

---

# Entwicklung und Analyse polarisierbarer Potentialfunktionen für Molekulardynamiksimulationen

Bernhard Schropp

---



München 2010



---

# **Entwicklung und Analyse polarisierbarer Potentialfunktionen für Molekulardynamiksimulationen**

**Bernhard Schropp**

---

Dissertation  
an der Fakultät für Physik  
der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

vorgelegt von  
Bernhard Schropp  
aus Freising

München, 31. März 2010

Erstgutachter: Prof. Dr. Paul Tavan

Zweitgutachter: Prof. Dr. Christian Ochsenfeld

Tag der mündlichen Prüfung: 2. Juni 2010

# Zusammenfassung

Für die Höhe der Berge ist die Mühsal  
ihrer Besteigung durchaus kein  
Maßstab.

---

*(Friedrich Nietzsche [1])*

Molekülmechanische (MM) Molekulardynamik-(MD)-Simulationen sollen eine virtuelle Realität von Makromolekülen im Computer erschaffen. Dabei zeigten sorgfältige Tests wiederholt, dass die bisherigen MM-Kraftfelder nur bedingt geeignet sind, um experimentelle Referenzdaten zu reproduzieren. In vielen Fällen sind die Mängel der Beschreibung auf die Vernachlässigung von nicht-additiven Effekten, insbesondere der elektrostatischen Polarisierung, zurückzuführen.

Das Wassermolekül ist stark polarisierbar und muss in MD-Simulationen von Biomolekülen einbezogen werden. Aus diesem Grund werden im ersten Teil meiner Arbeit die Effekte von externen elektrischen Feldern auf Wassermoleküle untersucht. In polarisierbaren MM-Modellen für Wasser wird das induzierte Dipolmoment zumeist an das Feld am Ort des Sauerstoffatoms gekoppelt – die Elektronendichte eines realen Wassermoleküls reagiert aber auf ein Volumenmittel des Feldes. Es wird gezeigt, dass im Gegensatz zur bisherigen Meinung, das elektrische Feld, dem ein Wassermolekül im Volumenwasser ausgesetzt ist, nicht homogen, sondern selbst auf dem kleinen Volumen, welches das Molekül einnimmt, hochgradig inhomogen ist. Die Feldinhomogenität ist aber dergestalt, dass sie durch eine mittlere Feldinhomogenität beschrieben werden kann. Deshalb ist das mittlere Feld annähernd proportional zum Feld am Ort des Sauerstoffatoms und kann daraus mit Hilfe eines Skalierungsfaktors berechnet werden. Das skalierte Feld kann dann zur Berechnung des Dipolmoments von punkt-polarisierbaren Wassermodellen herangezogen werden. Es wird außerdem gezeigt, dass die Polarisierbarkeit, die als Proportionalitätskonstante bei der Berechnung des Dipolmoments auftaucht, in der flüssigen Phase den gleichen Wert wie bei isolierten Wassermolekülen hat, obwohl ihre Geometrie dort von der Gasphasengeometrie abweicht. Dies ist darauf zurückzuführen, dass sich für die spezifische Geometrieänderung, die beim Transfer in die flüssige Phase beobachtet wird, zwei Beiträge zur Polarisierbarkeit gegenseitig aufheben. Diese Beiträge resultieren allgemein aus der Elongation der Bindungslängen und der Kompression des Bindungswinkels.

Die Frage, ob der Einsatz eines solchen polarisierbaren Kraftfeldes die Beschreibung

von Makromolekülen, wie beispielsweise Proteinen, verbessert, kann nur durch Vergleich mit dem Experiment beantwortet werden. Infrarotspektren sind hoch sensitiv bezüglich lokaler elektrischer Felder und wären deshalb eine gute Referenz. Theoretische Vorhersagen solcher Spektren sind allerdings nur für eine der in Proteinen auftretenden Banden – und auch hier nur bedingt – möglich. Der zweite Teil dieser Dissertation beschäftigt sich deshalb mit der Entwicklung eines Kraftfelds zur Berechnung aller Schwingungsbanden des Proteinrückgrats. Hier wird der Einfluss der lokalen elektrischen Felder auf die Stärke der kovalenten Bindungen explizit berücksichtigt. Aufbauend auf einer Vorabversion eines solchen Kraftfelds wird eine Methode entwickelt, um Schwingungsspektren mit spektroskopischer Genauigkeit, d. h. mit Fehlern im Bereich von wenigen Wellenzahlen, vorherzusagen. Der minimale Parametersatz, der zur korrekten Beschreibung dieser Schwingungsspektren notwendig ist, wird identifiziert, und die entbehrlichen Parameter werden eliminiert. Anhand des Moleküls N-Methylacetamid wird demonstriert, dass das neue Kraftfeld in der Lage ist, solvatochrome Verschiebungen für verschiedene polare Lösungsmittel gut zu reproduzieren.

# Inhaltsverzeichnis

<b>Zusammenfassung</b>	<b>iii</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>vii</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Theoretische Beschreibung von Biomolekülen . . . . .	2
1.1.1 Molekülmechanische Molekulardynamik Simulationen . . . . .	3
1.1.2 Vorhersagekraft von MM-MD Simulationen . . . . .	5
1.1.3 Polarisierbare Molekülmechanik . . . . .	7
1.2 Verifikation von MM-MD Resultaten . . . . .	11
1.2.1 Aufbau und Struktur von Proteinen . . . . .	12
1.2.2 Infrarotspektroskopie . . . . .	16
1.2.3 Berechnung von Schwingungsspektren . . . . .	19
1.2.4 DFT/MM Hybridmethoden . . . . .	21
1.2.5 PMM Konzepte für gebundene Wechselwirkungen . . . . .	22
1.3 Aufbau und Gliederung der Arbeit . . . . .	25
<b>2 Polarisierbare Wassermodelle</b>	<b>27</b>
2.1 Polarisierbarkeit von Wassermodellen . . . . .	27
2.2 Einfluss der Flexibilität auf die Polarisierbarkeit . . . . .	37
<b>3 Berechnung von Protein-IR-Spektren</b>	<b>47</b>
3.1 Polarisierbares Amidgruppen-Kraftfeld . . . . .	47
3.2 Erweiterung zum spektroskopischen Kraftfeld . . . . .	69
<b>4 <i>Résumé</i> und Ausblick</b>	<b>91</b>
<b>Anhang</b>	<b>97</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>113</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>131</b>
<b>Danksagung</b>	<b>133</b>
<b>Lebenslauf</b>	<b>135</b>



# Abkürzungsverzeichnis

Ohne konkrete Symbole ist der  
Computer bloß ein Haufen Schrott.

---

(Neil Postman [2])

CMAP	engl. <i>correction map</i> 23
CT	engl. <i>coupling terms</i> , Kopplungsterme 24
DFT	Dichtefunktionaltheorie 2
EC	engl. <i>energy conserving</i> , energieerhaltend 102
FQ	engl. <i>fluctuation charge</i> , Elektronegativitäts-Equilibrierungs-Konzept 7
FTTFCF	engl. <i>fourier transform of the time correlation function</i> , Fouriertransformation der Zeitkorrelationsfunktion 20
INMA	Instantane Normalmoden Analyse 19
IR	Infrarot 2
mRNA	engl. <i>messenger ribonucleic acid</i> , Boten Ribonucleinsäure 13
MD	Molekulardynamik 2
MM	Molekülmechanik 2
NMA	N-Methylacetamid 24
NMR	engl. <i>nuclear magnetic resonance</i> , Kernspinresonanz 3
NP	engl. <i>not polarizable</i> , nicht polarisierbar 103
PMM	polarisierbare Molekülmechanik 7
RMSD	engl. <i>root mean square deviation</i> , mittlere quadratische Abweichung 6
TDC	engl. <i>transition dipole coupling</i> 23
TIP5P	engl. <i>transferable intermolecular potential 5 points</i> 97



# 1 Einleitung

Celebrating faith over reason is merely a way of denying what is, in favor of embracing any whim that strikes your fancy.

---

*(Terry Goodkind [3])*

Seit der Entdeckung des ersten Antibiotikums Penicillin [4] im Jahre 1929 hat die Medizin enorme Fortschritte gemacht, die vor allem auf das fortschreitende Verständnis der Physiologie des Menschen, und dabei insbesondere auf das Verständnis der Vorgänge auf zellulärer Ebene zurückzuführen sind. Dieses erweiterte Verständnis beruht auf der Entwicklung immer genauerer und effizienterer Methoden, um biologische Prozesse auf molekularer Ebene aufzuklären.

Als Hauptakteure dieser Prozesse treten Proteine, die Maschinen der Zelle, in Aktion. Sie interagieren – in oft komplexen mehrstufigen Reaktionsabläufen – mit anderen Proteinen, Lipiden und weiteren kleinen Molekülen, die als Botenstoffe oder Energieträger fungieren [5]. Bekannte Beispiele für solche Reaktionsabläufe sind der Sehprozess mit der nachgeschalteten Signalkaskade [6], die Ubiquitinierung [7] oder die Umsetzung von Glycose in Adenosintriphosphat mit Hilfe des Citratzyklus [8]. Die Bedeutung, die der Aufklärung dieser und anderer Abläufe beigemessen wird, zeigt sich unter anderem daran, dass in den letzten zwei Jahrzehnten sechs Medizin-<sup>1</sup> und fünf Chemie-<sup>2</sup> Nobelpreise für Arbeiten vergeben wurden, welche die Analyse zellulärer Mechanismen auf molekularer Ebene zum Ziel hatten. Die anhand dieser

- 
- <sup>1</sup> 1991: E. Neher und B. Sakmann, Ionenkanäle und Signalübertragung  
1992: E. H. Fischer und E. G. Krebs, Stoffwechsel  
1994: A. G. Gilman und M. Rodbell, G-Proteine  
1997: S. Prusiner, Prionen  
1999: G. Blobel, Lokalisierung und Transport von Proteinen  
2009: E. Blackburn, C. W. Greider und J. Szostack, Telomere und Telomerase
- <sup>2</sup> 1997: P. D. Boyer, J. E. Walker und J. C. Skou, Adenosintriphosphat  
2003: P. Agre und R. MacKinnon, Wasser- und Ionenkanäle  
2004: A. Ciechanover, A. Hershko und I. Rose, Ubiquitin  
2006: R. D. Kornberg, Gentranskription in Eukarionten  
2009: V. Ramakrishnan, T. A. Steitz und A. Yonath, Ribosom

Aufklärungsarbeit erhaltene Kenntnis der Struktur der einzelnen Proteine und ihrer Wechselwirkungen mit dem Rest der Zelle ermöglicht es unter anderem, gezielt Liganden zu entwickeln, die als Medikamente fungieren und die Proteinaktivität entsprechend aktivieren oder hemmen [9–11].

In diesem Forschungsumfeld ist auch die vorliegende Dissertation angesiedelt, die vier Originalarbeiten [12–15] aus dem Bereich der theoretischen molekularen Biophysik umfasst. In diesem Teilgebiet wird versucht, mittels Computersimulationen, speziell der so genannten molekülmechanischen (MM) Molekulardynamik-(MD)-Simulationen eine virtuelle Realität von Biomolekülen zu generieren, vermittels derer experimentelle Befunde interpretiert werden können. Als Fernziel sollen solche MM-MD Simulationen Vorhersagen über Gleichgewichtsstrukturen von Makromolekülen und den Ablauf von dynamischen Prozessen in solchen Molekülen erlauben.

Die ersten beiden Arbeiten [12, 13] befassen sich mit der Frage, wie die Genauigkeit der Beschreibung durch Berücksichtigung von bislang in MM-MD Modellen vernachlässigten Polarisierungseffekten erhöht werden kann. Die beiden anderen Arbeiten [14, 15] sollen ein Werkzeug zur Überprüfung der MM-MD Vorhersagen durch Vergleich mit beobachteten Infrarot (IR) Spektren liefern.

## 1.1 Theoretische Beschreibung von Biomolekülen

Um eine exakte theoretische Beschreibung von Biomolekülen zu erhalten, muss die Schrödingergleichung gelöst werden. Solch ein Unterfangen ist selbst für kleine Moleküle nicht analytisch möglich. Numerische Beschreibungen verwenden entweder zu große Näherungen und haben damit geringe Aussagekraft oder benötigen enormen Rechenaufwand. Zwar erlauben methodische Entwicklungen wie die Born–Oppenheimer Näherung [16, 17] eine Vereinfachung der zu lösenden Gleichungssysteme, aber der Rechenaufwand wächst dennoch mit der Größe der zu beschreibenden Moleküle derart stark an, dass aussagekräftige quantenmechanische Methoden nur auf ausgewählte kleine Systeme anwendbar sind.

Im Jahr 1964 stellten Hohenberg und Kohn die Dichtefunktionaltheorie<sup>1</sup> (DFT) vor [19, 20]. Diese Methode erlaubt es, die Eigenschaften von Molekülen im elektronischen Grundzustand aus der Elektronendichte zu berechnen und gibt Algorithmen zur Berechnung der Elektronendichte vor. Obwohl die DFT im Vergleich zu anderen quantenchemischen Methoden relativ wenig Rechenzeit benötigt und in den letzten Jahren mit ihrer Hilfe immer größere Systeme charakterisiert werden konnten [21–24], stößt sie heutzutage dennoch bei wenigen 100 Atomen an ihre technischen Grenzen.

---

<sup>1</sup> 1998, W. Kohn und J. A. Pople, Nobelpreis für Chemie, Dichtefunktionaltheorie und Umsetzung auf dem Computer (Programm: GAUSSIAN [18].)

Proteine bestehen demgegenüber aus Tausenden von Atomen und müssen von zehnmal so vielen Lösungsmittelatomen umgeben werden, wenn die natürliche Umgebung adäquat beschrieben werden soll [25]. Deshalb können physiologische Fragestellungen, die mit Konformationsübergängen von Proteinen einhergehen, nicht mit der DFT behandelt werden. Auch die Aufklärung der Struktur solcher Makromoleküle mit Mitteln der Röntgenbeugung oder Kernspinresonanzspektroskopie [engl. *nuclear magnetic resonance* (NMR)] kann nicht auf die DFT zurückgreifen. Hier müssen alternative (günstigere) Verfahren wie MM-MD Simulationen eingesetzt werden.

Solche MM-MD Simulationen werden im nächsten Abschnitt vorgestellt. Nachfolgend wird die Qualität diskutiert, mit der solche Kraftfeldmethoden Biomoleküle beschreiben können. Im letzten Unterabschnitt wird am Beispiel des Wassermoleküls gezeigt, welche Entwicklungen notwendig sind, um MM-MD Methoden zu einem präzisen Werkzeug der molekularen Biophysik zu machen.

### 1.1.1 Molekülmechanische Molekulardynamik Simulationen

Bei einer MD Simulation wird die Zeitentwicklung eines wechselwirkenden Vielteilchensystem aus  $N$  Massen  $\mathbf{m} = \{m_1, \dots, m_N\}$ , den Atomen, an den Orten  $\mathbf{R} = \{\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N\}$  beschrieben [26, 27]. Zu jedem Zeitpunkt<sup>1</sup>  $t$  werden aus einer semiempirischen Energiefunktion  $U(\mathbf{R})$ , dem so genannten Kraftfeld [27–30], die Kräfte, die auf jedes Atom wirken, berechnet. Mit Hilfe dieser Kräfte werden dann die Newton'schen Bewegungsgleichungen numerisch gelöst [31]. Die so generierte Sequenz von Konfigurationsraumvektoren  $\mathbf{R}_t$  wird zu einer geordneten Punktmenge zusammengefasst, der Trajektorie  $\mathcal{T} = \{\mathbf{R}_0, \dots, \mathbf{R}_T\}$ . Dieser Datensatz bietet das Material für nachfolgende statistische Analysen, vermittels derer die im Simulationssystem ablaufenden Prozesse beschrieben werden können.

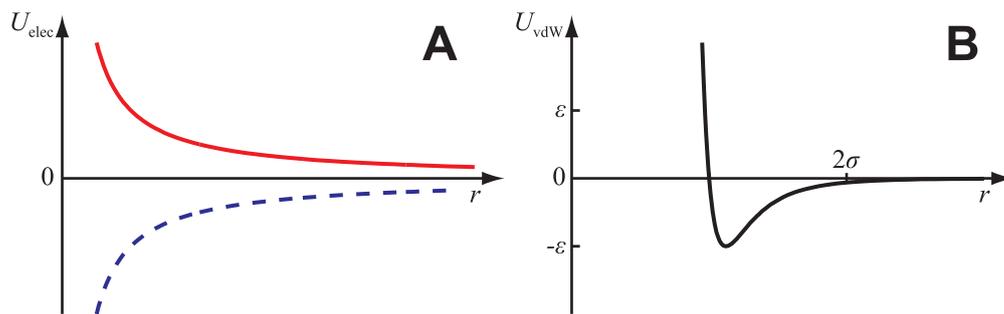
MM Kraftfelder  $U(\mathbf{R})$  modellieren die Wechselwirkungen zwischen Atomen mittels zweier Typen von Wechselwirkungen. Wechselwirkungen zwischen allen Atome, die nicht chemisch aneinander gebunden sind, werden über die *ungebundenen* Potentialfunktionen  $U_{\text{ng}}(\mathbf{R})$  modelliert. Abbildung 1.1 zeigt die beiden Anteile dieser ungebundenen Wechselwirkung als Funktion des Abstands

$$r_{ij} = |\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j| \quad (1.1)$$

zweier Atome  $i$  und  $j$ . Diese Energien setzen sich aus der elektrostatischen Wechselwirkung  $U_{\text{elec}}$  (Abb. 1.1A) und der van-der-Waals Wechselwirkung  $U_{\text{vdW}}$  (Abb. 1.1B) zusammen. Die elektrostatische Wechselwirkung wird dabei als Coulombsumme

$$U_{\text{elec}} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{Q_i Q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (1.2)$$

<sup>1</sup> Als diskreter Zeitschritt  $\Delta t$  wird typischerweise 1 Femtosekunde gewählt, um die schnellsten Freiheitsgrade in solchen Systemen (Schwingungen kovalent an schwerere Atome gebundener Wasserstoffatome) noch glatt abtasten zu können.



**Abbildung 1.1:** Elektrostatiche Energie (A) und van-der-Waals Energie (B). Die gestrichelte blaue Kurve zeigt die elektrostatiche Energie für Ladungen unterschiedlichen Vorzeichens, die durchgezogene rote Kurve für Ladungen gleichen Vorzeichens.

mit Partialladungen  $Q_i$  am  $i$ -ten Atoms geschrieben. Die van-der-Waals Wechselwirkung wird durch das 6-12-Lennard–Jones Potential

$$U_{\text{vdW}} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (1.3)$$

mit den Parametern  $\epsilon_{ij}$  und  $\sigma_{ij}$  modelliert, wobei die Pauli Abstoßung mit dem  $r_{ij}^{-12}$ - und die Dispersions- (induzierter Dipol–induzierter Dipol) Wechselwirkung mit dem  $r_{ij}^{-6}$ -Term beschrieben wird.

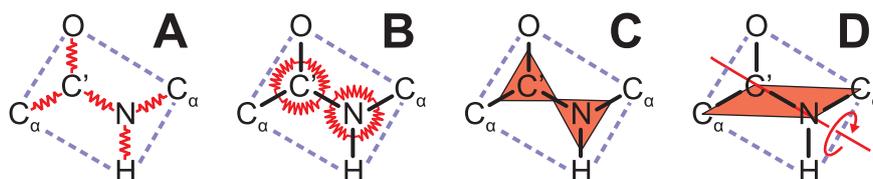
Wie Abbildung 1.1B zeigt, fällt die van-der-Waals Energie schnell auf Null ab und kann deshalb ab einem so genannten Cutoff-Radius  $r_C \approx 10 \text{ \AA}$  durch eine Molekularfeldnäherung erfasst werden [32]. Die elektrostatiche Energie (Abb. 1.1A) hingegen fällt nur langsam ab. Deshalb kann sie nicht bei derart kleinen Abständen abgeschnitten und durch eine Molekularfeldnäherung ersetzt werden [33]. Sie trägt deshalb am meisten zur Rechenzeit<sup>1</sup> von MM-MD Simulationen bei.

Atome, die chemisch aneinander gebunden oder durch maximal zwei chemische Bindungen voneinander getrennt sind, wechselwirken über *gebundene* Potentialfunktionen  $U_q(\mathbf{R})$ . Diese werden größtenteils durch harmonische Potentiale

$$U_q(\mathbf{R}) = \sum_l k_l [q_l(\mathbf{R}) - q_l^0]^2 \quad (1.4)$$

beschrieben, wobei  $q_l(\mathbf{R})$  den Wert des  $l$ -ten internen Freiheitsgrades des Systems bezeichnet und die Parameter  $q_l^0$  und  $k_l$  die Form des Potentials festlegen.  $q_l^0$  repräsentiert dabei die Gleichgewichtslage und  $k_l$  die zugehörige Kraftkonstante.

<sup>1</sup> Bei einer expliziten Auswertung aller Wechselwirkungen zwischen den  $N$  Atomen eines Simulationssystems sind  $\mathcal{O}(N^2)$  Rechenoperationen nötig. Selbst bei besonders effizienten Auswertungsverfahren [25, 34] skaliert die Auswertung noch linear mit  $N$ .



**Abbildung 1.2:** Gebundene Wechselwirkungen am Beispiel des Peptidplättchens (gestrichelt). Harmonische Potentiale (rote Federn) modellieren die Bindungslängen (A) und Winkel (B) sowie die Planarität (rot hinterlegte Ebenen) der  $sp^2$ -hybridisierten Atome. Ein weiteres Potential beschreibt Torsionen um die  $C'-N$  Bindung (D).

Abbildung 1.2 zeigt interne Freiheitsgrade exemplarisch für ein so genanntes Peptidplättchen (vgl. Abschnitt 1.2.1 unten). Diese Freiheitsgrade umfassen die Abstände  $r_{ij}$  [Gleichung (1.1)] zwischen zwei gebundenen Atomen (Abb. 1.2A), die Winkel

$$\varphi_{ijk} = \arccos \left[ \frac{(\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j) \cdot (\mathbf{r}_j - \mathbf{r}_m)}{r_{ij}r_{jm}} \right]$$

die zwischen zwei Bindungen ( $ij$ ) und ( $jk$ ) auftreten (Abb. 1.2B), sowie die Deformation der Substituenten eines  $sp^2$ -hybridisierten Atoms aus ihrer gemeinsamen Ebene (Abb. 1.2C). Die gebundenen Freiheitsgrade werden noch durch Torsionspotentiale  $U_\xi$  erweitert (Abb. 1.2D), welche die Drehung  $\xi$  zweier Molekülebenen um eine gemeinsame Bindung mittels Cosinuentwicklungen

$$U_\xi = \frac{1}{2} \sum_n U_{\xi,n} \{1 + \cos [n(\xi - \xi_i^0)]\}. \quad (1.5)$$

beschreiben.

Ein spezifisches MM Kraftfeld wird nun durch die Wahl der Parameter ( $Q_i$ ,  $\epsilon_i$ ,  $\sigma_i$ ,  $k_l$ ,  $q_l^0$ ), die in den Energiefunktionen (1.2)–(1.5) auftauchen, definiert und modelliert die Bindungseigenschaften sowie die elektrostatische Signatur der Moleküle. Die Qualität, mit der ein solches konventionelles MM Kraftfeld ein Biomolekül beschreiben kann, hängt neben der Wahl der Parameter auch von der Form der Potentialfunktionen ab; Gleichungen (1.2)–(1.5) zeigen nur die am häufigsten gewählte funktionelle Form.

## 1.1.2 Vorhersagekraft von MM-MD Simulationen

Solche MM-Kraftfelder sind ein exzellentes Werkzeug, um Strukturinformationen, die aus experimentellen Messmethoden wie der Röntgenkristallographie <sup>1</sup> [35–42] oder

<sup>1</sup> 1915, W. H. Bragg und W. L. Bragg, Nobelpreis für Physik

der NMR [43–49] gewonnen werden, in dreidimensionale Molekülstrukturen zu übersetzen. Bei diesem so genannten *refinement* wird ausgenutzt, dass ein MM Kraftfeld lokale geometrische, elektrostatische und sterische Eigenschaften so gut wiedergibt, dass all diejenigen Strukturen, die keine plausiblen Biomoleküle darstellen, aussortiert werden [38, 50, 51]. In Kombination mit den genau bestimmten experimentellen Randbedingungen erhält man zuverlässige Aussagen über die dreidimensionale Struktur. Solche Randbedingungen sind im Fall der Röntgenkristallographie das Beugungsmuster eines Proteinkristalls und bei der Kernspinresonanzspektroskopie gut definierte Abstandskriterien. Bei freien Proteinsimulationen wurden aber gerade in jüngerer Zeit eine Reihe von Mängeln klassischer MM Kraftfelder offensichtlich.

So zeigten beispielsweise Rechnungen, die ich am Prion Protein durchgeführt habe [52], dass klassische MM-MD Kraftfelder wie CHARMM22 [53] die Kristallstruktur dieses Moleküls nicht sehr genau reproduzieren können. In der entsprechenden Studie wurden zwei Mutationen am Prion Protein mittels MM-MD untersucht. Zwar konnte beobachtet werden, dass die Mutanten schnell von der Kristallstruktur des Wildtyp-Prions abweichen, allerdings entfernte sich auch das – in wässriger Umgebung stabile – Wildtyp-Protein, das als Referenz simuliert wurde, schnell von der Kristallstruktur. Hier wurde durch die Simulation nach nur 10 ns eine quadratische Standardabweichung [engl. *root mean square deviation* (RMSD)] der Atompositionen von der Kristallstruktur von 3 Å bestimmt. Auf die Dimension des Proteins bezogen heißt das, dass ein Atom im Mittel etwa 10 % der Proteinabmessung von seiner Position in der Kristallstruktur abweicht.

Weitere Versuche, Proteine mittels MM-MD zu charakterisieren, zeigten ebenfalls deutliche Abweichungen vom Experiment. So ergab eine Simulation eines kurzen Peptids (10 Aminosäuren lang, 6 davon Alanin; genannt  $\tilde{P}$ ), welches Experimenten zufolge bei einer Temperatur von 300 K zu 60 % ungefaltet vorliegt, einen  $\alpha$ -Helixanteil (siehe Abschnitt 1.3) von 94 % [54]. Ein Vergleich der Schmelzkurve des Peptids, die mittels eines erweiterten Ensemble Verfahrens, dem so genannten *temperature replica exchange* Verfahren [55–57], berechnet wurde, ergab, dass die Schmelztemperatur durch die MM-MD Simulation um etwa 100 K überschätzt wird.

Ähnliche Probleme traten bei einer 10  $\mu$ s Faltungssimulation der Mutante Fip35 der menschlichen Pin WW Domäne, die experimentell mit einer Rate von  $(8.1 \mu\text{s})^{-1}$  in eine Struktur aus drei  $\beta$ -Faltblättern faltet, auf. Obwohl bei der verwendeten MD-Methode die Kristallstruktur im Lösungsmittel über mehrere 100 ps stabil ist, faltete die zunächst ungefaltete Aminosäurekette in eine Reihe von  $\alpha$ -helikalen Zuständen ohne die native Struktur zu erreichen [58].

Als letztes Beispiel soll die Simulation des Bakteriorhodopsins, einer lichtgetriebenen Protonenpumpe im *halobacterium salinarum*, aufgeführt werden. Hier scheitert die Beschreibung der Bindungstasche für den Chromophor daran, dass eine Wasserstoffbrücke, die in der Kristallstruktur zum so genannten „Wasser 1“ ausgebildet wird [59], sich in der Simulation zum benachbarten Aspartat 85 ausbildet [60].

Dieses letzte Beispiel ist deshalb besonders interessant, weil in der Arbeit von Babitzki *et al.* [60] gezeigt wird, dass die Struktur korrekt reproduziert wird, falls die Beschreibung der Elektrostatik der den Chromophor umgebenden Molekülsegmente unter Berücksichtigung von Polarisierungseffekten eigens parametrisiert wird. In der Arbeit von Babitzki *et al.* [60] wurden für die Partiaalladungen  $Q_i$  der entsprechenden Molekülsegmente Ladungen gewählt, die mittels DFT berechnet wurden und die somit explizit die Polarisierungseffekte berücksichtigen, welche durch die Umgebungselektrostatik in den Molekülsegmenten induziert werden. Als Resultat konnte das polarisierte MM Kraftfeld [Gleichungen (1.2)–(1.5)] die Kristallstruktur sehr gut reproduzieren. Hierbei muss aber bedacht werden, dass die so berechnete Ladungsverteilung spezifisch für die Bindungstasche des Bakteriorhodopsins ist. Um eine ähnliche Qualität der Beschreibung für andere Biomoleküle zu erhalten, müssten für jedes dieser Moleküle solche Rechnungen durchgeführt werden. Ferner hat sich bei der Parametrisierung gezeigt, dass die mittels DFT berechneten Partiaalladungen stark von der elektrostatischen Parametrisierung der umliegenden Molekülsegmente abhängt; deshalb war eine iterative Berechnung notwendig. Ein solches Verfahren wurde kürzlich auch von Benjamin Rieff erfolgreich auf die AppA-BLUFF Domäne [61] angewandt. Bei Verwendung konventioneller unpolarisierter MM Kraftfelder weichen auch bei diesem Protein Seitengruppen in der Bindungstasche des Chromophors deutlich von ihrer Position in der Kristallstruktur ab [62].

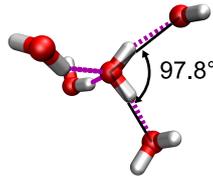
Anstatt die Beschreibung der Elektrostatik für jedes spezifische System eigens zu optimieren, bietet es sich an, eine alternative Beschreibung der Elektrostatik zu wählen, welche die zugrunde liegenden Polarisierungseffekte explizit berücksichtigt. Hier versuchen polarisierbare molekülmechanische (PMM) Kraftfelder die Änderungen der elektrostatischen Signaturen der Molekülsegmente, die durch die Ladungsverteilung der Umgebung induziert wird, in einer adäquaten Weise zu beschreiben.

### 1.1.3 Polarisierbare Molekülmechanik

Die polarisierbare Molekülmechanik [63–65] versucht nun, die Polarisierungseffekte durch eine Erweiterung des MM Modells zu berücksichtigen. Dabei konzentrieren sich die meisten Ansätze auf eine Verbesserung der Elektrostatik, indem Änderungen der elektrostatischen Signaturen der Moleküle modelliert werden, welche auf Verschiebungen der Elektronendichte zurückzuführen sind.

Hier kommen vor allem zwei Konzepte, das Elektronegativitäts-Equilibrierungs-Konzept [engl. *fluctuation charge* (FQ)] [66] und das Konzept induzierter Dipolmomente (ID) [67–69], zum Einsatz. Kraftfelder, die diese Verfahren für Proteine realisieren, werden zunehmend entwickelt [70–75] und zeigen in der Anwendung auf Proteine erste Erfolge [75].

In dieser Arbeit werden diese beiden Konzepte am Beispiel des Wassermoleküls vorgestellt und die ID Methode später in Kapitel 2 untersucht und erweitert. Aufgrund



**Abbildung 1.3:** Typische Umgebung eines Wassermoleküls in der flüssigen Phase. Das zentrale Wassermolekül ist von vier anderen umgeben, die annähernd tetraedisch koordiniert sind. Zu den vier Partnern werden Wasserstoffbrücken (violett) ausgebildet. Im Gegensatz zum Eis weichen die Winkel zwischen den Sauerstoffatomen (einer exemplarisch eingezeichnet) deutlich vom idealen Tetraeder ( $109.5^\circ$ ) ab.

seiner erheblichen Bedeutung in der molekularen Biophysik als biologisches Lösungsmittel dient das Wasser hierbei als Modellmolekül, für das in vielen Fällen die Prototypen der Kraftfeldmethoden entwickelt wurden.

## Das biologische Lösungsmittel Wasser

Flüssiges Wasser weist eine Vielzahl von Besonderheiten auf [76, 77], wie zum Beispiel die Dichteanomalie [78] und die hohe Dielektrizitätskonstante ( $\epsilon \approx 78$  bei  $25^\circ$  [79]), die sich auf die (elektrostatischen) Eigenschaften des Monomers  $\text{H}_2\text{O}$  und die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zurückführen lassen.<sup>1</sup> Das Monomer zeichnet sich dabei durch sein Dipolmoment von 1.85 Debye [81, 82], seine hohe Polarisierbarkeit von  $1.45 \text{ \AA}^3$  [83, 84] und ein ausgeprägtes Quadrupolmoment aus.

Abbildung 1.3 zeigt eine lokale Wasserstruktur, in der ein zentrales  $\text{H}_2\text{O}$ -Molekül Wasserstoffbrückenbindungen [85] zu seinen nächsten Nachbarn ausbildet, d. h. die Wasserstoffatome bilden mit den Sauerstoffatomen anderer Wassermoleküle Bindungen, die größtenteils elektrostatischer, aber nach Ergebnissen von Compton-Streuungsversuchen an Eis [86] auch teilweise kovalenter Natur sind. Im Gegensatz zum Eis weichen in der flüssigen Phase die Winkel zwischen den Sauerstoffatomen allerdings deutlich vom idealen Tetraederwinkel ( $109.5^\circ$ ) ab.

Im Rahmen der Proteinphysik sind besonders die Eigenschaften von Wasser als polare Flüssigkeit von Interesse. Aufgrund der Polarität des Wassers orientieren sich apolare Aminosäurereste ins Proteininnere und polare Reste an den Rand des Proteins. Auch für spezifische chemische Reaktionen in Proteinen ist die Präsenz von Wasser unerlässlich. So findet zum Beispiel jeder Prozess, bei dem Protonen durch eine Membran gepumpt werden, unter Beteiligung von Wasser statt, welches im Proteininneren eingebettet ist und dort als Protonenleiter<sup>2</sup> fungiert.

<sup>1</sup> Flüssiges Wasser besteht dabei aus einer Mischung aus  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{HDO}$ ,  $\text{H}_3\text{O}^+$  und  $\text{OH}^-$  [80].

<sup>2</sup> Die Protonenleitfähigkeit von Wasser wird durch den Grotthuss Mechanismus [87, 88] erklärt.

## Polarisierbare Kraftfelder für Wasser

Eine der ersten MM-MD Simulationen wurde an Wasser in flüssige Phase durchgeführt [89]. Schon damals war bekannt, dass das Dipolmoment in der Lösungsmittele Umgebung größer als in der Gasphase ist. Viele auch heute noch im Einsatz befindliche Wassermodelle tragen dieser Tatsache Rechnung, indem sie einen erhöhten Wert für das statische Dipolmoment des Modells wählen [90–94], einen so genannten *meanfield* Wert. Eine derartige Beschreibung ist adäquat, solange sich das Wassermolekül in der homogenen Umgebung flüssigen Wassers befindet. Allerdings stören Biomoleküle die Struktur von Wasser selbst in einigen Nanometern Entfernung [95] und die Oberfläche sowie das Innere von Proteinen, wie beispielsweise Ionenkanäle, kann mitnichten als homogen bezeichnet werden.

Modernere Wassermodelle beschreiben deshalb die Polarisierbarkeit explizit mit zusätzlichen Potentialtermen. Das FQ-Prinzip [66, 96] basiert auf der Annahme, dass sich Elektronen derart innerhalb eines Moleküls verschieben können, dass dadurch an jedem Atomort das gleiche chemische Potential herrscht. Dieses chemische Potential kann mit Hilfe atomarer Parameter, d. h. der atomaren Elektronegativität und der Härte der atomaren Elektronegativität, aus der Ladung  $Q_i$  und dem Potential am Ort des  $i$ -ten Atoms bestimmt werden. Eine Änderung der Potentiale führt dann zu einer Veränderung der Partiaalladungen und damit zu einer Veränderung der elektrostatischen Signatur.

Ein anderer Weg, die Polarisierbarkeit in das Kraftfeld aufzunehmen, besteht darin, fixierte Partiaalladungen zu verwenden und die Reaktion der elektrostatischen Signatur eines Moleküls auf das lokal wirkende elektrische Feld mittels induzierter Dipole  $\boldsymbol{\mu}_i$  an den Atomorten  $\mathbf{r}_i$  zu beschreiben. Diese werden zumeist mit isotropen atomaren Polarisierbarkeiten  $\alpha_i$  gemäß

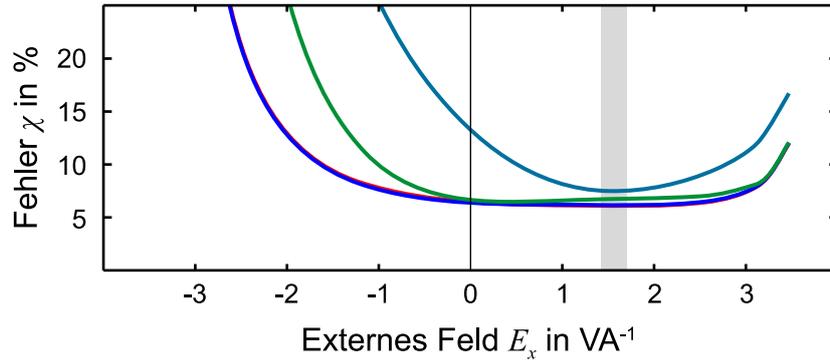
$$\boldsymbol{\mu}_i = \alpha_i \mathbf{E}(\mathbf{r}_i) \quad (1.6)$$

an das elektrische Feld  $\mathbf{E}$  am Ort  $\mathbf{r}_i$  gekoppelt. Für Wasser werden vor allem zwei Verfahren angewandt, um die induzierten Dipole zu modellieren. Die meisten Ansätze verwenden einen [97–101] oder mehrere Dipole [102–105]. Gelegentlich werden so genannte Drude-Oszillatoren oder *charge on spring*-Modelle verwendet [106–113], welche Dipole durch zwei Punktladungen approximieren. Hier sitzt eine am Ort des Atoms, die andere Partiaalladung, die mit einer Kraftkonstante an das Atom gekoppelt ist, kann sich gesteuert durch die externen Felder bewegen.

Ein Schwachpunkt bei der Parametrisierung dieser Modelle ist, dass die meisten Arbeiten nur makroskopische Größen optimieren und erst in jüngerer Zeit mikroskopische Referenzdaten, wie sie durch quantenmechanische Methoden oder die DFT zur Verfügung gestellt werden können, zur Modelloptimierung herangezogen werden [102, 105, 114–117].

---

Dabei wandert nicht ein einzelnes Proton, sondern verschiedene Protonen werden durch „Um-



**Abbildung 1.4:** Vergleich der kleinstmöglichen Fehler  $\chi$  in der Beschreibung des Oberflächenpotentials von Wasser als Funktion eines äußeren Feldes  $E_x$  in Richtung der Winkelhalbierenden des Wassermoleküls für vier verschiedene polarisierbare Modellklassen: **grün:** 5-Punkt Modell mit einem Punktdipol am Ort des Sauerstoffatoms; **blau:** 5-Punkt Modell mit drei Punktdipolen an den Atomorten; **rot:** 5-Punkt Modell mit fluktuierenden Ladungen and zwei Ladungsaufpunkten, deren Position für jede Feldstärke eigens optimiert wurde. **türkis:** 4-Punkt Modell mit fluktuierenden Ladungen und einem Ladungsaufpunkt  $0.15 \text{ \AA}$  vom Sauerstoffatom; Der graue Balken markiert das mittlere Feld am Ort des Sauerstoffatoms in wässriger Lösung. Entnommen aus [116].

Abbildung 1.4 zeigt Daten aus meiner Diplomarbeit [116], in der die elektrostatischen Eigenschaften verschiedener Wassermodelle in homogenen externen Feldern untersucht wurden. Die Abbildung vergleicht vier verschiedene polarisierbare Modelle zur Beschreibung eines Wassermoleküls in externen homogenen elektrischen Feldern  $E_x$  in Richtung seiner Winkelhalbierenden. Dargestellt ist die Qualität, mit der die elektrostatische Signatur, d. h. das Oberflächenpotential eines Wassermoleküls, das mittels DFT berechnet wurde, durch verschiedenen Modellklassen wiedergegeben wird.

Es wurden vier Wassermodelle mit unterschiedlicher Komplexität parametrisiert, die alle das Gasphasen-Dipolmoment  $\mu^{\text{gas}}$  reproduzieren. Ferner wurden die Quadrupolmomente der 5-Punkt Modelle für die Gasphase optimiert. Das Modell, welches der grünen Kurve in Abbildung 1.4 zugrunde liegt, ergänzt diese Partiaalladungsverteilung mit einem induzierbaren Punktdipol (Polarisierbarkeit  $\alpha$ ) am Ort  $\mathbf{r}_O$  des Sauerstoffatoms. Die verbleibenden Modelle repräsentieren jeweils optimale Beschreibungen. Dies wurde erreicht, indem die feldabhängigen Parameter der Modelle nicht als Antwortfunktionen beschrieben, sondern für jede Feldstärke eigens optimiert wurden. Die blaue Kurve ist einem Modell zugeordnet, das drei Dipole an den Orten der Atome trägt (feldabhängige Parameter:  $\mu_{O,x}$ ,  $\mu_{H,x}$ ,  $\mu_{H1,y}$ ). Die rote Kurve demonstriert die optimale Beschreibung durch ein 5-Punkt FQ Modell. Hier wurden die Orte der masselosen Ladungsaufpunkte sowie die zugehörigen Partiaalladungen  $-Q_H$  für

---

klappen“ von Wasserstoffbrückenbindungen weitergereicht.

jede Feldstärke optimiert (Parameter:  $r_{L,x}$ ,  $r_{L,y}$ ,  $Q_H$ ) Die türkise Kurve schließlich zeigt, zum Vergleich, ein typisches 4-Punkt FQ Modell (Parameter:  $Q_H$ ).

Obwohl die komplexesten Modelle (rot und blau) die besten Beschreibungen liefern, ist ein simples Modell mit nur einem induzierten Dipol (grün) nur unwesentlich schlechter. Das einfache FQ-Modell (türkis) beschreibt das DFT-Wasser nur in einem kleinen Feldstärkebereich gut; es ist außerhalb dieses Bereichs kaum anwendbar. Daraus lässt sich schließen, dass eine simple „1-ID“ Beschreibung, trotz der Vielzahl der vorgestellten Ansätze, für die Modellierung von H<sub>2</sub>O in PMM-MD Simulationen durchaus ausreichen sollte.

Im Rahmen der ersten beiden Arbeiten, die Kapitel 2 dieser Arbeit bilden, wird analysiert wie die Polarisierbarkeit für ein solches „1-ID“ Wassermolekül gewählt werden muss. Dabei wird sich herausstellen, dass DFT Rechnungen an Molekülen im Vakuum, die heutzutage zumeist zur Parametrisierung von MM und PMM Kraftfeldern herangezogen werden [53, 71], nicht ausreichen, um selbst ein einfaches Molekül wie Wasser korrekt zu modellieren, sondern dass auch der Einfluss der Umgebung, die typischerweise hochgradig inhomogen ist, einen entscheidenden Einfluss hat. Es wird gezeigt, dass analog zur Berücksichtigung der Polarisierbarkeit durch eine Molekularfeldnäherung in unpolarisierbaren MM Kraftfeldern die Effekte der Feldinhomogenität in PMM Kraftfeldern zumindest im Mittel berücksichtigt werden müssen. Ferner wird gezeigt werden, dass Veränderungen der Geometrie für die Beschreibung der elektrostatischen Eigenschaften nicht explizit berücksichtigt werden müssen, sondern durch eine Modifikation der Polarisierbarkeit – im Fall von Wasser verschwindet diese Modifikation – beschrieben werden können.

## 1.2 Verifikation von MM-MD Resultaten

Der zweite Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, wie die mittels der virtuellen Realität der MD Simulation gewonnenen Erkenntnisse verifiziert werden können. Für statische Proteinstrukturen bilden Röntgenkristallographie und NMR Messungen die experimentelle Referenz. Solche Daten sind aber nicht immer verfügbar, insbesondere dann nicht, wenn schnelle Vorgänge aufgeklärt werden sollen. Eine experimentelle Methode, die dann zum Einsatz kommen kann, ist die Infrarotspektroskopie. Diese nicht invasive Methode misst Schwingungsspektren von Molekülen, die hoch sensitiv bezüglich der Struktur der schwingenden Molekülsegmente und ihrer Umgebung sind. Deshalb bilden IR Daten eine gute Referenz, um die Aussagen von theoretischen Beschreibungen schneller Prozesse zu überprüfen.

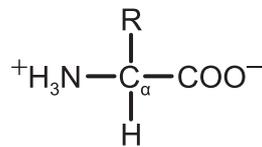
Um zu verstehen, wie Infrarotspektren von Proteinen zustande kommen und welche Information in ihnen enthalten ist, folgt nun eine kurze Einführung in den Aufbau von Proteinen. Nachfolgend wird erörtert, auf welche Weise Schwingungsspektren gemessen und wie sie berechnet werden können. Die Schwierigkeiten, die hier im

speziellen bei Proteinen auftreten und zur Notwendigkeit eines neuen Typus von MM-Kraftfeldern führen, sind der Schwerpunkt des letzten Unterabschnitts.

## 1.2.1 Aufbau und Struktur von Proteinen

Proteine sind Makromoleküle, die aus etwa 50 bis 1000 linear verketteten Monomeren, den proteinogenen Aminosäuren,<sup>1</sup> aufgebaut sind.

### Aminosäuren



**Abbildung 1.5:** Strukturformel einer  $\alpha$ -Aminosäure in zwitterionischer Form.

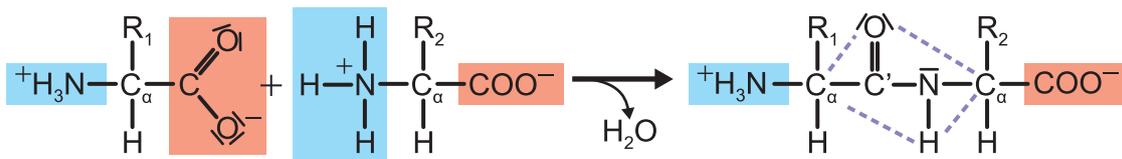
Abbildung 1.5 zeigt eine  $\alpha$ -Aminosäure als Zwitterion, d. h. in der Form, in welcher sie überwiegend in wässriger Lösung vorliegt. Die Aminosäure besteht aus einer Basengruppe ( $\text{NH}_3^+$ , rechts) und einer Säuregruppe ( $\text{COO}^-$ , links), die an ein zentrales Kohlenstoffatom ( $\text{C}_\alpha$ ) gebunden sind. Die beiden anderen Substituenten sind ein Wasserstoffatom (H) und der Aminosäurerest (R), durch den sich die Aminosäuren unterscheiden. Aufgrund der vier unterschiedlichen Substituenten am  $\text{C}_\alpha$ -Atom sind Aminosäuren chirale Moleküle,<sup>2</sup> die in jeweils zwei Enantiomeren, den L- und D-Aminosäuren auftreten. Proteinogen sind dabei allerdings nur die L-Enantiomere [118].

Im menschlichen Organismus treten 20 verschiedene proteinogene Aminosäuren auf, deren Reste ein weites Spektrum von organischen Verbindungen abdecken. Als einfachster Rest tritt ein Wasserstoffatom bei der Aminosäure Glycin auf. Das Alanin besitzt lediglich eine Methylgruppe als Rest. Andere Aminosäuren sind durch Alkohole (Serin, Threonin), schwefelhaltige Verbindungen (Cystein, Methionin) oder Aromaten (Phenylalanin, Tryptophan, Tyrosin) als Restgruppen charakterisiert [118]. Während die meisten Restgruppen apolar oder dipolar sind, treten manche Aminosäuren in wässriger Lösung (pH=7) auch geladen auf. Hierbei liegen die Aminosäuren Asparaginsäure und Glutaminsäure als Anionen, die Aminosäuren Lysin und Arginin als Kationen vor. Histidin schließlich liegt, abhängig von seiner lokalen Umgebung, als Kation oder ungeladen vor [118].

---

<sup>1</sup> An der Proteinsynthese sind mit Ausnahme des Prolins nur  $\alpha$ -Aminosäuren beteiligt, bei welchen die Aminogruppe am sekundären Kohlenstoffatom gebunden ist. Die große Zahl weiterer biologisch aktiver Aminosäuren sind für die vorliegende Arbeit nicht von Interesse.

<sup>2</sup> Als einzige Ausnahme ist das Glycin mit seinem Wasserstoff Rest nicht chiral.

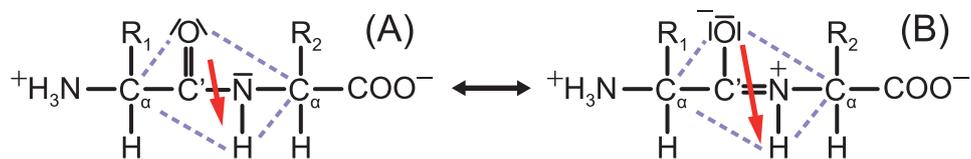


**Abbildung 1.6:** Bildung einer Peptidgruppe (gestrichelt) durch die Kondensation zweier Aminosäuren. Durch Verlängerung dieses Motivs an der  $\text{COO}^-$  Gruppe (rot hinterlegt) wird das Rückgrat des Proteins ausgebildet.

## Peptidbindung

Bei der Proteinsynthese werden die Aminosäuren im Ribosom entsprechend des genetischen Bauplans aneinander gereiht.<sup>1</sup> Das Ribosom sorgt dabei für die Auswahl der korrekten Aminosäuren [120, 121] und katalysiert die Bildung von Peptidbindungen zwischen den einzelnen Aminosäuren [122–124].

Abbildung 1.6 stellt die Polymerisierungsreaktion zweier Aminosäuren zu einem Dipeptid dar. Das Kohlenstoffatom der deprotonierten Carboxylgruppe (rot) einer Aminosäure bildet mit dem Stickstoffatom der protonierten Aminogruppe (blau) der vorangehenden Aminosäure unter Abspaltung eines Wassermoleküls eine Peptidbindung aus [125].



**Abbildung 1.7:** Mesomere Grenzstrukturen eines Dipeptids. Das planare Peptidplättchen (gestrichelt) besitzt ein starkes Dipolmoment (roter Pfeil).

Abbildung 1.7 zeigt zwei mesomere Grenzstrukturen des über die Atome O, C' und N delokalisierten  $\pi$ -Elektronensystems der resultierenden Peptidgruppe (auch als Amidgruppe bezeichnet, gestrichelt). Die elektronische Wellenfunktion  $\Psi$  der Peptidgruppe kann als eine Linearkombination

$$\Psi = c_A \Psi_A + c_B \Psi_B \quad (1.7)$$

der Wellenfunktion  $\Psi_A$ , die mit der linken (A), und der Wellenfunktion  $\Psi_B$ , die mit der rechten (B) elektronischen Struktur in Abb. 1.7 assoziiert ist, formuliert werden. Die  $\text{C}'=\text{N}$  Doppelbindung, die sich in der rechten (B) Grenzstruktur ausbildet und

<sup>1</sup> Der genetische Code, der in Form von dreier Gruppen aus Desoxyribonucleinsäuren, den so genannten Codons, als Erbgut vorliegt, wird im Zellkern im Rahmen der Transkription auf die Boten Ribonucleinsäure (engl. *messenger ribonucleic acid*, mRNA) kopiert, die dann als Vorlage für die Proteinsynthese dienen kann [119].

die mit der  $sp^2$ -Hybridisierung der  $C'$ - und N-Atome einhergeht, ist torsionsstabil. Als Folge ist die gesamte Peptidgruppe (gestrichelt) planar [126] – weshalb sie auch als Peptidplättchen bezeichnet wird.

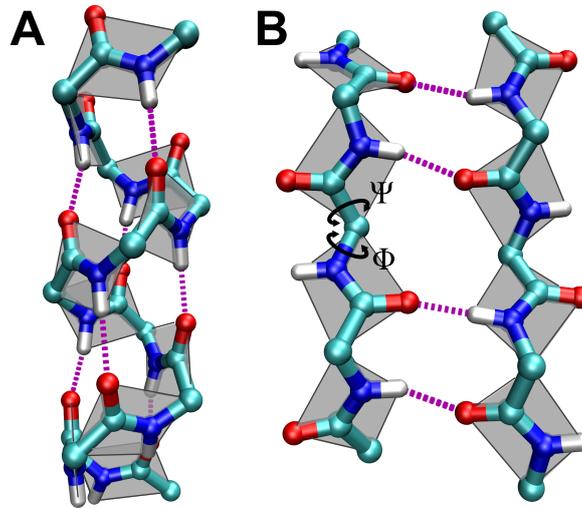
Da die Konstituenten der Peptidbindung (O,  $C'$ , N und H) starke Elektronegativitätsunterschiede aufweisen, ist die Peptidgruppe stark polar (das Dipolmoment ist in Abb. 1.7 als roter Pfeil dargestellt). Zusätzlich wird ihr Dipolmoment durch die Ladungsverschiebung, die mit der rechten Grenzstruktur einhergeht, deutlich verstärkt. Dieser Effekt kann in polaren Lösungsmitteln beobachtet werden. Dort induziert das Dipolmoment der Peptidgruppe ein Reaktionsfeld, welches die rechte Grenzstruktur energetisch begünstigt [14], sodass diese einen stärkeren Anteil zur Gesamtwellenfunktion (1.7) beiträgt. Wie im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Rechnungen zeigten, steigt das Dipolmoment der Peptidgruppe von etwa 4 Debye im Vakuum auf etwa 7 Debye in wässriger Lösung an.

### Sekundärstrukturelemente

Als Resultat der Verknüpfung vieler Aminosäuren im Ribosom, der so genannten Translation der Boten-Ribonucleinsäure zum Protein, entsteht eine lange, zunächst ungefaltete Aminosäurekette [127]. Die Abfolge der Aminosäuren wird dabei als Primärstruktur bezeichnet und determiniert sowohl die nachfolgende Faltung zum funktionsfähigen Protein als auch, sofern nötig, posttranslationale Modifikationen, wie die Ausbildung von Schwefelbrücken oder das Anbringen von Lipidankern. Der Prozess der Faltung der Aminosäurekette in die dreidimensionale Struktur des Proteins ist noch nicht vollständig verstanden [128, 129] und ist deshalb im Fokus erheblicher Forschungsbemühungen. Als sicher gilt jedoch, dass als Zwischenschritt zuerst lokale Strukturen, so genannte Sekundärstrukturelemente, gebildet werden [130].

Abbildung 1.8 zeigt die zwei häufigsten Sekundärstrukturelemente, die  $\alpha$ -Helix (A) und das  $\beta$ -Faltblatt (B), die bereits 1951 von Pauling *et al.* vorgeschlagen wurden [126, 131, 132]. Bei der  $\alpha$ -Helix verläuft das Proteinerückgrat spiralförmig. Die  $n$ -te Aminosäure bildet dabei jeweils eine Wasserstoffbrücke zur  $(n + 4)$ -ten Aminosäure aus (violette gepunktete Linien in Abb. 1.8A), welche die Struktur stabilisieren.

Auch das  $\beta$ -Faltblatt, das aus zwei oder mehr parallel verlaufenden Strängen des Peptidrückgrats besteht, wird durch Wasserstoffbrücken stabilisiert, die sich hier zwischen den Strängen ausbilden (vergleiche Abb. 1.8B). Ein typisches  $\beta$ -Motiv sind  $\beta$ -Haarnadel Strukturen, bei denen der Peptidstrang eine Wendung macht (d. h. dass zum Beispiel die untersten Peptidplättchen in Abbildung 1.8B über wenige Residuen miteinander verbunden sind) und so ein antiparalleles Faltblatt ausbildet [125]. Dieses Motiv ist in den einfachsten Molekülen, die ein  $\beta$ -Faltblatt ausbilden und die später noch genauer erörtert werden, den so genannten  $\beta$ -Haarnadel Peptiden realisiert.



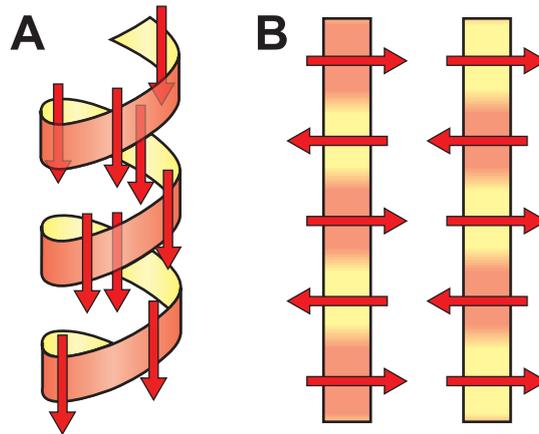
**Abbildung 1.8:** Zwei Sekundärstrukturelemente: A:  $\alpha$ -Helix; B: antiparalleles  $\beta$ -Faltblatt. Die Farben kodieren die Atomtypen: weiß: Wasserstoff; cyan: Kohlenstoff; blau: Stickstoff; rot: Sauerstoff. Graue Flächen markieren steife Peptidplättchen. Gepunktete violette Linien zeigen Wasserstoffbrücken zwischen Peptidgruppen an. Für das  $\beta$ -Faltblatt (B) sind exemplarisch zwei Winkel  $\Phi$  und  $\Psi$  eingezeichnet, welche die Stellung zweier benachbarter Peptidplättchen charakterisieren.

In Abbildung 1.9 zeigt schematisch die beiden Sekundärstrukturelemente. Die roten Pfeile repräsentieren die Dipolmomente der einzelnen Peptidgruppen. Sie sind im Fall der  $\alpha$ -Helix alle parallel ausgerichtet, sodass sich ein makroskopisches Dipolmoment ausbildet. Im Fall des  $\beta$ -Faltblatt dagegen sind benachbarte Dipolmomente antiparallel ausgerichtet – ebenfalls eine energetisch günstige Orientierung – und das Gesamtdipolmoment verschwindet.

Das dritte wichtige Sekundärstrukturelement sind Schleifen-Strukturen, d. h. Bereiche, in welchen das Proteinerückgrat scheinbar zufällige Windungen aufweist. Solche Bereiche sind flexibel und können unter anderem als Scharniere zwischen den rigiden Sekundärstrukturelementen fungieren [28].

Ein Protein ist typischerweise aus einer Folge von mehreren dieser Sekundärstrukturelemente aufgebaut, die sich im Rahmen der Proteinfaltung in einer definierten dreidimensionalen Struktur, der so genannten Tertiärstruktur anordnen.<sup>1</sup> Tertiärstrukturen sind oft durch Wechselwirkungen zwischen den Restgruppen untereinander oder mit der Umgebung stabilisiert. In der natürlichen Umgebung der Proteine, zumeist dem Wasser, bildet sich dabei typischerweise ein apolarer Kern aus, während geladene und polare Reste zum Lösungsmittel orientiert sind [125]. Direkt stabilisierend wirken sich außerdem kovalente Schwefelbrücken zwischen zwei Cysteinen und

<sup>1</sup> Die Faltung wird dabei durch Hilfsproteine, so genannte Chaperone, unterstützt, die unter anderem die Aggregation der neu gebildeten Aminosäurekette verhindern.[129, 133, 134]



**Abbildung 1.9:** Schematische Darstellung der Sekundärstrukturelemente. A:  $\alpha$ -Helix; B: antiparalleles  $\beta$ -Faltblatt. Das gelb/rote Band repräsentiert das Proteinerückgrat. Die Farben kodieren dabei die beiden Seiten der Peptidplättchen. Rote Pfeile zeigen die Dipolmomente der Peptidgruppen an.

Salzbrücken zwischen den Resten von geladenen Aminosäuren aus. Viele Proteine koordinieren sich ferner in Proteinkomplexen, zum Beispiel als Dimere, die dann als Quartärstrukturen bezeichnet werden.

Proteine können, während sie ihre physiologische Funktion wahrnehmen, Konformationsänderungen auf all diesen Hierarchieebenen ausführen. Solche Konformationsänderungen und die intermediaten Strukturen sind für die Röntgenkristallographie und die NMR-Spektroskopie nicht zugänglich und müssen daher mit schnellen spektroskopischen Methoden untersucht werden.

## 1.2.2 Infrarotspektroskopie

Die IR Spektroskopie, speziell die mittlere IR Spektroskopie, misst die Absorption eines Moleküls im Frequenzbereich von  $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ , in welchem durch Kopplung des mit einer Schwingungsmode assoziierten Übergangsdipolmoments an den elektromagnetischen Feldvektor, Übergänge zwischen Schwingungszuständen des Moleküls angeregt werden. Damit lässt die IR-Spektroskopie Rückschlüsse auf die Bindungsstruktur innerhalb eines Moleküls zu. Ein großer Vorteil der IR-Spektroskopie gegenüber anderen struktursensitiven Methoden ist die hohe verfügbare Zeitauflösung.

Um den Zeitverlauf von Reaktionen zu verfolgen, kann in einem optischen *pump-probe*-Experiment eine Reaktion, zum Beispiel in einem lichtschtbaren Peptid [135, 136], mit einem optischen Anregimpuls ausgelöst werden. Ein zeitverzögerter IR-Abtastimpuls detektiert dann das Schwingungsspektrum. So können in Peptiden Dynamiken gemessen werden, die auf einer Zeitskala von einigen hundert Femtosekunden

Zuordnung	AI Bande [cm <sup>-1</sup> ]	AIII Bande [cm <sup>-1</sup> ]
$\alpha$ -Helix	1648–1657	1250–1300
$\beta$ -Faltblatt	1620–1641 1671–1695	1220–1240
Schleifen	1662–1686	
Ungeordnet	1641–1657	1240–1270

**Tabelle 1.1:** Amid-I- [139, 140] und Amid-III-Banden [141–144] für verschiedene Sekundärstrukturelemente.

den oder langsamer ablaufen. Damit ist die Spektroskopie in der Lage, ultraschnelle Prozesse in Proteinen aufzuklären.

Bei Proteinen dient die IR-Spektroskopie vor allem zur Analyse des Peptidrückgrats, d. h. der Schwingungen innerhalb der Amidgruppen (vgl. Abschnitt 1.2.1). Hier sind besonders drei Frequenzbereiche von Interesse, die als Amid-I- (AI, 1600–1700 cm<sup>-1</sup>), Amid-II- (AII, 1400–1600 cm<sup>-1</sup>) und Amid-III-Banden (AIII, 1220–1320 cm<sup>-1</sup>) bezeichnet werden. Die Analyse dieser Amidbanden erlaubt die Unterscheidung von  $\alpha$ -Helices,  $\beta$ -Faltblättern [137, 138] sowie von Schleifenstrukturen, die sich alle durch unterschiedliche Schwingungsfrequenzen unterscheiden [139].

Für die Amid-I- und Amid-III-Schwingungen zeigt Tabelle 1.1 die unterschiedlichen Bandenlagen.<sup>1</sup> Bei der AI-Bande beobachten wir sekundärstrukturabhängige Verschiebungen um etwa 70 Wellenzahlen. Dabei liegen  $\alpha$ -Helix und ungeordnete Strukturen im gleichen Bereich. Für  $\beta$ -Faltblatt Strukturen spaltet die AI-Mode in eine intensive Bande bei 1630 cm<sup>-1</sup> und eine schwache Bande bei 1680 cm<sup>-1</sup> auf. Schleifenstrukturen schließlich liegen in einem Frequenzbereich, der sich mit der höheren der beiden  $\beta$ -Faltblatt Banden deckt. Die Messung von AI-Spektren wird dadurch erschwert, dass Wasser (H<sub>2</sub>O) im Bereich 1640–1650 cm<sup>-1</sup>, dem Wellenlängenbereich der AI-Bande, eine starke Absorptionsbande aufweist [146], weshalb von Experimentatoren oft schweres Wasser (D<sub>2</sub>O) als Lösungsmittel eingesetzt wird [147].

Bei den Amid-III-Banden beobachten wir Verschiebungen um 80 Wellenzahlen und eine klare Trennung der Bandenlagen, wobei  $\alpha$ -Helices mit den höchsten und  $\beta$ -Faltblatt Strukturen den niedrigsten Frequenzen assoziiert sind. Ungefaltete Strukturen absorbieren im Zwischenbereich. Die AIII-Bande wird allerdings erst in jüngerer Zeit zur Strukturaufklärung herangezogen, da sie eine deutlich niedrigere Intensität

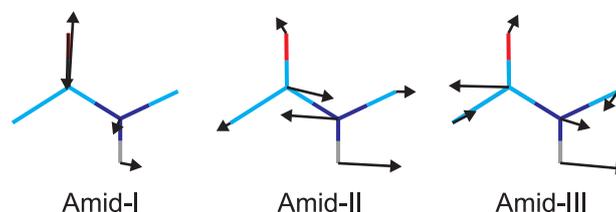
<sup>1</sup> Die Amid-II-Bande wird typischerweise nicht für die Strukturbestimmung herangezogen und ist deshalb nicht in der Tabelle gelistet. Sie kann jedoch in Kombination mit der AI-Bande herangezogen werden, um die Strukturvorhersagen zu verbessern [145].

als die AI Bande aufweist.

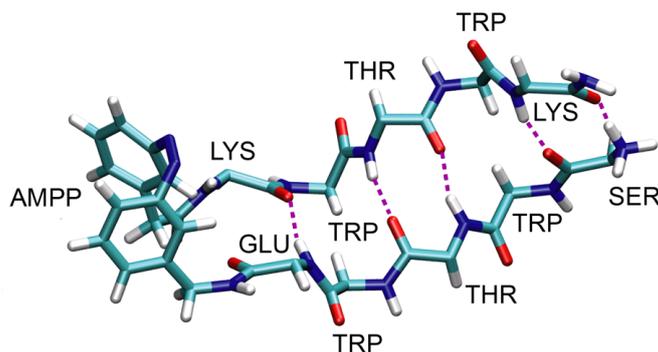
Abbildung 1.10 zeigt die Modenzusammensetzung für die AI-, AII- und AIII-Bande anhand eines einzelnen Peptidplättchens. Alle Moden liegen in der Ebene der Peptidbindung und werden deshalb als *in-plane* Moden bezeichnet. Die *out-of-plane* Moden liegen deutlich tiefer in einem Frequenzbereich unterhalb von  $800\text{ cm}^{-1}$ . Die AI Mode beschreibt dabei eine nahezu reine Streckung der C'=O-Bindung, während die AII- und AIII-Moden Linearkombinationen von C'-N-Streck- und C'-N-H-Biegemoden sind.

In Proteinen sind die Schwingungsmoden der einzelnen Amidgruppen über die Wechselwirkungen ihrer Dipolmomente gekoppelt. Die Orientierung und der Abstand der Dipolmomente bestimmen die Stärke der Kopplung; die entstehenden, über das Peptidrückgrat delokalisierten Schwingungsmoden sind durch spezifische Bandenlagen charakterisiert. Der Lage der Schwingungen einer einzelnen Amidgruppe liegt dabei die Gesamtwellenfunktion (1.7) des Peptidplättchens in Abb. 1.7 zugrunde. Durch elektrische Felder, wie sie zum Beispiel von anderen Amidgruppen, polaren und geladenen Seitenketten sowie dem Lösungsmittel generiert werden, ändern sich die Koeffizienten  $c_A$  und  $c_B$  in Gleichung (1.7), d. h. eine der beiden mesomeren Grenzstrukturen trägt dann stärker zur Elektronenkonfiguration bei. Als Folge nimmt der Doppelbindungscharakter der C'=O und C'=N Bindungen ab oder zu; die intrinsischen Schwingungsfrequenzen der einzelnen Peptidplättchen ändern sich; damit ändern sich auch die Bandenlagen und die Kopplungen mit den Schwingungsmoden anderer Peptidgruppen.

Da die Amidbanden also sowohl sensitiv bezüglich der relativen Orientierung der Peptidplättchen als auch bezüglich des dort wirkenden lokalen elektrischen Feldes sind, eignen sie sich als Sonde für die Proteinstruktur. Allerdings ist die Interpretation der Amidbanden äußerst komplex, da in Proteinen typischerweise über 100 Peptidplättchen zu den Amidmoden beitragen und so die Schwingungen individueller Peptidgruppen nur schwer identifiziert werden können. Um einzelne, funktionelle Bereiche im Protein zu ermitteln, wird deshalb auf die Differenzspektroskopie zurückgegriffen. Hier werden die Spektren zweier unterschiedlicher Zustände des Moleküls, wie sie zum Beispiel bei den oben angesprochenen schnellen photoinduzierten Reak-



**Abbildung 1.10:** Schematische Darstellung der AI–AIII-Moden für eine Peptidgruppe. Die Atome der Peptidgruppe sind farblich kodiert wie in Abbildung 1.8



**Abbildung 1.11:** Lichtschaltbares  $\beta$ -Haarnadel Peptid. Links ist der Azobenzene-Lichtschalter (AMPP) zu sehen, der die (Ent-)Faltung der  $\beta$ -Faltblatt Struktur (rechts) steuert. Entnommen aus Referenz [149].

tionen auftreten, von einander subtrahiert. Auf diese Weise reduziert man das Spektrum auf die Bereiche, die sich zwischen Edukt und Photoprodukt unterscheiden. Es liefern also nur noch diejenigen Peptidgruppen einen Beitrag zum Differenzspektrum, deren Umgebung sich während der Reaktion ändert [148].

Ein Beispiel für die Differenzspektroskopie gibt Literaturzitat [136]. In dem dort geschilderten Experiment wurde die Entfaltung des  $\beta$ -Faltblattmotivs in dem in Abbildung 1.11 gezeigten  $\beta$ -Haarnadelpeptid untersucht. Als Folge der Isomerisierung des Azobenzene-Farbstoffes (AMPP) wurde das Ausbleichen einer Bande bei  $1645\text{ cm}^{-1}$  und das Entstehen einer Bande bei  $1660\text{ cm}^{-1}$  beobachtet. Aus einem solchen IR-Spektrum können zwar Schlüsse auf die Existenz Strukturänderungen in einem Molekül gezogen werden, für detaillierte strukturelle Aussagen werden allerdings Modelle für die Struktur und Methoden zu theoretischen Berechnung von Bandenpositionen und Bandenverschiebungen benötigt. Ich werde weiter unten in diesem Zusammenhang noch einmal auf das Beispiel aus Abbildung 1.11 zurück kommen.

### 1.2.3 Berechnung von Schwingungsspektren

Das verbreitetste Verfahren zur theoretischen Berechnung von Infrarotspektren ist die Normalmodenanalyse [150, 151] und ihre Adaptation für gelöste Moleküle, die instantane Normalmodenanalyse (INMA) [152–156].

Bei beiden Verfahren wird mittels eines Gradientenabstiegs das nächste lokale Minimum der Gesamtenergie bezüglich der (Ausgangs-) Geometrie ermittelt. Durch finite Differenzen der Kräfte, die entweder mittels DFT oder einem MM-Kraftfeld berechnet werden, kann die zweite Ableitung der Energie nach den Atom-Koordinaten, die so genannte Hesse-Matrix  $\mathbf{K}$ , am Ort des lokalen Minimums berechnet werden. Durch Anwendung der Theorie der kleinen Schwingungen [151], d. h. durch Gewich-

tion der Hesse-Matrix  $\mathbf{K}$  mit der Massenmatrix  $\mathbf{M}$  und Diagonalisierung, können die Eigenmoden (als Eigenvektoren) und Schwingungsfrequenzen (als Eigenwerte) in harmonischer Näherung bestimmt werden. Als Resultat erhält man  $3N - 6$  Eigenmoden und Frequenzen für ein Molekül mit  $N$  Atomen.<sup>1</sup> Die Normalmodenanalyse ermöglicht es, aus einer einmal berechneten Hesse-Matrix die Spektren aller Isotopomere eines Moleküls, durch Verwendung unterschiedlicher Massenmatrizen  $\mathbf{M}$ , zu berechnen. Sie ist damit gut geeignet, um Isotopeneffekte in Infrarotspektren vorherzusagen.

Für gelöste Moleküle bietet ein einzelnes lokales Minimum keine ausreichende Statistik über das Ensemble von möglichen Umgebungen, weshalb für die INMA eine Reihe von verschiedenen Konfigurationen, sowohl des Lösungsmittels, als auch – wenn möglich – des gelösten Moleküls herangezogen werden. Dieses Ensemble von Strukturen kann beispielsweise aus einer MD-Trajektorie des Moleküls im Lösungsmittel gewonnen werden. Beim INMA Ansatz wird ferner die Konfiguration des Lösungsmittels für das Auffinden des lokalen Minimums bezüglich der Geometrie des gelösten Moleküls fixiert [155], um beispielsweise eine Umordnung von Wasser in Eis zu verhindern.

Das INMA Protokoll [152–156] erlaubt es, durch eine geeignete Wahl von Schnappschüssen aus einer MD-Trajektorie, auch die Zeitentwicklung eines IR-Spektrums zu verfolgen und Spektren mit definierten Strukturen zu assoziieren. Als Nachteil der INMA Methode muss genannt werden, dass dynamische Effekte auf das Spektrum, z. B. das *motional narrowing* [157, 158], nicht berücksichtigt werden, weshalb Bandbreiten nicht korrekt wiedergegeben werden, und dass die Vorhersagekraft des Spektrums von der Anzahl der Schnappschüsse abhängt, d. h. von einer hinreichend guten Statistik.

Eine zweite häufig verwendete Methode ist die Fouriertransformation der Zeitkorrelationsfunktion [engl. *fourier transform of the time correlation function*, (FTTCF)] [155, 156], die das IR-Spektrum aus der Zeitentwicklung des Dipolmoments  $\boldsymbol{\mu}(t)$  berechnet. Der größte Vorteil der Methode ist dabei die korrekte Wiedergabe der Bandbreiten. Allerdings ist die spektrale Auflösung durch die Länge der Trajektorie beschränkt, sodass die Methode kaum Zeitauflösung, die bestenfalls mittels einer Aufteilung der Trajektorie in Teilabschnitte gewonnen werden kann, zulässt. Hier sei angemerkt, dass ein bislang vorhandenes Problem, Schwingungsbanden mit Schwingungsmoden aus MD-Simulationen zu identifizieren – bislang waren INMA Spektren zur Zuweisung der Moden nötig – kürzlich gelöst wurde [159–161]. So ermöglicht es das in den Literaturzitate[n] [160, 161] vorgestellte Verfahren, mit Hilfe der MD-Trajektorie der Kernkonfiguration  $\mathcal{T}$ , die den Banden zugehörigen Schwingungsmoden zu identifizieren.

---

<sup>1</sup> Die verbleibenden 6 Moden teilen sich in 3 Rotations- und 3 Translationsmoden auf, welchen keine Frequenz zugewiesen wird.

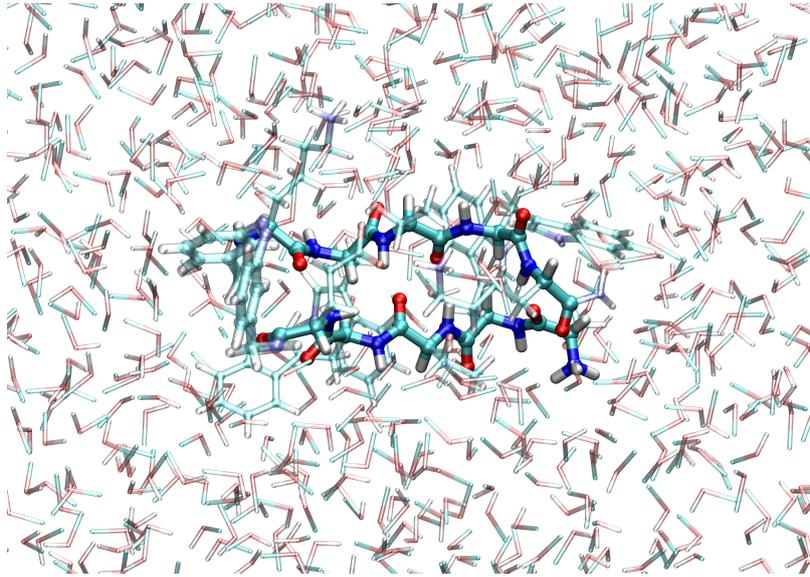
## 1.2.4 DFT/MM Hybridmethoden

Klassische MM-Methoden sind nur sehr bedingt in der Lage ein Schwingungsspektrum vorherzusagen. Der Grund dafür ist, dass die Antwortfunktion des Systems durch die Parametrisierung des Kraftfelds vorgegeben wird. So schwingt eine C=O Mode in einem MM-Kraftfeld immer mit der gleichen Frequenz, welche nur wenig durch die elektrostatische oder van-der-Waals Wechselwirkung der MM-Atome mit der Umgebung beeinflusst wird (siehe dazu Abbildung 11 in Literaturzitat [14]; Abschnitt 3.1). Tatsächlich verschieben sich aber die Eigenfrequenzen von Schwingungen in Peptidplättchen aufgrund der oben diskutierten Resonanzstrukturen aber deutlich durch äußere Felder.

Deshalb wird eine detailliertere Beschreibung, wie zum Beispiel die DFT, benötigt, um Schwingungsspektren genau zu berechnen. Wie bereits geschildert, sind DFT-Methoden aber für biologische Fragestellungen aufgrund der Größe der zu simulierenden Systeme nicht geeignet. Wenn lediglich ein räumlich stark begrenzter Ausschnitt eines Simulationssystems von besonderem Interesse ist, der Rest aber nötig ist, um die Umgebung annähernd korrekt zu modellieren, so bietet es sich an, die Beschreibung des Simulationssystems entsprechend aufzuteilen [162].

In einem solchen Fall kann ein Hybrid Verfahren eingesetzt werden, bei dem die aktive oder interessante Region unter hoher Genauigkeit mit der DFT beschrieben wird (das so genannte QM-Fragment), während die Umgebung (MM-Fragment) mit der MM oder idealerweise PMM (ausreichend gut und rechenzeit-effizient) genähert wird. Solche Verfahren importieren dann die elektrischen Potentiale, die durch das MM-Fragment am Ort des QM-Fragments erzeugt werden, in die DFT-Hamiltonfunktion und berechnen anschließend die Kräfte des QM-Fragments auf das MM-Fragment. Dabei müssen Kräfte auf Atome aus einem der beiden Fragmente, die kovalent an das andere Fragment gebunden sind, gesondert gehandhabt werden. Lösungsansätze, wie in einem solchen Fall vorgegangen werden muss, liefert zum Beispiel das *scaled position link atom method*-Verfahren [163].

Abbildung 1.12 zeigt einen Ausschnitt aus einem solchen DFT/MM Hybridssystem. Hier wurde das Amidspektrum des in Abschnitt 1.2.2 vorgestellten und in Abb. 1.11 gezeichneten,  $\beta$ -Haarnadel Moleküls in Lösung berechnet. Als DFT-Fragment wurden die Atome des Peptidrückgrats gewählt und sein Infrarotspektrum mit der in Abschnitt 1.2.3 vorgestellten instantanen Normalmodenanalyse berechnet. Die Seitengruppen, der Lichtschalter AMPP und das Lösungsmittel wurden molekülmechanisch beschrieben. Mit diesem Simulationssystem konnte gezeigt werden [136], dass die Intensitätsverschiebung die in der Amid-I-Bande des  $\beta$ -Haarnadelpeptids bei Isomerisierung des Farbstoffes beobachtet wurde, auf das Brechen von intramolekularen und die Bildung von intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen zurückgeführt werden kann. Leider liegt die Berechnung solcher Spektren nahe am Limit dessen, was derzeit mittels DFT berechnet werden kann, sodass nur sehr wenige Strukturen analysiert werden konnten und den Aussagen damit nur wenig Statistik zugrunde



**Abbildung 1.12:** DFT/MM-Hybridsystem. Das QM-Fragment (deckend) umfasst die beiden Rückgratstränge des in Abschnitt 1.2.2 vorgestellten  $\beta$ -Haarnadel Moleküls. Das MM-Fragment (transparent) besteht aus den Aminosäureseitengruppen, dem Lichtschalter und dem Lösungsmittel (hier Methanol). Die Farbkodierung ist analog zu Abbildung 1.8; die Methylwasserstoffe des Methanols sind, im verwendeten Modell, mit dem Kohlenstoff zu einem so genannten *united atom* zusammengefasst und deshalb nicht sichtbar.

lag. Für das oben abgebildete  $\beta$ -Haarnadelpeptid waren zur Berechnung der Schwingungsspektren von zwei geschlossenen und zwei offenen Strukturen 24 Prozessoren mehrere Monate ausgelastet.

Es stellt sich damit die Frage, ob die vorgestellten konventionellen MM Methoden (Abschnitt 1.1) derart erweitert werden können, dass die hier mittels aufwändiger DFT Methoden charakterisierten Eigenschaften wiedergegeben werden können.

## 1.2.5 PMM Konzepte für gebundene Wechselwirkungen

Wie in Abschnitt 1.1.3 angedeutet wurde, hat die durch Polarisierungseffekte beeinflussbare Elektronenkonfiguration nicht nur Einfluss auf die elektrostatische Wechselwirkung eines Moleküls mit seiner Umgebung. Durch eine Verschiebung der Elektronendichte ändert sich vielmehr darüberhinaus auch das Bindungsverhalten zwischen den Atomen. Abbildung 1.7 in Abschnitt 1.2.1 zeigt die mesomeren Grenzstrukturen eines Peptidplättchens. Durch ein externes elektrisches Feld wird eine der beiden Strukturen energetisch bevorzugt und der Bindungscharakter ändert sich. So hat bei der rechten Grenzstruktur die  $C=O$  Bindung, deren Auslenkung die AI-Mode do-

miniert, einen Einfachbindungscharakter und dementsprechend ist die AI-Frequenz rotverschoben gegenüber der linken Grenzstruktur.

Obwohl die resultierenden Effekte in der konventionellen MM-MD vollständig ignoriert werden, kann die Konformationslandschaft von Proteinen dennoch (im Rahmen der sonstigen Parametrisierung) relativ gut wiedergegeben werden. Die Ursache dafür ist, dass die Proteinstruktur hauptsächlich durch die Konformation des Proteinerückgrats bestimmt wird und hier eine langsame Dynamik dominiert. Diese langsame Dynamik ist nur abhängig von der Parametrisierung der Torsionen zwischen den Peptidplättchen<sup>1</sup> und unsensitiv bezüglich der Details der Atomschwingungen, da die Atomschwingungen die Dimension der Peptidplättchen im Wesentlichen unverändert lassen und die langsamen Konformationsänderungen des Peptidrückgrats nur die zeitgemittelte Struktur des Peptidplättchens berücksichtigen. Ferner sind Molekülschwingungen, speziell Bindungsschwingungen, aufgrund ihrer hohen Anregungsenergien bei Raumtemperatur im quantenmechanischen Grundzustand.

Für die Berechnung von Schwingungsspektren sind jedoch genau die Details der Atombindungen ausschlaggebend und deren Reaktion auf äußere elektrische Felder muss korrekt modelliert werden, um Schwingungsspektren mittels PMM Methoden zu berechnen.

Einen ersten Ansatz die Feldabhängigkeit zu nutzen, um IR Spektren zu berechnen, bilden moderne *transition dipole coupling*- (TDC)-Verfahren [165–169]. In Abschnitt 1.2.2 wurde angedeutet, dass die (delokalisierten) Amid-Banden durch die Kopplung der Schwingungen der Peptidgruppen (über ihre Dipolmomente) zustande kommen. Diese Kopplungen versucht das TDC Verfahren zur Bestimmung der Amid-I-Bande in IR-Spektren zu nutzen [170–173]. In den neuesten Implementierungen dieses Modells wird nun jeder C=O Mode im Peptidrückgrat eine Schwingungsfrequenz zugewiesen, die vom externen elektrischen Feld am Peptidplättchen abhängt [165–169]. Über entfernungs- und orientierungsabhängige Dipol–Dipol-Kopplungen können dann AI-Normalmoden, an denen weite Bereiche des Proteinerückgrats beteiligt sind, berechnet werden.

Hier stellt sich die Frage, wie weit eine reine Berücksichtigung der AI-Eigenfrequenz ausreicht, um ein Proteinspektrum korrekt zu modellieren. Es hat sich gezeigt, dass, um die AI-Mode vollständig richtig zu beschreiben, der spektrale Abstand zur AII- und AIII-Mode korrekt reproduziert werden muss [174]. Wie in Abschnitt 1.2.2 erörtert wurde, ist die korrekte Modellierung der AII- und AIII- auch deshalb von Interesse, da viele empirische Verfahren neben der AI-Mode auch diese Moden zur strukturellen Interpretation der Messdaten heranziehen. Die weiteren Moden, die mit der IR-Spektroskopie gemessen werden können, sind noch weniger verstanden

---

<sup>1</sup> Aus diesem Grund verwenden moderne MM Kraftfelder eine extrem spezialisierte Parametrisierung dieser Torsionen, die so genannte *correction map* (CMAP) [164]. Es hat sich aber gezeigt [54], dass die CMAP einen zu stark stabilisierenden Einfluss auf  $\alpha$ -helikale Proteine hat (vergleiche Abschnitt 1.1.2).

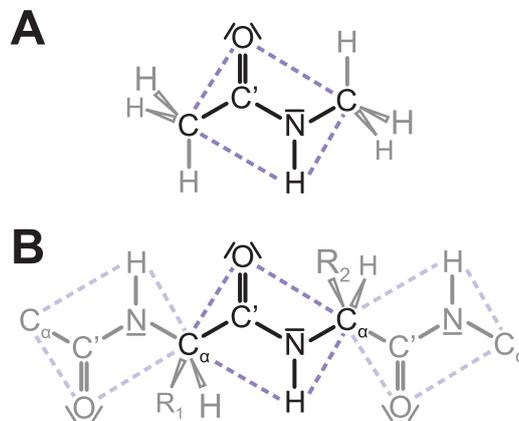
und können derzeit noch nicht zur Dekodierung der Messungen herangezogen werden.

Diese Schwierigkeiten könnten umgangen werden, wenn ein umfangreicheres PMM Kraftfeld nicht nur die Berechnung der AI-Frequenz, sondern aller Amidbanden erlaubt. In Abschnitt 3 wird die Erstellung eines solchen Kraftfelds diskutiert und ein Kraftfeld entwickelt, das die Schwingungsspektren einer einzelnen Peptidgruppe in polaren Umgebungen gut reproduziert. Ein solches PMM Kraftfeld formuliert die Parameter  $(k_l, q_l^0)$  der gebundenen Potentialterme [Gleichungen (1.4) und (1.5)] als Funktionen des elektrischen Feldes  $\mathbf{E}$ . Weiterhin muss die funktionale Form des Kraftfelds, wenn Schwingungsmoden und -frequenzen richtig beschrieben werden sollen, um Kopplungsterme [engl. *coupling terms* (CT)]

$$U_q^{\text{CT}}(\mathbf{R}) = \frac{1}{2} \sum_{l \neq m} k_{lm}^{\text{CT}} [q_l(\mathbf{R}) - q_l^0] [q_m(\mathbf{R}) - q_m^0] \quad (1.8)$$

zwischen den internen Freiheitsgraden erweitert werden.

Ein solches „spektroskopisches“ polarisierbares Kraftfeld wurde im Rahmen dieser Arbeit durch DFT/MM Rechnungen an einem Modellmolekül, dem N-Methylacetamid (NMA), implementiert, parametrisiert und durch nachfolgende PMM-MD Simulationen von NMA in verschiedenen Lösungsmitteln verifiziert.



**Abbildung 1.13:** Vergleich zwischen N-Methylacetamid (A) und einem Ausschnitt aus einem Peptidrückgrat (B). Die gemeinsamen Atome sind hervorgehoben.

Wie Abbildung 1.13 zeigt, ist der Aufbau des NMA-Moleküls äquivalent zum Aufbau einer Peptidgruppe, weshalb seine Verwendung als Minimalmodell für Peptide schon seit langem etabliert ist [138, 165, 166, 168, 175–179]. Seine Eignung als Referenzmolekül für ein spektroskopisches PMM-Kraftfeld liegt zum einen an den starken solvatochromen Effekten, die experimentell beobachtet werden können [174, 180, 181]. Sie sind auf die auf Polarisation des Amidkerns von NMA durch das Reaktionsfeld,

welches im Lösungsmittel durch das Dipolmoment des NMA-Moleküls hervorgerufen wird, zurückzuführen. So verschiebt sich beispielsweise die Amid-I-Bande vom Vakuumwert  $1730\text{ cm}^{-1}$  auf  $1625\text{ cm}^{-1}$  in wässriger Lösung [174, 180, 181]. Diese Frequenz liegt dann im Bereich der AI-Bande in Peptiden (vergleiche Tabelle 1.1). Zum anderen kann NMA mit der DFT [14, 138, 165] und anderen quantenmechanischen Verfahren wie Hartree–Fock [182] oder Møller–Plesset-Störungstheorie [183, 184] gut charakterisiert werden, sodass nicht nur experimentelle, sondern auch theoretische Referenzdaten zur Verfügung stehen.

Um schließlich die Spektren von Polypeptiden, wie dem in Abschnitt 1.2.4 betrachteten  $\beta$ -Haarnadel Peptid, berechnen zu können und damit eine Methode zur Verifizierung von PMM-MD Simulationen an Proteinen, mittels Vergleich zum Experiment, zur Hand zu haben, müssen noch einige weitere Effekte untersucht werden. Hier ist insbesondere die Fragestellung von Bedeutung, auf welche Weise sich die starke Inhomogenität des elektrischen Feldes (vergleiche Kapitel 2), die im Proteininneren vorherrscht, auf die Berechnung der polarisierbaren internen Freiheitsgrade auswirkt. Dieses Thema und weitere offene Fragen werden im abschließenden Kapitel und den Anhängen dieser Arbeit noch ausführlich diskutiert.

## 1.3 Aufbau und Gliederung der Arbeit

Dieses Dissertationsprojekt war zuerst in den Sonderforschungsbereich 533 zur Erforschung von Lichtinduzierter Dynamik von Biopolymeren und später in den Sonderforschungsbereich 749 zur Erforschung der Dynamik und Intermediate molekularer Transformationen, sowie in das DFG Projekt TA116/8–1 (Beschreibung der Amid-Schwingungsbanden von Polypeptiden: Weiterentwicklung und Validierung eines neuen Rechenverfahrens) eingebunden. Es hatte zum Ziel, Methoden zu entwickeln, um PMM Kraftfelder akkurat zu parametrisieren und Infrarot Spektren von Proteinen in nativer Umgebung, d. h. in flüssiger Phase, mittels MD Simulationen zu berechnen.

Zur Berechnung eines Protein Spektrums muss dessen Umgebung korrekt modelliert werden, wie im Abschnitt 1.1.3 dargestellt wurde. Hier ist eine korrekte Beschreibung des Wassers, insbesondere der Wassermoleküle in Proteinnähe und im Proteininneren, notwendig. Um die Eigenschaften dieser Wassermoleküle exakt zu beschreiben, ist eine Analyse auf der Ebene individueller Wassermoleküle notwendig. Dazu habe ich mich zunächst mit starren Wassermolekülen in flüssiger Phase befasst und diese eingehend mittels DFT/MM-Hybridmethoden analysiert. Anhand dieser Analyse konnte gezeigt werden, dass die experimentelle Gasphasen-Polarisierbarkeit  $\alpha_{\text{exp}}$ , welche von vielen Wassermolekülen eingesetzt wird, nur bedingt geeignet ist, die flüssige Phase zu beschreiben. Resultierend wurde ein Vorschlag erarbeitet, auf welche Weise die Polarisierbarkeit in der flüssigen Phase beschrieben werden sollte.

Nachfolgend habe ich ausgedehnte Rechnungen an flexiblen Wassermolekülen in wässriger Umgebung durchgeführt, um die Effekte der Geometrie auf die Elektrostatik zu identifizieren. Hier konnte ich zeigen, dass die explizite Berücksichtigung der internen Freiheitsgrade des Wassermoleküls nicht notwendig ist, um die elektrostatischen Eigenschaften einzelner Wassermoleküle korrekt wiederzugeben. Ferner zeigte sich, dass die Geometrieänderung, welche ein Wassermolekül beim Transfer in die flüssige Phase durchläuft, die Polarisierbarkeit des Wassermoleküls aufgrund zweier sich zufällig gegenseitig aufhebender Beiträge invariant lässt. Die Resultate dieser Arbeiten sind in den Artikeln [12] und [13] zusammengefasst, die das Kapitel 2 dieser Dissertation bilden.

Um nun Amidspektren in Lösungsmitteln im Speziellen und unter Einfluss der durch die Umgebung generierten elektrischen Felder im Allgemeinen zu berechnen, war die Entwicklung eines neuartigen Kraftfelds notwendig. Um eine Referenz für dieses Kraftfeld zu schaffen, habe ich zunächst zwei 80 ps lange DFT/MM Simulationen von N-Methylacetamid und seinem N-D-Isotopomer in wässriger Lösung durchgeführt. Mit Hilfe dieser Trajektorien und von Rudolf Reichhold durchgeführten Rechnungen konnte meine Kollegin Verena Schultheis einen ersten Prototypen für ein polarisierbares Kraftfeld zur Beschreibung des Peptidrückgrats entwickeln. Dieses Trajektorien werden im Artikel [14], der im Abschnitt 3.1 dieser Arbeit abgedruckt ist, beschrieben. Dort wird gezeigt, dass die DFT/MM Hybridmethode experimentelle Spektren von NMA in Wasser gut reproduzieren kann. Der Vergleich des in der Arbeit entworfenen PMM Kraftfelds mit dieser Referenz zeigt, dass die neue Methode in der Lage ist, solvatochrome Effekte qualitativ richtig wiederzugeben.

Ausgehend von diesen Ergebnissen habe ich das Kraftfeld um Kopplungsterme zwischen den internen Freiheitsgraden des Peptidplättchens [Gleichung (1.8)] erweitert und das neue Kraftfeld aufgrund von DFT/MM Rechnungen parametrisiert. Artikel [15] stellt diese revidierte und erweiterte Version dar und vergleicht die Ergebnisse mit den DFT/MM Referenzen und experimentellen Spektren. Es wird gezeigt, dass das neue Kraftfeld nicht nur Banden-Verschiebungen reproduziert, sondern das ganze Spektrum einer Peptidgruppe mit spektroskopischer Genauigkeit wiedergegeben wird. Diese beiden Artikel bilden Kapitel 3 dieser Dissertation.

Das abschließende Kapitel fasst die Resultate dieser Arbeiten noch einmal zusammen und diskutiert mögliche Weiterentwicklungen im Bereich der polarisierbaren Kraftfelder ausführlich. Hier werden insbesondere die noch ausstehende Modellierung höherer Momente als des Dipolmoments für die Beschreibung des Wassermoleküls vorgezeichnet und es wird die Frage diskutiert, welche Erweiterungen ein polarisierbares Peptidkraftfeld erfahren muss, um das Spektrum ganzer Proteine korrekt reproduzieren zu können.

## 2 Polarisierbare Wassermodelle

sono, credo, a memoria d'uomo, l'unico  
essere della nostra specie ad aver  
naufragio su di una nave deserta.

---

(Schiffbrüchiger in „L'isola del giorno  
prima“ [185])

In diesem Kapitel werden anhand des Wassermoleküls die Eigenschaften von polarisierbaren Kraftfeldern und Methoden zur Parametrisierung solcher Kraftfelder untersucht. Insbesondere wird analysiert, welche physikalischen Effekte Einfluss auf das Antwortverhalten des Dipolmoments eines Wassermoleküls, in Bezug auf das elektrische Feld, haben und auf welche Weise diese Effekte modelliert werden können.

### 2.1 Polarisierbarkeit von Wassermodellen

Zunächst diskutieren wir die Frage, wie für MM-MD Simulationen von flüssigem Wasser eine korrekte Beschreibung der Polarisierbarkeit  $\alpha$  durch ein punkt-polarisierbares Wassermodell gefunden werden kann.

Es handelt sich bei den folgenden Ausführungen um den Abdruck<sup>1</sup> des Artikels

Bernhard Schropp and Paul Tavan: „The Polarizability of Point-Polarizable Water Models: Density Functional Theory/Molecular Mechanics Results“, *The Journal of Physical Chemistry B* **112**, 6233–6240 (2008),

der von mir zusammen mit Paul Tavan verfasst wurde.

In dem Artikel wird erstmals gezeigt, dass das elektrische Feld  $\mathbf{E}$  selbst innerhalb des kleinen Volumens eines Wassermoleküls stark inhomogen ist. Dieses elektrische Feld, welches die Elektronendichte des Wassermoleküls polarisiert, wird durch den Volumenmittelwert über eine dreidimensionale Gauß'sche Verteilung genähert. Es wird ferner gezeigt, dass eine akzeptable Beschreibung der Polarisierbarkeit auch

---

<sup>1</sup> Reproduced with permission from The Journal of Physical Chemistry, **112**, 6233–6240, 2008. Copyright 2008 American Chemical Society.

mit dem elektrischen Feld am Ort des Sauerstoffatoms  $\mathbf{E}(\mathbf{r}_O)$  möglich ist, wenn in einem punkt-polarisierbaren Wassermodell anstatt der experimentellen Gasphasenpolarisierbarkeit  $\alpha_{\text{exp}}$  – die in solchen Modellen üblicherweise eingesetzt wird – eine reduzierte effektive Polarisierbarkeit  $\alpha_{\text{eff}}$  verwendet wird.

## The Polarizability of Point-Polarizable Water Models: Density Functional Theory/Molecular Mechanics Results<sup>†</sup>

**Bernhard Schropp and Paul Tavan\***

*Lehrstuhl für Biomolekulare Optik, Ludwig-Maximilians-Universität, Oettingenstrasse 67, 80538 München, Germany*

*Received: July 21, 2007; In Final Form: October 17, 2007*

Molecular dynamics (MD) simulations of bulk liquid water at different thermodynamic conditions or of biomolecules in aqueous solution require a molecular mechanics (MM) force field that accounts for the sizable electronic polarizability  $\alpha$  of the water molecule. A considerable number of such polarizable water models has been suggested in the past. Most of them agree that one should employ the experimental value  $\alpha_{\text{exp}}$  for the electronic polarizability and compute the induced dipole moment  $\mu_i$  through linear response from the electric field  $\mathbf{E}$  at the position  $\mathbf{r}_O$  of the oxygen atom. However, several more recent models have suggested somewhat smaller values for  $\alpha$ . Using a hybrid method that combines density functional theory for a selected water molecule with an MM description of its liquid water environment, here we show that the choice of  $\alpha_{\text{exp}}$  is solely correct if the induced dipole moment  $\mu_i$  is calculated from the average electric field  $\langle \mathbf{E} \rangle$  within the volume occupied by the given water molecule. Because of considerable field inhomogeneities caused by the structured aqueous environment, the average field  $\langle \mathbf{E} \rangle$  is much smaller than the local spot check  $\mathbf{E}(\mathbf{r}_O)$ . However, as opposed to  $\mathbf{E}(\mathbf{r}_O)$ , the average field  $\langle \mathbf{E} \rangle$  cannot be easily calculated in MM–MD simulations. Therefore, in polarizable MM water models, one should calculate the induced dipole moment  $\mu_i$  from  $\mathbf{E}(\mathbf{r}_O)$  through the reduced polarizability  $\alpha_{\text{eff}} = 0.68\alpha_{\text{exp}}$ , which then effectively accounts for the inhomogeneities of the electric field within the volume of a water molecule embedded in liquid water.

Aus lizenzrechtlichen Gründen konnte der Artikel in dieser Online–Ausgabe der Dissertation nicht vollständig abgedruckt werden. Der Artikel (DOI:10.1021/jp0757356) ist online auf der Internetseite der American Chemical Society unter

<http://dx.doi.org/10.1021/jp0757356>

zu finden.

<sup>†</sup> Part of the “Attila Szabo Festschrift”.

\* Corresponding author. E-mail: tavan@physik.uni-muenchen.de; phone: +49-89-2180-9220.



## 2.2 Einfluss der Flexibilität auf die Polarisierbarkeit

In vorangehenden Abschnitt wurde einer der stärksten Lösungsmittelleffekte diskutiert, der bei der Beschreibung von Wassermolekülen auftritt – die starke Inhomogenität des elektrischen Feldes. Dabei wurde die Vermutung aufgestellt, dass die Geometrieänderungen, welche das Wassermolekül beim Transfer in die flüssige Phase erfährt, das Dipolmoment und die Polarisierbarkeit ändern. Die Auswirkungen von Geometrieänderungen auf das Dipolmoment von Wassermolekülen werden im Artikel

Bernhard Schropp and Paul Tavan: „Flexibility Does Not Change the Polarizability of Water Molecules in the Liquid“, *The Journal of Physical Chemistry B* **114**, 2051–2057 (2010),

der von mir zusammen mit Paul Tavan verfasst wurde und im folgenden abgedruckt ist,<sup>1</sup> analysiert.

Es wird gezeigt, dass die Abnahme des *statischen* Dipolmoments  $\mu_G$ , die aus der Aufweitung  $\Delta\varphi_{\text{HOH}}$  des H–O–H Bindungswinkels resultiert, durch eine Abnahme der Polarisation – und damit des *induzierten* Dipolmoments  $\mu^i$  – welche aus der Elongation  $\Delta r_{\text{OH}}$  der O–H Bindungen folgt, genau kompensiert wird. Deshalb ändert die Einbeziehung der Flexibilität die elektrostatischen Eigenschaften des Wassermoleküls nicht. Ferner wird allgemein gezeigt, dass der Effekt von Geometrieänderungen auf das Dipolmoment eines Wassermoleküls klein ist.

---

<sup>1</sup> Reproduced with permission from The Journal of Physical Chemistry, **114**, 2051–2057, 2010. Copyright 2010 American Chemical Society.



## Flexibility Does Not Change the Polarizability of Water Molecules in the Liquid

**Bernhard Schropp and Paul Tavan\***

*Lehrstuhl für Biomolekulare Optik, Ludwig-Maximilians-Universität,  
Oettingenstr. 67, 80538 München, Germany*

*Received: November 17, 2009; ReVised Manuscript Received: December 18, 2009*

Molecular mechanics (MM) force fields employed in molecular dynamics simulations of bulk liquid water or of solvated proteins have to appropriately handle the sizable polarizability  $\alpha$  of the water molecules. Using a hybrid method that combines density functional theory (DFT) for a rigid water molecule with an MM description of the liquid environment, we have recently shown that the induced dipole moment can be accurately calculated by linear response multiplying the experimental gas phase polarizability  $\alpha^{\text{exp}}$  with the electric reaction field averaged over the volume of the molecule [B. Schropp and P. Tavan, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 6233]. However, water molecules are flexible, and the strong local fields acting in the liquid can change their geometries. These changes of geometry can modify both the dipole moment and the polarizability. Using a DFT/MM approach for a flexible DFT water model, here we show that the corresponding effects are quite small. Moreover, they even happen to cancel. As a result, rigid, transferable, and polarizable MM models automatically include the couplings between the external field in the bulk liquid, the geometry, and the dipole moment of an embedded water molecule.

Aus lizenzrechtlichen Gründen konnte der Artikel in dieser Online-Ausgabe der Dissertation nicht vollständig abgedruckt werden. Der Artikel (DOI:10.1021/jp910932b) ist online auf der Internetseite der American Chemical Society unter

<http://dx.doi.org/10.1021/jp910932b>

zu finden.

---

\* Corresponding author. E-mail: tavan@physik.uni-muenchen.de. Phone: +49-89-2180-9220.



## 3 Berechnung von Protein-IR-Spektren

Quantities derive from measurement,  
figures from quantities, comparisons  
from figures, and victory from  
comparisons.

---

(Sun Tzu [186])

Nachdem nun die Polarisierungseigenschaften des Lösungsmittels Wasser korrekt beschrieben werden können, sollen nun die gelösten Biomoleküle – die Proteine – behandelt werden. Hier wird gezeigt, wie – mittels polarisierbaren Kraftfeldern – korrekte Vorhersagen für die Lage der Schwingungsbanden von Amidgruppen in polaren Umgebungen getroffen werden können.

### 3.1 Polarisierbares Amidgruppen-Kraftfeld

Es folgt ein Abdruck<sup>1</sup> des Artikels

Verena Schultheis, Rudolf Reichold, Bernhard Schropp and Paul Tavan:  
„A Polarizable Force Field for Computing the Infrared Spectra of the  
Polypeptide Backbone“, *The Journal of Physical Chemistry B* **112**,  
12217–12230 (2008),

den ich gemeinsam mit Verena Schultheis, Rudolf Reichold und Paul Tavan verfasst habe. Zu dieser Veröffentlichung findet sich auf der Internetseite der American Chemical Society<sup>2</sup> Zusatzmaterial in Form von sieben ergänzenden Grafiken und einer Tabelle, welches (in leicht formatierter Form) anschließend abgedruckt ist.

In dem Artikel wird ein Prototyp des PMM/II Kraftfelds vorgestellt, der die solvatochromen Effekte im Infrarotspektrum des Modellmoleküls N-Methylacetamid, die beim Transfer des Moleküls von der Gasphase in wässrige Umgebung auftreten, richtig wiedergeben kann.

---

<sup>1</sup> Reproduced with permission from The Journal of Physical Chemistry, **112**, 12217–12230, 2008.  
Copyright 2008 American Chemical Society.

<sup>2</sup> <http://pubs.acs.org>

Meine Beiträge zu dieser Arbeit bestanden vor allem in der Durchführung und Auswertung von zwei 76,8 ps langen DFT/MM-MD Simulationen von NMA und seinem N-D Isotopomer in wässriger Lösung, welche in der Veröffentlichung als Referenz für das vorgestellte Kraftfeld dienen. Ferner habe ich die PMM/II-Simulationen des N-D Isotomers von NMA in wässriger Lösung durchgeführt und ausgewertet.

## A Polarizable Force Field for Computing the Infrared Spectra of the Polypeptide Backbone

Verena Schultheis, Rudolf Reichold, Bernhard Schropp, and Paul Tavan\*

*Lehrstuhl für Biomolekulare Optik, Ludwig-Maximilians-Universität, Oettingenstr. 67, 80538 München, Germany*

*Received: February 15, 2008; Revised Manuscript Received: July 16, 2008*

The shapes of the amide bands in the infrared (IR) spectra of proteins and peptides are caused by electrostatically coupled vibrations within the polypeptide backbone and code the structures of these biopolymers. A structural decoding of the amide bands has to resort to simplified models because the huge size of these macromolecules prevents the application of accurate quantum mechanical methods such as density functional theory (DFT). Previous models employed transition-dipole coupling methods that are of limited accuracy. Here we propose a concept for the computation of protein IR spectra, which describes the molecular mechanics (MM) of polypeptide backbones by a polarizable force field of “type II”. By extending the concepts of conventional polarizable MM force fields, such a PMM/II approach employs field-dependent parameters not only for the electrostatic signatures of the molecular components but also for the local potentials modeling the stiffness of chemical bonds with respect to elongations, angle deformations, and torsions. Using a PMM/II force field, the IR spectra of the polypeptide backbone can be efficiently calculated from the time dependence of the backbone’s dipole moment during a short (e.g., 100 ps) MD simulation by Fourier transformation. PMM/II parameters are derived for harmonic bonding potentials of amide groups in polypeptides from a series of DFT calculations on the model molecule N-methylacetamide (NMA) exposed to homogeneous external electric fields. The amide force constants are shown to vary by as much as 20% for relevant field strengths. As a proof of principle, it is shown that the large solvatochromic effects observed in the IR spectra of NMA upon transfer from the gas phase into aqueous solution are not only excellently reproduced by DFT/MM simulations but are also nicely modeled by the PMM/II approach. The tasks remaining for a proof of practice are specified.

Aus lizenzrechtlichen Gründen konnte der Artikel in dieser Online–Ausgabe der Dissertation nicht vollständig abgedruckt werden. Der Artikel (DOI:10.1021/jp8013767) ist online auf der Internetseite der American Chemical Society unter

<http://dx.doi.org/10.1021/jp8013767>

zu finden.

---

\* Corresponding author: e-mail [tavan@physik.uni-muenchen.de](mailto:tavan@physik.uni-muenchen.de); phone +49-89-2180-9220, fax +49-89-2180-9202.



## Supporting Information to the Article: A Polarizable Force Field for Computing the Infrared Spectra of the Polypeptide Backbone

Verena Schultheis, Rudolf Reichold, Bernhard Schropp, and Paul Tavan<sup>†</sup>

*Lehrstuhl für Biomolekulare Optik, Ludwig-Maximilians-Universität, Oettingenstr. 67,  
80538 München, Germany*

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: tavan@physik.uni-muenchen.de. Phone: +49-89-2180-9220.

The sets of graphs in Figs. 12 and 13 document the results of the MT/BP calculations on NMA exposed to homogeneous electric fields  $E_j$  oriented along the axes  $j \in \{x, y, z\}$  of the Cartesian coordinate system depicted in Fig. 2. Field dependent equilibrium values of the internal coordinates depicted in Fig. 3 were taken directly from NMA's equilibrium geometries  $\mathcal{G}(E_j)$ , whereas harmonic force constants  $k_i(E_j)$  were derived from the MT/BP Hessians  $\mathbf{H}(E_j)$  through the iterative match of intrinsic frequencies explained in Sec. 2.2. The graphs contain linear fits to the MT/BP derived force field parameters whose slopes give the linear response parameters in Tab. 4. Some of the deviations from linearity occurring at very large fields are computational artifacts of the MT/BP approach associated with a field-induced pushing of electron density towards the boundaries of the DFT box, within which that density is expanded into plane waves.

Fig. 14 serves to illustrate the difference between the simple AG force field defined by Eqs. (2) and (4) and a DFT force field. By visually subtracting the nearly diagonal MM(DFT) Hessian in (B) from the DFT reference in (A) one can get clues, which of the neglected coupling terms given by Eq. (6) are important for the computation of correct frequencies.

Fig. 15 demonstrates that most parts of the IR spectra of protonated and deuterated NMA in aqueous solution, which were derived by FTTCF from extended DFT/MM-MD simulations, are quite well converged. Mainly the regions of the AI bands exhibit larger differences in spectral shape when computed from the first 26 ps (red) and all 78 ps (blue) of the simulations. We suspect that in both cases the respective system was not yet sufficiently equilibrated at the beginning of the production run.

Fig. 16 shows for the case of protonated NMA that the effects of hydrogen bonding on solvatochromic band shifts are small. See the caption to this figure and the discussion of the dashed line in Fig. 11D.

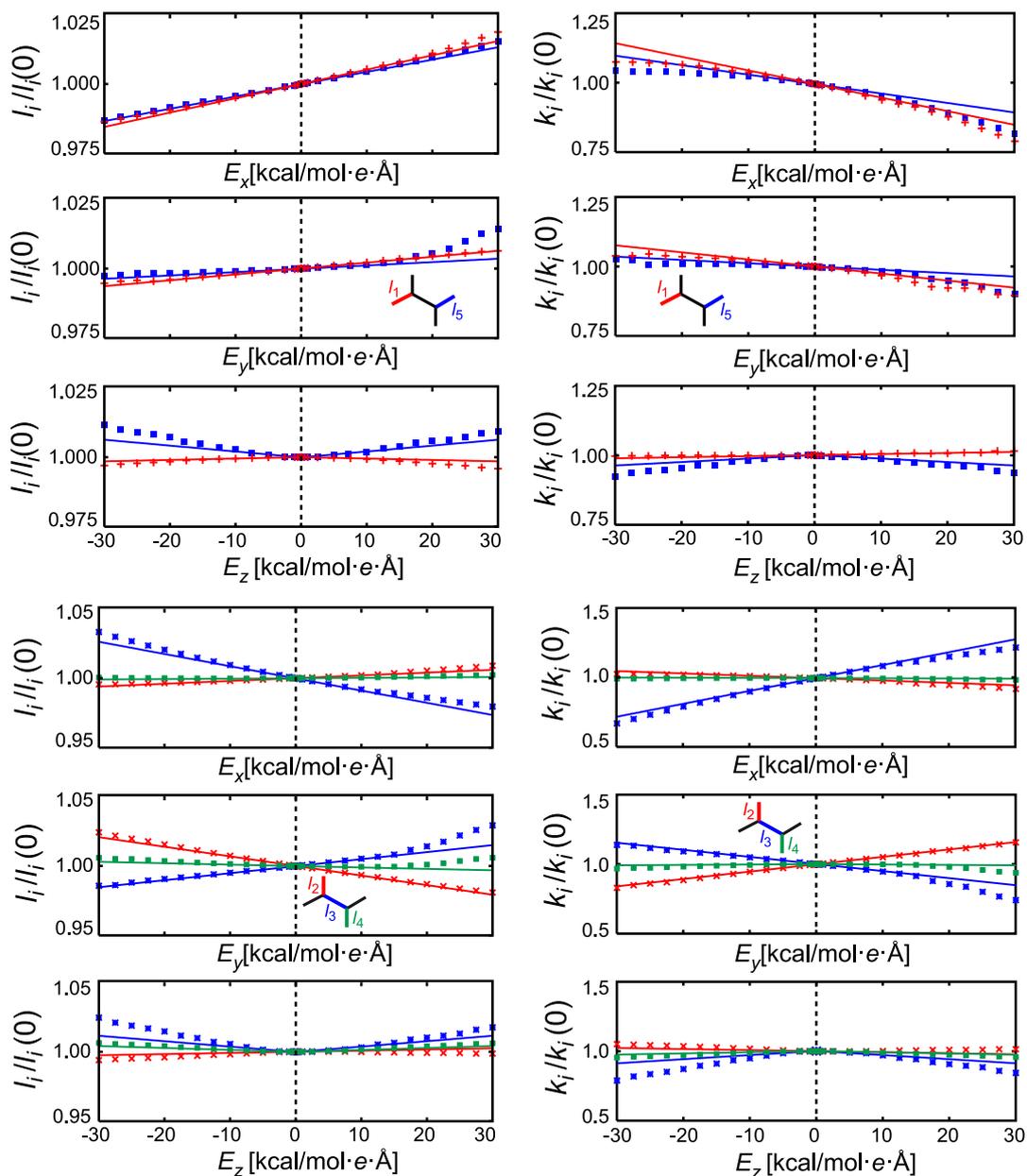
The remaining Figs. 17, 18, and Tab. 5 document a failed attempt to construct a PMM/II force field for AGs, which performs better at least on the frequencies of the AI-AIII modes while retaining the quality of the mode description achieved with the force field MM(DFT). In this attempt we considered the force constants of the ICs as adjustable parameters and tried to optimize by gradient descent the deviation measure Eq. (10) defined further below (using the index sets  $\mathcal{I} = \{1, \dots, 6\}$  and  $\mathcal{J} = \{7, 8, 9\}$ ).

The modified force constants obtained by these gradient descent procedures are listed in Tab. 5 under the labels  $\text{MM}_{o1}(\text{DFT})$  and  $\text{MM}_{o2}(\text{DFT})$  together with the starting values  $\text{MM}(\text{DFT})$ . By construction the optimized force fields closely reproduce the MT/BP spectrum of the "AG within NMA" in the high frequency region as can be seen by comparing the corresponding columns in Fig. 17. On the other hand, according to Fig. 18 the frequency-optimized force fields  $\text{MM}_{o1/2}(\text{DFT})$  now predict for the normal modes AI-AIII compositions, which sizably deviate from the MT/BP references. Thus by a tuning of the harmonic force constants one can reach an excellent match of selected frequencies while loosing the perfect match of the corresponding normal mode compositions. As a result the inclusion of the cross terms (5) cannot be avoided for an improved frequency matching that retains good quality mode compositions.

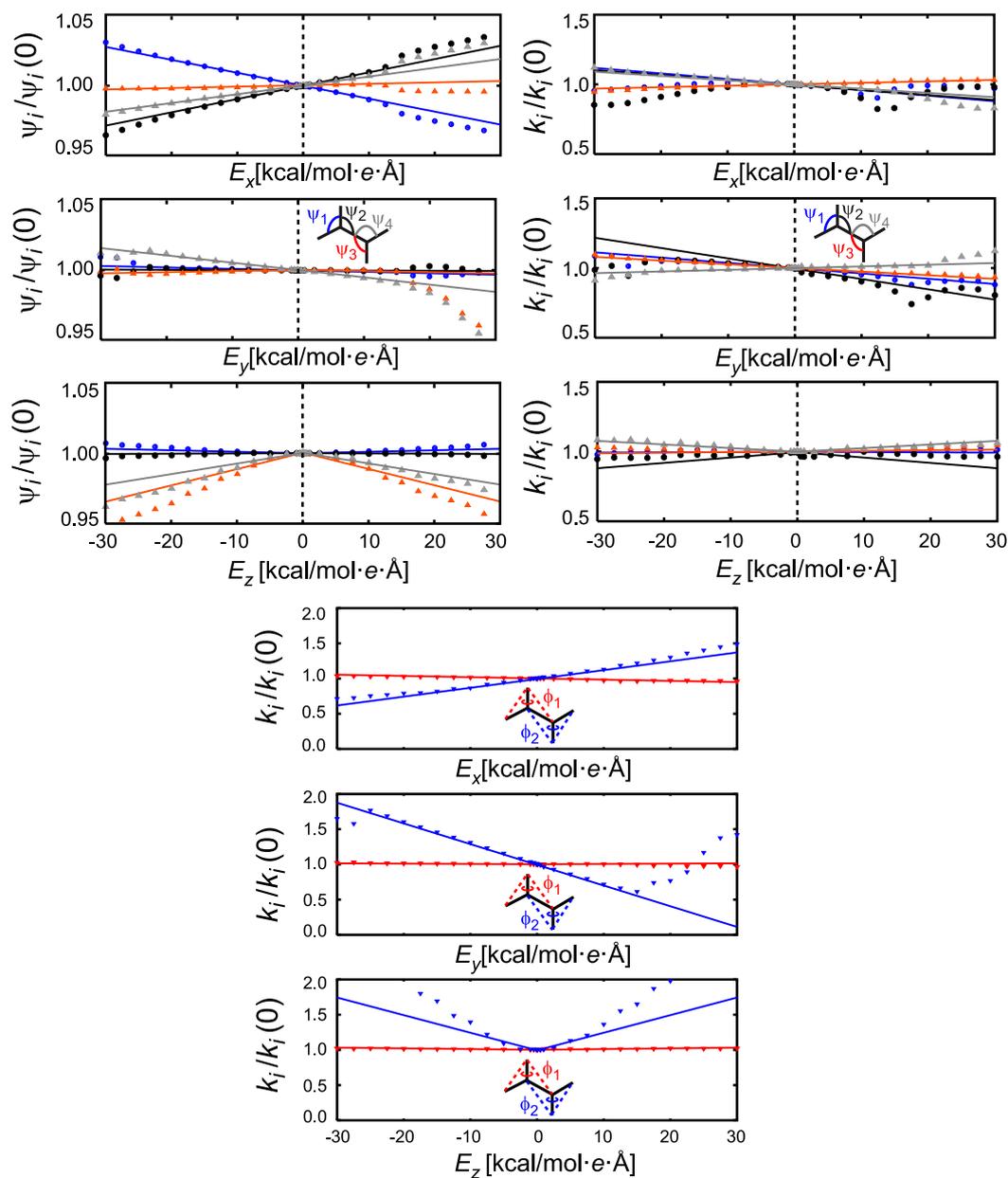
In our frequency optimizations we used the weighted deviation measure

$$\langle \Delta\nu^2 \rangle_{\mathcal{I}}^{\mathcal{J}} = \sqrt{\frac{\sum_{i \in \mathcal{I}} \Delta\nu_i^2 + (\sum_{i \in \mathcal{J}} \Delta\nu_i^2)/20}{|\mathcal{I}| + |\mathcal{J}|/20}} \quad (10)$$

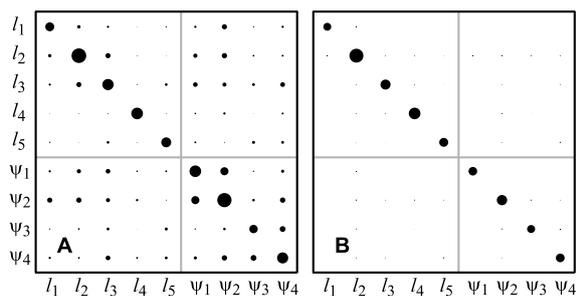
where  $\mathcal{I}$  and  $\mathcal{J}$  are two sets of indices. The frequencies  $\nu_i$ ,  $i \in \mathcal{I}$ , fully contribute to this deviation whereas frequencies  $\nu_i$ ,  $i \in \mathcal{J}$  only contribute with a weight reduced by a factor  $1/20$ . This measure takes all frequencies into account but is mainly determined by frequencies with indices  $i \in \mathcal{I}$ .



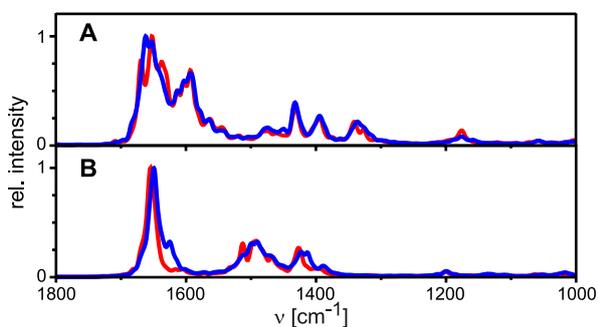
**Figure 12.** MT/BP equilibrium bond lengths  $l_i(\mathbf{E})/l_i(0)$  (left) and force constants  $k_i(\mathbf{E})/k_i(0)$  (right) as functions of electric fields  $E_x$ ,  $E_y$ ,  $E_z$ ; solid lines are linear fits to data for fields in the range  $[-10, 10]$  kcal/(mol  $\text{\AA}$  e).



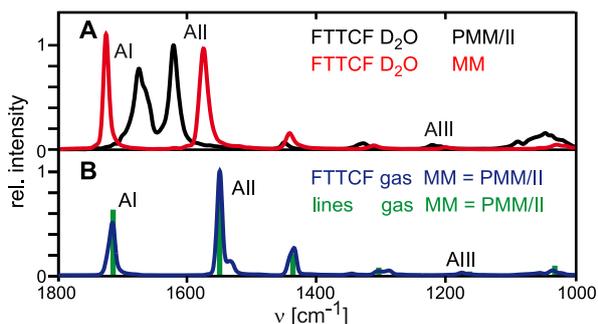
**Figure 13.** MT/BP equilibrium bond angles  $\psi_i(\mathbf{E})/\psi_i(0)$  (top left), associated force constants  $k_i(\mathbf{E})/k_i(0)$  (top right) and force constants of improper dihedral angles  $\phi_i(\mathbf{E})/\phi_i(0)$  as functions of electric fields  $E_x, E_y, E_z$  and associated linear fits.



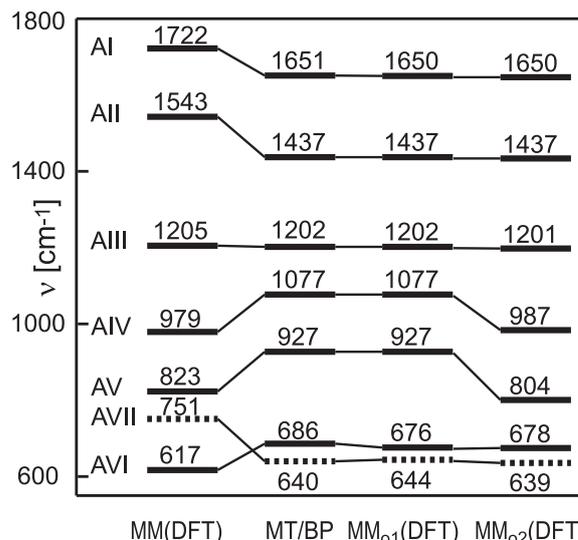
**Figure 14.** Structure of Hessian matrices in internal coordinates from (A) DFT and (B) MM(DFT) force fields for isolated NMA molecules. Absolute values of matrix elements are coded by circle sizes. The small off-diagonal terms in (B) are due to small so-called non-bonded interactions within NMA.



**Figure 15.** Convergence of solution spectra for (A) protonated and (B) deuterated NMA. FTTCF spectra from DFT/MM-MD trajectories of different lengths are compared: First 26 ps (red), and all 78 ps (blue). Frequencies are scaled by a factor of 1.0354. Intensities are normalized to the respective maximum values.



**Figure 16.** Comparison of FTTCF spectra calculated for protonated NMA in  $D_2O$  and in the gas phase (bottom) with different MM force fields from MD trajectories. By comparing the MM result for  $D_2O$  (red) with that for the gas phase (blue) one gets a clue on the effects of hydrogen bonding, by comparing with the PMM/II result for  $D_2O$  (black) one recognizes the effects of bond polarization. For the gas phase the MM(DFT) line spectrum obtained from normal mode analysis is also given. Frequencies are scaled by a factor of 0.9925.

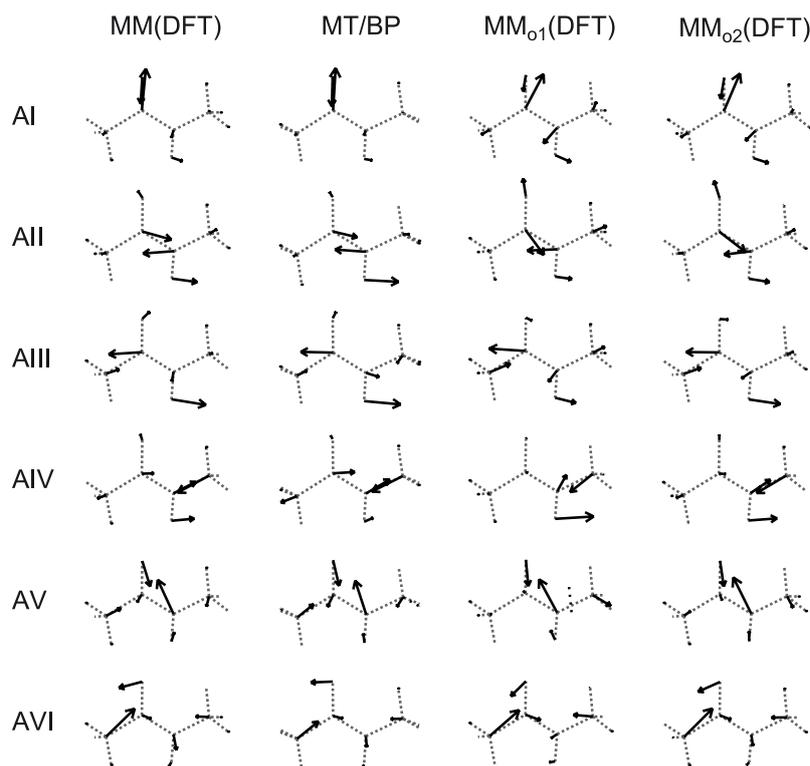


**Figure 17.** MT/BP spectra of the "AG within NMA" (defined by methyl groups with nearly massless hydrogen atoms, cf. Sec. 4.3) compared with MM spectra calculated at different parameterizations. The employed parameter sets MM(DFT),  $MM_{o1}$ (DFT), and  $MM_{o2}$ (DFT) are listed in the corresponding columns of Tab. 5 and are explained in the text. For line styles and mode labels see the caption to Fig. 4.

**TABLE 5: Harmonic zero-field parameters of an AG.**

$q_i$	$q_i^0$	MM(DFT) $k_i$	$MM_{o1}$ (DFT) $k_i$	$MM_{o2}$ (DFT) $k_i$
$l_1$	1.520 Å	460 <sup>a</sup>	629 <sup>a</sup>	577 <sup>a</sup>
$l_2$	1.233 Å	1443 <sup>a</sup>	1075 <sup>a</sup>	1214 <sup>a</sup>
$l_3$	1.374 Å	748 <sup>a</sup>	543 <sup>a</sup>	490 <sup>a</sup>
$l_4$	1.015 Å	1009 <sup>a</sup>	1004 <sup>a</sup>	1006 <sup>a</sup>
$l_5$	1.455 Å	591 <sup>a</sup>	781 <sup>a</sup>	604 <sup>a</sup>
$\psi_1$	121.9°	4.7 <sup>b</sup>	4.2 <sup>b</sup>	5.6 <sup>b</sup>
$\psi_2$	122.6°	6.9 <sup>b</sup>	5.1 <sup>b</sup>	7.4 <sup>b</sup>
$\psi_3$	118.5°	4.2 <sup>b</sup>	3.8 <sup>b</sup>	3.9 <sup>b</sup>
$\psi_4$	122.5°	4.9 <sup>b</sup>	14.2 <sup>b</sup>	7.3 <sup>b</sup>
$\phi_1$	0°	7.1 <sup>b</sup>	4.9 <sup>b</sup>	4.9 <sup>b</sup>
$\phi_2$	0°	1.2 <sup>b</sup>	1.1 <sup>b</sup>	1.1 <sup>b</sup>
$\xi$	180°	0.8 <sup>b</sup>	0.8 <sup>b</sup>	0.8 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>[kcal/(mol Å<sup>2</sup>)], <sup>b</sup>[kcal/{mol (10 deg)<sup>2</sup>}].



**Figure 18.** In-plane normal modes of the "AG within NMA" (cf. Sec. 4.3) belonging to the line spectra depicted in Fig. 17. Dashed lines indicate the bonds within the NMA molecule covering the AG depicted in Fig. 3. Arrows indicate atomic motions.



## 3.2 Erweiterung zum spektroskopischen Kraftfeld

Die erste Version des PMM/II Kraftfelds für Amidgruppen (vergleiche Abschnitt 3.1) wurde nun derart erweitert, dass nicht nur Bandenverschiebungen wiedergegeben werden, sondern auch die Lage aller Amidbanden richtig reproduziert wird.

Der Journalartikel

Bernhard Schropp, Christoph Wichmann, and Paul Tavan:  
„A Spectroscopic Polarizable Force Field for Amide Groups in Polypeptides“, *Journal of Physical Chemistry B* **114**, 6740–6750 (2010)

der von mir zusammen mit Christoph Wichmann und Paul Tavan verfasst wurde, beschreibt das erweiterte „spektroskopische“ polarisierbare Kraftfeld.

Hier wird zunächst ein Kraftfeld für Amidgruppen aus DFT-Berechnungen am NMA-Molekül abgeleitet. Nachfolgend wird gezeigt, dass das Kraftfeld, ohne Verlust von Genauigkeit, deutlich vereinfacht werden kann. Letztendlich wird die hohe Güte, mit der das neue Kraftfeld theoretische und experimentelle Vergleichsspektren reproduzieren kann, demonstriert. Der Artikel ist nachfolgend abgedruckt.<sup>1</sup>

Zu der Veröffentlichung findet sich auf der Internetseite der American Chemical Society<sup>2</sup> Zusatzmaterial in Form von neun Formeln, acht ergänzenden Grafiken und einer Tabelle, welches anschließend abgedruckt ist.

---

<sup>1</sup> Reproduced with permission from The Journal of Physical Chemistry, **114**, 6740–6750, 2010. Copyright 2010 American Chemical Society.

<sup>2</sup> <http://pubs.acs.org>



## Spectroscopic Polarizable Force Field for Amide Groups in Polypeptides

**Bernhard Schropp, Christoph Wichmann, and Paul Tavan\***

*Lehrstuhl für Biomolekulare Optik, Ludwig-Maximilians-Universität, Oettingenstrasse 67, 80538 München, Germany*

*Received: February 12, 2010; Revised Manuscript Received: March 30, 2010*

The infrared spectra of polypeptides are dominated by the so-called amide bands. These bands originate from the electrostatically coupled vibrations of the strongly polar amide groups (AGs) making up the polypeptide backbone. Because the AGs are highly polarizable, external electric fields can shift the frequencies of the amide normal modes over wide spectral ranges. The sensitivity to external fields and the strong polarity are the reasons why the shapes of the amide bands can code the structure of the polypeptide backbone. Aiming at a decoding of these band shapes, Schultheis et al. (*J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 12217) have recently suggested a polarizable molecular mechanics (PMM) force field for AGs, which employs field dependent force constants and enables the computation of the amide bands from molecular dynamics simulations. Here we extend and refine this first suggestion of such a PMM force field. The extension rests on the choice of suitable internal coordinates for the AGs and on the inclusion of the complete AG Hessian and of its field dependence. The force field parameters are calculated from density functional theory. The improved quality of the resulting PMM descriptions is demonstrated using very simple examples and an outlook is given.

Aus lizenzrechtlichen Gründen konnte der Artikel in dieser Online-Ausgabe der Dissertation nicht vollständig abgedruckt werden. Der Artikel (DOI:10.1021/jp101358r) ist online auf der Internetseite der American Chemical Society unter

<http://dx.doi.org/10.1021/jp101358r>

zu finden.

---

\* Corresponding author. Phone: +49-89-2180-9220. E-mail: tavan@physik.uni-muenchen.de.



# Supporting Information to the article: A Spectroscopic Polarizable Force Field for Amide Groups in Polypeptides

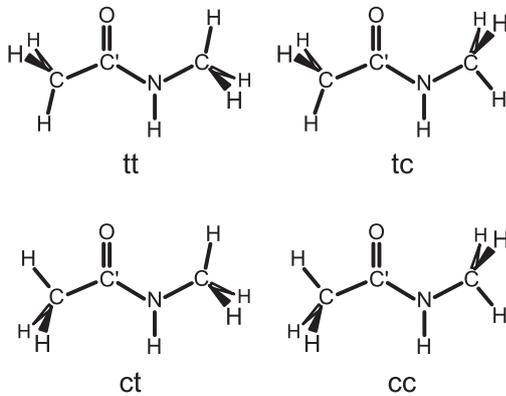
Bernhard Schropp, Christoph Wichmann and Paul Tavan<sup>†</sup>

Lehrstuhl für Biomolekulare Optik, Ludwig-Maximilians-Universität, Oettingenstr. 67,  
80538 München, Germany

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: tavan@physik.uni-muenchen.de. Phone: +49-89-2180-9220.

## 1. NMA conformations and Boltzmann weights

The four equilibrium conformations of *trans*-NMA resulting from a MT/BP description of the isolated molecule are shown in Fig. 8. These conformations differ by the rotameric states of the methyl groups and are labeled by the short cuts tt, tc, ct, and cc, respectively.



**Figure 8.** Equilibrium configurations of *trans*-NMA predicted by MT/BP.

According to our MT/BP calculations the four configurations exhibit slight energy differences. State tt is predicted as the energetically most favorable configuration. There are also various conformations of *cis*-NMA predicted at much higher energies. Restricting the thermal ensemble to the *trans*-states the partition function is given by

$$Z = \sum_{i \in I} \exp(-E_i/k_B T), \quad I = \{tt, tc, ct, cc\},$$

where  $k_B$  is the Boltzmann constant and  $T$  the temperature. The occupation of the various conformations  $i \in I$  at  $T$  is then

$$p_i = \frac{1}{Z} \exp(-E_i/k_B T).$$

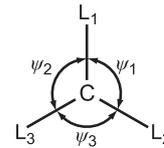
For the temperature  $T = 300$  K one finds the occupations  $p_{tt} = 0.41$ ,  $p_{tc} = 0.19$ ,  $p_{ct} = 0.27$ , and  $p_{cc} = 0.13$ , respectively. These Boltzmann weights serve us to evaluate the thermally averaged Hessian of an AG

$$\mathbf{K}_{\text{qm}}^{\text{AG}}(\mathbf{E}) = \sum_{i \in I} p_i \mathbf{K}_{\text{qm},i}^{\text{AG}}(\mathbf{E}) \quad (14)$$

from the configuration local MT/BP Hessians  $\mathbf{K}_{\text{qm},i}^{\text{AG}}(\mathbf{E})$ . All these Hessians are given in terms of the internal coordinates  $q_i$  defined in Fig. 2 and in the associated text. Thus, they are  $(11 \times 11)$ -matrices [cf. Eq. (4)].

## 2. Removing angular cross terms at a given center

We consider a  $sp^2$  hybridized central atom with three ligands in a molecular structure. Figure 9 shows such a geometry and labels the three bond angles at the given center. Usually only two of the angles (e.g.  $\psi_1, \psi_2$ ) are specified in a non-redundant spectroscopic force field  $U$ , which then comprises



**Figure 9.** A central  $sp^2$  hybridized atom (C) with three ligands ( $L_i$ ,  $i=1,2,3$ ) and the angles  $\psi_i$  between the ligands.

the terms:

$$U(\psi_1, \psi_2) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^2 k_{ii}(\psi_i - \psi_i^0)^2 + k_{12}(\psi_1 - \psi_1^0)(\psi_2 - \psi_2^0) \quad (15)$$

Now we want to demonstrate that this energy expression can equivalently be replaced by the purely harmonic expression

$$\tilde{U}(\psi_1, \psi_2, \psi_3) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^3 \tilde{k}_i(\psi_i - \psi_i^0)^2, \quad (16)$$

which covers all three angles  $\psi_i$  and employs modified harmonic force constants  $\tilde{k}_{ii}$ . Here equivalent means that the Hessians derived from  $U(\psi_1, \psi_2)$  is identical to the Hessian derived from  $\tilde{U}(\psi_1, \psi_2, \psi_3)$ , if one uses the trivial relation  $\psi_3(\psi_1, \psi_2) = 360^\circ - (\psi_1 + \psi_2)$  connecting the dependent angle  $\psi_3$  to the two independent ones. To show the equivalence we consider the first derivatives of  $U$

$$\frac{dU}{d\psi_1} = k_{11}(\psi_1 - \psi_1^0) + k_{12}(\psi_2 - \psi_2^0)$$

$$\frac{dU}{d\psi_2} = k_{22}(\psi_2 - \psi_2^0) + k_{12}(\psi_1 - \psi_1^0)$$

and of  $\tilde{U}$

$$\frac{d\tilde{U}}{d\psi_i} = \tilde{k}_i(\psi_i - \psi_i^0) + \tilde{k}_3(\psi_3 - \psi_3^0) \frac{d\psi_3}{d\psi_i}$$

with respect to  $\psi_i$ ,  $i = 1, 2$ . Requiring now that the first derivatives are identical, i.e.,

$$\frac{dU}{d\psi_i} = \frac{d\tilde{U}}{d\psi_i}$$

yields the conditions

$$\begin{aligned} \tilde{k}_1 &= k_{11} - k_{12} \\ \tilde{k}_2 &= k_{22} - k_{12} \\ \tilde{k}_3 &= k_{12}. \end{aligned} \quad (17)$$

With the above conditions also the second derivatives, i.e., the Hessians are identical.

### 3. Mean field geometry

As explained in section 3.4 we have estimated the average equilibrium geometry of an AG in a condensed phase environment by evaluating the linear response relations  $\mathbf{q}^0(\mathbf{E})$  specified in Ref. 1 at the average reaction field  $\langle \mathbf{E} \rangle_{\text{liq}}$  measured by us in a DFT/MM simulation of NMA in TIP4P water. Table 4 gives the resulting mean field geometry  $\tilde{\mathbf{q}}^{0,c} = \mathbf{q}^0(\langle \mathbf{E} \rangle_{\text{liq}})$  and compares  $\tilde{\mathbf{q}}^{0,c}$  with the gas phase geometry  $\tilde{\mathbf{q}}^{0,g} \equiv \mathbf{q}^0(\mathbf{E} = 0)$ . For a quick overview the table additionally lists the differences  $\Delta\tilde{\mathbf{q}}^0 \equiv \tilde{\mathbf{q}}^{0,c} - \tilde{\mathbf{q}}^{0,g}$ .

**TABLE 4: AG geometries**

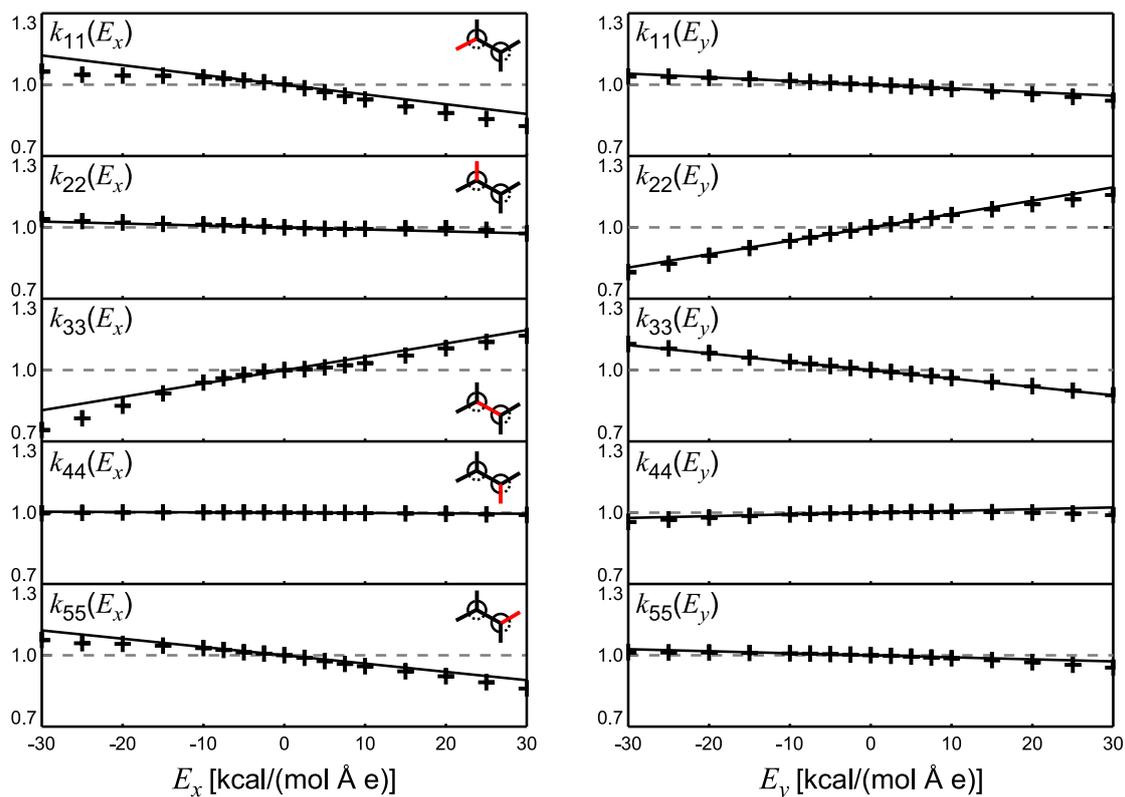
		condensed	gas	difference
$i$	$q_i$	$\tilde{q}_i^{0,c}$	$\tilde{q}_i^{0,g}$	$\Delta\tilde{q}_i^0$
1	$l_1$	1.510 Å	1.520 Å	-0.010 Å
2	$l_2$	1.261 Å	1.233 Å	0.028 Å
3	$l_3$	1.350 Å	1.374 Å	-0.024 Å
4	$l_4$	1.019 Å	1.015 Å	0.004 Å
5	$l_5$	1.449 Å	1.455 Å	-0.006 Å
6	$\psi_6$	122.3°	121.9°	0.4°
7	$\psi_7$	122.7°	122.6°	0.1°
8	$\psi_8$	118.9°	118.5°	0.4°
9	$\psi_9$	124.6°	122.5°	2.1°
12	$\psi_{12}$	115.0°	115.5°	-0.5°
13	$\psi_{13}$	116.5°	119.0°	-2.5°

### 4. Field dependencies of force constants $k_{ij}$

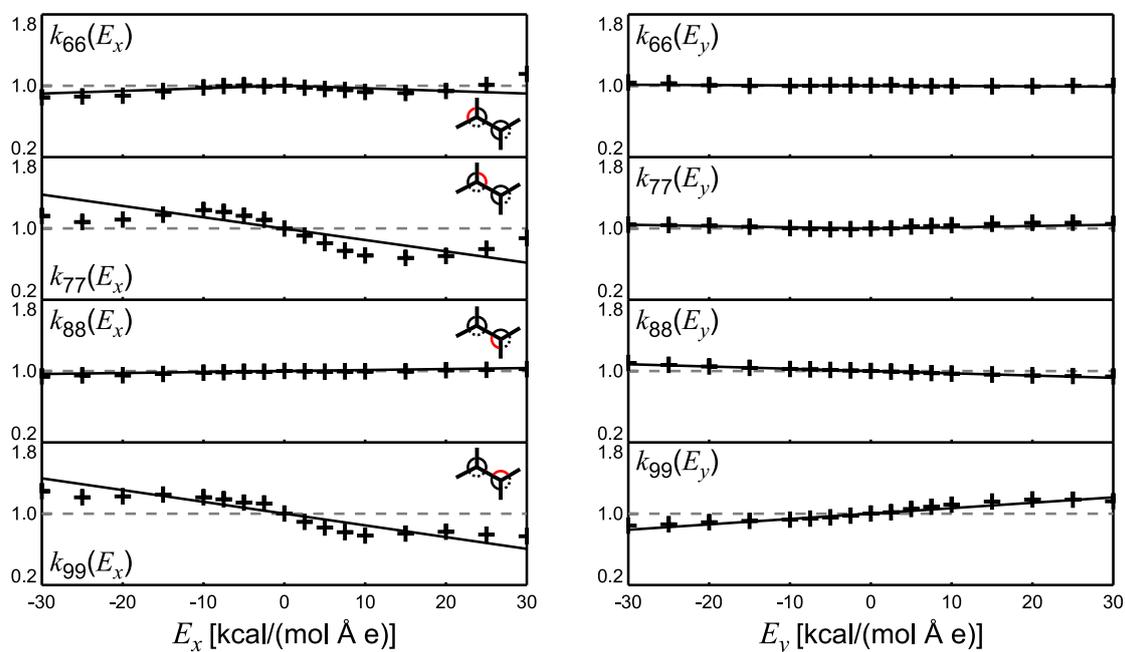
The following set of figures (Figs. 10–15) shows the dependencies on homogeneous external fields for all force constants that are assumed to be non-zero and field dependent in the force field PMM/O<sup>c</sup>. As one can see, deviations from linear response solely occur for a few angular potentials and couplings between angles and bonds.

### References

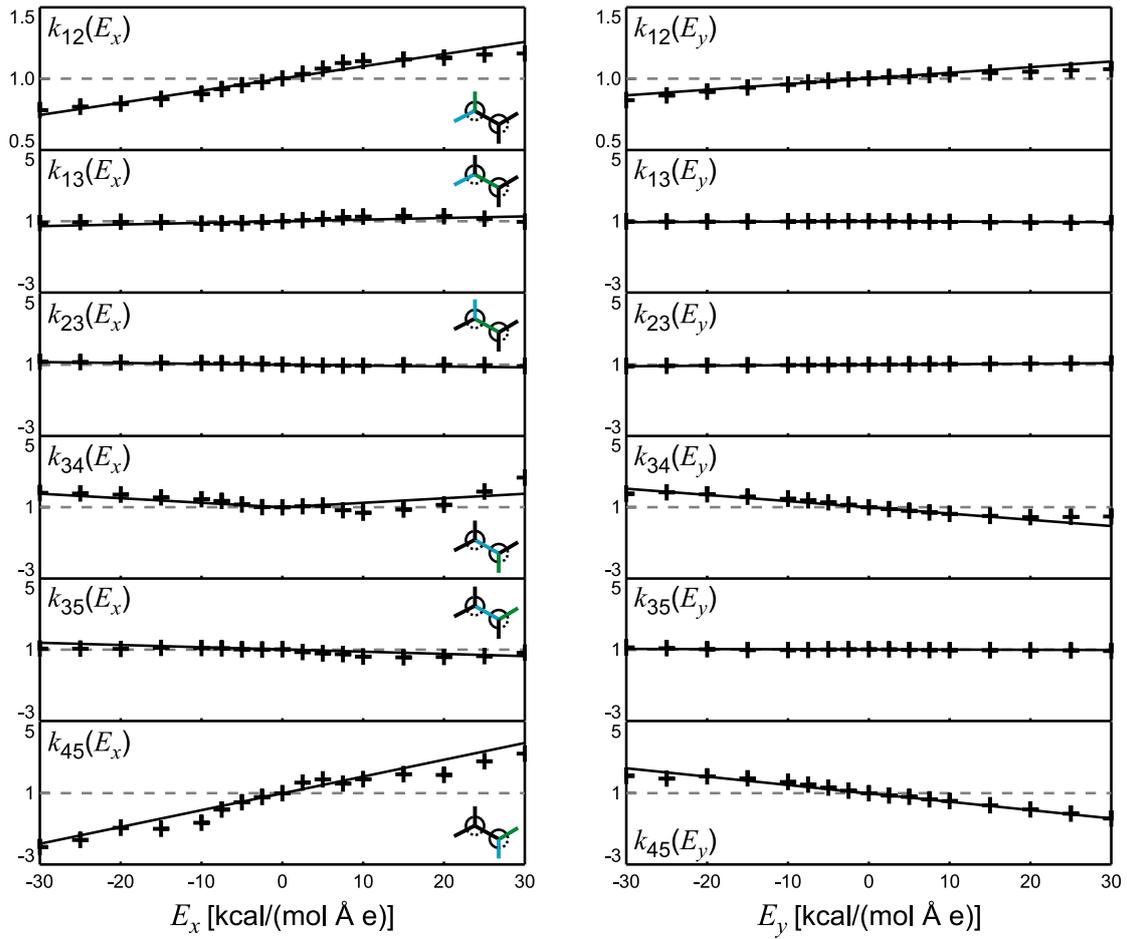
- (1) Schultheis, V.; Reichold, R.; Schropp, B.; Tavan, P. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 12217–12230.



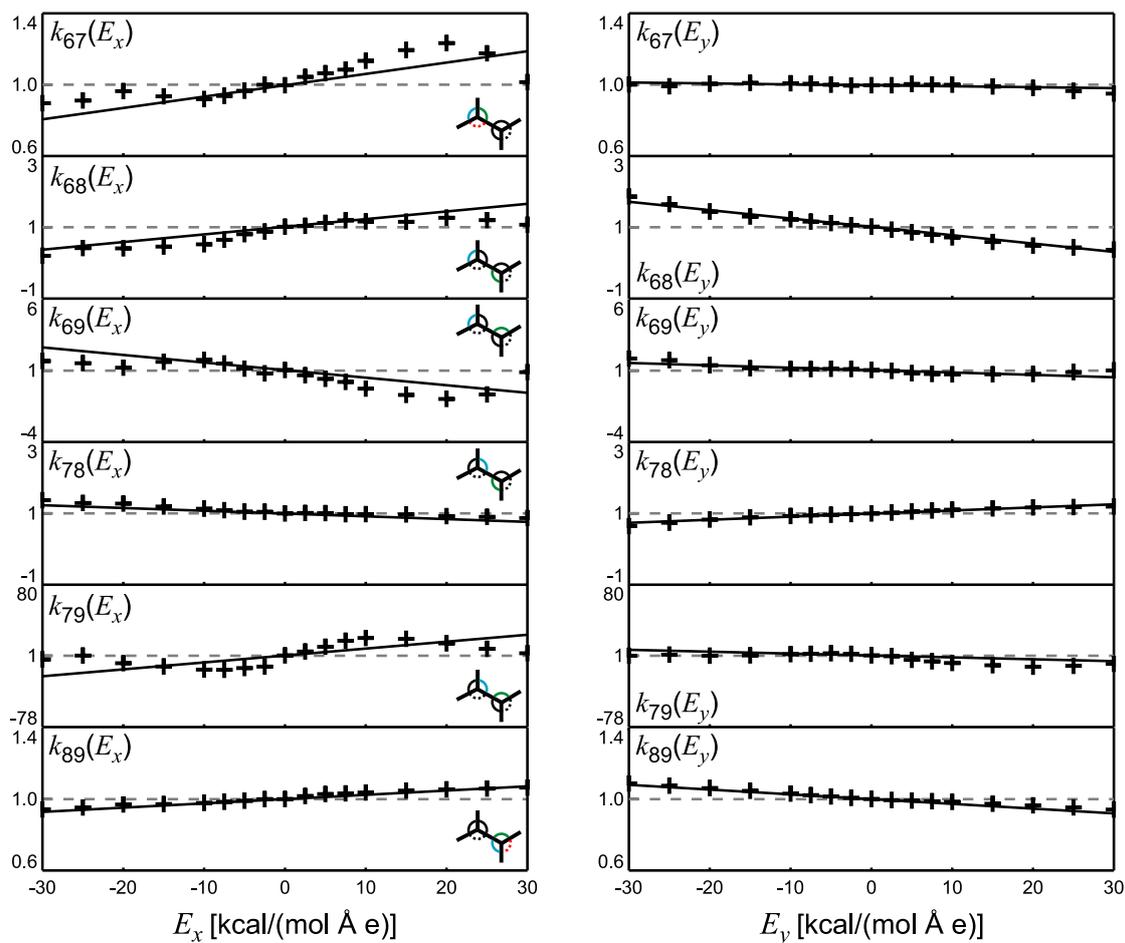
**Figure 10.** Response of the **diagonal stretch force constants** to external fields. The graphs show the force constants  $\tilde{k}_{ii}(E_l)$  normalized to their zero field values  $\tilde{k}_{ii}(0)$  as functions of the homogeneous external electric fields  $E_l$ ,  $l \in \{x, y\}$ . Plus signs (+) mark DFT results; straight black lines are linear response functions. For easier reference the associated ICs are marked by red color in the inserted small drawings of the amide group (cf. Fig. 2 in the article).



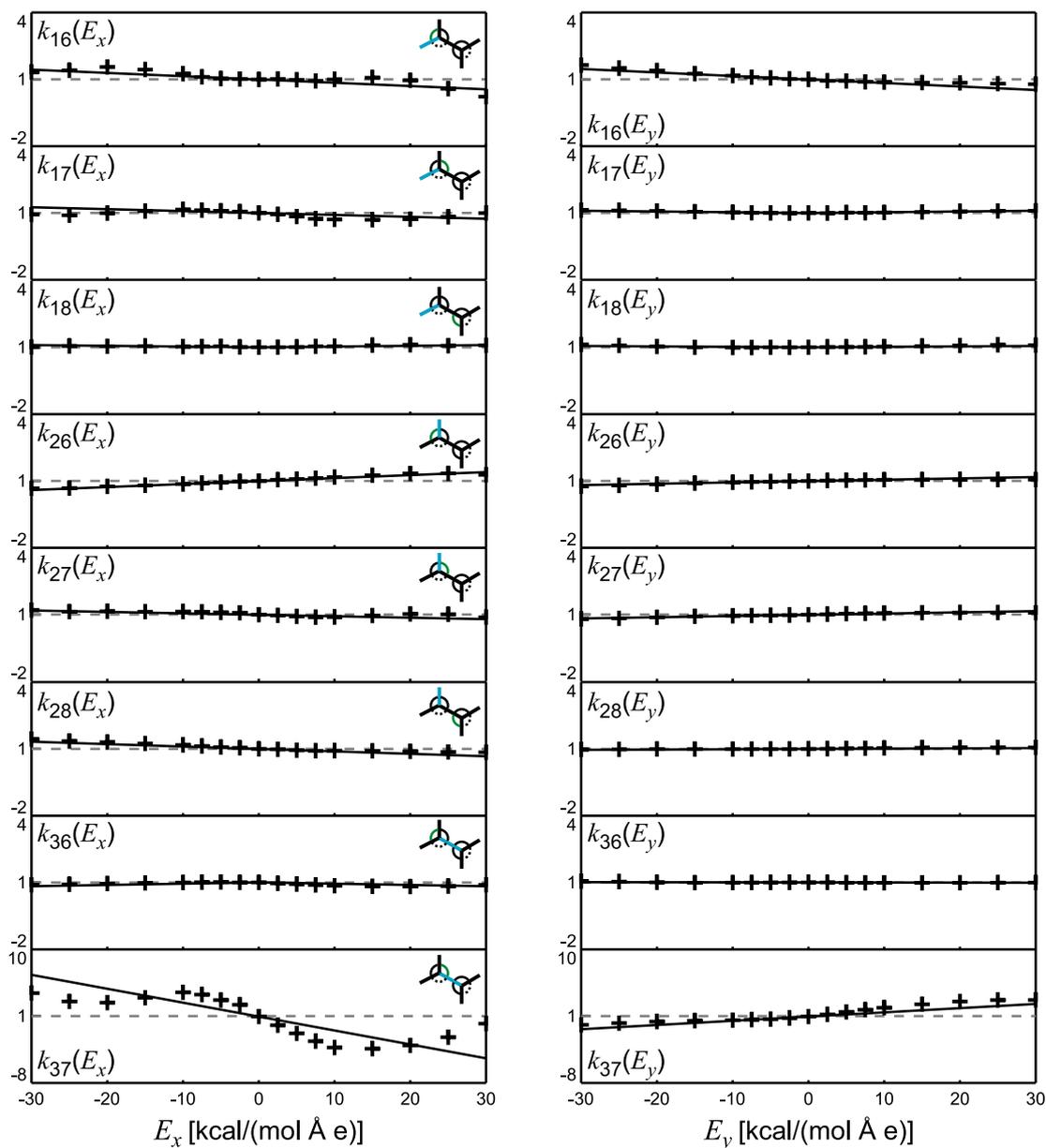
**Figure 11.** Response of the **diagonal bend force constants** to external fields. The graphs show the force constants  $\tilde{k}_{ii}(E_l)$  normalized to their zero field values  $\tilde{k}_{ii}(0)$  as functions of the homogeneous external electric fields  $E_l$ ,  $l \in \{x, y\}$ . Plus signs (+) mark DFT results; straight black lines are linear response functions. For easier reference the associated ICs are marked by red color in the inserted small drawings of the amide group (cf. Fig. 2 in the article).



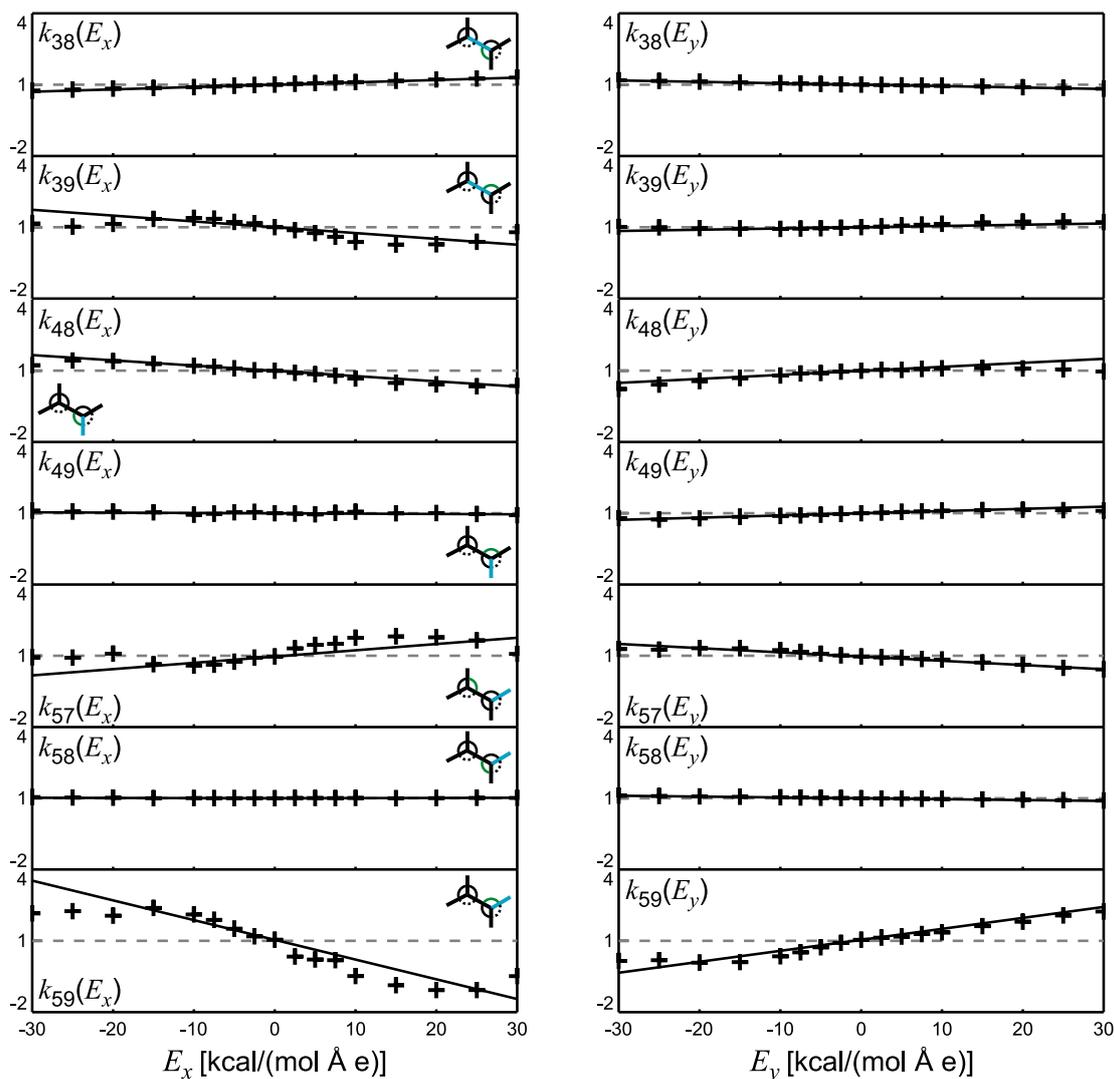
**Figure 12.** Response of the stretch-stretch coupling terms to external fields. The graphs show the force constants  $\tilde{k}_{ij}(E_l)$  normalized to their zero field values  $\tilde{k}_{ij}(0)$  as functions of the homogeneous external electric fields  $E_l$ ,  $l \in \{x, y\}$ . Plus signs (+) mark DFT results; straight black lines are linear response functions. For easier reference the associated ICs are marked by cyan and green color in the inserted small drawings of the amide group (cf. Fig. 2 in the article).



**Figure 13.** Response of the **bend-bend coupling terms** to external fields. The graphs show the force constants  $\tilde{k}_{ij}(E_l)$  normalized to their zero field values  $\tilde{k}_{ij}(0)$  as functions of the homogeneous external electric field  $E_l$ , as functions of the homogeneous external electric fields  $E_l$ ,  $l \in \{x, y\}$ . Plus signs (+) mark DFT results; straight black lines are linear response functions. For easier reference the associated ICs are marked by cyan and green color in the inserted small drawings of the amide group (cf. Fig. 2 in the article). In two graphs the red angle marks the diagonal internal coordinate, which is used to replace the corresponding coupling term (cf. Sec. 2 of this document and Sec. 3.2 of the article).



**Figure 14.** Response of the **stretch-bend coupling terms** to external fields (part 1). The graphs show the force constants  $\tilde{k}_{ij}(E_l)$  normalized to their zero field values  $\tilde{k}_{ij}(0)$  as functions of the homogeneous external electric fields  $E_l$ ,  $l \in \{x, y\}$ . Plus signs (+) mark DFT results; straight black lines are linear response functions. For easier reference the associated ICs are marked by cyan and green color in the inserted small drawings of the amide group (cf. Fig. 2 in the article).



**Figure 15.** Response of the stretch-bend coupling terms to external fields (part 2). The graphs show the force constants  $\tilde{k}_{ij}(E_l)$  normalized to their zero field values  $\tilde{k}_{ij}(0)$  as functions of the homogeneous external electric fields  $E_l$ ,  $l \in \{x, y\}$ . Plus signs (+) mark DFT results; straight black lines are linear response functions. For easier reference the associated ICs are marked by cyan and green color in the inserted small drawings of the amide group (cf. Fig. 2 in the article).



## 4 *Résumé* und Ausblick

The trouble with having an open mind, of course, is that people will insist on coming along and trying to put things in it.

---

*(Terry Pratchett [187])*

Dieses Dissertationsprojekt beschäftigte sich mit den Fragen, wie gut MM-MD Simulationen von Proteinen die mikroskopische Realität beschreiben, wie diese Beschreibung verbessert werden kann und auf welche Weise die Qualität einer Beschreibung bestimmt werden kann. Hier wurde exemplarisch gezeigt, dass die Berücksichtigung von Polarisierungseffekten die Grundvoraussetzung ist, um Makromoleküle adäquat zu modellieren.

Die Art wie solche polarisierbaren MM-Kraftfelder parametrisiert werden müssen, d. h. welche Effekte bei der Parametrisierung eine Rolle spielen, war allerdings bislang nicht geklärt. Als Beispielmolekül, um diese Fragestellung zu klären, wurde das Wassermolekül ausgewählt.

Diese Wahl war deshalb sinnvoll, da die Umgebung von Proteinen aus flüssigem Wasser besteht, welches daher elementar für die korrekte Beschreibung von Proteinstruktur und -funktion ist (siehe Abschnitt 1.1.3). Aufgrund der hohen Polarisierbarkeit von Wasser und dem in flüssiger Phase resultierenden induzierten Dipolmoment von 0.6–1.2 Debye [12, 188, 189] ist außerdem offensichtlich, dass ein Wassermodell polarisierbar sein muss. Nur dann kann es sowohl für die flüssige Phase als auch für Wassermoleküle im Proteininneren und – im Idealfall – auch in vollständig apolarer Umgebung, wie beispielsweise der Gasphase, eingesetzt werden.

### **Polarisierbare Wassermodelle**

Kapitel 2 meiner Dissertation befasste sich daher mit der Frage, auf welche Art wie ein polarisierbares Wassermolekül am geeignetsten beschrieben werden kann, d. h. insbesondere, welche funktionelle Form ein resultierendes Modellpotential für Wasser haben soll.

In einer vorangehenden Studie im Rahmen meiner Diplomarbeit [116] konnte ich zeigen, dass von den verschiedenen Ansätzen die Polarisierbarkeit zu beschreiben der einfachste Ansatz, die Erweiterung des Modellpotentials um einen induzierbaren Dipol, ausreicht, um die elektrostatische Signatur des Wassermoleküls korrekt zu modellieren. Nimmt man an, dass ein Wassermolekül seine Geometrie nur unwesentlich ändert, wenn es in die flüssige Phase transferiert wird, und fordert, dass ein Wassermolekül in der Gasphase das experimentelle Gasphasendipolmoment  $\mu^{\text{gas}}$  reproduzieren muss, so ist der einzige freie Parameter bei der Beschreibung des Dipolmoments eines Wassermoleküls seine Polarisierbarkeit.

Hier zeigte Abschnitt 2.1 zunächst, dass die meisten in der Literatur vorgeschlagenen Wassermodelle die experimentelle Gasphasenpolarisierbarkeit des Wassermoleküls  $\alpha_{\text{exp}}$  als Polarisierbarkeit wählen. Einige der neueren Wassermodelle [111, 112] zeichnen sich aber durch eine deutlich reduzierte Polarisierbarkeit aus. Die Autoren haben dabei die Polarisierbarkeit als freien Parameter des Modells betrachtet; die Volumeneigenschaften, die sich für das jeweilige Modell in MM-MD Simulationen ergaben, wurden dann durch Vergleich mit experimentellen Werten optimiert.

Im Rahmen der in Abschnitt 2.1 zusammengefassten Rechnungen an rigiden DFT Wassermolekülen in einer MM Wasser Umgebung wurde gezeigt, dass diese reduzierte Polarisierbarkeit verwendet werden muss, wenn das polarisierende externe Feld am Ort  $\mathbf{r}_O$  des Sauerstoffatoms gemessen wird. Tatsächlich ist die Elektronendichte des Wassermoleküls, deren Verschiebung durch elektrische Felder die Ursache für die Polarisation ist, aber über ein endliches Volumen  $v$  delokalisiert. Es wurde gezeigt, dass ein Wassermolekül das mittels DFT berechnete Dipolmoment nur dann korrekt wiedergegeben kann, wenn das Dipolmoment über das Volumenmittel des elektrischen Feldes  $\langle \mathbf{E} \rangle_v$  bestimmt wird. In diesem Fall gibt die Verwendung der experimentellen Gasphasenpolarisierbarkeit  $\alpha_{\text{exp}}$  als Proportionalitätskonstante das DFT Dipolmoment sehr gut wieder.

Da solch ein Volumenmittel in MM-MD Simulationen aber nicht zugänglich ist, muss das elektrische Feld an einem der Atome, üblicherweise am Ort des Sauerstoffatoms  $\mathbf{r}_O$ , zu Berechnung des Dipolmoments herangezogen werden. Es konnte gezeigt werden, dass diese Beschreibung genau dann näherungsweise das DFT-Dipolmoment reproduziert, wenn eine deutlich reduzierte effektive Polarisierbarkeit  $\alpha_{\text{eff}} = 0.68 \alpha_{\text{exp}}$  als Proportionalitätskonstante gewählt wird.

Unter Verwendung der elektrostatischen Parameter  $(\mu^{\text{gas}}, \alpha_{\text{eff}})$  des resultierenden Wassermodells konnten nicht nur die mittels DFT für Wassermoleküle in der flüssigen Phase berechneten elektrostatischen Signaturen reproduziert, sondern auch die Signaturen von Wassermolekülen an der Oberfläche eines Proteins mit hoher Genauigkeit wiedergegeben werden (Ergebnisse nicht gezeigt).

Wassermoleküle sind aber nicht komplett rigide, sondern flexible Moleküle. Es stellte sich folglich die Frage, wie die Eigenschaften eines Wassermoleküls von seiner Geometrie abhängen. Abschnitt 2.2 diskutierte diese Frage bezüglich der elektrostatischen

Eigenschaften. Wassermoleküle besitzen (unter Annahme von Symmetrie) zwei interne Freiheitsgrade: (i) den Abstand  $r_{\text{OH}}$  zwischen Sauerstoff und den Wasserstoffen und (ii) den Winkel  $\varphi_{\text{HOH}}$  zwischen den beiden Bindungen (siehe z. B. Abb. 1 in Literaturzitat [12]; Abschnitt 2.1). Es konnte gezeigt werden, dass Änderungen der Bindungslänge  $\Delta r_{\text{OH}}$  zu Änderungen der Polarisierbarkeit  $\Delta\alpha = \beta_r \Delta r_{\text{OH}}$  mit einer Proportionalitätskonstante  $\beta_r$  führen. Änderungen des Bindungswinkels  $\Delta\varphi_{\text{HOH}}$  resultieren in Änderungen des statischen Dipolmoments  $\Delta\boldsymbol{\mu} = -\boldsymbol{\lambda}_\phi \Delta\varphi_{\text{HOH}}$  mit dem Proportionalitätstensor  $\boldsymbol{\lambda}_\phi$ . Das Dipolmoment eines Wassermoleküls kann dann sehr genau mittels der linearen Beziehung

$$\boldsymbol{\mu} = \boldsymbol{\mu}^{\text{gas}} + \alpha_{\text{exp}} \langle \mathbf{E} \rangle_v - \boldsymbol{\lambda}_\phi \Delta\varphi_{\text{HOH}} + \beta_r \Delta r_{\text{OH}} \langle \mathbf{E} \rangle_v \quad (4.1)$$

modelliert werden. Die Analyse von  $\beta_r$  und  $\boldsymbol{\lambda}_\phi$  ergab, dass beide Effekte das Dipolmoment kaum beeinflussen (im Bereich weniger Prozente). Ferner heben sich die beiden Beiträge  $-\boldsymbol{\lambda}_\phi \Delta\varphi_{\text{HOH}}$  und  $\beta_r \Delta r_{\text{OH}} \langle \mathbf{E} \rangle_v$  für die spezifische Geometrieänderung, die beim Transfer „Gasphase  $\rightarrow$  flüssiges Wasser“ auftritt, zufällig gegenseitig auf. Dementsprechend ändert sich das Dipolmoment durch diesen Transfer nicht.

Als Resultat dieser beiden Untersuchungen ergab sich, dass ein rigides punkt-polarisierbares Wassermolekülmodell, dessen Partialladungsverteilung das Gasphasendipolmoment  $\boldsymbol{\mu}^{\text{gas}}$  reproduziert und dessen induziertes Dipolmoment mittels der reduzierten Polarisierbarkeit  $\alpha_{\text{eff}}$  und dem elektrischen Feld am Ort des Sauerstoffatoms  $\mathbf{E}(\mathbf{r}_\text{O})$  berechnet wird, das „reale“ Dipolmoment (wie es mittels DFT Rechnungen bestimmt wurde) eines flexiblen Wassermoleküls mit guter Genauigkeit reproduzieren kann.

Wie Benedikt Breitenfeld in seiner Diplomarbeit [190] am Beispiel des Wasserdimers gezeigt hat, ist die korrekte Modellierung des Dipolmoments allerdings nicht ausreichend, um lokale Strukturen von Wasser zu erklären. Dazu muss zusätzlich das Quadrupolmoment – und möglicherweise höhere Momente – richtig beschrieben werden. Anhang A diskutiert dazu die Frage, auf welche Weise das Quadrupolmoment des Monomers  $\text{H}_2\text{O}$  in der flüssigen Phase beschrieben werden kann.

Diese Ergebnisse werfen die Frage auf, auf welche Weise die elektrostatischen Eigenschaften der Bausteine von Polypeptiden und anderen biologischen Makromolekülen bestimmt werden können. Es ist offensichtlich, dass auch die Felder im Proteininneren hochgradig inhomogen sind. Da die Umgebung dort noch deutlich stärker strukturiert ist als im Volumenwasser, muss die Parametrisierung von solchen Molekülbausteinen unter Berücksichtigung eines großen Ensembles von lokalen Feldern und Molekülkonfigurationen stattfinden und kann nicht anhand isolierter Aminosäuren in externen Feldern – wie es derzeit üblich ist [71] – erfolgen.

## Proteinspektren

Als zweite Thematik wurde die Fragestellung behandelt, wie Infrarotspektren mit der Struktur eines Makromoleküls in Verbindung gebracht werden können. Hier

wurde zunächst erläutert, dass experimentelle Methoden Zugang zu Schwingungsbanden, beispielsweise des Rückgrats eines Proteins, schaffen und die Überwachung von Prozessen auf einer Zeitskala von wenigen hundert Femtosekunden ermöglichen. Es wurde dargestellt, dass sich die theoretischen Methoden zur Interpretation des IR-Spektrums von Proteinen im Wesentlichen auf den AI-Bereich beschränken, obwohl experimentelle Spektren eine Vielzahl von Schwingungsbanden in Proteinen aufweisen (siehe Abschnitt 1.1.3).

Um theoretische Vorhersagen von IR-Spektren zu ermöglichen, muss zunächst die Struktur des (Makro-)Moleküls in guter Näherung bekannt sein. Hier ist außerdem die korrekte Modellierung der Umgebung des IR-aktiven Molekülsegments, beispielsweise mittels eines PMM Kraftfelds, von entscheidender Bedeutung, da in die Umgebung induzierte Reaktionsfelder enormen Einfluss auf Schwingungsspektren haben [153, 154]. Zur Berechnung dieser Schwingungsspektren wurde in Kapitel 3 ein so genanntes spektroskopisches PMM/II Kraftfeld entwickelt.

Dazu wurden zuerst die gebundenen Parameter eines klassischen MM Kraftfelds [Gleichungen (1.2)–(1.5)] als Funktionen des externen elektrischen Feldes formuliert und die Feldabhängigkeit dieser Parameter mittels DFT Rechnungen von NMA in homogenen externen Feldern bestimmt [14]. Das resultierende Kraftfeld, im Folgenden als PMM/D bezeichnet, war in der Lage solvatochrome Effekte zu reproduzieren, die im IR-Spektrum des NMA Moleküls beim Transfer von der Gasphase in wässrige Lösung beobachtet wurden. Als Referenz dienten hierbei DFT Spektren von NMA in der Gasphase, DFT/MM Trajektorien von NMA und seinem N–D Isotopomer in wässriger Umgebung und experimentelle Daten. Das PMM/D Kraftfeld wies eine Reihe von Defiziten in der Beschreibung des Gasphasenspektrums von NMA auf, die sich in einem RMSD von  $91\text{ cm}^{-1}$  zwischen der DFT-Referenz und den PMM/D Ergebnissen widerspiegeln.

Dieser Mangel wurde in Abschnitt 3.2 durch eine Revision des Kraftfelds (PMM/O) [15] behoben. Das ursprüngliche PMM/D Kraftfeld wurde dahingehend umformuliert, dass Kopplungen zwischen den internen Freiheitsgraden [Gleichung (1.8)] explizit berücksichtigt wurden. Die resultierende Potentialfunktion für die gebundenen Wechselwirkungen (vgl. Gleichung (1.4)) wurde analog zum PMM/D Kraftfeld anhand von DFT Rechnungen in externen Feldern parametrisiert.

Da dieses neue Kraftfeld eine gewaltige Menge von 308 Parametern aufweist, wurde ferner untersucht, welche dieser Parameter wirklich notwendig sind, und dadurch der Parametersatz auf 119 reduziert. Diese Reduktion ist auf mehrere Effekte zurückzuführen: (i) die  $z$ -Abhängigkeit der *in-plane* Parameter verschwindet;<sup>1</sup> (ii) die Gleichgewichtsgeometrie und die *out-of-plane*-Kraftkonstanten müssen nicht feldabhängig gewählt werden; (iii) eine Reihe von Parametern ist so klein, dass ihre Vernachlässigung das Spektrum nicht negativ beeinflusst. Ferner wurde eine Störung des

---

<sup>1</sup> Die  $z$ -Abhängigkeit die in der ersten Publikation von Schultheis *et al.* festgestellt wurde war auf eine Verdrehung des internen Koordinatensystems von NMA zurückzuführen.

---

Amidgruppenspektrums durch die Kopplung der Freiheitsgrade der Methylgruppen and Streckschwingungen im Peptidplättchen identifiziert und durch eine geeignete Skalierung zweier Parameter kompensiert.

Nach Abschluss der Parametrisierung war das revidierte Kraftfeld PMM/O in der Lage, das Gasphasenspektrum von NMA, das mittels DFT berechnet wurde, exakt zu reproduzieren (RMSD:  $2\text{ cm}^{-1}$ ). Auch das DFT/MM Spektrum von NMA in Wasser konnten sehr genau ( $13\text{ cm}^{-1}$  RMSD) durch das PMM/O Kraftfeld wiedergegeben werden. Als weiterer Test wurden zuletzt die solvatochromen Effekte, die PMM/O für NMA in verschiedenen Lösungsmitteln vorhersagt, berechnet und mit experimentellen Daten verglichen. Es zeigte sich, dass PMM/O in der Lage ist, diese Effekte ebenfalls sehr gut zu modellieren.

Zuletzt wurde auf eine Reihe von offenen Problemen hingewiesen, die Ansatzpunkte zur Weiterentwicklung der PMM/II Methode liefern:

- Die bisherige Formulierung des PMM/II Kraftfelds verletzt die Energieerhaltung. Die Ursache dafür ist, dass die Feldabhängigkeit der Kraftkonstanten nur parametrisch in die Energiefunktion einfließt. Um eine energierhaltende Dynamik zu simulieren, müssen die Kraftkonstanten bei der Ableitung der Energiefunktion nachdifferenziert werden. Dabei stellte sich heraus, dass eine Ableitung der Kraftkonstanten nach den Koordinaten durch die Verwendung von symmetrischen Funktionen (und damit Unstetigkeiten in der Ableitung) und der Formulierung in internen Koordinaten (und damit der Notwendigkeit das Koordinatensystem nach den Orten der Atome abzuleiten) einige Schwierigkeiten aufwirft. Anhang B diskutiert eine alternative Formulierung der Feldabhängigkeit und zeigt anhand dieser, wie die Energieerhaltung sichergestellt werden kann. Die Effekte von etwaigen Feldinhomogenitäten werden dort ebenfalls kurz angesprochen.
- Das PMM/II Kraftfeld gibt die Intensitäten der Amid-Banden falsch wieder. In den PMM/II-Spektren ist die AII-Bande im Gegensatz zum Experiment (AI-Bande) die intensivste Bande. Diese Tatsache ist darauf zurückzuführen, dass statische Partialladungen, d. h. eine statische Beschreibung der Elektronendichte, gewählt wurden. Tatsächlich reagiert aber die Elektronenverteilung auf Geometrieänderungen. Anhang C behandelt dieses Problem ausführlich und demonstriert, dass die Intensitäten durch feldabhängige Partialladungen korrigiert werden können.
- Die Elektronenverteilung reagiert außerdem auf elektrische Felder. Dieser Effekt elektrostatischer Polarisierbarkeit wird in PMM/II Kraftfeldern bislang nur durch eine Molekularfeldnäherung berücksichtigt. Hier empfiehlt es sich eine FQ-Methode einzusetzen, welche die *in-plane* Verschiebung von Elektronen im  $\pi$ -Elektronensystems O–C'–N durch äußere Felder modelliert. Sollten Analysen ergeben, dass die *out-of-plane* Polarisierung der Amidgruppe in Peptiden eine Rolle spielt, so muss das Modell um zusätzliche induzierte Dipole

an den schweren Atomen erweitert werden.

- Die DFT-Rechnungen, die als Referenz für das PMM/II Kraftfeld dienen, reproduzieren die experimentell gemessenen Schwingungsfrequenzen nicht exakt. Dieses Problem wird durch die Verwendung von Skalierungsfaktoren korrigiert. Hier kann aber nur eine Mode auf den experimentellen Referenzwert skaliert werden, da die Abweichungen nicht linear in der Frequenz sind. Ein alternatives Verfahren, welches in der Lage ist, alle Frequenzen geeignet zu skalieren, wird in Anhang [D](#) vorgestellt.
- Im Peptidrückgrat sind viele Aminosäuren kovalent gebunden. Die Kopplung zweier Peptidgruppen, die an ein gemeinsames  $C_{\alpha}$ -Atom gebunden sind, muss genau analysiert werden. Hier stellt vor allem die 1-3-Exklusion, die in konventionellen Kraftfeldern zur Beschreibung der Elektrostatik [siehe Diskussion zu Gleichung (1.2)] eingesetzt wird ein Problem dar. Anhang [E](#) beleuchtet die auftretenden Komplikationen.

# A Das Quadrupolmoment von Wasser

Empty your mind, be formless,  
shapeless – like water.

---

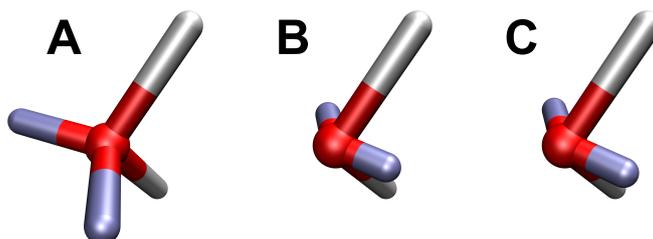
(Bruce Lee [191])

Wie die vorangehende Zusammenfassung gezeigt hat, wurde in dieser Arbeit nur das Dipolmoment des Wassermoleküls im Detail untersucht. Nun werden aber in MM-MD Simulationen von Wasser in flüssiger Phase – und auch in Simulationen von Eis – die lokalen Strukturen (vgl. Abb. 1.3) stark durch das Quadrupolmoment, d. h. durch die Geometrie der Partialladungsverteilung, des Wassermodells beeinflusst. Die Diplomarbeit von Benedikt Breitenfeld [190] zeigte dies am Beispiel eines Wasserdimers sehr deutlich. DFT-Rechnungen reproduzieren dessen experimentell gemessene Geometrie gut; eine MM Beschreibung mit einem polarisierbaren 3-Punkt-Wassermodell scheitert aber daran, dass die Bindungswinkel nicht korrekt wiedergegeben werden. Komplexere Modelle wie das TIP5P Wassermodell [93] (vgl. Abbildung A.1) reproduzieren die Geometrie eines Wasserdimers hingegen besser.

Es stellt sich folglich die Frage, wie das Quadrupolmoment des Wassermoleküls in polarisierbaren Wassermodellen modelliert werden muss. Auch hier haben erste Untersuchungen gezeigt, dass die Inhomogenität des elektrischen Feldes zu einer Veränderung des Quadrupolmoments im Vergleich zur Gasphase führt. Es weicht ebenfalls von dem Quadrupolmoment ab, das für Wasser in homogenen Feldern, die eine ähnlicher Stärke wie das mittleren Feld im Volumenwasser aufweisen, berechnet wurde.

Die Analyse von Oberflächenpotentialen von DFT-Wassermolekülen mittels eines Verfahrens, das in meiner Diplomarbeit [116] beschrieben ist, erlaubt es, optimierte 5-Punkt-Wassermodelle zu bestimmen. Für Volumenwasser wurden 3000 DFT/MM Schnappschüsse, die in Abschnitt 2.1 zur Untersuchung der Polarisierbarkeit herangezogen wurden, ausgewertet, um ein 5-Punkt Modell (ST-5B) für Volumenwasser (engl. *bulk water*) zu parametrisieren.

Abbildung A.1 zeigt die Geometrie dieses Modells und vergleicht es mit einem früheren, für die Gasphase optimierten, polarisierbaren Modell (ST-5E [116]) sowie mit dem unpolarisierbaren Volumenwassermodell *transferable intermolecular potential 5-points* (TIP5P) von Mahoney *et al* [93]. Im Gegensatz zum Gasphasen-Modell



**Abbildung A.1:** Visualisierung dreier Wassermodelle. TIP5P (A) [93]; ein für die Gasphase optimiertes Modell mit der Bezeichnung ST-E5 (B) [116] und ein neues Modell mit der Bezeichnung ST-5B (C). Wasserstoffatome sind weiß, Sauerstoffatome rot und masselose Ladungsaufpunkte hellblau eingefärbt.

ST-5E weist das Volumenwassermolekül einen verlängerten Abstand  $r_{OL}$  von  $0.4624 \text{ \AA}$  zwischen den masselosen Ladungsaufpunkten und dem Sauerstoffatom auf. Der Bindungswinkel  $\varphi_{LOL}$  zwischen den masselosen Ladungsaufpunkten ist auf  $135.52^\circ$  erweitert.

Um das Quadrupolmoment exakt zu modellieren, ist aber voraussichtlich eine genauere Modellierung des Lösungsmittels anhand von DFT/PMM Rechnungen von DFT Wassermolekülen in wässriger Lösung, die mittels PMM beschrieben wird, notwendig. Solche Rechnungen sind aufgrund der Arbeiten von Benedikt Breitenfeld (DFT/PMM Kopplung) [190] und Magnus Schwörer (Verifikation der PMM Routinen im Programm EGO; Literaturzitat [192] sowie fortlaufende Arbeiten) nun möglich.

## B PMM/II<sub>Φ</sub> und Energieerhaltung

It is important to realize that in physics today, we have no knowledge what energy is.

---

(Richard Feynman [193])

Die Feldabhängigkeit der gebundenen Parameter  $\vartheta$  wurde in den bislang entwickelten PMM/II-Kraftfeldern [14, 15] als Funktion

$$\vartheta(\mathbf{E}^{\text{int}}) = \vartheta(0) + \boldsymbol{\alpha}\mathbf{E}^{\text{int}} \quad (\text{B.1})$$

des externen elektrischen Feldes  $\mathbf{E}^{\text{int}}$  formuliert, welches im internen Koordinatensystem  $\hat{\mathbf{e}}_i^{\text{int}}(\mathbf{R})$  des jeweiligen Peptidplättchens definiert ist. Die Lage dieses Koordinatensystems ist dabei durch die Orte der O-, C'- und N-Atome definiert. Diese Tatsache macht es nötig, die internen Koordinatensysteme aller Amidgruppen zu jedem Zeitschritt eigens zu berechnen. Ferner ändern sich deshalb die Kraftkonstanten nicht nur, wenn sich das externe Feld ändert, sondern aufgrund der Anisotropie von  $\boldsymbol{\alpha}$  (siehe beispielsweise Schultheis *et al.* [14]) auch dann, wenn sich das Koordinatensystem – durch die Bewegung eines einzelnen Atoms – leicht dreht.

### Potentialabhängige Antwortfunktionen

Felder, die innerhalb der Ebene des Peptidplättchens wirken können auch als finite Differenzen der Potentiale formuliert werden. Unter den Annahmen, dass die C'-N Bindung senkrecht zur C'=O Bindung ist und dass das elektrische Feld homogen ist,<sup>1</sup> kann  $E_y$  durch die Potentialdifferenz zwischen den Orten  $\mathbf{r}_{C'}$  des C'- und  $\mathbf{r}_O$  des O-Atoms und  $E_x$  durch die Potentialdifferenz zwischen  $\mathbf{r}_{C'}$  dem Orte  $\mathbf{r}_N$  des N-Atoms ersetzt werden. Resultierend kann die Feldabhängigkeit der Parameter als

$$\vartheta(\Phi) = \vartheta(0) + \beta_{C'} \Phi(\mathbf{r}_{C'}) + \beta_O \Phi(\mathbf{r}_O) + \beta_N \Phi(\mathbf{r}_N) \quad (\text{B.2})$$

---

<sup>1</sup> Diese Annahme wurde bei der Ableitung der Feldabhängigkeit gemacht [14, 15]. Die Ergebnisse aus Kapitel 2 legen aber die Vermutung nahe, dass das innerhalb einer Amidgruppe wirkende Feld in polaren Umgebungen ebenfalls hoch inhomogen ist.

formuliert werden. Dabei ergeben sich die Parameter  $\beta_m$  aus den Parametern  $\alpha$  der linearen Antwortfunktionen (B.1) und der Gleichgewichtsgeometrie ( $l_{C'O}^0, l_{C'N}^0$ ) zu

$$\begin{aligned}\beta_{C'} &= -\alpha_x / l_{C'N}^0 - \alpha_y / l_{C'O}^0 \\ \beta_O &= \alpha_y / l_{C'O}^0 \\ \beta_N &= \alpha_x / l_{C'N}^0.\end{aligned}\tag{B.3}$$

Das resultierende Kraftfeld, hier bezeichnet als PMM/II $\Phi$ , ist dann nicht mehr vom internen Koordinatensystem der Amidgruppe abhängig. Im Rahmen der Revision und Erweiterung des PMM/II Kraftfelds [15] wurde festgestellt, dass die Feldabhängigkeit der Geometrie und die  $E_z$ -Abhängigkeit der Kraftkonstanten vernachlässigt werden können. Damit wird die PMM/II $\Phi$  Formulierung [Gleichungen (B.2) und (B.3)] im Wesentlichen identisch mit der vorherigen PMM/II Form [Gleichung (B.1)].<sup>1</sup>

Aufgrund der Tatsache, dass die C'-N- und C'=O-Bindungen nicht senkrecht aufeinander sind, ist die Berechnung der Parameter  $\beta_m$ ,  $m \in \{C', O, N\}$ , allerdings marginal komplexer und ergibt sich zu

$$\begin{aligned}\beta_{C'} &= -\alpha_x \left\{ [l_{C'N}^0 \sin(\varphi_{OC'N}^0)]^{-1} + [l_{C'O}^0 \tan(\varphi_{OC'N}^0)]^{-1} \right\} - \alpha_y / l_{C'O}^0 \\ \beta_O &= \alpha_x [l_{C'O}^0 \tan(\varphi_{OC'N}^0)]^{-1} + \alpha_y / l_{C'O}^0 \\ \beta_N &= \alpha_x [l_{C'N}^0 \sin(\varphi_{OC'N}^0)]^{-1}.\end{aligned}\tag{B.4}$$

Eine erste derartige Parametrisierung des PMM/II $\Phi$  Kraftfelds wurde bereits abgeschlossen und reproduziert für NMA die Bandenlagen des bisherigen PMM/II Kraftfelds (vgl. schwarze Kurve in Abbildung C.1A unten).

Erweitert man nun Gleichung (B.2) derart, dass die Potentiale an den Orten aller Atome  $N$  der Peptidgruppe berücksichtigt werden

$$\vartheta(\Phi) = \vartheta(0) + \sum_{m=1}^N \beta_m \Phi(\mathbf{r}_m),\tag{B.5}$$

so ist man in der Lage, Inhomogenitäten des elektrischen Feldern innerhalb der Amidgruppe zumindest teilweise zu erfassen. Hier ist die Vermutung, dass ein derartiges

---

<sup>1</sup> Effekte wie die Symmetrie einer Antwortfunktion können durch PMM/II $\Phi$  nicht reproduziert werden. Diese symmetrischen Terme traten aber vor allem in der nun verschwindenden  $z$ -Komponente auf. Die verbleibenden symmetrischen Beiträge repräsentieren schwache Feldabhängigkeiten. Die Symmetrie war hier aufgrund verhältnismäßig großer Streuung der Daten nicht eindeutig (siehe das Ergänzungsmaterial zu Literaturzitat [15] abgedruckt in Abschnitt 3.2) und die Vernachlässigung der Symmetriebedingung, beziehungsweise der gesamten Feldabhängigkeit, hatte Testrechnungen zufolge keinen Einfluß auf das Spektrum. Es handelt sich hierbei um die Responseparameter  $\alpha_{13,y}$ ,  $\alpha_{34,x}$ ,  $\alpha_{17,y}$ ,  $\alpha_{18,x}$ ,  $\alpha_{36,x}$  und  $\alpha_{58,x}$ .

Kraftfeld auch die Bandenbreiten der Amidmoden, die von den bisherigen Implementierungen (Kapitel 3 und Abbildung C.1) unterschätzt wurden, besser reproduziert. Um die zugehörigen Parameter  $\beta_m$  für jeden Freiheitsgrad zu bestimmen, ist dann allerdings eine Datenbank von Modellmolekülen für Amidgruppen, wie z. B. NMA, in verschiedenen polaren Umgebungen notwendig. Wasser allein reicht als Lösungsmittel hier nicht aus, da die dort auftretenden Reaktionsfelder nur einen kleinen Feldstärkebereich abdecken. Insbesondere ist die  $x$ -Komponente des Reaktionsfelds von NMA in Wasser sehr klein.

Es müssen also weitere Lösungsmittel sowie stärker strukturierte Umgebungen zur Parametrisierung herangezogen werden. Hier könnte die Untersuchung von NMA-Dimeren, die lokale Wechselwirkungen zwischen zwei nicht kovalent gebundenen Peptidplättchen modellieren einen möglichen Ausgangspunkt liefern. Eine weitere Möglichkeit, die Reaktion von NMA auf inhomogene Felder zu untersuchen, wäre die Verwendung von dipolaren Sonden [71] oder Ionen.

## Energieerhaltung in PMM/II Kraftfeldern

Ausgehend von der Formulierung (B.5) des PMM/II Kraftfelds, welche die Kraftkonstanten als Funktionen des elektrischen Potentials beschreibt, kann nun auch die Erhaltung der Gesamtenergie eingehend untersucht werden.<sup>1</sup> In der bisherigen Formulierung des Kraftfelds {Gleichung (13) in Literaturzitat [15]} gehen die feldabhängigen Kraftkonstanten nur parametrisch ein. Das resultiert darin, dass eine Änderung  $\Delta k_{ij}$  einer Kraftkonstanten  $k_{ij}$ , z. B. weil sich ein geladenes Atom in der Nähe bewegt, immer eine Änderung

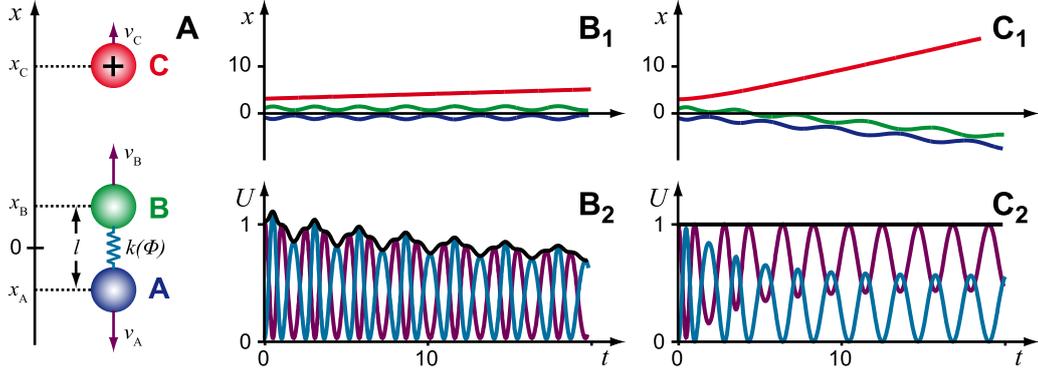
$$\Delta U = \Delta k_{ij}(l_i - l_i^0)(l_j - l_j^0)$$

der Gesamtenergie  $U$  des Systems zur Folge hat.

Abbildung B.1B zeigt dieses Verhalten für ein Minimalsystem (Abb. B.1A) bestehend aus zwei mit einer polarisierbaren Feder gekoppelten Teilchen (A, B) im Feld einer positiven Ladung (C), die sich mit der Ausgangsgeschwindigkeit  $v_C$  entfernt. Während sich die Ladung entfernt, fällt das Potential an den Orten der beiden ungeladenen Teilchen ab. Die Kraftkonstante fällt gleichermaßen und potentielle Energie geht verloren.

Dieses Verhalten kann korrigiert werden, indem die Kraftkonstanten explizit in die Energiefunktion aufgenommen werden. Bei der Berechnung der Kräfte muss dann die Kraftkonstante nach den Koordinaten aller Atome nachdifferenziert werden, deren

<sup>1</sup> Prinzipiell war dies in der feldabhängigen Formulierung auch möglich, resultiert aber aufgrund der Anisotropie von  $\alpha$  in äußerst komplizierten Termen, die aus dem Nachdifferenzieren der Einheitsvektoren  $\hat{\mathbf{e}}_l^{\text{int}}(\mathbf{R})$  des molekuleigenen Koordinatensystems stammen.



**Abbildung B.1:** Eindimensionales Modellsystem zur Demonstration der Energieerhaltung in PMM/II $\Phi$  Kraftfeldern (A). Zwei **ungeladene** Teilchen (**A**, **B**) sind über eine Feder mit einer potentialabhängigen Kraftkonstante  $k(\Phi)$  verbunden. Ein drittes **geladenes** Teilchen (**C**) entfernt sich mit einer Anfangsgeschwindigkeit  $v_C$ . Das System wurde einmal (B) mit der bisherigen PMM/II Formulierung [14, 15] und einmal (C) mit der explizit energieerhaltenden Form (B.9) simuliert. Die Graphen B<sub>1</sub> und C<sub>1</sub> zeigen die Trajektorien der Teilchen aus Abbildung A (gleiche Farben). Die Graphen B<sub>2</sub> und C<sub>2</sub> zeigen den Verlauf der Systemenergie: schwarz: Gesamtenergie; türkis: potentielle Energie; violett: kinetische Energie.

Ladungen zum Potential an den Orten  $\mathbf{r}_m$  der Atome der Amidgruppe beitragen. Die energieerhaltende [engl. *energy conserving* (EC)] Potentialfunktion

$$U_q^{\text{EC}}[\mathbf{l}, \Theta(\Phi)] = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^M \vartheta_{ij}(\Phi) (l_i - l_i^0) (l_j - l_j^0) \quad (\text{B.6})$$

ist dann eine Funktion des Vektors der  $M$  internen Freiheitsgrade  $\mathbf{l} \equiv \{l_1, \dots, l_M\}$  und des elektrischen Potentials  $\Phi$ , bzw. der Schar der potentialabhängigen Antwortfunktionen  $\Theta(\Phi) = \{\vartheta_{ij}(\Phi); i, j = 1, \dots, M\}$ . Durch Einsetzen von Gleichung (B.5) ergibt sich der Energieausdruck zu

$$U_q^{\text{EC}}(\mathbf{l}, \Phi) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^M (l_i - l_i^0) (l_j - l_j^0) \left[ \vartheta_{ij}(0) + \sum_{m=1}^N \beta_{ij,m} \Phi(\mathbf{r}_m) \right]. \quad (\text{B.7})$$

Führt man nun einige der Terme zu einer Größe

$$\tilde{Q}_m(\mathbf{l}) = \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^M \frac{\beta_{ij,m}}{2} (l_i - l_i^0) (l_j - l_j^0) \quad (\text{B.8})$$

zusammen, so findet man, dass sich das Gesamtpotential

$$U_q^{\text{EC}}(\mathbf{l}, \Phi) = U_q^{\text{NP}}(\mathbf{l}) + U_q^{\text{P}}(\mathbf{l}, \Phi) \quad (\text{B.9})$$

---

als Summe des nicht polarisierbaren [engl. *not polarizable* (NP)] quadratischen Potentials

$$U_q^{\text{NP}}(\mathbf{l}) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^M v_{ij}^0 (l_i - l_i^0)(l_j - l_j^0) \quad (\text{B.10})$$

und eines Terms zusammensetzt der die Polarisationsanteile

$$U_q^{\text{P}}(\mathbf{l}, \Phi) = \sum_{m=1}^N \tilde{Q}_m \Phi(\mathbf{r}_m) \quad (\text{B.11})$$

beschreibt. Dieser zweite Term hat äußerlich die Form von Ladungen in einem externen Potential. Aus diesem Grund bezeichnen wir die  $\tilde{Q}_m$  als virtuelle Ladungen, wobei betont werden muss, dass sie keine elektrischen Ladungen im physikalischen Sinn sind. Die virtuellen Ladungen tragen deshalb auch nicht zum Gesamtdipolmoment  $\boldsymbol{\mu}$  des Moleküls bei. Die Ableitung von  $U_q^{\text{EC}}[\mathbf{l}(\mathbf{R}), \Phi(\mathbf{R})]$  nach den Koordinaten ergibt die, aus der nicht energieerhaltenden Formulierung bekannten, Kräfte in Richtung der internen Freiheitsgrade sowie zusätzliche Kräfte, die elektrostatischen Kräften ähnlich sind und identisch zu diesen berechnet und behandelt werden müssen.

Abbildung B.1C zeigt das Verhalten des Minimalsystems (Abb. B.1A) unter Berücksichtigung der zusätzlichen Kräfte. Wie Abbildung B.1C<sub>2</sub> zeigt, ist die Energie absolut konstant. Die Dynamik des Systems (Abb. B.1C<sub>1</sub>) ändert sich im Vergleich mit dem nicht energieerhaltenden System (Abb. B.1B<sub>1</sub>) dahingehend, dass der elektrostatisch ungeladene harmonische Oszillator (Teilchen **A** und **B**) das geladene Teilchen (**C**) nun abstößt. Wie der Vergleich von Abb. B.1B<sub>2</sub> mit Abb. B.1C<sub>2</sub> zeigt, geht bei diesen Prozess die potentielle Energie (türkise Kurve) nun nicht mehr verloren, sondern wird in kinetische Energie (violette Kurve) umgewandelt.

Eine Vorabversion dieser neuen Energiefunktion wurde in das MM-MD Programm EGO [25] für die direkte elektrostatische Wechselwirkung, die hier bis etwa 10 Å reicht, implementiert. Eine Erweiterung auf die langreichweitige Elektrostatik, die in EGO mit dem FAMUSAMM Algorithmus [194] ausgewertet wird, steht noch aus. Die Resultate der Vorabversion sind in der schwarzen Kurve in Abbildung C.1A zu sehen. Offensichtlich ist das energieerhaltende PMM/II $_{\Phi}^{\text{EC}}$  Kraftfeld in der Lage, die Bandenpositionen genauso gut zu reproduzieren, wie das in Literaturzitat [15] vorgestellte Kraftfeld PMM/O. Genaue Tests bezüglich der Effekte der zusätzlichen Kräfte auf die Gleichgewichtsgeometrie, Schwingungsmoden und -frequenzen anhand von INMA Spektren müssen noch durchgeführt werden.



## C Intensität der AI- und AII-Moden

It worked.

---

(J. Robert Oppenheimer [195])

Wie in Abschnitt 3 diskutiert wurde, überschätzt das PMM/O Kraftfeld [15] die Intensität der AII-Mode in Relation zur AI-Mode. Diese Tatsache ist auf die Modellierung des Dipolmoments  $\boldsymbol{\mu}$  als

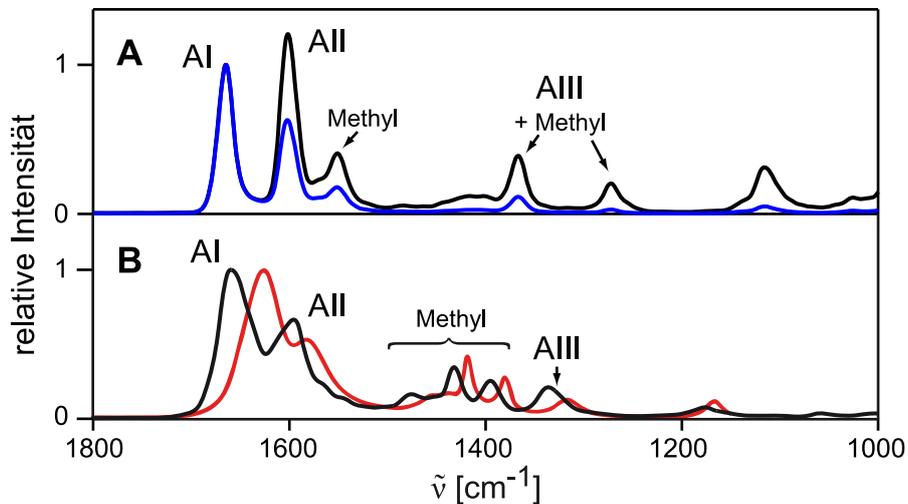
$$\boldsymbol{\mu} = \sum_{i=1}^N \mathbf{r}_i Q_i \quad (\text{C.1})$$

mit statischen Partiaalladungen  $Q_i$  am  $i$ -ten Atom zurückzuführen. Der Grund, warum eine solche Modellierung nicht ausreicht, ist, dass die Koeffizienten  $c_A$  und  $c_B$ , welche die elektronische Wellenfunktion (1.7) beschreiben, (vgl. Abbildung 1.7 in Abschnitt 1.2.1), nicht nur vom äußeren elektrischen Feld, sondern auch von der Geometrie der Peptidgruppe abhängen. Deshalb gehen Änderungen der Geometrie mit definierten Änderungen der elektronischen Wellenfunktion einher. Gerade bei Schwingungen der AI- und AII- Mode finden Geometrieänderungen statt, die in einer starken Änderung der Koeffizienten  $c_A$  und  $c_B$  resultieren. So nimmt beispielsweise  $c_B$  bei einer vorübergehenden Elongation der C'-O Bindung zu, d. h. die rechte (B) mesomere Grenzstruktur in Abb. 1.7 trägt zeitweise stärker zur Gesamtwellenfunktion bei.

Um nun diese Effekte reproduzieren zu können, muss ein Kraftfeld für die Amidgruppe eine derartige Abhängigkeit der elektrostatischen Signatur von der Geometrie  $\mathbf{R}$ , beziehungsweise den internen Koordinaten  $\mathbf{I}(\mathbf{R})$ , der Amidgruppe enthalten. Im Falle des in der Arbeit entworfenen PMM/II Kraftfelds könnte dies in Form von geometrieabhängigen Partiaalladungen  $\hat{Q}_i(\mathbf{R})$  realisiert werden. Ein erster Ansatz zur Modellierung solcher Abhängigkeiten wurde in der Bachelorarbeit von Peter Röttgermann [196] unternommen. In der Arbeit wurden Funktionen  $\hat{Q}_i(\mathbf{R})$  für das Modellmolekül NMA mittels DFT Rechnungen bestimmt. Hier wurde insbesondere die Reaktion auf Auslenkungen  $\Delta l_{CO}(\mathbf{R})$  und  $\Delta l_{CN}(\mathbf{R})$  [vgl. Gleichung (1.1)] der C'-O- und C'-N-Bindungen untersucht. Als Resultat wurden lineare Antwortfunktionen

$$Q_i(\Delta l_{CO}, \Delta l_{CN}) = Q_i + \gamma_{i,CO} \Delta l_{CO} + \gamma_{i,CN} \Delta l_{CN} \quad (\text{C.2})$$

mit Parametern  $\gamma_{i,\text{CO}}$  und  $\gamma_{i,\text{CN}}$  gefunden.



**Abbildung C.1:** Spektrum von NMA in wässriger Lösung: (A) FTTCF Spektren berechnet mit einem PMM/II $_{\Phi}$  Kraftfeld; schwarze Kurve: statische Partialladungen; blaue Kurve: geometrieabhängige Partialladungen. (B) Referenzspektren; schwarze Kurve: FTTCF Spektrum berechnet aus einer DFT/MM Trajektorie [15]; rote Kurve: experimentell gemessenes Spektrum [174].

Abbildung C.1A zeigt den Effekt, den die Berücksichtigung dieser Antwortfunktionen auf die relativen Intensitäten der AI-, AII- und AIII-Mode hat. Der Vergleich der blauen mit der schwarzen Kurve zeigt deutlich, dass eine Berücksichtigung der Geometrieabhängigkeit der Partialladungen  $\hat{Q}_i(\mathbf{R})$  zu einer Reduktion der AII- und AIII-Intensität in Relation zur AI-Intensität führt. Das resultierende Spektrum (blaue Kurve in Abb. C.1A) reproduziert die Intensitäten der DFT/MM (schwarze Kurve in Abb. C.1B) und der experimentellen Referenz (rote Kurve in Abb. C.1B) sehr gut und deutlich besser als die schwarze Kurve in Abbildung C.1A, die aus der Verwendung von statischen Partialladungen  $Q_i$  – aber einer ansonsten identischen Trajektorie  $\mathcal{T}$  – resultiert.

Diese ersten Testrechnungen zeigen, dass die Berücksichtigung der Geometrieabhängigkeit der Partialladungen essentiell für die Reproduktion der Intensitäten ist. An dieser Stelle gibt es aber noch eine Reihe von Problematiken:

- (i) Zunächst scheint die AIII-Mode in Abbildung C.1A zu wenig intensiv. Das deutet darauf hin, dass die Abhängigkeit von den C'=O- und C'-N-Bindungen noch nicht ausreicht, um alle Effekte zu erfassen.
- (ii) Ferner wird im Modell, das zur Berechnung der blauen Kurve in Abbildung C.1A herangezogen wurde, die Feldabhängigkeit nur zur Berechnung des Spektrums berücksichtigt; die Partialladungen  $Q_i$ , die zur Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkung in Gleichung 1.2 auftauchen, sind die statischen Par-

---

tialladungen. Da die Schwingungsmoden unterschiedlicher Peptidplättchen im Protein aber elektrostatisch aneinander koppeln, müssen die geometrieabhängigen Partialladungen  $\widehat{Q}_i(\mathbf{R})$  auch hier berücksichtigt werden.

- (iii) Als Resultat treten zusätzliche Potentialterme auf, die analog zu den feldabhängigen Bindungsparametern, Beiträge zur Energie und damit weitere Kraftbeiträge liefern. Diese Beiträge müssen sorgfältig untersucht werden, um eine physikalisch sinnvolle Dynamik simulieren zu können.



## D Modenspezifische Skalierung

Immer und immer wieder bitte ich:  
weniger Zahlen, dafür gescheitere.

---

(Wladimir Iljitsch Lenin [197])

In Tabelle 3 von Literaturzitat [14] vergleichen Schultheis *et al.* experimentell gemessenen IR- [175] und Resonanz Raman [180] Spektren des Moleküls NMA in der Gasphase mit DFT-Ergebnissen. Die Tabelle zeigt, dass die Dichtefunktionaltheorie die experimentellen Schwingungsfrequenzen nicht exakt reproduziert. Dementsprechend wird ein PMM/II-Kraftfeld, das anhand von DFT- und DFT/MM-Rechnungen parametrisiert wurde, sowohl in der Gasphase als auch in polaren Umgebungen Schwingungsfrequenzen vorhersagen, die von den experimentellen Zahlen abweichen. Dieser Tatsache wird in Kapitel 3 Rechnung getragen, indem die DFT-, DFT/MM- und PMM/O-Ergebnisse mit einem Skalierungsfaktor von 1.0354 multipliziert werden. Die oben genannte Tabelle zeigt aber, dass dieser Skalierungsfaktor nur für die Amid-I- und Amid-III-Schwingungen geeignet ist. Die Amid-II-Frequenz wird hingegen von der unskalierten DFT-Methode gut reproduziert; die Amid-IV- und Amid-V-Frequenzen werden überschätzt, sodass ein Skalierungsfaktor um 0.97 diese Frequenzen auf die experimentellen Werte verschiebt. Aufgrund dieser Streuung kann ein Spektrum, welches mit einem globalen Faktor skaliert wird, nur jeweils einen Teil der Schwingungsfrequenzen reproduzieren.

Es stellt sich daher die Frage, ob eine andere Methode zur Berechnung der Schwingungsfrequenzen geeigneter ist als die angewandte DFT Methode. Bisherige eigene Testrechnungen (nicht veröffentlicht) sowie die Ergebnisse anderer Arbeiten [174, 184] deuten darauf hin, dass dieses Problem auch bei anderen Methoden auftritt, wie beispielsweise anderen DFT-Funktionalen als dem verwendeten, der Møller-Plesset-Störungstheorie, *complete active state*- und weiteren quantenchemischen Methoden.

Ein Ansatz, um diese Schwierigkeit zu lösen, besteht darin, die modenspezifischen Skalierungsfaktoren (Schultheis *et al.* [14], Tabelle 3) in das PMM/II Kraftfeld zu integrieren. Ein erster Versuch dazu wurde bereits an der ersten Implementierung des PMM/II Kraftfelds unternommen (siehe dazu das ergänzende Material zu Literaturzitat [14] abgedruckt in Abschnitt 3.1) – hier sollte allerdings versucht werden, die PMM/II Vorhersagen mit den DFT Ergebnissen in Einklang zu bringen. Dieser

Versuch scheiterte dort aufgrund des zu stark eingeschränkten Parameterraums des Kraftfelds.

Für das PMM/O Kraftfeld und andere spektroskopische Kraftfelder scheint eine Integration der modenspezifischen Skalierungsfaktoren aber unproblematisch. In harmonischer Näherung werden, mit der Theorie kleiner Schwingungen [151], Schwingungsmoden und -frequenzen durch einen relativ einfachen Algorithmus aus der Hessematrix berechnet. Zunächst wird die massengewichtete Hesse-Matrix

$$H_{ij} = m_i^{\frac{1}{2}} k_{ij} m_j^{\frac{1}{2}} \quad (\text{D.1})$$

aus den Massen  $m_i$  und den Einträgen  $k_{ij}$  der Hesse-Matrix  $\mathbf{K}$  berechnet. Mit einer orthogonalen Transformation  $\mathbf{O}$  wird diese Matrix in eine diagonale Form

$$\tilde{\mathbf{H}} = \mathbf{OHO}^{-1} \quad (\text{D.2})$$

transformiert.<sup>1</sup>  $\mathbf{O}$  enthält dann die Eigenvektoren (Schwingungsmoden) und die diagonale Matrix  $\tilde{\mathbf{H}}$  enthält die Eigenwerte als Diagonalelemente. Aus den Eigenwerten folgen direkt die Schwingungsfrequenzen  $\nu_i = \sqrt{\tilde{H}_{ii}}$ .

Ersetzt man nun die Matrix  $\tilde{\mathbf{H}}$  durch eine Matrix  $\tilde{\mathbf{H}}^s$  mit den Diagonalelementen  $\tilde{H}_{ii}^s = (\nu_i s_i)^2$ , wobei  $s_i$  die  $i$ -te Schwingungsfrequenz auf den „experimentellen“ Wert skaliert, so gibt Gleichung (D.2) an, wie man die zugehörige massengewichtete Hesse-Matrix  $\mathbf{H}^s$  berechnet. „Experimentelle“ Werte stehen für die Schwingungsmoden einer isolierten Amidgruppe allerdings nicht zur Verfügung; sie können aber mit dem von Schultheis et al. [14] vorgeschlagenen Trick (vgl. Abb. 6 in Literaturzitat [14]) aus „isotopenmarkierten“ Gasphasenspektren extrahiert werden. Die Hesse-Matrix  $\mathbf{K}^s$  folgt dann direkt mittels Gleichung (D.1).

Überträgt man die so skalierte Hesse-Matrix  $\mathbf{K}^s$ , wie in Abschnitt 3.2 beschrieben, in ein Kraftfeld, so reproduziert dieses die experimentellen Schwingungsfrequenzen anstatt die DFT-Werte wiederzugeben. Um die Feldabhängigkeit korrekt zu beschreiben, dürfte es ausreichen, die bereits bekannten Parameter  $\alpha_{ij}$  bzw.  $\beta_{ij,m}$  (PMM/II $_{\Phi}$ ) der linearen Antwortfunktionen mit Faktoren  $s_{ij} = k_{ij}^s/k_{ij}$  zu skalieren.

Das aus einer solchen Transformation resultierende Kraftfeld hängt dann weniger davon ab, ob die zur Parametrisierung herangezogene Referenzrechnung die Schwingungsfrequenzen richtig reproduzieren, sondern vielmehr davon, wie gut die vorhergesagten Schwingungsmoden mit den realen Schwingungsmoden des Moleküls übereinstimmen. Da solche Schwingungsmoden experimentell nicht zugänglich sind, kann eine Beurteilung der bislang verwendete DFT Methode nur durch Vergleich der Eigenmoden mit den Resultaten anderer quantenchemischer Methoden stattfinden. Erste Berechnungen dazu wurden mittels Møller–Plesset-Störungstheorie von Felix Segerer im Rahmen seiner Bachelorarbeit [184] durchgeführt.

---

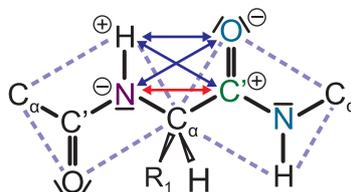
<sup>1</sup> Da  $\mathbf{H}$  symmetrisch ist, kann eine solche Transformation  $\mathbf{O}$  immer gefunden werden.

## E Kovalent gebundene Amidgruppen

Das was aus Bestandteilen so zusammengesetzt ist, dass es ein einheitliches Ganzes bildet, [. . .], das ist offenbar mehr als bloß die Summe seiner Bestandteile.

(Aristoteles [198])

Im Proteinerückgrat sind Amidgruppen kovalent aneinander gebunden. In MM-Kraftfeldern (Abschnitt 1.1.1) werden elektrostatische Wechselwirkungen allerdings nur zwischen solchen Atomen berechnet, die durch mindestens drei chemische Bindungen voneinander getrennt sind (bezeichnet als 1-3-Exklusion), oder solchen, die keinerlei chemische Bindung zueinander aufweisen.



**Abbildung E.1:** Zwei kovalent gebundenen Peptidgruppen. Blaue Pfeile zeigen Paare von Atome, deren Wechselwirkungen in MM-Kraftfeldern als ungebunden behandelt werden (nicht alle Wechselwirkungen sind eingezeichnet). Der rote Pfeil zeigt ein Paar von Atomen, für das aufgrund der 1-3-Exklusion **keine** ungebundene Wechselwirkung berechnet wird.

Abbildung E.1 zeigt zwei kovalent gebundene Amidgruppen und die nicht-gebundenen Wechselwirkungen die zwischen den Nachbaratomen des C<sub>α</sub>-Atoms (blaue Pfeile) berechnet werden. Wie der rote Pfeil in der Graphik anzeigt, wechselwirken das linke (violette) N- und das rechte (grüne) C'-Atom nur über die gebundenen Wechselwirkungen miteinander. Das bedeutet, dass das Feld bzw. das Potential am Ort des C' Atoms (grün) die negative Ladung des linken N-Atoms (violett) nicht berücksichtigt. An den Orten der Nachbaratome O und N (türkis) des C'-Atoms hingegen wird die Ladung des linken (violetten) N-Atoms ausgewertet. Durch dieses Verhalten

ist das Potential (innerhalb einer Peptidgruppe) keine kontinuierliche Funktion des Ortes, sondern unterliegt erheblichen Sprüngen. Zur Berechnung der Feldabhängigkeit der Kraftkonstanten in PMM/II Kraftfeldern werden aber Potentialdifferenzen ausgewertet (entweder in Form von elektrischen Feldern oder im Fall von PMM/II<sub>Φ</sub> direkt). Das bedeutet qualitativ, dass das Potential an C'-Atomen in Polypeptidketten immer größer ist als das Potential an seinen Nachbarn und dass analog das Potential am N-Atom immer kleiner als das Potential seiner Nachbaratome. Damit taucht in der Potentialdifferenz  $\Delta\Phi_{C'N} = \Phi(\mathbf{r}_N) - \Phi(\mathbf{r}_{C'})$  in Polypeptidketten grundsätzlich ein negativer Beitrag auf, der der 1-3-Exklusion zuzuschreiben ist; ein PMM/II Kraftfeld ist dann also immer zu stark in  $E_x$ -Richtung polarisiert. Dass solch ein Verhalten unerwünscht ist, liegt auf der Hand.

Dementsprechend kann bei der Auswertung der Potentiale  $\Phi(\mathbf{r}_m)$ , die zur Berechnung der feldabhängigen Kraftkonstanten dienen, nicht auf die 1-3-Exklusion zugegriffen werden. Eine explizite Berücksichtigung der Wechselwirkung zwischen dem linken N- (violett) und dem rechten (grünen) C'-Atom (roter Pfeil in Abb. E.1) oder analog auch das Entfernen der blaue eingezeichneten Wechselwirkungen in Abbildung E.1 aus der Potentialberechnung behebt den oben diskutierten Missstand. In der Bachelorarbeit von Elke Hebisch [199] wurden erste Untersuchungen zu diesem Problem durchgeführt. Es zeichnete sich ab, dass die rot eingezeichnete Wechselwirkung zusätzlich berücksichtigt werden muss.

Wenn das Potential am C<sub>α</sub>-Atom ebenfalls zur Berechnung der Kraftkonstanten herangezogen wird, ergibt sich dort ein analoges Problem. Auch hier wird nur jeweils ein Atom der Dipole C'=O und N-H für die Berechnung des Potentials herangezogen, während das andere der 1-3-Exklusion zum Opfer fällt. In diesem Fall wird also ebenfalls eine genaue Untersuchung notwendig, welche Wechselwirkungen explizit berechnet und welche ausgeschlossen werden müssen.

Es sei angemerkt, dass aus einer Berücksichtigung der Wechselwirkung zwischen dem linken N- (violett) und dem rechten C'-Atom (grün) für die Berechnung der Potentiale  $\Phi(\mathbf{r}_m)$ , die zur Bestimmung der feldabhängigen Kraftkonstanten verwendet werden, nicht automatisch folgt, dass diese Wechselwirkung auch für die Berechnung der Elektrostatik berücksichtigt werden muss. Eine solche Berücksichtigung für die Elektrostatik würde unter anderem eine Reparametrisierung der Torsionsfreiheitsgrade am C<sub>α</sub>-Atom und damit insbesondere der CMAP [164], nötig machen.

Eine detaillierte Analyse, wie die Wechselwirkungen zwischen zwei kovalent gebundenen Aminogruppen behandelt werden müssen, beispielsweise anhand von verschiedenen Dipeptiden, steht allerdings noch aus. Referenzrechnungen für eine solche Analyse wurden jedoch bereits mittels DFT am Molekül N-Acetylglyzin-N'-methylamid – einem Dipeptid mit einem Wasserstoffrest am zentralen C<sub>α</sub>-Atom – in der Bachelorarbeit von Arne Hartz [200] durchgeführt. An dieser Stelle sei noch erwähnt, dass die 1-3-Exklusion für die van-der-Waals Wechselwirkung beibehalten werden sollte. Dies gilt insbesondere für die rot eingezeichnete Wechselwirkung in Abbildung E.1.

# Literaturverzeichnis

This one foolishly asked for immortality. I gave it to her, of course. [...] But she didn't ask for eternal youth. What an unfortunate oversight.

---

(Ysrthgrathe in „Horrors“ [201])

- [1] Nietzsche, F. *Menschliches, Allzumenschliches*. Anaconda, Köln (2006). [iii](#)
- [2] Postman, N. *Das Technopol*. Fischer, Frankfurt (1992). [vii](#)
- [3] Goodkind, T. *Confessor*. Tor Books, New York (2007). [1](#)
- [4] Fleming, A. On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to their Use in the Isolation of B. Influenzæ. *Br. J. Exp. Pathol.* **10**, 226–236 (1929). [1](#)
- [5] Schmidt, R. F. und G. Thews (Herausgeber), *Physiologie des Menschen*. Springer-Verlag, Berlin (1985). [1](#)
- [6] Okada, T., O. P. Ernst, K. Palczewski und K. P. Hofmann. Activation of Rhodopsin: New Insights from Structural and Biochemical Studies. *Trends Biochem. Sci.* **26**, 318–324 (2001). [1](#)
- [7] Ciechanover, A. The Ubiquitin–Proteasome Pathway: On Protein Death and Cell Life. *The EMBO Journal* **17**, 7151–7160 (1998). [1](#)
- [8] Krebs, H. A. und W. A. Johnson. Metabolism of Ketonic Acids in Animal Tissues. *Biochem. J.* **31**, 645–660 (1937). [1](#)
- [9] Rowland, R. S. Using X-ray Crystallography in Drug Discovery. *Curr. Opin. Drug. Discov. Devel.* **5**, 613–619 (2002). [2](#)
- [10] Franceschi, F. und E. M. Duffy. Structure-Based Drug Design Meets the Ribosome. *Biochemical Pharmacology* **71**, 1016–1025 (2005). [2](#)
- [11] Leach, A. R. und H. Jhoti (Herausgeber), *Structure-based Drug Discovery*. Springer-Verlag, Berlin (2007). [2](#)

- [12] Schropp, B. und P. Tavan. The Polarizability of Point-Polarizable Water Models: Density Functional Theory / Molecular Mechanics Results. *J. Chem. Phys. B* **112**, 6233–6240 (2008). Abgedruckt in Abschnitt 2.1. [2](#), [26](#), [91](#), [93](#)
- [13] Schropp, B. und P. Tavan. Flexibility Does Not Change the Polarizability of Water Molecules in the Liquid. *J. Phys. Chem. B* **114**, 2051–2057 (2010). Abgedruckt in Abschnitt 2.2. [2](#), [26](#)
- [14] Schultheis, V., R. Reichold, B. Schropp und P. Tavan. A Polarizable Force Field for Computing the Infrared Spectra of the Polypeptide Backbone. *J. Chem. Phys. B* **112**, 12217–12230 (2008). Abgedruckt in Abschnitt 3.1. [2](#), [14](#), [21](#), [25](#), [26](#), [94](#), [99](#), [102](#), [109](#), [110](#)
- [15] Schropp, B., C. Wichmann und P. Tavan. A Spectroscopic Polarizable Force Field for Amide Groups in Polypeptides. *J. Phys. Chem. B* Seiten 6740–6750 (2010). Abgedruckt in Abschnitt 3.2. [2](#), [26](#), [94](#), [99](#), [100](#), [101](#), [102](#), [103](#), [105](#), [106](#)
- [16] Born, M. und J. R. Oppenheimer. Zur Quantentheorie der Molekeln. *Ann. Physik* **389**, 457–484 (1927). [2](#)
- [17] Schwabl, F. *Quantenmechanik*. Springer-Verlag, Berlin (1993). [2](#)
- [18] Frisch, M. J., G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Rob, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, und J. A. Pople. Gaussian 03. Gaussian Inc. Wallingford CT 2003. [2](#)
- [19] Hohenberg, P. und W. Kohn. Inhomogeneous Electron Gas. *Phys. Rev.* **136**, B864–B871 (1964). [2](#)
- [20] Kohn, W. und L. J. Sham. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys. Rev.* **140**, A1133–A1138 (1965). [2](#)
- [21] Nonella, M. und P. Tavan. An Unscaled Quantum Mechanical Force Field for *p*-Benzoquinone. *Chem. Phys.* **199**, 19–32 (1995). [2](#)

- [22] Zhou, X., S. J. Mole und R. Liu. Density Functional Theory Study of Vibrational Spectra. 4. Comparison of Experimental and Calculated Frequencies of *all-trans*-1,3,5,7-Octatetraene — The End of Normal Coordinate Analysis? *Vib. Spectrosc.* **12**, 73–79 (1996). 2
- [23] Neugebauer, J. und B. A. Hess. Fundamental Vibrational Frequencies of Small Polyatomic Molecules from Density-Functional Calculations and Vibrational Perturbation Theory. *J. Chem. Phys.* **118**, 7215–7225 (2003). 2
- [24] Heyden, M., J. Sun, S. Funkner, G. Mathias, H. Forbert, M. Havenith und D. Marx. Dissecting the THz Spectrum of Liquid Water from First Principles *via* Correlations in Time and Space (2010). Accepted. 2
- [25] Mathias, G., B. Egwolf, M. Nonella und P. Tavan. A Fast Multipole Method Combined with a Reaction Field for Long-Range Electrostatics in Molecular Dynamics Simulations: The Effects of Truncation on the Properties of Water. *J. Chem. Phys.* **118**, 10847–10860 (2003). 3, 4, 103
- [26] van Gunsteren, W. F. und H. J. C. Berendsen. Computer Simulation of Molecular Dynamics: Methodology, Applications, and Perspectives in Chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **29**, 992–1023 (1990). 3
- [27] Allen, M. P. und D. J. Tildesley. *Computer Simulation of Liquids*. Clarendon Press, Oxford (1987). 3
- [28] Brooks, B. R., R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan und M. Karplus. CHARMM: A Program for Macromolecular Energy, Minimization, and Dynamics Calculations. *J. Comput. Chem.* **4**, 187–217 (1983). 3, 15
- [29] Berendsen, H. J. C., D. van der Spoel und R. van Drunen. GROMACS: A Message-Passing Parallel Molecular Dynamics Implementation. *Comput. Phys. Commun.* **91**, 43–56 (1995). 3
- [30] Ponder, J. W. und D. A. Case. Force Fields for Protein Simulations. *Adv. Prot. Chem.* **66**, 27–85 (2003). 3
- [31] Verlet, L. Computer “Experiments” on Classical Fluids. I. Thermodynamical Properties of Lennard-Jones Molecules. *Phys. Rev.* **159**, 98–103 (1967). 3
- [32] Carstens, H. *Konformationsdynamik lichtsichtbarer Peptide: Molekulardynamiksimulationen und datengetriebene Modellbildung*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München (2004). 4
- [33] Mathias, G. *Elektrostatische Wechselwirkungen in komplexen Flüssigkeiten und ihre Beschreibung mit Molekulardynamiksimulationen*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München (2004). 4

- [34] Mathias, G. und P. Tavan. Angular Resolution and Range of Dipole-Dipole Correlations in Water. *J. Chem. Phys.* **120**, 4393–4403 (2004). 4
- [35] Blundell, T. L. und L. N. Johnson. *Protein Crystallography*. Academic Press, London (1976). 5
- [36] Hope, H., F. Frolov, K. von Böhlen, I. Makowski, C. Kratky, Y. Halfon, H. Danz, P. Webster, K. S. Bartels, H. G. Wittmann und A. Yonath. Cryocrystallography of Ribosomal PArticles. *Acta Cryst. B* **45**, 190–199 (1989). 5
- [37] McPherson, A. Current Approaches to Macromolecular Crystallization. *Eur. J. Biochem.* **189**, 1–23 (1990). 5
- [38] Giacovazzo, C., H. L. Monaco, D. Viterbo, F. Scordari, G. Gilli, G. Zanotti und M. Catti. *Fundamentals of Crystallography*. Oxford University Press, New York (1992). 5, 6
- [39] Garman, E. F. und T. R. Schneider. Macromolecular Cryocrystallography. *J. Appl. Cryst.* **30**, 211–237 (1997). 5
- [40] Drenth, J. *Principles of Protein X-Ray Crystallography*. Springer Verlag (1999). 5
- [41] Burmeister, W. P. Structural Changes in a Cryo-Cooled Protein Crystal Owing to Radiation Damage. *Acta Cryst. D* **56**, 328–341 (2000). 5
- [42] Scheel, H. J. und T. Fukuda (Herausgeber), *Crystal Growth Technology*. John Wiley & Sons (2004). 5
- [43] Wüthrich, K. *NMR of Proteins and Nucleic Acids*. John Wiley & Sons, New York (1986). 6
- [44] Friebolin, H. *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 2. Auflage (1992). 6
- [45] Canet, D. *NMR-Konzepte und Methoden*. Springer Verlag, Berlin (1994). 6
- [46] Havel, H. A. *Spectroscopic Methods for Determining Protein Structure in Solution*. VCH Publishers, Inc., New York (1996). 6
- [47] Rao, B. D. N. und M. D. Kemple (Herausgeber), *NMR as a Structural Tool for Macromolecules*. Plenum Press, New York (1996). 6
- [48] Slichter, C. P. *Principles of Magnetic Resonance*. Springer Verlag, Berlin, 3. Auflage (1996). 6

- 
- [49] Rule, G. S. und T. K. Hitchens. *Fundamentals of Protein NMR Spectroscopy*. Springer-Verlag, Dordrecht (2006). 6
- [50] Kirkpatrick, S., C. D. Gelatt, Jr. und M. P. Vecchi. Optimization by Simulated Annealing. *Science* **220**, 671–680 (1983). 6
- [51] Brunger, A. T. und P. D. Adams. Molecular Dynamics Applied to X-ray Structure Refinement. *Acc. Chem. Res.* **35**, 404–412 (2002). 6
- [52] Hirschberger, T., M. Stork, B. Schropp, K. F. Winkelhofer, J. Tatzelt und P. Tavan. Structural Instability of the Prion Protein upon M205S/R Mutations Revealed by Molecular Dynamics Simulations. *Biophys. J.* **90**, 3908–3918 (2006). 6
- [53] MacKerell, Jr., A. D., D. Bashford, M. Bellott, R. L. Dunbrack, J. D. Evanseck, M. J. Field, S. Fischer, J. Gao, H. Guo, S. Ha, D. Joseph-McCarthy, L. Kuchnir, K. Kuczera, F. T. K. Lau, C. Mattos, S. Michnick, T. Ngo, D. T. Nguyen, B. Prodhom, W. E. Reiher, B. Roux, M. Schlenkrich, J. C. Smith, R. Stote, J. Straub, M. Watanabe, J. Wiorkiewicz-Kuczera, D. Yin und M. Karplus. All-Atom Empirical Potential for Molecular Modeling and Dynamics Studies of Proteins. *J. Phys. Chem. B* **102**, 3586–3616 (1998). 6, 11
- [54] Reichold, R. *Rechnergestützte Beschreibung der Struktur und Dynamik von Peptiden und ihren Bausteinen*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München (2009). 6, 23
- [55] Hukushima, K. und K. Nemoto. Exchange Monte Carlo Method and Application to Spin Glass Simulations. *J. Phys. Soc. Jpn* **65**, 1604–1608 (1996). 6
- [56] Hansmann, U. H. E. Parallel Tempering Algorithm for Conformational Studies of Biological Molecules. *Chem. Phys. Lett.* **281**, 140–150 (1997). 6
- [57] Sugita, Y. und Y. Okamoto. Replica-Exchange Molecular Dynamics Method for Protein Folding. *Chem. Phys. Lett.* **314**, 141–151 (1999). 6
- [58] Freddolino, P. L., F. Liu, M. Gruebele und K. Schulten. Ten-Microsecond Molecular Dynamics Simulation of a Fast-Folding MM Domain. *Biophys. J.* **94**, L75–L77 (2008). 6
- [59] Luecke, H., B. Schobert, H.-T. Richter, J.-P. Cartailler und J. K. Lanyi. Structure of Bacteriorhodopsin at 1.55 Å Resolution. *J. Mol. Biol.* **291**, 899–911 (1999). 6
- [60] Babitzki, G., R. Denschlag und P. Tavan. Polarization Effects Stabilize Bacteriorhodopsin’s Chromophore Binding Pocket: A Molecular Dynamics Study. *J. Chem. Phys. B* **113**, 10483–10495 (2009). 6, 7

- [61] Jung, A., J. Reinstein, T. Domratcheva, R. L. Shoeman und I. Schlichting. Crystal Structures of the AppA BLUF Domain Photoreceptor Provide Insights into Blue Light-mediated Signal Transduction. *J. Mol. Biol.* **362**, 717–732 (2006). [7](#)
- [62] Rieff, B. Persönliche Korrespondenz. [7](#)
- [63] Warshel, A., M. Kato und A. V. Pisliakov. Polarizable Force Fields: History, Test Cases, and Prospects. *J. Chem. Theory Comput.* **3**, 2034–2045 (2007). [7](#)
- [64] Cieplak, P., F.-Y. Dupradeau, Y. Duan und J. Wang. Polarization Effects in Molecular Mechanical Force Fields. *J. Phys.: Condens. Matter* **21**, 333102 (2009). [7](#)
- [65] Lopes, P. E. M., B. Roux und A. D. MacKerrel. Molecular Modeling and Dynamics Studies with Explicit Inclusion of Electronic Polarizability: Theory and Applications. *Theor. Chem. Acc.* **124**, 11–28 (2009). [7](#)
- [66] Rick, S. W., S. J. Stuart und B. J. Berne. Dynamical Fluctuating Charge Force Fields: Application to Liquid Water. *J. Chem. Phys.* **101**, 6141–6156 (1994). [7](#), [9](#)
- [67] Applequist, J., J. R. Carl und K.-K. Fung. Atom Dipole Interaction Model for Molecular Polarizability. Application to Polyatomic Molecules and Determination of Atom Polarizabilities. *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 2952–2960 (1972). [7](#)
- [68] Vesely, F. J. N-Particle Dynamics of Polarizable Stockmeyer-Type Molecules. *J. Comput. Phys.* **24**, 361–371 (1977). [7](#)
- [69] Bernardo, D. N., Y. Ding, K. Krogh-Jespersen und R. M. Levy. An Anisotropic Polarizable Water Model: Incorporation of All-Atom Polarizabilities into Molecular Mechanics Force Fields. *J. Phys. Chem.* **98**, 4180–4187 (1994). [7](#)
- [70] Stern, H. A., F. Rittner, B. J. Berne und R. A. Friesner. Combined Fluctuating Charge and Polarizable Dipole Models: Application to a Five-Site Water Potential Function. *J. Chem. Phys.* **115**, 2237–2251 (2001). [7](#)
- [71] Kaminski, G. A., H. A. Stern, B. J. Berne, R. A. Friesner, Y. X. Cao, R. B. Murphy, R. Zhou und T. A. Halgren. Development of a Polarizable Force Field for Proteins via *Ab Initio* Quantum Chemistry: First Generation Model and Gas Phase Tests. *J. Comput. Chem.* **23**, 1515–1531 (2002). [7](#), [11](#), [93](#), [101](#)
- [72] Patel, S. und C. L. Brooks III. CHARMM Fluctuating Charge Force Field for Proteins: I - Parameterization and Application to Bulk Organic Liquid Simulations. *J. Comput. Chem.* **25**, 1–15 (2004). [7](#)

- 
- [73] Patel, S., A. D. MacKerell, Jr. und C. L. Brooks III. CHARMM Fluctuating Charge Force Field for Proteins: II - Protein/Solvent Properties from Molecular Dynamics Simulations Using a Nonadditive Electrostatic Model. *J. Comput. Chem.* **25**, 1504–1514 (2004). 7
- [74] Kaminski, G. A., H. A. Stern, B. J. Berne und R. A. Friesner. Development of an Accurate and Robust Polarizable Molecular Mechanics Force Field from *ab Initio* Quantum Chemistry. *J. Phys. Chem. A* **108**, 621–627 (2004). 7
- [75] Harder, E., B. C. Kim, R. A. Friesner und B. J. Berne. Efficient Simulation Method for Polarizable Protein Force Fields: Application to the Simulation of BPTI in Liquid. *J. Chem. Theory Comput.* **1**, 169–180 (2005). 7
- [76] Ball, P. Water: Water - an Enduring Mystery. *Nature* **452**, 291–292 (2008). 8
- [77] Brovchenko, I. und A. Oleinikova. Multiple Phases of Liquid Water. *Chem-PhysChem* **9**, 2660–2675 (2008). 8
- [78] Tanaka, H. Simple Physical Explanation of the Unusual Thermodynamic Behavior of Liquid Water. *Phys. Rev. Lett.* **80**, 5750–5753 (1998). 8
- [79] Eisenberg, D. und W. Kauzmann. *The Structure and Properties of Water*. Clarendon Press, Oxford (1969). 8
- [80] Needham, P. Is Water a Mixture? Bridging the Distinction between Physical and Chemical Properties. *Stud. Hist. Phil. Sci. A* **39**, 66–77 (2008). 8
- [81] Clough, S. A., Y. Beers, G. P. Klein und L. S. Rothman. Dipole Moment of Water from Stark Measurements of H<sub>2</sub>O, HDO and D<sub>2</sub>O. *J. Chem. Phys.* **59**, 2254–2259 (1973). 8
- [82] Shostak, S. L., W. L. Ebenstein und J. S. Muentner. The Dipole Moment of Water. I. Dipole Moments and Hyperfine Properties of H<sub>2</sub>O and HDO in the Ground and Excited Vibrational States. *J. Chem. Phys.* **94**, 5875–5882 (1991). 8
- [83] Murphy, W. F. The Rayleigh Depolarization Ratio and Rotational Raman Spectrum of Water Vapor and the Polarizability Components of the Water Molecule. *J. Chem. Phys.* **67**, 5877–5882 (1977). 8
- [84] Russell, A. J. und M. A. Spackman. Vibrational Averaging of Electrical Properties. Development of a Routine Theoretical Method for Polyatomic Molecules. *Mol. Phys.* **84**, 1239–1255 (1995). 8
- [85] Latimer, W. M. und W. H. Rodebush. Polarity and Ionization from the Standpoint of the Lewis Theory of Valence. *J. Am. Chem. Soc.* **42**, 1419–1433 (1920). 8

- [86] Isaacs, E. D., A. Shukla, P. M. Platzman, D. R. Hamann, B. Barbiellini und C. A. Tulk. Compton Scattering Evidence for Covalency of the Hydrogen Bond in Ice. *J. Phys. Chem. Solids* **61**, 403–406 (2000). [8](#)
- [87] de Grotthuss, C. J. T. Sur la décomposition de l'eau et des corps qu'elle tient en dissolution à l'aide de l'électricité galvanique. *Ann. Chim.* **LVIII**, 54–74 (1806). [8](#)
- [88] Cukierman, S. Et tu, Grotthuss! and Other Unfinished Stories. *Biochim. Biophys. Acta. Bioenerg.* **1757**, 876–885 (2006). [8](#)
- [89] Rahman, A. und F. H. Stillinger. Molecular Dynamics Study of Liquid Water. *J. Chem. Phys.* **55**, 3336–3359 (1971). [9](#)
- [90] Pullman, B. (Herausgeber),. *Intermolecular Forces*, Seiten 331–342. Reidel, Dordrecht, Holland (1981). [9](#)
- [91] Jorgensen, W. L., J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey und M. L. Klein. Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water. *J. Chem. Phys.* **79**, 926–935 (1983). [9](#)
- [92] Berendsen, H. J. C., J. R. Grigera und T. P. Straatsma. The Missing Term in Effective Pair Potentials. *J. Phys. Chem.* **91**, 6269–6271 (1987). [9](#)
- [93] Mahoney, M. W. und W. L. Jorgensen. A Five-Site Model for Liquid Water and the Reproduction of the Density Anomaly by Rigid, Nonpolarizable Potential Functions. *J. Chem. Phys.* **112**, 8910–8922 (2000). [9](#), [97](#), [98](#)
- [94] Abascal, J. L. F. und C. Vega. A General Purpose Model for the Condensed Phases of Water: TIP4P/2005. *J. Chem. Phys.* **123**, 234505 (2005). [9](#)
- [95] Ebbinghaus, S., S. J. Kim, M. Heyden, U. H. X. Yu, M. Gruebele, D. M. Leitner und M. Havenith. An Extended Dynamical Hydration Shell around Proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104**, 20749–20752 (2007). [9](#)
- [96] Ando, K. A Stable Fluctuating-Charge Polarizable Model for Molecular Dynamics Simulations: Application to Aqueous Electron Transfers. *J. Chem. Phys.* **115**, 5228–5237 (2001). [9](#)
- [97] Kozack, R. E. und P. C. Jordan. Polarizability Effects in a Four-Charge Model for Water. *J. Chem. Phys.* **96**, 3120–3130 (1991). [9](#)
- [98] Brodholt, J., M. Sampoli und R. Vallauri. Parametrizing a Polarizable Intermolecular Potential for Water. *Mol. Phys.* **86**, 149–158 (1995). [9](#)
- [99] Chialvo, A. A. und P. T. Cummings. Engineering a Simple Polarizable Model for the Molecular Simulation of Water Applicable over Wide Ranges of State Conditions. *J. Chem. Phys.* **105**, 8274–8281 (1996). [9](#)

- 
- [100] Dang, L. X. und T.-M. Chang. Molecular Dynamics Study of Water Clusters, Liquid, and Liquid-Vapor Interface of Water with Many-Body Potentials. *J. Chem. Phys.* **106**, 8149–8159 (1997). [9](#)
- [101] Paricaud, P., M. Předota, A. A. Chivalvo und P. T. Cummings. From Dimer to Condensed Phases at Extreme Conditions: Accurate Predictions of the Properties of Water by a Gaussian Charge Polarizable Model. *J. Chem. Phys.* **122**, 244511 (2005). [9](#)
- [102] Burnham, C. J., J. Li, S. S. Xantheas und M. Leslie. The Parametrization of a Thole-Type All-Atom Polarizable Water Model from First Principles and its Application to the Study of Water Clusters ( $n=2-21$ ) and the Phonon Spectrum of Ice Ih. *J. Chem. Phys.* **110**, 4566–4581 (1999). [9](#)
- [103] Ren, P. und J. W. Ponder. Polarizable Atomic Multipole Water Model for Molecular Mechanics Simulation. *J. Phys. Chem. B* **107**, 5933–5947 (2003). [9](#)
- [104] Tsiper, E. V. Polarization Forces in Water Deduced from Single Molecule Data. *Phys. Rev. Lett.* **94**, 013204 (2005). [9](#)
- [105] Burnham, C. J., D. J. Anick, P. K. Mankoo und G. F. Reiter. The Vibrational Proton Potential in Bulk Liquid Water and Ice. *J. Chem. Phys.* **128**, 154519 (2008). [9](#)
- [106] Caldwell, J., L. X. Dang und P. A. Kollman. Implementation of Nonadditive Intermolecular Potentials by Use of Molecular Dynamics: Development of a Water-Water Potential and Water-Ion Cluster Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **112**, 9144–9147 (1990). [9](#)
- [107] Dang, L. X. The Nonadditive Intermolecular Potential for Water Revised. *J. Chem. Phys.* **97**, 2659–2660 (1992). [9](#)
- [108] Mitchell, P. J. und D. Fincham. Shell Model Simulations by Adiabatic Dynamics. *J. Phys.: Condens. Matter* **5**, 1031–1038 (1993). [9](#)
- [109] Yu, H., T. Hansson und W. F. van Gunsteren. Development of a Simple, Self-Consistent Polarizable Model for Liquid Water. *J. Chem. Phys.* **118**, 221–234 (2002). [9](#)
- [110] Lamoureux, G., A. D. MacKerell, Jr. und B. Roux. A Simple Polarizable Model of Water Based on Classical Drude Oscillators. *J. Chem. Phys.* **119**, 5185–5197 (2003). [9](#)
- [111] Yu, H. und W. F. van Gunsteren. Charge-On-Spring Polarizable Water Models Revisited: From Water Clusters to Liquid Water to Ice. *J. Chem. Phys.* **121**, 9549–9564 (2004). [9](#), [92](#)

- [112] Lamoureux, G., E. Harder, I. V. Vorobyov, B. Roux und A. D. MacKerell, Jr. A Polarizable Model of Water for Molecular Dynamics Simulations of Biomolecules. *Chem. Phys. Lett.* **418**, 245–249 (2006). [9](#), [92](#)
- [113] Kunz, A.-P. E. und W. F. van Gunsteren. Development of a Nonlinear Classical Polarization Modell for Liquid Water and Aqueous Solutions: COS/D. *J. Phys. Chem. A* **113**, 11570–11579 (2009). [9](#)
- [114] Weiss, A. *Entwicklung von polarisierbaren Wassermodellen für Molekulardynamik-Simulationen*. Diplomarbeit, Fakultät für Physik, Ludwig-Maximilians-Universität, München (2001). [9](#)
- [115] Liem, S. Y., P. L. A. Popelier und M. Leslie. Simulation of Liquid Water Using a High-Rank Quantum Topological Electrostatic Potential. *Int. J. Quantum Chem.* **99**, 685–694 (2004). [9](#)
- [116] Schropp, B. *Ableitung polarisierbarer Kraftfelder aus der Dichtefunktionaltheorie: Eine Pilotstudie*. Diplomarbeit, Fakultät für Physik, Ludwig-Maximilians-Universität, München (2005). [9](#), [10](#), [92](#), [97](#), [98](#)
- [117] Fanourgakis, G. S. und S. S. Xantheas. Development of Transferable Interaction Potentials for Water. V. Extension of the Flexible, Polarizable, Thole-Type Model Potential (TTM3-F, v. 3.0) to Describe the Vibrational Spectra of Water Clusters and Liquid Water. *J. Chem. Phys.* **128**, 074506 (2008). [9](#)
- [118] Stryer, L. *Biochemistry*. W. H. Freeman and Company, San Francisco (1975). [12](#)
- [119] Kornberg, R. D. The Molecular Basis of Eukaryotic Transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104**, 12955–12961 (2007). [13](#)
- [120] Thompson, R. C. und P. J. Stone. Proofreading of the Codon-Anticodon Interaction on Ribosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **74**, 198–202 (1977). [13](#)
- [121] Ogle, J. M. und V. Ramakrishnan. Structural Insights into Translational Fidelity. *Annu. Rev. Biochem.* **74**, 129–177 (2005). [13](#)
- [122] Nissen, P., J. Hansen, N. Ban, P. B. Moore und T. A. Steitz. The Structural Basis of Ribosome Activity in Peptide Bond Synthesis. *Science* **289**, 920–930 (2000). [13](#)
- [123] Weinger, J. S., K. M. Parnell, S. Dorner, R. Green und S. A. Strobel. Substrate-Assisted Catalysis of Peptide Bond Formation by the Ribosome. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **11**, 1101–1106 (2004). [13](#)

- 
- [124] Trobro, S. und J. Åqvist. Mechanism of Peptide Bond Synthesis on the Ribosome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **102**, 12395–12400 (2005). [13](#)
- [125] Branden, C. und J. Tooze. *Introduction to Protein Structure*. Garland Publishing, New York (1999). [13](#), [14](#), [15](#)
- [126] Pauling, L., R. B. Corey und H. R. Branson. The Structure of Proteins: Two Hydrogen-Bonded Helical Configurations of the Polypeptide Chain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **37**, 205–211 (1951). [14](#)
- [127] Knippers, R. *Molekulare Genetik*. Thieme, Stuttgart (2006). [14](#)
- [128] Creighton, T. E. (Herausgeber), *Protein Folding*. W. H. Freeman and Company, New York (1992). [14](#)
- [129] Pain, R. H. (Herausgeber), *Mechanisms of Protein Folding*. Oxford University Press, Oxford (2000). [14](#), [15](#)
- [130] Schmid, F. X. Kinetics of Unfolding and Refolding of Single-Domain Proteins. In T. E. Creighton (Herausgeber), *Protein Folding*, Seiten 197–241. W. H. Freeman and Company, New York (1992). [14](#)
- [131] Pauling, L. und R. B. Corey. The Pleated Sheet, A New Layer Configuration of Polypeptide Chains. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **37**, 251–256 (1951). [14](#)
- [132] Eisenberg, D. The Discovery of the  $\alpha$ -Helix and  $\beta$ -Sheet, the Principal Structural Features of Proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **100**, 11207–11210 (2003). [14](#)
- [133] Fenton, W. A. und A. L. Horwich. Chaperonin-Mediated Proteinfolding: Fate of Substratepolypeptide. *Q. Rev. Biophys.* **36**, 229–256 (2003). [15](#)
- [134] Ellis, R. J. Molecular Chaperones: Assisting Assembly in Addition to Folding. *Trends Biochem. Sci.* **31**, 395–401 (2006). [15](#)
- [135] Spörlein, S., H. Carstens, H. Satzger, C. Renner, R. Behrendt, L. Moroder, P. Tavan, W. Zinth und J. Wachtveitl. Ultrafast Spectroscopy Reveals Sub-Nanosecond Peptide Conformational Dynamics and Validates Molecular Dynamics Simulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **99**, 7998–8003 (2002). [16](#)
- [136] Schrader, T. E., W. J. Schreier, T. Cordes, F. O. Koller, G. Babitzki, R. Denschlag, C. Renner, M. Löweneck, S. Dong, L. Moroder, P. Tavan und W. Zinth. Light Triggered  $\beta$ -Hairpin Folding and Unfolding. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104**, 15729–15734 (2007). [16](#), [19](#), [21](#)
- [137] Elliot, A. und E. J. Ambrose. Structure of Synthetic Polypeptides. *Nature* **165**, 921–922 (1950). [17](#)

- [138] Watson, T. M. und J. D. Hirst. Influence of Electrostatic Environment on the Vibrational Frequencies of Proteins. *J. Phys. Chem. A* **107**, 6843–6849 (2003). [17](#), [24](#), [25](#)
- [139] Byler, D. M. und H. Susi. Examination of the Secondary Structure of Proteins by Deconvolved FTIR Spectra. *Biopolymers* **25**, 469–487 (1986). [17](#)
- [140] Goormaghtigh, E., V. Cabiaux und J. M. Ruyschaert. Determination of Soluble and Membrane Protein Structure by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. II. Experimental Aspects, Side Chain Structure, and H/D Exchange. In H. J. Hilderston und G. B. Ralston (Herausgeber), *Subcellular Biochemistry, Vol.23: Physicochemical Methods in the Study of Biomembranes*, Seiten 329–403. Springer (1994). [17](#)
- [141] Kaiden, K., T. Matsui und S. Tanaka. A Study of the Amide III Band by FT-IR Spectrometry of the Secondary Structure of Albumin, Myoglobin, and  $\gamma$ -Globulin. *Appl. Spectrosc.* **41**, 180–184 (1987). [17](#)
- [142] Singh, B. R., M. P. Fuller und G. Schiavo. Molecular Structure of Tetanus Neurotoxin as Revealed by Fourier Transform Infrared and Circular Dichroic Spectroscopy. *Biophys. Chem.* **36**, 155–166 (1990). [17](#)
- [143] Fu, F.-N., D. B. DeOliveira, W. R. Trumble, H. K. Sarkar und B. R. Singh. Secondary Structure Estimation of Proteins Using the Amide III Region of Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Application to Analyze Calcium-Binding-Induced Structural Changes in Calsequestrin. *Appl. Spectrosc.* **48**, 1432–1441 (1994). [17](#)
- [144] Cai, S. und B. R. Singh. Identification of  $\beta$ -Turn and Random Coil Amide III Infrared Bands for Secondary Structure Estimation of Protein. *Biophys. Chem.* **80**, 7–20 (1999). [17](#)
- [145] Singh, B. R. Basic Aspects of the Technique and Applications of Infrared Spectroscopy of Peptides and Proteins. In B. R. Singh (Herausgeber), *ACS Symposium Series, Vol. 750: Infrared Analysis of Peptides and Proteins*, Seiten 2–37. Washington, DC (1999). [17](#)
- [146] Günzler, H. und H. Heise. *IR-Spektroskopie: Eine Einführung*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim (1996). [17](#)
- [147] Schrader, B. (Herausgeber), *Infra-Red and Raman Spectroscopy: Methods and Applications*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim (1995). [17](#)
- [148] Winter, R. und F. Noll. *Methoden der Biophysikalischen Chemie*. Teubner Studienbücher, Stuttgart (1998). [19](#)

- 
- [149] Dong, S.-L., M. Löweneck, T. E. Schrader, W. J. Schreier, W. Zinth, L. Moroder und C. Renner. A Photocontrolled Beta-Hairpin Peptide. *Chem. Eur. J.* **12**, 1114–1120 (2006). [19](#)
- [150] Becker, O. M., A. D. MacKerell, Jr., B. Roux und M. Watanabe. *Computational Biochemistry and Biophysics*. Marcel Dekker, Inc., New York (2001). [19](#)
- [151] Goldstein, H., C. P. Poole, Jr. und J. L. Safko, Sr. *Klassische Mechanik*. Wiley-VCH, Berlin (2006). [19](#), [110](#)
- [152] Nonella, M., G. Mathias, M. Eichinger und P. Tavan. Structures and Vibrational Frequencies of the Quinones in *Rb. sphaeroides* Derived by a Combined Density Functional/Molecular Mechanics Approach. *J. Phys. Chem. B* **107**, 316–322 (2003). [19](#), [20](#)
- [153] Nonella, M., G. Mathias und P. Tavan. Infrared Spectrum of *p*-Benzoquinone in Water Obtained from a QM/MM Hybrid Molecular Dynamics Simulation. *J. Phys. Chem. A* **107**, 8638–8647 (2003). [19](#), [20](#), [94](#)
- [154] Klähn, M., G. Mathias, C. Koetting, M. Nonella, J. Schlitter, K. Gerwert und P. Tavan. IR Spectra of Phosphate Ions in Aqueous Solution: Predictions of a DFT/MM Approach Compared with Observations. *J. Phys. Chem. A* **108**, 6186–6194 (2004). [19](#), [20](#), [94](#)
- [155] Schmitz, M. und P. Tavan. Vibrational Spectra from Atomic Fluctuations in Dynamics Simulations: I. Theory, Limitations, and a Sample Application. *J. Chem. Phys.* **121**, 12233–12246 (2004). [19](#), [20](#)
- [156] Schmitz, M. und P. Tavan. Vibrational Spectra from Atomic Fluctuations in Dynamics simulations: II. Solvent-Induced Frequency Fluctuations at Femtosecond Time-Resolution. *J. Chem. Phys.* **121**, 12247–12258 (2004). [19](#), [20](#)
- [157] Kubo, R., M. Toda und N. Hashitsume (Herausgeber), *Statistical Physics II - Nonequilibrium Statistical Mechanics*. Springer-Verlag, Heidelberg (1985). [20](#)
- [158] Mukamel, S. *Principles of Nonlinear Optical Spectroscopy*. Oxford University Press, Oxford (1995). [20](#)
- [159] Martinez, M., M.-P. Gageot, D. Borgis und R. Vuilleumier. Extracting Effective Normal Modes from Equilibrium Dynamics at Finite Temperature. *J. Chem. Phys.* **125**, 144106 (2006). [20](#)
- [160] Mathias, G. und M. Baer. Deriving Generalized Normal Coordinates for the Vibrational Analysis of Finite Molecular Dynamics Simulations. (N.N.). Submitted. [20](#)

- [161] Ivanov, S., G. Mathias, A. Witt und D. Marx. Deriving Normal Coordinates from Finite Molecular Dynamics Simulations: Beyond Quasi-Rigid Structures (N.N.). In preparation. [20](#)
- [162] Warshel, A. und M. Levitt. Theoretical Studies of Enzymic Reactions: Dielectric, Electrostatic and Steric Stabilization of the Carbonium Ion in the Reaction of Lysozyme. *J. Mol. Biol.* **103**, 227–249 (1976). [21](#)
- [163] Eichinger, M., P. Tavan, J. Hutter und M. Parrinello. A Hybrid Method for Solutes in Complex Solvents: Density Functional Theory Combined with Empirical Force Fields. *J. Chem. Phys.* **110**, 10452–10467 (1999). [21](#)
- [164] MacKerell, Jr., A. D., M. Feig und C. L. Brooks III. Extending the Treatment of Backbone Energetics in Protein Force Fields: Limitations of Gas-Phase Quantum Mechanics in Reproducing Protein Conformational Distributions in Molecular Dynamics Simulations. *J. Comput. Chem.* **25**, 1400–1415 (2004). [23](#), [112](#)
- [165] Bour, P. und T. A. Keiderling. Empirical Modeling of the Peptide Amide I Band IR Intensity in Water Solution. *J. Chem. Phys.* **119**, 11253–11262 (2003). [23](#), [24](#), [25](#)
- [166] Ham, S., J.-H. Kim, H. Lee und M. Cho. Correlation between Electronic and Molecular Structure Distortions and Vibrational Properties. II. Amide I Modes of NMA- $n$ D<sub>2</sub>O Complexes. *J. Chem. Phys.* **118**, 3491–3498 (2003). [23](#), [24](#)
- [167] Lee, H., S.-S. Kim, J.-H. Choi und M. Cho. Theoretical Study of Internal Field Effects on Peptide Amide I Modes. *J. Phys. Chem. B* **109**, 5331–5340 (2005). [23](#)
- [168] Zhuang, W., D. Abramavicius, T. Hayashi und S. Mukamel. Simulation Protocols for Coherent Femtosecond Vibrational Spectra of Peptides. *J. Phys. Chem. B* **110**, 3362–3374 (2006). [23](#), [24](#)
- [169] Torii, H. Time-Domain Calculations of the Infrared and Polarized Raman Spectra of Tetraalanine in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem. B* **111**, 5434–5444 (2007). [23](#)
- [170] Krimm, S. und Y. Abe. Intermolecular Interaction Effects in the Amide I Vibrations of  $\beta$  Polypeptides. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **69**, 2788–2792 (1972). [23](#)
- [171] Torii, H. und M. Tasumi. Model Calculations on the Amide-I Infrared Bands of Globular Proteins. *J. Chem. Phys.* **96**, 3379–3387 (1992). [23](#)

- 
- [172] Torii, H. und M. Tasumi. Three-Dimensional Doorway-State Theory for Analyses of Absorption Bands of Many-Oscillator Systems. *J. Chem. Phys.* **97**, 86–91 (1992). [23](#)
- [173] Torii, H. und M. Tasumi. Application of the 3-Dimensional Doorway-State Theory to Analyses of the Amide-I Infrared Bands of Globular Proteins. *J. Chem. Phys.* **97**, 92–98 (1992). [23](#)
- [174] Kubelka, J. und T. A. Keiderling. Ab Initio Calculation of Amide Carbonyl Stretch Vibrational Frequencies in Solution with Modified Basis Sets. 1. *N*-Methyl Acetamide. *J. Phys. Chem. A* **105**, 10922–10928 (2001). [23](#), [24](#), [25](#), [106](#), [109](#)
- [175] Jones, R. L. The Infrared Spectra of Some Simple *N*-Substituted Amides in the Vapor State. *J. Mol. Spectrosc.* **11**, 411–421 (1963). [24](#), [109](#)
- [176] Hamm, P., M. Lim und R. M. Hochstrasser. Structure of the Amide I Band of Peptides Measured by Femtosecond Nonlinear-Infrared Spectroscopy. *J. Phys. Chem. B* **102**, 6123–6138 (1998). [24](#)
- [177] Gaigeot, M.-P., R. Vuilleumier, M. Sprick und D. Borgis. Infrared Spectroscopy of *N*-Methylacetamide Revisited by ab Initio Molecular Dynamics Simulations. *J. Chem. Theory Comput.* **1**, 772–789 (2005). [24](#)
- [178] Hunt, N. T. und K. Wynne. The Effect of Temperature and Solvation on the Ultrafast Dynamics of *N*-Methylacetamide. *Chem. Phys. Lett.* **431**, 155–159 (2006). [24](#)
- [179] Qian, P., L.-N. Lu und Z.-Z. Yang. Molecular Dynamics Simulations of *N*-Methylacetamide (NMA) in Water by the ABEEM/MM Model. *Can. J. Chem.* **87**, 1738–1746 (2009). [24](#)
- [180] Mayne, L. C. und B. Hudson. Resonance Raman Spectroscopy of *N*-Methylacetamide: Overtones and Combinations of the C–N Stretch (Amide II') and Effect of Solvation on the C=O Stretch (Amide I) Intensity. *J. Phys. Chem.* **95**, 2962–2967 (1991). [24](#), [25](#), [109](#)
- [181] Chen, X. G., R. Schweitzer-Stenner, S. A. Asher, N. G. Mirkin und S. Krimm. Vibrational Assignments of *trans*-*N*-Methylacetamide and Some of Its Deuterated Isotopomers from Band Decomposition of IR, Visible and Resonance Raman Spectra. *J. Phys. Chem.* **99**, 3074–3083 (1995). [24](#), [25](#)
- [182] Mirkin, N. G. und S. Krimm. Conformers of *trans*-*N*-Methylacetamide: Ab Initio Study of Geometries and Vibrational Spectra. *J. Mol. Struct.* **242**, 143–160 (1991). [25](#)

- [183] Mirkin, N. G. und S. Krimm. Structure of *trans-N*-Methylacetamide: Planar or Nonplanar Symmetry? *J. Mol. Struct. (Theochem)* **334**, 1–6 (1995). [25](#)
- [184] Segerer, F. *Parametrisierung eines polarisierbaren Kraftfeldes für Amidgruppen anhand von Møller–Plesset Störungstheorie*. Bachelorarbeit, Fakultät für Physik, Ludwig-Maximilians-Universität, München (2009). [25](#), [109](#), [110](#)
- [185] Eco, U. *L'isola del giorno prima*. Romanzo Bompiani, Mailand (1994). [27](#)
- [186] Tsu, S. *The Art of War*. Clarendon Press, Oxford (1963). [47](#)
- [187] Pratchett, T. *Truckers*. Corgi Books, London (1991). [91](#)
- [188] Gubskaya, A. V. und P. G. Kusalik. The Total Molecular Dipole Moment for Liquid Water. *J. Chem. Phys.* **117**, 5290–5302 (2002). [91](#)
- [189] Silvestrelli, P. L. und M. Parrinello. Structural, Electronic, and Bonding Properties of Liquid Water from First Principles. *J. Chem. Phys.* **111**, 3572–3580 (1999). [91](#)
- [190] Breitenfeld, B. *Kopplung des Dichtefunktionaltheorie-Programms CPMD an ein polarisierbares Kraftfeld: Implementierung und Tests*. Diplomarbeit, Fakultät für Physik, Ludwig-Maximilians-Universität, München (2010). [93](#), [97](#), [98](#)
- [191] Bruce Lee: A Warrior's Journey. Warner Home Video (2000). [97](#)
- [192] Schwörer, M. *Effiziente Elektrostatikberechnung mit polarisierbaren molekulmechanischen Kraftfeldern: Genauigkeitschecks*. Bachelorarbeit, Fakultät für Physik, Ludwig-Maximilians-Universität, München (2009). [98](#)
- [193] Feynman, R. P., R. B. Leighton und M. Sands. *The Feynman Lectures on Physics*, Band I. Benjamin-Cummings, San Francisco (2003). [99](#)
- [194] Eichinger, M., H. Grubmüller, H. Heller und P. Tavan. FAMUSAMM: A new Algorithm for Rapid Evaluation of Electrostatic Interactions in Molecular Dynamics Simulations. *J. Comput. Chem.* **18**, 1729–1749 (1997). [103](#)
- [195] The Day After Trinity: J. Robert Oppenheimer and the Atomic Bomb. Pyramid Home Video (1995). [105](#)
- [196] Röttgermann, P. *Kopplung von Ladungsverteilung und Geometrie in Amidgruppen - Resultate von DFT-Rechnungen*. Bachelorarbeit, Fakultät für Physik, Ludwig-Maximilians-Universität, München (2009). [105](#)
- [197] Lotter, W. Das falsche Gewicht. *brand eins* Nr. 2, 55–65 (2004). [109](#)

- [198] Aristoteles. *Aristoteles' Metaphysik*, Band VII. Meiner Felix Verlag, Hamburg (1991). [111](#)
- [199] Hebisch, E. *Analyse des Kraftfeldes vom Glycin Dipeptid mittels Dichtefunktionaltheorie*. Bachelorarbeit, Fakultät für Physik, Ludwig-Maximilians-Universität, München (2009). [112](#)
- [200] Hartz, A. *Analyse des Konformationsraumes von Glyzindipeptid mittels Dichtefunktionaltheorie*. Bachelorarbeit, Fakultät für Physik, Ludwig-Maximilians-Universität, München (2009). [112](#)
- [201] Laws, R. D., T. Woodruff, G. Gordon, S. Witt, A. Varney, C. McCubbin, C. Spector und F. Cain. *Horrors*. FASA, Chicago (1995). [113](#)
- [202] Barnard, F. R. Advertisement. *Printers' Ink* Seiten 96–97 (1921). [131](#)



# Abbildungsverzeichnis

Ein Bild sagt mehr als tausend Worte.

*(Fred R. Barnard [202])*

1.1	Elektrostatische und van-der-Waals Energie . . . . .	4
1.2	Gebundene Wechselwirkungen . . . . .	5
1.3	Lokale Wasserumgebung . . . . .	8
1.4	Qualität polarisierbarer Wassermodelle . . . . .	10
1.5	Strukturformel einer $\alpha$ -Aminosäure in zwitterionischer Form. . . . .	12
1.6	Kondensationsreaktion zweier Aminosäuren . . . . .	13
1.7	Mesomere Grenzstrukturen eines Dipeptids . . . . .	13
1.8	Sekundärstrukturelemente: $\alpha$ -Helix und $\beta$ -Faltblatt . . . . .	15
1.9	Schematische Darstellung der Sekundärstrukturelemente . . . . .	16
1.10	Schematische Darstellung der AI–AIII-Moden . . . . .	18
1.11	Lichtschaltbares $\beta$ -Haarnadel Peptid . . . . .	19
1.12	DFT/MM-Hybridsystem . . . . .	22
1.13	Vergleich zwischen NMA und dem Peptidrückgrat . . . . .	24
A.1	Wassermodelle: TIP5P, ST-E5 und ST-5B . . . . .	98
B.1	Energieerhaltung in PMM/II Kraftfeldern: Modellsystem . . . . .	102
C.1	PMM/II Spektrum von NMA in wässriger Lösung . . . . .	106
E.1	Wechselwirkungen zwischen kovalent gebundenen Peptidgruppen . . . . .	111



# Danksagung



*(Mittelägyptische Segensformel)*

Zuerst möchte ich meinem Doktorvater Paul Tavan für Betreuung meiner Dissertation danken. Besonders dankbar bin ich für die vielen Freiheiten, die ich in der Wahl meiner Projekte hatte; für die organisatorische Herausforderung einen Rechencluster anzuschaffen und die Aufgabe eine Horde Bachelorstudenten zu betreuen – beides Aufgaben, die den Forschungsalltag aufgelockert haben – und dafür, dass er mir dabei geholfen hat einen Weg durch meine Ergebnisse und Erkenntnisse zu bahnen. Das Projekt „Wasser“ hat immer neue Überraschungen bereitgehalten, während die „Amidbanden“ sich ganz nach Plan verhalten haben. Besonders danken möchte ich ihm an dieser Stelle auch dafür, dass er immer im Hintergrund dafür gesorgt hat, neue Forschungsprojekte ins Rollen zu bringen, sodass die Finanzierung meiner Arbeit nie in Frage stand. Zuletzt möchte ich in diesem Zusammenhang auch noch Gabriele Tavan dafür danken, dass ihr Gatte oft bis spät in die Nacht mit mir an Papern arbeiten durfte.

Für die Unterstützung bei allen Verwaltungstätigkeiten bedanke ich mich bei Birgit Carell, Marianne Widmann-Diermeier, Ines Haame, Ksenija von Malm, Alexandra Michaelis, Barbara Podolski und Sigi Siegert. Ebenso danke ich Rudolf Schwarz, Karl-Heinz Mantel, Dieter Nikisch und Herrn Kabelitz für die Unterstützung bei technischen Problemen. An dieser Stelle möchte ich (unbekannter weise) auch Markus Eichinger erwähnen – sein Programm EGO hat weniger Probleme verursacht als es gelöst hat.

Meine Bachelorstudenten Arne Hartz, Elke Hebisch, Peter Röttgerman, Felix Segerer und auch Magnus Schwörer haben mir gezeigt wie es auf der anderen Seite – der Seite der Lehrenden – so ist. Die sehr erfolgreiche Zusammenarbeit mit ihnen war eine große Bereicherung für mich. Ebenso bin ich Christoph Wichmann dankbar, der durch seine Hilfe bei der Auswertung einer Unmenge von Daten ganz erheblich zum Abschluss dieser Dissertation beigetragen hat.

Bei Galina Babitzki bedanke ich mich ganz besonders, die Zusammenarbeit mit ihr hat meine Zeit im C-Flügel besonders geprägt; gemeinsam konnten wir viele

Hindernisse beseitigen, die uns insbesondere die Software in den Weg legte; ihre russisch kommentierten Skripten waren mir allerdings bis zuletzt ein Rätsel „Да ?“.

Auch die anderen Kollegen der AG Tavan, mit denen ich die letzten Jahre zusammengearbeitet habe, möchte ich hier noch einmal würdigen: Sebastian Bauer, der nicht nur bei Linux Problemen immer eine Lösung wusste, Benjamin Rieff, der mein Tool CESP bis an dessen Grenzen ausnutzte; Benedikt Breitenfeld, Konstantin Lorenzen und Philipp Troester, die mit vielen Fragen die die letzten Monate immer wieder aufgelockert haben und mir erst gezeigt haben wie viel ich eigentlich über die Materie und die verwendete Software weiß; Gerald Mathias für wertvolle Tipps im Allgemeinen und für den entscheidenden Hinweis zu korrekter Behandlung der Energieerhaltung im Speziellen; Robert Denschlag, Martin Lingenheil, Rudolf Reichold und Verena Schultheis für die reibungslose Zusammenarbeit in diversen Projekten.

Weiterhin muss an dieser Stelle Thomas Hirschberger erwähnt werden, der mich durch das interessante „Prion Problem“ in die Arbeitsgruppe eingeführt hat. Eine große Hilfe waren mir auch Matthias Schmitz und Heiko Carstens die mich am Anfang meiner Zeit am BMO in die richtige Richtung gelenkt haben. Bernhard Egwolf, Martina Stork und Andreas Weiss, haben mich seinerzeit ebenfalls freundlich in der Arbeitsgruppe aufgenommen.

Wolfgang möchte ich dafür danken, dass er immer mein Draht zu der Welt da draußen war, die durch die nächtlichen Streifzügen ins Kinos und die stundenlangen Diskussionen immer greifbar blieb. Aber auch Opfer dieser Dissertation sollen nicht unerwähnt bleiben: Alexander, Bettina, Christian, Christian, Christoph, Cora, Florian, Florian, Markus, Peter, Sophi, Thomas, Thomas und Thomas. Sie haben in den letzten Jahren deutlich weniger von meiner Zeit abbekommen als sie verdient hätten.

Ganz besonders bedanke ich mich bei Bettina, sie war die letzten Jahre immer für mich da, hat die Höhen und Tiefen meiner Dissertation mit mir durchgemacht und es immer mehr oder weniger stoisch ertragen, wenn die Arbeit mal im Vordergrund stand.

Meinen Brüdern möchte ich an dieser Stelle schließlich auch noch meinen Dank aussprechen, Markus für die Kommentare, Stephan für das Netzwerk und Thomas für die Realität.

Abschließend will ich noch meinen Eltern für ihre Unterstützung und die vielen täglichen Kleinigkeiten, die einem so selbstverständlich scheinen, danken. Ohne sie wäre ich nicht so weit gekommen.

Als letztes danke ich noch einmal allen, die mir beim Korrekturlesen dieses Gesamtwerks und seiner Teile unschätzbare Dienste geleistet haben: Benjamin, Bettina, Christoph, Paul, Sebastian und Wolfgang.

# Lebenslauf

Name: Bernhard Schropp

Geburtsdatum: 12.04.1980

Geburtsort: Freising

07/2005 – 03/2010 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für  
BioMolekulare Optik, Theoretische Biophysik,  
LMU München

05/2005 Diplom in Physik

09/2000 – 05/2005 Studium der Physik, LMU München

07/1999 – 10/2000 Grundwehrdienst, 2./ FlaRakGrp 33, Bad Aibling

06/1999 Abitur

09/1990 – 06/1999 Josef Hofmiller Gymnasium, Freising