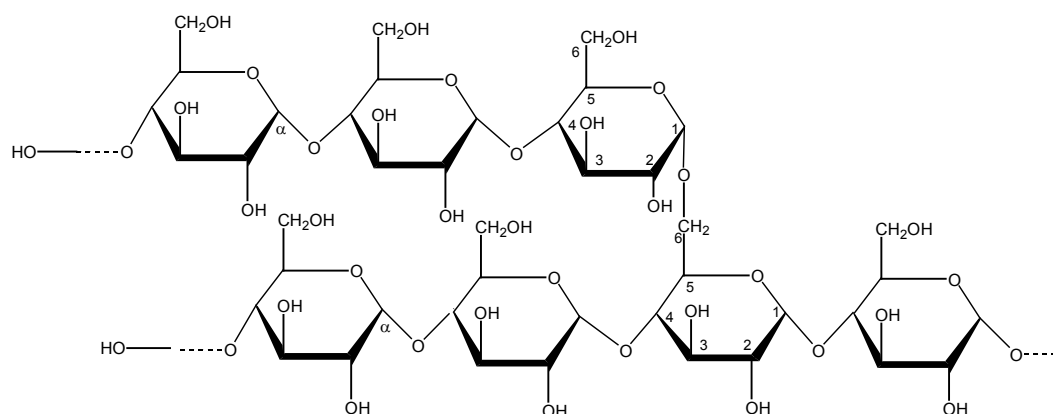


Abb. 3: Struktur des Glykogen

Chemisch ist Glykogen ein α -D-Glucan, das aus D-Glucose-Einheiten besteht, die α -1,4-glykosidisch miteinander verbrückt sind. Weitere Verzweigungen sind über α -1,6-glykosidische Bindungen möglich. Im Gegensatz zu der Stärke treten hier keine α -1,3-glykosidischen Verbrückungen auf.

Cellulose (Abb. 4) ist ein isotaktisches β -1,4-Polyacetal von Cellubiose (4-O- β -D-Glucopyranosyl-D-Glucose). Es liegt als lineares Polymer vor, da intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Hydroxylgruppen und dem Ringsauerstoff die Rotationen um die glykosidische Bindung verhindern.

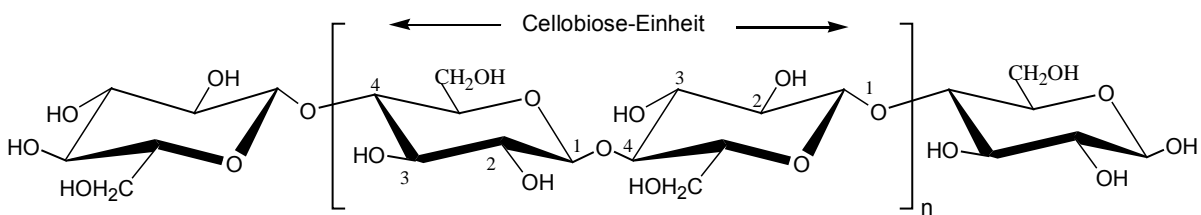
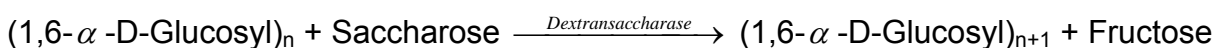


Abb. 4: Struktur der Cellulose

Cellulose ist ein verbreiteter Naturstoff, der als Hauptbestandteil der Gerüstsubstanz pflanzlicher Zellwände zu finden ist. In der Industrie ermöglicht die spezielle Struktur der Cellulose eine breitgefächerte Anwendung, z. B. für Garne, Verstärkungen und Papier [27]. In der Medizintechnik werden Cellulosederivate für die Beschichtung von Implantaten eingesetzt. Der Vorteil der verwendeten Cellulosederivate liegt in ihrer Biokompatibilität, ihrer Verfügbarkeit in unbegrenzten Mengen und in ihrer enormen Stabilität.

Dextran (Abb. 5) ist ein verzweigtes Polysaccharid der D-Glucose, das auf biotechnologischem Wege mit Hilfe von Bakterien aus Polysacchariden dargestellt wird. Es ist ein schleimartiges, hochmolekulares, neutrales Biopolysaccharid, das enzymatisch aus Saccharose gebildet wird:



Man findet Dextrane aber auch als Reservepolysaccharide in Hefen und Bakterien [163].

Zusätzlich zu der 1,6-glykosidischen Verknüpfung findet man im Dextran auch 1,2-, 1,3- und 1,4-glykosidische Verbrückungen vor [163].

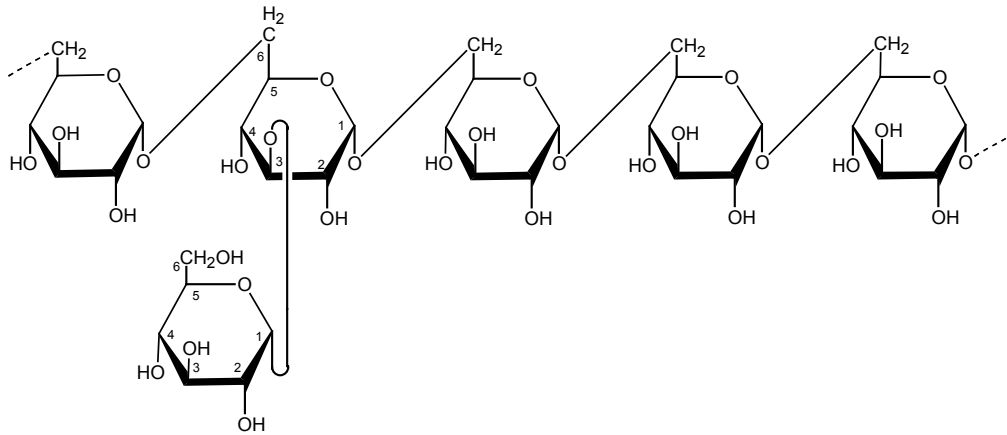


Abb. 5: Struktur des Dextrans

Dextran wird zum größten Teil als Blutplasmaersatzmittel eingesetzt, findet aber auch Verwendung in Klebstoffen, Leimen, Anstrichmitteln, Kosmetika, Filmen, usw. [26].

Die Polysaccharide der EPS bilden aufgrund ihrer Kettenlänge hochviskose Flüssigkeiten oder Gele [22, 28]. Besonders feste Gele können sich ausbilden, wenn di- oder trivalente Kationen mit den Carboxylgruppen der Polysaccharide wechselwirken [22, 29]. Im Vergleich zu den extrazellulären Proteinen sind die Polysaccharide der EPS nur sehr langsam biologisch abbaubar, da ihre Acetylgruppen den Angriff der freien Hydroxylgruppe behindern. Bakterielle Polysaccharide bestehen in den meisten Fällen nur aus einem Monosaccharidtyp (Homopolymere) oder aus regelmäßigen Copolymeren mit zwei bis acht verschiedenen Monosacchariden [22, 30]. Als Ausnahme seien hier die bakteriellen Alginate erwähnt, die statistische Copolymere aus zwei Monosacchariden bilden.

Alginate

Bakterien- und Algenalginate sind statistische Copolymere aus α -1,4-L-Guluronan, β -1,4-D-Mannuronan sowie einem Polyuronid, in dem sich die Guluron- und die Mannuronsäure-Bausteine abwechseln [26].

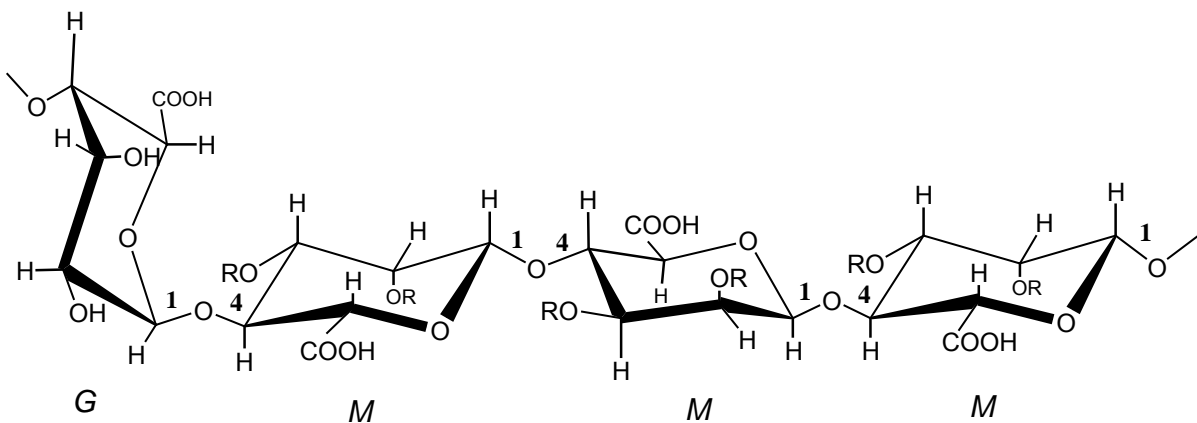
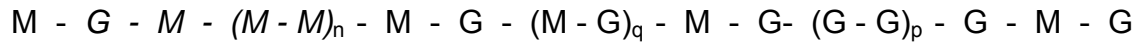


Abb. 6: Ausschnitt aus einem Alginat, OH-Gruppen an der C₂ bzw. C₃ Position des Mannuronats können durch OR ersetzt werden, R = -COCH₃

Die Bakterienalginate sind die am besten studierten bakteriellen extrazellulären Polysaccharide und werden oft als Modellkomponenten gewählt, um physikochemische und biologische Eigenschaften der EPS zu untersuchen. Dabei konzentriert man sich auf Alginate des Bakteriums *Pseudomonas aeruginosa*. Mucoide Stränge dieser Spezies neigen zu einer Überproduktion an extrazellulären Polysaccharid-Alginaten. Wie viele andere Enzyme können auch sie chronische Lungenerkrankungen hervorrufen, die vorzeitig zum Tode von Patienten führen. Seit 1980 gibt es viele Forschungsarbeiten hinsichtlich der Biosynthese von Alginaten mit dem Ziel, geeignete Therapien zu entwickeln, um bakteriellen Infektionen entgegenzuwirken [34].

Eine sehr nützliche Eigenschaft der Alginate besteht darin, dass sie aufgrund ihrer chemischen Struktur die natürliche Umgebung von Zellen im Körper sehr gut nachahmen können. Das nutzen seit einigen Jahren verschiedene Forschergruppen, um künstliche Organe auf Alginatgel-Basis zu entwickeln. Die Alginatgele sollen z. B. insulinproduzierende Zellen enthalten, die den Patienten implantiert werden, so dass

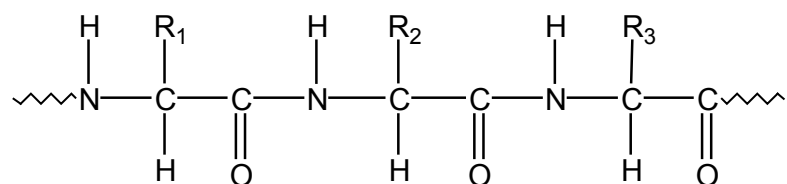
man auf eine medikamentöse Behandlung verzichten kann. Viele Mediziner gehen davon aus, dass schwere Stoffwechselkrankheiten wie die Zuckerkrankheit oder die Parkinsonsche Krankheit mit Hilfe von Alginatgelen zu heilen sind [38-40].

Proteine

Proteine sind von essentieller Bedeutung für das Leben und die Entwicklung auf unserem Planeten [161]. In ihren vielfältigen Funktionen in den Zellen, z. B. im tierischen Körper, in Pflanzen und Mikroorganismen regulieren sie praktisch jede einzelne Reaktion. Hier sind katalytische Aktivitäten (Wirkung als Enzyme) aber auch die Funktionen in der Strukturgebung von fundamentaler Bedeutung [163].

Eine der Hauptaufgaben der heutigen Biochemie besteht darin, die Struktur der Proteine und die Beziehung zwischen ihrer biologischen Funktion und enzymatischer Aktivität zu verstehen und aufzuklären.

Die meisten heute bekannten Proteine bestehen aus 20 verschiedenen Aminosäuren. Die Aminosäuren sind kovalent miteinander verbunden und können lange, unverzweigte Ketten ausbilden (Abb. 8).



R_n = Seitenketten

Abb. 7: Ausschnitt aus einer Peptidkette eines Proteins

Am Aufbau eines Proteinmoleküls können auch mehrere Ketten beteiligt sein. Dabei ordnen sich die Polypeptidketten nicht zufällig an, sondern mit einem definierten Molekulargewicht, einer definierten chemischen Zusammensetzung, einer geordneten Sequenz der Bausteine und einer charakteristischen dreidimensionalen Struktur. Einzelne Aminosäuren besitzen weder Enzym- noch Strukturfunktionen. Erst die definierte Zusammensetzung aller beteiligten Aminosäuren ruft diese

Eigenschaften hervor, die schließlich eine Einteilung in biologische Eigenschaften der Proteine erlaubt. Dabei unterscheidet man verschiedene Stufen im Aufbau der Proteine. Die Primärstruktur definiert die Aminosäuresequenz (Beispiel Abb. 8). Die Sekundärstruktur bestimmt die sich wiederholende räumliche Anordnung der Polypeptidkette, die z. B. zu einer α -Helix oder einem Faltblatt führen kann. Die Tertiärstruktur legt die Art und Weise fest, wie die Polypeptidketten dreidimensional gefaltet sind (auch Seitenketten werden mit einbezogen). Die Tertiärstruktur definiert so die Struktur, die die globulären Proteine bilden. Die Quartärstruktur gibt schließlich die Aggregation mehrerer Peptidketten zu einem definierten Proteinmolekül wieder [164].

Aufgrund ihrer charakteristischen Konformation teilt man die Proteine in verschiedene Gruppen ein, z. B. in Faserproteine oder in globuläre Proteine (knäuelartige Polypeptidketten) [163].

Proteine übernehmen im pflanzlichen und tierischen Organismus unterschiedliche biologische Funktionen. Die größte Gruppe sind die Enzyme. Fast jede biochemische Reaktion wird von einem Enzym katalysiert. Sie sind beteiligt an der Übertragung von Elektronen (Cytochrom c) oder an der Replikation oder Reparatur der DNA. Andere Proteine funktionieren als Speicher- (z. B. Casein, ein Milchprotein) oder Transportmoleküle (Hämoglobin, das für den Sauerstofftransport im Blut verantwortlich ist). Es gibt Proteine, die eine schützende oder verteidigende Funktion besitzen (z. B. Antikörper, die Komplexe mit fremden Proteinen bilden). Von ganz anderem Bau sind die Strukturproteine. Das Faserprotein Kollagen z. B. findet sich im Bindegewebe und in den Knochen der Wirbeltiere [163].

Proteine, die biologische Eigenschaften besitzen, finden sich mit einem Feststoffanteil von bis zu 50 % innerhalb des Biofilms. Dabei kann eine Einteilung in Exoenzyme und in Proteine, die eine Strukturfunktion mit sich bringen, erfolgen. Diese Strukturfunktion der Proteine ist neben den Polysacchariden und Uronsäuren verantwortlich für den Zusammenhalt der EPS. Die Exoenzyme hingegen besitzen adhäsionsvermittelnde Eigenschaften und können so z. B. ungelöste Substrate binden und angreifen [5].

2.3 Stand der Forschung

Studien über Entstehung, Wachstum, Sorptionseigenschaften und mechanische Stabilität von Biofilmen bilden heute ein intensives Arbeitsfeld der Mikrobiologie [24, 46]. In vielen Forschergruppen wird die Strukturaufklärung von Biofilmen mit Hilfe von spektroskopischen und anderen physikochemischen Methoden, z. B. der Ultradünnschicht-Technik zur Bestimmung der Biofilmschichtdicke, betrieben [6]. Aber auch die Bestimmung der Oberflächenspannung und Leitfähigkeitsmessungen werden eingesetzt, einen Biofilm zu identifizieren.

Andere Studien konzentrieren sich auf die Visualisierung des Biofilms, sowie die Analyse seiner Bestandteile und die Bestimmung des Molekulargewichts [46]. Die **Confokale Laser Scanning Mikroskopie (CLSM)** und die **Raster Elektronen Mikroskopie (REM)** sind Methoden, die speziell der bildlichen Darstellung dienen [19].

Interdisziplinäre Methoden und Studien tragen so dazu bei, ökologische, technische und hygienische Anwendungen des Biofilms zu verstehen [24]. Erwähnt seien unter anderem rheologische und analytische Untersuchungen mit Ultrazentrifugen hinsichtlich der Stabilität des Biofilms, da die Aufklärung dieser Stabilität in Bezug auf die Begriffe „Biofilmreaktor“, „Biofouling“ und „Biokorrosion“ eine herausragende Rolle einnimmt [28].

Wie bereits angedeutet, sind Wechselwirkungen von Calciumionen mit Bestandteilen des Biofilms von großem Interesse. Untersuchungen hinsichtlich der Beziehung zwischen Polymerisationsgrad und Calciumaktivität wurden durchgeführt, um zu zeigen, wie viele Guluronatbausteine benötigt werden, um eine stöchiometrische Anzahl von Calciumionen zu binden. Hierzu wurden Austauschexperimente mit Calciumalginaten durchgeführt, indem man sie mit einwertigen Ionen versetzte, um so die Calcium-ionen zu substituieren. Es zeigte sich, dass bei einer Konzentration von einem Calciumion auf zwei Guluronatmonomere kein Austausch mehr stattfand [42].

Andere physikalisch-chemische Methoden werden verwendet, um die Struktur des Biofilms und seine Eigenschaften näher zu bestimmen. In NMR-Experimenten werden bevorzugt Diffusion und Wasserbindungsvermögen von Biofilmen untersucht [47-49]. Mit Hilfe der ^{13}C -NMR-Spektroskopie konnte die chemische

Zusammensetzung eines SG81-*Pseudomonas aeruginosa*-Stammes mit einer mittleren Verteilung von 33 Einheiten identifiziert werden [50]. Des Weiteren wurden ^{13}C -NMR-Untersuchungen an bakteriellem Alginat (Biofilmbestandteil) mit Mangan- und Calciumionen durchgeführt. Diese zeigten Wechselwirkungen mit bevorzugten C-Atomen; besonders die Carboxylatgruppe der Alginatbausteine α -1,4-L-Guluronat (G) und β -1,4-D-Mannuronat (M) gilt als bevorzugte Verknüpfungsstelle zum Mangan bzw. Calciumion.

Neben experimentellen Untersuchungen gewinnen theoretische Studien in Bezug auf Biofilme zunehmend an Bedeutung. Hilfreich sind hier vor allem Methoden des Molecular Modelling. Mit Hilfe dieser Kraftfeldmethoden können Moleküle sowohl in der Gasphase als auch in wässriger Lösung untersucht werden. Vielfach wird als traditionelles Kraftfeld ein Kraftfeld („AMBER“) gewählt, das besonders für kleine organische Substituenten von Proteinen und Nukleinsäuren parametrisiert ist [51-56]. Studien über Alginat, die ^{13}C -NMR-Ergebnisse mit Molecular Modelling Methoden koppeln, werden herangezogen, um aus Experimenten gewonnene Vorstellungen zu unterstützen [57]. Hierbei zeigten die ^{13}C -NMR-Untersuchungen, die mit Alginat und verschiedenen Erdalkalitionen (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+}) durchgeführt wurden, eine eindeutige Bevorzugung des Calciumions gegenüber Guluronatbausteinen; diese Aussage konnte mit Molecular Modelling-Studien mit dem Kraftfeld AMBER bestätigt werden.

Neben Untersuchungen an Disacchariden werden auch Polysaccharide mittels Kraftfeldmethoden analysiert. Es gibt außer AMBER andere Kraftfelder, die besonders für Kohlenhydrate geeignet sind. Dazu zählen z. B. GROMOS, CHARMM, MM2 und MM3 u. a., die Simulationen in der Gasphase und in wässriger Lösung ermöglichen. Unterschiedliche Polysaccharide wurden in der Literatur mit diesen Kraftfeldern simuliert und hinsichtlich ihrer Konformation verglichen [58]. Die mit verschiedenen Kraftfeldern berechneten Energien weichen mitunter stark voneinander ab, während die Geometrien weitaus besser mit dem Experiment übereinstimmen.

3 Stereochemie der Kohlenhydrate

Der Isomeriebegriff ist in der Strukturchemie von zentraler Bedeutung. Isomere sind ganz allgemein Verbindungen, die dieselbe Summenformel besitzen, sich aber in der Anordnung der Atome (ihrer „Struktur“ also) voneinander unterscheiden [159, 162]. Isomere lassen sich unterteilen in Konstitutionsisomere und in Stereoisomere. Konstitutionsisomere unterscheiden sich in der Verknüpfung der Atome untereinander (Abb. 8):



Abb. 8: Zwei Konstitutionsisomere: 1-Propanol (links) und 2-Propanol (rechts)

Stereoisomere besitzen die gleiche Verknüpfung, aber eine unterschiedliche Anordnung der Atome im Raum. Sie lassen sich in Enantiomere und in Diastereomere einteilen. Enantiomere verhalten sich wie Bild und Spiegelbild zueinander (Abb. 9). Sie besitzen identische physikalische Eigenschaften, können allerdings gravierende unterschiedliche biologische Funktionen haben (das bekannteste Beispiel ist vielleicht das mit dem Contergan® verbundene Thalidomid).

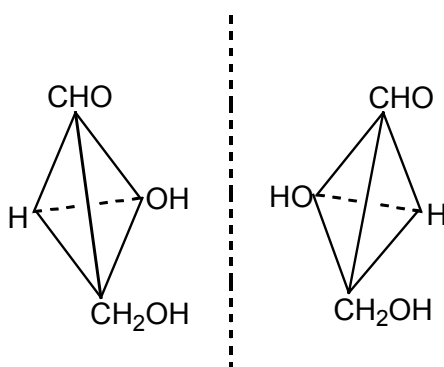


Abb. 9: Ein Enantiomerenpaar: D-(+)-Glycerinaldehyd (links) und L-(-)-Glycerinaldehyd (rechts) [149]

Enantiomere lassen sich durch eine polarimetrische Bestimmung voneinander unterscheiden. Dabei wird ein Enantiomer in Lösung (oder, falls flüssig in Substanz) mit linear polarisiertem Licht durchstrahlt. Dabei wird die Polarisationssebene um einen bestimmten Beitrag nach rechts oder links gedreht, ein Phänomen, das als optische Aktivität bezeichnet wird. Das andere Enantiomer dreht die

Polarisationsebene des Lichts um den gleichen Betrag in die entgegengesetzte Richtung. Rechtsdrehende Moleküle werden mit (+) und linksdrehende Moleküle werden mit (-) bezeichnet [159].

Optisch aktive Verbindungen sind aus chiralen Molekülen aufgebaut. Chiral sind Moleküle, wie der in Abb. 9 dargestellte Glycerinaldehyd, wenn sie weder ein Inversionszentrum noch eine Spiegelebene enthalten. Alle Verbindungen, die ein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthalten, sind chiral; dies ist aber keine notwendige Voraussetzung.

Stereoisomere, die keine Enantiomere sind, sind die in Abb. 10 dargestellten Ethenderivate E- und Z-Dichlorethen. Es sind Diastereomere, die sich in der Anordnung der beiden Chlorsubstituenten relativ zueinander unterscheiden.

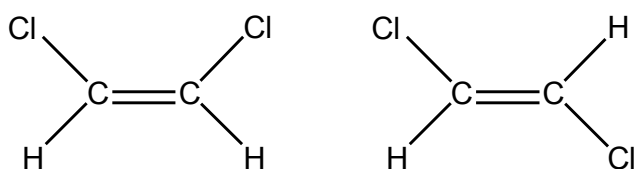


Abb. 10: Z- (links) und E-Dichlorethen (rechts)

Eine einheitliche stereochemische Beschreibung wurde erstmals von Emil Fischer eingeführt. Er definierte das C-5-Atom des rechtsdrehenden Enantiomers der Glucose als Ausgangspunkt. Nach folgenden Regeln wird es der sogenannten Fischer-Projektion zugeordnet:

- „1. Die längste Kohlenstoffkette steht senkrecht“;
2. das am höchsten oxidierte Kohlenstoffatom der Kette steht oben;
- „3. die vertikalen Bindungen an jedem Atom der Hauptkette zeigen hinter die Papierebene“ [162].

E. Fischer baute (+)-Glucose zu einer Aldotriose, dem (+)-Glycerinaldehyd, ab, unter Beibehaltung seines ursprünglichen C-5 sterischen Zentrums. (+)-Glycerinaldehyd erhielt willkürlich eine (in Abb. 10, links) angeordnete Struktur zugeordnet, die er als D-(+)-Glycerinaldehyd bezeichnete. Bei dieser Struktur befindet sich die OH-Gruppe des asymmetrischen Zentrums auf der rechten Seite der Kohlenstoffkette [162] (siehe auch Abb. 11). L-(-)-Glycerinaldehyd bezeichnet die spiegelbildliche Struktur, bei der der Substituent am asymmetrischen Zentrum auf der linken Seite der Kohlenstoffkette liegt (Abb. 11).

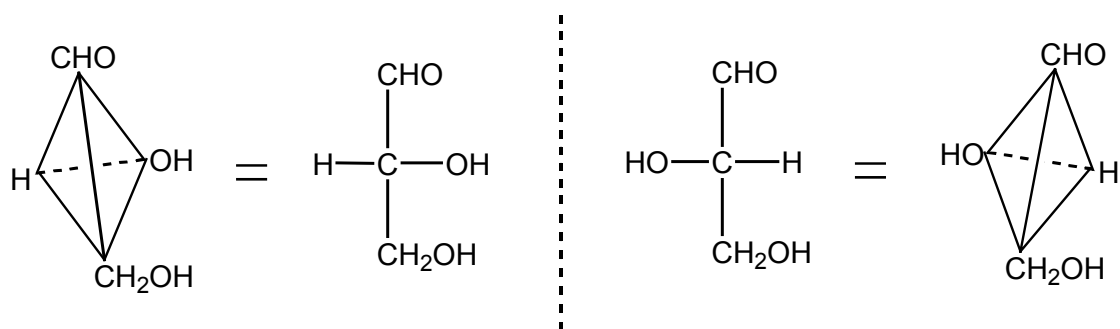


Abb. 11: Räumliche Struktur (außen) und Fischer-Projektion (innen) von D-(+)-Glycerinaldehyd (links) und L-(-)-Glycerinaldehyd (rechts)

Lange Zeit wurde allen asymmetrischen Molekülen, die sich chemisch von D-(+)-Glycerinaldehyd ableiten lassen, die D-Konfiguration zugeordnet, ihren Spiegelbildern, die sich vom L-(-)-Glycerinaldehyd ableiten, dagegen die L-Konfiguration.

Der Nachteil der D- und L-Nomenklatur besteht darin, dass man mit ihrer Hilfe lediglich die relative Konfiguration von Molekülen festgelegt wird. Um die absolute Konfiguration von Molekülen bestimmen zu können, wurde die R- und S-Nomenklatur eingeführt, die eine Erweiterung der D- und L-Bezeichnung darstellt. Sie geht auf Cahn, Ingold und Prelog (CIP-Nomenklatur) zurück und stützt sich auf folgende Sequenzregeln:

Die vier Liganden eines asymmetrischen Kohlenstoffatoms werden in eine Reihe mit fallender Priorität angeordnet ($a > b > c > d$, mit d = niedrigste Priorität). Man betrachtet das Chiralitätszentrum dann so, dass der Substituent mit der niedrigsten Priorität (d) vom Betrachter wegzeigt. Die Substituenten a , b und c liegen in einer Ebene oder zeigen auf den Betrachter zu, wie man es anhand der Darstellung mit Hilfe der Keilnotation leicht erkennen kann (Abb. 12). Folgt man den drei Substituenten von a über b nach c im Uhrzeigersinn, so liegt eine Konfiguration vor, die mit R (lateinisch *rectus* = rechts) bezeichnet wird. Beschreibt die Anordnung der Substituenten jedoch eine Kreisbewegung gegen den Uhrzeigersinn, so ist das Zentrum S-konfiguriert (*sinister* = links).

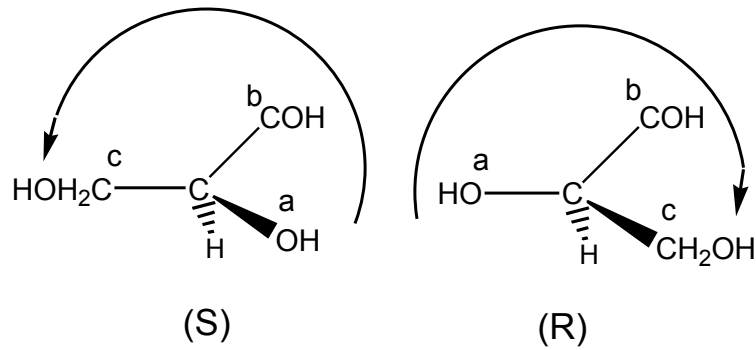


Abb. 12: S- und R-Glycerinaldehyd

Im folgenden wird im Detail auf die Glucose eingegangen. Die natürlich vorkommende Glucose ist die D-Form, in Abb. 13 links dargestellt. In wässriger Lösung liegt diese offene Form im Gleichgewicht vor neben der zyklischen oder Halbacetalform, bei der zwischen dem aldehydischen Kohlenstoffatom 1 und dem Kohlenstoffatom 6 eine Halbacetalbindung entsteht. Die zugehörigen Spiegelbilder sind in Abb. 13 rechts dargestellt.

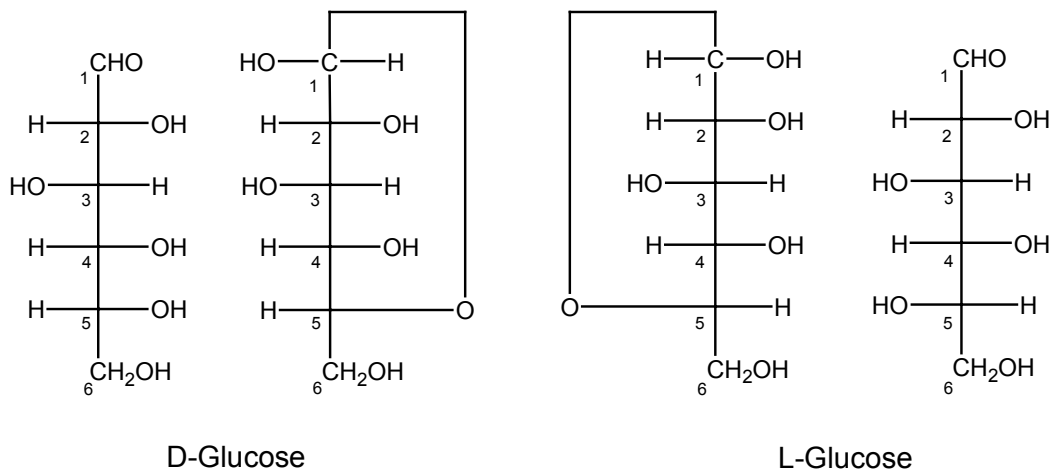


Abb. 13: Fischer-Projektion der D- und L-Glucose; die beiden äußeren Strukturen geben die offenkettige Form wieder, die beiden inneren Strukturen die halbacetalische Form

Da, wie zuvor erwähnt, die L- und D-Konfiguration die Glucose und alle anderen Monosaccharide nicht ausreichend beschreibt, muss man sich der Ringstruktur näher zuwenden. Bei der angedeuteten Ringstruktur (Abb. 13) liegen die D- und L-Glucose als Halbacetale vor. Sie entstehen bei der Reaktion zwischen der Aldehydgruppe

und der Hydroxylgruppe am C₅-Atom der offenkettigen Form [161]. Dabei kommt es zu einem Ringschluss, der in Abbildung 14 im Detail dargestellt ist:

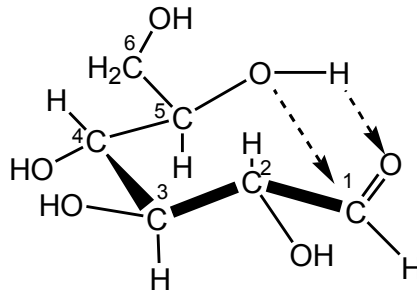


Abb. 14: Ringschluss der Glucose

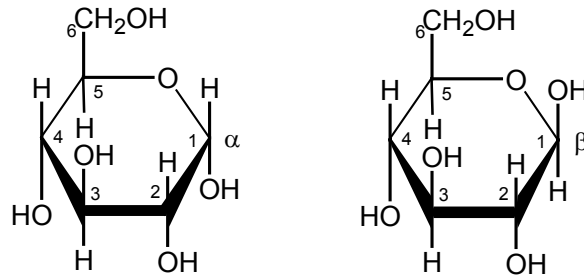
Durch den Ringschluss entsteht an der C₁-Position ein neues asymmetrisch substituiertes Kohlenstoffatom, so dass die Bildung von zwei Diastereomeren möglich ist. Sie unterscheiden sich in der Stellung der OH-Gruppe am C₁-Atom (Abb. 15) und werden als die α - und β -Form der D-Glucose bezeichnet [160].



Abb. 15: α - und β -D-Glucose mit als Sechsering in der Sesselform dargestellt

Die beiden Diastereomere bezeichnet man als Anomere, und das neue asymmetrisch substituierte Kohlenstoffatom darin ist der anomere Kohlenstoff.

Es gibt eine weitere Darstellungsform für Zuckermoleküle, die anhand der Glucose beispielhaft dargestellt wird. Bringt man die sechs Atome des Rings in eine Ebene und bildet diese perspektivisch ab, so entsteht die in Abb. 16 gezeigte sogenannte Haworth-Projektion der zyklischen Monosaccharide. Beim Herausklappen der Ringatome aus der Ebene ordnen sich die Substituenten dann wieder in äquatorialer bzw. axialer Stellung zum 6-Ringsessel an.

Abb. 16: α - und β -D-Glucose nach Haworth mit einem planaren Sechsring

In wässriger Lösung stehen die beiden anomeren Zucker über die offene Form miteinander im Gleichgewicht [161]. Die Einstellung dieses Gleichgewichts ist mit einer Umkehrung des Vorzeichens der optischen Rotation verbunden, weshalb man diesen Vorgang auch als Mutarotation bezeichnet (Abb. 17).

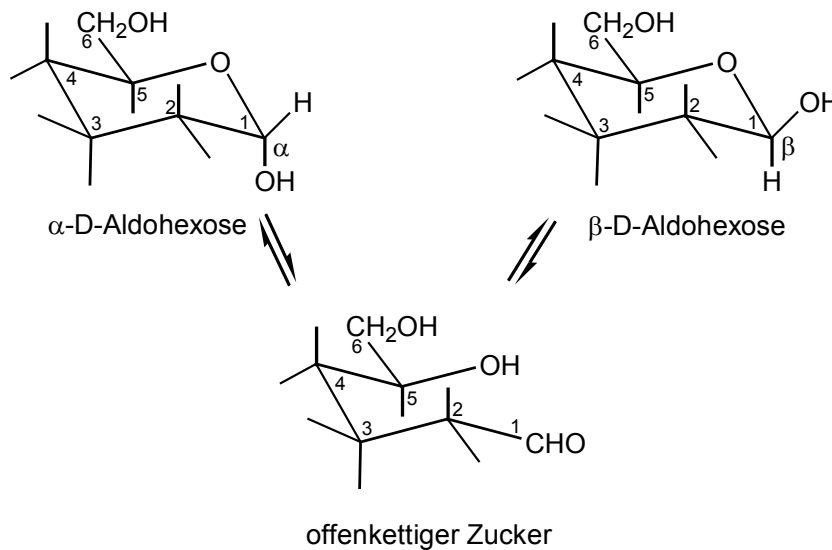


Abb. 17: Mutarotation der D-Glucose

Viele Heterocyklen zeigen ein auffälliges Konformationsverhalten. Ein über Sauerstoff gebundener Substituent bevorzugt die ansonsten vermeidbare axiale Position, wenn er vicinal zu dem Sauerstoffatom des Rings steht (Abb. 18).

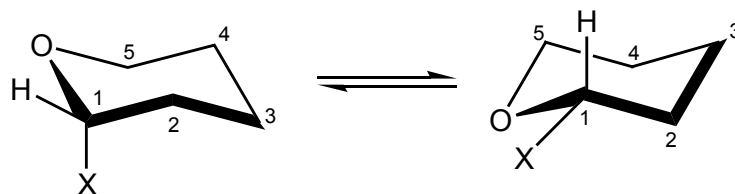


Abb. 18: Konformationsverhalten von Zuckermolekülen (anomere Effekt): die linke Form ist begünstigt

Dieser sogenannte anomere Effekt, also die Bevorzugung der axialen Konformation, ist bei den Kohlenhydraten von großer Bedeutung [162]. Die Größe des anomeren Effektes kann berechnet werden. Sie ergibt sich aus der Differenz der Freien Energie zwischen dem axialen und dem äquatorialen Konformer, plus der Energie, die vom 1-Substituenten überwunden werden muss, um zur sonst bevorzugten Konformation zu gelangen. Bei Hydroxy-, Alkoxy- und Acyloxygruppen findet man anomere Effekte, die zwischen 3.8 – 5.9 kJ/mol liegen.

Man vermutet als Ursache für den anomeren Effekt elektronische Effekte. Im einfachsten Fall geht man davon aus, dass Dipol-Dipol-Abstoßungen wirksam werden. Experimentell konnte gezeigt werden, dass der O-C₁-Abstand kürzer als der O-C₅-Abstand im Ring ist. Daraus folgerte man, dass eine Überlappung der nichtbindenden Orbitale von C₁-H und C₁-X erfolgen könnte. Diese Elektronenabgabe ist aus Symmetriegründen nur aus einem axialen Elektronenpaar in die C-X-Orbitale eines axialen antiständigem Substituenten X möglich.

Es kann gezeigt werden, dass der anomere Effekt mit zunehmender Solvenspolarität abnimmt. Bei Zuckern, die im Wasser gelöst sind, wird der anomere Effekt meist durch andere Effekte überlagert. Das hat bei der D-Glucose z. B. zur Folge, dass das β -Anomer bevorzugt wird (die OH-Gruppe am C₁-Atom nimmt eine äquatoriale Stellung ein) [161].

4 Methodischer Teil

4.1 Quantenmechanische Grundlagen der Molekültheorie

4.1.1 Die Schrödinger Gleichung

Die Quantenmechanik, ein Teilgebiet der theoretischen Physik, beschäftigt sich mit der Struktur, Wechselwirkung und Dynamik von Elementarteilchen, Atomen und Molekülen. Den hier betrachteten Systemen (Atom, Kerne, Elektronen) werden sowohl Teilchen- als auch Welleneigenschaften zugeschrieben [60]. Ausgehend von dem Konzept der Materiewellen von de Broglie (1924) formulierte Schrödinger 1926 die Grundlagen der Wellenmechanik in Form einer heute als Schrödingergleichung bezeichneten Differentialgleichung. Die zeitabhängige Schrödingergleichung (Gleichung (1)) beschreibt die zeitliche Entwicklung eines quantenmechanischen Systems mit Hilfe einer sogenannten Wellenfunktion.

Diese Wellenfunktion ist eine Funktion aller Teilchenkoordinaten des Systems (der Elektronen und Kerne in einem Atom oder Molekül) und der Zeit [61, 62].

$$i\hbar \frac{\partial \Psi}{\partial t} = H\Psi \quad (1)$$

mit

Ψ = Wellenfunktion

$\hbar = h/2\pi$; h = Plancksche Konstante = 6.626×10^{-34} Js

t = Zeit

H = Hamiltonoperator

Betrachtet man ein Teilchen in einem zeitlich unabhängigen Potential $V(x)$, so hat (1) die Form:

$$i\hbar \frac{\partial \psi}{\partial t} = -\frac{\hbar^2}{2m} \frac{\partial^2 \psi}{\partial x^2} + V(x) \Psi \quad (2)$$

Die Schrödinger-Gleichung kann unter diesen Bedingungen in einen zeitabhängigen und einen zeitunabhängigen Teil aufgespalten werden. Mit Hilfe des Produktansatzes lassen sich die Variablen trennen [61, 62, 63]:

$$\Psi(x,t) = \Psi(x)\Theta(t) \quad (3)$$

Setzt man diesen Ansatz in Gleichung (2) ein, so erhält man:

$$-\frac{\hbar^2}{2m}\Theta\frac{d^2\Psi}{dx^2} + V(x)\Psi\Theta = i\hbar\Psi\frac{d\Theta}{dt} \quad (4)$$

Die Division auf beiden Seiten mit $\Psi\Theta$ führt zu

$$-\frac{\hbar^2}{2m}\frac{1}{\Psi}\frac{d^2\Psi}{dx^2} + V(x) = i\hbar\frac{1}{\Theta}\frac{d\Theta}{dt} \quad (5)$$

Jetzt ist nur noch die linke Seite der Gleichung eine Funktion von x , die rechte Seite dagegen ist bezüglich x eine Konstante, das heißt, man hat die Variablen separiert. Die Dimension der Konstanten entspricht einer Energie (E). So folgen aus der zeitabhängigen Gleichung zwei Differentialgleichungen.

$$-\frac{\hbar^2}{2m}\frac{d^2\Psi}{dx^2} + V(x)\Psi = E\Psi \quad (6a) \qquad i\hbar\frac{d\Theta}{dt} = E\Theta \quad (6b)$$

(6a) ist die zeitunabhängige Schrödinger-Gleichung. Die Lösung für Gleichung (7b) ist

$$\Theta \propto e^{\frac{-iEt}{\hbar}} \quad (7)$$

Damit läßt sich die vollständige Wellenfunktion ($\Psi = \Psi\Theta$) als

$$\Psi(x,t) = \Psi(x)e^{\frac{-iEt}{\hbar}} \quad (8)$$

formulieren.

Im Allgemeinen schreibt man die zeitunabhängige Schrödingergleichung als:

$$H\Psi = E\Psi \quad (9)$$

Bei dieser Gleichung handelt es sich um eine Eigenwertgleichung: H ist der Operator der Gesamtenergie und Ψ die zugehörige Eigenfunktion. E ist der dem Hamiltonoperator zugehörige Eigenwert, die Energie des Systems. An die Wellenfunktion sind bestimmte Bedingungen geknüpft, so dass nicht alle möglichen Wellenfunktionen zugelassen sind. Als Folge dieser Nebenbedingungen treten nur bestimmte Eigenwerte auf, d. h. die Energie ist gequantelt [61].

Die Schrödingergleichung ist grundlegend für die Theorie des Atombaus und die elektronische Struktur von Molekülen. Liegen jedoch komplexere Systeme vor, kann man sie nicht mehr analytisch lösen. So ist eine der Aufgaben der Quantenchemie näherungsweise Lösungen für (10) zu entwickeln.

4.1.2 Born-Oppenheimer-Näherung

Es gelingt nicht, die Schrödingergleichung für Systeme, die aus mehr als zwei Teilchen bestehen, analytisch zu berechnen [61]. Um für Moleküle trotzdem zu einer Lösung zu kommen, bedient man sich der sogenannten Born-Oppenheimer-Näherung. In dieser Näherung nutzt man den großen Massenunterschied zwischen Elektronen und Kernen zur Vereinfachung der Wellenfunktion. Man geht davon aus, dass sich die Kerne gegenüber den Elektronen sehr langsam bewegen. So können sich die Elektronen jederzeit den veränderten Kernpositionen anpassen. Die Kerne werden folglich angenähert als ortsfeste Teilchen betrachtet und man berechnet die Wellenfunktion der Elektronen im statischen Feld der Kerne. Führt man dies für viele verschiedene Kernpositionen durch, so erhält man die gesamte Potentialfläche des Moleküls in Abhängigkeit seiner Kernkoordinaten (Abb. 19). Diese Potentialfläche ist $(3N - 6)$ dimensional ($3N - 5$ für lineare Moleküle, $N =$ Anzahl der Atome). Lokale Minima auf dieser Fläche entsprechen Gleichgewichtsstrukturen des betrachteten Systems [61-64].

Auch mit Hilfe dieser Näherung ist die Betrachtung von Mehrelektronensystemen nicht ohne weiteres möglich.

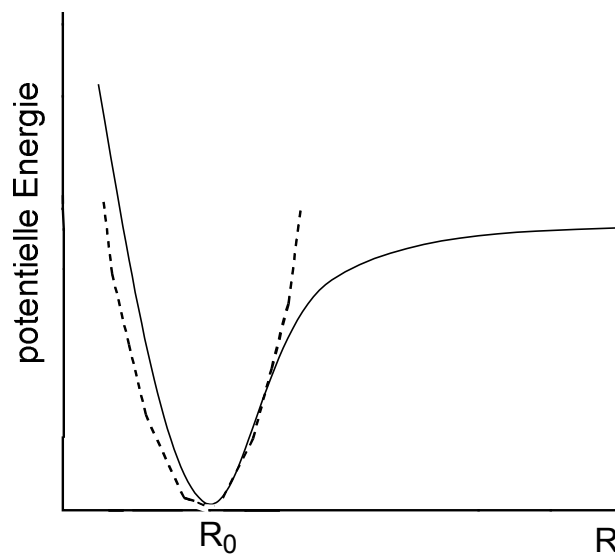


Abb. 19: Kurvenverlauf (in schwarz dargestellt) der potentiellen Energie eines 2-atomigen Moleküls, der die Änderung der Molekülenergie in Abhängigkeit vom Kernabstand R angibt. Im unteren Teil des Potentialtopfes kann die Potentialkurve in guter Näherung durch eine Parabel angenähert werden; diese ist schwarz-gestrichelt dargestellt.

4.1.3 Der LCAO-MO-Ansatz

Im MO-Ansatz (MO steht für Molekülorbitale) wird die vollständige Wellenfunktion $\Psi(r_1, r_2, \dots)$ eines Mehrelektronensystems als Produkt von Eielektronenwellenfunktionen angenähert [64, 65].

$$\Psi(r_1, r_2, \dots) = \psi_1(r_1) \psi_2(r_2) \dots \quad (10)$$

Die Molekülorbitale wiederum drückt man als Linearkombination von Atomorbitalen (LCAO-Ansatz) aus [66]:

$$\psi = \sum_r c_r \phi_r \quad (11)$$

Hier sind ϕ_r die Atomorbitale, die Koeffizienten c_r bestimmen die Größe des Beitrags des jeweiligen Atomorbitals. Diese Koeffizienten gilt es, in Berechnungen zu optimieren, um die bestmöglichen Orbitale für die Beschreibung des Systems zu erhalten.

Die gebräuchlichsten Atomfunktionen sind Slaterfunktionen (STOs = Slater type orbitals) und Gaußfunktionen (GTOs = Gauß type orbitals). Slaterfunktionen (Gl. 13) zeigen einen Kurvenverlauf, der den exakten Eigenfunktionen des Wasserstoffatoms angenähert ist. Sie haben folgende Form:

$$\chi_i^{STO}(r) = NY_{l,m,n} \exp(-\xi r) \quad (12)$$

ξ ist der Slaterexponent, er wird durch Berechnungen am Atom abgeschätzt. N ist die Normierungskonstante und $Y_{l,m,n}$ gibt eine der harmonischen sphärischen Funktion wieder.

Bei einer LCAO-Rechnung müssen komplizierte Integrale gelöst werden, für die STOs schlecht geeignet sind. Stattdessen verwendet man Gaußfunktionen der folgenden Form:

$$\chi_i^{GTO}(r) = NY_{l,m,n} \exp(-\alpha r^2) \quad (13)$$

Durch Kombination mehrerer Gaußfunktionen, deren Integrale einfacher zu lösen sind, kann so ein STO angenähert werden [67].

Forderungen an die Wellenfunktion

Ein von Pauli (1940) aufgestelltes Prinzip fordert, dass die Wellenfunktion für Teilchen mit halbzahligen Spin antisymmetrisch bezüglich der Vertauschung zweier Teilchen sein muss. Schreibt man die MO-Form der Wellenfunktion (Gl. 10) als Determinante der Form

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \psi_a(1) & \psi_b(1) & \dots & \psi_n(1) \\ \psi_a(2) & \psi_b(2) & \dots & \psi_n(2) \\ \cdot & \cdot & \dots & \cdot \\ \cdot & \cdot & \dots & \cdot \\ \psi_a(N) & \psi_b(N) & \dots & \psi_n(N) \end{vmatrix} \quad (14)$$

so erfüllt sie Paulis Forderung nach Antisymmetrie. Vertauscht man in dieser Determinante zwei Elektronen, so entspricht dies einer Vertauschung zweier Zeilen; dies führt zu einem Vorzeichenwechsel der Determinante [61]. Die Form der Wellenfunktion erfüllt auch das Pauli-Prinzip in einer anderen Formulierung. Danach dürfen keine zwei Elektronen in einem System den gleichen Zustand (das gleiche Spinorbital) besetzen. Sind zwei Spinorbitale, entsprechend zwei Spalten in der Determinante, identisch, so verschwindet die Slaterdeterminante. Der Faktor $\frac{1}{\sqrt{N!}}$ schließlich dient der Normierung der Wellenfunktion. In der Literatur findet man häufig folgende vereinfachte diagonale Form der Slaterdeterminanten, die nur die Terme auf der Hauptdiagonalen darstellt.

$$\Psi = \left(\frac{1}{\sqrt{N!}} \right) \det |\phi_a(1)\phi_b(2)\dots\phi_n(N)| \quad (15)$$

Viele in der Chemie relevanten Moleküle besitzen im Grundzustand abgeschlossene Elektronenschalen. Sie lassen sich durch eine einzige Slaterdeterminante darstellen. Für die Beschreibung nicht abgeschlossener Schalen (angeregte Zustände, Radikale) müssen Linearkombinationen mehrerer Slaterdeterminanten verwendet werden.

4.1.4 ab initio Methoden

4.1.4.1 Hartree-Fock-/Self Consistent Field Methoden

Die Orbitale, und damit die Wellenfunktion, die ein Molekül am besten beschreibt, lassen sich nur iterativ erhalten. Nach dem Variationstheorem ist die Energie ε , die mit einer beliebigen Funktion Ψ_{vers} (Versuchsfunktion) für das System berechnet wird, stets höher, aber mindestens gleich der tatsächlichen Energie ε_0 :

$$\varepsilon = \frac{\int \Psi_{\text{vers}}^* H \Psi_{\text{vers}} d\tau}{\int \Psi_{\text{vers}}^* \Psi_{\text{vers}} d\tau} \geq \varepsilon_0 \quad (16)$$

Ziel ist es, mit Hilfe des Variationsverfahrens die Funktion Ψ_{vers} zu finden, für die ε ein Minimum erreicht. Die von D. R. Hartree eingeführte „Self-Consistent-Field“-Methode (SCF) ist eine solche iterative Prozedur. Eine Reihe von Annahmen sind zunächst erforderlich: Die elektronische Energie besteht aus Komponenten der kinetischen und potentiellen Energie:

$$E = T_k + T_e + V_{kk} + V_{ee} + V_{ek} \quad (17)$$

Darin ist (in atomaren Einheiten)

$$T_k = - \sum_{\text{Kerne}(N)} \frac{1}{2M_N} \nabla_N^2 \quad \text{die kinetische Energie der Kerne,}$$

$$T_e = - \sum_{\text{Elektronen}(i)} \frac{1}{2} \nabla_i^2 \quad \text{die kinetische Energie der Elektronen,}$$

$$V_{ek} = - \sum_{\text{Kerne}(N)} \sum_{\text{Elektronen}(i)} \frac{Z_N}{|R_N - r_i|} \quad \text{die potentielle Energie, die der Coulombwechselwirkung zwischen den Kernen der Kernladung } Z_N \text{ und den Elektronen entspricht,}$$

$$V_{kk} = \sum_{\text{Kerne}(N)} \sum_{\substack{\text{Kerne}(M) \\ M > N}} \frac{Z_N Z_M}{|R_N - R_M|} \quad \text{die Kern-Kern-Wechselwirkung,}$$

$$V_{ee} = \sum_{\text{Elektronen}(i)} \sum_{\substack{\text{Elektronen}(j) \\ j>i}} \frac{1}{|r_i - r_j|} \quad \text{die Elektron-Elektron-Wechselwirkung.}$$

Besonders schwierig und aufwendig ist die Berechnung der Elektron-Elektron-Wechselwirkungsterme. Fock und Slater beziehen Elektronenaustauscheffekte mit ein, indem sie die Wechselwirkung jeweils eines Elektrons mit gemitteltem Feld aller Kerne und der anderen Elektronen berechneten. Dies geschieht für jedes Elektron des Systems und vereinfacht die Berechnung erheblich. Voraussetzung hierbei ist, dass die Wellenfunktion aller anderen Elektronen bekannt sein muss. So startet die SCF-Prozedur zunächst mit einer angenäherten Wellenfunktion (z. B. aus einer Slaterdeterminanten) und Startwerten für die Koeffizienten c_r (Gl. 11). Mit Hilfe dieser angenäherten Wellenfunktion wird nun die Schrödingergleichung für die Ein-Elektronen-Wellenfunktionen gelöst. Anschließend werden die Koeffizienten c_r ermittelt, die die Energie minimieren [61-63]. Am Ende dieser Prozedur erhält man einen Satz von verbesserten Wellenfunktionen für alle Elektronen. Diese erhaltenen Wellenfunktionen sind dann nach genügend iterativen Schritten selbst-konsistent und sind die besten Näherungen im Sinne der Hartree-Fock-Theorie [65].

4.1.4.2 Dichtefunktionaltheorie (DFT)

Die Dichtefunktionaltheorie (DFT) hat sich wegen ihrer Schnelligkeit im Vergleich zur Hartree-Fock-Methode rasch durchgesetzt [63]. Bei der DFT-Methode geht man davon aus, daß die Energie und alle anderen Erwartungswerte eines N-Elektronensystems im Grundzustand eindeutig durch die Elektronendichte $\rho(r)$ beschrieben werden können [63, 65]. Dies ist das sogenannte 1. Theorem von Hohenberg und Kohn [68, 69].

Ein Vorteil der DFT-Rechnung ist die implizite Berücksichtigung der Elektronenkorrelation und die kürzere Rechenzeit gegenüber den HF-Methoden vergleichbarer Qualität. Der Grund dafür ist, dass für ein System mit n Elektronen eine HF-Rechnung eine 3n-dimensionale Dichtefunktion benötigt, die DFT-Rechnung

dagegen nur eine 3-dimensionale. Die exakte Energie des Grundzustandes (nur gepaarte Elektronen) ist nach Kohn und Sham gegeben durch

$$\begin{aligned}
 E(\rho) = & -\frac{\hbar^2}{2me} \sum_{i=1}^n \int \Psi_i^* (r_1) \nabla_1^2 \Psi_i (r_1) dr_1 - \sum_{i=1}^N \int \frac{Z_i e^2}{4\pi\epsilon_0 r_{i1}} \rho(r) dr_1 \\
 & \quad \quad \quad (1) \qquad \qquad \quad (2) \\
 & + \frac{1}{2} \int \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)e^2}{4\pi\epsilon_0 r_{12}} dr_1 dr_2 + E_{xc}(\rho) \\
 & \quad \quad \quad (3) \qquad \qquad \quad (4) \qquad \qquad \quad (18)
 \end{aligned}$$

Dabei ist $E(\rho)$ ein Funktional der Elektronendichte. Das bedeutet, dass es für eine gegebene Funktion $\rho(r)$ eine korrespondierende Energie E gibt. Das Kohn-Sham-Theorem bestätigt zwar die Existenz dieses Funktionals, macht jedoch keine näheren Aussagen darüber, in welcher Form die Energie von der Dichte abhängt [70, 71].

ϕ_i ($i=1, 2, \dots, n$) sind die Kohn-Sham-Orbitale und die exakte Grundzustands-Ladungsdichte ρ am Ort r ist gegeben durch

$$\rho(r) = \sum_{i=1}^n |\phi_i(r)|^2 \qquad (19)$$

mit der Summierung über alle besetzten Kohn-Sham-Orbitale [70] der zu berechnenden Energieterme für $E[\rho]$.

Der 1. Term stellt die kinetische Energie der Elektronen dar, der 2. Term die Elektron-Kern-Anziehung über die Orbitale, der 3. Term die Coulombwechselwirkung der gesamten Elektronendichte am Ort r_1 bzw. r_2 und der 4. Term gibt die Austauschkorrelationsenergie wieder.

Von den 4 Termen, aus denen sich $E[\rho]$ zusammensetzt, ist $E_{xc}(\rho)$ unbekannt und kann nicht genau berechnet werden. So erfolgt eine näherungsweise Bestimmung über die sogenannte Kohn-Sham-Gleichung, die analog den HF-Gleichungen durch das Variationsprinzip erhalten werden. Die KS-Gleichungen lassen sich wie die HF-Gleichungen auch nur iterativ lösen; daher wird die Qualität einer DFT-Rechnung durch die Qualität bestimmt, mit der das Exchange-Potential $E_{xc}(\rho)$ das wahre Potential annähert.

Man kann die Funktionale in zwei Kategorien einteilen [72]:

- a) lokale Austausch- und Korrelationsfunktionale, die nur die Elektronendichte mit einbeziehen und
- b) gradientenkorierte Funktionale, die die Elektronendichte und ihre Gradienten beinhalten.

Innerhalb dieser Arbeit wird das B3LYP-Funktional benutzt, das ein von Becke entwickeltes gradientenkoriertes Austauschfunktional und von Lee, Young und Parr gradientenkoriertes Korrelationsfunktional verwendet, also ein Hybridfunktional [73, 74].

Die Berechnung wurden mit freundlicher Unterstützung von Herrn Dr. K. Kolster durchgeführt.

4.1.5 Semi-empirische Methoden

Obwohl die Computerleistung in den letzten Jahren beständig gestiegen ist und immer effizientere Algorithmen zur Berechnung von Energiehyperflächen entwickelt wurden, können ab initio Methoden für Moleküle mit mehr als einigen Dutzend Atomen noch nicht routinemäßig angewendet werden. Semiempirische Methoden hingegen sind in der Lage, schnelle und dabei relativ genaue Berechnungen an größeren Systemen durchzuführen [63]. Im Gegensatz zu den ab initio Methoden vernachlässigen sie besonders aufwendige Elektronenintegrale, die durch empirische Parameter ersetzt werden. Diese Parameter werden entweder experimentell ermittelt oder aus ab initio Berechnungen entnommen [65].

Von den ursprünglichen Methoden, wie dem CNDO-Verfahren von Pople und dem MINDO-Verfahren von Dewar [75], bei denen ausschließlich Valenzelektronen berücksichtigt werden [76], leiten sich die heute weit verbreiteten MNDO- [75], AM1- [77, 78] und PM3-Methoden [79-81] ab, die an einer großen Zahl von Molekülen parametrisiert wurden und sich voneinander hauptsächlich in der Wahl der Parameter unterscheiden. Alle drei Methoden basieren auf der NDDO-(Neglect of Diatomic Differential Overlap) Näherung. Das MNDO-(Modified Neglect of (Diatomic)

Differential Overlap) Verfahren wurde von M. J. S. Dewar und W. Thiel entwickelt und berücksichtigt alle Valenzelektronen. Die AM1-(Austin Model 1) Methode von Dewar gleicht die Schwächen des MNDO-Verfahrens aus [77] und kann so z. B. Komplexe mit Wasserstoffbrückenbindungen besser beschreiben. AM1 findet sich heute in vielen Programmpaketen wie AMPAC oder MOPAC wieder. Das PM3-Verfahren geht auf Stewart zurück und stellt eine Neuparametrisierung des MNDO-Verfahrens dar. Wie AM1 ist es im Programmpaket MOPAC enthalten.

Die Schwierigkeit, der alle semi-empirischen Methoden gegenüberstehen, ist die Optimierung der Parameter. Exakte experimentelle Daten sind nicht immer verfügbar, und parallele Optimierungen, um mehrere Parameter für eine Vielzahl von Molekülen zu berechnen, sind sehr zeitaufwendig. Die Parameter sind so miteinander verbunden, dass die kleinste Änderung eines Parameterwertes viele andere Parameter mit beeinflusst.

Trotzdem haben die semi-empirischen Methoden einen festen Platz unter den Methoden der Theoretischen Chemie, da durch Optimierung der geeigneten Parameter eine Vielzahl von wichtigen chemischen Eigenschaften erhalten werden kann.

Ziel einer jeden semi-empirischen Berechnung ist es, Moleküle mit „chemischer Genauigkeit“ zu berechnen, d. h. die Energien sollten sich um nicht mehr als 10-20 kJ/mol von den exakten Energiewerten unterscheiden [69]. Der Vorteil der semi-empirischen Methoden besteht darin, dass man mit Standard-Rechnern (PCs) schnell (im Vergleich zu den ab initio Methoden) große Systeme routinemäßig berechnen kann. Somit sind, mit entsprechender Vorsicht (Validierung von vergleichbaren Systemen, Wahl geeigneter Parameter) die semi-empirischen Methoden gut geeignet, um die elektronischen Strukturen für eine Vielzahl von Molekülen zu berechnen [63].

4.2 Kraftfeld-Methoden

4.2.1 Einleitung

Die Computerchemie (engl. „computational chemistry“), oft auch als Molecular Modelling bezeichnet, gewinnt neben der klassischen theoretischen Chemie als eigenständiges neues Teilgebiet immer mehr an Bedeutung [163, 164]. Ihre Bedeutung besteht weniger darin, neue theoretische Methoden zu entwickeln, sondern vielmehr chemisch bezogene Problemstellungen mit Hilfe von Rechenmethoden bzw. Softwarepaketen zu lösen. Neue theoretische Modelle und Methoden eröffnen die Möglichkeit, auch neue Problemstellungen zu untersuchen. Die vorhandenen Rechenergebnisse können dann Grenzen darlegen und Verbesserungen der zugrundeliegenden Theorie vorschlagen. Je nachdem, wie exakt die Berechnung erfolgen soll und entsprechend der Natur des vorliegenden Systems kann man nützliche Informationen für Systeme bis zu mehreren tausend Partikeln (Atomen, Molekülen oder Aggregaten) erhalten [65].

Die grundlegenden Rechenschritte beim Molecular Modelling beruhen auf der Berechnung der potentiellen Energie für eine gegebene Konfiguration von Atomen auf der Basis von empirisch gewonnenen klassischen Kraftfeldern [69]. Diese Energie, sowie ihre 1. und 2. Ableitung bezogen auf die Atomkoordinaten, liefern nützliche Informationen für Geometrieoptimierungen, Kernschwingungen und dynamische Simulationen [82]. Das in dieser Arbeit verwendete Programm *Discover* nutzt analytische Ausdrücke der Potentialhyperfläche mit einem definierten Koordinatensatz. Diese Funktionen und die Parameter, die benötigt werden, um die Potentialhyperfläche zu erhalten, bilden das Kraftfeld. Dabei stellt das Kraftfeld eine der grundlegenden Näherungen des Molecular Modelling dar, und zwar sowohl in Gestalt der Potentialfunktionen als auch der Parameter. Die Qualität des Kraftfeldes und seine Anwendbarkeit auf das vorliegende System bestimmen die Möglichkeiten, aber auch die Grenzen des Programmes, Moleküleigenschaften und die Genauigkeit und Zuverlässigkeit der Ergebnisse vorauszusagen.

4.2.2 Grundlagen

Im Gegensatz zur Quantenmechanik, die Moleküle in Kerne und Elektronen unterteilt, behandeln Kraftfeldmethoden die Atome und ihre Wechselwirkungen in einem Molekül als Massepunkte, die durch Kräfte miteinander verbunden sind. Mit Hilfe dieser Kräfte kann ein empirischer Satz von Potentialfunktionen mit ihren korrespondierenden Kraftfeldparametern zur Berechnung der einzelnen Energierterme herangezogen werden [85].

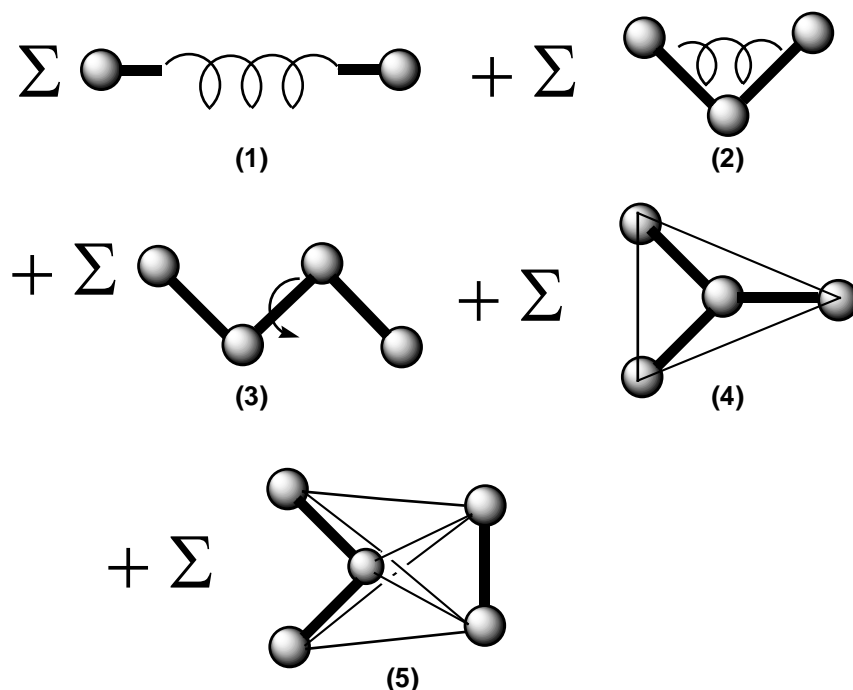


Abb. 20: Graphische Darstellung der einzelnen Kraftfeldterme: (1) Bindungslängenänderung, (2) Bindungswinkeländerung, (3) Torsionswinkeländerung, (4) „Out-of-plane“-Deformation, (5) Nicht-bindende Wechselwirkungen. Die Summe erstreckt sich über alle Fragmente des Moleküls, in denen diese Terme zum tragen kommen

Die Gesamtenergie eines Moleküls ergibt sich aus der Summe der einzelnen (in Abb. 20 dargestellten) Energierterme (siehe auch 4.2.3). Diese Energie ist abhängig von der Zusammensetzung des Moleküls (Stöchiometrie, Konnektivität, Geometrie) und von der Wahl des Kraftfeldes. Abb. 21 zeigt anhand einer einfachen Darstellung, wie man auf der Basis experimenteller Daten zu einem (empirischen) Kraftfeld und von dort zur Vorhersage neuer Daten kommt.

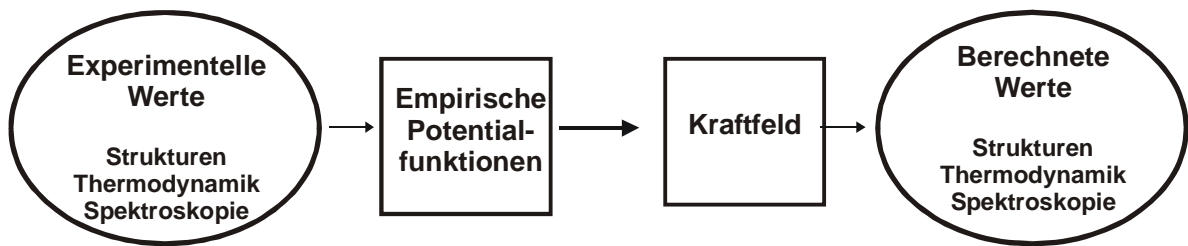


Abb. 21: Grundzüge der Entwicklung von Kraftfeldern

4.2.3 Energieterme

Nach dem fundamentalen Ansatz der Molekülmechanik setzt sich die Gesamtenergie eines Moleküls, die Kraftfeldenergie (E_{FF}), aus folgenden Einzeltermen additiv zusammen [86]:

$$E_{FF} = E_{str} + E_{bend} + E_{tors} + E_{vdW} + E_{el} + E_{cross} \quad (20)$$

Jeder dieser Terme steht für die Energie, die für die Verformung des Moleküls in der beschriebenen Art und Weise benötigt wird [69]. Der E_{str} -Term gibt die Energie wieder, die aus einer Bindungslängenänderung zwischen zwei Atomen resultiert, E_{bend} steht für die Bindungswinkeldeformation und E_{tors} für die Torsionswinkel, also für die Rotationen um eine Bindung. E_{vdW} und E_{el} beschreiben die nicht bindenden Atom-Atom-Wechselwirkungen, und E_{cross} gibt die Kopplung zwischen den ersten drei Termen untereinander wieder. Liegen alle diese Energiefunktionen sowie die Kernkoordinaten vor, so können Geometrien und Energien relativ zu anderen Geometrien berechnet werden. Stabile Moleküle entsprechen Minima auf der Potentialhyperfläche; diese kann man lokalisieren, indem man E_{FF} als Funktion der Kernkoordinaten minimiert [69, 86].

4.2.3.1 Bindungslängen

Die meisten Molekülmechanik-Programme verwenden als Ausgangspunkt eine harmonische Näherung auf der Basis des Hookschen Gesetzes. Schreibt man beispielsweise die Energiefunktion für die Bindungslängenänderung E_{str} zwischen zwei Atomen A und B als Taylorentwicklung um den Gleichgewichtsabstand R_0^{AB} und bricht die Entwicklung mit dem Ausdruck zweiter Ordnung ab, so erhält man:

$$E_{\text{str}}(R^{AB} - R_0^{AB}) = E(0) + \frac{dE}{dR}(R^{AB} - R_0^{AB}) + \frac{1}{2} \frac{d^2E}{dR^2}(R^{AB} - R_0^{AB})^2 \quad (21)$$

Diese harmonische Näherung ist die einfachste Darstellungsart und reicht für die Bestimmung der meisten Gleichgewichtsgeometrien völlig aus. Eine Vielzahl von organischen Molekülen kann so richtig wiedergegeben werden. Liegen jedoch komplexere Systeme vor, so kann die harmonische Näherung von den experimentellen Daten abweichen. In diesen Fällen kann der Taylorausdruck um Beiträge höherer Ordnung erweitert werden; effektiver ist aber die Annahme eines Morsepotentials, das das Grenzverhalten für Bindungslängenänderungen richtig wiedergibt. Man verwendet dabei eine e-Funktion, die die Energie in Richtung der Dissoziationsenergie konvergieren lässt [63, 69, 86]:

$$E_{\text{Morse}}(\Delta R) = D [1 - e^{-\alpha \Delta R}]^2 \quad (22)$$

mit D = Dissoziationsenergie und $\alpha = \sqrt{\frac{K}{2D}}$, K = Kraftkonstante der Bindung

Diese Funktion gibt das experimentelle Verhalten über einen großen Bereich des Bindungsabstandes sehr genau wieder (siehe auch Abb. 20).

Die Morsefunktion ist jedoch nicht in allen Fällen eine geeignete Beschreibung [86]. Werden z. B. Bindungslängen zu lang, so ist die resultierende Rückstellkraft sehr klein. Das kann zu extrem verzerrten Strukturen während einer Simulation führen, die nur sehr langsam ihr Konvergenzkriterium in Richtung der betreffenden Bindungslänge erreichen.

Da es für die Minimierung und die Simulation bei Raumtemperatur (300 K) ausreicht, wenn Energieunterschiede eine Genauigkeit von ca. 10 kcal/mol in der Nähe des Minimums aufzeigen, verwenden die meisten Kraftfelder eine einfache Polynomfunktion für Bindungslängenänderung [69].

Die Anzahl der Parameter kann reduziert werden, indem man kubische, quartäre, oder noch höhere Konstanten als Bestandteile der harmonischen Kraftkonstanten einführt. Eine gängige Methode besteht darin, kubische Terme an der Stelle in die Potentialfunktion mit einzubeziehen, wo es mit der Morsefunktion nicht gelingt, lange Bindungslängen wiederzugeben. So kann man Bindungslängendeformationen von sehr vielen verschiedenen Molekülen beschreiben. An kritischen Punkten (z. B. Maxima), dominieren jedoch die kubischen Terme so stark, dass eine Bindungslängenänderung nicht korrekt wieder gegeben wird. Deshalb verwenden die neueren Kraftfeldprogramme, wie z. B. MM3, anstelle der kubischen Terme Terme höherer Ordnung [87-89].

$$E_{\text{str}}(\Delta R^{AB}) = k^{AB} (\Delta R^{AB})^2 \left[1 - \alpha(\Delta R^{AB}) + \frac{7}{12} \alpha^2 (\Delta R^{AB})^2 \right] \quad (23)$$

α entspricht hier der Konstanten, die auch in der Morsefunktion erscheint.

Mit Hilfe dieser Entwicklung wird eine Potentialhyperfläche so beschrieben, dass sogar das Morsepotential für größere Bindungsabstände richtig wiedergegeben werden kann. Der Faktor 7/12 berücksichtigt die Entwicklung des Morsepotentials in Richtung höherer Ordnung [86].

In Abb. 22 und 23 sind verschiedene Potentialfunktionen für Bindungslängenänderungen im Methan wiedergegeben. Die mit „exakt“ bezeichnete Form ist aus Strukturberechnungen einer CASSCF-Rechnung entnommen [69]. In der Nähe des Gleichgewichtsabstandes ist die Beschreibung durch alle Näherungen (harmonische Näherung, P_2 , quadratische Näherung, P_4 und Morsefunktion) ausreichend genau (Abb. 23). Entfernt man sich jedoch um mehr als 0.4 Å davon, findet man signifikante Abweichungen, z. B. zwischen der quadratischen Näherung und der Morsefunktion.

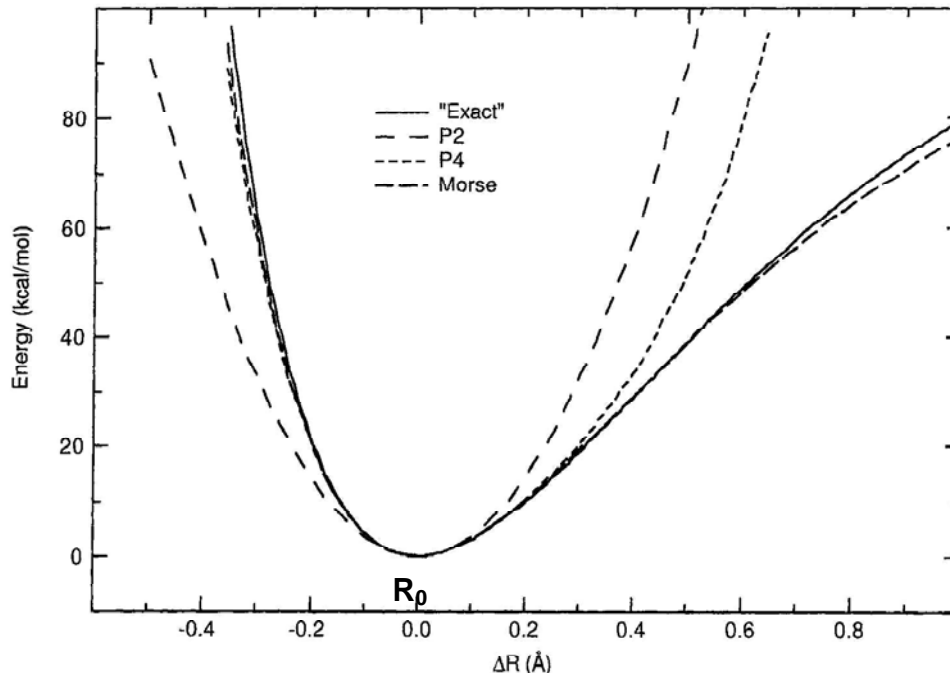


Abb. 22: Energiefunktion für Bindungslängenänderung von Methan

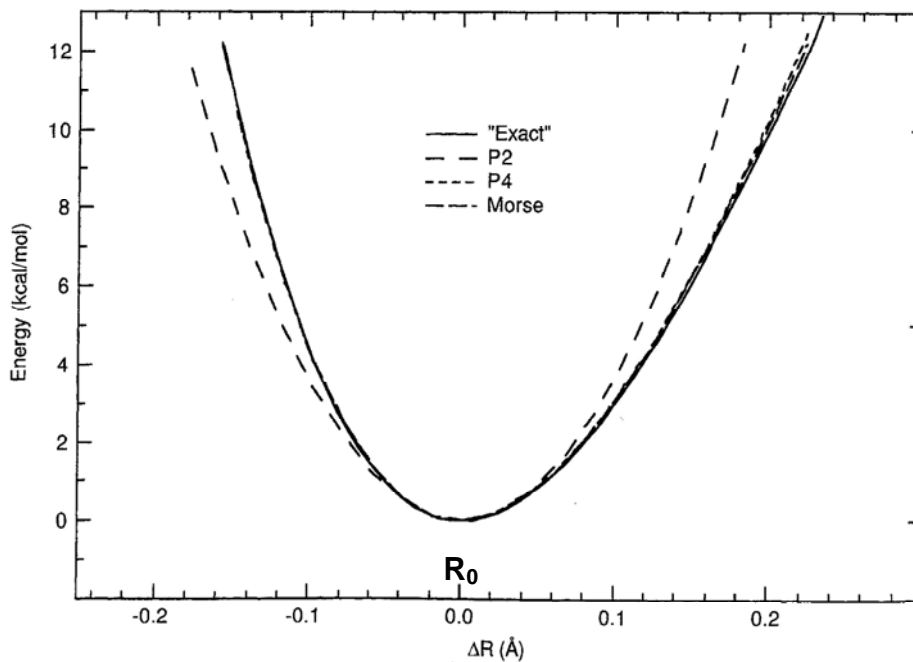


Abb. 23: Energiefunktion für Bindungslängenänderung von Methan

Der R_0 -Wert, also das Minimum der Potentialkurve (Abb. 22 und 23) wird als „natürlicher“ Bindungslängenparameter definiert. R_0 ist ein Parameter, der bei der Minimierung des Moleküls eine Geometrie mit der experimentellen Gleichgewichtsbindungslänge als Ergebnis liefert. Liegt lediglich eine Bindungslänge im gesamten

Kraftfeldausdruck vor (z. B. bei zweiatomigen Molekülen), gibt R_0 tatsächlich einen Gleichgewichtsabstand wieder. In mehratomigen Molekülen jedoch führen die anderen Terme dazu, dass ein Energieminimum mit Bindungslängen erhalten wird, die sich von R_0 unterscheiden.

Die Abweichung der berechneten gegenüber den experimentellen Bindungslängen beträgt im Mittel weniger als 0.03 Å; deshalb reicht es in der Regel vollkommen aus, einen einfachen harmonischen oder kubischen Ausdruck zu benutzen, um akzeptable und reproduzierbare Geometrien wiederzugeben.

4.2.3.2 Bindungswinkel

Auch Bindungswinkeldeformationen lassen sich mit Hilfe des Hook'schen Gesetzes beschreiben [86]. E_{bend} entspricht der Energie für die Verformung eines Winkels, der aus drei Atomen A-B-C, mit einer Bindung zwischen A und B und einer zwischen B und C, gebildet wird. Vergleichbar mit E_{str} wird auch hier ein Taylorausdruck um einen natürlichen Bindungswinkel angesetzt [69, 85, 86, 93]:

$$E_{\text{bend}}(\Theta^{ABC} - \Theta_0^{ABC}) = k^{ABC} (\Theta^{ABC} - \Theta_0^{ABC})^2 \quad (24)$$

Im einfachsten Fall wird eine harmonische Näherung 2. Ordnung verwendet, die die Verteilung jedes Winkel mit Hilfe einer Kraftkonstanten k^{ABC} und eines Referenzwinkels Θ_0^{ABC} charakterisiert [84]. Dieser Ausdruck reicht für die meisten Anwendungen aus und gibt den natürlichen Bindungswinkel mit einer Abweichung um $\pm 10^\circ$ richtig wieder.

Ist eine höhere Genauigkeit notwendig, so werden analog zu E_{str} Terme dritter Ordnung eingeführt. Diese stellen für sehr viele Winkel eine gute Beschreibung dar. Abb. 24 macht deutlich, dass es analog E_{str} meistens völlig ausreicht einen Term zweiter Ordnung („P2“) zu benutzen. Der Verlauf, der als „Exakt“ bezeichnet wird, ist aus einer MP2 (Møller-Plesset)-Rechnung entnommen worden [69, 165].

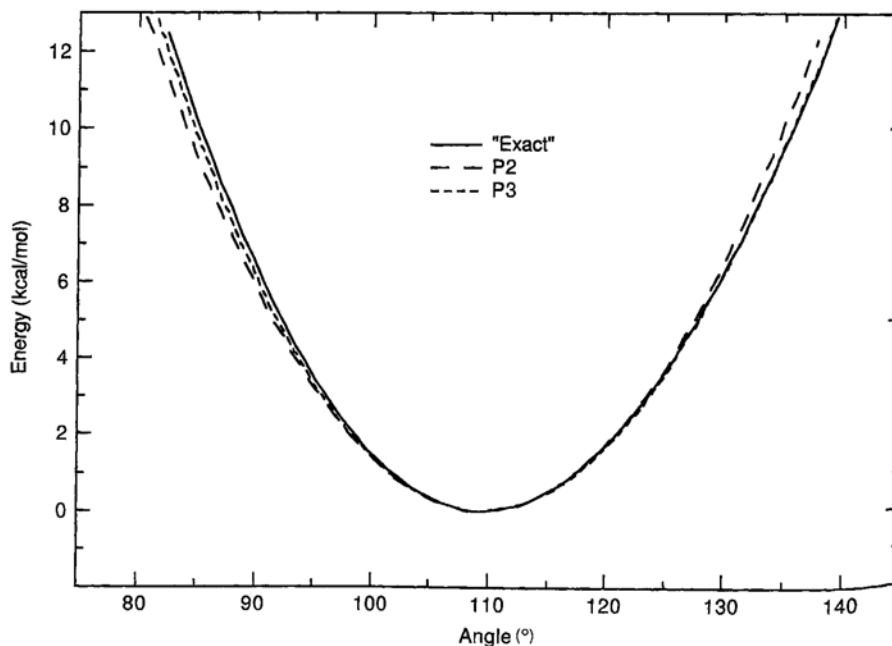


Abb. 24: Potentialfunktion der Bindungswinkeländerung für Methan

Winkel, in denen das Zentralatom zwei- oder dreiwertig ist, wie z. B. bei Ethern, Alkoholen, Sulfiden, Aminen und Enaminen, stellen ein besonderes Problem dar. In diesen Fällen bezieht sich ein Winkel von 180° auf ein Energiemaximum, also auf einen energetisch ungünstigen Zustand. Die erste Ableitung der Energie bezogen auf den Winkel sollte 0 und die zweite Ableitung negativ sein. Es kann auch ein Taylorausdruck bis zur dritten Ordnung entwickelt werden. Ein Polynom dritter Ordnung fixiert die linearen Bereiche mit Hilfe der harmonischen Kraftkonstanten und des Gleichgewichtswinkels:

$$\left(\Delta E^\ddagger = \frac{k(\Theta - \Theta_0)^2}{6} \right).$$

Ein Polynom vierter Ordnung ermöglicht eine unabhängige Anpassung der Linearitätsgrenzen. Diese angepassten Polynome wurden ausgiebig getestet und können zu höheren Ordnungen weiter entwickelt werden. Anstelle einer Winkelfunktion benutzt man meistens jedoch ein Polynom vierter Ordnung mit kubischen und quadratischen Konstanten, die für alle Atomtypen identisch sind.

Wichtig für den Anwender ist hier, dass es für jede Kombination der Atomtypen A, B und C zwei Winkelparameter (k^{ABC}, Θ_0^{ABC}) gibt, für die Werte vorhanden sein müssen (Gl. 26).

4.2.3.3 „Out-of-plane-Deformierung“

Es gibt verschiedene Möglichkeiten die nicht planare („out-of-plane“) Deformierung eines Zentrums in ein Kraftfeld mit einzubeziehen. Ein Zentralatom B (Abb. 25), das sp^2 hybridisiert ist, bindet drei Atome A, C und D bevorzugt in einer Ebene [84].

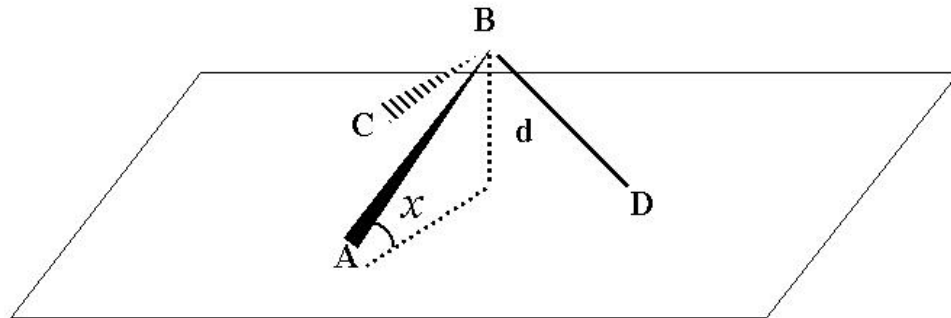


Abb. 25: Definition der „Out of-plane-Variablen“

Wird ein sp^2 -hybridisiertes Zentralatom aus der Ebene bewegt und pyramidal deformiert, so steigt die Energie an [69]. Befindet sich das Zentralatom mit seinen Liganden exakt in einer Ebene, beträgt die Summe der drei Winkel mit B als Zentralatom 360° . Man versucht nun, eine starke Pyramidalisierung ohne zu große Störungen der drei Winkel zu erreichen. Nimmt man z. B. einen Bindungsabstand von 1.5 \AA und bewegt das Zentralatom um 0.2 \AA aus der Ebene heraus, so wird die Winkelsumme um 1.7° pro Winkel, also auf insgesamt 354.8° verringert.

Drückt man die Pyramidalisierung als Winkeldeformationen ABC, ABD und CBD aus, müssten sehr große Kraftkonstanten benutzt werden. Das hätte zur Folge, daß „in-plane“-Winkeldeformationen, bei denen die planare Struktur erhalten bleibt, unrealistisch stabil würden. Deshalb wurde ein spezieller „out-of-plane“-Energiewinkelterm (E_{oop}) entwickelt, während die Winkel in der Ebene, ABC, ABD und CBD wie zuvor beschrieben behandelt werden. E_{oop} kann entweder als harmonische Funktion des Winkels χ geschrieben werden (der Gleichgewichtswinkel für planare Strukturen ist 0°) oder als quadratische Funktion des Abstands d , siehe auch Abb. 25.

$$E_{\text{oop}}(\chi^B) = k^B (\chi^B)^2 \quad \text{oder} \quad E_{\text{oop}}(d) = k^B d^2 \quad (25)$$

Terme dieser Art werden auch benutzt, um Inversionsbarrieren in sp^3 -hybridisierten Atomen zu beschreiben, so dass E_{oop} auch manchmal als E_{inv} bezeichnet wird [69, 85, 86, 93]. Entscheidend ist hier, dass es zu jedem sp^2 -hybridisierten Atom eine zugehörige „out-of-plane“-Kraftkonstante k^B gibt, die angepasst werden muss.

4.2.3.4 Torsionswinkel

Als Torsion bezeichnet man die Rotation um eine Bindung aus ihrer Gleichgewichtsgeometrie. Die dabei in Abhängigkeit vom Torsionswinkel ω auftretende Energieänderung wird als E_{tors} bezeichnet. Der Torsionswinkel bezüglich der Bindung B-C ist definiert als Winkel zwischen den Ebenen, die von den Atomen ABC einerseits und BCD andererseits aufgespannt wird (Abb. 26) [69, 85, 86, 93].

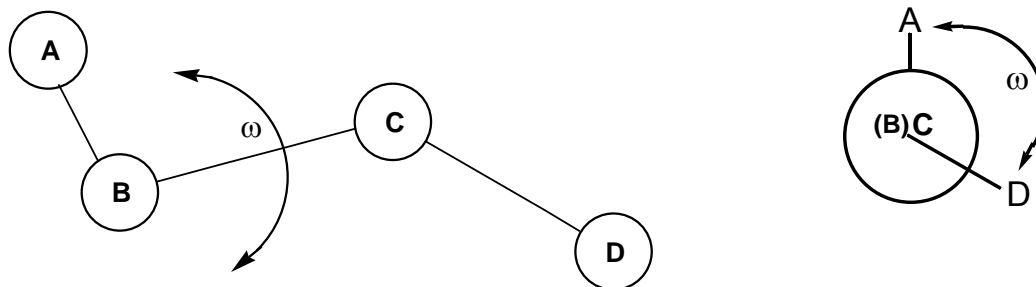


Abb. 26: Zwei Darstellungsarten für die Definition der Torsionswinkel

ω kann alle Werte zwischen -180° und $+180^\circ$ annehmen. Vereinbarungsgemäß bringt man die Bindung C-D (vorn) auf kürzestem Weg mit der Bindung B-D zur Deckung. Bei einer Linksdrehung versteht man den Winkel mit einem negativen, bei einer Rechtsdrehung mit einem positiven Vorzeichen.

Mit Hilfe der folgenden Gleichung kann die Abhängigkeit der potentiellen Energie vom Torsionswinkel ω dargestellt werden:

$$E_{tors}(\omega) = \sum_{\text{Torsionswinkel}} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\omega)] \quad (26)$$

Hierbei ist V_n die Torsionskraftkonstante, die die Größe der Rotationsbarriere um die Bindung B-C wiedergibt; n ist die Periodizität des Fourierterms und ω kann als $(\omega - \omega_0)$ dargestellt werden, wobei ω_0 den Phasenwinkel und ω den Torsionswinkel definiert.

In Abb. 27 ist beispielhaft die Potentialfunktion für eine Bindungstorsion mit einer Periodizität von zwei ($n=2$) dargestellt. Minima finden sich bei 0° , 180° und 360° , und Maxima treten auf bei 90° und 270° .

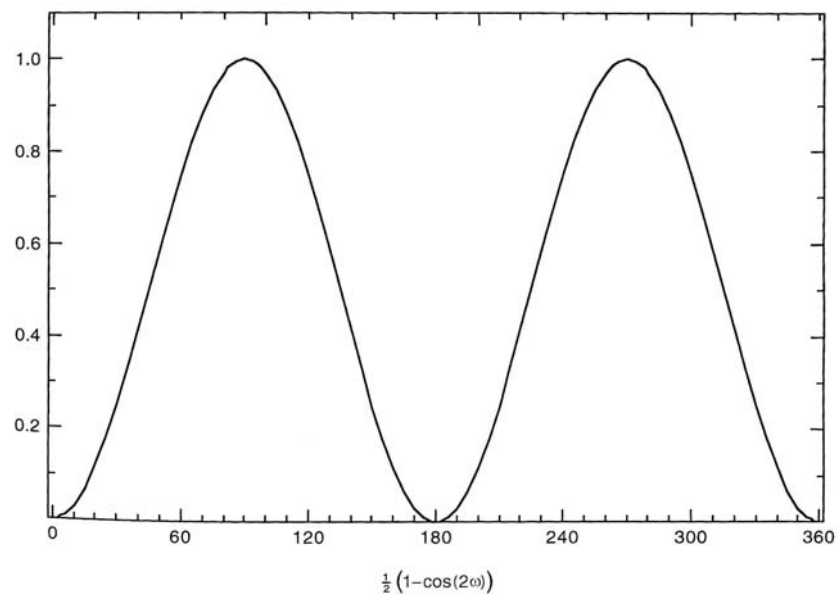


Abb. 27: Potentialfunktion der Torsionswinkeländerung für einen zweifachen Rotationsterm

Bei Systemen, die sehr große Substituenten an sp^3 -hybridisierten Atomen besitzen, findet man oft 4 Minima. Dabei wird die anti-Konformation in zwei Minima aufgespalten, die Torsionswinkel von näherungsweise $+ bzw. - 170^\circ$ besitzen. Andere Systeme, z. B. Polyfluoralkane, teilen die gauche-Minima in zwei auf, die als gauche- und ortho-Konformationen mit Winkeln von etwa $\pm 50^\circ$ bzw. $\pm 90^\circ$, bezeichnet werden. Sie bilden ein Rotationsprofil mit sechs Minima aus [97].

Die Abweichungen von den normalerweise auftretenden Rotationsprofilen mit 3 Minima um eine Einfachbindung werden durch anziehende und abstoßende van der Waals Wechselwirkungen hervorgerufen. Sie können bis zum Term $\cos(3\omega)$ im Torsionsenergieausdruck dargestellt werden. Terme höherer Ordnung beinhalten Variationen der Profilform, und einige andere Kraftfelder verwenden Terme mit $n = 4$ und $n = 6$.

Ein häufig verwendeter Ausdruck für die Torsionsenergie ist:

$$E_{\text{tors}}(\omega^{ABCD}) = \frac{1}{2} V_1^{ABCD} [1 + \cos(\omega^{ABCD})] + \frac{1}{2} V_2^{ABCD} [1 - \cos(2\omega^{ABCD})] + \frac{1}{2} V_3^{ABCD} [1 + \cos(3\omega^{ABCD})] \quad (27)$$

Man hat sich darauf verständigt, die Vorzeichen der cos-Terme so zu wählen, dass der einfache Rotationsterm ein Maximum bei 180° , der zweifache Term bei 0° (bzw. 360°) und 180° (Abb. 27) und der dreifache Rotationsterm bei 60° , 180° und 300° (-60°) (Abb. 28) besitzt.

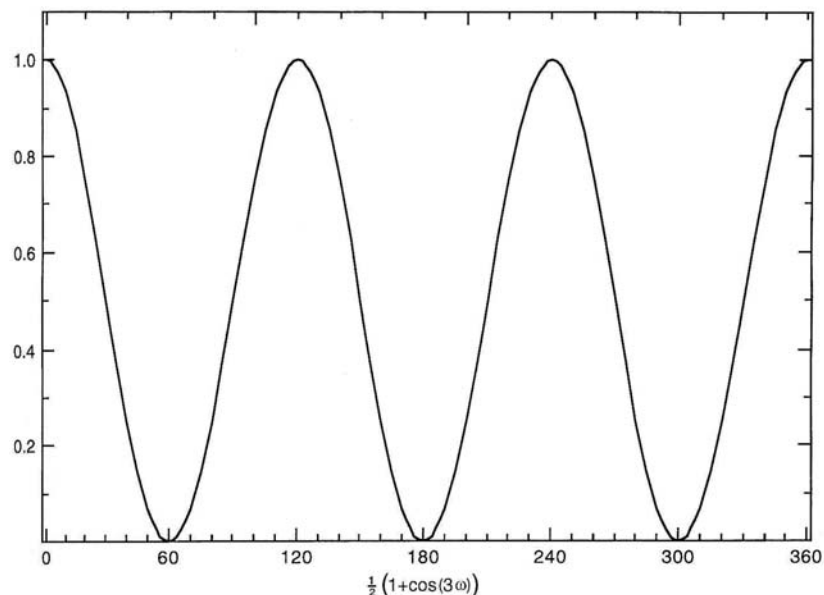


Abb. 28: Potentialfunktion für einen dreifachen Rotationsterm

Liegen 4 Atomtypen A, B, C, und D vor, gibt es immer drei Torsionsparameter V_1^{ABCD} , V_2^{ABCD} und V_3^{ABCD} , die bestimmt werden müssen [65, 69, 85, 93]. Die zuvor beschriebene „out-of-plane“-Energie (Kapitel 4.2.3.3) kann auch als „improper“ Torsionswinkel beschrieben werden [17]. Das ist dann der Fall, wenn in einer Torsionswinkel-sequenz ABCD keine Bindung zwischen C und D vorhanden ist (Abb. 25). Dann kann man die „out-of-plane“-Energie E_{oop} auch als Winkel ω^{ABCD} angeben.

4.2.3.5 Nicht bindende Wechselwirkungen

Nicht bindende Wechselwirkungen lassen sich in van der Waals Terme E_{vdW} und elektrostatische Terme E_{el} unterteilen. Van der Waals Terme von Atomen, die nicht direkt miteinander verbunden sind und selbst keine Ladungen tragen, resultieren aus abstoßenden und anziehenden Kräften zwischen einzelnen Atomen [69]. Die elektrostatischen Terme hingegen geben den Teil der Wechselwirkung wieder, der von Atomladungen herrührt.

Für große atomare Abstände geht E_{vdW} gegen Null, bei kleinen Abständen wird sie dagegen positiv, also abstoßend. Sie besitzt ein Minimum dort, wo sich zwei Atome fast berühren. Dieses Verhalten wird durch die folgende Potentialfunktion wiedergegeben:

$$E_{\text{vdW}}(R^{AB}) = E_{\text{abstoßend}}(R^{AB}) - \frac{C^{AB}}{(R^{AB})^6} \quad (28)$$

Eine Randbedingung ist, dass die Funktion für R gegen unendlich gegen Null geht. Eine bevorzugte Form des Potentials, das diese Bedingungen erfüllt, ist das sogenannte Lennard-Jones (LJ) oder 6-12-Potential [60] in dem der abstoßende Teil durch eine R^{-12} Abhängigkeit definiert wird,

$$E_{\text{LJ}}(R) = \frac{C_1}{R^{12}} - \frac{C_2}{R^6} \quad (29)$$

mit C_1 und C_2 als angepassten Konstanten.

In den meisten Fällen begnügt man sich jedoch mit einem Lennard-Jones Potential der folgenden Form:

$$E_{\text{LJ}}(R) = \varepsilon \left[\left(\frac{R_0}{R} \right)^{12} - 2 \left(\frac{R_0}{R} \right)^6 \right] \quad (30)$$

Dabei gibt ε die Tiefe des Minimums an und R_0 den Abstand, bei dem dieses Minimum erreicht wird.

Eine theoretische Begründung dafür, den abstoßenden Term mit einer R^{12} -Funktion zu beschreiben, gibt es nicht. Manchmal kann es sogar sein, dass ein Exponent von 9 oder 10 bessere Resultate liefert. Wasserstoffbindungen, die zwischen positiv polarisierten Wasserstoffatomen und elektronenreichen Substituenten gebildet werden, erfordern besondere Aufmerksamkeit im Potentialansatz. Eine gebräuchliche Form ist die folgende modifizierte Lennard-Jones-Potentialfunktion:

$$E_{\text{H-Bindung}}(R) = \varepsilon \left[5 \left(\frac{R_0}{R} \right)^{12} - 6 \left(\frac{R_0}{R} \right)^{10} \right] \quad (31)$$

Eine Alternative für diese Potentialfunktion ist die direkte Einbeziehung von Wasserstoffbrücken in den elektrostatischen Energieterm [69].

Die elektrostatische Energie E_{el} bezieht sich auf die ungleichmäßige Verteilung der Elektronen im Molekül, durch die positive und negative Partialladungen entstehen. So ist z. B. in der Carbonylgruppe der Sauerstoff partiell negativ und der Kohlenstoff partiell positiv geladen. Dies kann mit Hilfe von zwei Darstellungsarten illustriert werden. Entweder ordnet man den Atomen die entsprechenden Partialladungen zu (Abb. 29 links) oder man ersetzt die beiden Partialladungen durch einen elektrischen Dipol μ . Auch hier bekommt der Sauerstoff eine negative Ladung ($-q$) und der Kohlenstoff eine positive Ladung ($+q$), die durch einen Vektor r getrennt sind (elektrischer Dipol) [61]. Das Dipolmoment μ wird als Produkt aus Ladung q und Abstandsvektor r dargestellt und zeigt vom negativen Sauerstoff zum positiven Kohlenstoff in Form eines Pfeils.



Abb. 29: Die Carbonylgruppe in zwei unterschiedlichen Betrachtungsweisen, links mit Partialladungen, rechts als Dipol

Die Wechselwirkung zweier solcher Gruppen wird in den beiden Modellen unterschiedlich beschreiben. Im Punkt- oder Partialladungsmodell wird die

Wechselwirkung zwischen den Ladungen des Coulombpotentials beschrieben (ε = Dielektrizitätskonstante, R^{AB} = Abstand)

$$E_{el}(R^{AB}) = \frac{Q^A Q^B}{4\pi\varepsilon R^{AB}} \quad (32)$$

Die Wechselwirkung zwischen zwei Dipolen wird dagegen wie folgt berechnet [84]:

$$E_{el}(R^{AB}) = \frac{\mu^A \mu^B}{4\pi\varepsilon (R^{AB})^3} (\cos \chi - 3 \cos \alpha_A \cos \alpha_B) \quad (33)$$

Die beiden Beschreibungen werden identisch, wenn die geladenen Atome eines Moleküls sehr große Abstände besitzen.

In dieser Gleichung (Gl. 33) sind die Bindungsdipole durch Anpassung experimenteller Dipolmomente gewählt [86]. Um dies zu bewerkstelligen, muss man die effektive Dielektrizitätskonstante mit einbeziehen. Liegen große Moleküle mit vielen polaren Bindungen vor, so wird die molekülmechanische Berechnung nach Gl. 33 sehr aufwendig. Man benutzt stattdessen oft die Coulombdarstellung (Gl. 32), wobei die Punktladungen so angepasst sind, dass sie bekannten Bindungsmomenten oder Ergebnissen von ab initio Berechnungen entsprechen.

Obwohl beide Näherungen ähnlicher Natur sind, wird die Punktladungsberechnung für größere Moleküle bevorzugt, da sie mit geringerem Rechenaufwand bessere Ergebnisse liefert.

4.2.3.6 Kreuzterme

Kreuzterme werden in vielen Kraftfeldern verwendet, um Kopplungen zwischen den fundamentalen oder diagonalen Termen der Kraftfeldmatrix zu berücksichtigen (Gl. 34 - Gl. 39) [65, 69, 86]. Als Beispiel sei das Wassermolekül, mit einem Gleichgewichtswinkel von 104.5° und einem O-H-Abstand von 0.958 \AA betrachtet. Verkleinert man den Bindungswinkel auf 90° , so ändert sich auch die zugehörige optimale Bindungslänge: aus quantenmechanischen Berechnungen findet man, dass sie auf 0.968 \AA ansteigt. Wird der Winkel vergrößert, liefern die Rechnungen eine energieniedrigste Struktur mit einer Bindungslänge, die kürzer ist als die Gleichgewichtsbindungs-länge. Qualitativ lässt sich das leicht verstehen: Kommen sich die Wasserstoffatome als Folge des verringerten Bindungswinkels näher, so führt dies zu einer erhöhten Abstoßung zwischen den Wasserstoffatomen, was wiederum zu einer Verlängerung der Bindungen führt. Bei größeren Winkeln wird der Abstand zwischen den Wasserstoffatome dagegen größer, so dass sie nicht miteinander wechselwirken und sich die Bindungen leichter verkürzen lassen.

Dieses Beispiel verdeutlicht die Wechselwirkung zwischen Bindungslängen und Bindungswinkeln, die mit Hilfe der ersten 5 Terme des gesamten Kraftfeldenergieausdrucks (Gl. 18) nicht wiedergegeben werden kann. Deshalb wird an dieser Stelle ein sogenannter Kreuzterm E_{cross} eingeführt, der sowohl von der Bindungslänge als auch vom Bindungswinkel abhängig ist. Kreuzterme können ganz allgemein Terme beinhalten, die für die Kopplung zwischen zwei oder mehreren Koordinaten stehen. Die Komponenten von E_{cross} schreibt man gewöhnlich als Produkt eines Taylor-ähnlichen Ausdrucks mit individuellen Koordinaten. Der wichtigste dieser Terme ist der eben diskutierte „stretch/ bend“-Term, den man für eine A-B-C-Sequenz wie folgt aufstellt:

$$E_{\text{str/bend}} = k^{ABC} \left(\Theta^{ABC} - \Theta_0^{ABC} \right) \left[\left(R^{AB} - R_0^{AB} \right) + \left(R^{BC} - R_0^{BC} \right) \right] \quad (34)$$

Weitere Beispiele für Kreuzterme sind:

$$E_{\text{str/str}} = k^{ABC} \left(R^{AB} - R_0^{AB} \right) \left(R^{BC} - R_0^{BC} \right) \quad (35)$$

$$E_{\text{bend/bend}} = k^{ABCD} (\Theta^{ABC} - \Theta_0^{ABC}) (\Theta^{BCD} - \Theta_0^{BCD}) \quad (36)$$

$$E_{\text{str/tors}} = k^{ABCD} (R^{AB} - R_0^{AB}) \cos(n\omega^{ABCD}) \quad (37)$$

$$E_{\text{bend/tors}} = k^{ABCD} (\Theta^{ABC} - \Theta_0^{ABC}) \cos(n\omega^{ABCD}) \quad (38)$$

$$E_{\text{bend/tors/bend}} = k^{ABCD} (\Theta^{ABC} - \Theta_0^{ABC}) (\Theta^{BCD} - \Theta_0^{BCD}) \cos(n\omega^{ABCD}) \quad (39)$$

Nur einige der hier aufgeführten Kreuzterme werden wirklich benötigt, um Struktureigenschaften wiederzugeben [84].

Die Konstanten beziehen sich nicht auf alle Atomtypen, die in der Sequenz enthalten sind. In den meisten Fällen ist die Konstante nur vom Zentralatom abhängig, so daß z. B. $k^{ABC} = k^B$ gesetzt wird; oder es wird eine universelle Konstante gewählt, die atomtypenunabhängig ist. Diese Kreuzterme werden sehr instabil, wenn die berechnete Geometrie weit entfernt vom Gleichgewicht ist.

4.2.4 Klassifizierung der Kraftfelder

4.2.4.1 Class I und Class II-Kraftfelder

Die in der Literatur diskutierten Kraftfelder unterscheiden sich in der Anzahl der Energieterme ihrer Potentialfunktionen, der Verwendung von Kreuztermen, und vor allem in den verschiedenen eingesetzten Parametern. Man teilt sie allgemein ein in *Class I* und *Class II* Kraftfelder. Benötigt man ein Kraftfeld für große Systeme wie Proteine oder Nukleinsäuren, so hält man zweckmäßigerweise die Potentialfunktion so einfach wie möglich. Das bedeutet beispielsweise, dass nur harmonische Ausdrücke für E_{str} und E_{bend} eingesetzt werden; man verwendet keine Kreuzterme und die Berechnung von E_{vdW} erfolgt mit dem Lennard-Jones-Potential. Solche Kraftfelder nennt man „*Harmonische*“ oder „*Class I*“ Kraftfelder [69]. Als Beispiele für diese klassischen Kraftfelder seien das AMBER- und das CHARMM-Kraftfeld genannt, die im Kapitel 4.2.4.3 näher betrachtet werden.

Für die Berechnung von kleineren bis mittelgroßen Molekülen benötigt man dagegen Methoden, die mit größerer Genauigkeit arbeiten. Diese Kraftfelder müssen also Kreuzterme mit einbeziehen, verwenden kubische oder sogar quartäre Terme für E_{str} und E_{bend} und beschreiben die E_{vdW} mit aufwendigen Exponentialfunktionen. Die aktuelle Entwicklung von Kraftfeldern dieser Art geht dahin, nicht nur Geometrien und relative Energien wiederzugeben, sondern auch Schwingungsfrequenzen zu berechnen. Diese Kraftfelder werden als „Class II“-Kraftfelder bezeichnet. Hierzu zählen beispielsweise CFF91, PCFF, CFF (siehe 4.2.5.2), und COMPASS [118-120]. Sie werden parametrisiert mit Hilfe einer Vielzahl von experimentellen Daten und erlauben die Berechnung organischer Moleküle, die Wasserstoff, Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff, Schwefel, Phosphor und Halogene enthalten, aber auch Alkalimetallkationen und verschiedene biochemisch wichtige zweiwertige Metallkationen.

Das CFF-Kraftfeld ist für mehr Atomtypen parametrisiert als CFF91; PCFF basiert auf dem CFF91-Kraftfeld und wurde so erweitert, dass eine Behandlung auch von organischen Polymeren, (anorganischen) Metallen und Zeolithen durchgeführt werden kann. Beim COMPASS-Kraftfeld handelt es sich um eine neue Version des PCFF-Kraftfeldes. Im Allgemeinen ist die Genauigkeit der CFF-Kraftfelder größer als die der klassischen Kraftfelder, wie CVFF oder AMBER.

Zu den Class II-Kraftfeldern zählen auch die MERCK Molecular Kraftfelder MMFF94 und MMFF94s [98], die entwickelt wurden, um eine Vielzahl von chemischen Modellen zu benutzen. Das Hauptaufwendungsgebiet des MMFF94-Kraftfeldes ist die Beschreibung von Rezeptor-Ligand-Wechselwirkungen, bezogen auf Proteine und Nukleinsäuren als Rezeptoren und verschiedene chemische Strukturen als Liganden. Dieses Kraftfeld kann Liganden und Rezeptoren isoliert als auch im gebundenen Zustand beschreiben.

4.2.4.2 Rule-based Kraftfelder

Die sogenannten „Rule-based“-Kraftfelder besitzen Parameter, die ausgehend von theoretisch und experimentell abgeleiteten Regeln entwickelt wurden. Hierzu zählen das ESFF-Kraftfeld (siehe 4.2.5.3), das UNIVERSAL-Kraftfeld [99-101], das VALBOND-Kraftfeld [102] und das Dreiding-Kraftfeld [103], mit denen fast alle gängigen Elemente des Periodensystems abgedeckt werden.

Ziel der weiteren Entwicklung des ESFF-Kraftfeldes ist es, die Elemente des Periodensystems so vollständig wie möglich zu parametrisieren um Strukturen aller möglichen Moleküle und Kristalle wiederzugeben. Der Umfang dieser Kraftfeldprogramme erlaubt es hingegen nicht, exakte Schwingungsfrequenzen oder Konformationsenergien zu berechnen.

Das „Universal“-Kraftfeld (UFF) eignet sich für vielfältige Anwendungen. Alle UFF-Parameter werden ausgehend von Elementeigenschaften, ihrer Hybridisierung und ihrer Verknüpfung erzeugt. Dieses Kraftfeld ist praktisch für das gesamte Periodensystem parametrisiert und wurde für die Hauptgruppenelemente, organische Moleküle und Metallkomplexe ausgetestet.

Im VALBOND-Formalismus werden Hybridorbitalfunktionen zur Beschreibung von Molekülen verwendet. Diese Funktionen sind geeignet, um die Energien von Bindungswinkeländerungen nicht nur in der Nähe eines Energieminimums zu beschreiben, sondern auch bei sehr starken Deformationen der Winkel. Die Kombination dieser Funktion mit der „Valence-Bond-Theorie“ führt zu einem einfachen Schema für die Voraussage von Moleküleigenschaften. Strukturen und Schwingungsfrequenzen, die mit dem VALBOND-Kraftfeld berechnet wurden, stimmen sehr gut mit den experimentellen Werten einer Vielzahl von Molekülen, die Hauptgruppenelemente des Periodensystems enthielten, überein.

Auch das Dreiding-Kraftfeld ist für viele Anwendungen gut geeignet. Während spezielle Kraftfelder (4.2.4.4) dafür entwickelt wurden, eine begrenzte Anzahl von Strukturen exakt vorauszusagen, liefert das Dreiding-Kraftfeld begründete Voraussagen für wesentlich mehr Strukturen. Dies beinhaltet solche mit neuen Elementkombinationen oder Strukturen, für die nur wenige oder gar keine experimentelle Daten bekannt sind. So kann dieses Kraftfeld sehr gut für Strukturvoraussagen und dynamische Berechnungen von organischen, biologischen und anorganischen Moleküle mit Hauptgruppenelementen benutzt werden.

4.2.4.3 Klassische Kraftfelder

Das klassische AMBER-Kraftfeld (siehe 4.2.5.4) wurde an einer Standardauswahl von organischen Molekülen parametrisiert. Es gibt spezielle Parametrisierungen für Proteine, DNA und andere Molekülklassen. Man unterscheidet zwischen dem Standard-Amber-Kraftfeld, das hauptsächlich für die Beschreibung von Proteinen und Nukleinsäuren eingesetzt wird, und dem sogenannten Homans-Kraftfeld, das basierend auf AMBER für Polysaccharide erweitert wurde. Für materialwissenschaftliche Studien ist es jedoch nicht zu empfehlen.

Das CHARMM-Kraftfeld (**C**hemistry at **H**arvard **M**acromolecular **M**echanics) wurde als flexibles molekular-mechanisches und -dynamisches Paket in den Labors von Karplus entwickelt [104]. Es wird breitgefächert eingesetzt und ist gut getestet und definiert. Eine Vielzahl von Systemen, die von isolierten kleinen Molekülen bis hin zu solvatisierten Komplexen großer biologischer Makromoleküle reichen, können mit CHARMM simuliert werden.

4.2.4.4 Kraftfelder für spezielle Zwecke

Neben den Standardkraftfeldern gibt es spezielle Kraftfelder, die für besondere Problemstellungen parametrisiert wurden, beispielsweise für die Beschreibung von Gläsern, Zeolithen oder organischen Polymeren.

Eine spezielle Vereinfachung des Kraftfeldes erfolgt in der sogenannten „*United Atom*“-Näherung. Dabei werden Makromoleküle behandelt, in denen man die Protonen außer acht lässt. So werden ganze Atomgruppen zu sogenannten Pseudoatomen zusammengefasst. Diese Option wird im AMBER-, Charmm-, Gromos-, und Dreiding-Kraftfeld angeboten. Bei der Anwendung des United-Atom-Verfahrens werden die Variablen um den Faktor 2-3 reduziert, so dass es möglich wird, auch größere Systeme zu behandeln.

Die Möglichkeit, zwischen verschiedenen Kraftfeldern zu wählen und sie zu kombinieren, eröffnet beachtliche Vorteile:

Man kann einen größeren Bereich verschiedener Systeme untersuchen, identische Berechnungen mit zwei oder mehreren unabhängigen Kraftfeldern können verglichen werden, um so die Abhängigkeit der Kraftfeldresultate untereinander abzuschätzen. Die verschiedenen Potentialformen, die in den Energieausdrücken benutzt werden, steigern die Flexibilität der Kraftfeldprogramme. Man kann Exaktheit der Ergebnisse und Computerressourcen ausbalancieren. Exakte Kraftfeldberechnungen sind, wie wir oben gesehen haben, komplexer gestaltet und benötigen so mehr Computerressourcen; auch können die einzelnen Energieterme untereinander verglichen werden [65, 69].

Die Entwicklung neuer Kraftfelder wird laufend fortgesetzt und liefert immer exaktere und weitreichendere Anwendungsmöglichkeiten. Für welchen Kraftfeldtyp man sich letztendlich entscheidet, hängt auch davon ab, welche Information über ein bestimmtes System benötigt wird.

4.2.5 Ausgewählte Kraftfelder

In dem zur Verfügung stehenden Discoverprogramm kann man zwischen vier unterschiedlichen Kraftfeldern wählen.

1. CVFF
2. CFF91
3. ESFF
4. Amber

Sie werden in den folgenden Kapiteln vorgestellt.

4.2.5.1 Das CVFF-Kraftfeld („Consistent Valence Force Field“)

Dieses Kraftfeld wurde entwickelt, um Eigenschaften von Peptiden und Proteinen zu untersuchen. Es handelt sich um ein ClassI-Kraftfeld, das verbesserte anharmono-

nische Terme und Kreuzterme beinhaltet. Innerhalb des Discoverprogramms wurde es ausgiebig anhand dieser Systeme getestet und charakterisiert. Es bietet Parameter für Wasser, Aminosäuren, und andere funktionelle Gruppen [105].

Die analytische Form [106] des Energieausdrucks im CVFF-Kraftfeld lautet:

$$\begin{aligned}
 E_{\text{pot}} = & \sum_b D_b \left[1 - e^{-\alpha(b-b_0)} \right] + \sum_{\Theta} H_{\Theta} (\Theta - \Theta_0)^2 + \sum_{\Phi} H_{\Phi} [1 + s \cos(n\Phi)] \\
 & \qquad \qquad \qquad (1) \qquad \qquad \qquad (2) \qquad \qquad \qquad (3) \\
 + & \sum_{\chi} H_{\chi} \chi^2 + \sum_b \sum_{b'} F_{bb'} (b - b_0)(b' - b_0') + \sum_{\Theta} \sum_{\Theta'} F_{\Theta\Theta'} (\Theta - \Theta_0)(\Theta' - \Theta_0') \\
 & \qquad \qquad \qquad (4) \qquad \qquad \qquad (5) \qquad \qquad \qquad (6) \\
 + & \sum_b \sum_{\Theta} F_{b\Theta} (b - b_0)(\Theta - \Theta_0) + \sum_{\Phi} F_{\Phi\Theta\Theta'} \cos \Phi (\Theta - \Theta_0)(\Theta' - \Theta_0') + \sum_{\chi} \sum_{\chi'} F_{\chi\chi'} \chi\chi' \\
 & \qquad \qquad \qquad (7) \qquad \qquad \qquad (8) \qquad \qquad \qquad (9) \\
 + & \sum \mathcal{E} \left[\left(\frac{r^*}{r} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r^*}{r} \right)^6 \right] + \sum \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} \\
 & \qquad \qquad \qquad (10) \qquad \qquad \qquad (11) \qquad \qquad \qquad (40)
 \end{aligned}$$

Die Terme (1) – (4) repräsentieren die Energie für die Bindungslängenänderung (1), die Bindungswinkeldeformation (2), die Torsionswinkeldeformation (3) und die Out-Of-Plane-Wechselwirkungen (4). Anstelle eines harmonischen Potentials wird das Morsepotential verwendet. Für dieses Potential wird im Allgemeinen ein höherer Rechenaufwand benötigt als für die harmonische Form, doch da die Anzahl der bindenden Wechselwirkungen im Vergleich zu den nichtbindenden Wechselwirkungen eher gering ist, wird der Rechenaufwand nur unwesentlich größer. So verwendet man hier die exaktere Morsefunktion als Standardeinstellung. Wird jedoch ein Molekül bei hoher Energie (z. B. hoher Temperatur) simuliert, verändert sich die Morsefunktion, da die gebundenen Atome auseinanderdriften [69].

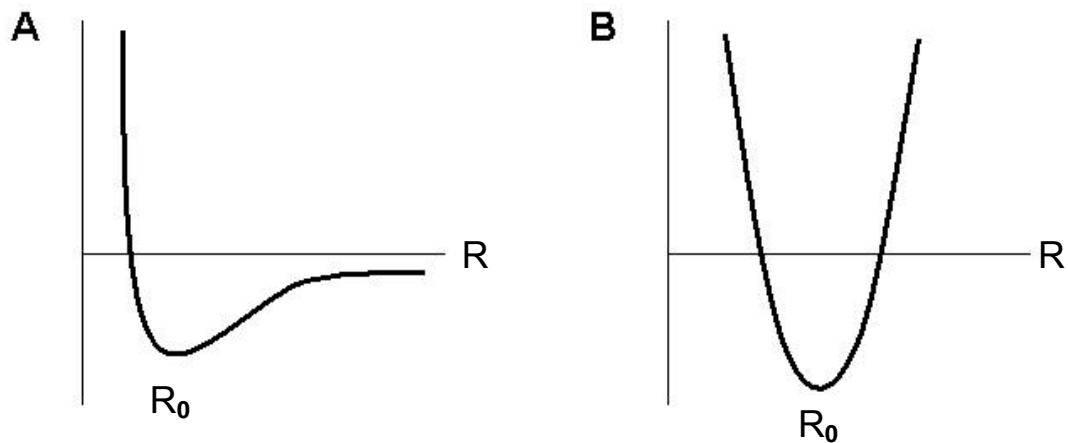


Abb. 30: A: Morse-Potential für eine Bindung, das bei starker Dehnung zu Dissoziation führen kann
 B: Harmonisches Potential einer Bindung, die nicht dissoziieren kann.

Die Terme (5) – (9) stehen für Kreuzterme und berücksichtigen die Kopplung zwischen den verschiedenen internen Koordinaten. Diese Terme werden benötigt, um experimentelle Schwingungsfrequenzen exakt wieder zu geben und somit auch die dynamischen Eigenschaften des Moleküls. Es hat sich allerdings auch gezeigt, dass diese Terme nötig sind, um Strukturveränderungen zu betrachten.

Die Terme (10) – (11) beschreiben die nichtbindenden Wechselwirkungen. Term (10) repräsentiert die van der Waals Wechselwirkung mit einer Lennard-Jones-Funktion. Term (11) ist die Coulombdarstellung der elektrostatischen Wechselwirkung. Im CVFF-Kraftfeld sind Wasserstoffbrückenbindungen eine natürliche Konsequenz der Standard van der Waals und elektrostatischen Parameter, spezielle Wasserstoffbrückenbindungsfunktionen verbessern jedoch nicht die Anpassung des CVFF-Kraftfeldes an experimentelle Daten [93, 107].

Atomtypen dieses Kraftfeldes sind für 20 Aminosäuren, Kohlenwasserstoffe und viele andere organische Modelle angegeben.

4.2.5.2 Die CFF-Kraftfeldfamilien („Consistent Force Field“)

Alle CFF-Kraftfelder (CFF91, CFF, PCFF, COMPASS) [108, 109-111] besitzen die gleiche Potentialfunktion [112]. Weil sie sich aber in der Auswahl der funktionellen Gruppen, für die sie parametrisiert wurden, unterscheiden, sind ihre Parameterwerte nicht identisch. Die analytischen Ausdrücke, die hier benutzt werden, um eine Potentialhyperfläche zu beschreiben, setzen sich wie folgt zusammen:

$$E_{\text{pot}} = \sum_b \left[K_2 (b - b_0)^2 + K_3 (b - b_0)^3 + K_4 (b - b_0)^4 \right]$$

(1)

$$+ \sum_{\Theta} H_2 (\Theta - \Theta_0)^2 + H_3 (\Theta - \Theta_0)^3 + H_4 (\Theta - \Theta_0)^4$$

(2)

$$+ \sum_{\Phi} \left[V_1 [1 - \cos(\Phi - \Phi_1^0)] + V_2 [1 - \cos(2\Phi - \Phi_2^0)] + V_3 [1 - \cos(3\Phi - \Phi_3^0)] \right]$$

(3)

$$+ \sum_{\chi} K_{\chi} \chi^2 + \sum_b \sum_{b'} F_{bb'} (b - b_0)(b' - b_0) + \sum_{\Theta} \sum_{\Theta'} F_{\Theta\Theta'} (\Theta - \Theta_0)(\Theta' - \Theta'_0)$$

(4)

(5)

(6)

$$+ \sum_b \sum_{\Theta} F_{b\Theta} (b - b_0)(\Theta - \Theta_0) + \sum_b \sum_{\Phi} (b - b_0) [V_1 \cos \Phi + V_2 \cos 2\Phi + V_3 \cos 3\Phi]$$

(7)

(8)

$$+ \sum_{b'} \sum_{\Phi} (b' - b'_0) [V_1 \cos \Phi + V_2 \cos 2\Phi + V_3 \cos 3\Phi]$$

(9)

$$+ \sum_{\Theta} \sum_{\Phi} (\Theta - \Theta_0) [V_1 \cos \Phi + V_2 \cos 2\Phi + V_3 \cos 3\Phi]$$

(10)

$$+ \sum_{\Phi} \sum_{\Theta} \sum_{\Theta'} K_{\Phi\Theta\Theta'} \cos \Phi (\Theta - \Theta_0)(\Theta' - \Theta'_0) + \sum_{i>j} \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} + \sum_{i>j} \left[\frac{A_{ij}}{r_{ij}^9} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right]$$

(11)

(12)

(13)

(41)

Sowohl die anharmonischen Diagonalterme als auch viele Kreuzterme werden benötigt, um eine gute Anpassung an die Vielfältigkeit der Strukturen und relativen Energien und Schwingungsfrequenzen zu gewährleisten. Die CFF-Kraftfelder beziehen quadratische Polynome für Bindungslängenänderung (Term 1) und

Bindungswinkeldeformationen (Term 2) und einen Fourierausdruck, bestehend aus drei Termen für Torsionswinkeldeformationen (Term 3) mit ein. Die „Out-of-plane“-Koordinate (auch Inversionskoordinate genannt, Term 4) wurde von E. B. Wilson definiert [113]. Alle Kreuzterme bis zur 3. Ordnung, die als wichtig erachtet werden, sind ebenso enthalten (Terme 5-11) [114].

Term 12 stellt die Coulombwechselwirkung zwischen den atomaren Ladungen dar und Term 13 repräsentiert die van der Waals Wechselwirkung mit einem reziproken Abstandsterm neunter Ordnung, anstelle des gewöhnlich benutzten Terms zwölfter Ordnung. Das quadratische Winkelpotential, kombiniert mit Kreuztermen, ermöglicht eine exakte Beschreibung von Alkanen, Cyclobutanen und Cyclopropanen mit Hilfe eines Parametersatzes. Innerhalb dieser Arbeit werden das CFF91- und das PCFF-Krauffeld [115-118] benutzt. Das CFF91-Krauffeld ist gut geeignet für Hydrogencarbonate, Proteine und Protein-Ligand Wechselwirkungen. Für kleine Modelle können Voraussagen über Gasphasengeometrien, Schwingungsfrequenzen, Konformationsenergien, Torsionsbarrieren und Kristallstrukturen getroffen werden. Für Flüssigkeiten können kohäsive Energiedichten, für Kristalle Gitterparameter, RMS-Atomkoordinaten, Sublimationsenergien, und für Makromoleküle Proteinkristallstrukturen vorausgesagt werden. Basierend auf quantenmechanischen Berechnungen und Simulationen wurde es explizit für Acetale, Säuren, Alkohole, Alkane, Alkene, Amide, Amine, Aromaten, Ester und Ether parametrisiert. Die Atomtypen des CFF91-Krauffeldes wurden für funktionelle Gruppen, die aus H, Na, Ca, C, Si, N, P, O, S, F, Cl, Br, I oder Ar bestehen, parametrisiert. Das PCFF-Krauffeld [94, 95, 119-121], das auf Grundlage des CFF91-Krauffeldes weiterentwickelt wurde, um Polymere und organische Materialien zu untersuchen, ist gut geeignet für organische und anorganische Materialien, anorganische Metalle, Polycarbonate, Melaminharze, Polysaccharide und andere Polymere, Lipide und Nucleinsäuren. Aus physikalischen Daten lassen sich kohäsive Energien, mechanische Eigenschaften, Kompressibilitäten, Hitzebeständigkeit und elastische Konstanten berechnen. Es behandelt Elektronendelokalisierung in aromatischen Ringen mit Hilfe von Ladungsbibliotheken. Die Atomtypen, die im PCFF-Krauffeld parametrisiert wurden, entsprechen denen des CFF91-Krauffeldes; hinzu kommen Parameter für He, Ne, Kr und Xe. Ebenso beinhaltet es Lennard-Jones Parameter für die Metalle Li, K, Cr, Mo, W, Fe, Ni, Pd, Pt, Cu, Ag, Au, Al, Sn und Pb.

4.2.5.3 Das ESFF-Kraftfeld („Extensible Systematic Forcefield“)

Die „rule-based“-Kraftfelder, zu denen das ESFF-Kraftfeld [122, 124] gehört, basieren auf Atomparametern in Kombination mit theoretisch und experimentell abgeleiteten Regeln, um bestimmte Kraftfeldparameter zu erzeugen. Diese Regeln umfassen physikalische Eigenschaften wie die Elektronegativität, Härte und Atomradien von Elementen. Die Atomparameter werden so gut wie möglich direkt aus dem Experiment bestimmt oder auch mit aufwendigen *ab initio* Verfahren berechnet.

Die entsprechende Potentialfunktion wird in Gleichung 40 dargestellt; sie beinhaltet, wie man sieht, ausschließlich Diagonalterme [122, 123].

$$E_{\text{pot}} = \sum_b D_b \left[1 - e^{(-\alpha(r_b - r_b^0))} \right]^2$$

(1)

$$+ \left[\begin{array}{l} \sum_a \frac{K_a}{\sin^2 \Theta_a^0} (\cos \Theta_a - \cos \Theta_a^0) \quad \text{(normal)} \\ \sum_a 2K_a (\cos \Theta_a + 1) \quad \text{(linear)} \\ \sum_a K_a^{\Theta_a} \cos^2 \Theta_a \quad \text{(perpendicular)} \\ \sum_a \frac{2K_a}{n^2} (1 - \cos(n\Theta_a)) + 2K_a^{(-\beta(r_{13} - \rho_a))} \quad \text{(equatorial)} \end{array} \right]$$

(2)

$$+ \sum_{\tau} D_{\tau} \left(\frac{\sin^2 \Theta_1 \sin^2 \Theta_2}{\sin^2 \Theta_1^0 \sin^2 \Theta_2^0} + \text{sign} \frac{\sin^n \Theta_1 \sin^2 \Theta_2}{\sin^n \Theta_1^0 \sin \Theta_2^0} \cos[n\tau] \right)$$

(3)

$$+ \sum_o D_o \Phi^2 + \sum_{nb} \left(\frac{A_i B_j + A_j B_i}{r_{nb}^9} - 3 \frac{B_i B_j}{r_{nb}^6} \right) + \sum_{nb} \frac{q_i q_j}{r_{nb}}$$

(4)

(5)

(42)

Die Bindungsenergie wird als Morsefunktion wiedergegeben, für die die Bindungsdissoziationsenergie D , die Referenzbindungslänge r^0 und die anharmonischen Parameter benötigt werden (Term 1).

Um diese Parameter ausgehend von atomaren Parametern zu konstruieren, werden in dem Kraftfeld nicht nur Atomtypen und Bindungsordnungen benutzt, sondern es werden auch exo- und endständige Bindungen von 3-, 4- oder 5-er Ringsystemen in Betracht gezogen. Bezogen auf Ring-, Symmetrie- und π -Bindungseigenschaften werden die ESFF-Winkeltypen in 5 Gruppen eingeteilt. Die „normale“ Gruppe beinhaltet freie ungezwungene Winkel und Winkel, die zu Ringsystemen gehören. Bei diesen Winkeln wird unterschieden, ob sie endo- oder exoständig sind bezogen auf eine Bindung im Ring. Hinzukommt, dass auch Winkel mit einem Zentralatom im Ring unterschieden werden. Die „lineare“ Klasse beinhaltet Winkel mit einem Zentralatom, das sp-hybridisiert ist, wie auch die Winkel zwischen zwei axialen Liganden in einem Metallkomplex.

Die senkrechte Klasse bezieht sich ausschließlich auf Metallkomplexe und enthält Winkel zwischen axialen und äquatorialen Liganden bezüglich eines Metallzentrums. Die vierte Gruppe ist die „äquatoriale“ Klasse, die Winkel zwischen äquatorialen Liganden von quadratisch planaren, trigonal bipyramidalen, oktaedrischen, pentagonal-bipyramidalen und hexagonal-bipyramidalen Systemen betrachtet. Als letzte Gruppe gibt es die Klasse der „ π -Systeme“ mit Winkeln zwischen Pseudoatomen. Diese Klasse wird weiter unterteilt in Terme für normale, lineare, senkrechte und äquatoriale Winkel.

Zur Bestimmung der Torsionswinkeldeformation benutzt das ESFF-Kraftfeld eine Potentialfunktion die den Sinus der Valenzwinkel in der Torsion beinhaltet; dadurch werden Diskontinuitäten vermieden, die auftreten, wenn man ein gemeinsames Cosinus-Torsionspotential verwendet. Das kann passieren, wenn einer der Valenzwinkel einen Wert von 180° erreicht. Die Sinusterme gewährleisten also, dass sich die Funktion kontinuierlich dem Wert Null nähert, unabhängig davon, ob der Valenzwinkel 0° oder 180° erreicht. Die Regeln, die mit diesem Ausdruck (Term 3) assoziiert werden, sind also abhängig von der zentralen Bindungsordnung, der Ringgröße, der Winkel, der Hybridisierung der Atome und von zwei atomaren Parametern für das Zentralatom, auf die es passt.

Die Bestimmung der „out-of-plane“ Energie entspricht der Potentialfunktion des CFF91-Kraftfeldes. Hier stellt die Koordinate Φ einen Durchschnittswert von drei möglichen Winkeln dar, bezogen auf das out-of-plane Zentrum. Der einzelne Parameter, der mit dem Zentralatom assoziiert wird, ist das Übereinstimmungskriterium.

Ladungen werden im ESFF-Kraftfeld durch Minimierung der elektrostatischen Energie festgesetzt. Dabei wird vorausgesetzt, dass die Summe der Einzelladungen der Gesamtladung des Moleküls entspricht. Die Gleichung für die elektrostatische Energie lautet:

$$E = \sum_i \left(E_i^0 + \chi_i q_i + \frac{1}{2} \eta_i q_i^2 \right) + \sum_{i>j} B \frac{q_i q_j}{R_{ij}} \quad (43)$$

Mit der Elektronegativität χ und der Härte η .

Der erste Term ist eine Taylorreihenentwicklung der Energie jedes Atoms als Funktion der Ladung und der zweite Term gibt die Coulombwechselwirkung zwischen den Ladungen wieder. Die Energieminimierung führt zu folgendem Ausdruck für die Ladung auf dem Atom i:

$$q_i = \frac{\lambda - \chi - \Delta\chi_i}{\eta_i} \quad (44)$$

wobei λ der Lagrange-Multiplikator ist, der die Gesamtladung bestimmt (dies entspricht der Elektronegativität für alle Atome) und $\Delta\chi$ ist ein geometrieabhängiger Term, der die gesamte Coulombsummiierung beinhaltet.

Gleichungen 42 und 43 geben ein delokalisiertes Bild der Ladungen in einer komplexen Näherung wieder. Metalle und ihre direkten Liganden werden mit Hilfe dieser Gleichung so behandelt, dass ihre Formalladungen aufsummiert werden, um ein Gerüst von Ladungen zu erhalten. Delokalisierte π -Systeme werden in analoger Weise betrachtet, und σ -Systeme werden in Form eines lokalisierenden Ansatzes betrachtet, in dem die Atomladung abhängig von ihrem Nachbarn ist. So werden Resonanzeffekte in π -Systemen richtig wiedergegeben.

Zur Berechnung der van der Waals Wechselwirkung benutzt man im ESFF-Kraftfeld ein 6-9 Potential. Die van der Waals Parameter werden dabei so berechnet, dass sie konsistent mit den Ladungen sind.

Atomtypen werden durch Hybridisierung, Formalladungen und Symmetrieregeln bestimmt. Diese Regeln beinhalten Bindungsordnung, Ringgröße und legen fest, ob,

bezogen auf den Ring, die Bindungen exo- oder endständig sind. Für Metalliganden werden auch cis/trans und axiale/äquatoriale Positionen betrachtet.

Man benutzt das ESFF-Kraftfeld, um Strukturvoraussagen für organische, anorganische und organometallische Systeme in der Gas- und in der kondensierten Phase zu berechnen. Es behandelt alle Elemente des Periodensystems bis hin zu Rn, ist aber nicht darauf ausgerichtet, sehr exakte Schwingungsfrequenzen oder Konformationsenergien zu liefern. Das ESFF-Kraftfeld wurde aus einer Reihe von DFT-Berechnungen abgeleitet, um so Polarisierungen, Gasphasen- und Kristallstrukturen zu berechnen. Die Parameter beinhalten organische, organometallische und ein paar anorganische Komponenten. Das Hauptinteresse gilt Kristallstrukturen und Sublimationsenergien. Parameter und Ladungen werden entsprechend der Modellkonfiguration der örtlichen Umgebung und der abgeleiteten Regeln automatisch erzeugt.

4.2.5.4 Das Amber-Kraftfeld

Das Amber-Kraftfeld [54, 55] zählt zu den sogenannten klassischen Kraftfeldern und wurde von Hartmann et al entwickelt. Es wurde aus experimentellen Daten abgeleitet und ist in erster Linie für größere Moleküle, Proteine und Nukleinsäuren parametrisiert worden. Dieses Kraftfeld ist nur für einen begrenzten Bereich anwendbar und sollte deshalb nur dann benutzt werden, wenn spezifische Parameter für die aktuelle Problemstellung entwickelt wurden. Grundsätzlich gibt dieses Kraftfeld begründete Ergebnisse für Gasphasengeometrien, Konformationsenergien, Schwingungsfrequenzen und die Freie Solvatationsenergie.

Der zugehörige Energieausdruck (46) ist vergleichsweise einfach und enthält keine Kreuzterme:

$$\begin{aligned}
E_{\text{pot}} = & \sum_b K_2 (b - b_0)^2 + \sum_{\Theta} H_{\Theta} (\Theta - \Theta_0)^2 + \sum_{\Phi} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\Phi - \Theta_0)] + \sum \epsilon \left[\left(\frac{r^*}{r} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r^*}{r} \right)^6 \right] \\
& \quad (1) \qquad \qquad (2) \qquad \qquad (3) \qquad \qquad (4) \\
& + \sum \frac{q_i q_j}{\epsilon_{ij} r_{ij}} + \sum \left[\frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} \right] \\
& \quad (5) \qquad \qquad (6) \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad (45)
\end{aligned}$$

Die ersten drei Terme beziehen sich auf die internen Koordinaten für Bindungen, Winkel und Torsionswinkel. Der 3. Term sorgt zusätzlich für korrekte Chiralität und die tetraedrische Natur der sp^3 -Zentren in der „United-Atom“-Darstellung.

Term 4 und 5 geben die van der Waals und die elektrostatischen Wechselwirkungen wieder. Der sechste Term ist ein Wasserstoffbindungsterm, der die elektrostatische Beschreibung der Wasserstoffbindungen verbessert. Die Atomtypen, die hier verwendet werden, wurden speziell für Aminosäuren und die DNA entwickelt.

Neben dem sogenannten Standard-AMBER-Krauffeld gibt es das Homans-Krauffeld [52], das die Berechnung von Oligosacchariden ermöglicht. Es benutzt dieselbe Potentialfunktion wie AMBER, wurde aber für eine bessere Anwendbarkeit auf Polysaccharide und Glykoproteine erweitert. Homans hat mit diesem Krauffeld Parameter für Monosaccharide [52] und Ergebnisse von ab initio Berechnungen glykosidischer Verbrückungen kombiniert, um so ein allgemein anwendbares Krauffeld für Kohlenhydrate zu erhalten. Bindungs-, Winkel-, und Torsionswinkelparameter für jeden Monosaccharidrest wurden direkt aus der Arbeit von S. N. Ha übernommen [52]. Die Torsionswinkelparameter wurden dann mit quantenmechanischen Berechnungen (6-31G*) von K. B. Wiberg und M. A. Murcko für Dimethoxymethan angepasst [56].

Ladungen und van der Waals-Parameter der Monosaccharide wurden auch aus der Arbeit von S. N. Ha abgeleitet [52]. Im Gegensatz zum AMBER-Krauffeld besitzt das Homans-Krauffeld keine Wasserstoffbrückenbindungsparameter. Um anomere Effekte in Kohlenhydraten wiederzugeben, wurden Atomen, entsprechend ihrer Verknüpfung verschiedene Atomtypen zugeordnet.

In der folgenden Tabelle sind die unterschiedlichen Atomtypen, die sich vom Standard-AMBER-Kraftfeld unterscheiden, aufgelistet; man beachte die Atomtypen, die sich auf Ringatome in Zuckern beziehen.

Tabelle 2: Homans Kraftfeld Atomtypen, die sich von AMBER unterscheiden

Allgemeine Klasse	Atomtypen	Beschreibung
Kohlenhydrat-Wasserstoff-Typen	AH	α anomere Wasserstoffe
	BH	β anomere Wasserstoffe
	HT	sp^3 Wasserstoffe
	HY	Hydroxylwasserstoffe
Kohlenhydrat-Kohlenstoff-Typen	AC	α anomere Kohlenstoffe
	BC	β anomere Kohlenstoffe
	CS	sp^3 Kohlenstoffe in Zuckerringen
Kohlenhydrat-Sauerstoff-Typen	OA	α anomere Sauerstoffe
	OB	β anomere Sauerstoffe
	OE	Ringsauerstoff
	OT	Hydroxylsauerstoff

4.2.5.5 MM2-Kraftfeld

Ein in der Literatur sehr bekanntes Kraftfeld, das nicht im Discoverprogramm enthalten ist, ist das MM2-Kraftfeld (Molecular Mechanics 2). Es wurde von N. L. Allinger speziell für kleinere Moleküle in der Gasphase entwickelt, die weniger als 100 bis 200 Atome besitzen [65].

Die Vorläuferversion ist das MM1-Kraftfeld von 1973 [126], das aktuellste Kraftfeld aus dieser Reihe ist das MM4-Kraftfeld von 1996 [86, 127].

Wie bei allen anderen Kraftfeldern auch, setzt sich die Gesamtenergiefunktion aus Bindungslängenänderung, Bindungswinkeländerung, Torsionswinkeländerung, nicht bindenden Wechselwirkungen und Kreuztermen zusammen. In Abhängigkeit von den Kraftfeldern gibt es Abweichungen innerhalb der Energieterme, die in den Versionen MM1 bis MM4 eine unterschiedliche Form besitzen, mehr oder weniger genauer und ausführlich sind.

In Gleichung 46 die Potentialfunktion des MM2-Kraftfeldes dargestellt:

$$\begin{aligned}
 E_{\text{pot}} = & 143.88 \frac{k_{\text{str}}}{2} (b - b_0)^2 [1 - 2.00(b - b_0)] + 0.043828 \frac{k_b}{2} (\Theta - \Theta_0)^2 [1 + 7(10^{-8})(\Theta - \Theta_0)^4] \\
 & \text{(1)} \qquad \qquad \qquad \text{(2)} \\
 & + \frac{V_1}{2} (1 + \cos \omega) + \frac{V_2}{2} (1 - \cos 2\omega) + \frac{V_3}{2} (1 + \cos 3\omega) + \varepsilon \left\{ -2.25 \left(\frac{r_V}{r} \right)^6 + 2.90 (10^{-5}) \exp \left[-12.50 \left(\frac{r}{r_V} \right) \right] \right\} \\
 & \text{(3)} \qquad \qquad \qquad \text{(4)} \\
 & + \frac{\mu_i \mu_j}{D r_{ij}^3} (\cos \chi - 3 \cos \alpha_i \cos \alpha_j) + \frac{q_i q_j}{D r_{ij}} + 5.022 \frac{k_{sb}}{2} [(b - b_0) + (l' - l_0)] (\Theta - \Theta_0) \\
 & \text{(5)} \qquad \text{(6)} \qquad \qquad \text{(7)} \qquad \qquad \text{(46)}
 \end{aligned}$$

Term (1) gibt die Bindungslängenänderung wieder. Anstelle einer Morsefunktion wird hier ein kubischer Term verwendet (die kubische Form ergibt sich durch ausmultiplizieren der Klammerausdrücke). Die Bindungswinkeländerung (Term (2)) enthält lediglich einen Term zweiter und sechster Ordnung. Die interne Rotationsenergie wird hier als Funktion des Torsionswinkel Θ wiedergegeben. Der Torsionswinkelenergieterm (Term (3)) ist als Fourieraussdruck mit 3 Termen dargestellt. Die van der Waals-Wechselwirkungen (Term (4)) sind als 6-12-Lennard-Jones-Potentials wiedergegeben, dabei wird ein Exponent von 12.5 anstelle von 12 verwendet, weil sich dies bei Proteinen als besonders geeignet erwiesen hat. Die Terme (5) und (6) stehen für die elektrostatischen Wechselwirkungen. Term (5) bezieht sich auf Dipol-Dipol-Wechselwirkungen und Term (6) auf Coulomb-Wechselwirkungen. Der siebte Term stellt einen Kreuzterm dar, der die Kopplungen zwischen Bindungsabstand und Bindungswinkel wiedergibt. Für 42 Komponenten, darunter unverzweigte und verzweigte Kohlenwasserstoffe mit iso-, neo- und methyl-Einheiten, wurden Parameter aus experimentellen Daten oder Berechnungen abgeleitet.

4.2.6 Anwendungen

4.2.6.1 Molekülmechanik

In der Molekülmechanik geht man von dem Ansatz aus, dass ein Molekül aus Atomen zusammengesetzt ist, die durch mehr oder weniger elastische Bindungen zusammengehalten werden. Dies wird in der klassischen Mechanik mit dem 2. Newtonschen Gesetz ausgedrückt. Dabei werden zeitlich unabhängige Phänomene untersucht, also beispielsweise die Energien einzelner Geometrien [69]. Oft konzentriert man sich darauf, stabile Moleküle oder Konformationen zu erhalten, indem man die Energie des Systems als Funktion ihrer Atomkoordinaten minimiert [128]. Das bedeutet, dass man analytische Ausdrücke für die 1. und 2. Ableitung, bezogen auf die Atomkoordinaten löst. Die Information, die man aus der Potentialfunktion und ihrer Ableitungen gewinnt, benutzt man in vielen Optimierungsalgorithmen, um ein lokales Minimum für Konformationen komplexer Moleküle zu erhalten. Es gibt eine Vielzahl von Minimierungsalgorithmen (siehe 4.2.6.1.1 – 4.2.6.1.3) [129], die sich hinsichtlich ihrer Genauigkeit und Effektivität unterscheiden. Allen ist gemeinsam, dass sie Ableitungen und Gradienten benutzen, um so effizient wie möglich an ein lokales Minimum zu gelangen. Das bedeutet, dass ein zuvor definiertes Konvergenzkriterium erfüllt werden muss. Im folgenden werden drei Klassen von Optimierungsmethoden vorgestellt sowie deren Vor- und Nachteile diskutiert [65].

4.2.6.1.1 Steepest Descent-Methode

Innerhalb der Minimierungsalgorithmen unterscheidet man zwischen den Algorithmen erster Ordnung, zu denen die „Steepest Descent“ und „Conjugate Gradient“-Methode gehören, und den Algorithmen zweiter Ordnung, zu denen die Newton-Raphson-Methode zählt [84].

Bei der Steepest Descent (SD)-Methode beginnt man mit einer Startgeometrie r_1 . Für ein Molekül aus N -Atomen ist r_1 ein $3N$ -dimensionaler Vektor aus den $3N$

kartesischen Atomkoordinaten bestehend [67]. Für diesen Punkt wird der Gradientenvektor g_1 berechnet, indem man die erste Ableitung der Potentialfunktion bestimmt. Dieser Vektor gibt die Richtung an, in der sich die Energie am schnellsten ändert („steepest descent“). Daher untersucht man den Effekt des negativen Gradienten ($-g_1$), indem man die Energie bei $r_1 - \lambda g_1$ berechnet. Dabei ist λ ein Parameter, der die Schrittweite der Näherung wiedergibt. Nimmt z. B. die Energie beim ersten Schritt ab, so wird λ sukzessiv um einen bestimmten Faktor vergrößert und zwar solange, bis die Energie anzusteigen beginnt. Dann verwendet man einen kleineren Wert für die Schrittlänge und man wiederholt die Suche solange, bis man ein Energieminimum gefunden hat. An diesem Minimum wird der Wert für λ gleich α und man geht über zur Beschreibung: $r_2 = r_1 - \alpha g_1$.

Eine neue Suche nach einem energiegünstigeren Minima beginnt dann mit r_2 entlang eines Vektors $r_2 - \lambda g_2$, mit g_2 , dem Gradienten bei r_2 . Dabei stehen alle folgenden Vektoren orthogonal zu den vorherigen Vektoren.

Ganz allgemein kann diese Prozedur, die oft auch als „Liniensuche“ bezeichnet wird, solange wiederholt werden, bis das Konvergenzkriterium erfüllt ist. In der Nähe eines Minimums wird dieses Konvergenzkriterium jedoch nur sehr langsam erreicht, da die unflexible Bestimmung der Suchrichtung viel Zeit in Anspruch nimmt. Für Minimierungen von Startstrukturen, die relativ weit entfernt vom nächsten lokalen Minimum sind, ist die SD-Methode eher ungeeignet. Sie wird in den meisten Fällen als Startpunkt für eine Rechnung benutzt und man wechselt über auf andere Algorithmen [65].

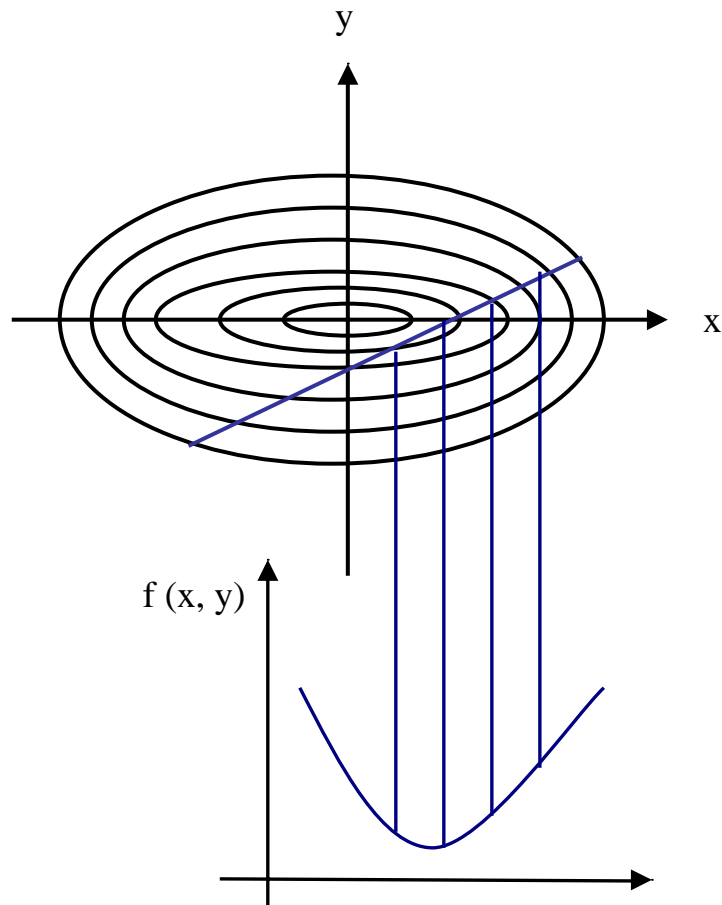


Abb. 31: Minimierung bei der Steepest Descent-Methode

4.2.6.1.2 Conjugate Gradient-Methode

Ein verbesserter Algorithmus ist das sogenannte Conjugate Gradient-Verfahren, bei dem der erste Schritt analog zum Steepest Descent eine Liniensuche darstellt [69]. Die Richtung des nachfolgenden Vektors wird aber nicht orthogonal zum Vorgänger gewählt, sondern durch Addition des aktuellen Gradienten zum vorherigen Vektor der Liniensuche. Dieser wird mit dem Faktor β_i multipliziert und man erhält:

$$d_i = -g + \beta_i d_{i-1} \quad (47)$$

$$\text{mit } \beta_i^{FR} = \frac{g_i g_i}{g_i g_{i-1}} \quad (48)$$

dabei sind g_i der aktuelle Gradient und g_{i-1} der vorangegangene Gradient.

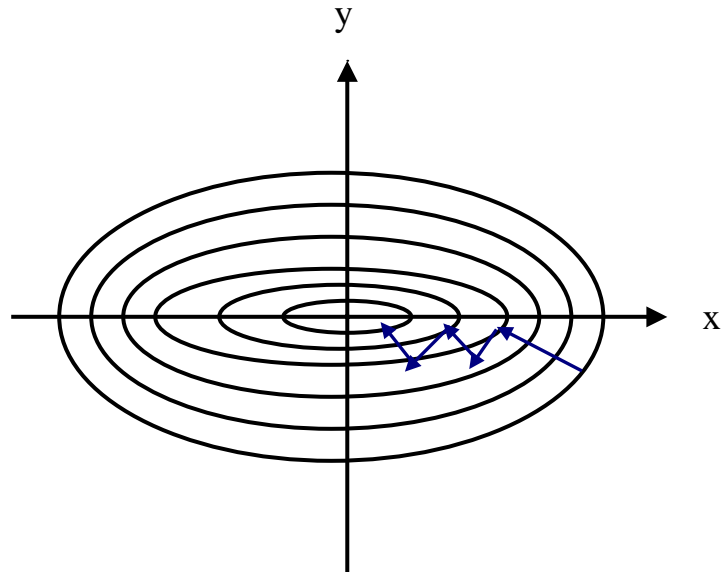


Abb. 32: Darstellung der CG-Methode

Es gibt verschiedene Varianten der CG-Methode, z. B. den Fletcher-Reeves-Algorithmus (Gl. 48) oder die Definition nach Polak und Ribiere für die skalare Konstante β_i :

$$\beta_i^{PR} = \frac{(g_i - g_{i-1})g_i}{g_{i-1}g_{i-1}} \quad (49)$$

4.2.6.1.3 Newton-Raphson-Methode

Methoden zweiter Ordnung benutzen neben den ersten Ableitungen auch zweite Ableitungen, um ein Minimum zu lokalisieren. Die Ableitungen zweiter Ordnung geben das Krümmungsverhalten einer Funktion wieder. Bei der Newton-Raphson (NR)-Methode handelt es sich um eine der einfachsten Methoden zweiter Ordnung [67]. Hier wird die Potentialfunktion bei einer Konfiguration r in verschiedene Terme r_k unterteilt, die als Taylor-Ausdruck geschrieben werden:

$$V(r) = V(r_k) + g_k^T(r - r_k) + \frac{1}{2}(r - r_k)^T B_k(r - r_k) \quad (50)$$

Hierin ist g_k der Gradientenvektor, der die Ableitung $\frac{\partial V}{\partial x_i}$ beinhaltet, und B_k ist die

Hesse-Matrix, die die zweite Ableitung $\frac{\partial^2 V}{\partial x_i \partial x_j}$ enthält. Bei mehrdimensionalen

Funktionen wird eine inverse Hesse-Matrix zweiter Ordnung verwendet, die innerhalb der NR-Methode dafür noch invertiert werden muss. Diese Optionen erfordern viel Computerzeit und Speicherbedarf, so dass man die Newton-Raphson-Methode eher bei kleineren Molekülen verwendet [67]. Ein weiterer Nachteil besteht darin, dass diese Methode nur zufriedenstellende Ergebnisse liefert, wenn sich die Startstruktur in der Nähe des Minimums befindet. So startet man bei Energieminimierungen meistens mit der SD-Methode, wechselt über zu der CG-Methode und vervollständigt die Energieberechnung mit der NR-Methode. Dies erfolgt in vielen Programmpaketen, z. B. im verwendeten Discoverprogramm, selbständig.

Die Geometrieoptimierung ist für kleinere Moleküle eine gute Methode um stabile Konformationen zu erhalten, doch weniger effektiv, wenn es sich um größere Moleküle, z. B. Biomoleküle handelt. Dann verwendet man eher die Moleküldynamik oder andere Simulationsmethoden.

4.2.6.2 Moleküldynamik

In der Molekülmechanik wird ein Molekül klassisch als ein System von Massepunkten beschrieben, die sich in einem effektiven Potential bewegen. Dieses Potential hängt ausschließlich von den momentanen Koordinaten der Atome ab. In der Moleküldynamik (MD) wird die Bewegung eines Moleküls durch Lösen der Newtonschen Bewegungsgleichungen beschrieben [130]. Dabei ermittelt man die Kräfte, die auf jedes Atom wirken, nach:

$$F_A = -\frac{\partial E(R)}{\partial R_A} \quad (51)$$

mit der Kraft F_A , der potentielle Energie $E(R)$ und dem Vektor R_A , der die Kernkoordinaten im Raum angibt.

Um die zeitliche Entwicklung des Systems zu untersuchen, muss die Bewegung jedes einzelnen Kernes verfolgt werden [65]. Die Änderung der Kernkonfiguration mit der Zeit wird durch gleichzeitige Integration der Bewegungsgleichung aller Atome wiedergegeben:

$$F_A(t) = M_A \frac{d^2 R_A(t)}{dt^2} \quad (52)$$

dabei ist t die Zeitvariable und M_A die Masse des Teilchens A.

Bei der Integration der obigen Gleichung muss darauf geachtet werden, dass relativ kleine Zeitintervalle Δt (im Pico- und Femtosekundenbereich) benutzt werden, da sich die Kräfte während einer MD-Simulation sehr schnell ändern. Dabei wird die Integration durch eine Summierung ersetzt, wie sie in Gl. 53-56 gezeigt wird.

Soll während einer MD-Simulation der gesamte Konfigurationsraum eines Moleküls untersucht werden, so kann man Energiebarrieren zwischen Minima überwinden, wenn die Höhe der Barriere kleiner als die vorhandene kinetische Energie ist [69]. Erhöht man die Temperatur im System, so besitzt es auch eine höhere kinetische Energie. Das bedeutet, dass so weitere Energiebarrieren überwunden werden können, um so den gesamten Konfigurationsraum zu bestimmen.

Es gibt eine Vielzahl von Algorithmen, die für MD-Simulationen entwickelt wurden. Darunter fallen z. B. der Verlet-, der Gear-, der Velocity Verlet-, der Leapfrog- und der Beemann-Algorithmus [56].

Im folgenden wird kurz auf den Velocity Verlet-Algorithmus [76, 131] eingegangen, der sich in der Praxis bewährt hat und auch innerhalb dieser Arbeit Verwendung findet. Betrachtet man den Startpunkt einer Simulation, so benötigt man die Kräfte (F_A), die Startgeschwindigkeiten (V_A) und die Kernkoordinaten der Startgeometrie (R_A). Die Anfangsgeschwindigkeiten werden gleich Null gesetzt, und die Kerngeschwindigkeiten entwickeln sich im Laufe der MD-Simulation durch Umwandlung von potentieller Energie in kinetische Energie. So kann man Kernpositionen und Geschwindigkeiten zu einem späteren Zeitpunkt ($t + \Delta t$) wie folgt, erhalten:

$$R_A(t + \Delta t) = R_A(t) + V_A(t + \Delta t)\Delta t \quad (53)$$

mit

$$V_A(t + \Delta t) = V_A(t) + \frac{1}{2M_A} [F_A(t) + F_A(t + \Delta t)] \Delta t \quad (54)$$

Es ergibt sich die Geschwindigkeit zum Zeitpunkt $(t + \Delta t)$ aus der Geschwindigkeit zum Zeitpunkt (t) und der mittleren Beschleunigung im Intervall Δt . Jetzt fehlen noch die Kräfte (F_A) , die während der Simulation auftreten. Diese werden mit einem vorläufigen Wert für

$$V_A(t + \Delta t_{1/2}) = V_A(t) + \frac{1}{2M_A} F_A(t) \Delta t \quad (55)$$

und

$$R_A(t + \Delta t) = R_A(t) + V_A(t + \Delta t_{1/2}) \Delta t = R_A(t) + V_A(t) \Delta t + \frac{1}{2M_A} F_A(t) \Delta t^2 \quad (56)$$

ermittelt.

Dann kann man die Kräfte für neue Geometrien quantenmechanisch berechnen.

In anderen Fällen werden die Geschwindigkeiten aber auch mit folgender Gleichung bestimmt:

$$T(t) = \frac{1}{3Nk_B} \sum_{i=1}^N m_i |v_i|^2 \quad (57)$$

darin ist $T(t)$ die Temperatur zur Zeit t , N ist die Anzahl der Teilchen, k_B die Boltzmann-Konstante, m_i die Masse des Teilchens i und v_i die Geschwindigkeit des Teilchens i .

Diese Gleichung ermöglicht es die kinetische Energie während einer MD-Simulation recht genau zu berechnen [130].

Moleküldynamische Simulationen können unter unterschiedlichsten Bedingungen durchgeführt werden. Ganz allgemein wird der thermodynamisch Zustand eines Systems mit Hilfe von einfachen Parametersätzen (N, V, E, T, P) bestimmt [60, 132]. Beispiele hierfür sind z. B. das mikrokanonische Ensemble (NVE), das kanonische Ensemble (NVT) und das isotherme-isobare Ensemble (NPT). Andere thermodynamische Eigenschaften wie die Dichte ρ , das chemische Potential μ ,

oder die Wärmekapazität c_V etc. müssen aus den Fundamentalgleichungen der Thermodynamik abgeleitet werden (Beispiel: das große Ensemble (μVT)) [138].

Das traditionelle Ensemble ist das NVE-Ensemble, bei dem die Teilchenanzahl N , das Volumen V und die Energie E konstant gehalten werden, Temperatur und Druck fluktuieren [84].

Betrachtet man das System bei konstanter Temperatur, z. B. die (Ent)-Faltung von Proteinen, so stehen zwei alternative Ensembles, das NVT- und NPT-Ensemble, zur Verfügung, bei denen Geschwindigkeiten oder Positionen bei jedem Schritt modifiziert werden. Im folgenden wird näher auf das NVT-Ensemble eingegangen.

Das kanonische, auch konstantes NVT-Ensemble genannt, besteht aus einer Vielzahl n von Systemen, die je nach dem wie groß das Gesamtsystem werden soll, in alle Richtungen vervielfältigt werden. Jedes dieser Systeme ist ein geschlossenes System, das dasselbe Volumen und dieselbe Anzahl von Teilchen N besitzt [67]. Die Systeme stehen untereinander im thermischen Kontakt, so dass Energie zwischen den einzelnen Systemen ausgetauscht werden kann, nicht aber die Teilchen. Das Ensemble befindet sich in einem „Wärmebad“ (siehe weiter unten) mit einer Temperatur T , so dass jedes System innerhalb des Ensembles (neben konstantem N und V) dieselbe Temperatur T besitzt. Die Energie hingegen wird nicht festgesetzt, sie ist variable und kann während der Simulation näher betrachtet werden.

Aus Gleichung 57 ist bekannt, dass der unmittelbare Wert der Temperatur aus dem Mittelwert der kinetischen Energie einer Vielzahl von Teilchen erhalten werden kann. Weicht diese Temperatur von der geforderten ab, skaliert man alle

Geschwindigkeiten mit dem Faktor $\left(\frac{T_{\text{gefordert}}}{T_{\text{aktuell}}}\right)^{\frac{1}{2}}$ in jedem Zeitschritt, um so die gewünschte Temperatur (Thermostat) zu erreichen [69].

In vielen Programmen wird ein sogenanntes „Wärmebad“ verwendet, das mit dem zu untersuchenden System verknüpft wird [133]. Mit Hilfe des Wärmebades wird erreicht, dass dem System schrittweise Energie entweder abgezogen oder zugeführt wird. Die kinetische Energie des Systems wird hier durch Geschwindigkeitsänderungen modifiziert, unterscheidet sich aber von einem Thermostat insofern, dass eine Wärmetransferrate miteinbezogen wird, die durch den Parameter τ gegeben ist [69].

$$\frac{dT}{d\tau} = \frac{1}{\tau} (T_{\text{gefordert}} - T_{\text{aktuell}}) \quad \Rightarrow \quad \text{Skalierungsfaktor} = \sqrt{1 + \frac{\Delta t}{\tau} \left(\frac{T_{\text{gefordert}}}{T_{\text{aktuell}}} - 1 \right)} \quad (58)$$

τ wird hier als zeitabhängige Dämpfungskonstante verstanden, die die Stärke der Kopplungen zum Wärmebad bestimmt.

Bei der Nosé-Hoover-Methode [134-137] wird das Wärmebad als ganzer Teil des Systems betrachtet und man bezieht ihn gleichzeitig mit den anderen Variablen in die Simulation mit ein. Hier wird der Druck näherungsweise konstant gehalten, indem man ein „Druckbad“ einführt. Das Druckbad wird so an das System gekoppelt, so dass es entweder komprimiert oder entspannt wird. Das wird mit Hilfe von κ , der Kompressibilität des Systems ausgedrückt. Es wird also nicht die Geschwindigkeit der Partikel verändert, sondern das Volumen des Systems ändert sich wie folgt:

$$\frac{dP}{dt} = \frac{1}{\tau} (P_{\text{gefordert}} - P_{\text{aktuell}}) \quad \text{Skalierungsfaktor} = \sqrt[3]{1 - \kappa \frac{\Delta t}{\tau} (P_{\text{gefordert}} - P_{\text{aktuell}})} \quad (59)$$

Moleküldynamische Simulationen können mit Molekülen in der Gasphase (im Vakuum), in der flüssigen Phase, oder verdünnten Lösungen, oder in der festen Phase simuliert werden. In der flüssigen und festen Phase benutzt man häufig sogenannte „periodic boundary conditions“ [69, 138]. Lösungsmittelmoleküle, z. B. Wassermoleküle werden in eine geeignete „Box“, die meistens kubische Geometrie hat, gegeben (Abb. 33). Diese Box wird dann in alle Richtungen vervielfältigt, bis ausreichend Wassermoleküle hineinpassen.

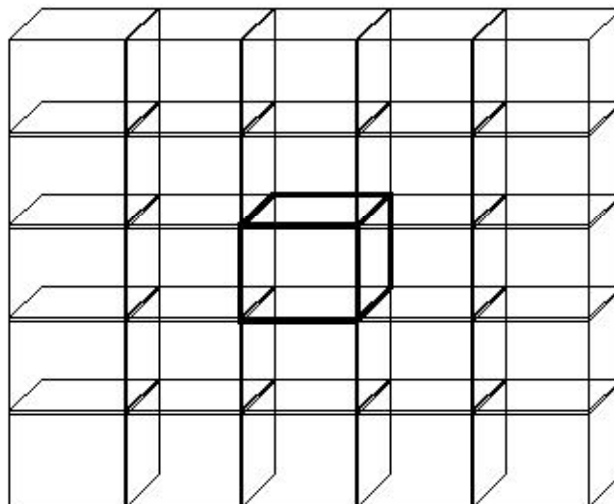


Abb. 33: „Periodic Boundary Conditions“

Ein realistisches Modell einer Lösung benötigt einige hundert bis einige tausend Moleküle. Verlässt ein Wassermolekül seine Box z. B. auf der rechten Seite, wird es auf der anderen Seite durch eine Nachbarbox von links wieder hineinkommen. So wird die Anzahl der Wassermoleküle in der Box konstant gehalten. Elektrostatische Wechselwirkungen sind sehr weitreichend und würden auch noch außerhalb der Box wirksam werden. Deshalb wird ein „cut-off“-Abstand definiert, ab dem nichtbindende Wechselwirkungen nicht mehr berücksichtigt werden. Das hat zur Folge, dass ein Großteil der Rechenzeit eingespart werden kann. Es gibt verschiedene Möglichkeiten „cut-off“-Näherungen mit einzubeziehen. Die einfachste Methode besteht darin, alle Beiträge, die größer als der definierte cut-off-Abstand werden (z. B. 15 Å) zu vernachlässigen. Das würde jedoch zu Diskontinuitäten der Energiefunktion führen. Eine bessere Methode besteht darin, zwei cut-off-Abstände zu definieren und eine „Switching-Funktion“ einzuführen, die mit der Energiefunktion für nichtgebundene Wechselwirkungen multipliziert wird. So können E_{vdW} und E_{el} gleichmäßig gegen 0 konvergieren (Abb. 34).

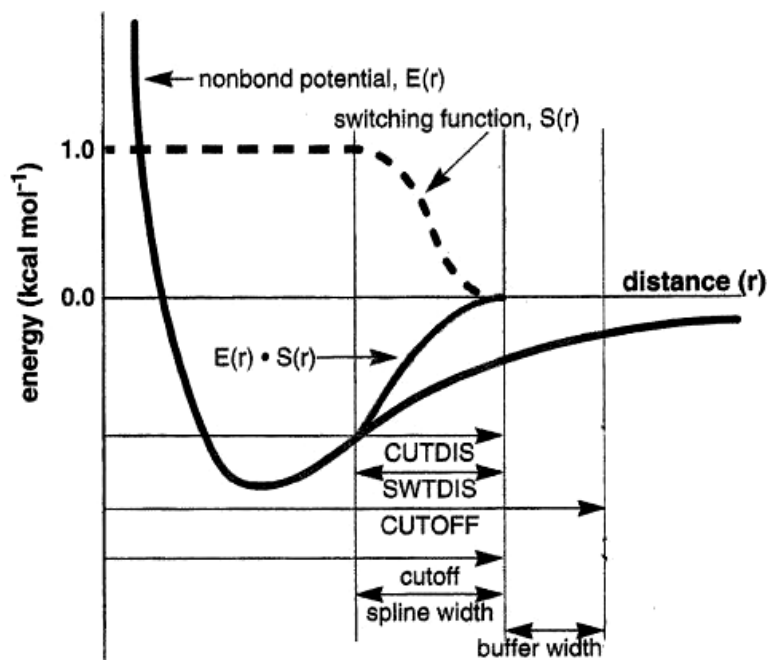


Abb. 34: Definition der cut-off-Methode

Solche Interpolationen lösen zwar das mathematische Problem bezogen auf Optimierung und Simulation, doch die chemische Bedeutung dieses cut-off-Abstandes bleibt [69]. Problematisch wird dies, wenn bei Simulationen die Verteilung der Lösungsmittelmoleküle stark vom cut-off abhängig ist.

Neuere Versuche, die Verteilungsfunktion für nicht-bindende Wechselwirkungen weiter zu entwickeln und zu verbessern, findet man in der „fast multipole“ oder „Ewald-Summationsmethode“ [139], mit denen man in der Lage ist, die elektrostatische Energie exakt zu berechnen. Die Ewald-Summationsmethode, die strenggenommen nur gültig für wahre periodische Systeme ist, wie man sie in Kristallen vorfindet, wird auch bei quasi-periodischen Modellen, die periodische Randbedingungen verwenden, benutzt. Es findet eine Unterteilung in „nahe“ und „entfernte“ Termbeiträge statt, um die elektrostatischen Wechselwirkungen genauer unterscheiden zu können [140, 141]. Die Einführung der neuen Terme reduziert den Skalierungsfaktor von N^2 auf $N^{3/2}$.

Eine wirklich gute Beschreibung der elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen Molekülen stellt aber immer noch ein großes Problem bei den Kraftfeldberechnungen dar und bedarf weiterer Untersuchungen.

4.2.7 Bewertung der Kraftfeldmethode

Kraftfeldmethoden haben gegenüber den quantenmechanischen Methoden den Vorteil, dass wesentlich größere Systeme relativ schnell untersucht werden können. Moleküle mit einigen tausend Atomen, wie z. B. Proteine, DNA und anderen Biomoleküle können mit Kraftfeldmethoden untersucht werden. Die Möglichkeit, eine große Anzahl von Partikeln zu behandeln, macht die Kraftfeldmethode zu der einzigen realistischen Methode, Simulationen durchzuführen, in denen Lösungsmittelleffekte oder Packungen von Kristallstrukturen studiert werden können. Für Systeme, für die geeignete Parameter zur Verfügung stehen, geben Kraftfeldmethoden Voraussagen über Geometrien und relative Energien in kürzester Zeit. Ebenso ist es möglich, Energiebarrieren zwischen verschiedenen Konformationen eines Moleküls zu bestimmen. Die erhaltenen qualitativen Aussagen stimmen oft gut mit den experimentellen Beobachtungen oder ab initio Berechnungen überein.

Als gravierender Nachteil ist anzumerken, dass nur Verbindungen, für die Parameter entwickelt wurden, gute Ergebnisse liefern, so dass der Bedarf an neuen Parametersätzen sehr hoch ist. Weicht ein Molekül von der Norm ab und existieren keine Parametersätze oder nur solche von schlechter Qualität, so kann die realistische Berechnung des Moleküls sehr lange dauern oder ganz scheitern. Die Qualität der Resultate kann aber auch durch Vergleiche mit anderen Berechnungen oder mit experimentellen Daten beurteilt werden.

Zusammenfassend kann man sagen, dass Kraftfeldmethoden geeignet sind, Eigenschaften von Molekülen vorauszusagen, die zu einer bekannten größeren Klasse von Verbindungen gehören. Für ungewöhnliche oder neuartige Verbindungen sind dagegen Kraftfeldmethoden mit Vorsicht anzuwenden [65, 82].

4.3 QM-MM-Methoden

Chemische Reaktionen, bei denen Bindungen geöffnet oder geschlossen werden, lassen sich mit Kraftfeldern nicht beschreiben, da in diesen klassischen Verfahren die Elektronen gar nicht behandelt werden. [69]. Mit Hilfe der Quantenmechanik lassen sich sowohl chemische Eigenschaften eines Moleküls berechnen als auch Reaktionsverläufe charakterisieren. Die quantenmechanischen Methoden sind aber sehr rechenintensiv und deshalb auf vergleichsweise kleine Systeme beschränkt.

Bei den QM/MM-Methoden (Quantum Mechanics – Molecular Mechanics-Methoden) kombiniert man die Schnelligkeit der Kraftfeldmethode mit der Genauigkeit der quantenmechanischen Verfahren [84].

Dabei wird der größte Teil eines Moleküls mit MM-Kraftfeldmethoden (Region B, Abb. 35) berechnet, der entscheidende reaktive Teil innerhalb des Moleküls aber mit Hilfe der Quantenmechanik (Region A, Abb. 35). Von der Methode her ist es schwierig, die Wechselwirkung der QM- und der MM-Region zu beschreiben (s. u.). Zusätzlich kann ein solches System in eine Lösungsumgebung (LM) gebracht werden, das periodischen Randbedingungen unterworfen ist (Abb. 35).

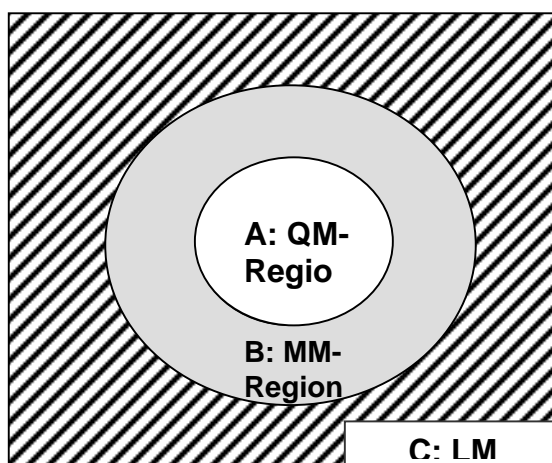


Abb. 35: Einteilung eines Systems in QM- und MM-Teil, A: reaktives Zentrum innerhalb eines Moleküls, B: Umgebung des reaktiven Zentrums, C: Lösungsmittelmoleküle des QM/MM-Systems

Diese Methode bietet sich an, um Reaktionsverläufe unter Beteiligung von Solvensmolekülen oder in einer Proteinumgebung zu studieren. Die Auswahl des QM-Teils der Rechnung muss hierbei mit großer Sorgfalt und Bedacht getroffen werden.

Bei einer Reaktion in verdünnter Lösung kann das Solvens B molekülmechanisch und der gelöste Stoff A quantenmechanisch berechnet werden. In diesem Fall kann man annehmen, dass zwischen der QM- und der MM-Region kein Ladungstransfer erfolgt. Das bedeutet, dass man die Grenzen so definieren kann, dass keine kovalenten Bindungen zwischen den beiden Regionen vorliegen.

Anders verhält es sich z. B. bei Enzym-Substrat-Systemen, bei denen ein katalytischer Rest an der Entstehung einer Bindung oder an einem Bindungsbruch beteiligt ist. Es lässt sich dann nicht mehr eindeutig entscheiden, ob z. B. eine reaktive Aminosäure der QM- oder der MM-Region zugeordnet werden soll [69].

Auch bei Substraten oder organischen Molekülen die so groß sind, dass sie nicht rein quantenmechanisch berechnet werden können, müssen QM- und MM-Regionen entlang einer kovalenten Bindung eingeteilt werden (Abb. 36).

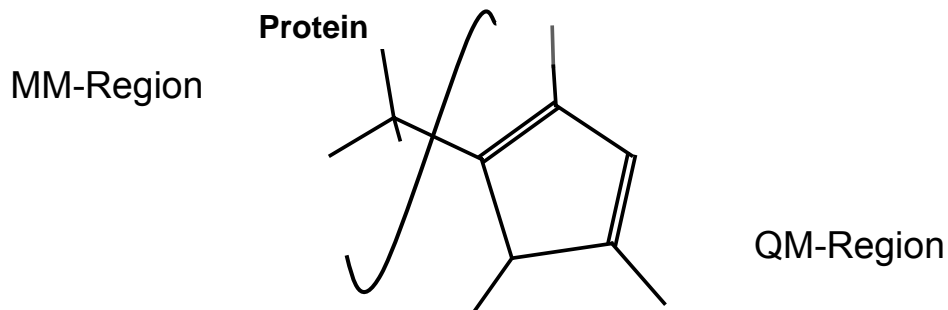


Abb. 36: Einteilung zwischen MM- und QM-Region an einer kovalenten Bindung

Dabei gibt es verschiedene Vorgehensweisen, wie die eingeteilte kovalente Bindung behandelt wird.

Beispielsweise kann man ein einzelnes Hybridorbital einführen, das die QM- und die MM-Region verbindet. Die Berechnung des Hybridorbitals erfolgt mit einer semiempirischen QCFF/ALL-Methode (quantum consistent forcefield) [145]. Eine andere Möglichkeit besteht darin, sogenannte „Link-Atome“ (L) an einem QM-Atom mit einzubeziehen (Abb. 26). Dabei handelt es sich meistens um Wasserstoffatome, mit denen ein definierter „Bindungsbruch“ zwischen MM- und QM-Region abgesättigt wird. Eine quantenmechanische Berechnung wird so durchgeführt, dass die Link-Atome nicht mit den MM-Atomen wechselwirken.

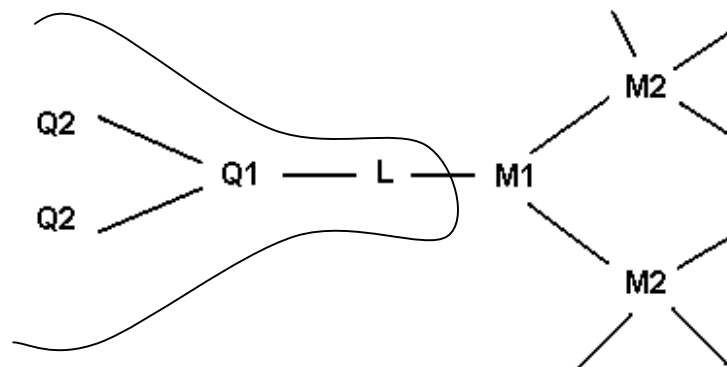


Abb. 37: Einführung von sog. „Link-Atomen“ zwischen einer QM- und einer MM-Region [143]

Für die Berechnung des quantenmechanischen Teils bieten sich die DFT-Theorie oder semiempirische Verfahren wie AM1, MNDO und PM3 und für den molekülmechanischen Teil die Standard-Kraftfelder wie AMBER oder CHARMM, an.

Bei der Kombination der beiden Rechenmethoden, ist nicht nur die Energie der beiden berechneten Regionen von Interesse, sondern auch die Wechselwirkung zwischen den QM- und MM-Regionen. Ein allgemeiner Ausdruck für die Energieberechnung sieht wie folgt aus:

$$E = E_{\text{QM}} + E_{\text{MM}} + E_{\text{QM/MM}} \quad (60)$$

Hierbei gibt der E_{QM} -Term die Energie der quantenmechanischen Berechnung wieder, während sich der E_{MM} -Term auf den molekülmechanisch berechneten Teil des Systems bezieht [144]. Der Term $E_{\text{QM/MM}}$ gibt die Wechselwirkung zwischen der MM- berechneten und der QM- berechneten Region wieder, er beinhaltet elektrostatische und van der Waals-Wechselwirkungen.

QM/MM-Verfahren sind gut geeignet für Systeme, die nicht ausreichend mit MM-Kraftfeldern beschrieben werden können und zu groß sind, um sie rein quantenmechanisch zu behandeln. Die Kombination der beiden Rechenmethoden ermöglicht es, große Systeme mit reaktiven Zentren, die nur quantenmechanisch beschrieben werden können, mit dem Computer zu berechnen.

5 Vorgehensweise

Zur Untersuchung und Charakterisierung der Oligosaccharide sollen zunächst die monomeren Zuckerbausteine mit unterschiedlichen Kraftfeldmethoden und mit den Ergebnissen der Dichtefunktionaltheorie verglichen werden.

Da für die zu untersuchenden Monosaccharide β -D-Mannuronsäure (M) und α -L-Guluronsäure (G) keine experimentellen Daten, also z. B. Röntgenstrukturdaten, vorliegen, werden als Vergleichsmoleküle die α - und die β -D-Glucose herangezogen. Der Vergleich zwischen experimentellen und berechneten Daten soll Aufschluss darüber geben, in welchem Maße Kraftfeldmethoden geeignet sind, Monosaccharide richtig zu beschreiben.

Im Anschluss daran werden die Monomere M und G über 1→4 glykosidische Bindungen zu den vier möglichen Dimeren (MM, MG, GM, GG) verknüpft; diese werden erneut mit unterschiedlichen Kraftfeldern und der Dichtefunktionaltheorie berechnet.

Um abzuschätzen, wie sinnvoll die Ergebnisse der dimeren Bausteine sind, wird eine bekannte *Pseudomonas aeruginosa* SG81-Sequenz, die aus 33 Einheiten besteht, herangezogen [50].

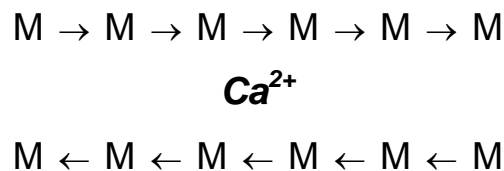
Nach einer Geometrieoptimierung wird eine Vakuumsdynamik bei 298 K für eine Nanosekunde durchgeführt. Ziel dieser Simulation ist eine statistische Bestimmung der Torsionswinkel der glykosidischen Bindungen zwischen den vier dimeren Zuckern MM, MG, GM und MM bzw. die Ermittlung der bevorzugten Stellung der sperrigen Carboxylgruppen.

Darauf aufbauend werden die hexameren Zucker (M-, G- und MG-Hexamer) modelliert. Auch diese werden einer Vakuumsdynamik unterzogen und es werden sowohl die Energien als auch die Torsionswinkel der glykosidischen Bindungen näher untersucht.

Zur Untersuchung der Wechselwirkung von Oligosacchariden mit zweiwertigen Ionen werden zunächst die zuvor berechneten Dimere mit Ca^{2+} -Ionen untersucht, da ihre Wechselwirkung mit α -L-Guluronsäure bereits bekannt ist [41-43]. Auch auf dieser Stufe werden Kraftfeldmethoden und Dichtefunktionaltheorie verwendet und die Ergebnisse miteinander verglichen.

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit werden die berechneten hexameren Stränge jeweils paarweise antiparallel angeordnet, da diese Anordnung gegenüber der

parallelen Anordnung energetisch bevorzugt ist. Nach Einfügen eines Ca^{2+} -Ions (Skizze 1) wird eine Geometrieoptimierung durchgeführt. Danach schließt sich eine Dynamiksimulation unter Vakuumrandbedingungen an. Die ermittelte Struktur wird schließlich in eine Wasserbox mit einer geeigneten Anzahl von Wassermolekülen gebracht.



Skizze 1: M-Hexamerstränge in antiparalleler Anordnung mit einem Ca^{2+} -Ion

Die MD-Simulation wird solange durchgeführt, bis sich die entsprechende Verbindung im Gleichgewicht befindet. Energien, Strukturen und Calcium-Sauerstoff-Abstände werden nach erfolgreicher Simulation zusammengestellt.

Im Anschluss daran werden zwei Hexamerstränge, aus energetischen Gründen in antiparalleler Anordnung, mit drei komplexierenden Calciumionen gerechnet. Zunächst wird eine Geometrieoptimierung durchgeführt und im Anschluss daran eine Vakuumdynamik. Dieser optimierte Komplex wird in eine Wasserbox mit einer ausreichenden Zahl von Wassermolekülen nochmals einer Dynamikrechnung unterzogen. Nach erfolgreicher Simulation werden wiederum Energien, Strukturen und die Calcium-Sauerstoff-Abstände bestimmt.

6 Ergebnisse

6.1 Monosaccharide

Um herauszufinden, welche von den kommerziell angebotenen Kraftfeldern geeignet sind, die Struktur und Energie von Oligosacchariden richtig wiederzugeben, wurden α -D-Glucose und β -D-Glucose mit verschiedenen Kraftfeldern und mittels DFT geometrieoptimiert. Zu beiden Verbindungen gibt es Energiewerte und Daten aus einer Röntgenstrukturanalyse [146-148], so dass berechnete Energien, Bindungslängen, Bindungswinkel und Torsionswinkel mit den experimentellen Werten verglichen werden können [146, 147].

Zur besseren Übersicht werden im folgenden die Strukturen der α -D-Glucose und der β -D-Glucose dargestellt:

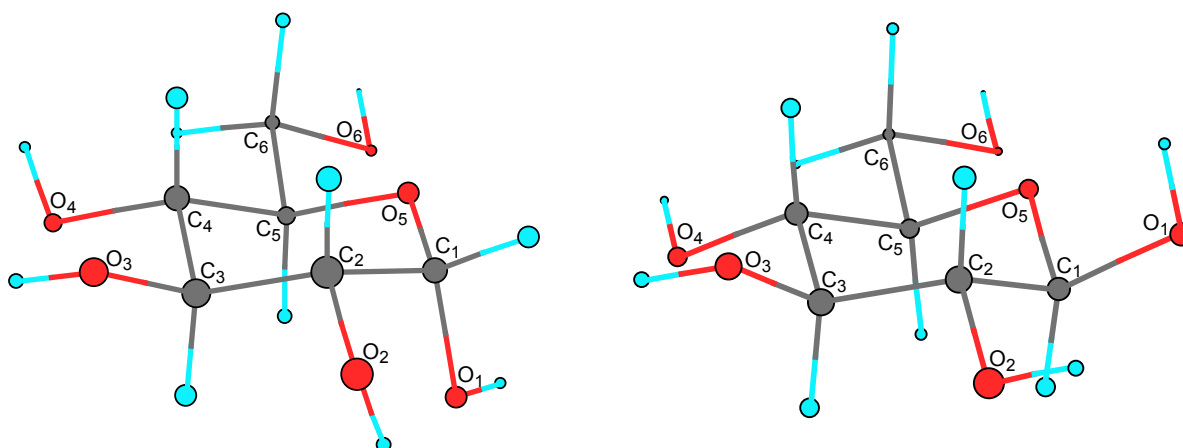


Abb. 38: Strukturen der α -D-Glucose (links) und der β -D-Glucose (rechts)

Beide Strukturen enthalten einen sechsgliedrigen Pyranosering. Der $C_5-O_5-C_1$ -Bindungswinkel mit 111° entspricht in etwa dem Tetraederwinkel im Cyclohexan (109.5°), so dass sich die Ringsysteme sehr ähneln [161]. Um die Torsions- und van der Waals-Spannung im Ring klein zu halten, nimmt die Glucose bevorzugt die Sesselkonformation ein, was anhand von Röntgenstrukturdaten bestätigt werden konnte [161]. Sterisch anspruchsvolle Substituenten (OH- und CH_2OH -Gruppen) bevorzugen in einer solchen Ringstruktur die äquatorialer Stellung, in der, im Gegensatz zu der axialen Position, die Wechselwirkung mit den anderen Substituenten geringer ist. Bei der α -D-Glucose besetzen bis auf die OH-Gruppe am

C₁-Atom alle diese Gruppen äquatoriale Positionen. In der invertierten Konformation der α -D-Glucose würden alle Positionen ausgetauscht, d. h. die sperrigen Substituenten wären in axialer Position angeordnet, nur die OH-Gruppe am C₁-Atom in äquatorialer Stellung. Diese Konformation ist energetisch ungünstig und kann an dieser Stelle vernachlässigt werden.

Bei der β -D-Glucose liegen alle OH-Gruppen, auch die OH-Gruppe am C₁-Atom, in äquatorialer Position, so dass die β -D-Glucose die stabilere und somit gegenüber der α -D-Glucose die energetisch bevorzugte Konformation darstellt. Der Energieunterschied beträgt lediglich 1 kJ/mol, so dass die Konformationen in einem dynamischen Gleichgewicht stehen [148]:

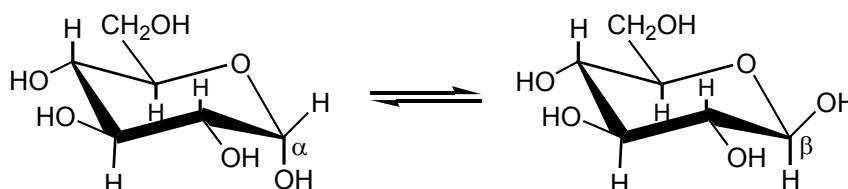


Abb. 39: Konformationsgleichgewicht zwischen der α -D-Glucose und der β -D-Glucose

Aufgrund der äquatorialen Anordnung der OH-Gruppe am C₁-Atom kommt es in der β -D-Glucose zur Ausbildung von schwachen Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Wasserstoffatom dieser OH-Gruppe und dem Ringsauerstoff. Die Energiedifferenz beträgt 1 kJ/mol (= 0.239 kcal/mol). Sie wird in der Tabelle 3 mit den Ergebnissen, die aus den Kraftfeld- und DFT-Geometrieoptimierungen erhalten wurden, verglichen.

Tabelle 3: Mit verschiedenen Methoden berechnete Energiedifferenzen zwischen β -D-Glucose und α -D-Glucose, [a] $\Delta E = E(\beta\text{-D-Glucose}) - E(\alpha\text{-D-Glucose})$

Kraftfelder bzw. DFT	ΔE ^{a)} [kcal/mol]
CFF91	-1.97
CVFF	-0.28
ESFF	2.56
PCFF	0.61
AMBER1	2.02
AMBER Ho	6.03
B3LYP	1.83
(Experiment)	-0.24)

Lediglich das CFF91- und das CVFF-Kraftfeld geben die β -D-Glucose korrekt als energieniedrigste Struktur wieder. Die anderen Kraftfelder und die B3LYP-Methode liefern als energieniedrigste Struktur die α -D-Glucose. Die Bevorzugung der α -Konformation ist bei Zuckern bekannt und auf den „anomeren Effekt“ (siehe Kapitel 3) zurückzuführen.

Die Wahl des geeigneten Kraftfeldes anhand der Energien ist schwierig. Ein weiteres Kriterium, das für oder gegen die Wahl eines bestimmten Kraftfeldes sprechen könnte, ist die Verfügbarkeit geeigneter Parameter. Da im Verlauf der Rechnungen die Wechselwirkungen von Calciumionen mit Oligosacchariden untersucht werden sollen, bieten sich das CFF91- und das PCFF-Kraftfeld an, da sie die Parameter für Calciumionen enthalten und sich in einigen Arbeiten bereits bei der Berechnung von Polysacchariden bewährt haben [152, 153]. Die Entscheidung fiel zu Gunsten des PCFF-Kraftfeldes aus, das auf dem CFF91-Kraftfeld basiert und gut geeignet ist, um organische Polymere zu untersuchen. Es bietet eine sehr komplizierte und somit exakte Potentialfunktion an, so dass eine exakte Berechnung für Calciumkomplexe garantiert werden kann. Das CVFF- und die AMBER-Methoden sind zwar auch für Calciumionen parametrisiert, man sagt ihnen aber nach, dass sie die experimentellen Ergebnisse im Vergleich zu der CFF-Familie zu ungenau wiedergeben. Auch das ESFF-Kraftfeld hätte theoretisch für die Berechnung der Calciumkomplexe verwendet werden können. Als „Rule-based“-Kraftfeld wurde es für fast alle Elemente des PSE parametrisiert und es enthält eine sehr einfache Potentialfunktion. Das hat den Nachteil, dass Moleküle mit diesem Kraftfeld nicht sehr genau berechnet werden können.

Als weiteres Kriterium für die Qualität der zur Verfügung stehenden Kraftfeldmodelle wurden die experimentellen Strukturdaten mit den berechneten (Kraftfeldrechnung und DFT) verglichen.

Zunächst erfolgt die Untersuchung der Bindungslängen, Bindungswinkel und Torsionswinkel der α -D-Glucose und im Anschluss daran die Ergebnisse der β -D-Glucose. (Die absoluten Werte für Bindungslängen, Bindungswinkel und Torsionswinkel der beiden Monosaccharide sind im Anhang zusammengestellt.)

Zur objektiveren Beurteilung der Rechenergebnisse wurde eine Fehlerrechnung für die verschiedenen Modelle durchgeführt. Die mathematischen Formeln für die Standardabweichung SD (61) und die Korrelation r (61) sind im Anhang zusammengestellt.

Die Ergebnisse der Tabelle 4 zeigen, dass es sinnvoll ist, die Bindungslängen im Ring und die Bindungslängen, die exoständig sind, getrennt zu diskutieren.

Tabelle 4: Standardabweichung SD und Korrelationskoeffizient r zwischen experimentellen und mit verschiedenen Kraftfeldern und der B3LYP-Methode berechneten Bindungslängen der α -D-Glucose

	Bindungslängen im Ring		Exoständige Bindungslängen	
	S.D.	r	S.D.	r
CFF 91	0.00795	0.99322	0.01834	0.92008
CVFF	0.00871	0.98757	0.01858	<i>0.92915</i>
ESFF	0.00687	<i>0.99534</i>	0.01834	0.92008
PCFF	0.00687	<i>0.99534</i>	0.01609	<i>0.92824</i>
AMBER	0.00815	0.98654	0.02639	0.84116
B3LYP	0.01300	0.97704	0.01969	0.88857

Für die Bindungslängen des 6-Ringes liefern das PCFF- und das ESFF-Kraftfeld die beste Korrelation (kursiv gedruckt). Aber auch die übrigen Kraftfelder und die DFT-Rechnung zeigen mit einer Korrelation, die größer als 0.97 ist, gute Übereinstimmungen mit dem Experiment. Die Berechnung der exoständigen Bindungen hingegen liefert Korrelationen, die zwischen 0.84 und 0.92 liegen. Dabei schneiden das CVFF- und das PCFF-Kraftfeld am besten ab, das Amber-Kraftfeld zeigt die schlechteste Korrelation.

Neben den Bindungslängen interessiert auch die Übereinstimmung der berechneten Bindungswinkel mit dem Experiment. In Tabelle 5 sind die Daten analog zu Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 5: Standardabweichung SD und Korrelationskoeffizient r zwischen experimentellen und mit verschiedenen Kraftfeldern und der B3LYP-Methode berechneten Bindungswinkeln der α -D-Glucose

	Bindungswinkel im Ring		Exoständige Bindungswinkel	
	S.D.	r	S.D.	r
CFF 91	0.74461	<i>0.90213</i>	1.71311	<i>0.67837</i>
CVFF	1.50264	<i>0.86670</i>	1.46760	0.50507
ESFF	0.87990	<i>0.85917</i>	1.51071	0.36634
PCFF	0.90729	<i>0.86983</i>	2.35244	0.35119
AMBER	2.16067	0.40603	2.46089	0.24442
B3LYP	1.47538	0.78294	2.56015	0.43396

Sowohl für die Bindungswinkel im Ring als auch für die exoständigen Bindungswinkel liefert das CFF91-Kraftfeld die beste Korrelation (kursiv gedruckt). Aber auch das PCFF-, das CVFF- und das ESFF-Kraftfeld schneiden bei der Berechnung der Bindungswinkel im Ring mit einer Korrelation von ca. 0.86 gut ab.

Torsionswinkel sind für den 3-dimensionalen Aufbau eines Moleküls von großer Bedeutung. In einem planaren Molekül gibt es nur Torsionswinkel von 0° oder 180° ; erst Werte, die von der exakten cis- oder trans-Anordnung zweier Bindungen abweichen, weisen auf eine nicht-planare Struktur hin. In einem regelmäßigen aus tetraedrischen Bausteinen aufgebautem Sechsring in der Sesselkonformation haben alle Diederwinkel Werte von 60° oder 180° . Abweichungen davon deuten auf eine nicht reguläre Struktur hin.

Beispielsweise beträgt der Diederwinkel zwischen zwei cis-ständigen äquatorialen OH-Bindungen im Cyclohexan nicht 60° , sondern nur 56° [158]. Der Ring ist also deutlich flacher als es nach dem Tetraedermodell zu erwarten wäre. Es ist interessant zu untersuchen, welche Struktur der Sechsring in den beiden Glucosemolekülen hat und ob die theoretischen Modelle diese Strukturen korrekt wiedergeben.

Die Ergebnisse der Fehlerberechnung für die Torsionswinkel im Ring und für die exoständigen Torsionswinkel sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Tabelle 6: Standardabweichung SD und Korrelationskoeffizient r zwischen experimentellen und mit den verschiedenen Kraftfeldern und der B3LYP-Methode berechneten Torsionswinkeln der α -D-Glucose

	Torsionswinkel im Ring		Exoständige Torsionswinkel	
	S.D.	r	S.D.	r
CFF 91	1.1575	0.99982	1.71311	0.99984
CVFF	2.95422	0.99872	6.32786	0.99834
ESFF	2.81975	0.99885	2.39089	0.99971
PCFF	2.52837	0.99909	2.27396	0.99973
AMBER	5.15403	0.99672	7.96691	0.99690
B3LYP	5.54652	0.99576	6.43987	0.99787

Sowohl die endo- als auch die exoständigen Torsionswinkel werden von allen Kraftfeldern und der DFT-Rechnung mit einer Korrelation von ca. 0.99 gut wiedergegeben, die besten Resultate liefern dabei das CFF91- und das PCFF-Kraftfeld.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die DFT- und die AMBER-Rechnungen die größten Abweichungen bei der Berechnung der experimentellen Strukturparameter lieferten. Die beste Übereinstimmung ist dagegen bei den CFF91- und den PCFF-Rechnungen zu beobachten; dies betrifft die Bestimmung der Torsionswinkel. Akzeptable Ergebnisse liefern aber auch die ESFF- und der CVFF-Methode.

Analog zu der Berechnung der α -D-Glucose sind in Tabelle 7 die Ergebnisse der Geometrieoptimierung der β -D-Glucose mit verschiedenen Kraftfeldern dargestellt. Auch hier sind die Bindungslängen im Ring und die exoständigen Bindungslängen getrennt voneinander zusammengestellt.

Wie schon bei den α -D-Glucose-Rechnungen liefern das PCFF- und das ESFF-Kraftfeld die besten Bindungslängen für den Ring. Aber auch die DFT-Methode und die anderen Kraftfelder sind mit einem Korrelationskoeffizient von 0.98 in der Lage, die Bindungslängen im Ring richtig wiederzugeben. Die exoständigen Bindungslängen werden hingegen am besten von der DFT- und der PCFF-Rechnungen beschrieben; bei der Berechnung der α -D-Glucose erwiesen sich die

CVFF- und PCFF-Krauffelder als die für exoständige Bindungslängen geeignetste Methoden.

Tabelle 7: Standardabweichung SD und Korrelationskoeffizient r zwischen experimentellen und berechneten Bindungslängen der β -D-Glucose

	Bindungslängen im Ring		Exoständige Bindungslängen	
	S.D.	r	S.D.	r
CFF 91	0.01601	0.99322	0.01750	0.92750
CVFF	0.00812	0.98757	0.01830	0.93094
ESFF	0.01823	0.99534	0.01750	0.92750
PCFF	0.01823	0.99534	0.01514	0.93718
AMBER	0.00754	0.98654	0.02608	0.84541
B3LYP	0.00981	0.98465	0.01169	0.96298

Die Tabelle 8 fasst die Ergebnisse zusammen, die bei der Berechnung der Bindungswinkel für die β -D-Glucose erhalten wurden.

Tabelle 8: Standardabweichung SD und Korrelationskoeffizient r zwischen experimentellen und berechneten Bindungswinkel der β -D-Glucose

	Bindungswinkel im Ring		Exoständige Bindungswinkel	
	S.D.	r	S.D.	r
CFF 91	1.41547	0.69211	2.99649	0.49082
CVFF	1.81937	0.69522	1.94343	0.60508
ESFF	1.23837	0.79027	2.68446	0.50830
PCFF	1.44930	0.67261	3.08821	0.49288
AMBER	2.45932	0.03032	2.78793	0.18315
B3LYP	1.58223	0.58223	2.08712	0.64344

Im Gegensatz zu den Ergebnissen der α -D-Glucose schneidet dabei nicht das CFF91-Krauffeld am besten ab, sondern das ESFF-Krauffeld bei der Berechnung der endoständigen und die DFT-Methode bei der Berechnung der exoständigen Bindungswinkel.

Für die β -D-Glucose liegen keine experimentellen Daten der Torsionswinkel vor, so dass an dieser Stelle ein Vergleich mit den einzelnen Rechenmethoden nicht durchgeführt werden kann.

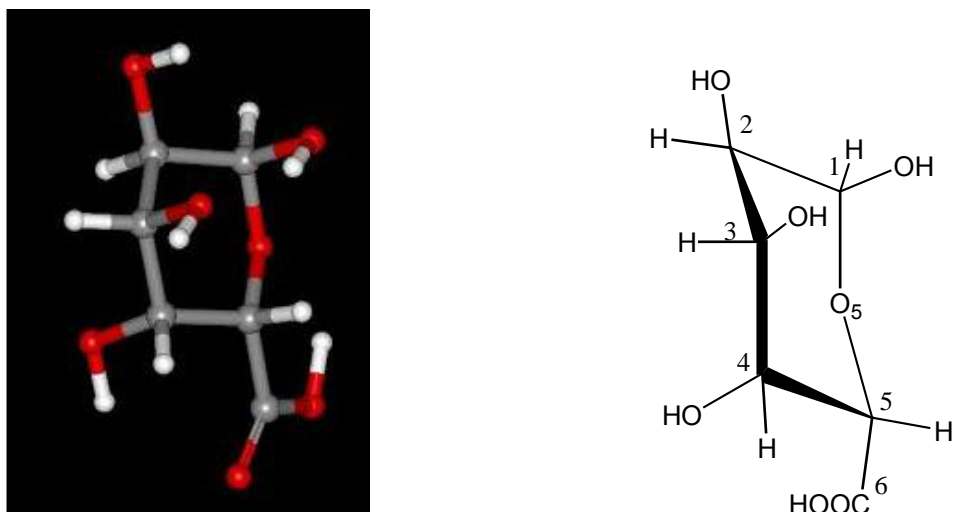
Im Anschluss an die Untersuchung der α -D-Glucose und der β -D-Glucose werden nun die vergleichbaren Monosaccharide α -L-Guluronsäure (G) und β -D-Mannuronsäure (M) näher betrachtet.

Wie die D-Glucose liegen auch sie in der geschlossenen Pyranoseform vor, wobei die OH-Gruppen an der C₁ bis C₂-Position entweder axial oder äquatorial vorliegen können. Des weiteren besteht im Gegensatz zu der Glucose die Möglichkeit, Acetylgruppen an der C₂- und C₃-Position auszubilden; anstelle der CH₂OH-Gruppe an der C₅-Position liegt bei diesen Monosacchariden die COOH-Gruppe vor.

α -L-Guluronsäure (G) und β -D-Mannuronsäure (M) sind die hauptsächlichen Bausteine der Bakterien- und Algenalginat [31]. Der Unterschied zwischen diesen beiden Alginaten besteht in der Anwesenheit von Acetylgruppen an den Mannuronatbausteinen [21, 32]. Acetylierung schützt die Polysaccharide z. B. vor Epimerisierung und weiterem enzymatischen Abbau [33]. Epimerisierung bedeutet, dass durch Einwirkung von Katalysatoren oder spezifischen Enzymen (Epimerasen) die Konfiguration an einem asymmetrischen Kohlenstoffatom einer organischen Verbindung geändert wird. β -D-Mannuronsäure (M) kann durch Epimerisierung in α -L-Guluronsäure (G) umgewandelt werden (Umkehrung der Konfiguration am C₅-Atom) [34]. Deshalb bezeichnet man diese Zucker als Konfigurationsepimere.

Analog zu den Glucose-Rechnungen werden im folgenden die beiden Konfigurationsepimere M und G mit verschiedenen Kraftfeldmodellen und der Dichtefunktional-theorie untersucht.

Die α -L-Guluronsäure (Abb. 40) besitzt äquatoriale Gruppen am C₂-Atom (-OH) und am C₅-Atom (-COOH). Axiale Gruppen finden sich am C₃-Atom (-OH), am C₁- und C₄-Atom (-OH), die somit für eine axiale C₁→C₄-Verknüpfung weiterer Bausteine verantwortlich sind. Um diese Verknüpfung hervorzuheben, wird die α -L-Guluronsäure in der folgenden senkrechten Anordnung dargestellt:

Abb. 40: Struktur der α -L-Guluronsäure (G)

Die Berechnung der beiden Uronsäuren erfolgt mit der B3LYP-Methode und dem Basissatz 6-31G** (Programmpaket Gaussian 98).

Dabei ergaben sich zwei akzeptable Konformationen, die miteinander im Gleichgewicht stehen. Sie werden als 4C_1 - bzw. 1C_4 -Konformere bezeichnet. Das 4C_1 -Konformer der α -L-Guluronsäure trägt an der C₄- und an der C₁-Position des Ringes äquatoriale OH-Gruppen, deren weitere Verknüpfung über diese Atome erfolgt. Das 1C_4 -Konformer trägt ebenfalls OH-Gruppen an der C₄- und an der C₁-Position, diese sind jedoch axial zum Ring angeordnet. Bei der Umwandlung von einer Konformation zur anderen, werden axiale Gruppen in äquatoriale umgewandelt und umgekehrt.

Das Auftreten dieser beiden Konformere ist auch von vielen anderen Zuckern, wie z. B. der Glucose, bekannt [148, 149].

Bei der Optimierung der α -L-Guluronsäure stellt sich die 1C_4 -Konformation, aufgrund ihrer äquatorialen Anordnung der Carboxylgruppe, als stabilere Konformation heraus (Abb. 41).

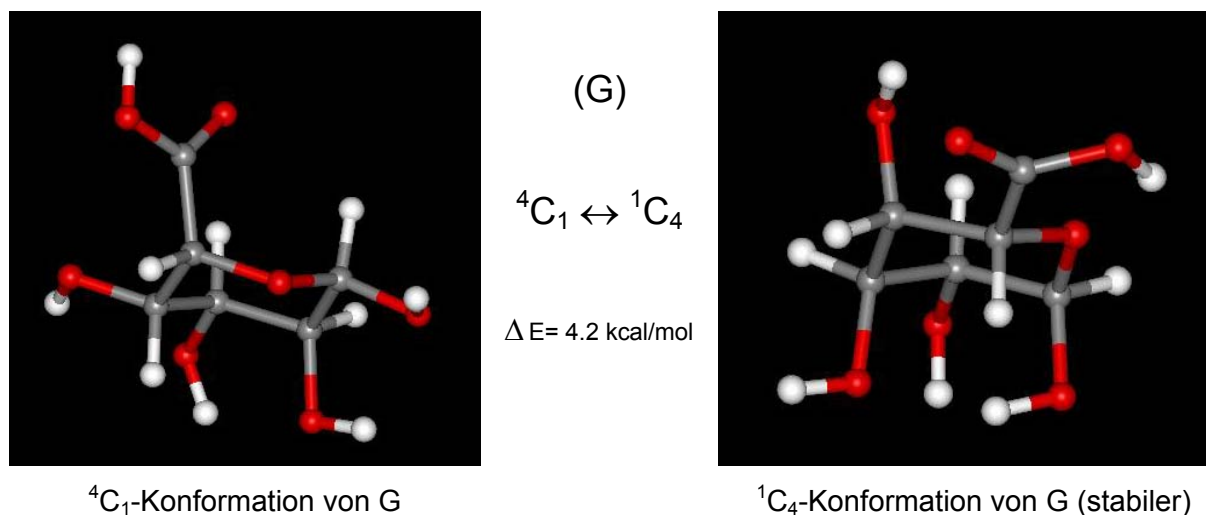


Abb. 41: Mit B3LYP/6-31G** berechnetes Konformationsgleichgewicht der α -L-Guluronsäure (G)

Das Wasserstoffatom der Carboxylgruppe bildet eine Wasserstoffbrückenbindung zum Ringsauerstoff aus, so dass es zu einer Energieerniedrigung kommt. Die Anordnung von äquatorialen Gruppen ist bevorzugt und in der Literatur, z. B. bei der Glucose und anderen Zuckern, bereits beschrieben [148-150].

Mit den verschiedenen Kraftfeldern und der DFT-Methoden werden im folgenden die Konformationsgleichgewichte berechnet und deren Energiedifferenzen gegenübergestellt (Tabelle 9).

Aufgrund der oben beschriebenen Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen sollte die 1C_4 -Konformation der α -L-Guluronsäure gegenüber der 4C_1 -Konformation energetisch günstiger sein. Das kann auch mit Hilfe der B3LYP-Rechnung bestätigt werden. Im Gegensatz dazu ist keines der ausgewählten Kraftfelder in der Lage diese Tendenz richtig wiederzugeben (Tabelle 9).

Tabelle 9: Vergleich der mit verschiedenen Kraftfeldern und der DFT berechneten Energien der beiden α -L-Guluronsäurekonformationen

Kraftfelder bzw. DFT	$\Delta E^a)$ [kcal/mol]
CFF91	5.02
CVFF	3.84
ESFF	6.10
PCFF	12.20
AMBER1	9.66
AMBER Ho	10.57
B3LYP	-4.25

a) $\Delta E = E(^1C_4\text{-Konformation}) - E(^4C_1\text{-Konformation})$

Betrachtet man im Vergleich zu der α -L-Guluronsäure zunächst die Struktur der β -D-Mannuronsäure, liegen, bis auf die OH-Gruppe am C₂-Atom, alle Gruppen in äquatorialer Anordnung vor. Eine 1 \rightarrow 4-Verknüpfung zu einem weiteren Mannuronat kann demnach auch nur äquatorial erfolgen.

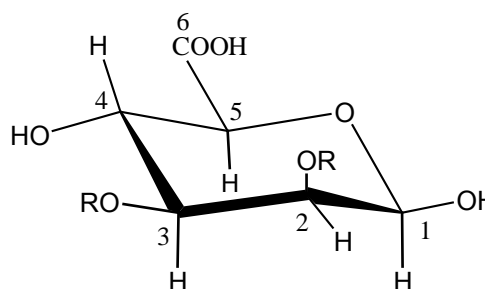
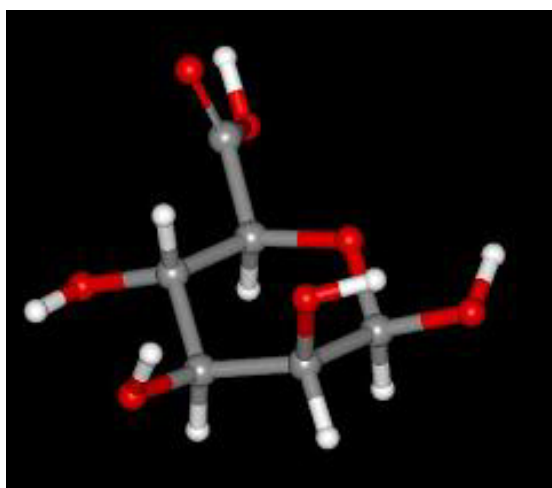


Abb. 42: Struktur der β -D-Mannuronsäure (M)

Anstelle der R-Konfiguration am C₅-Atom der Guluronsäure ist die Mannuronsäure S-konfiguriert. Da alle anderen stereogenen Zentren der beiden Verbindungen identisch sind, handelt es sich bei diesen beiden Molekülen um Epimere.

Die beiden berechneten Konformationen für M sind im folgenden dargestellt.

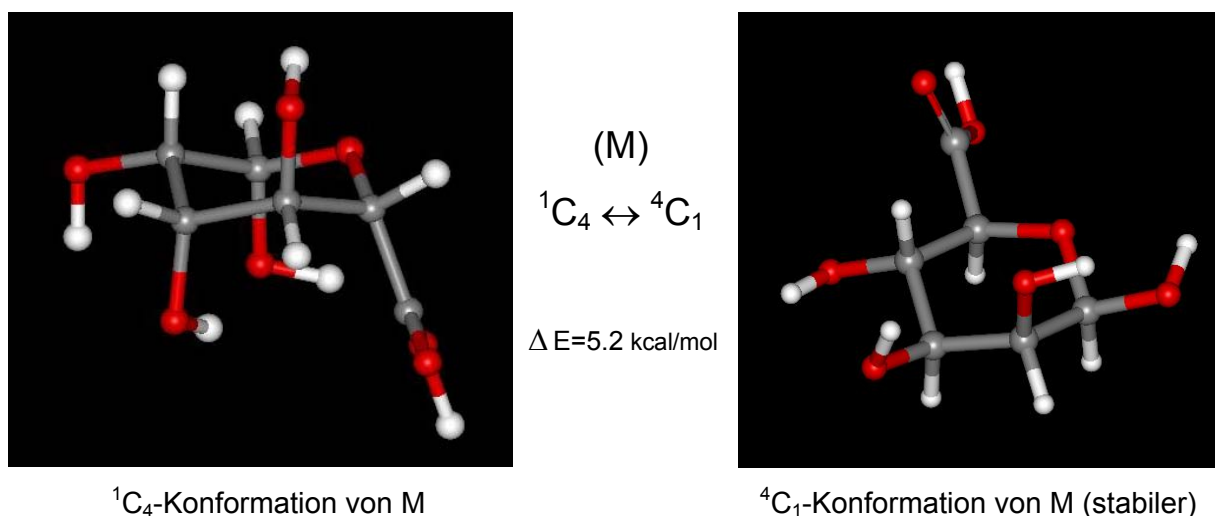


Abb. 43: Mit B3LYP/6-31G** berechnete Konformationen der β -D-Mannuronsäure

Auch bei der β -D-Mannuronsäure erweist sich die Konformation, die die Carboxylgruppe in äquatorialer Position trägt, als energetisch bevorzugt (4C_1 -Konformation), da sich auch hier Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Wasserstoffatom der Carboxylgruppe und dem Ringsauerstoff ausbilden können.

Mit diesem Hintergrundwissen werden nun Berechnungen mit verschiedenen Kraftfeldern durchgeführt, um das oben beschriebene Konformationsgleichgewicht zu bestätigen. Es werden die Energiedifferenz ΔE , die sich aus der Subtraktion der Energie der 4C_1 -Konformation und der 1C_4 -Konformation ergeben, gegenübergestellt (Tabelle 10):

Tabelle 10: Vergleich der mit verschiedenen Kraftfeldern und der DFT berechneten Energien der beiden β -D-Mannuronsäurekonformationen

Kraftfelder bzw. DFT	ΔE ^{a)} [kcal/mol]
CFF91	-7.25
CVFF	-2.06
ESFF	2.55
PCFF	-4.81
AMBER1	-1.64
AMBER Ho	0.91
B3LYP	-5,19

a) $\Delta E = E ({}^4C_1\text{-Konformation}) - E ({}^1C_4\text{-Konformation})$

Bei der β -D-Mannuronsäure erwartet man, aufgrund der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindung, zwischen dem Wasserstoffatom der Carboxylgruppe und dem Ringsauerstoff die 4C_1 -Konformation als energetisch bevorzugte Struktur. Das kann auch von den meisten Kraftfeldern richtig wieder gegeben werden. Die einzige Ausnahme stellen hier das ESFF- und das AMBER-Homans-Kraftfeld dar. Wie es sich auch schon bei den Glucose-Ergebnissen zeigte, liegt die Problematik in der uneinheitlichen Berechnung der energetisch günstigsten Struktur. Die Kraftfelder scheinen nicht in der Lage zu sein, Monosaccharide, bei denen der anomere Effekt eine Rolle spielt, richtig wiederzugeben. Die B3LYP-Methode hingegen lieferte zuverlässige Ergebnisse für beide Epimere.

6.2 Disaccharide

Über eine 1 → 4-Verknüpfung werden die oben beschriebenen Monosaccharide zu Disacchariden verbunden; theoretisch sind $2^2 = 4$ verschiedene Kombinationsmöglichkeiten denkbar (siehe Abb. 44-47). Bei der β -D-Mannuronsäure (**M**) erfolgt die Verknüpfung am C₁-Atom äquatorial und bei der α -L-Guluronsäure (**G**) axial; so entstehen unterschiedliche Konformationen, die im folgenden dargestellt sind:

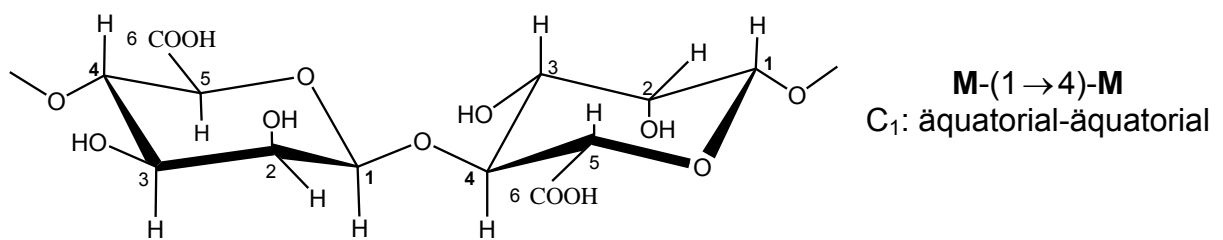


Abb. 44: β -D-Mannuronsäure (**M**) (1 → 4)- β -D-Mannuronsäure (**M**)

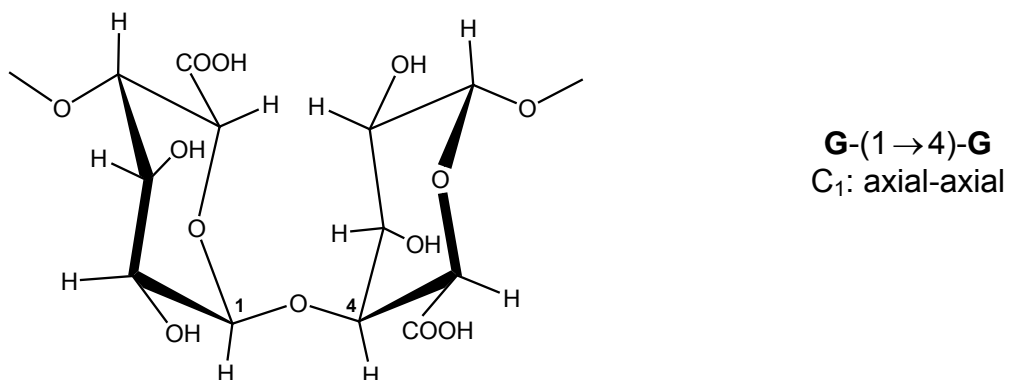


Abb. 45: α -L-Guluronsäure (**G**) (1 → 4)- α -L-Guluronsäure (**G**)

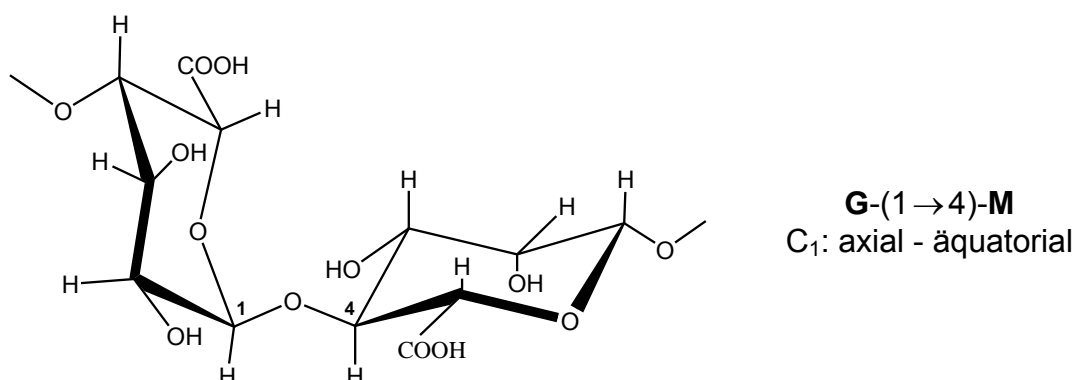
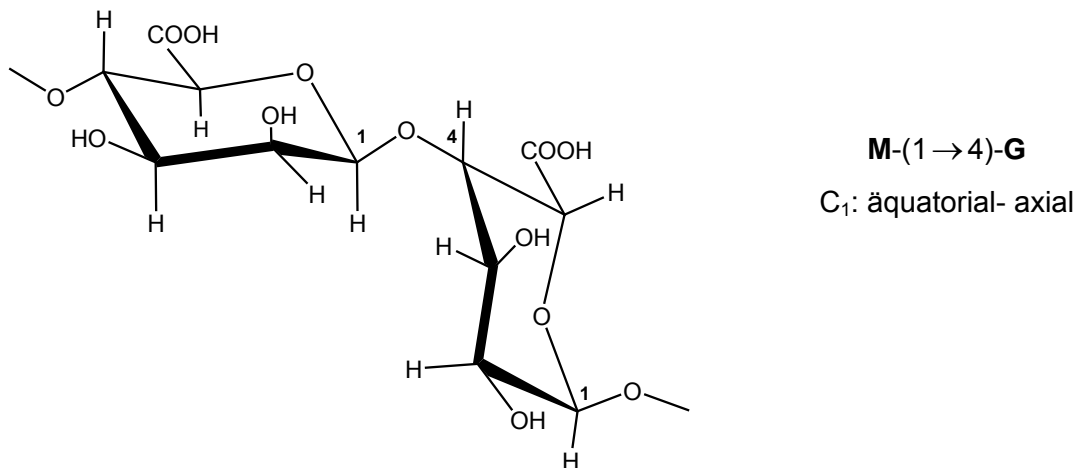
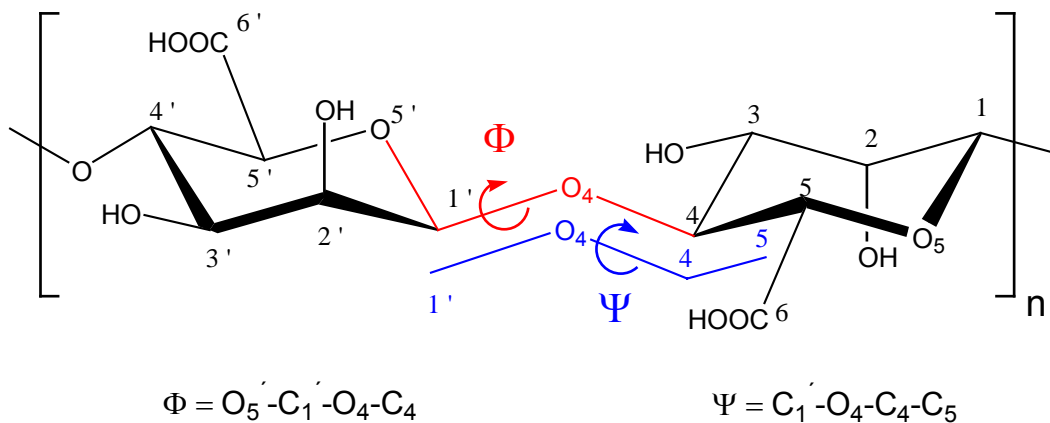


Abb. 46: α -L-Guluronsäure (**G**) (1 → 4)- β -D-Mannuronsäure (**M**)

Abb. 47: β -D-Mannuronsäure (**M**) (1 → 4)- α -L-Guluronsäure (**G**)

Diese Konformationen lassen sich durch die Angabe von zwei Torsionswinkeln bezüglich der glykosidischen Bindung eindeutig kennzeichnen. Diese Torsionswinkel, Φ und Ψ , sind wie folgt definiert [59]:

Abb. 48: Definition der Torsionswinkel Φ und Ψ

Ein Winkel von 180° entspricht der trans-Stellung der Carboxylatgruppen, Winkel von 0° der cis-Anordnung. Zwei Carboxylatgruppen in cis-Stellung würden sich sterisch behindern, so dass höchstens ein Torsionswinkel 0° sein kann.

Die in Abb. 44-47 gezeigten Kombinationsmöglichkeiten von M und G sind Konfigurationsisomere. Es macht daher Sinn, sie einzeln zu berechnen und ihre Energien zu vergleichen. Dabei wurde ausschließlich die B3LYP-Methode und der Basissatz 6-31G** (Programmpaket Gaussian 98) verwendet, da sie bei den

Monosacchariden zuverlässige Ergebnisse geliefert haben. Die berechneten Energien und Torsionswinkel sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

Tabelle 11: Absolute und relative Energie (B3LYP/6-31G^{**}) der vier Disaccharide sowie berechnete Torsionswinkel

Dimer	E [au]	ΔE [kcal/mol]	Φ [°]	Ψ [°]
M-(1→4)-M	-1446,013622	5,93	66	81
M-(1→4)-G	-1446,025719	0,47	-57	-133
G-(1→4)-G	-1446,025773	0,42	-84	-129
G-(1→4)-M	-1446,026444	0	77	125

Die kleinen Energieunterschiede (weniger als 6 kcal/mol) sind ein Hinweis auf die Güte der Rechnung. Diese Energiedifferenzen passen in die Größenordnung der zuvor berechneten Konformationsunterschiede von monomeren M- und G-Bausteinen (4.25 und 5.19 kcal/mol). Die Energiedifferenzen sind sogar so klein, dass man die drei energieniedrigsten Strukturen (GM, GG und MG) experimentell kaum voneinander unterscheiden könnte. Das MM-Dimer weicht deutlich von den anderen drei Dimeren ab. Die äquatoriale M (1→4) äquatoriale M-Verknüpfung scheint also ungünstigster im Vergleich zur axialen Verknüpfung zu sein. Zum einen kann das am anomeren Effekt liegen, der axiale Konformationen bei Zuckern bevorzugt und zum anderen liegen die Carboxylatgruppen bei einer axialen Verknüpfung näher an den C₂-C₃-Hydroxylgruppen, so dass sich Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden können. Den kürzesten Wasserstoffbrückenbindungsabstand findet man bei dem GM-Dimer zwischen einer Carboxylatgruppe und der OH-Gruppe am C₂-Atom (1.91 Å) und einer Carboxylatgruppe und der OH-Gruppe am C₃-Atom (1.83 Å). Somit stellt das GM-Dimer hier das stabilste Dimer dar. Das GG-Dimer bildet ebenfalls zwei Wasserstoffbrückenbindungen aus, zwischen einer Carboxylatgruppe und der OH-Gruppe am C₂-Atom (2.27 Å und 2.62 Å), die einen etwas längeren Abstand aufweisen, sodass es hier das zweitstabilste Dimer darstellt. In Richtung des MG-Dimer werden die Wasserstoffbrückenbindungen immer länger. Der Abstand zwischen einer OH-Gruppe und der Carboxylatgruppe liegt bei 3.63 Å und 5.10 Å. Auffallend ist hier die Ausbildung von Wasserstoffbrücken bei dem MM-Dimer. Es liegen Wasserstoffbrückenbindungen zwischen einer Carboxylatgruppe

und der OH-Gruppe am C₃-Atom vor (2,01 Å), zwischen der OH-Gruppe am C₂-Atom und einem H-Atom an der C₅-Position (2,68 Å) und zwischen der Carboxylatgruppe und einem H-Atom am C₂-Atom (2,11 Å). Obwohl hier stabile Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet werden, die in der Größenordnung des GG-Dimeren liegen, scheint die Ausbildung von drei Wasserstoffbrückenbindungen ungünstiger zu sein als die Ausbildung von zwei Wasserstoffbrückenbindungen, die zwischen der Carboxylatgruppe und den OH-Gruppen ausgebildet werden. Die Ausbildung der dritten Wasserstoffbrückenbindung, an der keine Carboxylatgruppe beteiligt ist, „zwingt“ das MM-Dimer in eine instabilere Struktur, so dass sich ein größerer Energieunterschied gegenüber den anderen Dimeren ergibt.

Auch bei der Untersuchung der Torsionswinkel Φ und Ψ liefert das MM-Dimer gegenüber den anderen drei Dimeren abweichende Torsionswinkel. Alle Carboxylatgruppen befinden sich jedoch annähernd in einer trans-Stellung, da sich zwei Carboxylatgruppen auf einer Seite gegenseitig abstoßen würden. Dadurch, dass sich die Hydroxylgruppen in Richtung der Carboxylatgruppe orientieren, kommt es zur Stabilisierung dieser Strukturen (alle Energien < 6 kcal/mol), die aus den Abb. 49–50 zu entnehmen sind.

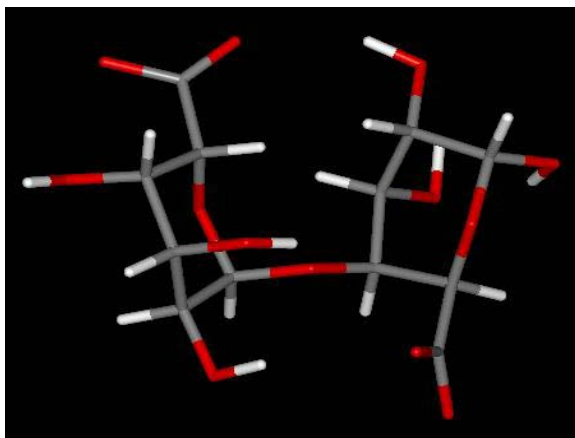


Abb. 49: GG-Dimer

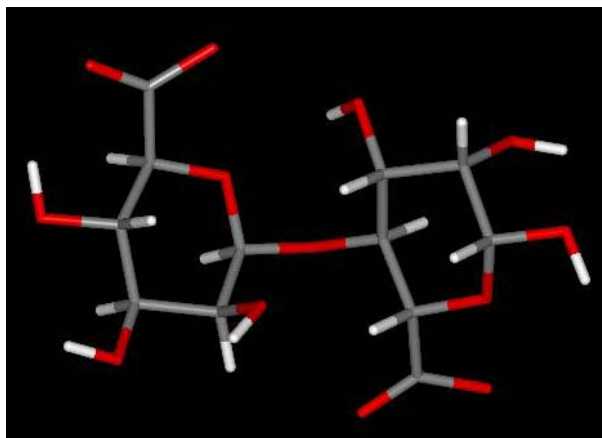


Abb. 50: MM-Dimer

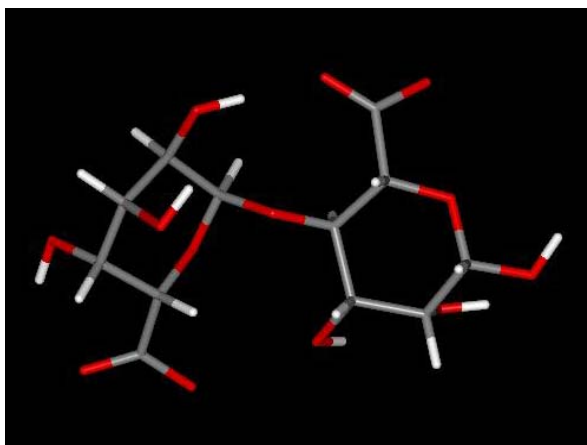


Abb. 51: GM-Dimer

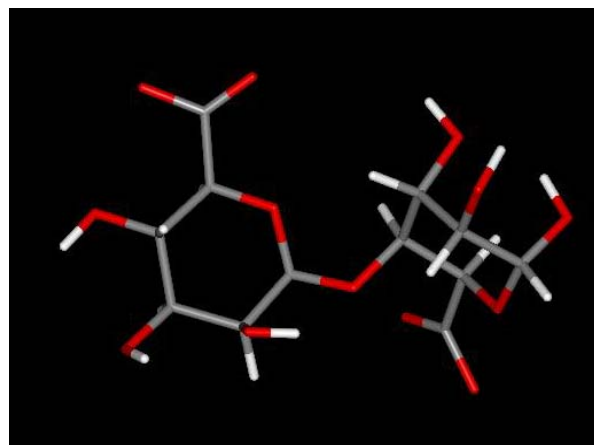
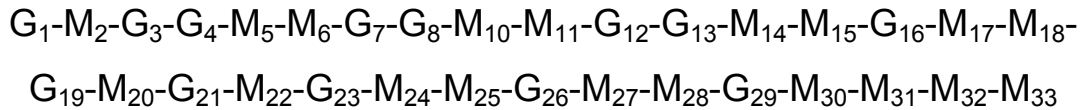


Abb. 52: MG-Dimer

6.3 Oligosaccharide

Die Untersuchung der Monosaccharide liefert keine eindeutige Aussage, ob die Kraftfeldmethoden geeignete Methoden zur Berechnung von Zuckern darstellen. Mit der Dichtefunktionaltheorie konnten allerdings zuverlässige Ergebnisse für die Monosaccharide erhalten werden, so dass mit dieser quantenmechanischen Methode auch die Disaccharide erfolgreich berechnet werden konnten. Um nun die Frage zu klären, ob Kraftfeldmethoden geeignet sind größere Moleküle richtig zu berechnen, wendet man sich im folgenden länger-kettigen Sacchariden, den Oligosacchariden, zu. Als Referenzstruktur wird eine relativ gut aufgeklärte Substanz verwendet, und zwar ein Alginat, das aus der EPS des mucoiden (schleimbildenden) Stammes *Pseudomonas aeruginosa* SG 81 gewonnen wurde [46]. Es besteht aus M und G Bausteinen, deren M-Bausteine zum Teil acetyliert sein können. Die Sequenz wurde mittels der ^{13}C -NMR-Spektroskopie näher untersucht [50]. Dabei konnte eine statistische Verteilung von Triaden, bestehend aus M- und G-Bausteinen ermittelt werden (GMG, GGM, GMM, MMG, MGG, MGM, MMM). Mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit treten diese Triaden mehr oder wenig häufig auf. Die Existenz von GGG-Triaden konnte aus der ^{13}C -NMR-Messung nicht entnommen werden, denn die Umwandlung (Epimerisierung) in einen G-Baustein kann nur an einem unacetylierten M-Baustein erfolgen. Die Ausbildung dreier G-Bausteine direkt nebeneinander ist bei der *Pseudomonas aeruginosa* SG 81-Sequenz wohl unwahrscheinlich. Mit Hilfe dieser Ergebnisse haben Mayer et al den Aufbau von

Oligosacchariden aus M- und G-Bausteinen vorgeschlagen, die im Mittel aus 30 Zuckerbausteinen bestehen [50]. Eine der Sequenzen ist die folgende; dabei wurde auf die Kennzeichnung von Acetylgruppen verzichtet.



Anhand dieser Struktur soll mit einer Kraftfeldmethode untersucht werden, ob sich die Kombinationsmöglichkeiten der bereits berechneten Dimere in der Struktur wiederfinden. Die bevorzugten Stellungen der Carboxylatgruppen sollen identifiziert und glykosidische Verknüpfungen und Torsionswinkel untersucht werden. Hierzu wird das PCFF-Kraftfeld eingesetzt, das sich bei der Untersuchung der Monosaccharide als geeignetes Kraftfeld erwiesen hat. Nach einer Minimierung mit den bekannten Minimierungsalgorithmen (siehe Kapitel 4.2.6) wurde eine Vakuumdynamik bei 298 K für eine Nanosekunde durchgeführt. Das Ergebnis ist in Abb. 53 dargestellt.

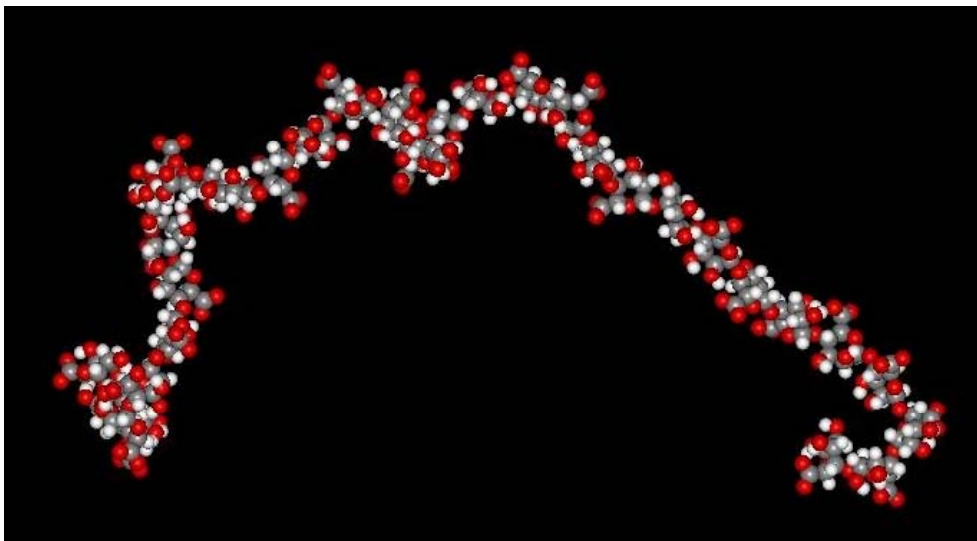


Abb. 53: Polysaccharid, bestehend aus 33 Einheiten, nach einer Vakuumdynamik

Die in der Literatur oft beschriebene lineare Anordnung der Uronsäuren [31, 151] wird mit dieser Struktur nicht bestätigt; sie tritt nur bei Homopolymeren auf, z. B. bei Polymannuronat. Liegen wie im vorliegenden Fall Heteropolymere vor, resultiert als Folge der unterschiedlichen Verknüpfung am C₁-Atom, die bei β -D-Mannuronat äquatorial und bei α -L-Guluronat axial erfolgt, eine Zick-Zack-Struktur dieses

Polysaccharids. Diese Struktur wird durch die Vakuumdynamik noch unterstützt, und außerdem bilden sich helikale Bereiche heraus (Abb. 53).

Während der Vakuumdynamik werden die Torsionswinkel Φ und Ψ (x-Achse) der unterschiedlichen Verknüpfungen aufgetragen und deren relative Häufigkeit $\frac{\rho}{\rho_{gesamt}}$

(y-Achse) bestimmt. Die relative Häufigkeit ist dimensionslos und deckt einen Bereich von 0 – 1 ab (entsprechend einer Realisierung von 0 – 100 %).

Das Maximum dieser Verteilung gibt den Torsionswinkel wieder, der mit der höchsten Wahrscheinlichkeit realisiert wird. Es werden die Torsionswinkel Φ und Ψ ermittelt, die die glykosidische Bindung zwischen zwei Bausteinen dieses Polysaccharids definieren. Mit ihrer Hilfe soll eine Aussage darüber getroffen werden, wie die einzelnen M- und G-Bausteine miteinander verknüpft sind, wie sie um diese Bindung rotieren können und welche Auswirkungen dies auf die Stellung der Carboxylatgruppen hat. Um eine detaillierte Angabe zu den dimeren Bestandteilen der 33-Einheiten-Sequenz zu machen, können sie innerhalb der Sequenz definiert werden, um so miteinander und mit den zuvor isoliert berechneten Dimeren (B3LYP) verglichen werden zu können. ϕ

Das Ergebnis für das GM-Dimer ist beispielhaft in Abb. 54 dargestellt.

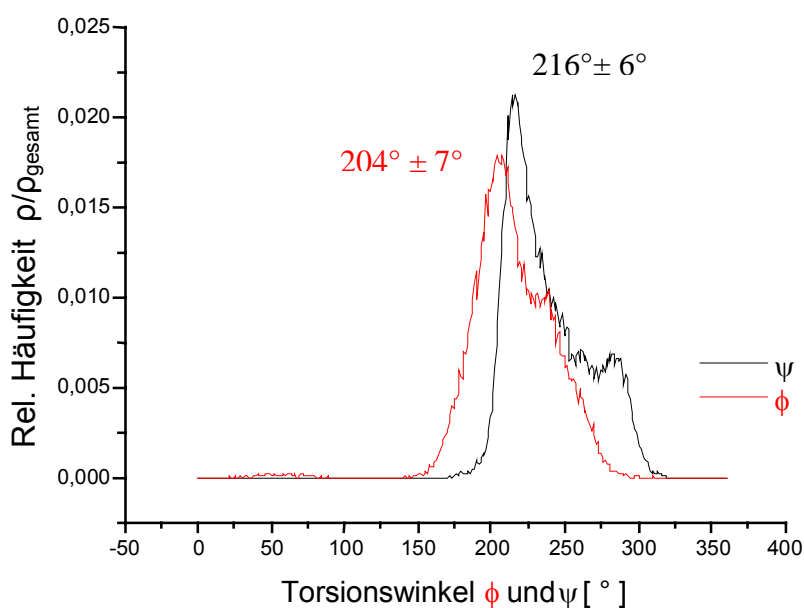


Abb. 54: Torsionswinkel der GM-Verknüpfung, aus der Berechnung der Polysaccharid-Sequenz entnommen; rot: Winkel ϕ , schwarz: Winkel ψ

Man findet bei der GM-Verknüpfung, die 10 mal im Polysaccharid vorkommt, zwei stark ausgeprägte Peaks (Abb. 54). Der rote Verlauf gibt die Häufigkeit des Torsionswinkels Φ wieder, der ein Maximum bei $204^\circ \pm 7^\circ$ zeigt; der schwarze Verlauf gibt den Torsionswinkel Ψ wieder, der bei einem Wert von $216^\circ \pm 6^\circ$ am häufigsten zu finden ist. Die Lage der wahrscheinlichsten Werte von Φ und Ψ , zwischen 160° und 300° , deuten auf eine trans-Stellung der Carboxylatgruppen hin. Eine cis-Stellung kann hier ausgeschlossen werden, da sie Winkeln um 0° oder 360° entsprechen würde.

Im folgenden wird auf die Darstellung der Torsionswinkelverteilung verzichtet, es werden lediglich die Maxima der Winkel ϕ und ψ gegenüber gestellt:

Tabelle 12: Torsionswinkelmaxima der einzelnen Disaccharide

Dimer	Anzahl der Dimere	Maxima für ϕ [°]	Maxima für ψ [°]
GM	10	204	216
MM	9	278 und 236	228 und 292
MG	9	205, 265 und 300	190 und 224
GG	3	202, 89 und 231	198 und 261

Aus Tabelle 12 ist zu entnehmen, dass sowohl die MM- als auch die MG-Verknüpfung 9 mal innerhalb des Polysaccharids auftreten. Für das MM-Dimer zeigt sich ein ausgeprägte Peak für Ψ bei 228° und für Φ bei 278° , die kleineren Peaks (Φ : 236° , Ψ : 292°) befinden sich in dessen Nähe. Die MG-Verknüpfung hingegen liefert drei Maxima für Φ (Φ_1 : 204.8° , Φ_2 : 264.7° , Φ_3 : 300.5°) und zwei für Ψ (Ψ_1 : 190.4° , Ψ_2 : 223.9°). Diese vier (MM-Dimer) bzw. fünf (MG-Dimer) Maxima decken beide einen Torsionswinkelbereich zwischen 175° und 310° ab, zeigen also eine Tendenz zur trans-Stellung. Dieser recht große Bereich, der verschiedene Torsionswinkel und somit Rotationen aufweist, wird aufgrund der endständigen M-Bausteine hervorgerufen. Im Gegensatz zu mittleren Bausteinen, deren Rotationen durch Nachbarbausteine stark eingeschränkt ist, können endständige Bausteine größtenteils frei rotieren, was zu diesem ausgedehnten Torsionswinkelbereich führt. Die GG-Verknüpfung, die lediglich 3 mal innerhalb der Polysaccharid-Sequenz zu finden ist, liegt auch im Vergleich zu den anderen Verknüpfungsmöglichkeiten in der

Natur am wenigsten vor. Das ergibt sich aus der Entstehung des Biofilmes bzw. des SG 81-Stammes [46]. Die SG81-Sequenz besitzt Acetylgruppen (bei der Berechnung vernachlässigt), die ihn vor weiterer Epimerisierung schützen. Das bedeutet, dass so keine weiteren Guluronatbausteine entstehen können. Ihre ausgeprägtesten Maxima liegen für Φ_1 bei 202° und für Ψ_1 bei 198° , die anderen Maxima liegen bei Φ_2 : 89° , Φ_3 : 231° und Ψ_2 : 261° . Entsprechend den zuvor diskutierten Dimeren, deutet auch hier der abgedeckte Torsionswinkelbereich auf eine trans-Stellung der Carboxylatgruppen hin.

Ein Vergleich der Torsionswinkel der Dimere, die mit der B3LYP-Methode berechnet wurden und der dimeren Komponenten, die innerhalb der 33er Sequenz berechnet wurden, schließt sich an (Tabelle 13).

Tabelle 13: Vergleich der mit DFT- und dem PCFF-Kraftfeld ermittelten Torsionswinkel der vier Dimere

Dimer	DFT-Rechnung (B3LYP)		Kraftfeldrechnung (PCFF)	
	Φ [°]	Ψ [°]	Φ [°]	Ψ [°]
MM	246	261	278	228
MG	123	47	265	190
GG	96	51	202	198
GM	257	55	205	216

Mit beiden Rechenmethoden konnten Dimere identifiziert werden, die ihre Carboxylatgruppen in trans-Stellung zueinander tragen. Betrachtet man hierzu die erhaltenen Torsionswinkel beider Rechenmethoden genauer, liefert lediglich das MM-Dimer Torsionswinkel in der gleichen Größenordnung. Die Torsionswinkel der anderen drei Dimere weichen stark voneinander ab. Es ist also ein Unterschied, ob man einzelne Dimere, oder dimere Bausteine in einem größeren Verband betrachtet. Ein einzelnes Dimer hat „freie“ Rotationsmöglichkeiten, besitzt keine Nachbarbausteine, die seine Rotationen behindern. Das steht im Gegensatz zu den dimeren Bausteinen im Polysaccharid. Hier sind nur die endständigen Zuckerbausteine zu Rotationen befähigt. Mittlere Bausteine werden durch ihre

Nachbarn so stark beeinflusst, dass dies auch Auswirkungen auf ihre Rotationen hat, sie sind eingeschränkt.

Da die Bestandteile eines Biofilms aus Polysacchariden und nicht aus Dimeren bestehen, überlegt man sich nun ein Modell, das von dimeren Bausteinen ausgeht, die jedoch an Rotationen gehindert werden.

Die Idee ist nun folgende: Man wählt sich ein Dimer aus, z. B., das MM-Dimer und fügt auf jeder Seite zwei weitere Dimere ein (MM-*MM*-MM). Der Augenmerk liegt hier auf dem mittleren (kursiv) Dimer, dessen Rotationen mit Hilfe der beiden äußeren Dimere „eingefroren“ werden. Hiermit soll garantiert werden, dass sich die Carboxylatgruppen, wie in dem von *Pseudomonas aeruginosa* abgeleiteten Polysaccharid verhalten; sie sollen in trans-Stellung zueinander liegen.

6.4 Hexamere Zucker

Im folgenden werden wie zuvor beschrieben die hexameren Zucker (Oligosaccharide) dargestellt, die aus den Dimeren MM, GG und MG zusammengesetzt sind (MM-*MM*-MM, GG-*GG*-GG und MG-*MG*-MG).

Bei der Untersuchung der drei Hexameren wurde das PCFF-Kraftfeld sowie das inzwischen bewährte Versuchsprotokoll (Geometrieoptimierung, unter Verwendung der Steepest Descent-, Conjugate Gradient- und der Newton-Raphson-Methode, anschließende Vakuumsdynamik bei 298 K für eine Nanosekunde) verwendet. Zur Auswertung wird der Verlauf der potentiellen Energie gegen die Zeit aufgetragen sowie die Häufigkeit, mit der bestimmte Torsionswinkel auftreten.

6.4.1 Mannuronat-Hexamer

Die Verknüpfung des M_6 -Hexameren erfolgt am C_1 -Atom äquatorial und am C_4 -Atom äquatorial. Nach der Vakuumsdynamik erhält man eine nahezu lineare Anordnung des M_6 -Hexamers, bei der die Carboxylatgruppen in trans-Stellung zueinander liegen (Abb. 55).

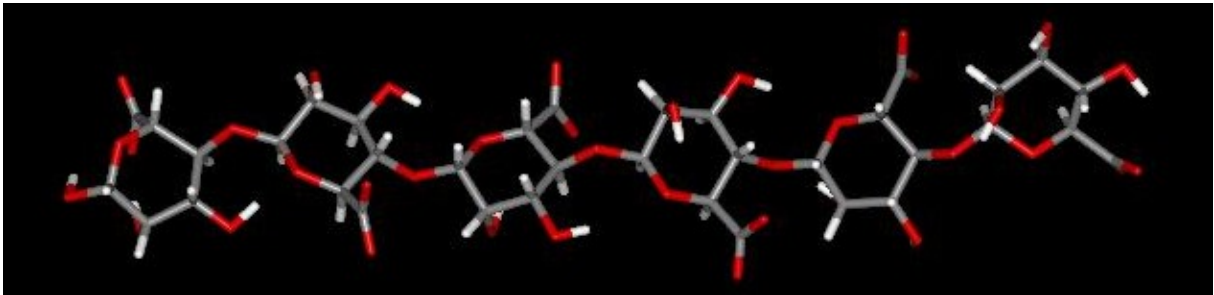


Abb. 55: 6 M-Bausteine bei 298 K im Vakuum berechnet

Die Untersuchung der Diederwinkel innerhalb dieses Hexamers, liefert folgende Torsionswinkelverteilung (Abb. 56):

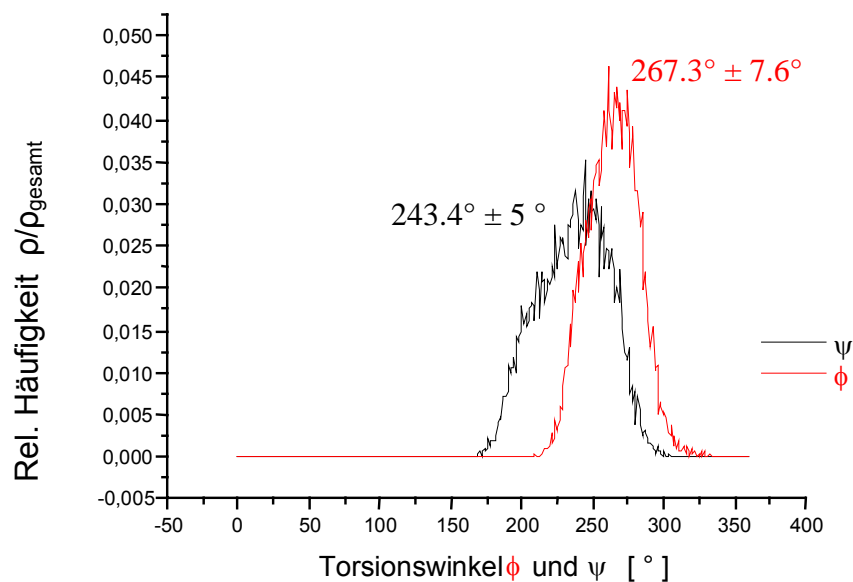


Abb. 56: Torsionswinkelverteilung des M_6 -Hexameren

Man erhält hier zwei Peaks. Für den Torsionswinkel Ψ ergibt sich ein maximaler Wert von 243.4° und für Φ ein Wert von 267.3° . Es wird ein Torsionswinkelbereich zwischen 180° bis 300° abgedeckt. Somit kann eine cis-Stellung der Carboxylate

ausgeschlossen werden, da man entweder bei 0° (bzw. 360°) einen Peak finden müsste.

6.4.2 Guluronat-Hexamer

Die Verknüpfung der Monomeren im G-Hexamer erfolgt axial zwischen dem C_1 - und C_4 -Atom. Nach der Vakuumsdynamik sind die sechs G-Bausteine annähernd linear angeordnet (Abb. 57).

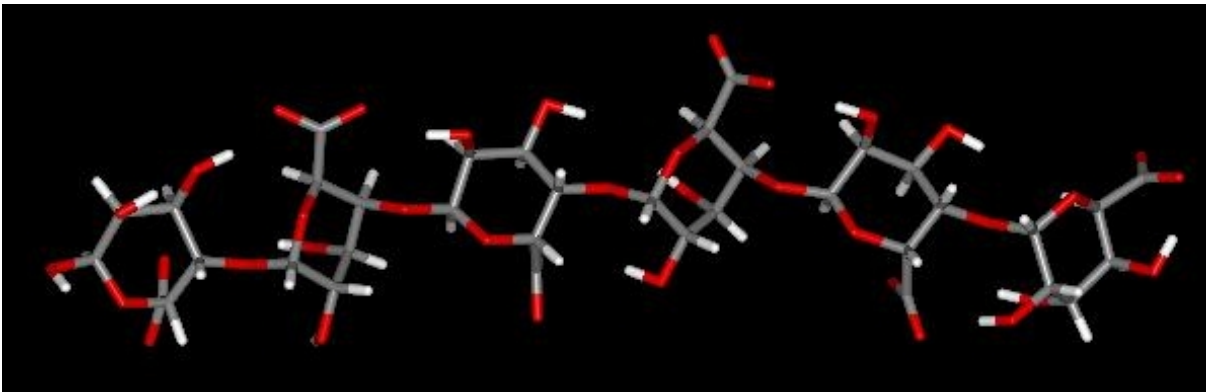


Abb. 57: lineare Anordnung der 6 G-Bausteine, nach einer Vakuumsdynamik erhalten

Die Maxima der Verteilung der Torsionswinkel des Oligomeren sind in Tabelle 14 zusammengefasst. Die Torsionswinkelverteilung des G-Hexameren ist dem Anhang zu entnehmen.

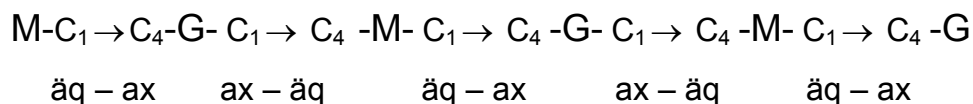
Tabelle 14: Maxima aus der Verteilung der Torsionswinkel des G-Hexameren entnommen

	Maxima für Φ [$^\circ$]	Maxima für Ψ [$^\circ$]
G-Hexamer	204	217
	275	280

Die Verteilung der Torsionswinkel Ψ und Φ umfasst einen Bereich von 190 bis 300° , mit deutlichen Maxima bei $\Phi_1 = 204^\circ$, $\Phi_2 = 275^\circ$, $\Psi_1 = 217^\circ$ und $\Psi_2 = 280^\circ$. Eine cis-Stellung der Carboxylatgruppen wird mit diesen Winkeln ausgeschlossen.

5.4.3 Alternierendes MG-Hexamer

Das MG-Hexamer wird aus alternierenden C₁-C₄-glykosidisch verknüpften M- und G-Bausteinen zusammengesetzt. Dabei erfolgt die Bindung vom Mannuronat zum Guluronat C₁ (äquatorial) → C₄ (axial) und vom Guluronat zum Mannuronat C₁ (axial) → C₄ (äquatorial), wie im folgenden schematisch dargestellt.



Im Gegensatz zu den Hexameren aus M- bzw. G-Bausteinen, die entweder ausschließlich äquatoriale bzw. axiale Verknüpfungen aufweisen, findet man hier die Kombination aus axialen und äquatorialen Verknüpfungsstellen. Diese Verknüpfung ist der Grund dafür, dass in der Vakuumsdynamik keine lineare Anordnung der Stränge wie bei den Homohexameren beobachtet wird, sondern eine bogenförmige Anordnung entsteht (Abb. 58).

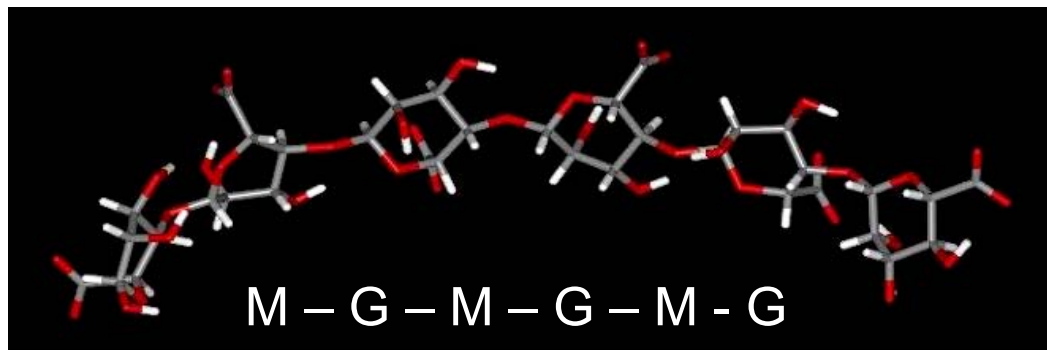


Abb. 58: Struktur des alternierenden MG-Hexameren, die nach der Vakuumsdynamik erhalten wurde

Die Maxima der Torsionswinkelverteilung des alternierenden Hexamers sind in Tabelle 14 zusammengefasst. Die Torsionswinkelverteilung des MG-Hexameren ist ebenfalls aus dem Anhang zu entnehmen.

Tabelle 14: Maxima aus der Torsionswinkelverteilung des MG-Hexameren entnommen

	Maxima für Φ [°]	Maxima für Ψ [°]
MG-Hexamer	189	273
	275	342

Das Maximum der Verteilung für Φ bei 189° bestätigt die trans-Stellung der Carboxylatgruppen. Für den Winkel Ψ liegt ein Maximum bei 273° und ein Nebenmaximum bei 342° vor.

Hier zeigt sich zum ersten Mal eine Abweichung von der erwarteten trans-Stellung der Carboxylatgruppen. Der Winkel von 342° deutet auf eine cis-Stellung der Carboxylatgruppen hin, die während der Simulation auftritt. Dies würde die These der sog. „Crankshaft – Motion“, die in der Arbeitsgruppe von Prof. Mayer diskutiert wird, bestätigen [168].

Am Verlauf der potentiellen Energie gegen die Zeit während der Vakuumsdynamik (Abb. 59) erkennt man, dass sich alle drei Strukturen in einem dynamischen Gleichgewicht befinden. Die Mittelwerte der potentiellen Energie sind in Tabelle 15 zusammengefasst.

Tabelle 15: Energievergleich der drei Hexamere im Vakuum

6 er Stränge	$\langle E_{\text{pot}} \rangle$ [kcal/mol]	ΔE [kcal/mol]
MG	795.75	127.6
M	789.77	121.6
G	668.17	0

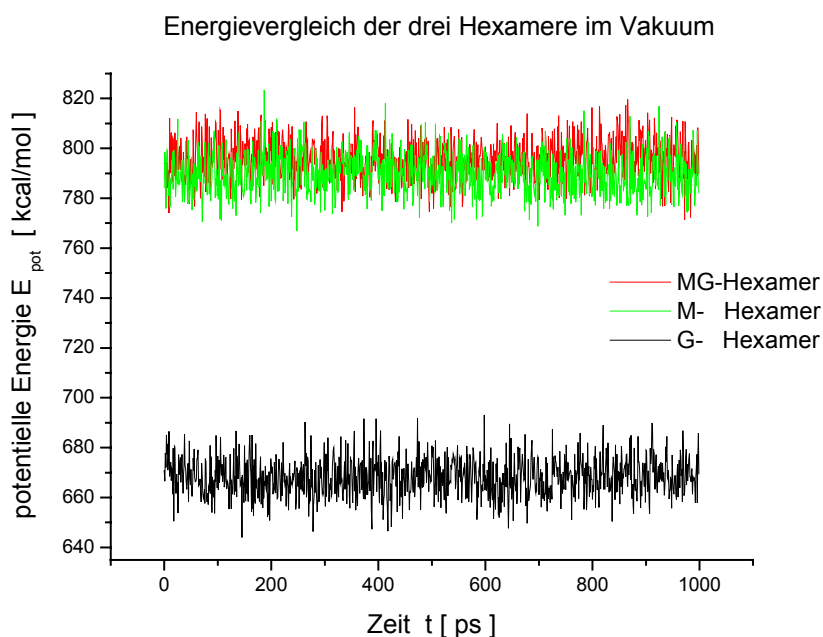


Abb. 59: Energievergleich der drei Hexamere, einer Vakuumsdynamik über 1 ns entnommen

Das G-Hexamer ist die mit Abstand energetisch günstigste Struktur. Es besitzt axiale Gruppen und Verknüpfungsstellen, die bei Zuckern bevorzugt werden („anomerer Effekt“). Auch die Ausbildung von drei Wasserstoffbrückenbindungen begünstigt diese Struktur. Das M-Hexamer und MG-Hexamer sind als Folge der äquatorialen glykosidischen Verknüpfung energetisch ungünstiger und weisen höchstens schwache Wasserstoffbrückenbindungen auf. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Dimer-Ergebnissen, die bei der Berechnung mit der Dichtefunktionaltheorie erhalten wurden.

6.5 Komplexe mit Calciumionen

6.5.1 Calciumalginat

Innerhalb dieser Arbeit soll die Wechselwirkung von zweiwertigen Ionen mit Oligosacchariden untersucht werden. Es folgt deshalb an dieser Stelle eine kurze Diskussion der in Kapitel 2.2 erwähnten Alginat, vor allem ihrer Wechselwirkungen mit Calciumionen. Eine Besonderheit der Alginat besteht in der Ausbildung eines festen starren Gels mit Hilfe von zweiwertigen Ionen. Die Homopolysaccharide Poly- α -L-Guluronat und Poly- α -D-Galactopyranosylat zeigen ein starkes Bindungsvermögen von Calciumionen. Poly- α -L-Guluronat ist neben Poly β -D-Mannuronat ein Bestandteil der Alginat, die aus Braunalgen gewonnen werden. Poly- α -D-Galactopyranosylat, das Spiegelbildisomer von Poly- α -L-Guluronat, ist Bestandteil des Pektins. Beide Homopolysaccharide besitzen diaxiale 1 \rightarrow 4 glykosidische Bindung; daraus ergibt sich eine gefaltete Kettenstruktur (Abb. 60), die die Komplexierung von Calciumionen ermöglicht.

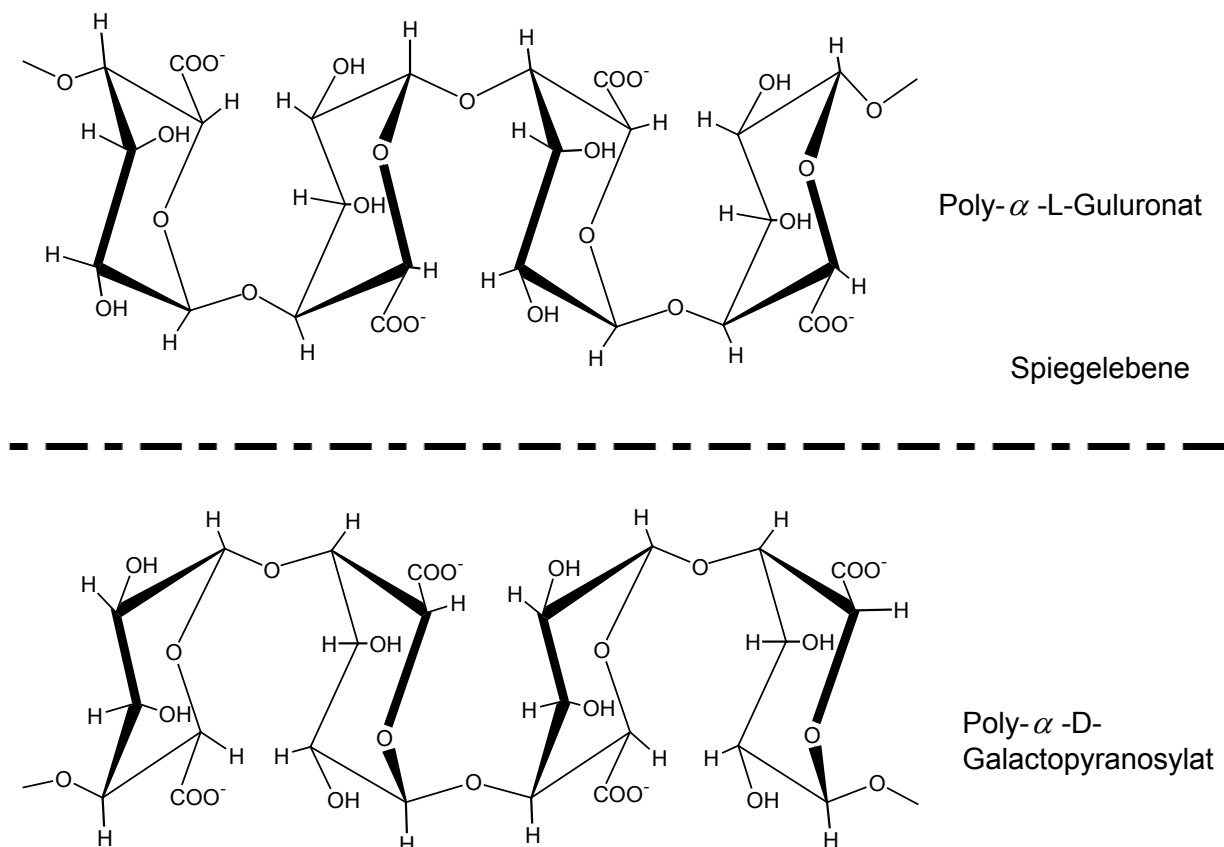


Abb. 60: Spiegelbildsymmetrie von Poly- α -L-Guluronat aus Alginat und Poly- α -D-Galactopyranosylat aus Pektin

Nach dem („Egg-Box-Modell“) [41-43] reagieren die zum Teil verknäuelten Alginat mit einer passenden Anzahl von Calciumionen zu einer stabilen starre Komplexanordnung, bei der ein Calciumion von 4 Guluronatbausteinen koordiniert wird.

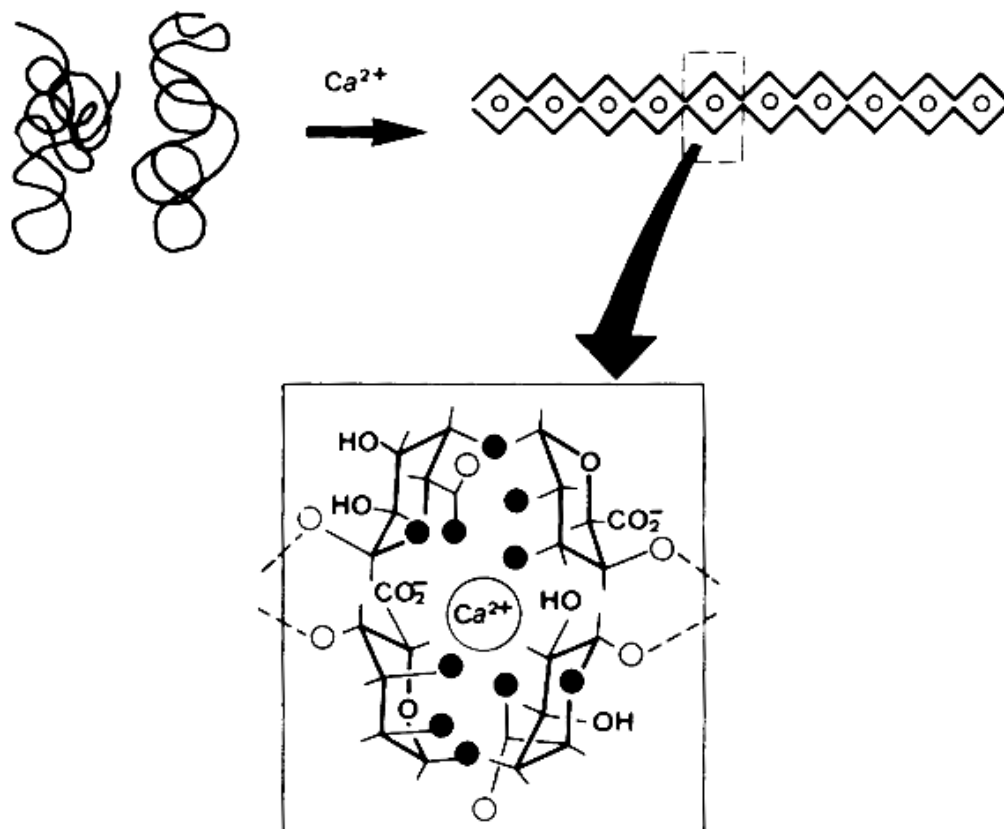


Abb. 61: „Egg-Box-Modell“

Calcium wechselwirkt mit allen ausreichend nahen Sauerstoffatomen (schwarze Punkte in Abb. 61). Jeweils ein Sauerstoff der Carboxylatgruppe, die O_2^- und O_3^- -Sauerstoffe der Hydroxylgruppe, aber auch der Sauerstoff der glykosidischen Bindung (O_4) und der Ringsauerstoff (O_5) sind an der Ausbildung dieses starren Gerüsts beteiligt.

Man beachte, dass es sich bei dem Egg-Box-Modell lediglich um ein Modell handelt, das zwar in einigen experimentellen Studien [44, 45] wahrscheinlich gemacht wurde, von dem es aber keine experimentelle Struktur gibt.

6.5.2 Dimere mit einem Calciumion

Um einen ersten Eindruck von der Wechselwirkung mit Calciumionen zu bekommen, wurden die mit der B3LYP-Methode berechneten Dimere von G und M herangezogen und mit einem Calcium²⁺-Ion komplexiert. Um die Strukturen mit und ohne Metallion vergleichen zu können wurde auch an dieser Stelle die B3LYP-Methode eingesetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 16 zusammengefasst.

Tabelle 16: Energie- und Torsionswinkelvergleich der Disaccharide mit Calcium²⁺

Komplex	E [au]	ΔE [kcal/mol]	Φ [°]	Ψ [°]
GM-Ca ²⁺	-2122,511037	10,4	129	-47
GG-Ca ²⁺	-2122,515200	7,8	-110	-164
MG-Ca ²⁺	-2122,516288	7,1	-136	65
MM-Ca ²⁺	-2122,527560	0	155	-164

Im Vergleich zu den Ergebnissen aus Tabelle 13 (Dimere ohne Calciumionen) erhält man hier eine Umkehrung in der Reihenfolge der zuvor stabilen Strukturen. Das energetisch günstigste GM-Dimer liefert mit Ca²⁺ den instabilsten Komplex, gefolgt von GG und MG, die wieder vergleichbare Energien um ca. 7 kcal/mol liefern. Das MM-Dimer, das am instabilsten war, bildet mit Ca²⁺ den energetisch günstigsten Komplex. Die berechneten Strukturen sind in den Abbildungen 62-65 dargestellt.

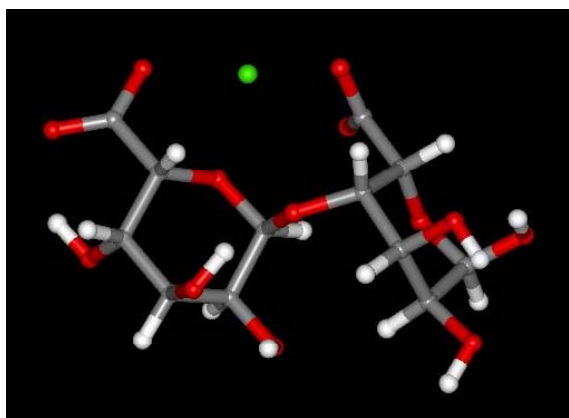


Abb. 62: GG-Ca²⁺-Komplex

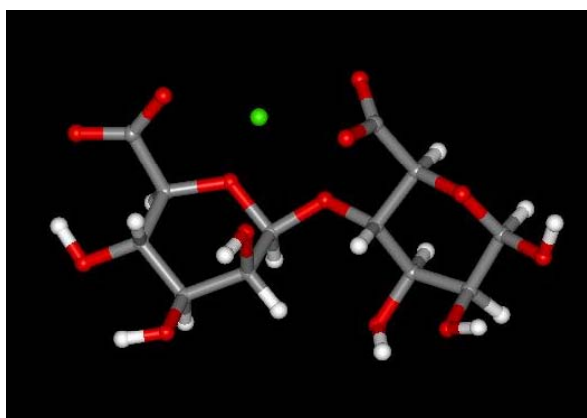
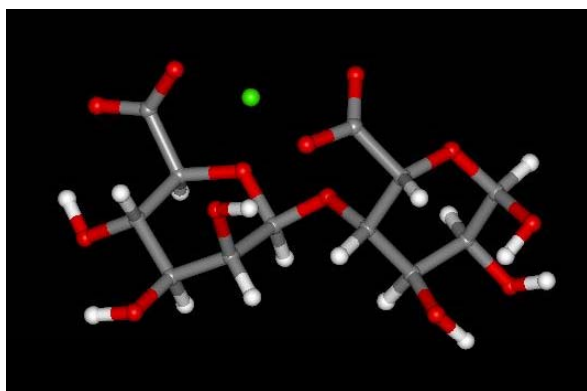
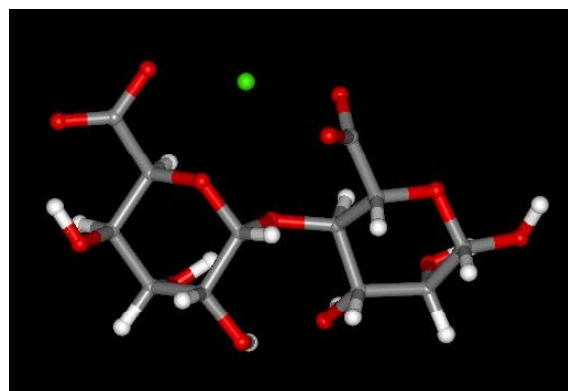


Abb. 63: MM-Ca²⁺-Komplex

Abb. 64: GM-Ca²⁺-KomplexAbb. 65: MG-Ca²⁺-Komplex

Alle Carboxylatgruppen orientieren sich in Richtung des Ca²⁺-Ions, liegen also in der cis-Anordnung vor, was starke Rotationen an der 1→4 glykosidischen Bindung voraussetzt. In der Literatur finden sich keine Hinweise auf eine mögliche cis-Stellung der Carboxylatgruppen, nur die trans-Stellung ist eingehend dokumentiert [31, 59]. Auch die Untersuchung des Polysaccharids mit 33 Einheiten und die dargestellten Hexamere aus M, G und alternierenden MG-Bausteinen deuten nicht auf eine cis-Stellung hin.

Da mit der Dichtefunktionaltheorie lediglich Dimere untersucht wurden, die keine Nachbarbausteine besitzen, ist es nicht verwunderlich, dass sich zwei einfach geladene negative Carboxylatgruppen in Richtung des zweifach positiven Calciumions orientieren; hier wirken ionische Wechselwirkungen.

Dieses Ergebnis deckt sich nicht mit den Resultaten, die die Rechnung der einzelnen Dimere im Oligosaccharid lieferte; die Untersuchung von dimeren Bausteinen mit einem Calciumion erscheint deshalb nicht sinnvoll. Es müssen stattdessen Modelle entwickelt werden, die die trans-Stellung der Carboxylatgruppen beibehalten und mit einem Calciumion wechselwirken. Hierzu zieht man das Egg-Box-Modell heran, bei dem vier Guluronatbausteine nötig sind, um ein Calciumion zu binden. Um diesen Komplex zu stabilisieren, wurden die zuvor berechneten hexameren Strukturen eingesetzt, die antiparallel zueinander angeordnet werden. Die antiparallele Anordnung wurde von dem Egg-Box-Modell übernommen und zeigt sich auch bei dem untersuchten Oligosaccharid.

6.5.3 Zwei Hexamere mit einem Calciumion

6.5.3.1 Vakuumsdynamik

Als Ausgangsstruktur für den Komplex aus zwei Hexamersträngen und einem Ca^{2+} -Ion wurden die zuvor berechneten Hexamere gewählt und in der energetisch bevorzugten antiparallelen Anordnung dargestellt. Zwischen den dritten und vierten Baustein der Hexamerketten wird ein Ca^{2+} -Ion so eingefügt, dass ein Abstand zwischen der Carboxylatgruppe und dem Calciumion von etwa 3 Å resultiert. Mit einem wesentlich größeren Abstand wären keine Wechselwirkungen zwischen dem Ion und den Komplexierenden möglich. Zur Untersuchung dieser Modellstruktur wird das PCFF-Kraftfeld herangezogen. Es werden Atomtypen und Ladungen (+2 für Calcium, -1 für die Carboxylatgruppe) definiert und es wird zunächst eine Geometrieoptimierung für 3000 Schritte unter Verwendung der Steepest Descent-, Conjugate Gradient- und der Newton-Raphson-Methode durchgeführt. Daran schließt sich eine Vakuumsdynamik bei 298 K für eine Nanosekunde an, und zum Abschluss gegebenenfalls eine Wasserdynamik, bis eine equilibrierte Struktur vorliegt.

Zunächst werden die drei Komplexe im Vakuum untersucht, und im Anschluss daran die Calciumkomplexe in Wasser.

M-Hexamere

Die antiparallele Ausgangsanordnung der beiden M-Hexamere mit einem Ca^{2+} -Ion ist in Abb. 66, linke Seite, dargestellt.

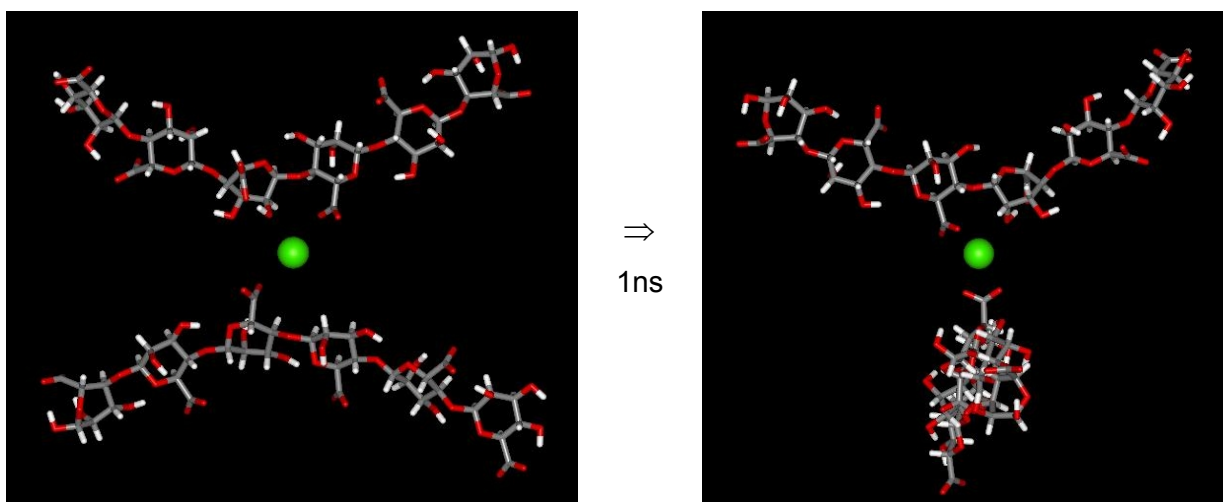
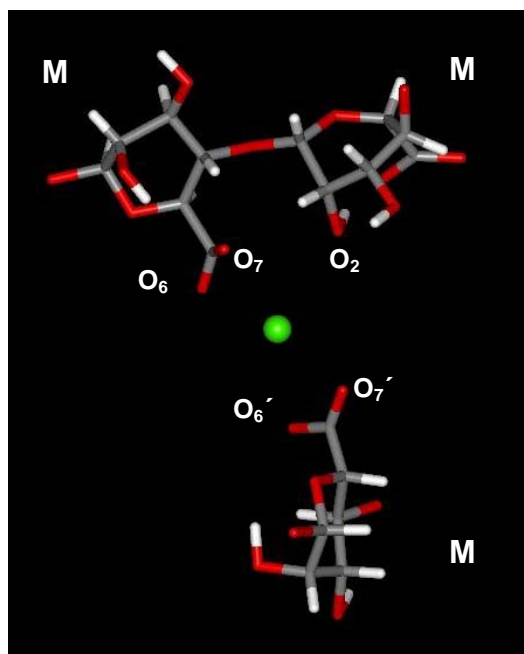


Abb. 66: Start- und Endstruktur der zweier M-Hexamere mit einem Ca^{2+}

Das Ergebnis der Vakuumdynamik ist in Abb. 66 auf der rechten Seite dargestellt. Als Endstruktur wird hier die Struktur bei einer Nanosekunde ausgewählt. Es zeigt sich eine senkrechte Anordnung der beiden Stränge zueinander, die das Calciumion über verschiedene Sauerstoffatome komplexieren. Um die Bindung genauer zu beschreiben, ist in Abb. 67 ein Ausschnitt aus dem Komplex dargestellt mit den drei an der Bindung beteiligten M-Bausteinen.



Ca – O _n	<R> [Å]	R _{max} [Å]
Ca – O ₆	2.71	3.22
Ca – O ₇	2.74	3.25
Ca – O ₂	4.49	5.52
Ca – O ₆ '	2.80	3.46
Ca – O ₇ '	2.70	3.13

Abb. 67: Darstellung der mittleren Ca-O-Bindungsabstände $\langle R \rangle$ und des maximalen Bindungsabstands R_{\max} von Ca^{2+} mit zwei M-Strängen, die während der Vakuumdynamik erreicht werden

Bindungsabstände, die kleiner als 4 Å sind werden als Koordinationsstellen betrachtet, Bindungsabstände, die länger als 4 Å sind, werden vernachlässigt, da man davon ausgehen kann, dass sie nicht an einer Komplexierung beteiligt sind.

Das Calciumion wird vierzählig von zwei Mannuronatbausteinen gebunden. Dabei findet die Komplexierung des Calciumions ausschließlich über Carboxylatgruppen statt. Ihre mittleren Bindungsabstände liegen zwischen 2,70 Å und 2,80 Å. Der Hydroxylsauerstoff O_2 nimmt nicht an der Komplexierung teil, da er mit 4,49 Å Abstand zum Zentralatom deutlich über dem genannten Grenzwert liegt.

G-Hexamere

Unter den eben beschriebenen Bedingungen wird als nächstes der Komplex aus zwei G-Hexameren mit einem Calciumion untersucht.

Die nach der Vakuumdynamik erhaltene Ausgangs- und Endstruktur sind in Abb. 68 dargestellt.

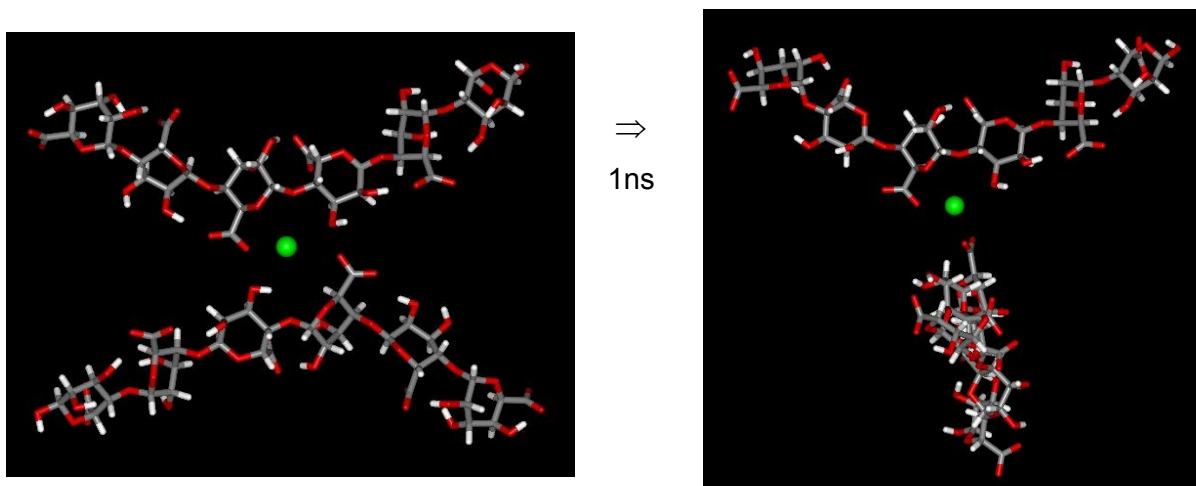
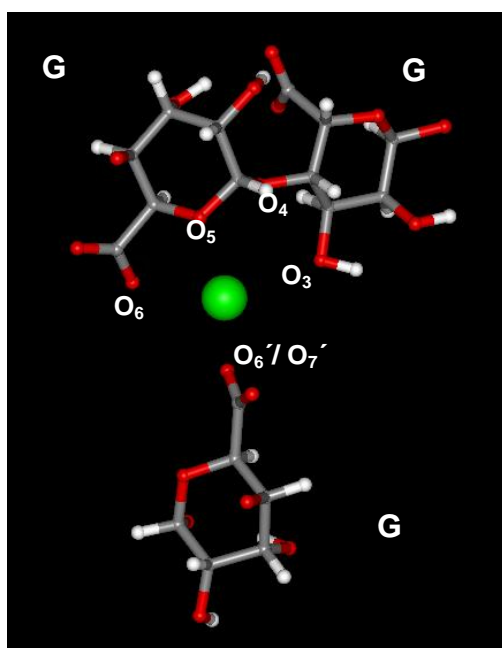


Abb. 68: Start- und Endstrukturen der zwei G-Hexameren mit einem Ca^{2+} -Ion

Wie in dem zuvor beschriebenen $[\text{Ca}(\text{M}_6)_2]^{2+}$ -Komplex nehmen die beiden Stränge nach der MD-Simulation eine senkrechte Anordnung an, wiederum wird das Calciumion von drei Guluronat-Bausteinen komplexiert.

Die Analyse des Komplexes zeigt im Detail, dass das Calciumion in diesem Fall sechszählig von den G-Bausteinen gebunden wird (Abb. 69). Wie bei dem M-Hexamer sind auch hier zwei Carboxylatgruppen ($\text{O}_6/\text{O}_6'/\text{O}_7'$) an der Komplexierung beteiligt. Anstelle des O_2 -Hydroxylsauerstoffs nehmen der O_3 -Hydroxylsauerstoff, die O_4 -glykosidische Verknüpfungsstelle und der O_5 -Ringsauerstoff an der Komplexierung teil.



Ca – O _n	<R> [Å]	R _{max} [Å]
Ca – O ₃	3.49	3.98
Ca – O ₄	3.65	4.66
Ca – O ₅	3.61	4.97
Ca – O ₆	2.67	2.99
Ca – O _{6'}	2.86	3.15
Ca – O _{7'}	2.82	3.26

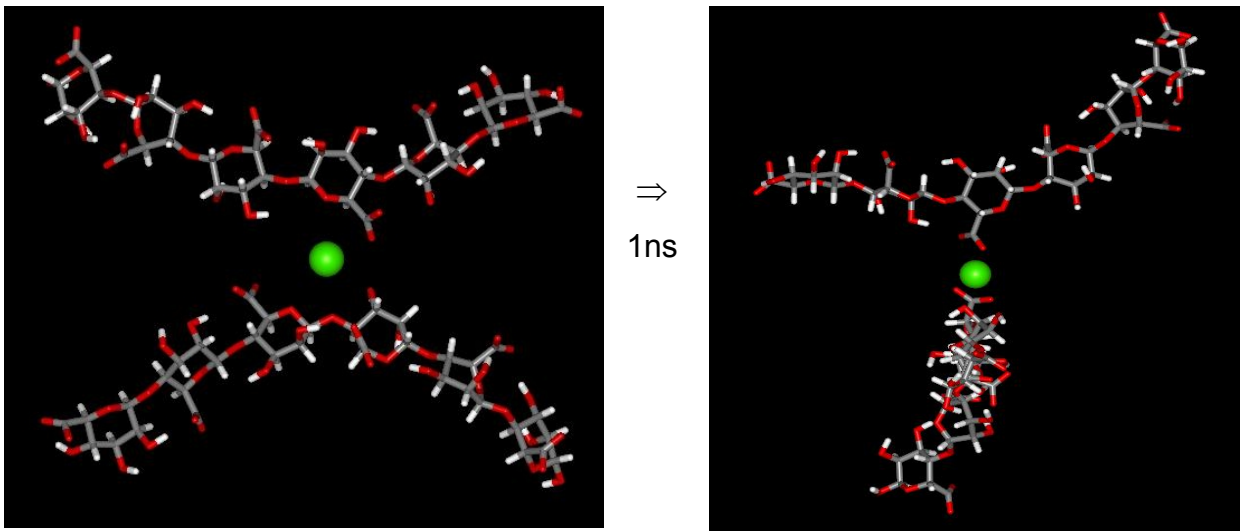
Abb. 69: Mittlere <R> und maximale R_{max} Ca-O-Bindungsabstände des [Ca(G₆)₂]²⁺-Komplexes

Ihre mittleren Bindungsabstände liegen zwischen 2.67 Å und 3.65 Å, die kürzesten Abstände, und somit die stabilsten Bindungen, bildet das Zentralatom mit den Sauerstoffatome der Carboxylatgruppen (O₆ bzw. O_{6'}).

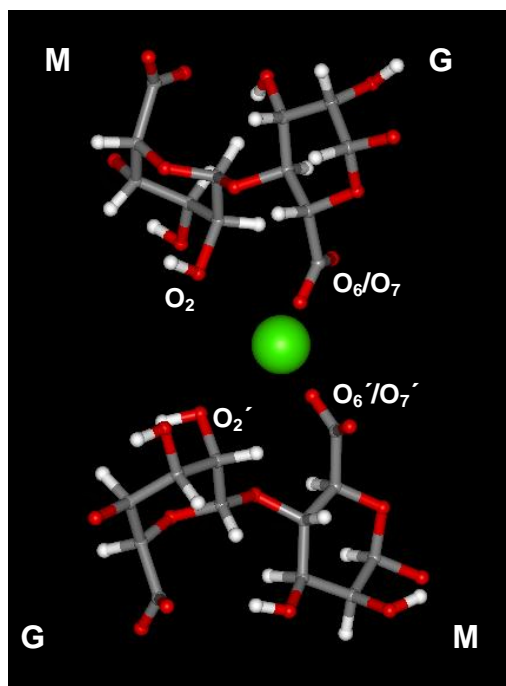
MG-Hexameren

Auch mit dem gemischten Komplex [Ca((MG)₃)₂]²⁺ wurde eine Geometrieoptimierung und eine Vakuumdynamik durchgeführt. Ausgangs- und Endgeometrie des Komplexes sind in Abb. 70 dargestellt.

Wie bei den zuvor berechneten Komplexen nehmen die beiden Hexamerstränge eine senkrechte Anordnung nach der Moleküldynamik ein; die bogenförmige Geometrie, die bereits die MG-Hexameren kennzeichnete ist auch im Komplex noch erkennbar.

Abb. 70: Start- und Endstruktur des gemischten $[\text{Ca}((\text{MG})_3)_2]^{2+}$ -Komplexes

Der vergrößerte Ausschnitt des Komplexes (Abb. 71) zeigt, dass diesmal vier Bausteine an der Bindung des Calciumions beteiligt sind.



Ca – O _n	<R> [Å]	R _{max} [Å]
Ca – O ₂	2.89	4.11
Ca – O ₆	2.71	3.26
Ca – O ₇	2.71	3.13
Ca – O ₂ '	2.92	5.59
Ca – O ₆ '	2.71	3.24
Ca – O ₇ '	2.71	3.12

Abb. 71: Mittlere und maximale Ca-O-Bindungsabstände des $[\text{Ca}((\text{MG})_3)_2]^{2+}$ -Komplexes

Dabei komplexieren die M-Bausteine das Calciumion über die Carboxylatgruppe (O_6'/O_7') und den Hydroxylsauerstoff O_2 , wie es auch bei dem M-Hexamer gefunden wurde. Ebenso bindet aber auch der G-Baustein über die Carboxylatgruppe (O_6/O_7) und über den Hydroxylsauerstoff O_2' .

Die mittleren Bindungsabstände liegen zwischen 2.71 Å und 2.92 Å; die kürzeren Abstände bildet die Carboxylatgruppe mit dem Calciumion, und die etwas längeren Abstände die O₂-Sauerstoffatome.

6.5.3.2 Wasserdynamik

Für die Durchführung einer Wasserdynamik wird der zu simulierende Molekülkomplex in eine sogenannte Wasserbox gebracht, die mit den Maßen 55 x 55 x 55 Å 5402 Wassermoleküle enthält. Periodische Randbedingungen sorgen dafür, dass die Anzahl der Wassermoleküle konstant bleibt. Die ausreichende Größe der Box verhindert, dass der Komplex mit sich selbst wechselwirkt.

Zur Verwendung kamen das PCFF-Krafftfeld und das NPT-Ensemble, bei dem die Teilchenzahl N, der Druck P und die Temperatur T konstant gehalten werden (P = 1 bar, T = 298 K). Der "cut-off"-Abstand wurde mit 12,5 Å festgesetzt, und das Temperaturbad wurde nach der Andersen-Methode gewählt.

Die Startstruktur des Komplexes war die Endstruktur aus der Vakuumsdynamik. Nach 700 ps Simulation in der Wasserbox resultiert die in Abb. 72 links dargestellte Struktur. Deutlicher wird die Struktur des Komplexes, wenn man die Wassermoleküle herauscheidet (Abb. 72, rechts).

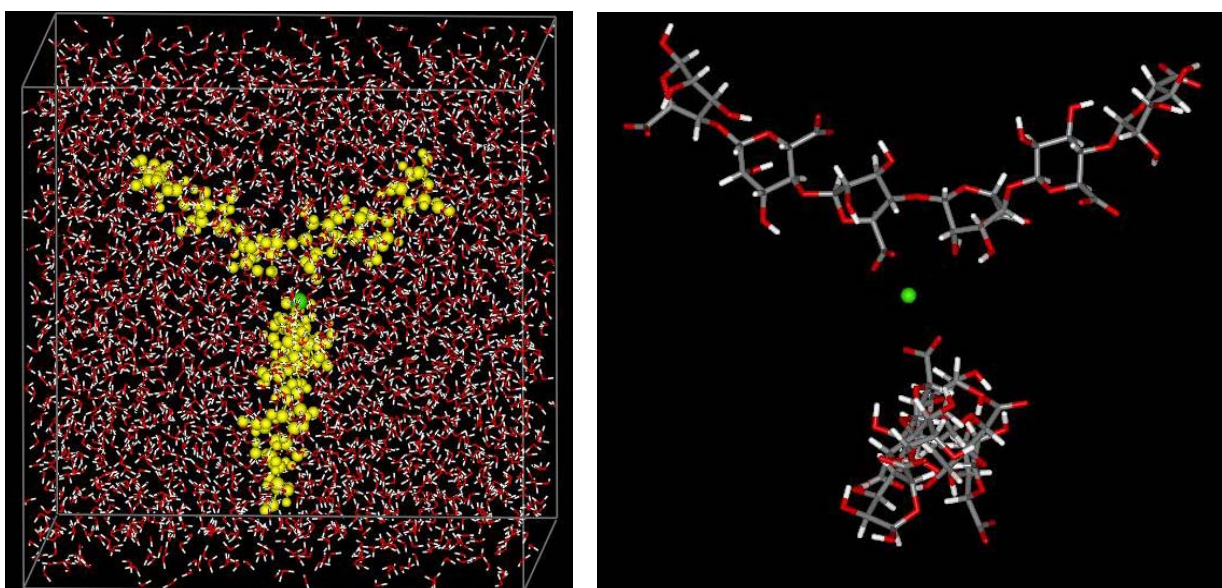
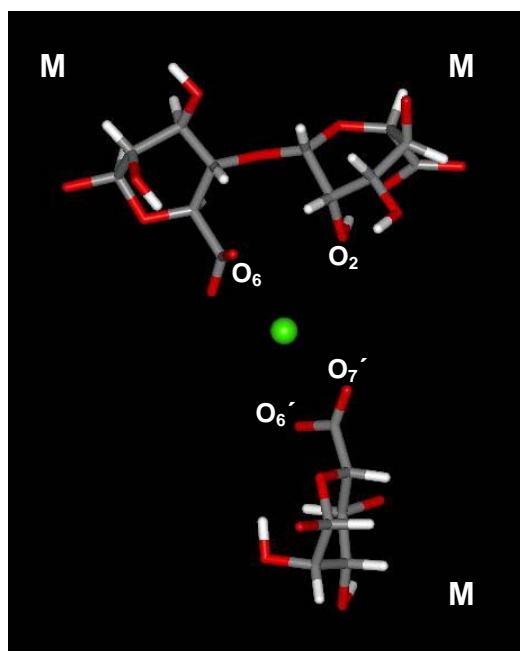


Abb: 72: [Ca(M₆)₂]²⁺-Komplex mit und ohne Wassermoleküle dargestellt

Die senkrechte Anordnung der Stränge bleibt auch in Gegenwart der Wassermoleküle erhalten. Um den Einfluss der Wasserumgebung mit der Vakuumsstruktur vergleichen zu können, ist in Abb. 73 die Komplexierungsregion ohne Wasser vergrößert dargestellt.



Ca – O _n	<R> [Å]	R _{max} [Å]
Ca – O ₂	3,60	3,83
Ca – O ₆	2,69	2,86
Ca – O ₆ '	2,66	2,85
Ca – O ₇ '	2,74	2,89

Abb. 73: Mittlere und maximale Ca-O-Bindungsabstände des $[\text{Ca}(\text{M}_6)_2]^{2+}$ -Komplexes

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Vakuumsstruktur wird auch hier das Calciumion vierzählig gebunden. Dabei nehmen wieder zwei Carboxylatgruppen an der Komplexierung des Calciumions teil ($\text{O}_6/\text{O}_6'/\text{O}_7'$). Anstelle des O_7 -Sauerstoffs der Carboxylatgruppe, der bei der Vakuumsdynamik an der Komplexierung beteiligt war, steht jetzt der Hydroxylsauerstoff O_2 als Ligand zur Verfügung.

Die mittleren Bindungsabstände liegen zwischen 2.66 Å und 3.60 Å.

Für das G-Hexamer mit einem Calciumion $[\text{Ca}(\text{G}_6)_2]^{2+}$ wurde hier eine 500 ps dauernde Wasserdynamik durchgeführt; die übrigen Parameter der Simulation bleiben unverändert gegenüber der oben beschriebenen Rechnung mit dem $[\text{Ca}(\text{M}_6)_2]^{2+}$ -Komplex.

Die Ergebnisse sind analog zu dem oben beschriebenen Beispiel in den Abbildungen 74 und 75 dargestellt.

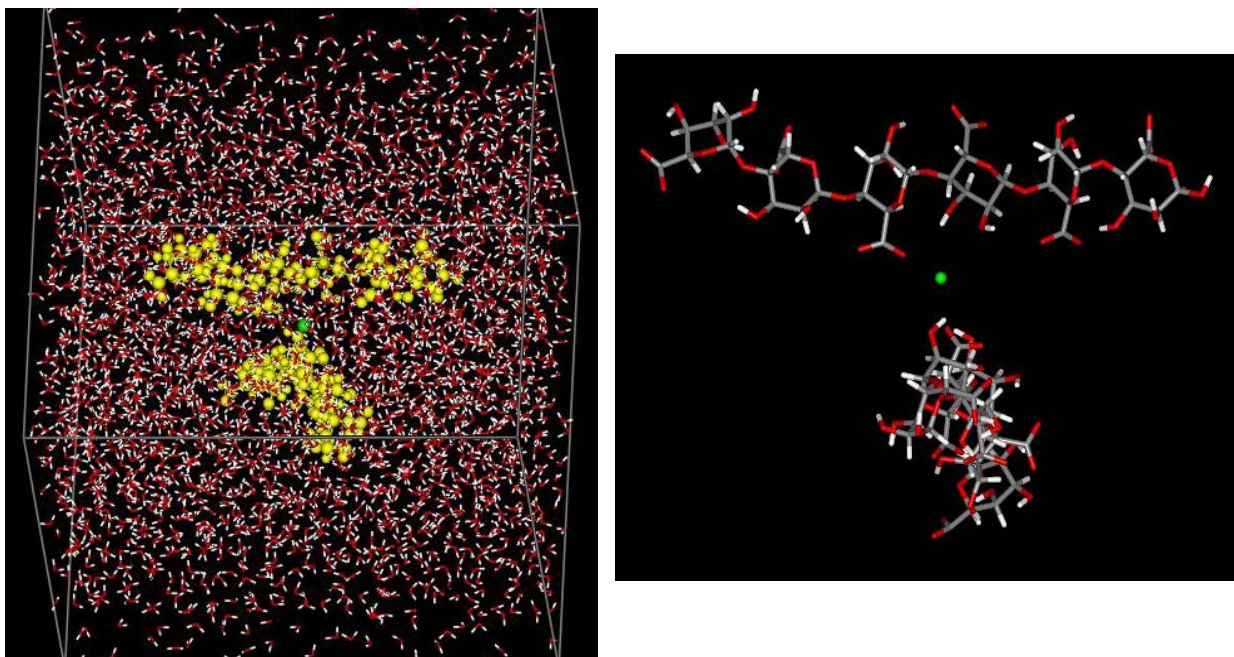
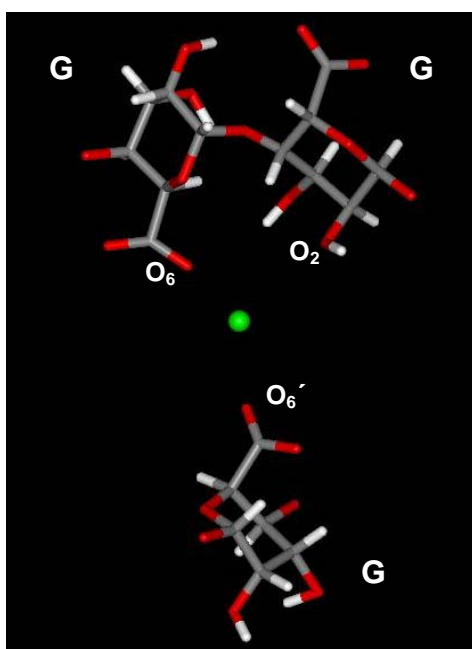


Abb. 74: $[\text{Ca}(\text{G}_6)_2]^{2+}$ -Komplex, mit (links) und ohne (rechts) Wassermoleküle dargestellt

Auch bei diesem Komplex ist die senkrechte Anordnung stabil gegenüber der wässrigen Umgebung. Die Detailansicht der Bindungsstellen (Abb. 75) zeigt, dass das Calciumion jetzt dreizählig gebunden vorliegt; die mittleren Bindungsabstände liegen bei 2.7 bzw. 3.4 Å



$\text{Ca} - \text{O}_n$	$\langle R \rangle$ [Å]	R_{max} [Å]
$\text{Ca} - \text{O}_6$	2.78	3.07
$\text{Ca} - \text{O}_2$	3.38	3.63
$\text{Ca} - \text{O}_6'$	2,71	2,90

Abb. 75: Mittlere und maximale Bindungsabstände im $[\text{Ca}(\text{G}_6)_2]^{2+}$ -Komplex

Die Vakuumstruktur, nach der das Calciumion im $[\text{Ca}(\text{G}_6)_2]^{2+}$ -Komplex sechszählig komplexiert vorliegt, wird an dieser Stelle nicht bestätigt. In der wässrigen Umgebung wurden drei Komplezierungsstellen (O_3 , O_4 , O_5) durch eine Koordination am Hydroxylsauerstoff O_2 ersetzt. Auch die Carboxylatgruppe hat eine Komplezierungsstelle eingebüßt. Anstelle der 2-zähligen Komplexierung über beide Sauerstoffe der Carboxylatgruppe, findet sich jetzt nur eine 1-zählige Komplexierung des O_6 -Sauerstoffes zum Calciumion.

Die Ergebnisse der Moleküldynamik des $[\text{Ca}((\text{MG})_3)_2]^{2+}$ -Komplexes in wässriger Umgebung, die in entsprechender Weise, nur mit einer längeren Simulationsdauer (700 ps) durchgeführt wurden, sind den Abb. 76 und 77 dargestellt.

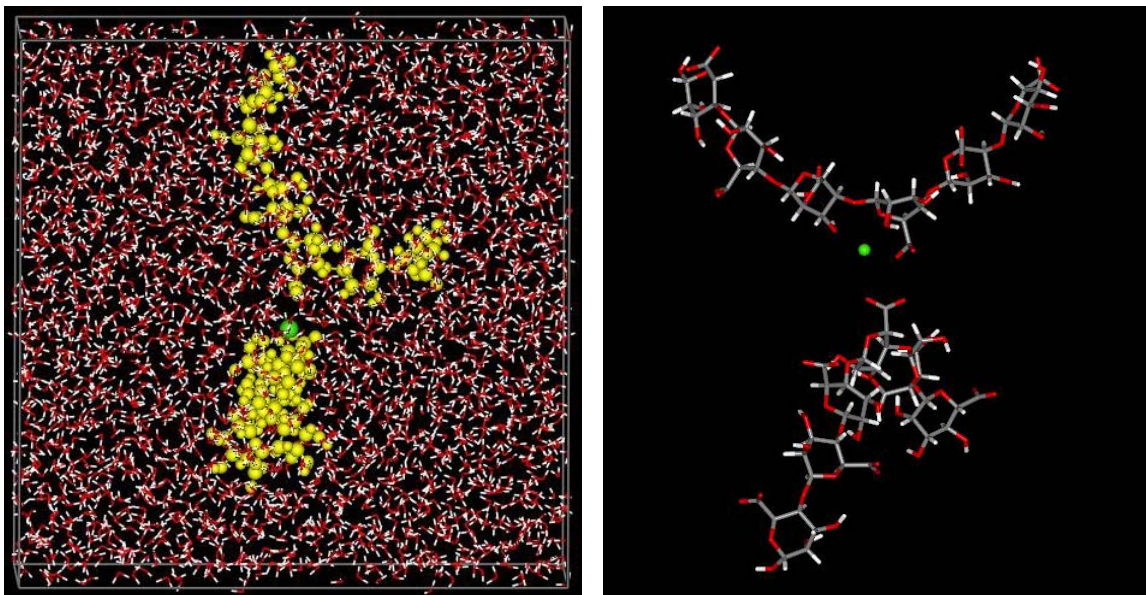
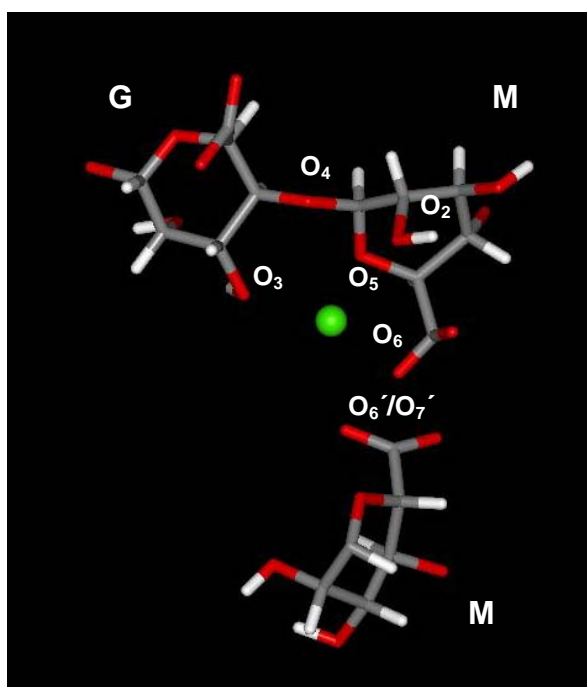


Abb. 76: $[\text{Ca}((\text{MG})_3)_2]^{2+}$ -Komplexes, mit und ohne Wassermoleküle dargestellt

Aus der Detailansicht (Abb. 77) wird deutlich, dass das Calciumion von drei Bausteinen komplexiert wird. Es wird hier sechszählig von einem GM-Baustein und zweizählig von der Carboxylatgruppe eines Mannuronatbausteins gebunden. Bei der Vakuumdynamik sind vier Bausteine an der Komplexierung beteiligt, die das Calcium-ion insgesamt sechszählig binden.



Ca – O _n	<R> [Å]	R _{max} [Å]
Ca – O ₃	2.75	2.94
Ca – O ₄	3.06	3.30
Ca – O ₂	2.72	2.92
Ca – O ₅	2.75	2.95
Ca – O ₆	2.84	3.08
Ca – O ₇	2.96	3.27
Ca – O _{6'}	3.11	3.37
Ca – O _{7'}	3.94	4.28

Abb. 77: Mittlere und maximale Ca-O-Bindungsabstände des $[\text{Ca}((\text{MG})_3)_2]^{2+}$ -Komplexes

Die Bindungsabstände liegen zwischen 2.72 Å und 3.94 Å vor. Den kürzesten Abstand weist wiederum die Bindung zwischen dem O₂-Sauerstoff der Hydroxylgruppe eines Mannuronat-Bausteins und dem Calciumion auf.

Um zu überprüfen, ob es sich bei den untersuchten Modellkomplexen um Gleichgewichtsstrukturen handelt, wird in Abb. 78 das sogenannte Energiediagramm des M-Hexamer stellvertretend für die beiden anderen diskutiert. Dabei handelt es sich um einen Plot, in dem die potentielle Energie gegen die Zeit aufgetragen wird. Der Gesamtverlauf der potentiellen Energie (Abb. 78) und der Verlauf der letzten 100 ps der Dynamik (Abb. 79) werden für das M-Hexamer dargestellt. Die Energieverläufe des G- und des MG-Hexamer sind dem Anhang zu entnehmen.

Das Energiediagramm des M-Hexamer (Abb. 78) zeigt einen rapiden Abfall der potentiellen Energie über die ersten 50 ps der Simulation, der mit einer Stabilisierung des Systems von mehr als 6000 kcal/mol einhergeht. Danach flacht die Kurve ab und

zeigt im vergrößerten Ausschnitt, dass außer der Fluktuationen keine Erniedrigung der potentiellen Energie mehr stattfindet. Die mittlere potentielle Energie beträgt nach 700 ps $-106038,3$ kcal/mol.

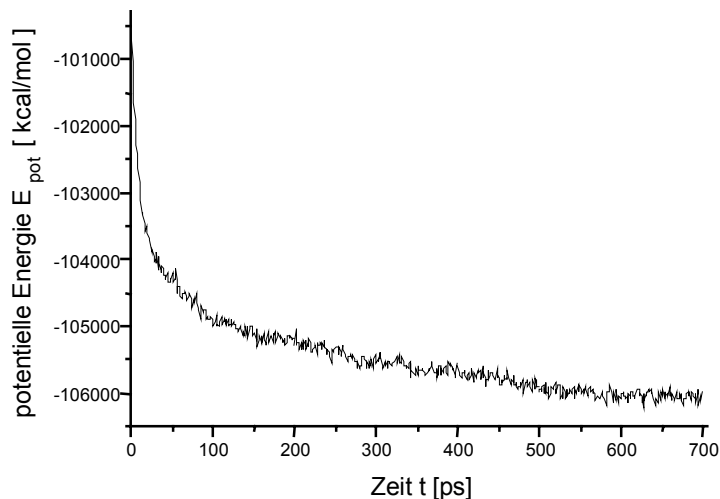


Abb. 78: Verlauf der potentiellen Energie von 0-700ps

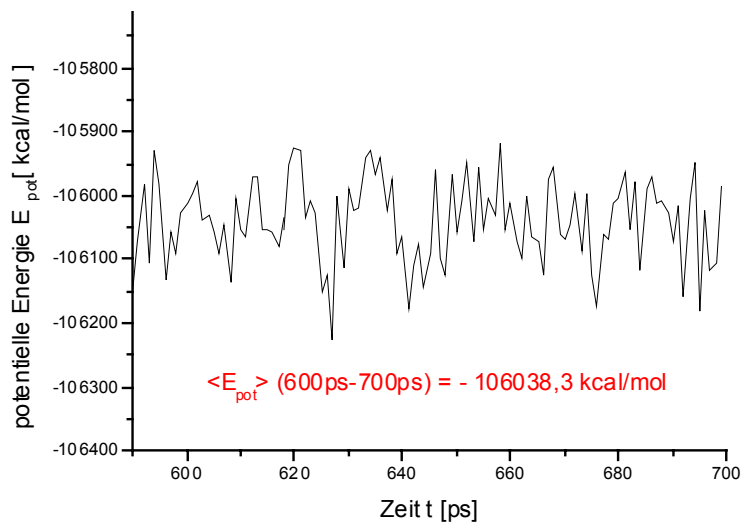


Abb. 79: Verlauf der letzten 100 ps der Simulation

Einen im Prinzip ähnlichen Verlauf zeigt die potentielle Energie im Fall des $[\text{Ca}(\text{G}_6)]^{2+}$ -Komplexes. Auch hier zeigt die nahezu konstante Energie zwischen 400 und 500 ps das Vorliegen einer equilibrierten Struktur. Die mittlere potentielle Energie beträgt $-105796,2$ kcal/mol.

Bei der MD-Simulation des $[\text{Ca}((\text{MG})_3)_2]^{2+}$ -Komplexes scheint der Abfall der potentiellen Energie in den ersten 100 ps der Simulation langsamer zu verlaufen als in den bisher diskutierten Komplexen; außerdem ist die immer noch zu beobachtende stetige Abnahme bei 700 ps ein Hinweis darauf, dass die Komplexstruktur mit der Wasserhülle immer noch nicht vollständig equilibriert ist. Die mittlere potentielle Energie nach 700 ps beträgt -106228.6 kcal/mol. Da auch dieser Verlauf dem in Abb. 78 sehr ähnelt, ist er bei Interesse im Anhang zu entnehmen.

6.5.3.3 Vergleich der Vakuums- und Wasserdynamik

Fasst man die drei Energiediagramme, die nach der Vakuumsdynamik erstellt wurden, zusammen, ergibt sich folgender Verlauf (Abb. 80).

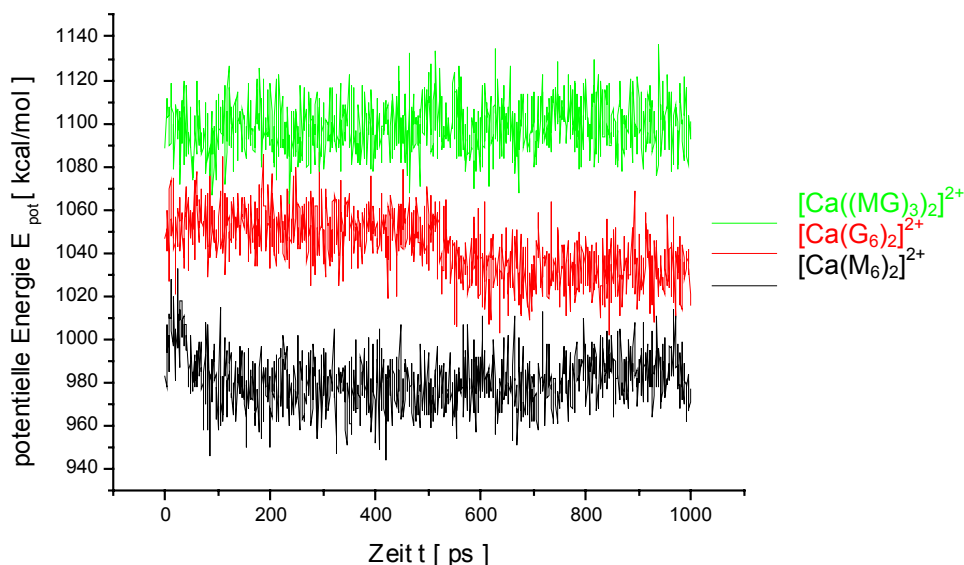


Abb. 80: Energievergleich der drei Komplexe im Vakuum

Um Unterschiede diskutieren zu können, werden die Mittelwerte der potentiellen Energie zwischen 500 ps bis 1000 ps, die Energiedifferenzen und die Koordinationen der Vakuumskomplexe mit einem Calciumion in Tabelle 17 zusammengefasst:

Tabelle 17: Energievergleich und Koordination KZ der drei unterschiedlichen Komplexe im Vakuum

Calciumkomplexe	$\langle E_{\text{pot}} \rangle$ [kcal/mol]	ΔE	KZ
$[\text{Ca}((\text{MG})_3)_2]^{2+}$	1099.83 ± 11.8	118.71	6
$[\text{Ca}(\text{G}_6)_2]^{2+}$	1033.37 ± 11.7	52.25	6
$[\text{Ca}(\text{M}_6)_2]^{2+}$	981.12 ± 11.4	0	4

Alle Komplexe liegen im thermodynamischen Gleichgewicht vor. Am stabilsten ist der Komplex, der aus zwei M-Hexameren mit einem Calciumion gebildet wurde. Im Gegensatz zu dem $[\text{Ca}(\text{G}_6)_2]^{2+}$ - und dem $[\text{Ca}((\text{MG})_3)_2]^{2+}$ -Komplex, die eine Koordination des Ca^{2+} -Ions von KZ 6 besitzen, findet sich bei dem $[\text{Ca}(\text{M}_6)_2]^{2+}$ -

Komplex eine Koordination von KZ 4. Diese Koordination scheint also im Vakuum bevorzugt zu sein, um stabile Komplexe mit Calcium²⁺ auszubilden. Die Bevorzugung der M-Hexamere mit Ca²⁺ gegenüber den anderen Calciumkomplexen ist bereits bekannt. Dieses Ergebnis wurde bei der Berechnung der Dimere mit einem Calciumion mit der Dichte-funktionaltheorie erhalten. Das Problem der Berechnung der Dimere mit Calcium, lag, wie bereits diskutiert, an den freien Rotationen an der glykosidischen Bindung, die die Carboxylatgruppe in cis-Stellung zueinander anordnete. Die vorliegenden Komplexe mit hexameren Strängen weisen hingegen Carboxylatgruppen in trans-Stellung zueinander auf, wie es aus der Literatur bekannt ist [31, 59].

Um die Strukturen im Wasser vergleichen zu können, trägt man die potentielle Energie gegen die Zeit auf. Es ergibt sich folgender Verlauf (Abb. 81):

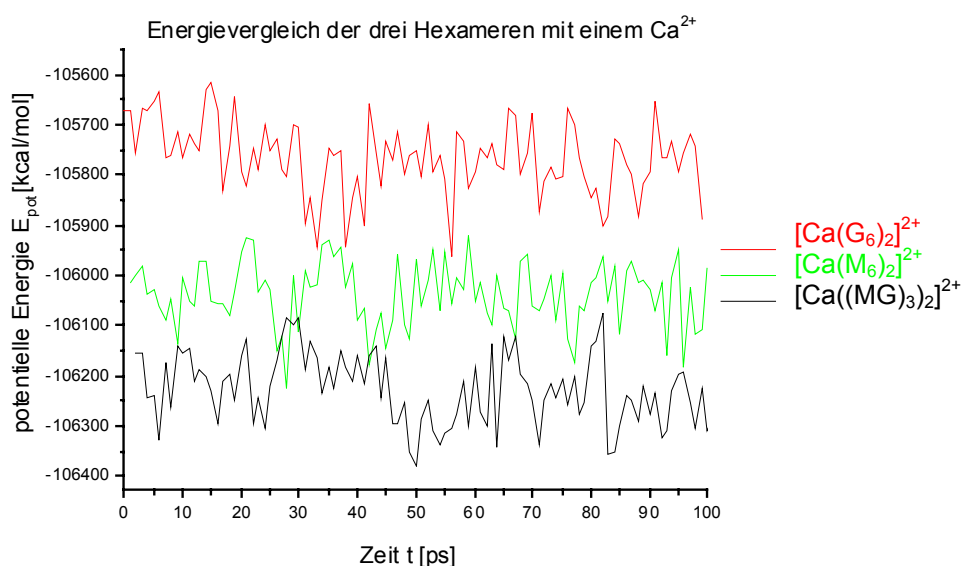


Abb. 81: Energievergleich der drei unterschiedlichen Komplexe im Wasser

Der Energieverlauf, der für die drei Komplexe mit Wassermolekülen aufgenommen wurde, zeigt ebenfalls Komplexstrukturen an, die sich im thermodynamischen Gleichgewicht befinden. Zur genaueren Betrachtung der Komplexe werden ihre mittleren potentiellen Energien, die Energiedifferenzen und die Koordinationszahlen zusammengestellt (Tabelle 18).

Tabelle 18: Energievergleich der drei unterschiedlichen Komplexe im Wasser

Calciumkomplexe	$\langle E_{\text{pot}} \rangle$ [kcal/mol]	ΔE	KZ
$[\text{Ca}(\text{G}_6)_2]^{2+}$	-105796.2 ± 70.5	432.4	3
$[\text{Ca}(\text{M}_6)_2]^{2+}$	-106038.3 ± 64.9	190.3	4
$[\text{Ca}((\text{MG})_3)_2]^{2+}$	-106228.6 ± 71.4	0	8

Im Gegensatz zur Vakuumsdynamik ist der $[\text{Ca}((\text{MG})_3)_2]^{2+}$ -Komplex am stabilsten, mit einer Koordination von KZ 8. Diese hohe Koordinationszahl ($\text{KZ} > 6$) und unregelmäßige Koordinationsgeometrien sind z. B. für Ca-bindende Proteine typisch [166]. Calcium bindet aufgrund seiner positiven Ladung sehr leicht Anionen, was in allen drei Komplexen zu beobachten ist (Ca-COO⁻-Bindung). Des Weiteren kann Ca²⁺ neutrale Sauerstoffliganden, wie z. B. Alkoholgruppen, Carbonylverbindung, Ethergruppen, in Konkurrenz zum Wasser binden. Das bedeutet jetzt allerdings auch, dass die ausgewertete niedrige KZ von 3 für den $[\text{Ca}(\text{G}_6)_2]^{2+}$ - und die KZ von 4 für den $[\text{Ca}(\text{M}_6)_2]^{2+}$ -Komplex untypisch für Calciumverbindungen sind und somit nicht nur ausschließlich Carboxylat- und Alkoholgruppen an der Komplexierung des Calciums beteiligt sein können. Vielmehr müssen hier Wassermoleküle zur Ausbildung eines stabilen Calciumkomplexes hinzukommen. Aufgrund der enormen Anzahl der Wassermoleküle konnte keine übersichtliche Darstellung für teilnehmende Wasserstoffbrückenbindungen zum Calciumion erstellt werden. Es kann aber davon ausgegangen werden, dass drei bis vier Wassermoleküle beteiligt sein müssen, um einen stabilen Komplex mit einer KZ von 6, 7 oder 8 zu erhalten.

6.5.4 Zwei Hexamere mit drei Ca^{2+} -Ionen

6.5.4.1 Wasserdynamik

In diesem Abschnitt soll untersucht werden, wie zwei Oligosaccharide durch mehrere zweiwertige Ionen verknüpft werden können. Als Modell wählen wir die schon bekannten Hexamerstränge G_6 , M_6 und $(\text{MG})_3$, so wie drei Calciumionen.

Als Ausgangsgeometrie für die Vakuumsdynamik und die anschließende Wasserdynamik (650 ps) werden die Hexamere in eine antiparallele Anordnung gebracht und die drei Calciumionen so platziert, dass sie mit mehreren Zuckereinheiten wechselwirken können. Der einzige Unterschied zu den zuvor durchgeführten MD-Simulationen in Wasser ist die Anzahl der Wassermoleküle. Hier wird eine Wasserbox mit den Maßen $60 \times 45 \times 35 \text{ \AA} = 3043$ Wassermolekülen verwendet.

Die Ergebnisse der MD-Simulation am Komplex $[\text{Ca}_3(\text{M}_6)_2]^{6+}$ sind in Abb. 82 (komplette Struktur mit und ohne Wasser) und in Abb. 83 (Ausschnitt-Vergrößerung der zentralen Ca^{2+} -Ionen) dargestellt.

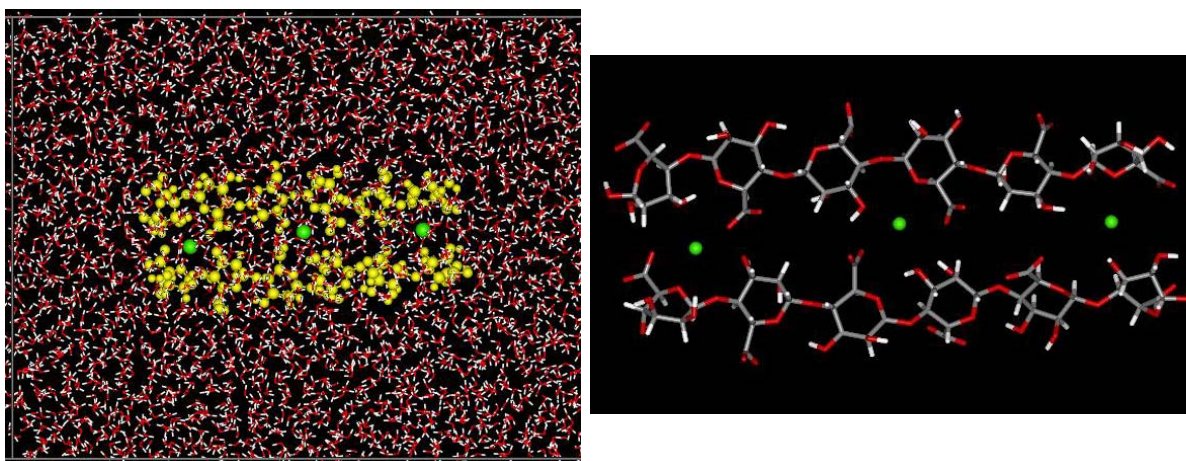
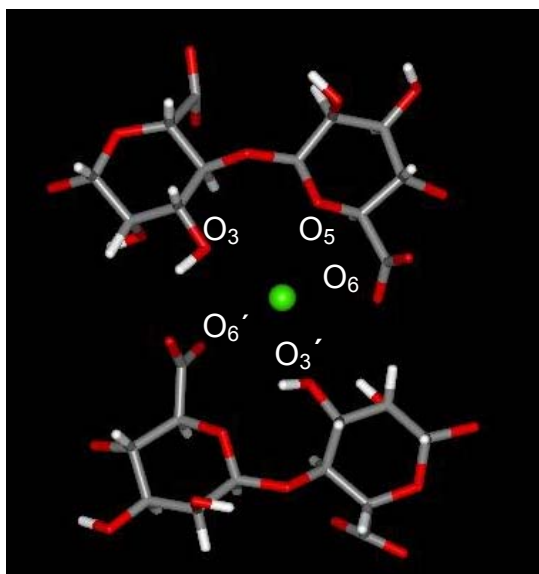


Abb. 82: $[\text{Ca}_3(\text{M}_6)_2]^{6+}$ -Komplex, mit und ohne Wassermoleküle dargestellt

Die antiparallele Anordnung der beiden Hexamere ist erhalten geblieben. Die beiden Stränge haben sich den drei Calciumionen so genähert, bis Abstände von 2.7 bis 3.3 \AA erreicht wurden. Lediglich die vier äußeren Bausteine waren zu Rotationen

befähigt, die übrigen Bausteine blieben nahezu unverändert. So widmet man sich dem mittleren Komplexbereich, der Carboxylatgruppen in trans-Stellung zueinander ausweist (Abb. 83).



Ca – O _n	<R> [Å]	R _{max} [Å]
Ca – O ₃	2.79	3.02
Ca – O ₅	3.03	3.27
Ca – O ₆	2.71	2.88
Ca – O _{3'}	3.28	3.53
Ca – O _{6'}	2.80	3.00

Abb. 83: Mittlere Bindungslängen des mittleren Ausschnitts aus Abb. 83

Insgesamt betrachtet wird das Calciumion von vier Bausteinen fünfzählig gebunden. Die mittleren Bindungsabstände liegen hier zwischen 2.71 Å und 3.28 Å. Sie unterscheiden sich kaum von den mittleren Bindungsabständen des M₆-Hexameren mit einem Ca²⁺ (r= 2.66 Å bis 3.60 Å). Bei der Komplexbildung mit einem Calciumion waren jedoch nur drei Bausteine beteiligt (hier sind es vier) und die Hydroxylgruppe O₂ nimmt auch nicht an der Komplexbildung teil. Dafür werden Bindungen zwischen den O₃/O_{3'} Hydroxylgruppen und dem Ringsauerstoff O₅ geschlossen.

Die Auftragung der potentiellen Energie gegen die Zeit für den [Ca₃(M₆)]⁶⁺-Komplex wird beispielhaft für die anderen beiden Komplexe dargestellt, da sie einen ähnlichen Verlauf wiedergeben. Ihre Energieverläufe können dem Anhang entnommen werden. Die obere Abbildung gibt den Gesamtverlauf der potentiellen Energie wieder und der untere Verlauf konzentriert sich auf die letzten 100 ps der Simulation, um die mittlere potentielle Energie bestimmen zu können.

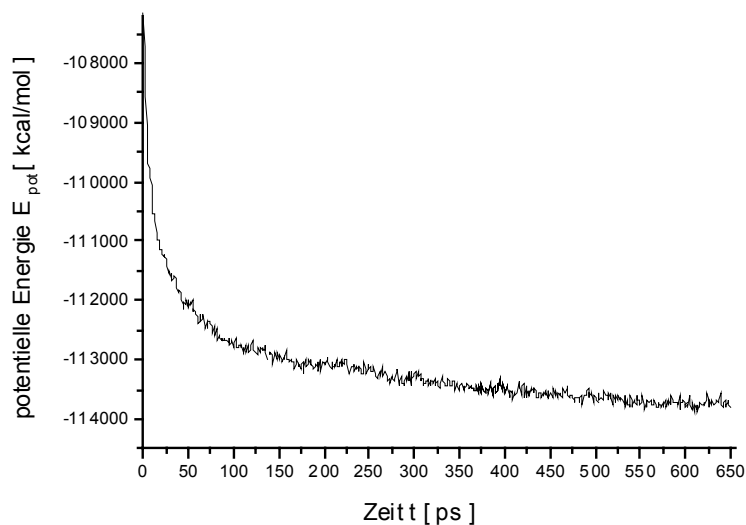


Abb. 84: Gesamtverlauf der potentiellen Energie des $[\text{Ca}_3(\text{M}_6)]^{6+}$ -Komplexes

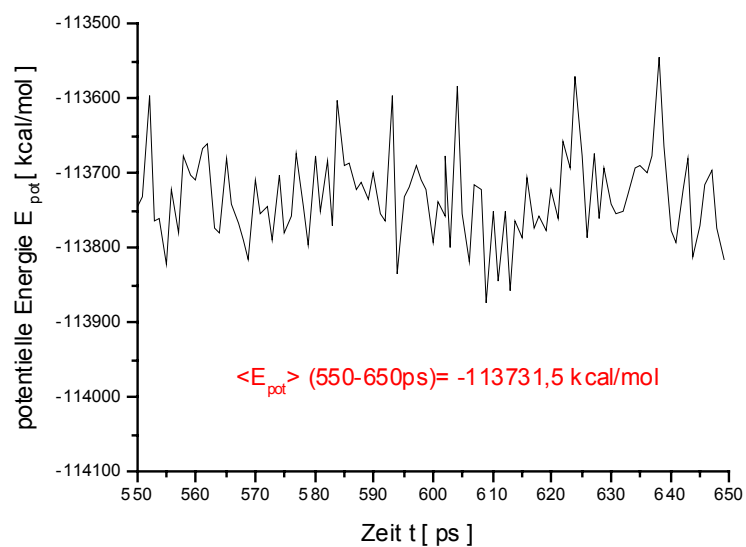


Abb. 85: Auftragung der letzten 100 ps (550 – 650 ps)

In Abb. 84 erkennt man einen raschen Abfall der potentiellen Energie über die ersten 75 ps, mit der eine Stabilisierung des Komplexes um mehr als 5000 kcal/mol einhergeht. Im weiteren Verlauf flacht die Kurve immer mehr ab, bis sie schließlich einen konstanten Wert zwischen 550 und 650 ps erreicht hat. Die mittlere potentielle Energie beträgt hier $-113731,5$ kcal/mol.

Die Wasserdynamik des G-Hexameren mit drei Calciumionen erfolgt analog zur Wasserdynamikdurchführung des M-Hexameren mit drei Calciumionen. Hier startet man jedoch eine Wasserdynamik für 200 ps.

Die Ergebnisse der Wasserdynamik für den $[\text{Ca}_3(\text{G}_6)]^{6+}$ -Komplex sind in Abb. 86 mit und ohne Wassermoleküle dargestellt.

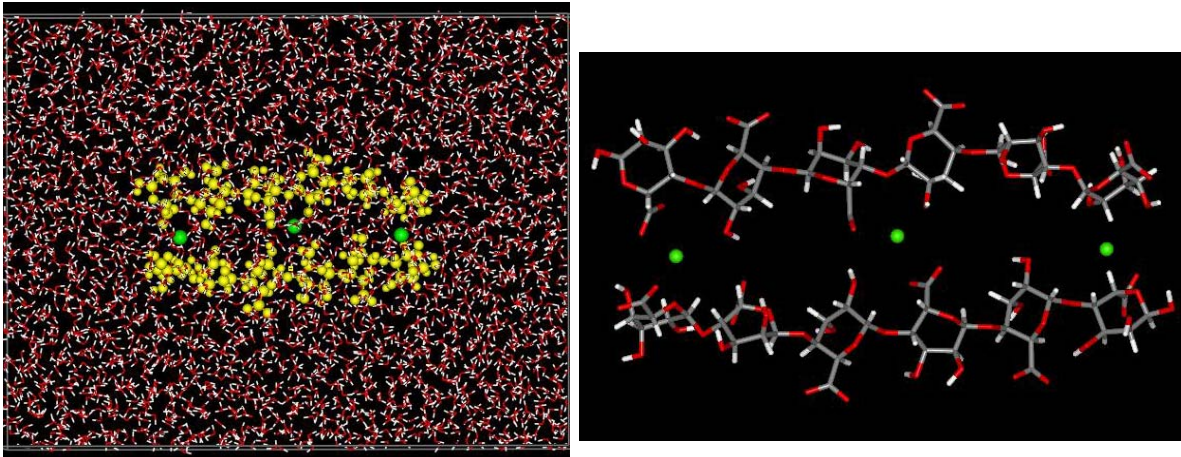
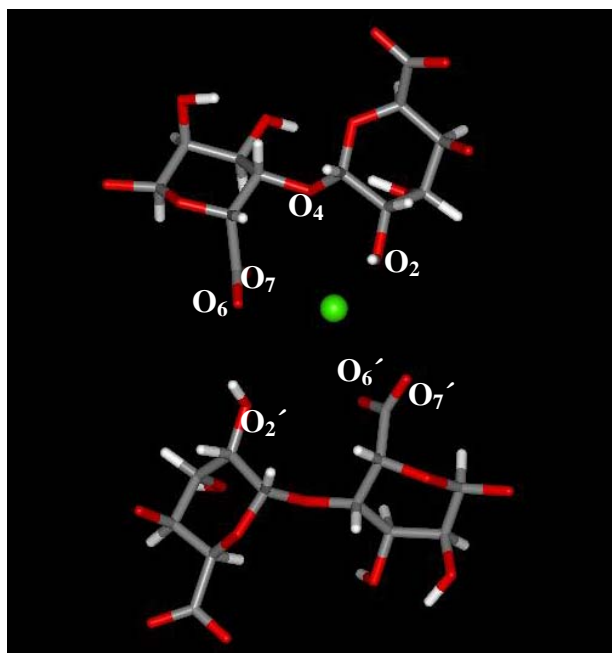


Abb. 86: $[\text{Ca}_3(\text{G}_6)]^{6+}$ -Komplex, mit und ohne Wassermolekülen dargestellt

Analog zu dem $[\text{Ca}_3(\text{M}_6)]^{6+}$ -Komplex wird auch hier die parallele Anordnung der beiden G-Hexamere beibehalten. Die hexameren Stränge nähern sich den Calciumionen im Abstand von 2.6 bis 3.9 Å. Nur die äußeren Bausteine rotieren um die glykosidische Bindung und liefern keine eindeutige Bevorzugung der trans-Stellung für Carboxylatgruppen, so dass hier ausschließlich der mittlere Komplexierungsausschnitt betrachtet wird, der Carboxylatgruppen in trans-Stellung zueinander aufweist.



Ca – O _n	<R> [Å]	R _{max} [Å]
Ca – O ₇	2.68	2.90
Ca – O ₆	2.93	3.21
Ca – O ₄	3.40	3.62
Ca – O ₂	2.72	2.88
Ca – O ₂ '	3.51	3.72
Ca – O ₆ '	2.73	2.90
Ca – O ₇ '	3.17	3.43

Abb. 87: Mittlere Bindungslängen des mittleren Ausschnitts aus Abb. 86

Vier Bausteine komplexieren das Calciumion siebenzählig. Daran beteiligt sind die beiden Carboxylatgruppen, die beiden O₂-Hydroxylgruppen und eine glykosidische Verknüpfungsstelle.

Seine mittleren Bindungsabstände liegen zwischen 2.68 Å und 3.51 Å. Im Vergleich dazu betragen die mittleren Bindungsabstände des G-Hexameren mit einem Calciumion 2.67 Å bis 3.50 Å. Die kürzeren Abstände sind also nahezu identisch, man findet sie bei der O₆-Ca-Wechselwirkung.

Der im Anhang dargestellte Energieverlauf ähnelt sehr dem des [Ca₃(M₆)₂]⁶⁺-Komplexes. Auch hier zeigt sich ein schneller Abfall der Energie innerhalb von 50 ps, dann flacht die Energiekurve langsam ab und konvergiert zu einem konstanten Wert. Es liegt eine vollständig equilibrierte Struktur vor. Die mittlere potentielle Energie beträgt –114174.8 kcal/mol.

Analog der Wasserdynamik des $[\text{Ca}_3(\text{M}_6)_2]^{6+}$ -Komplexes wird auch für den $[\text{Ca}_3((\text{MG})_3)_2]^{6+}$ -Komplex eine Wasserdynamik durchgeführt. Die Ergebnisse der Wasserdynamik für das G_6 -Hexamer sind in Abb. 88 mit und ohne Wassermoleküle dargestellt.

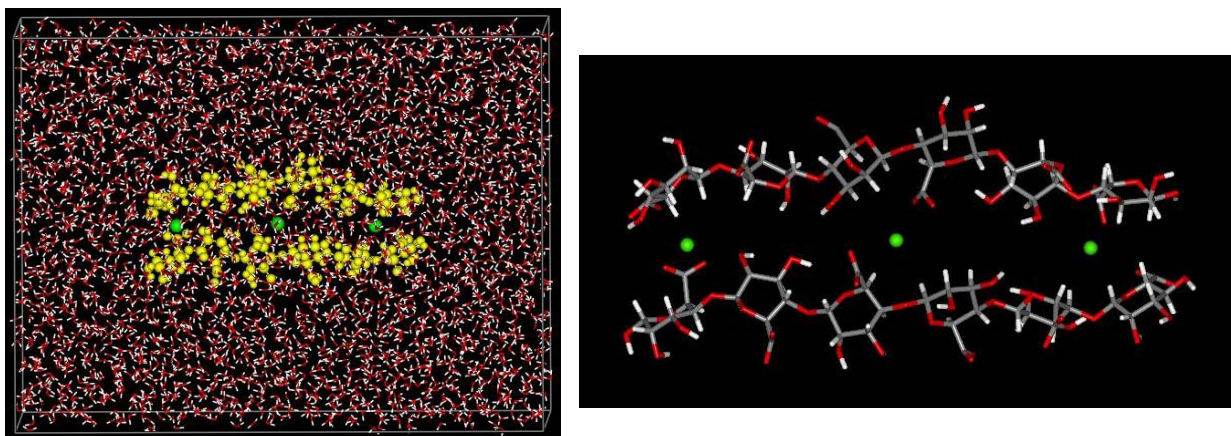
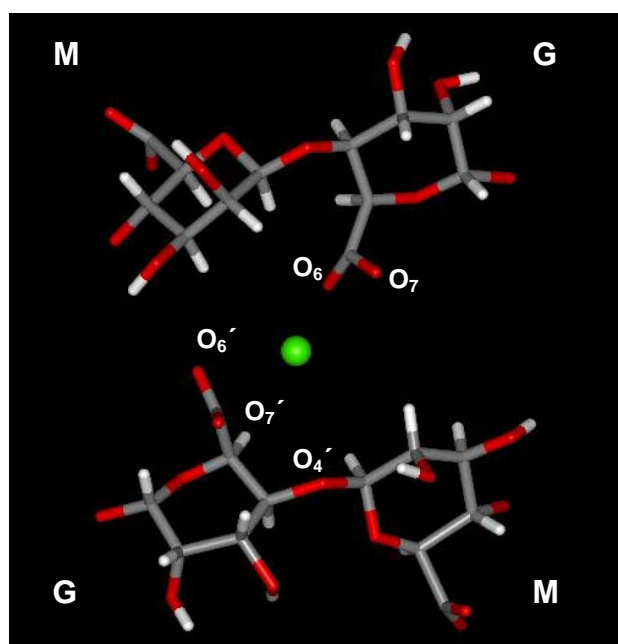


Abb. 88: $[\text{Ca}_3((\text{MG})_3)_2]^{6+}$ -Komplex, mit (links) und ohne (rechts) Wassermolekülen dargestellt

Eine leichte wellenförmige Anordnung des MG-Ca-Komplexes ist hier zu erkennen. Jeweils zwei äußere Bausteine (MG), also insgesamt acht, bewegten sich aus der antiparallelen Ausgangslage heraus. Das hat zur Folge, dass lediglich der mittlere Ausschnitt so erhalten geblieben ist, das die Carboxylatgruppen in trans-Stellung zueinander stehen, wie es auch bei den vorherigen Komplexen der Fall war. Um die Bindung genauer beschreiben zu können, wird der mittlere Ausschnitt des $[\text{Ca}_3((\text{MG})_3)_2]^{6+}$ -Komplexes dargestellt (Abb. 89).



Ca – O _n	<R> [Å]	R _{max} [Å]
Ca – O ₆	2.80	2.98
Ca – O ₇	2.85	3.09
Ca – O ₆ '	2.61	2.82
Ca – O ₇ '	3.97	4.21
Ca – O ₄ '	3.88	4.31

Abb. 89: Komplexierungsausschnitt des $[\text{Ca}_3((\text{MG})_3)_2]^{6+}$ -Komplexes

Obwohl es zunächst den Anschein hat, als würde das Calciumion von vier Bausteinen komplexiert, liefert die Detailbetrachtung ein anderes Ergebnis. Es sind lediglich drei Bausteine (MG- und ein G-Baustein) an der fünfzähligen Verknüpfung beteiligt. Da, wie bereits diskutiert, eine Koordinationszahl kleiner sechs eher untypisch für Calciumverbindungen ist, müssen Wassermoleküle zur Stabilisierung des Komplexes beitragen. Die mittleren Bindungsabstände liegen zwischen 2.61 Å und 3.97 Å, ähneln also denen im $[\text{Ca}((\text{MG})_3)_2]^{2+}$ -Komplex (2.72 Å und 3.94 Å), wobei sich der kürzeste Abstand auf die $\text{O}_6\text{-Ca}$ -Wechselwirkung bezieht.

In Übereinstimmung zu den beiden vorherigen Komplexen, wird auch an dieser Stelle der Verlauf der potentiellen Energie gegen die Zeit diskutiert. Der schnelle Abfall der Energie innerhalb der ersten 50 ps (siehe auch Abb. 84) ist aus den beiden vorherigen Komplexen schon bekannt. Dann flacht auch hier die Energiekurve ab und strebt einem konstanten Wert zu, was auf eine equilibrierte Struktur hindeutet. Die mittlere potentielle Energie dieses Komplexes beträgt -113377.5 kcal/mol.

6.5.5 Vergleich der Calciumkomplexe mit dem „Egg-Box-Modell“

Grundlage des sogenannten Egg-Box-Modells [41-43] ist die Vorstellung, dass vier Guluronatbausteine ein Calciumion komplexieren. Das Calcium wechselwirkt hierbei zum einen mit jeweils einem Sauerstoff der Carboxylatgruppen und den O₂- und O₃-Sauerstoffen der Hydroxylgruppen, sowie dem Sauerstoff der glykosidischen Bindung (O₄) und dem Ringsauerstoff (O₅). Bei Ausbildung all dieser Bindungen müsste für das Calciumzentrum eine Koordinationszahl von 10 angenommen werden. Stabile Komplexe des Calciums sind jedoch lediglich mit Koordinationszahlen zwischen 6 und 8 bekannt [167].

Die drei verschiedenen Calciumkomplexe ($[\text{Ca}_3(\text{G}_6)_2]^{6+}$, $[\text{Ca}_3(\text{M}_6)_2]^{6+}$, $[\text{Ca}_3((\text{MG})_3)_2]^{6+}$) wurden mit dem PCFF-Kraftfeld untersucht. Bei diesen Untersuchungen konnte der Komplex mit Guluronatbausteinen und Calciumionen als stabilster Komplex von den beiden anderen Verbindungen klar abgegrenzt werden.

Die Komplexe konvergieren nach unterschiedlichen Zeiten, daher werden ausschließlich die letzten charakteristischen 100 ps der MD-Simulation (Abbildung 91) dargestellt. Alle drei Strukturen bewegen sich nach erfolgreicher Simulation in einem konstanten Energiebereich, so dass man von vollständig equilibrierten Strukturen ausgehen kann.

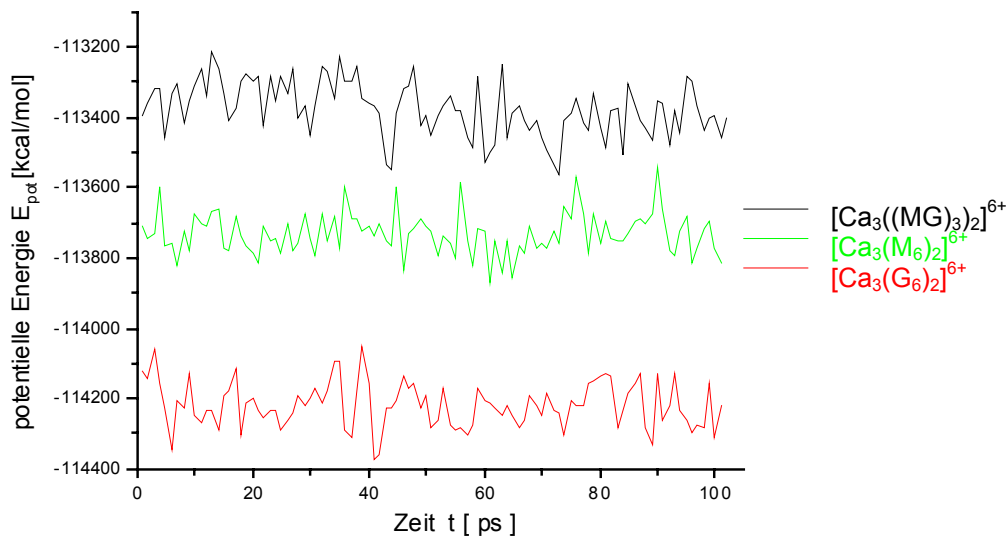


Abb. 91: Vergleich der charakteristischen 100 ps der MD-Simulationen der drei Calciumkomplexe

Der Calciumkomplex mit der niedrigsten potentiellen Energie ist der $[\text{Ca}_3(\text{G}_6)_2]^{6+}$ -Komplex (Abbildung 91 unterster Energieverlauf).

Ihre mittleren potentiellen Energien, die Energiedifferenzen und die Koordinationszahlen werden in Tabelle 19 zusammengefasst.

Tabelle 19: Energievergleich der drei unterschiedlichen Komplexe mit drei Ca^{2+} -Ionen im Wasser

Calciumkomplexe	$\langle E_{\text{pot}} \rangle$ [kcal/mol]	ΔE	KZ
$[\text{Ca}_3((\text{MG})_3)_2]^{6+}$	-113377.5 ± 77.6	840.3	5
$[\text{Ca}_3(\text{M}_6)_2]^{6+}$	-113732.1 ± 59.8	485.7	5
$[\text{Ca}_3(\text{G}_6)_2]^{6+}$	-114217.8 ± 63.9	0	7

Der stabile Ca-Guluronatkomplex kann mit dem Egg-Box-Modell verglichen werden. In Übereinstimmung zu diesem, wird das Ca^{2+} -Ion auch bei dem berechneten Komplex von vier Guluronatbausteinen komplexiert. Hier ergibt sich jedoch eine realistische Koordination von KZ 7, an der beide Sauerstoff der Carboxylatgruppe, zwei Hydroxylsauerstoffe und ein glykosidischer Sauerstoff (O_4) beteiligt sind. Eine Komplexierung vom Ringsauerstoff (O_5) zum Calciumion konnte bei diesem Modellkomplex zwar nicht gefunden werden, aber sie ist aus der Berechnung von zwei G-Hexameren mit einem Calciumion (Vakuumsdynamik) bekannt.

Im Gegensatz zu der Egg-Box-Theorie nehmen in dem berechneten Modell jeweils zwei Sauerstoffe der Carboxylatgruppe, also insgesamt vier Sauerstoffe, teil und nicht nur zwei, wie es das Egg-Box-Modell vorschlägt.

In den beiden anderen Calciumkomplexen, $[\text{Ca}_3((\text{MG})_3)_2]^{6+}$ und $[\text{Ca}_3(\text{M}_6)_2]^{6+}$, wird das Calciumion fünfzählig gebunden. Aus Literaturangaben ist diese Koordination für Calciumverbindung nicht bekannt, so dass mit hoher Wahrscheinlichkeit Wassermoleküle diese Komplexe stabilisieren müssen. Die Komplexe, die eine Wechselwirkung mit Mannuronatbausteinen und alternierenden MG-Bausteinen aufweisen, sind jedoch im Vergleich zu dem $[\text{Ca}_3(\text{G}_6)_2]^{6+}$ -Komplex wesentlich instabiler.

Im Vergleich mit dem $[\text{Ca}_3(\text{G}_6)_2]^{6+}$ -Komplex ist der $[\text{Ca}(\text{G}_6)_2]^{2+}$ -Komplex wesentlich instabiler. Er muss, mit einer Koordination von KZ 3, wie bereits diskutiert, durch Wassermoleküle stabilisiert werden. Dieser berechnete Strukturvorschlag kann aber mit dem zuvor beschriebenen Egg-Box-Modell nicht in Übereinstimmung gebracht werden.

Es ist also sowohl die Anzahl an Calciumionen als auch eine stöchiometrische Menge von Guluronatbausteinen entscheidend, um einen stabilen Calciumkomplex nach dem „Egg-Box-Modell“ zu erhalten. In diesem Falle sind genau vier Guluronatbausteine nötig um ein Calciumion zu komplexieren.

In einer weiteren Studie [57] wurden zum einen vier Guluronatbausteine und vier Mannuronatbausteine mit einem Calciumion (Skizze 2) anhand einer Kraftfeldmethode (AMBER/Homans) untersucht. Zwei MM- und zwei GG-Dimere wurden antiparallel angeordnet, mit einem Calciumion dazwischen und im Vakuum mit der Steepest Descent Methode geometrieoptimiert.



Skizze 2: Zwei GG-Dimere mit Ca^{2+} (links) und zwei MM-Dimere mit Ca^{2+} (rechts)

Dabei wurden folgende Ca-O-Abstände erhalten (Tabelle 20):

Tabelle 20: Ca-O-Abstände zweier GG- und MM-Dimer, im Vakuum berechnet

Ca-O _n	R [Å] (GG-Dimer)	Ca-O _n	R [Å] (MM-Dimer)
Ca-O ₆	2.20	Ca-O ₆ '	2.19
Ca-O ₂ '	2.29	Ca-O ₃	2.24
Ca-O ₃ '	2.40	Ca-O ₅ '	2.41
Ca-O ₄ '	2.96	Ca-O ₄	3.45

In dieser Studie wurden die kürzesten Abstände (≤ 2.41 Å) betrachtet, so dass jedes Dimer drei Wechselwirkungen mit dem Calciumion aufweist. Bei dem GG-Dimer sind es die Hydroxylsauerstoff (O_2' und O_3') und der Sauerstoff der Carboxylatgruppe, bei dem MM-Dimer hingegen sind es ein Hydroxylsauerstoff (O_3), der Ringsauerstoff (O_5') und der Sauerstoff der Carboxylatgruppe. Obwohl sich in beiden Calciumkomplexen folglich eine Koordinationszahl von 6 ergibt, ist der Ca-Guluronatkomplex der stabilere Calciumkomplex. Dass Ca-Guluronatkomplexe sehr stabile Komplexe darstellen, ist aus mehreren experimentellen Arbeiten bekannt [29,

42, 50, 57]. Vergleicht man die im Vakuum berechneten Calciumkomplexe mit den im wässrigen Milieu berechneten Modellkomplexen der vorliegenden Arbeit, so sind die Ca-O-Abstände zwischen 0.2 Å und 1.5 Å größer, da Wasserstoffbrückenbindungen wirksam werden. Es können zwar Ca-Wechselwirkungen mit den Sauerstoffen der Carb-oxylatgruppe und Hydroxylsauerstoffen bestätigt werden, doch ist es fraglich, ob Vakuum- und Wasserstrukturen miteinander verglichen werden sollten. Auch ist die Herkunft des $[\text{Ca}(\text{G}_4)]^{2+}$ -Komplexes im Vakuum eine andere als die im Wasser. In der Vakuumssimulation wurden zwei gegenüberliegende Dimere mit einem Calciumion dazwischen betrachtet, und im Wasser wurde der $[\text{Ca}(\text{G}_4)]^{2+}$ -Komplex aus einem $[\text{Ca}(\text{G}_6)_2]^{6+}$ -Komplex ausgeschnitten. Folglich konnten bei dem Wasserkomplex die Rotationen, die bei dem Vakuumkomplex an der glykosidischen Bindung möglich sind, eingeschränkt werden, indem ein $[\text{Ca}_3(\text{G}_6)_2]^{6+}$ -Komplex modelliert wurde. So gelingt es in der vorliegenden Arbeit, die Wechselwirkung zwischen Calcium- und Sauerstoffatomen im Egg-Box-Modell darzustellen.

Um die stöchiometrische Beziehung zwischen Guronatbausteinen und Calciumionen zu verstehen, werden in Abbildung 92 die Strukturen von Polysacchariden mit einer niedrigen und einer hohen Calciumkonzentration dargestellt. Aus den Berechnungen der hexameren Stränge mit einem Calciumion ging hervor, dass sich die Stränge senkrecht zueinander anordnen. Diese Anordnung findet sich auf der linken Seite der Abb. 92 wieder.

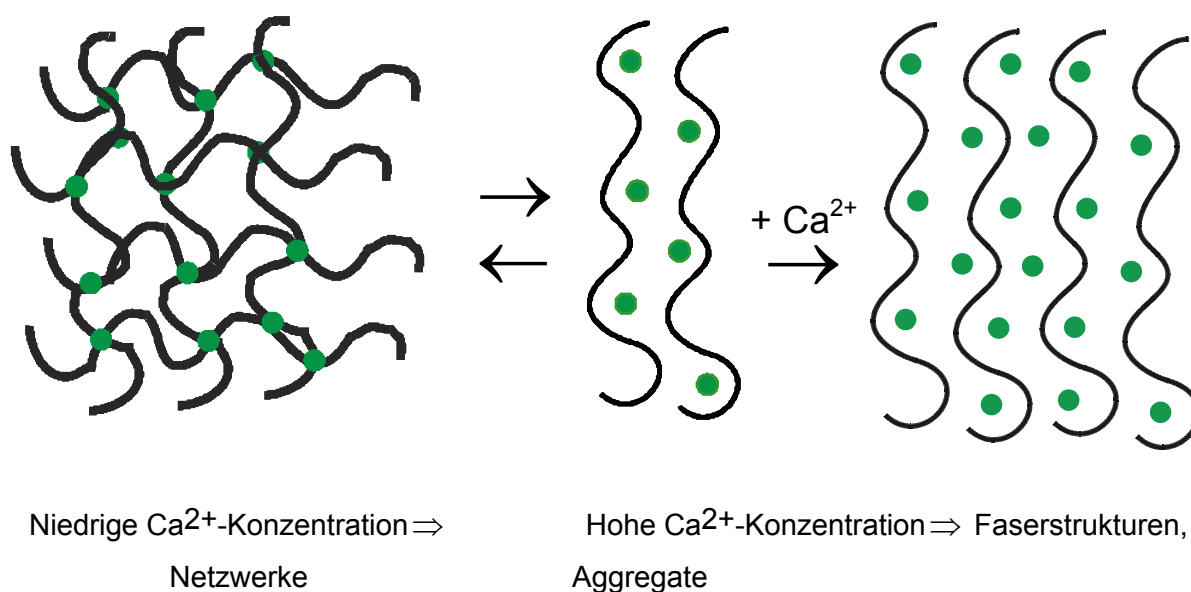


Abb. 92: Strukturen der Polysaccharide mit niedriger und hoher Calciumkonzentration

Polysaccharide mit einer niedrigen Konzentration an Calciumionen bilden sogenannte fluktuierende Netzwerke aus, die bereits von einigen Arbeitsgruppen bestätigt werden konnten [28, 158]. Die Verknüpfung, die mit Hilfe von Calciumionen erfolgt, ist nicht sehr langlebig, da sie mit den gebundenen Strängen im Dissoziationsgleichgewicht vorliegen. So können Verknüpfungsstellen geöffnet oder geschlossen werden und z. B. mit anderen Seitenketten wechselwirken.

Die Ergebnisse der Hexamere mit drei Calciumionen lieferte eine antiparallele Anordnung der Stränge zueinander, zwischen denen sich die Calciumionen befanden. Bei hoher Calciumkonzentration erwartet man also Faserstrukturen, oder Aggregate, die das Calciumion so einbetten, dass eine stabile Struktur entsteht, die lediglich mit ihren endständigen Seitenresten wechselwirken kann.

7 Zusammenfassung:

Im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit stand die Untersuchung und Charakterisierung von Oligosacchariden und ihre Wechselwirkung mit zweiwertigen Calciumionen. Mit Hilfe von computerchemischen Methoden (Kraftfeldmodelle und Dichtefunktionaltheorie) wurden zunächst die Monosaccharide Mannuronsäure (M) und Guluronsäure (G) berechnet. Als Vergleichsmoleküle dienten die α - und die β -D-Glucose mit ihren literaturbekannten Röntgenstrukturdaten. Der Vergleich der berechneten mit den experimentellen Strukturparameter (Bindungslängen, Bindungswinkel und Torsionswinkel) zeigte, dass mit allen Kraftfeldmodellen und der Dichtefunktionaltheorie qualitativ gute Geometrien berechnet werden konnten. Die beste Übereinstimmung mit dem Experiment wurde allerdings mit dem PCFF-Kraftfeld erzielt.

Anders verhielt es sich bei der Berechnung der Energie; die energieniedrige β -D-Glucose konnte nur von zwei Kraftfeldmodellen, dem CVFF- und dem PCFF-Kraftfeld richtig wiedergegeben werden (siehe hierzu auch Tabelle 3). Bei der Berechnung der stabilen Mannuronsäurekonformation versagten das ESFF- und das AmberHo-Kraftfeld; die Dichtefunktionaltheorie und vier andere Kraftfelder (CFF91, CVFF, PCFF und Amber) konnten die energieniedrigste Struktur hingegen bestätigen (Tabelle 10). Bei der Berechnung der Guluronsäure konnte ausschließlich die Dichtefunktionaltheorie die stabilere Guluronsäurekonformation identifizieren, die Kraftfeldmethoden versagten hier vollständig. Das Versagen der Mehrzahl der Kraftfeldmodelle ist auf den anomeren Effekt zurückzuführen, der in diesen Methoden nicht berücksichtigt wird. Mit Ausnahme des D-Glucose-Gleichgewichts lieferte die Dichtefunktionaltheorie hingegen zuverlässige Ergebnisse für die beiden Epimere M und G.

Die Disaccharide MM, MG, GM und GG wurden ausschließlich mit der Dichtefunktionaltheorie berechnet. Für die Qualität der Ergebnisse spricht, dass die berechneten Energieunterschiede der vier Isomeren sehr gering ausfielen (Tabelle 11). Das GM-Dimer stellte sich als die stabilste Verbindung heraus, gefolgt vom GG- und MG-Dimer. Das MM-Dimer weicht energetisch deutlich von den anderen drei Dimeren ab, da seine äquatoriale M (1 \rightarrow 4) äquatoriale M-Verknüpfung ungünstiger gegenüber einer axialen Verknüpfung ist. Hinzu kommt die Ausbildung von zwei Wasserstoffbrückenbindungen, die bei den drei stabilen Dimeren zu erkennen sind.

Das MM-Dimer weist sogar drei Wasserstoffbrückenbindungen auf, die es aber in eine instabilere Konformation zwingen. Die Auswertung ihrer Torsionswinkel lieferte bei allen vier Dimeren Carboxylatgruppen in trans-Stellung, so wie es auch aus Literaturdaten bekannt ist. Die Dichtefunktionaltheorie scheint somit gut geeignet, die kleinem Mono- und Disaccharide korrekt zu beschreiben.

Die Frage, ob Kraftfeldmethoden in der Lage sind, größere Moleküle zu berechnen, wurde mit Hilfe eines Modellbiofilms bestehend aus 33 M- und G- statistisch verteilten Einheiten untersucht. Dieses Oligosaccharid wurde einer Vakuumsdynamik mit dem PCFF-Kraftfeld unterzogen, wobei sich eine Zick-Zack-Struktur mit helikalen Bereichen ausbildete. Die statistische Bestimmung der Torsionswinkel der vier möglichen Dimere konnte mit den zuvor berechneten, isolierten Dimeren, die mit der Dichtefunktionaltheorie berechnet wurden, verglichen werden. Dabei wurde in Übereinstimmung mit den isolierten Dimeren die trans-Stellung in allen Kombinationen bestätigt.

Die modellierten hexameren Zucker (M-, G- und MG-Hexamer) zeigten nach der Vakuumsdynamik mit dem PCFF-Kraftfeld leicht wellige Stränge, mit Carboxylatgruppen in trans-Stellung, die anhand der Torsionswinkelverteilung bestätigt werden konnten. (Einzige Ausnahme: ein kleiner Peak bei dem MG-Hexamer bei 342° , der auf eine kurzlebige cis-Stellung der Carboxylatgruppen hinwies. Diese kurzlebige Struktur ist aus den Arbeiten von Mayer et al. bekannt und wird als Ergebnis einer sogenannten „Crankshaft Motion“ postuliert.) Die Auswertung der Energieberechnung lieferte das G-Hexamer als energieniedrigste Struktur. Dies ist aufgrund der axialen G (1 \rightarrow 4) axialen G-Verknüpfung zu verstehen, die bei Zuckern bevorzugt wird.

Die Wechselwirkung der Saccharide mit Calciumionen lieferte für die mit der Dichtefunktionaltheorie berechneten Dimere mit Calciumionen Strukturen, deren Carboxylatgruppen sich in Richtung des Calciumions orientierten, in cis-Stellung. Aufgrund von ionischen Wechselwirkungen ist diese Anordnung zwar nicht überraschend, aber eine cis-Anordnung der Carboxylatgruppen in einem Oligosaccharid ist aus der Literatur nicht bekannt.

So wurden die drei berechneten Hexamerstränge herangezogen, paarweise antiparallel angeordnet und zwischen ihnen wurde ein Calciumion eingefügt. Die MD-Simulationen dieser Verbindungen im Wasser bestätigten Strukturen, die sich im Gleichgewicht befanden. Alle drei Modellstrukturen lieferten Hexamerstränge, die

sich senkrecht zueinander angeordnet hatten, mit einem Calciumion im Abstand von 2,7-3,9 Å dazwischen. Der $[\text{Ca}((\text{MG})_3)_2]^{2+}$ -Komplex lieferte den energieniedrigsten Komplex.

Um zu untersuchen, welchen Einfluß eine größere Anzahl von Calciumionen auf das Ergebnis hat, wurden erneut die berechneten Hexamerstränge antiparallel angeordnet, jedoch mit drei Calciumionen als Koordinationszentren. Nach einer Geometrieoptimierung und Moleküldynamiksimulation zeigten die Energieverläufe, dass die Calciumkomplexe im Gleichgewicht vorlagen. Die antiparallele Anordnung der Hexamere war bei allen Komplexen erhalten geblieben. Die Calciumionen, die von den Hexameren komplexiert wurden, befinden sich im Abstand von 2,6 bis 3,9 Å. Den stabilsten Komplex bildet das G-Hexamer mit drei Calciumionen; dieser equilibriert am schnellsten (200 ps) und ist mit dem Egg-Box-Modell vergleichbar. Bei der Überprüfung des Egg-Box-Modells wurden zum ersten Mal definierte Ca-Abstände mit einer Koordinationszahl von KZ 7 gefunden. Es konnte bestätigt werden, dass eine stöchiometrische Anzahl an Calciumionen und Guluronatbausteinen nötig ist, um einen stabilen Egg-Box-Komplex $([\text{Ca}(\text{G}_4)]^{2+})_n$ zu erhalten. Weitere Calciumkomplexe mit M oder MG-Bausteinen waren nicht annähernd so stabil wie der Calcium-Guluronatkomplex.

8 Literaturverzeichnis

- [1] C. Hohmann, *Gemeinsam sind Bakterien stark*, Pharmazeutische Zeitung, Mai **2002**, www.pharmazeutische-zeitung.de
- [2] H.-C. Flemming, Biofilms as a particular form of microbial life. In: H.-C. Flemming, G. G. Geesey (eds.): *Biofouling and Biocorrosion in Industrial Water Systems*. Springer, Heidelberg; 3-9, **1991 a**
- [3] H.-C. Flemming, Biofilme- das Leben am Rande der Wasserphase, *Nachr. Chemie Tech. Lab.* **48**, 442-447, **2000**
- [4] H.-C. Flemming, G. Schaule, R. McDonogh, H. F. Ridgway , Mechanism and extent of membrane biofouling. In: G. G. Geesey, Z. Lewandowski, H.-C. Flemming (eds.): *Biofouling and biocorrosion in industrial water systems*. Lewis Publishers, Chelsea, Michigan; 63-89, **1994**
- [5] H.-C. Flemming, *Biofilme, Biofouling und mikrobielle Materialschädigung*. Stuttgarter Siedlungswasserwirtschaftliche Berichte, Oldenbourg Verlag München, Band 129, **1994**
- [6] H.-C. Flemming, *Biofouling bei Membranprozessen*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, **1995**
- [7] H.-C. Flemming, *Biofouling and microbially influenced corrosion (MIC)- an economical and technical overview*. In: E. Heitz, W. Sand, H.-C. Flemming (Hersg.), *Microbially influenced corrosion of materials- scientific and technological aspects*. Springer, Heidelberg, 5-14, **1996**
- [8] H.-C. Flemming, J. Wingender, Was Biofilme zusammenhält, *Chemie in unserer Zeit*, 36. Jahrgang, **2002**
- [9] G. Schaule, H.-C. Flemming, Biofilme in Reinwassersystemen- ein übersehenes Kontaminationspotential, *SÖFW-Journal*, 123. Jahrgang, 6, **1997**
- [10] S. Schattenfroh, *Gefahrlos durch die Haut*, Aus der Medizin für die Medien, 46, **2000**, www.charite.de
- [11] P. L. Bishop, Biofilm structure and kinetics, *Wat. Sci. Tech.* **36**, 287-294, **1997**
- [12] J. W. Costerton, Z. Lewandowski, D. deBeer, D. Caldwell, D. Korber, G. James, Bacterial biofilms, the customized microniche. *J. Bacteriol.* **176**, 2137-2142, **1994**

- [13] D. deBeer, P. Stoodley, F. Roe, Z. Lewandowski, Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport. *Biotechnol. Bioeng* 43, 1131-1138, **1994a**
- [14] D. deBeer, P. Stoodley, Z. Lewandowski, Liquid flow in heterogeneous biofilms, *Biotechnol. Bioeng* 44, 636-641, **1994b**
- [15] Z. Lewandowski, P. Stoodley, S. Altobelli, E. Fukushima, Hydrodynamics and kinetics in biofilm systems- recent advances ab new problems. *Wat. Sci. Tech.* 29, 223-229, **1994**
- [16] D. deBeer, P. Stoodley, Relation between the structure of an aerobic biofilm and transport phenomena. *Wat. Sci. Tech.* 32, 11-18, **1995**
- [17] H.-C. Flemming, Biofime- die bevorzugte Lebensform der Mikroorganismen, BIUZ, **2000**
- [18] T. D. Hart et al, A stray field magnetic resonance study of water diffusion in bacterial exopolysaccharides, *Enz. Micobial Technol.* 24, 339-347, **1999**
- [19] H.-C. Flemming, J. Wingender, *Extrazelluläre polymere Substanzen- der Baustoff für Biofilme.* Vom Wasser 94, 245-266, **2000**
- [20] A. Rode, J. Wingender, M. Strathmann, A. Leis, H.-C. Flemming, Isolation and biochemical characterization of extracellular polymeric substances from *P. aeruginosa*. In: Methods in Enzymology. *Biofilms*, **2001**
- [21] I. W. Sutherland, *Biotech. Adv.* 12, 393-448, **1994**
- [22] I. W. Sutherland, Exopolysaccharides in biofilms, flocs and related structures, *Wat. Sci. Tech.*, **2000**
- [23] A. W. Decho, *Microbial exopolymers in ocean environments*, Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev. 28, 73-153, **1990**
- [24] H.-C. Flemming, Ulrich Szewzyk, Thomas Griebe, *Biofilms, Investigative Methods & Applications*, Technomic Publishing Company, **2000**
- [25] J. Falbe, M Regitz, *Römpp Chemie Lexikon*, Version 1.0, Stuttgart/New York, Georg Thieme Verlag, **1995**
- [26] E. Bartholomé, *Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie*, Band 19, Polysaccharide, Weinheim Verlag, **1972**
- [27] homepage.tu-darmstadt.de
- [28] V. Körstgens, H.-C. Flemming, J. Wingender, W. Borchard, *Water Science and Technology* 43 (6), 49-57, **2001**

- [29] M. Yalpani, *Polysaccharides: Synthesis, modifications and structure/property relations*, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, **1988**
- [30] G. O. Aspinall, *Molecular Biology*, An international series of Monographs and Textbooks, Academic Press, New York, London, **1982**
- [31] H. Ertesvåg, H. K. Høidal, H. Schjerven, B. I. Glærum Svanem, S. Valla, *Metabolic Engineering 1*, 262-269, **1999**
- [32] I. W. Sutherland, *Biotechnology of exopolysaccharides*, Cambridge: C. U. P., **1990**
- [33] I. W. Sutherland, *Pure Appl. Chem.* 69, 1911-1917, **1997**
- [34] J. Wingender, T. R. Neu, H.-C. Flemming, *Microbial Extracellular Polymeric Substances*, Springer-Verlag, **1999**
- [35] J. Wingender, K.-E. Jaeger, H.-C. Flemming, *Interaction Between Extracellular Polysaccharides and Enzymes*, Chapter 13 in: *Microbial Extracellular Polymeric Substances*, **1999**
- [36] Z. Lewandowski, P. Stoodley, *Wat. Sci. Tech. Vol. 32*, No. 8, 19-26, **1995**
- [37] U. Zimmermann, Alginate für Biomedizinische Zwecke, Biotechnologie Online, Universität Würzburg, **2001**
- [38] P. Soon-Shiong, E. Feldmann, R. Nelson, J. Komtebedde, O. Smidsrød, et al, *Transplantation 54*, 769, **1992**
- [39] P. Soon-Shiong, E. Feldmann, R. Nelson, et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 5843, **1993**
- [40] P. Soon-Shiong, R. E. Heintz, N. Merideth et al, *Lancet 343*, 950, **1994**
- [41] G. T. Grant, E. R. Morris, D. A. Rees et al, *biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The Egg-Box-Model*, FEBS Letters, Vol. 32, No. 1, 195-198, **1973**
- [42] E. Wyn-Jones, J. Gormally, *Aggregation Processes in Solution*, Elsevier Scientific publishing company, **1983**
- [43] D. A. Rees, Shapely Polysaccharides, *Biochem. J.* 126, 257-273, **1972**
- [44] O. Smidsrød, *J. Chem. Soc, Faraday Trans.1*, 57, 263, **1974**
- [45] E. R. Morris, D. A. Rees, D. Thom, J. Boyd, *Carbohydr. Res.* 66, 145, **1978**
- [46] S. Grobe, J. Wingender, H.-G. Trüper, *J. Appl. Bacteriol.* 79, 94-102, **1995**
- [47] C. Mayer, D. Lattner, N. Schürks, *Journal of Industr. Microbiol. & Biotechnol.* 25, 1-8, **2000**

- [48] C. Mayer, *NMR on Bacterial Biofilms and Model Systems*, NMR in Microbiology, Theory and applications, Horizon Scientific Press, Wymondham, UK. 363-379, **2000**
- [49] M. Vogt, H.-C. Flemming, W. S. Veeman, *J. Biotechnol.* **77**, 137-146, **2000**
- [50] N. Schürks, J. Wingender, H.-C. Flemming, C. Mayer, *International Journal of Biological Macromolecules* **30**, 105-111, 2002
- [51] W. D. Cornell, P. Cieplak, P. A. Kollman et al, *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 5179, **1995**
- [52] S. N. Ha, A. Giammona, M. Field, J. W. Brady, *Carbohydrate Research* **180**, 207-221, **1988**
- [53] S. W. Homans, *Biochemistry* **29**, 9110-9118, **1990**
- [54] S. J. Weiner, P. A. Kollman, et al, *J. Am. Chem. Soc.* **106**, 765-784, **1984**
- [55] S. J. Weiner, P. A. Kollman, et al, *J. Comp. Chem.* **7**, 230-252, **1986**
- [56] K. B. Wiberg, M. A. Murcko, *J. Am. Chem. Soc.* **111**, 4821, **1989**
- [57] C. M. DeRamos, A. E. Irwin, J. L. Nauss, B. E. Stout, *Inorganica Chimica Acta* **256**, 69- 75, **1997**
- [58] S. Pérez, M. Kouwijzer, *Journal of Molecular Graphics* **14**, 307-321, **1996**
- [59] I. Braccini, R. P. Grasso, S. Pérez, *Carbohydrate Research* **317**, 119-130, **1999**
- [60] Peter W. Atkins, *Physikalische Chemie*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, **1990**
- [61] Peter W. Atkins, *Quanten*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo, **1993**
- [62] Werner Kutzelnigg, *Einführung in die Theoretische Chemie 1. und 2.*, Weinheim, New York, **1978**
- [63] Peter W. Atkins, R. S. Friedman, *Molecular Quantum Mechanics*, Third Edition, Oxford University Press, **1997**
- [64] Melvin W. Hanna, *Quantenmechanik in der Chemie*,
- [65] R. W. Kunz, *Molecular Modelling für Anwender*, Teubner Verlag, Stuttgart, **1991**
- [66] W. J. Hehre, L. Radom, P. v. R. Schleyer, J. A. Pople, *Ab initio Molecular Orbital Theory*, Wiley, **1986**
- [67] D. M. Hirst, *A Computational Approach to Chemistry*, Blackwell, **1990**

- [68] P. Hohenberg, W. Kohn, *Phys. Rev. B*, 136, 864, **1964**
- [69] F. Jensen, *Introduction to Computational Chemistry*, Wiley, New York, **1999**
- [70] W. Kohn, L. J. Sham, *Phys. Rev. A*, 140, 1131, **1965**
- [71] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* 98, 1372, **1993**
- [72] James B. Foresman, Eelen Frisch, *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*, Second Edition, Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, **1995-1996**
- [73] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* 98, 5648, **1993**
- [74] R. G. Parr, N. Yang, *Density Functional Theory*, Oxford University Press, **1989**
- [75] M. J. S. Dewar, W. Thiel, *J. Am. Chem. Soc.*, 99, 4899, **1977**
- [76] W. C., H. C. Andersen, P. H. Berens, K. R. Wilson, *J. Chem. Phys.* 76, 637-649, **1982**
- [77] M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. f. Healy, J. J. P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.* 107, 3902, **1985**
- [78] L. P. Davis et. al. ,*J. Comp. Chem.* 2, 433, **1981**
- [79] J. J. P. Stewart, *J. Comp. Chem.* 10, 209, **1989**
- [80] J. J. P. Stewart, *J. Comp. Chem.* 10, 221, **1989**
- [81] J. J. P. Stewart, *Rev. Comput. Chem.* 1, 45, **1990**
- [82] A. Göller, *Computerchemische Methoden in der Physikalischen Chemie*, Uni Jena, **2002**
- [83] T. Clark, *A handbook of Computational Chamistry*, Wiley, **1985**
- [84] A. R. Leach, *Molecular Modelling – Principles and Application*, Addison Wesley Longman, England, **1996**
- [85] W. Gans, A. Amann, J. C. A. Boeyens, *Fundamental Principles of Molecular Modelling*, Plenum Press, New York, **1996**
- [86] J. Phillip Bowen, N. L. Allinger, *Reviews in Computational Chemistry*, Vol. 2, 81-97, **1991**
- [87] N. L. Allinger, Y. H. Yuh, J.-H. Lii, *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 23, 8551, **1989**
- [88] J.-H. Lii, N. L. Allinger, *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 23, 8566, **1989**
- [89] J.-H. Lii, N. L. Allinger, *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 23, 8576, **1989**
- [90] N. L. Allinger, M. Rahman, J.-H. Lii, *J. Am. Chem. Soc.*, 112, 8293-8307, **1990**
- [91] L. R. Schmitz, N. L. Allinger, *J. Am. Chem. Soc.*, 112, 8307-8315
- [92] N. L. Allinger, K. Chen, M. Rahman, A. Pathiaseril, *J. Am. Chem. Soc.* 113, 4505-4517, **1991**

- [93] A. T. Hagler, S. Lifson, P. Dauber, *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 5122-5130, **1979a**
- [94] M. J. Hwang, T. P. Stockfisch, A. T. Hagler, , 2978-2987, **1994**
- [95] J. A. Maple, M. J. Hwang, T. P. Stockfisch, U. Dinur, M. Waldman, *J. Comput. Chem.* **15**, 162-182, **1994**
- [96] H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola, J. R. Haak, *J. Chem. Phys.* **81**, 3684-3690, **1984**
- [97] F. N. Neumann, H. Teramae, J. W. Downing, J. Michl, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, 573, **1998**
- [98] T. A. Halgren, *J. Comput. Chem.* **17**, 490, **1996**
- [99] A. K. Rappé, C. J. Casewit, K. S. Colwell, W. A. Goddard III, W. M. Skiff, *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 10024, **1992**
- [100] C. J. Casewit, K. S. Colwell, A. K. Rappé, *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 10035, **1992**
- [101] C. J. Casewit, K. S. Colwell, A. K. Rappé, *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 10046, **1992**
- [102] D. M. Root, C. R. Landis, T. Cleveland, *J. Am. Chem. Soc.* **115**, 4201, **1993**
- [103] S. L. Mayo, B. D. Olafson, W. A. Goddard III, *J. Phys. Chem.* **94**, 8897, **1990**
- [104] R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. Stales, S. Swaminathan, M. Karplus, *J. Comput. Chem.* **4**, 187, **1983**
- [105] P. Dauber- Osguthorpe, V. A. Roberts, D. J. Osguthorpe, J. Wolff, M. Genest, A. T. Hagler, "Structure and energetics of ligand binding to proteins: *E. coli* dihydrofolate reductase- trimethoprim, a drug- receptor system" ,*Proteins: Structure, Function and Genetics*, **4**, 31-47, **1988**
- [106] S. Lifson, A. T. Hagler, *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 5111, **1979**
- [107] A. T. Hagler, P. Dauber, S. Lifson, *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 5131-5141, **1979b**
- [108] J. R. Maple, U. Dinur, A.T. Hagler, *In Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation*, G. Fasman, Ed.; Plenum Press, N.Y.,317-358, **1989**
- [109] U. Dinur, A.T. Hagler, *Reviews of Computational Chemistry*, Vol. 2; K. B. Lipkowitz, D. B. Eds. Boyd, VCH: New York, Chapter 4, **1991**
- [110] J. R. Hill, J. Sauer, *J. Phys. Chem.* **98**, 1238-1244, **1994**
- [111] M. Waldman, A. T. Hagler, *J. Comput. Chem.* **14**, 1077-1084, **1993**

- [112] M. J. Hwang, J. P. Stockfisch, A. T. Hagler, *J. Am. Chem. Soc.* 116, 2515, **1994**
- [113] E. B. Wilson, J. C. Decius, P. C. Cross, *Molecular Vibrations*, Dover, New York, **1980**
- [114] J. R. Maple, T. S. Thacher, U. Dinur, A.T. Hagler, *Chemical Design Automation News*, 5 (9), 5-10, **1990**
- [115] Z. W. Peng, C. S. Ewig, M.-J. Hwang, M. Waldman, A.T. Hagler *J. Phys. Chem. A*, 10, 7243, **1997**
- [116] H. J. Sun, *Comput. Chem.* 15, 752, **1994**
- [117] H. Sun, *Macromolecules* 26, 5924, **1994**
- [118] H. Sun, S. J. Mumby, J. R. Maple, A. T. Hagler, *J. Am. Chem. Soc.* 116, 2978, **1994**
- [119] H. Sun, *Macromolecules* 28, 701, **1995**
- [120] H. Sun, S. J. Mumby, J. R. Maple, A. T. Hagler, *J. Phys Chem.* 99, 5873, 1995
- [121] H. Sun, D Rigby, *Spectrochim. Acta A*, 53, 1301, **1997**
- [122] S. Barlow, A. L. Rohl, S. Shi, C. M. Freeman, D. O'Hare, *J. Am. Chem. Soc.* 118, 7578, **1996**
- [123] J. L. Asensio, M. Martin-Pastor, J. Jimenez-Barbero, *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, Vol. 395-396, Nr. 1-3, S. 245-270, **1997**
- [124] A. M. Schneider, P. Behrens, *Journal of Molecular Graphics*, Vol. 14, Nr. 6, S. 381, 1996
- [125] A. M. Schneider, P. Behrens, Molecular study of organometallic complexes in crystalline silica matrices using the ESFF forcefield, *Chem. Mater.* 10, 679, **1998**
- [126] N. L. Allinger, *J. Am. Chem. Soc.* 99, 8127 **1977**
- [127] N. L. Allinger, K. Chen, J.-H. Lii, An Improved Force Field (MM4) for Saturated Hxdrocarbons, *J. Comp. Chem.* 17, 642-668, **1996**
- [128] T. P. Lybrand, *Reviews in Computational Chemistry*, Chapter 8, 298, **1990**
- [129] R. Fletcher, *Practical Methods of Optimization*, Vol. 1, Wiley, New York, **1980**
- [130] R. L. DeKock, J. D. Madura, F. Rioux, J. Casanova, *Reviews in Computational Chemistry*, Vol. 4, 172, **1993**
- [131] L. Verlet, *Phys. Rev.* 159, 98, **1967**
- [132] D. A. Mc Quarrie, *Statistical Mechanics*, Harper & Row, New York, **1973**

- [133] H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. Di Nola, J. R. Haak, *J. Chem. Phys.* **81**, 3684, **1984**
- [134] S. Nosé, *Mol. Phys.* **52**, 255, **1984**
- [135] W. G. Hoover, *Phys. Rev. A*, **31**, 1695, **1985**
- [136] S. Nosé, *J. Chem. Phys.* **81**, 511-519, **1984**
- [137] S. Nosé, *Prog. Theoret. Phys. Supplement* **103**, 1-46, **1991**
- [138] M. P. Allen, D. J. Tildesby, *Computer Simulation of Liquids*, Oxford, London, U. K., **1987**
- [139] P. P. Ewald, *Ann. Phys.* **64**, 253, **1921**
- [140] V. Natoli, P. M. Ceperley, *J. Comp. Phys.* **117**, 171, **1995**
- [141] Z.-M. Chen, T. Cagin, W. A. Goddard III, *J. Comput. Chem.* **18**, 1365, **1997**
- [142] J. Gao, *Reviews in Computational Chemistry, Vol. VII*, K. B. Lipkowitz, D. B. Boyd Eds., 119, VCH, New York, **1992**
- [143] P. Sherwood, *Hybrid Quantum Mechanics/Molecular Mechanics Approaches*, In: *Modern Methods and Algorithms of Quantum Chemistry*, J. Grotendorst (Editor), **2000**
- [144] P. L. Cummins, J. E. Gready, *J. Comput. Chem.* **18**, No. 12, 1496-1512, **1997**
- [145] A. Warshel, M. Levitt, *J. Mol. Biol.*, **103**, 227, **1976**
- [146] G. M. Brown, H. A. Levy, *Acta Crystallogr., Sect. B*, **35**, 656- 659, **1979**
- [147] M. L. C. E. Kouwijzer, B. P. van Eijck, H. Kooijman, J. Kroon, *Acta Crystallogr., Sect. B*, **51**, 209-220, **1979**
- [148] H. Beyer, W. Walter, *Lehrbuch der Organische Chemie*, S. Hinzl Verlag, Stuttgart, **1998**
- [149] J. Lehmann, *Chemie der Kohlenhydrate*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1976**
- [150] S. E. Barrows, F. J. Dulles, C. J. Cramer, A. D. French, D. G. Truhlar, *Carbohydrate Research* **276**, 219-251, **1995**
- [151] A. Almond, A. Brass, J. K. Sheehan, *J. Phys. Chem., B*, **104**, 5634-5640, **2000**
- [152] J. Rich, *Acta Polytechnica Scandinavica, Chemical Technology Series No. 289*, Espoo, 47ff, Finnish Academies of Technology, **2002**
- [153] J. Blomquist, *Ab initio and DFT derived potential energy functions in simulations of selected polyesters based on atomistic models*, University of Helsinki, Report Series in Physics, 51 p., **2001**

- [154] C. A. Gough, S. E. DeBolt, P. A. Kollman, *J. Comput. Chem.*, Vol. 13, No. 8., 963-970, **1992**
- [155] P. L. Bishop, B. E. Rittmann, *Wat. Sci. Tech.* Vol. 32, No. 8., 263-265, **1995**
- [156] J. E. Paulsen, E. Oppen, R. Bakke, *Wat. Sci. Tech.* Vol. 36, No. 1., 1-9, **1997**
- [157] H.-C. Flemming, *Wat. Sci. Tech.* Vol. 32, No. 8., 27-33, **1995**
- [158] Th. Windhues, W. Borchard, *European Polymer Journal* 38, 1219-1227, **2002**
- [159] C. E. Mortimer, *Chemie, Das Basiswissen der Chemie*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, **1987**
- [160] K. P.C. Vollhardt, *Organische Chemie*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, **1990**
- [161] R. T. Morrison, R. N. Boyd, *Lehrbuch der Organischen Chemie*, 3. Auflage, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, **1986**
- [162] B. Testa, *Grundlagen der Organischen Stereochemie*, Verlag Chemie, Weinheim, **1983**
- [163] A. L. Lehninger, *Biochemie*, Verlag Chemie, Weinheim, New York, **1979**
- [164] P. Karlson, *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, **1988**
- [165] C. Møller and M. S. Plesset, *Phys. Rev.*, 46, 618, **1934**
- [166] D. F. Shriver, P. W. Atkins, C. H. Langford, *Anorganische Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, New York, Chichester, Brisbane, Singapore, Toronto, **1997**
- [167] W. Kaim, B. Schwederski, *Bioanorganische Chemie*, Teubner Studienbücher Chemie, Stuttgart, **1995**
- [168] persönliches Gespräch mit Herrn Prof. Dr. C. Mayer

9 Anhang

Die Bindungslängen der α -D-Glucose sind Tabelle 21 zusammengestellt.

Tabelle 21: Bindungslängen der α -D-Glucose (fettgedruckte Bindungen geben Abstände innerhalb des Pyranoserings wieder)

Bindungen	Bindungslänge [Å]						
	experimentell	CFF 91	CVFF	ESFF	PCFF	AMBER	B3LYP
C₁-C₂	1.53	1.56	1.55	1.56	1.56	1.53	1.54
C₂-C₃	1.52	1.54	1.54	1.54	1.54	1.51	1.53
C₃-C₄	1.51	1.54	1.55	1.54	1.54	1.51	1.53
C₄-C₅	1.53	1.55	1.56	1.55	1.55	1.54	1.53
C₁-O₅	1.43	1.43	1.45	1.42	1.42	1.43	1.41
C₅-O₅	1.44	1.43	1.46	1.43	1.43	1.45	1.45
C ₁ -O ₁	1.38	1.42	1.41	1.42	1.42	1.42	1.42
C ₂ -O ₂	1.43	1.43	1.42	1.43	1.44	1.40	1.42
C ₃ -O ₃	1.43	1.43	1.42	1.43	1.43	1.41	1.42
C ₄ -O ₄	1.43	1.43	1.43	1.43	1.43	1.42	1.42
C ₅ -C ₆	1.51	1.54	1.54	1.54	1.53	1.53	1.52
C ₆ -O ₆	1.42	1.42	1.42	1.42	1.42	1.41	1.42

Die Standardabweichung SD (61) und die Korrelation r (61) werden nach folgenden Formeln ermittelt:

$$S.D. = \sqrt{\frac{\sum_{s=1}^m \sum_{i=1}^n (y_{is} - M)^2}{(n_y - 1)}} \quad M = \frac{\sum_{s=1}^m \sum_{i=1}^n y_{is}}{n_y} \quad (61)$$

Darin sind s die Nummer der Datenreihe, i die Datenpunktnummer in Datenreihe s, m die Anzahl der Datenreihen des Punktes y im Diagramm, n die Anzahl der Punkte je Datenreihe, y_{is} der Datenwert der Datenreihe s und des i-ten Punktes, n_y die Gesamtzahl der Datenwerte aller Datenreihen und M das arithmetische Mittel.

$$r = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{[n\sum X^2 - (\sum X)^2][n\sum Y^2 - (\sum Y)^2]}} \quad (62)$$

Darin sind X und Y Werte, die eine Matrix oder einen Bereich von Datenpunkten angeben.

Werte für r werden im Bereich zwischen 0 und 1 angegeben, wobei 1 für eine 100 % ige Übereinstimmung der Werte X und Y steht.

Die berechneten Bindungswinkel der α -D-Glucose sind in Tabelle 22 zusammengefasst.

Tabelle 22: Bindungswinkel der α -D-Glucose (fettgedruckte Winkel beziehen sich auf Winkel des 6-Rings)

Winkel	Bindungswinkel [°]						
	Experimentell	CFF 91	CVFF	ESFF	PCFF	AMBER	B3LYP
C₁-O₅-C₅	113.7	114.3	117.4	114.6	113.9	113.1	115.7
O₅-C₁-C₂	110.1	111.0	110.9	111.3	111.1	112.3	111.5
C₁-C₂-C₃	111.1	111.1	111.6	110.7	111.5	109.2	110.3
C₂-C₃-C₄	109.8	110.6	111.7	111.4	110.5	110.0	110.8
C₃-C₄-C₅	111.1	110.8	110.3	112.0	111.9	107.1	109.2
O₅-C₅-C₄	108.7	110.5	110.1	110.9	111.4	109.4	109.6
O ₅ -C ₁ -O ₁	111.5	109.7	110.1	109.0	109.1	111.8	113.1
O ₁ -C ₁ -C ₂	109.3	113.0	109.7	111.0	113.4	106.0	105.9
O ₂ -C ₂ -C ₁	110.9	109.6	110.8	111.5	109.4	109.3	112.0
O ₂ -C ₂ -C ₃	112.2	113.3	108.6	111.0	113.3	106.7	111.0
O ₃ -C ₃ -C ₂	108.1	109.0	109.4	110.3	108.9	111.1	111.2
O ₃ -C ₃ -C ₄	110.6	112.4	108.7	110.7	112.1	110.4	107.8
O ₄ -C ₄ -C ₃	108.2	108.6	108.7	110.8	112.9	108.3	111.3
O ₄ -C ₄ -C ₅	110.9	113.0	111.1	111.8	112.4	113.7	108.4
O ₅ -C ₅ -C ₆	108.1	107.1	107.6	109.3	106.9	108.6	105.4
C ₄ -C ₅ -C ₆	111.5	114.2	112.9	113.1	113.7	112.3	113.8
O ₆ -C ₆ -C ₅	109.9	110.6	109.2	111.3	113.8	109.4	111.6

Die einzelnen Ergebnisse für die Berechnung der Torsionswinkel der α -D-Glucose, die mit Hilfe der Kraftfeldrechnung und der Dichtefunktionaltheorie erhalten wurden, werden in der folgenden Tabelle (Tabelle 23) zusammengefasst und mit den experimentellen Werten verglichen.

Tabelle 23: Torsionswinkel der α -D-Glucose (Torsionswinkel im Ring sind fettgedruckt)

Bindungen	Torsionswinkel [°]						
	Experimentell	CFF 91	CVFF	ESFF	PCFF	AMBER	B3LYP
O₅-C₁-C₂-C₃	54.1	54.0	50.1	54.7	55.1	53.1	58.6
C₁-C₂-C₃-C₄	-51.3	-51.0	-52.1	-49.4	-49.9	-57.0	-50.2
C₂-C₃-C₄-C₅	53.3	51.3	53.7	48.1	48.4	61.2	45.2
C₃-C₄-C₅-O₅	-57.5	-54.4	-53.6	-50.9	-51.9	-61.5	-49.1
C₄-C₅-O₅-C₁	62.2	59.5	56.1	58.0	58.2	59.8	60.1
C₅-O₅-C₁-C₂	-60.9	-59.4	-54.2	-60.5	-59.8	-55.9	-64.5
O ₁ -C ₁ -C ₂ -O ₂	56.9	56.2	49.4	57.1	57.9	47.0	59.0
O ₁ -C ₁ -C ₂ -C ₃	-68.7	-69.7	-71.7	-66.9	-68.3	-69.3	-66.0
O ₂ -C ₂ -C ₃ -O ₃	63.2	61.0	65.2	62.9	62.7	62.6	64.6
O ₃ -C ₃ -C ₄ -O ₄	-65.5	-61.9	-63.4	-63.2	-62.1	-53.0	-72.9
O ₄ -C ₄ -C ₅ -C ₆	62.9	62.8	65.6	60.8	59.1	58.4	69.7
C ₆ -C ₅ -O ₅ -C ₁	-176.5	-175.6	-180.5	-176.6	-177.1	-177.3	-178.0
O ₆ -C ₆ -C ₅ -O ₅	70.2	71.3	58.2	64.5	67.2	55.3	58.6

Die experimentellen und berechneten Bindungslängen der β -D-Glucose sind in Tabelle 24 zusammengefasst.

Tabelle 24: Bindungslängen der β -D-Glucose

Bindungen	Kraftfeldrechnungen						
	Experimentell	CFF 91	CVFF	ESFF	PCFF	AMBER	B3LYP
C₁-C₂	1.53	1.56	1.55	1.56	1.56	1.53	1.53
C₂-C₃	1.52	1.54	1.54	1.54	1.54	1.51	1.52
C₃-C₄	1.51	1.54	1.55	1.54	1.54	1.51	1.53
C₄-C₅	1.53	1.55	1.56	1.55	1.55	1.54	1.53
C₁-O₅	1.43	1.43	1.45	1.42	1.42	1.43	1.42
C₅-O₅	1.44	1.43	1.46	1.43	1.43	1.45	1.44
C ₁ -O ₁	1.38	1.42	1.41	1.42	1.42	1.42	1.40
C ₂ -O ₂	1.43	1.43	1.42	1.43	1.44	1.40	1.42
C ₃ -O ₃	1.43	1.43	1.42	1.43	1.43	1.41	1.42
C ₄ -O ₄	1.42	1.43	1.43	1.43	1.43	1.42	1.42
C ₅ -C ₆	1.51	1.54	1.54	1.54	1.53	1.53	1.52
C ₆ -O ₆	1.42	1.42	1.42	1.42	1.42	1.41	1.42

Die Bindungswinkel der β -D-Glucose sind in Tabelle 25 zusammengefasst.

Tabelle 25: Bindungswinkel β -D-Glucose

Bindungen	Bindungswinkel						
	Experimentell	CFF 91	CVFF	ESFF	PCFF	AMBER	B3LYP
$C_1-O_5-C_5$	112.7	112.9	116.3	115.3	112.9	111.6	111.7
$O_5-C_1-C_2$	108.8	111.1	110.2	112.2	111.4	109.0	109.8
$C_1-C_2-C_3$	112.1	110.8	110.3	112.1	111.0	107.2	109.4
$C_2-C_3-C_4$	110.5	112.2	112.0	112.7	112.5	108.4	110.8
$C_3-C_4-C_5$	109.8	110.0	110.1	110.8	110.1	107.9	109.7
$O_5-C_5-C_4$	107.6	109.7	109.7	110.0	109.7	110.1	109.4
$O_5-C_1-O_1$	107.0	104.7	106.0	103.3	103.9	109.4	109.2
$O_1-C_1-C_2$	108.2	115.4	110.0	113.0	115.2	109.7	107.3
$O_2-C_2-C_1$	108.5	110.4	110.9	112.3	110.5	112.8	112.1
$O_2-C_2-C_3$	109.7	111.5	108.3	108.8	111.5	108.6	107.2
$O_3-C_3-C_2$	108.7	109.0	109.6	110.4	109.0	111.1	112.2
$O_3-C_3-C_4$	109.1	112.6	108.7	110.3	112.6	110.1	107.3
$O_4-C_4-C_3$	111.1	108.5	108.6	109.3	108.5	107.9	111.0
$O_4-C_4-C_5$	108.2	113.1	111.1	112.3	113.2	113.6	108.4
$O_5-C_5-C_6$	107.1	107.1	107.4	108.6	107.2	108.5	106.0
$C_4-C_5-C_6$	115.0	114.1	113.1	114.2	114.0	112.9	113.7
$O_6-C_6-C_5$	111.9	114.0	109.3	111.3	114.2	109.6	111.3

Die Torsionswinkelverteilung für die einzelnen Dimere, die bei der Vakuumsdynamik des Oligosaccharids erhalten wurde, ist in den Abb. 93 bis Abb. 96 zusammengefasst.

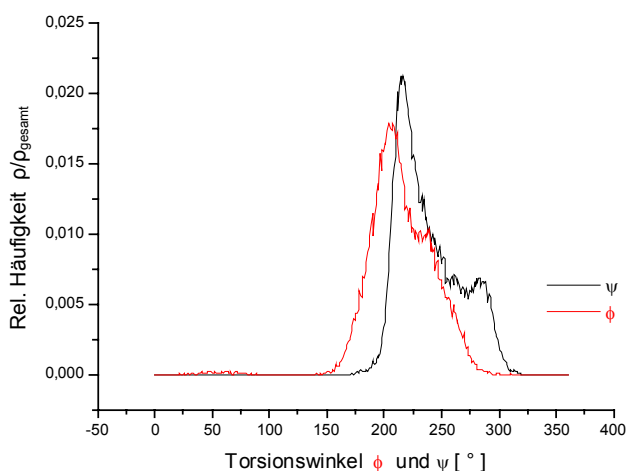


Abb. 93: GM-Verknüpfung

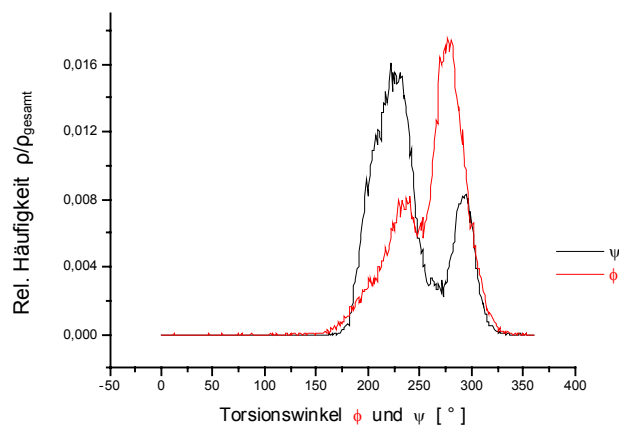


Abb. 94: MM-Verknüpfung

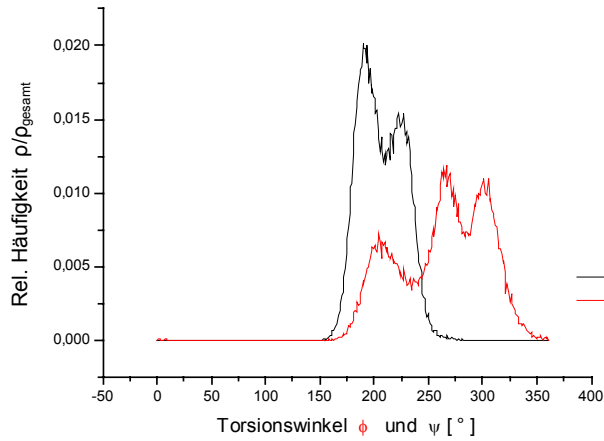


Abb. 95: MG-Verknüpfung

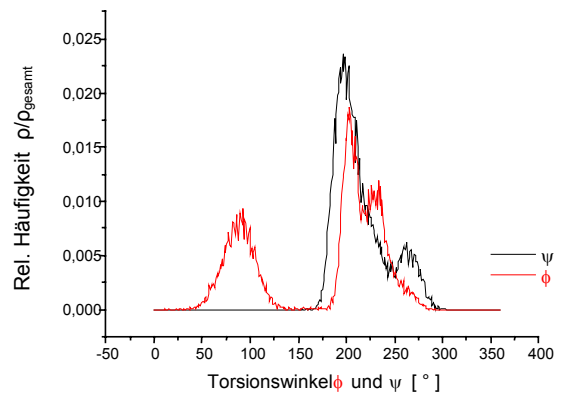
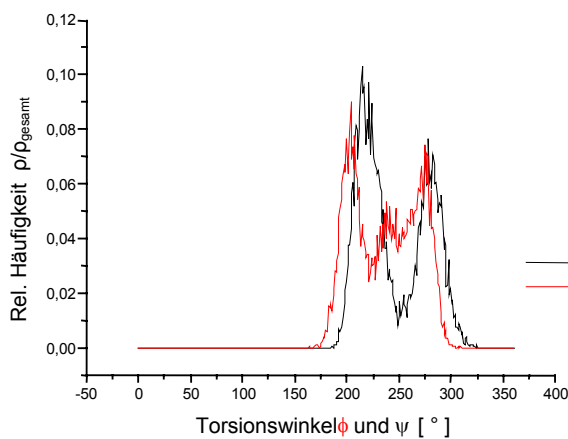
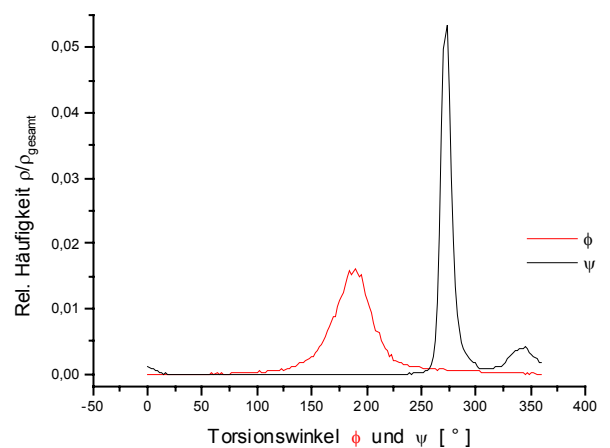


Abb. 96: GG-Verknüpfung

Die Torsionswinkelverteilung der hexameren Zucker, die während der Vakuumsdynamik erhalten wurde, wird in Abb. 97 – 98 gezeigt.

Abb. 97: Torsionswinkelverteilung des G_6 -HexamerenAbb. 98: Torsionswinkelverteilung des $(MG)_3$ -Hexameren

Die Energieverläufe der MD-Simulation des $Ca(G_6)^{2+}$ -Komplexes sind der Abb. 99 zu entnehmen.

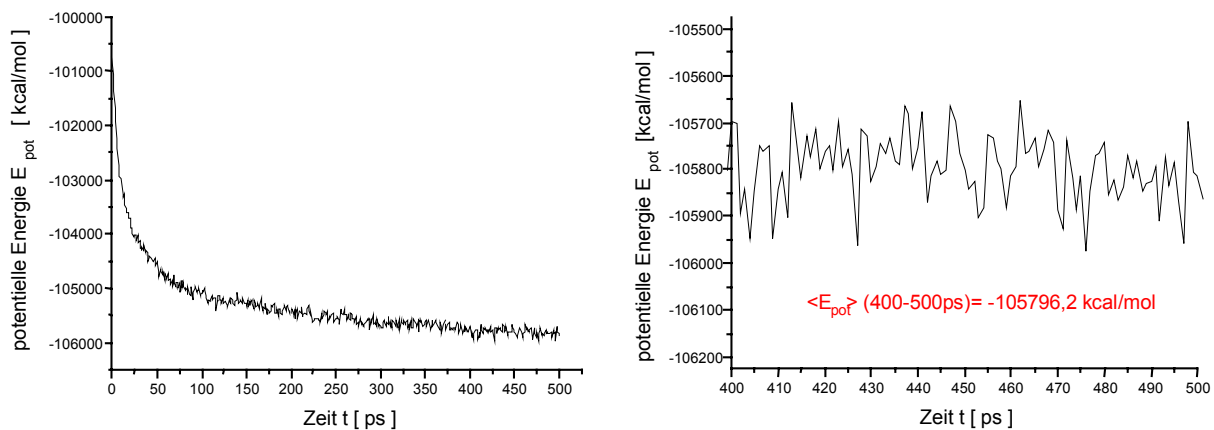


Abb. 99: Verlauf der potentiellen Energie von 0-500 ps (links) und von 400-500ps (rechts)

Energieverläufe des $[\text{Ca}(\text{MG})_3]^{2+}$ -Komplexes, die während der Wasserdynamik erhalten wurden sind in Abb. 100 zusammengefasst.

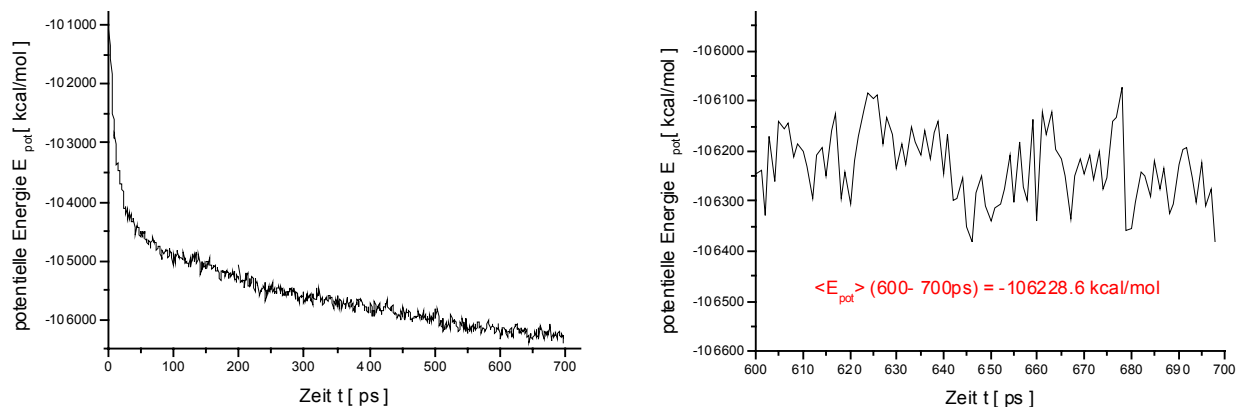


Abb. 100: Verlauf der potentiellen Energie von 0 – 700 ps (links) und von 600-700ps (rechts)

Ebenso werden der Vollständigkeit halber auch die Energieverläufe der Komplexe mit drei Calciumionen ausgewertet (Abb. 101-102).

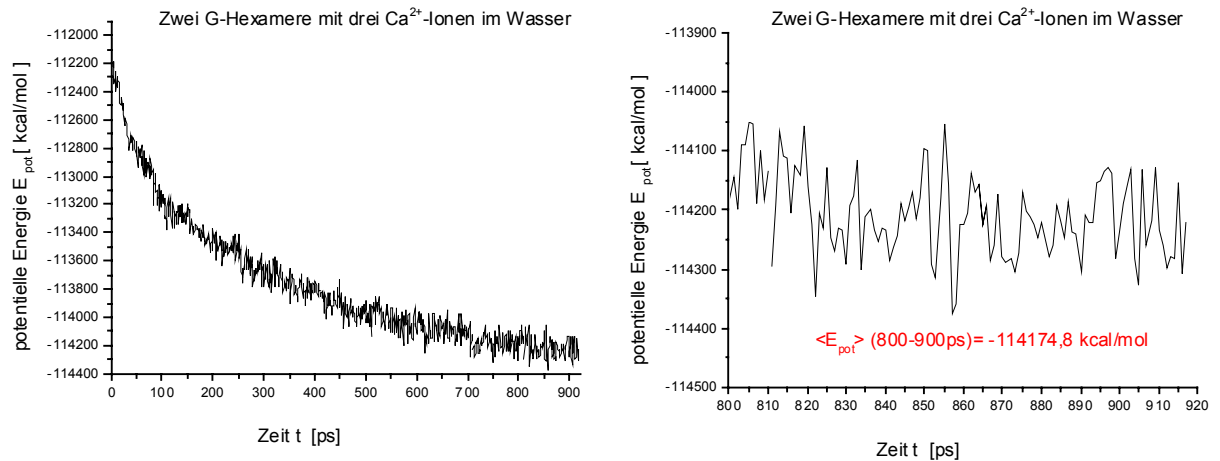


Abb. 101: Gesamtverlauf der potentiellen Energie und zwischen 0 - 900 ps des $[\text{Ca}_3(\text{G}_6)]^{6+}$ -Komplexes

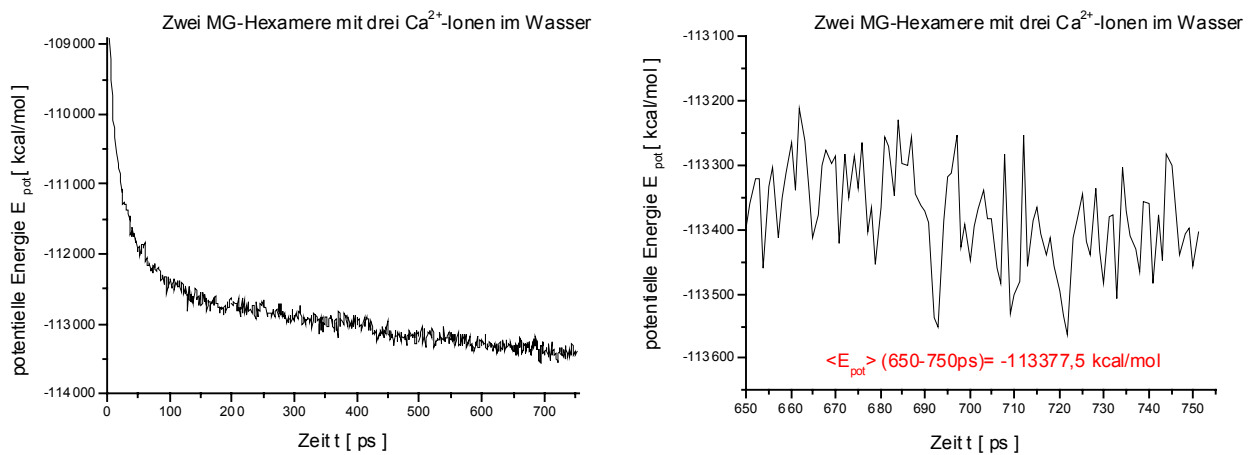


Abb. 102: Gesamtverlauf der potentiellen Energie und zwischen 650 - 750 ps des $[\text{Ca}_3(\text{MG})_3]^{6+}$ -Komplexes

9.1 Verwendete Hard- und Software

Es wurde das Insight II Programm von MSI – molecular modeling and simulation, Version 97.0. verwendet.

Darin enthalten waren ein Builder Tool, mit dem die Modellkomplexe und Strukturen auf einer Silicon Graphics Workstation vorbereitet wurden, ein Discover 3 Tool mit dem die Energieminimierung und MD-Simulationen durchgeführt wurden und ein Decipher/Analysis Tool mit dem die Rechenergebnisse ausgewertet wurden. Die Rechnungen erfolgten auf einem Linux Cluster (32 CPU Parallel Computer).

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Nicole Richter
Geburtsdatum	03. 10. 1973
Geburtsort	Duisburg
Familienstand	ledig

Schulbildung

1980 bis 1984	Grundschule Mozartstraße Duisburg
1984 bis 1993	St. Hildegardis-Gymnasium, Duisburg Abschluß: Fachhochschulreife
1993 bis 1994	G.-W.-Leibniz-Gesamtschule, Duisburg Abschluß: Abitur; Note: 2,4

Studium

10/1994 bis 02/1997	Grundstudium: Chemie an der Gerhard-Mercator-Universität-Duisburg Diplom-Vorprüfung Chemie; Note: 2,2
02/1997 bis 03/1999	Hauptstudium: Chemie an der Gerhard-Mercator-Universität Duisburg
01/1999	Diplomprüfung Chemie; Note: 1,8
04/1999 bis 09/1999	Diplomarbeit in der physikalischen Chemie, Thema: „Phasenverhalten von Öl/Wasser/Emulgator/Coemulgator-Systemen“ bei der Firma Henkel KGaA unter Leitung von Herrn Dr. B. Guckenbiehl und Herrn Priv.-Doz. Dr. W. von Rybinski Note: 1,8

01/2000 bis 03/2004	Promotion in der theoretischen Chemie, Thema der Dissertation: „Oligosaccharide und ihre Wechselwirkung mit Calciumionen – Computerchemie von Biofilmkomponenten“
04/2002 bis jetzt	Wissenschaftliche Mitarbeiterin im BMBF-Projekt: „Entwicklung neuer Tenside zur Enthftung von Kontaminationen auf nano- und mikrostrukturierten Oberflächen“ Projekt der Firma Degussa/Homecare und der Universität Essen

Selbständigkeitserklärung:

Hiermit erkläre ich, dass ich bei der Ausarbeitung der beigefügten Dissertation keine anderen als die angegebenen Mittel benutzt habe und dass wörtlich übernommene Ausführungen als solche gekennzeichnet sind.

Duisburg, den 11.03.2004