

# Berechnung molekularer Eigenschaften in komplexer Lösungsumgebung: Dichtefunktionaltheorie kombiniert mit einem Molekularmechnik-Kraftfeld

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

vorgelegt von  
**Markus Eichinger**  
aus Arnstorf

20. Januar 1999

Erster Gutachter: Prof. Dr. P. Tavan

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. H. Bross

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Juni 1999

*für Mariola*



# Zusammenfassung

Quantenmechanische (QM) Grundzustandsrechnungen auf Basis der Dichtefunktionaltheorie (DFT) erlauben bei der derzeitigen Leistungsfähigkeit von Supercomputern die Molekulardynamik-Simulation (MD-Simulation) von molekularen Systemen mit bis zu 100 Atomen. Verwendet man nicht-lokale Austausch-Korrelations-Funktionale, so werden Elektronen-Korrelationseffekte erfaßt. Damit kann insbesondere das Kraftfeld von Farbstoffmolekülen mit ausgedehnten konjugierten  $\pi$ -Elektronensystemen richtig beschrieben werden.

Ein prominentes Beispiel für ein solches Farbstoffmolekül ist die Schiffische Base von Retinal, die in dem lichtgetriebenen Protonenpumpzyklus des Proteins Bacteriorhodopsin (BR) eine führende Rolle spielt. Die elektrostatischen Felder und die sterischen Bedingungen in der Chromophorbindungstasche im Inneren des Proteins steuern die Eigenschaften und Reaktionen des Farbstoffes auf eine hochspezifische Weise. Eine für das Verständnis dieser Protein-Chromophor-Wechselwirkung nötige quantenmechanische Behandlung des gesamten Protein-Chromophor-Komplexes ist nicht durchführbar, da Proteine in der Regel aus mehreren tausend Atomen bestehen und dies einen immensen Rechenaufwand zur Folge hätte.

Nur molekülmechanische (MM) Proteinmodelle, bei denen molekulare Kraftfelder durch semiempirisch bestimmte Energiefunktionen approximiert werden, lassen sich numerisch hinreichend effizient auswerten und gestatten so eine mikroskopische Beschreibung der Dynamik von Proteinen. Aufgrund der vielen Vereinfachungen, die MM-Modellen anhaften, können jedoch keine chemischen Reaktionen oder Eigenschaften von Farbstoffmolekülen erfaßt werden. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit ein QM/MM-Hybridverfahren entwickelt, mit dessen Hilfe ein kleiner Teil eines Proteinsystems, etwa ein gebundenes Substrat oder ein eingelagerter Farbstoff, mit einem DFT-Verfahren quantenmechanisch (QM-Fragment) und die nicht vernachlässigbare Proteinumgebung molekülmechanisch (MM-Fragment) behandelt werden kann. Zu diesem Zweck wurde ein geeignetes Wechselwirkungsschema zwischen QM- und MM-Fragment entwickelt, das in dem EGO/CPMD-Programmpaket implementiert wurde.

Für die Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkung zwischen den Fragmenten war es nötig, die sogenannte FAMUSAMM-Methode (*fast multiple-time-step structure adapted multipole method*) weiter zu entwickeln, so daß auch sehr große Hybridsysteme, bei denen die MM-Fragmente aus mehreren tausend Atomen bestehen, ohne Verlust an Genauigkeit behandelt werden können.

Die bei kovalent aneinander gebundenen Fragmenten im QM-Fragment auftretende freie Valenz an einer Fragmentschnittstelle erfordert eine spezielle Behandlung. Hierfür werden vielfach sogenannte Link-Atom-Verfahren eingesetzt, bei denen das QM-Fragment durch ein zusätzlich eingeführtes Wasserstoffatom, das Link-Atom, abgesättigt wird. Wie in der vorliegenden Arbeit erstmals gezeigt werden konnte, lassen sich die dynamischen Freiheitsgrade, die in einem QM/MM-Hybridssystem durch ein Link-Atom zusätzlich auftreten und die Dynamik

nachweislich verfälschen, vollständig eliminieren. Hierzu wurde ein neues Link-Atom-Verfahren SPLAM (*scaled position link atom method*) entwickelt, bei dem alle störenden Effekte, die von dem Link-Atom ausgehen, beseitigt werden, so daß das Kraftfeld an der Fragment-schnittstelle korrekt wiedergegeben wird.

In ausführlichen Testrechnungen wurde die Qualität der in dieser Arbeit entwickelten QM/MM-Hybridmethode untersucht. Dabei wurden insbesondere berechnete Schwingungsspektren eingesetzt, da diese eine sehr empfindliche Probe für die Qualität eines molekularen Kraftfeldes sind. Es konnte durch MD-Simulation eines Wasserclusters demonstriert werden, daß in QM/MM-Hybridmodellen das TIP3P-Wassermolekülmodell, bei dem die Elektrostatik eines Wassermoleküls durch drei Punktladungen beschrieben wird, den Lösungsmiteleinfluß von Wasser richtig modelliert. Bei der Untersuchung eines Wasserdimers hat sich herausgestellt, daß die wohlbekannt Schwäche der LDA-Näherung, die Stärke von Wasserstoffbrückenbindungen zu überschätzen, sich bei Hybridmodellen nicht auf die Wechselwirkung zwischen QM- und MM-Fragment überträgt.

Anhand des Schwingungsspektrums von Äthan wurde demonstriert, daß im SPLAM-Verfahren – im Gegensatz zu den üblichen in der Literatur verwendeten Link-Atom-Verfahren – Schwingungsmoden, die über beide Fragmenthälften delokalisiert sind, durch die Fragmentierung nicht verfälscht werden. Außerdem wurde gezeigt, daß das SPLAM-Verfahren auch für im QM-Fragment lokalisierte  $\pi$ -Elektronensysteme geeignet ist, wenn zur Vermeidung von Substituenteneffekten eine  $\text{CH}_2$ -Gruppe als „elektronische Isolierung“ zwischen QM-Fragment und MM-Fragment in die quantenmechanische Beschreibung aufgenommen wird.

Im letzten Kapitel wurde als erste Anwendung für eine kleine Schiffische Base in wäßriger Lösung ein ensemblegemittelt IR-Spektrum berechnet. Als zweite Anwendung wurde die Retinal-Schiff-Base quantenmechanisch in der Bindungstasche von BR untersucht. Durch Vergleich von berechneten IR-Spektren mit experimentellen Daten konnte gezeigt werden, daß das im Jahre 1996 von Grigorieff *et al.* vorgeschlagene BR-Modell einen guten Ausgangspunkt für Strukturverfeinerungen der BR-Bindungstasche darstellt. Insbesondere legen die QM/MM-Hybridrechnungen nahe, daß in BR<sub>568</sub> das Proton der Schiffischen Base in Richtung von Asp85 orientiert ist.

Mit der letzten Anwendung wurde demonstriert, wie berechnete IR-Spektren von QM/MM-Hybridmodellen ein Beitrag zur Strukturaufklärung von Proteinen wie BR leisten können. Ferner wird es mit Hilfe der in dieser Arbeit entwickelten QM/MM-Hybridmethode möglich sein, den Ablauf von enzymatischen Reaktionen bei Proteinen, für die hinreichend genaue Strukturinformationen bekannt sind, zu studieren.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einführung</b>	<b>1</b>
1.1	Quantenmechanische Beschreibung von Molekülen.....	4
1.2	Molekülmechanik-Modelle zur Beschreibung von Proteinen.....	5
1.3	QM/MM-Hybridmodelle .....	8
1.4	Gliederung der Arbeit.....	12
<b>2</b>	<b>Methodische Grundlagen</b>	<b>15</b>
2.1	Die Schrödingergleichung.....	15
2.2	Die Dichtefunktionaltheorie (DFT) .....	17
2.2.1	Die Kohn-Sham-Gleichungen .....	17
2.2.2	Das Austausch-Korrelations-Funktional .....	20
2.2.3	Das DFT-Programm CPMD .....	22
2.3	Molekulardynamik-Simulation von Proteinen.....	24
2.3.1	Grundlagen.....	24
2.3.2	Das CHARMM-Kraftfeld .....	26
2.3.3	Der FAMUSAMM-Algorithmus.....	31
<b>3</b>	<b>Die Behandlung nicht kovalent gebundener Fragmente</b>	<b>37</b>
3.1	Die van der Waals Wechselwirkung .....	38
3.2	Die elektrostatische Wechselwirkung .....	39
3.2.1	Das QM/FAMUSAMM-Verfahren.....	41
3.2.2	Die Partialladungsnaherung für das QM-Fragment.....	46
3.3	Algorithmische Rauschkraefte .....	47

<b>4</b>	<b>Die Behandlung kovalent gebundener Fragmente</b>	<b>51</b>
4.1	Die Einführung des Link-Atoms .....	52
4.1.1	Das LAEP-Verfahren .....	54
4.1.2	Das Pseudo-Hybridmodell.....	55
4.2	Das SPLAM-Verfahren.....	57
4.2.1	Die Korrektur des Winkelpotentials.....	57
4.2.2	Die skalierte Positionierung des Link-Atoms .....	63
4.2.3	Die „Eliminierung“ des Link-Atoms .....	67
4.3	Zusammenfassung des SPLAM-Verfahrens.....	70
<b>5</b>	<b>Die Kopplung von EGO und CPMD</b>	<b>73</b>
5.1	Die Problemstellung .....	73
5.2	Die Implementierung .....	74
<b>6</b>	<b>Testrechnungen</b>	<b>79</b>
6.1	Untersuchung der <i>non-bonded</i> -Wechselwirkung .....	79
6.1.1	Das in Wasser gelöste Wassermolekül .....	79
6.1.2	Das Wasserdimer .....	85
6.2	Kovalent gebundene QM/MM-Fragmente .....	93
6.2.1	Das Schwingungsspektrum von Äthan.....	93
6.2.2	Das Schwingungsspektrum von Miniretinal .....	95
6.3	Zusammenfassung.....	98

<b>7</b>	<b>Anwendungen</b>	<b>101</b>
7.1	Eine C=C–C=N Schiff-Base in Wasser .....	102
7.1.1	Ziele und Modelle.....	105
7.1.2	Ergebnisse .....	107
7.2	Die protonierte Retinal-Schiff-Base in BR <sub>568</sub> .....	117
7.2.1	Die Chromophorbindungstasche .....	119
7.2.2	Methoden .....	122
7.2.3	Ergebnisse .....	127
7.2.4	Strukturvorhersage der Chromophorgeometrie .....	138
<b>A</b>	<b>Daten zu den Testrechnungen</b>	<b>139</b>
<b>B</b>	<b>Daten zur Schiffischen Base MBMH</b>	<b>140</b>
<b>C</b>	<b>Daten zur Retinal-Schiff-Base</b>	<b>141</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>147</b>



# Kapitel 1

## Einführung

Die von Proteinen vermittelte enzymatische Katalyse stellt wohl das bemerkenswerteste Beispiel dafür dar, wie die komplexe Struktur und Dynamik eines Lösungsmittels (Proteins) die Eigenschaften und Reaktionswege eines gelösten Stoffes (Substrats) steuern kann (siehe z.B. [1]). Jedes Protein ist durch eine charakteristische Abfolge (Primärstruktur) von Aminosäuren gekennzeichnet. Die hydrophilen und hydrophoben Seitengruppen der Aminosäurekette bewirken dabei eine vom umgebenden Medium abhängige Faltung in eine definierte, für die Funktionsweise des Proteins erforderliche Struktur (Tertiärstruktur). Dabei bilden sich substratspezifische Bindungstaschen aus, in denen komplex strukturierte elektrostatische Felder für die katalytische Wirkung des aktiven Zentrums maßgeblich sind [1,2].

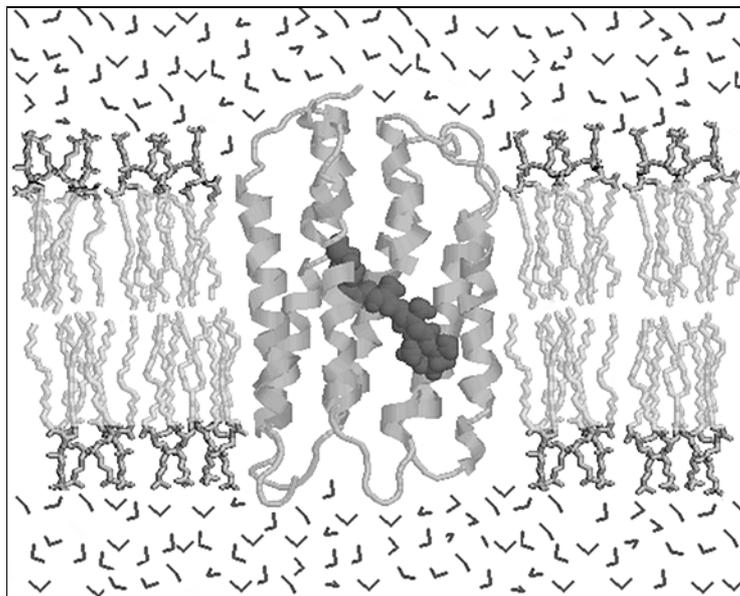


Abbildung 1: Computermodell des Chromoproteins *Bacteriorhodopsin* (BR); das Bändermodell in der Mitte zeigt das aus sieben  $\alpha$ -Helices bestehende Protein eingebettet in eine Lipid-Wasser-Grenzschicht (Stäbchenmodell); im Zentrum von BR befindet sich der kovalent an das Protein gebundene Farbstoff Retinal (schwarz gezeichnete Atome), der in einem lichtgetriebenen Pumpzyklus Protonen durch die Membran transportiert; das Bandmodell einer im Vordergrund liegenden  $\alpha$ -Helix, die den Blick auf Retinal versperren würde, ist nur zum Teil dargestellt.

Als Beispiel für die Arbeitsweise eines Proteins ist in Abbildung 1 ein Modell des membranständigen Proteins *Bacteriorhodopsin* (BR) gezeigt. Dieses Protein findet man in der Lipiddoppelschicht der Purpurmembraan des Archaeobakteriums *Halobacterium halobium*. BR befähigt dieses Bakterium durch Ausbildung eines transmembranalen Protonengradienten Lichtenergie chemisch zu fixieren [3]. Der Name „Purpurmembraan“ rührt dabei von dem charakteristischen Absorptionsmaximum von BR bei 568 nm her. Bei der in Abbildung 1 durch ein Stäbchenmodell dargestellten Lipidmembran sind die dunkelgrau gezeichneten polaren Kopfgruppen der Lipidmoleküle dem Wasser zugewandt, während die hellgrau gezeichneten Fettsäurereste das unpolare Innere der Membran bilden. Die Tertiärstruktur von BR ist durch eine charakteristische Anordnung von sieben  $\alpha$ -Helices (Bändermodell) bestimmt, die einen hydrophilen Kanal von einer Membranseite zur anderen ausbilden [4-9]. Die in vielen Proteinen anzutreffenden  $\alpha$ -Helices werden als sogenannte Sekundärstrukturelemente bezeichnet und stellen rigide Strukturen dar, die durch Wasserstoffbrückenbindungen der einzelnen Aminosäuren untereinander und durch die Wechselwirkung mit dem umgebenden Lösungsmittel stabilisiert werden. Der hydrophile Kanal in BR ist durch den in Abbildung 1 schwarz hervorgehobenen Farbstoff *Retinal* versperrt, der als prosthetische Gruppe die Schlüsselrolle im Protonenpumpzyklus von BR spielt. Dieser in Abbildung 2 näher gezeigte Chromophor ist über eine *Schiffsche Base* kovalent an die Seitengruppe Lys216 des Proteins gebunden.

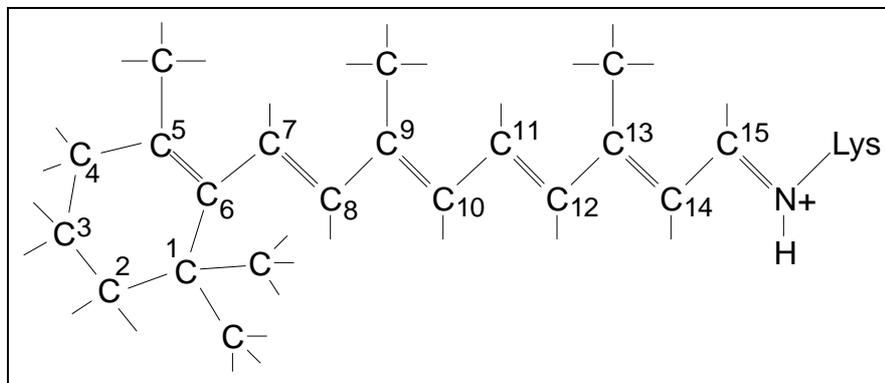


Abbildung 2: Chemische Struktur der Retinal-Schiff-Base in der protonierten *all-trans*-Form; im Protein *Bacteriorhodopsin* ist die Polyenkette von Retinal über eine protonierte Schiffsche Base ( $C=NH^+$ ) und eine Lysin-Seitengruppe kovalent mit dem Proteinrückgrat verbunden; die breite Absorptionsbande im sichtbaren Spektralbereich verdankt Retinal dem System aus sechs konjugierten Doppelbindungen.

Als primärer energieübertragender Schritt bewirkt die Absorption eines Lichtquants in dem mit  $BR_{568}$  bezeichneten Ausgangszustand von BR eine Isomerisierung der protonierten Schiffschen Base des Retinals von der *all-trans*-Form in die *13-cis*-Form [10-12]. In einem Zyklus von Zwischenzuständen des Proteins wird die Schiffsche Base dabei de- und reprotoniert, wodurch

---

der Protonentransport durch den Kanal getrieben wird. Alle Zwischenzustände des Zyklus ( $\text{BR}_{568} \Rightarrow \text{J}_{625} \Rightarrow \text{K}_{590} \Rightarrow \text{L}_{550} \Rightarrow \text{M}_{412} \Rightarrow \text{N}_{520} \Rightarrow \text{O}_{640} \Rightarrow \text{BR}_{568}$ ) lassen sich spektroskopisch durch ein charakteristisches Absorptionsmaximum identifizieren. Bemerkenswert ist, daß das in BR eingebaute Retinal mit einer Quantenausbeute von 60 % ausschließlich in die 13-*cis*-Form isomerisiert. In einer unstrukturierten Lösungsumgebung dagegen, wie etwa in Methanol, weist Retinal nur eine geringe Quantenausbeute von etwa 15 % auf, wobei Isomerisierungsreaktionen um alle C=C-Doppelbindungen der Polyenkette beobachtet werden [13]. Neben Kurzzeitspektroskopie-Experimenten haben vor allem die Infrarot (IR) und die Resonanz-Raman Spektroskopie entscheidend zur Aufklärung des Photozyklus in BR beigetragen (siehe z.B. [14-16]). Für die Interpretation experimenteller Ergebnisse waren umfangreiche quantenchemische Studien über die Eigenschaften der Retinal-Schiff-Base notwendig (siehe z.B. [16-20]).

Am Beispiel von BR sehen wir, daß Proteine eine zeitlich und räumlich komplex strukturierte molekulare Umgebung für ein gebundenes Substrat oder eine prosthetische Gruppe bereitstellen und dadurch chemische Eigenschaften und Reaktionswege bedeutsam beeinflussen können. Um in quantenmechanischen Rechnungen die katalytische Wirkung eines Proteins auf ein Substrat untersuchen zu können, muß das Protein möglichst realitätsnah, in atomarer Auflösung erfaßt werden. Kontinuumsmodelle [21,22] sind hierfür sicherlich nicht ausreichend. Dies führt jedoch zu einem Dilemma: Die Behandlung chemischer Reaktionswege oder die Berechnung von Spektren erfordert, daß die betreffenden Moleküle mit einem präzisen quantenmechanischen (QM) Verfahren behandelt werden [23-32]. Derartige QM-Verfahren weisen jedoch bekanntermaßen einen so hohen Rechenaufwand auf, daß Systeme mit kaum mehr als 100 Atomen zugänglich sind. Es lassen sich damit zwar viele Substrate oder funktionell bedeutsame prosthetische Gruppen in Proteinen behandeln, nicht jedoch gesamte Proteine, die typischerweise aus weit mehr als 1000 Atomen bestehen.

Einen möglichen Ausweg bieten molekülmechanische (MM) Modelle, die auf empirisch bestimmten Kraftfeldern beruhen und geeignet sind, die Struktur und Konformationsdynamik von Proteinen in atomarer Auflösung zu behandeln. Allerdings können in solchen MM-Modellen keine chemische Reaktionen oder aussagekräftige IR- oder Raman-Spektren berechnet werden. Da es das Ziel der hier vorliegenden Arbeit ist, die Chromophor-Protein-Wechselwirkung in BR zu charakterisieren, muß zuerst eine sogenannte *QM/MM-Hybridmethode* entwickelt werden. Bei einem derartigen Ansatz soll ein kleiner Teil eines Proteinsystems, etwa das Substrat oder ein eingelagerter Farbstoff, mit hoher Genauigkeit durch ein QM-Verfahren behandelt werden, und der nicht vernachlässigbare Einfluß des restlichen Proteins durch ein MM-Modell. Den quantenmechanisch beschriebenen Teil in einem QM/MM-Hybridmodell bezeichnen wir im folgenden als das *QM-Fragment*, den molekülmechanisch behandelten Teil als das *MM-Fragment*.

Bevor wir in Abschnitt 1.3 eine Einführung in die anstehenden Aufgaben bei der Entwicklung einer geeigneten Hybridmethode geben, verschaffen wir uns zunächst einen Überblick über die prinzipiell zur Verfügung stehenden Verfahren zur Behandlung von QM- bzw. MM-Fragmenten. Der nächste Abschnitt soll dabei die in dieser Arbeit getroffene Wahl für das quantenmechanische Verfahren zur Beschreibung der protonierten Schiffchen Base von Retinal in BR begründen.

## 1.1 Quantenmechanische Beschreibung von Molekülen

Quantenmechanische Verfahren zur Berechnung von Moleküleigenschaften basieren auf der approximativen Lösung der Vielelektronen-Schrödingergleichung im Rahmen der Born-Oppenheimer-Näherung [33] (siehe z.B. [23,24]). Als Lösung erhält man die elektronische Wellenfunktion  $\Psi$  des Moleküls und die Potentialenergiefläche in Abhängigkeit von der Kernkonfiguration. Die Wellenfunktion  $\Psi$  wird dabei durch eine Entwicklung in einen vorgegebenen Basisfunktionensatz dargestellt. Der Rechenaufwand von QM-Verfahren wächst dabei schnell sowohl mit der Anzahl der Atome in einem Molekül, als auch mit der gewünschten Genauigkeit bei der Entwicklung von  $\Psi$ , da beide Faktoren die Menge der zu behandelnden Basisfunktionen erhöhen. Bei der derzeitigen Computerrechenleistung erlauben selbst ausgefeilte Programmpakete, wie z.B. Gaussian94 [25], *ab-initio* Hartree-Fock-Rechnungen nur für Systeme mit weniger als 100 Atomen.

Genügen für eine gegebene Fragestellung qualitative bzw. halb-quantitative Ergebnisse, dann lassen sich semi-empirische Näherungen des Hartree-Fock-Ansatzes (z.B. MNDO [26], AM1 [27]) einsetzen, die einen wesentlich geringeren Rechenaufwand als *ab-initio* Hartree-Fock-Verfahren aufweisen und damit die Beschreibung größerer Systeme ermöglichen. Derartige Verfahren sind ebenfalls in leicht zugänglichen Programmpaketen implementiert (z.B. MOPAC [28]). Da bei allen Hartree-Fock-Verfahren die Effekte der Elektronenkorrelation unzureichend berücksichtigt werden, sind diese Methoden für Moleküle mit konjugierten  $\pi$ -Elektronensystemen und stark delokalisierten Elektronen ungeeignet [18,20,35-37]. Sogenannte Post-Hartree-Fock-Methoden, wie z.B. die Møller-Plesset-Störungstheorie zweiter Ordnung (MP2) [29], berücksichtigen zwar Korrelationseffekte näherungsweise, sind aber mit einem enormen Rechenaufwand verbunden. Die mit Post-Hartree-Fock handhabbaren Molekülgrößen sind deswegen bei der derzeitigen Computerrechenleistung auf Systeme mit etwa maximal 25 Atomen beschränkt.

Für die quantenmechanische Behandlung eines größeren Moleküls mit einem konjugierten  $\pi$ -Elektronensystem, wie bei der in Abbildung 2 gezeigten protonierten Retinal-Schiff-Base, war man deswegen in früherer Zeit gezwungen, auf Hartree-Fock-Methoden zurückzugreifen. Die damit verbundenen Fehler behinderten insbesondere die Interpretation von IR- und Raman-Spektren zur Aufklärung der Protein-Chromophor-Wechselwirkung in BR [16-20].

Zur Berechnung von Molekülen im elektronischen Grundzustand entwickelte sich erfreulicherweise die sogenannte *Dichtefunktionaltheorie* (DFT) [30-32], die auf die Arbeit von Hohenberg und Kohn im Jahre 1964 zurückgeht, zu einer hinsichtlich des Rechenaufwandes kostengünstigen Alternative zu Post-Hartree-Fock-Methoden. Der damit verbundene Aufschwung der Quantenchemie, der einerseits auf den Erfolg der DFT und andererseits auf die Entwicklung von immer ausgefeilteren Computeralgorithmen zurückzuführen ist, erklärt, daß der Chemie-nobelpreis 1998 an die daran wesentlich beteiligten Personen W. Kohn und J. A. Pople verliehen wurde (siehe [34]).

Wie sich insbesondere bei berechneten IR-Spektren von Molekülen mit konjugierten  $\pi$ -Elektronensystemen gezeigt hat, liefern DFT-Verfahren auf Basis nicht-lokaler Austausch-Korrelations-Funktionale außerordentlich gute molekulare Kraftfelder (siehe z.B. [37-41]). Auch wenn die Meinung darüber geteilt ist, ob DFT-Rechnungen als *ab-initio* Rechnungen angesehen werden können, so steht außer Frage, daß durch den DFT-Ansatz ein Großteil der Elektronen-Korrelationseffekte richtig behandelt wird und damit eine ernst zu nehmende Alternative zu Post-Hartree-Fock-Methoden für Grundzustandsrechnungen vorhanden ist.

Ihren Erfolg verdankt die DFT auch der Tatsache, daß einige weit entwickelte Programmimplementationen zur Verfügung stehen (z.B. Gaussian94 [25], DMol [42], CPMD [43]). Speziell im DFT-Programm CPMD (Abkürzung für *Car-Parrinello Molekulardynamik*) ermöglicht die Verwendung von ebenen Wellen als Basisfunktionen eine sehr effiziente Implementierung auf Parallelrechnern, die sehr hohe Rechenleistungen aufweisen. In CPMD erlaubt zudem der Einsatz der sogenannten Car-Parrinello-Methode [44], die zeitliche Entwicklung der Kernpositionen und der Wellenfunktion simultan sehr effizient zu berechnen. Dadurch kann etwa der Ablauf chemischer Reaktionen mittels Molekulardynamiksimulationen (MD-Simulationen) untersucht werden. In MD-Simulationen eines Wasserclusters, bestehend aus 96 Atomen über einen Zeitraum von mehreren Pikosekunden, konnte die Leistungsfähigkeit von CPMD bereits erfolgreich demonstriert werden [45-47].

Aus den obigen Erläuterungen wird deutlich, daß das DFT-Programm CPMD ein geeigneter Kandidat für unser Vorhaben ist, die protonierte Retinal-Schiff-Base unter Berücksichtigung von Elektronen-Korrelationseffekten quantenmechanisch in der Bindungstasche von BR zu beschreiben. Aus diesem Grund haben wir das Programm CPMD zur Behandlung von QM-Fragmenten für die in dieser Arbeit zu entwickelnde QM/MM-Hybridmethode gewählt.

## 1.2 Molekülmechanik-Modelle zur Beschreibung von Proteinen

Neben dem quantenmechanischen Verfahren zur Beschreibung des QM-Fragments ist eine weitere tragende Komponente einer QM/MM-Hybridmethode durch das molekülmechanische Verfahren zur Beschreibung des MM-Fragments gegeben. MM-Verfahren wurden zuerst zur

Untersuchung von einfachen van der Waals Flüssigkeiten eingesetzt [48,49], wobei sich im Zuge methodischer Weiterentwicklungen das Einsatzgebiet enorm ausdehnte [50]. Heute werden MM-Verfahren zur Strukturverfeinerung von Röntgen- oder NMR-Molekülstrukturen [51-53], für die Simulation von polaren Flüssigkeiten [54,55], Proteinen [56-61], Nukleinsäuren [62] und Lipidmembranen [63-65] eingesetzt.

In MM-Verfahren werden die Atome eines Moleküls als Punktmassen dargestellt, und die molekularen Kräfte zwischen den Atomen werden aus semi-empirisch bestimmten, analytisch angegebenen Potentialen abgeleitet [66-71], die für Computer schnell auswertbar sind. Elektronische Freiheitsgrade werden in MM-Modellen nicht explizit behandelt, und die Topologie kovalenter Bindungen ist fest vorgegeben. Als Folge hiervon können z.B. keine chemischen Reaktionen untersucht werden. Neben kurzreichweitigen Potentialtermen (*bonded*-Wechselwirkungen), die sich an der chemischen Bindungsstruktur des gegebenen Moleküls orientieren, werden in MM-Modellen, wie z.B. im CHARMM-Kraftfeld [67], den einzelnen Atomen elektrische Partiaalladungen zugewiesen, die über die Coulombwechselwirkung den elektrostatischen Eigenschaften eines Moleküls Rechnung tragen sollen. Aufgrund des dipolaren Charakters heteronuklearer Bindungen tragen fast alle Atome eines Proteinmodells Partiaalladungen. Integrale Ladungen werden zur Beschreibung ionischer Seitengruppen verwendet. Polarisierungseffekte werden dabei teilweise vernachlässigt, da die Partiaalladungen fest vorgegeben sind und daher nur eine mittlere Polarisierung in einer Standardkonfiguration wiedergeben können. In Anbetracht der hohen Polarisierbarkeit von Wasser wurden in der Vergangenheit spezielle MM-Verfahren entwickelt, bei denen Polarisierungseffekte durch eine selbstkonsistente Behandlung induzierbarer Dipole berücksichtigt werden [72-74]. Diese Verfahren sind jedoch noch nicht für die MD-Simulation von Proteinen etabliert und wegen der nötigen Selbstkonsistenz mit einem hohen Rechenaufwand verbunden. Aus den oben genannten Gründen greifen wir bei dem in dieser Arbeit zu entwickelnden QM/MM-Hybridverfahren auf das konventionelle und für Proteine wohl etablierte CHARMM-Kraftfeld [67] zurück.

Die langreichweitigen Coulombwechselwirkungen und die durch Lenard-Jones-Paarpotentiale modellierten van der Waals Wechselwirkungen führen dazu, daß der Rechenaufwand im CHARMM-Kraftfeld *quadratisch* mit der Anzahl  $N$  der Atome im System wächst. Der damit verbundene Rechenaufwand führt zu einer praktischen Beschränkung der behandelbaren Systemgrößen und der simulierbaren Zeitskalen. In der Vergangenheit wurde dieser hohe Rechenaufwand für die auch als *non-bonded*-Wechselwirkungen bezeichneten Coulomb- und van der Waals Wechselwirkungen häufig durch einfach zu implementierende Abschneideverfahren (*cutoff schemes*) [67,68] vermieden. Dabei wird die *non-bonded*-Wechselwirkung zwischen zwei Atomen, die weiter als ein vorgegebener Abstand  $8 \text{ \AA} \leq R_{\text{cutoff}} \leq 14 \text{ \AA}$  voneinander entfernt sind, einfach vernachlässigt. Der Rechenaufwand wächst dann ab einer bestimmten Systemgröße nur noch linear mit der Anzahl der Atome. Derartig kleine Abschneideradien sind für van der Waals Wechselwirkungen akzeptabel, führen jedoch bei Coulombwechselwirkungen

in MD-Simulationen von Proteinen zu nicht tragbaren Struktur- und Dynamikartefakten [75-78]. Ausgefeiltere Näherungsmethoden zur Behandlung der langreichweitigen Anteile der Coulombwechselwirkung, die auf sogenannten Mehrschrittverfahren [79-82], Multipolverfahren [83-87] und in jüngster Zeit auch auf Kombinationen aus beiden Verfahren [88-91] basieren, erlauben es daher heute weitgehend, derartige unerwünschte Artefakte zu vermeiden [77,78,90,91].

Eine solche Kombination aus einem Mehrschrittverfahren [77] und einem Multipolverfahren, dem von Niedermeier und Tavan vorgeschlagenen SAMM-Verfahren (*structure adapted multipole method*) [78,86,87], habe ich im Rahmen meiner Diplomarbeit [90,91] entwickelt. Dieser als FAMUSAMM (*fast multiple time step structure adapted multipole method*) bezeichnete Algorithmus ist im MM-Programm EGO\_VIII [92,93] sowohl in einer sequentiellen als auch in einer für Höchstleistungsparallelrechner geeigneten parallelisierten Form implementiert. Es konnte gezeigt werden, daß bei dem FAMUSAMM-Algorithmus der Rechenaufwand von MD-Simulationen vergleichbar zu dem von einfachen Abschneideverfahren ist und linear mit der Anzahl der Atome im System wächst [90,91]. Trotz der hohen Effizienz von FAMUSAMM treten keine Struktur- oder Dynamikartefakte bei MD-Simulationen auf. Durch die Möglichkeit, auf die hohe Rechenleistung von Parallelrechnern zurückgreifen zu können, lassen sich durch den in EGO\_VIII implementierten FAMUSAMM-Algorithmus somit molekulare Systeme, bestehend aus mehreren zehntausend Atomen, über etliche Nanosekunden simulieren. Trotz der vielen Vereinfachungen, die MM-Modellen anhaften, konnte jüngst gezeigt werden, daß viele Aspekte molekularer Kraftfelder, insbesondere auch elektrostatische Eigenschaften von Proteinen mit ausreichender Genauigkeit erfaßt werden [94,95].

Wir halten also fest, daß mit dem in EGO\_VIII implementierten FAMUSAMM-Algorithmus ein effizientes MM-Verfahren für die molekülmechanische Behandlung von Proteinen zur Verfügung steht, das verspricht, selbst sehr große MM-Fragmente in QM/MM-Hybridmodellen effizient und ohne Verlust an Genauigkeit zu erfassen. Nachdem nun die beiden grundsätzlichen Komponenten unserer Hybridmethode vorgestellt worden sind (DFT mit CPMD und Molekülmechanik mit EGO\_VIII), soll im nächsten Abschnitt anhand einer Übersicht über bereits in der Literatur vorgeschlagene QM/MM-Hybridmethoden [96-121] eine Einführung in dieses Thema gegeben werden.

### 1.3 QM/MM-Hybridmodelle

Der erste Schritt bei der Formulierung eines QM/MM-Hybridmodells erfordert die räumliche Aufteilung eines gegebenen Systems in ein QM-Fragment und in ein MM-Fragment. Dies ist in Abbildung 3 exemplarisch für einen kleinen Wassercluster [118,121] und in Abbildung 4 für das bereits oben angeführte Protein BR skizziert. Wie auch in allen weiteren Abbildungen in dieser Arbeit sind die Atome des QM-Fragments (QM-Atome) dabei dunkelgrau gezeichnet und die Atome des MM-Fragments (MM-Atome) hellgrau. Demzufolge wird bei dem in Abbildung 3 gezeigten QM/MM-Hybridsystem das in der Mitte eingezeichnete Wassermolekül quantenmechanisch behandelt, während die restlichen Wassermoleküle molekülmechanisch behandelt werden. Bei dem in Abbildung 4 gezeigten komplexer strukturierten Hybridsystem wird aufgrund der zentralen Rolle der protonierten Retinal-Schiff-Base in BR das darin enthaltene ausgedehnte  $\pi$ -Elektronensystem (dunkelgraues, dickes Stabmodell) als QM-Fragment gewählt. Ein Teil des Cyclohexenrings von Retinal, die Lysin-Seitenkette (hellgraues, dickes Stabmodell) und das umgebende Protein (hellgraues, dünnes Stabmodell) bilden das MM-Fragment.

Der zweite Schritt bei der Formulierung eines QM/MM-Hybridmodells erfordert die Entwicklung eines geeigneten Wechselwirkungsschemas zwischen dem QM-Fragment und dem MM-Fragment. Dabei ist es zweckmäßig, sich an dem Wechselwirkungsbild von MM-Kraftfeldern zu orientieren und demzufolge zwischen *kovalent* und *nicht kovalent* aneinander gebundenen Atomen zu unterscheiden. Unter diesem Gesichtspunkt wirken bei dem in Abbildung 3 gezeigten Wassercluster ausschließlich van der Waals und Coulombkräfte zwischen den beiden Fragmenten.

Bei dem in Abbildung 4 gezeigten Beispiel bestehen außerdem an den drei mit Großbuchstaben **A**, **B** und **C** markierten Schnittstellen kovalente Bindungen zwischen jeweils einem QM-Atom und einem MM-Atom. Solche kovalenten Bindungen über die Fragmentgrenzen hinweg führen in QM/MM-Hybridmodellen zu zwei Problemen: Zuerst muß geklärt werden, wie in diesem Fall das QM-Fragment konkret zu definieren ist, da die an den Schnittstellen auftretenden freien Valenzen die Eigenschaften des QM-Fragments gegenüber dem in Wirklichkeit vorliegenden Gesamtsystem drastisch verändern. Ein geeignetes und von anderen Autoren vielfach verwendetes Konzept zur Behandlung dieses Problems ist das sogenannte *Link-Atom-Konzept* [97-99,111,113], bei dem die freien Valenzen durch geeignete Substituenten, meistens Wasserstoffatome (H-Atome), abgesättigt werden. Das zweite Problem besteht in der Modellierung des durch die eigentlich vorhandene kovalente Bindung erzeugten Kraftfeldes an einer Fragmentschnittstelle. Im Wechselwirkungsbild von MM-Kraftfeldern denkt man hierbei an Streck-, Winkel- und Torsionspotentiale, die über die Fragmentgrenzen hinweg wirken.

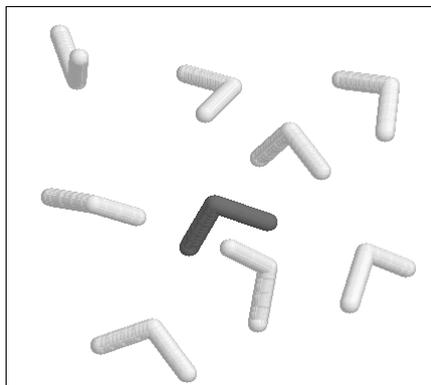


Abbildung 3: Computermodell eines Wasserclusters, bei dem das dunkelgrau gezeichnete Wassermolekül in der Mitte quantenmechanisch (QM-Fragment) und die restlichen, hellgrau gezeichneten Wassermoleküle molekülmechanisch (MM-Fragment) behandelt werden; in einem QM/MM-Hybridssystem von derart einfacher Struktur wirken zwischen den beiden Fragmenten nur van der Waals Kräfte und Coulombkräfte.

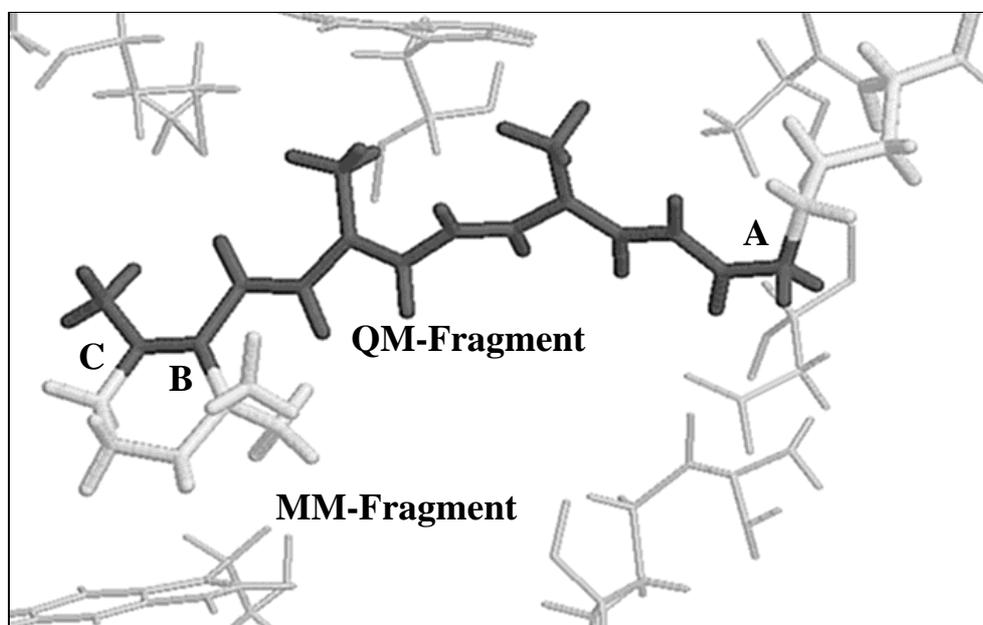


Abbildung 4: Darstellung der molekularen Umgebung (dünnem Stabmodell) der protonierten Retinal-Schiff-Base (dickes Stabmodell) in der Bindungstasche von BR; in diesem komplexen QM/MM-Hybridmodell soll das dunkelgrau hervorgehobene, konjugierte  $\pi$ -Elektronensystem der Retinal-Schiff-Base quantenmechanisch (QM-Fragment), ein Teil des Cyclohexenrings und die Proteinumgebung molekülmechanisch (MM-Fragment) behandelt werden.

Nachdem nun die grundsätzliche Problematik bei der Formulierung von Hybridmodellen aufgezeigt worden ist, geben wir einen Überblick über die in der Literatur bereits vorhandenen Lösungsansätze und einige Beispiele für deren Anwendung.

Warshel und Levitt [96] untersuchten als erste mit einem QM/MM-Hybridmodell elektrostatische Effekte bei der von Lysozym katalysierten enzymatischen Reaktion. Die beschränkte Leistungsfähigkeit damaliger Computer zwang die Autoren, einen Teil des Substrats mit einem semi-empirischen Hartree-Fock-Verfahren zu behandeln und den Rest des Systems molekülmechanisch. Wie später für alle nachfolgenden QM/MM-Hybridmethoden zum Standard geworden ist, modellierten sie die van der Waals Wechselwirkung zwischen einem QM-Atom und einem MM-Atom durch ein 6-12-Lenard-Jones-Paarpotential [97-99,113,114,117-121]. Für die molekülmechanischen, mit festen Partialladungen behafteten Proteinatome wurde die atomare Polarisierung durch induzierbare Dipole berücksichtigt. In nachfolgenden QM/MM-Hybridmodellen wurde eine derart konsistente Behandlung von Polarisierungseffekten nur noch von Bakowies und Thiel [98,100] sowie Thompson und Schenter [109] diskutiert. Fragment-schnittstellen wurden in der Arbeit von Warshel und Levitt durch speziell parametrisierte Hybrid-Orbitale behandelt.

Die später in der Literatur vorgestellten QM/MM-Hybridmethoden lassen sich anhand der eingesetzten quantenmechanischen Verfahren für die Behandlung der jeweiligen QM-Fragmente klassifizieren: In den meisten QM/MM-Hybridmodellen wurden Rechenzeit sparende semiempirische Hartree-Fock-Methoden für den elektronischen Grundzustand [96-108] oder für angeregte Zustände eingesetzt [109,110]. Aufwendigere *ab-initio* Hartree-Fock-Methoden oder Post-Hartree-Fock-Methoden finden sich in solchen Arbeiten [111-116], bei denen die Fragestellung quantitative Ergebnisse erforderte und das QM-Fragment klein genug für eine derartige Behandlung gewählt werden konnte. Erst seit jüngster Zeit wurden auch DFT-Verfahren für die Behandlung von QM-Fragmenten eingesetzt [117-121]. Der überwiegende Teil der Hybridverfahren behandelt, ähnlich wie in Abbildung 3 gezeigt, einfach strukturierte Systeme, bei denen keine kovalenten Bindungen zwischen den Fragmenten vorhanden sind [102-106,110,113,114,117-121].

Das Link-Atom-Konzept zur Behandlung komplexer Hybridmodelle mit kovalenten Bindungen zwischen den Fragmenten folgt aus der Tradition, anstatt großer Moleküle, die für eine vollständige quantenmechanische Berechnung zu aufwendig sind, möglichst kleine, aber chemisch ähnliche Moleküle zu betrachten. Eines der ersten Hybridmodelle in dieser Tradition findet sich in der Arbeit von Alagona *et al.* [111], bei der das Enzym Triosephosphat-Isomerase untersucht wurde. Um die Größe des quantenmechanisch behandelten Substrats zu minimieren, wurden nicht unmittelbar für die chemische Reaktion bedeutende Seitengruppen durch H-Atome bzw. durch Methylgruppen ersetzt. Relevante Seitengruppen des Proteins wurden entweder durch kleine, chemisch ähnliche Moleküle direkt in die quantenmechanische Rechnung einbezogen oder klassisch durch geeignet gewählte Partialladungen dargestellt. Eine wirkliche Modellierung von vorhandenen kovalenten Bindungen zwischen dem QM-Fragment und dem MM-Fragment wurde in dieser Arbeit jedoch noch nicht durchgeführt.

Der erste Versuch, eine dynamische Kopplung zwischen kovalent gebundenen Fragmenten bei einem Hybridmodell eines Polyethers herzustellen, findet sich in der Arbeit von Sing und Kollman [113]. Die freien Valenzen des QM-Fragments wurden durch Link-Wasserstoffatome abgesättigt, wobei kovalente Bindungen zwischen den Fragmenten durch MM-Potentialterme modelliert wurden. Die Link-Atome waren von dem MM-Fragment entkoppelt und traten als zusätzliche dynamische Freiheitsgrade im QM-Fragment in Erscheinung. Die Qualität dieses Link-Atom-Verfahrens wurde in dieser Arbeit nicht näher untersucht.

Eine weiterentwickelte Form des Link-Atom-Konzepts und zugehörige Testrechnungen finden sich in den Arbeiten von Field *et al.* [97] sowie Bakowies und Thiel [98,99], wobei das QM-Fragment jeweils durch ein semi-empirisches Hartree-Fock-Verfahren behandelt wurde. Field *et al.* [97] schlagen dabei erstmals ein Link-Atom-Verfahren vor, bei dem das verbindende Wasserstoffatom immer in seiner Gleichgewichtslage gehalten wird. Im folgenden werden wir dieses Link-Atom-Verfahren mit LAEP (*link atom at equilibrium position*) bezeichnen. Wie bei Sing und Kollman [113] wird im LAEP-Verfahren das Kraftfeld an Fragmentschnittstellen durch MM-Potentiale modelliert. Obwohl einfache Regeln für eine günstige Fragmentierung diskutiert wurden und kleine organische Moleküle untersucht worden sind, so fehlten bei Field *et al.* [97] kritische Testrechnungen, anhand derer die Qualität des Kraftfeldes an der Fragmentschnittstelle beurteilt werden konnte.

Bakowies und Thiel [98,99] untersuchten ebenfalls das LAEP-Verfahren und begründeten es durch eine Betrachtung der Gesamtenergie eines QM/MM-Hybridmodells. In einer Serie von Testrechnungen zeigten sie, daß strukturelle und energetische Eigenschaften im LAEP-Verfahren richtig wiedergegeben werden. Bei genauer Betrachtung von berechneten Schwingungsspektren stellte Bakowies jedoch am Schluß seiner Dissertation [98] noch erhebliche Mängel bei diesem Link-Atom-Verfahren fest. Diese Mängel sind ein Indiz dafür, daß das molekulare Kraftfeld an der Schnittstelle zwischen QM-Fragment und MM-Fragment im LAEP-Verfahren noch fehlerhaft behandelt wird.

Die Detektion von Fehlern bei der Beschreibung intramolekularer Kräfte anhand von Schwingungsspektren durch Bakowies bestätigt die allgemein bekannte Tatsache, daß Schwingungsspektren eine sehr empfindliche Observable für die Beurteilung der Qualität von Kraftfeldern, also insbesondere auch für QM/MM-Hybridverfahren, darstellen. Aus diesem Grund werden wir für das in der vorliegenden Arbeit entwickelte Hybridverfahren neben energetischen und strukturellen Observablen vor allem auch Schwingungsspektren als Testkriterien heranziehen. Dies wird es uns ermöglichen, die Qualität einer verfeinerten Link-Atom-Methode, die wir in dieser Arbeit vorschlagen und als SPLAM-Verfahren (*scaled position link atom method*) bezeichnen werden, genau zu charakterisieren.

## 1.4 Gliederung der Arbeit

In Kapitel 2 werden die methodischen Grundlagen dieser Arbeit vorgestellt. Dabei skizzieren wir im ersten Abschnitt zur Einführung der später verwendeten Nomenklatur knapp die Theorie der quantenmechanischen Beschreibung von Molekülen. In Abschnitt 2.2 gehen wir dann spezieller auf die in dieser Arbeit verwendete DFT-Methode ein, wobei wir auch das eingesetzte DFT-Programm CPMD vorstellen. In Abschnitt 2.3 wird die Methode der MD-Simulation großer Molekülsysteme eingeführt. Dabei stellen wir insbesondere das für die Simulation von Proteinen etablierte CHARMM-Kraftfeld vor. Im Anschluß daran erläutern wir die im MD-Simulationsprogramm EGO\_VIII verwendete, äußerst effiziente FAMUSAMM-Methode zur Berechnung langreichweitiger elektrostatischer Kräfte. Dieser Algorithmus spielt später in weiterentwickelter Form bei der Berechnung des elektrostatischen Potentials im QM-Fragment eine wichtige Rolle.

In Kapitel 3 beginnen wir mit der Beschreibung der in dieser Arbeit entwickelten QM/MM-Hybridmethode. Dabei beschränken wir uns in diesem Kapitel auf Hybridsysteme, in denen keine kovalenten Bindungen zwischen den Fragmenten vorkommen, und die wir als „einfache“ Hybridsysteme bezeichnen. Für Systeme typischer Größe zeigt sich, daß die Berechnung des elektrostatischen Potentials im QM-Fragment mit einem sehr hohen Rechenaufwand verbunden ist. Zur Lösung dieses Problems werden wir daher den FAMUSAMM-Algorithmus weiterentwickeln und so eine effiziente Berechnung des vom MM-Fragment erzeugten elektrostatischen Potentials im QM-Fragment ermöglichen. Die dabei eingesetzten Näherungen machen es in Abschnitt 3.3 nötig, das Problem sogenannter algorithmischer Rauschkkräfte zu behandeln.

In Kapitel 4 wenden wir uns dann komplexeren Hybridsystemen zu, bei denen kovalente Bindungen zwischen den Fragmenten bestehen. Dazu wird ein Link-Atom-Verfahren entwickelt, das es erlaubt, die vielfach in Proteinen vorhandenen, unpolaren C–C  $\sigma$ -Bindungen als Fragmentschnittstellen auszunutzen. Als Modellsystem für eine derartige  $\sigma$ -Bindung dient dabei zunächst die C–C-Bindung in einem Äthanmolekül. In einer Vorbetrachtung in Abschnitt 4.1 analysieren wir die Schwachstelle der in früheren QM/MM-Hybridmodellen eingesetzten LAEP-Methode. Wir sind damit in Abschnitt 4.2 gerüstet, das verbesserte SPLAM-Verfahren zu entwickeln.

In Kapitel 5 werden die programmtechnischen Aspekte der Kopplung zwischen dem DFT-Programm CPMD und dem MD-Simulationsprogramm EGO\_VIII näher erläutert. Leitgedanke ist hierbei, daß die gekoppelten Programme auf einem möglichst breiten Spektrum von Supercomputern lauffähig sein müssen. Außerdem muß die Schnittstelle zwischen den Programmen, die den nötigen Datenaustausch regelt, leicht pflegbar sein, da die beiden Programme in getrennten Arbeitsgruppen entstanden sind und weiterentwickelt werden.

In Kapitel 6 wird die Qualität der Hybridmethode anhand verschiedener Testrechnungen genau untersucht. Dabei ziehen wir experimentell ermittelte Daten zum Vergleich heran und greifen zusätzlich auf quantenmechanische Rechnungen zurück. Im ersten Abschnitt analysieren wir die Wechselwirkung zwischen nicht kovalent gebundenen Fragmenten, wofür wir einen Wassercluster und ein Wasserdimer als Testsysteme gewählt haben. Der zweite Abschnitt ist komplexeren Hybridsystem mit kovalenten Schnittstellen zwischen den Fragmenten gewidmet. Mit Hilfe einer Analyse des IR-Spektrums von Äthan demonstrieren wir die Überlegenheit der neuen SPLAM-Methode gegenüber der herkömmlichen LAEP-Methode. Im letzten Abschnitt sammeln wir durch Betrachtung verschiedener Hybridmodellvarianten einer kleinen Schiffischen Base weitere Erfahrung bei der Behandlung von QM-Fragmenten mit konjugierten  $\pi$ -Elektronensystemen.

Im ersten Abschnitt von Kapitel 7 vergewissern wir uns durch das Studium eines Hybridmodells einer kleinen in Wasser gelösten protonierten Schiffischen Base, daß die von uns gewählte DFT-Beschreibung für diese Klasse von Molekülen geeignet ist. Dies ist nötig, da das Versagen einfacher Hartree-Fock-Methoden gezeigt hat, daß für derartige konjugierte  $\pi$ -Elektronensysteme eine Berücksichtigung von Elektronen-Korrelationseffekten unbedingt erforderlich ist. Außerdem wollen wir für die in Wasser gelöste kleine protonierte Schiffische Base ein realistisches IR-Schwingungsspektrum berechnen, wobei wir die inhomogene Linienverbreiterung der IR-Banden durch Mittelung über ein Ensemble an Lösungsmittelkonfigurationen berücksichtigen werden. Im letzten Abschnitt werden wir dann anhand von berechneten Schwingungsspektren der protonierten Retinal-Schiff-Base die Protein-Chromophor-Wechselwirkung für verschiedene BR-Modelle untersuchen. Daraus werden wir wichtige Rückschlüsse auf die Qualität der untersuchten BR-Modellstrukturen und auf die Geometrie der *all-trans* Retinal-Schiff-Base in der Bindungstasche von BR ziehen können. Diese Rechnungen erlauben es uns dann, eine Vorhersage über die Geometrie und Lage der *all-trans* Retinal-Schiff-Base in BR<sub>568</sub> zu machen.

Eine kurze Zusammenfassung der erzielten Ergebnisse dieser Arbeit befindet sich am Anfang der Dissertation.



# Kapitel 2

## Methodische Grundlagen

Für das Verständnis, auf welche Weise die gewählte DFT-Methode mit dem gewählten MM-Verfahren kombiniert werden kann, ist die Darstellung beider Methoden notwendig. Zur Einführung der Terminologie wird hierzu im ersten Abschnitt die elementare Gleichung der Quantenchemie, die stationäre Schrödingergleichung, eingeführt. In Abschnitt 2.2 wird die DFT-Methode zur Lösung der Schrödingergleichung skizziert, welche die Basis für alle in dieser Arbeit durchgeführten QM-Rechnungen bildet. Dabei gehen wir speziell auf das verwendete DFT-Programm CPMD ein, das in der Gruppe von Michele Parrinello in Stuttgart entwickelt worden ist. Da CPMD mit dem MD-Simulationsprogramm EGO\_VIII kombiniert werden soll, wird in Abschnitt 2.3 auf die Methode der MD-Simulation von Molekülen eingegangen und das speziell zur Beschreibung von Proteinen geeignete molekülmechanische CHARMM-Kraftfeld vorgestellt. Als wesentliche Weiterentwicklung gegenüber dem ursprünglichen CHARMM-Kraftfeld wird außerdem der in EGO\_VIII implementierte FAMUSAMM-Algorithmus erläutert, der für die effiziente Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkung in MM-Modellen und – wie wir später sehen werden – auch in QM/MM-Hybridmodellen von entscheidender Bedeutung ist.

### 2.1 Die Schrödingergleichung

Zur quantenmechanischen Beschreibung von Molekülen muß die stationäre Schrödingergleichung eines Vielteilchensystems, bestehend aus Elektronen und Atomkernen, gelöst werden. Gegenstand der Schrödingergleichung ist die Wellenfunktion für die Elektronen und für die Atomkerne. Da die Elektronen sehr viel leichter als die Atomkerne sind, kann im Rahmen der *Born-Oppenheimer-Näherung* die Reaktion der Elektronenverteilung auf eine sich ändernde Kernkonfiguration als instantan angenommen werden [33]. Dies erlaubt die Trennung der Kernfreiheitsgrade von den elektronischen Freiheitsgraden, so daß nur noch die zeitunabhängige elektronische Schrödingergleichung

$$\hat{H}(\mathbf{R}) \Psi^\tau = E^\tau(\mathbf{R}) \Psi^\tau \quad \text{mit} \quad \tau = 0, 1, 2, \dots \quad (2.1)$$

für eine fest vorgegebene Konfiguration  $\mathbf{R} = (\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N)$  von  $N$  Atomkernen behandelt werden muß. Dabei bezeichnet  $\Psi^\tau = \Psi^\tau(\mathbf{X}; \mathbf{R})$  die elektronische Vielteilchen-Wellenfunktion, die von dem  $n$ -Elektronen-Konfigurationsvektor  $\mathbf{X} = ((\xi_1, \sigma_1), \dots, (\xi_n, \sigma_n))$  abhängt.  $\xi_i$  stellt die Ortskoordinate und  $\sigma_i$  die Spinkoordinate des  $i$ -ten Elektrons dar. Bei der Konstruktion der

Wellenfunktion  $\Psi^\tau$  muß die Antisymmetrie durch einen Slaterdeterminanten-Ansatz aus Spin-Orbitalen  $\psi_i(\xi, \sigma)$  berücksichtigt werden. Der Hamiltonoperator  $\hat{H}(\mathbf{R})$  der elektronischen Schrödingergleichung ist in atomaren Einheiten durch

$$\hat{H}(\mathbf{R}) = \sum_i^n -\frac{1}{2} \nabla_i^2 + \sum_i^n \sum_{j<i}^n \frac{1}{|\xi_i - \xi_j|} + \sum_i^n v(\xi_i, \mathbf{R}) + W(\mathbf{R}) \quad (2.2)$$

gegeben. Die erste Summe in  $\hat{H}(\mathbf{R})$  beschreibt die kinetische Energie der Elektronen und die zweite Summe die Coulombabstoßung der Elektronen; die dritte Summe behandelt die Energie der Elektronen in dem Potential  $v(\xi_i; \mathbf{R})$ , das in einem Molekül durch das Coulombpotential der Atomkerne  $\alpha$  mit Ladungen  $Z_\alpha$  erzeugt wird. Man kann also hierfür

$$v(\xi_i; \mathbf{R}) = - \sum_\alpha^N \frac{Z_\alpha}{|\xi_i - \mathbf{r}_\alpha|} - \Phi_M(\xi_i) \quad (2.3)$$

schreiben. Durch die Einführung von  $\Phi_M$  in Gleichung (2.3) halten wir uns die Möglichkeit offen, ein von außen auf das Molekül wirkendes Potential mit in die Berechnung der elektronischen Schrödingergleichung (2.1) aufzunehmen.  $\Phi_M$  wird dabei in den später zu diskutierenden QM/MM-Hybridmodellen das elektrostatische Potential beinhalten, das von den Partialladungen des MM-Fragments erzeugt wird.

Der letzte in  $\hat{H}(\mathbf{R})$  enthaltene Term  $W(\mathbf{R})$  umfaßt alle nicht-elektronischen Energiebeiträge, also die Coulombwechselwirkungsenergie der Atomkerne untereinander und die Wechselwirkungsenergie der Atomkerne mit dem externen Potential  $\Phi_M$ . Damit gilt

$$W(\mathbf{R}) = \sum_\alpha^N \sum_{\beta<\alpha}^N \frac{Z_\beta Z_\alpha}{|\mathbf{r}_\beta - \mathbf{r}_\alpha|} + \sum_\alpha^N Z_\alpha \Phi_M(\mathbf{r}_\alpha) . \quad (2.4)$$

Als Lösungen der elektronischen Schrödingergleichung (2.1), die eine Eigenwertgleichung darstellt, erhält man die parametrisch von der Kernkonfiguration  $\mathbf{R}$  abhängigen Wellenfunktionen  $\Psi^\tau(\mathbf{X}; \mathbf{R})$  und die zugehörigen Energieeigenwerte  $E^\tau(\mathbf{R})$ . Dabei gibt  $\tau = 0$  den elektronischen Grundzustand eines Moleküls und  $\tau = 1, 2, \dots$  elektronisch angeregte Zustände an.  $E^\tau(\mathbf{R})$  stellt die Potentialenergiefläche der Kernbewegung eines Moleküls im elektronischen Zustand  $\tau$  dar. In der vorliegenden Arbeit werden wir uns bei der Entwicklung der QM/MM-Hybridmethode und bei Testrechnungen auf die Behandlung des elektronischen Grundzustandes  $\tau = 0$  beschränken.

Mit Kenntnis von  $E^0(\mathbf{R})$  und  $\Psi^0(\mathbf{R})$  lassen sich alle Grundzustandseigenschaften eines Moleküls ermitteln. Stabile Konfigurationen eines Moleküls sind hier durch lokale Minima von  $E^0(\mathbf{R})$  gekennzeichnet. Daher lassen sich aus der massengewichteten Hesse-Matrix von

$E^0(\mathbf{R})$  nahe stabiler Konfigurationen die Eigenmoden und Eigenfrequenzen von Molekülschwingungen berechnen, die das Infrarot (IR) und Raman-Spektrum eines Moleküls in harmonischer Näherung beschreiben. Integriert man  $n|\Psi^0(\mathbf{X}; \mathbf{R})|^2$  über  $n-1$  Ortskoordinaten der Elektronen und summiert über alle Spinkoordinaten, dann erhält man die Elektronendichte  $\rho(\mathbf{r}; \mathbf{R})$ . Aus der Elektronendichte läßt sich das vom Molekül erzeugte elektrostatische Potential

$$\Phi(\mathbf{r}; \mathbf{R}, \rho) = \sum_{\alpha}^N \frac{Z_{\alpha}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_{\alpha}|} - \int_{\text{MolVol}} \frac{\rho(\mathbf{r}'; \mathbf{R})}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}' \quad (2.5)$$

berechnen sowie das Dipolmoment  $\mu$  eines Moleküls. Die für die Dynamik eines Moleküls maßgeblichen Kräfte  $\mathbf{f}_{\alpha} = -\nabla_{\alpha} E^0(\mathbf{R})$  auf die Atomkerne sind nach dem Hellmann-Feynman-Theorem [122,123] durch

$$\mathbf{f}_{\alpha} = Z_{\alpha} \left( - \sum_{\beta \neq \alpha}^N \frac{Z_{\beta}(\mathbf{r}_{\alpha} - \mathbf{r}_{\beta})}{|\mathbf{r}_{\alpha} - \mathbf{r}_{\beta}|^3} + \int_{\text{MolVol}} \frac{\rho(\mathbf{r}'; \mathbf{R})(\mathbf{r}_{\alpha} - \mathbf{r}')}{|\mathbf{r}_{\alpha} - \mathbf{r}'|^3} d\mathbf{r}' - \nabla_{\mathbf{r}} \Phi_{\text{M}}(\mathbf{r}) \Big|_{\mathbf{r}=\mathbf{r}_{\alpha}} \right) \quad (2.6)$$

gegeben. Der Ausdruck in der großen Klammer stellt dabei das elektrostatische Feld am Kernort  $\mathbf{r}_{\alpha}$  dar.

## 2.2 Die Dichtefunktionaltheorie (DFT)

Das Hauptproblem bei der quantenmechanischen Beschreibung von Molekülen besteht darin, daß eine Lösung in analytisch geschlossener Form für die im vorherigen Abschnitt eingeführte elektronische Schrödingergleichung nicht bekannt ist. Wie bereits in der Einführung geschildert wurde, existiert jedoch mit der DFT ein sehr effizientes und genaues quantenmechanisches Näherungsverfahren zur Lösung der Schrödingergleichung, das in dieser Arbeit für die Behandlung von QM-Fragmenten in QM/MM-Hybridmodellen verwendet werden soll. Die Grundlagen der DFT sollen deshalb im nächsten Abschnitt kurz skizziert werden.

### 2.2.1 Die Kohn-Sham-Gleichungen

Im ersten Hohenberg-Kohn-Theorem [31] wird bewiesen, daß als grundlegende Größe zur Beschreibung des Grundzustandes eines Moleküls die von drei Raumkoordinaten abhängige Elektronendichte  $\rho^0(\mathbf{r})$  völlig ausreichend ist. Es muß also nicht unbedingt die im vorherigen Abschnitt eingeführte komplizierte Vielelektronen-Wellenfunktion  $\Psi^{\tau}(\mathbf{X}; \mathbf{R})$  betrachtet werden, die von den Orts- und Spinkoordinaten aller Elektronen im Molekül abhängt. Hohenberg und Kohn zeigten insbesondere, daß die Gesamtenergie eines Moleküls im Grundzustand aus dem Funktional der Elektronendichte  $\rho$

$$E[\rho] = F_{HK}[\rho] + \int \rho(\mathbf{r}) v(\mathbf{r}; \mathbf{R}) d\mathbf{r} \quad (2.7)$$

berechnet werden kann, wobei die Anzahl der Elektronen im Molekül durch  $\int \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = n$  festgelegt ist. Dabei ist bemerkenswert, daß das in Gleichung (2.7) auftretende sogenannte *Hohenberg-Kohn-Funktional*  $F_{HK}[\rho]$  ein universales Funktional der Elektronendichte  $\rho$  ist. Der molekülspezifische Beitrag, das Potential  $v(\mathbf{r}; \mathbf{R})$ , ist in dem Integralterm enthalten. Das Hohenberg-Kohn-Funktional

$$F_{HK}[\rho] = T[\rho] + V_{ee}[\rho], \quad (2.8)$$

umfaßt die kinetische Energie  $T[\rho]$  und die Elektron-Elektron-Wechselwirkungsenergie  $V_{ee}[\rho]$  in Abhängigkeit von der Elektronendichte  $\rho$ . Für den in Gleichung (2.7) definierten Ausdruck  $E[\rho]$  wird im zweiten Hohenberg-Kohn-Theorem [31] bewiesen, daß für eine beliebige Testelektronendichte  $\tilde{\rho}(\mathbf{r})$  mit der Bedingung  $\int \tilde{\rho}(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = n$  das Variationsprinzip

$$E^0 = E[\rho^0] \leq E[\tilde{\rho}] \quad (2.9)$$

gilt. Es besagt, daß die Grundzustandselektronendichte  $\rho^0$  das Energiefunktional  $E[\rho]$  minimiert und daß das Minimum  $E^0$  die Grundzustandsenergie des Moleküls ist. Wäre das Hohenberg-Kohn-Funktional  $F_{HK}[\rho]$  exakt bekannt, wären also analytische Ausdrücke für  $T[\rho]$  und  $V_{ee}[\rho]$  gegeben, dann könnte man mit numerischen Mitteln durch Variation der Testelektronendichte  $\tilde{\rho}$  die exakte Lösung der Schrödingergleichung (2.1) für den Grundzustand eines gegebenen Moleküls beliebig gut nähern.

Jedoch sind weder  $T[\rho]$  noch  $V_{ee}[\rho]$  für ein wechselwirkendes Elektronengas explizit bekannt, so daß man gezwungen ist, auf möglichst gute Näherungen für  $F_{HK}[\rho]$  zurückzugreifen. Ein geschickter Ansatz zur Approximation von  $F_{HK}[\rho]$  geht auf die Arbeit von Kohn und Sham [32] zurück. Dabei werden Molekül-Spinorbitale  $\psi_i$  eingeführt. Statt des in Wirklichkeit vorliegenden wechselwirkenden Elektronengases wird ein nicht-wechselwirkendes Elektronengas in einem effektiven Potential  $v_{\text{eff}}(\mathbf{r}; \mathbf{R})$  betrachtet, bei dem die  $n$  energetisch niedrigsten Orbitale besetzt sind. Wie in anderen Molekülorbitalmethoden wird die Wellenfunktion  $\Psi_S$  als antisymmetrisches Produkt in Form einer Slaterdeterminante

$$\Psi_S = \frac{1}{\sqrt{n!}} \det[\psi_1, \psi_2, \dots, \psi_n] \quad (2.10)$$

der Molekülorbitale angesetzt, so daß die Elektronendichte  $\rho(\mathbf{r})$  und die kinetische Energie  $T_s[\rho]$  jeweils durch

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_{i=1, \dots, n} |\psi_i(\mathbf{r})|^2 \quad \text{und} \quad (2.11)$$

$$T_s[\rho] = \sum_{i=1, \dots, n} \langle \psi_i | -\frac{1}{2} \nabla^2 | \psi_i \rangle \quad (2.12)$$

gegeben sind. Aus diesem Ansatz folgt, daß  $n$  Ein-Elektronen-Schrödingergleichungen der Form

$$\left[ -\frac{1}{2} \nabla^2 + v_{\text{eff}}(\mathbf{r}; \mathbf{R}) \right] \psi_i = \varepsilon_i \psi_i \quad \text{mit} \quad i = 1, \dots, n \quad (2.13)$$

zu lösen sind. Das effektiv auf die Elektronen wirkende Potential  $v_{\text{eff}}(\mathbf{r}; \mathbf{R})$  wird dabei aus dem Hohenberg-Kohn-Funktional  $F_{HK}[\rho]$  konstruiert. Eine günstige Darstellung des Hohenberg-Kohn-Funktional ist hierbei durch

$$F_{HK}[\rho] = T_s[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] , \quad (2.14)$$

gegeben, wobei  $T_s[\rho]$  die durch Gleichung (2.12) gegebene kinetische Energie des nicht-wechselwirkenden Elektronengases,  $J[\rho]$  die klassische Coulombenergie

$$J[\rho] = \iint \frac{\rho(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r} d\mathbf{r}' \quad (2.15)$$

der Elektronendichte  $\rho$ , und  $E_{xc}[\rho]$  das sogenannte Austausch-Korrelations-Funktional darstellen. In  $E_{xc}[\rho]$  soll gemäß Definition die Differenz zwischen  $T_s[\rho]$  und  $T[\rho]$  und der nicht-klassische Anteil der Elektron-Elektron-Wechselwirkung  $V_{ee}[\rho]$  enthalten sein, also

$$E_{xc}[\rho] \equiv T[\rho] - T_s[\rho] + V_{ee}[\rho] - J[\rho] . \quad (2.16)$$

Wie bereits ausgesprochen wurde, ist aber die funktionale Form von  $F_{HK}[\rho]$  – und gleichbedeutend damit die funktionale Form von  $E_{xc}[\rho]$  – nicht exakt bekannt. Wir werden aber im nächsten Abschnitt sehen, daß praktikable Näherungen für  $E_{xc}[\rho]$  entwickelt worden sind, welche die Berechnung von molekularen Kraftfeldern mit hoher Qualität erlauben.

Nehmen wir für die weitere Diskussion in diesem Abschnitt eine explizite Form für  $E_{xc}[\rho]$  als gegeben an; dann ergibt sich mit der eingeführten Zerlegung von  $F_{HK}[\rho]$  das in Gleichung (2.13) auftretende effektive Potential  $v_{\text{eff}}(\mathbf{r}; \mathbf{R})$  durch

$$v_{\text{eff}}(\mathbf{r}; \mathbf{R}) = v(\mathbf{r}; \mathbf{R}) + \frac{\delta J[\rho]}{\delta \rho(\mathbf{r})} + \frac{\delta E_{xc}[\rho]}{\delta \rho(\mathbf{r})} = v(\mathbf{r}; \mathbf{R}) + \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}' + v_{xc}(\mathbf{r}) . \quad (2.17)$$

Die Gleichungen (2.10)-(2.13) und das in Gleichung (2.17) definierte effektive Potential  $v_{\text{eff}}(\mathbf{r}; \mathbf{R})$  stellen die sogenannten *Kohn-Sham-Gleichungen* dar. Da  $v_{\text{eff}}(\mathbf{r}; \mathbf{R})$  über Gleichung (2.10) von der Elektronendichte  $\rho$  abhängt, sind die  $n$  Ein-Elektronen-Schrödingergleichungen (2.13) aneinander gekoppelt. Für die Kohn-Sham-Gleichungen muß deshalb – analog zu

Hartree-Fock-Verfahren – in einem iterativen Prozeß eine selbstkonsistente Lösung gefunden werden.

Die Iteration beginnt dabei im ersten Schritt mit einer geschätzten Elektronendichte  $\rho^{(1)}$ . Hieraus läßt sich nach Gleichung (2.17) ein effektives Potential  $v_{\text{eff}}^{(1)}(\mathbf{r}; \mathbf{R})$  konstruieren. Als Lösung für die durch  $v_{\text{eff}}^{(1)}(\mathbf{r}; \mathbf{R})$  festgelegten Kohn-Sham-Gleichungen erhält man Molekülorbitale  $\psi_i^{(2)}$ , welche über Gleichung (2.10) zu einer neuen geschätzten Elektronendichte  $\rho^{(2)}$  führen. Diese Elektronendichte  $\rho^{(2)}$  ist der Startpunkt des nächsten Iterationszyklusses. Die Iteration wird so lange fortgeführt, bis sich die Energie  $E[\rho]$  von einem Schritt zum nächsten nicht mehr signifikant ändert, und dadurch eine selbstkonsistente Lösung angezeigt ist.

An dieser Stelle ist es angebracht, die Eignung der Kohn-Sham-Gleichungen zur Kopplung mit einem molekülmechanischen Kraftfeld in QM/MM-Hybridmodellen aufzuzeigen. Wie wir anhand von Gleichung (2.17) erkennen, geht in das effektive Potential  $v_{\text{eff}}(\mathbf{r}; \mathbf{R})$  das in Gleichung (2.3) definierte Potential  $v(\mathbf{r}; \mathbf{R})$  und damit auch das gegebenenfalls vorhandene externe Potential  $\Phi_M(\mathbf{r})$  ein. Das in QM/MM-Hybridmodellen von den Partialladungen des MM-Fragments erzeugte Potential  $\Phi_M(\mathbf{r})$  fügt sich also in natürlicher Weise in die Lösungsprozedur der Kohn-Sham-Gleichungen ein.

### 2.2.2 Das Austausch-Korrelations-Funktional

Um die im vorherigen Abschnitt angegebenen Kohn-Sham-Gleichungen vollständig angeben zu können, fehlt noch eine geeignete Näherung für  $E_{xc}[\rho]$ . Der einfachste Ansatz findet sich bereits im Thomas-Fermi-Modell, in dem ein nicht-wechselwirkendes Elektronengas homogener Dichte mit  $E_{xc}[\rho]=0$  betrachtet wird [30]. Aus diesem Modell leitet sich das bekannte Thomas-Fermi-Funktional  $T_{TF}[\rho]$  für die kinetische Energie eines homogenen Elektronengases ab. In der zitierten Arbeit wurde der Grundstein für die moderne DFT gelegt, als zur Beschreibung von Atomen versucht wurde, das kinetische Energiefunktional  $T_{TF}[\rho]$  eines *homogenen* Elektronengases zur Approximation der kinetischen Energie eines *inhomogenen* Elektronengases einzusetzen. Man nimmt hierbei an, daß die kinetische Energie eines inhomogenen Elektronengases näherungsweise durch Summation von  $T_{TF}[\rho]$  über infinitesimal kleine Volumenbereiche mit lokal homogener Elektronendichte erhalten werden kann. Wie sich zeigte, reicht dieser einfache Ansatz jedoch nicht aus, um etwa chemische Bindungen in Molekülen zu beschreiben [30].

Eine Weiterentwicklung des Thomas-Fermi-Modells wurde von Dirac unternommen, wobei er nun die Austausch-Energie  $E_x[\rho]=V_{ee}[\rho]-J[\rho]$  eines homogenen Elektronengases berücksichtigte [30]. Aber erst durch die Einbeziehung der Elektronen-Korrelations-Energie  $E_c[\rho]=T[\rho]-T_s[\rho]$  eines homogenen Elektronengases [30,32] konnten Moleküleigenschaften mit ausreichender Qualität reproduziert werden. Da sich dieses Austausch-Korrelations-

Funktional  $E_{xc}[\rho] = E_x[\rho] + E_c[\rho]$  aus der Betrachtung eines lokal als homogen angenommenen Elektronengases ableitet, bezeichnet man Näherungen dieser Art als *local-density approximation* (LDA). Die Anwendbarkeit der LDA-Näherung für die Beschreibung eines inhomogenen Elektronensystems in Atomen und Molekülen kann rein formal nicht gerechtfertigt werden, sondern ergibt sich allein aus dem Erfolg zahlreicher Rechnungen (siehe [30] und Verweise darin).

Die LDA-Näherung weist allerdings noch einige gravierende Schwächen auf. Beispielsweise werden Atomisierungsenergien und Energieunterschiede von Molekülkonfigurationen um bis zu einem Faktor zwei falsch vorhergesagt [30]. Außerdem wird die Stärke von Wasserstoffbrückenbindungen in der LDA-Näherung generell um etwa 15 kJ/mol überschätzt, also um mehr als die Hälfte der wirklichen Bindungsenergie (20-25 kJ/mol) [47]. Die Ursache für das Fehlverhalten der LDA-Näherung ist auf eine Unterschätzung der Austausch-Energie  $E_x$  um etwa 10 % und auf eine Überschätzung der Korrelationsenergie  $E_c$  um etwa einen Faktor zwei begründet [30]. Deshalb war man in der Vergangenheit bestrebt, verbesserte Austausch-Korrelations-Funktionale  $E_{xc}[\rho]$  zu entwickeln. Ein erster Schritt gelang Perdew durch die Korrektur der in der LDA-Näherung enthaltenen Selbstenergie eines Elektronengases [124]. Überdies wurden sogenannte gradientenkorigierte (*gradient-corrected*) Austausch-Korrelations-Funktionale entwickelt, bei denen der Gradient eines inhomogenen Elektronengases berücksichtigt wird [125-128].

Ein weithin anerkanntes gradientenkorigiertes Funktional  $E_{xc}[\rho]$  entsteht aus der Kombination des Austausch-Funktional nach Becke [126] und dem Korrelations-Funktional nach Lee, Yang und Parr [127]. Dieses, in der Literatur generell nach den Anfangsbuchstaben der Autoren kurz mit BLYP bezeichnete Funktional behebt viele Schwächen der LDA-Näherung. So wird damit die Stärke einer Wasserstoffbrückenbindung richtig reproduziert [47], und auch das Kraftfeld von organischen Molekülen mit konjugierten  $\pi$ -Elektronensystemen [39, 40] sowie von anorganischen Molekülen [41] wird im wesentlichen richtig wiedergegeben. Wie man allerdings aus der Rotverschiebung von berechneten IR-Spektren erkennen kann, neigen BLYP-Kraftfelder dazu, Kraftkonstanten kovalenter Bindungen leicht zu unterschätzen, und als Folge davon die entsprechenden Gleichgewichtsabstände um etwa 0.01-0.03 Å zu überschätzen [38,41]. Dessen ungeachtet wird die relative Lage der IR-Moden jedoch sehr gut reproduziert. Insgesamt zeigt sich das BLYP-Funktional der LDA-Näherung und Hartree-Fock-Rechnungen deutlich überlegen.

In der vorliegenden Arbeit werden wir sowohl das BLYP-Funktional als auch das LDA-Funktional einsetzen, das gegenüber dem BLYP-Funktional einen geringeren Rechenaufwand aufweist. Wir wollen in Kapitel 6 insbesondere untersuchen, inwieweit das intermolekulare Kraftfeld eines QM/MM-Hybridmodells von dem eingesetzten Austausch-Korrelations-Funktional abhängt. Als Testsystem eignet sich hierzu ein Wasserdimer, da sich in früheren Studien

[47] gezeigt hat, daß die Stärke der in einem Wasserdimer vorhandenen Wasserstoffbrückenbindung empfindlich von  $E_{xc}[\rho]$  beeinflusst wird. Diese Ergebnisse ermöglichen es uns dann abzuschätzen, unter welchen Umständen das recheneffizientere LDA-Funktional eingesetzt werden kann.

### 2.2.3 Das DFT-Programm CPMD

In den beiden vorangegangenen Abschnitten wurde die Grundlage der DFT erläutert, welche die Basis für viele verschiedene Quantenchemie-Programme darstellt. Ein wesentlicher Punkt, in dem sich einzelne DFT-Programme unterscheiden, ist der Basisfunktionensatz, nach dem die Molekülorbitale  $\psi_m$  entwickelt werden. Das Programmpaket GAUSSIAN94 [25] etwa verwendet als Basis die namensgebenden Gaußfunktionen, während hingegen das Programmpaket DMol [42] numerische Basisfunktionen einsetzt. Im folgenden werden wir näher auf das in der vorliegenden Arbeit verwendete DFT-Programm CPMD [43] eingehen und in diesem Zusammenhang einige Aspekte beleuchten, die hinsichtlich der Kopplung mit dem Molekülmechanik-Programm EGO\_VIII von Bedeutung sind.

Im Programm CPMD werden die Molekülorbitale  $\psi_m$  eines gegebenen Moleküls im Volumen  $\Omega = (\mathbf{a}_1 \times \mathbf{a}_2) \cdot \mathbf{a}_3$  einer durch die Vektoren  $\mathbf{a}_1$ ,  $\mathbf{a}_2$  und  $\mathbf{a}_3$  aufgespannten Zelle nach ebenen Wellen

$$\psi_m(\mathbf{r}) = \frac{1}{\sqrt{\Omega}} \sum_{G < G_{\text{cut}}} c_{Gm} e^{i\mathbf{G} \cdot \mathbf{r}} \quad (2.18)$$

entwickelt, wobei  $c_{Gm}$  die Koeffizienten der zugrunde liegenden Fourierentwicklung sind. Die Entwicklung nach ebenen Wellen ist besonders für das ursprüngliche Einsatzgebiet von CPMD, nämlich der Beschreibung von Festkörperkristallen, geeignet, da sich hierdurch mit Hilfe von periodischen Randbedingungen die quasi-unendliche Ausdehnung eines Kristalls rechenzeitgünstig nachbilden läßt. CPMD verfügt jedoch auch über einen Modus, bei dem isoliert betrachtete Moleküle oder Molekülcluster behandelt werden können [43,129]. Hierbei wird  $\psi_m(\mathbf{r}) = 0$  für Orte  $\mathbf{r}$  außerhalb des Volumens  $\Omega$  angenommen. Dieser Modus bildet die Grundlage für die Kopplung von CPMD mit EGO\_VIII.

Das Volumen  $\Omega$ , in der die Elektronendichte eines Moleküls berechnet wird, bezeichnen wir im weiteren als die *QM-Box*. Die Anzahl  $N_G \approx 2\pi\Omega E_{\text{cut}}^{3/2} / 3$  der verwendeten Basisfunktionen in Gleichung (2.18) wird über den Betrag  $G_{\text{cut}}$  des größten, in die Entwicklung eingeschlossenen Wellenvektors  $\mathbf{G}$  vorgegeben. Bei CPMD wird  $G_{\text{cut}}$  über die kinetische Energie  $E_{\text{cut}}$  des entsprechenden Wellenvektors eingestellt und in der Einheit Rydberg (Ry) angegeben. Um die Elektronendichte  $\rho$  eines isolierten Moleküls vollständig erfassen zu können, muß die QM-Box ausreichend groß dimensioniert sein, so daß am Rand des Volumens  $\Omega$  die Elektronen-

dichte  $\rho$  auf einen vernachlässigbar kleinen Wert abgefallen ist. Die Erfahrung zeigt, daß für LDA-Rechnungen die Atomkerne eines Moleküls mindestens 2.5 Å vom Rand der QM-Box entfernt sein müssen. BLYP-Rechnungen hingegen erfordern einen etwas größeren Mindestabstand von etwa 3.0 Å und sind deshalb auch mit einem entsprechend höheren Rechenaufwand verbunden<sup>1</sup>.

Wie in vielen anderen QM-Programmen, so erlaubt auch CPMD, den Rechenaufwand erheblich durch Verwendung der sogenannten *frozen-core*-Näherung zu reduzieren. Hierbei geht man davon aus, daß die fest an den Atomkern gebundenen Rumpfelektronen von der chemischen Umgebung eines Atoms nicht beeinflußt werden und nur die Valenzelektronen explizit behandelt werden müssen. Das auf die Valenzelektronen wirkende Potential, erzeugt durch die Atomkerne und Rumpfelektronen, läßt sich dann durch ein sogenanntes *Pseudopotential* beschreiben [130-132].

Zur Einsparung von Rechenzeit bei der Entwicklung der Wellenfunktion nach ebenen Wellen ist man bestrebt, möglichst „weiche“ Pseudopotentiale zu konstruieren, bei denen die Singularität des Coulombpotentials am Atomkernort entschärft ist. Dadurch reduzieren sich die Oszillationen der Valenzelektronen-Wellenfunktion am Atomkernort, so daß zur Beschreibung der Wellenfunktion eine geringere Anzahl  $N_G$  von ebenen Wellen nötig ist. In der vorliegenden Arbeit werden in allen CPMD-Rechnungen entweder das Pseudopotential von Martins und Troullier [131] oder das Pseudopotential von Vanderbilt [132] verwendet. Dabei erfordert das Pseudopotential von Martins und Troullier eine Entwicklung mit  $E_{\text{cut}} \geq 70$  Ry, wohingegen das Pseudopotential von Vanderbilt einen niedrigeren Grenzwert  $E_{\text{cut}} \geq 25$  Ry erlaubt [131,132]. Das Pseudopotential von Vanderbilt ist deswegen mit einem geringeren Rechenaufwand als das Pseudopotential von Martins und Troullier verbunden.

Wie sich jedoch bei Testrechnungen, die im Rahmen dieser Arbeit von mir durchgeführt worden sind, gezeigt hat, liefert das Pseudopotential von Martins und Troullier für Moleküle mit konjugierten  $\pi$ -Elektronensystemen deutlich bessere molekulare Kraftfelder als das Pseudopotential von Vanderbilt. Aus diesem Grund wurde für quantitative Aussagen zu den in Kapitel 7 untersuchten Schiffchen Basen der höhere Rechenaufwand des Pseudopotentials von Martins und Troullier in Kauf genommen.

Bei der Entwicklung von CPMD wurde außerdem darauf Wert gelegt, die Rechenleistung eines möglichst breiten Spektrums von Supercomputern ausnutzen zu können. Die Entwicklung der

---

<sup>1</sup> Ein anderer Grund für den höheren Aufwand von BLYP-Rechnungen ist ein ungünstigeres Konvergenzverhalten bei der Lösung der Kohn-Sham-Gleichungen im Zuge des bereits dargelegten iterativen Verfahrens. Diese Beobachtung trifft nicht nur auf CPMD, sondern auch auf andere DFT-Programme zu.

Wellenfunktion nach ebenen Wellen erlaubt zur Lösung der Kohn-Sham-Gleichungen eine Zerlegung in weitgehend unabhängige Rechenschritte, so daß sich der Einsatz von Parallelcomputern (z.B. IBM-SP2 oder Cray-T3E) lohnt. Im Laufe solcher Berechnungen müssen häufig Fouriertransformationen durchgeführt werden, für die in diversen Numerik-Programm-Bibliotheken (z.B. ESSL, NAG) sehr effiziente und für die einzelnen Computerplattformen optimierte Implementierungen vorhanden sind. Außerdem kann mit CPMD die enorme Rechenleistung von Vektorcomputern (z.B. Cray-YMP) ausgenutzt werden. Neu entwickelte Vektor-Parallel-Computer, eine Kombination von Parallel- und Vektorcomputer (z.B. Fujitsu-VPP Serie), stellen damit eine sehr leistungsfähige Computerplattform für CPMD dar.

## 2.3 Molekulardynamik-Simulation von Proteinen

Mit dem im vorhergehenden Abschnitt vorgestellten Programm CPMD haben wir ein sehr effizientes DFT-Programm kennengelernt, das durch die Ausnutzung der Rechenleistung von Supercomputern Systeme mit bis zu 100 Atomen mit einer hohen Genauigkeit zu beschreiben vermag. Damit lassen sich zum Beispiel Gleichgewichtsstrukturen von Molekülen berechnen. Aufgrund der thermischen Bewegung der Atome bei physiologischen Temperaturen befindet sich jedoch ein Molekül nie wirklich in seiner Gleichgewichtslage, sondern es ist ständigen Konfigurationsänderungen unterworfen. Ein einfaches Beispiel für die Konformationsdynamik eines Moleküls stellt etwa die thermisch induzierte Isomerisierung einer Kohlenwasserstoffkette um eine C–C  $\sigma$ -Bindung dar.

### 2.3.1 Grundlagen

Zur Beschreibung solcher dynamischen Prozesse eignet sich die Methode der Molekulardynamik-Simulation (MD-Simulation), bei der die Bewegung der Atomkerne als klassisch angenommen wird. Die Dynamik eines Moleküls ist damit durch die Newtonschen Bewegungsgleichungen

$$m_i \frac{d^2}{dt^2} \mathbf{r}_i = \mathbf{f}_i(\mathbf{R}) \quad \text{mit } i=1, \dots, N \quad (2.19)$$

gegeben, wobei  $m_i$  die Masse des  $i$ -ten Atoms am Ort  $\mathbf{r}_i$  bezeichnet. Die zu einem Zeitpunkt  $t$  bei einer gegebenen Konfiguration  $\mathbf{R}(t) = (\mathbf{r}_1(t), \dots, \mathbf{r}_N(t))$  des Moleküls wirkende Kraft  $\mathbf{f}_i(\mathbf{R})$  kann nach dem Hellman-Feynman-Theorem über Gleichung (2.6) berechnet werden. Für die numerische Integration der Newtonschen Bewegungsgleichungen (2.19) zeichnet sich z.B. die Nyström-Methode zweiter Ordnung

$$\mathbf{r}_i(t + \Delta t) = 2\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i(t - \Delta t) + \frac{\Delta t^2}{m_i} \mathbf{f}_i(\mathbf{R}(t)) \quad \text{mit } i=1, \dots, N \quad (2.20)$$

durch genügende numerische Stabilität aus [133]. Für MD-Simulationen wurde dieses Verfahren erstmals von Verlet [49] eingesetzt und ist deshalb in diesem Gebiet als Verlet-Algorithmus bekannt. In die Berechnung der neuen Position  $\mathbf{r}_i(t + \Delta t)$  eines Atoms zum Zeitpunkt  $t + \Delta t$  gehen die Positionen  $\mathbf{r}_i(t)$  und  $\mathbf{r}_i(t - \Delta t)$  dieses Atoms zu den zwei vorhergehenden Zeitschritten ein. Dabei gibt  $\Delta t$  die Zeitschrittweite pro Integrationsschritt an, die so gewählt werden muß, daß die schnellsten Freiheitsgrade in einem Molekül mit hinreichender Genauigkeit erfaßt werden. In der Moleküldynamik sind diese schnellsten Freiheitsgrade durch die Bindungstreckschwingung der Wasserstoffatome gegeben, die bei Raumtemperatur eine Periodendauer von etwa 10 fs aufweist. Deshalb muß in MD-Simulationen, bei denen die Bewegung der Wasserstoffatome erfaßt wird, die Integrationsschrittweite  $\Delta t$  deutlich unter einer Femtosekunde liegen.

Bei MD-Simulationen ist die Berechnung der Kräfte  $\mathbf{f}_i(\mathbf{R}(t))$  der die Rechenzeit bestimmende Faktor. Für die quantenmechanische Behandlung von Molekülen bedeutet dies insbesondere, daß die elektronische Wellenfunktion für jede neue Konfiguration  $\mathbf{R}(t)$  ermittelt werden muß. Im Rahmen der DFT hilft hierbei die sogenannte *Car-Parrinello-Methode* [44], bei der simultan die zeitliche Entwicklung der Kernkoordinaten und der Wellenfunktion auf effiziente Weise berechnet werden kann. Unter Ausnutzung dieser Methode konnten *ab-initio* MD-Simulationen eines Wasserclusters bestehend aus 30 D<sub>2</sub>O-Molekülen über einen Zeitraum von mehreren Pikosekunden durchgeführt werden [45-47].

Diese sehr beachtliche Leistungsfähigkeit der Car-Parrinello-Methode reicht jedoch nicht aus, um etwa Proteine wie BR zu behandeln. Erstens umfassen selbst sehr kleine Proteine eine wesentlich größere Anzahl von Atomen. Zudem muß bei realistischen MD-Simulationen von Proteinen die Lösungsumgebung, also z.B. das Wasser oder eine Lipidmembran, in das Simulationssystem aufgenommen werden, wodurch sich die Anzahl der zu behandelnden Atome nochmals drastisch erhöht (siehe z.B. Abbildung 1). Ferner weisen Proteine auf einer 12 Größenordnungen umfassenden Zeitskala ( $10^{-12}$  s - 1 s) eine Hierarchie von dynamischen Prozessen auf. Beispielsweise findet die für die Proteine bedeutsame Konformationsdynamik [58] auf einer Zeitskala von Nanosekunden bis Millisekunden statt, während der Prozeß der Proteinfaltung im Sekundenbereich abläuft. Bei einer Integrationsschrittweite von  $\Delta t = 1$  fs erfordert eine MD-Simulation von nur einer Nanosekunde  $10^6$  Integrationsschritte. Dieser Rechenaufwand ist für *ab-initio* MD-Simulationen bei der zur Zeit zur Verfügung stehenden Computertechnologie selbst für extrem kleine Proteine nicht zu bewältigen.

Um dennoch das dynamische Verhalten von Proteinen in ihrer Lösungsumgebung mit mehreren tausend Atomen und Simulationszeiten bis in den Nanosekundenbereich erfassen zu können, wurden in der Vergangenheit Verfahren entwickelt, die nicht auf einer expliziten quantenmechanischen Behandlung eines Moleküls basieren. Eine Methode, die in den letzten Jahren an Beachtung gewonnen hat, ist die MD-Simulation mit Hilfe von sogenannten molekül-

mechanischen (MM) Modellen [67-71]. Solche Modelle beruhen auf semi-empirisch bestimmten Kraftfeldern, die im Vergleich zu quantenmechanischen Verfahren mit einem wesentlich geringeren Rechenaufwand ausgewertet werden können. Im folgenden Abschnitt stellen wir speziell das in dieser Arbeit verwendete und für MD-Simulationen von Proteinen etablierte CHARMM-Kraftfeld [67] vor. Eine genaues Verständnis des CHARMM-Kraftfeldes wird für die Formulierung des in dieser Arbeit entwickelten QM/MM-Hybridmodells in Kapitel 3 und 4 unerlässlich sein.

### 2.3.2 Das CHARMM-Kraftfeld

In MM-Modellen wird die in Gleichung (2.1) eingeführte Potentialfläche  $E^0(\mathbf{R})$  des Grundzustandes eines Moleküls durch eine empirisch bestimmte, analytisch darstellbare Energiefunktion  $E_M(\mathbf{R})$

$$E^0(\mathbf{R}) \approx E_M(\mathbf{R}) := E_{\text{bonded}}(\mathbf{R}) + E_{\text{non-bonded}}(\mathbf{R}) \quad (2.21)$$

genähert. In der Vergangenheit wurden viele verschiedene Parametrisierungen für  $E_M(\mathbf{R})$  entwickelt, die in speziellen Programmpaketen zur Verfügung gestellt werden (siehe z.B. CHARMM [67], X-PLOR [68], GROMOS [69]). Wie aus Definition (2.21) erkennbar ist, setzt sich  $E_M(\mathbf{R})$  aus zwei Wechselwirkungsenergiebeiträgen  $E_{\text{bonded}}$  und  $E_{\text{non-bonded}}$  zusammen. In  $E_{\text{bonded}}$  sind ausschließlich *kurzreichweitige* Energiebeiträge zur Beschreibung der *lokalen* stereochemischen Wechselwirkungen zwischen all jenen Atomen enthalten, die chemisch über kovalente Bindungen vernetzt und dabei nicht mehr als zwei kovalente Bindungen voneinander entfernt sind. Die in  $E_{\text{non-bonded}}$  enthaltenen *langreichweitigen* Energiebeiträge erfassen Wechselwirkungen zwischen Atomen, welche im Sinne der chemischen Bindungstopologie weiter als zwei kovalente Bindungen voneinander entfernt sind.

Hier drängt sich selbstverständlich die Frage auf, aufgrund welcher Näherungsannahmen eine solche Klassifizierung in *bonded* und *non-bonded*-Wechselwirkungen gerechtfertigt ist. Aus quantenmechanischer Sicht sind jedenfalls alle Wechselwirkungen in einem molekularen System zunächst elektrostatischer Natur und damit langreichweitig. Tatsächlich ist die Antwort auf die genannte Frage nicht trivial und das Resultat einer heftigen Debatte, welche vor mehr als zwei Jahrzehnten in der Fachliteratur ausgetragen wurde. Jeder Versuch, diese Diskussion adäquat zu referieren, würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen. Daher soll diesbezüglich auf zusammenfassende Übersichtsartikel verwiesen werden [66,71]. Einige kurze Anmerkungen sind jedoch nötig.

Der Unterscheidung von *bonded*- und *non-bonded*-Wechselwirkungen liegt zunächst die aus der Valenzbindungstheorie stammende Vorstellung zugrunde, daß die *Valenzelektronenpaare*, welche die chemische Bindung zwischen Atomen erzeugen, in dem Raumbereich der jeweiligen Bindung *stark lokalisiert* sind. Dies ist für  $\sigma$ -Bindungen, aber auch für nicht-konjugierte  $\pi$ -

Bindungen, in organischen Molekülen sicher richtig und damit auch für die Mehrzahl aller kovalenten Bindungen in einem Protein. Schwierigkeiten ergeben sich lediglich für organische Moleküle mit großen konjugierten und stark polarisierbaren  $\pi$ -Elektronensystemen, wie etwa für den in der Einleitung vorgestellten Retinalchromophor. Für diese Klasse von Molekülen ist die Lokalisierungsannahme sicher nicht gerechtfertigt.

Die angeführte *bonded/non-bonded*-Klassifizierung beruht ferner auf der bekannten Stabilität der atomaren Hybridisierung in chemischen Bindungsmotiven. Diese Stabilität erklärt, warum in organischen Molekülen nur wenige stereochemische Anordnungen von Atomen beobachtet werden. Mit Hilfe der *bonded*-Wechselwirkung sollen diese starken stereochemischen Bindungskräfte, die sich aus den elektrostatischen Wechselwirkungen der Elektronen und Kerne sowie der quantenmechanischen Bewegung der Elektronen im Raumbereich von kovalent verbundenen Atomen lokal ergeben, *vollständig* modelliert werden.

Die *non-bonded*-Wechselwirkungen dienen demgegenüber dazu, alle übrigen Kräfte, die zwischen Atomen eines molekularen Systems auftreten, zu erfassen. Hier handelt es sich im wesentlichen um lokal nicht vollständig durch die Elektronendichte abgeschirmte Coulombwechselwirkungen der Kerne, sowie um Korrelationseffekte zwischen nicht kovalent gebundenen Atomen, die zur sogenannten van der Waals Wechselwirkung Anlaß geben. Diese langreichweitigen Wechselwirkungen werden später noch genauer erklärt.

Wie wir ferner weiter unten noch sehen werden, sind alle in  $E_M(\mathbf{R})$  enthaltenen Energieterme von einfacher funktionaler Form und werden durch eine Reihe von Parametern bestimmt, die von den an der Wechselwirkung beteiligten Atomtypen abhängen. In MM-Modellen kennzeichnet der Begriff „Atomtyp“ nicht nur die Kernladungszahl eines Atoms, sondern auch die chemische Struktur der kovalent gebundenen Nachbaratome. So stellen in allen MM-Kraftfeldern z.B. Kohlenstoffatome in einer  $sp^3$ -,  $sp^2$ - oder  $sp$ -Hybridisierung jeweils unterschiedliche Atomtypen dar. Alle Parameter, welche die Wechselwirkung eines Atomtypen mit einem anderen Atomtypen festlegen, werden durch Vergleich mit experimentellen Daten oder aus quantenmechanischen Rechnungen an kleinen Modellmolekülen gewonnen (siehe z.B. [70, 71]).

Wenden wir uns nun dem in Gleichung (2.21) eingeführten Energieterm  $E_{\text{bonded}}$  zu, der im CHARMM-Kraftfeld durch

$$E_{\text{bonded}}(\mathbf{R}) = \sum_{\{(i,j)\}} E_{\text{stretch}}(i,j) + \sum_{\{(i,j,k)\}} E_{\text{angle}}(i,j,k) + \sum_{\{(i,j,k,l)\}} E_{\text{dihedral}}(i,j,k,l) + \sum_{\{(i,j,k,l)\}} E_{\text{improper}}(i,j,k,l) \quad (2.22)$$

definiert ist. Die in  $E_{\text{bonded}}$  auftretenden Energieterme sollen der Beobachtung gerecht werden, daß die lokale Anordnung der Atome in einem Molekül durch Gleichgewichtsabstände und durch Gleichgewichtswinkel zwischen kovalent gebundenen Atomen bestimmt ist. Demnach sorgt im CHARMM-Kraftfeld der als harmonische Feder angesetzte Energieterm

$$E_{\text{stretch}}(i, j) = k_{ij} (r_{ij} - r_{ij}^0)^2 \quad (2.23)$$

dafür, daß zwei kovalent gebundene Atome  $i$  und  $j$  Fluktuationen um einen in der Kraftfeldparametrisierung vorgegebenen Gleichgewichtsabstand  $r_{ij}^0$  ausführen können. Dabei bezeichnet  $r_{ij} = |\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|$  den Abstand zwischen den Atomen. Die Kraftkonstante  $k_{ij}$  wird entsprechend der Bindungsstärke der zu beschreibenden kovalenten Bindung gewählt. Die Information darüber, zwischen welchen Atomen kovalente Bindungen bestehen, muß in MM-Kraftfeldern explizit in Form einer Atompaarliste vorgegeben werden. Die Indexmenge  $\{(i, j)\}$  in Gleichung (2.22) soll für ein gegebenes Molekül eine solche Atompaarliste symbolisieren.

Der zweite Energieterm  $E_{\text{angle}}$  in Gleichung (2.22) hängt von den Koordinaten dreier kovalent aneinander gebundener Atome ab und ist im CHARMM-Kraftfeld durch

$$E_{\text{angle}}(i, j, k) = k_{ijk} (\vartheta_{ijk} - \vartheta_{ijk}^0)^2 + k_{ijk}^{\text{ub}} (r_{ik} - r_{ik}^0)^2 \quad (2.24)$$

definiert. Dieser Term sorgt dafür, daß der Winkel  $\vartheta_{ijk}$  zwischen den kovalent gebundenen Atomen  $i$ ,  $j$  und  $k$  um einen im Kraftfeld spezifizierten Gleichgewichtswinkel  $\vartheta_{ijk}^0$  fluktuieren kann. Dabei bildet das Atom  $j$  den Scheitel des Winkels  $\vartheta_{ijk}$ . Der zweite Term in Gleichung (2.24) wird als Urey-Bradley-Term bezeichnet. Die meist klein gewählte Kraftkonstante  $k_{ijk}^{\text{ub}}$  bewirkt eine schwache harmonische Kopplung zwischen den Atomen  $i$  und  $k$ .

Der dritte Term  $E_{\text{dih}}$  in Gleichung (2.22) modelliert in MM-Modellen die Rotationsbarriere um eine zwischen den Atomen  $j$  und  $k$  bestehende Bindung. Hierzu wird das Torsionspotential in Abhängigkeit von dem Diederwinkel  $\varphi_{ijkl}$  in Form einer Kosinusreihe

$$E_{\text{dih}}(i, j, k, l) = \sum_{\tau=1}^{m_{ijkl}} k_{ijkl}(\tau) \left[ 1 + \cos(n_{ijkl}(\tau) \varphi_{ijkl} + \delta_{ijkl}(\tau)) \right] \quad (2.25)$$

dargestellt. Der Diederwinkel  $\varphi_{ijkl}$  ist dabei als Winkel zwischen zwei Ebenen definiert. Die erste Ebene wird von den Atomen  $i$ ,  $j$  und  $k$  aufgespannt, wobei das Atom  $i$  kovalent an das Atom  $j$  gebunden ist. Die zweite Ebene wird von den Atomen  $j$ ,  $k$  und  $l$  aufgespannt, wobei das Atom  $l$  kovalent an das Atom  $k$  gebunden ist. Ein Diederwinkel von  $0^\circ$  entspricht einer *cis*-Konfiguration, ein Winkel von  $180^\circ$  einer *trans*-Konfiguration der Atome  $i$ ,  $j$ ,  $k$  und  $l$ . In der Regel wird das Torsionspotential durch eine Summe von bis zu drei Gliedern ( $m_{ijkl} = 1, 2, 3$ ) approximiert, wobei  $n_{ijkl}(\tau)$  die Multiplizität und  $\delta_{ijkl}(\tau)$  die Phasenverschiebung für jeden Kosinusterm festlegt. Für  $m_{ijkl} = 1$  gibt die Kraftkonstante  $k_{ijkl}$  die Barrierenhöhe des Torsionspotentials an.

Der letzte Term  $E_{\text{impr}}$  in Gleichung (2.22) soll z.B. bei einem  $sp^2$ -hybridisierten Kohlenstoffatom  $i$  bewirken, daß das zentrale Atom  $i$  mit den drei daran kovalent gebundenen Atomen  $j$ ,  $k$  und  $l$  eine planare Konfiguration anstrebt. Hierzu wird im CHARMM-Kraftfeld ein vom Diederwinkel  $\varphi_{ijkl}$  abhängiges harmonisches Potential

$$E_{\text{impr}}(i, j, k, l) = k_{ijkl} \varphi_{ijkl}^2 \quad (2.26)$$

angesetzt.

Wie wir gesehen haben, koppelt jedes Atom durch  $E_{\text{bonded}}$  nur mit Atomen, die um nicht mehr als drei kovalente Bindungen entfernt sind. Der Rechenaufwand zur Auswertung von  $E_{\text{bonded}}$  ist daher proportional zur Anzahl der Atome  $N$  im Simulationssystem. Anders verhält es sich mit dem zweiten in Gleichung (2.22) eingeführten Energieterm  $E_{\text{non-bonded}}$ , über den im wesentlichen jedes Atom mit jedem anderen Atom koppelt. Dadurch wächst der Rechenaufwand von  $E_{\text{non-bonded}}$  quadratisch mit  $N$ . Im CHARMM-Kraftfeld ist  $E_{\text{non-bonded}}$  dabei durch

$$E_{\text{non-bonded}}(\mathbf{R}) = \sum_{i=1, \dots, N} \sum_{j<i} E_{\text{vdw}}(i, j) + \sum_{i=1, \dots, N} \sum_{j<i} E_{\text{elec}}(i, j) \quad (2.27)$$

definiert. Die erste Doppelsumme über  $E_{\text{vdw}}$  behandelt die van der Waals Wechselwirkungen zwischen Atomen. Im CHARMM-Kraftfeld werden diese Wechselwirkungen durch das 6-12-Lennard-Jones-Paarpotential

$$E_{\text{vdw}}(i, j) = \varepsilon(i, j) \left( \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) \quad (2.28)$$

erfaßt. Das abstoßende  $1/r^{12}$ -Potential in Gleichung (2.28) modelliert den quantenmechanischen Effekt der Pauli-Abstoßung aufgrund der fermionischen Eigenschaften der Elektronen. Das anziehende  $1/r^6$ -Potential beschreibt die sogenannte Dispersionswechselwirkung, welche in erster Näherung durch die Wechselwirkung induzierter Dipole zweier Atome gegeben ist.  $A_{ij}$  und  $B_{ij}$  sind von den Atomtypen abhängige Parameter. Die Schaltfunktion  $\varepsilon(i, j)$  bildet dabei die weiter oben angesprochene Klassifizierung von *bonded*- und *non-bonded*-Wechselwirkungen mathematisch ab. Diese Schaltfunktion wird in den üblichen MM-Programmen vermittels sogenannter Ausschlußlisten (*exclusion lists*) dargestellt.

Die Ausschlußliste legt fest, welche Atumpaare  $(i, j)$  nicht über die *non-bonded*-Wechselwirkung miteinander interagieren. Nach dieser Liste sind im CHARMM-Kraftfeld alle Atumpaare  $(i, j)$  von der van der Waals Wechselwirkung ausgeschlossen ( $\varepsilon(i, j) = 0$ ), die nicht weiter als über eine oder zwei kovalente Bindungen voneinander getrennt sind. Atumpaare, zwischen denen genau drei kovalente Bindungen liegen, interagieren in einer um den Faktor 0.4 reduzierten Stärke ( $\varepsilon(i, j) = 0.4$ ). Erst Atome, zwischen denen mindestens vier kovalente Bindungen liegen oder Atome in getrennten Molekülen, wechselwirken in vollem, durch die Parameter  $A_{ij}$

und  $B_{ij}$  festgelegten Umfang ( $\varepsilon(i, j) = 1$ ). Durch die Schaltfunktion  $\varepsilon(i, j)$  wird also die van der Waals Wechselwirkung zwischen zwei Atomen, deren Wechselwirkung bereits über die *bonded*-Energiebeiträge erfaßt sind, größtenteils ausgeschlossen.

Da die van der Waals Wechselwirkung durch das  $1/r^6$ -Potential sehr schnell für größer werdende Abstände an Stärke abnimmt, kann sie in MD-Simulationen zur Einsparung von Rechenzeit für Atome, die weiter als 10 Å voneinander entfernt sind, ohne Bedenken vernachlässigt werden.

Die zweite Doppelsumme in Gleichung (2.22) dient im CHARMM-Kraftfeld dazu, den elektrostatischen Eigenschaften eines Moleküls Rechnung zu tragen. Wie in der Einleitung bereits skizziert wurde, haben heteronukleare Bindungen in organischen Molekülen dipolaren Charakter. Diese Bindungsdipole können näherungsweise dadurch beschrieben werden, daß den Atomen zeitlich unveränderliche, vom Atomtyp abhängige Partialladungen  $c_i$  zugewiesen werden. Selbstverständlich können durch integrale Ladungen auch Ionen und geladene Atomgruppen erfaßt werden. Zwischen den Partialladungen kovalent nicht verbundener Atome wirkt die Coulombwechselwirkung

$$E_{\text{elec}}(i, j) = \varepsilon(i, j) \frac{c_i c_j}{r_{ij}} . \quad (2.29)$$

Dabei unterdrückt die Schaltfunktion  $\varepsilon(i, j)$  die Berechnung von Coulombbeiträgen für alle Atome, deren Wechselwirkungen durch *bonded*-Energierterme erfaßt sind.

Wie bereits in der Einführung dargelegt wurde, ist die in  $E_{\text{non-bonded}}$  enthaltene langreichweitige Coulombwechselwirkungsenergie

$$W_{\text{elec}} = \sum_{i=1, \dots, N} \sum_{i < j} \varepsilon(i, j) \frac{c_i c_j}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} \quad (2.30)$$

für den quadratisch mit der Systemgröße anwachsenden Rechenaufwand in MM-Modellen verantwortlich. Da eine Reduzierung des Rechenaufwandes für  $W_{\text{elec}}$  durch einfache Abschneideverfahren bei MD-Simulationen von Proteinen zu einer Verfälschung von Struktur und Dynamik führt [75-78], müssen genauere Näherungsmethoden eingesetzt werden. Im nächsten Abschnitt sollen deshalb die Grundzüge der in meiner Diplomarbeit entwickelten FAMUSAMM-Methode zur genauen und effizienten Berechnung von  $W_{\text{elec}}$  vorgestellt werden. Später, in Kapitel 3, wird der FAMUSAMM-Algorithmus in modifizierter Form bei der Berechnung des vom MM-Fragment erzeugten elektrostatischen Potentials im Volumen des QM-Fragments eine entscheidende Rolle spielen.

### 2.3.3 Der FAMUSAMM-Algorithmus

Die Abkürzung FAMUSAMM steht für *fast multiple-time-step structure adapted multipole method*. Sie deutet damit auf die Kombination eines Mehrschrittverfahren [77] mit der von Niedermeier und Tavan entwickelten, strukturadaptierten Multipolmethode SAMM (*structure adapted multipole method*) [78,86] hin. Zuerst wird die grundlegende Idee des SAMM-Verfahrens erläutert, das eine auf Biomoleküle spezialisierte Multipolmethode darstellt. Anschließend wird aufgezeigt, wie dessen Effizienz durch Einsatz einer sogenannten schnellen Multipolmethode (*fast multipole method*, FMM) [87], kombiniert mit einem Mehrschrittverfahren, noch weiter gesteigert werden kann. Eine ausführliche Darstellung des FAMUSAMM-Algorithmus findet sich in [90,91].

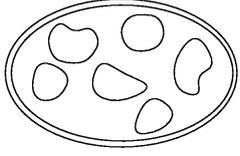
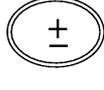
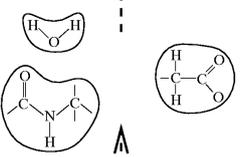
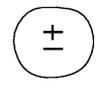
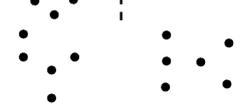
	Objekthierarchie	elektrostatische Repräsentation	Abstand
$H = n$			
$H = 2$		Cluster  dipolar  geladen	16 ... 22 Å
$H = 1$		strukturelle Basisgruppen  dipolar  geladen	10 ... 16 Å
$H = 0$		Atome  q Partiellladungen	0 ... 10 Å

Abbildung 5: Strukturadaptierte Beschreibung der Coulombwechselwirkung in biologischen Makromolekülen bei der SAMM-Methode; die Objekte der untersten Hierarchiestufe ( $H = 0$ ) sind die Partiaalladung tragenden Atome (gefüllte Punkte); strukturelle Basisgruppen auf der nächst höheren Hierarchiestufe ( $H = 1$ ) sind einfach umrandet, und aus den strukturellen Basisgruppen gebildete Cluster ( $H = 2$ ) sind doppelt umrandet gezeichnet; die mittlere Spalte symbolisiert die elektrostatische Repräsentation der Objekte durch Monopol- oder Dipolmoment; die rechte Spalte zeigt die für eine hinreichend genaue Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkung günstigen Abstandsbe-  
reiche an.

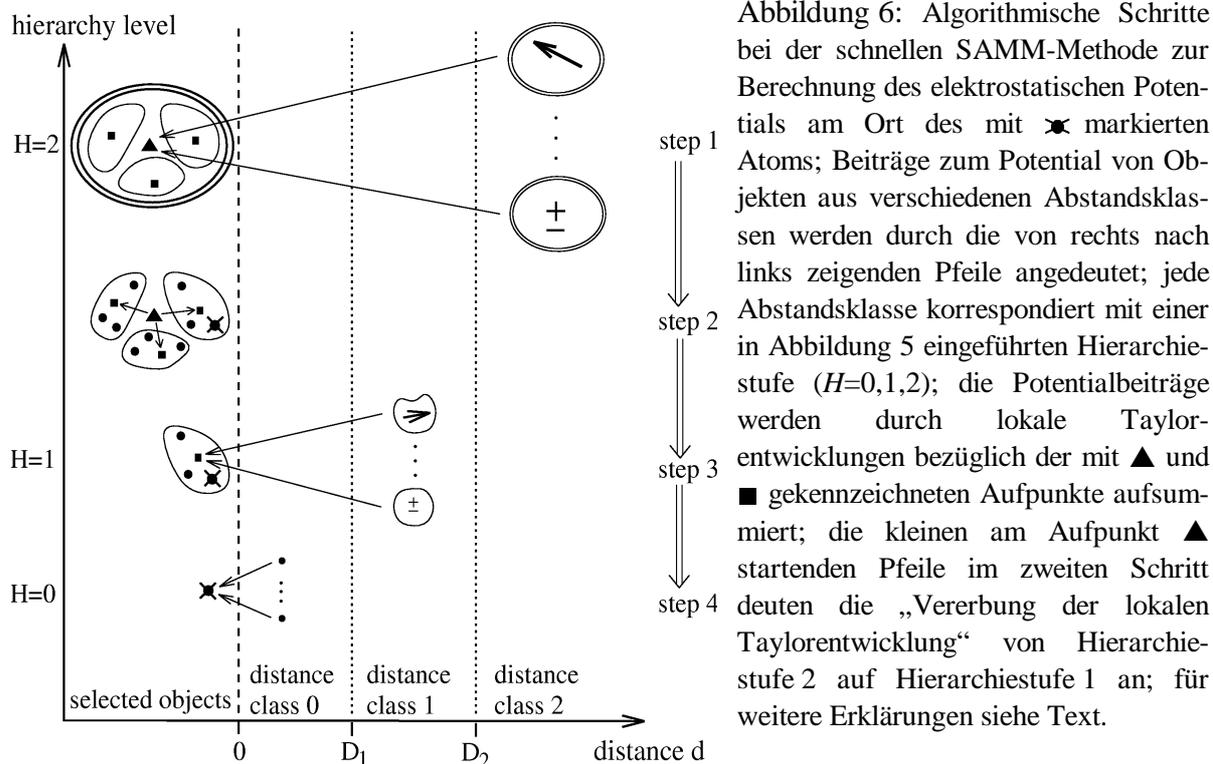
In Abbildung 5 ist gezeigt, wie SAMM das von Ladungsgruppen erzeugte elektrostatische Potential *hierarchisch* durch eine bis zur zweiten Ordnung ausgeführten Multipolentwicklung des Potentials approximiert. In der linken Spalte sind als Objekte der untersten Hierarchiestufe

$H = 0$  die Partiaalladungen  $c_i$  der Atome als gefüllte Punkte dargestellt. Diese Partiaalladungen werden unter Berücksichtigung struktureller und elektrostatischer Motive auf der nächsten Hierarchiestufe  $H = 1$  zu sogenannten *Basisgruppen* zusammengefaßt. Derartige Basisgruppen sollen nach Konstruktion kompakt sein und zwischen drei bis zehn kovalent gebundene Atome enthalten. Ein Beispiel für eine solche Basisgruppe ist die im Proteinerückgrat auftretende Peptidbindungseinheit, welche aus elektrostatischer Sicht einen ausgeprägten Dipol darstellt. Ebenso bilden z.B. einzelne Wassermoleküle dipolare Basisgruppen.

Wie in der mittleren und rechten Spalte von Abbildung 5 dargestellt ist, erlaubt die struktur-basierte Definition der Basisgruppen, das von ihnen erzeugte elektrostatische Potential für Abstände  $d$ ,  $D_1 < d \leq D_2$ , mit  $D_1 = 10 \text{ \AA}$  und  $D_2 = 15 \text{ \AA}$ , hinreichend genau, d.h. bis auf etwa 1 % Genauigkeit, durch das niedrigste nicht-verschwindende Multipolmoment zu nähern [78,86]. Falls die Gesamtladung einer Basisgruppe also nicht verschwindet, wird das elektrostatische Potential durch das Monopolmoment angenähert, ansonsten durch das Dipolmoment. Andere Multipolverfahren [84,85,89], die keine Rücksicht auf strukturelle Motive in Biomolekülen nehmen, erzielen eine vergleichbare Genauigkeit erst durch Multipolentwicklungen, die weit über das Dipolmoment hinausgehen. Solche konventionellen Multipolverfahren sind deshalb auch mit einem deutlich höheren Rechenaufwand verbunden.

In der linken Spalte von Abbildung 5 erkennt man, daß die Objekte der zweiten und aller höheren Hierarchiestufen aus *Clustern* möglichst kompakt zusammenliegender Basisgruppen gebildet werden. Auch deren elektrostatisches Potential läßt sich für Abstände  $d > D_2$  hinreichend genau durch das niedrigste Multipolmoment approximieren. Im SAMM-Verfahren setzt sich nun das elektrostatische Potential  $\Phi(\mathbf{r}_i)$  am Ort eines Atoms  $i$  aus der expliziten Coulombsumme über alle Partiaalladungen im Abstand  $d \leq D_1$ , aus dem genäherten Potential der Basisgruppen im Abstand  $D_1 < d \leq D_2$ , und aus dem genäherten Potential der Cluster im Abstand  $d > D_2$  zusammen. Der Rechenaufwand von derartigen Verfahren [78,83,86] wächst nur noch proportional zu  $N \log(N)$ , statt proportional zu  $N^2$  wie bei einer vollständig explizit ausgeführten Coulombsumme (2.30).

Die Effizienz des oben erläuterten SAMM-Verfahrens kann durch zusätzlichen Einsatz einer schnellen FMM-Methode noch weiter gesteigert werden [78,87]. Dabei wird das von Basisgruppen und Clustern erzeugte Potential nicht mehr für jedes Atom getrennt aufsummiert, sondern hierarchisch über lokale Taylorentwicklungen, die das elektrostatische Potential in der Umgebung geschickt gewählter Aufpunkte approximieren. Für die mathematische Darstellung einer solchen lokalen Taylorentwicklung siehe [78,87,90,91] oder Kapitel 3, Gleichung (3.10).



Zur Erläuterung der Berechnungsstrategie bei dem schnellen SAMM-Verfahren ist in Abbildung 6 in der linken Spalte auf der untersten Hierarchiestufe  $H=0$  ein durch das Symbol ✖ markiertes Atom exemplarisch herausgegriffen. Die Objekte aller höheren Hierarchiestufen  $H=1,2$ , die das selektierte Atom enthalten, sind in der linken Spalte darüberliegend dargestellt, und werden analog als „selektierte Objekte“ bezeichnet. Die für jede Hierarchieebene charakteristischen, und im vorherigen Absatz bereits eingeführten Abstandsklassen ( $d \leq D_1$ ,  $D_1 < d \leq D_2$  und  $d > D_2$ ) sind dabei durch vertikale punktierte Linien kenntlich gemacht. Die folgenden Schritte sind bei der Berechnung des elektrostatischen Potentials am Ort des selektierten Atoms ✖ der Reihe nach von der obersten zur untersten Hierarchiestufe auszuführen:

*Schritt 1:* Auf der obersten Hierarchiestufe  $H=2$  wird das elektrostatische Potential, das von allen hinreichend weit entfernten Clustern mit  $d > D_2$  im Volumenbereich des selektierten Clusters erzeugt wird (von rechts nach links führende Pfeile), durch eine lokale Taylorentwicklung approximiert. Als Aufpunkt für die lokale Taylorentwicklung dient hierbei der geometrische Schwerpunkt ▲ des selektierten Clusters.

*Schritt 2:* Wie durch die kleinen Pfeile symbolisiert wird, läßt sich die lokale Taylorentwicklung um den Aufpunkt ▲ ohne Verlust an Genauigkeit und mit geringem Rechenaufwand in neue lokale Taylorentwicklungen um verschobene Aufpunkte ■ umwandeln. Wie in

Abbildung 6 dargestellt ist, liegen die neuen Aufpunkte ■ im geometrischen Schwerpunkt der Basisgruppen, die in dem selektierten Cluster enthalten sind. Dieser Vorgang wird oft als „Vererbung der lokalen Taylorentwicklung“ bezeichnet. Die lokale Taylorentwicklung der selektierten Basisgruppe approximiert nun dasselbe elektrostatische Potential wie die lokale Taylorentwicklung des selektierten Clusters.

*Schritt 3:* Auf der nächst niedrigeren Hierarchiestufe  $H = 1$  werden zur lokalen Taylorentwicklung der selektierten Basisgruppe weitere Beiträge addiert, die das elektrostatische Potential aller Basisgruppen aus dem Abstandsbereich  $D_1 \leq d < D_2$  erfassen. Die sich daraus ergebende lokale Taylorentwicklung approximiert nun das elektrostatische Potential aller Ladungsgruppen, die weiter als  $D_1$  entfernt sind.

*Schritt 4:* Das Potential aller Partiaalladungen, die nicht weiter als  $d < D_1$  von dem selektierten Atom ✕ entfernt sind, wird auf der untersten Hierarchiestufe  $H = 0$  explizit, d.h. über eine direkte Coulombsumme, berechnet. Durch Addition des genährten Potentials aller weiter entfernten Ladungsgruppen, das aus der lokalen Taylorentwicklung der selektierten Basisgruppe berechnet wird, erhält man bis auf etwa 1 % Genauigkeit das am Ort des selektierten Atoms ✕ herrschende elektrostatische Potential  $\Phi(\mathbf{r}_i)$ .

Die entscheidende Reduktion des Rechenaufwands durch Verwendung von lokalen Taylorentwicklungen in der schnellen SAMM-Methode rührt daher, daß nicht mehr eine Vielzahl von Atom-Basisgruppen- und Atom-Cluster-Wechselwirkungen behandelt werden, sondern eine bedeutend geringere Anzahl von Cluster-Cluster- und Basisgruppen-Basisgruppen-Wechselwirkungen.

Der Rechenaufwand für das schnelle SAMM-Verfahren läßt sich im Rahmen des FAMU-SAMM-Algorithmus durch zusätzliche Anwendung eines Mehrschrittverfahren noch weiter reduzieren [90,91]. Von einem allgemeinen Standpunkt aus gesehen, nutzen Multipolverfahren nur die „räumliche Glattheit“ des Potentials aus, wohingegen Mehrschrittverfahren auf der „zeitlichen Glattheit“ des elektrostatischen Potentials aufbauen. Wie bei der FAMUSAMM-Methode diese zeitliche Glattheit ausgenutzt wird, soll im Rest dieses Abschnitts kurz erläutert werden.

Eine spezielle Klasse der Mehrschrittverfahren, die sogenannten Abstandsklassenverfahren, beruhen auf der Beobachtung, daß in MD-Simulationen das von weit entfernten Atomen erzeugte Potential weniger stark fluktuiert als das Potential, das von nahe gelegenen Atomen hervorgehoben wird. Dies läßt sich auch auf die in Abbildung 6 gezeigten Abstandsklassen (*distance class* 0, 1 und 2) bei der schnellen SAMM-Methode übertragen. Demnach weist das von den Clustern in der Abstandsklasse 2 erzeugte Potential am Ort des selektierten Atoms langsamere

Fluktuationen auf als das Potential, das von den Basisgruppen in der Abstandsklasse 1 erzeugt wird.

Diesen Umstand macht sich das in FAMUSAMM [90,91] verwendete Mehrschrittverfahren zu nutze. Dabei wird das Potential aus entfernten Abstandsklassen nicht in jedem Integrations-schritt einer MD-Simulation explizit berechnet, sondern aus vorausgegangenen Werten in geeigneter Weise extrapoliert. Bei FAMUSAMM wird die explizite Summation über die Beiträge zu den lokalen Entwicklungen auf der Hierarchieebene der Cluster (Schritt 1 in Abbildung 6) nur jeden achten Integrationsschritt ausgeführt, und die Summation über die Beiträge auf der Hierarchiestufe der Basisgruppen (Schritt 3 in Abbildung 6) nur jeden vierten Integrations-schritt. In den dazwischen liegenden Integrationsschritten wird Rechenzeit eingespart, indem die Koeffizienten der lokalen Entwicklungen (siehe Gleichung (3.6)-(3.10)) der Cluster und Basisgruppen aus den vorangegangenen, explizit berechneten Koeffizienten extrapoliert werden.

Eine weitere deutliche Reduzierung des Rechenaufwandes wird bei der FAMUSAMM-Methode durch Unterteilung der innersten Abstandsklasse 0 erreicht. Dabei wird die direkte Coulombsumme nur noch über alle Atome, die näher als etwa 5 Å liegen, in jedem Integrations-schritt explizit ausgeführt. Die Coulombsumme über die restlichen Atome in der Abstandsklasse 0 im Abstand zwischen 5–10 Å wird nur jeden zweiten Schritt explizit berechnet und ansonsten aus vorangegangenen Werten extrapoliert. Durch diese Strategie wird der Rechenaufwand für die Abstandsklasse 0 um etwa die Hälfte reduziert. Damit ist die Beschreibung von der in EGO\_VIII implementierten FAMUSAMM Methode abgeschlossen.

Zum Abschluß dieses Kapitels dokumentiert Abbildung 7, daß der Rechenaufwand des FAMUSAMM-Algorithmus für Systeme mit mehr als 1000 Atomen linear mit der Anzahl der Atome wächst. In der Abbildung ist für Systeme mit bis zu 36 000 Atomen die mittlere Dauer zur Durchführung eines Integrationsschrittes auf einem DEC 3300L Arbeitsplatzrechner dargestellt. Gegenüber der exakten Berechnung der Coulombsumme für ein System mit 36 000 Atomen reduziert sich der Rechenaufwand durch FAMUSAMM um den Faktor 60 und ist damit genau so effizient wie übliche Abschneideverfahren, bei denen die elektrostatische Wechselwirkung für Abstände größer als 10 Å völlig vernachlässigt wird. In EGO\_VIII ist der FAMUSAMM-Algorithmus auch in einer parallelisierten Form implementiert, so daß die gegenüber einfachen Arbeitsplatzrechnern enorme Rechenleistung von Parallelcomputern in MD-Simulationen ausgenutzt werden kann [92,93]. Dadurch lassen sich MD-Simulationen von Systemen mit mehreren 10 000 Atomen über einen Zeitraum von etlichen Nanosekunden durchführen, ohne daß die langreichweitige, gerade auf längeren Zeitskalen so wichtige elektrostatische Wechselwirkung vernachlässigt wird.

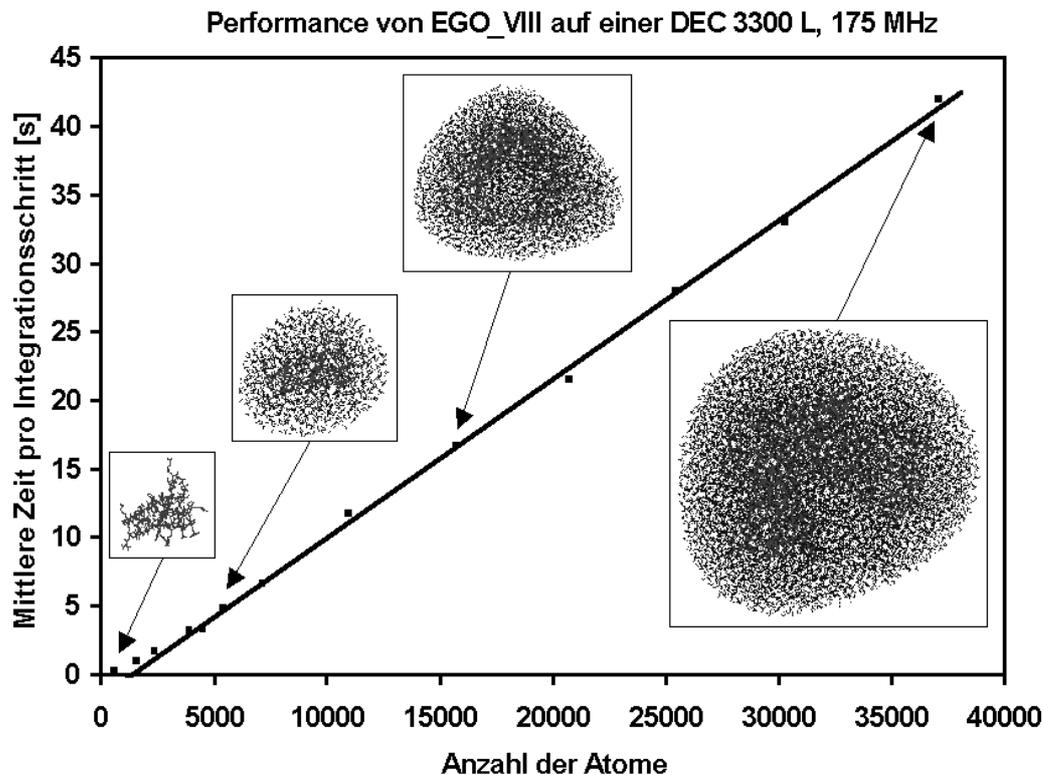


Abbildung 7: Mittlere Dauer in Sekunden für die Durchführung eines MD-Simulationsschrittes durch EGO\_VIII in Abhängigkeit von der Anzahl der Atome im Simulationssystem; die angegebenen Zeiten wurden auf einem DEC 3300L Arbeitsplatzrechner mit 175 MHz und 96 MB RAM erzielt.

Damit sind nun die wichtigsten Grundlagen eingeführt, welche für die Entwicklung einer QM/MM-Hybridmethode notwendig sind. Wir sind jetzt gerüstet, in den nächsten beiden Kapiteln ein Schema auszuarbeiten, durch das in QM/MM-Hybridmodellen die Wechselwirkung zwischen einem QM-Fragment und einem MM-Fragment angemessen beschrieben werden kann. Dazu beschränken wir uns in Kapitel 3 zunächst auf die Modellierung der Wechselwirkung einfacher Hybridsysteme, bei denen zwischen QM-Fragment und MM-Fragment keine kovalente Bindung besteht. In der Denkweise des CHARMM-Kraftfeldes bedeutet dies, daß nur *non-bonded*-Wechselwirkungen  $E_{\text{non-bonded}}$  zwischen den Fragmenten vorhanden sind. Im darauf folgenden Kapitel 4 wird ein Verfahren zur Behandlung komplexerer Hybridmodelle vorgestellt.

## Kapitel 3

# Die Behandlung nicht kovalent gebundener Fragmente

Wie bereits in der Einführung dargelegt worden ist, besteht die grundsätzliche Aufgabe bei der Entwicklung eines QM/MM-Hybridverfahrens darin, ein geeignetes Wechselwirkungsschema zwischen dem QM-Fragment und dem MM-Fragment zu formulieren. Zu diesem Zweck soll nun das bereits in Abschnitt 1.3 angedeutete Wechselwirkungsschema ausgearbeitet werden. Das Verfahren soll die Behandlung von *einfachen* QM/MM-Hybridssystemen erlauben, wie sie prototypisch durch den in Abbildung 3 dargestellten Wassercluster repräsentiert werden. Bei diesem Wassercluster bilden das in der Mitte liegende, dunkelgrau gezeichnete Wassermolekül das QM-Fragment und die umgebenden, hellgrau gezeichneten Wassermoleküle das MM-Fragment. Zwischen den beiden Fragmenten besteht keine kovalente Bindung, und es ist diese Eigenschaft, die einfache QM/MM-Hybridssysteme auszeichnet.

Zur klaren Kennzeichnung der Aufteilung eines QM/MM-Hybridsystems in ein QM-Fragment und in ein MM-Fragment werden wir von nun an die folgende Nomenklatur verwenden: Die Indexmenge  $\mathbf{M} = \{1, \dots, M\}$  bezeichne die Atome des MM-Fragments (MM-Atome) und die Indexmenge  $\mathbf{Q} = \{M + 1, \dots, N\}$  die Atome des QM-Fragments (QM-Atome). MM-Atome sollen durch die Indizes  $l, m \in \mathbf{M}$  und QM-Atome durch  $q, s \in \mathbf{Q}$  gekennzeichnet werden. Der Konfigurationsvektor  $\mathbf{R}_M = (\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_M)$  soll die Koordinaten aller MM-Atome und  $\mathbf{R}_Q = (\mathbf{r}_{M+1}, \dots, \mathbf{r}_N)$  die Koordinaten aller QM-Atome zusammenfassen. Der Konfigurationsvektor  $\mathbf{R} = (\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N)$  beschreibt daher das gesamte QM/MM-Hybridssystem.

Um besser erkennen zu können, welche Wechselwirkungen in einem einfachen QM/MM-Hybridssystem von Bedeutung sind, betrachten wir das Beispiel aus Abbildung 3 und diskutieren zunächst das CHARMM-Modell für molekülmechanisch behandelte Wassermoleküle.

In CHARMM wird zur Beschreibung eines Wassermoleküls das aus drei Massenpunkten aufgebaute TIP3P-Modell von Jorgensen [54] verwendet. Danach trägt der Massenpunkt, der das Sauerstoffatom repräsentiert, die Partiaalladung  $c_O = -0.834e$ , während die beiden anderen Massenpunkte jeweils ein Wasserstoffatom darstellen und die Partiaalladung  $c_H = +0.417e$  tragen. Als O–H-Bindungslänge wird  $0.957 \text{ \AA}$  und als H–O–H-Bindungswinkel wird  $104.5^\circ$  angenommen. Im TIP3P-Modell ergibt sich damit für jedes Wassermolekül ein Dipolmoment  $\boldsymbol{\mu} = 2.35$  Debye. Jeder der Massenpunkte ist zudem ein Zentrum für van der Waals Wechsel-

wirkungen mit den anderen Atomen im System. Da Wassermoleküle im üblichen TIP3P-Modell als starre Körper aufgefaßt werden, treten bei der potentiellen Energie  $E_M(\mathbf{R})$  eines Wasserclusters keine *bonded*-Energiebeiträge auf, die zu Auslenkungen der kovalenten O–H-Bindungen ( $E_{\text{stretch}}$ ) und der H–O–H-Winkel ( $E_{\text{angle}}$ ) gehören. Die potentielle Energie  $E_M(\mathbf{R})$  eines Clusters aus TIP3P-Wassermolekülen ist demnach gleich der in Gleichung (2.27) angegebenen *non-bonded*-Energie  $E_{\text{non-bonded}}(\mathbf{R})$  und beinhaltet ausschließlich van der Waals und Coulombwechselwirkungen.

Hinsichtlich der Behandlung der *non-bonded*-Wechselwirkung in QM/MM-Hybridssystemen folgen alle bisherigen Hybridmethoden (siehe z.B. [97,99,118]) im Prinzip der Arbeit von Warshel und Levitt [96]. Dort wurde die van der Waals Wechselwirkung zwischen den Fragmenten rein molekülmechanisch dargestellt. Ferner wurde das vom MM-Fragment erzeugte elektrostatische Potential in den Hamiltonoperator des QM-Fragments integriert. In der vorliegenden Arbeit schließen wir uns dieser Vorgehensweise an. Für die elektrostatische Wechselwirkung werden wir ein sehr effizientes Verfahren entwickeln, das uns auch die Behandlung von sehr großen QM/MM-Hybridssystemen erlauben wird. Zuvor erläutern wir im nächsten Abschnitt die Behandlung der van der Waals Wechselwirkung zwischen den Fragmenten.

### 3.1 Die van der Waals Wechselwirkung

Innerhalb des QM-Fragments ist die van der Waals Wechselwirkung implizit in der quantenmechanischen Beschreibung enthalten. Zum Beispiel ergibt sich der Effekt der Pauli-Abstoßung automatisch aus der nach dem Pauli-Prinzip konstruierten Wellenfunktion<sup>2</sup>. Da bei einem QM/MM-Hybridssystem im MM-Fragment keine Wellenfunktion betrachtet wird, muß die van der Waals Wechselwirkung zwischen einem MM-Atom und einem QM-Atom in der selben Weise behandelt werden, wie die van der Waals Wechselwirkung zwischen zwei MM-Atomen. Die van der Waals Energie eines MM-Atoms  $m$  ist damit durch

$$E_{M,\text{vdw}}(\mathbf{r}_m; \mathbf{R}) = \sum_{l \in \text{M}} E_{\text{vdw}}(\mathbf{r}_l, \mathbf{r}_m) + \sum_{s \in \text{Q}} E_{\text{vdw}}(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_m) \quad (3.1)$$

gegeben. Entsprechend der oben eingeführten Nomenklatur behandelt die erste Summe die van der Waals Wechselwirkungen des Atoms  $m$  mit allen anderen MM-Atomen, während die zweite Summe die van der Waals Wechselwirkungen mit den QM-Atomen umfaßt.

---

<sup>2</sup> Hier muß angemerkt werden, daß DFT-Verfahren gegenwärtig die attraktiven van der Waals Kräfte noch nicht (bzw. nicht hinreichend genau) erfassen.

Die van der Waals Energie  $E_{Q,\text{vdw}}(\mathbf{r}_q; \mathbf{R}_M)$  eines QM-Atoms  $q$  können wir damit als

$$E_{Q,\text{vdw}}(\mathbf{r}_q; \mathbf{R}_M) = \sum_{l \in M} E_{\text{vdw}}(\mathbf{r}_l, \mathbf{r}_q) \quad (3.2)$$

schreiben. Die aus der Ableitung von  $E_{Q,\text{vdw}}$  gewonnene van der Waals Kraft auf das QM-Atom  $q$  muß bei MD-Simulationen zur entsprechenden, nach Gleichung (2.6) berechneten Hellmann-Feynman-Kraft  $\mathbf{f}_q$  addiert werden.

Wie in Abschnitt 2.3.2 beschrieben wurde, hängen im CHARMM-Kraftfeld die van der Waals Parameter  $A_{ij}$  und  $B_{ij}$ , die in den Energietermen  $E_{\text{vdw}}(\mathbf{r}_i, \mathbf{r}_j)$  [vergleiche Gleichung (2.28)] auftreten, von den beteiligten Atomtypen ab. Um die van der Waals Wechselwirkung zwischen einem QM-Atom und einem MM-Atom berechnen zu können, muß also jedem QM-Atom ein geeigneter Atomtyp des CHARMM-Kraftfeldes zugeordnet werden.

Man beachte, daß bei der hier beschriebenen Behandlung der van der Waals Wechselwirkung der elektronische Teil des Hamiltonoperators des QM-Fragments durch die Anwesenheit des MM-Fragments nicht modifiziert wird. Die Wellenfunktion des elektronischen Grundzustands des QM-Fragments wird also durch die van der Waals Wechselwirkung mit dem MM-Fragment nicht beeinflusst.

## 3.2 Die elektrostatische Wechselwirkung

Wie in der Einführung betont wurde, sind die zeitlich und räumlich komplex strukturierten elektrostatischen Felder in aktiven Zentren von Proteinen für deren katalytische Wirkung von entscheidender Bedeutung. Deshalb ist es in QM/MM-Hybridmodellen von Proteinen nötig, wie bereits durch die Einführung von  $\Phi_M$  in Gleichung (2.3) vorgesehen wurde, das von den Partiaalladungen  $c_m$  des MM-Fragments erzeugte elektrostatische Potential direkt in den Hamiltonoperator des QM-Fragments aufzunehmen. Wir setzen also für das von außen auf das QM-Fragment wirkende elektrostatische Potential den Ausdruck

$$\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M) = \sum_{m \in M} \frac{c_m}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_m|} \quad (3.3)$$

an. Da  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$  nun direkt im Hamiltonoperator des QM-Fragments berücksichtigt wird, ist die elektrostatische Wirkung des MM-Fragments auf das QM-Fragment in dessen Grundzustandsenergie  $E_Q(\mathbf{R}_Q)$  enthalten. Also beinhalten die nach Gleichung (2.6) berechneten Hellmann-Feynman-Kräfte  $\mathbf{f}_q$  für die QM-Atome bereits die elektrostatischen Wirkungen des MM-Fragments.

Ferner wird die von  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$  verursachte Polarisierung des QM-Fragments korrekt erfaßt. Demgegenüber fehlen im CHARMM-Kraftfeld Polarisierungseffekte, da die Partiaalladungen

der MM-Atome feste Werte haben. Diese unterschiedliche Behandlung der Polarisierung in einem QM/MM-Hybridmodell ist weniger ein Problem der Kopplung zwischen QM-Fragment und MM-Fragment (siehe z.B. [96,109]), sondern vielmehr eine bekannte Schwäche vieler molekülmechanischer Kraftfelder. In unserer Arbeitsgruppe wird gegenwärtig in der Dissertation von B. Egwolf [134] ein neues Verfahren entwickelt, das es künftig erlauben soll, auch in MM-Modellen Polarisierungseffekte auf effiziente Weise zu berücksichtigen.

Die Berechnung von  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$  in dem vom QM-Fragment eingenommen Volumen führt bei großen Hybridsystemen zu einem erheblichen Rechenaufwand. Dieser Aufwand soll nun abgeschätzt werden, wobei wir uns an den Erfordernissen des DFT-Programms CPMD orientieren. Für andere DFT-Programme dürfte der Rechenaufwand vergleichbar sein.

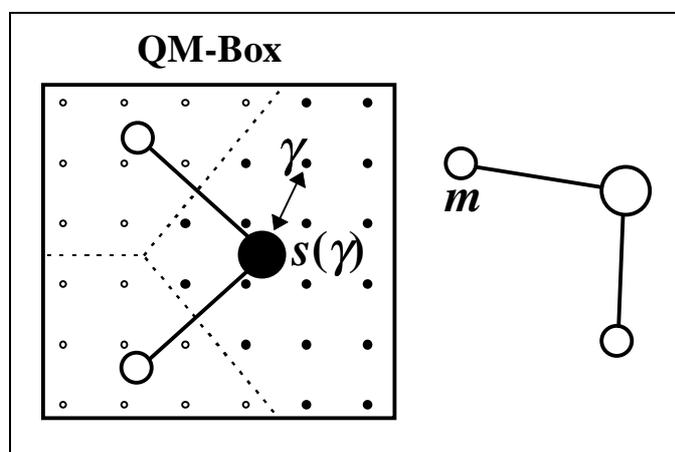


Abbildung 8: Zwei Wassermoleküle, von denen das linke quantenmechanisch und das rechte molekülmechanisch behandelt wird; im Volumen der QM-Box muß an Gitterpunkten  $\gamma$  das externe elektrostatische Potential  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$  ausgewertet werden; die für die effiziente Berechnung des elektrostatischen Potentials nötige Klassifikation des nächsten Nachbaratoms  $s(\gamma)$  zu einem Gitterpunkt  $\gamma$  ist durch die gepunktete Linie dargestellt.

Um den Rechenaufwand abzuschätzen, betrachten wir das in Abbildung 4 gezeigte QM/MM-Hybridssystem, bei dem das QM-Fragment knapp 40 Atome enthält. Das MM-Fragment bildet hier das Protein BR, das etwa 3000 partiell geladene Atome aufweist. Bei dem QM-Fragment aus Abbildung 4 ist die QM-Box ein Quader des Volumens  $24 \times 10 \times 10 \text{ \AA}^3$ . Wie in Abbildung 8 exemplarisch für ein Wassermolekül gezeigt ist, muß das elektrostatische Potential bei CPMD innerhalb der QM-Box an Gitterpunkten  $\mathbf{r}_\gamma$  ausgewertet werden, die in einem Abstand von etwa  $0.05 \text{ \AA}$  das gesamte Volumen ausfüllen. Dies bedeutet für das System aus Abbildung 4, daß  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$  an etwa  $20 \cdot 10^6$  Gitterpunkten ausgewertet werden muß. Die Berechnung des Potentialbeitrags von einem MM-Atom pro Gitterpunkt benötigt etwa 10

*floating-point* Operationen<sup>3</sup>. Dadurch erfordert die Berechnung von  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$  im Volumen der QM-Box insgesamt  $10 \times 3000 \times 20 \cdot 10^6 = 6 \cdot 10^{11}$  *floating-point* Operationen. Ein Supercomputer mit 1 GFLOPS Rechenleistung benötigt damit für die gesamte Auswertung von  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$  im Volumen der QM-Box etwa 10 Minuten, also eine erhebliche Zeit, wenn man bedenkt, daß z.B. bei einer MD-Simulation  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$  jeden Integrationsschritt neu berechnet werden muß.

Wir sehen also, daß der Aufwand bei der Berechnung von  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$  einerseits vom Volumen der QM-Box und andererseits von der Anzahl der mit Partialladungen behafteten MM-Atome abhängt. Wie bei rein molekülmechanischen MD-Simulationen kann der Aufwand zur Berechnung von  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$  verringert werden, indem man das elektrostatische Potential von Partialladungen, die weiter als ein vorgegebener Abschneideradius  $d_{\text{CutOff}}$  von einem Gitterpunkt entfernt sind, einfach vernachlässigt. Ein solches Abschneideverfahren würde für unser oben aufgeführtes Beispiel den Rechenaufwand um den Faktor 7 reduzieren; denn der kleinste sinnvolle Wert für  $d_{\text{CutOff}}$  beträgt etwa 10 Å, wodurch bei einer typischen Atomdichte von 0.1 Atomen pro Å<sup>3</sup> nur noch etwa 400 Partialladungen anstatt der 3000 Partialladungen zum elektrostatischen Potential an einem Gitterpunkt  $\gamma$  beitragen. Eine lebhaft geführte Diskussion in der Literatur hat jedoch in der Vergangenheit gezeigt, daß solche Abschneideverfahren bei MD-Simulationen zu erheblichen Artefakten führen [75-78]. Es soll deshalb nun ein genaueres Näherungsverfahren entwickelt werden, bei dem der elektrostatische Einfluß weit entfernter Ladungen nicht vernachlässigt wird.

Wie in Abschnitt 2.3.3 erklärt wurde, steht mit der in EGO\_VIII implementierten FAMUSAMM-Methode ein geeignetes, für MD-Simulationen von Proteinen etabliertes Verfahren zur Verfügung. Wir werden deshalb nun FAMUSAMM weiterentwickeln und für die effiziente Berechnung des äußeren Potentials  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$  bei QM/MM-Hybridsimulationen anpassen. Diese neue Variante soll im folgenden als die QM/FAMUSAMM-Methode bezeichnet werden. Wie bei der ursprünglichen FAMUSAMM-Methode werden wir dabei in hierarchischer Weise das von weit entfernten Ladungsgruppen erzeugte elektrostatische Potential näherungsweise in Form von Multipolentwicklungen erfassen und durch Umwandlung in lokale Taylorentwicklungen aufsummieren.

---

<sup>3</sup> Als *floating-point* Operation (Fließkomma-Operation) bezeichnet man einen elementaren Rechenschritt, der von Computern ausgeführt werden kann. Im wesentlichen entspricht eine *floating-point* Operation einer Addition oder Multiplikation. GFLOPS ist die Abkürzung für *Giga Floating-point Operations Per Second*, also ein Maß für die Fließkomma-Rechenleistung eines Computers.

### 3.2.1 Das QM/FAMUSAMM-Verfahren

Anhand von Abbildung 9 soll am Beispiel des bereits oben diskutierten Wasserclusters die neue QM/FAMUSAMM-Methode entwickelt werden. Bezüglich des Sauerstoff-Atoms  $s$  im QM-Fragment sind in der Abbildung die Grenzen der Abstandsklassen  $\mathbf{M}^{(5)}$ ,  $\mathbf{M}^{(10)}$ ,  $\mathbf{M}^{(16)}$ ,  $\mathbf{M}^{(22)}$  etc. durch senkrechte punktierte Linien eingezeichnet. Analog zu Abbildung 8 ist auf der linken Seite in Abbildung 9 das QM-Fragment innerhalb der QM-Box dargestellt. Nahe dem Atom  $s$  ist ein Gitterpunkt  $\gamma$  herausgegriffen, für den exemplarisch die Berechnung des elektrostatischen Potentials  $\Phi_{\mathbf{M}}(\mathbf{r}_{\gamma}; \mathbf{R}_{\mathbf{M}})$  durchgeführt werden soll.

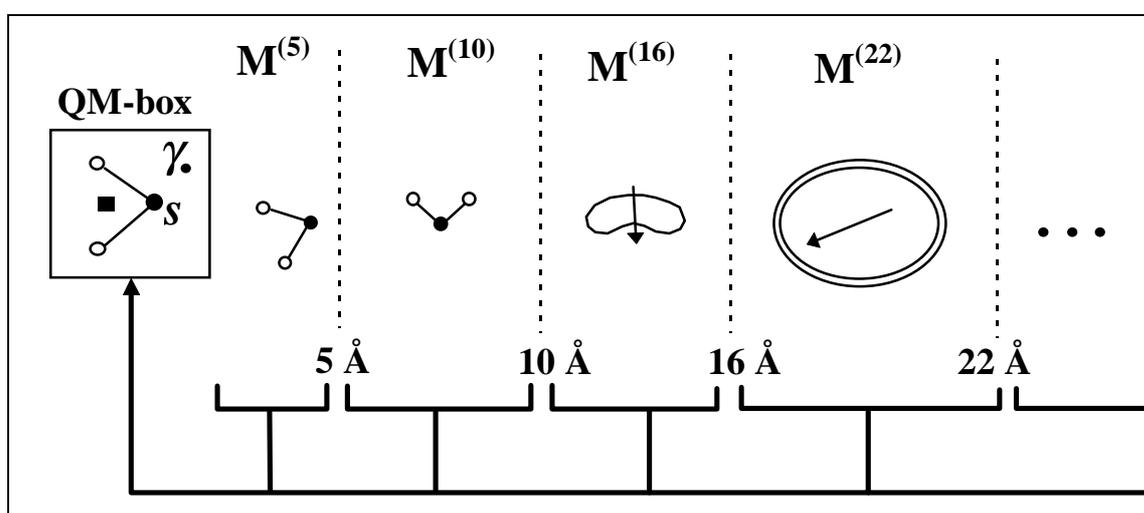


Abbildung 9: Darstellung der Abstandsklassen  $\mathbf{M}^{(5)}$ ,  $\mathbf{M}^{(10)}$ ,  $\mathbf{M}^{(16)}$ ,  $\mathbf{M}^{(22)}$ , etc. für die QM/FAMUSAMM-Methode bezüglich des links eingezeichneten Wassermoleküls; der geometrische Schwerpunkt dieses QM-Fragments ist dabei durch das Symbol  $\blacksquare$  gekennzeichnet; das von den Partialladungen der MM-Atome aus den verschiedenen Abstandsklassen erzeugte Potential wird innerhalb der QM-Box an Gitterpunkten  $\gamma$  ausgewertet; das Potential wird dabei über lokale Taylorentwicklungen berechnet; weitere Erläuterungen siehe Text.

Wie bei der ursprünglichen FAMUSAMM-Methode (siehe Abschnitt 2.3.3) ist mit jeder Abstandsklasse eine bestimmte Klasse von Objekten assoziiert, die für die effiziente Näherung des elektrostatischen Potentials entfernter Ladungsgruppen eingesetzt werden. Die Partialladung tragenden Atome bilden die Objekte der Abstandsklassen  $\mathbf{M}^{(5)}$  und  $\mathbf{M}^{(10)}$ , während die sogenannten strukturellen Basisgruppen die Objekte der Abstandsklasse  $\mathbf{M}^{(16)}$  darstellen. Die Objekte aller weiter entfernten Abstandsklassen werden von Clustern gebildet<sup>4</sup>. Das Potential

<sup>4</sup> Für eine genaue Erklärung sei auf die Arbeiten [78,86,87,90,91] verwiesen.

$$\Phi_{\mathbf{M}}(\mathbf{r}_{\gamma}; \mathbf{R}_{\mathbf{M}}) = \Phi^{(5)}(\mathbf{r}_{\gamma}) + \Phi^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_{\gamma}) \quad (3.4)$$

am Ort  $\mathbf{r}_{\gamma}$  des herausgegriffenen Gitterpunktes soll sich bei der QM/FAMUSAMM-Methode aus zwei Beiträgen zusammensetzen:  $\Phi^{(5)}(\mathbf{r}_{\gamma})$  soll die Potentialbeiträge von Partialladungen der Abstandsklasse  $\mathbf{M}^{(5)}$  explizit erfassen; der Potentialbeitrag  $\Phi^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_{\gamma})$  soll das Potential der Partialladungsverteilungen aus allen anderen Abstandsklassen umfassen und durch eine lokale Taylorentwicklung approximieren, wobei als Aufpunkt der Ort  $\mathbf{r}_s$  des nächst gelegenen Atoms  $s(\gamma)$  gewählt wird (siehe Abbildung 8). Zunächst soll nun der Beitrag  $\Phi^{(5)}(\mathbf{r}_{\gamma})$  diskutiert werden.

Würde man  $\Phi^{(5)}(\mathbf{r}_{\gamma})$  durch eine Coulombsumme gemäß Gleichung (3.3) beschreiben, so kann nicht ausgeschlossen werden, daß dieses Potential Polstellen innerhalb oder nahe der QM-Box hat. Bei der praktischen Durchführung von QM/MM-Hybridsimulationen hat sich jedoch herausgestellt, daß solche Polstellen des Coulombpotentials, wenn sie sich im Volumen der QM-Box befinden oder nicht weiter als etwa  $1 \text{ \AA}$  von ihr entfernt sind, das Konvergenzverhalten der Lösungsprozedur der Kohn-Sham-Gleichungen stören. Zur Behebung dieses Problems hat es sich als günstig erwiesen, statt einer punktförmigen Ladungsverteilung eine gaußförmige Ladungsverteilung anzunehmen. Das elektrostatische Potential einer gaußförmigen Ladungsverteilung wird durch eine  $\text{erf}(r)/r$  Funktion beschrieben, weist keine Polstelle mehr auf und verhält sich für große Abstände wie das Coulombpotential einer Punktladung. Aus diesem Grund setzen wir bei der QM/FAMUSAMM-Methode das Potential

$$\Phi^{(5)}(\mathbf{r}_{\gamma}) = \sum_{m \in \mathbf{M}^{(5)}} \tilde{\epsilon}(|\mathbf{r}_{\gamma} - \mathbf{r}_m|) \frac{c_m \text{erf}(|\mathbf{r}_{\gamma} - \mathbf{r}_m| / \sigma)}{|\mathbf{r}_{\gamma} - \mathbf{r}_m|} \quad (3.5)$$

an. In Testsimulationen hat sich herausgestellt, daß die Konvergenzprobleme bei der Lösung der Kohn-Sham-Gleichungen nicht mehr auftreten, wenn als Breite der Ladungsverteilung etwa der Wert  $\sigma = 0.8 \text{ \AA}$  gewählt wird. Die in Gleichung (3.5) aufgeführte Schaltfunktion  $\tilde{\epsilon}(|\mathbf{r}_{\gamma} - \mathbf{r}_m|)$  soll bei der Behandlung komplexer QM/MM-Hybridmodelle mit kovalent gebundenen Fragmenten zur Nachbildung der in MM-Kraftfeldern üblichen Klassifizierung in *bonded*- und *non-bonded*-Wechselwirkungen dienen (vergleiche Abschnitt 2.3.2). Eine genauere Erläuterung verlegen wir auf Kapitel 4. Für die Behandlung von einfachen Hybridssystemen gilt  $\tilde{\epsilon}(|\mathbf{r}_{\gamma} - \mathbf{r}_m|) = 1$ .

Die Verwendung von gaußverteilten Partialladungsdichten läßt sich rechtfertigen, wenn man bedenkt, daß bei MM-Modellen punktförmige Partialladungen nur ein Hilfsmittel zur Beschreibung des elektrostatischen Potentials eines Moleküls außerhalb des van der Waals Radius eines Atoms sind [135,136]. Es ist deshalb für QM/MM-Hybridmodelle zulässig, das Potential einer Partialladung innerhalb des van der Waals Radius eines Atoms durch eine gaußförmige Partialladungsdichte der Breite  $\sigma = 0.8 \text{ \AA}$  zu modifizieren.

Wenden wir uns nun dem Potentialbeitrag  $\Phi^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_\gamma)$  aus Gleichung (3.4) zu, der durch eine lokale Taylorentwicklung zweiter Ordnung um den Aufpunkt  $\mathbf{r}_s$  approximiert wird. Die Entwicklungskoeffizienten der lokalen Taylorentwicklung, die den Potentialbeitrag aus der Abstandsklasse  $\mathbf{M}^{(10)}$  erfassen, berechnen sich aus der Coulombsumme

$$\Phi^{(10)}(\mathbf{r}_s) = \sum_{m \in \mathbf{M}^{(10)}} \frac{c_m}{|\mathbf{r}_s - \mathbf{r}_m|} \quad (3.6)$$

sowie der ersten und zweiten Ableitung von  $\Phi^{(10)}(\mathbf{r}_s)$ , also dem Vektor  $\mathbf{k}^{(10)}(\mathbf{r}_s)$

$$\mathbf{k}^{(10)}(\mathbf{r}_s) = \nabla_{\mathbf{r}} \Phi^{(10)}(\mathbf{r}) \Big|_{\mathbf{r}=\mathbf{r}_s} \quad (3.7)$$

und der Matrix  $\mathbf{T}^{(10)}(\mathbf{r}_s)$  mit den Elementen

$$T_{\alpha\beta}^{(10)} = \frac{\partial^2 \Phi^{(10)}(\mathbf{r})}{\partial r_\alpha \partial r_\beta} \Big|_{\mathbf{r}=\mathbf{r}_s} \quad \text{mit } \alpha, \beta \in \{x, y, z\}. \quad (3.8)$$

Um die zur Berechnung von  $\Phi^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_\gamma)$  nötigen Entwicklungskoeffizienten  $\Phi^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_s)$ ,  $\mathbf{k}^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_s)$  und  $\mathbf{T}^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_s)$  zu erhalten, müssen noch die entsprechenden Koeffizienten  $\Phi^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_s)$ ,  $\mathbf{k}^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_s)$  und  $\mathbf{T}^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_s)$  addiert werden, die das Potential aus den Abstandsklassen  $\mathbf{M}^{(16)}$ ,  $\mathbf{M}^{(22)}$ , etc. approximieren, also

$$\begin{aligned} \Phi^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_s) &= \Phi^{(10)}(\mathbf{r}_s) + \Phi^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_s), \\ \mathbf{k}^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_s) &= \mathbf{k}^{(10)}(\mathbf{r}_s) + \mathbf{k}^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_s) \quad \text{und} \\ \mathbf{T}^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_s) &= \mathbf{T}^{(10)}(\mathbf{r}_s) + \mathbf{T}^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_s). \end{aligned} \quad (3.9)$$

Das Potential  $\Phi^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_\gamma)$  am Gitterpunkt  $\gamma$  ist dann durch die lokale Taylorentwicklung

$$\Phi^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_\gamma) = \Phi^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_s) + (\mathbf{r}_\gamma - \mathbf{r}_s)^t \mathbf{k}^{(10-\infty)} + \frac{1}{2} (\mathbf{r}_\gamma - \mathbf{r}_s)^t \mathbf{T}^{(10-\infty)} (\mathbf{r}_\gamma - \mathbf{r}_s) \quad (3.10)$$

gegeben. Da für jeden Atomort des QM-Fragments eine solche Taylorentwicklung ermittelt wird, und die Atome des QM-Fragments die QM-Box weitgehend ausfüllen, ist sichergestellt, daß die Abstände  $|\mathbf{r}_\gamma - \mathbf{r}_s|$  zwischen einem Gitterpunkt und dem nächsten Aufpunkt  $s(\gamma)$  einer Taylorentwicklung klein sind. Insbesondere an Gitterpunkten mit hoher Elektronendichte nahe den QM-Atomorten liefert Gleichung (3.10) eine sehr gute Approximation des vom MM-Fragment erzeugten elektrostatischen Potentials.

Bei der Berechnung der bisher noch nicht festgelegten Koeffizienten  $\Phi^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_s)$ ,  $\mathbf{k}^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_s)$  und  $\mathbf{T}^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_s)$  können wir auf den FAMUSAMM-Algorithmus zurückgreifen. Wie in Abschnitt 2.3.3 erläutert wurde, liefert FAMUSAMM für jede Basisgruppe die Koeffizienten  $\Phi^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_g)$ ,  $\mathbf{k}^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_g)$  und  $\mathbf{T}^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_g)$  einer lokalen Taylorentwicklung zweiter Ordnung, wobei als Aufpunkt der durch das Symbol  $\blacksquare$  markierte geometrische Schwerpunkt  $\mathbf{r}_g$  der

betreffenden Basisgruppe dient (siehe Abbildung 6, Schritt 3). In dem hier diskutierten Beispiel eines Wasserclusters stellt jedes Wassermolekül genau eine solche Basisgruppe dar, also auch das in Abbildung 9 links gezeigte QM-Fragment selbst. Analog zu Schritt 2 in Abbildung 6 kann die von FAMUSAMM gelieferte lokale Taylorentwicklung um den Aufpunkt  $\mathbf{r}_g$  in eine lokale Taylorentwicklung um den Aufpunkt  $\mathbf{r}_s$  umgewandelt werden. Für die mathematische Darstellung dieser als Vererbung bezeichneten Prozedur sei auf [78,91] verwiesen. Damit sind die Koeffizienten  $\Phi^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_s)$ ,  $\mathbf{k}^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_s)$  und  $\mathbf{T}^{(16-\infty)}(\mathbf{r}_s)$  bestimmt.

An dieser Stelle ist es nötig, genauer auf das in Abbildung 9 gezeigte Abstandsklassenschema einzugehen. Eigens durchgeführte Testrechnungen haben nämlich gezeigt, daß der Abstand  $d_{sm} = |\mathbf{r}_m - \mathbf{r}_s|$  zwischen dem QM-Atom  $s$  und dem MM-Atom  $m$  als Kriterium zur Einteilung der Abstandsklassen  $\mathbf{M}^{(5)}$  und  $\mathbf{M}^{(10)}$  nicht geeignet ist. Vielmehr ist es notwendig, ein auf den Basisgruppen basierendes Abstandskriterium heranzuziehen. Da das Potential einer polaren Basisgruppe schneller abfällt als das Potential einer geladenen Basisgruppe, ist es bei der Wahl von solchen *strukturadaptierten Abstandsklassen* nötig, zwischen geladenen und polaren Basisgruppen zu unterscheiden.

Es hat sich herausgestellt, daß das von einer polaren Basisgruppe erzeugte Potential nur dann mit ausreichender Genauigkeit in der QM-Box durch lokale Taylorentwicklungen zweiter Ordnung beschrieben wird, falls kein MM-Atom der Basisgruppe näher als 5 Å zum QM-Atom  $s$  liegt. Diesen Abstand bezeichnen wir als minimalen Abstand  $\tilde{d}$  der Basisgruppe zum QM-Atom  $s$ . Wenn also  $\tilde{d}$  einer polaren Basisgruppe kleiner als 5 Å ist, dann rechnen wir bei dem strukturadaptierten Abstandskriterium *alle* Atome dieser Basisgruppe der Abstandsklasse  $\mathbf{M}^{(5)}$  zu, andernfalls werden *alle* Atome der Abstandsklasse  $\mathbf{M}^{(10)}$  zugeschlagen. Würde man nicht nach diesem Schema vorgehen, dann könnte beispielsweise für ein Wassermolekül der Fall eintreten, daß die zwei Wasserstoffatome der Abstandsklasse  $\mathbf{M}^{(5)}$  zugerechnet werden und das Sauerstoffatom der Abstandsklasse  $\mathbf{M}^{(10)}$ . Das Coulombpotential, das von einem derart isolierten Sauerstoffatom ausgeht, ist aber im Abstand von 5 Å zum QM-Atom noch nicht hinreichend glatt, um in einer lokalen Taylorentwicklung zweiter Ordnung mit ausreichender Genauigkeit beschrieben werden zu können. Genau aus diesem Grund ist es auch nötig, bei geladenen strukturellen Basisgruppen ein größeres Abstandskriterium als bei polaren Basisgruppen zu wählen. Geladene Basisgruppen treten in Proteinen bei den Aminosäureseitenketten von Arginin, Lysin, Aspartat und Glutamat auf. Diesbezügliche Testrechnungen haben gezeigt, daß die Atome einer geladenen Basisgruppe erst ab einem minimalen Abstand  $\tilde{d} \geq 8$  Å zur Abstandsklasse  $\mathbf{M}^{(10)}$  zugerechnet werden dürfen.

Ferner haben Testrechnungen gezeigt, daß der Potentialbeitrag aus der Abstandsklasse  $\mathbf{M}^{(10)}$  nicht wie bei der in Abschnitt 2.3.3 beschriebenen ursprünglichen FAMUSAMM-Methode durch ein Mehrschrittverfahren jeden zweiten Integrationsschritt extrapoliert werden darf. Die mit der Extrapolation verbundenen zeitlichen Unstetigkeiten übertragen sich nämlich spürbar

auf die Elektronenverteilung des QM-Fragments. Die zeitlichen Unstetigkeiten aufgrund des FAMUSAMM-Extrapolationsschemas für die Abstandsklassen  $\mathbf{M}^{(16)}$ ,  $\mathbf{M}^{(22)}$ , etc. sind dahingegen äußerst gering und können deshalb auch bei der QM/FAMUSAMM-Methode eingesetzt werden. In Abschnitt 6.1.1 b werden wir dies anhand einer Testrechnung belegen.

In einem typischen QM/MM-Hybridsystem sind nach der oben beschriebenen strukturadaptierten Abstandsklasseneinteilung in der Abstandsklasse  $\mathbf{M}^{(5)}$  etwa 100 Atome enthalten, die in die Berechnung der expliziten Coulombsumme  $\Phi^{(5)}(\mathbf{r}_\gamma)$  nach Gleichung (3.5) eingehen. Die Bestimmung der Koeffizienten der lokalen Taylorentwicklungen und die Auswertung von  $\Phi^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_\gamma)$  ist gegenüber der Berechnung von  $\Phi^{(5)}(\mathbf{r}_\gamma)$  mit einem vergleichsweise geringen Rechenaufwand verbunden und kann in erster Näherung vernachlässigt werden. Der Rechenaufwand des eingangs erwähnten Abschneideverfahrens mit  $d_{\text{cutOff}} = 10 \text{ \AA}$  wird ebenfalls von der Coulombsumme (3.5) beherrscht, wobei jedoch für jeden Gitterpunkt der Potentialbeitrag von etwa 400 Atomen zu berücksichtigen ist. Dieser Abschätzung zufolge weist also die QM/FAMUSAMM-Methode einen um den Faktor vier geringeren Rechenaufwand auf als dieses Abschneideverfahren. Gegenüber der exakten Berechnung der Coulombsumme (3.3) reduziert sich der Rechenaufwand für das in Abbildung 4 gezeigte QM/MM-Hybridsystem sogar um den Faktor 28. Gemäß der Aufwandsabschätzung, die wir zu Beginn von Abschnitt 3.2 durchgeführt haben, benötigt ein Supercomputer daher für die Berechnung von  $\Phi_{\mathbf{M}}(\mathbf{r}; \mathbf{R}_{\mathbf{M}})$  statt 10 Minuten nur noch etwa 20 Sekunden.

### 3.2.2 Die Partiaalladungsnäherung für das QM-Fragment

Im vorangegangenen Abschnitt wurde erläutert, wie das vom MM-Fragment erzeugte elektrostatische Potential in der QM-Box effizient durch die QM/FAMUSAMM-Methode berechnet werden kann. Für die Durchführung von MD-Simulationen ist es aber genauso notwendig, umgekehrt das vom QM-Fragment erzeugte Potential  $\Phi_{\mathbf{Q}}(\mathbf{r}; \mathbf{R}_{\mathbf{Q}})$  im MM-Fragment zu berücksichtigen. Nach dem Hellman-Feynman-Theorem würde die exakte Behandlung dieser Wechselwirkung die Berechnung des vom QM-Fragment erzeugten elektrostatischen Feldes  $\mathbf{E}_{\mathbf{Q}}$

$$\mathbf{E}_{\mathbf{Q}}(\mathbf{r}_m) = \nabla_{\mathbf{r}} \Phi_{\mathbf{Q}}(\mathbf{r}; \mathbf{R}_{\mathbf{Q}}) \Big|_{\mathbf{r}=\mathbf{r}_m} \quad (3.11)$$

an jedem Atomort  $\mathbf{r}_m$  des MM-Fragments verlangen. Diese Vorgehensweise wäre jedoch mit einem hohen Rechenaufwand verbunden und ist angesichts der vielen Vereinfachungen, die MM-Kraftfeldern anhaften, nicht gerechtfertigt.

Vielmehr ist es ausreichend, das vom QM-Fragment erzeugte elektrostatische Potential  $\Phi_{\mathbf{Q}}(\mathbf{r}; \mathbf{R}_{\mathbf{Q}})$  durch geeignet gewählte, an den QM-Atomorten plazierte Partiaalladungen  $c_s$ , zu approximieren, also

$$\Phi_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q) \approx \tilde{\Phi}_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q) = \sum_{s \in Q} \frac{c_s}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_s|} \quad (3.12)$$

anzusetzen. Hierfür können im Programm CPMD Partialladungen  $c_s$  nach dem Verfahren von Singh und Kollmann [135] berechnet werden. Dabei werden die Partialladungen  $c_s$  so bestimmt, daß für eine ausgewählte Menge von Referenzpunkten, die außerhalb des van der Waals Radius des QM-Fragments liegen, die Abweichung des Potentials  $\tilde{\Phi}_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q)$  vom wahren Potential  $\Phi_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q)$  minimal wird. Auf diese Weise konstruierte Partialladungen werden in der Literatur als *potential derived (PD) atomic charges* bezeichnet (siehe z.B. [136] und Referenzen darin). Da solche Partialladungen wertvolle Information über die elektronische Struktur eines Moleküls liefern, werden sie üblicherweise ohnehin ermittelt und stehen damit für die Berechnung von  $\tilde{\Phi}_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q)$  ohne zusätzlichen Aufwand zur Verfügung.

Durch die Näherung (3.12) werden die Atome des QM-Fragments aus elektrostatischer Sicht bezüglich des MM-Fragments wie molekülmechanische Atome behandelt. Damit ist das gesamte elektrostatische Potential im MM-Fragment näherungsweise durch

$$\Phi(\mathbf{r}; \mathbf{R}) \approx \tilde{\Phi}_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q) + \Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M) \quad (3.13)$$

gegeben. Dies ermöglicht es uns, bei der Berechnung der *non-bonded*-Wechselwirkung des QM-Fragments mit dem MM-Fragment den bereits in EGO\_VIII implementierten FAMUSAMM-Algorithmus zu verwenden.

### 3.3 Algorithmische Rauschkkräfte

Die Näherung des vom QM-Fragment erzeugten elektrostatischen Potentials  $\Phi_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q)$  durch den Partialladungsansatz  $\tilde{\Phi}_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q)$  führt zu einer geringfügigen Verletzung des „*actio* ist gleich *reactio*“ Prinzips. Dies führt bei MD-Simulationen im mikrokanonischen Ensemble dazu, daß weder die Gesamtenergie noch der lineare Gesamtimpuls oder Drehimpuls exakt erhalten sind. Dieses Problem tritt jedoch nicht nur bei der in dieser Arbeit entwickelten QM/MM-Hybridmethode auf, sondern bei allen Verfahren, bei denen die langreichweitigen van der Waals und Coulombkräfte zwischen den Atomen approximiert werden [81-91]. Eine Verletzung von „*actio* gleich *reactio*“ findet man also auch bei dem FAMUSAMM-Algorithmus. Die Abweichungen der approximierten Kräfte von den exakten Kräften werden dabei als „algorithmische Rauschkkräfte“ bezeichnet [77,78,137]. Im FAMUSAMM-Algorithmus ist die hauptsächliche Ursache für derartige Rauschkkräfte die Kraftextrapolation durch das eingesetzte Mehrschrittverfahren. Die Rauschkkräfte aufgrund der strukturadaptierten Multipolmethode sind dem gegenüber wesentlich kleiner [91].

Neben der oben erwähnten Verletzung der Erhaltungssätze von Energie und Impuls können algorithmische Rauschkkräfte auf eine subtile Weise physikalische Eigenschaften eines Systems

verfälschen, so daß sich diese Effekte in wenig offensichtlichen Observablen oder erst auf langen Zeitskalen zeigen. Eine ausführliche Diskussion dieses Themas findet sich in den Arbeiten [77,78,137]. Für die praktische Durchführung von MD-Simulationen und für die Bewertung der Ergebnisse ist es deshalb notwendig, daß die unerwünschten Effekte von algorithmischen Rauschkraften so weit wie möglich behoben werden und eine Verfälschung der physikalischen Eigenschaften des Systems ausgeschlossen wird. Daß dies möglich ist, konnte für den in dieser Arbeit verwendeten FAMUSAMM-Algorithmus in ausführlichen MD-Simulationen gezeigt werden [90,91]. Im folgenden erläutern wir, wie die störenden Effekte der algorithmischen Rauschkraften, die durch die Partialladungsnaherung von  $\Phi_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q)$  verursacht werden, in dem erweiterten QM/FAMUSAMM-Verfahren beseitigt werden können.

Das Aufheizen des Simulationssystems durch algorithmische Rauschkraften läßt sich ohne Schwierigkeiten durch eine geringfügige Reskalierung der Atomgeschwindigkeiten in jedem Integrationsschritt erreichen. Dieses Verfahren ist bei MD-Simulationen weit verbreitet, und die einzelnen MD-Simulationsprogramme stellen hierfür im Detail unterschiedliche Verfahren zur Verfügung [67-68]. In dem in dieser Arbeit verwendeten MD-Simulationsprogramm EGO\_VIII wird das Reskalierungsverfahren von Berendsen *et al.* verwendet [138]. Die Anwendung des Reskalierungsverfahren gewährleistet jedoch nicht die Erhaltung des linearen Impulses und des Drehimpulses. Es sind also weitere Korrekturmaßnahmen nötig.

Die Erhaltung des linearen Impuls wird bei EGO\_VIII dadurch sichergestellt, daß die aufgrund der FAMUSAMM-Näherung nicht verschwindende, auf den Schwerpunkt des Systems wirkende Gesamtkraft  $\mathbf{f}_S$  mit negativem Vorzeichen auf alle Atome verteilt wird; es wird also bei jedem Atom die Korrekturkraft  $-\mathbf{f}_S/N$  addiert. Dieses Verfahren wird nun auch bei QM/MM-Hybridssystemen für die von der FAMUSAMM-Näherung *innerhalb* des MM-Fragments erzeugte Rauschkraft verwendet. Um in einem QM/MM-Hybridmodell das Prinzip „*actio* gleich *reactio*“ zwischen dem QM-Fragment und dem MM-Fragment zu gewährleisten, wird jedoch ein zusätzliches Verfahren eingesetzt, das nun beschrieben werden soll.

In der geschilderten QM/MM-Hybridmethode stellt sich die totale, auf das MM-Fragment wirkende elektrostatische Kraft  $\mathbf{f}_{M,Q}$  aufgrund des elektrostatischen Potentials  $\tilde{\Phi}_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R})$  des QM-Fragments durch

$$\mathbf{f}_{M,Q} = - \sum_{m \in M} \mathbf{f}_{m,Q} = - \sum_{m \in M} c_m \tilde{\mathbf{E}}_Q(\mathbf{r}_m) \quad (3.14)$$

dar, wobei  $\tilde{\mathbf{E}}_Q(\mathbf{r}_m)$  das in der Partialladungsnaherung gegebene elektrostatische Feld des QM-Fragments bezeichnet [siehe Gleichung (3.11)]. Aus Gleichung (3.14) geht hervor, daß  $\mathbf{f}_{m,Q}$  die elektrostatische Kraft auf das MM-Atom  $m$  darstellt, die in der Partialladungsnaherung von dem QM-Fragment ausgeübt wird. Aufgrund dieser Näherung hebt sich die gesamte auf das

MM-Fragment wirkende Kraft  $\mathbf{f}_{M,Q}$  im allgemeinen nicht exakt mit der elektrostatischen Gegenkraft

$$\mathbf{f}_{Q,M} = \sum_{s \in Q} \mathbf{f}_s \quad (3.15)$$

auf, welche aufgrund von  $\Phi_M(\mathbf{R}_M)$  auf das QM-Fragment wirkt. Ähnliche Überlegungen gelten auch für die entsprechenden Drehmomente  $\mathbf{t}_{M,Q}$  und  $\mathbf{t}_{Q,M}$ .

Um die Erhaltung des linearen Impulses in unserer QM/MM-Hybridmethode zu gewährleisten, wird im MM-Fragment eine Korrektur der Kräfte  $\mathbf{f}_{m,Q}$  vorgenommen. Zu diesem Zweck wird eine lineare, orthogonale Transformationsmatrix  $\mathbf{S}$  bestimmt, so daß

$$\mathbf{S}\mathbf{f}_{M,Q} = -\mathbf{f}_{Q,M} \quad (3.16)$$

gilt. Gleichung (3.16) legt in jedem Integrationsschritt einer QM/MM-Hybridsimulation die Matrix  $\mathbf{S}$  eindeutig fest. Anwendung der Transformationsmatrix  $\mathbf{S}$  auf die Kräfte  $\mathbf{f}_{m,Q}$  ergibt nun korrigierte Kräfte  $\mathbf{f}'_{m,Q}$ , welche gegenüber  $\mathbf{f}_{m,Q}$  geringfügig gedreht und skaliert sind. Nach Konstruktion hebt sich die Summe aller Kräfte  $\mathbf{f}'_{m,Q}$  mit der elektrostatischen, auf das QM-Fragment wirkenden Gegenkraft  $\mathbf{f}_{Q,M}$  auf. Es sei angemerkt, daß diese Korrektur ausschließlich Kräfte auf Atome des MM-Fragments betrifft.

Um die Erhaltung des Gesamtdrehimpulses in unserem QM/MM-Hybridmodell zu gewährleisten muß nachfolgend zur oben genannten Korrektur des linearen Impulses auch noch das im allgemeinen nicht verschwindende Gesamtdrehmoment  $\mathbf{t} = \mathbf{t}_{Q,M} + \mathbf{t}_{M,Q}$  korrigiert werden. Hierzu wird das Simulationssystem zu jedem Zeitschritt  $t$  als ein starrer Körper betrachtet. Ausgehend vom Schwerpunkt  $\mathbf{r}_S$  wird für eine gegebene Konfiguration  $\mathbf{R}(t)$  der Trägheitstensor  $\mathbf{I}$  und die mit dem Drehmoment  $\mathbf{t}$  verbundene Rotationsachse  $\mathbf{a}$  bestimmt (siehe z.B. [139]). Die Drehung des starren Körpers aufgrund des Drehmoments  $\mathbf{t}$  kann damit durch Korrekturkräfte  $\mathbf{f}''_i$  der Form

$$\mathbf{f}''_i = -\frac{|\mathbf{t}|m_i}{I_a} \mathbf{a} \times (\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_S) \quad (3.17)$$

verhindert werden, die auf jedes Atom im QM/MM-Hybridsystem angewendet werden. Dabei bezeichnet  $I_a$  das Trägheitsmoment des Systems bezüglich der Achse  $\mathbf{a}$ . Dieses neue Verfahren wird künftig in EGO\_VIII auch bei rein molekülmechanischen MD-Simulationen zur Kompensation eines von null verschiedenen Drehmoments eingesetzt. Damit ist die Darstellung der Behandlung der *non-bonded*-Wechselwirkungen mittels der in dieser Arbeit entwickelten QM/MM-Hybridmethode abgeschlossen.



# Kapitel 4

## Die Behandlung kovalent gebundener Fragmente

Im folgenden soll ein Verfahren zur Behandlung komplexer QM/MM-Hybridssysteme, die kovalent gebundene Fragmente enthalten, entwickelt werden. Um unseren neuen Ansatz zu begründen, werden wir zunächst das in früheren Hybridmodellen häufig verwendete Link-Atom-Verfahren LAEP diskutieren (vergleiche Abschnitt 1.3). Dabei werden wir die Ursache für den bereits in der Einführung erwähnten Defekt der LAEP-Methode aufdecken und einen ersten Korrekturvorschlag entwickeln. Anhand sehr detaillierter Betrachtungen werden wir anschließend unsere neue Lösung ableiten. Um dem Leser, angesichts der vielen komplizierten Details, wieder einen Überblick zu verschaffen, werden wir die Resultate in Abschnitt 4.3 zusammenfassen.

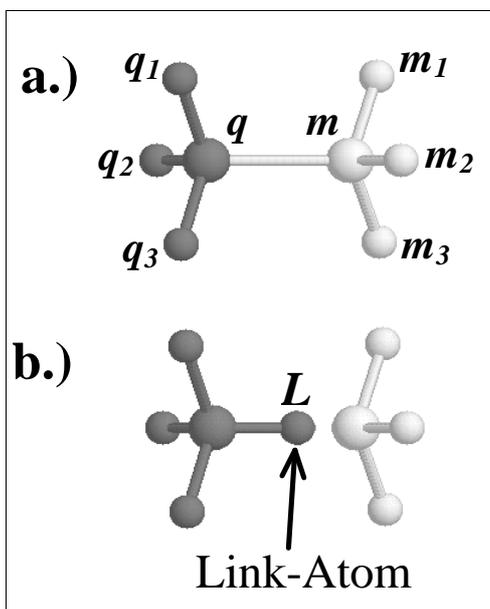


Abbildung 10: Veranschaulichung des Link-Atom-Konzepts am Beispiel des Äthan.

a) Die linke, dunkelgrau gezeichnete  $\text{CH}_3$ -Hälfte von Äthan soll quantenmechanisch erfaßt werden; die rechte, hellgrau gezeichnete  $\text{CH}_3$ -Hälfte soll molekülmechanisch behandelt werden; die Atome sind entsprechend ihrer Fragmentzugehörigkeit mit  $q$  und  $q_i$  bzw. mit  $m$  und  $m_i$  ( $i \in \{1,2,3\}$ ) bezeichnet.

b) Für eine angemessene quantenmechanische Beschreibung der linken  $\text{CH}_3$ -Hälfte ist es nötig, ein zusätzliches Wasserstoffatom als sogenanntes Link-Atom  $L$  einzuführen; damit wird das QM-Fragment zu einem Methan-Molekül.

Die Problematik der Behandlung kovalent gebundener Fragmente soll am Beispiel des in Abbildung 10 a dargestellten Moleküls Äthan verdeutlicht werden. Unpolare C–C-Bindungen wie in Äthan sind in Proteinen allgegenwärtig, so daß in QM/MM-Hybridmodellen von Proteinen jederzeit solche Bindungen als Schnittstellen gewählt werden können. Aus diesem Grund stellt Äthan das einfachste Molekül dar, anhand dessen die Behandlung kovalent gebundener Fragmente studiert werden kann. Wie in der Abbildung durch die Farbgebung kenntlich gemacht ist,

soll die linke, dunkelgrau gezeichnete CH<sub>3</sub>-Hälfte quantenmechanisch und die rechte, hellgrau gezeichnete CH<sub>3</sub>-Hälfte des Äthans molekülmechanisch erfaßt werden. Die Schnittstelle zwischen den Fragmenten verläuft also zwischen den beiden C-Atomen. Die einzelnen Atome sind in der Abbildung entsprechend ihrer Fragmentzugehörigkeit mit  $q$  und  $q_i$  sowie  $m$  und  $m_i$  ( $i \in \{1,2,3\}$ ) bezeichnet.

Einen weiteren Grund für die Eignung von Äthan zur Ableitung einer Hybridmethode zeigt die CHARMM-Energiefunktion dieses Moleküls

$$\begin{aligned}
 E_M^{\text{Ethan}}(\mathbf{R}) = & E_{\text{stretch}}(q, m) + \sum_{i=1,2,3} E_{\text{stretch}}(q_i, q) + \sum_{i=1,2,3} E_{\text{stretch}}(m_i, m) + \\
 & \sum_{i=1,2,3} E_{\text{angle}}(q_i, q, m) + \sum_{i=1,2,3} E_{\text{angle}}(m_i, m, q) + \\
 & \sum_{\substack{i,j=1,2,3 \\ i>j}} E_{\text{angle}}(q_i, q, q_j) + \sum_{\substack{i,j=1,2,3 \\ i>j}} E_{\text{angle}}(m_i, m, m_j) + \\
 & \sum_{i,j=1,2,3} E_{\text{dihe}}(q_i, q, m, m_j) + \\
 & \sum_{i,j=1,2,3} E_{\text{vdw}}(q_i, m_j) + \sum_{i,j=1,2,3} E_{\text{elec}}(q_i, m_j) ,
 \end{aligned} \tag{4.1}$$

die von *bonded*-Wechselwirkungstermen dominiert ist. Es treten darin ein C–C-Bindungsterm, sechs C–H-Bindungsterme, sechs H–C–C-Winkelterme, sechs H–C–H-Winkelterme sowie neun H–C–C–H-Diederterme auf. Wie aus den letzten beiden Summen erkenntlich wird, wirken van der Waals und Coulombkräfte lediglich zwischen den H-Atomen der gegenüberliegenden CH<sub>3</sub>-Hälften. Die Stärke dieser *non-bonded*-Wechselwirkung ist aufgrund der Schaltfunktion  $\varepsilon(q_i, m_j) = 0.4$  stark reduziert (vergleiche Abschnitt 2.3.2). Wegen dieser Schaltfunktion sind *non-bonded*-Wechselwirkungen zwischen den C-Atomen oder zwischen den C-Atomen und den H-Atomen ausgeschlossen. Bei der Entwicklung eines Hybridverfahrens zur Behandlung kovalent gekoppelter Fragmente spielt also im Falle des Äthans die *non-bonded*-Wechselwirkung eine untergeordnete Rolle, und wir können uns zunächst auf die Behandlung der *bonded*-Wechselwirkung konzentrieren. Erst in Abschnitt 4.2.3 wird im Zusammenhang mit der Erweiterung unseres Link-Atom-Konzepts auf kompliziertere Moleküle auch auf die *non-bonded*-Wechselwirkung eingegangen.

## 4.1 Die Einführung des Link-Atoms

Würde man die in Abbildung 10 a dunkel gezeichnete  $\text{CH}_3$ -Hälfte als QM-Fragment wählen, dann läge ein Methylradikal vor, das jedoch völlig andere chemische Eigenschaften als die eigentlich zu beschreibende  $\text{CH}_3$ -Hälfte von Äthan aufweist. Entfernt man das ungepaarte Elektron im Radikal oder gibt ein weiteres Elektron hinzu, dann erhielte man eine geladene  $\text{CH}_3$ -Gruppe, die ein ebenso schlechtes Modell für die eigentlich zu beschreibende  $\text{CH}_3$ -Hälfte von Äthan wäre. Wie jedoch in Abbildung 10 b dargestellt ist, besteht eine sinnvolle Strategie in der Absättigung der freien Valenz des Methylradikals durch ein zusätzlich eingeführtes Wasserstoffatom  $L$ . Analog zu vielen anderen Arbeiten bezeichnen wir dieses zusätzlich eingeführte Wasserstoffatom als *Link-Atom* [97-99,111,113]. Damit ist in unserem Beispiel als QM-Fragment das Molekül Methan entstanden, das dem DFT-Programm CPMD zur Berechnung der Kräfte präsentiert werden soll. Vermittels der Einführung des Link-Atoms ist dabei die unpolare C–C-Bindung durch eine polare C–H-Bindung ersetzt worden, und es erhebt sich die Frage, welche dynamischen und energetischen Konsequenzen diese Ersetzung sowie die Einführung eines zusätzlichen Atoms in das System hat.

Um diese Frage zu diskutieren, bemerken wir zunächst, daß die Energie  $E_Q^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_Q)$  eines derart konstruierten QM-Fragments von der Position  $\mathbf{r}_L$  des Link-Atoms abhängt. Deshalb nehmen wir  $\mathbf{r}_L$  im Konfigurationsvektor  $\mathbf{R}_Q$  des QM-Fragments auf. Durch die Möglichkeit, das Link-Atom frei im Raum zu positionieren, treten ferner bei QM/MM-Hybridmodellen mit jedem Link-Atom *drei zusätzliche Freiheitsgrade* auf. Wie wir sehen werden, können diese zusätzlichen Freiheitsgrade die Dynamik eines Hybridmodells drastisch verfälschen, so daß wir unser Augenmerk auf dieses Problem richten müssen.

Durch die Einführung von  $L$  stellt das QM-Fragment zwar nun ein verbessertes Modell für die  $\text{CH}_3$ -Hälfte in Äthan dar, aber die Wellenfunktion des QM-Fragments wird gegenüber derjenigen von Äthan nahe der Schnittstelle gestört sein. Außerdem ist durch die Einführung des Link-Atoms noch keineswegs die kovalente Bindung zwischen den beiden C-Atomen in Äthan erfaßt. Die verbleibenden Aufgaben bei der Behandlung einer solchen Fragmentschnittstelle bestehen also darin, (i) die mechanischen Eigenschaften der C–C-Bindung herzustellen, (ii) die durch das Link-Atom zusätzlich eingeführten Freiheitsgrade zu entfernen, und (iii) die Störung der Wellenfunktion möglichst gering zu halten. Insgesamt geht es also darum, das durch die Einführung des Link-Atoms artifiziell zerschnittene Gesamtmolekül wieder zusammenzufügen und dabei das zusätzliche Atom samt seiner störenden Einflüsse wieder möglichst vollständig zu beseitigen.

Bevor wir zur Lösung dieser Aufgaben in Abschnitt 4.2 unsere SPLAM-Methode entwickeln, wollen wir zuerst auf die bereits in der Einführung erwähnte Link-Atom-Methode LEAP nach Field *et al.* [97] sowie Bakowies und Thiel [98,99] eingehen. Dabei werden wir die Ursache

der bereits von Bakowies [98] entdeckten Störung des Kraftfelds an der Fragmentschnittstelle aufdecken.

### 4.1.1 Das LAEP-Verfahren

Im LAEP-Verfahren wird gefordert [98,99], daß die quantenmechanisch berechnete Energie des QM-Fragments  $E_Q^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_Q)$  möglichst wenig von den zusätzlichen Freiheitsgraden des Link-Atoms beeinflußt werden soll. Dies wird dadurch angestrebt, daß sich das Link-Atom für eine gegebene Konfiguration der restlichen QM-Atome immer in seiner Gleichgewichtsposition befinden soll. Technisch läßt sich diese Forderung durch eine iterative Nachführung der Position des Link-Atoms erfüllen. Ein sich immer am Gleichgewichtspunkt befindliches Link-Atom liefert in erster Näherung einen konstanten Beitrag zur Gesamtenergie des QM-Fragments, welcher bei der Berechnung von Energiedifferenzen ohne Bedeutung ist. Alle weiteren Energieterme, die für die Beschreibung einer geeigneten *bonded*-Wechselwirkung zwischen den Fragmenten nötig sind, werden aus der molekülmechanischen Energiefunktion des betreffenden Moleküls übernommen. Diese Strategie soll für unser Beispiel Äthan nun erläutert werden.

Um die kovalente C–C-Bindung im Hybridmodell von Äthan zu berücksichtigen, wird im LAEP-Verfahren ein harmonisches Bindungsstreckpotential  $E_{\text{stretch}}(q, m)$  zwischen den Atomen  $q$  und  $m$  nach Gleichung (2.23) angesetzt. Dadurch ist sichergestellt, daß die Fragmente aneinander gebunden bleiben. Aus der in Gleichung (4.1) vorgestellten Energiefunktion  $E_M^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$  für Äthan geht jedoch hervor, daß abgesehen von  $E_{\text{stretch}}(q, m)$  auch alle anderen Energieterme, an denen mindestens ein QM-Atom und mindestens ein MM-Atom beteiligt sind, für die Konfiguration der Fragmenthälften von Bedeutung sind. Neben  $E_{\text{stretch}}(q, m)$  müssen also auch diese Energieterme des molekülmechanischen Kraftfeldes in die Wechselwirkungsenergie  $E_{M, \text{LAEP}}^{\text{WW}}$  des Hybridmodells von Äthan aufgenommen werden. Damit ergibt sich

$$E_{M, \text{LAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) = E_{\text{stretch}}(q, m) + \sum_{i=1,2,3} E_{\text{angle}}(q_i, q, m) + \sum_{i=1,2,3} E_{\text{angle}}(q, m, m_i) + \sum_{i,j=1,2,3} E_{\text{dih}}(q_i, q, m, m_j) + \sum_{i,j=1,2,3} E_{\text{vdw}}(q_i, m_j). \quad (4.2)$$

Aus Gründen der Vollständigkeit wurde hier auch die van der Waals Wechselwirkung zwischen den Fragmenten berücksichtigt. Die entsprechende elektrostatische Wechselwirkung wird erst später in Abschnitt 4.2.3 im Zusammenhang mit dem SPLAM-Verfahren diskutiert.

Die Gesamtenergie  $E_{\text{LAEP}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$  des QM/MM-Hybridmodells von Äthan

$$E_{\text{LAEP}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R}) = E_{\text{Q}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}}) + E_{\text{M,LAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) + E_{\text{M}}^{\text{MF}}(\mathbf{R}_{\text{M}}) \quad (4.3)$$

setzt sich dann aus der Energie des QM-Fragments  $E_{\text{Q}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}})$ , der Wechselwirkungsenergie  $E_{\text{M,LAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R})$  und der Energie des MM-Fragments

$$E_{\text{M}}^{\text{MF}}(\mathbf{R}_{\text{M}}) = \sum_{i=1,2,3} E_{\text{stretch}}(m_i, m) + \sum_{\substack{i,j=1,2,3 \\ i>j}} E_{\text{angle}}(m_i, m, m_j) \quad (4.4)$$

zusammen, wobei in  $E_{\text{M}}^{\text{MF}}(\mathbf{R}_{\text{M}})$  alle Energietерme gesammelt sind, die sich nur auf MM-Atome beziehen. Aufgrund der Tatsache, daß das Link-Atom allein zur Absättigung der freien Valenz des QM-Fragments eingeführt worden ist, wird im LAEP-Verfahren zwischen dem Link-Atom und den MM-Atomen keine explizite Wechselwirkung angenommen. Das Link-Atom scheint also auf den ersten Blick für das MM-Fragment „unsichtbar“ zu sein; daß dies jedoch in Wirklichkeit nicht der Fall ist, werden wir in Abschnitt 4.2.3 noch genauer diskutieren.

Wie in der Einleitung schon angesprochen worden ist, stellte Bakowies am Ende seiner Dissertation anhand eines berechneten Schwingungsspektrums von Äthan fest, daß das LAEP-Verfahren gravierende Artefakte bei der Beschreibung des Kraftfeldes an der Fragmentschnittstelle aufweist und dadurch zu einer drastischen Verfälschung des Spektrums führt [98]. Dabei waren insbesondere Winkeldeformationsmoden betroffen, die um bis zu  $300 \text{ cm}^{-1}$  zu höheren Frequenzen verschoben waren. Eine zufriedenstellende Begründung des beobachteten Fehlverhaltens oder eine Strategie zur Behebung wurde aber nicht gegeben. Im nächsten Abschnitt werden wir deshalb die Ursache für das Fehlverhalten der LAEP-Methode aufspüren.

### 4.1.2 Das Pseudo-Hybridmodell

Um die Energiefunktion  $E_{\text{LAEP}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$  des LAEP-Verfahrens besser beurteilen zu können, betrachten wir statt dessen nun ein sogenanntes *Pseudo-Hybridmodell* von Äthan mit der Energiefunktion

$$\tilde{E}_{\text{LAEP}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R}) = E_{\text{M}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}}) + E_{\text{M,LAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) + E_{\text{M}}^{\text{MF}}(\mathbf{R}_{\text{M}}), \quad (4.5)$$

wobei gegenüber  $E_{\text{LAEP}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$  die potentielle Energie des QM-Fragments  $E_{\text{Q}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}})$  durch die zugehörige molekülmechanische Energiefunktion  $E_{\text{M}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}})$  ersetzt wird, also durch

$$\begin{aligned}
 E_M^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_Q) = & \sum_{i=1,2,3} E_{\text{stretch}}(q_i, q) + E_{\text{stretch}}(q, L) + \\
 & \sum_{\substack{i,j=1,2,3 \\ i>j}} E_{\text{angle}}(q_i, q, q_j) + \sum_{i=1,2,3} E_{\text{angle}}(q_i, q, L) .
 \end{aligned}
 \tag{4.6}$$

Wie man aus Gleichung (4.6) erkennt, ist das Link-Atom an einem C–H-Bindungsstreckterm und an drei H–C–H-Winkeltermen beteiligt. In der Energiefunktion  $\tilde{E}_{\text{LAEP}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$  des Pseudo-Hybridmodells sind nur noch molekülmechanische Potentialterme enthalten. Dadurch haben wir jetzt die Möglichkeit, die Energiefunktion  $\tilde{E}_{\text{LAEP}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$  direkt mit der Energiefunktion  $E_M^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$  des molekülmechanischen Modells von Äthan zu vergleichen. Der Leser sollte sich an diesem Punkt vergegenwärtigen, daß ein artefaktfreies Link-Atom-Verfahren höchstens dann vorliegen kann, wenn  $\tilde{E}_{\text{LAEP}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$  und  $E_M^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$  gleich sind. Andererseits werden uns auftretende Unterschiede zwischen den beiden Energiefunktionen die Ursachen der von Bakowies beobachteten Artefakte erkennen lassen.

Durch Einsetzen von (4.2), (4.4) und (4.6) in Gleichung (4.5) und Vergleich mit Gleichung (4.1) folgt die Beziehung

$$\tilde{E}_{\text{LAEP}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R}) = E_M^{\text{Ethan}}(\mathbf{R}) + E_{\text{stretch}}(q, L) + \sum_{i=1,2,3} E_{\text{angle}}(q_i, q, L) ,
 \tag{4.7}$$

wobei wir die Coulombwechselwirkung zunächst vernachlässigt haben. Da sich das Link-Atom  $L$  im LAEP-Verfahren für eine gegebene Konfiguration des QM-Fragments immer in seiner Gleichgewichtsposition befindet, verschwindet der in Gleichung (4.7) auftretende C–H-Bindungsstreckterm  $E_{\text{stretch}}(q, L)$ . Würden auch die H–C–L-Winkelpotentialterme  $E_{\text{angle}}(q_i, q, L)$  verschwinden, dann wäre  $\tilde{E}_{\text{LAEP}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R}) = E_M^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$ . In diesem Fall wäre also anhand des Pseudo-Hybridmodells trotz der Fragmentierung des Äthans und der Einführung des Link-Atoms kein Unterschied zum üblichen molekülmechanischen Modell zu erkennen.

Die H–C–L-Winkeltermen  $E_{\text{angle}}(q_i, q, L)$  in Gleichung (4.7) verschwinden jedoch *nicht* in jedem Fall! Dies läßt sich schon allein aus der Betrachtung der Anzahl der Freiheitsgrade ablesen, die mit dem Link-Atom zusätzlich eingeführt werden: Dies sind, der Möglichkeit entsprechend, das Link-Atom frei im Raum zu positionieren, genau drei Freiheitsgrade. Die Forderung, sowohl den in Gleichung (4.7) auftretenden Term  $E_{\text{stretch}}(q, L)$  als auch die drei H–C–L-Winkeltermen  $E_{\text{angle}}(q_i, q, L)$  für *beliebige* Konfigurationen des QM-Fragments zum Verschwinden zu bringen, würde jedoch vier unabhängige Freiheitsgrade erfordern. Da H–C–C-Winkeldeformationen in Äthan aufgrund der durch die Zwangsbedingungen festgelegten Positionierung des Link-Atoms auch unerwünschte H–C–L-Winkelpotentialbeiträge  $E_{\text{angle}}(q_i, q, L)$  liefern, folgt daraus, daß die H–C–C-Winkeldeformationen im Äthan-Hybrid-

modell effektiv mit einem zu harten Potential beschrieben werden. Dieses zu harte Potential  $\hat{E}(\mathbf{R})$  ist in der Pseudo-Hybridmodellnäherung durch die Summe

$$\hat{E}(\mathbf{R}) = \sum_{i=1,2,3} (E_{\text{angle}}(q_i, q, m) + E_{\text{angle}}(q_i, q, L)) \quad (4.8)$$

der Winkelbeiträge aus den Gleichungen (4.2) und (4.6) gegeben.

Aufgrund der zusätzlichen Winkelterme  $E_{\text{angle}}(q_i, q, L)$  ist nun verständlich, daß Bakowies in seiner Arbeit ein pathologisches Schwingungsspektrum mit stark blauverschobenen Winkeldeformationsmoden gefunden hat. Andererseits kann man sich klar machen, daß die Gleichgewichtsgeometrie eines Moleküls durch das LEAP-Verfahren nicht wesentlich verfälscht wird. Sieht man nämlich von *non-bonded*-Wechselwirkungsbeiträgen ab, dann befindet sich das LEAP-Hybridmodell eines Moleküls in seiner Gleichgewichtsgeometrie, wenn sich auch das QM-Fragment in seiner Gleichgewichtsgeometrie befindet. In der Gleichgewichtsgeometrie des QM-Fragments verschwinden aber alle Winkelpotentialterme  $E_{\text{angle}}(q_i, q, L)$  und  $\vec{E}_{\text{LAEP}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$  wird gleich  $E_{\text{M}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$ . Aus diesem Grund konnte die LAEP-Methode in der Vergangenheit ohne Probleme bei der Berechnung von Gleichgewichtsgeometrien eingesetzt werden. Wie wir jedoch gesehen haben, werden bei dem LAEP-Verfahren die durch das Link-Atom zusätzlich eingeführten Freiheitsgrade und energetischen Beiträge nicht vollständig eliminiert. Dadurch wird die Dynamik von solchen Hybridmodellen verfälscht.

## 4.2 Das SPLAM-Verfahren

Zur Lösung dieser Schwierigkeiten soll nun unsere neue Link-Atom-Methode SPLAM abgeleitet werden. Ausgehend von der LAEP-Methode wird dazu in Abschnitt 4.2.1 eine Korrektur der zusätzlichen H–C–L-Winkelterme  $E_{\text{angle}}(q_i, q, L)$  aus Gleichung (4.7) ausgearbeitet. Das daraus folgende Link-Atom-Verfahren werden wir als *corrected* LAEP-Verfahren (CLAEP) bezeichnen. In den Abschnitten 4.2.2 und 4.2.3 führen wir schließlich die SPLAM-Methode ein, die darauf abzielt, das zunächst eingeführte Link-Atom wieder möglichst vollständig aus der Beschreibung zu entfernen.

### 4.2.1 Die Korrektur des Winkelpotentials

Zur Herleitung des CLAEP-Verfahrens betrachten wir zunächst die Struktur der Winkelpotentialterme  $\hat{E}(\mathbf{R})$  aus Gleichung (4.8) an der Fragmentschnittstelle von Äthan etwas genauer. Aus der Definition (2.24) solcher Terme im CHARMM-Kraftfeld lesen wir ab, daß sie harmonisch von der Auslenkung der jeweiligen Gleichgewichtswinkel abhängen, wobei für die weitere Betrachtung der kleine Urey-Bradley-Term vernachlässigt werden soll ( $k_{ijk}^{\text{ub}} = 0$ ). Da das C-Atom  $q$  sowohl in Äthan als auch in Methan in einer  $\text{sp}^3$ -Hybridisierung vorliegt, unterscheiden sich die entsprechenden Gleichgewichtswinkel  $\vartheta_{\text{HCC}}^0$  und  $\vartheta_{\text{HCH}}^0$  nur geringfügig, und

dieser Unterschied kann deshalb ebenfalls vernachlässigt werden. Es muß aber zur Korrektur des Winkelterms  $\hat{E}(\mathbf{R})$  beachtet werden, daß die in  $E_{\text{angle}}(q_i, q, m)$  auftretende H–C–C-Kraftkonstante  $k_{HCC}$  sich von der H–C–H-Kraftkonstante  $k_{HCH}$  in  $E_{\text{angle}}(q_i, q, L)$  unterscheidet. Nach der CHARMM-Parametrisierung gilt  $k_{HCH} < k_{HCC}$ . Damit kann die Näherung (4.8) auch als

$$\hat{E}(\mathbf{R}) = \sum_{i=1,2,3} \left[ k_{HCC} (\vartheta(q_i, q, m) - \vartheta_{HCC}^0)^2 + k_{HCH} (\vartheta(q_i, q, L) - \vartheta_{HCC}^0)^2 \right] \quad (4.9)$$

geschrieben werden, wobei wir  $\vartheta_{HCC}^0 \equiv \vartheta_{HCH}^0$  angenommen haben.

### a.) Herleitung der CLAEP-Energiefunktion

Um nun bei dem angestrebten CLAEP-Verfahren den in  $\hat{E}(\mathbf{R})$  enthaltenen Zusatzterm zu eliminieren, wandeln wir das ursprüngliche LAEP-Verfahren wie folgt ab:

- (i) Die Position  $\mathbf{r}_L$  des Link-Atoms  $L$  wird auf die Verbindungslinie zwischen den Atomen  $q$  und  $m$  gelegt. Entlang dieser  $q$ – $m$ -Verbindungslinie soll das Link-Atom seine Gleichgewichtslage einnehmen. Durch diese Zwangsbedingung ist gewährleistet, daß die Winkel  $\vartheta(q_i, q, m)$  und  $\vartheta(q_i, q, L)$  identisch sind.
- (ii) Als Wechselwirkungsenergie  $E_{M, \text{CLAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R})$  zwischen den Fragmenten setzen wir an Stelle von  $E_{M, \text{LAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R})$  nun

$$E_{M, \text{CLAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) = E_{M, \text{LAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) - \sum_{i=1,2,3} k_{HCH} (\vartheta(q_i, q, L) - \vartheta_{HCC}^0)^2 \quad (4.10)$$

an, d.h. wir ziehen die unerwünschten Winkelterme, die aus der quantenmechanischen Behandlung des Link-Atoms entstehen [vergleiche Gleichung (4.8)], in molekülmechanischer Näherung von der Wechselwirkungsenergie ab.

Für die korrigierte CLAEP-Wechselwirkungsenergie ergibt sich dann

$$\begin{aligned} E_{M, \text{CLAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) = & E_{\text{stretch}}(q, m) + \sum_{i=1,2,3} (k_{HCC} - k_{HCH}) (\vartheta(q_i, q, m) - \vartheta_{HCC}^0)^2 + \\ & \sum_{i=1,2,3} E_{\text{angle}}(q, m, m_i) + \sum_{i,j=1,2,3} E_{\text{dih}}(q_i, q, m, m_j) + \\ & \sum_{\substack{i,j=1,2,3 \\ i>j}} E_{\text{vdw}}(q_i, m_j), \end{aligned} \quad (4.11)$$

wobei wir die durch Bedingung (i) eingeführte Identität der Bindungswinkel verwendet haben. Die obige Gleichung läßt sich nun so interpretieren, daß die Winkelterme  $E_{\text{angle}}(q_i, q, m)$  in der

Wechselwirkungsenergie des CLAEP-Modells durch ein abgeschwächtes harmonisches Winkelpotential mit der effektiven Kraftkonstante  $k_{HCC} - k_{HCH}$  berücksichtigt werden, da in dem Zwangsbedingungen unterworfenen, quantenmechanisch behandelten Methanmolekül ein Großteil (ca. 80 %) dieser Winkelkräfte bereits berücksichtigt sind. Dieser Zugang hat den zusätzlichen Vorteil, daß anharmonische Anteile der Winkelkräfte, die von der QM-Behandlung des Methans automatisch mitgeliefert werden, in die Beschreibung von Äthan übernommen werden. Wenn nun angenommen wird, daß anharmonische Korrekturen in H–C–H- und H–C–C-Bindungsmotiven ähnlich sind, dann sollte die so erzielte, großteils quantenmechanische Beschreibung der Winkelkräfte sogar noch genauer sein als eine rein molekülmechanische Behandlung.

Für das CLAEP-Verfahren läßt sich mit  $E_{M,CLAEP}^{WW}(\mathbf{R})$  die Gesamtenergie  $E_{CLAEP}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$  eines QM/MM-Hybridmodells analog zu Gleichung (4.3) definieren und analog zu Gleichung (4.5) die Gesamtenergie  $\tilde{E}_{CLAEP}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$  eines entsprechenden Pseudo-Hybridmodells. Wie man leicht zeigen kann, gilt für das Pseudo-Hybridmodell nun

$$\tilde{E}_{CLAEP}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R}) = E_M^{\text{Ethan}}(\mathbf{R}) + E_{\text{stretch}}(q, L) . \quad (4.12)$$

Der einzige Freiheitsgrad entlang der  $q$ - $m$ -Verbindungsline, der dem Link-Atom im CLAEP-Verfahren verbleibt, wird durch die Forderung beseitigt, daß das Link-Atom dort am Gleichgewichtspunkt liegen soll. Dadurch kann das in  $\tilde{E}_{CLAEP}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R})$  zusätzlich auftretende C–H-Streckpotential  $E_{\text{stretch}}(q, L)$  zum Verschwinden gebracht werden, und die Energiefunktion des Pseudo-Hybridmodells von Äthan ist im CLAEP-Verfahren identisch mit der zugehörigen CHARMM-Energiefunktion. Die Dynamik eines mit dem CLAEP-Verfahren behandelten Hybridmodells wird also, die Gültigkeit der molekülmechanisch begründeten Korrekturen vorausgesetzt, durch das Link-Atom nicht mehr verfälscht. Wir können deshalb die zusätzlich durch das Link-Atom eingeführten Freiheitsgrade und Kräfte als eliminiert ansehen.

## b.) Berechnung der Kräfte

Mit der Ableitung einer korrigierten Energiefunktion ist aber die Frage, wie die Kräfte im CLAEP-Verfahren zu berechnen sind, noch nicht geklärt. Dies soll nun für alle Atome des Äthans gezeigt werden.

Die Kraft  $\mathbf{f}_l$  auf ein MM-Atom  $l \in \{m_1, m_2, m_3\}$  ist durch

$$\mathbf{f}_l = \nabla_l E_{CLAEP}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R}) = \nabla_l E_{M,CLAEP}^{WW}(\mathbf{R}) + \nabla_l E_M^{\text{MF}}(\mathbf{R}_M) , \quad (4.13)$$

gegeben<sup>5</sup> und leitet sich somit allein aus molekülmechanischen Potentialen ab. Daher kann sie vom MD-Simulationsprogramm EGO berechnet werden. Im Gegensatz hierzu ist die Kraft  $\mathbf{f}_s$  auf ein QM-Atom  $s \in \{q_1, q_2, q_3\}$  durch

$$\mathbf{f}_s = \nabla_s E_{\text{CLAEP}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R}) = \nabla_s E_{\text{M,CLAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) + \nabla_s E_{\text{Q}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}}), \quad (4.14)$$

gegeben. Während der  $E_{\text{M,CLAEP}}^{\text{WW}}$ -Kraftbeitrag wieder rein molekülmechanischer Natur ist, leitet sich der zweite Kraftbeitrag  $\mathbf{f}_{\text{Q},s} = \nabla_s E_{\text{Q}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}})$  aus dem quantenmechanisch behandelten QM-Fragment ab. Dieser Beitrag wird also direkt von dem DFT-Programm CPMD geliefert.

Die Berechnung der Kräfte für die Atome  $q$  und  $m$  nimmt eine Sonderstellung ein, da die Bewegung des Link-Atoms  $L$  über die Zwangsbedingung (i) an die Bewegung dieser Atome gekoppelt ist. Für die Kraft  $\mathbf{f}_m$  auf das MM-Atom  $m$  gilt dabei

$$\mathbf{f}_m = \nabla_m E_{\text{CLAEP}}^{\text{Ethan}}(\mathbf{R}) = \nabla_m E_{\text{M,CLAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) + \nabla_m E_{\text{M}}^{\text{MF}}(\mathbf{R}_{\text{M}}) + \nabla_m E_{\text{Q}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}}). \quad (4.15)$$

Die ersten beiden Terme sind rein molekülmechanischer Natur und werden von EGO berechnet. Der letzte Term  $\mathbf{f}_{\text{Q},m} = \nabla_m E_{\text{Q}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}})$  erfordert, daß  $E_{\text{Q}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}})$  nach der Position  $\mathbf{r}_m$  des MM-Atoms  $m$  abgeleitet wird, wobei zu berücksichtigen ist, daß die im Konfigurationsvektor  $\mathbf{R}_{\text{Q}}$  enthaltene Position des Link-Atoms  $\mathbf{r}_L$  von den Positionen  $\mathbf{r}_m$  und  $\mathbf{r}_q$  abhängt, d.h. es gilt  $\mathbf{r}_L \equiv \mathbf{r}_L(\mathbf{r}_q, \mathbf{r}_m)$ . Für  $\mathbf{f}_{\text{Q},m}$  werden wir jetzt eine günstige Darstellung ableiten, die bei der Kopplung von CPMD und EGO technisch leicht umgesetzt werden kann.

Zu diesem Zweck zerlegen wir die Kraft  $\mathbf{f}_{\text{Q},m} = \mathbf{f}_{\text{Q},m}^{\parallel} + \mathbf{f}_{\text{Q},m}^{\perp}$  in einen parallel zur  $q$ - $m$ -Verbindungsachse wirkenden Anteil  $\mathbf{f}_{\text{Q},m}^{\parallel} = \nabla_m^{\parallel} E_{\text{Q}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}})$  und in einen senkrecht wirkenden Anteil  $\mathbf{f}_{\text{Q},m}^{\perp} = \nabla_m^{\perp} E_{\text{Q}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}})$ . Dabei bezeichne  $\nabla_m^{\parallel}$  und  $\nabla_m^{\perp}$  die über  $\mathbf{r}_L(\mathbf{r}_q, \mathbf{r}_m)$  vermittelte Ableitung nach  $\mathbf{r}_m$  parallel bzw. senkrecht zur  $q$ - $m$ -Achse. Da die C-L-Bindung nach Zwangsbedingung (i) entspannt ist, hat eine infinitesimale Verrückung  $\delta \mathbf{r}_m^{\parallel}$  von  $m$  parallel zur  $q$ - $m$ -Achse keinen Einfluß auf  $E_{\text{Q}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}})$ , sieht man von möglichen elektrostatischen Störungen aufgrund der Verschiebung der Partialladung  $c_m$  ab<sup>6</sup>. Daher besitzt  $\mathbf{f}_{\text{Q},m}$  keine Kraftkomponente in diese Richtung und es gilt  $\mathbf{f}_{\text{Q},m}^{\parallel} = 0$ .

Demgegenüber bewirkt eine infinitesimale Verrückung  $\delta \mathbf{r}_m^{\perp}$  von  $m$  senkrecht zur  $q$ - $m$ -Achse über die Zwangsbedingung (i) eine infinitesimale Verrückung  $\delta \mathbf{r}_L^{\perp}$  des Link-Atoms. Aus einer

---

<sup>5</sup> Man beachte, daß nach wie vor die elektrostatische Wirkung des QM-Fragments auf das MM-Fragment bei der gegenwärtigen Diskussion nicht berücksichtigt wird.

<sup>6</sup>  $E_{\text{Q}}^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_{\text{Q}})$  wird lediglich durch das elektrostatische Potential  $\Phi_{\text{M}}(\mathbf{r}; \mathbf{R}_{\text{M}})$  beeinflusst, das sich bei einer infinitesimalen Verrückung von  $m$  ändert. Wie wir in Abschnitt 4.2.3 sehen werden, ist dieser Effekt sehr klein und kann näherungsweise vernachlässigt werden.

einfachen geometrischen Überlegung folgt die Beziehung  $\delta \mathbf{r}_L^\perp = \delta \mathbf{r}_m^\perp \cdot (r_{CH} / r_{CC})$ , wobei  $r_{CH}$  den  $q$ - $L$ -Abstand und  $r_{CC}$  den  $q$ - $m$ -Abstand bezeichnet. Aufgrund dieser Beziehung kann  $\mathbf{f}_{Q,m}^\perp$  durch die senkrecht zur  $q$ - $m$ -Achse wirkende Kraft  $\mathbf{f}_{Q,L}^\perp = \nabla_L^\perp E_Q^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_Q)$  auf das Link-Atom ausgedrückt werden, wobei  $\mathbf{f}_{Q,L}^\perp$  vom DFT-Programm CPMD geliefert wird. Es gilt also

$$\mathbf{f}_{Q,m}^\perp = \frac{r_{CH}}{r_{CC}} \mathbf{f}_{Q,L}^\perp, \quad (4.16)$$

so daß sich insgesamt

$$\mathbf{f}_m = \nabla_m E_{M,\text{CLAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) + \nabla_m E_M^{\text{MF}}(\mathbf{R}_M) + \frac{r_{CH}}{r_{CC}} \mathbf{f}_{Q,L}^\perp \quad (4.17)$$

ergibt. Zu den molekülmechanischen Kraftbeiträgen auf das Atom  $m$ , die sich aus den ersten beiden Termen in Gleichung (4.17) ergeben, muß also die auf das Link-Atom wirkende Hellmann-Feynman-Kraft  $\mathbf{f}_{Q,L}^\perp$ , skaliert mit dem Faktor  $r_{CL}/r_{CC}$ , addiert werden. Wir „übertragen“ also die um den Faktor  $r_{CH}/r_{CC}$  skalierte Kraft  $\mathbf{f}_{Q,L}^\perp$ , die von CPMD für das Link-Atom berechnet wurde, auf das MM-Atom  $m$ .

Analog läßt sich zeigen, daß für die Kraft  $\mathbf{f}_q$  auf das Atom  $q$

$$\mathbf{f}_q = \nabla_q E_{M,\text{CLAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) + \nabla_q E_Q^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_Q) + \left(1 - \frac{r_{CH}}{r_{CC}}\right) \mathbf{f}_{Q,L}^\perp \quad (4.18)$$

gilt. Dabei ist die Ableitung von  $\nabla_q E_Q^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_Q)$  als direkte Ableitung von  $E_Q^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_Q)$  nach  $\mathbf{r}_q$  aufzufassen, wie sie von dem Programm CPMD durchgeführt wird, während die über  $\mathbf{r}_L(\mathbf{r}_q, \mathbf{r}_m)$  vermittelte indirekte Abhängigkeit der Energie  $E_Q^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_Q)$  von  $\mathbf{r}_q$  in dem folgenden Kraftbeitrag  $(1 - r_{CH}/r_{CC}) \mathbf{f}_{Q,L}^\perp$  zusammengefaßt ist.

Wir sehen also, daß ein Teil der von CPMD berechneten Kraft  $\mathbf{f}_{Q,L}^\perp$  auf das Link-Atom zur Kraft auf das Atom  $m$  und der verbleibende Anteil zur Kraft auf das Atom  $q$  addiert werden muß. Wie durch das hochgestellte Symbol  $\perp$  verdeutlicht wird, treten bei den jeweils letzten Termen in Gleichungen (4.17) und (4.18) nur senkrecht zur  $q$ - $m$ -Achse wirkende Kräfte auf. Der Leser sollte sich an dieser Stelle vergegenwärtigen, daß die parallel zur  $q$ - $m$ -Achse zwischen den Fragmenten wirkende, kovalente C-C-Bindungskraft im CLAEP-Verfahren rein molekülmechanisch durch den in  $E_{M,\text{CLAEP}}^{\text{WW}}(\mathbf{R})$  enthaltenen Term  $E_{\text{stretch}}(q, m)$  modelliert wird [siehe Gleichung (4.10)].

Wie in Anschluß an Gleichung (4.8) dargelegt wurde, hat das CLAEP-Verfahren vor allem den Vorteil, daß die im LAEP-Verfahren vollständig falsche Behandlung der Winkelterme nun weitgehend, einschließlich anharmonischer Korrekturen, durch eine quantenmechanische Beschreibung ersetzt wird.

Wir werden diese Idee im nächsten Abschnitt bei dem dort vorgestellten SPLAM-Verfahren weiter ausbauen und auch die Streckungskraft der kovalenten C–C-Bindung näherungsweise quantenmechanisch erfassen. Wir trennen uns damit endgültig von der Idee des LEAP-Verfahrens, wonach das Link-Atom  $L$  eine möglichst passive Rolle im QM-Fragment spielen soll. Statt dessen ist bei SPLAM der Leitgedanke wie folgt: Wenn die C–C-Bindung von Äthan aus ihrem Gleichgewichtsabstand ausgelenkt wird, dann soll in geeigneter Weise auch die C–L-Bindung des QM-Fragments ausgelenkt werden, um die bessere QM-Beschreibung dieser Bindung nutzen zu können.

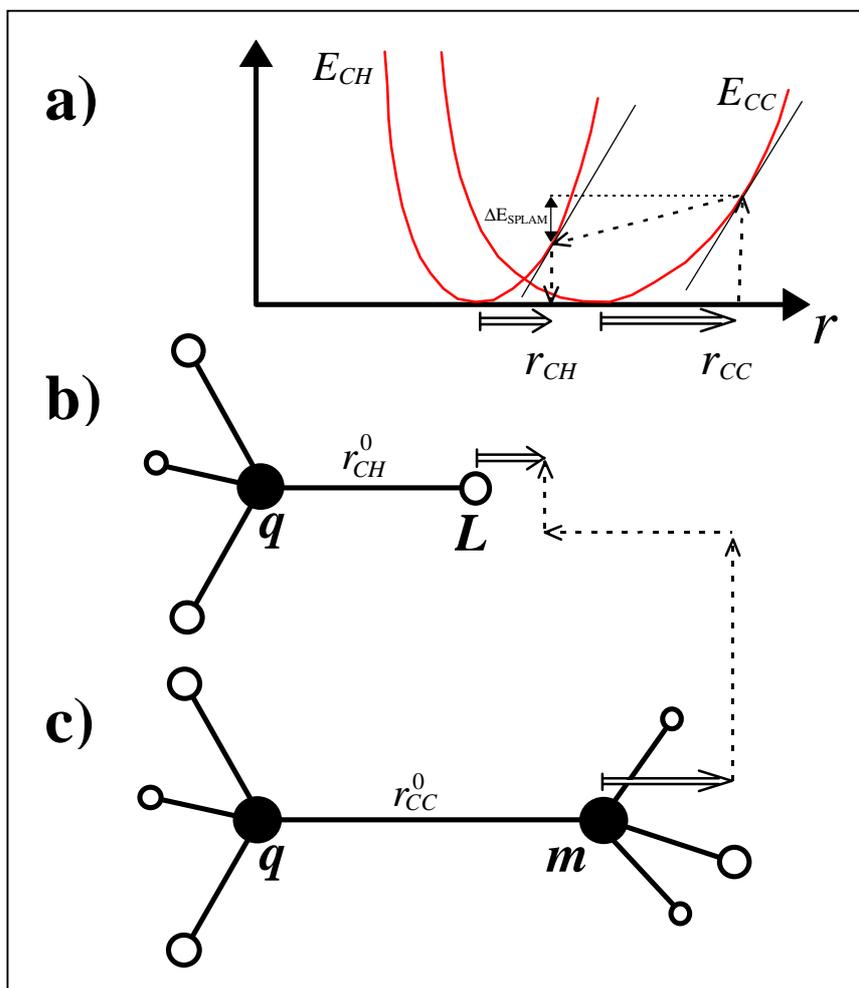


Abbildung 11: Graphische Darstellung der SPLAM-Methode am Beispiel Äthan; eine Auslenkung der C–C-Bindung (langer Doppelpfeil) soll nach dem Kraftkriterium in eine geeignete Auslenkung der C–L-Bindung (kurzer Doppelpfeil) umgesetzt werden; weitere Erläuterungen siehe Text.

### 4.2.2 Die skalierte Positionierung des Link-Atoms

In Abbildung 11 ist am Beispiel von Äthan graphisch eine mögliche Strategie dargestellt, um in der oben geforderten Weise die Mechanik der kovalenten C–C-Bindung zwischen den Fragmenthälften quantenmechanisch zu erfassen. In Abbildung 11 a ist mit durchgezogener Linie die Potentialkurve  $E_{CH}(r_{CH})$  des unter b gezeigten QM-Fragments Methan als Funktion der Auslenkung  $r_{CH}$  (kurzer Doppelpfeil) des Link-Atoms  $L$  aus der Gleichgewichtslage  $r_{CH}^0$  gezeigt. Des weiteren ist die Potentialkurve  $E_{CC}(r_{CC})$  des unter c gezeigten Moleküls Äthan als Funktion der Auslenkung  $r_{CC}$  (langer Doppelpfeil) der C–C-Bindung aus der Gleichgewichtslage  $r_{CC}^0$  dargestellt. Die Potentialkurven weisen an den jeweiligen Gleichgewichtsabständen  $r_{CC}^0$  und  $r_{CH}^0$  Minima auf. Nach dem bereits oben formulierten Leitgedanken soll die Auslenkung der C–C-Bindung in Äthan in eine geeignete Auslenkung des Link-Atoms  $L$  im QM-Fragment umgesetzt werden. Diese Umsetzung ist durch die punktierten Pfeile angedeutet, die an der Spitze des C–C-Auslenkungspfeils beginnen und an der Spitze des C–L-Auslenkungspfeils enden.

#### a.) Das Kraftkriterium

Ein mögliches Verfahren zur Positionierung des Link-Atoms auf der  $q$ - $m$ -Verbindungsline ist etwa durch die Bedingung

$$\nabla_L E_{CH}(r_{CH}) \stackrel{!}{=} \nabla_m E_{CC}(r_{CC}) \quad (4.19)$$

gegeben. Wie in Abbildung 11 a durch die parallelen Tangenten an den Potentialkurven verdeutlicht werden soll, wird durch (4.19) gefordert, daß die auf das C-Atom  $m$  wirkende Kraft bei einer gegebenen C–C-Auslenkung gleich der Kraft auf das Link-Atom  $L$  im QM-Fragment sein soll. Dieses Kriterium zur Positionierung des Link-Atoms soll als *Kraftkriterium* bezeichnet werden. Anders als bei der CLAEP-Methode verschwindet bei einem nach dem Kraftkriterium positionierten Link-Atom die parallel zur  $q$ - $m$ -Achse wirkende Kraft  $\mathbf{f}_{Q,L}^{\parallel}$  nicht. Vielmehr kann wegen Bedingung (4.19) die Kraft  $\mathbf{f}_{Q,L}^{\parallel}$ , die von CPMD berechnet wird, als die aufgrund der C–C-Bindung auf das C-Atom  $m$  wirkende Kraft interpretiert werden.

Da die Streckpotentiale  $E_{CC}(r_{CC})$  und  $E_{CH}(r_{CH})$  in praktischen Fällen nicht exakt bekannt sind, greifen wir zur Umsetzung des Kraftkriteriums (4.19) auf harmonisch genäherte Potentiale zurück, wir nehmen also

$$E_{CH}(r_{CH}) = k_{CH}(r_{CH} - r_{CH}^0)^2 \quad \text{und} \quad E_{CC}(r_{CC}) = k_{CC}(r_{CC} - r_{CC}^0)^2 \quad (4.20)$$

an. Schätzungen für die Kraftkonstanten und Gleichgewichtsabstände sind entweder aus der Parametrisierung des CHARMM-Kraftfeldes bekannt oder lassen sich leicht aus quantenmechanischen Rechnungen kleiner Modellmoleküle gewinnen. In harmonischer Näherung ergibt sich damit für die Positionierung des Link-Atoms nach dem Kraftkriterium (4.19) die Formel

$$r_{CH} - r_{CH}^0 = \frac{k_{CC}}{k_{CH}}(r_{CC} - r_{CC}^0) . \quad (4.21)$$

Wie man anhand dieser Formel und Abbildung 11 a sieht, wird eine C–C-Auslenkung aus dem Gleichgewichtsabstand in eine um den Faktor  $k_{CC} / k_{CH}$  skalierte C–L-Auslenkung des Link-Atoms umgesetzt. Aus diesem Grund haben wir für dieses Verfahren die Bezeichnung *scaled position link atom method* (SPLAM) gewählt. Mit der vom CLAEF-Verfahren übernommenen Forderung  $\mathbf{r}_L$  solle immer auf der  $q$ – $m$ -Verbindungsline liegen, ist damit bei SPLAM die Position  $\mathbf{r}_L$  des Link-Atoms vollständig durch die Orte  $\mathbf{r}_q$  und  $\mathbf{r}_m$  bestimmt. Das MM-Programm EGO kann daher dem QM-Programm CPMD ein entsprechend um das Link-Atom erweitertes QM-Fragment übergeben. CPMD kann anschließend die Energie  $E_Q^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_Q)$  sowie die Kräfte auf alle Atome dieses Fragments berechnen.

Es stellt sich an dieser Stelle die Frage, ob wir durch dieses Verfahren auch anharmonische Korrekturen zum C–C-Streckpotential erhalten können, die im LAEP-Verfahren fehlen, da dort die C–C-Bindung durch ein harmonisches Potential beschrieben wird. Diese Frage stellt sich insbesondere deswegen, weil wir bei der SPLAM-Positionierung (4.21) des Link-Atoms auf harmonisch genäherte Streckpotentiale für die C–H- und C–C-Bindung zurückgreifen. Bevor wir diese Frage untersuchen werden, fahren wir jedoch mit der Darstellung des SPLAM-Verfahrens fort und vervollständigen die mathematische Darstellung.

### b.) Die SPLAM-Energiefunktion

Wie ebenfalls in Abbildung 11 a eingezeichnet ist, muß bei der Berechnung der Gesamtenergie eines SPLAM-Hybridmodells zunächst berücksichtigt werden, daß die Energie einer gestreckten C–C-Bindung in harmonischer Näherung bei einem Abstand  $r_{CC}$  um den Betrag

$$\Delta E_{\text{SPLAM}}(r_{CC}) = \left(1 - \frac{k_{CC}}{k_{CH}}\right) k_{CC} (r_{CC} - r_{CC}^0)^2 \quad (4.22)$$

größer ist als die Energie einer C–H-Bindung bei dem skalierten Abstand  $r_{CH}$ . Im SPLAM-Hybridmodell ist die Energie der gestreckten oder gestauchten C–H-Bindung im Energiebeitrag  $E_Q^{\text{Methan}}(\mathbf{R}_Q)$  enthalten, die von dem Programm CPMD berechnet wird. Daher muß nun nicht mehr, wie im CLAEF-Verfahren, das harmonische C–C-Streckpotential  $E_{\text{stretch}}(q, m)$  vollständig dem Wechselwirkungsterm zugeschlagen werden, sondern muß dort durch den reduzierten Energiebeitrag  $\Delta E_{\text{SPLAM}}(r_{CC})$  ersetzt werden. Mit der Definition des Energiebeitrages

$$E_{M,\text{stereo}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) = E_{M,\text{CLAEF}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) - E_{\text{stretch}}(q, m), \quad (4.23)$$

der alle Winkel-, Torsions- und van der Waals Terme aus Gleichung (4.11) umfaßt, ist die Wechselwirkungsenergie des SPLAM-Modells durch

$$E_{M,SPLAM}^{WW}(\mathbf{R}) = E_{M,sterео}^{WW}(\mathbf{R}) + \Delta E_{SPLAM}(r_{CC}) \quad (4.24)$$

gegeben. Die Gesamtenergie des SPLAM-Hybridmodells von Äthan ergibt sich damit zu

$$E_{SPLAM}^{Ethan}(\mathbf{R}) = E_Q^{Methan}(\mathbf{R}_Q) + E_{M,SPLAM}^{WW}(\mathbf{R}) + E_M^{MF}(\mathbf{R}_M) . \quad (4.25)$$

### c.) Berechnung der Kräfte

Mit Ausnahme der Kräfte auf die Atome  $q$  und  $m$  ist die Vorgehensweise bei der Kraftberechnung in der SPLAM-Methode identisch zu jener bei der CLAEP-Methode. Auch bei dem SPLAM-Verfahren können wir wie im CLAEP-Verfahren die Kraft  $\mathbf{f}_{Q,m}$ , die auf das MM-Atom  $m$  aufgrund der C–C-Bindung wirkt, durch die auf das Link-Atom wirkende Kraft  $\mathbf{f}_{Q,L} = \mathbf{f}_{Q,L}^{\parallel} + \mathbf{f}_{Q,L}^{\perp}$  ausdrücken. Diese wird von CPMD berechnet. Analog zu Gleichung (4.16) läßt sich die senkrecht zur  $q$ – $m$ -Verbindungsachse wirkende Komponente  $\mathbf{f}_{Q,m}^{\perp}$  von  $\mathbf{f}_{Q,m}$  durch die um den Faktor  $r_{CH}/r_{CC}$  skalierte Kraft  $\mathbf{f}_{Q,L}^{\perp}$  ausdrücken.

Die parallel zur  $q$ – $m$ -Verbindungsachse auf das MM-Atom  $m$  wirkende Kraft  $\mathbf{f}_{Q,m}^{\parallel}$  müssen wir jetzt aber nicht mehr wie im CLAEP-Verfahren durch ein harmonisches Streckpotential  $E_{stretch}(q,m)$  modellieren, sondern wir können hierzu, aufgrund der Platzierung des Link-Atoms nach dem Kraftkriterium (4.19), die parallel zur  $q$ – $m$ -Verbindungsachse auf das Link-Atom wirkende Kraft  $\mathbf{f}_{Q,L}^{\parallel}$  heranziehen. Insgesamt ist damit im SPLAM-Verfahren die Kraft auf das MM-Atom  $m$  durch

$$\mathbf{f}_m = \nabla_m E_{M,sterео}^{WW}(\mathbf{R}) + \nabla_m E_M^{MF}(\mathbf{R}_M) + \frac{r_{CH}}{r_{CC}} \mathbf{f}_{Q,L}^{\perp} + \mathbf{f}_{Q,L}^{\parallel} \quad (4.26)$$

gegeben. Analog läßt sich zeigen, daß die Kraft auf das Atom  $q$  durch

$$\mathbf{f}_q = \nabla_q E_{M,sterео}^{WW}(\mathbf{R}) + \nabla_q E_Q^{Methan}(\mathbf{R}_Q) + \left(1 - \frac{r_{CH}}{r_{CC}}\right) \mathbf{f}_{Q,L}^{\perp} \quad (4.27)$$

gegeben ist. Man beachte, daß im Unterschied zu Gleichungen (4.17) und (4.18) bei den letzten beiden Gleichungen nicht die direkten Ableitungen  $\nabla_m E_{M,SPLAM}^{WW}(\mathbf{R})$  und  $\nabla_q E_{M,SPLAM}^{WW}(\mathbf{R})$  auftreten, sondern die entsprechenden Ableitungen von  $E_{M,sterео}^{WW}(\mathbf{R})$ , da bei der SPLAM-Kraftberechnung die von der kovalenten C–C-Bindung erzeugten Dehnungskräfte nicht über das in  $E_{M,SPLAM}^{WW}(\mathbf{R})$  enthaltene molekülmechanische Streckpotential  $\Delta E_{SPLAM}(r_{CC})$  modelliert, sondern mittels der Auslenkung des Link-Atoms nach Gleichung (4.21) quantenmechanisch berechnet werden.

Wie im CLAEP-Verfahren wird bei SPLAM die von CPMD gelieferte Link-Atom-Kraft teils auf das Atom  $m$  und teils auf das Atom  $q$  übertragen. Diese Form der Modellierung kovalent gebundener Fragmente unterscheidet sich also grundlegend von dem bisher vielfach verwendeten LAEP-Verfahren. An dieser Stelle wollen wir nun die oben aufgeworfene Frage prüfen, ob

durch das SPLAM-Verfahren anharmonische Korrekturen des C–C-Streckpotentials erfaßt werden.

#### d.) Testrechnung zum Kraftkriterium

In Abbildung 12 ist zu diesem Zweck der Verlauf der potentiellen Energie und der Absolutbetrag der auf die C–Atome wirkenden Kraft in Abhängigkeit vom C–C-Abstand  $r_{CC}$  dargestellt. Der Abstand  $r_{CC}$  wurde dabei symmetrisch um den Gleichgewichtsabstand  $r_{CC}^0 = 1.54 \text{ \AA}$  in einem Bereich von  $1.40 \text{ \AA}$  bis  $1.70 \text{ \AA}$  variiert. Die Wasserstoffatome  $q_i$  und  $m_i$  der  $\text{CH}_3$ -Gruppen wurden für jeden Abstand  $r_{CC}$  auf ihre Gleichgewichtspositionen geführt. Das Ergebnis des CLAEP-Verfahrens ist mit punktierter Linie, jenes von SPLAM mit gestrichelter Linie dargestellt. Als Referenz ist außerdem mit durchgezogener Linie das Resultat für ein quantenmechanisch behandeltes Äthanmolekül gezeigt. Für die DFT-Behandlung des ungeteilten Äthans bzw. für das QM-Fragment Methan wurden das Austausch-Korrelations-Funktional BLYP [126,127] und das Pseudopotential von Martins und Troullier [131] mit  $E_{\text{cut}} = 70 \text{ Ry}$  gewählt. Als C–C-Bindungskraftkonstante in Äthan hat sich hierbei der Wert  $k_{CC} = 250 \text{ kcal/mol \AA}$  ergeben, während sich als C–H-Bindungskraftkonstante im QM-Fragment Methan der Wert  $k_{CH} = 362 \text{ kcal/mol \AA}$  ergeben hat. Damit folgt nach Gleichung (4.21) für den Skalierungsfaktor zur Berechnung der C–L-Auslenkung aus der C–C-Auslenkung der Wert 0.69.

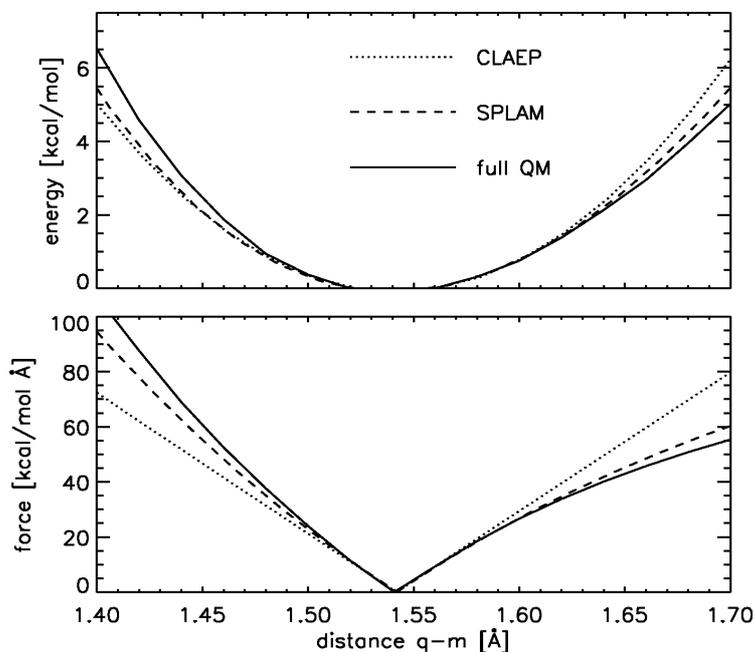


Abbildung 12: Testrechnung zur SPLAM-Methode für die C–C-Bindung in Äthan; dargestellt ist die potentielle Energie und der Absolutbetrag der wirkenden Kraft bei Auslenkung der C–C-Bindung aus dem Gleichgewichtsabstand.

Wir erkennen in Abbildung 12, daß die C–C-Kraftdehnungskurve des quantenmechanisch behandelten Äthans anharmonisch ist und nur nahe des Gleichgewichtsabstandes gut durch das CLAEP-Verfahren approximiert wird, welches eine harmonische Näherung des C–C-Streckpotentials darstellt. Das SPLAM-Verfahren hingegen reproduziert die Anharmonizität der C–C-Kraftdehnungskurve größtenteils richtig und ist daher dem CLAEP-Verfahren deutlich überlegen. Auch die potentielle Energie wird im SPLAM-Verfahren besser als im CLAEP-Verfahren wiedergegeben. Über das geschickt plazierte Link-Atom im QM-Fragment werden also im SPLAM-Verfahren anharmonische Effekte des C–C-Streckpotentials erfaßt. In Abschnitt 6.2.1 werden wir die Qualität von SPLAM anhand eines berechneten Schwingungsspektrums von Äthan noch genauer analysieren.

#### d.) Das Energiekriterium

Eine alternatives Verfahren zur Positionierung des Link-Atoms, das aber in dieser Arbeit nicht weiterverfolgt wurde, ist durch die Bedingung

$$E_{CH}(r_{CH}) \stackrel{!}{=} E_{CC}(r_{CC}) \quad (4.28)$$

gegeben, die analog zum Kraftkriterium als *Energiekriterium* bezeichnet werden soll. Nach dem Energiekriterium ergibt sich für die skalierte Positionierung des Link-Atoms in harmonischer Näherung für die Streckpotentiale  $E_{CC}(r_{CC})$  und  $E_{CH}(r_{CH})$  die Formel

$$r_{CH} - r_{CH}^0 = \sqrt{\frac{k_{CC}}{k_{CH}}}(r_{CC} - r_{CC}^0) . \quad (4.29)$$

Bei dem Energiekriterium ist zwar kein Energiekorrekturterm wie in Gleichung (4.22) für die C–C-Bindung nötig, es muß aber, wie sich zeigen läßt, die vom QM-Programm berechnete Kraft  $\mathbf{f}_{Q,L}^{\parallel}$  skaliert um den Faktor  $\sqrt{k_{CC} / k_{CH}}$  auf das Atom  $m$  übertragen werden. Entsprechend muß zur Kraft auf das Atom  $q$  noch der Ausdruck  $(1 - \sqrt{k_{CC} / k_{CH}})\mathbf{f}_{Q,L}^{\parallel}$  addiert werden.

#### 4.2.3 Die „Eliminierung“ des Link-Atoms

In den beiden vorangegangenen Abschnitten wurden anhand des Äthans die Details unseres SPLAM-Verfahrens erläutert. Wir haben dabei anhand von Gleichung (4.1) gesehen, daß im Äthan vornehmlich *bonded*-Wechselwirkungen von Bedeutung sind. Wir wollen nun jedoch zeigen, daß bei größeren QM/MM-Hybridssystemen im Zusammenhang mit dem künstlich eingeführten Link-Atom noch einige weitere Aspekte beachtet werden müssen. Wie sich erweisen wird, treten unerwünschte *non-bonded*-Wechselwirkungen des Link-Atoms mit dem restlichen System auf, die nun identifiziert und so weit wie möglich eliminiert werden sollen. Durch die Eliminierung der unerwünschten *non-bonded*-Wechselwirkungen des Link-Atoms soll sichergestellt werden, daß das SPLAM-Verfahren nicht nur für Äthan sondern allgemeiner zur Be-

schreibung von unpolaren C–C-Bindungen in Proteinen eingesetzt werden kann. Für die *bonded*-Wechselwirkungen sind die anhand von Äthan gewonnenen Resultate vollständig übertragbar und werden daher unverändert übernommen. Da wir versuchen werden, neben der bereits gelungenen Beseitigung der Freiheitsgrade des Link-Atoms auch noch alle übrigen störenden Effekte des Link-Atoms so gut wie möglich zu entfernen und nicht das Link-Atom selbst, ist das Wort *Eliminierung* in der Überschrift dieses Abschnitts in Anführungszeichen gesetzt.

### a.) Beseitigung des Link-Atom-Dipols

Eine erste wesentliche Störung eines QM/MM-Hybridsystems durch das Link-Atom rührt daher, daß die homonukleare, *unpolare* C–C-Bindung durch eine heteronukleare, *polare* C–H-Bindung ersetzt wird. Diesen damit verknüpften Dipol bezeichnen wir als den *Link-Atom-Dipol*. Das von der polaren C–H-Bindung erzeugte elektrostatische Dipolfeld wirkt sich sowohl auf das QM- als auch auf das MM-Fragment aus. Betrachten wir zunächst die Wirkung auf das MM-Fragment.

Im Rahmen der Approximation des vom QM-Fragment erzeugten elektrostatischen Potentials  $\tilde{\Phi}_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q)$  [siehe Gleichung (3.12)] durch Partiaalladungen an den QM-Atomorten zeigt sich der oben angesprochene Link-Atom-Dipol anhand der ungleichen Partiaalladungen  $c_q$  und  $c_L$  des QM-Atoms  $q$  und des Link-Atoms  $L$ . Wir können die Wirkung dieses Link-Atom-Dipols auf das MM-Fragment entfernen, indem wir bei der Partiaalladungsnäherung von  $\tilde{\Phi}_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q)$  modifizierte Partiaalladungen  $c'_q$  und  $c'_L$  für die Atome  $q$  und  $L$  verwenden, und zwar die Partiaalladungen  $c'_q = c_q + c_L$  sowie  $c'_L = 0$ . Wir verschieben also die Partiaalladung  $c_L$  des Link-Atoms zum QM-Atom  $q$ . Dadurch bleibt die Gesamtladung des QM-Fragments erhalten, und  $\tilde{\Phi}_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q)$  weist an der Fragmentschnittstelle kein Link-Atom-Dipolfeld mehr auf.

Die Auswirkung des unerwünschten Link-Atom-Dipols auf das QM-Fragment ist durch die obige Strategie allerdings noch nicht eliminiert, da hier das Dipolfeld der Link-Atom-Bindung implizit in der quantenmechanischen Behandlung des QM-Fragments enthalten ist. Für ein Pseudo-Hybridmodell könnte der Effekt des Link-Atom-Dipols auf die Atome des QM-Fragments exakt durch den Korrekturterm

$$\Delta E_{Q,\text{dip}}(\mathbf{R}_Q) = - \sum_{s \in Q} \varepsilon(s, L) c_s c_L \left( \frac{1}{|\mathbf{r}_s - \mathbf{r}_L|} - \frac{1}{|\mathbf{r}_s - \mathbf{r}_q|} \right) \quad (4.30)$$

eliminiert werden. Für ein quantenmechanisch behandeltes QM-Fragment stellt  $\Delta E_{Q,\text{dip}}$  jedoch eine Näherung dar, so daß der Effekt des Link-Atom-Dipols nicht vollständig beseitigt, sondern nur verkleinert werden kann.

Des weiteren enthält die QM-Fragmentenergie  $E_Q(\mathbf{R}_Q)$  noch die unerwünschte Wechselwirkung des im QM-Fragment behandelten Link-Atom-Dipols mit dem vom MM-Fragment erzeugten Potential  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$ . In der Pseudo-Hybridmodell-Näherung läßt sich die damit verknüpfte Energie durch den Korrekturterm

$$\Delta E_{M,dip}(\mathbf{R}) = -c_L [\Phi_M(\mathbf{r}_L; \mathbf{R}_M) - \Phi_M(\mathbf{r}_q; \mathbf{R}_M)] \quad (4.31)$$

kompensieren. Bei der Berechnung von  $\Phi_M$  an den Orten  $\mathbf{r}_L$  und  $\mathbf{r}_q$  muß dabei die in Abschnitt 2.3.2 eingeführte Schaltfunktion  $\varepsilon(i, j)$  beachtet werden, durch die in MM-Kraftfeldern die Klassifizierung in *bonded*- und *non-bonded*-Wechselwirkungen abgebildet wird. Da im SPLAM-Verfahren die an der Fragmentschnittstelle wirkenden stereochemischen Kräfte in den *bonded*-Energiebeiträgen von  $E_{M,sterео}^{WW}(\mathbf{R})$  enthalten sind, muß man zur konsistenten Berechnung von  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$  beachten, daß in einem SPLAM-Pseudo-Hybridmodell  $\varepsilon(m, q_i) = 0$ ,  $\varepsilon(m_i, q) = 0$  und  $\varepsilon(m_i, q_i) = 0.4$  sowie  $\varepsilon(m, L) = 0$  und  $\varepsilon(m_i, L) = 0$  gewählt werden müssen. Nur dadurch sind an der Fragmentschnittstelle alle *non-bonded*-Wechselwirkungen zwischen denjenigen QM- und MM-Atomen ausgeschlossen, deren stereochemischen Wechselwirkungen bereits in den in  $E_{M,sterео}^{WW}(\mathbf{R})$  enthaltenen Energiebeiträgen abgedeckt sind.

In einem echten Hybridmodell, bei dem das QM-Fragment quantenmechanisch behandelt wird, bereitet es bei der Berechnung der van der Waals Wechselwirkungen zwischen kovalent gebundenen Fragmenten keine Schwierigkeiten genau die oben aufgeführte Schaltfunktion  $\varepsilon(i, j)$  zu verwenden, da die van der Waals Wechselwirkungen zwischen MM-Atomen und QM-Atomen rein molekülmechanisch behandelt werden (vergleiche Abschnitt 3.1). Ebenso können wir diese Schaltfunktion bei der Berechnung der elektrostatischen Wirkung des QM-Fragments auf das MM-Fragment verwenden, da wir dort die in Abschnitt 3.2.2 vorgestellte Partiaalladungsnäherung  $\tilde{\Phi}_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q)$  einsetzen und deswegen, wie in einem MM-Kraftfeld, lediglich Coulombwechselwirkungen zwischen den Partiaalladungen der beteiligten Atome zu behandeln haben.

Bei der Berechnung der elektrostatischen Wirkung des MM-Fragments auf das QM-Fragment müssen wir das vom MM-Fragment erzeugte Potential  $\Phi_M$  nicht nur an den Kernorten berechnen, sondern quasi stetig in der gesamten QM-Box an den Gitterpunkten  $\gamma$ . Dies ist deswegen nötig, da  $\Phi_M$  nicht nur an die Kernladung, sondern auch an die ausgedehnte Elektrodichte des QM-Fragments koppelt. Um also in einem echten QM/MM-Hybridmodell die Klassifizierung in *bonded*- und *non-bonded*-Wechselwirkungen konsistent zu realisieren, müssen wir – wie bereits in Gleichung (3.5) vorgesehen – das elektrostatische Potential, das von den Partiaalladungen der kovalent an das QM-Fragment gebundenen MM-Atome  $m$  und  $m_i$  ausgeht, durch eine stetige Schaltfunktion  $\tilde{\varepsilon}(r)$  im Raumbereich der Fragmentschnittstelle ausschalten, wobei  $r$  je nach dem durch  $|\mathbf{r}_\gamma - \mathbf{r}_m|$  bzw. durch  $|\mathbf{r}_\gamma - \mathbf{r}_{m_i}|$  gegeben ist. In von mir durchgeführten Testsimulationen hat sich hierbei

$$\tilde{\varepsilon}(r) = \begin{cases} 0 & \text{für } r \leq d \\ 1 - \left[1 - \left(\frac{r-d}{w}\right)^2\right]^2 & \text{für } d < r < d+w \\ 1 & \text{für } r \geq d+w \end{cases} \quad (4.32)$$

mit den Parametern  $d = 0.5 \text{ \AA}$  und  $w = 2.5 \text{ \AA}$  bewährt. Für Abstände  $r \leq d$  können durch (4.32) die Partiaalladungen von kovalent an das QM-Fragment gebundenen MM-Atomen keinen Beitrag zum Potential  $\Phi_M(\mathbf{r}_\gamma; \mathbf{R}_M)$  in der QM-Box liefern. Für größere Abstände wächst der Potentialbeitrag stetig und differenzierbar auf einer Länge  $w$  dann bis zur vollen Stärke an. Die Funktion  $\tilde{\varepsilon}(r)$  stellt also eine stetig vom Abstand  $r$  abhängige Analogie zur Schaltfunktion  $\varepsilon(i, j)$  dar.

### b.) Die van der Waals Korrektur

Eine weitere geringfügige Korrektur läßt sich für die implizit in der QM-Fragmentenergie  $E_Q(\mathbf{R}_Q)$  enthaltenen van der Waals Wechselwirkungen des Link-Atoms mit den QM-Atomen angeben. Einen näherungsweisen Korrekturterm

$$\Delta E_{Q,\text{vdw}}(\mathbf{R}_Q) = - \sum_{s \in Q} E_{\text{vdw}}(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_L) \quad (4.33)$$

hierfür kann man wiederum aus einem entsprechenden Pseudo-Hybridmodell ableiten. Man beachte, daß schon im LAEP-Verfahren keine van der Waals Wechselwirkungen des Link-Atoms mit MM-Atomen angenommen wurden (siehe Abschnitt 4.1) und deswegen kein diesbezüglicher Korrekturterm eingeführt werden muß.

Die Link-Atom-Dipol-Korrekturen und die van der Waals Korrektur fassen wir in dem Ausdruck

$$\Delta E_{\text{Cor}}(\mathbf{R}) = \Delta E_{Q,\text{dip}}(\mathbf{R}_Q) + \Delta E_{M,\text{dip}}(\mathbf{R}) + \Delta E_{Q,\text{vdw}}(\mathbf{R}_Q) \quad (4.34)$$

zusammen. Die damit verknüpften Korrekturkräfte werden vom MM-Programm EGO berechnet und zu den übrigen Kräften addiert. Da im Verlauf der hier dargestellten Entwicklung des SPLAM-Verfahrens viele Details erläutert wurden, soll im nächsten Abschnitt eine kurze Zusammenfassung der Berechnungsstrategie gegeben werden.

## 4.3 Zusammenfassung des SPLAM-Verfahrens

Als erster Schritt wird im SPLAM-Verfahren ein Link-Atom an der Fragmentschnittstelle eingeführt und nach dem Kraftkriterium (4.21) auf der  $q$ - $m$ -Verbindungsline platziert. Damit erhält man ein abgesättigtes QM-Fragment. In dessen Volumen wird vermittle des QM/FAMUSAMM-Algorithmus unter Berücksichtigung der Schaltfunktion  $\tilde{\varepsilon}(r)$  das vom MM-Fragment erzeugte elektrostatische Potential  $\Phi_M(\mathbf{r}_\gamma; \mathbf{R}_M)$  berechnet. Das DFT-Programm CPMD er-

mittelt daraufhin für das QM-Fragment die Energie  $E_Q(\mathbf{R}_Q)$  und für jedes QM-Atom  $s$  (das Link-Atom eingeschlossen) die Hellmann-Feynman-Kraft  $\tilde{\mathbf{f}}_{Q,s} = \nabla_s E_Q(\mathbf{R}_Q)$  sowie die Partialladung  $c_s$  nach dem Verfahren von Singh und Kollman [135].

Nun müssen die in Abschnitt 4.2.3 besprochenen Korrekturen des Link-Atom-Dipols im QM-Fragment durchgeführt werden. Aus dem molekülmechanisch motivierten Korrekturterm  $\Delta E_{\text{Cor}}(\mathbf{R})$  aus Gleichung (4.34) erhalten wir für jedes QM-Atom eine Korrekturkraft  $\Delta \mathbf{f}_s$ , die wir zu der von CPMD gelieferten Hellmann-Feynman-Kraft  $\tilde{\mathbf{f}}_{Q,s}$  addieren und erhalten damit die korrigierte Kraft  $\mathbf{f}_{Q,s} = \tilde{\mathbf{f}}_{Q,s} + \Delta \mathbf{f}_s$ . Außer für die QM-Atome  $q$  und  $L$  ergibt sich die Gesamtkraft  $\mathbf{f}_s$  auf ein QM-Atom durch Gleichung (4.14), wobei wir anstatt  $\nabla_s E_Q(\mathbf{R}_Q)$  die korrigierte Kraft  $\mathbf{f}_{Q,s}$  einsetzen müssen.

Zur Berechnung der auf das QM-Atom  $q$  wirkenden Kraft  $\mathbf{f}_q$  und der auf das MM-Atom  $m$  wirkenden Kraft  $\mathbf{f}_m$  muß die korrigierte Kraft  $\mathbf{f}_{Q,L} = \tilde{\mathbf{f}}_{Q,L} + \Delta \mathbf{f}_L$  des Link-Atoms in die parallel zur  $q$ - $m$ -Achse wirkende Komponente  $\mathbf{f}_{Q,L}^{\parallel}$  und in die senkrecht hierzu wirkende Komponente  $\mathbf{f}_{Q,L}^{\perp}$  zerlegt werden. Diese Komponenten tragen dann nach Gleichungen (4.26) und (4.27) zur Kraft  $\mathbf{f}_q$  und  $\mathbf{f}_m$  bei.

Die Kraft auf alle übrigen MM-Atome  $l$  ist durch

$$\mathbf{f}_l = \nabla_l E_{M,\text{stereo}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) + \nabla_l E_M^{\text{MF}}(\mathbf{R}_M) + c_l \nabla_{\mathbf{r}} \tilde{\Phi}_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q) \Big|_{\mathbf{r}_l} \quad (4.35)$$

gegeben, wobei der letzte Term die bisher in der Diskussion vernachlässigte elektrostatische Wirkung des QM-Fragments auf das MM-Fragment berücksichtigt. Bei dem durch die Partialladungsnäherung (3.12) gegebenen Potential  $\tilde{\Phi}_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q)$  müssen dabei für das QM-Atom  $q$  und das Link-Atom  $L$  die korrigierten Partiaalladungen  $c'_q = c_q + c_L$  und  $c'_L = 0$  verwendet werden.

Weil durch Verwendung der QM/FAMUSAMM-Methode und der Partialladungsnäherung (3.12) algorithmische Rauschkräfte auftreten, müssen die in Abschnitt 3.3 erläuterten dynamischen Korrekturen auf die wie oben berechneten Kräfte angewendet werden. Dadurch wird gewährleistet, daß sowohl der lineare Impuls als auch der Drehimpuls in einem QM/MM-Hybridssystem erhalten bleiben.

Die Gesamtenergie eines SPLAM-Hybridmodells ist inklusive aller Korrekturen aus Abschnitt 4.2.3 durch

$$E_{\text{SPLAM}}(\mathbf{R}) = E_Q(\mathbf{R}_Q) + E_{M,\text{stereo}}^{\text{WW}}(\mathbf{R}) + E_M^{\text{MF}}(\mathbf{R}_M) + \Delta E_{\text{Cor}}(\mathbf{R}) \quad (4.36)$$

gegeben.

Aus der Diskussion der C–C-Bindung von Äthan dürfte hervorgehen, daß auch andere Arten von  $\sigma$ -Bindungen zwischen kovalent gebundenen Fragmenten mit dem SPLAM-Verfahren behandelt werden können, wobei analoge Überlegungen anzustellen sind. Damit ist die Beschreibung des SPLAM-Verfahrens abgeschlossen.

# Kapitel 5

## Die Kopplung von EGO und CPMD

In den beiden vorangegangenen Kapiteln wurden alle Details der in dieser Arbeit entwickelten QM/MM-Hybridmethode vorgestellt. Nun soll erklärt werden, wie sich die erläuterten Konzepte zur Kopplung des MM-Programms EGO\_VIII [93] mit dem DFT-Programm CPMD [43] technisch umsetzen lassen. Auch wenn wir in diesem Kapitel die spezielle EGO/CPMD-Implementierung diskutieren, ist die programmtechnische Problemstellung, die im nächsten Abschnitt aufgezeigt wird, auch bei vielen anderen QM/MM-Hybridprogrammpaketen gegeben, so daß die hier vorgestellte Lösungsstrategie von allgemeinem Interesse sein sollte.

### 5.1 Die Problemstellung

Die für eine QM/MM-Hybridsimulation verfügbare Rechenleistung ist einer der wichtigsten Faktoren, der über die Durchführbarkeit eines Projekts entscheidet. Aus der Sicht eines Anwenders steht deshalb an erster Stelle der Wunsch, das EGO/CPMD-Programmpaket auf einer möglichst breiten Palette von Computer-Plattformen einsetzen zu können. Wie bereits in der Einleitung erwähnt wurde, sind sowohl EGO als auch CPMD auf Arbeitsplatzrechnern, Vektorrechnern und auch auf Parallelrechnern lauffähig. Bei der Kopplung der beiden Programme sollte diese hohe Portierbarkeit erhalten bleiben.

Hinsichtlich der Programmentwicklung und der Programmpflege sind noch weitere Aspekte von Bedeutung. Es gilt nämlich zu beachten, daß der Quellcode von CPMD in der Programmiersprache FORTRAN [140] geschrieben ist, wohingegen das Programm EGO\_VIII in der Programmiersprache C [141] vorliegt. Außerdem stellt sich das Problem, daß die beiden Programme in unterschiedlichen Arbeitsgruppen entwickelt wurden und weiter gepflegt werden. Das bedeutet, daß die Schnittstelle zwischen den beiden Programmen so gestaltet werden muß, daß eine getrennte Weiterentwicklung von CPMD und EGO in den jeweiligen Arbeitsgruppen ohne Probleme möglich ist.

Aufgrund der Tatsache, daß CPMD und EGO in unterschiedlichen Programmiersprachen vorliegen, ist ein einfaches Verschmelzen des Quellcodes beider Programme nicht möglich. Die

meisten Computerplattformen erlauben jedoch auf der Stufe des kompilierten Quellcodes<sup>7</sup>, dem sogenannten Objektcode, Programmteile zu verbinden, die in unterschiedlichen Programmiersprachen vorliegen. Diese Strategie könnte im Prinzip auch für die Kopplung von EGO und CPMD eingesetzt werden. Dennoch wurde diese Möglichkeit nicht verfolgt, da sie mit zwei Nachteilen behaftet ist: Zum einen verlieren bei dieser Strategie die beiden Programme ihre Eigenständigkeit, wodurch die Pflfegbarkeit der einzelnen Programme in den verschiedenen Arbeitsgruppen behindert werden würde. Zum anderen erfordert diese Vorgehensweise spezielles Wissen über die C- und FORTRAN-Compiler auf der jeweiligen Computerplattform, das weniger erfahrenen Anwendern und zukünftigen Entwicklern die Benutzung des EGO/CPMD-Programmpakets erschweren würde.

## 5.2 Die Implementierung

Im folgenden stellen wir deshalb eine Strategie vor, bei der sowohl CPMD als auch EGO als getrennt pflegbare, kompilierbare und lauffähige Programme erhalten bleiben. Jedes der beiden Programme kann dabei über zur Laufzeit einstellbare Parameter in den sogenannten Interface-Modus geschaltet werden, der die geforderte Kopplung zwischen CPMD und EGO herstellt. Der im Flußdiagramm in Abbildung 13 dargestellte Datenaustausch zwischen den Programmen und die konzertierte Abfolge der einzelnen Berechnungsschritte wird dabei über *Dateien* geregelt. In der Abbildung 13 ist hierbei auf der linken Seite der Programmablauf von EGO und auf der rechten Seite der Programmablauf von CPMD dargestellt. Der Datenaustausch zwischen den Programmen (grau unterlegte Kästchen) wird dabei durch die Doppelpfeile verdeutlicht.

Aus der Diskussion der QM/MM-Hybridmethode in den vorangegangenen Kapiteln läßt sich ableiten, daß EGO über alle Simulationsdaten (z.B. Position und Geschwindigkeit der Atome, Atomtypen, Partiaalladungen, MM-Kraftfeldparameter, usw.) eines gegebenen molekularen Systems verfügen muß. Wie im Flußdiagramm links oben dargestellt ist, beginnt deshalb eine QM/MM-Hybridsimulation mit dem Start von EGO, wobei alle Simulationsdaten eingelesen werden, die üblicherweise in der EGO-Kontrolldatei *ctl.lis* angegeben sind [93]. In dieser Kontrolldatei wird auch das QM/MM-Hybridmodell spezifiziert, z.B. die gewählte Aufteilung in QM- und MM-Fragment und die Parameter für die Behandlung eventuell vorhandener Link-Atome nach der SPLAM-Methode.

---

<sup>7</sup> Als „Kompilieren“ bezeichnet man das Übersetzen des Programmquellcodes (FORTRAN oder C) in für den jeweiligen Computer ausführbaren Maschinencode, der auch als Objektcode bezeichnet wird.

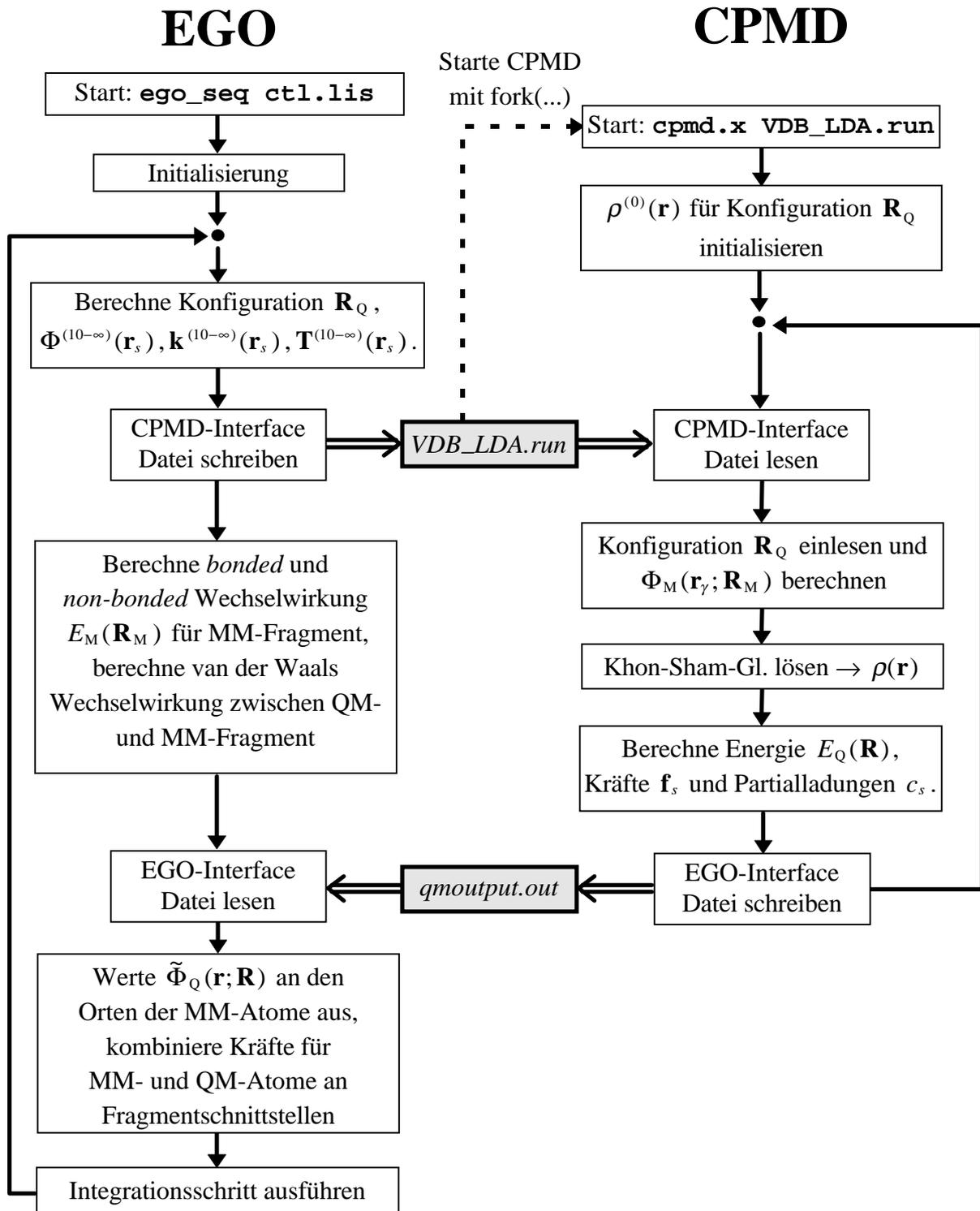


Abbildung 13: Flußdiagramm im Interface-Modus von EGO und CPMD; der Datenaustausch zwischen den Programmen findet über Dateien statt (Doppelpfeile); weitere Erläuterungen siehe Text.

Dem DFT-Programm CPMD müssen die Positionen und Atomtypen<sup>8</sup> der im QM-Fragment enthaltenen Atome und das von dem MM-Fragment erzeugte elektrostatische Potential  $\Phi_M(\mathbf{r}; \mathbf{R}_M)$  übermittelt werden. EGO übernimmt hierbei die führende Rolle, indem es diese Daten vorbereitet und in der sogenannten CPMD-Interfacedatei ablegt. Diese CPMD-Interfacedatei, die in Abbildung 13 exemplarisch mit *VDB\_LDA.run* bezeichnet ist, wird von CPMD eingelesen. Das Format der CPMD-Interfacedatei ist dabei mit dem Dateiformat identisch, das in herkömmlichen CPMD-Rechnungen eingesetzt wird und im CPMD-Manual dokumentiert ist [43]. Ein spezielles Schlüsselwort in der CPMD-Interfacedatei veranlaßt CPMD dazu, in den EGO/CPMD-Interfacemodus zu schalten, der die Kopplung mit dem Programm EGO herstellt.

In der CPMD-Interfacedatei müssen eine Reihe von Parametern angegeben werden, welche die DFT-Behandlung des QM-Fragments spezifizieren (z.B. das zu verwendende Pseudopotential,  $E_{\text{cut}}$  für die Ebene-Wellen-Entwicklung, die Ausmaße der QM-Box). Da im Zuge der Weiterentwicklung von CPMD das Dateiformat Veränderungen unterworfen sein wird, konstruiert EGO die CPMD-Interfacedatei aus einer Vorlagedatei, die ohne Programmieraufwand geändert werden kann. In dieser Vorlagedatei liegen die DFT-Parameter im aktuell geforderten Format vor und werden von EGO ohne Weiterverarbeitung in die CPMD-Interfacedatei übernommen.

Zudem wird in der CPMD-Interfacedatei in jedem Integrationsschritt die aktuelle Konfiguration  $\mathbf{R}_Q$  der QM-Atome abgelegt. Dieser Schritt beinhaltet für QM/MM-Hybridssysteme mit kovalent aneinander gebundenen Fragmenten, daß für jede Fragmentschnittstelle ein Link-Atom nach der SPLAM-Methode eingefügt wird. Da EGO sowohl über die Atompositionen des MM-Fragments als auch über die Atompositionen des QM-Fragments verfügt, kann die nach Gleichung (4.21) in Abschnitt 4.2 zu bestimmende Position für jedes Link-Atom berechnet werden. CPMD selbst benötigt keine weitere Information über das eingesetzte Link-Atom-Verfahren.

In der ersten, von EGO durchgeführten Phase werden für alle QM-Atome  $s$  am Ort  $\mathbf{r}_s$  die lokalen Entwicklungskoeffizienten  $\Phi^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_s)$ ,  $\mathbf{k}^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_s)$ ,  $\mathbf{T}^{(10-\infty)}(\mathbf{r}_s)$  nach Gleichung (3.6)-(3.9) berechnet und in der CPMD-Interfacedatei gespeichert. Des weiteren listet EGO in der CPMD-Interfacedatei für jedes QM-Atom die Position und die Partiaalladung derjenigen MM-Atome auf, die in der Abstandsklasse  $\mathbf{M}^{(5)}$  enthalten sind. In typischen QM/MM-Hybrid-systemen sind in dieser Liste etwa 100-200 MM-Atome enthalten. Durch den Einsatz der

---

<sup>8</sup> An dieser Stelle bezeichnet der Begriff „Atomtyp“ die Kernladungszahl des Atoms und verweist nicht – wie bei molekülmechanischen Kraftfeldern – auf die chemische Struktur der kovalent gebundenen Nachbaratome (vergleiche Abschnitt 2.3.2).

QM/FAMUSAMM-Methode müssen also nicht alle Positionen und Partialladungen der MM-Atome an CPMD explizit übergeben werden. Die Menge der auszutauschenden Daten bleibt damit selbst bei sehr großen MM-Fragmenten mit mehreren 10 000 Atomen beschränkt. An dieser Stelle merken wir an, daß der Zeitaufwand zum Erzeugen der CPMD-Interfacdatei durch EGO und das Einlesen dieser Datei in CPMD gegenüber dem Gesamtrechenaufwand bei QM/MM-Hybridsimulationen verschwindend klein ist.

Mit den DFT-Parametern, der Kernkonfiguration und dem externen Potential  $\Phi_M$  sind nun alle Daten in der CPMD-Interfacdatei abgelegt, die für die Berechnung des QM-Fragments nötig sind. Wie in Abbildung 13 durch die punktierte Linie angedeutet ist, erfolgt der anschließende Start von CPMD durch EGO automatisch mit Hilfe eines sogenannten *fork*-Kommandos [141]. Damit wechseln wir bei der Beschreibung des Flußdiagramms auf die rechte Seite und verfolgen nun den Programmablauf von CPMD.

In der Initialisierungsphase von CPMD werden alle spezifizierten DFT-Parameter verarbeitet, und es wird die Konfiguration  $\mathbf{R}_Q$  des QM-Fragments eingelesen. Außerdem wird für die präsentierte Konfiguration eine hinreichend plausible Elektronendichte  $\rho^{(0)}(\mathbf{r})$  als erste Schätzung zur Lösung der Kohn-Sham-Gleichungen generiert.

Daran anschließend wird nach Gleichung (3.4) das vom MM-Fragment erzeugte elektrostatische Potential  $\Phi_M(\mathbf{r}_\gamma; \mathbf{R}_M)$  auf den Gitterpunkten  $\gamma$  in der QM-Box ermittelt. Dabei muß die Coulombsumme (3.5) aller Partialladungen der Abstandsklasse  $\mathbf{M}^{(5)}$  berechnet werden. Zu diesem Potential wird der Beitrag aller weiter entfernten Ladungen addiert, der nach Gleichung (3.10) über die lokale Taylorentwicklung approximiert wird, die am nächst gelegenen Atom  $s(\gamma)$  plziert ist. Unter Berücksichtigung von  $\Phi_M(\mathbf{r}_\gamma; \mathbf{R}_M)$  wird im Anschluß daran in einem wie in Abschnitt 2.2 beschriebenen Prozeß die selbstkonsistente Lösung der Kohn-Sham-Gleichungen ermittelt.

Dem aufmerksamen Leser sollte nun aufgefallen sein, daß wegen der Coulombsumme (3.5) der hauptsächliche Aufwand zur Berechnung von  $\Phi_M(\mathbf{r}_\gamma; \mathbf{R}_M)$  auf der Seite von CPMD anfällt. Da bei typischen QM/MM-Hybridsystemen der Rechenaufwand von CPMD für die Behandlung des QM-Fragments ohnehin viel größer ist als der Rechenaufwand von EGO für die Behandlung des MM-Fragments, wird man CPMD auf einem möglichst leistungsstarken Parallel- oder Vektorcomputer ablaufen lassen. Für EGO ist statt dessen eine viel geringere Rechenleistung ausreichend, so daß EGO sequentiell auf einem einfachen Arbeitsplatzrechner ablaufen kann. Dem Programm CPMD steht also in der Regel eine hohe Rechenleistung sowohl für die Berechnung der aufwendigen Coulombsumme (3.5) als auch für die Lösung der Kohn-Sham-Gleichungen zur Verfügung.

Sobald die selbstkonsistente Lösung der Kohn-Sham-Gleichung ermittelt worden ist, liegen die auf die QM-Atome wirkenden Kräfte  $\mathbf{f}_s = \nabla_s E_Q(\mathbf{R}_Q)$  und die potentielle Energie  $E_Q(\mathbf{R}_Q)$  des QM-Fragments fest. Außerdem werden nun nach dem Verfahren von Singh und Kollman [135] die Partialladungen  $c_s$  berechnet, durch die das vom QM-Fragment erzeugte elektrostatische Potential  $\Phi_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q)$  nach Gleichung (3.12) genähert wird. Die Energie  $E_Q(\mathbf{R}_Q)$ , die Kräfte  $\mathbf{f}_s$  und Partialladungen  $c_s$  werden von CPMD in der sogenannten EGO-Interface-datei abgelegt, die im Flußdiagramm mit *qmoutput.out* bezeichnet ist.

Parallel zur Lösung der Kohn-Sham-Gleichungen durch CPMD wertet EGO die molekülmechanische Energiefunktion  $E_M(\mathbf{R}_M)$  für das MM-Fragment aus. In dem in Kapitel 4 diskutierten Beispiel Äthan war  $E_M(\mathbf{R}_M)$  durch Gleichung (4.4) gegeben. Außerdem werden an dieser Stelle bereits alle van der Waals Wechselwirkungen zwischen QM- und MM-Fragment berechnet. Im Anschluß daran liest EGO die in der EGO-Interfacedatei von CPMD abgelegten Daten ein.

Bei Systemen mit kovalent gebundenen Fragmenten werden in EGO nun die in Abschnitt 4.2.3 diskutierten Korrekturen des Link-Atom-Dipols durchgeführt. Nun kann nach Gleichung (3.12) das vom QM-Fragment in der Partialladungsnäherung erzeugte Potential  $\tilde{\Phi}_Q(\mathbf{r}; \mathbf{R}_Q)$  an den Orten der MM-Atome ausgewertet werden. Dadurch ist die elektrostatische Wirkung des QM-Fragments auf das MM-Fragment berücksichtigt. Wie in Abschnitt 4.3 erläutert wurde, lassen sich nun die Kräfte auf die Atome in dem QM/MM-Hybridssystem berechnen. Um die Auswirkung algorithmischer Rauschkkräfte zu eliminieren, wird jetzt das in Abschnitt 3.3 vorgestellte Verfahren angewendet.

Damit liegen für alle Atome im System die Kräfte fest, so daß im Rahmen einer MD-Simulation ein Integrationsschritt nach dem Verlet-Algorithmus (2.20) ausgeführt werden kann. Für die sich daraus ergebende neue Konfiguration  $\mathbf{R}$  wiederholt sich der beschriebene Programmablauf mit der Erzeugung einer neuen CPMD-Interfacedatei.

In diesem Kapitel sind nun die wichtigsten Details der Kopplung zwischen EGO und CPMD vorgestellt worden. Der Datenaustausch zwischen den Programmen über Dateien konnte bisher ohne Probleme auf allen Computerplattformen realisiert werden. So ist das EGO/CPMD-Programmpaket auf allen zur Zeit gängigen Supercomputern lauffähig (z.B. Cray-T3E, IBM-SP2, Fujitsu-VPP700). Das Ziel der hohen Portierbarkeit ist damit erreicht worden. Weitere Informationen zu programmtechnischen Feinheiten und zur Handhabung des EGO/CPMD-Programmpakets finden sich in [142]. Im nächsten Kapitel werden nun Testrechnungen vorgestellt, durch die die Qualität unserer QM/MM-Hybridmethode abgeschätzt werden kann.

# Kapitel 6

## Testrechnungen

Das folgende Kapitel dient der Überprüfung unserer QM/MM-Hybridmethode anhand von Testrechnungen. Dabei greifen wir vor allem auf Schwingungsspektren als Observablen zurück, da diese sehr empfindlich von der Qualität molekularer Kraftfelder abhängen. Wir beginnen mit Tests unserer Beschreibung der *non-bonded*-Wechselwirkungen.

### 6.1 Untersuchung der *non-bonded*-Wechselwirkung

Der in Abbildung 3 gezeigte Wassercluster stellt ein geeignetes System zur Untersuchung der *non-bonded*-Wechselwirkungen in QM/MM-Hybridmodellen dar. Das QM-Fragment ist hier durch ein einzelnes Wassermolekül inmitten einer Menge molekülmechanisch behandelter Wassermoleküle gegeben. Die Eigenschaften einer polaren Flüssigkeit wie Wasser werden maßgeblich durch die elektrostatischen Wechselwirkungen der Wasserdipole und durch die van der Waals Wechselwirkungen bestimmt (siehe z.B. [143]). Zur Beurteilung der Qualität unserer QM/MM-Hybridmethode werden wir Daten aus Experimenten und Computersimulationen den Ergebnissen unserer Testrechnungen gegenüberstellen. Insbesondere stellen wir Vergleiche mit anderen QM/MM-Hybridrechnungen [118,121] und mit *ab-initio* DFT-Simulationen [47] von Wasserclustern an.

#### 6.1.1 Das in Wasser gelöste Wassermolekül

Als molekülmechanisches Testsystem wurde eine Wasserkugel aus 534 TIP3P-Wassermolekülen [54] gewählt. Die Wasserkugel wurde von einem weichen, kugelförmigen Randpotential mit Radius 15 Å eingeschlossen [93,144], welches das Abdampfen der Wassermoleküle aus dem Wassercluster verhindert. In jedem TIP3P-Wassermolekül wurde die O–H-Bindungslänge mittels des sogenannten SHAKE-Algorithmus eingefroren [145]. Dadurch sind die schnellsten Freiheitsgrade, die O–H-Streckschwingungen, eliminiert, so daß bei MD-Simulationen eine Integrationsschrittweite von 1.0 fs verwendet werden kann. Im Gegensatz zum TIP3P-Modell von Jorgensen *et al.* [54] (siehe Anfang von Kapitel 3) haben wir aber keine völlig starren Wassermoleküle angenommen, sondern haben den H–O–H-Bindungswinkel als flexibel mit einer Kraftkonstante von 55 kcal/mol deg<sup>2</sup> gewählt. Um bei der MD-Simulation der Wasserkugel ein langsames Aufheizen durch die Rauschkkräfte des FAMUSAMM-Algorithmus zu verhindern, wurde das System schwach an ein externes Wärmebad mit einer Temperatur von

300 K gekoppelt. Hierfür wurde das Geschwindigkeitsreskalierungsverfahren von Berendsen *et al.* [138] mit einer Relaxationszeit von  $\tau = 0.1$  ps verwendet.

Die Wasserkugel wurde in einer MD-Simulation unter Verwendung des FAMUSAMM-Algorithmus mit einer Integrationsschrittweite von 1.0 fs über einen Zeitraum von 200 ps equilibriert. In der resultierenden Struktur wurde ein Wassermolekül aus dem Zentrum der Kugel für die anschließende QM/MM-Hybridsimulation als QM-Fragment ausgewählt. Die O–H-Streckschwingungsfreiheitsgrade des QM-Wassermoleküls wurden keiner Zwangsbedingung durch den SHAKE-Algorithmus unterworfen. Für die DFT-Behandlung des QM-Fragments wurde das Pseudopotential von Vanderbilt [132] mit einem ebenen Wellen-Cutoff von  $E_{\text{cut}} = 30$  Ry und die LDA-Näherung verwendet. Hinsichtlich der Rechenzeit gewähren diese Parameter eine kostengünstige quantenmechanische Beschreibung des Wassermoleküls. Das QM/MM-Hybrid-system wurde mit einer Integrationsschrittweite von 0.25 fs für weitere 8 ps bei einer Temperatur von 300 K equilibriert. Daran anschließend wurde eine 30 ps MD-Simulation durchgeführt, während der nach jeder Femtosekunde die Struktur und das Dipolmoment des QM-Wassermoleküls zur späteren Auswertung abgespeichert wurde. Die Zeitspanne von 30 ps ist etwa um den Faktor 5 länger als bei anderen vergleichbaren Studien [121].

### a.) Das mittlere induzierte Dipolmoment

Mit CPMD erhält man in der LDA-Näherung für das Dipolmoment eines isolierten Wassermoleküls den Wert 1.92 Debye (D). Dieser Wert kommt dem experimentell beobachteten Dipolmoment eines Wassermoleküls in Gasphase sehr nahe. In Stark-Effekt-Messungen wurde der Wert 1.85 D ermittelt [146]. Wie in [147] gezeigt wurde, liefern DFT-Rechnungen bei Verwendung des gradientenkorrigierten Austausch-Korrelations-Funktional nach Becke [128] und Perdew [125] (BP) ein Dipolmoment von 1.86 D in nahezu perfekter Übereinstimmung mit der Beobachtung.

Aufgrund der starken Polarität und Polarisierbarkeit von Wassermolekülen ist das mittlere Dipolmoment eines in Wasser gelösten Wassermoleküls substantiell größer als sein Dipolmoment in der Gasphase. Für ein in Eis gebundenes Wassermolekül wurde ein mittleres Dipolmoment von 2.6 D abgeschätzt [148]. In sehr aufwendigen *ab-initio* CPMD-Rechnungen [147] eines Clusters aus 32 D<sub>2</sub>O Molekülen wurde für flüssiges Wasser unter Verwendung des Austausch-Korrelations-Funktional BP [128,125] ein ähnlicher Wert gefunden, nämlich 2.66 D. Der CPMD-Simulation zufolge erhöht sich das mittlere Dipolmoment eines in Wasser gelösten Wassermoleküls also um 0.8 D.

Das induzierte Dipolmoment des in TIP3P-Wasser gelösten QM-Wassermoleküls gibt Aufschluß über die Stärke und die Fluktuationen des elektrostatischen Feldes, das von der Lösungsumgebung erzeugt wird. Aus diesem Grund haben wir das Dipolmoment des QM-

Wassermoleküls anhand der 30 ps Trajektorie unserer QM/MM-Hybridsimulation statistisch ausgewertet. Die sich ergebende Verteilung des Dipolmoments ist in Abbildung 14 dokumentiert. Die Abbildung zeigt, daß das Dipolmoment des QM-Fragments entlang der  $C_2$ -Achse (x-Achse) von  $H_2O$  um den Mittelwert von 2.77 D mit einer Standardabweichung von 0.18 D schwankt. Wie aus der Symmetrie eines  $H_2O$ -Moleküls folgt, verschwindet das mittlere Dipolmoment für Achsen (y- und z-Achse) senkrecht zur  $C_2$ -Achse. Die Standardabweichung des Dipolmoments für die y- und z-Achse fällt mit etwa 0.15 D etwas kleiner als für die  $C_2$ -Achse aus.

Gegenüber einem Wassermolekül *in vacuo*, für das sich bei der verwendeten DFT-Beschreibung ein Dipolmoment von 1.92 D ergeben hat, erhöht sich in der Hybridsimulation das mittlere Dipolmoment des gelösten QM-Wassermoleküls um 0.85 D. Dieser Wert stimmt also gut mit dem Ergebnis (0.8 D) der oben zitierten *ab-initio* CPMD-Simulation überein [147]. Die Größe des induzierten Dipolmoments von 0.85 D zeigt an, daß die auf das QM-Fragment wirkenden elektrostatischen Felder in unserer Hybridsimulation um etwa 6 % größer ausfallen als in der *ab-initio* CPMD-Simulation. Vergleichbare Hybridsimulationen anderer Arbeitsgruppen [118,121] ergaben dagegen sehr viel kleinere induzierte Dipolmomente in einem Bereich von 0.38 D bis 0.66 D.

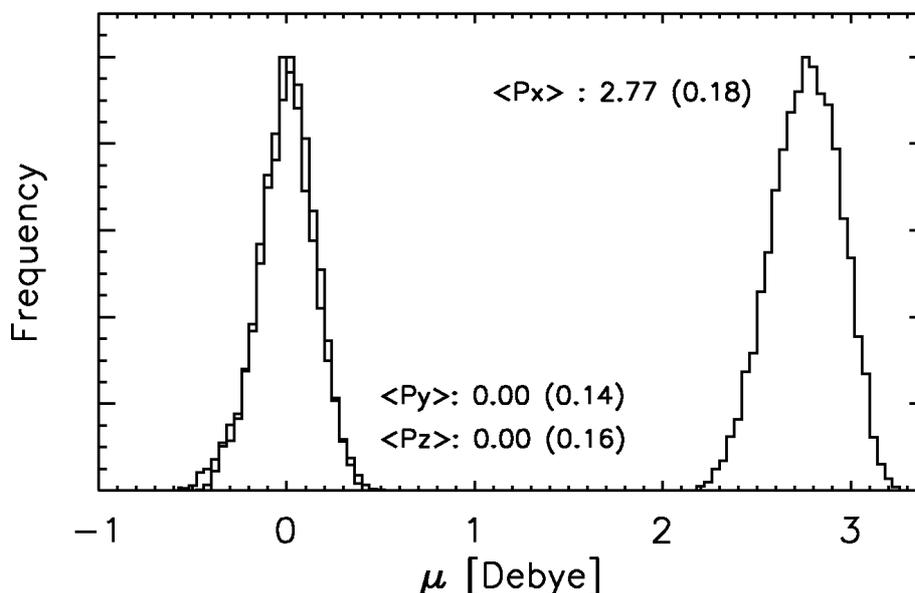


Abbildung 14: Verteilung der Komponenten des Dipolmoments eines QM-Wassermoleküls gelöst in TIP3P-Wasser; die x-Achse wird von der  $C_2$ -Symmetrieachse des Wassermoleküls gebildet; die y-Achse steht senkrecht auf der x-Achse und liegt in der Molekülebene; die z-Achse steht senkrecht auf der x- und der y-Achse; für jede Komponente ( $P_x$ ,  $P_y$ ,  $P_z$ ) ist jeweils der Mittelwert und in Klammern die Standardabweichung vom Mittelwert angegeben.

### b.) Algorithmisches Rauschen

In Abschnitt 3.2.1 wurde das Problem des algorithmischen Rauschens im Zusammenhang mit der näherungsweise Berechnung des elektrostatischen Potentials durch den QM/FAMUSAMM-Algorithmus erläutert. Es wurde gefordert, daß das algorithmische Rauschen so klein sein soll, daß physikalische Observablen nicht verfälscht werden, und ein zeitlich glatter Verlauf der Observablen sichergestellt ist. Da das induzierte Dipolmoment des QM-Fragments proportional zu dem durch QM/FAMUSAMM berechneten elektrostatischen Feld ist, kann anhand dieses induzierten Dipolmoments das Ausmaß des algorithmischen Rauschens abgeschätzt werden.

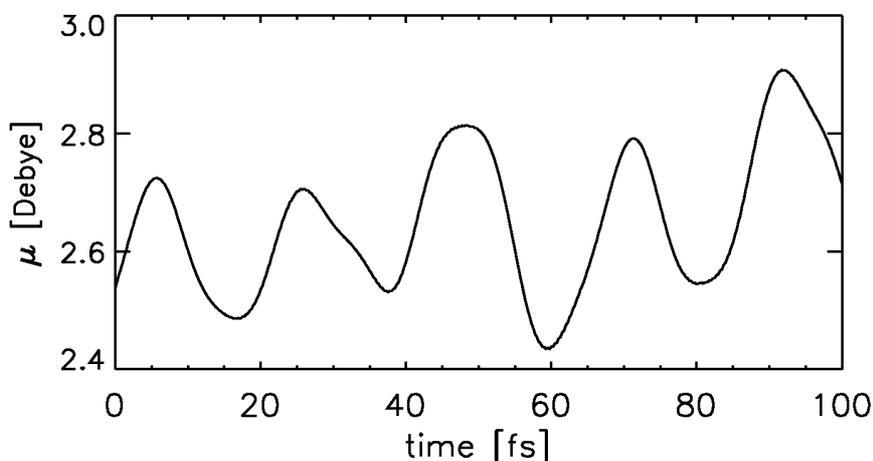


Abbildung 15: Zeitlicher Verlauf des Absolutbetrages des Dipolmoments für das QM-Wassermolekül, das in einem Wassercluster aus TIP3P-Wassermolekülen gelöst ist; das vom MM-Fragment erzeugte elektrostatische Potential im Volumen des QM-Wassermoleküls wurde mit der QM/FAMUSAMM-Methode berechnet.

Abbildung 15 zeigt den Verlauf des Dipolmoments des QM-Fragments für einen 100 fs Ausschnitt unserer Hybridsimulation. In dieser hohen zeitlichen Auflösung erkennen wir, daß der Absolutbetrag des Dipolmoments auf einer Zeitskala von 20 fs starke Fluktuationen um bis zu 0.5 D aufweist. Diese Fluktuationen sind durch die thermische Bewegungen der umgebenden MM-Wassermoleküle verursacht. Der glatte Verlauf der Kurve zeigt außerdem, daß Fluktuationen aufgrund der näherungsweise Berechnung des elektrostatischen Potentials durch den QM/FAMUSAMM-Algorithmus um einige Größenordnungen kleiner sind als die sichtbaren physikalischen Fluktuationen aufgrund der thermischen Bewegungen der Moleküle.

### c.) Geometrie

Das induzierte Dipolmoment des QM-Wassermoleküls hängt von der Parametrisierung der TIP3P-Wassermoleküle im MM-Fragment ab. Ein isoliertes TIP3P-Wassermolekül besitzt ein Dipolmoment von 2.35 D (vergleiche Anfang von Kapitel 3). Dieser Wert liegt näher am Dipolmoment eines in Wasser gelösten Moleküls als an dem eines isolierten Wassermoleküls. Da wir in unserem TIP3P-Modell für die QM/MM-Hybridsimulation einen flexiblen H–O–H-Winkel gewählt haben, weist unser modifiziertes Wassermolekülmodell eine geringfügige Polarisierbarkeit auf. Testsimulationen haben gezeigt, daß sich der mittlere H–O–H-Winkel der TIP3P-Wassermoleküle in Lösung um etwa  $4^\circ$  verringert. Durch die damit verbundene Streckung des H<sub>2</sub>O-Moleküls erhöht sich das mittlere Dipolmoment um etwa 4 % auf 2.44 D.

In Übereinstimmung mit diesem Befund haben Neutronenstreuexperimente einen Einfluß der Lösungsumgebung auf die mittlere Geometrie von Wassermolekülen nachgewiesen [149]. Dabei wurde eine Abnahme des H–O–H-Winkels um  $1.7^\circ$  und eine Streckung der O–H-Bindungslänge um  $0.009 \text{ \AA}$  festgestellt. Dadurch wird ein gelöstes Wassermolekül effektiv um etwa 3 % gegenüber einem isolierten Wassermolekül gestreckt.

Unserer Hybridsimulation zufolge verringert sich der H–O–H-Winkel des QM-Wassermoleküls um  $1.09^\circ$ , wohingegen sich der O–H-Abstand um etwa  $0.010 \text{ \AA}$  vergrößert. Diese Werte sind damit in guter Übereinstimmung mit der experimentellen Beobachtung. Ähnliche Effekte konnten bisher auch schon in anderen Wasser-Hybridsimulationen beobachtet werden [121]. Es muß jedoch angemerkt werden, daß auch widersprüchliche experimentelle Meßdaten hinsichtlich der Geometrieänderung für D<sub>2</sub>O-Wasser vorliegen [150]. Für eine Diskussion zu diesem Thema sei auf die Arbeit von Alhambra *et al.* [121] verwiesen.

### d.) Schwingungsspektrum

Zur genaueren Analyse des Kraftfeldes wurde auch das Schwingungsspektrum eines H<sub>2</sub>O-Moleküls in der Gasphase und in Lösung herangezogen. Ein Wassermolekül besitzt drei Normalmoden, nämlich eine antisymmetrische (*a*) und eine symmetrische (*s*) Streckmode der O–H-Bindungen sowie eine Biegeschwingung (*b*) des H–O–H-Winkels. In der Gasphase werden die zugehörigen Frequenzen bei (*a*)  $3756$ , (*s*)  $3652$  und (*b*)  $1595 \text{ cm}^{-1}$  beobachtet [151]. In Lösung werden die beiden Streckmoden um  $250 \text{ cm}^{-1}$  rotverschoben, die Winkelmode wird hingegen um  $75 \text{ cm}^{-1}$  blauverschoben [152,153]. Außerdem erfahren die Streckmoden in Lösung aufgrund der starken Wasserstoffbrückenbindungen eine starke Linienverbreiterung auf einen Wert von etwa  $250 \text{ cm}^{-1}$  [152].

Für ein QM-Wassermolekül *in vacuo*, das sich in seiner Gleichgewichtsgeometrie  $\mathbf{R}_G$  befindet, wurde das Schwingungsspektrum in harmonischer Näherung berechnet. Die Frequenzen der

Eigenschwingungen berechnen sich aus den Wurzeln der Eigenwerte der massengewichteten, kartesischen Kraftkonstantenmatrix  $\mathbf{F}$  (siehe z.B. [139]). Die Komponenten von  $\mathbf{F}$  sind durch

$$F_{\alpha\beta} = \frac{1}{\sqrt{m_\alpha m_\beta}} \left. \frac{\partial^2 E_Q(\mathbf{R})}{\partial q_\alpha \partial q_\beta} \right|_{\mathbf{R}_G} \approx \frac{1}{\sqrt{m_\alpha m_\beta}} \left[ \frac{\partial E_Q(q_\beta = +\Delta)}{\partial q_\alpha} - \frac{\partial E_Q(q_\beta = -\Delta)}{\partial q_\alpha} \right] / 2\Delta \quad (6.1)$$

gegeben.  $q_\alpha$  bezeichnet dabei die Auslenkung eines Atoms aus der Gleichgewichtsgeometrie  $\mathbf{R}_G$  in eine kartesische Richtung. Da CPMD keine analytische zweite Ableitung der Energiepotentialfläche  $E_Q(\mathbf{R})$  ermitteln kann, muß  $\mathbf{F}$  numerisch durch Berechnung finiter Differenzen aus den Kräften  $\partial E_Q(q_\beta)/\partial q_\alpha$  genähert werden. Für alle in dieser Arbeit berechneten Schwingungsspektren wurden die Atome zu diesem Zweck um  $\Delta = 0.01 \text{ \AA}$  aus ihrer Gleichgewichtslage in jede kartesische Richtungen ausgelenkt.

Um auch anharmonische Effekte abschätzen zu können, wurde für ein QM-Wassermolekül *in vacuo* eine MD-Simulation bei 300 K über einen Zeitraum von 3.75 ps durchgeführt. Aus der Autokorrelationsfunktion der Trajektorie der drei Normalmoden wurde durch Fourier-Transformation das anharmonische Schwingungsspektrum berechnet (siehe z.B. [121]). Auf die gleiche Weise wurde auch das Schwingungsspektrum für das in Wasser gelöste QM-Wassermolekül aus unserer QM/MM-Hybridsimulation bestimmt.

Für das mit CPMD in der LDA-Näherung berechnete Schwingungsspektrum des isolierten Wassermoleküls ergaben sich in harmonischer Näherung die Frequenzen (*a*) 3752, (*s*) 3623 und (*b*) 1481  $\text{cm}^{-1}$ . Fast identische Werte von 3756, 3623 und 1482  $\text{cm}^{-1}$  wurden aus der Trajektorie berechnet. Daher können anharmonische Effekte bei 300 K für das Wassermolekül vernachlässigt werden. Ferner fällt auf, daß die experimentell beobachteten Frequenzen der O–H-Streckmoden in der LDA-Näherung gut wiedergegeben werden, während die H–O–H-Winkelmode bei einer um etwa 90  $\text{cm}^{-1}$  zu kleinen Frequenz vorhergesagt wird.

Wie in Abbildung 16 links dargestellt ist, ergaben sich in unserer Hybridsimulation für die O–H-Streckmoden des gelösten QM-Wassermoleküls Rotverschiebungen um (*a*) 123  $\text{cm}^{-1}$  sowie (*s*) 66  $\text{cm}^{-1}$ . Demgegenüber wurde die Frequenz der H–O–H-Winkelmode um 84  $\text{cm}^{-1}$  blauverschoben. Diese Frequenzverschiebungen stimmen allesamt gut mit den Ergebnissen von Hybridsimulationen von Alhambra *et al.* [121] überein. Der Vergleich mit dem in Abbildung 16 rechts dargestellten experimentell beobachteten Spektrum eines Wassermoleküls *in vacuo* und in Lösung zeigt, daß die in unserer Hybridsimulation vorhergesagte Blauverschiebung der Winkelmode die experimentelle Beobachtung gut reproduziert. Die berechneten Rotverschiebungen der O–H-Streckmoden fallen jedoch zu klein aus. Die Ursache hierfür ist wohl, daß in QM/MM-Hybridsimulationen für die an Wasserstoffbrückenbindungen beteiligten Wasserstoffkerne eine klassische und keine quantenmechanische Dynamik angenommen wird. Die

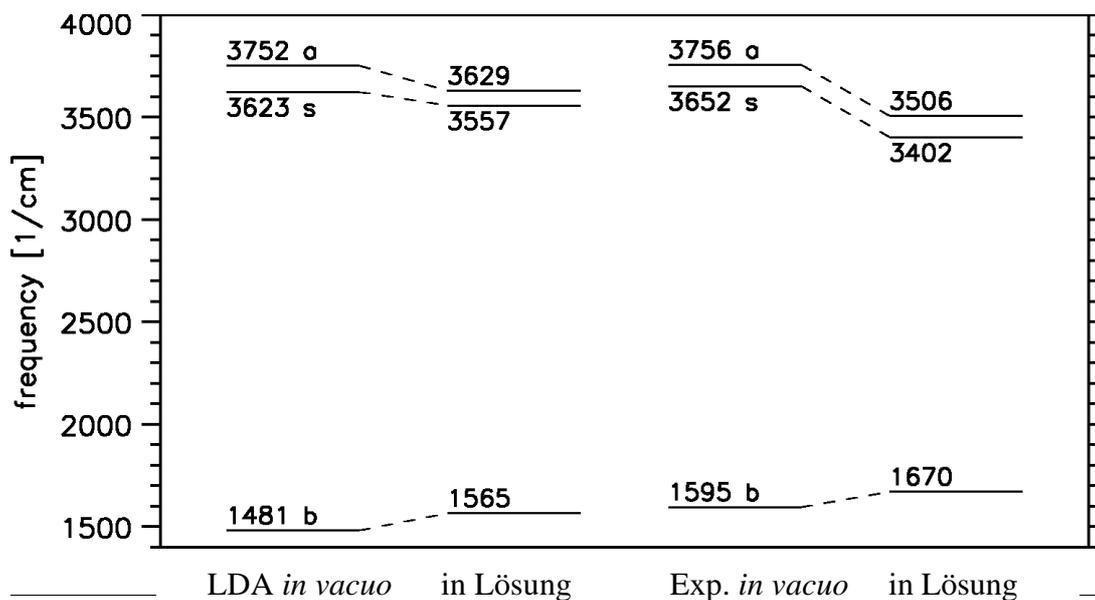


Abbildung 16: Berechneter (linke Spalten) und experimentell beobachteter (rechte Spalten) Einfluß auf die intramolekularen Schwingungsmoden eines Wassermoleküls *in vacuo* und in Lösung.

Bandenbreiten auf halber Höhe betragen nach unserer Hybridsimulation (a) 180, (s) 230 sowie (b)  $50 \text{ cm}^{-1}$ . Auch diese Werte reproduzieren die experimentell gefundenen Bandenbreiten.

In Anbetracht der bekannten Schwächen der LDA-Näherung hinsichtlich der Beschreibung von Wasserstoffbrückenbindungen (siehe hierzu Abschnitt 2.2.2) mag der Leser es nun erstaunlich finden, daß die LDA-Näherung in unserer Hybridrechnung für das QM-Fragment derart gute Ergebnisse liefert. Zur Erklärung werden wir im nächsten Abschnitt einen noch genaueren Blick auf die Beschreibung der *non-bonded*-Wechselwirkungen zwischen QM-Fragment und MM-Fragment werfen. Hierzu soll das Wasserdimer betrachtet werden, das den Prototypen eines stark über eine Wasserstoffbrücke gebundenen Systems darstellt.

### 6.1.2 Das Wasserdimer

Das Wasserdimer besteht aus zwei Wassermolekülen, die über eine Wasserstoffbrückenbindung aneinander gebunden sind. Die Gleichgewichtskonfiguration wird durch die in Abbildung 17 gezeigten Parameter charakterisiert. Die Struktur des Wasserdimers ist experimentell bekannt [154] und kann in DFT-Rechnungen mittels von gradientenkorrigierten Austausch-Korrelations-Funktionalen genau reproduziert werden [47,129].

In diesem Abschnitt wollen wir die Qualität unserer QM/MM-Hybridmethode für verschiedene Wasserdimer-Hybridmodelle untersuchen. Als Observablen ziehen wir dabei die Gleichgewichtsstruktur, die zugehörige Bindungsenergie  $E_b$  und das Schwingungsspektrum heran. Für

die Beschreibung des QM-Fragments verwenden wir zum einen die LDA-Näherung und zum anderen das BLYP-Funktional. Bei den LDA-Rechnungen wurde das Vanderbilt-Pseudopotential [132] mit  $E_{\text{cut}} = 30$  Ry eingesetzt, bei den BLYP-Rechnungen das Pseudopotential von Martins und Troullier [131] mit  $E_{\text{cut}} = 70$  Ry.

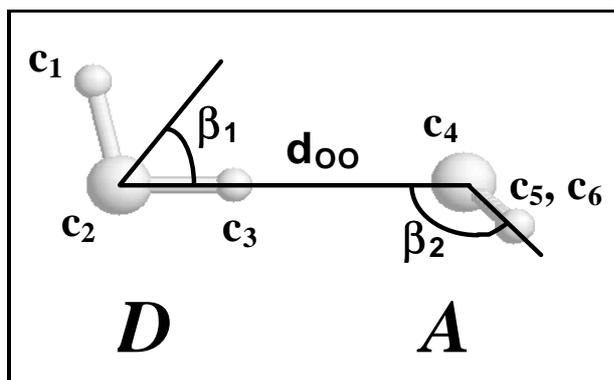


Abbildung 17: Gleichgewichtsstruktur des Wasserdimers; der O–O-Gleichgewichtsabstand  $d_{\text{OO}}$  sowie die beiden Winkel  $\beta_1$  und  $\beta_2$  legen die Gleichgewichtsstruktur fest; außerdem sind die Positionen der sechs Partialladungen  $c_i$  für die molekülmechanische Beschreibung eines Wasserdimers eingezeichnet; das linke Wassermolekül bezeichnen wir als Donor  $D$ , das rechte als Akzeptor  $A$ ; weitere Erläuterungen siehe Text.

### a.) Struktur und Bindungsenergie

Wie in Abbildung 17 zu sehen ist, weist das Wasserdimer eine gebrochene Symmetrie auf. Wir bezeichnen das linke  $\text{H}_2\text{O}$ -Molekül in Abbildung 17 als Wasserstoffdonor ( $D$ ) und das rechte als Wasserstoffakzeptor ( $A$ ). Wegen der gebrochenen Symmetrie können zwei verschiedene QM/MM-Hybridmodelle untersucht werden: Im ersten Hybridmodell kann der Wasserstoffdonor als QM-Fragment und der Wasserstoffakzeptor als MM-Fragment gewählt werden. Dieses Hybridmodell bezeichnen wir als das **Q-M-Modell**. Das zweite Hybridmodell mit der umgekehrten Einteilung bezeichnen wir als das **M-Q-Modell**. Als Referenz zur Beurteilung der Qualität unserer Hybridrechnungen werden wir außerdem ein vollständig quantenmechanisch behandeltes Wasserdimer (**Q-Q-Modell**) bzw. ein ausschließlich molekülmechanisch behandeltes Wasserdimer (**M-M-Modell**) untersuchen.

Die für die beiden Hybridmodelle und das **M-M-Modell** benötigten van der Waals Parameter wurden aus dem TIP3P-Modell von Jorgensen *et al.* [54] übernommen. Die in Abbildung 17 eingezeichneten Partialladungen  $c_i$  wurden aus den vollständig quantenmechanischen Berechnungen des Wasserdimers bestimmt. Aus den LDA- und den BLYP-Rechnungen ergaben sich ähnliche Partialladungen, die zu den Werten  $c_1 = 0.36 e$ ,  $c_2 = -0.78 e$ ,  $c_3 = 0.42 e$ ,  $c_4 = -0.74 e$  sowie  $c_5 = c_6 = 0.37 e$  zusammengefasst wurden. Die Kraftkonstanten für die O–H-Streckung und die H–O–H-Winkelbiegung in den jeweiligen MM-Fragmenten wurden aus LDA- und BLYP-Berechnungen eines  $\text{H}_2\text{O}$ -Monomers gewonnen. Die Gleichgewichtsgeometrien und Bindungsenergien für die verschiedenen Modelle sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Diese Tabelle enthält zum Vergleich auch experimentelle Daten [154] und Ergebnisse aus MP2-Rechnungen [155].

	$d_{OO}$ [Å]	$\beta_1$ [Grad]	$\beta_2$ [Grad]	$E_b$ [kcal/mol]
<b>Exp [154]</b>	2.98	51	122	-5.3
<b>MP2 [155] Q-Q</b>	2.95	57	128	-5.0
<b>BLYP Q-Q</b>	2.98	56	123	-4.3
<b>LDA Q-Q</b>	2.73	53	136	-12.0
<b>BLYP Q-M</b>	2.78	52	163	-6.5
<b>LDA Q-M</b>	2.83	53	163	-6.1
<b>BLYP M-Q</b>	2.85	50	117	-5.8
<b>LDA M-Q</b>	2.80	52	120	-6.4
<b>M-M</b>	2.77	47	162	-6.6

Tabelle 1: Gleichgewichtsgeometrien und Bindungsenergien  $E_b$  eines Wasserdimers für verschiedene Berechnungsmethoden; zum Vergleich sind in den ersten beiden Zeilen auch experimentelle Werte (Exp) und Ergebnisse einer MP2-Rechnung angegeben; die Bedeutung der geometrischen Größen  $d_{OO}$ ,  $\beta_1$  und  $\beta_2$  ist Abbildung 17 zu entnehmen.

Wie bereits in einer früheren Arbeit [47] gezeigt wurde, reproduziert die BLYP Q-Q-Rechnung die experimentell [154] beobachtete Struktur eines Wasserdimers ähnlich gut wie eine MP2-Rechnung [155]. Lediglich die Bindungsenergie  $E_b$  fällt in der BLYP Q-Q-Rechnung um etwa 20 % zu klein aus. Im Gegensatz hierzu wird in der LDA-Näherung für das Q-Q-Modell die Bindungsenergie drastisch überschätzt und der Sauerstoff-Sauerstoff-Abstand  $d_{OO}$  um 0.25 Å unterschätzt.

Das Ergebnis der M-M-Rechnung in der letzten Zeile von Tabelle 1 spiegelt die Wahl der van der Waals Parameter und der Partialladungen  $c_i$  des TIP3P-Modells wider. Die leichte Überschätzung der Bindungsenergie und die Unterschätzung von  $d_{OO}$  zeigen an, daß die van der Waals Radien bei der TIP3P-Parametrisierung etwas zu klein ausfallen. Außerdem wird der Winkel  $\beta_2$  nicht richtig reproduziert. Die Ursache hierfür ist, daß der stereochemische Effekt, der von den zwei einsamen Elektronenpaaren am Sauerstoffatom des Akzeptormoleküls ausgeht, im TIP3P-Modell, das aus lediglich drei Partialladungen aufgebaut ist, nicht erfaßt wird.

Die Ergebnisse der Hybridmodelle sind für LDA und BLYP nahezu identisch und gleichen jenen des M-M-Modells. Insbesondere wird bei beiden Q-M-Modellen der Winkel  $\beta_2$  nicht richtig reproduziert, da wie im M-M-Modell die Behandlung der einsamen Elektronenpaare des Sauerstoffatoms im Akzeptormolekül (MM-Fragment) fehlt. In den beiden M-Q-Modellen hingegen stimmt der Winkel  $\beta_2$  gut mit der experimentellen Beobachtung und der Q-Q-

Rechnung überein, da hier die einsamen Elektronenpaare des Sauerstoffatoms im quantenmechanisch behandelten Akzeptor vollständig erfaßt werden.

Die oben gezogenen Schlußfolgerungen werden zusätzlich durch die Arbeit von Tuñón *et al.* [118] unterstützt, die für ähnliche Wasserdimer-Hybridrechnungen das Becke-Parr Austausch-Korrelations-Funktional zur Beschreibung der QM-Fragmente verwendet haben. Ferner weisen wir darauf hin, daß die intramolekulare Struktur eines H<sub>2</sub>O-Moleküls bei Dimerbildung nur geringfügig beeinflußt wird und sowohl im **M-M**-Modell als auch in den Hybridmodellen gut reproduziert wird (Daten nicht gezeigt).

### **b.) Schwingungsspektrum**

Im Gegensatz zu den weiter oben diskutierten Observablen sollten Schwingungsspektren von Hybridmodellen von der Wahl des Austausch-Korrelations-Funktional stark beeinflußt werden, da bereits das Spektrum eines H<sub>2</sub>O-Monomers eine derartige Abhängigkeit zeigt [47]. Unter Verwendung der LDA-Näherung bzw. des BLYP-Funktional haben wir deshalb die Schwingungsspektren der verschiedenen Dimer-Modelle in harmonischer Näherung berechnet. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 18 und 19 dargestellt und werden dort dem experimentell beobachteten IR-Spektrum [47] gegenübergestellt. Genaue Zahlenwerte sind im Anhang A in den Tabellen 4 und 5 aufgeführt.

Im Hochfrequenzbereich zwischen 3300 und 3800 cm<sup>-1</sup> (linke Hälften in Abbildungen 18 und 19) beobachtet man die O–H-Streckmoden, die entweder im Donor (*D*) oder im Akzeptor (*A*) lokalisiert sind. Diese Moden geben Aufschluß über das intramolekulare Kraftfeld eines an einer Wasserstoffbrückenbindung beteiligten Wassermoleküls. Die symmetrische O–H-Streckmode ist mit *s* bezeichnet, die antisymmetrische Streckmode mit *a*. In den QM-Fragmenten lokalisierte Moden sind mit dicken Linien gezeichnet. Der Tieffrequenzbereich zwischen 200 und 800 cm<sup>-1</sup> (rechte Hälften) umfaßt Moden, bei denen sich die Monomere relativ zueinander bewegen, so daß dieser Frequenzbereich Aufschluß über das intermolekulare Kraftfeld gibt.

#### **(i) Intramolekulare Kräfte im äußeren Feld**

Den experimentellen Daten zufolge liegen im Wasserdimer die O–H-Streckmoden des Akzeptors um etwa 30 cm<sup>-1</sup> tiefer als im Wassermonomer. Die O–H-Streckmoden des Donors erfahren bei Dimerbildung eine noch größere Rotverschiebung um 60 und 110 cm<sup>-1</sup> (vergleiche hierzu Anhang A).

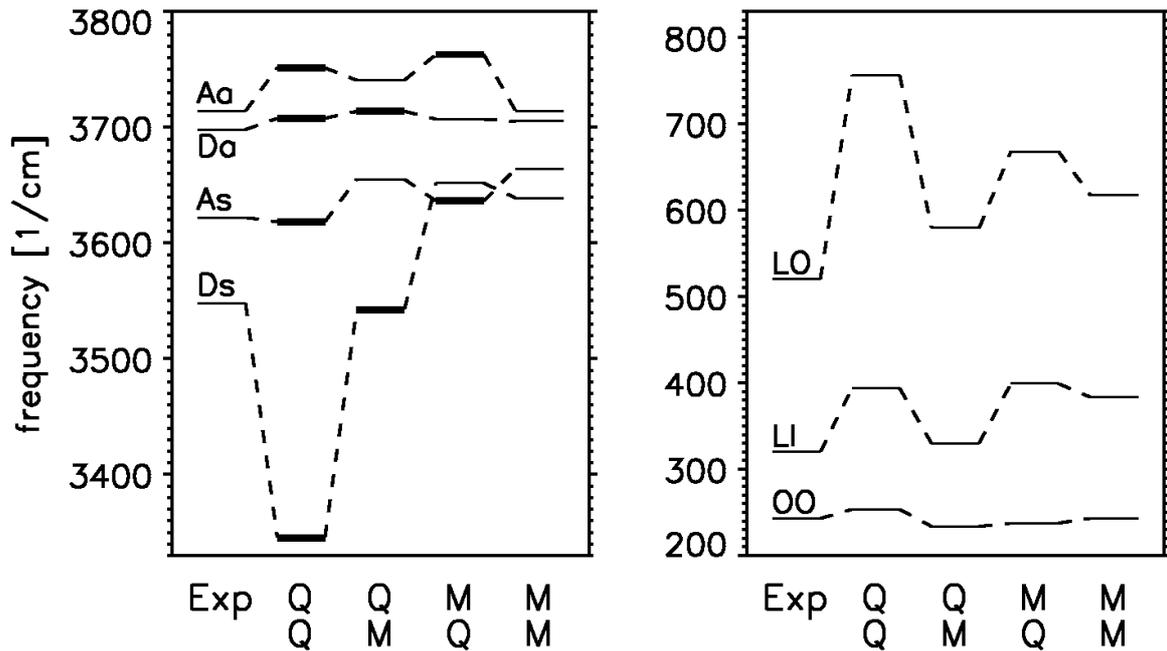


Abbildung 18: Berechnete Wasserdimer-Schwingungsspektren im Hochfrequenz- und Tieffrequenzbereich im Vergleich mit dem experimentell beobachteten Spektrum (Exp); gezeigt sind dabei die Ergebnisse einer vollständig quantenmechanischen LDA-Rechnung (Q-Q), die Ergebnisse von zwei Hybridmodellen (Q-M und M-Q) sowie einer ausschließlich molekülmechanischen Modellrechnung (M-M); weitere Erläuterungen siehe Text.

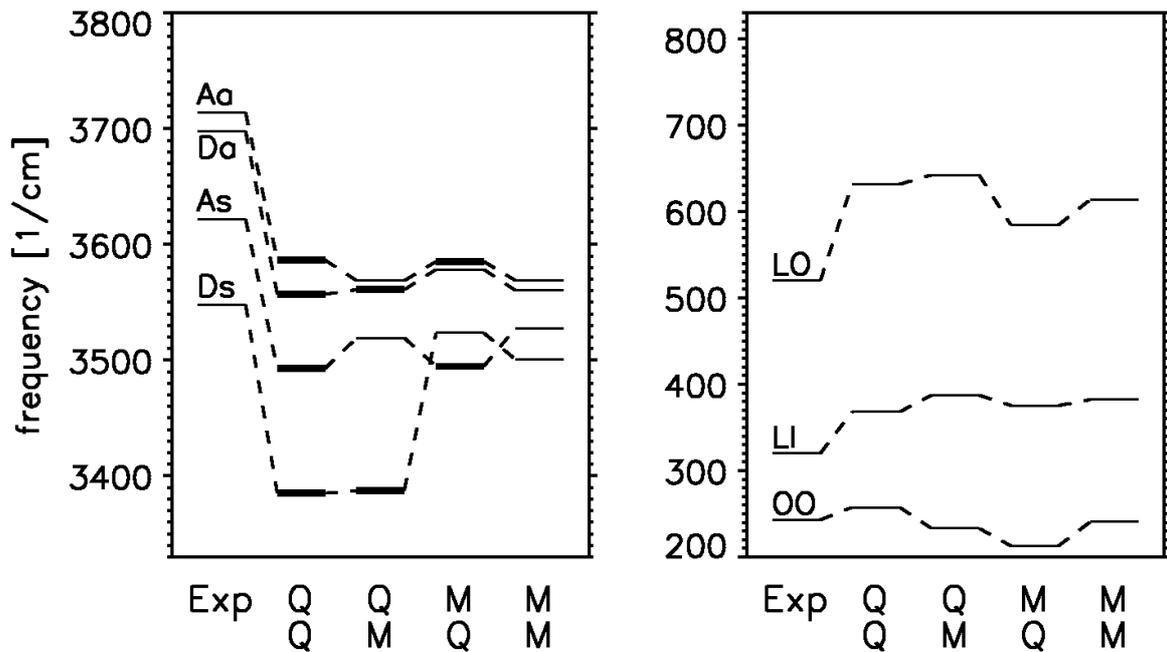


Abbildung 19: Mit dem BLYP-Funktional berechnetes Wasserdimer-Schwingungsspektrum; für Erläuterungen siehe Abbildung 18 und Text.

*Q-Q-Modell*

Im **Q-Q**-Modell wird die Rotverschiebung der Akzeptormoden weder durch die LDA- noch durch die BLYP-Rechnung reproduziert. Nach der LDA-Rechnung zeigt die *Da*-Mode eine Rotverschiebung um  $44\text{ cm}^{-1}$ , während die *Ds*-Mode um  $278\text{ cm}^{-1}$  verschoben wird. Während die Rotverschiebung der *Da*-Mode also zu klein ausfällt, wird die Rotverschiebung der *Ds*-Mode stark übertrieben. Dies ist verständlich, wenn man bedenkt, daß in der LDA-Näherung die Stärke einer Wasserstoffbrückenbindung deutlich überschätzt wird (vergleiche Tabelle 1 und [47]). Als Folge hiervon wird die Kraftkonstante der an der Wasserstoffbrückenbindung beteiligten O–H-Bindung unterschätzt. Durch die BLYP-Rechnung des **Q-Q**-Modells hingegen wird die Rotverschiebung der *Ds*-Mode mit  $112\text{ cm}^{-1}$  richtig wiedergegeben. Die Verschiebung der *Da*-Mode fällt allerdings mit  $35\text{ cm}^{-1}$  etwas zu klein aus. Man beachte außerdem, daß die Frequenzen der O–H-Streckmoden bei BLYP systematisch um etwa  $60\text{ cm}^{-1}$  unterschätzt werden, während in der LDA-Näherung die absolute Lage der Moden im Hochfrequenzbereich – mit Ausnahme der *Ds*-Mode – gut mit der experimentellen Beobachtung übereinstimmt. Umgekehrt werden durch die BLYP-Rechnung die Frequenzen der H–O–H-Winkelmoden richtig wiedergegeben, während sie in der LDA-Näherung deutlich unterschätzt werden.

*M-M-Modell*

Gegenläufig zur experimentell beobachteten Rotverschiebung ergibt das **M-M**-Modell für die O–H-Moden im Akzeptor eine Blauverschiebung um  $2\text{ cm}^{-1}$  (*Aa*) und  $11\text{ cm}^{-1}$  (*As*). Mit  $8\text{--}15\text{ cm}^{-1}$  fällt die Rotverschiebung der Donor-Moden viel zu klein aus. Die Aufspaltung zwischen der *s*- und der *a*-Mode ist sowohl im Donor als auch im Akzeptor zu klein. Dieser Mißstand ist auch schon für ein isoliertes H<sub>2</sub>O-Molekül zu beobachten, bei dem das molekülmechanische Modell eine Aufspaltung von nur etwa  $50\text{ cm}^{-1}$  vorhersagt, während experimentell nahezu eine doppelt so große Aufspaltung beobachtet wird.

**(ii) Hybridmodelle**

Anhand der in den Abbildungen 18 und 19 gezeigten Spektren erkennen wir, daß in den Hybridmodellen die im jeweiligen MM-Fragment lokalisierten O–H-Streckmoden die Mängel der molekülmechanischen Beschreibung erben. So fallen beispielsweise in beiden **M-Q**-Modellen die Aufspaltungen der Donor-Moden analog zum **M-M**-Modell zu klein aus. Für die im jeweiligen QM-Fragment lokalisierten Moden beobachten wir hingegen eine wesentlich bessere Beschreibung.

*M-Q-Modell*

Im **M-Q**-Modell ist die Aufspaltung der Akzeptormode genau so groß wie im vollständig quantenmechanisch beschriebenen Dimer. Lediglich eine unerwünschte Blauverschiebung um  $11\text{ cm}^{-1}$  wird in der LDA-Rechnung aufgrund der Wechselwirkung mit dem molekül-

mechanisch behandelten Donor beobachtet. Eine ähnliche Blauverschiebung wurde bereits im **M-M**-Modell verzeichnet. Im **M-Q**-Modell der BLYP-Rechnung zeigt sich hingegen eine geringe Rotverschiebung um  $2\text{ cm}^{-1}$ , und alle im jeweiligen QM-Fragment lokalisierten Frequenzen liegen sehr nahe an den korrespondierenden Frequenzen des **Q-Q**-Modells.

### *Q-M-Modell*

Im **Q-M**-Modell zeigt sich nach der LDA-Rechnung eine Rotverschiebung bei der *Da*-Mode um  $40\text{ cm}^{-1}$  und bei der *Ds*-Mode um  $80\text{ cm}^{-1}$ . Insbesondere die Rotverschiebung der *Da*-Mode stimmt damit viel besser mit der experimentellen Beobachtung überein als mit der vollständig quantenmechanischen LDA-Rechnung. Das Unvermögen der LDA-Näherung im **Q-Q**-Modell, die Frequenzverschiebung der an der Wasserstoffbrückenbindung beteiligten O-H-Bindung im Donor richtig zu beschreiben, überträgt sich also nicht auf das LDA-Hybridmodell.

### *Diskussion*

Im mit BLYP berechneten **Q-Q**-Modell ist das Hochfrequenzspektrum gegenüber dem experimentell beobachteten Spektrum zwar rotverschoben (siehe Abschnitt 2.2.2), aber der Einfluß der Wasserstoffbrückenbindung auf die intramolekularen Moden wird im wesentlichen richtig beschrieben. Dies zeigt sich daran, daß die Frequenzabstände zwischen den Moden gut mit den experimentellen Werten übereinstimmen. In den entsprechenden **Q-M**- und **M-Q**-Hybridspektren weichen die jeweils im QM-Fragment lokalisierten, mit dicker Linie gezeichneten Moden um nicht mehr als  $4\text{ cm}^{-1}$  von den Moden des vollständig quantenmechanisch berechneten Wasserdimers ab.

In dem bis hier diskutierten Hochfrequenzspektrum der Hybridmodelle zeigt sich deutlich der Einfluß des MM-Fragments auf die Wellenfunktion des QM-Fragments. Wir können diesbezüglich die folgenden Schlüsse ziehen:

- (1) In den LDA-Rechnungen erzielen die **Q-M**- und **M-Q**-Hybridmodelle eine deutlich bessere Übereinstimmung mit dem experimentell beobachteten Wasserdimer-Spektrum als ein vollständig quantenmechanisch behandeltes Wasserdimer. Dies erklärt die guten Ergebnisse der LDA-Hybridsimulation des in TIP3P-Wasser gelösten QM-Wassermoleküls im vorangegangenen Abschnitt.
- (2) In den BLYP-Rechnungen zeigen sich für die QM-Fragmente der beiden Hybridmodelle extrem kleine Unterschiede zu den korrespondierenden Ergebnissen des vollständig quantenmechanisch, mit BLYP berechneten Wasserdimers.

Diese Schlußfolgerung wird zusätzlich durch eine analoge Analyse der entsprechenden H-O-H-Winkelmoden unterstützt, die hier jedoch nicht weiter diskutiert werden sollen. Dagegen sollen noch einige Bemerkungen zu dem in den Abbildungen 18 und 19 gezeigten Tief-

frequenzbereich ( $200$  bis  $800\text{ cm}^{-1}$ ) gemacht werden, der eine Aussage über die intermolekularen Kräfte zwischen den Wassermolekülen erlaubt.

### (iii) Intermolekulare Bindungskräfte

Wie bereits im Hochfrequenzspektrum, so erkennt man auch im Tieffrequenzspektrum die Schwäche der LDA-Näherung anhand des **Q-Q**-Modells. Da die LDA-Näherung die Stärke der Wasserstoffbrückenbindung überschätzt, liegen, wie in Abbildung 18 rechts zu erkennen ist, die intermolekularen **Q-Q**-Moden um bis zu  $230\text{ cm}^{-1}$  höher als sie experimentell beobachtet werden. Selbst das **M-M**-Modell schneidet im Tieffrequenzbereich besser ab als die LDA-Rechnung. In den beiden Hybridmodellen fallen die intermolekularen Kräfte offensichtlich kleiner aus, auch wenn insbesondere im **M-Q**-Hybridmodell die noch vorhandene Blauverschiebung der beiden oberen Moden auf eine etwas zu starke intermolekulare Wechselwirkung schließen läßt. Wie bereits im Zusammenhang mit der Wasserdimer-Geometrie und der Wechselwirkungsenergie bemerkt worden ist, sollte eine geringfügige Vergrößerung der van der Waals Radien diesbezüglich Abhilfe schaffen.

Für das vollständig quantenmechanisch, mit BLYP berechnete Wasserdimer erkennen wir in Abbildung 19 im Tieffrequenzbereich durch Vergleich des berechneten Spektrums mit dem experimentellen Spektrum, daß die intermolekularen Kräfte nach wie vor leicht überschätzt werden, wenn auch deutlich weniger als bei der LDA-Rechnung. Das Tieffrequenzspektrum der beiden BLYP-Hybridmodelle kommt der **Q-Q**-Rechnung sehr nahe.

### Zusammenfassung

Abschließend können wir also feststellen, daß die *non-bonded*-Wechselwirkungen zwischen den Fragmenten in unseren Hybridmodellen mit zufriedenstellender Genauigkeit reproduziert werden, wenn die Partiaalladungen und die van der Waals Parameter des MM-Modells angemessen gewählt werden. Die Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß durch Anpassung der van der Waals Parameter die Qualität der Beschreibung der intermolekularen Wechselwirkung weiter verbessert werden kann. Für QM/MM-Hybridmethoden, die auf semi-empirischen Hartree-Fock-Methoden beruhen, wurde eine derartige Anpassung bereits erfolgreich durchgeführt [106,114]. Außerdem ist zu erwarten, daß Wassermolekülmodelle, bei denen der stereochemische Effekt, der von den einsamen Elektronenpaaren am Sauerstoffatom ausgeht, berücksichtigt wird, in QM/MM-Hybridrechnungen noch bessere Resultate erbringen. Ähnlich wie beispielsweise das ST2- oder das TIP4-Modell [54] müssen solche Modelle mindestens vier Zentren für Partiaalladungen aufweisen.

## 6.2 Kovalent gebundene QM/MM-Fragmente

Zur Behandlung der Schnittstellen kovalent gebundener Fragmente wurde in Abschnitt 4.2 die SPLAM-Methode entwickelt. Als prototypisches Beispiel für ein QM/MM-Hybridssystem, in dem die Fragmente über eine unpolare  $\sigma$ -Bindung verbunden sind, wurde dort das in Abbildung 10 gezeigte Molekül Äthan diskutiert. Wir werden nun die Qualität des durch die SPLAM-Methode modellierten Kraftfeldes zunächst anhand des Schwingungsspektrums von Äthan untersuchen.

### 6.2.1 Das Schwingungsspektrum von Äthan

Das Schwingungsspektrum von Äthan ist experimentell sehr gut bekannt [151] und dient uns im folgenden als Referenz für die Beurteilung der in harmonischer Näherung berechneten Schwingungsspektren. Für das vollständig quantenmechanisch behandelte Äthan-Molekül und für das QM-Fragment Methan wurde das Austausch-Korrelations-Funktional BLYP und das Pseudopotential von Martins und Troullier [131] mit  $E_{\text{cut}} = 70$  Ry verwendet. Zur molekülmechanischen Beschreibung des Äthan und des MM-Fragments wurden die Kraftkonstanten und Gleichgewichtsparameter für die C–C- und C–H-Streckpotentiale sowie für die H–C–C- und H–C–H-Winkelpotentiale an das Kraftfeld des quantenmechanisch behandelten Äthans angepaßt. Die van der Waals Parameter, die Partialladungen und die Parameter für das H–C–C–H-Torsionspotential wurden aus dem CHARMM-Kraftfeld unverändert übernommen.

In Abbildung 20 ist in der linken Spalte das experimentell beobachtete Schwingungsspektrum von Äthan [151] im mittleren Frequenzbereich zwischen  $800$  und  $1600\text{ cm}^{-1}$  dargestellt. Mit BLYP ist das harmonische Spektrum des vollständig quantenmechanisch behandelten Äthan-Moleküls bezeichnet und mit MM das Spektrum des molekülmechanischen Äthanmodells. In der rechten Spalte ist das mit der LAEP-Methode berechnete QM/MM-Hybridmodellspektrum (siehe Abschnitt 4.1.1) und in der mittleren Spalte ist das SPLAM-Hybridmodell-Spektrum dargestellt. Der gewählte Frequenzausschnitt umfaßt nicht nur die C–C-Streckmode bei  $900\text{ cm}^{-1}$ , sondern auch die Torsionsmode um die C–C-Bindung bei etwa  $820\text{ cm}^{-1}$  sowie die Rocking- und Deformationsmoden der Methylgruppen zwischen  $1300$  bis  $1500\text{ cm}^{-1}$ , die bei der SPLAM-Methode wesentlich durch den  $E_{\text{M, stereo}}^{\text{WW}}$ -Wechselwirkungsterm in Gleichung (4.23) beeinflußt werden.

Die hervorragende Übereinstimmung der Spektren in den ersten beiden Spalten zeigt uns, daß das in harmonischer Näherung berechnete BLYP-Schwingungsspektrum nahezu perfekt mit dem experimentell beobachteten, anharmonischen Spektrum von Äthan übereinstimmt. Durch die partielle Anpassung des MM-Kraftfeldes an das BLYP-Kraftfeld zeigt auch das MM-Schwingungsspektrum für einige Moden ein zufriedenstellendes Ergebnis. Die beträchtlichen Abweichungen anderer Moden hingegen verdeutlichen die Schwächen von molekül-

mechanischen Kraftfeldern. Wie zu erkennen ist, sollte beispielsweise die höchste MM-Mode im gewählten Frequenzbereich in Wirklichkeit um etwa  $150\text{ cm}^{-1}$  tiefer liegen.

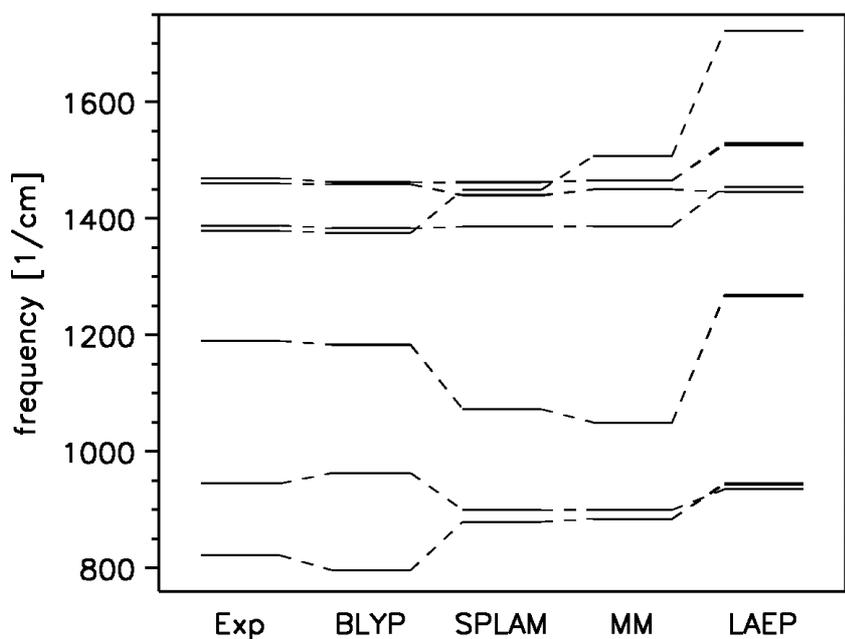


Abbildung 20: Schwingungsspektrum von Äthan im mittleren Frequenzbereich für verschiedene Modelle verglichen mit dem experimentellen Spektrum (Exp).

Die SPLAM-Methode interpoliert offensichtlich zwischen dem BLYP-Spektrum und dem MM-Spektrum wie man es von einer Hybridmethode erwarten sollte. Einige der Moden profitieren vom korrekten BLYP-Kraftfeld des QM-Fragments, andere Moden hingegen werden vom MM-Kraftfeld dominiert. Durch eine genaue und bei der Entwicklung der SPLAM-Methode sehr hilfreiche Analyse der Eigenmoden von Äthan läßt sich jedes Detail des SPLAM-Spektrums erklären. Wie bereits von Bakowies [98] festgestellt wurde, zeigt sich bei der LAEP-Methode ein drastisch verfälschtes Spektrum, das keineswegs als Interpolation zwischen dem BLYP- und dem MM-Spektrum angesehen werden kann. Wie bereits in Abschnitt 4.1 vorweggenommen wurde, werden im LAEP-Verfahren einige Winkeldeformationsmoden mit einem zu harten Winkelpotential beschrieben, so daß um bis zu  $300\text{ cm}^{-1}$  blauverschobene Moden auftreten.

Nachdem wir uns nun davon überzeugt haben, daß die SPLAM-Methode die Schnittstelle zwischen unpolaren  $\sigma$ -Bindungen geeignet beschreibt, soll in der nächsten Testrechnung der Einfluß von Fragmentschnittstellen bei einem stark polarisierbaren System untersucht werden, das dazu geeignet sein sollte, lokale Fehlbeschreibungen der Elektrostatik empfindlich zu detektieren. Als Testsystem bietet sich dabei ein Molekül mit einem konjugierten  $\pi$ -Elektronen-

system an, das eine protonierte Schiffische Base enthält. Ein solches Molekül hat den zusätzlichen Vorteil als Modell für die protonierte Schiffische Base des Retinal dienen zu können, die im letzten Kapitel dieser Arbeit untersucht werden soll.

### 6.2.2 Das Schwingungsspektrum von Miniretinal

In Abbildung 21 oben ist ein als Miniretinal bezeichnetes Molekül gezeigt, das eine  $\text{CH}=\text{NH}_2^+$  protonierte Schiffische Base enthält, die kovalent an die  $\text{C}=\text{C}$ -Doppelbindung eines Cyclohexenrings gebunden ist. Miniretinal ist im Vergleich zur bereits in Abbildung 2 vorgestellten Retinal-Schiff-Base wesentlich kleiner und kann daher mit einem geringeren Rechenaufwand vollständig quantenmechanisch behandelt werden. Wie die protonierte Retinal-Schiff-Base ist auch Miniretinal ein Molekülkation, dessen positive Ladung im konjugierten  $\pi$ -Elektronensystem delokalisiert ist. Dadurch ist Miniretinal stark polarisierbar und polar. Sein  $\pi$ -Elektronensystem ist deshalb einerseits sehr empfindlich für den Einfluß äußerer elektrostatischer Felder und andererseits auch die starke Quelle eines elektrostatischen Feldes.

In Abbildung 21 unten sind zwei mögliche Hybridmodelle **A** und **B** von Miniretinal dargestellt, bei denen das QM-Fragment jeweils dunkelgrau gezeichnet ist. In beiden Hybridmodellen wird das konjugierte  $\pi$ -Elektronensystem quantenmechanisch behandelt. Im QM-Fragment des Hybridmodells **A** sind die Schnittstellen direkt an der  $\text{C}=\text{C}$ -Doppelbindung lokalisiert. Das QM-Fragment des Hybridmodells **B** enthält zusätzlich zwei an die  $\text{C}=\text{C}$ -Doppelbindung gebundene  $\text{CH}_2$ -Gruppen des Cyclohexenrings. Die jeweiligen MM-Fragmente bestehen aus dipolaren  $\text{CH}_2$ -Gruppen, die über ihre Elektrostatik auf das  $\pi$ -Elektronensystem des QM-Fragments wirken können. Schwingungsmoden, die im  $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{N}$ -Motiv lokalisiert sind, sollten daher eine empfindliche Probe für die SPLAM-Methode und für die Wirkung des vom MM-Fragment erzeugten elektrostatischen Potentials darstellen. Um die Wirkung des MM-Fragments auf das QM-Fragment von Substituenteneffekten trennen zu können, betrachten wir zusätzlich die Schwingungsspektren der um die Link-Atome ergänzten, aber ansonsten isoliert betrachteten QM-Fragmente **A** und **B** (Abbildung 21, Mitte). Dabei ist zu beachten, daß die Link-Atome im QM-Fragment **A** direkt an die  $\text{sp}^2$ -hybridisierten Kohlenstoffatome der  $\text{C}=\text{C}$ -Doppelbindung angefügt werden und dort  $\text{CH}_2$ -Gruppen ersetzen sollen. Demgegenüber werden in Fragment **B** lediglich zwei  $\text{CH}_2$ -Gruppen zu einer  $\text{CH}_3$ -Gruppe vervollständigt. Schließlich verwenden wir als Referenz das vollständig quantenmechanisch beschriebene Miniretinal.

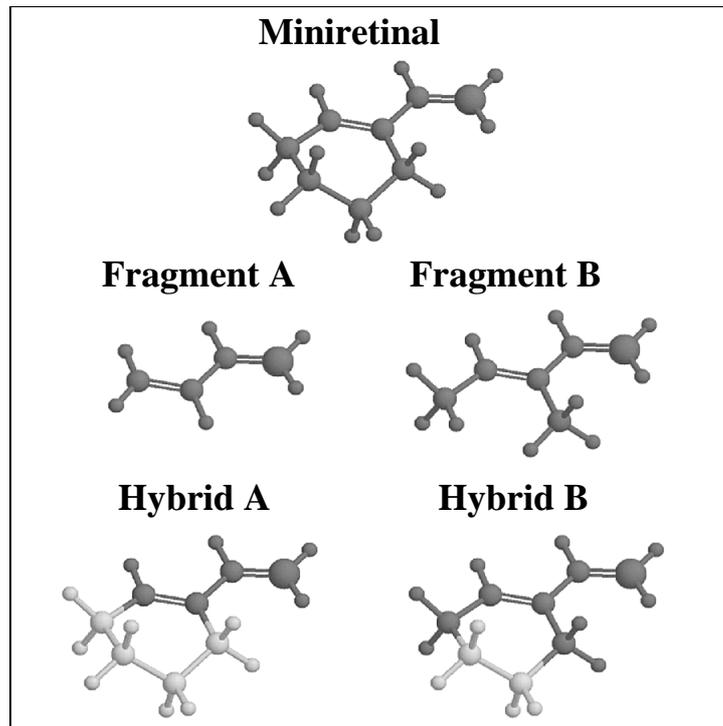


Abbildung 21: Darstellung der untersuchten Modelle der Schiffsbasis Miniretinal.

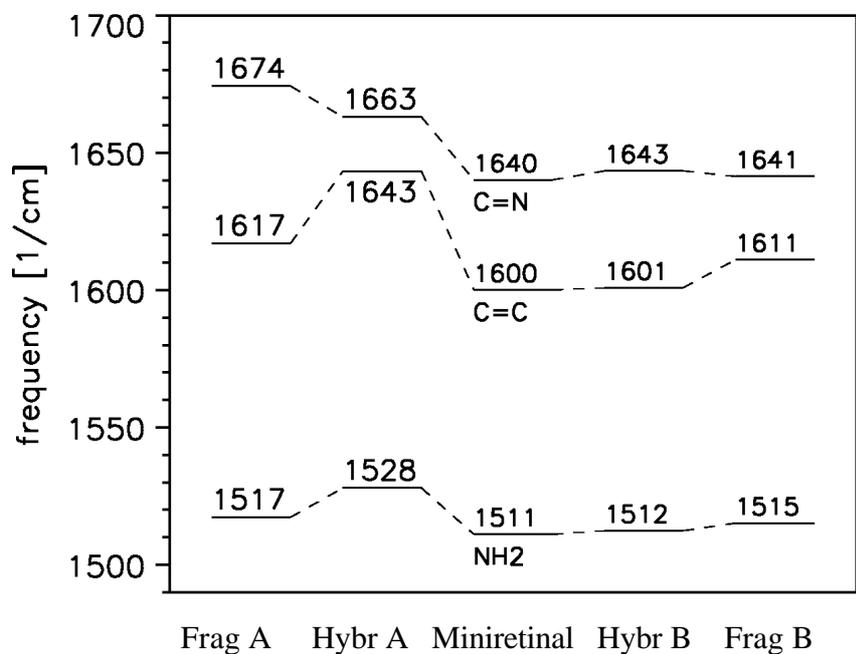


Abbildung 22: Schwingungsspektrum von Miniretinal (Mitte) für verschiedene Hybridmodelle (Hybr A und Hybr B); zusätzlich sind die Schwingungsspektren der isoliert betrachteten QM-Fragmente (Frag A und Frag B) der Hybridmodelle A und B dargestellt.

Da für Miniretinal kein experimentelles Schwingungsspektrum vorliegt, sind hochpräzise DFT-Rechnungen nicht notwendig und wir verwenden zur quantenmechanischen Behandlung das rechenzeitsparende Pseudopotential von Vanderbilt mit  $E_{\text{cut}} = 30$  Ry und die LDA-Näherung. Wie in der mittleren Spalte von Abbildung 22 zu erkennen ist, weist das in harmonischer Näherung berechnete Spektrum des quantenmechanisch behandelten Miniretinals im Frequenzbereich zwischen  $1500\text{ cm}^{-1}$  und  $1700\text{ cm}^{-1}$  drei im C=C–C=N-Motiv lokalisierte Moden auf, nämlich die  $\text{NH}_2$ -*scissoring*-Mode bei  $1511\text{ cm}^{-1}$ , die C=C-Streckmode bei  $1600\text{ cm}^{-1}$  und die C=N-Streckmode bei  $1640\text{ cm}^{-1}$ .

### a.) Fragmentspektren

In der linken Spalte von Abbildung 22 erkennen wir für das isolierte QM-Fragment **A**, daß alle Frequenzen gegenüber dem Miniretinalspektrum deutlich blauverschoben sind. Im rechts gezeigten Spektrum des isolierten QM-Fragments **B** hingegen weist die  $\text{NH}_2$ -Mode nur noch eine geringe Blauverschiebung um  $4\text{ cm}^{-1}$  und die C=C-Streckmode eine Blauverschiebung um  $11\text{ cm}^{-1}$  auf. Dies belegt, daß das konjugierte  $\pi$ -Elektronensystem sehr empfindlich auf die  $\text{CH}_2$ -Substituenten nahe der C=C-Bindung reagiert. Eine Analyse der Kraftkonstanten hat ergeben, daß im QM-Fragment **A** die Kraftkonstanten für die C=C- und C=N-Bindungen deutlich größer als in Miniretinal und Fragment **B** sind.

### b.) Hybridspektren

Wie man in der zweiten Spalte an dem nach wie vor stark blauverschobenen Schwingungsspektrum von Hybridmodell **A** sieht, kann der molekülmechanische Ringschluß des Cyclohexenrings nicht die Substituenteneffekte der im QM-Fragment **A** fehlenden  $\text{CH}_2$ -Gruppen ersetzen. Im Hybridmodell **B** hingegen sind die zur C=C-Bindung benachbarten  $\text{CH}_2$ -Gruppen im QM-Fragment enthalten, und die beiden Fragmentschnittstellen verlaufen jeweils durch  $\text{CH}_2$ – $\text{CH}_2$ -Motive. Für dieses Hybridmodell ergibt sich eine nahezu perfekte Übereinstimmung mit dem quantenmechanisch behandelten Miniretinal. Dabei bewirkt der molekülmechanische Ringschluß in Hybridmodell **B** gegenüber dem Fragment **B**, daß die C=C-Streckmode um  $10\text{ cm}^{-1}$  rotverschoben wird.

Am Beispiel Miniretinal erkennen wir, daß es zur Vermeidung fehlerhafter Substituenteneffekte nötig ist, eine  $\text{CH}_2$ -Gruppe als „elektronischen Isolator“ zwischen ein  $\pi$ -Elektronensystem und ein MM-Fragment einzuschieben und als Methylgruppe quantenmechanisch zu behandeln. Unter dieser Bedingung kann das SPLAM-Verfahren auch für QM-Fragmente mit stark polarisierbaren  $\pi$ -Elektronensystemen eingesetzt werden.

Wir schließen die Überprüfung der in dieser Arbeit entwickelten QM/MM-Hybridmethode ab und geben eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse der Testrechnungen.

### 6.3 Zusammenfassung

Die oben vorgestellten Testrechnungen hatten das Ziel, die verschiedenen Aspekte der in dieser Arbeit entwickelten QM/MM-Hybridmethode genau zu charakterisieren.

Die MD-Simulation eines QM-Wassermoleküls in einem molekülmechanisch behandelten Wasserclusters hat gezeigt, daß das algorithmische Rauschen aufgrund der FAMUSAMM-Näherung der elektrostatischen Wechselwirkung vernachlässigbar klein ist. Es stellte sich bei dieser Testrechnung ferner heraus, daß trotz Verwendung der einfachen LDA-Näherung zur Beschreibung des QM-Fragments das mittlere induzierte Dipolmoment, die Geometrie und das Schwingungsspektrum des QM-Wassermoleküls gut beschrieben werden.

Die daran anschließende Untersuchung des Wasserdimers hat gezeigt, daß in QM/MM-Hybridrechnungen die intramolekularen Eigenschaften des QM-Fragments und das intermolekulare Kraftfeld zwischen den Fragmenten mit vergleichbar hoher Qualität wie bei einer vollständig quantenmechanischen Behandlung erfaßt werden können. Voraussetzung hierfür ist allerdings eine geeignete Parametrisierung des MM-Fragments durch geschickte Wahl der Partialladungen und der van der Waals Parameter. Wie wir am Beispiel der LDA-Näherung gesehen haben, können unter dieser Bedingung QM/MM-Hybridmodelle sogar bessere Ergebnisse erzielen als eine vollständig quantenmechanische Behandlung des Wasserdimers mit einem ungenauen Verfahren.

Die Untersuchung der *non-bonded*-Wechselwirkung hat also gezeigt, daß unsere Hybridmethode die elektrostatische Wechselwirkung zwischen einem gelösten, quantenmechanisch behandelten Molekül und dem umgebenden, molekülmechanisch behandelten Lösungsmittel im wesentlichen richtig zu beschreiben vermag.

In zwei weiteren Testrechnungen wurde vermittels von Schwingungsspektren am Beispiel von Äthan und Miniretinal die in dieser Arbeit entwickelte SPLAM-Methode untersucht, mit der kovalent gebundene Fragmente behandelt werden können. Die Ergebnisse haben gezeigt, daß das SPLAM-Verfahren das Kraftfeld an der Fragmentschnittstelle im wesentlichen richtig modelliert und anderen Link-Atom-Verfahren deutlich überlegen ist. Wie für eine Hybridmethode zu wünschen ist, interpoliert das SPLAM-Verfahren das Kraftfeld an der Fragmentschnittstelle zwischen dem QM- und MM-Kraftfeld. Ferner wurde demonstriert, daß zur Vermeidung von unerwünschten Substituenteneffekten bei der Wahl der Fragmentschnittstelle nach Möglichkeit eine CH<sub>2</sub>-Gruppe als elektronische Isolation zwischen QM- und MM-Fragment berücksichtigt werden sollte, falls das QM-Fragment ein stark polarisierbares  $\pi$ -Elektronensystem enthält.

Da wir nun ausreichend die Qualität der in dieser Arbeit entwickelten QM/MM-Hybridmethode belegt haben, wollen wir im letzten Kapitel zwei Anwendungsbeispiele vorstellen, durch die das enorme Potential dieses Ansatzes vor Augen geführt wird.



# Kapitel 7

## Anwendungen

Mit der nun erfolgten Etablierung unseres Hybridverfahrens sind wir dem eigentlichen Ziel dieser Arbeit, der Berechnung der Struktur und des Schwingungsspektrums des Retinalchromophors von BR *in situ*, ein großes Stück näher gekommen. Bevor wir aber dies in Abschnitt 7.2 in Angriff nehmen können, müssen wir zunächst sicherstellen, daß unser DFT-Ansatz zur quantitativen Beschreibung derjenigen Molekülklasse, deren prominentester Vertreter die protonierte Retinal-Schiff-Base darstellt, überhaupt geeignet ist. Ferner müssen wir klären, ob unser Hybridverfahren den Einfluß komplex strukturierter Lösungsmittel auf diese Molekülklasse adäquat erfassen kann. Es steht also zunächst die spezielle Validierung unseres Verfahrens für diese Molekülklasse an.

Die angesprochene Molekülklasse umfaßt die protonierten Schiffischen Basen von Polyendervaten, d.h. von linearen Ketten aus alternierenden C=C-Doppel- und C-C-Einfachbindungen, welche durch ein  $-\text{CH}=\text{NH}^+$ -Motiv abgeschlossen werden (vergleiche Abbildung 2). Zwar haben wir bereits im vorangegangenen Kapitel einen Vertreter dieser Klasse in Form von „Miniretinal“ kennengelernt, aber aufgrund fehlender experimenteller Daten zu diesem speziellen Molekül war eine Bewertung der Qualität der durchgeführten quantenmechanischen Beschreibung nicht möglich. Es war hier lediglich möglich, methodische Aspekte unseres Hybridverfahrens zu studieren.

Die quantenmechanische Beschreibung von Polyen-Schiff-Basen ist bekanntermaßen schwierig (siehe z.B. [18,20]), da ihre ausgedehnten  $\pi$ -Elektronensysteme starke Elektronen-Korrelationseffekte aufweisen, welche ihre spektroskopischen, strukturellen und alle sonstigen Eigenschaften dominieren. Ohne adäquate Berücksichtigung dieser Korrelationseffekte gelangt man zu quantitativ und qualitativ falschen Ergebnissen [18,20,156]. So sagen beispielsweise Hartree-Fock-Rechnungen, unabhängig davon, ob *ab-initio* oder semi-empirische Modell-Hamiltonoperatoren verwendet werden, bei Protonierung von Schiffischen Basen eine Rotverschiebung der C=N-Frequenz voraus [156]. Experimentell beobachtet man dagegen eine Blauverschiebung der C=N-Mode um  $10\text{-}50\text{ cm}^{-1}$  [156,157]. Hochpräzise Post-Hartree-Fock Methoden können zwar für kleine Vertreter diese Molekülklasse die experimentelle Beobachtung korrekt reproduzieren [156,159], sind aber für die Untersuchung so großer Moleküle wie der Retinal-Schiff-Base viel zu aufwendig.

## 7.1 Eine C=C–C=N Schiff-Base in Wasser

Zwar lassen eine Reihe von sehr erfolgreichen DFT-Berechnungen der Schwingungsspektren von reinen Polyenen [36,37] und anderen Farbstoffen mit stark korrelierten konjugierten  $\pi$ -Elektronensystemen [38-40] hoffen, daß der DFT-Ansatz ebenfalls in der Lage sein sollte, die Grundzustandskorrelationen der  $\pi$ -Elektronen auch in Polyen-Schiff-Basen korrekt zu beschreiben; aber diese Vermutung muß zunächst durch Testrechnungen abgesichert werden.

### a.) Auswahlkriterien

Hierzu wählen wir nun einen kleinen Vertreter dieser Molekülklasse aus, nämlich das in Abbildung 23 dargestellte Molekül (3-Methyl-) N-2-butylden Methylamin, dessen chemische Formel durch  $(\text{CH}_3)_2\text{-CH=CH-CH=N-CH}_3$  gegeben ist. Wie in der Abbildung gezeigt ist, bezeichnen wir in Analogie zur Retinal-Schiff-Base die C-Atome des konjugierten  $\pi$ -Elektronensystems mit  $\text{C}_{13}$ ,  $\text{C}_{14}$  und  $\text{C}_{15}$  (vergleiche Abbildung 2). Diese Numerierung unterstreicht, daß das gewählte Molekül quasi einen Ausschnitt der kovalent an Lys216 gebundenen Retinal-Schiff-Base darstellt. Im weiteren bezeichnen wir die ungeladene, unprotonierte Form mit MBM und das Kation, also die positiv geladene, protonierte Form mit MBMH.

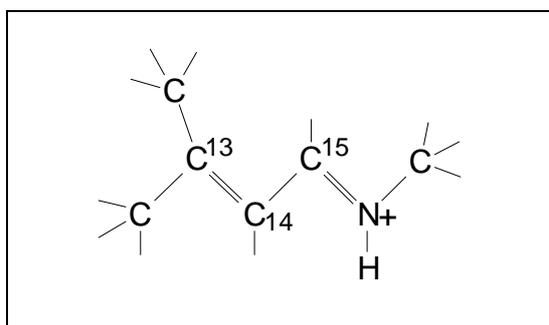


Abbildung 23: Chemische Struktur der protonierten, positiv geladenen Form des Moleküls (3-Methyl-) N-2-butylden Methylamin, das in dieser Arbeit mit MBMH abgekürzt wird; die nicht dargestellte, unprotonierte Form ist ungeladen und wird mit MBM bezeichnet.

Die spezielle Auswahl des genannten Moleküls ist dadurch begründet, daß die Schwingungsspektren dieses Moleküls einschließlich diverser Isotopeneffekte durch Resonanz-Raman-Messungen [160] relativ genau charakterisiert worden sind und Bandenzuordnungen anhand von *ab-initio* Hartree-Fock-Rechnungen [160] vorgenommen werden konnten. Vergleiche mit diesen Ergebnissen sind daher dazu geeignet, die Qualität unserer DFT-Beschreibung zu beurteilen.

Ein erster Nachteil bei der getroffenen Wahl des Moleküls besteht jedoch darin, daß ein experimenteller Wert für die Blauverschiebung der C=N-Mode bei Protonierung von MBM nicht unmittelbar zur Verfügung steht. Eine gute Schätzung kann jedoch aus [157] entnommen werden, da dort das IR-Spektrum eines sehr ähnlichen Moleküls mit der chemischen Formel  $\text{CH}_3\text{-CH=CH-CH=N-CH}(\text{CH}_3)_2$  untersucht wurde, dessen unprotonierte Form wir im folgen-

den mit VSB, und dessen protonierte Form wir mit VSBH bezeichnen werden. Als Lösungsmittel wurde dort  $\text{CHCl}_3$  verwendet. Aufgrund der identischen C=C-C=N-Einheit weichen bei VSBH die beobachteten Frequenzen der C=N-Mode ( $1675\text{ cm}^{-1}$ ) und der C=C-Mode ( $1638\text{ cm}^{-1}$ ) [157] um weniger als  $10\text{ cm}^{-1}$  von den für MBMH beobachteten Frequenzen (C=N-Mode bei  $1684\text{ cm}^{-1}$ , C=C-Mode bei  $1631\text{ cm}^{-1}$ ) ab. Die um  $17\text{ cm}^{-1}$  kleinere C=N/C=C-Aufspaltung ist durch die Substitution einer der endständigen  $\text{CH}_3$ -Gruppen von MBMH durch ein Wasserstoffatom verursacht. Als Blauverschiebung der C=N-Mode bei Protonierung wurde für die Vergleichs-Schiff-Base in [157,158] ein Wert von  $52\text{ cm}^{-1}$  ermittelt. Diesen Wert können wir als Schätzwert für die Blauverschiebung bei Protonierung von MBM ansehen.

Ein zweiter Nachteil besteht darin, daß von MBMH keine IR-Intensitäten gemessen wurden, sondern Resonanz-Raman-Intensitäten [160]. Als Abschätzung für die IR-Intensitäten von MBMH können wir jedoch die in [157] gemessenen IR-Intensitäten für die Vergleichs-Schiff-Base VSBH heranziehen. Ein wichtiger Vorteil bei der Wahl von MBMH besteht darin, daß in [160] die Resonanz-Raman-Spektren in *wäßriger Lösung* aufgenommen wurden und mithin Aufschluß über den Einfluß dieses Lösungsmittels auf die Schwingungsmoden dieses Moleküls geben können. Wir erwarten, daß die Lösungsmittelleffekte bei unserem Modellmolekül relativ groß sind, weil protonierte Schiff-Base von Polyenen bekanntermaßen leicht polarisierbar sind und daher von lokalen elektrostatischen Feldern, wie sie von einer wäßrigen Umgebung erzeugt werden, sehr stark beeinflußt werden können [17,18,20].

### b.) Einfluß elektrostatischer Felder

Ein prominentes Beispiel für den starken Einfluß, den elektrostatische Felder auf Schiff-Base nehmen können, ist der BR-Chromophor, der schon in der Einleitung kurz angesprochen wurde. Dieser Einfluß zeigt sich hier im Photozyklus. Beispielsweise liegt die protonierte Retinal-Schiff-Base im Ausgangszustand  $\text{BR}_{568}$  und im Zwischenzustand  $\text{O}_{640}$  in einer identischen Konformation vor, nämlich in der *all-trans* Form. Die in der Bindungstasche herrschenden elektrostatischen Felder unterscheiden sich aber für  $\text{BR}_{568}$  und  $\text{O}_{640}$ , so daß die Hauptabsorptionsbande des optischen Spektrums im Ausgangszustand bei  $568\text{ nm}$  und im Zwischenzustand  $\text{O}_{640}$  bei  $640\text{ nm}$  beobachtet wird [10-13]. In ähnlicher Weise wie das optische Spektrum ändert sich auch das Schwingungsspektrum (siehe z.B. Abbildung 12 in [18]). Auch diese Änderungen lassen sich durch den elektrostatischen Einfluß der Proteinumgebung auf den Chromophor erklären [18-20]. In den zitierten theoretischen Studien wurde das komplexe elektrostatische Feld, das von BR erzeugt wird, sehr stark vereinfacht durch ein einzelnes *Gegenion* modelliert. Durch Variation des Gegenionabstandes von der Schiff-Base zeigten sich beispielsweise bei der C=N-Schwingungsmode Frequenzverschiebungen um  $30\text{ cm}^{-1}$  und bei der sogenannten  $[\text{C}=\text{C}]_+$ -Schwingungsmode sogar um  $70\text{ cm}^{-1}$ .

### c.) Komplexe Lösungsmittelmodelle

Trotz der Erfolge von solchen vereinfachten Umgebungsmodellen bei der Erklärung der beobachteten Spektren und Bandenverschiebungen ist ihre quantitative Aussagekraft stark eingeschränkt, da ein einzelnes Gegenion nicht die komplex strukturierten elektrostatischen Felder in der Bindungstasche eines Proteins nachbilden kann. Ein weiterer Nachteil besteht darin, daß die Positionierung des Gegenions immer einer gewissen Willkür unterworfen ist, so daß nur qualitative Aussagen über den Einfluß von elektrostatischen Feldern möglich sind. Mit unserer Hybridmethode sind wir der Modellierung von viel realistischeren Lösungsumgebungen nun einen entscheidenden Schritt näher gekommen, da wir jetzt beliebig komplexe Lösungsmittel in die quantenmechanische Berechnung eines gelösten Moleküls einbeziehen können. Wir können es daher mit Hybridmodell-Rechnungen nun zum ersten Mal wagen, das *IR-Spektrum eines Moleküls in Lösung* zu berechnen. Wie wir bereits bei den Testrechnungen im vorangegangenen Kapitel gesehen haben, steht mit dem von uns gewählten flexiblen TIP3P-Wassermolekülmodell ein geeignetes Lösungsmittelmodell zu Verfügung, durch das wir vermutlich die auf MBMH wirkenden elektrostatischen Felder hinreichend genau erfassen werden können.

Da Wasser keine zeitlich starre Umgebung repräsentiert, sondern starke *Fluktuationen* aufweist (siehe hierzu auch Abbildung 15 in Abschnitt 6.1.1) beobachtet man in einem IR-Spektrum *inhomogen verbreiterte IR-Banden*. Die mit den Fluktuationen variierenden elektrostatischen Felder führen nämlich dazu, daß die Frequenzen einzelner Schwingungsmoden eines gelösten Moleküls mehr oder weniger stark um einen Mittelwert schwanken. Bei dem angestrebten Versuch, ein reales IR-Spektrum mit unserer Hybridmethode zu berechnen, müssen wir deshalb ein Verfahren entwickeln, durch das auch die inhomogene Linienverbreiterung erfaßt werden kann.

Ein physikalisch sinnvoller Weg hierzu wäre, analog zum Vorgehen bei dem in Abschnitt 6.1.1 beschriebenen „QM-Wassermolekül in TIP3P-Wasser“, eine Hybridmodell-MD-Trajektorie zu berechnen, bei der MBMH quantenmechanisch behandelt wird und die wäßrige Lösungsumgebung durch eine TIP3P-Wasserkugel modelliert wird. Aus der Autokorrelationsfunktion der Trajektorie der Normalmoden könnte dann durch Fourier-Transformation das inhomogen verbreiterte Schwingungsspektrum berechnet werden (siehe z.B. [121,129]). Allerdings würde eine hinreichend hohe Genauigkeit die Berechnung einer Trajektorie über mehrere 10 ps erfordern, wofür der Rechenaufwand aufgrund der erforderlichen quantenmechanischen Beschreibung von MBMH, trotz der vergleichsweise geringen Größe dieses Moleküls, immer noch zu hoch ist.

Aus diesem Grund müssen wir einen anderen Weg beschreiten, um das Schwingungsspektrum von MBMH in Lösung zu berechnen. Dazu erzeugen wir durch eine rein molekülmechanische MD-Simulationen ein Ensemble an Lösungsmittelkonfigurationen und berechnen anschließend

für jeden Strukturschnappschuß ein Schwingungsspektrum in harmonischer Näherung, wobei wir MBMH quantenmechanisch behandeln. Daraus kann dann ein ensembledemitteltes Schwingungsspektrum berechnet werden, in dem sich dann die inhomogene Verbreiterung aufgrund der Lösungsmittelfluktuationen widerspiegeln sollte.

### 7.1.1 Ziele und Modelle

Bevor wir mit der Beschreibung der durchgeführten Rechnungen beginnen, fassen wir kurz die oben aufgeworfenen Fragen und Untersuchungsziele zusammen:

- (i) Als erstes wollen wir anhand des Verhaltens der C=N-Schwingungsmode bei Protonierung von MBM die Frage untersuchen, ob in der von uns verwendeten DFT-Behandlung Elektronen-Korrelationseffekte korrekt berücksichtigt werden, so daß wir später sicher sein können, die Retinal-Schiff-Base in BR qualitativ und quantitativ richtig zu behandeln.
- (ii) Zweitens wollen wir den Anschluß zu den bisher bei protonierten Schiffischen Basen häufig eingesetzten Umgebungsmodellen (einzeln Gegenionen) herstellen. Dazu untersuchen wir, wie die von uns gewählte DFT-Behandlung den Einfluß des elektrostatischen Feldes eines nahen Gegenions auf die C=N-Mode und die C=C-Mode erfaßt.
- (iii) Das dritte und eigentliche Ziel besteht darin, mit Hilfe unserer Hybridmethode erstmals ein realistisches Schwingungsspektrum eines Moleküls in komplexer Lösungsumgebung zu berechnen und dabei auch die inhomogene Linienverbreiterung zu erfassen. Durch Vergleich mit den Resultaten des einfachen Gegenionmodells soll dann beurteilt werden, wie gut in der Vergangenheit die Lösungsumgebung einer in Wasser gelösten protonierten Schiffischen Base durch das Modell eines einfachen Gegenions beschrieben wurde.

Zur Beantwortung den genannten Fragen haben wir die Schwingungsspektren der in Abbildung 24 dargestellten Systeme berechnet. Dabei haben wir MBM bzw. MBMH mit CPMD quantenmechanisch behandelt, wobei wir das Austausch-Korrelations-Funktional BLYP [126,127] und das Pseudopotential von Martins und Troullier [131] mit  $E_{\text{cut}} = 70$  Ry eingesetzt haben. Eigens durchgeführte Testrechnungen hatten gezeigt, daß diese Parameterwahl sehr gute molekulare Kraftfelder liefert.

Zur Beantwortung der Frage, ob unser DFT-Verfahren den beobachteten Protonierungseffekt [vergleiche Ziel (i)] richtig beschreiben kann, wurde das Schwingungsspektrum der in Abbildung 24 a und b gezeigten Moleküle MBM und MBMH *in vacuo* berechnet und die Lagen der C=N- und C=C-Moden mit den experimentell beobachteten Werten für die Moleküle VSB und VSBH verglichen. Für die Beantwortung der Frage (ii) wurde das elektrostatische Feld eines einfach negativ geladenen Gegenions in der DFT-Rechnung von MBMH berücksichtigt. Wie in Abbildung 24 c gezeigt ist, wurde dabei das Gegenion in der Ebene der C=C-C=N-Gruppe in einem Abstand von 3 Å zum H-Atom der Schiffischen Base positioniert.

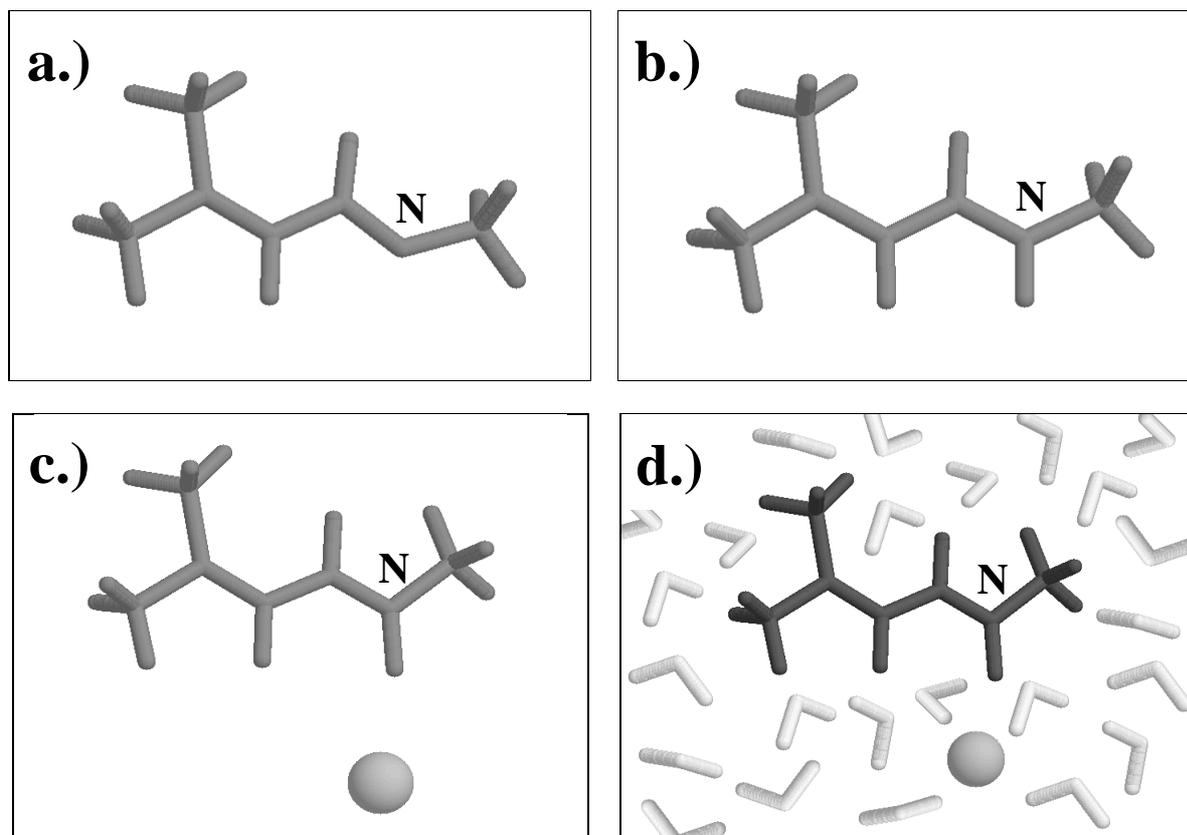


Abbildung 24: a.) und b.) Stäbchenmodell von MBM und MBMH; c.) MBMH mit Gegenion; d.) QM/MM-Hybridssystem von MBMH gelöst in TIP3P-Wasser.

Um das Ziel (iii) zu erreichen, wurden IR-Spektren für ein QM/MM-Hybridssystem berechnet, bei dem MBMH das QM-Fragment bildet und das Lösungsmittel molekülmechanisch erfaßt wird (vergleiche Abbildung 24 d). Das MM-Fragment bildete dabei eine  $18.2 \text{ \AA}$  Kugel aus 912 flexiblen TIP3P-Wassermolekülen, in deren Mitte das QM-Fragment MBMH eingebettet war. Um die Ladungsneutralität herzustellen, enthielt das System außerdem zwei Na-Ionen und drei Cl-Ionen. Das gesamte MBMH-Wasser-System wurde durch ein weiches Randpotential [93, 144] eingeschlossen und für 200 ps in einer rein molekülmechanischen MD-Simulation bei einer Temperatur von 300 K equilibriert. Die für diese MD-Simulation nötigen *bonded*-Parameter und van der Waals Parameter für MBMH wurden aus dem CHARMM-Kraftfeld abgeleitet. Die Partialladungen für die molekülmechanische Behandlung von MBMH wurden nach dem Verfahren von Singh und Kollman [135] durch CPMD berechnet und sind in Anhang B in Abbildung 40 dokumentiert.

Nach der Equilibrierungsphase des MBMH-Wasser-Systems wurde eine weitere 200 ps MD-Trajektorie berechnet. Ausgehend von Strukturschnappschüssen nach jeweils 10 ps wurde das System innerhalb von 200 fs auf nahezu null Kelvin abgekühlt. Dieses sehr schnelle „Einfrieren“

der Wasserkugel führt zu Gleichgewichtskonfigurationen, welche Schnappschüsse der Struktur von flüssigem Wasser darstellen. Zur Einsparung von Rechenzeit wurde die Abkühlprozedur anfangs rein molekülmechanisch durchgeführt. Nachdem die Kräfte für jedes Atom unter 1 kcal/mol Å gefallen waren, wurde die quantenmechanische Behandlung von MBMH eingeschaltet. Für dieses QM/MM-Hybridssystem wurde das Abkühlen anschließend solange weitergeführt, bis die auf die QM-Atome wirkenden Kräfte den Wert 1 kcal/mol Å unterschritten hatten. Für jeden der auf diese Weise ermittelten Schnappschüsse der Lösungsumgebung wurde das IR-Spektrum von MBMH in harmonischer Näherung berechnet. Das im weiteren mit *solv* bezeichnete IR-Spektrum für MBMH wurde durch Mittelung der Strukturschnappschuß-Spektren gewonnen.

## 7.1.2 Ergebnisse

### a.) DFT und der Protonierungseffekt der Schiffchen Base

In Abbildung 25 sind die Lagen der C=N- und der C=C-Schwingungsmoden für die *in vacuo* mit BLYP berechneten Moleküle MBM und MBMH den experimentellen Frequenzen der Vergleichs-Schiff-Basen VSB und VSBH gegenübergestellt. Bei VSB erkennen wir, daß bei Protonierung von VSB die C=N-Mode um  $52\text{ cm}^{-1}$  blauverschoben wird, während die C=C-Mode um  $19\text{ cm}^{-1}$  rotverschoben wird. Bei Protonierung vertauschen also die C=N- und die C=C-Moden ihre spektrale Reihenfolge.

Abbildung 25 zeigt auch, daß ein analoger Effekt der Vertauschung der spektralen Reihenfolge der C=N- und C=C-Moden bei Protonierung durch unsere DFT-Rechnung für das Molekül MBM vorhergesagt wird. Bei dieser Rechnung führt die Protonierung von MBM zu einer Blauverschiebung der C=N-Mode um  $5\text{ cm}^{-1}$  und zu einer Rotverschiebung der C=C-Mode um  $64\text{ cm}^{-1}$ . Dieser Effekt wird durch Hartree-Fock-Rechnungen, bei denen Korrelationseffekte unzureichend berücksichtigt werden, nicht reproduziert, auch wenn die relative Lagen der C=N- und C=C-Moden im protonierten Fall richtig vorhergesagt werden [18,156].

Allerdings fällt die berechnete Blauverschiebung ( $5\text{ cm}^{-1}$ ) der C=N-Mode bei Protonierung von MBM kleiner als die bei VSB beobachtete Blauverschiebung ( $52\text{ cm}^{-1}$ ) aus. Andererseits ist die für MBM berechnete Rotverschiebung der C=C-Mode ( $64\text{ cm}^{-1}$ ) größer als die bei VSB beobachtete Rotverschiebung ( $19\text{ cm}^{-1}$ ). Falls man VSB für ein adäquates Modell für MBM hielte, so würde man zunächst schließen, daß die DFT-Rechnung die Beobachtung zwar qualitativ richtig beschreibt, aber quantitativ noch keineswegs überzeugt. Dabei sollten wir allerdings bedenken, daß die MBM- und MBMH-Schwingungsspektren *in vacuo* berechnet wurden, während die VSB- und VSBH-Spektren in  $\text{CHCl}_3$  gemessen wurden. Deshalb ist eine Beurteilung der Qualität der DFT-Rechnung erst möglich, wenn für MBMH die Lösungsmittel-

umgebung berücksichtigt wird. Dies nehmen wir nun im nächsten Abschnitt, beginnend mit dem 3 Å Gegenionmodell, in Angriff.

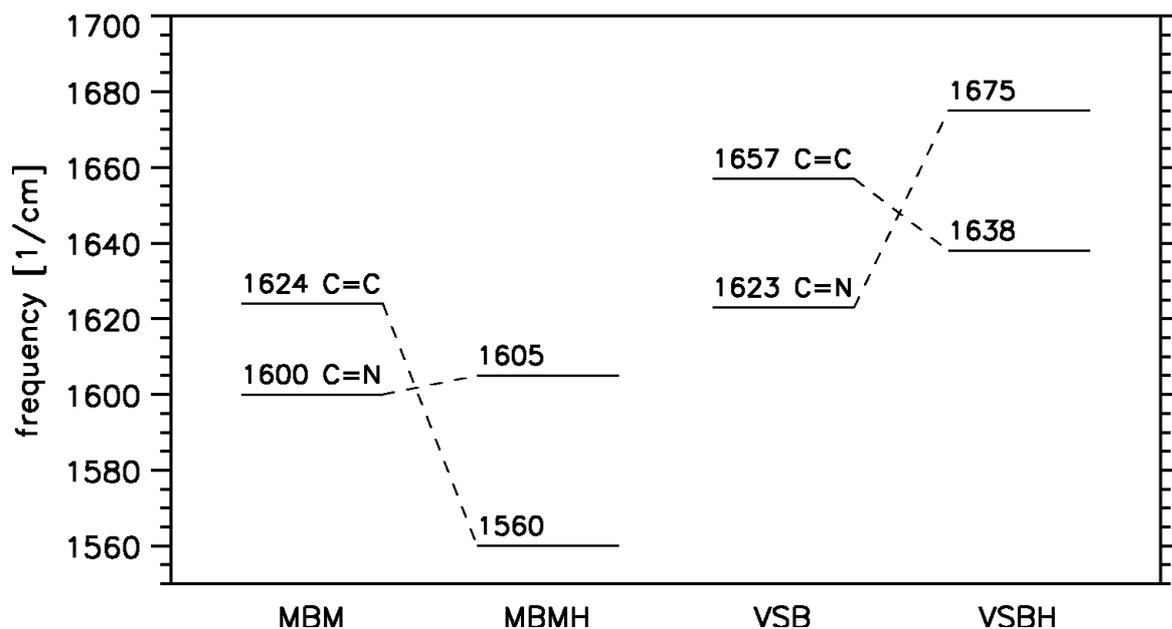


Abbildung 25: Lage der C=N- und C=C-Moden bei Protonierung von MBM; zum Vergleich sind außerdem die entsprechenden experimentellen Werte für die Vergleichs-Schiff-Base VSB dargestellt.

### b.) DFT und die Polarisierbarkeit von MBMH

Die in Abbildung 26 gezeigten Spektren von MBMH illustrieren anhand der Lagen der C=N-Mode, der C=C-Mode sowie der NH-*rock*-Mode den Einfluß eines externen elektrostatischen Feldes auf das leicht polarisierbare  $\pi$ -Elektronensystem dieses Moleküls. Die mittlere Spalte zeigt das BLYP-Spektrum von MBMH im Feld eines 3 Å entfernten Gegenions. Es ist dem BLYP-Spektrum von MBMH *in vacuo* (links von der mittleren Spalte) und dem experimentell beobachteten Spektrum *Exp* in wäßriger Lösung (rechts von der mittleren Spalte) gegenübergestellt. Das Ergebnis einer Hartree-Fock-Rechnung, bei der ein Gegenionabstand von 2 Å verwendet wurde [160], ist in der rechten Spalte dargestellt. Um ferner die Frequenzverschiebungen der C=N- und der C=C-Mode bei Protonierung im Feld eines Gegenions beurteilen zu können, ist in der linken Spalte von Abbildung 26 nochmals das BLYP-Spektrum des unprotonierten Moleküls MBM *in vacuo* dargestellt.

Im Vergleich zum BLYP-Spektrum des reinen Kations MBMH *in vacuo* wird im Gegenionmodell die C=N-Mode um  $23 \text{ cm}^{-1}$  und die C=C-Mode um  $17 \text{ cm}^{-1}$  blauverschoben. Als Protonierungseffekt von MBM ergibt sich damit eine Blauverschiebung der C=N-Mode von  $28 \text{ cm}^{-1}$ , während die C=C-Mode um  $47 \text{ cm}^{-1}$  rotverschoben wird. Die Protonierungseffekte

werden damit durch das Gegenionmodell quantitativ besser als durch die Rechnung für das isolierte MBMH-Kation reproduziert, wenn man als Maßstab die bei VSB experimentell beobachteten Protonierungseffekte heranzieht. Allerdings ist die Blauverschiebung der C=N-Mode noch immer um  $24\text{ cm}^{-1}$  zu klein, und die Rotverschiebung der C=C-Mode noch immer um  $28\text{ cm}^{-1}$  zu groß.

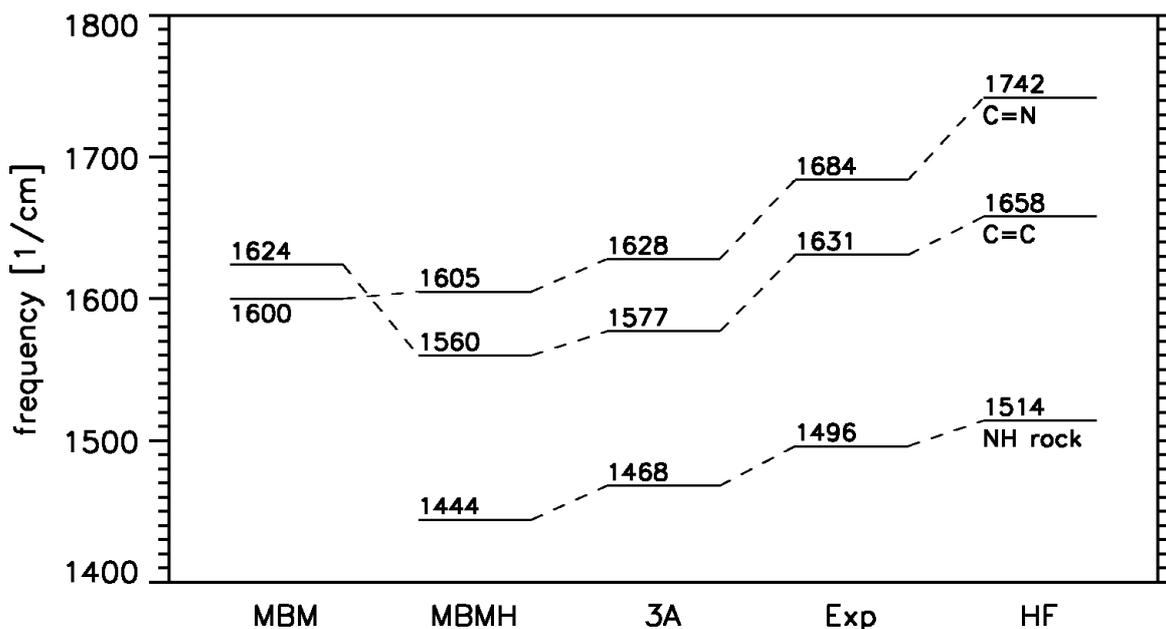


Abbildung 26: Einfluß des externen Feldes eines Gegenions in  $3\text{ \AA}$  Abstand für das mit BLYP behandelte Molekül MBMH auf die C=N-, C=C- und die NH-rock-Mode; zum Vergleich ist das entsprechende experimentell beobachtete Spektrum von MBMH in Wasser [160] dargestellt; das mit HF gekennzeichnete Spektrum in der rechten Spalte stellt das Ergebnis der in [160] durchgeführten Hartree-Fock-Rechnung dar (dabei wurden alle Frequenzen mit dem Faktor 0.9 skaliert), bei der ein Gegenionabstand von  $2\text{ \AA}$  Abstand angesetzt wurde.

Neben der C=N- und der C=C-Mode wird auch die NH-rock-Mode im  $3\text{ \AA}$  Gegenionmodell gegenüber MBMH *in vacuo* blauverschoben, und zwar um  $24\text{ cm}^{-1}$ . Durch die Blauverschiebungen dieser drei Moden nähert sich das Gegenion-Spektrum dem tatsächlich beobachteten Lösungsmittelspektrum etwas an. Das bisher in Literatur häufig eingesetzte Verfahren, eine komplexe Lösungsumgebung durch ein einfaches Gegenionmodell zu beschreiben, bewirkt also in der von uns gewählten DFT-Behandlung gegenüber dem isolierten Kation eine deutlich bessere Beschreibung. Allerdings fällt der durch das Gegenion modellierte Lösungsmiteleinfluß zu schwach aus, so daß die C=N- und die C=C-Frequenzen immer noch um etwa  $50\text{ cm}^{-1}$  unterschätzt werden. Trotz dieser systematischen Rotverschiebung wird der experimentell beobachtete C=N/C=C-Frequenzabstand von  $51\text{ cm}^{-1}$  durch das Gegenionmodell ( $53\text{ cm}^{-1}$ ) sehr genau reproduziert.

Das in Abbildung 26 rechts gezeigte Hartree-Fock-Spektrum (HF) [160] ist gegenüber dem experimentell beobachteten Spektrum stark blauverschoben, da Kraftkonstanten durch Hartree-Fock-Rechnungen bekanntermaßen stark überschätzt werden. Obwohl diesem Umstand im gezeigten Spektrum durch Skalierung aller Frequenzen um den Faktor 0.9 bereits Rechnung getragen worden ist, werden die C=N-Frequenz noch um  $58 \text{ cm}^{-1}$  und der C=N/C=C-Frequenzabstand noch um  $31 \text{ cm}^{-1}$  überschätzt. Diese Ergebnisse zeigen also, daß das *unskalierte* BLYP-Gegenionspektrum deutlich besser als das *skalierte* Hartree-Fock-Gegenionspektrum abschneidet.

Insgesamt ist damit gezeigt, daß das BLYP-Verfahren die Effekte der Protonierung und äußere Felder auf Schiffische Basen von Polyenen qualitativ korrekt und quantitativ in befriedigender Weise zu beschreiben vermag. Damit können wir uns der Anschlußfrage zuwenden, ob die Lösungsumgebung durch unseren neuen Hybridansatz besser als durch die bisher üblichen Gegenionmodelle beschrieben wird.

### c.) Hybridmodell von MBMH in Wasser

Abbildung 27 vergleicht die Frequenzen von fünf ausgewählten MBMH-Schwingungsmoden (C=N-, C=C-, NH-*rock*-, CH-*rock*- und C-C-Mode), die für verschiedene Modelle berechnet wurden, mit dem experimentell beobachteten Spektrum [160] (rechte Spalte, *Exp*). Die ersten beiden Spalten der Abbildung zeigen das Spektrum von MBMH *in vacuo* und das 3 Å Gegenionspektrum. In der dritten Spalte sind die Frequenzen und Halbwertsbreiten des ensemblegemittelten Hybridmodellspektrums *solv* dargestellt. Abbildung 29 zeigt den gesamten Inten-

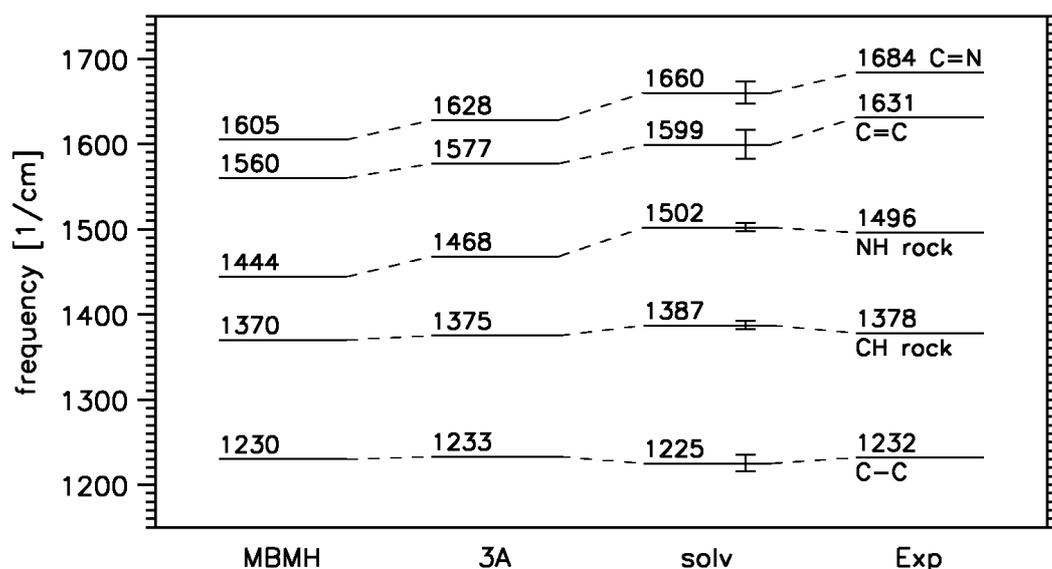


Abbildung 27: Schwingungsspektrum fünf ausgewählter Moden für MBMH; 3A bezeichnet das Gegenionmodell, *solv* das ensemblegemittelte Hybridmodell und *Exp* das experimentell beobachtete Spektrum.

sitätsverlauf des *solv*-Spektrums im Frequenzbereich von 800 bis 1700  $\text{cm}^{-1}$  (durchgezogene Linie).

### (i) Lage der Frequenzen

Durch Vergleich des in Abbildung 27 gezeigten MBMH-Spektrums *in vacuo* mit dem *solv*-Spektrum erkennt man, daß die Berücksichtigung der Lösungsumgebung in unserer Hybridmodell-Rechnung eine starke Blauverschiebung der C=N-, C=C- und NH-*rock*-Mode um 40-60  $\text{cm}^{-1}$  bewirkt, während sich die spektrale Lage der CH-*rock*-Mode und der C-C-Mode nur wenig verändert hat. Auch im 3 Å Gegenionmodell hat sich die Lage dieser beiden Moden kaum verändert, so daß diesbezüglich das Gegenionmodell und die Hybridmodell-Rechnung quantitativ ein vergleichbares Ergebnis liefern. Mit den oben angeführten 40-60  $\text{cm}^{-1}$  fällt aber bei *solv* die Blauverschiebung der oberen drei Schwingungsmoden deutlich stärker als im 3 Å Gegenionmodell aus, so daß das experimentell beobachtete Spektrum besser durch das *solv*-Spektrum beschrieben wird als durch das Gegenionmodell-Spektrum. Dies ist bemerkenswert, da bei den Hybridmodell-Strukturschnappschüssen (siehe Abbildung 28), die dem *solv*-Spektrum zugrunde liegen, das Gegenion im Mittel ebenfalls etwa 3 Å von der Schiffchen Base entfernt war. Die zusätzlich starken Blauverschiebungen der C=N-, C=C- und NH-*rock*-Mode gegenüber dem 3 Å Gegenionmodell werden also durch die von den Wassermolekülen erzeugten elektrostatischen Felder verursacht.

Durch das Hybridmodell-Spektrum *solv* wird ferner der Protonierungseffekt für die C=N- und die C=C-Mode sehr gut erfaßt. Bei Protonierung von MBM weist das *solv*-Spektrum nun eine Blauverschiebung der C=N-Mode um 60  $\text{cm}^{-1}$  auf, während die C=C-Mode gegenüber MBM um 25  $\text{cm}^{-1}$  rotverschoben ist. Diese Werte stimmen sehr gut mit dem Protonierungseffekt der Vergleichs-Schiff-Base VSB überein, für die eine Blauverschiebung der C=N-Mode um 52  $\text{cm}^{-1}$  und eine Rotverschiebung der C=C-Mode um 19  $\text{cm}^{-1}$  beobachtet wurden.

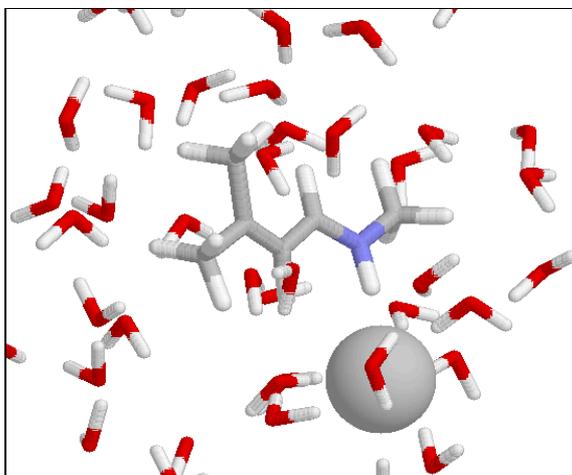


Abbildung 28: Strukturschnappschuß der Lösungsumgebung des in TIP3P-Wasser gelösten, quantenmechanisch behandelten Moleküls MBMH; die graue Kugel zeigt ein sich nahe der Schiffchen Base befindliches Chlorion.

Allerdings ist die Übereinstimmung zwischen Hybridmodellspektrum und dem experimentell beobachteten Spektrum nicht perfekt. So werden die Frequenzen der C=N- und C=C-Mode noch immer um etwa  $30\text{ cm}^{-1}$  unterschätzt, wobei der C=C/NH-*rock*-Frequenzabstand nur  $97\text{ cm}^{-1}$ , anstatt der tatsächlich beobachteten  $135\text{ cm}^{-1}$  beträgt. Der geringe C=C/NH-*rock*-Frequenzabstand kann nun dazu führen, daß in der Hybridmodellrechnung *solv* die C=C-Mode und die NH-*rock*-Mode stärker als in Wirklichkeit gemischt sind. Diese Frage werden wir weiter unten noch genauer mittels der Analyse von Isotopeneffekten untersuchen. Bevor wir uns allerdings diesem Punkt zuwenden, wollen wir zunächst noch die inhomogene Linienverbreiterung und die Intensitäten der ausgewählten Moden diskutieren. Dazu betrachten wir das in Abbildung 29 gezeigte ensembledemittelte Hybridmodellspektrum *solv*.

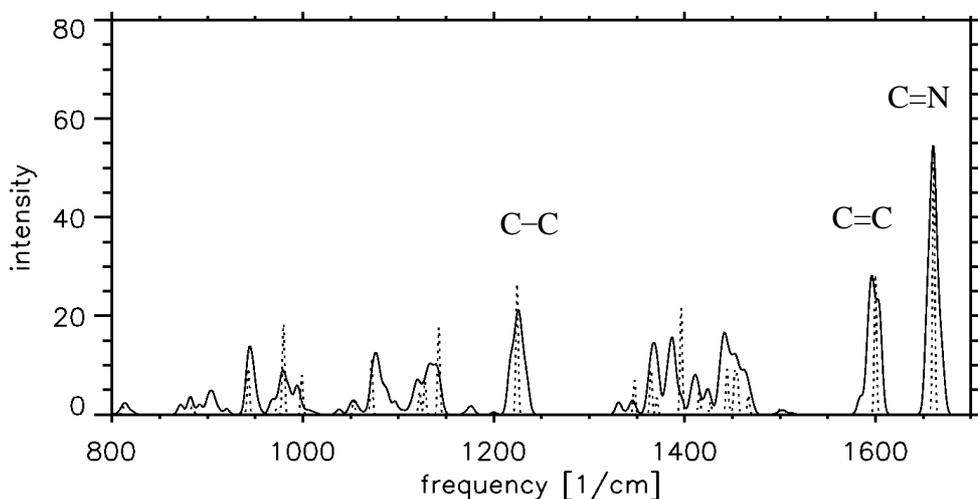


Abbildung 29: Berechnetes IR-Intensitätsspektrum von in Wasser gelöstem MBMH; mit durchgezogener Linie ist das ensembledemittelte Hybridmodellspektrum *solv* gezeichnet; mit punktierter Linie ist das Spektrum von MBMH für einen Strukturschnappschuß der Wasserumgebung dargestellt; für die Berechnung des Strukturschnappschuß-Spektrums wurde für jede Schwingungsmode eine gaußförmige Linienform mit der Halbwertsbreite  $3\text{ cm}^{-1}$  angenommen; das IR-Intensitätsprofil des ensembledemittelten Hybridmodellspektrums *solv* hat sich durch Mittelung über alle Strukturschnappschuß-Spektren ergeben.

## (ii) Inhomogene Linienverbreiterung und Intensitäten

Anhand der in Abbildung 27 eingezeichneten Halbwertsbreiten im Hybridmodellspektrum erkennen wir, daß die Berücksichtigung eines Ensembles an Lösungsmittelkonfigurationen bei der C=C- und der C=N-Mode zu einer starken inhomogenen Linienverbreiterung führt, während der Lösungsmiteleinfluß auf die C-C-, die NH-*rock*- und CH-*rock*-Mode diesbezüglich kleiner ausfällt. Um zu verdeutlichen, wie stark das Schwingungsspektrum eines Strukturschnappschusses von dem mit durchgezogener Linie gezeichneten, ensembledemittelten

Spektrum abweichen kann, ist in Abbildung 29 mit punktierter Linie das Intensitätsspektrum eines herausgegriffenen Strukturschnappschusses eingezeichnet, wobei für jede Schwingungs-mode eine gaußförmige Linienform mit der Halbwertsbreite  $3\text{ cm}^{-1}$  angenommen wurde. Man erkennt, daß einige Peaks des Schnappschuß-Spektrums *hinsichtlich Lage und Intensität* stark vom ensembledemittelten Spektrum abweichen. Dies belegt, daß für die Berechnung realistischer IR-Spektren gelöster Moleküle tatsächlich über ein Ensemble an Lösungsmittelstrukturen gemittelt werden muß.

Ein direkter Vergleich der durch die Hybridmodell-Rechnung vorhergesagten IR-Intensitäten mit den wirklich beobachteten IR-Intensitäten kann an dieser Stelle leider noch nicht vorgenommen werden, da entsprechende experimentelle Daten noch nicht vorliegen<sup>9</sup>. Deshalb ist das in Abbildung 29 gezeigte Intensitätsspektrum als Vorhersage anzusehen. Für einen ungefähren Vergleich der IR-Intensitäten können wir jedoch das in  $\text{CHCl}_3$  gemessene IR-Spektrum der Vergleichs-Schiff-Base VSBH [157] heranziehen. Dabei stellen wir eine weitgehend gute Übereinstimmung mit unserem berechneten MBMH-*solv*-Spektrum fest. Wie in unserem MBMH-*solv*-Spektrum ist beispielsweise die C=N-Mode auch im VSBH-Spektrum die intensivste Mode.

### (iii) Isotopeneffekte

Im weiteren wollen wir die Modenzusammensetzung der C=N-, C=C- und C-C-Mode anhand von Isotopeneffekten noch genauer charakterisieren. Hierzu vergleichen wir die für das Hybridmodell berechneten Isotopeneffekte mit den beobachteten Isotopeneffekten aus Resonanz-Raman-Messungen [160]. Wir untersuchen zwei mit Deuterium (D) markierte Isotopomere von MBMH. Zum einen ersetzen wir das Wasserstoffatom am Stickstoffatom (ND) und zum anderen das Wasserstoffatom am  $\text{C}_{15}$ -Atom (15D) durch Deuterium. Außerdem markieren wir in dem dritten Isotopomer gleichzeitig das  $\text{C}_{14}$ -Atom und das  $\text{C}_{15}$ -Atom mit dem Kohlenstoffisotop  $^{13}\text{C}$ . Die experimentell beobachteten und für das *solv*-Modell berechneten Frequenzverschiebungen sind in Tabelle 2 aufgeführt. In Tabelle 6 (Anhang B) sind zusätzlich die berechneten Isotopeneffekte für MBMH *in vacuo* und für das 3 Å Gegenionmodell aufgelistet.

---

<sup>9</sup> In der Arbeitsgruppe von F. Siebert von der Uni Freiburg scheiterten derartige Messungen bisher an präparativen Schwierigkeiten.

	ND			15D			<sup>13</sup> C <sub>14</sub> , <sup>13</sup> C <sub>15</sub>		
	C=N	C=C	C–C	C=N	C=C	C–C	C=N	C=C	C–C
<i>solv</i>	-37	-22	+12	-14	-4	+30	-14	-24	-17
<i>Exp</i>	-27	-3	+15	-13	-3	+25	-27	-25	-13

Tabelle 2: Verschiebung der Frequenzen in  $\text{cm}^{-1}$  für die C=N-, C=C- und C–C-Mode bei Deuterierung des Wasserstoffatoms am Stickstoffatom, am C<sub>15</sub>-Atom bzw. bei gleichzeitiger Markierung des C<sub>14</sub>- und C<sub>15</sub>-Atoms mit dem <sup>13</sup>C-Isotop; in der ersten Spalte sind die Ergebnisse unserer Hybridmodell-Rechnung aufgeführt, in der zweiten Spalte die aus [160] entnommenen experimentellen Ergebnisse.

Aus Tabelle 2 lesen wir ab, daß die Hybridmodell-Rechnung den Isotopeneffekt der C–C-Mode im ND-markierten Molekül sehr gut reproduziert. Für den ND-Isotopeneffekt wird bei der C=N- und bei der C=C-Mode eine zu starke Rotverschiebung vorhergesagt. Bei der C=N-Mode wird der Isotopeneffekt um  $10\text{ cm}^{-1}$  überschätzt, bei der C=C-Mode gar um  $19\text{ cm}^{-1}$ . Dieser Befund bestätigt die bereits weiter oben angeführte Vermutung, daß bei der C=N- und C=C-Mode in der Hybridmodell-Rechnung eine zu starke Beimischung der NH-rock-Mode vorliegt, die aus dem zu kleinen Frequenzabstand der NH-rock-Mode zur C=C-Mode herrührt.

Tabelle 2 zeigt ferner, daß im Falle des 15D-markierten Moleküls alle Isotopeneffekte richtig wiedergegeben werden. Auch für das <sup>13</sup>C<sub>14</sub>, <sup>13</sup>C<sub>15</sub>-markierte Molekül werden für die C=C- und die C–C-Mode die Isotopeneffekte richtig wiedergegeben. Lediglich für die C=N-Mode fällt im Hybridmodell der Isotopeneffekt um  $13\text{ cm}^{-1}$  zu klein aus.

Um die Vorhersage des in Abbildung 29 gezeigten IR-Spektrums von MBMH in Lösung zu ergänzen, sind in Abbildung 30 für die oben untersuchten Isotopomere die entsprechend berechneten IR-Absolutspektren dargestellt. Zudem sind in dieser Abbildung in verkleinerter Form IR-Differenzspektren gezeigt, wobei jeweils das Spektrum eines Isotopomers vom Spektrum des unmarkierten Moleküls subtrahiert wurde. Derartige Spektren können etwa in FTIR-Experimenten gemessen werden.

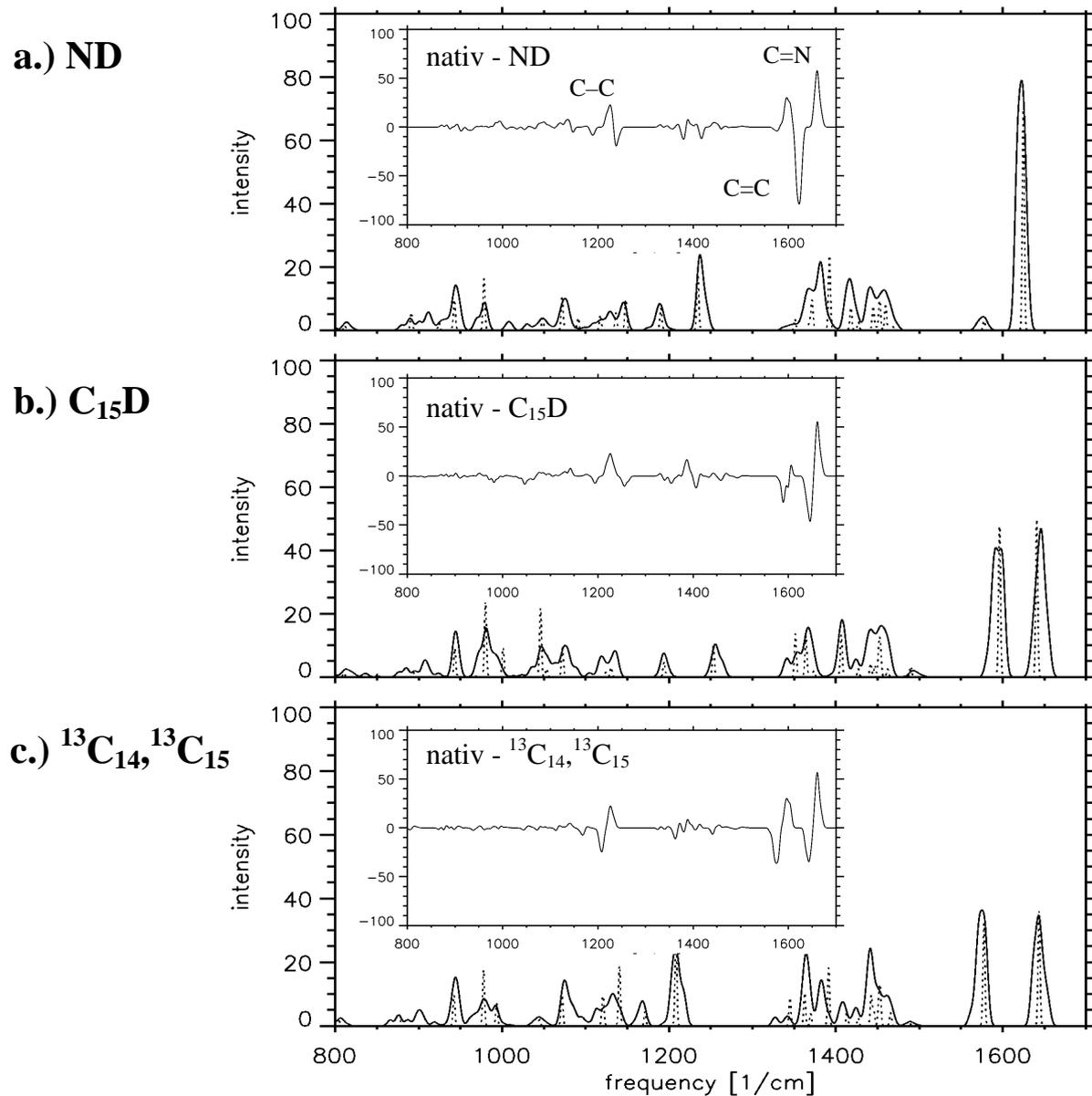


Abbildung 30: Berechnete, ensemblemittelte IR-Absolutspektren für drei Isotopomere von MBMH in Lösung; die kleinen, eingesetzten Plots stellen IR-Differenzspektren dar, wie sie von FTIR-Experimenten gemessen werden können; mit punktierter Linie ist das Spektrum des auch in Abbildung 29 gezeigten Spektrums eines Strukturschnappschusses eingezeichnet.

**e.) Zusammenfassung**

Die oben durchgeführte Untersuchung an dem Kation MBMH hat gezeigt, daß die von uns gewählte DFT-Beschreibung mit dem BLYP-Funktional zur Behandlung der Elektronen-Korrelationseffekte im konjugierten  $\pi$ -Elektronensystem von Schiffchen Basen sehr gut geeignet ist. Ferner hat die Hybridmodell-Rechnung des in TIP3P-Wasser gelösten Kations bestätigt, daß unsere Hybridmethode den Lösungsmiteleinfluß sehr viel realistischer als ein einfaches Gegenionmodell erfassen kann. Andererseits zeigten unsere Untersuchungen auch, daß das einfache Gegenionmodell den Lösungsmiteleinfluß auf MBMH zumindest qualitativ richtig beschreiben konnte, so daß die in der Vergangenheit vielfach durchgeführten Gegenionmodellstudien ihre Berechtigung hatten.

Bei der Bewertung von berechneten IR-Spektren für diese Klasse von Molekülen muß jedoch beachtet werden, daß die Kraftkonstanten der C=N- und C=C-Bindungen durch die gewählte DFT-Behandlung offensichtlich unterschätzt werden. Als Folge mischen die C=N- und C=C-Moden zu stark mit der NH-*rock*-Mode, wodurch der ND-Isotopeneffekt überschätzt wird.

Nach der nun erfolgten Validierung der von uns eingesetzten Methoden sind wir zuversichtlich, im nächsten Abschnitt anhand von berechneten IR-Spektren etwas über die Geometrie und Lage des Retinalchromophors in der Bindungstasche von BR lernen zu können.

## 7.2 Die protonierte Retinal-Schiff-Base in BR<sub>568</sub>

Wie bereits in der Einleitung erwähnt worden ist, haben die Ergebnisse von Resonanz-Raman- und FTIR-Messungen wertvolle Informationen über die lichtinduzierten Geometrieänderungen des Schiffischen Base von Retinal im Verlaufe des in Abbildung 31 dargestellten Photozyklus von BR erbracht [14-20]. So ergab die Analyse von Schwingungsspektren, daß der primäre Schritt des Photozyklus (BR<sub>568</sub> ⇒ J<sub>625</sub>) eine Isomerisierung der *all-trans* Retinal-Schiff-Base in die 13-*cis*-Form [14] oder – diese Frage ist noch unentschieden – in die von Schulten und Tavan [10] vorgeschlagene 13,14-*cis*-Form ist. Ferner zeigt sich auch der Deprotonierungsschritt (L<sub>550</sub> ⇒ M<sub>412</sub>) der Schiffischen Base nicht nur deutlich im optischen Spektrum, sondern vor allem auch im Schwingungsspektrum. So erfährt bei Deprotonierung die später noch genauer diskutierte C=N-Schwingungsmode eine Rotverschiebung um über 20 cm<sup>-1</sup>, während die [C=C]<sub>+</sub>-Schwingungsmode blauverschoben wird (siehe z.B. [18]).

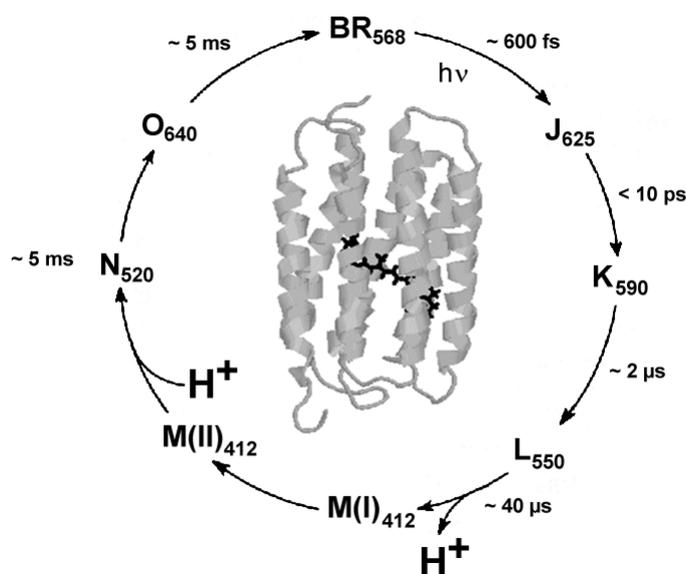


Abbildung 31: Der Photozyklus von BR; im Ausgangszustand BR<sub>568</sub> liegt die Retinal-Schiff-Base in der *all-trans*-Konformation vor; nach der Photoisomerisierung wird die Schiffische Base deprotoniert (L<sub>550</sub> ⇒ M<sub>412</sub>) und anschließend wieder reprotoniert (M(II)<sub>412</sub> ⇒ N<sub>520</sub>); nach der Reprotonierung findet eine thermisch aktivierte Rückisomerisierung von der *cis*- in die *all-trans*-Form statt (N<sub>520</sub> ⇒ O<sub>640</sub>).

Wenn auch mittels Analyse von Schwingungsspektren eine Reihe von Aussagen zur Struktur des Chromophors in der Bindungstasche von BR getroffen werden konnten, so ist an der bisher unentschiedenen Frage, ob eine Isomerisierung von der *all-trans*- in die 13-*cis*- oder in die 13,14-*cis*-Form bei BR stattfindet, abzulesen, daß die Chromophorgeometrie in BR aufgrund verschiedener Schwierigkeiten noch nicht vollständig aufgeklärt ist. Wie nämlich Großjean in

seiner Dissertation gezeigt hat [18-20], erfordert die Schwingungsanalyse für die Retinal-Schiff-Base außerordentliche Sorgfalt bei der Wahl der eingesetzten Methoden. So sind empirische Methoden zur Schwingungsanalyse, wie z.B. das Wilson-FG-Verfahren, für die Retinal-Schiff-Base ungeeignet, da das intramolekulare Kraftfeld in solchen Verfahren im wesentlichen durch lokale Kopplungen modelliert wird. Dies führt bei einem so stark polaren Molekül mit einem delokalisierten  $\pi$ -Elektronensystem wie bei der Retinal-Schiff-Base zu einer Fehlbeschreibung des Schwingungsspektrums [18].

Aber auch der Einsatz von quantenmechanischen Methoden zur Schwingungsanalyse war in der Vergangenheit mit Steinen gepflastert. Mangels Alternativen war man nämlich bei der quantenmechanischen Behandlung eines so großen Chromophors wie der Retinal-Schiff-Base gezwungen, auf die Hartree-Fock-Näherung zurückzugreifen, die, wie wir bereits im vorausgegangenen Abschnitt gesehen haben, für diese Klasse von Molekülen nicht geeignet ist [18-20]. So ist es bisher nicht gelungen, die reichhaltigen Informationen von in Resonanz-Raman- und FTIR-Messungen beobachteten Bandenverschiebungen strukturellen Eigenschaften des Chromophors in der Bindungstasche zuverlässig zuzuordnen. Außerdem war es bis jetzt nicht möglich, bei der quantenmechanischen Schwingungsanalyse der Retinal-Schiff-Base die Protein-Chromophor-Wechselwirkung adäquat zu erfassen, auch wenn, wie wir bei der kleinen Schiffischen Base gesehen haben, diesbezüglich der Einsatz von einfachen Gegenionmodellen qualitativ zu richtigen Ergebnissen führen kann.

Beispielsweise wurde in Gegenionmodellstudien [17,18] unter Verwendung der Hartree-Fock-Näherung gezeigt, daß das Alternierungsverhalten der Bindungslängen der C–C-Einfachbindungen und C=C-Doppelbindungen der Retinalpolyenkette sehr stark vom Protonierungszustand der Schiffischen Base und vom Abstand des Gegenions beeinflusst wird. Dabei wurde im deprotonierten Zustand ein ausgeprägtes Alternierungsverhalten von langen C–C-Einfachbindungen und kurzen C=C-Doppelbindungen beobachtet. Bei der protonierten Retinal-Schiff-Base *in vacuo* war die Bindungslängenalternierung größtenteils aufgehoben; im Feld eines nahen Gegenions bildete sich die Bindungslängenalternierung aber wieder aus. Gekoppelt mit der Bindungslängenalternierung erwiesen sich auch die Torsionsbarrieren um C–C-Einfachbindungen und C=C-Doppelbindungen als sehr stark vom Protonierungszustand und vom Feld eines Gegenions abhängig. In [17] wurde gezeigt, daß einhergehend mit der verringerten Bindungslängenalternierung die Torsionsbarrieren von C=C-Doppelbindungen nahe der protonierten Schiffischen Base so stark reduziert werden, daß eine thermische Rückisomerisierung von der *cis*-Konfiguration in die *all-trans* Konfiguration ( $N_{520} \Rightarrow O_{640}$ ) auf der Millisekunden Zeitskala möglich wird. Es ist daher interessant zu untersuchen, inwieweit Hybridmodell-Rechnungen die in [17] gewonnenen Ergebnisse reproduzieren bzw. modifizieren.

### 7.2.1 Die Chromophorbindungstasche

Gegenüber den in der Vergangenheit vorhandenen Problemen bei der Durchführung der Schwingungsanalysen der Retinal-Schiff-Base von BR stellt sich die Situation jetzt entscheidend günstiger dar. Zum einen begründet die im vorausgegangenen Abschnitt durchgeführte Untersuchung der kleinen Schiffischen Base die Hoffnung, daß durch das von uns eingesetzte DFT-Verfahren eine viel genauere quantenmechanische Behandlung des Retinalchromophors als früher gewährleistet ist. Zum zweiten haben wir durch unser Hybridverfahren die Möglichkeit, die Bindungstasche von BR realistisch, in atomarer Auflösung zu erfassen. Um aber das Hybridverfahren zur Interpretation von gemessenen Schwingungsspektren einsetzen zu können und daraus Aufschluß über die Chromophorgeometrie und die Protein-Chromophor-Wechselwirkung in den einzelnen Stadien des Photozyklus zu gewinnen, sollte ein möglichst genaues Strukturmodell der Chromophorbindungstasche vorhanden sein.

Nun erwies sich in der Vergangenheit die Strukturaufklärung von BR bedauerlicherweise als außerordentlich schwierig. Für eine ausführliche Diskussion dieses Themas sei auf die Dissertation von K. Döhring [161] verwiesen. Bisher ist es lediglich gelungen, BR-Kristalle des lichtadaptierten Ausgangszustands BR<sub>568</sub> zu erhalten, bei dem die protonierte Retinal-Schiff-Base in der *all-trans*-Konfiguration vorliegt. Aufgrund der geringen Fernordnung in diesen BR-Kristallen konnten aus Röntgenbeugungsmessungen nur ungenaue BR-Strukturmodelle abgeleitet werden, die eine Auflösung von bestenfalls 2.5 Å aufweisen [8,9]. Elektronen-Kryomikroskopie-Experimente an zweidimensionalen BR-Kristallen konnten bisher nur eine Auflösung von bestenfalls 3.0 Å liefern [5-7]. Die Auflösung der BR-Strukturmodelle liegt damit weit hinter der Genauigkeit, die für viele andere Proteine gegenwärtig standardmäßig erzielt wird<sup>10</sup>. Aufgrund der mangelnden Fernordnung der bisher gezüchteten BR-Kristalle<sup>11</sup>, konnte die Elektronendichte des Chromophors überhaupt noch nicht direkt beobachtet werden, so daß auf dessen Geometrie und dessen Lage in der BR-Bindungstasche nur mittels heuristischer Überlegungen geschlossen wurde (siehe z.B. [16,162] und Referenzen darin).

Den oben zitierten Strukturmodellen [5-9,16] zufolge zeichnet sich hinsichtlich der Lage des Chromophors gegenwärtig das folgende Bild ab: In dem in eine Lipidmembran-Wasser-Grenzschicht eingebauten BR-Protein befindet sich die C=N-Gruppe der Retinal-Schiff-Base etwa in der Mitte der Lipidmembran. Der Cyclohexenring von Retinal liegt näher auf der extra-

---

<sup>10</sup> Standardmäßig werden für viele Proteine Auflösungen besser als 1.5 Å erzielt.

<sup>11</sup> Die Koordinatensätze der 1997 veröffentlichten Strukturen von Kimura *et al.* [7] (3.0 Å Auflösung) und von Pebay-Peyroula *et al.* [9] (2.5 Å) sind noch nicht öffentlich zugänglich, so daß sie in der vorliegenden Arbeit nicht in Betracht gezogen werden konnten.

zellulären Seite, die sich in Abbildung 1 unten befindet. Die Verbindungslinie zwischen dem C<sub>5</sub>-Atom und dem N-Atom der Schiff'schen Base (vergleiche Abbildung 2) gibt die Längsrichtung des Chromophors an und nimmt einen Winkel von etwa 70° mit der Membrannormalen ein. Die Ebene der Polyenkette ist senkrecht zur Membranebene orientiert, wobei die N–H-Bindung der Schiff'schen Base zur extrazellulären Seite und die Methylsubstituenten an C<sub>5</sub>, C<sub>9</sub> und C<sub>13</sub> zur cytoplasmatischen Seite zeigen.

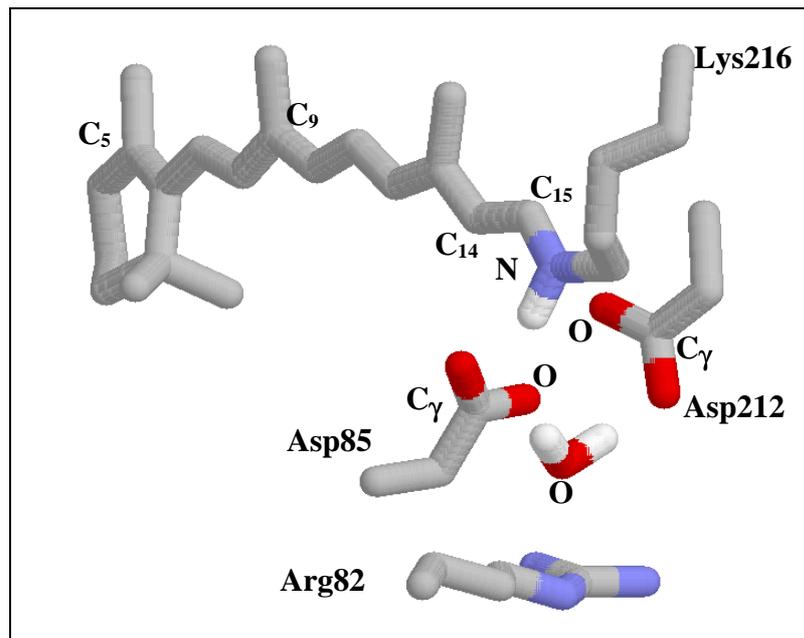


Abbildung 32: Blick in die Bindungstasche von BR<sub>568</sub>; die dargestellte Struktur geht auf das BR-Modell von Grigorieff *et al.* [6] zurück; neben der protonierten Retinal-Schiff-Base in der *all-trans*-Form sind die negativ geladenen Seitengruppen von Asp85 und Asp212 sowie die positiv geladene Seitengruppe von Arg82 gezeigt; zwischen den Aspartaten ist ein Wassermolekül dargestellt; die Retinal-Schiff-Base ist kovalent an die Seitenkette von Lys216 mit dem Proteinrückgrat (nicht dargestellt) verbunden.

Begibt man sich mit der Augenhöhe etwa in die Mitte der Lipidmembran (siehe Abbildung 1) und blickt von der Schiff'schen Base aus die Retinalpolyenkette entlang in Richtung des Cyclohexenrings, dann befindet sich bei BR<sub>568</sub>, wie in Abbildung 32 gezeigt ist, links unterhalb der Schiff'schen Base die negativ geladene Carboxylgruppe von Asp85 und rechts davon die Carboxylgruppe von Asp212. Außerdem ist die in BR positiv geladene Seitengruppe von Arg82 eingezeichnet, die im Verlauf des BR-Photozyklus eine wichtige Rolle bei dem Protonentransport durch den hydrophilen Kanal spielt. Die drei in Abbildung 32 gezeigten geladenen Aminosäureseitenketten bilden also zusammen mit der positiv geladenen Retinal-Schiff-Base einen Quadrupol, der aus zwei negativ und zwei positiv geladenen Zentren besteht. Wir

erkennen also, daß in der Bindungstasche von BR ein komplex strukturiertes elektrostatisches Feld herrscht, deren Details für die Protein-Chromophor-Wechselwirkung von entscheidender Bedeutung sein sollten. Auf die Darstellung aller anderen polaren Seitengruppen, die ebenfalls einen Beitrag zum elektrostatischen Feld in der Bindungstasche liefern, verzichten wir aus Gründen der Übersicht.

Des Weiteren ist bekannt, daß Wassermoleküle im hydrophilen Kanal von BR für den Protonentransport von Bedeutung sind (siehe [4,5,8,61] und Referenzen darin). Obwohl auch hierfür noch keine genauen Strukturmodelle vorliegen, gibt es Hinweise, daß eine hydrophile Kavität nahe der Schiffischen Base, in der bis zur drei Wassermoleküle enthalten sein könnten, einen Wasserkanal von der Schiffischen Base über Asp85 zu Arg82 bilden [8]. In Abbildung 32 ist ein solches Wassermolekül eingezeichnet, das sich in den weiter unten beschriebenen MD-Simulationen stabil nahe der Schiffischen Base eingefunden hat.

Abbildung 32 und das Vorhandensein von BR-Strukturmodellen darf jedoch nicht darüber hinweg täuschen, daß weder die genaue Geometrie der protonierten Retinal-Schiff-Base (z.B. die Krümmung und die Helizität der Polyenkette) noch die genaue Lage der Aminosäureseitengruppen in der BR-Bindungstasche bekannt sind. Für Experimentatoren wäre es aber bei der Auswertung ihrer Daten außerordentlich hilfreich, wenn sie beispielsweise wüßten, wie stark die Proteinumgebung die Geometrie der Retinal-Schiff-Base beeinflussen kann [163].

Zur Verdeutlichung der Tatsache, wie unsicher die derzeitigen BR-Strukturmodelle sind, ist in Tabelle 7 (Anhang C) die Lage der Retinal-Schiff-Base in der Bindungstasche für zwei Strukturmodelle dokumentiert. Das erste, mit BR1 bezeichnete BR-Modell basiert auf der im Jahre 1996 von Grigorieff *et al.* [6] veröffentlichten BR-Struktur mit einer Auflösung von 4.3 Å. Das zweite, mit BR2 bezeichnete BR-Modell stellt die zur Zeit noch unveröffentlichte Struktur von Essen *et al.* [8] mit einer Auflösung von 2.9 Å dar, die unserer Arbeitsgruppe freundlicherweise bereits jetzt zur Verfügung gestellt wurde. Anhand der Abstände zwischen den C<sub>γ</sub>-Atomen von Asp85 und Asp212 und dem Stickstoffatom der Schiffischen Base werden wir nun die wesentlichen Strukturunterschiede der Bindungstasche der beiden BR-Modelle charakterisieren.

Wie man aus der Tabelle 7 ablesen kann, ist in der BR2-Struktur Asp85 um 1 Å weiter von der Schiffischen Base entfernt als in der BR1-Struktur. In beiden Modellen ist Asp212 mit etwa 4 Å gleich weit von der Schiffischen Base entfernt. Bei BR2 ist der Abstand zwischen den beiden Asparaginsäuren mit 6.6 Å um 1.2 Å größer als in der BR1-Struktur. Bei BR2 ist das Proton der Schiffischen Base zu Asp212 hin orientiert, während es bei BR1 zu Asp85 hin orientiert ist. Welche dieser beiden Orientierungen in BR<sub>568</sub> tatsächlich vorliegt, ist also noch ungeklärt und Gegenstand gegenwärtiger Diskussion. Da beide Asparaginsäuren negativ geladen sind,

stellen beide Orientierungen der positiv geladenen Schiffischen Base potentiell stabile Konfigurationen dar.

Aufgrund der Qualität unserer Hybridmethode sind wir zuversichtlich, daß wir mittels Hybridmodell-Rechnungen die Frage entscheiden werden können, welche Orientierung der Schiffischen Base in BR<sub>568</sub> tatsächlich vorliegt. Sobald wir eines der Modelle als realistischer identifiziert haben, sollte es uns dann ferner möglich sein, eine Aussage über die Geometrie des Retinalchromophors in der Bindungstasche machen zu können.

Da der Rechenaufwand für die quantenmechanische Schwingungsanalyse des Chromophors sehr hoch ist (über eine Woche auf einem Vektor-Parallel-Rechner!), wird es uns nicht wie in Abschnitt 7.1 möglich sein, ein ensembledemitteltes IR-Spektrum für die beiden BR-Strukturen zu berechnen. Um trotzdem nicht gänzlich mit dem Makel behaftet zu sein, lediglich das Spektrum für einen Strukturschnappschuß der Proteinumgebung berechnet zu haben, werden wir durch rein molekülmechanische MD-Simulationen mittlere Proteinstrukturen ermitteln und darauf aufbauend eine Schwingungsanalyse der Retinal-Schiff-Base durchführen. Es soll an dieser Stelle nachdrücklich betont werden, daß die Verwendung einer mittleren Proteinstruktur sicherlich aussagekräftigere Ergebnisse liefert als ein willkürlich gewählter Strukturschnappschuß; das aus der mittleren Proteinstruktur gewonnene IR-Spektrum kann jedoch keinesfalls das in Realität beobachtete ensembledemittelte IR-Spektrum reproduzieren. Insbesondere enthält das für eine mittlere Proteinstruktur berechnete Schwingungsspektrum keine Information über die inhomogene Linienverbreiterung der einzelnen Banden.

### 7.2.2 Methoden

Nachdem wir nun die Ziele der angestrebten Untersuchung erklärt haben, nämlich (i) eine Entscheidung über die Orientierung der Schiffischen Base in BR<sub>568</sub> zu treffen und (ii) eine Vorhersage über die Geometrie der Retinal-Schiff-Base in der BR-Bindungstasche zu geben, beschreiben wir zunächst die Details der durchgeführten Hybridmodell-Rechnungen.

#### a.) Das QM-Fragment

Wie in Abbildung 33 durch die Farbgebung kenntlich gemacht ist, behandeln wir das ausgedehnte  $\pi$ -Elektronensystem der Retinal-Schiff-Base und den gesamten Cyclohexenring quantenmechanisch mit DFT. Außerdem nehmen wir die unmittelbar kovalent an die Schiffische Base gebundene CH<sub>2</sub>-Gruppe der Seitenketten von Lys216 in die quantenmechanische Beschreibung auf. Dadurch ist die Forderung aus Abschnitt 6.2.2 erfüllt, als elektronische Isolierung eine CH<sub>2</sub>-Gruppe zwischen das stark polare und polarisierbare  $\pi$ -Elektronensystem der Retinal-Schiff-Base und das MM-Fragment einzuschieben. Das QM-Fragment umfaßt zusammen mit dem Link-Atom damit 54 Atome. Für die DFT-Behandlung wurde das Austausch-

Korrelations-Funktional BLYP [126,127] und das Pseudopotential von Martins und Troullier [131] mit  $E_{\text{cut}} = 70 \text{ Ry}$  eingesetzt, also derselbe Parametersatz, der bereits erfolgreich bei der Schwingungsanalyse der kleinen Schiffsbasis in Abschnitt 7.1 verwendet wurde.

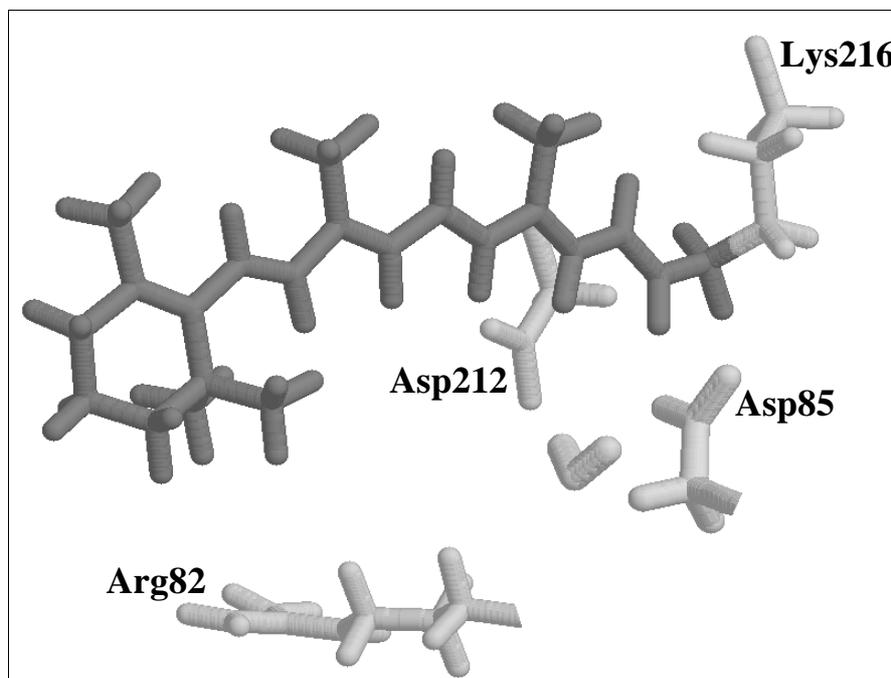


Abbildung 33: Darstellung des QM/MM-Hybridsystems; die Atome des QM-Fragments sind dunkelgrau, die Atome des MM-Fragments sind hellgrau gezeichnet; aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden nur die Seitenketten der Aminosäuren Asp85, Asp212 und Arg82 sowie die Seitenkette von Lys216 dargestellt, obwohl in den Hybridrechnungen das gesamte Protein und einige Wassermoleküle das MM-Fragment bildeten.

## b.) Die MM-Fragmente

Als Ausgangsbasis zur Konstruktion von Umgebungsmodellen dienten zum einen das bereits oben eingeführte und mit BR1 bezeichnete BR-Strukturmodell von Grigorieff *et al.* [6] sowie das mit BR2 bezeichnete BR-Strukturmodell von Essen *et al.* [8].

### (i) Anfeuchten der BR-Modelle

Da weder BR1 noch BR2 Wassermoleküle enthalten, fügten wir Wassermoleküle in beide Strukturmodelle ein. Als Vorlage bei der Platzierung der Wassermoleküle diente uns hierbei eine von Edholm *et al.* [61] durchgeführte MD-Simulation, bei der ein in eine Lipidmembran-

Wasser-Grenzschicht eingebettetes BR-Trimer untersucht wurde. Die Ausgangsstruktur<sup>12</sup> hierfür war die im Jahre 1990 veröffentlichte Henderson-Struktur von BR [5], die parallel zur Membranebene ein Auflösung von 3.5 Å und senkrecht dazu eine Auflösung von 7.8 Å aufwies. Während der von Edholm *et al.* beschriebenen MD-Simulation drangen einige Wassermoleküle in den Protonenleitungschanal und in die Proteinmatrix ein [61]. Einen im folgenden mit BR3 bezeichneten Strukturschnappschuß dieser MD-Simulation verglichen wir mittels eines *least-square-fit* Verfahrens mit den Strukturmodellen BR1 und BR2. Dadurch war es möglich, die meisten in BR3 vorhandenen Wassermoleküle an geeignete Stellen in BR1 und BR2 zu plazieren. Die auf diese Weise angefeuchteten BR-Modelle wurden, wie weiter unten beschrieben wird, in einer MD-Simulation bei 300 K equilibriert, so daß sich die Verteilungen der Wassermoleküle an die BR1- und BR2-Proteinmatrix anpassen konnten.

### (ii) Modellierung der Umgebungselektrostatik

Um in MD-Simulationen eine stabile Proteinstruktur von BR zu erhalten, müßte eigentlich die natürliche Umgebung, also eine wie in Abbildung 1 dargestellte Lipid-Wasser-Grenzschicht, in das Simulationssystem einbezogen werden (vergleiche hierzu auch [61]). Da uns jedoch kein geeignetes Computermodell einer Lipid-Wasser-Grenzschicht zur Verfügung stand, waren wir in den hier durchgeführten MD-Simulationen gezwungen, BR *in vacuo* zu simulieren. Dabei muß beachtet werden, daß BR einige Aminosäuren enthält, die in der üblichen CHARMM-Kraftfeldparametrisierung geladen sind. Die überwiegende Zahl dieser geladenen Aminosäuren ist aber *in vivo* dem Lösungsmittel Wasser ausgesetzt, so daß deren elektrostatisches Potential durch Dipole und Gegenionen effektiv abgeschirmt ist. Um diesen abschirmenden Effekt durch die in der Wasserphase eigentlich vorhandenen Ionen nachzubilden, haben wir die Partialladungen aller geladenen Residuen nahe der Proteinoberfläche so gewählt, daß sich für jede dieser Aminosäuren eine Nettoladung von null ergeben hat. Für die in BR<sub>568</sub> unprotonierten Residuen Asp85 und Asp212 sowie Arg82 im Inneren des Proteins wählten wir hingegen die Nettoladung  $-1 e$  bzw.  $+1 e$ . Da auch die protonierte Retinal-Schiff-Base eine Nettoladung von  $+1 e$  aufweist, ergab sich in unseren BR-Modellen BR1 und BR2 die Gesamtladung null.

Um den stabilisierenden Effekt der vernachlässigten Lipid-Wasser-Grenzschicht nachzubilden, wurden die meisten C<sub>α</sub>-Atome des Proteinrückgrats durch ein harmonisches Potential der Stärke 50 kcal/mol Å an ihre Ausgangspositionen in den jeweiligen BR-Modellen BR1 und BR2 gebunden. Nur die C<sub>α</sub>-Atome der Residuen nahe der Retinal-Schiff-Base waren hiervon

---

<sup>12</sup> Aufgrund verschiedener Überlegungen wurde von Edholm *et al.* die Henderson-Struktur durch *molecular modelling* vor der MD-Simulation leicht modifiziert. Zum einen wurde die  $\alpha$ -Helix D um 3 Å in cytoplasmatische Richtung verschoben, zum anderen wurde Arg82 in Richtung Asp82 rotiert.

ausgenommen, und zwar die Residuen 14-24, 47-58, 80-91, 114-124, 137-146, 177-187 und 208-223. Dadurch ist während der MD-Simulationen gewährleistet, daß der Retinal-Schiff-Base und den Aminosäureseitenketten, welche die BR-Bindungstasche bilden, genügend Spielraum für Strukturänderungen zur Verfügung steht. Außerdem wurden die Sauerstoffatome derjenigen Wassermoleküle, welche die Proteinmatrix nahe der Proteinoberfläche im Laufe einer MD-Simulation hätten verlassen können, durch ein schwaches harmonisches Potential der Stärke 0.5 kcal/mol Å an ihre Ausgangslage gebunden.

### c.) Equilibrierung

Die beiden BR-Modelle BR1 und BR2 wurden 200 ps lang mit einer Integrationsschrittweite von 1 fs bei einer Temperatur von 300 K equilibriert, wobei die Retinal-Schiff-Base molekülmechanisch behandelt wurde. Die H-Streckschwingungen wurden während dieser Equilibrierungsphase mit dem SHAKE-Algorithmus eingefroren. Die für die molekülmechanische Parametrisierung gewählten Partialladungen der Retinal-Schiff-Base wurden nach dem Verfahren von Singh und Kollman [135] berechnet und sind in Abbildung 41 (Anhang C) dokumentiert. Die Torsionspotentiale für C=C-Doppelbindungen und C-C-Einfachbindungen wurden anhand von MNDO-Rechnungen [17] abgeschätzt. Für die übrigen MM-Kraftfeldparameter der Retinal-Schiff-Base wurden die von Niedermeier [78] vorgeschlagenen Werte übernommen.

Ausgehend von einem Strukturschnappschuß nach der Equilibrierung von BR1 wurde durch Abkühlen auf eine Temperatur von nahezu null Kelvin innerhalb von 200 fs eine Gleichgewichtsstruktur ermittelt<sup>13</sup>. Nachdem die Kräfte für alle Atome kleiner als 1 kcal/mol Å waren, wurde die quantenmechanische Behandlung des Retinalchromophors eingeschaltet und solange weiter abgekühlt, bis alle Kräfte auf die QM-Atome kleiner als 1 kcal/mol Å waren. Die daraus entstandene, in Abbildung 34 b dargestellte Gleichgewichts-Schnappschußstruktur bezeichnen wir im weiteren mit BR1s.

Zudem wurden zur Berechnung von mittleren Proteinstrukturen eine 10 ps Simulation von BR1 und drei 10 ps MD-Simulationen von BR2 durchgeführt. Für jede dieser Trajektorien wurde die mittlere Position der schweren Proteinatome (alle Atome außer Wasserstoffatome) ermittelt. Die mittlere BR1-Struktur, die sich aus der 10 ps Simulation ergeben hat, bezeichnen wir mit BR1a und ist in Abbildung 34 a dargestellt (in vergrößerter Form wurde diese Struktur bereits in Abbildung 32 und, aus einem anderen Blickwinkel, in Abbildung 33 dargestellt).

---

<sup>13</sup> Die meisten C<sub>α</sub>-Atome wurden dabei weiterhin wie oben beschrieben durch das harmonische Potential an ihre Ausgangsposition gebunden.

Die Anfangsbedingungen der drei 10 ps Simulation von BR2 waren unterschiedlich gewählt. Für die erste MD-Simulation lag die in Abbildung 34 e dargestellte Konfiguration vor, die durch ein direkt an die Schiff-Base gebundenes Wassermolekül gekennzeichnet ist. Diese mit BR2b bezeichnete Konfiguration unterscheidet sich hinsichtlich der Lage des Wassermoleküls von der in Abbildung 34 a gezeigten Konfiguration im BR1a-Modell. Um den Vergleich der Schwingungsspektren mit diesem Modell nicht durch mögliche Artefakte aus den in den ursprünglichen BR-Strukturmodellen nicht vorgegebenen Positionen der Wassermoleküle zu behindern, wurde das Wassermolekül durch *molecular modelling* in die in Abbildung 34 f gezeigte Position verschoben. Die daraus durch Mittelung über 10 ps entstandene Struktur bezeichnen wir mit BR2c. Ferner wurde durch *molecular modelling* die Konfiguration der Lys216-Seitenkette des BR2-Modells an die Konfiguration im BR1-Modell angepaßt. Die daraus resultierende, über 10 ps gemittelte Struktur ist in Abbildung 34 d mit BR2a bezeichnet.

Ausgehend von diesen mittleren Strukturen wurden die Systeme innerhalb von 200 fs abgekühlt, wobei alle schweren Atome durch ein harmonisches Potential der Stärke 50 kcal/mol Å an ihre jeweilige mittlere Position gebunden waren. Spaßeshalber haben wir auch für das BR3-

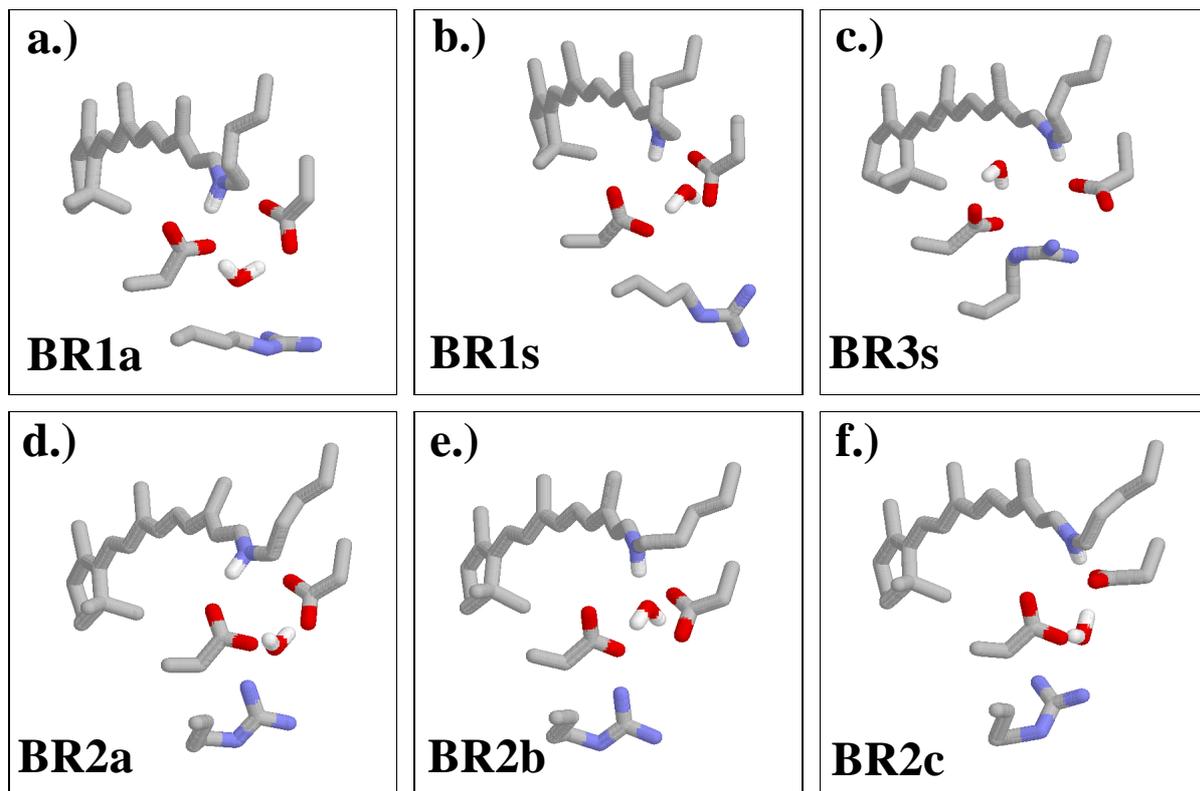


Abbildung 34: Lage und Geometrie der Retinal-Schiff-Base in den Bindungstaschen für die sechs in dieser Arbeit untersuchten BR-Modelle.

Modell, das aus der MD-Simulation von Edholm *et al.* [61] entstanden ist, die in Abbildung 34 c mit BR3s bezeichnete Gleichgewichts-Schnappschußstruktur berechnet.

### e.) Berechnung der Schwingungsspektren

Zur Berechnung der Schwingungsspektren für die oben vorgestellten BR-Hybridmodelle haben wir für die quantenmechanisch behandelte Retinal-Schiff-Base und für die molekülmechanisch behandelte Lys216-Seitenkette die massengewichtete Hesse-Matrix nach Gleichung (6.1) berechnet. Dadurch, daß bei der Berechnung der Hesse-Matrix auch die Lys216-Seitenkette berücksichtigt wird, ist sicher gestellt, daß auch solche Moden, die nicht vollständig innerhalb der Retinal-Schiff-Base lokalisiert sind, richtig beschrieben werden.

## 7.2.3 Ergebnisse

Da eine vollständige Auswertung und Interpretation aller erhaltenen Daten der durchgeführten Hybridmodell-Rechnungen den Rahmen dieser vorwiegend methodisch orientierten Arbeit sprengen würde, werden wir im nächsten Abschnitt nur eine Auswahl der physikalisch wichtigsten Ergebnisse diskutieren. Dabei beginnen wir mit einer kurzen Charakterisierung der in Abbildung 34 dargestellten Gleichgewichtsstrukturen, für die Schwingungsspektren berechnet wurden. Genaue Daten zur Lage des Chromophors in der Bindungstasche der untersuchten Modelle können Tabelle 7 (Anhang C) entnommen werden.

### a.) Lage der Retinal-Schiff-Base in der Bindungstasche

Im Strukturschnappschuß-Modell BR1s unterscheidet sich die Lage der Schiffischen Base bezüglich Asp85 und Asp212 nur geringfügig von derjenigen von Grigorieff *et al.* [6] vorgeschlagenen Struktur. In der gemittelten Struktur BR1a hingegen liegt die Schiffische Base um 0.7 Å näher an Asp85. Der Abstand zu Asp212 bleibt dahingegen nahezu unverändert. Ein weiterer Unterschied zwischen BR1s und BR1a besteht in der Orientierung des zwischen Asp85 und Asp212 eingeklemmten Wassermoleküls, das bei BR1s in van der Waals Kontakt mit dem Wasserstoffatom der Schiffischen Base steht. In BR1a ist das Wassermolekül von der Schiffischen Base weg orientiert und zeigt sich in dieser Lage stabil.

Gegenüber dem von Essen *et al.* [8] vorgeschlagenen BR-Strukturmodell liegt die Schiffische Base bei BR2a um 1.1 Å näher an Asp85, bei BR2b um 0.5 Å und bei BR2c um 0.6 Å. Gegenüber BR2 hat der Abstand von Asp212 bei BR2a und BR2b um jeweils 0.7 Å zugenommen, während er bei BR2c um 0.6 Å abgenommen hat. Besonders zu beachten ist, daß bei BR2c das Schiff-Basen-Proton zu Asp212 hin orientiert, während es bei BR2a zu Asp85 hin orientiert ist. Das Strukturmodell BR2a gleicht also bezüglich der Orientierung des Schiff-Basen-Protons dem BR1a-Modell und damit dem von Grigorieff *et al.* [6] vorgeschlagenen Modell.

Wie in Abbildung 34 c zu erkennen ist, ist in der BR3s-Schnappschußstruktur, die sich aus der von Edholm *et al.* [61] durchgeführten MD-Simulation ergeben hat, das Proton der Schiffchen Base wie bei BR2c zu Asp212 hin orientiert. Da das BR3s-Modell auf ein ungenaues BR-Strukturmodell mit einer im Vergleich zu BR1 und BR2 deutlich schlechteren Auflösung zurückgeht [5], werden wir BR3s nur am Rande diskutieren.

### b.) Bindungslängenalternierung und Ladungsverschiebung

Bevor wir anhand einer Analyse von Schwingungsspektren die Qualität der sechs in Abbildung 34 dargestellten Strukturen bewerten wollen, wollen wir zunächst das Bindungslängenalternierungsverhalten und die Ladungsverschiebung im Chromophor in unseren Hybridmodellen untersuchen. Dies wird es uns ermöglichen, den Anschluß zu früheren Gegenion-Modellrechnungen [17,18], die bereits in der Einführung zu diesem Abschnitt diskutiert wurden, herzustellen.

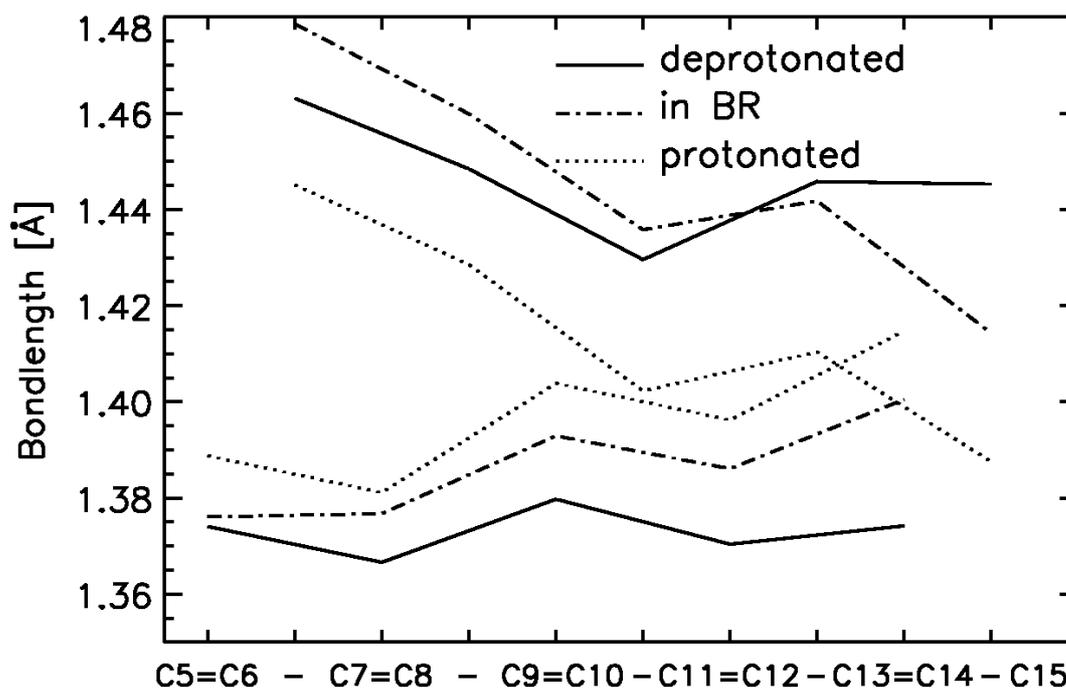


Abbildung 35: Alternierungsverhalten der C–C- und C=C-Bindungslängen für die Polyenkette der Schiffchen Base von Retinal; weitere Erläuterungen siehe Text.

In Abbildung 35 ist das Alternierungsverhalten der C–C- und C=C-Bindungslängen der Polyenkette der Retinal-Schiff-Base dargestellt. Wie in allen weiteren Plots in diesem Abschnitt, ist hierbei mit durchgezogener Linie das Ergebnis für die deprotonierte, und mit punktierter Linie das Ergebnis für die protonierte Retinal-Schiff-Base *in vacuo* dargestellt. Das Ergebnis der Hybridmodell-Rechnung BR1a ist mit punktiert-gestrichelter Linie eingezeichnet.

Es zeigt sich, daß in der deprotonierten Form eine deutliche Bindungslängenalternierung vorliegt, wobei die C–C-Bindungen um ca. 0.05 – 0.08 Å länger sind als die C=C-Bindungen. In der protonierten Form hingegen ist die Alternierung nur nahe des Cyclohexenrings ausgeprägt und geht ab der C<sub>9</sub>=C<sub>10</sub>-Bindung verloren. Bei der in BR eingebauten protonierten Retinal-Schiff-Base wird die Bindungslängenalternierung gegenüber der protonierten Schiffischen Base *in vacuo* drastisch verändert. Das Alternierungsverhalten der Polyenkette ist hier genau so stark ausgeprägt wie bei der unprotonierten Retinal-Schiff-Base und nimmt erst nahe der Schiffischen Base ab. Wie bereits in der Einführung dieses Abschnitts erläutert wurde, konnte ein ähnliches Verhalten bereits durch einfache Gegenionmodellrechnungen [17,18] vorhergesagt werden.

Abbildung 36 stellt für BR1a die Ladungsverteilung entlang der Polyenkette dar. Hierzu sind nach Singh und Kollman [135] Partialladungen für die Atome der protonierten Retinal-Schiff-Base berechnet worden. In dem oberen Plot ist die Summe der Partialladungen für jede CH-Einheit bzw. C–CH<sub>3</sub>-Einheit und für die NH-Gruppe der Schiffischen Base gezeigt. In dem unteren Plot ist die Summe der Partialladungen für jede C<sub>2n+1</sub>=C<sub>2n</sub>-Einheit (2 ≤ n ≤ 7) und für

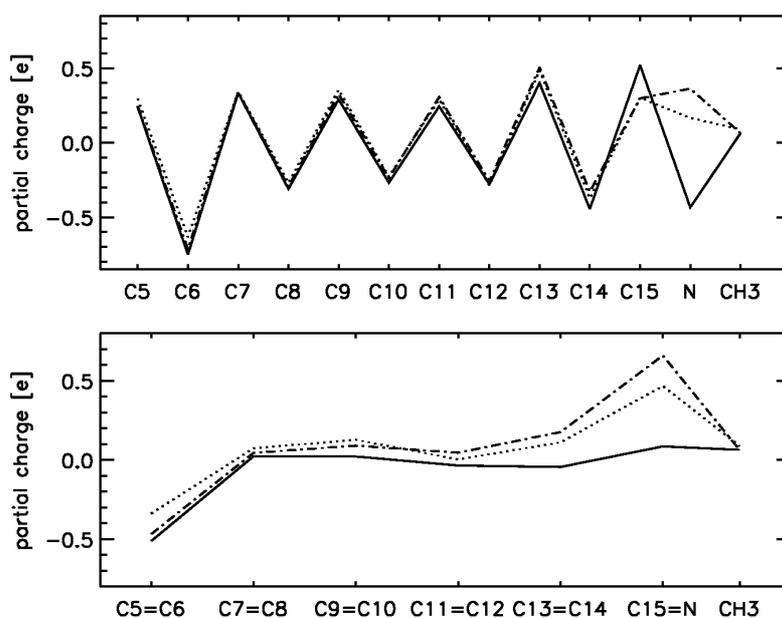


Abbildung 36: Verteilung der Partialladungsdichte entlang der Polyenkette der Schiffischen Base von Retinal in BR; weitere Erläuterungen siehe Text.

die C=N-Einheit dargestellt. In den abwechselnd positiv und negativen Partialladungen entlang der Kette in Abbildung 36 a offenbart sich der ausgeprägt polare Charakter der Polyenkette von Retinal. Wie man aus Abbildung 36 b erkennen kann, ist in der protonierten Form *in vacuo* die positive Überschußladung nahe der Schiffischen Base delokalisiert (punktierte Linie). Durch die Proteinumgebung wird diese Überschußladung dort etwas stärker lokalisiert (punktiergestrichelte Linie). Die Ursache für diese Ladungsverschiebung sind die in Abbildung 32 gezeigten, negativ geladenen Aminosäuren Asp85 und Asp212, durch deren elektrostatisches Feld die positive Überschußladung nahe der Schiffischen Base stabilisiert wird.

Die Bindungslängenalternierung und die Partialladungsverteilung sind in allen anderen untersuchten Hybridmodellen ähnlich wie im oben gezeigten Beispiel BR1a. Aus diesem Grund kann auf die Darstellung der entsprechenden Ergebnisse verzichtet werden. Die Bindungslängenalternierung und die Partialladungsverteilung hängen demnach nicht sehr stark von den Details der BR-Bindungstasche ab. Dies erklärt auch, daß die hier präsentierten Ergebnisse schon vermittle einfacher Gegenionmodellrechnungen [17,18,20], bei denen ein Gegenion als Ersatz für die negativ geladenen Proteinbausteine Asp85 und Asp212 nahe der Schiffischen Base plziert wurde, vorhergesagt werden konnten.

Wir wollen uns nun der hauptsächlich in diesem Abschnitt gestellten Aufgabe zuwenden und versuchen, durch Vergleich von berechneten Schwingungsspektren mit experimentell beobachteten Spektren zu beurteilen, welche der in Abbildung 34 dargestellten Strukturmodelle realistisch sein könnten. Insbesondere sind wir daran interessiert, eine Entscheidung zu fällen, ob das Proton der Schiffischen Base in Richtung Asp85 oder in Richtung Asp212 orientiert ist.

### c.) Charakterisierung der C=N- und [C=C]<sub>+</sub>-Mode

Zur Lösung der oben gestellten Aufgabe konzentrieren wir uns auf die zwei prominentesten Schwingungsmoden der protonierten Retinal-Schiff-Base, nämlich auf die C=N-Mode und die sogenannte [C=C]<sub>+</sub>-Mode. Für BR1a sind die Schwingungsmodenbilder der C=N- und der [C=C]<sub>+</sub>-Mode in Abbildung 37 dargestellt. In dieser Abbildung sind die Retinal-Schiff-Base und die Lysin-Seitenkette durch punktierte Linien gezeichnet. Die Eigenschwingungen des Molekülgerüsts sind durch Pfeile kenntlich gemacht. Wie man aus der Abbildung erkennt, ist die C=N-Mode im wesentlichen an der C=N-Doppelbindung der Schiffischen Base *lokalisiert*, so daß diese Mode einen empfindlichen Indikator für das molekulare Kraftfeld und die Geometrie in diesem Bereich darstellt. Die [C=C]<sub>+</sub>-Mode ist demgegenüber nahezu über die gesamte Polyenkette von Retinal *delokalisiert* und ist durch eine gleichphasige Anregung der C=C-Bindungen charakterisiert. Diese Mode hängt daher vom Kraftfeld und von der Geometrie der gesamten Polyenkette ab.

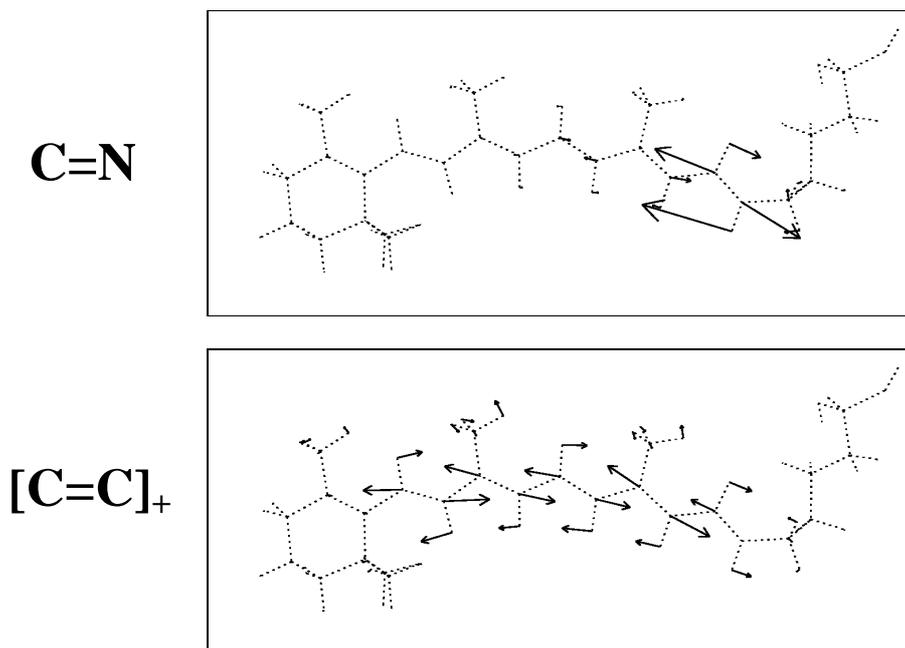


Abbildung 37: Schwingungsmodenbild der C=N- und der [C=C]<sub>+</sub>-Mode für die in BR<sub>1a</sub> eingebaute Retinal-Schiff-Base; die punktierten Linien stellen die protonierte Retinal-Schiff-Base und die Seitenkette von Lys216 dar; die Pfeile verdeutlichen die Eigenschwingung des Molekülgerüsts.

In Abbildung 38 sind die experimentell beobachteten Frequenzen [15] der C=N- und der [C=C]<sub>+</sub>-Mode für BR<sub>568</sub> sowie für die Hybridmodelle berechneten Frequenzen graphisch dargestellt. In Tabelle 8 (Anhang C) sind zudem eine Reihe von beobachteten und berechneten Isotopeneffekte für die C=N- und die [C=C]<sub>+</sub>-Mode aufgeführt. Die für BR<sub>568</sub> beobachteten Isotopeneffekte unterstützen dabei die Aussagen der in Abbildung 37 gezeigten Schwingungsmodenbilder. So werden nur bei Isotopenmarkierungen nahe der Schiffischen Base deutliche Verschiebungen (mehr als 2 cm<sup>-1</sup>) der C=N-Mode beobachtet, während die [C=C]<sub>+</sub>-Mode in diesen Fällen kaum betroffen ist. Umgekehrt verursachen Isotopenmarkierungen in der Polyenkette eine Verschiebung der [C=C]<sub>+</sub>-Mode, während die C=N-Mode hiervon unberührt bleibt.

Nachdem wir nun eine Vorstellung von der C=N- und der [C=C]<sub>+</sub>-Mode gewonnen haben, wollen wir als nächstes die in Abbildung 38 graphisch dargestellten Frequenzen der einzelnen Hybridmodelle mit den experimentell beobachteten Frequenzen in BR<sub>568</sub> vergleichen. Dabei beginnen wir mit einer kurzen Überprüfung der Qualität des BLYP-Kraftfeldes bei der Beschreibung der protonierten Retinal-Schiff-Base.

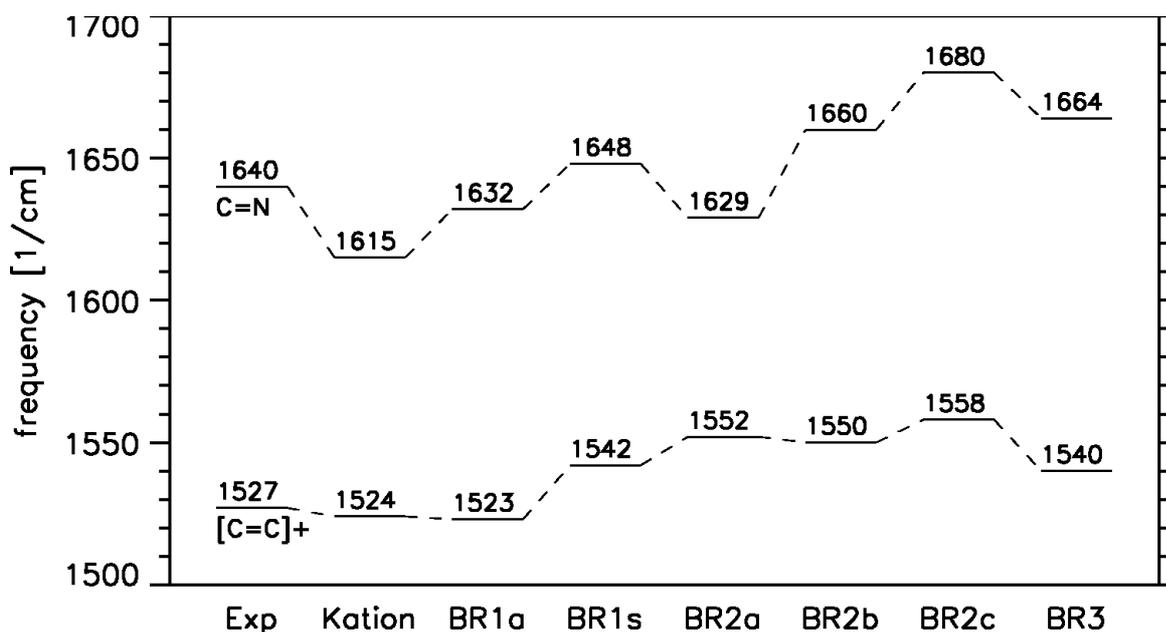


Abbildung 38: Lage der C=N- und der [C=C]<sub>+</sub>-Moden für die berechneten Schwingungsspektren im Vergleich mit dem experimentell beobachteten Spektrum (*Exp*) sowie dem berechneten Spektrum des reinen Kations.

#### d.) Lage der C=N- und [C=C]<sub>+</sub>-Moden und ihre BLYP-Beschreibung

In BR<sub>568</sub> wird die C=N-Mode bei 1640 cm<sup>-1</sup> und die [C=C]<sub>+</sub>-Mode bei 1527 cm<sup>-1</sup> beobachtet [15]. Die mit BLYP berechnete [C=C]<sub>+</sub>-Mode der protonierten Retinal-Schiff-Base *in vacuo* (1524 cm<sup>-1</sup>) stimmt sehr gut mit der experimentell beobachteten Frequenz überein, während die berechnete C=N-Mode *in vacuo* (1615 cm<sup>-1</sup>) gegenüber der in BR<sub>568</sub> beobachteten Frequenz um 35 cm<sup>-1</sup> rotverschoben ist. Orientiert man sich am Schwerpunkt der C=N- und [C=C]<sub>+</sub>-Mode, dann ist das berechnete *in vacuo* Spektrum nur um 14 cm<sup>-1</sup> gegenüber dem tatsächlichen Spektrum in BR<sub>568</sub> rotverschoben. Bei der in Abschnitt 7.1 diskutierten kleinen C=C-C=N-Schiff-Base war das *in vacuo* berechnete Spektrum der C=N- und C=C-Moden hingegen deutlich stärker, nämlich um 80 cm<sup>-1</sup>, rotverschoben.

Der Übergang von dem *kleinen* konjugierten π-Elektronensystem der in Abschnitt 7.1 diskutierten Schiffischen Base zu dem *ausgedehnten* π-Elektronensystem der Retinal-Schiff-Base bewirkt also, daß die Kraftkonstanten der C-C-Einfachbindungen und der C=C-Doppelbindungen nun offensichtlich korrekt durch das BLYP Austausch-Korrelations-Funktional vorhergesagt werden. Dies stimmt auch mit früheren Rechnungen überein, bei denen mit derartigen gradientenkorrigierten Austausch-Korrelations-Funktionalen das Polyen Oktatetraen [37] und verschiedene Chinone [38-40], die wie Retinal ausgedehnte π-Elektronensysteme aufweisen, quantitativ genau beschrieben wurden.

**e.) Lage der C=N- und [C=C]<sub>+</sub>-Moden *in situ***

Im BR1a-Hybridmodell, das aus dem von Grigorieff *et al.* [6] vorgeschlagenen BR-Modell abgeleitet wurde, ist die Frequenz der [C=C]<sub>+</sub>-Mode mit 1523 cm<sup>-1</sup> überraschenderweise nahezu identisch mit der *in vacuo* berechneten Frequenz und weicht damit auch nur um 4 cm<sup>-1</sup> von der experimentell beobachteten Frequenz ab. Die C=N-Frequenz wird bei BR1a gegenüber dem Kation *in vacuo* um 17 cm<sup>-1</sup> blauverschoben und liegt dadurch nur 8 cm<sup>-1</sup> unterhalb der in BR<sub>568</sub> beobachteten C=N-Frequenz.

Anhand des Spektrums des Strukturschnappschusses BR1s gewinnen wir einen Eindruck, wie stark sich Fluktuationen der Proteinmatrix und unterschiedlich platzierte Wassermoleküle auf das BR1-Spektrum auswirken können. Dabei zeigt sich anhand des BR1s-Modells, daß die C=N- und die [C=C]<sub>+</sub>-Mode um bis 19 cm<sup>-1</sup> gegenüber BR1a verschoben wurden. Während das BR1a-Spektrum geringfügig gegenüber dem experimentellen Spektrum rotverschoben war, ist das BR1s-Spektrum etwas blauverschoben; die Übereinstimmung mit dem experimentell beobachteten Spektrum kann aber auch für das BR1s-Modell noch als gut bezeichnet werden.

Bei den Hybridmodellen BR2a, BR2b und BR2c, die sich von der von Essen *et al.* [8] vorgeschlagenen BR-Struktur ableiten, fällt auf, daß die [C=C]<sub>+</sub>-Mode jeweils bei einer Frequenz zwischen 1550 und 1558 cm<sup>-1</sup> berechnet wird. Die Übereinstimmung mit der experimentell beobachteten [C=C]<sub>+</sub>-Frequenz ist diesbezüglich also schlechter als in den von BR1 abgeleiteten Modellen.

Bei den BR2-Modellen zeigt sich die C=N-Frequenz als sehr stark abhängig von der Orientierung des Protons der Schiffischen Base. Die beste Übereinstimmung (1629 cm<sup>-1</sup>) mit der experimentell beobachteten C=N-Frequenz (1640 cm<sup>-1</sup>) ergibt sich für das BR2a-Modell, bei dem, wie im BR-Modell von Grigorieff *et al.* [6], das Proton der Schiffischen Base zu Asp85 hin orientiert ist.

Bei den beiden anderen BR2-Modellen hingegen werden die C=N-Moden bei viel zu hohen Frequenzen (über 1660 cm<sup>-1</sup>) beobachtet. Interessanterweise wird auch im BR3s-Modell, bei dem das Proton wie bei BR2c zu Asp212 hin orientiert ist, die C=N-Mode mit 1664 cm<sup>-1</sup> bei einer viel zu hohen Frequenz vorhergesagt.

Diesen Ergebnissen zufolge stimmt also das Spektrum des BR1a-Modells am besten mit dem experimentell beobachteten Spektrum überein. Als zweiter diskussionswürdiger Kandidat kommt außerdem das BR2a-Modell in Frage, bei dem zwar die [C=C]<sub>+</sub>-Mode bei einer zu hohen Frequenz vorhergesagt wird, aber die Lage der C=N-Mode nahezu identisch mit der im BR1a-Modell ist. Der Leser bemerke aber an dieser Stelle, daß in beiden Strukturmodellen das Proton der Schiffischen Base zu Asp85 hin orientiert ist, so daß bezüglich dieser Frage bereits die Entscheidung zugunsten der Asp85-Orientierung gefallen ist.

Um diese Entscheidung zu untermauern und außerdem eine Entscheidung zwischen BR1a und BR2a herbeizuführen, wollen wir nun anhand der in Tabelle 8 (Anhang C) aufgeführten Isotopeneffekte die Zusammensetzung der C=N- und der [C=C]<sub>+</sub>-Moden genauer untersuchen.

### f.) Isotopeneffekte

Ein Vergleich der Isotopeneffekte der [C=C]<sub>+</sub>-Mode zeigt, daß das BR1a-Modell etwas besser als das BR2a-Modell abschneidet. Bedenkt man zudem, daß die absolute Lage der [C=C]<sub>+</sub>-Mode bei BR1a sehr genau reproduziert wird, zeigt sich unter diesem Gesichtspunkt das BR1a-Modell dem BR2a-Modell als überlegen. Der nun zu diskutierende ND-Isotopeneffekt scheint aber dies in Frage zu stellen.

Im BR2a-Modell stimmt nämlich der ND-Isotopeneffekt der C=N-Mode mit  $-22 \text{ cm}^{-1}$  sehr gut mit dem experimentell beobachteten ND-Isotopeneffekt von  $-16 \text{ cm}^{-1}$  überein. Auch alle anderen durch Isotopenmarkierung von Atomen der Schiffchen Base ( $\text{C}_{15}\text{D}$ ,  $\text{C}_{14}\text{D}$ ,  $\text{C}_{12}\text{D}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}_{15}$ ) verursachten Isotopeneffekte werden bei BR2a hervorragend reproduziert. Im BR1a-Modell hingegen wird der ND-Isotopeneffekt mit  $-50 \text{ cm}^{-1}$  deutlich überschätzt.

Man muß aber an dieser Stelle bedenken, daß das BR2a-Modell hinsichtlich der Orientierung des Schiff-Basen-Protons zu Asp85 oder Asp212 nicht mehr dem ursprünglichen Strukturvorschlag von Essen *et al.* [8] entspricht, sondern an das Modell von Grigorieff *et al.* [6] angepaßt wurde. Deshalb ist sowohl in BR1a als auch in BR2a das Schiff-Basen-Proton in Richtung Asp85 orientiert. Die Beobachtung, daß der ND-Isotopeneffekt anscheinend sehr empfindlich von Details dieser Asp85-Orientierung abhängt, betont deshalb lediglich die uns wohl bekannte Tatsache, daß aussagekräftige Ergebnisse nur durch ensembledgemittelte Hybridrechnungen erzielt werden können, die aber wegen des hohen Rechenaufwandes gegenwärtig noch nicht durchgeführt werden konnten.

Zum Abschluß der Untersuchung der Isotopeneffekte wollen wir an dieser Stelle nur kurz anmerken, daß die ND-Isotopeneffekte für die C=N-Mode im BR2c-Modell und im BR3s-Modell, bei denen eine Asp212-Orientierung des Schiff-Basen-Protons vorliegt, mit über  $-60 \text{ cm}^{-1}$  stark überschätzt werden. Also auch hinsichtlich des ND-Isotopeneffektes der C=N-Mode scheidet die Asp212-Orientierung des Schiff-Basen-Protons aus.

### g.) Intensitäten

In den Abbildungen 42 a und b (Anhang C) sind die IR-Intensitätsspektren im Frequenzbereich zwischen  $900\text{ cm}^{-1}$  und  $1700\text{ cm}^{-1}$  für jede der untersuchten Hybridmodelle dargestellt. Da es uns wegen des hohen Rechenaufwandes nicht möglich, war ensembledgemittelte IR-Spektren zu berechnen, die Aussagen über die inhomogene Linienverbreiterungen der IR-Banden erlaubt hätten, haben wir zur Darstellung der in Abbildungen 42 a und b gezeigten IR-Spektren für jede Schwingungsmode eine gaußförmige Linienform mit der Halbwertsbreite  $15\text{ cm}^{-1}$  angenommen.

Bei den dargestellten Spektren zeigen sich hinsichtlich der Intensitäten deutliche Unterschiede. Abgesehen vom BR2b-Modell ist jedoch bei allen Hybridmodellen die  $[\text{C}=\text{C}]_+$ -Mode immer die intensivste Mode. Ein Vergleich mit dem tatsächlichen IR-Spektrum des Chromophors in BR<sub>568</sub> ist an dieser Stelle leider nicht möglich, da bisher nur Resonanz-Raman-Absolutspektren veröffentlicht wurden. IR-Messungen an der Retinal-Schiff-Base in anderen Lösungsmittelumgebungen [164,165] lassen es jedoch als sehr wahrscheinlich gelten, daß in BR<sub>568</sub> die  $[\text{C}=\text{C}]_+$ -Mode die intensivste Mode darstellt.

Wie auch schon aus den obigen Untersuchungen hervorgegangen ist, kann man deshalb auch aufgrund des BR2b-Intensitätsspektrums, bei dem die C=N-Mode die intensivste Mode ist, das BR2b-Modell als unrealistisch einstufen. Im BR1a-Modell hingegen, das bisher unser erklärter Favorit ist, sieht das berechnete IR-Spektrum überzeugend aus.

Nachdem wir gesehen haben, daß die berechneten Schwingungsspektren sehr empfindlich von Lage des Chromophors in der Bindungstasche abhängen und wir dadurch die Frage der Orientierung des Schiff-Basen-Protons entscheiden konnten, wollen wir nun untersuchen, wie stark die Geometrie der Polyenkette durch die Proteinumgebung in unseren Hybridmodellen beeinflußt wird.

### h.) Geometrie der Polyenkette

In Tabelle 3 ist die Geometrie der Retinal-Schiff-Base in der Bindungstasche der untersuchten BR-Hybridmodelle dokumentiert. Zum Vergleich ist außerdem die mit BLYP berechnete Geometrie der unprotonierten (RSB) und protonierten (RSBH) Retinal-Schiff-Base *in vacuo* angegeben. Die Geometrie der Retinal-Schiff-Base wird in Tabelle 3 durch die Helizität und Krümmung der Polyenkette charakterisiert.

Die Helizität der Retinal-Schiff-Base wird durch die Diederwinkel der C=C-C=C- und C-C=C-C-Motive in der Polyenkette bestimmt, die in Abbildung 43 (Anhang C) graphisch für die Hybridmodelle durch punktiert-gestrichelte Linien dargestellt sind. Außerdem sind zum Vergleich jeweils die Diederwinkel für die unprotonierte (durchgezogene Linie) und proto-

nierte (punktierte Linie) Retinal-Schiff-Base *in vacuo* eingezeichnet. Aus Abbildung 43 erkennt man, daß sowohl in der unprotonierten und protonierten Retinal-Schiff-Base *in vacuo* als auch in allen Hybridmodellen die jeweiligen  $C_5=C_6-C_7=C_8$ -Diederwinkel zwischen  $7^\circ$  bis  $14^\circ$  aufgrund stereochemischer Wechselwirkungen von der *trans*-Konfiguration ( $180^\circ$ ) abweichen.

Die nächsten Diederwinkel in der Polyenkette ( $C_6-C_7=C_8-C_9$  und  $C_7=C_8-C_9=C_{10}$ ) weichen nur um maximal  $4^\circ$  von der *trans*-Konfiguration ab, so daß die Retinal-Schiff-Base in diesem Bereich im wesentlichen planar ist. Die restlichen Diederwinkel zeigen in den Hybridmodellen ein alternierendes Verhalten. Einige der C–C-Bindungen sind dabei um bis zu  $14^\circ$  tordiert. Torsionswinkel in dieser Größenordnung ( $15^\circ - 30^\circ$ ) wurden bereits durch Auswertung von FTIR- und Dichroismus-Experimente für möglich gehalten [16]. Alle in der vorliegenden Arbeit untersuchten Hybridmodelle sind damit in Übereinstimmung mit dem in [16] vermuteten maximalen Grenzwert für die Torsionswinkel um C–C-Bindungen.

Geometrie (Grad)	RSB	RSBH	BR1a	BR1s	BR2a	BR2b	BR2c	BR3s
Helizität	7	7	16	20	31	18	33	29
$C_5-C_{11}-N$	17	15	27	23	32	29	33	24
$C_6-C_{10}-C_{14}$	10	10	17	15	21	20	22	15
$C_7-C_{11}-C_{15}$	11	10	20	17	24	22	25	17

Tabelle 3: Geometrie der Retinal-Schiff-Base; die Helizität der Polyenkette ist durch den Winkel zwischen der  $C_5=C_6$ -Bindungsebene und der  $C_{15}=N$ -Bindungsebene charakterisiert; die letzten drei Zeilen charakterisieren die Krümmung der Polyenkette durch den Winkel zwischen jeweils drei ausgewählten Atomen der Polyenkette (siehe Abbildung 39).

In [16] wurde als Maß für die Gesamthelizität der Retinal-Schiff-Base der Winkel zwischen der  $C_5=C_6$ -Bindungsebene und der  $C_{15}=N$ -Bindungsebene betrachtet. Als Obergrenze für die Gesamthelizität wurde dabei ein Wert von etwa  $15^\circ$  abgeleitet. Aus den in der Tabelle 3 angegebenen Helizitäten für die in unserer Arbeit untersuchten Hybridmodelle erkennt man, daß die Polyenkette der deprotonierten und protonierten Schiffschens Base etwa  $10^\circ$  beträgt<sup>14</sup>. In den Hybridmodellen erhöht sich die Helizität auf einen Wert von  $16^\circ$  bis  $33^\circ$ . In den Hybridmodellen BR3s und BR2c, in denen das Schiff-Basen-Proton zu Asp212 hin orientiert ist, sowie für BR2a ergaben sich die größten Helizitäten mit über  $29^\circ$ . Diese BR-Modelle sind daher nicht mit der Obergrenze für die Helizität von  $15^\circ$  vereinbar, wodurch nochmals die durch Analyse

<sup>14</sup> In diesen beiden Fällen wird der Helizität im wesentlichen durch den  $C_5=C_6-C_7=C_8$ -Diederwinkel bestimmt.

von Schwingungsspektren gewonnene Erkenntnis bestätigt wird, daß eine Asp212-Orientierung des Schiff-Basen-Protons nicht richtig sein kann.

Für die von BR1 abgeleiteten Modelle werden deutlich kleinere Helizitäten berechnet. Die kleinste Helizität mit 16°, die damit auch am besten mit der in [16] grob abgeschätzten Obergrenze vereinbar ist, ergibt sich für BR1a, bei dem das Schiff-Basen-Proton in Richtung Asp85 orientiert ist.

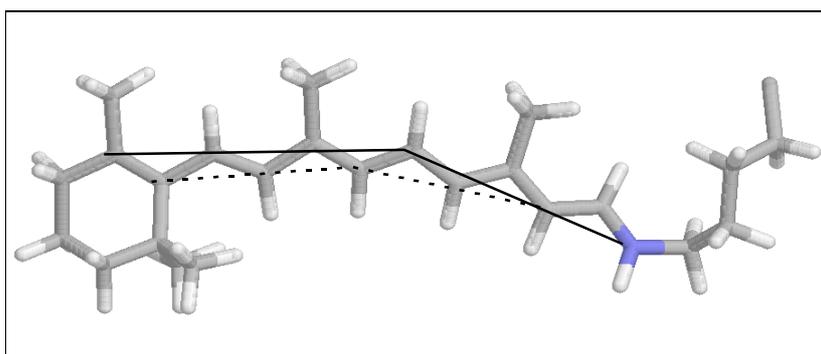


Abbildung 39: Als Maß für die Krümmung der Polyenkette werden im Text die Winkel zwischen den Atomen C<sub>5</sub>-C<sub>11</sub>-N (durchgezogene Linie), C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-C<sub>14</sub> (punktirierte Linie) sowie C<sub>7</sub>-C<sub>11</sub>-C<sub>15</sub> untersucht; siehe Tabelle 3.

Als Maß für die Krümmung sind in den ersten drei Zeilen der Tabelle 3 die Winkel zwischen den Atomen C<sub>5</sub>-C<sub>11</sub>-N, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-C<sub>14</sub> und C<sub>7</sub>-C<sub>11</sub>-C<sub>15</sub> angegeben (siehe Abbildung 39). Betrachtet man den C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-C<sub>14</sub>-Winkel, dann weisen die unprotonierte und protonierte Retinal-Schiff-Base *in vacuo* eine Krümmung von 10° auf. Diese Krümmung wird im wesentlichen durch die Methylsubstituenten an den Atomen C<sub>5</sub>, C<sub>9</sub> und C<sub>13</sub> verursacht. In allen BR-Hybridmodellen erhöht sich die Krümmung um 5-12°. Die stärksten Krümmungen mit mindestens 20° zeigen sich einheitlich bei den von BR2 abgeleiteten Hybridmodellen. Bei den Hybridmodellen BR1a und BR1s hingegen sowie bei BR3s zeigt sich eine kleinere Krümmung von 15°-17°.

Interessanterweise ist die Krümmung der protonierten Retinal-Schiff-Base (C<sub>5</sub>-C<sub>11</sub>-N-Winkel und C<sub>7</sub>-C<sub>11</sub>-C<sub>15</sub>-Winkel) kleiner als die Krümmung der deprotonierten Schiffischen Base *in vacuo*. R. Henderson, der Pionier der BR-Strukturvorhersage, vermutete aufgrund von Kristallstrukturen verschiedener Retinalderivate, daß die protonierte Retinal-Schiff-Base in BR<sub>568</sub> viel stärker gekrümmt sein müßte [163], als auch schon die in der Vergangenheit durchgeführten quantenmechanischen *in vacuo* Rechnungen vorhergesagt haben [17]. Der Widerspruch zwischen Rechnung und Vorhersage ließ deshalb Henderson nahezu den Glauben an quantenmechanische Rechnungen verlieren [163]. Da wir in unseren Hybridmodellen jetzt jedoch deutlich größere Krümmungen als *in vacuo* gefunden haben, hoffen wir, daß wir Henderson's Vertrauen in quantenmechanische Rechnungen zurückgewinnen können.

Nachdem wir nun mittels Analyse von Schwingungsspektren das BR1a-Modell als dasjenige Strukturmodell identifiziert haben, durch welches das experimentell beobachtete Schwingungs-

spektrum von BR<sub>568</sub> am besten reproduziert wird, können wir aufgrund dieser Rechnung nun eine Strukturvorhersage wagen.

### 7.2.4 Strukturvorhersage der Chromophorgeometrie

Aufgrund unserer Resultate ergeben sich folgende Strukturparameter für die Retinal-Schiff-Base in der Bindungstasche von BR<sub>568</sub>:

- (i) Das Proton der Schiff'schen Basen ist in Richtung von Asp85 orientiert (siehe Abbildung 34 a und d).
- (ii) Nimmt man die Konfigurationen in BR1a, BR1s und BR2a als Anhaltspunkte, dann beträgt der Abstand zwischen dem Stickstoffatom der Schiff'schen Base und dem Asp85-C<sub>γ</sub>-Atom etwa 3.3 Å bis 4.2 Å. Der entsprechende Abstand zum Asp212-C<sub>γ</sub>-Atom beträgt diesen Rechnungen nach zwischen 3.9 Å und 4.8 Å.
- (iii) Dem BR1a-Modell zufolge beträgt die Krümmung der Polyenkette (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-C<sub>14</sub>-Winkel) etwa 17° und ist damit um 7° stärker als *in vacuo* gekrümmt.
- (iv) Die Diederwinkel um C–C-Einfachbindungen und C=C-Doppelbindungen zeigen ein alternierendes Verhalten, weichen aber um nicht mehr als 14° von der *trans*-Konfiguration ab. Die Gesamthelizität beträgt etwa 16°, d.h. die Polyenkette des Chromophors ist nicht völlig planar.

Als Service für Fachkollegen ist die BR1a-Struktur über das *World Wide Web* unter der FTP-Adresse <ftp://ftp.imo.physik.uni-muenchen.de/pub> öffentlich zugänglich.

Wie wir also gesehen haben, konnte mit Hilfe von QM/MM-Hybridmodellen und berechneten Schwingungsspektren eine detaillierte Einsicht in die Chromophorbindungstasche von BR gewonnen werden. Wir hoffen, daß die aus dieser Untersuchung gewonnenen Strukturdaten für verfeinerte BR-Modelle in Zukunft wertvoll sein können.

# Anhang A

## Daten zu den Testrechnungen

	Exp. [151] Gasphase	Exp. [152] in Lösung	LDA Gasphase	MM <sub>LDA</sub> Gasphase	LDA in Lösung	BLYP Gasphase	MM <sub>BLYP</sub> Gasphase
<b><i>a</i></b>	3756	3506	3752	3712	3629	3592	3568
<b><i>s</i></b>	3652	3402	3623	3653	3557	3499	3517
<b><i>b</i></b>	1595	1669	1481	1481	1565	1588	1587

Tabelle 4: IR-Frequenzen eines Wassermonomers in Gasphase und in Wasserlösung; *a* bezeichnet die antisymmetrische und *s* die symmetrische O–H-Streckmode; *b* bezeichnet die H–O–H-Winkelmode; MM<sub>LDA</sub> und MM<sub>BLYP</sub> bezeichnen molekülmechanische H<sub>2</sub>O-Molekülmodelle, deren Kraftfelder an die LDA-Rechnung bzw. an die BLYP-Rechnung angepaßt wurden; die „LDA in Lösung“-Spalte enthält das Ergebnis der QM/MM-Hybridrechnung, die in Abschnitt 6.1.1 erläutert wurde.

	Exp [47]	LDA Q–Q	LDA Q–M	LDA M–Q	LDA M–M	BLYP Q–Q	BLYP Q–M	BLYP M–Q	BLYP M–M
<b><i>Aa</i></b>	3714	3751	3741	3763	3714	3587	3569	3585	3569
<b><i>Da</i></b>	3698	3708	3714	3707	3705	3557	3561	3578	3560
<b><i>As</i></b>	3622	3618	3655	3636	3664	3493	3519	3495	3528
<b><i>Ds</i></b>	3548	3345	3542	3652	3639	3385	3387	3524	3501
<b><i>Ab</i></b>	1618	1513	1527	1518	1524	1603	1627	1607	1623
<b><i>Db</i></b>	1600	1472	1486	1490	1486	1584	1586	1586	1589
<b><i>LO</i></b>	520	756	579	668	617	632	642	584	614
<b><i>LI</i></b>	320	393	330	399	383	368	387	375	382
<b><i>OO</i></b>	243	253	279	238	243	257	233	213	241

Tabelle 5: Experimentell beobachtete und berechnete IR-Frequenzen eines Wasserdimers in cm<sup>-1</sup>; *A* bezeichnet dabei eine im Wasserstoffakzeptor lokalisierte Mode; *D* bezeichnet eine im Wasserstoffdonor lokalisierte Mode; die Abkürzungen *LO*, *LI* und *OO* bezeichnen intermolekulare Moden, die in [47] näher erläutert sind.

# Anhang B

## Daten zur Schiffischen Base MBMH

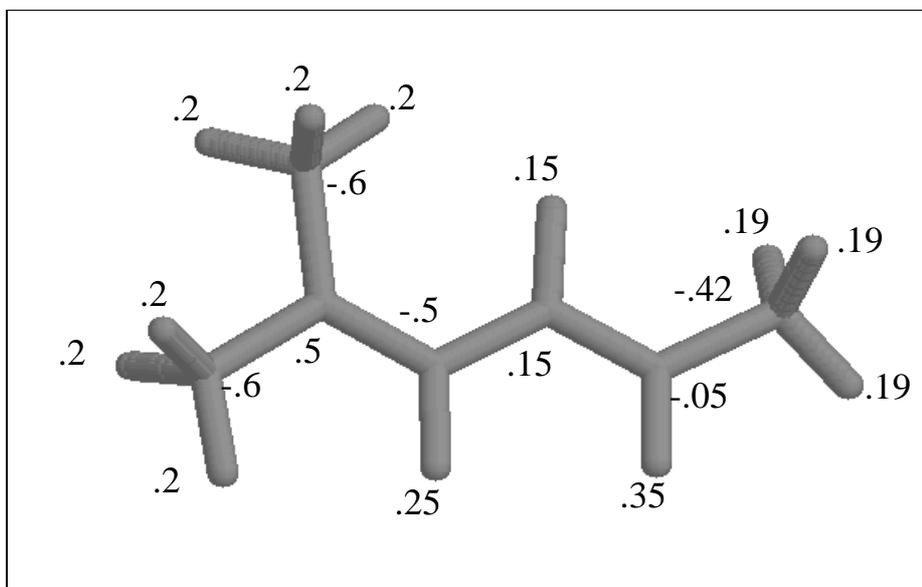


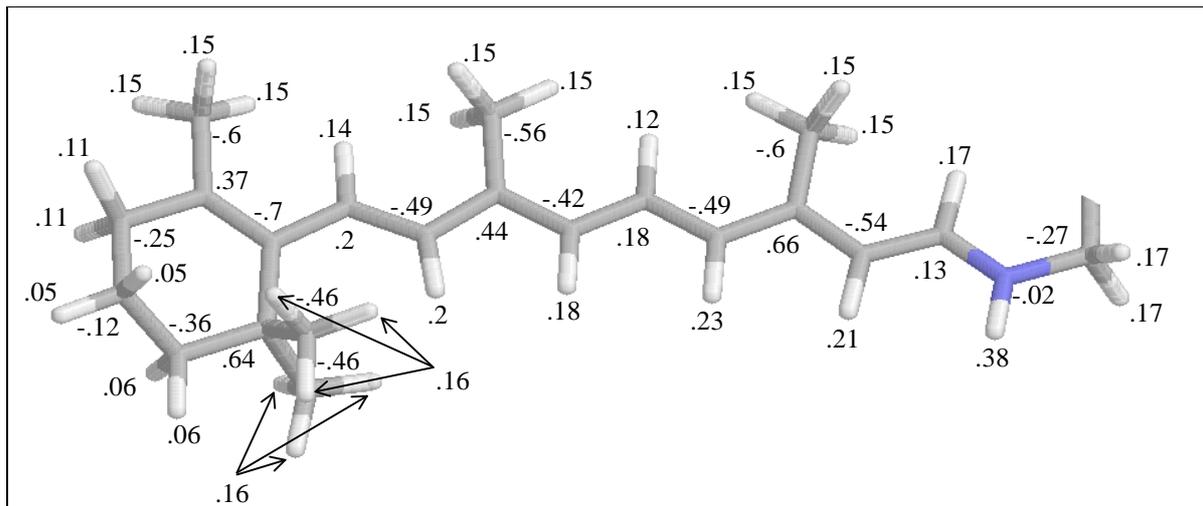
Abbildung 40: Die nach dem Verfahren von Singh und Kollman [135] berechneten Partialladungen für die molekülmechanische Beschreibung von MBMH.

	a.) ND			b.) 15D			c.) <sup>13</sup> C <sub>14</sub> , <sup>13</sup> C <sub>15</sub>		
	C=N	C=C	C-C	C=N	C=C	C-C	C=N	C=C	C-C
<b>MBMH</b>	-16	-9	+15	-23	-2	+28	-27	-19	-18
<b>3Å</b>	-20	-15	+8	-20	-1	+23	-26	-21	-21
<b>solv</b>	-37	-22	+12	-14	-4	+30	-14	-24	-17
<b>Exp</b>	-27	-3	+15	-13	-3	+25	-27	-25	-13

Tabelle 6: Verschiebung der Frequenzen in  $\text{cm}^{-1}$  für die C=N-, C=C- und C-C-Mode bei Deuterierung des Wasserstoffatoms am Stickstoffatom (a), am C<sub>15</sub>-Atom (b) bzw. bei gleichzeitiger Markierung des C<sub>14</sub>- und C<sub>15</sub>-Atoms mit dem <sup>13</sup>C-Isotop; in der ersten Zeile sind die Isotopeneffekte für das *in vacuo* mit BLYP berechnete MBMH-Kation aufgeführt, in der zweiten Zeile die Isotopeneffekte für das 3 Å Gegenionmodell; die dritte Zeile und vierte Zeile enthält die bereits in Tabelle 2 gezeigten Isotopeneffekte für das *solv*-Hybridmodell von MBMH in Lösung sowie die experimentell beobachteten Werte.

# Anhang C

## Daten zur Retinal-Schiff-Base



	BR1	BR2	BR1a	BR1s	BR2a	BR2b	BR2c	BR3s
Asp85.C <sub>γ</sub> – H	3.25	4.94	2.31	3.21	2.98	3.84	4.16	5.31
Asp85.C <sub>γ</sub> – N	4.03	5.06	3.31	4.16	3.92	4.54	4.39	5.50
Asp85.O – H	2.82	4.51	1.75	2.51	1.93	3.34	3.60	4.28
Asp85.O – N	3.71	4.39	2.77	3.31	2.94	3.80	3.57	4.66
Asp85.C <sub>γ</sub> – C <sub>14</sub>	5.13	6.27	4.37	5.14	5.27	5.65	5.63	6.12
Asp85.C <sub>γ</sub> – C <sub>1</sub>	11.77	11.9	11.85	11.46	11.7	11.6	11.8	12.3
Asp85.C <sub>γ</sub> – C <sub>5</sub>	13.80	14.0	13.66	13.53	13.8	13.7	13.9	14.1
Asp212.C <sub>γ</sub> – H	3.54	3.16	3.95	3.69	4.96	3.97	2.61	2.35
Asp212.C <sub>γ</sub> – N	4.13	4.14	3.98	4.08	4.78	4.74	3.57	3.22
Asp212.O – H	3.44	2.62	3.86	3.76	4.90	4.02	1.60	1.68
Asp212.O – N	3.96	3.50	3.89	4.07	4.71	4.69	2.64	2.73
Asp212.C <sub>γ</sub> – C <sub>14</sub>	4.29	4.45	4.54	4.17	5.04	4.70	3.94	4.68
Asp212.C <sub>γ</sub> – C <sub>1</sub>	10.31	10.8	11.66	10.39	10.8	10.8	10.6	12.4
Asp212.C <sub>γ</sub> – C <sub>5</sub>	12.22	12.6	13.04	12.17	12.4	12.4	12.2	14.1
Arg82.C <sub>γ</sub> – N	11.58	9.79	10.84	11.74	9.63	9.90	9.37	5.21
Asp85.C <sub>γ</sub> – Asp212.C <sub>γ</sub>	5.40	6.57	5.37	5.36	6.10	6.05	5.74	6.28
H <sub>2</sub> O.O – H			3.81	2.06	3.98	1.67	3.47	3.28

Tabelle 7: Abstände in Å zwischen ausgewählten Atomen der BR-Bindungstasche und der Retinal-Schiff-Base; BR1 bezeichnet das von Grigoriev *et al.* [6], BR2 das von Essen *et al.* [8] vorgeschlagene BR-Modell; alle anderen Spalten beziehen sich auf in dieser Arbeit daraus abgeleitete Hybridmodelle.

<b>C=N</b>	<b>Exp</b> <i>1640</i>	<b>MBMH</b> <i>1615</i>	<b>BR1a</b> <i>1632</i>	<b>BR1s</b> <i>1648</i>	<b>BR2a</b> <i>1629</i>	<b>BR2b</b> <i>1660</i>	<b>BR2c</b> <i>1680</i>	<b>BR3</b> <i>1664</i>
<b>ND</b>	-16	-14	-50	-41	-22	-49	-70	-66
<b>C<sub>15</sub>D</b>	-11	-20	-11	-12	-16	-11	-8	-8
<b>C<sub>14</sub>D</b>	-4	-7	-1	0	-3	-1	0	0
<b>C<sub>12</sub>D</b>	-2	-1	0	0	-1	-1	0	0
<b><sup>15</sup>N</b>	-13	-7	-12	-12	-10	-13	-11	-12
<b><sup>13</sup>C<sub>15</sub></b>	-17	-21	-12	-12	-17	0	-8	-9
<b><sup>13</sup>C<sub>14</sub></b>	-1	-8	-1	-1	-5	-2	0	0
<b><sup>13</sup>C<sub>13</sub></b>	-1	0	0	0	0	0	0	0
<b><sup>13</sup>C<sub>11</sub></b>	-1	-2	0	0	-1	-1	0	0
<b><sup>13</sup>C<sub>9</sub></b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b><sup>13</sup>C<sub>7</sub></b>	+1	0	0	0	0	0	0	0
<b><sup>13</sup>C<sub>5</sub></b>	+1	0	0	0	0	0	0	0

<b>[C=C]<sub>+</sub></b>	<b>Exp</b> <i>1527</i>	<b>MBMH</b> <i>1524</i>	<b>BR1a</b> <i>1523</i>	<b>BR1s</b> <i>1542</i>	<b>BR2a</b> <i>1552</i>	<b>BR2b</b> <i>1550</i>	<b>BR2c</b> <i>1558</i>	<b>BR3</b> <i>1540</i>
<b>ND</b>	+1	-1	+3	-5	0	0	0	-2
<b>C<sub>15</sub>D</b>	-5	-2	-4	-1	-2	-1	-1	-3
<b>C<sub>14</sub>D</b>	-6	-4	-5	-1	-2	-1	-3	-9
<b>C<sub>12</sub>D</b>	-14	-11	-5	-11	-15	-13	-15	-14
<b><sup>15</sup>N</b>	-1	-1	0	0	0	0	0	0
<b><sup>13</sup>C<sub>15</sub></b>	-1	-1	-2	0	-1	-5	-1	-1
<b><sup>13</sup>C<sub>14</sub></b>	-8	-3	-6	-8	-3	-1	-7	-9
<b><sup>13</sup>C<sub>13</sub></b>	-7	-9	-5	-4	-8	-5	-7	-8
<b><sup>13</sup>C<sub>11</sub></b>	-7	-5	-6	-1	-11	-7	-11	-12
<b><sup>13</sup>C<sub>9</sub></b>	-5	-1	-11	-1	-1	-1	-1	-1
<b><sup>13</sup>C<sub>7</sub></b>	-3	-8	-6	-8	-10	-13	-11	-8
<b><sup>13</sup>C<sub>5</sub></b>	0	-1	-1	0	0	0	-1	-1

Tabelle 8: Absolute Frequenzen und Isotopeneffekte für die C=N- und [C=C]<sub>+</sub>-Mode der protonierten Schiffchen Base von Retinal; in der jeweiligen Kopfzeile sind kursiv die absoluten Frequenzen in cm<sup>-1</sup> der Moden für die native Form der Retinal-Schiff-Base aufgeführt; darunter sind für die in der linken Spalte angegebenen Isotopenmarkierungen die jeweilige Frequenzverschiebung in cm<sup>-1</sup> angegeben.

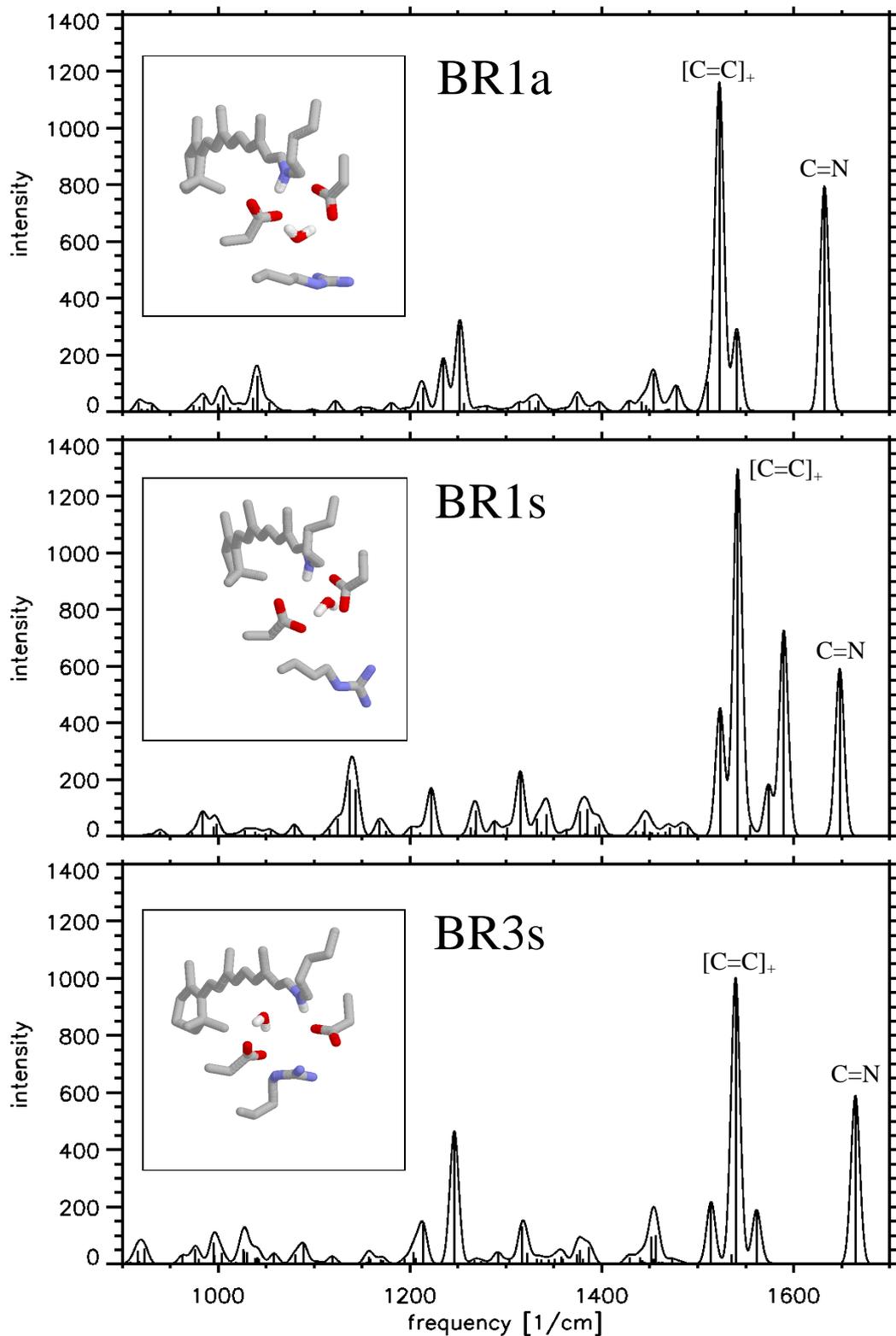


Abbildung 42 a: Berechnete IR-Absolutspektren für die QM/MM-Hybridmodelle BR1a, BR1s und BR3s; bei der Berechnung des Intensitätsprofils wurde für jede Schwingungsmoden eine gaußförmige Linienform der Halbwertsbreite  $15 \text{ cm}^{-1}$  angenommen; das in jedem Plot eingezeichnete Strukturbild verdeutlicht die wesentlichen Aspekte der Geometrie des Chromophors und dessen Lage in der BR-Bindungstasche.

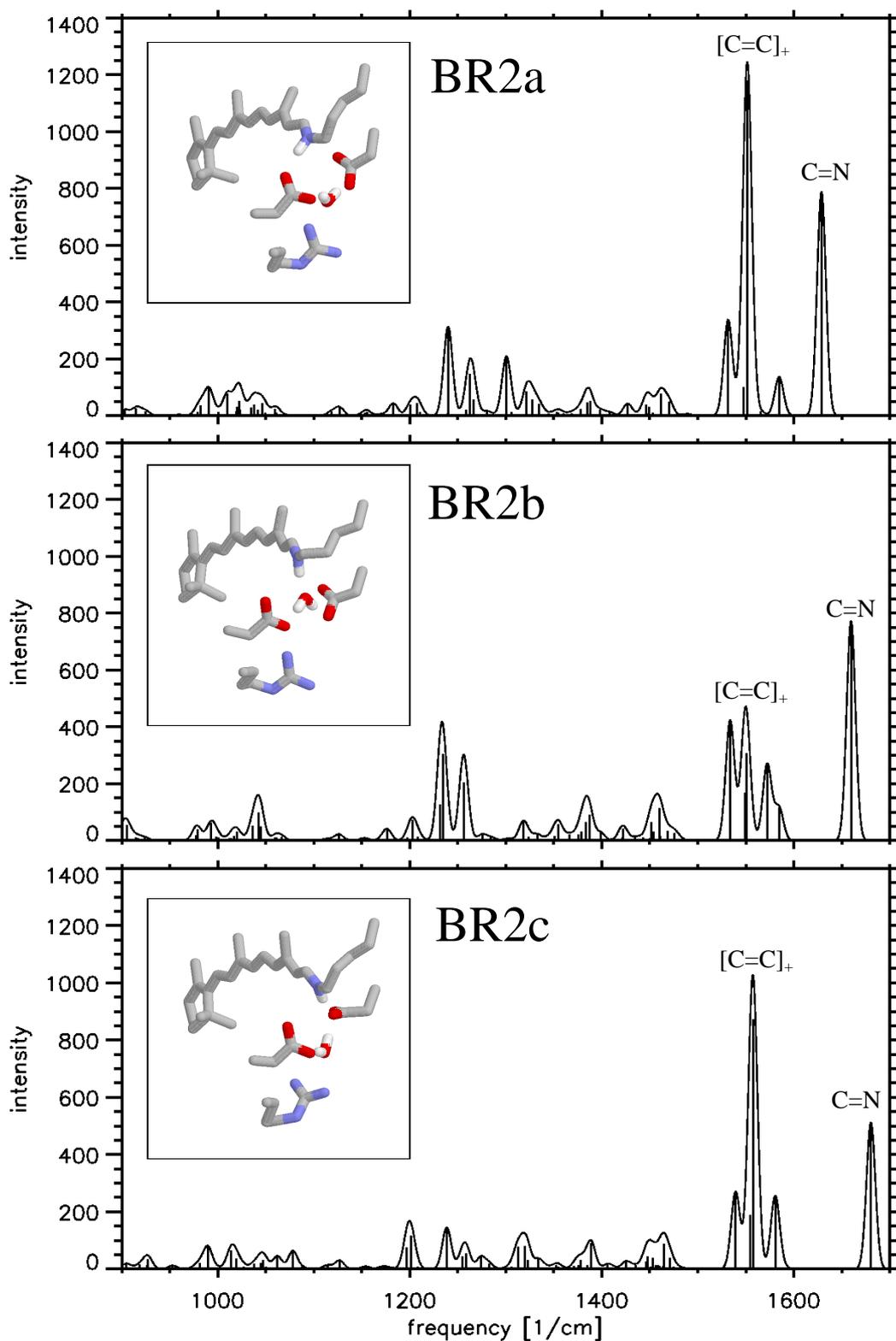


Abbildung 42 b: Analog zu Abbildung 42 a berechnete IR-Absolutspektren für die QM/MM-Hybridmodelle BR2a, BR2b und BR2c.

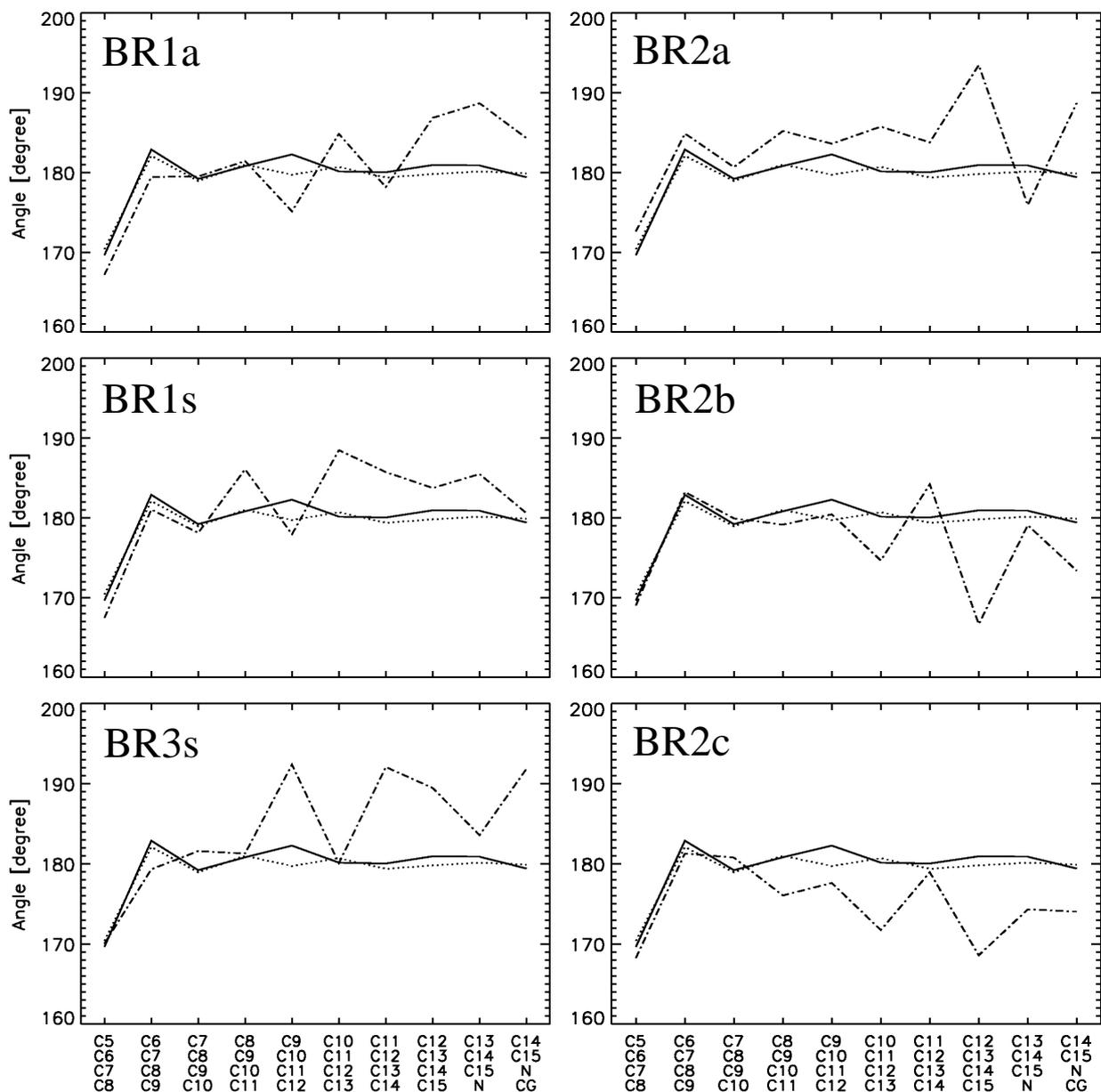


Abbildung 43: Diederwinkel der Polyenkette der Retinal-Schiff-Base in den untersuchten BR-Hybridmodellen; ein Winkel von  $180^\circ$  entspricht einer *cis*-Konfiguration; zum Vergleich sind mit durchgezogener Linie die Diederwinkel für die deprotonierte und mit punktierter Linie für die protonierte Retinal-Schiff-Base *in vacuo* eingezeichnet.

# Literaturverzeichnis

- [1] L. Stryer. *Biochemistry*, W. H. Freeman and Company, San Francisco, 1988
- [2] T. E. Creighton. *Proteins*, W. H. Freeman and Company, San Francisco, 1984
- [3] D. Oesterhelt und W. Stoeckenius. Functions of a New Photoreceptor Membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **70**:2853, 1973
- [4] R. Henderson und P. N. T. Unwin. Three-Dimensional Model of Purple Membrane Obtained by Electron Microscopy. *Nature (London)*, **257**:28, 1975
- [5] R. Henderson, J. M. Baldwin, T. A. Ceska, F. Zemlin, E. Beckmann und K. H. Downing. Model for the Structure of Bacteriorhodopsin Based on High-Resolution Electron Cryo-Microscopy. *J. Mol. Biol.*, **213**:899, 1990
- [6] N. Grigorieff, T. A. Ceska, K. H. Downing, J. M. Baldwin und R. Henderson. Electron-Crystallographic Refinement of the Structure of Bacteriorhodopsin. *J. Mol. Biol.*, **259**:393, 1996
- [7] Y. Kimura, D. G. Vassilyev, A. Miyazawa, A. Kidera, M. Matsushima, K. Mitsuoka, K. Murata, T. Hirai und Y. Fujiyoshi. Surface of the Bacteriorhodopsin Revealed by High-Resolution Electron Crystallography. *Nature (London)*, **389**:206, 1997
- [8] L.-O. Essen, R. Siegert, W. D. Lehmann und D. Oesterhelt. Lipid Patches in Membrane Protein Oligomers. Structure of the Bacteriorhodopsin-Lipid Complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**:11673, 1998
- [9] E. Pebay-Peyroula, G. Rummel, J. P. Rosenbusch und E. M. Landau. X-Ray Structure of Bacteriorhodopsin at 2.5 Angstroms from Microcrystals Grown in Lipidic Cubic Phases. *Science*, **277**:1676, 1997
- [10] K. Schulten und P. Tavan. A Mechanism for the Light-Driven Proton Pump of Halobacterium Halobium. *Nature (London)*, **272**:85, 1978
- [11] W. Zinth und D. Oesterhelt. The Primary Photochemical Process in Bacteriorhodopsin. *Photobiol.*, S.531, 1991
- [12] F. Gai, K. C. Hasson, J. C. McDonald und P. A. Anfinrud. Chemical Dynamics in Proteins: The Photoisomerization of Retinal in Bacteriorhodopsin. *Science*, **279**:1886, 1998
- [13] K. C. Hasson, F. Gai und P. A. Anfinrud. The Photoisomerization of Retinal in Bacteriorhodopsin: Experimental Evidence for a Three-State Model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**:15124, 1996
- [14] S. O. Smith, I. Hornung, R. van der Steen, J. Pardoen, M. S. Braiman, J. Lugtenburg und R. A. Mathies. Are C<sub>14</sub>-C<sub>15</sub> Single Bond Isomerizations of the Retinal Chromophore Involved in the Proton-Pumping Mechanism of Bacteriorhodopsin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**:967, 1986
- [15] S. O. Smith, M. S. Braiman, A. B. Myers, J. A. Pardoen, J. M. L. Courtin, C. Winkel, J. Lugtenburg und R. A. Mathies. Vibrational Analysis of the *all-trans*-Retinal Chromophore in Light-Adapted Bacteriorhodopsin. *J. Am. Chem. Soc.*, **109**:3108, 1987

- [16] K. Fahmy, F. Siebert, M. F. Großjean und P. Tavan. Photoisomerization in Bacteriorhodopsin Studied by FTIR Linear Dichroism and Photoselection Experiments Combined With Quantumchemical Theoretical Analysis. *J. Mol. Struct.*, **214**:257, 1989
- [17] P. Tavan, K. Schulten und D. Oesterhelt. The Effect of Protonation and Electrical Interactions on the Stereochemistry of Retinal Schiff Bases. *Biophys. J.*, **47**:415, 1985
- [18] M. F. Großjean. *Korrelationseffekte in Schwingungsspektren und optischen Spektren von Retinalchromophoren*. Dissertation, Technische Universität München, Dezember 1988
- [19] M. F. Großjean, P. Tavan und K. Schulten. Can Normal Mode Analysis Reveal the Geometry of the L<sub>550</sub> Chromophore of Bacteriorhodopsin? *Europ. Biophys. J.*, **16**:341, 1989
- [20] M. F. Großjean, P. Tavan und K. Schulten. Quantum Chemical Vibrational Analysis of the Chromophore of Bacteriorhodopsin. *J. Phys. Chem.*, **94**:8059, 1990
- [21] B. Mennucci und J. Tomasi. Continuum solvation models: A New Approach to the Problem of Solute's Charge Distribution and Cavity Boundaries. *J. Chem. Phys.*, **106**:5151, 1997
- [22] K. Baldridge und A. Klamt. First Principles Implementation of Solvent Effects Without Outlying Charge Error. *J. Chem. Phys.*, **106**:6622, 1997
- [23] F. Schwabl. *Quantenmechanik*. Springer-Verlag, Berlin, 1990.
- [24] K. B. Lipkowitz und D. B. Boyd. *Reviews in Computational Chemistry*, Vol. IV, VCH Publishers, Inc., New York, USA, 1993
- [25] M. J. Frisch *et al.*, *Gaussian 94, Revision B.3*, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 1995
- [26] M. J. S. Dewar und W. Thiel. Ground States of Molecules. 38. The MNDO Method. *J. Am. Chem. Soc.*, **99**:4899, 1977
- [27] M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy und J. J. Stewart. AM1: A New General Purpose Quantum Mechanical Molecular Model. *J. Am. Chem. Soc.*, **107**:3902, 1985
- [28] J. J. P. Stewart. MOPAC: A General Purpose MNDO and MINDO/3 program. *Quantum Chemistry Program Exchange Bulletin*, **6** (391, Prog. 455), 1986
- [29] C. Møller und M. S. Plesset. Note on an Approximation Treatment for Many-Electron Systems. *Phys. Rev.*, **46**:618, 1934
- [30] R. G. Parr und W. Yang. *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*. Oxford University Press, New York, USA, 1989
- [31] P. Hohenberg und W. Kohn. Inhomogeneous Electron Gas. *Phys. Rev.*, **136**:B864, 1964
- [32] W. Kohn und L. J. Sham. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys. Rev.*, **140**:A1133, 1965
- [33] M. Born und J. R. Oppenheimer. *Ann. Physik*. **84**:457, 1927
- [34] *The Official Website of the Nobel Foundation*, <http://www.nobel.se>

- 
- [35] T. P. Hamilton und P. Pulay. *Ab Initio* Force Constants and the Reassignment of the Vibrational Spectra of *all-trans*- and *all-cis*-1,3,5,7-Octatetraene. *J. Phys. Chem.*, **93**:2341, 1989
- [36] S. Hirata, H. Yshida, H. Torii und M. Tasumi. Vibrational Analyses of *trans,trans*-1,3,5,6-Octatetraene and *all-trans*-1,3,5,7,9-Decapentaene Based on *ab initio* Molecular Orbital Calculations and Observed Infrared and Raman Spectra. *J. Chem. Phys.*, **103**:8955, 1995
- [37] X. Zhou, S. J. Mole und R. Liu. Density Functional Theory of Vibrational Spectra. 4. Comparison of Experimental and Calculated Frequencies of *all-trans*-1,3,5,7-Octatetraene – The end of Normal Coordinate Analysis? *Vibrational Spectroscopy*, **12**:73, 1996
- [38] M. Nonella und P. Tavan. An Unscaled Quantum Mechanical Force Field for p-Benzoquinone. *Chem. Phys.*, **199**:19, 1995
- [39] M. Nonella. Structure and Harmonic Force Fields of 1,4-Naphthoquinone and Naphthalene: a Density Functional Study. *J. Mol. Struct.*, **362**:7, 1996
- [40] M. Nonella und C. Brändli. Density Functional Investigation of Methoxy-Substituted p-Benzoquinones: Conformational Analysis and Harmonic Force Fields of 2-Methoxy- and 2,3-Dimethoxy-1,4-Benzoquinone. *J. Phys. Chem.*, **100**:14549, 1996
- [41] I. Bytheway und M. W. Wong. The Prediction of Vibrational Frequencies of Inorganic Molecules using Density Functional Theory. *Chem. Phys. Lett.*, **282**:219, 1998
- [42] Biosym Technologies, *DMol Users Guide Version 2.3*, San Diego, USA, 1993
- [43] J. Hutter, P. Ballone, M. Bernasconi, P. Focher, E. Fois, St. Goedecker, D. Marx, M. Parrinello und M. Tuckerman. *CPMD Version 3.0*, MPI für Festkörperforschung und IBM Zürich Research Laboratory 1995-96
- [44] R. Car und M. Parrinello. Unified Approach for Molecular Dynamics and Density-Functional Theory. *Phys. Rev. Lett.*, **55**:2471, 1985
- [45] C. Lee, D. Vanderbilt, K. Laasonen, R. Car und M. Parrinello. *Ab initio* Studies on the Structural and Dynamical Properties of Ice. *Phys. Rev. B*, **47**:4863, 1993
- [46] M. Tuckerman, K. Laasonen, M. Sprik und M. Parrinello. *Ab initio* Molecular Dynamics Simulation of the Solvation and Transport of Hydronium and Hydroxyl Ions in Water. *J. Chem. Phys.*, **103**:150, 1995
- [47] M. Sprik, J. Hutter und M. Parrinello. *Ab initio* Molecular Dynamics Simulation of Liquid Water: Comparison of Three Gradient-Corrected Density Functionals. *J. Chem. Phys.*, **105**:1142, 1996
- [48] A. Rahman. Correlations in the Motion of Atoms in Liquid Argon. *Phys. Rev.*, **136**:A405, 1964
- [49] L. Verlet. Computer „Experiments“ on Classical Fluids. I. Thermodynamical Properties of Lennard-Jones Molecules. *Phys. Rev.*, **159**:98, 1967
- [50] W. F. van Gunsteren und H. J. C. Berendsen. Computer Simulation of Molecular Dynamics: Methodology, Applications, and Perspectives in Chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **29**:992, 1990
- [51] M. Levitt und S. Lifson. Refinement of Protein Conformations using a Macromolecular Energy Minimization Procedure. *J. Mol. Biol.*, **46**:269, 1969

- [52] A. T. Brünger, R. L. Campbell, G. M. Clore, A. M. Gronenborn, M. Karplus, G. A. Petsko und M. M. Teeter. Solution of a Protein Crystal Structure with a Model Obtained from NMR Interproton Distance Restraints. *Science*, **235**:1049, 1987
- [53] A. T. Brünger. Crystallographic Refinement by Simulated Annealing. In *Crystallographic computing 4: Techniques and new technologies*, Clarendon Press, Oxford, 1988
- [54] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey and M. L. Klein. Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water. *J. Chem. Phys.*, **79**:926, 1983
- [55] M. P. Allen und D. J. Tildesley. *Computer Simulations of Liquids*, Clarendon, Oxford, 1987
- [56] R. Elber und M. Karplus. Multiple Conformational States of Proteins: A Molecular Dynamics Analysis of Myoglobin. *Science*, **235**:318, 1987
- [57] M. Levitt. Molecular Dynamics of Macromolecules in Water. *Chem. Scr.*, **29A**:197, 1989
- [58] H. Frauenfelder, S. G. Sligar und P. G. Wolynes. The Energy Landscape and Motions of Proteins. *Science*, **254**:1598, 1991
- [59] A. Kitao, F. Hirata und N. Go. Effects of Solvent on the Conformation and the Collective Motions of a Protein. 2. Structure of Hydration in Melittin. *J. Phys. Chem.*, **97**:10223, 1993
- [60] F. Jähnig. Modeling of the Structure of Bacteriorhodopsin: A Molecular Dynamics Study. *J. Mol. Biol.*, **226**:837, 1992
- [61] O. Edholm, O. Berger und F. Jähnig. Structure and Fluctuations of Bacteriorhodopsin in the Purple Membrane. *J. Mol. Biol.*, **250**:94, 1995
- [62] M. Levitt. Computer Simulation of DNA Double-Helix Dynamics. *Cold Spr. Harbor Symp. on Quant. Biol.*, **47**:251, 1983
- [63] H. J. C. Berendsen und B. Egberts. Molecular Dynamics of a Bilayer Membrane with Atomic Detail. In *Structure, Dynamics and Function of Biomolecules*, A. Ehrenberg and others, Editor, Springer-Verlag, Berlin, 1987
- [64] H. Heller, M. Schaefer und K. Schulten. Molecular Dynamics Simulation of a Bilayer of 200 Lipids in the Gel and in the Liquid Crystal Phase. *J. Phys. Chem.*, **97**:8343, 1993
- [65] H. Heller. *Simulation einer Lipidmembran auf einem Parallelrechner*. Dissertation, Technische Universität München, Dezember 1993
- [66] A. Warshel. The Consistent Force Field and its Quantum Mechanical Extensions. In *Semiempirical Methods of Electronic Structure Calculation, Part A: Techniques*, G. A. Segal, Editor, New York, 1977, Plenum Press
- [67] B. R. Brooks, 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. Comp. Chem.*, **4**:187, 1983
- [68] A. T. Brünger. *X-PLOR, Version 2.1*, The Howard Hughes Medical Institute and Department of Molecular Biophysics and Biochemistry, Yale University, New Haven, 1992

- 
- [69] W. F. van Gunsteren, S. R. Billeter, A. A. Eising, P. H. Hünenberger, P. Krüger, A. E. Mark, W. R. P. Scott und I. G. Tironi. *Biomolecular Simulation: The GROMOS96 Manual and User Guide*, Vdf Hochschulverlag AG an der ETH Zürich, Zürich, 1996
- [70] S. J. Weiner, P. A. Kollman, D. A. Case, U. C. Singh, C. Ghio, G. Alagona, S. Profeta, Jr. und P. Weiner. A New Force Field for Molecular Mechanical Simulation of Nucleic Acids and Proteins. *J. Am. Chem. Soc.*, **106**:765, 1984
- [71] A. Mackerell *et al.*. Self-Consistent Parametrization of Biomolecules for Molecular Modeling and Condensed Phase Simulations. *The FASEB J.*, **6**:143, 1992
- [72] A. Wallquist und G. Karlström. A New Non-Empirical Force Field for Computer Simulations. *Chem. Scr.*, **29A**, 1989
- [73] S. Kuwajima und A. Warshel. Incorporating Electric Polarizabilities in Water-Water Interaction Potentials. *J. Phys. Chem.*, **94**:460, 1990
- [74] L. X. Dang 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, 1997
- [75] R. J. Loncharich und B. R. Brooks. The Effects of Truncating Long-Range Forces on Protein Dynamics. *Proteins*, **6**:32, 1989
- [76] M. Saito. Molecular Dynamics Simulations of Proteins in Water Without the Truncation of Long-Range Coulomb Interactions. *Mol. Sim.*, **8**:321, 1992
- [77] H. Grubmüller. *Molekulardynamik von Proteinen auf langen Zeitskalen*. Dissertation, Technische Universität München, Januar 1994
- [78] C. Niedermeier. *Modellierung elektrostatischer Wechselwirkungen in Proteinen: Eine strukturadaptierte Multipolmethode*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München, Januar 1995
- [79] A. Ahmad und L. Cohen. A Numerical Integration Scheme for the N-Body Gravitational Problem. *J. Comp. Phys.*, **12**:389, 1973
- [80] W. B. Streett, D. J. Tildesley und G. Saville. Multiple Time Step Methods in Molecular Dynamics. *Mol. Phys.*, **35**:639, 1978
- [81] H. Grubmüller, H. Heller, A. Windemuth und K. Schulten. Generalized Verlet Algorithm for Efficient Molecular Dynamics Simulations with Long-Range Interactions. *Mol. Sim.*, **6**:121, 1991
- [82] M. E. Tuckerman, B. J. Berne und G. J. Martyna. Molecular Dynamics Algorithm for Multiple Time Scales: Systems With Long Range Forces. *J. Chem. Phys.*, **94**:6811, 1991
- [83] J. Barnes und P. Hut. A Hierarchical  $O(N \log N)$  Force-Calculation Algorithm. *Nature (London)*, **324**:446, 1986
- [84] L. Greengard und V. Rokhlin. On the Evaluation of Electrostatic Interactions in Molecular Modeling. *Chem. Scr.*, **29A**:139, 1989
- [85] J. A. Board, J. W. Causey, J. F. Leathrum, A. Windemuth und K. Schulten. Accelerated Molecular Dynamics Simulation with the Parallel Fast Multipole Algorithm. *Chem. Phys. Lett.*, **198**:89, 1992

- [86] C. Niedermeier und P. Tavan. A Structure Adapted Multipole Method for Electrostatic Interactions in Protein Dynamics. *J. Chem. Phys.*, **101**:734, 1994
- [87] C. Niedermeier und P. Tavan. Fast Version of the Structure Adapted Multipole Method – Efficient Calculation of Electrostatic Forces in Protein Dynamics. *Mol. Sim.*, **17**:57, 1996
- [88] R. Zhou und B. J. Berne. A New Molecular Dynamics Method Combining the Reference System Propagator Algorithm With a Fast Multipole Method for Simulating Proteins and Other Complex Systems. *J. Phys. Chem.*, **103**:9444, 1995
- [89] A. Windemuth. Advanced Algorithms for Molecular Dynamics Simulation: The Program PMD. In *Parallel Computing in Computational Chemistry*, ACS Books, 1995
- [90] M. Eichinger, H. Grubmüller, H. Heller und P. Tavan. FAMUSAMM: An Algorithm for Rapid Evaluation of Electrostatic Interaction in Molecular Dynamics Simulations. *J. Comp. Chem.*, **18**:1729, 1997
- [91] M. Eichinger. *Paralleler schneller Multipolalgorithmus mit Mehrschrittverfahren für Molekulardynamiksimulationen*. Diplomarbeit, Ludwig-Maximilians-Universität München, April 1995
- [92] H. Heller, H. Grubmüller und K. Schulten. Molecular Dynamics Simulation on a Parallel Computer. *Mol. Sim.*, **5**:133, 1990
- [93] M. Eichinger, H. Grubmüller und H. Heller. *User Manual for EGO\_VIII, Release 2.0*, Institut für Medizinische Optik, Ludwig-Maximilians-Universität München, 1995
- [94] H. Grubmüller, B. Heymann und P. Tavan. Ligand Binding: Molecular Mechanics Calculation of the Streptavidin-Biotin Rupture Force. *Science*, **271**:997, 1996
- [95] H. J. C. Berendsen. Bio-Molecular Dynamics Comes of Age. *Science*, **271**:954, 1996
- [96] A. Warshel 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, 1976
- [97] M. J. Field, P. A. Bash und M. Karplus. A Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Potential for Molecular Dynamics Simulations. *J. Comp. Chem.*, **11**:700, 1990
- [98] D. Bakowies. *Hybridmodelle zur Kopplung quantenchemischer und molekülmechanischer Verfahren*. Dissertation, Universität Zürich, 1994
- [99] D. Bakowies und W. Thiel. Hybrid Models for Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Approaches. *J. Phys. Chem.*, **100**:10580, 1996
- [100] D. Bakowies und W. Thiel. Semiempirical Treatment of Electrostatic Potentials and Partial Charges in Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Approaches. *J. Comp. Chem.*, **17**:87, 1996
- [101] P. A. Bash, M. J. Field und M. Karplus. Free Energy Perturbation Method for Chemical Reactions in the Condensed Phase: A Dynamical Approach Based on a Combined Quantum and Molecular Mechanics Potential. *J. Am. Chem. Soc.*, **109**:8092, 1987
- [102] J. Gao. Absolute Free Energy of Solvation from Monte Carlo Simulations Using Combined Quantum and Molecular Mechanical Potentials. *J. Phys. Chem.*, **96**:537, 1992

- 
- [103] M. A. Thompson. Hybrid Quantum Mechanical/Molecular Mechanical Force Field Development for Large Flexible Molecules: A Molecular Dynamics Study of 18-Crown-6. *J. Phys. Chem.*, **99**:4794, 1995
- [104] H. Liu, F. Müller-Plathe und W. F. van Gunsteren. A Molecular Dynamics Simulation Study With a Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Potential Energy Function: Solvation Effects on the Conformational Equilibrium of Dimethoxyethane. *J. Chem. Phys.*, **102**:1722, 1995
- [105] H. Liu, F. Müller-Plathe und W. F. van Gunsteren. Molecular Dynamics with a Quantum-Chemical Potential: Solvent Effects on an S<sub>n</sub>2 Reaction at Nitrogen. *Chem. Eur. J.*, **2**:191, 1996
- [106] P. L. Cummins und J. E. Gready. Coupled Semiempirical Molecular Orbital and Molecular Mechanics Model (QM/MM) for Organic Molecules in Aqueous Solution. *J. Comp. Chem.*, **18**:1496, 1997
- [107] H. Liu, F. Müller-Plathe und W. F. van Gunsteren. A Combined Quantum/Classical Molecular Dynamics Study of the Catalytic Mechanism of HIV Protease. *J. Mol. Biol.*, **261**:454, 1996
- [108] I. B. Bersuker, M. K. Leong, J. E. Boggs und R. S. Pearlman. A Method of Combined Quantum Mechanical (QM)/Molecular Mechanics (MM) Treatment of Large Polyatomic Systems with Charge Transfer Between the QM and MM Fragments. *Int. J. Quant. Chem.*, **63**:1051, 1997
- [109] M. A. Thompson und G. K. Schenter. Excited States of the Bacteriochlorophyll *b* Dimer of *Rhodospseudomonas viridis*: A QM/MM Study of the Photosynthetic Reaction Center That Includes MM Polarization. *J. Phys. Chem.*, **99**:6374, 1995
- [110] A. Broo, G. Pearl und M. C. Zerner. Development of a Hybrid Quantum Chemical and Molecular Mechanics Method with Application to Solvent Effects on the Electronic Spectra of Uracil and Uracil Derivatives. *J. Phys. Chem.*, **101**:2478, 1997
- [111] G. Alagona, P. Desmeules, C. Ghio und P. A. Kollman. Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Studies on a Model for the Dihydroxyacetone Phosphate-Glyceraldehyde Phosphate Isomerization Catalyzed by Triosephosphate Isomerase (TIM). *J. Am. Chem. Soc.*, **106**:3623, 1984
- [112] F. K. Brown, U. C. Singh, P. A. Kollman, L. Raimondi, K. N. Houk und C. W. Bock. A Theoretical Study of Intramolecular Diels-Alder and 1,3-Dipolar Cycloaddition Stereoselectivity Using *ab Initio* Methods, Semiempirical Methods and a Tandem Quantum Mechanical-Molecular Mechanics Method. *J. Org. Chem.*, **57**:4862, 1992
- [113] U. C. Singh und P. A. Kollman. A Combined *Ab Initio* Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Method for Carrying out Simulations on Complex Molecular Systems: Applications to the CH<sub>3</sub>Cl + Cl<sup>-</sup> Exchange Reaction and Gas Phase Protonation of Polyethers. *J. Comp. Chem.*, **7**:718, 1986
- [114] M. Freindorf und J. Gao. Optimization of Lenard-Jones Parameters for a Combined *Ab Initio* Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Potential Using the 3-21G Basis Set. *J. Comp. Chem.*, **17**:386, 1996
- [115] T. Matsubara, F. Maseras, N. Koga und K. Morokuma. Application of the New "Integrated MO+MM" (IMOMM) Method to the Organometallic Reaction Pt(PR<sub>3</sub>)<sub>2</sub>+H<sub>2</sub> (R=H, Me, *t*-Bu, and Ph). *J. Phys. Chem.*, **100**:2573, 1996

- [116] M. Svenssons, S. Humbel, R. D. J. Froese, T. Matsubara, S. Sieber und K. Morokuma. ONIOM: A Multilayered Integrated MO+MM Method for Geometry Optimizations and Single Point Energy Predictions. A Test for Diels-Alder Reactions and Pt(P(*t*-Bu)<sub>3</sub>)<sub>2</sub>+H<sub>2</sub> Oxidative Addition. *J. Phys. Chem.*, **100**:19357, 1996
- [117] R. V. Stanton, D. S. Hartsough und K. M. Merz. Calculation of Solvation Free Energies Using a Density Functional/Molecular Dynamics Coupled Potential. *J. Phys. Chem.*, **97**:11868, 1993
- [118] I. Tuñón, M. T. C. Martins-Costa, C. Millot, M. F. Ruiz-López und J. L. Rivail. A Coupled Density Functional-Molecular Mechanics Monte Carlo Simulation Method: The Water Molecule in Liquid Water. *J. Comp. Chem.*, **17**:19, 1996
- [119] I. Tuñón, M. T. C. Martins-Costa, C. Millot und M. F. Ruiz-López. Molecular Dynamics Simulations of Elementary Chemical Processes in Liquid Water Using Combined Density Functional and Molecular Mechanics Potentials. I. Proton Transfer in Strongly H-Bonded Complexes. *J. Chem. Phys.*, **106**:3633, 1997
- [120] M. Strnad, M. T. C. Martins-Costa, C. Millot, I. Tuñón, M. F. Ruiz-López und J. L. Rivail. Molecular Dynamics Simulations of Elementary Chemical Processes in Liquid Water Using Combined Density Functional and Molecular Mechanics Potentials. II. Charge Separation Processes. *J. Chem. Phys.*, **106**:3643, 1997
- [121] C. Alhambra, K. Byun und J. Gao. The Geometry of Water in Liquid Water from Hybrid *Ab Initio*-Monte Carlo and Density Functional-Molecular Dynamics Simulations. In *Combined QM and MM methods*, J. Gao and M. A. Thompson, Editors, ACS Books, 1998
- [122] H. Hellmann. *Einführung in die Quantenmechanik*. Frank-Deuticke, Leipzig/Wien, 1937
- [123] R. P. Feynman. Forces in Molecules. *Phys. Rev.*, **56**:340, 1939
- [124] J. P. Perdew und A. Zunger. Self-Interaction Correction to Density-Functional Approximations for Many-Electron Systems. *Phys. Rev. B*, **23**:5048, 1981
- [125] J. P. Perdew und W. Yue. Accurate and Simple Density Functional for the Electronic Exchange Energy: Generalized gradient approximation. *Phys. Rev. B*, **33**:8800, 1986
- [126] A. D. Becke. Density-Functional Exchange-Energy Approximation with Correct Asymptotic Behavior. *Phys. Rev. A*, **38**:3098, 1988
- [127] C. Lee, W. Yang und R. G. Parr. Development of the Colle-Salvetti Correlation Energy Formula into a Functional of the Electron Density. *Phys. Rev. B*, **37**:785, 1988
- [128] A. D. Becke. Density-Functional Thermochemistry. II. The Effect of the Perdew-Wang Generalized-Gradient Correlation Correction. *J. Chem. Phys.*, **97**:9173, 1992
- [129] R. N. Barnett und U. Landman. Born-Oppenheimer Molecular-Dynamics Simulations of Finite Systems: Structure and Dynamics of (H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>. *Phys. Rev. B*, **48**:2081, 1993
- [130] D. R. Hamann, M. Schlüter und C. Chiang. Norm-Conserving Pseudopotentials. *Phys. Rev. Lett.*, **43**:1494, 1979
- [131] N. Troullier und J. L. Martins. Efficient Pseudopotentials for Plane-Wave Calculations. *Phys. Rev. B*, **43**:1993, 1991

- 
- [132] D. Vanderbilt. Soft Self-Consistent Pseudopotentials in a Generalized Eigenvalue Formalism. *Phys. Rev. B*, **41**:7892, 1990
- [133] E. J. Nyström. Über die numerische Integration von Differentialgleichungen. *Acta Soc. Sci. Fenn.*, **50**:1, 1925
- [134] B. Egwolf. *Effiziente Beschreibung der Elektrostatik von Proteinen in ionenhaltigem Wasser*. Diplomarbeit, Ludwig-Maximilians-Universität München, Mai 1998
- [135] U. C. Singh und P. A. Kollman. An Approach to Computing Electrostatic Charges for Molecules. *J. Comp. Chem.*, **5**:129, 1984
- [136] M. A. Spackman. Potential Derived Charges Using a Geodesic Point Selection Scheme. *J. Comp. Chem.*, **17**:1, 1996
- [137] H. Grubmüller und P. Tavan. Multiple Time Step Algorithms for Molecular Dynamics Simulations of Proteins: How Good are They? *J. Comp. Chem.*, **19**:1534, 1998
- [138] H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola und J. R. Haak. Molecular Dynamics with Coupling to an External Bath. *J. Chem. Phys.*, **81**:3684, 1984
- [139] H. Goldstein. *Classical Mechanics*. Addison-Wesley Publishing Company, Inc., 1970
- [140] W. Gehrke. *FORTRAN 77-Handbuch*. Hanser, München, 1987
- [141] B. Kernighan und D. Ritchie. *The C Programming Language*. Prentice-Hall Inc., 1978
- [142] M. Eichinger. *Guide to the EGO/CPMD interface*, Theoretische Biophysik, Institut für Medizinische Optik, Ludwig-Maximilians-Universität München, 1998
- [143] J. K. Gregory, D. C. Clary, K. Liu, M. G. Brown und R. J. Saykally. The Water Dipole Moment in Water Clusters. *Science*, **275**:814, 1997
- [144] C. L. Brooks III und M. Karplus. Deformable Stochastic Boundaries in Molecular Dynamics. *J. Chem. Phys.*, **79**:6312, 1983
- [145] W. F. van Gunsteren und H. J. C. Berendsen. Algorithms for Macromolecular Dynamics and Constraint Dynamics. *Mol. Phys.*, **34**:1311, 1977
- [146] S. A. Clough, 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, 1973
- [147] K. Laasonen, M. Sprik, M. Parrinello und R. Car. "Ab initio" Liquid Water. *J. Chem. Phys.*, **99**:9080, 1993
- [148] C. A. Coulson und D. Eisenberg. Interactions of H<sub>2</sub>O Molecules in Ice. I. The Dipole Moment of an H<sub>2</sub>O Molecule in Ice. *Proc. Roy. Soc. A*, **291**:445, 1966
- [149] W. E. Thiessen und A. H. Narten. Neutron Diffraction Study of Light and Heavy Water Mixtures at 25 °C. *J. Chem. Phys.*, **77**:2656, 1982
- [150] K. Ichikawa, Y. Kameda, T. Yamaguchi, H. Wakita und M. Misawa. Neutron-Diffraction Investigation of the Intramolecular Structure of a Water Molecule in the Liquid Phase at High Temperature. *Mol. Phys.*, **73**:79, 1991

- [151] G. Herzberg. *Infrared and Raman spectra of polyatomic molecules*. Van Nostrand Co., Inc., Princeton, New Jersey, 1966
- [152] T. A. Ford und M. Falk. Hydrogen Bonding in Water and Ice. *Can. J. Chem.*, **46**:3579, 1968
- [153] S. H. Chen, K. Toukan, C. K. Loong, D. L. Price und J. Teixeira. Hydrogen-Bond Spectroscopy of Water by Neutron Scattering. *Phys. Rev. Lett.*, **53**:1360, 1984
- [154] T. R. Dyke, K. M. Mack und J. S. Muentzer. The Structure of Water Dimer from Molecular Beam Electric Resonance Spectroscopy. *J. Chem. Phys.*, **66**:498, 1977
- [155] M. Schütz, S. Brdarski, P. O. Widmark, R. Lindh und G. Karlström. The Water Dimer Interaction Energy: Convergence to the Basis Set Limit at the Correlated Level. *J. Chem. Phys.*, **107**:4597, 1997
- [156] S. Masuda, H. Torii und M. Tasumi. Vibrational Analysis of a Schiff Base Based on *ab Initio* Molecular Orbital Calculations: Effect of Electron Correlation on the C=N Stretching Force Constant and the Origin of the Shift of the C=N Stretching Frequency upon Protonation and Hydrogen-Bond Formation. *J. Phys. Chem.*, **100**:15328, 1996
- [157] L. S. Lussier, C. Sandorfy, H. Le-Thanh und D. Vocelle. The Effect of Acids on the Infrared Spectra of Schiff Bases – II. Imines Containing the C=C–C=N and C=C–C=C–C=N Units. *Photochem. Photobiol.*, **45**:801, 1987
- [158] S. Masuda, H. Torii und M. Tasumi. Infrared Intensities of the C=C and C=N Stretching Modes of Conjugated Schiff Bases. A Study on *ab Initio* Molecular Orbital Calculations. *J. Phys. Chem.*, **100**:15335, 1996
- [159] J. J. López-Garriga, S. Hanton, G. T. Babcock und J. F. J. Harrison. Rehybridization of the C=N Bond upon Protonation of Methylimine Increases the C=N Stretching Force Constant. *J. Am. Chem. Soc.*, **108**:7251, 1986
- [160] H. Deng, L. Huang, M. Groesbeek, J. Lugtenburg und R. H. Callender. Vibrational Analysis of a Retinal Protonated Schiff Base Analog. *J. Phys. Chem.*, **98**:4776, 1994
- [161] K. Döhring. *Rekonstruktion der Basismatrix und der Fourierkoeffizientenmoduli von Proteinkristallen mit starken Verbreiterungsmechanismen am Beispiel von Bakteriorhodopsin*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München, Februar 1998
- [162] S. Moltke, A. A. Nevzorov, N. Sakai, I. Wallat, C. Job, K. Nakanishi, M. P. Heyn und M. F. Brown. Chromophore Orientation in Bakteriorhodopsin Determined from the Angular Dependence of Deuterium Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Oriented Purple Membranes. *Biochem.*, **37**:11821, 1998
- [163] R. Henderson, private Mitteilung
- [164] F. Siebert und W. Mäntele. Investigations of the Rhodopsin/Meta I and Rhodopsin/Meta II Transitions of Bovine Rod Outer Segments by Means of Kinetic Infrared Spectroscopy. *Biophys. Struct. Mech.*, **6**:147, 1980
- [165] L. S. Lussier, C. Sandorfy, H. Le-Thanh und D. Vocelle. Effects of Acids on the Infrared Spectra of Schiff Base of the *trans*-Retinal. *J. Phys. Chem.*, **91**:2282, 1987

# Danksagung

*Eine Promotion ist eine Grenzerfahrung<sup>15</sup>*

Die vorliegende Arbeit entstand am Institut für Medizinische Optik der Ludwig-Maximilians-Universität München unter der Leitung von Prof. Dr. Paul Tavan. Sein großes Engagement und seine stete Diskussionsbereitschaft haben wertvolle Anregungen und Impulse für diese Arbeit gegeben. Außerdem danke ich ihm für die gesicherte finanzielle Unterstützung im Rahmen des SFB533/C3-Projekts.

Außerdem danke ich Dr. Helmut Grubmüller und Dr. Helmut Heller für die gemeinsamen Theresienstraßen-Jahre. In dieser Zeit lernte ich von ihnen viel über Molekulardynamiksimulation, Parallelcomputer und UNIX. Helmut Grubmüller danke ich besonders für die Unterstützung am Anfang meiner Doktorarbeit. Helmut Heller half mir bei der Erschließung der VPP700-Rechenleistung, die vor allem für die Rechnungen in der Endphase meiner Dissertation nötig war.

Das von Hilfsbereitschaft und Freundschaft geprägte Arbeitsklima am IMO war für mich eine stetige Motivation und half schwere Zeiten zu überwinden. Ich danke hierfür den derzeitigen Mitgliedern der Gruppe Sebastian Albrecht, Dr. Klaus Döhring, Bernhard Egwolf, Alain Laederach, Florian Metze, Prof. Dr. Marco Nonella, Brita Schulze und Paul Strodel. Stellvertretend für alle ehemaligen Gruppenmitgliedern danke ich Volker Groll, Berthold Heymann, Andreas Wilden, Dr. Christoph Niedermeier, Dr. Hans Kühnel und Dr. Niels Kunstmann.

Außerdem bedanke ich mich bei Ingmar Hartl und Matthias Beutter, die halfen, eines der wohl heterogensten Netzwerke der Welt (5 Unix-Varianten plus WindowsNT plus Mac's) aufzubauen und am Laufen zu halten. Dem Rest der Experimentalo-Gruppe sei für die vielen Kuchen gedankt, die seit der Zusammenlegung des Instituts in der Oettingenstraße den Theoretikern zu Gute gekommen sind.

Außerdem danke ich Prof. Dr. Michele Parrinello und Dr. Jürg Hutter vom MPI für Festkörperphysik in Stuttgart, die das in ihrer Gruppe entwickelte Dichtefunktionalprogramm CPMD für die Kopplung mit EGO zu Verfügung stellten. Jürg Hutter gab mir bereitwillig eine

---

<sup>15</sup> P. Tavan, private Mitteilung

Einführung in CPMD und unterstützte mich später bei allen auftretenden Problemen. Michele Parrinello danke ich für die Einladung zu dem CECAM-Workshop in Lyon.

Ohne die Rechenkapazität, die mir vom Leibniz-Rechenzentrum München sowie vom Hochleistungszentrum Jülich zu Verfügung gestellt worden ist, wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Besonders danke ich meiner Frau Mariola sowie meinen Eltern und meiner Schwester für ihre Liebe und Unterstützung. Sie halfen mir den nötigen Abstand zu dieser Arbeit zu gewinnen.

Für das Korrekturlesen des Manuskripts bedanke ich mich bei Mariola, meinen Eltern sowie Dr. Klaus Döhring.

All denjenigen, die gezweifelt haben, daß es möglich sei, eine Dissertation mit vielen Bildern unter Windows mit Word zu erstellen, sei hiermit versichert, daß es möglich ist. Keine einzige Seite mußte geklebt werden!

Nach all den Worten der Wissenschaft und all den Worten des Dankes soll an dieser Stelle „Ein Wort“ von Gottfried Benn diese Arbeit abschließen:

*„Ein Wort“*

*Ein Wort, ein Satz –: aus Chiffren steigen  
erkanntes Leben, jäher Sinn,  
die Sonne steht, die Sphären schweigen  
und alles ballt sich zu ihm hin.*

*Ein Wort – ein Glanz, ein Flug, ein Feuer  
ein Flammenwurf, ein Sternenstrich –  
und wieder Dunkel, ungeheuer,  
im leeren Raum um Welt und Ich.*

Gottfried Benn

# Lebenslauf

Name	<u>Markus</u> Andreas Eichinger
Geburtsdatum	28.11.1967
Geburtsort	Arnstorf (Krs. Rottal-Inn)
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	verheiratet seit 1997
Grundschule	1974-1978 in Simbach
Gymnasium (humanistischer Zweig)	1978-1987 in Pfarrkirchen
Grundwehrdienst	1987-1988
Studium der Physik	WS 1988/89 - SoSe 1995 an der Technischen Universität München
Diplom	17.05.95
Promotionsstudium	WS 1995 - WS 98/99 an der Ludwig-Maximilians-Universität München