

# Entwicklung eines neuartigen Solvatationsmodells für das Kraftfeldprogramm MOMO

---

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Naturwissenschaften



vorgelegt beim Fachbereich 14  
der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
in Frankfurt am Main

von  
**Thorsten Pisternick**  
aus Frankfurt am Main

**2013**  
**(D 30)**

vom Fachbereich Biochemie, Chemie, Pharmazie der  
Johann Wolfgang Goethe-Universität als Dissertation angenommen.

Dekan: Prof. Dr. T. Prisner

Gutachter: Prof. Dr. E. Egert  
Prof. Dr. J. Wachtveitl

Datum der Disputation:

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>v</b>
<b>1. Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Implementierung eines Solvationsmodells in das Kraftfeldprogramm MOMO .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Explizites Solvationsmodell oder Kontinuum-Solvationsmodell? Eine Vorüberlegung.....</b>	<b>4</b>
<b>2.2. Die Programmstruktur von MOMO .....</b>	<b>6</b>
<b>2.3. Implementierung des TPA3-Solvationsmodells in den MOMO/MMTK-Programmkomplex .....</b>	<b>7</b>
2.3.1 <i>Klare Unterscheidbarkeit zwischen solvatisiertem Molekül und Wasser .....</i>	<i>7</i>
2.3.2 <i><math>\pi</math>-System.....</i>	<i>8</i>
2.3.3 <i>Wasserstoffbrücken-Potential.....</i>	<i>9</i>
2.3.4 <i>Die Iterationsmatrix für die nichtbindenden Wechselwirkungen: Unterscheidung der Wechselwirkungen Molekül–Molekül und Molekül–Wasser .....</i>	<i>11</i>
2.3.5 <i>Generierung einer Oberfläche um das solvatisierte Molekül und initiale Bewegung .....</i>	<i>15</i>
2.3.6 <i>Nah- und Fernbereich um das solvatisierte Molekül: Unterteilung in Wasser- und TPA3-Moleküle .....</i>	<i>18</i>
2.3.7 <i>Implementierung eines Potentials zur Beschreibung der nichtbindenden TPA3–TPA3-Wechselwirkungen .....</i>	<i>20</i>
2.3.8 <i>Veränderungen und Erweiterungen am Conjugate Gradient Minimizer .....</i>	<i>21</i>
<b>3. Algorithmus zum „Starrhalten“ der TPA3-Moleküle (Transferable Potential Algorithm 3) .....</b>	<b>24</b>
<b>4. Der Aufbau einer Solvathülle mit Eiselementarzellen und ungeordneten Wasserzellen.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1 Der innere Bereich.....</b>	<b>36</b>

<b>4.2 Der äußere Bereich</b> .....	38
<b>4.3 Der automatisierte Aufbau von Solvathüllen für Einzelkonformationen einer Konformationsanalyse</b> .....	45
<b>4.4 Die Solvathülle für kleine Moleküle</b> .....	50
<b>5. Peptide und Peptidkonformationen</b> .....	<b>53</b>
5.1 Einteilung des Ramachandran-Diagramms in Strukturbereiche .....	53
5.2 Bevorzugte Peptidkonformationen .....	55
5.3 Berechnung von Peptidkonformationen .....	59
<b>6. Durchführung und computertechnische Details der systematischen Konformationsanalyse</b> .....	<b>61</b>
6.1 Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell .....	61
6.2 Einzelenergiebeiträge und die Definition einer Stabilisierungsenergie .....	62
6.3. Konformationsanalyse mit AMBER11 und TIP3P-Solvatationsmodell .....	64
6.4 Auswertung der MOMO-Konformationsanalysen .....	66
6.5 Auswertung der AMBER11-Konformationsanalysen .....	68
<b>7. Konformationsanalysen an Peptiden</b> .....	<b>69</b>
7.1 <i>N</i> -Acetyl-L-alanin- <i>N</i> -methyramid .....	70
7.2 <i>N</i> -Acetyl-L-L-dialanin- <i>N</i> -methyramid .....	78
7.2.1 Winkelpaar $\varphi_1 / \psi_1$ .....	78
7.2.2 Winkelpaar $\varphi_2 / \psi_2$ .....	90
7.3 Tripeptid Ala–Lys–Ala (zwitterionisches Peptidrückgrat) .....	97
7.4 Tripeptid Ala–Asp–Ala (zwitterionisches Peptidrückgrat, Carboxylatgruppen) .....	106
7.5 Tripeptid Cys–Asn–Ser (zwitterionisches Peptidrückgrat) .....	118



7.6 Tripeptid Ala–Phe–Ala (zwitterionisches Peptidrückgrat).....	129
7.7 Tripeptid Gly–Phe–Gly (zwitterionisches Peptidrückgrat) .....	139
<b>8. Das TPA3-Solvatationsmodell: Von der Entwicklung zur Anwendung .....</b>	<b>147</b>
8.1 Informationslücken als Entwicklungsbarriere .....	147
8.2 Vorteile des TPA3-Solvatationsmodells gegenüber Vakuumrechnungen.....	148
8.3 Vergleich mit experimentellen Untersuchungen .....	148
8.4 Vergleich mit AMBER11 .....	149
8.5 Vorteile des expliziten TPA3-Solvatationsmodells gegenüber Kontinuum- Modellen.....	150
8.6 Fokussierung auf das solvatisierte Molekül .....	151
8.7 Rückblick auf die Entwicklungsphase.....	151
<b>9. Zusammenfassung.....</b>	<b>153</b>
<b>10. Anhang .....</b>	<b>155</b>
10.1 <i>N</i> -Acetyl-L-serin- <i>N</i> -methyramid .....	155
10.2 <i>N</i> -Acetyl-L-valin- <i>N</i> -methyramid .....	160
10.3 <i>N</i> -Acetyl-L-threonin- <i>N</i> -methyramid .....	165
10.4 Tripeptid Ala–Asp–Ala (protonierte Carboxylgruppen) .....	170
10.5 Tripeptid Cys–Asn–Ser (protoniert) .....	173
10.6 Tripeptid Ala–Phe–Ala (protoniert).....	177
10.7 Tripeptid Gly–Phe–Gly (protoniert) .....	181



**11. Literaturverzeichnis..... .185**

**Verwendete Grafikprogramme.....viii**

**Lebenslauf.....x**

**Danksagung.....xii**



# Abkürzungsverzeichnis

---

A	Akzeptor
Ala, Asp, Lys, Cys, Asn, Ser, Phe, Gly	Aminosäuren
AMBER11	bekanntes Kraftfeldprogramm-Paket
TPAAngleTerm, TPABondTerm	Funktionen im Programmcode
CD	Circular Dichroismus
CHARMM	bekanntes Kraftfeldprogramm-Paket
<i>Cmc2<sub>1</sub></i>	kristallographische Raumgruppe
CSC	Center for Scientific Computing des HHLR-GU
D	Donor
DFT	Density Functional Theory (Quantenmechanik)
eolA	Variable im Programmcode
<i>gaff</i> , <i>ff99bsc0</i> und <i>ff99sb</i>	unterschiedlich parametrisierte Kraftfelder von AMBER11
GB	Generalized Born (ein Solvationsmodell)
HHLR-GU	Hessisches Hochleistungsrechenzentrum der Goethe-Universität
<i>iGB1</i> und <i>iGB5</i>	Generalized Born-Modelle in dem AMBER11-Programmpaket
IDP	Intrinsically Disordered Proteins
IR(-Spektroskopie)	Infrarot(-Spektroskopie)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (bekannt für Nomenklatur-Standards)

MATRIXA	Liste im Programmcode
MC(-Simulation)	Monte-Carlo(-Simulation)
MD(-Simulation)	Moleküldynamik(-Simulation)
ME	Median einer Energie
MMTK	Molecular Modelling Toolkit
MSIZE	Variable im Programmcode
MOMO	in unserer Arbeitsgruppe entwickeltes Kraftfeldprogramm
MoRFs	molecular recognition features
MP2	Møller-Plesset-Störungstheorie (2. Ordnung)
NaN	Not a Number (eine Bezeichnung fehlerhafter Variablen im Programmcode)
$N_{\text{Index}}$	Anzahl von „Index“
NMR(-Spektroskopie)	Nuclear Magnetic Resonance (-Spektroskopie)
PPI, PPII	Polyprolin-Konformationen
PyMOMO	aktuelle Version von MOMO (Python)
RCSB PDB	Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank
SANDER	AMBER11-Programmteil zur Molekülgeometrieoptimierung
scf	self consistent field (Algorithmus für die $\pi$ -System-Berechnung in MOMO)
SETTLE	Algorithmus für explizite Solvatationsmodelle
SPC	Simple-Point-Charge, ein explizites Solvatationsmodell
TIPDATA	Liste im Programmcode

TIP3P, TIP4P, TIP5P	Transferable-Intermolecular-Potential 3P, 4P, 5P (explizite Solvationsmodelle)
TLEaP	AMBER11-Programmteil zur Moleküldateierstellung
TPA3	Transferable Potential Algorithm 3 (das in dieser Arbeit entwickelte explizite Solvationsmodell)
UV(-Spektroskopie)	Ultraviolett(-Spektroskopie)
VCD(-Spektroskopie)	Vibrational Circular Dichroismus (-Spektroskopie)
vdw(-Wechselwirkungen)	van-der-Waals(-Wechselwirkungen bzw. Wechselwirkungen durch Dispersion)
$\omega$ , $\phi$ und $\psi$	Torsionswinkel im Peptidrückgrat
2D	zweidimensional
3D	dreidimensional

# 1. Einleitung

---

Das Leben auf der Erde konnte sich nur mit Wasser entwickeln. Wasser ist für viele biochemische Prozesse unersetzlich. Oxidations-, Hydrolyse- und Kondensationsreaktionen im Körper von Lebewesen, aber auch Photosynthesereaktionen in Pflanzen, benötigen Wasser oder laufen in wässriger Umgebung ab. Wasser spielt als Reaktionspartner, Transport- und Lösemittel vieler Proteine und weiterer Stoffe eine außerordentlich wichtige Rolle. 2006 stellte M. Chaplin die Frage, ob wir die Bedeutung von Wasser für die Zellbiologie unterschätzen [1]. Neben der Rolle von Wassermolekülen in Protonen- und Elektronentransferreaktionen, dem Effekt von Wasser auf die Nukleinsäurestruktur und dem Beitrag von zellulärem Wasser auf die Zellaktivität hob M. Chaplin den Effekt von Wasser auf Proteine hervor. Wasser ist wichtig für die Stabilität, Dynamik, Funktion und Struktur von biomolekularen Makromolekülen. Dass Sekundär- und Tertiärstrukturen von Proteinen so vorliegen, wie es für deren biologische Funktion notwendig ist, lässt sich (auch) auf das Lösemittel Wasser zurückführen. Insbesondere bei Untersuchungen zur Proteinfaltung wird dies deutlich [2]. Auch wenn man lange davon ausging, dass hydrophobe Wechselwirkungen im Protein die treibende Kraft zur Proteinfaltung sind und die Zusammenlagerung von hydrophoben Bereichen die Stabilität einer Struktur in Lösung ausmacht [3], ist nun bekannt, dass Wasser nicht nur als stabilisierende Hülle um ein Protein herum vorliegt, sondern weitergehende, explizite und strukturbestimmende Wechselwirkungen eingeht. Es sei an dieser Stelle beispielsweise die Publikation von T. Raschke genannt, in welcher ein Hauptaugenmerk auf Wasserstoffbrücken gelegt wird [4]. Das detaillierte Verständnis dieser Wechselwirkungen und deren Einfluss auf die Struktur bzw. Konformation von Proteinen und Peptiden ist ein aktuelles Ziel der Forschung. Wasserstoffbrücken sind dabei von enormer Bedeutung.

Bei der Berechnung von Peptiden im Vakuum, sei es mit quantenmechanischen Methoden oder mittels eines Kraftfeldes, sind Konformationen mit intramolekularen Wechselwirkungen, wie Wasserstoffbrücken, besonders günstig, sofern diese ohne größere Spannung und Abstoßungen im Molekül ausgebildet werden können. Dies ist besonders bei Konformationsanalysen an cyclischen Peptiden im Vakuum zu beobachten. Abbildung 1 zeigt eine solche Konformation des Peptids *cyclo*-[Cys-Pro-Phe-Val-Cys], die nach einer Konformationsanalyse im Vakuum mit MOMO<sup>1</sup> erhalten wurde, und die von Hall *et al.* NMR-spektroskopisch ermittelte Struktur [5]. Es wird deutlich, dass die mit NMR bestimmte Struktur, welche in wässriger Umgebung gemessen wurde, keine Ausrichtungen der Wasserstoffbrücken-Donoren und -Akzeptoren aufeinander zeigt. Stattdessen scheinen intermolekulare Wasserstoffbrücken mit umgebenden Wassermolekülen gebildet zu werden.

---

<sup>1</sup> in unserer Arbeitsgruppe entwickeltes Kraftfeldprogramm

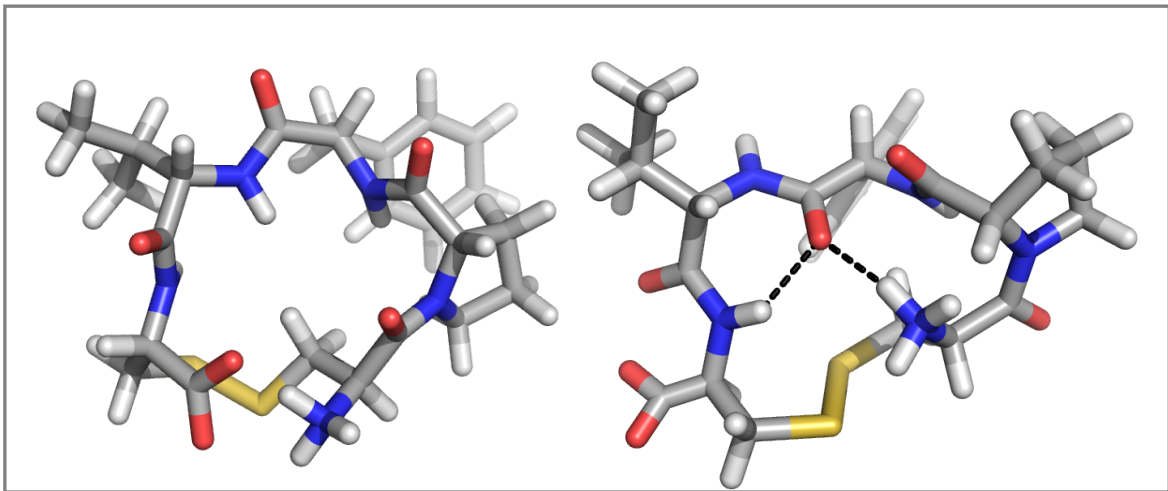


Abb. 1: links: NMR-Strukturlösung des Peptids *cyclo*-[Cys–Pro–Phe–Val–Cys] nach Hall *et al.* [5], Zugangscode 2P7R der RCSB PDB; rechts: Minimum-Konformation der Vakuumkonformationsanalyse mit MOMO mit zwei intramolekularen Wasserstoffbrücken (schwarz gestrichelt); minimierte Konformationen: 499293, Konformationen mit zwei Wasserstoffbrücken: 119542, Energie der gezeigten Konformation: 37,5 kJ/mol.

Daher ist es für die Berechnung von Biomolekülen mittels Kraftfeldmethoden unverzichtbar, für eine möglichst realistische Beschreibung ihrer Struktur und Dynamik Wassermoleküle mit einzubeziehen. Dies gilt insbesondere für Proteine und Peptide. Bei großen Systemen mit vielen Wassermolekülen sind Vereinfachungen und Näherungen notwendig. Aufgrund computertechnischer Grenzen kann nicht jedes Atom mit höchster Präzision in die Berechnung eingehen. Insbesondere dann nicht, wenn viele Tausend Wassermoleküle notwendig sind, um das betreffende (Makro-)Molekül, auf das sich das eigentliche Interesse fokussiert, mit Wasser zu umgeben. Solvationsmodelle, welche aus dieser Notwendigkeit entstanden, lassen sich in zwei Hauptgruppen unterteilen:

- implizite Solvationsmodelle (Kontinuum-Modelle)
- explizite Solvationsmodelle

Zur Definition des Begriffs Kontinuum-Modell sei J. Tomasi zitiert [6]: „The continuum quantum models [...] are based on the description of the liquid medium as a dielectric unstructured fluid [...]“ Explizite Solvationsmodelle hingegen zeichnen sich dadurch aus, dass die Koordinaten jedes Atoms eines jeden Wassermoleküls in die Rechnung eingehen und „rechenzeitfokussiert“ von dem Programm verarbeitet werden [7].

In die Abwägung zur Wahl der Art des Solvationsmodells, welches in dieser Arbeit entwickelt und in MOMO implementiert werden soll, sollen wissenschaftliche aber auch programmtechnische Gesichtspunkte eingehen.

Die Struktur von Wasser kann man als dynamisches dreidimensionales Wasserstoffbrückennetzwerk beschreiben. Mikroskopisch gesehen gibt es in flüssigem Wasser zwar geordnete, einem (Eis-)Gitter ähnelnde Bereiche, diese werden jedoch immer wieder durch

einzelne Wassermoleküle, Ketten von Wassermolekülen oder großflächig ungeordneten Wasserstoffbrückennetzwerken unterbrochen [8]. Mit dem Ziel, die zuvor beschriebenen strukturbestimmenden Wechselwirkungen von Wassermolekülen mit Biomolekülen zu simulieren – aber auch den strukturellen Eigenschaften des Wassers entsprechend – soll in dieser Arbeit ein leistungsfähiges Solvationsmodell entwickelt werden.

In der aktuellen Forschung wird die wichtige Verbindungsklasse der Peptide, der kleineren Verwandten der Proteine, mit experimentellen und theoretischen Methoden sehr häufig untersucht. Sie können als Ausschnitt aus einer Proteinprimärstruktur angesehen werden und sind klein genug, sodass keine größeren Einschnitte bei der Präzision der angewandten Methode (zumindest bei dem solvatisierten Molekül) hingenommen werden müssen [9]. Mehrere geschützte literaturbekannte Peptide, wie Dialanin oder das Tripeptid Ala–Phe–Ala, sollen einer systematischen Konformationsanalyse im neu entwickelten Solvationsmodell unterzogen werden. Dabei sind realistischere Ergebnisse als im Vakuum zu erwarten. Des Weiteren sollen die erhaltenen Ergebnisse mit experimentellen Resultaten aus der aktuellen Literatur verglichen werden. Zu Vergleichszwecken sollen dieselben Peptide außerdem mit einem etablierten Kraftfeldprogramm, wie AMBER11 [10] und den in diesem Programmpaket enthaltenen Solvationsmodellen, einer Konformationsanalyse unterzogen werden.



## 2. Implementierung eines Solvationsmodells in das Kraftfeldprogramm MOMO

---

### 2.1. Explizites Solvationsmodell oder Kontinuum-Solvationsmodell? Eine Vorüberlegung.

Nach rein programmtechnischen Gesichtspunkten wäre es praktikabel, einen eigenständigen Solvations-Programmteil zu entwickeln, der in sich abgeschlossen ist und, ohne Änderungen am MOMO- und dem eng verbundenen MMTK-Programmcode (Molecular-Modelling-Toolkit [11]) zu erfordern, als externes Programm importiert werden kann. Es war von vornherein klar, dass die dabei anfallenden programmtechnischen Anforderungen nur ein Kontinuum-Modell erfüllen konnte. Bei einem expliziten Modell würden die Atomkoordinaten, Ladungen, van-der-Waals-Wechselwirkungen (vdw-Wechselwirkungen) und elektrostatischen Wechselwirkungen dem üblichen, für Moleküle im Vakuum vorgezeichneten Weg im Programmcode folgen müssen. Diesen „üblichen Weg“ gelte es dann durch die gesonderte und vereinfachte Behandlung der Wassermoleküle abzukürzen, was Programmcodeänderungen in den MOMO- und MMTK-Programmteilen bedeuten würde.

Kontinuum-Modelle sind verglichen mit expliziten Modellen für ihren geringen Rechenzeitaufwand [12, 13] bekannt. Insbesondere weitreichende elektrostatische Wechselwirkungen können bei expliziten Solvationsmodellen nicht ohne großen Rechenaufwand berücksichtigt werden. Dies liegt an der großen Anzahl von Einzelwechselwirkungen zwischen den Atomen. Schon im Vakuum werden bei MOMO nichtbindende Wechselwirkungen nach 6,5 Å abgeschnitten.

Explizite Solvationsmodelle sind vor allem bei nahen Wechselwirkungen um das solvatisierte Molekül herum präziser als Kontinuum-Modelle. Kontinuum-Modelle werden manchmal sogar an expliziten Modellen kalibriert und getestet [14–16]. Besonders auffällig wird die größere Präzision bei der Berechnung von Biomolekülen. Hier können einzelne Wassermoleküle mit Wasserstoffbrücken entscheidend Einfluss auf die Konformationen eines Biomoleküls nehmen [17–20]. Wassermoleküle können als regelrechter Teil der Sekundärstruktur mit verbrückenden Eigenschaften zwischen Peptidketten auftreten [21]. Die Formulierung einer Oberfläche um ein zu berechnendes Molekül herum, wie bei Kontinuum-Modellen üblich, kann die wichtige Rolle von Wassermolekülen zwischen Peptidketten nicht wiedergeben. Aber nicht nur bei der Berechnung von Biomolekülen sind Solvationsmodelle mit – wenn auch unterschiedlich stark vereinfachten – Wassermolekülen von Bedeutung. Beispielsweise untersuchten Huang *et al.* hydrophobe organische Kationen in Lösung und konnten mit MD-Simulationen, bei denen ein TIP4P-Modell genutzt wurde, ihre mit Röntgen-

absorptionsspektroskopie gewonnenen Ergebnisse bekräftigen [22]. Cappelli *et al.* nutzten MD-Simulationen, bei denen ein TIP3P-Modell benutzt wurde, für die Interpretation IR- und UV-spektroskopischer Eigenschaften von in Wasser gelöster Gallursäure (3,4,5-Trihydroxybenzoesäure) [23]. Die Stärke von expliziten Modellen bezüglich naher Wechselwirkungen wird auch häufig in sogenannten Hybrid-Modellen genutzt. In Hybrid-Modellen wird der Nahbereich um das solvatisierte Molekül mit einem Cluster aus expliziten Solvensmolekülen beschrieben, wohingegen der Fernbereich mit einem Kontinuum-Modell beschrieben wird. Beispiele hierfür sind in den Literaturstellen [24–29] zu finden.

Hinzu kommt, dass die Genauigkeit vieler Kontinuum-Modelle von Parametern abhängt, die präzise bestimmt sein müssen. Dazu gehören insbesondere die Bornradien bei dem GB-Modell [30–33] oder bei vielen anderen Kontinuum-Modellen die solvenszugängliche Oberfläche [34–36].

Natürlich müssen auch die Parameter in einem Kraftfeld sowohl für das solvatisierte Molekül als auch für die expliziten Solvensmoleküle präzise bestimmt werden. Für MOMO wurden die Kraftfeldparameter erst vor kurzem erfolgreich reparametrisiert [37]. Da bei der Reparametrisierung von MOMO ein Hauptaugenmerk auf den Parametern des Wasserstoffbrückenpotentials lag, stellt dies einen hervorragenden Ausgangspunkt für die Entwicklung eines expliziten Solvatationsmodells, das Wasserstoffbrücken berücksichtigt, dar. Hinzu kommt, dass Wasserstoffbrücken in unserem Arbeitskreis einen besonderen Stellenwert einnehmen [38–40] und auch im Hinblick auf potentielle nachfolgende Weiterentwicklungen an MOMO (mit Solvatationsmodell) Wasserstoffbrücken zu Solvensmolekülen wichtig werden können.

Der Rechenzeitaufwand bei Verwendung eines expliziten Solvatationsmodells wäre zwar höher als bei einem üblichen Kontinuum-Modell – sollte sich aber in Grenzen halten. Schließlich sind schon Berechnungen von Biomolekülen in vielen Tausend expliziten TIP-Molekülen durchgeführt worden [22, 41].

Zu Beginn dieser Arbeit wurden mit dem Kraftfeldprogramm AMBER11 [10] zu Testzwecken Konformationsanalysen im Vakuum, mit den Bornmodellen *iGB1* und *iGB5* sowie dem expliziten TIP3P-Modell durchgeführt. Es handelte sich dabei um Konformationsanalysen an kleinen organischen Molekülen und Peptiden. Da die Testrechnungen auf einem üblichen Desktoprechner durchgeführt wurden, fiel der geringe Rechenzeitaufwand der GB-Modelle besonders positiv auf. Jedoch wurden bei Konformationsanalysen mit dem *gaff*-Kraftfeld überraschenderweise mehrmals dieselben Konformationen wie bei den Konformationsanalysen im Vakuum als besonders günstig berechnet. Außerdem fiel bei der Minimierung von organischen Molekülen mit mehreren separaten  $\pi$ -Systemen auf, dass mit den Kraftfeldern *gaff*, *ff99bsc0* und *ff99sb* bei Verwendung der GB-Modelle *iGB1* und *iGB5* Konformationen mit parallel übereinander angeordneten  $\pi$ -Systemen unerwartet deutlich begünstigt sind. Mit dem TIP3P-Modell waren die genannten Auffälligkeiten nicht zu beobachten.

Die genannten Gründe und Überlegungen führten zu der Entwicklung des TPA3-Algorithmus (Transferable Potential Algorithm 3) für explizite Wassermoleküle und dessen Implementierung in MOMO.

## 2.2. Die Programmstruktur von MOMO

Das Programm MOMO wird seit 1986 in unserem Arbeitskreis entwickelt [42] und wurde 2009 in das MMTK als Bibliothek implementiert [37]. Es wird seitdem auch als PyMOMO bezeichnet. Ein MMTK-„Universe“ repräsentiert hierbei die elementaren Eigenschaften eines chemischen Systems in programmtechnischer Form. Es umfasst die Atome mit deren Positionen sowie Umgebung, Ladungen und Bindungen bzw. deren Geometrie. Ein „Universe“ kann in unendlicher oder periodischer Form vorliegen. Auch übernimmt das MMTK die Energieminimierung unter Nutzung der MOMO-Potentiale. Desweiteren ermöglicht es die Aufnahme von Trajektorien und deren Visualisierung und erleichtert eine Vielzahl an geometrischen und räumlichen Operationen am Molekül.

Das MOMO-Programmsystem lässt sich genau wie das MMTK-Programmsystem hinsichtlich der programmtechnischen Merkmale in zwei Teile unterteilen:

- einen in der Programmiersprache Python geschriebenen *high-level*-Teil, z. B. Initialisierung und Organisation (MOMO / MMTK),
- einen in der Programmiersprache C geschriebenen *low-level*-Teil, z. B. Energie- und Gradientenberechnung (MOMO) und Minimierung (MMTK).

In Ersterem, welcher die Organisation und Initialisierung der Kraftfeldrechnung darstellt und nur einmal aufgerufen wird, werden alle diejenigen Informationen generiert und zusammengetragen, welche von dem *low-level*-Teil benötigt werden. Hier werden beispielsweise  $\pi$ -Systeme im Molekül gefunden, potentielle Wasserstoffbrücken-Donoren und -Akzeptoren erkannt, kleine Ringe gesondert markiert und Wechselwirkungs- und Atomattribute initialisiert [37]. Dieser Teil stellt auch die Schnittstelle zum Anwender dar. Zum Auslesen weitergehenden Informationen als der Einzelenergiebeiträge der Terme, der sterischen Energie oder der Wasserstoffbrücken können hier vom User Attribute erzeugt werden, die dann in den Potentialen oder dem Minimizer die benötigten Informationen sammeln. Diese können dann mit Pythonskripten ausgegeben und weiterverarbeitet werden. Die Steuerung des gesamten MOMO/MMTK-Programmkomplexes erfolgt ebenfalls mit Pythonskripten. Indem *high-level*-MMTK-Funktionen aufgerufen werden, die z. B. das benötigte Universe initialisieren (periodisch oder unendlich), das zu berechnende Molekül hineinladen, den Schwerpunkt des Moleküls in den Nullpunkt legen, eine Trajektorie initialisieren, den Minimizer und die Anzahl der Schritte auswählen, wird mit Beginn der Rechnung auch der *high-level*-Teil von MOMO gestartet. Sind dort alle benötigten Informationen gesammelt, wird für sich häufig wiederholende und rechenzeit-

aufwendige Berechnungen der *low-level*-Teil aufgerufen; dieser besteht im Wesentlichen aus den Kraftfeldpotentialen in Verbindung mit dem MMTK-Minimizer.

Aus dem obigen Abschnitt wird ersichtlich, dass das aus dieser Symbiose entstandene Kraftfeldprogramm als großes Ganzes betrachtet werden muss. Das bedeutet für die Implementierung eines Solvationsmodells, dass bei Programmcodeänderungen in den MOMO-Teilen auch Änderungen an den MMTK-Teilen erfolgen müssen – und umgekehrt. Diese werden im Folgenden beschrieben.

### **2.3. Implementierung des TPA3-Solvationsmodells in den MOMO/MMTK-Programmkomplex**

Zu Beginn der Arbeit galt es zwei Möglichkeiten für die Verwirklichung des Solvationsmodells abzuwägen:

- Fall 1: Das zu berechnende Molekül wird in eine bestehende Wasserumgebung eingebracht.
- Fall 2: Eine Wasserumgebung wird um das zu berechnende Molekül herum aufgebaut.

Welcher der beiden Wege der bessere (wissenschaftlich und programmtechnisch) sein würde, ließ sich zu diesem Zeitpunkt noch nicht sagen. Erst wenn die vereinfachte Minimierung der Wassermoleküle implementiert sein würde, könnten beide Fälle getestet werden. Daher musste bei der Implementierung des Solvationsmodells darauf geachtet werden, dass beide Fälle möglich waren.

#### *2.3.1 Klare Unterscheidbarkeit zwischen solvatisiertem Molekül und Wasser*

Für die Implementierung mussten die Wasseratome von den Molekülatomen unterschieden werden können. Des Weiteren mussten die Wasseratome eines Wassermoleküls von den Wasseratomen anderer Wassermoleküle unterscheidbar sein. Von MOMO wurden nämlich bisher alle Atome in einer Moleküldatei einem Molekül zugeordnet, unabhängig davon wie viele Moleküle sich tatsächlich in einer Moleküldatei befanden. Bei Minimierungen einzelner organischer Moleküle im Vakuum stellt das kein Problem dar, jedoch konnten mehrere Wassermoleküle in einer Moleküldatei aufgrund dessen nicht von dem Programm verarbeitet werden. Für beide der zuvor genannten Fälle ist es sinnvoll, dass eine Moleküldatei die Koordinaten mehrerer Wassermoleküle enthält. Soll ein Molekül in eine bestehende Wasserumgebung eingebracht werden, kann diese Wasserumgebung im Ganzen als Koordinatenfile vorliegen. Oder zu dem Molekül im Universe werden keine einzelnen Wassermoleküle durch mehrmaliges Laden ein und desselben Wassermoleküls

zugegeben, sondern Päckchen von Wassermolekülen (Wasserboxen), die in einer Moleküldatei zusammengefasst sind.

Somit wurde im Programm eine Liste namens TIPDATA angelegt, die die benötigten Informationen eindeutig und platzsparend enthält. Atome eines Moleküls werden durch Nummerieren folgendermaßen unterschieden bzw. zusammengruppiert:

**[0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,1,1,1,2,2,2,3,3,3,4,4,4,5,5,5,6,6,6,7,7,7]**

In diesem Beispiel befindet sich ein zehnatomiges Molekül (Aceton) zusammen mit sieben Wassermolekülen in einem Universe. Die dazugehörige Atomliste enthält folgende Einträge:

**[H,H,H,C,C,O,C,H,H,H,O,H,H,O,H,H,O,H,H,  
O,H,H,O,H,H,O,H,H]**

Das zehnatomige Molekül Aceton wurde dabei zuerst in das Universe geladen und anschließend die Wassermoleküle hinzugefügt. Dies entspricht Fall 2; bei Fall 1 stünden die Nullen am Ende hinter den drei Siebenen.

Die Liste TIPDATA kann überall dort im Programm genutzt werden, wo Atomindices verarbeitet werden. Man kann z. B. die C=O-Bindung zwischen den Atomen an den Positionen vier und fünf in der Liste (wenn man, wie in der Informatik üblich, mit Null anfängt zu zählen) anhand von TIPDATA durch Auslesen des Eintrags an den Positionen vier und fünf, an denen zwei Nullen stehen, klar als eine Bindung im solvatisierten Molekül identifizieren. Die Bindung zwischen den Atomen mit den Indices 10 und 11 hingegen ist durch Einträge ungleich Null als O—H-Bindung im Wassermolekül identifizierbar.

Diese übersichtliche und im Programmcode universell einsetzbare Liste als Informationsträger ist die Grundlage für die meisten im Programmcode vorgenommenen Änderungen. Sie wird in den *high-level*-Programmteilen, aus welchen sie selbst stammt, und den *low-level*-Teilen, an welche sie übergeben wird, benötigt. Im Folgenden werden die wichtigsten Programmcodeänderungen und -erweiterungen beschrieben.

### 2.3.2 $\pi$ -System

Das  $\pi$ -SCF-Potential von MOMO ist der Term mit den meisten Programmcodezeilen und aufgrund des *self-consistent-field*-Algorithmus auch überdurchschnittlich rechenzeit-aufwendig.

Wird ein einzelnes Wassermolekül in MOMO eingelesen, wird das Sauerstoffatom des Wassers als ein einatomiges  $\pi$ -System behandelt. Das ist bei der Minimierung eines einzelnen Wassermoleküls, die ohnehin in weniger als einer Sekunde abgeschlossen ist,

nicht relevant. Bei der Minimierung von mehreren Hundert oder gar Tausend Wassermolekülen fällt der Rechenzeitanpruch jedoch auf. Des Weiteren verhinderte die Suche nach einatomigen  $\pi$ -Systemen das Einlesen mehrerer Wassermoleküle in einer Moleküldatei. Dann kann das Programm die Tatsache, dass viele potentielle  $\pi$ -Atome (Wasser-Sauerstoffatome) in einer entsprechenden Anordnung in einer Moleküldatei nebeneinander vorliegen, jedoch in der parallel aufgebauten  $\pi$ -Systemmatrix richtigerweise kein Eintrag für ein durchgehendes  $\pi$ -System vorliegt, nicht verarbeiten.

Somit wurden die Sauerstoffatome von Wassermolekülen aus der Suche nach einatomigen  $\pi$ -Systemen herausgehalten.

### 2.3.3 Wasserstoffbrücken-Potential

Nachdem Moleküldateien mit mehreren Wassermolekülen nun geladen werden konnten, fiel auf, dass das Sauerstoffatom des Wassers in MOMO nicht als Wasserstoffbrücken-Akzeptor behandelt wird. Die Ursache dafür lag bei dem in MOMO genutzten Wasserstoffbrücken-Potential, das auf A. Vedani und J. D. Dunitz [43] zurück geht. Bei diesem Potential hängt die Energie nicht nur von dem Abstand  $r$  sondern auch von den Winkeln  $\chi$  und  $\theta$  sowie dem Torsionswinkel  $\omega$  ab:

$$E_{HB} = \left( \frac{a}{r_{HA}^i} - \frac{c}{r_{HA}^j} \right) \cos^k(\theta) \cos^m(\chi - \chi_0) \cos^n(\omega - \omega_0) \quad (1)$$

$r_{HA}$	Abstand zwischen Wasserstoff und Akzeptor
$a, c$	von Donor und Akzeptor abhängige Parameter
$\theta$	Winkel $D-H \cdots A$
$\chi$	Winkel $H \cdots A-AA$
$\omega$	Torsionswinkel $H \cdots A-AA-AAA$
$\chi_0, \omega_0$	Idealwerte von $\chi$ und $\omega$
$k, m, n$	ganzzahlige Potenzen

Der Abstand und die drei Winkel sind am Beispiel einer N-H $\cdots$ N-Wasserstoffbrücke in Abbildung 2 dargestellt. Die mathematischen und programmtechnischen Feinheiten bei der Berechnung der Energie und die Berechnung der Gradienten wurden von G. Wagner ausführlich beschrieben [37].

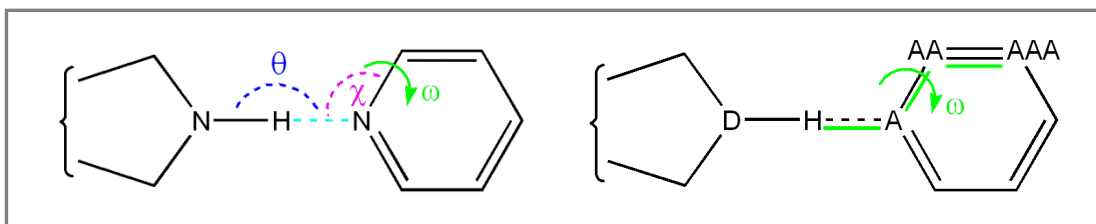


Abb. 2: links: Die bei Wasserstoffbrücken auftretenden Winkel  $\theta$  und  $\chi$  sowie der Torsionswinkel  $\omega$  und der Abstand  $r$ .  
rechts: Donor D, Wasserstoffatom H, Akzeptor A, Nachbar von Akzeptor AA, Nachbar von Nachbar AAA.

In Abbildung 2 sind auch der Donor D, der Akzeptor A, der Nachbar des Akzeptors AA und der 2. Nachbar des Akzeptors AAA kenntlich gemacht.

Der 2. Nachbar AAA ist notwendig, damit der Winkel  $\omega$  definiert werden kann. Im Fall von Wasser, wenn das Sauerstoffatom als Akzeptor fungiert, gibt es zwar einen Nachbarn AA (eines der beiden Wasserstoffatome), aber keinen 2. Nachbarn AAA. Durch das Fehlen von AAA wurde das Sauerstoffatom des Wassers als nicht wasserstoffbrückenfähig gewertet und die Berechnung im Wasserstoffbrücken-Potential abgebrochen.

Da  $\omega$  die Stellung des H-Atoms zu der Ebene A, AA, AAA wiedergibt, kann anstatt des nicht vorhandenen 2. Nachbarn AAA der andere 1. Nachbar, also das 2. Wasserstoffatom, zur Berechnung herangezogen werden. Abbildung 3 zeigt dies am Beispiel einer Wasserstoffbrücke zwischen zwei Wassermolekülen.

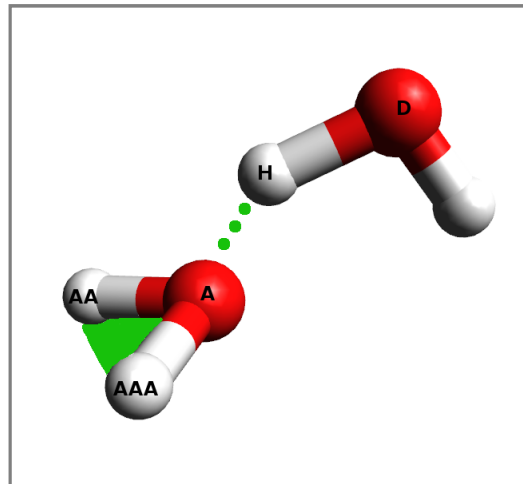


Abb. 3: Wasserstoffbrücke zwischen zwei Wassermolekülen (grün gepunktet); für die Berechnung des Winkels  $\omega$  benötigte Ebene A, AA, AAA (grün).

Sind tetraedrische  $sp^3$ -lone-pair-Orbitale am Akzeptor vorhanden, wie bei Wasser, wird  $\omega$  bei einem Torsionswinkel von  $\pm 120^\circ$  gleich  $\omega_0$  und damit optimal.

Bei dem hier entwickelten TPA3-Solvationsmodell werden zwischen weiter entfernten Wassermolekülen keine Wasserstoffbrücken gerechnet. Das Wasserstoffbrücken-Potential ist nach dem  $\pi$ -SCF-Potential ein Term mit recht hohem Rechenzeitaufkommen und wird für jede zu berechnende Wasserstoffbrücke einmal durchlaufen. Da ein Wassermolekül sowohl als Donor als auch als Akzeptor fungieren kann und gegabelte Wasserstoffbrücken möglich sind, würde das Wasserstoffbrücken-Potential mit der Berechnung von Wasserstoffbrücken zwischen einer großen Anzahl an Wassermolekülen der geschwindigkeitsbestimmende Term für die gesamte Rechnung.

Ähnliches gilt für die elektrostatischen und vdw-Wechselwirkungen. Da diese im Gegensatz zu Wasserstoffbrücken ungerichtet sind und jedes Atom in einem Wassermolekül mit unbegrenzt vielen Atomen innerhalb eines *Cutoffs* von 6,5 Å



wechselwirken kann, wurden das elektrostatische und das vdw-Potential für TPA3-Moleküle durch ein stark vereinfachtes Potential ersetzt (siehe Kapitel 2.3.7).

#### 2.3.4 Die Iterationsmatrix für die nichtbindenden Wechselwirkungen: Unterscheidung der Wechselwirkungen Molekül–Molekül und Molekül–Wasser

Schon die Suche nach Wasserstoffbrücken im Universe ist rechenzeitaufwendig. Die Berechnung selbst erfolgt nur, wenn eine ganze Reihe getesteter Kriterien zutreffen. Daher war es nicht praktikabel, mit Solvatationsmodell weiterhin die Kriterien bei allen Atomen im Universe zu testen und mit einer zusätzlichen Abstandsberechnung und *if*-Abfrage weit entfernte Wassermoleküle zu identifizieren, nur um deren getestete Kriterien dann als *False* weiter verarbeiten zu müssen.

Daher musste ein Weg gefunden werden, weit entfernte Wassermoleküle schon von vornherein aus der Wasserstoffbrücken-Suche heraus zu halten. Bei diesen Überlegungen kam erschwerend hinzu, dass Wassermoleküle nicht vollständig aus der Suche nach Wasserstoffbrücken heraus gehalten werden konnten, denn Wasserstoffbrücken zwischen nahen Wassermolekülen und dem solvatisierten Molekül sollten gefunden und berechnet werden. Es mussten also Wassermoleküle nur aus der Suche nach Wasserstoffbrücken zwischen Wassermolekülen herausgehalten werden. Da sich die Wassermoleküle während der Minimierung bewegen und weiter entfernte Wassermoleküle durchaus während einer Minimierung in den Nahbereich um ein solvatisiertes Molekül gelangen können, konnten am Anfang einer Rechnung, vor der Minimierung, zu weit entfernte Wassermoleküle nicht einfach komplett aussortiert werden. Das Umgekehrte musste für im Nahbereich befindliche Wassermoleküle gewährleistet sein.

Für nahe Wassermoleküle musste es somit weiterhin möglich sein, bei jedem Aufruf des Potentials, wie im Vakuum, mit *if*-Abfragen zu testen, ob der Abstand zwischen Wasserstoffbrücken-Donor und -Akzeptor passend ist. Das bedeutet, dass in diesem Fall nicht nur alleine in den *high-level*-Teil (am Anfang der Rechnung vor der Minimierung) oder den *low-level*-Teil (während der Minimierung) eingegriffen werden konnte, sondern etwas Neues geschaffen werden musste, das konzertiert im *high-level*- und im *low-level*-Teil eingreift.

Für die Generierung der nicht gebundenen Atompaarungen in dem elektrostatischen und dem vdw-Potential treffen die eben dargestellten Überlegungen ebenfalls zu.

Das führte zu der Idee, die Art und Weise, wie nichtbindende Wechselwirkungen in dem MMTK/MOMO-Programmkomplex abgefragt werden, zu verändern. Diese Idee wurde auch durch die Tatsache bestärkt, dass Programmabstürze bei Konformationsanalysen im Vakuum häufig von genau diesem Programmteil ausgehen, der die nicht gebundenen Atompaare sequentiell generiert. Dieser Programmteil stammte aus dem MMTK und geht auf die Ewald-Summation-Methode zurück [44]. Allerdings wurde von MOMO nur der Algorithmus zur Unterteilung des Universe in Kästchen und die damit erhaltenen nichtgebundenen Atompaarungen genutzt. Die tatsächlichen Vorteile der Ewald-



Summation, z. B. bei der Berechnung von elektrostatischen Wechselwirkungen [45], waren mit den MOMO-Termen nicht kompatibel und wurden nicht genutzt. Es musste nach dem Unterteilen in Kästchen weiterhin bei jeder Atompaarung über das gesamte Universe eine Abstandsabfrage und Unterteilung der Abstände vorgenommen werden. Ein Eingriff an dieser Stelle des Programms schien somit lohnenswert zu sein.

Ersetzt wurde der „Kästchengenerator“ durch eine einmalig im *high-level*-Teil initialisierte Iterationsmatrix, die in den *low-level*-Teilen (elektrostatisches, vdW- und Wasserstoffbrücken-Potential) genutzt werden kann und alle oben beschriebenen Anforderungen erfüllt. Iteriert wird nun von vornherein nur über die Atompaarungen Molekülatome $\leftrightarrow$ Molekülatome und Molekülatome $\leftrightarrow$ Wassermolekülatome. Mit einer vorgefertigten Iterationsmatrix werden auch doppelte Atompaarungen und Atompaarungen mit zwei gleichen Atomen, die z. B. bei der Iteration mit zwei *for*-Schleifen auftreten, ausgeschlossen. Das hat den Vorteil, dass diese ungewollten Paarungen nicht zusätzlich mit *if*-Abfragen abgehandelt werden müssen.

Im Folgenden wird gezeigt, wie die Iterationsmatrix für die Atompaarungen Molekülatome $\leftrightarrow$ Molekülatome und Molekülatome $\leftrightarrow$ Wassermolekülatome aus einer quadratischen Iterationsmatrix für alle Atompaarungen im Universe (inklusive Wassermolekülatome $\leftrightarrow$ Wassermolekülatome) hervorgeht.

In Abbildung 4a) ist eine Iterationsmatrix für ein Methanmolekül gezeigt, das sich mit zwei Wassermolekülen im Universe befindet. Die Achsenbeschriftungen geben die Atome der im Universe befindlichen Moleküle und deren Atomnummern an. In diesem Fall wurde zuerst ein Methanmolekül und anschließend Wassermoleküle in das Universe hinein geladen. In die Matrix eingetragen sind die Nummern der von links nach rechts und oben nach unten durchgezählten Kästchen. Die Hauptdiagonale wird dabei nicht überschritten. Iterationen auf und über die Hauptdiagonale hinaus ergäben Atompaarungen eines Atoms mit sich selbst bzw. doppelte Wechselwirkungen. Mit dem Durchzählen werden die Positionen identifiziert (fette Zahlen), bei denen vor der Hauptdiagonale ein Zeilenumbruch stattfinden muss. Diese Zahlen, die einen Zeilenumbruch markieren, werden am Anfang der Rechnung einmalig im *high-level*-Teil generiert und dann an den *low-level*-Teil übergeben. Dadurch können dort alle benötigten Atompaarungen bei jedem Minimizerschritt während einer Minimierung wenig rechenzeitaufwendig generiert werden. Aus dem eben Beschriebenen lässt sich eine Iterationsmatrix ableiten, in der nur Atompaarungen Molekülatome $\leftrightarrow$ Molekülatome und Molekülatome $\leftrightarrow$ Wassermolekülatome berücksichtigt werden. Eine solche Iterationsmatrix ist in Abbildung 4b) dargestellt.

a)	0 C	1 H	2 H	3 H	4 H	5 O	6 H	7 H	8 O	9 H	10 H
0 C											
1 H	1										
2 H	2	3									
3 H	4	5	6								
4 H	7	8	9	10							
5 O	11	12	13	14	15						
6 H	16	17	18	19	20	21					
7 H	22	23	24	25	26	27	28				
8 O	29	30	31	32	33	34	35	36			
9 H	37	38	39	40	41	42	43	44	45		
10 H	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	

b)	0 C	1 H	2 H	3 H	4 H	5 O	6 H	7 H	8 O	9 H	10 H
0 C											
1 H	1										
2 H	2	3									
3 H	4	5	6								
4 H	7	8	9	10							
5 O	11	12	13	14	15						
6 H	16	17	18	19	20						
7 H	22	23	24	25	26						
8 O	29	30	31	32	33						
9 H	37	38	39	40	41						
10 H	46	47	48	49	50						

c)	0 O	1 H	2 H	3 O	4 H	5 H	6 C	7 H	8 H	9 H	10 H
0 O							1	2	3	4	5
1 H							6	7	8	9	10
2 H							11	12	13	14	15
3 O							16	17	18	19	20
4 H							21	22	23	24	25
5 H							26	27	28	29	30
6 C											
7 H							31				
8 H							32	33			
9 H							34	35	36		
10 H							37	38	39	40	

Abb. 4: Iterationsmatrix eines Methanmoleküls zusammen mit zwei Wassermolekülen im Universe. Methan = blau, Wasser = schwarz; Die Achsenbeschriftungen geben die Atome der im Universe befindlichen Moleküle und deren Atomnummern an. a) für die Generierung aller möglichen Atompaarungen; b), c) für die alleinige Generierung der Atompaarungen Molekülatome $\leftrightarrow$ Molekülatome und Molekülatome $\leftrightarrow$ Wassermolekülatome, je nachdem, ob das solvatisierte Molekül am Anfang oder am Ende der Atomliste steht (rot = Selbst-Wechselwirkungen, grün = gesondert auszusortierende Atompaarung).

Sobald der Bereich der Matrix erreicht ist, ab dem die Wechselwirkungen des Methanmoleküls mit Wassermolekülen beginnen, findet der Zeilenumbruch nicht mehr an der Hauptdiagonale statt, sondern wenn eine feste Anzahl an Kästchen überschritten wurde. Die feste Anzahl an Kästchen entspricht der Atomanzahl des solvatisierten Moleküls – somit fünf Kästchen für Methan.

Wird das solvatisierte Molekül nach den Wassermolekülatomen in das Universe geladen, stehen die Molekülatome (in diesem Fall die Methanatome) am Ende der Atomliste. Die Iterationsmatrix für die Atompaarungen Molekülatome $\leftrightarrow$ Molekülatome und Molekülatome $\leftrightarrow$ Wassermolekülatome muss dann Abbildung 4c) entsprechend angepasst werden.

Der zugehörige, nur aus einer Schleife und einer *if*-Abfrage bestehende *low-level*-Programmcode ist in Abbildung 5 wiedergegeben. „eolA“ gibt an, ob das Molekül am Anfang oder am Ende der Atomliste steht. Steht es am Anfang, ist „eolA = 0“ – steht es am Ende, ist „eolA = Anzahl der Wasseratome“. „MATRIXA“ ist eine Liste, die die in Abbildung 4 a-c) fett dargestellten Zahlen enthält, welche die Zeilenumbrüche angeben. Dieser Programmcodeabschnitt ist auf alle drei in Abbildung 4 gezeigten Iterationsmatrizen anwendbar. Werden die Wassermoleküle vor dem solvatisierten Molekül in das Universe geladen, muss jedoch noch zusätzlich die in Abbildung 4c) grün dargestellte Atompaarung ausgeschlossen werden.

```

int ktho = 0; //Reihe
int ytho = eolA; //Spalte
for(GPO=1;GPO<MSIZE;GPO++){ //MSIZE = der letzte MATRIXA-Eintrag
    if(GPO<MATRIXA[ktho]){
        Atom1 = ytho;
        ytho++;
    }
    else{
        ktho++;
        Atom1 = eolA;
        ytho = eolA+1;}
    Atom2 = ktho;
}

```

Abb. 5: Programmcode zum Generieren der Atompaarungen für die nicht-bindenden Wechselwirkungen im *low-level*-Teil. Programmiersprache: C; MATRIXA = Liste mit den Zeilenumbrüchen der Iterationsmatrix, MSIZE = Anzahl der Atompaarungen, eolA = 0 oder Anzahl der Wasseratome.

### 2.3.5 Generierung einer Oberfläche um das solvatisierte Molekül und initiale Bewegung

Setzt man Wassermoleküle um ein Molekül herum, muss entweder schon während des Setzens ein Überschneiden der Wassermoleküle mit dem Molekül ausgeschlossen oder es muss im Nachhinein auf Überschneidungen geprüft werden. Falls vorhanden, müssen Überschneidungen korrigiert werden. Wird ein Molekül in eine bestehende Wassermoleküluenvironment gebracht, gilt das Gleiche.

Zu nahe oder sogar direkt auf Molekülatomen platzierte Wassermoleküle können im schlimmsten Fall einen Programmabsturz herbeiführen. Tritt kein Programmabsturz auf, muss sichergestellt werden, dass zu nahe beieinander befindliche Atome bzw. Moleküle in eine sinnvolle Entfernung auseinander minimiert werden. Im Fall von zwei zu nahe beieinander liegenden Molekülen im Vakuum stellt dies kein Problem dar. Sind die Abstände zwischen einem solvatisierten Molekül und einem Wassermolekül sehr gering und werden beide von weiteren Wassermolekülen umgeben, ist die Bewegung voneinander weg gehemmt. Auch nach mehreren Minimizerschritten, möglicherweise sogar bis zu dem

Ende der Rechnung, könnten nun unrealistische Wechselwirkungen zwischen den nahe beieinander liegenden Molekülen auftreten und zu unrealistischen Konformationen bei dem zu untersuchenden Molekül führen.

In den Programmbibliotheken des MMTK ist ein Algorithmus zur Berechnung einer solvenszugänglichen Oberfläche enthalten, der auf den Ansatz von Eisenhaber *et al.* zurück geht [46]. Mit diesem Algorithmus geht auch die Möglichkeit einher, sich die Vektoren zu dieser Oberfläche ausgeben zu lassen.

Von diesem Algorithmus wurde Gebrauch gemacht, um vor dem Start der Minimierung zu nahe bei dem Molekül gelegene Wassermoleküle in eine realistische Entfernung zu bringen und das Artefakt punktuell erhöhte Dichte von dem Molekül weg zu halten. Gleichzeitig bietet eine punktuell erhöhte Dichte eine Möglichkeit: Vor dem ersten Minimizerschritt gibt es eine gewisse Wahrscheinlichkeit, dass die für die Plausibilität der Rechnung so wichtigen Wasserstoffbrücken-Donoren und -Akzeptoren mit Wassermolekülen unterbesetzt sind. Dies kann während der Minimierung, bedingt durch einen begrenzten Einfangradius und die strengen geometrischen Anforderungen für die Bildung einer Wasserstoffbrücke, kaum ausgeglichen werden. Anstatt in zwei Schritten zu nahe gelegene Wassermoleküle zu entfernen, um anschließend künstlich die Dichte an den Wasserstoffbrücken-Donoren und -Akzeptoren zu erhöhen, kann man hier die beiden Aktionen zusammenziehen und der Unterbesetzung von vornherein vorbeugen.

Im Folgenden werden die Abläufe im Programm zu diesem Vorgang chronologisch wiedergegeben.

Als Eingabeparameter können die Punktdichte, die die Oberfläche im Algorithmus von Eisenhaber *et al.* bestimmt, und der Abstand der Oberfläche von den vdW-Radien der Atome angegeben werden. Für die Punktdichte wurde der Standardwert von 256 Punkten beibehalten. Der Abstand von den vdW-Radien wurde klein gehalten, um einerseits die Auswirkungen auf die Packung der Wassermoleküle zu begrenzen und andererseits auch vergrabene Donoren und Akzeptoren zugänglich zu machen. Dazu wurde ein Abstand von 0.2 Å gewählt. Es zeigte sich, dass dieser Abstand ausreicht, um Wassermoleküle in einen realistischen Abstand zu minimieren.

Nach dem Aufruf der Programmbibliothek werden zuerst die Atome des solvatisierten Moleküls nach ihrer solvenszugänglichen Oberfläche sortiert. Schließlich ist die Anzahl der zu nahe liegenden Wassermoleküle begrenzt und Atome mit einer großen solvenszugänglichen Oberfläche sollen als erstes ein Wassermolekül zugeordnet bekommen. Kohlenstoffatome werden aussortiert und Wasserstoffatome erhalten unabhängig davon, wie groß ihre zugängliche Oberfläche ist, geringere Priorität. Danach werden die Vektoren zur Oberfläche berechnet (Abb. 6).

Da die Abstände von dem solvatisierten Molekül zu allen umgebenden Wassermolekülen gemessen werden müssen, um zu nahe gelegene Wassermoleküle identifizieren zu können, bot es sich an, diesen rechenzeitaufwendigen Schritt in den *low-level*-Teil zu verlegen. Dort konnte er mit den Abstandsmessungen zur Bestimmung von Nah- und Fernbereich (Kapitel 2.3.6) ohne zusätzlichen Rechenzeitaufwand zusammengezogen werden.

Zuerst werden Wassermoleküle, die sich näher als  $1,0 \text{ \AA}$  im Umkreis um das solvatisierte Molekül befinden, zu Wasserstoffbrücken-Donoren oder -Akzeptoren (Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel) umgeordnet. Dabei wird die zuvor aufgestellte Reihenfolge bezüglich der solvenszugänglichen Oberfläche eingehalten, sodass Donoren und Akzeptoren mit einem großen Oberflächenanteil zuerst bedient werden. Befinden sich mehr Wassermoleküle in der Entfernung von  $1 \text{ \AA}$  als Donoren und Akzeptoren im solvatisierten Molekül vorhanden sind, wird die Zuordnung nur fortgesetzt, wenn die verbleibenden Wassermoleküle näher als  $0,5 \text{ \AA}$  um das solvatisierte Molekül liegen. Diese werden dann Wasserstoffatomen, absteigend nach solvenszugänglicher Oberfläche, zugeordnet.

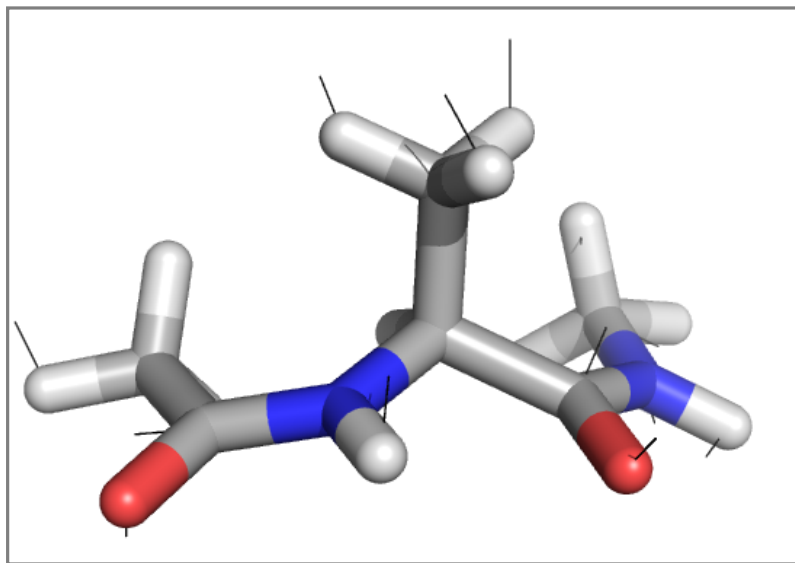


Abb. 6: *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methylamid mit den in schwarz eingezeichneten Vektoren zur solvenszugänglichen Oberfläche.

Bei der Neupositionierung der zu nahen Wassermoleküle wird deren Lage im Raum beibehalten. Zuerst werden die Bindungsvektoren der zwei O–H-Bindungen des Wassers bestimmt (Abb. 7.1). Dann wird das Sauerstoffatom des Wassers an seine neue Position auf der Oberfläche gesetzt, die durch Addition der Donor- bzw. Akzeptorposition mit dem Vektor zur Oberfläche erhalten wird. Nun können die Bindungsvektoren hinzuaddiert werden, um die Positionen der Wasserstoffatome des Wassermoleküls zu erhalten (Abb. 7.2). Um auszuschließen, dass die zuletzt bewegten Wasserstoffatome durch eine Ausrichtung zum Molekül hin diesem wiederum zu nahe kommen, wird erneut der Abstand bestimmt (Abb. 7.3). Ist der Abstand zu gering, wird das betreffende Wasserstoffatom an die Position auf der Oberfläche gesetzt. Durch Subtraktion und Addition der Bindungsvektoren werden wieder die beiden übrigen Atompositionen erhalten (Abb. 7.4).

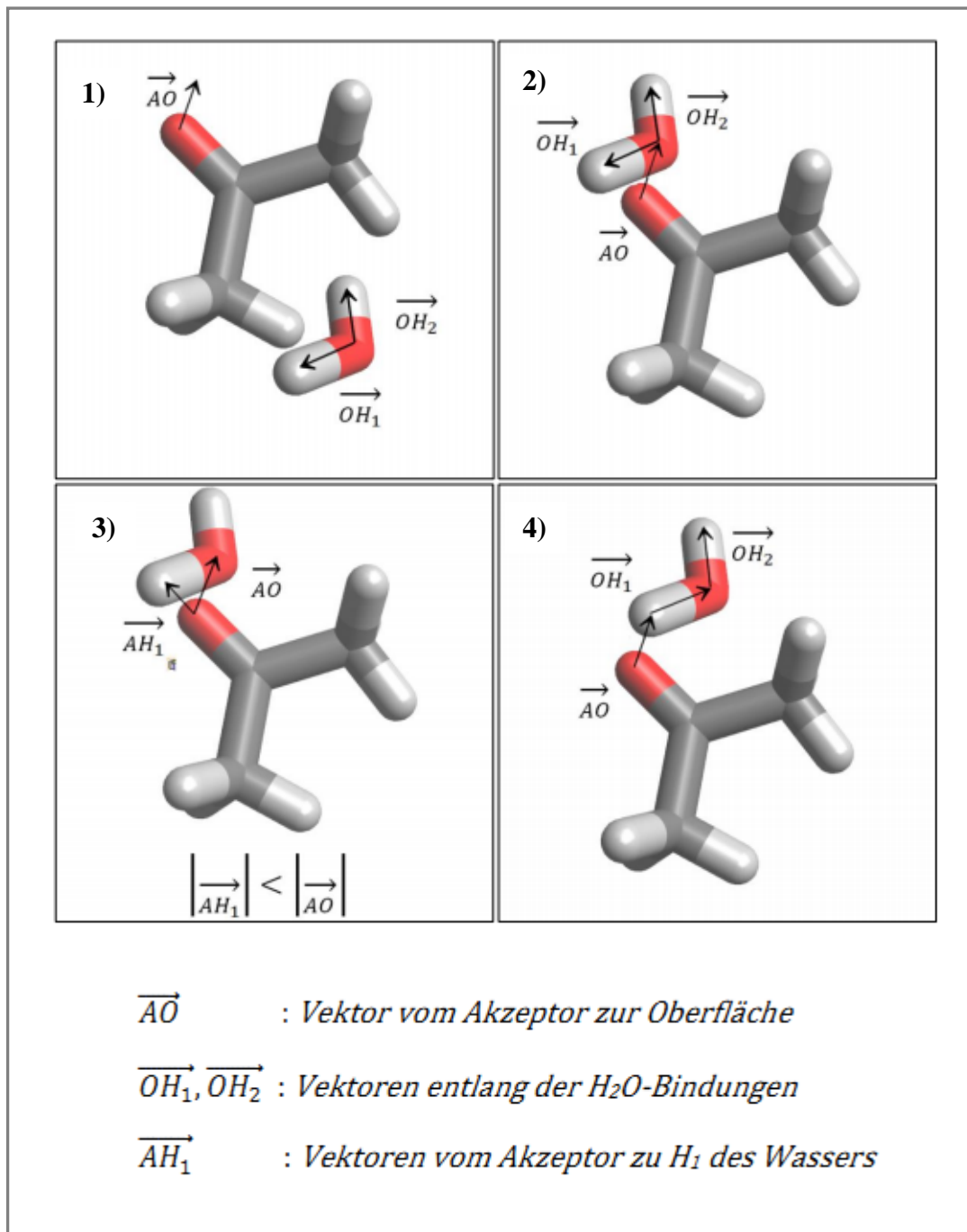


Abb. 7: Schematische Darstellung der Vorgänge auf vektorieller Ebene bei der Bewegung eines Wassermoleküls auf die Moleküloberfläche.

### 2.3.6 Nah- und Fernbereich um das solvatisierte Molekül: Unterteilung in Wasser- und TPA3-Moleküle

Bei Kontinuum-Modellen hat es sich als nützlich erwiesen, den Nahbereich um ein solvatisiertes Molekül mit einigen expliziten TIP-Molekülen zu simulieren [23–29]. Schließlich sind es gerade die Wechselwirkungen im Nahbereich um ein solvatisiertes Molekül, die dessen Konformation in Lösung mitbestimmen.

Mit expliziten Solvationsmodellen sind Vereinfachungen verbunden. Aus diesem Grund wurde bei dem in dieser Arbeit entwickelten Solvationsmodell die Idee des „genauer“ simulierten Nahbereiches um ein solvatisiertes Molekül aufgegriffen. Der nächste Schritt an Genauigkeit nach dem Kontinuum-Modell und dem expliziten TIP-Modell (z. B. mit TIP- oder TPA3-Molekülen) ist die Behandlung eines Wassermoleküls als solches mit allen Potentialen und Feinheiten, die sonst nur im Vakuum angewendet werden. Dazu gehören:

- Wasserstoffbrückenbindungen,
- der mit Wasserstoffbrückenbindungen verbundene Ladungsübertrag vom Donor auf den Akzeptor,
- Bindungslängen- und Bindungswinkel-Deformation,
- Anwendung des exakteren und umfangreicheren elektrostatischen und vdW-Potentials des MOMO-Kraftfeldes anstatt eines stark vereinfachten und rechenzeitoptimierten Potentials (besagtes vereinfachtes Potential wird im folgenden Kapitel 2.3.7 beschrieben).

Bei der Festlegung, welche Wassermoleküle als TPA3-Moleküle behandelt werden, ist zu beachten, dass sich durch die Bewegung der Moleküle während der Minimierung Wassermoleküle aus dem Nahbereich (der „inneren Shell“) heraus bewegen können. Natürlich soll der umgekehrte Fall auch möglich sein. Daher muss vor jedem Programmdurchlauf der Potentiale überprüft werden, wie weit entfernt ein Wassermolekül von dem solvatisierten Molekül ist. Entsprechend der Entfernung muss dann die Zuordnung zu Nah- oder Fernbereich neu erfolgen. Dieser Vorgang kann nur in den *low-level*-Programmteilen stattfinden.

Die Argumente für den Programmcode der Bindungslängen- und Bindungswinkelpotentiale werden von vornherein von dem *high-level*-Teil übergeben und sind während der Minimierung nicht mehr veränderbar, z. B. die zwei Atome, die durch eine Bindung verbunden sind, oder die drei Atome, zwischen denen ein Bindungswinkel liegt. Dies ist für Berechnungen ohne Wasser im Vakuum durchaus sinnvoll und wurde daher beibehalten. Auch die Atome eines solvatisierten Moleküls werden weiterhin als Argumente übergeben, denn hier muss und soll nicht bei jedem Potentialdurchlauf neu initialisiert werden. Für die nahen Wassermoleküle jedoch wurden die zusätzlichen Funktionen „TPABondTerm“ und „TPAAngleTerm“ geschaffen, die dieselben Potentiale enthalten wie die bestehenden Bindungslängen- und Bindungswinkelpotentiale. Allerdings akzeptieren diese eine im *low-level*-Teil veränderbare Liste mit Atomen als Argumente. Somit werden die Atome im Universe vor jedem Durchlauf der Potentiale, ohne den langsamen *high-level*-Teil zu benötigen, neu in drei Gruppen unterteilt:



- die Atome des solvatisierten Moleküls, die in die bereits bestehenden Potentiale eingehen,
- die Atome der nahe um das solvatisierte Molekül befindlichen Wassermoleküle (näher als 6,1 Å), die in die duplizierten Bindungslängen- und Bindungswinkel-potentiale eingehen sollen. Nichtbindende Wechselwirkungen werden mit denselben bereits bestehenden Potentialen berechnet, die auch bei dem solvatisierten Molekül Anwendung finden: elektrostatisches, vdw- und Wasserstoffbrücken-Potential,
- die weiter entfernten Wassermoleküle, auf deren Atome nun das in Kapitel 2.3.7 beschriebene Potential und der TPA3-Algorithmus (Kapitel 3) angewendet werden.

### 2.3.7 Implementierung eines Potentials zur Beschreibung der nichtbindenden TPA3–TPA3-Wechselwirkungen

Für die Wassermoleküle mit einem größeren Abstand als 6,1 Å von dem solvatisierten Molekül ist ein einfaches Potential von Nöten, das die realen Wechselwirkungen zwischen Wasser qualitativ widerspiegelt.

Die sogenannten SPC- bzw. TIP $n$ P-Potentiale ( $n = 3, 4, 5$ ) gehen auf die Arbeiten von S. Lifson und A. Hagler [47] sowie Jorgensen *et al.* zurück [48–50]. In dieser Arbeit wird für die weiter entfernten Wassermoleküle ein TIP3P / SCP ähnliches Potential genutzt, da jeder weitere Ladungspunkt außerhalb der Atomkoordinaten, wie bei TIP4P und TIP5P, zusätzliche Raumkoordinaten und Abstandsmessungen erfordern würde. Bei der in MOMO vorliegenden Programmstruktur und dem im folgenden Kapitel dargestellten Mechanismus der Ausgleichsbewegungen hätte dies einen erhöhten Rechenaufwand zur Folge. Obwohl TIP3P und SPC die ersten Potentiale dieser Art waren und die TIP4P- und TIP5P-Potentiale erst einige Zeit später als Verbesserungen des TIP3P-Potentials entwickelt wurden, ist das TIP3P- genau wie das SPC-Potential keinesfalls veraltet oder schlechter. Es wird in einer ganzen Reihe aktueller Untersuchungen angewandt [51–53].

Vielen TIP $n$ P-Modellen liegt die Gleichung

$$E_{ab} = \sum_{ij} \frac{q_i q_j e^2}{r_{ij}} + \frac{A}{r_{OO}^{12}} - \frac{C}{r_{OO}^6} \quad (2)$$

$E_{ab}$	Wechselwirkungsenergie zweier Moleküle $a$ und $b$
$q_i / q_j$	Wasserstoffatom- bzw. Sauerstoffatom-Ladung
$r_{ij}$	Abstand zwischen den betreffenden zwei Atomen
$r_{OO}$	Abstand zwischen zwei Sauerstoffatomen
$A, C$	Parameter
$e$	Elementarladung

zugrunde, wobei die vdw-Wechselwirkungen nur zwischen den Sauerstoffatomen zweier Wassermoleküle gerechnet werden. Gleichung (2) wurde für das Potential zur Beschreibung der nichtbindenden TPA3–TPA3-Wechselwirkungen genutzt. Als Ladungen der Wasserstoff- und Sauerstoffatome der TPA3-Moleküle wurden anstatt der in der Literatur genannten Ladungen (-0,834 und +0,417) [48, 49] die MOMO-Ladungen des Wassers verwendet (-0,507551 und +0,253775). Während die Ladungen aus der Literatur zu einem etwas zu hohen Dipolmoment von 2,35 D führen, ergibt sich mit den MOMO-Ladungen ein etwas zu niedriges Dipolmoment von 1,43 D für ein Wassermolekül (Literaturwert: 1,85 D). Damit sollte in der Minimumenergiestruktur eines TIP3P-Dimers der O–O-Abstand etwas zu niedrig sein und mit den MOMO-Ladungen etwas zu groß. Für die Bindungslängen und Bindungswinkel wurden die Literaturwerte von 0,9572 Å und 104,5° beibehalten. Für die vdw-Konstanten A und C aus Gleichung (2) wurden ebenfalls die Werte aus der Literaturstelle [49] beibehalten (vgl. Tabelle 1).

	q (e)	r <sub>OH</sub> (Å)	< <sub>HOH</sub> (°)	A (kcalÅ <sup>12</sup> /mol)	C (kcalÅ <sup>6</sup> /mol)	e <sup>2</sup> (kcal Å/mol)
O	-0,507551					
H	+0,253775	0,9572	104,5	582002,0	595,0	332,17752

Tabelle 1: TPA3-Wasser-Parameter für ein Gleichung (2) entsprechendes Potential; außer den Ladungen gehen alle Parameter auf die Literaturstelle [49] zurück.

### 2.3.8 Veränderungen und Erweiterungen am Conjugate Gradient Minimizer

Bei Minimierungen im Vakuum kann es in der Nähe sehr flacher und breiter Minima vorkommen, dass viele aufeinanderfolgende Minimizerschritte klein ausfallen und keinen nennenswerten Fortschritt der Minimierung liefern. Daher ist für MOMO ein zusätzliches qualitatives Abbruchkriterium vorhanden, das mehrere aufeinanderfolgende, sehr kleine Schritte summiert und bei einer gewissen Anzahl die Rechnung abbricht. Meist entspricht die Konformation eines Moleküls nach einem solchen Abbruch mit nur minimalen Abweichungen der Konformation im tatsächlichen Energieminimum. Dies gilt vor allem für kleine Moleküle. Bei größeren Molekülen, wie Peptiden, zeigte es sich, dass eine sich in kleinen Schritten bewegend Atomgruppe auch noch nach mehreren hundert dieser Schritte eine Konformationsänderung des gesamten Moleküls initialisieren kann. Daher wurde die Anzahl der sehr kleinen Schritte, bei der ein Abbruch erfolgt, um den Faktor 10 für die hier durchgeführten Konformationsanalysen an Peptiden im Vakuum erhöht. Für die Geometrieoptimierungen mit TPA3-Solvatationsmodell reicht es als Abbruchkriterium nicht aus, sehr kleine aufeinanderfolgende Minimizerschritte aufzusummieren. Aufgrund der großen Anzahl an Atomen können kleine Schritte insgesamt öfter auftreten.

Hinzu kommt, dass der äußere Bereich der Wasserhülle mit Eiselementarzellen bewusst so konstruiert wurde, dass ein starker Zusammenhalt mit wenig Bewegung bzw. kleinen Schrittweiten resultiert (vgl. Kapitel 4.2). Schritte aus diesem Bereich sollten aus diesem Grund nicht in die Summe der kleinen Bewegungen eingehen. Somit wurde das Abbruchkriterium nur auf die Bewegung der Atome des solvatisierten Moleküls beschränkt. Es wurde auch hier die Liste TIPDATA genutzt.

Es zeigte sich, dass das schon für Vakuumminimierungen vorhandene und, wie oben beschrieben, für Peptide veränderte Abbruchkriterium mit Solvatationsmodell nicht verwendet werden konnte. Der Grund hierfür ist, dass umgebende Wassermoleküle durch das Zusammenspiel der nichtbindenden Wechselwirkungen eine leichte Vibration bei einem solvatisierten Molekül hervorrufen können. Diese Vibrationen können zu langen Rechenzeiten führen. Es galt also Vibrationen zu identifizieren und bei längerem Auftreten die Minimierung abubrechen, wobei trotzdem kleine Bewegungen des solvatisierten Moleküls aus einem lokalen Minimum heraus bis zu einem gewissen Punkt möglich sein sollten.

Daher wurde empirisch folgendes Abbruchkriterium in den Minimierer integriert:

- Aufgrund der Vibrationen werden die für den Abbruch ausschlaggebenden Bewegungsdifferenzen nicht mehr zwischen zwei aufeinanderfolgenden Schritten gebildet, sondern zwischen zwei übernächsten Schritten.
- Bewegungsdifferenzen zwei Zehnerpotenzen größer als im Vakuum werden schon als abbruchrelevant gewertet.
- Die Anzahl der abbruchrelevanten Schritte  $N_{Abbruch}$ , bei der ein Abbruch erfolgt, ist keine Konstante mehr, sondern abhängig von der Größe des solvatisierten Moleküls bzw. der Atomanzahl  $N_{Atome}$  des Moleküls:  
$$N_{Abbruch} = 15 \cdot N_{Atome}$$

Wird eine Trajektorie aufgenommen, so wird nur jeder 100. Schritt entlang des Konvergenzpfades zur visuellen Ausgabe aufgezeichnet. Ist die Konvergenz erreicht oder die Minimierung mit den oben genannten Abbruchkriterien abgebrochen, müssen die bis dato nicht aufgezeichneten Schritte final aufgezeichnet und die Trajektorie gespeichert werden.

Bei der Implementierung von neuem Programmcode oder bei neuen bislang unvorhergesehenen und ungetesteten Anwendungen kann es zu unerwarteten Programmabstürzen kommen. Eine häufige Ursache für einen Programmabsturz ist, wenn die Atomkoordinaten *NaN* (Not a Number) werden. Dies kann z. B. geschehen, wenn durch zu starke vdw-Anziehung zwei Kerne programmtechnisch „fusionieren“ und die Koordinaten beider Atome gleich werden. Oder wenn die Atomreihenfolge durcheinander gerät und Atome mit ihren Bindungen auf die Koordinaten von einem anderen Atom gesetzt werden.

Mit der für Vakuumrechnungen veröffentlichten MOMO-Version wurden solche Fehler zwar erkannt und eine entsprechende Fehlermeldung im Terminal ausgegeben, jedoch wurden die bis dato in einer Trajektorie nicht aufgezeichneten Minimizerschritte nicht final ausgegeben und in der Trajektorie gespeichert. Man konnte also den Zustand des Universe, bei dem ein Programmabsturz erfolgte (z. B. die programmtechnische „Kernfusion“), nicht reproduzieren, was die Fehlersuche erschwerte. Daher war es wünschenswert, dass der letzte Schritt, bei dem ein Programmabsturz erfolgt, visuell aufgezeichnet wird, um die Fehlersuche zu erleichtern. Es wird nun bei der Identifizierung solcher *NaN*-Abstürze eine Rückgabe an den Minimizer initialisiert, wo die noch nicht aufgezeichneten Zustände des Universe final in die Trajektorie geschrieben werden. Zusätzlich wird ein File mit der Endung *\*XX.error* angelegt, wobei *XX* die Rechnungsnummer bei einer Konformationsanalyse darstellt. Mit dem *\*XX.error*-File können nun auch auf dem Cluster des HHLR-GU (Hessisches Hochleistungsrechenzentrum der Goethe-Universität) CSC (Center for Scientific Computing), wo bei Programmabstürzen keine Terminalausgabe erfolgt, fehlerhafte Rechnungen klar identifiziert und in der entsprechenden Trajektorie nach der Fehlerursache gesucht werden.

Auch das „Fixieren“ des solvatisierten Moleküls während einer wählbaren Anzahl initialer Schritte hat seinen Ursprung in dem Programmcode des Minimizer. Genau genommen handelt es sich dabei um keine absolute Starre, da immer nur dann, bevor die Ausgabe der Atomkoordinaten an die Trajektorie erfolgt, also alle 100 Minimizerschritte, eine Rückführung in den Ausgangszustand erfolgt. Dies geschieht durch Überschreiben der Atomkoordinaten. Das solvatisierte Molekül kann sich also genau 100 Minimizerschritte frei bewegen. Im Vergleich zu einer tatsächlichen Fixierung kommt es so zu einer kontinuierlichen progressiven Abschwächung der Wechselwirkungen mit nahe liegenden Wassermolekülen.

## 3. Algorithmus zum „Starrhalten“ der TPA3-Moleküle (Transferable Potential Algorithm 3)

---

Es ist allgemein üblich, dass bei Berechnungen mit TIP-Modellen jeglicher Art die Bindungslängen und Bindungswinkel starr gehalten werden. Wie diese Starrheit in den verwendeten Programmen programmtechnisch umgesetzt wurde, ist aus der Literatur meist nicht ersichtlich. Einige bekannte und bei MD-Simulationen zur Berechnung einer Bewegung von Wassermolekülatomen ohne Veränderung der Bindungslängen und -winkel eingesetzte Algorithmen sind:

- der aus dem Jahr 1971 stammende Algorithmus von A. Rahman und F. H. Stillinger [54], bei welchem die Newton-Euler-Gleichung zur Beschreibung der Bewegung des Schwerpunktes genutzt wird und die Euler-Winkel zur Berechnung der Orientierung im Raum<sup>2</sup>;
- die Methode zur Bestimmung der Position eines als Quaternion angesehenen Wassermoleküls nach D. A. Evans und S. Murad aus dem Jahr 1977 [55];
- der SETTLE-Algorithmus von S. Miyamoto und P. A. Kollman, bei dem das Wassermolekül als Dreieck aufgefasst wird und ebenfalls die Euler-Winkel zur Berechnung der Orientierung in abgeänderter Form genutzt werden [56].

Bei den beiden erstgenannten Algorithmen wurden starke Vereinfachungen an den Wassermolekülen vorgenommen. Der SETTLE-Algorithmus scheint rechenzeittechnisch anspruchsvoll zu sein. Außerdem ist keiner der aufgezählten Algorithmen ohne gravierende Veränderungen bei einer Minimierung nutzbar, da er für MD-Simulationen entwickelt wurde. Aus diesen Gründen wurde für die in dieser Arbeit durchgeführten Energieminimierungen ein neuer, rechenzeittechnisch möglichst wenig anspruchsvoller Algorithmus entwickelt.

Da bei der Variable  $r_{ij}$  in Gleichung (2) nicht nur Abstände zwischen zwei Sauerstoffatomen eingehen, sondern auch Wasserstoffatome bei elektrostatischen Wechselwirkungen hinzugenommen werden, führt jede Wechselwirkung, an der ein Wasserstoffatom eines TPA3-Moleküls beteiligt ist, zu einem Gradienten. Es stellte sich

---

<sup>2</sup> Eine ausführliche Beschreibung zur Definition und Anwendung der Euler-Winkel sowie der Newton-Euler-Gleichung sind in „*Computational Dynamics*“ von A. A. Shabana [57] zu finden.

die Frage, wie dieser berücksichtigt werden soll, wenn kein zusammenhaltendes Potential (wie ein Bindungslängen- und Bindungswinkel-Potential) zwischen den Atomen eines TPA3-Moleküls vorhanden ist und Bewegungen, die auf diese Gradienten zurückgehen, unweigerlich zu Abweichungen von den Idealwerten der Bindungslängen und Bindungswinkel führen. Abbildung 8 zeigt zwei Wassermoleküle, die mit diesem Potential minimiert wurden, nach dem ersten Schritt der Minimierung und die Gradienten dieser Momentaufnahme.

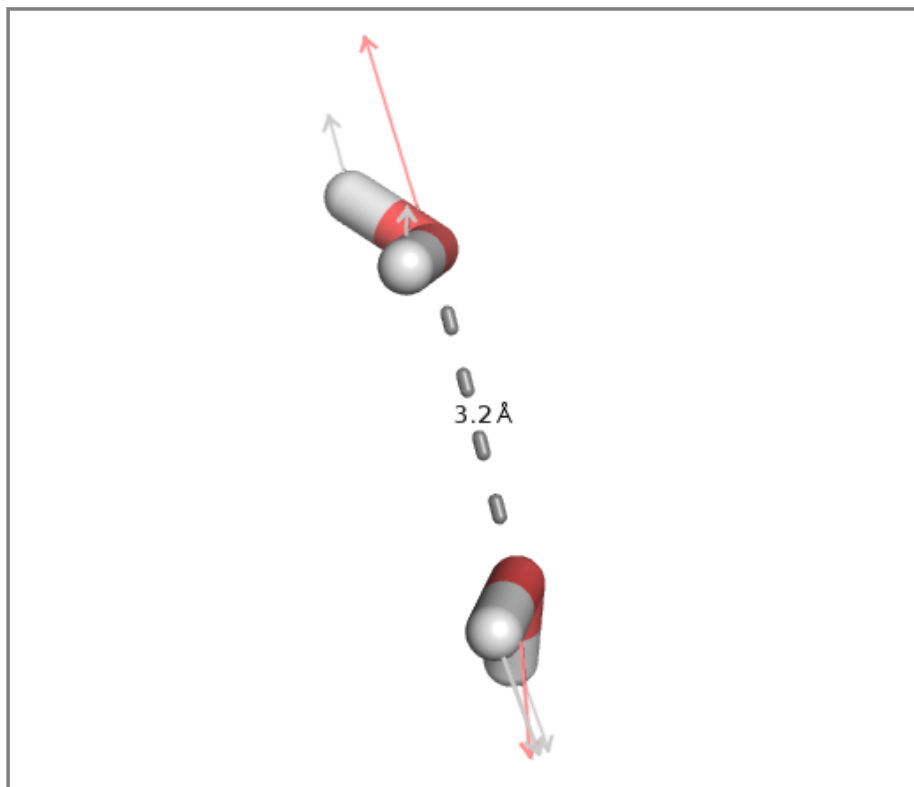


Abb. 8: Zwei mit einem auf Gleichung (2) zurückgehenden Potential teilminimiert Wassermoleküle und deren Gradienten nach dem ersten Minimizerschritt.

Es kam die Idee auf, die aus den Gradienten hervorgehenden Bewegungsvektoren der Atome in einem Molekül so zu nutzen, dass sich für alle Atome in einem Molekül parallele Bewegungsvektoren gleichen Betrages ergeben. Dann resultiert eine synchrone Bewegung und die Atomabstände und Winkel bleiben bei einer Bewegung gleich, also starr. Beispielsweise könnte man die Bewegungsvektoren der Wasserstoffatome eines Moleküls und den Bewegungsvektor des jeweils zugehörigen Sauerstoffatoms vektoriell addieren und das gesamte Molekül entlang des resultierenden Vektors bewegen. Leider würden so aber nur die Freiheitsgrade der Translation ausgeschöpft – eine Rotation des Moleküls wäre auf diese Weise nicht möglich.

Eine solche Translation ist anhand der zwei Wassermoleküle aus Abbildung 8, die sich abstoßen, in den Abbildungen 9A und 10A gezeigt. Die Vektoraddition ist aus Gründen der Übersichtlichkeit nur für das Sauerstoffatom ausgeführt, da die beiden übrigen Atome auf dieselbe Weise bewegt werden können oder deren Position sich durch die

Bindungsvektoren ergibt, wenn die Sauerstoffposition bekannt ist. Ebenfalls nicht dargestellt ist die anschließende mögliche Skalierung des bei der Vektoraddition entstehenden Vektors auf die Länge des Sauerstoffbewegungsvektors oder mit einem empirischen Faktor.

Der Vergleich mit den Bewegungen in Abbildung 9B und Abbildung 10B zeigt deutlich, dass bei der Bewegung durch Vektoraddition die Rotation vernachlässigt wird. Diese Abbildungen stellen als Skizze dar, wie ein Wassermolekül bei qualitativer Beachtung der Länge und Richtung der Gradienten realistisch im Raum orientiert sein könnte.

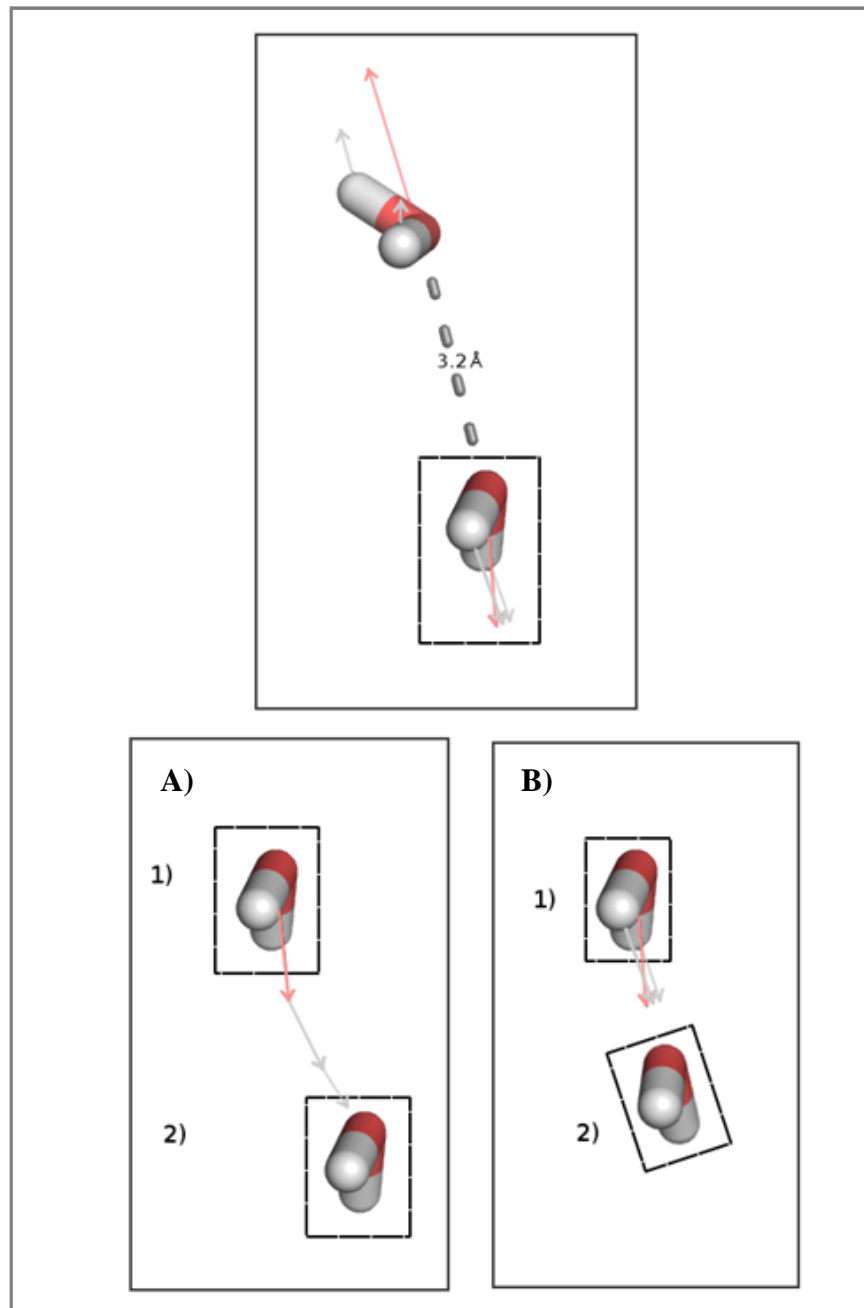


Abb. 9: Zwei mit einem auf Gleichung (2) zurückgehenden Potential teilminimierte Wassermoleküle und deren Gradienten nach dem ersten Minimizerschritt (oben); zwei mögliche Bewegungen des unteren, umrandeten Wassermoleküls unter unterschiedlicher Berücksichtigung der Gradienten. In A) werden die Gradienten aufsummiert, es ergibt sich eine Translation. In B) ist die Orientierung des Wassermoleküls im Raum skizziert, die mit dem TPA3-Algorithmus der Ausgleichsbewegungen erhalten wird.

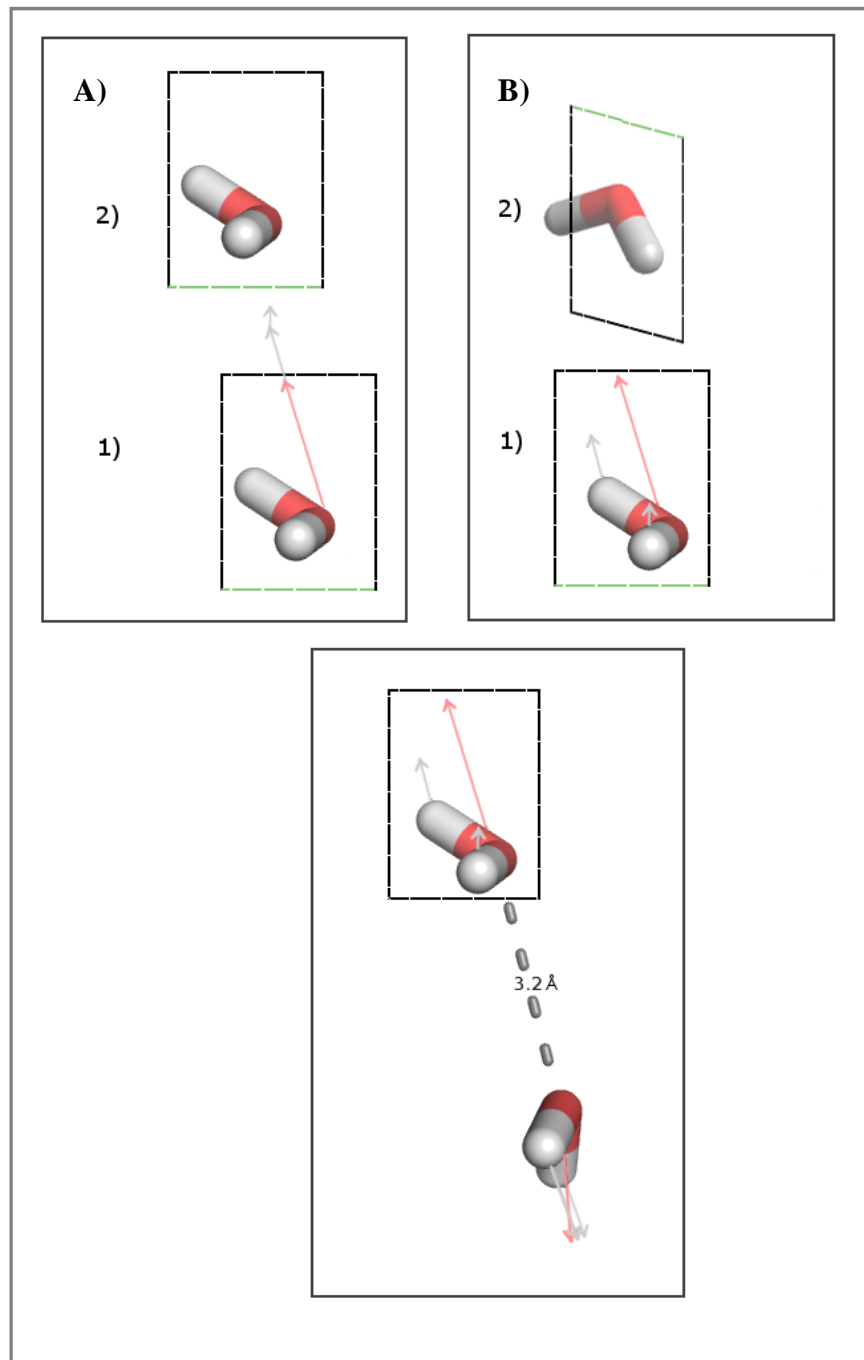


Abb. 10: Zwei mit einem auf Gleichung (2) zurückgehenden Potential teilminimierte Wassermoleküle und deren Gradienten nach dem ersten Minimizerschritt (unten); zwei mögliche Bewegungen des oberen, umrandeten Wassermoleküls unter unterschiedlicher Berücksichtigung der Gradienten; In A) werden die Gradienten aufsummiert; es ergibt sich eine Translation. In B) ist die Orientierung des Wassermoleküls im Raum skizziert, die mit dem TPA3-Algorithmus der Ausgleichsbewegungen erhalten wird. Die grüne Seite des Rahmens soll eine Rotation verdeutlichen, falls eine vorliegt.

Die wichtige Rolle der Rotation wird mit dem Vergleich der Orientierungen der bewegten Wassermoleküle in Abbildung 10B besonders deutlich.



Die Definition eines Drehmomentes und die anschließende Rotation um den Schwerpunkt mit Transformation der Koordinatenachsen wäre möglich. Allerdings ist der damit verbundene mathematische und somit rechenzeittechnische Aufwand, der in solch einen Algorithmus eingehen müsste, mindestens genauso umfangreich wie die Hinzunahme des MOMO-Bindungslängen- und -Bindungswinkel-Potentials. Da ein Drehmoment für jedes Wassermolekül berechnet werden müsste, wäre eine signifikante Rechenzeiterparnis nicht zu erwarten.

In diesem Kapitel und den Abbildungen 9 und 10 werden die Gradienten zur Veranschaulichung eines Sachverhaltes genutzt, der eigentlich für die aus den Gradienten hervorgehenden Bewegungsvektoren gilt. Die Gradienten haben einen deutlich größeren Betrag als die Bewegungsvektoren und eignen sich daher in diesem Fall besser für eine übersichtliche Darstellung.

Zwar stoßen sich die Atome unterschiedlicher Wassermoleküle ab, die Atome innerhalb eines Wassermoleküls können sich jedoch sehr nahe kommen, was aus den eng beieinander liegenden Vektoren in Abbildung 9B hervorgeht. Die Atome könnten sich auch beliebig weit voneinander entfernen und auseinander bewegen.

Im Folgenden soll erklärt und gezeigt werden, wie mit dem in dieser Arbeit entwickelten Algorithmus der Ausgleichsbewegungen für Wassermoleküle unter Einbeziehung aller Wechselwirkungen untereinander eine realistische Orientierung (eine solche ist in den Abbildungen 9B und 10B für die Abstoßung zweier Wassermoleküle gezeigt) erhalten wird.

Bei diesem Algorithmus werden Ausgleichsbewegungen nur durchgeführt, wenn, wie in Kapitel 2.3.8 beschrieben, eine Ausgabe in das Trajektorien-File erfolgt – also alle 100 Minimizerschritte. Das bedeutet, dass sich die Atome der Wassermoleküle 100 Schritte frei und ohne jeglichen molekularen Zusammenhalt bewegen können. Anschließend werden die Atome eines jeden Wassermoleküls durch vektorielle Bewegungen so ausgerichtet, dass die Standardbindungslängen und -winkel wieder erhalten werden. In diese Ausgleichsbewegungen gehen die aus den Gradienten berechneten Bewegungsvektoren ein, welche die Atome frei bewegt hatten. Auf diese Weise wird nicht nur eine Translationsbewegung erhalten, sondern auch die gewünschte Rotation.

Bei dem Algorithmus der vektoriellen Ausgleichsbewegungen werden die folgenden Vektoroperationen hintereinander ausgeführt. Zur Veranschaulichung dienen die Abbildungen 11 und 12. In diesen Abbildungen sind die Vektoren, die an einem Wassermolekül mit zu großer Bindungslänge bzw. zu kleinem Bindungswinkel angewendet werden, eingezeichnet.

- a. Zurückführung der Abstände  $O-H_x$  und  $O-H_y$  auf den Standardwert von 0,957 Å. Der Standardwert kann überschritten oder unterschritten worden sein. Jedes der beiden Atome wird abhängig von der „Triebkraft“, die es an seine Position gebracht hat, auf das jeweils Andere zu oder von diesem weg bewegt. Diese fiktive „Triebkraft“ hängt von der während der freien Minimierung (100 Schritte) durchgeführten Bewegung ab und geht auf die Gradienten zurück. Es sind vier Ausrichtungen der auf H und O wirkenden Vektoren zueinander möglich (Abb. 13). Je nach zu großem oder zu kleinem  $O-H$ -Abstand werden die Ausgleichsbewegungen der Atome aufeinander zu bzw. voneinander weg unterschiedlich stark ausgeführt.
- 1) Zuerst wird derjenige Abstand zurückgeführt, an dem das Wasserstoffatom mit dem kleineren Gradienten beteiligt ist ( $O \leftrightarrow H_x$ ).  $H_x$  wird schließlich unter 2) mit dem Sauerstoff zusammen nochmals bewegt und ist wegen der schwächeren „Triebkraft“ als das flexiblere der beiden anzusehen (Abb. 11.1).
  - 2) Anschließend wird der zweite Abstand zurückgeführt ( $O \leftrightarrow H_y$ ), wobei derselbe Vektor, um den O diesmal bewegt wird, auch auf  $H_x$  angewendet wird, sodass  $H_x$  eine parallele Bewegung ausführt und der ( $O-H_x$ )-Abstand nicht mehr verändert wird (Abb. 11.2).
- b. Der Bindungswinkel wird durch eine gleichmäßige Bewegung der beiden Wasserstoffatome entlang von zwei Sekanten eingestellt. Die Sekanten schneiden einen Kreis, der den Radius der Bindungslänge hat und dessen Mittelpunkt das Sauerstoffatom ist. Die Sekanten schneiden den Kreis an der Position der Wasserstoffatome und dem Schnittpunkt der Winkelhalbierenden mit dem Kreis (Abb. 12.1).
- c. Da es dabei, je nachdem ob der Bindungswinkel vergrößert oder verkleinert werden muss, zu einer Verlängerung oder Verkürzung der zuvor korrigierten Bindungslängen kommt, müssen die Bindungslängen erneut auf den Standardwert zurückgestellt werden. Dies erfolgt nun mittels Skalierung des Bindungsvektors. Diesmal werden nur die Wasserstoffatome bewegt (Abb. 12.2).

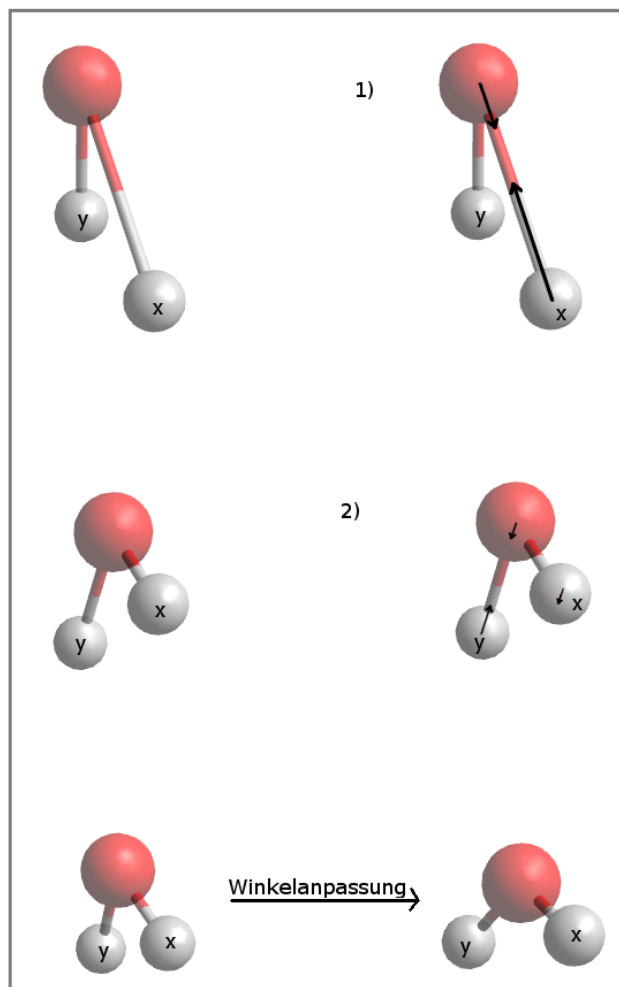


Abb. 11: Skizze der Vektoroperationen, die bei dem Algorithmus der Ausgleichsbewegungen durchgeführt werden. Die Einzelschritte der Winkelanpassung sind in Abbildung 12 gezeigt.

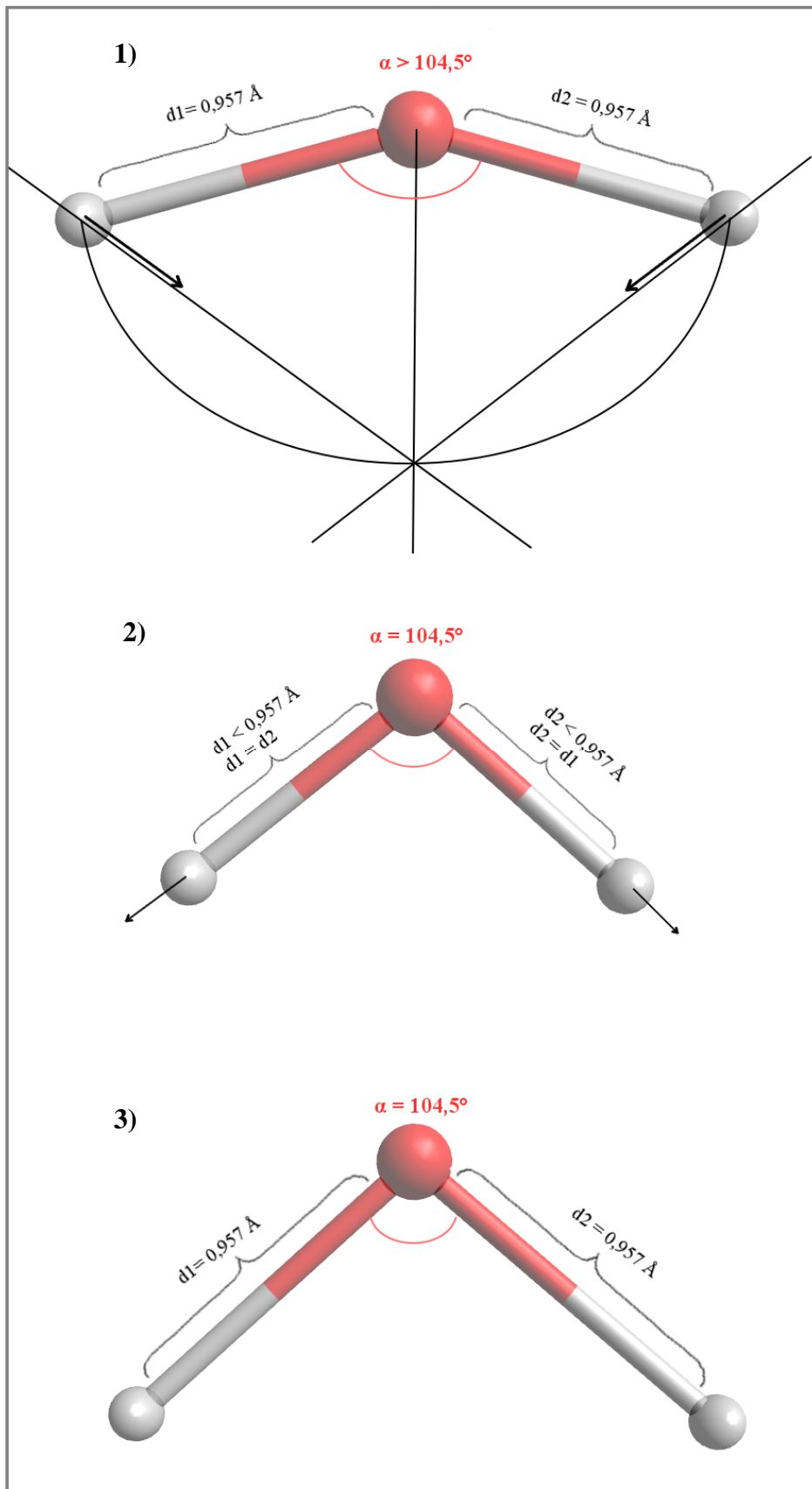


Abb. 12: 1) Skizze der Vektoroperationen, die zur Anpassung des Bindungswinkels auf den Standardwert von  $104,5^\circ$  durchgeführt werden. 2) Verlängerung der nach 1) resultierenden zu kurzen Bindungslänge auf  $0,957 \text{ \AA}$ . 3) Erhalten wird ein TPA3-Wassermolekül mit Standardbindungswinkel und Standardbindungslänge.

Die bei der obigen Aufzählung verwendeten Begriffe „Triebkraft“ und „Flexibilität“ sind keine wirklich physikalisch belegbaren oder berechenbaren Größen. Sie sollen in diesem Zusammenhang lediglich verdeutlichen, welche Überlegungen in den Mechanismus bzw. Algorithmus der Ausgleichsbewegungen eingeflossen sind.

Tatsächlich handelt es sich um eine Bewegung auf einer mehrdimensionalen Potentialfläche, wobei die Potentialfläche an sich mit dem empirischen Eingriff der Ausgleichsbewegungen nicht verändert wird. Durch die Aufteilung von  $\Delta d$ , der Differenz der Bindungslänge zum Standardwert von  $0,957 \text{ \AA}$ , in anteilige Bewegungen der an einer Bindung beteiligten O- und H-Atome wird versucht, den Gegebenheiten der Potentialfläche zu entsprechen. Wie stark sich jedes der O- und H-Atome bewegt, wird in Bezug zu der Bewegung während der vorhergehenden 100 Minimizerschritte gesetzt, sodass qualitativ die Annäherung an ein Minimum (auf der Potentialfläche) fortbesteht.

Ob die Translationsvektoren  $\vec{G}_o$  und  $\vec{G}_h$  während der vorhergehenden Minimizerschritte auf das jeweils andere Atom zeigen oder von diesem weg, wird durch den Kosinus des Winkels zwischen dem Bindungsvektor und  $\vec{G}_o$  bzw.  $\vec{G}_h$  eingebracht. Damit kann man die Wirkung von  $|\vec{G}_o|$  und  $|\vec{G}_h|$  auf die Ausgleichsbewegung der Atome aufeinander zu oder voneinander weg einfließen lassen (Abb. 13).

Die resultierende Bewegung der TPA3-Moleküle kommt experimentell untersuchten Abläufen während der Hydratation eines Moleküls nahe. Eigenbewegungen und der Austausch von Wassermolekülen des Nahbereiches und des Fernbereiches werden dadurch auf ähnliche Weise simuliert, wie man sich die Abläufe in der Realität vorstellt [58]. Diese sogenannten Solvens-Dynamiken können Einfluss auf die Konformation von Biomolekülen haben [59]. Dass ähnliche Effekte bei dem TPA3-Algorithmus auftreten, ist ein willkommener Nebeneffekt.

In Abbildung 13 sind die vier möglichen Fälle der Ausrichtungen von  $\vec{G}_h$  und  $\vec{G}_o$  für zu große und zu kleine Bindungslängen dargestellt. Es ergeben sich die Skalare  $a$  und  $b$ , die die Bewegungsanteile des jeweiligen Wasserstoff- und Sauerstoffatoms darstellen.

Der sehr selten auftretende Sonderfall, dass  $\vec{G}_h$  oder  $\vec{G}_o$  genau senkrecht auf dem Bindungsvektor stehen, muss im Programmcode nicht berücksichtigt werden. Im nächsten Durchlauf wird mit sehr großer Wahrscheinlichkeit eine Ausgleichsbewegung stattfinden.

$$\Delta d = d - 0,957$$

$$a + b = \Delta d$$

$$\frac{\cos(\gamma) \cdot |\vec{G}_h|}{\cos(\delta) \cdot |\vec{G}_o|} = \frac{a}{b}$$

$d$ : Abstand von O-Atom und H-Atom (Betrag)

$a$ : Bewegungsanteil H-Atom (Skalar)

$b$ : Bewegungsanteil O-Atom (Skalar)

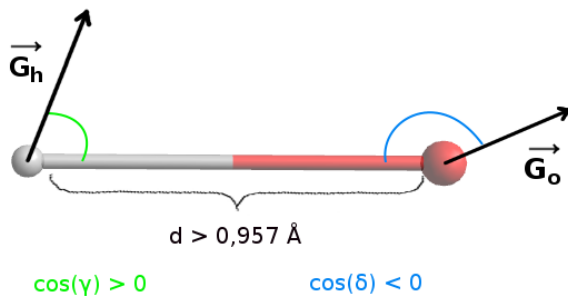
$\vec{G}_h$ : Bewegungsvektor des H-Atoms während der vorausgegangenen 100 Minimizerschritte

$\vec{G}_o$ : Bewegungsvektor des O-Atoms während der vorausgegangenen 100 Minimizerschritte

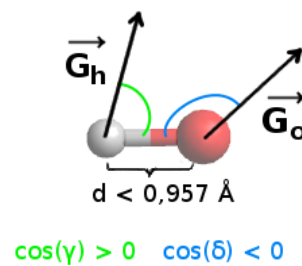
$\gamma$  = Winkel  $\vec{G}_h \leftrightarrow$  Bindungsvektor

$\delta$  = Winkel  $\vec{G}_o \leftrightarrow$  Bindungsvektor

1)



1)

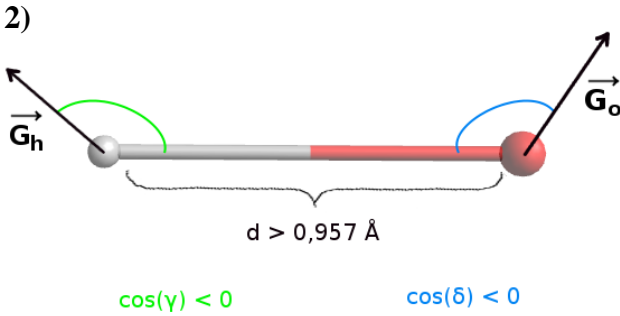
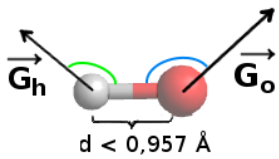
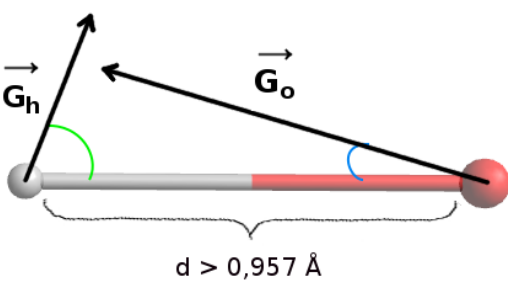
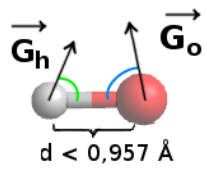


$$a = \Delta d$$

$$b = 0$$

$$a = 0$$

$$b = \Delta d$$

<p>2)</p>  <p style="text-align: center;"><math>d &gt; 0,957 \text{ \AA}</math></p> <p style="text-align: center;"><math>\cos(\gamma) &lt; 0</math>      <math>\cos(\delta) &lt; 0</math></p>	<p>2)</p>  <p style="text-align: center;"><math>d &lt; 0,957 \text{ \AA}</math></p> <p style="text-align: center;"><math>\cos(\gamma) &lt; 0</math>    <math>\cos(\delta) &lt; 0</math></p>
$b = \frac{\Delta d}{\left(\frac{\cos(\gamma) \cdot  \vec{G}_h }{\cos(\delta) \cdot  \vec{G}_o }\right) + 1}$ $a = \Delta d - b$	$b = \frac{\Delta d}{\left(\frac{\cos(\gamma) \cdot  \vec{G}_h }{\cos(\delta) \cdot  \vec{G}_o }\right) + 1}$ $a = \Delta d - b$
<p>3)</p>  <p style="text-align: center;"><math>d &gt; 0,957 \text{ \AA}</math></p> <p style="text-align: center;"><math>\cos(\gamma) &gt; 0</math>      <math>\cos(\delta) &gt; 0</math></p>	<p>3)</p>  <p style="text-align: center;"><math>d &lt; 0,957 \text{ \AA}</math></p> <p style="text-align: center;"><math>\cos(\gamma) &gt; 0</math>    <math>\cos(\delta) &gt; 0</math></p>
$b = \frac{\Delta d}{\left(\frac{\cos(\gamma) \cdot  \vec{G}_h }{\cos(\delta) \cdot  \vec{G}_o }\right) + 1}$ $a = \Delta d - b$	$b = \frac{\Delta d}{\left(\frac{\cos(\gamma) \cdot  \vec{G}_h }{\cos(\delta) \cdot  \vec{G}_o }\right) + 1}$ $a = \Delta d - b$

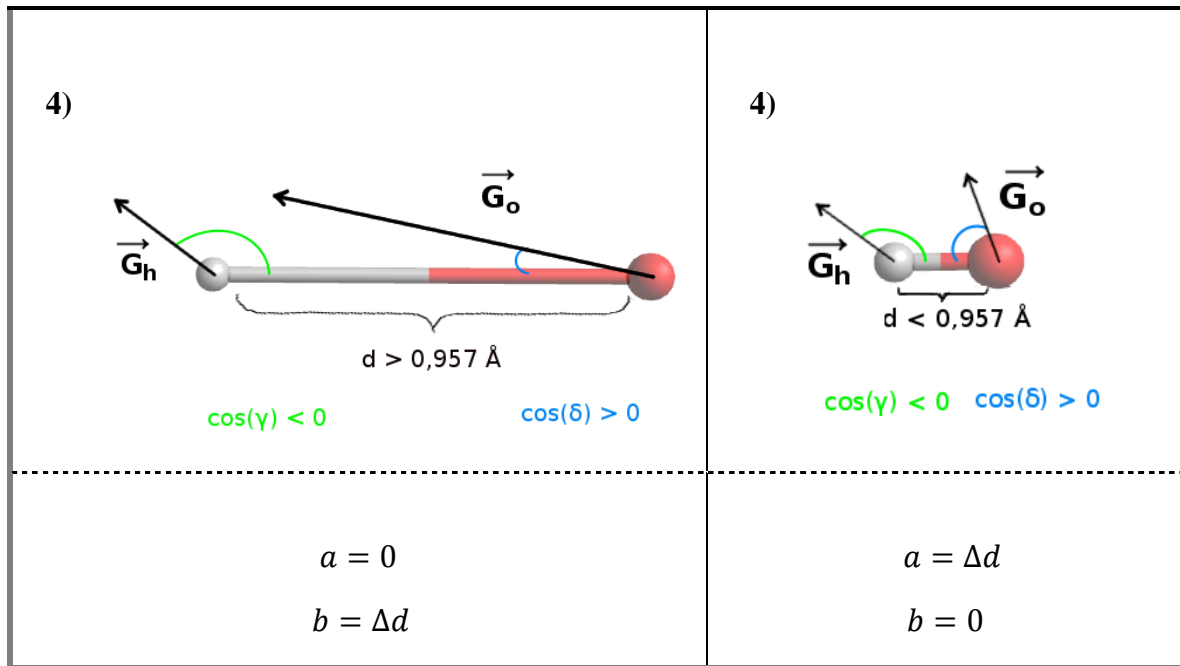


Abb. 13: Vier Fälle der Ausrichtung der Bewegungsvektoren  $\vec{G}_o$  und  $\vec{G}_h$  zu den Bindungsvektoren für Ausgleichsbewegungsvektoren aufeinander zu oder voneinander weg. Die Berechnung der anteiligen Bewegungen  $a$  und  $b$  für zu große (links) und zu kleine (rechts) O–H-Abstände wird gezeigt.



## 4. Der Aufbau einer Solvathülle mit Eiselementarzellen und ungeordneten Wasserzellen

---

Bevor die eigentliche Minimierung durchgeführt werden kann, müssen das zu untersuchende Molekül und die umgebenden Wassermoleküle in das Universe geladen und die benötigten Funktionen initialisiert werden. Es hat sich bei Konformationsanalysen als praktikabel erwiesen, zuerst die Solvathüllen für alle Konformationen unter Zuhilfenahme des „Parallel Python“ [60] auf einem Desktoprechner aufzubauen, diese zwischen zu speichern und in einem zweiten Schritt die rechenzeitaufwendigen Energieminimierungen auf dem CSC auszuführen. Im Folgenden wird der Solvathüllenaufbau beschrieben.

### 4.1 Der innere Bereich

Der bereits im MMTK vorhandene Programmteil *Solvation.py* enthält ein Modul zum Füllen eines vordefinierten periodischen Universe mit Wassermolekülen. Es wird zuerst die Anzahl an Wassermolekülen berechnet, die benötigt werden, um eine bestimmte Dichte in einem periodischen Universe zu erreichen. Nach dem Vergrößern des Universe um einen definierten Skalierungsfaktor wird die berechnete Anzahl an Wassermolekülen auf zufällig generierte Positionen verteilt. Die Orientierung der Wassermoleküle wird hingegen nicht variiert, sodass sich zwar eine gleichmäßige Verteilung ergibt, jedoch alle Wassermoleküle so ausgerichtet sind, wie sie in das Universe geladen wurden. Dadurch kommt es zu einer parallelen Ausrichtung aller Wassermoleküle im Universe. Da dies kein geeigneter Ausgangszustand für eine Minimierung ist, wurde von dem MMTK-Entwickler eine Funktion vorgesehen, mit der das Universe schrittweise wieder auf seine ursprüngliche Größe geschrumpft werden kann, wobei zwischen den einzelnen Schritten jeweils abwechselnd minimiert und integriert wird. Auf diese Weise kommen noch vor der eigentlichen Minimierung einige hundert Schritte Minimierung und Integration zusammen, was einen enormen Rechenaufwand bedeutet. Die Funktionen unter *Solvation.py* wurden daher nicht für Konformationsanalysen genutzt.

Allerdings eignen sich mit *Solvation.py* erhaltene Wassermolekülanordnungen gut als Ausgangspunkt für Bausteine, die zu einer Wasserumgebung um ein zu solvatisierendes Molekül herum zusammengesetzt werden können. Durch das Anlegen eines Files mit den Koordinaten dieser teilminimierten Wassermoleküle konnte der zeitaufwendige Schritt des Schrumpfens mit Minimierung und Integration umgangen werden.

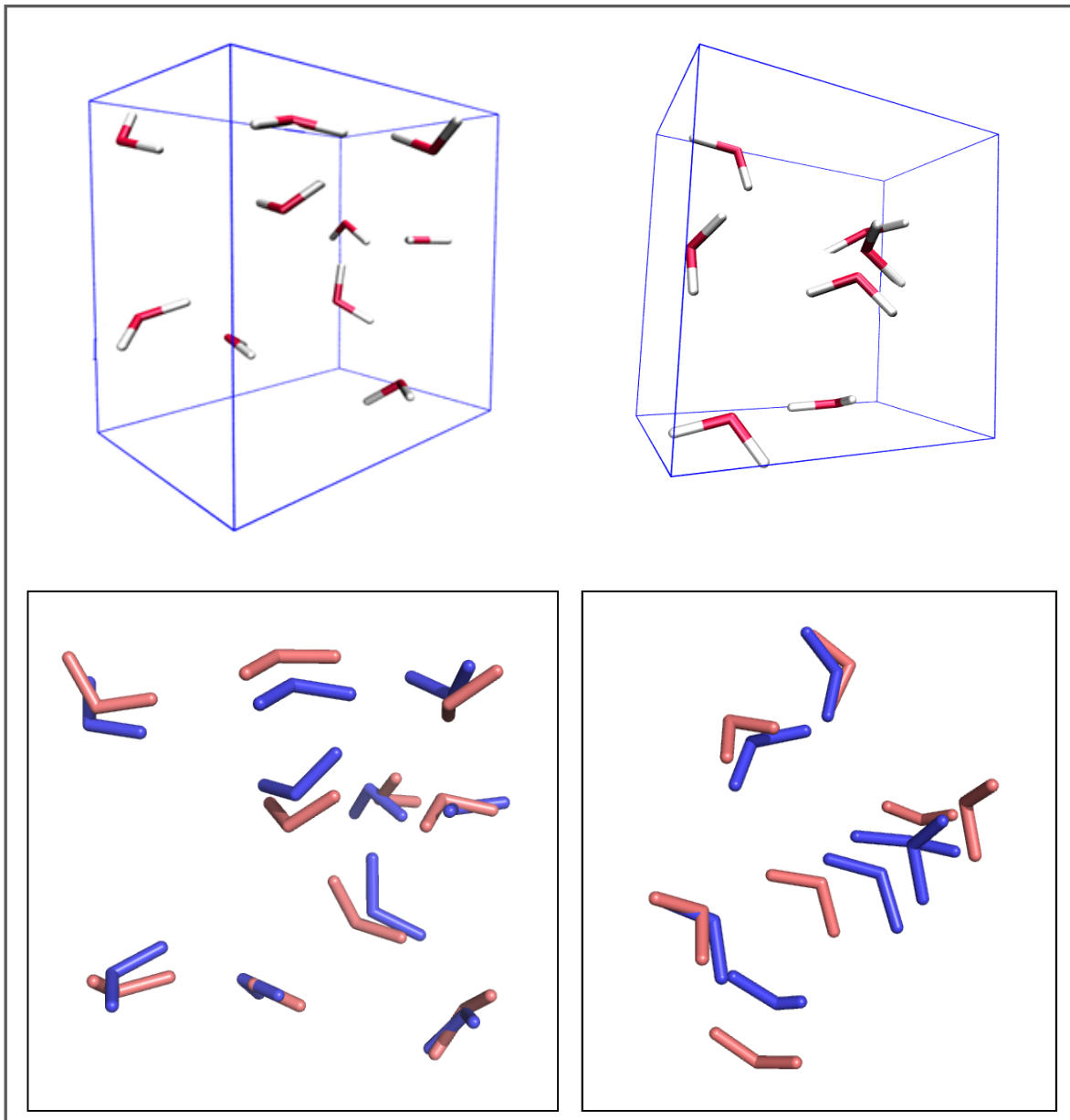


Abb. 14: links: zufällig generierte Wassermolekülanordnung in einem periodischen Universe mit der Größe der  $Cmc2_1$ -Eiselementarzelle nach den automatisch mit *Solvation.py* abwechselnd ausgeführten Minimierungen und Integrationen (blau) und nach anschließender nochmaliger Minimierung (rot);  
rechts: manuell erstellte Wassermolekülanordnung in einem periodischen Universe mit den Kantenlängen der  $Cmc2_1$ -Eiselementarzelle vor (blau) und nach einer Minimierung (rot).

Zur Erstellung der „Bausteine“ wurde ein isoliertes Wassermolekül in ein orthorhombisches periodisches Universe hineingeladen, um das Universe zu initialisieren. Dieses Wassermolekül wurde dann mit Hilfe des Solvationsmoduls in *Solvation.py* von weiteren, zufällig gesetzten Wassermolekülen umgeben. Die Universegröße wurde hierbei auf die theoretischen Zelldimensionen [61] einer Eiselementarzelle in der Raumgruppe  $Cmc2_1$  (siehe Kapitel 4.2) angepasst. Es ergab sich mit der Dichte von  $1 \text{ g/cm}^3$  eine

zufällig generierte Wasserstruktur mit insgesamt zehn Molekülen, die noch nicht bis zum Energieminimum minimiert wurde (Abb. 14, links).

Kommt ein zu solvatisierendes Molekül zu diesen zehn Wassermolekülen hinzu, ist eine höhere Dichte die Folge. Zum Ausgleich wurde die Anzahl der Wassermoleküle in den ungeordneten Zellen durch manuelles Entfernen dreier Moleküle pro Zelle auf sieben verkleinert (Abb. 14, rechts). Dabei wurden bewusst Lücken erzeugt und die Moleküle so gruppiert, dass es mit einem solvatisierten Molekül zu Bereichen „höherer Dichte“ und „niedriger Dichte“ kommt. Dies war notwendig, da (wie aus Abb. 14 ersichtlich) die mit dem Modul *Solvation.py* erhaltene Wassermolekülanordnung (Abb. 14 links) zwar noch nicht vollständig minimiert ist, sich jedoch die Positionen der Wassermoleküle bei weiterer Minimierung bis zur Konvergenz kaum verändern. Es kommt lediglich zu günstigeren Ausrichtungen an Ort und Stelle. Die manuell erzeugten Wasserpositionen in einer Zelle wurden empirisch aus MOMO-Energieminimierungen mit und ohne Wasserstoffbrückenpotential an zufälligen Wassermolekülanordnungen und an Eisstrukturen verschiedener Ausdehnungen abgeleitet. Zu Vergleichszwecken durchgeführte Gaussian-Optimierungen und AMBER11-Minimierungen an Wassermolekülanordnungen und Eisstrukturen (mit bis zu 64 Wassermolekülen) rundeten das Bild ab.

Durch die Erzeugung punktuell abstoßender Wechselwirkungen zwischen den Wassermolekülen wird eine Umgruppierung während der ersten Minimierungsschritte herbeigeführt und einem starren Wasserstoffbrückennetzwerk der Wassermoleküle untereinander im Nahbereich des solvatisierten Moleküls entgegengewirkt. Es kommt damit zu realistischen Wechselwirkungen mit dem solvatisierten Molekül mit der Bildung von Wasserstoffbrücken.

Die auf diese Weise erzeugte einzelne Wasserzelle mit ungeordneten Wassermolekülen kann durch Vervielfältigung und Aneinanderreihung der Kopien zum Füllen des Nahbereichs um ein solvatisiertes Molekül genutzt werden.

## 4.2 Der äußere Bereich

Für die weiter entfernten Wassermoleküle sind im Gegensatz zum Nahbereich eine möglichst hohe Ordnung und ein möglichst stabiles Wasserstoffbrückennetzwerk vorteilhaft. Die Wassermoleküle dort sollen nicht an direkten Wechselwirkungen mit dem solvatisierten Molekül teilnehmen. Sie sollen die inneren Wassermoleküle bei deren Umorientierungen zusammenhalten und ein Abwandern verhindern. Nichtsdestotrotz soll während einer Minimierung der Austausch von Wassermolekülen zwischen Nah- und Fernbereich möglich sein. Doch je weniger Bewegungen es in dem Fernbereich gibt, desto geringer fallen die in Kapitel 3 beschriebenen Ausgleichsbewegungen aus, wodurch die Wahrscheinlichkeit sinkt, dass die Suche nach einem Minimum durch die Ausgleichsbewegungen gestört wird und lange Rechenzeiten resultieren. Die genannten

Anforderungen flossen in die Entwicklung des im Folgenden beschriebenen Fernbereiches, bestehend aus Eiselementarzellen, ein.

Die geordnete Form von Eis  $I_h$  – Eis  $XI$  – liegt in der Raumgruppe  $Cmc2_1$  vor [62]. Für den äußeren Bereich wurde die orthorhombische Eiselementarzelle in der Raumgruppe  $Cmc2_1$  als Baustein gewählt und nach den theoretischen Zellparametern von T. K. Hirsch und L. Ojamäe [61] aufgebaut. Ein wichtiger Grund für die Auswahl dieser Eismodifikation aus den 16 theoretischen Modifikationen von T. K. Hirsch und L. Ojamäe war die Tatsache, dass hier die Wassermoleküle protonengeordnet vorliegen. Hinzu kommt, dass die Struktur in der Raumgruppe  $Cmc2_1$  als die stabilste berechnet wurde. Die von T. Iitaka [63] berechneten Kohn-Sham-Energien bestätigen dabei den Trend der berechneten Energien von T. K. Hirsch und L. Ojamäe [61].

Im Vergleich mit den anderen drei protonengeordneten Eisstrukturen Eis  $II$ , Eis  $VIII$  und Eis  $IX$  schied Eis  $VIII$  wegen seiner hohen Dichte von  $1,628 \text{ g/cm}^3$  aus<sup>3</sup>. Eis  $II$  ist aufgrund seines rhomboedrischen Kristallsystems und wegen der vergleichsweise recht großen Anzahl von zwölf Molekülen in der Elementarzelle als ungeeignet anzusehen: Die große Anzahl von Wassermolekülen würde eine zu große Ausdehnung des äußeren Bereichs bedeuten. Da bei der rhomboedrischen Elementarzelle für die Winkel  $\alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$  gilt, würden außerdem beim Aufbau um die rechtwinklige orthorhombische *bounding-box*, welche um das solvatisierte Molekül als Grundgerüst konstruiert wird, und bei der vollständigen Ausfüllung eines rechtwinkligen periodischen Universe Ungereimtheiten auftreten. Eis  $IX$  wäre mit dem tetragonalen Kristallsystem ( $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ ) zwar geeignet, allerdings würde auch hier die Anzahl von zwölf Molekülen in der Elementarzelle zu einer großen, nicht notwendigen, Anzahl an Wassermolekülen führen. Auch die etwas höhere Dichte wäre nicht ideal. Die betreffenden Daten sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Eis	Raumgruppe	Kristallsystem	Moleküle in Elementarzelle	Dichte [g/cm <sup>3</sup> ]	Referenz
$II$	$R\bar{3}$	rhomboedrisch	12	1,170	[64]
$VIII$	$I4_1/amd$	tetragonal	8	1,628	[65]
$IX$	$P4_12_12$	tetragonal	12	1,194	[66]
$XI$	$Cmc2_1$	orthorhombisch	8	0,934	[67]

Tabelle 2: Kristallographische Daten und Dichten der vier protonengeordneten Eisstrukturen.

Bei der Eis- $XI$ -Struktur ist aufgrund der parallelen, in dieselbe Richtung orientierten, O–H-Bindungen ein Dipolmoment vorhanden. In Abbildung 15, in der eine Eisstruktur bestehend aus vier Elementarzellen aus zwei Blickrichtungen gezeigt ist, sind die nach unten orientierten O–H-Bindungen entlang der in blau eingezeichneten  $c$ -Achse zu erkennen. Das Dipolmoment entlang dieser Achse beträgt für eine Elementarzelle 4,27 D.

<sup>3</sup> Hierbei handelt es sich um eine Modifikation, die bei Drücken ab 2,4 GPa entsteht. Werden Drücke größer als 8 GPa ausgeübt, erhöht sich die Dichte auf mehr als  $1,8 \text{ g/cm}^3$ .

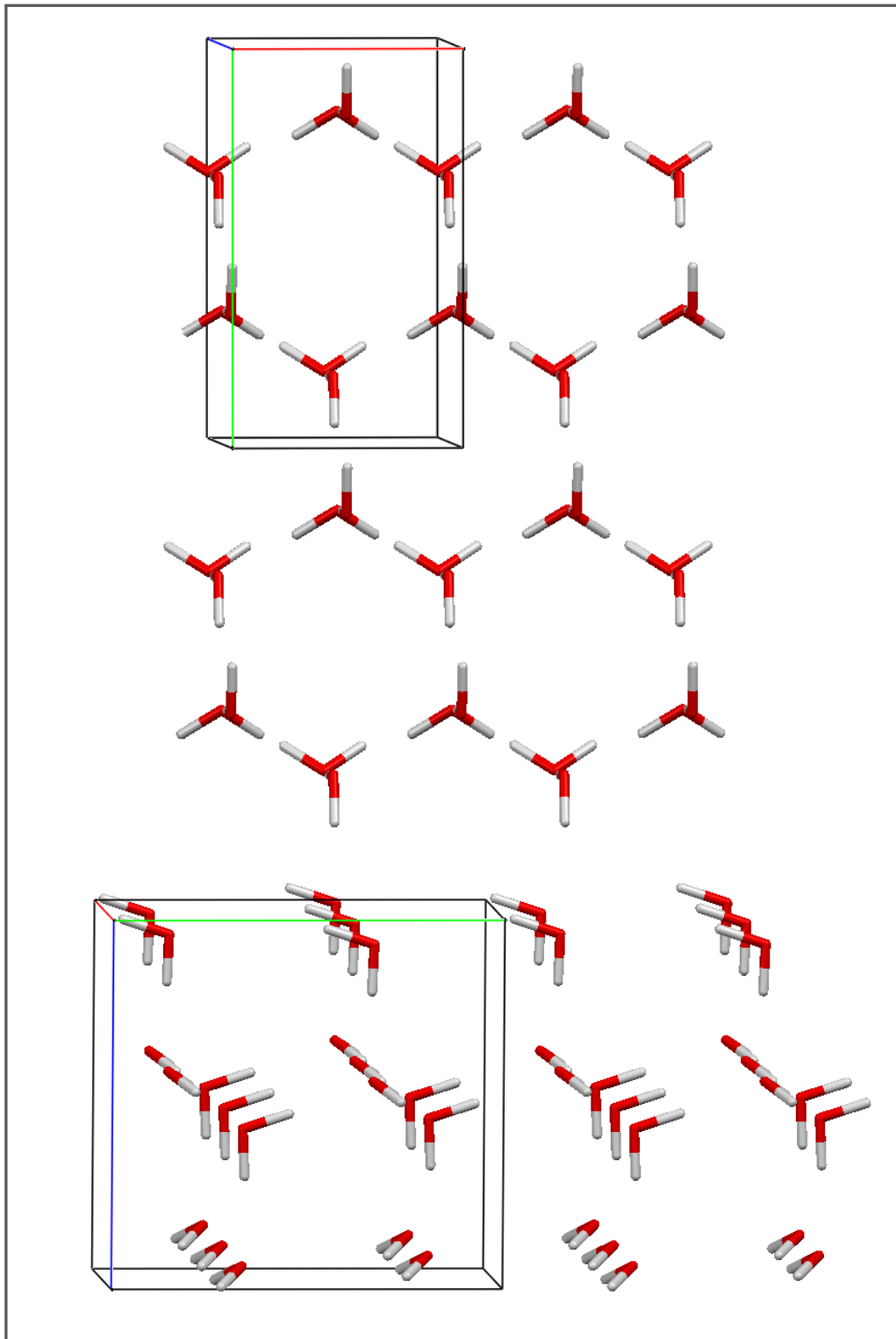


Abb. 15:  $Cmc2_1$ -Eisstruktur nach den Zellparametern von T. K. Hirsch und L. Ojamäe [61]; oben: Blickrichtung entlang der  $c$ -Achse (blau); unten: Blickrichtung entlang der  $a$ -Achse (rot). Die  $b$ -Achse ist grün eingezeichnet.

In der Praxis zeigte sich, dass bei der Verwendung der  $Cmc2_1$ -Elementarzellen für den äußeren Bereich der Solvathülle das Dipolmoment keine negativen Auswirkungen auf den

inneren Bereich der Solvathülle hat. Es konnte keine systematische Ausrichtung der ungeordneten Wassermoleküle im inneren Bereich oder Verfälschungen von Wechselwirkungen von Wassermolekülen mit einem solvatisierten Molekül beobachtet werden. Dies liegt daran, dass sich durch den begrenzenden *Cutoff* von 6.5 Å die nichtbindenden Wechselwirkungen nur von zwei aufeinanderfolgenden Reihen gleich orientierter Wassermoleküle verstärken können. Schwache, jedoch in der Summe relevante, Beiträge von weiter entfernten gleich orientierten Reihen sind aufgrund der Programmstruktur von MOMO nicht möglich. Stattdessen nimmt der innere Bereich während einer Minimierung Einfluss auf die Eisstruktur im äußeren Bereich. Durch den gezielten Einbau abstoßender Wechselwirkungen in den Zellen für den inneren Bereich und durch die häufig auftretenden abstoßenden Wechselwirkungen von Wassermolekülen auf der Oberfläche eines solvatisierten Moleküls kann bei Minimierungen immer wieder eine starke Umorientierung im inneren Bereich um das starr gehaltene solvatisierte Molekül herum beobachtet werden. Dabei werden überschüssige Wassermoleküle aus dem inneren Bereich in den äußeren Bereich „gedrückt“ und die Eisstruktur langsam aufgebrochen. Die bewusst zur Bildung von Wasserstoffbrücken und möglichst realen Wechselwirkungen erzeugte punktuell etwas zu hohe Dichte um das solvatisierte Molekül wird gleichzeitig ausgeglichen. Dies beginnt häufig mit einer synchronen Verschiebung ganzer Schichten entlang der *b*-Achse. Auch wenn dabei im äußeren Bereich viele kleine Bewegungen induziert werden, werden diese durch das Abbruchkriterium der Minimierung (vgl. Kapitel 2.3.8) nicht erfasst, da sich das Abbruchkriterium nur auf das solvatisierte Molekül bezieht. Nur wenn bei dem solvatisierten Molekül selbst mehrere Minimierungsschritte hintereinander keine signifikanten Konformationsänderungen mehr auftreten, wird die Minimierung abgebrochen. Bei den meisten Minimierungen geschieht das noch bevor die Eisstruktur im äußeren Bereich vollständig zerstört ist.

In den folgenden Abbildungen ist eine Solvathülle mit Molekül vor (Abb. 16a) und nach (Abb. 16b) einer Minimierung gezeigt. Der äußere Fernbereich, bestehend aus Eiselementarzellen, ist rot, der innere Nahbereich grün und das solvatisierte Molekül blau (vor der Minimierung) und magentafarben (nach der Minimierung) dargestellt. In Abbildung 16b ist zu erkennen, dass im äußeren Bereich nach der Minimierung zwar nicht mehr die vollständig intakte Eisstruktur vorliegt, jedoch durch eine synchrone Verschiebung gleichorientierter Wassermoleküle immer noch eine kompakt geordnete Struktur vorhanden ist. Die Wassermoleküle des inneren Bereiches verteilen sich während der Minimierung gleichmäßig, was zu seiner Ausdehnung führt. Die Eisstruktur leistet dadurch eine Art Pufferfunktion für Wassermoleküle, die durch Abstoßung aus dem inneren Bereich gedrückt werden.

Bei längeren Minimierungen kann es zu einer vollständigen Zerstörung der Eisstruktur im äußeren Bereich kommen. Dies ist vor allem dann der Fall, wenn sich die Konformation des solvatisierten Moleküls während der Minimierung stark verändert und / oder Wassermoleküle aus dem Eiselementarzellen-Bereich dem Nahbereich zugeordnet werden. In Abbildung 16c ist ein solcher Fall gezeigt. Es werden dann zwar mehr Minimizerschritte für die Minimierung benötigt – Konvergenz wird aber trotzdem erreicht.



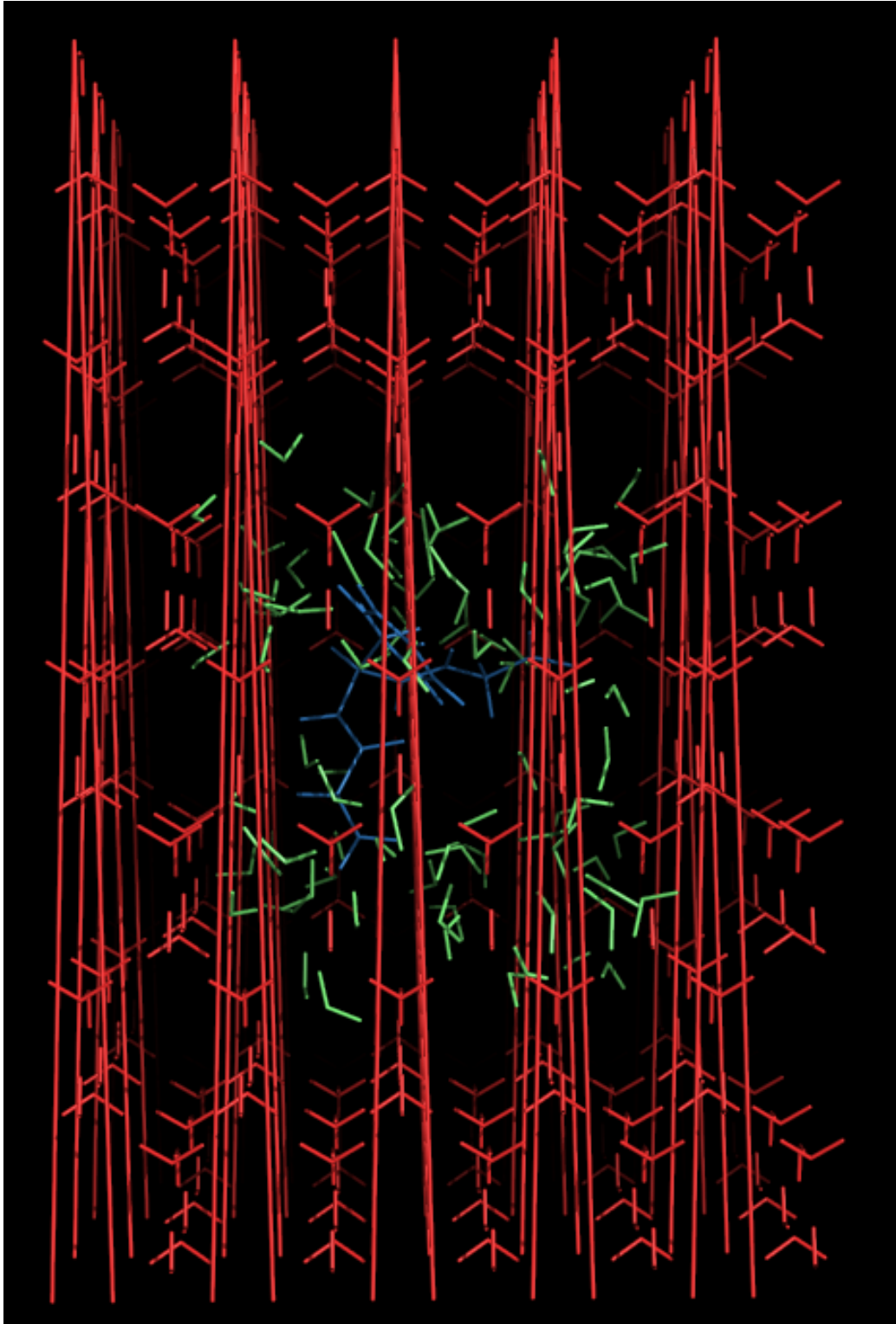


Abb. 16a: Universe mit solvatisiertem Molekül (ein geschütztes Dipeptid; blau) vor der Minimierung:  $Cmc2_1$ -Eiselementarzellen des äußeren Bereiches (rot) und ungeordnete Wasserzellen des inneren Bereichs (grün), die durch sequentielle Rotation (siehe Kapitel 4.3) in zusätzliche Unordnung gebracht wurden. Durch das periodische Universe werden Atome einiger Wassermoleküle auf die gegenüberliegende Seite des Universe gebracht, was zu den vertikalen Streifen führt. Die Blickrichtung ist entlang der  $c$ -Achse der Eiselementarzellen.

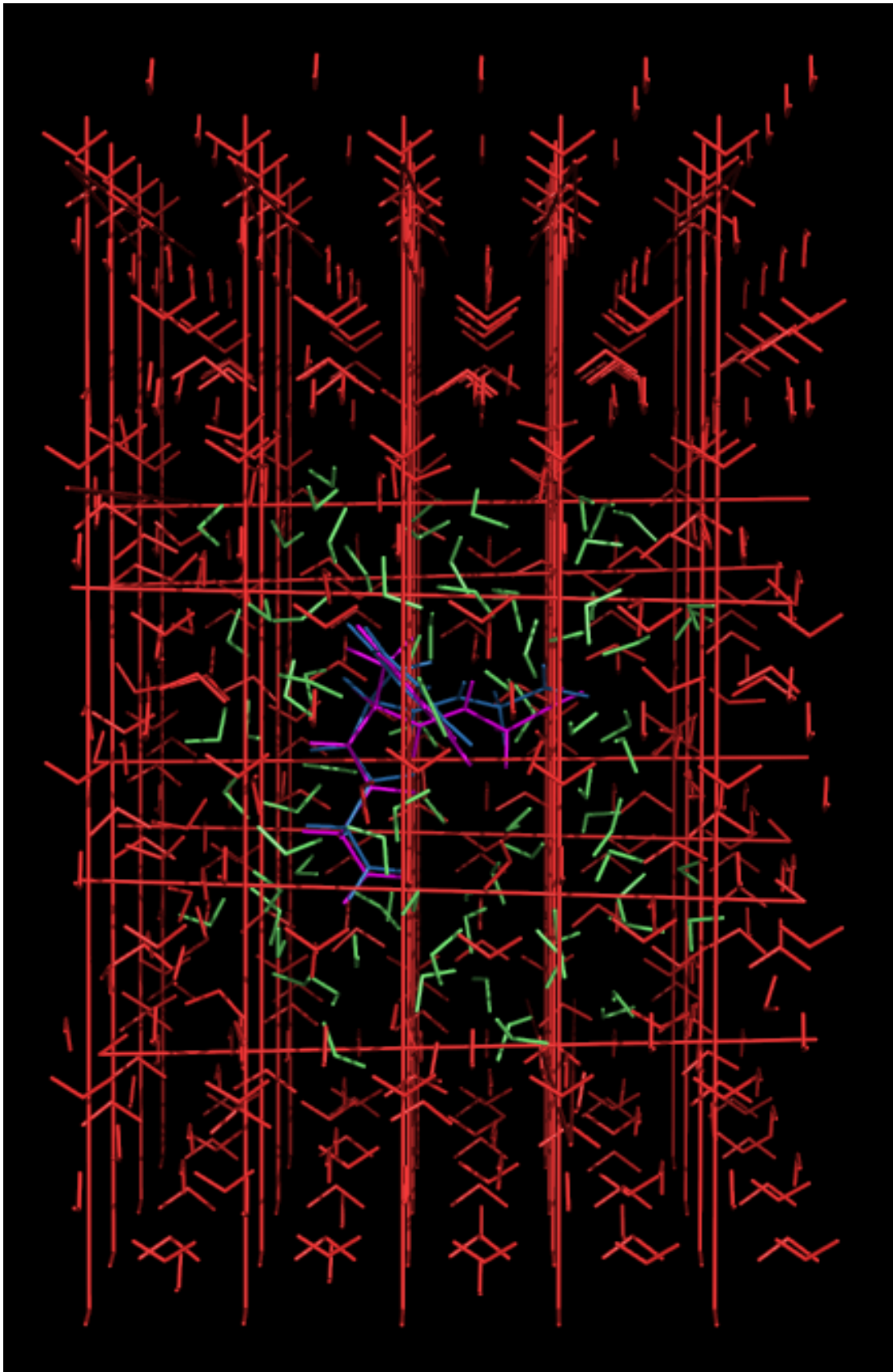


Abb. 16b: Das Universe von 16a nach der Minimierung. Eine gleichmäßige Verteilung und leichte Ausdehnung der ungeordneten Wasserzellen (grün) ist zu beobachten. Die Ordnung der Eisstruktur des äußeren Bereiches ist noch zu erkennen (rot). Das solvatisierte Peptid ist vor der Minimierung blau und nach der Minimierung magentafarben dargestellt.



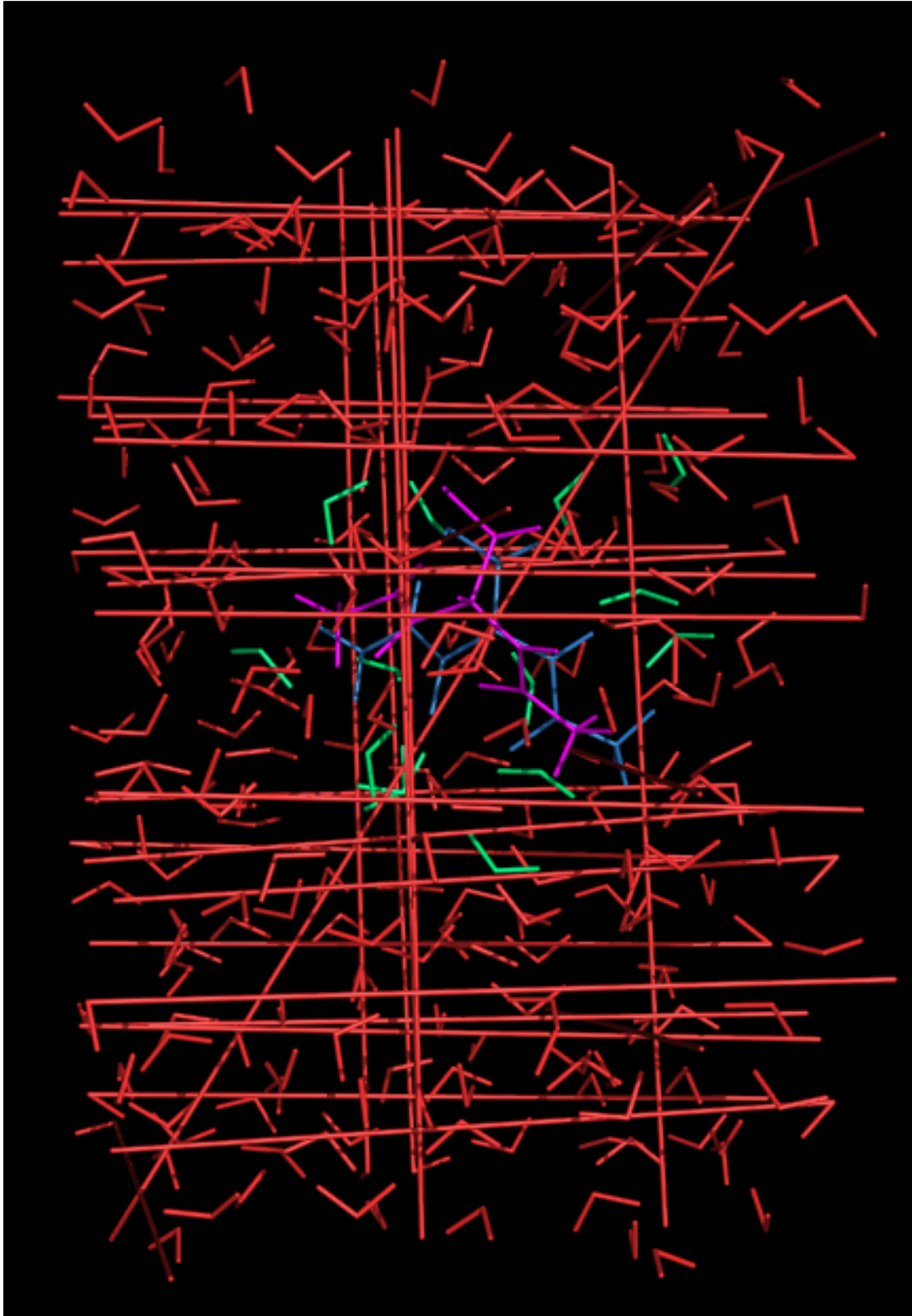


Abb. 16c: Ein Universe, bei dem Wassermoleküle von Eiselementarzellen (rot) während der Minimierung dem Nahbereich zugeordnet wurden. Nach mehr als 150 Minimizerschritten ist die Eisstruktur nicht mehr zu erkennen. Die Wassermoleküle aus ungeordneten Zellen (grün) vermischen sich mit den Wassermolekülen aus Eiselementarzellen. Das solvatisierte Peptid ist vor der Minimierung blau und nach der Minimierung magentafarben dargestellt; es ist eine deutliche Konformationsänderung zu erkennen.

Die beschriebene „Pufferfunktion“ einer Eisstruktur wird erwartungsgemäß dann am größten sein, wenn die Struktur sehr stabil ist. Das zur Berechnung der nichtbindenden Wechselwirkungen im äußeren Bereich verwendete Potential (vgl. Kapitel 2.3.7) ist so parametrisiert, dass der günstigste Sauerstoff–Sauerstoff-Abstand (O–O-Abstand) nahezu dem O–O-Abstand zweier Wassermoleküle entspricht, der durchschnittlich für eine Wasserstoffbrücke zwischen zwei Wassermolekülen in Wasser vorliegt. Dies kann der Energieauftragung des Potentials in Abhängigkeit vom O–O-Abstand eines idealen Wasserdimers in der Originalliteratur von W. L. Jorgensen entnommen werden [49]. Derselben Literaturstelle entstammen auch die hier verwendeten Parameter. Der Vergleich mit den Ergebnissen von Modig *et al.* zeigt, dass das Minimum der Energie dieser Auftragung bei etwa 2,8 Å auch nach neueren experimentellen Erkenntnissen die Realität recht gut widerspiegelt [68]. Der experimentelle H··O-Abstand einer Wasserstoffbrücke wird hier mit geringer Unsicherheit auf 1,87 Å bestimmt, was mit einer O–H-Bindungslänge von knapp 0,975 Å zu einem O–O-Abstand von ca. 2,8 Å führt. Damit sind protonengeordnete Eiselementarzellen mit  $Cmc2_1$ -Struktur, einer Dichte von  $0,934 \text{ g/cm}^3$  und einem sehr ähnlichen O–O-Abstand von durchschnittlich 2,75 Å gut für den Aufbau des äußeren Bereichs geeignet. Nicht nur der O–O-Abstand spricht für die  $Cmc2_1$ -Struktur, auch die Dichte harmonisiert gut mit aus dem inneren Bereich nach außen gedrückten Wassermolekülen.

### 4.3 Der automatisierte Aufbau von Solvathüllen für Einzelkonformationen einer Konformationsanalyse

Eine Solvathülle sollte mindestens so viele Wassermoleküle enthalten, wie benötigt werden, um ein solvatisiertes Molekül innerhalb des *Cutoffs* von 6,5 Å in alle Raumrichtungen mit Wassermolekülen zu umgeben. Hinzu kommt ein Bereich, der von den Wechselwirkungen mit dem solvatisierten Molekül nicht beeinflusst werden darf, also weiter entfernt liegt als 6,5 Å. Dieser Bereich ist notwendig, um den Wechselwirkungen mit dem solvatisierten Molekül ein Gegengewicht entgegenzustellen. Dieser Bereich stellt als eine Art Kontinuum sicher, dass die realen Eigenschaften der Wasserhülle im Laufe der Minimierung erhalten bleiben und in einem periodischen Universe keine Eigenwechselwirkungen stattfinden. Die einzelnen Beiträge der nichtbindenden Wechselwirkungen werden für jedes Atom des Moleküls einzeln berechnet und in Folge dessen muss im Umkreis von 6,5 Å eines jeden Atoms dieses Moleküls ein Wassermolekül zu finden sein. Die Solvathülle muss, sofern sie passgenau ist und rechenzeiteffizient nur die Minimalzahl an benötigten Wassermolekülen enthalten soll, für jede Konformation des solvatisierten Moleküls „maßgeschneidert“ sein. Natürlich könnte man für jede Konformation dieselbe kugelförmige oder kubische Solvathülle nutzen, die sich ergibt, wenn man die maximal mögliche Ausdehnung eines solvatisierten Moleküls in jede Raumrichtung plus 6,5 Å als Konstruktionsbasis verwendet. Dann müsste bei gewinkelten, weniger stark raumfüllenden

Konformationen eine große Menge an nicht notwendigen Wassermolekülen mitgerechnet werden.

Um ein „maßgeschneidertes“ Universe für jede Konformation einer Konformationsanalyse zu erhalten, wurde ein Verfahren entwickelt, das programmtechnisch mit wenigen *if*-Abfragen und Sonderfällen auskommt. Eine berechnete Anzahl an benötigten Wasserboxen kann direkt in *for*-Schleifen genutzt werden.

Alle in ein Universe hineingeladenen Zellen befinden sich immer zuerst am Mittelpunkt des Universe. Anschließend müssen sie durch Vektoroperationen an den Ort im Universe bewegt werden, an dem sie sich als Ausgangspunkt für die Minimierung befinden sollen. Die Eiselementarzellen sowie die Zellen mit ungeordneten Wassermolekülen werden als Ganzes in das Universe hineingeladen und können daher auch als Ganzes bewegt werden. Bei acht Wassermolekülen in einer Eiselementarzelle verringert sich der Rechenzeitaufwand damit um genau  $\frac{7}{8}$  des Rechenzeitaufwandes, der benötigt würde, um jedes Wassermolekül einzeln an seine Position im Universe zu bewegen.

Es müssen genau so viele Zellen in das Universe hineingeladen werden, wie für den Aufbau der Solvathülle benötigt werden. Definiert man dazu mithilfe der MMTK-Funktion „*Bounding-Box*“, die zwei gegenüberliegende Eckpunkte eines Quaders ausgibt, Boxen um ein solvatisiertes Molekül sowie um die Wasserzellen des inneren und äußeren Bereiches herum, können anschließend die Kantenlängen dieser Boxen so vergrößert werden, dass Molekül- und Wasserbox für jede Kante einen ganzzahligen Teiler ( $a$ ,  $b$ ,  $c$ ) haben. Damit lässt sich über die ermittelten Kantenverhältnisse auf die Anzahl der benötigten Wasserzellen schließen. Dies ist möglich, da definitionsgemäß die Zellen des inneren Bereiches die Box um das Molekül ausfüllen und die Zellen des äußeren Bereiches diese einhüllen. Mit den drei Kantenverhältnissen  $a$ ,  $b$ , und  $c$  ergibt sich:

$$N_{\text{Wasserzellen innen}} = a \cdot b \cdot c$$

$$N_{\text{Eiselementarzellen außen}} = (a+2) \cdot (b+2) \cdot (c+2) - N_{\text{Wasserzellen innen}} \quad (3)$$

$N_{\text{Wasserzellen innen}}$	Anzahl der Wasserzellen für den inneren Bereich
$N_{\text{Eiselementarzellen außen}}$	Anzahl der Wasserzellen für den äußeren Bereich
$a, b, c$	Kantenverhältnisse

Für den Aufbau einer Hülle aus Eiselementarzellen um die Molekülbox herum und die Füllung der Molekülbox mit ungeordneten Wasserzellen ist es notwendig, die Kanten und Eckpunkte der Boxen von Molekül- und Wasserzellen eindeutig zu benennen. Die in Abbildung 17 gezeigten Benennungen finden sich auch in dem Programmcode wieder.

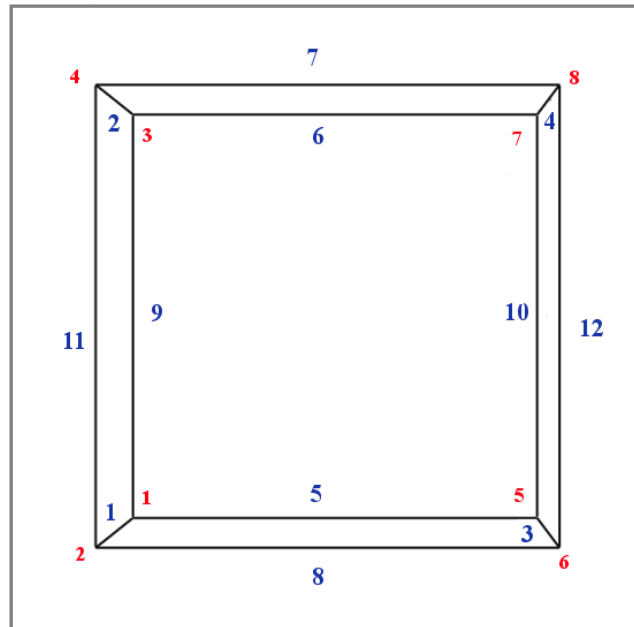


Abb. 17: Benennung der Punkte (rot) und Kanten bzw. Distanzvektoren (blau) an Molekül- und Wasser-*bounding-box*.

Als erster Schritt wird durch Addition des Distanzvektors der Kante 7 (Abb. 17) einer Wasserbox zu Punkt 8 der Molekülbox und nachfolgender Vektoradditionen der übrigen Wasserboxkanten die erste Wasserbox verschoben. Mit der Berechnung des Mittelpunkts dieser ersten Wasserbox wird der Ausgangspunkt P für weitere Vektoroperationen festgelegt (Abb. 18).

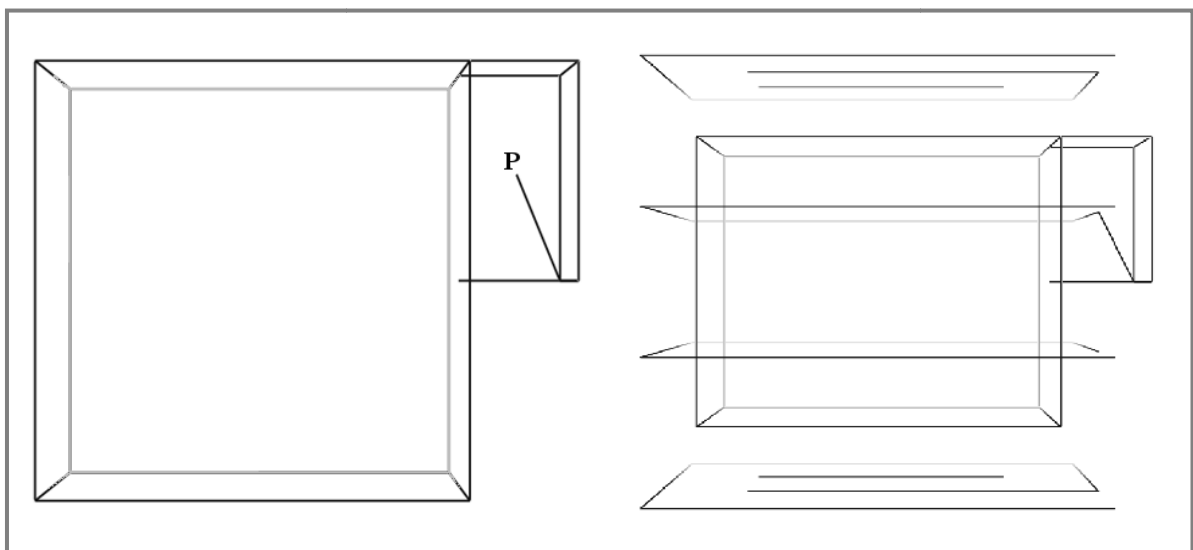


Abb. 18: links: Kleinere *bounding-box* einer Eiselementarzelle an der größeren Molekül-*bounding-box* zur Festlegung des Startpunktes P.  
rechts: Summierte Teilvektoren, die zu den Positionen der Eiselementarzellen führen und die Molekülbox umrunden.

Von Punkt P ausgehend werden durch Vektoradditionen von Wasserboxkanten systematisch verschobene Punkte erhalten, die als Ankerpunkte für Eiselementarzellen dienen. Bewegungsvektoren vom Mittelpunkt des Universe, an dem sich die Eiselementarzellen nach dem Hineinladen in das Universe befinden, zu dem jeweiligen Ankerpunkt ermöglichen eine Bewegung. Es werden sukzessiv alle Flächen der Molekülbox mit Eiselementarzellen abgedeckt. Ist die Molekülbox einmal umrundet, wird der Startpunkt um einen vertikalen Wasserbox-Kantenvektor verschoben und dieselben *for*-Schleifen können erneut zum Umrunden genutzt werden. Die Füllung des inneren Bereiches erfolgt auf ähnliche Weise. Aus Abbildung 18 (rechts) ist dieses Vorgehen ersichtlich. Hier ist gezeigt, wie die Summation aller Teilvektoren zu einer mehrfachen Umrundung einer Molekülbox führt. Das Aussehen einer Solvathülle nach der ersten Umrundung ist in Abbildung 19 gezeigt.

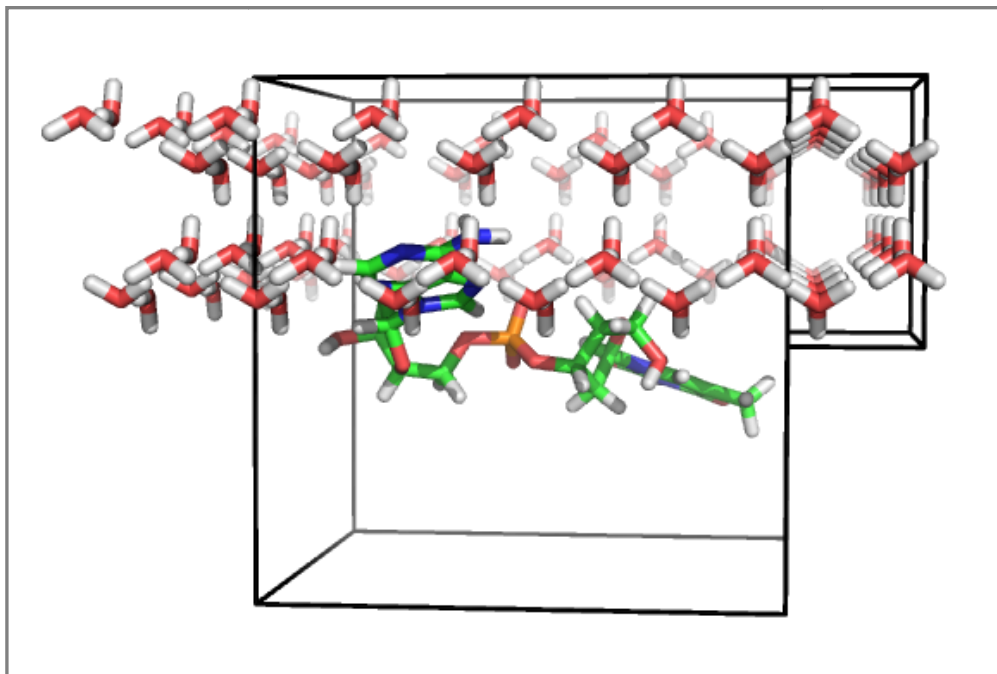


Abb. 19: Ein zu solvatisierendes Molekül und dessen Molekülbox nach erstmaliger Umrundung mit Eiselementarzellen.

Der Aufbau kann für mehrere Tausend Konformationen innerhalb kurzer Zeit mit einem aktuellen Desktoprechner erfolgen. Die so für die Minimierung bereiten Universe werden abschließend speicherplatzfreundlich binär gespeichert und komprimiert.

Die in Abbildung 19 gezeigten, summierten Teilvektoren können als Rotationsachsen genutzt werden, um einen zusätzlichen Grad an Unordnung in der Solvathülle zu erzeugen. Es wurde die Möglichkeit für den Benutzer vorgesehen, entweder die Zellen im inneren Bereich, im äußeren Bereich oder in beiden Bereichen mit einer wählbaren Schrittweite sequentiell zu rotieren. Für den inneren Bereich ist dies empfehlenswert, wenn eine gleichmäßige Verteilung der Wassermoleküle erreicht werden soll. Rotationen im äußeren Bereich führen durch die Spiegelung am Rand des periodischen Universe zu

Ansammlungen mit dicht beieinander liegenden Wassermolekülen und zu Leerstellen. So kann bei Bedarf im äußeren Bereich ein ähnliches Verhalten wie im inneren Bereich provoziert werden.

Die Standardschrittweite der Rotationen pro Zelle ist auf  $10^\circ$  eingestellt, sodass die erste Zelle um  $10^\circ$  rotiert wird, die zweite um  $20^\circ$ , die nächste um  $30^\circ$  usw.; diese Schrittweite hat sich gut bewährt. Abbildung 20 zeigt ein Universe, bei dem die Wasserzellen in beiden Bereichen rotiert wurden.

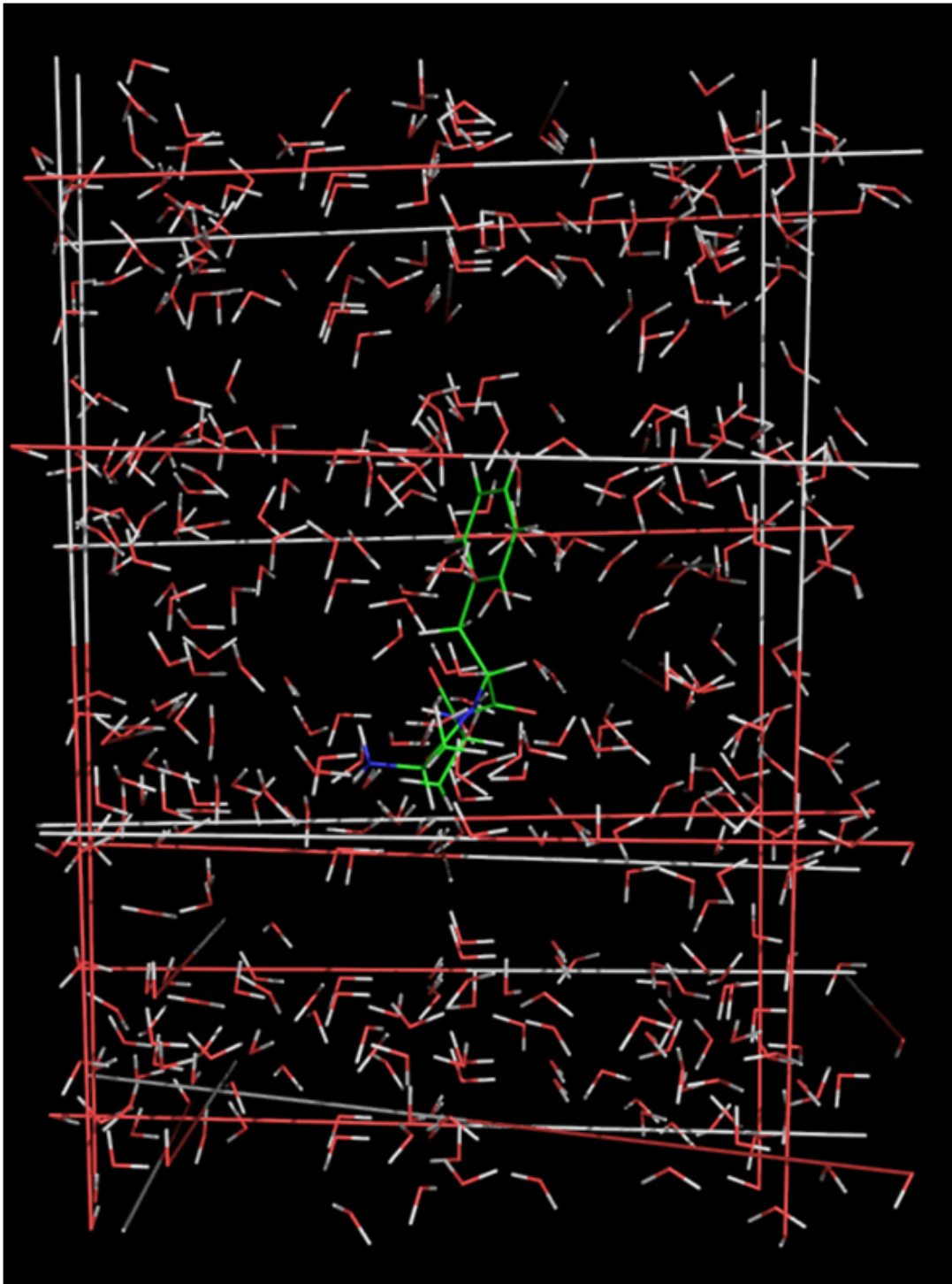


Abb. 20: Eine Solvathülle vor der Minimierung, bei der die Zellen im inneren und äußeren Bereich rotiert wurden. Das solvatisierte Molekül, um welches diese Solvathülle aufgebaut wurde, ist Gly-Phe-Gly.



#### 4.4 Die Solvathülle für kleine Moleküle

Der beschriebene Solvathüllenaufbau kann nur für Moleküle erfolgen, deren *bounding-box* eine gewisse Größe nicht unterschreitet. Bei kleinen Molekülen fällt die Vergrößerung ihrer *bounding-box* zur Bestimmung des kleinsten gemeinsamen Vielfachen (in diesem Fall wäre das Vielfache für alle drei Kanten eins) sehr stark aus. Dies würde dazu führen, dass ein kleines Molekül in einer unverhältnismäßig großen Solvathülle gerechnet wird. Tatsächlich wäre ein kleines Molekül, wie beispielsweise Aceton, von 26 Eiselementarzellen umgeben; die ungeordnete Zelle im inneren Bereich ist dabei nicht mitgerechnet. Hinzu kommt, dass mit einer solchen Wasserhülle nicht alle drei Dimensionen zufriedenstellend abgedeckt würden. In Abbildung 21 ist die in braun dargestellte Molekülbox von 26 grau dargestellten Eiselementarzellen umgeben. Zu erkennen ist, dass die Molekülbox nicht mit derselben Ausdehnung in alle Raumrichtungen von Wassermolekülen umgeben wird. Trotz der hohen Anzahl von 26·8 Wassermolekülen ist die Ausdehnung der Solvathülle in Richtung der rot eingezeichneten kurzen *a*-Achse der Eiselementarzellen zu gering.

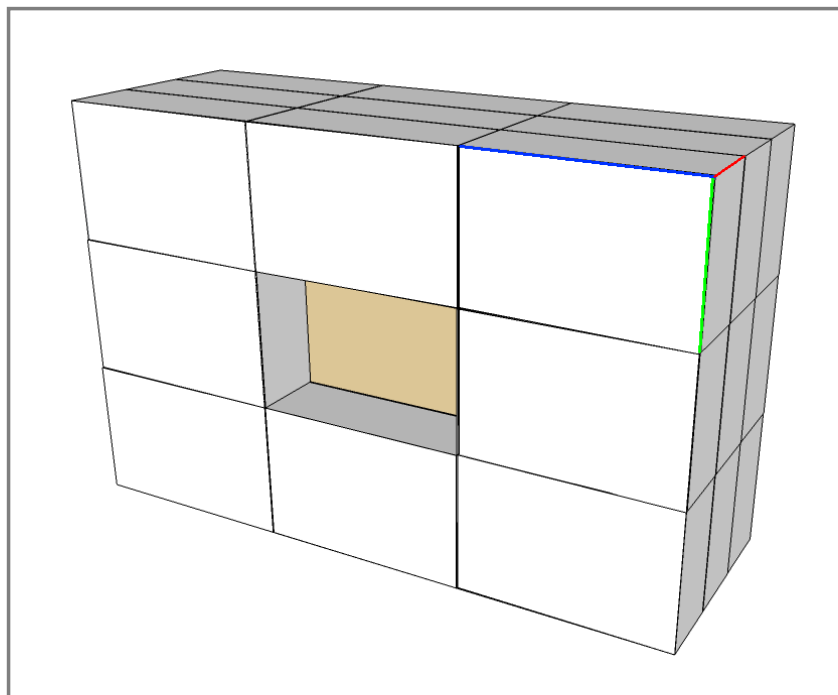


Abb. 21: Räumlicher Aufbau einer mit dem Algorithmus für größere Moleküle aufgebauten Solvathülle um eine *bounding-box* eines kleinen Moleküls (braun) bestehend aus 26 Eiselementarzellen (grau) und einer am Ort der braunen *bounding-box* befindlichen ungeordneten Zelle.

Für eine bessere Raumaufteilung der Wasserboxen wird bei kleinen Molekülen oder stark gewinkelten Konformationen größerer Moleküle eine Solvathülle bestehend aus 11 Wasserzellen mit ungeordneten Wassermolekülen erstellt. Die standardisierte und für alle als klein klassifizierten Moleküle geltende räumliche Anordnung der 11 Wasserboxen ist in Abbildung 22 gezeigt. Dafür werden nur ungeordnete Wasserzellen verwendet.

Die Ausdehnung der Solvathülle wird mit dem in Abbildung 22 gezeigten Aufbau in Richtung der blauen und grünen Achse auf zwei Zellen reduziert und in Richtung der roten Achse auf vier erhöht. Das solvatisierte Molekül befindet sich im Mittelpunkt und somit dort, wo vier Ecken der Zellen zusammenstoßen. Hier ist die Dichte an Wassermolekülen in den ungeordneten Zellen am geringsten. Um die Dichte bei dem solvatisierten Molekül zu erhöhen, wird eine zusätzliche Zelle in diesen Bereich eingebracht. Diese wird, genau wie die Zellen des inneren Bereichs bei Solvathüllen für größere Moleküle, gegen die übrigen Zellen verkippt, um eine zusätzliche Unordnung zu erzeugen. Da die in Abbildung 22 dargestellte Solvathülle von einem orthorhombischen periodischen Universe nicht exakt umschlossen werden kann, gibt es ausreichend leeren Raum, der überschüssige, wegminimierte Wassermoleküle aufnehmen kann. Dadurch wird in ähnlicher Weise wie bei einer Solvathülle für größere Moleküle die etwas höhere Dichte um das Molekül herum ausgeglichen.

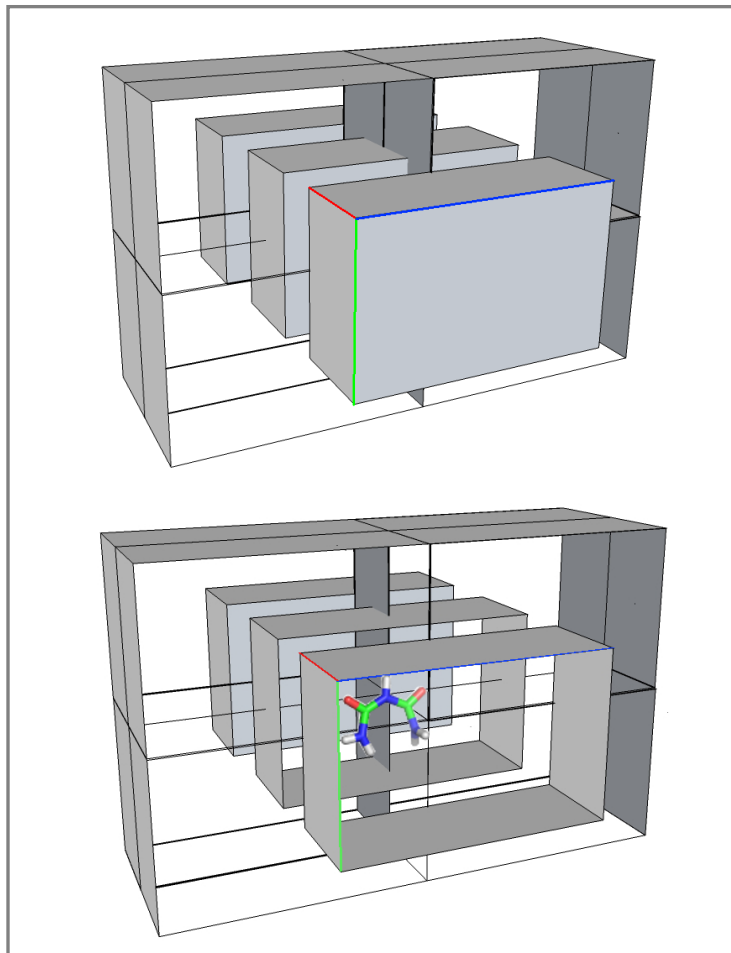


Abb. 22: Solvathülle für kleine Moleküle bestehend aus 11 ungeordneten Wasserboxen.

oben: Anordnung der Wasserboxen; unten: Biuret als kleines Molekül im Mittelpunkt der Solvathülle.



Wie bei der Solvathülle für größere Moleküle wird für Wassermoleküle, die weiter als 6,1 Å von dem solvatisierten Molekül entfernt sind, das vereinfachte Potential aus Kapitel 2.3.7 zur Berechnung der nichtbindenden Wechselwirkungen angewendet.

Abbildung 23 zeigt ein Acetonmolekül in einem Universe für kleine Moleküle vor (links) und nach der Minimierung (rechts). Zu erkennen ist die durch das Einbringen und Verkappen der zusätzlichen Zelle im Zentrum etwas erhöhte Dichte und Unordnung in diesem Bereich vor der Minimierung (Abb. 23 links). Überschneidungen von dem solvatisiertem Molekül und Wassermolekülen werden auch hier (vgl. Kapitel 2.3.5) automatisiert ausgeschlossen. Die nach wenigen Schritten beendete Minimierung bei einem solch kleinen Molekül führt nicht nur zu der korrekten Ausrichtung der Carbonylgruppe sondern auch zu einer gleichmäßige Verteilung der Wassermoleküle mit ausgeglichener Dichte (Abb. 23 rechts). Wassermoleküle, bei denen einzelne Atome an den Grenzen des periodischen Universe wieder auf der gegenüberliegenden Seite in dieses eingetreten sind, führen zu den langen Bindungen durch das gesamte Universe in Abbildung 23 (rechts). Bleibt zu erwähnen, dass die Bindungen zwar optisch lang erscheinen, jedoch von dem Programm als O–H-Bindungen der üblichen Länge verarbeitet werden.

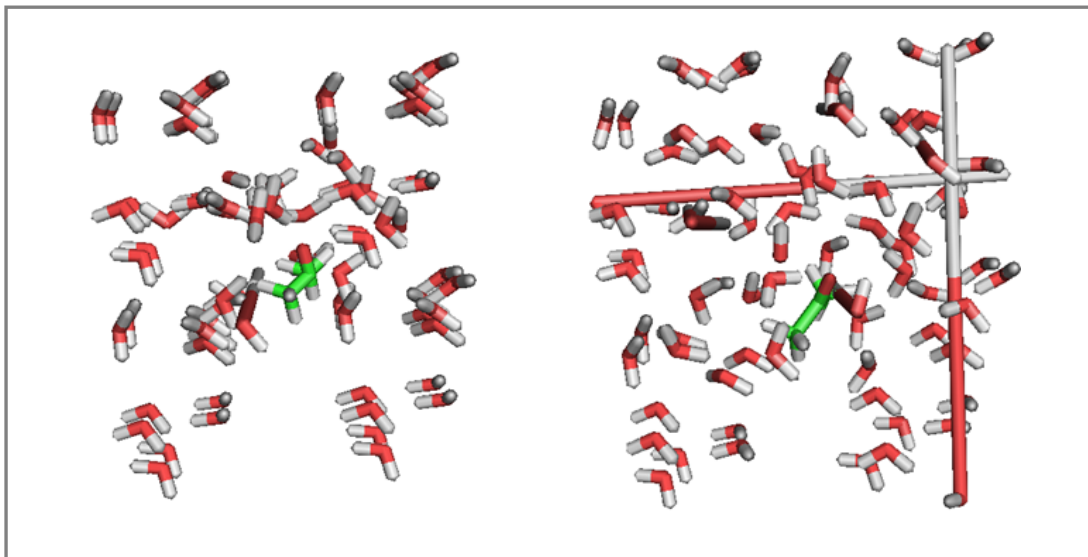


Abb. 23: Acetonmolekül in einem Universe für kleine Moleküle vor (links) und nach (rechts) einer Minimierung. Die langen O–H-Bindungen über das gesamte Universe (rechts) entstehen durch nicht vollständig auf die gegenüberliegende Seite des periodischen Universes gebrachte Wassermoleküle am Ende der Minimierung. Von dem Programm werden diese Bindungen richtigerweise als O–H-Bindungen der üblichen Länge verarbeitet.

# 5. Peptide und Peptidkonformationen

## 5.1 Einteilung des Ramachandran-Diagramms in Strukturbereiche

Von den drei sich wiederholenden Torsionswinkeln  $\omega$ ,  $\varphi$  und  $\psi$  im Peptidrückgrat eines Oligopeptids (Abb. 24) ist  $\omega$  aufgrund des partiellen Doppelbindungscharakters der Peptidbindung, der die Planarität der Amidgruppe bedingt, bevorzugt  $0^\circ$  oder  $180^\circ$ . Damit hängt die Konformation von Peptiden und Proteinen vor allem von den Torsionswinkeln  $\varphi$  und  $\psi$  ab. Diese beiden Torsionswinkel werden üblicherweise in einem Ramachandran-Diagramm aufgetragen (Abb. 25). Die Bereiche in diesem Diagramm, die sich bekannten Strukturen wie  $\beta$ -Faltblatt oder  $\alpha$ -Helix zuordnen lassen, werden als Strukturbereiche bezeichnet.

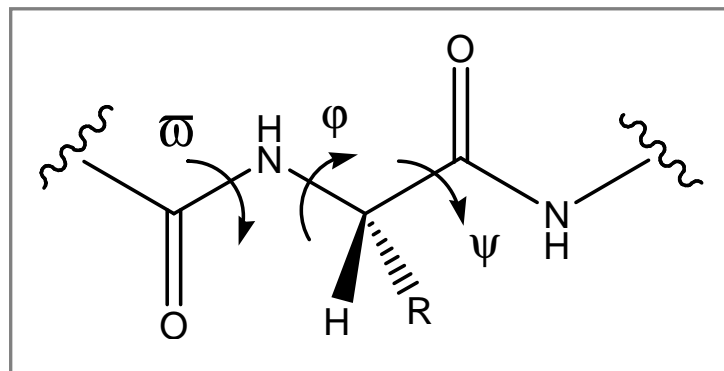


Abb. 24: Die Torsionswinkel  $\omega$ ,  $\varphi$ ,  $\psi$  in Peptiden.

Die Einteilung der Strukturbereiche im Ramachandran-Diagramm weicht in Publikationen zum Teil recht stark voneinander ab. In Abbildung 25 ist oben eine einfache Einteilung des Ramachandran-Diagramms in neun Quadranten gezeigt, die auf die „neun kritischen Punkte (Minima)“ von Perczel *et al.* [69] zurück geht und auch in aktuellen Publikationen zu finden ist [70]. In derselben Abbildung (unten) ist diese Einteilung über eine präzisere Einteilung der Strukturregionen (farbig) gelegt, die auf Pizzanelli *et al.* zurück geht [71]. Es werden die teilweise recht starken Abweichungen zwischen der schematischen, jedoch übersichtlicheren, und der genaueren Definition deutlich.

Für diese Arbeit wird hauptsächlich die Unterteilung des Ramachandran-Diagramms in neun Quadranten genutzt. In zweidimensionalen Ramachandran-Diagrammen sind zu Vergleichszwecken beide Einteilungen angegeben. Die schematische Einteilung in neun Quadranten ist als Kompromiss zwischen den unterschiedlichen Einteilungen der Strukturregionen geeignet. Damit wird auch in Kauf genommen, dass einige Regionen etwas kleiner definiert sind als in einigen in der Literatur zu findenden Definitionen und Minima auf einer Energiefläche („gerasterten“ Datenpunktfäche) über dem Ramachandran-Diagramm möglicherweise nicht direkt in diese Regionen fallen.

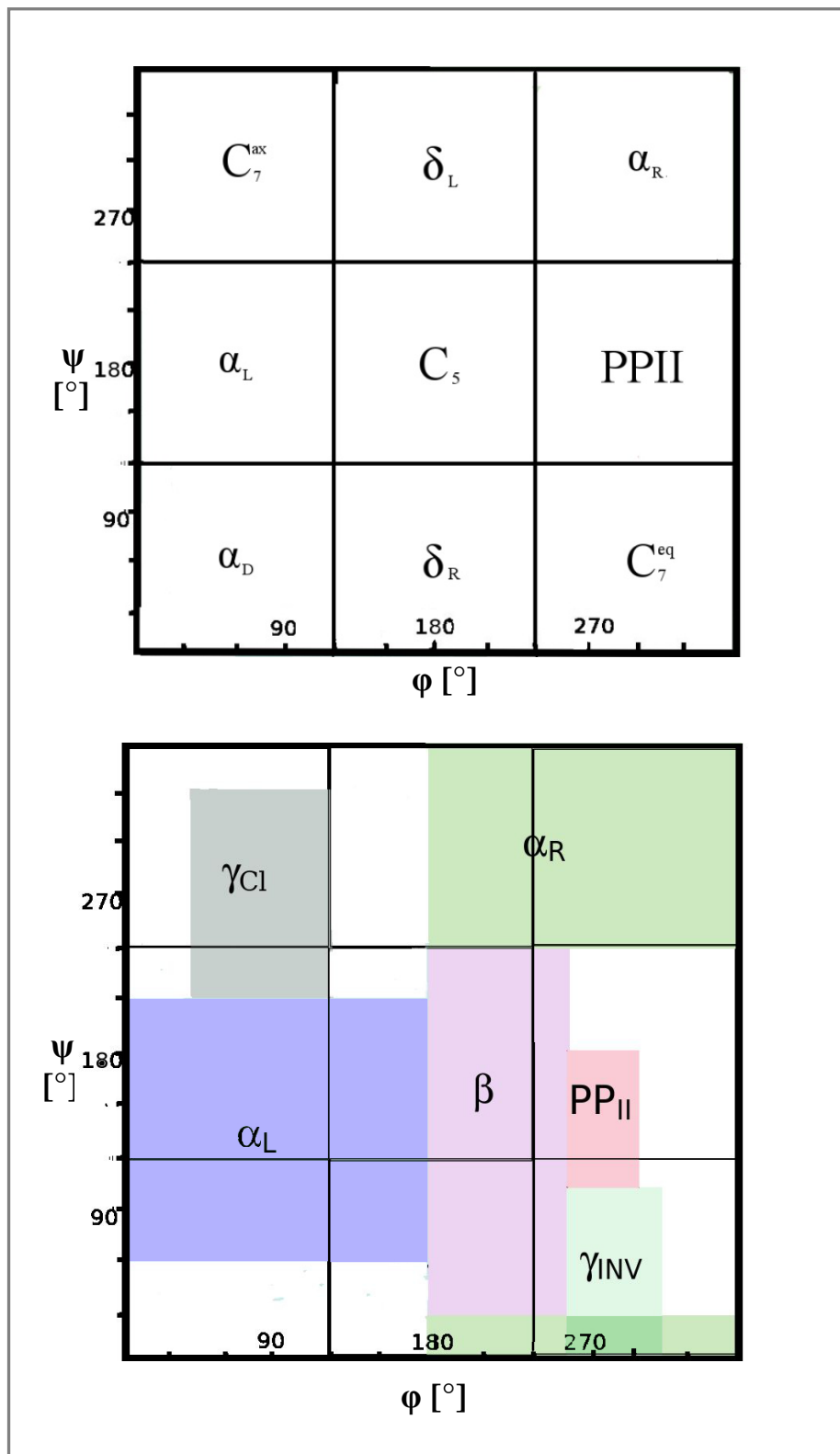


Abb. 25: oben: Schematische Einteilung des Ramachandran-Diagramms in neun Strukturbereiche von Garcia-Prieto *et al.*[70].  
 unten: Präzisere, jedoch weniger übersichtliche Einteilung des Ramachandran-Diagramms in sechs Strukturbereiche von Pizzanelli *et al.* [71] (farbig) zusammen mit der oberen schematischen Einteilung.

Beispielsweise erstreckt sich die so wichtige PPII-Region in der Definition von Seabra *et al.* zwischen  $250^\circ$  und  $360^\circ$  für  $\varphi$  und  $60^\circ$  und  $240^\circ$  für  $\psi$  [72], was weitaus großzügiger definiert ist. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde von der IUPAC-Konvention zur Bezeichnung der  $\varphi/\psi$ -Winkel zwischen  $-180^\circ$  und  $360^\circ$  [73] abgewichen.

In dieser IUPAC-Konvention von 1970 sind die Bezeichnungen der Strukturregion für die rechtshändige  $\alpha$ -Helix ( $\alpha_R$ ), die linkshändige  $\alpha$ -Helix ( $\alpha_L$ ), das  $\beta$ -Faltblatt sowie die PPI- und PPII-Strukturen festgelegt. Die  $C_x$ -Bezeichnungen sind zwar nicht in dieser Konvention festgelegt, werden jedoch auch schon recht lange benutzt. Beispielsweise findet man in der Publikation von S. S. Zimmerman *et al.* aus dem Jahr 1977 hierfür eine Definition [74]:

$C_7^{eq}$ : ein siebengliedriger Ring, geschlossen durch eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung, mit der Seitenkette in äquatorialer Position;

$C_7^{ax}$ : derselbe Ring, jedoch mit der Seitenkette in axialer Position;

$C_5$ : ein fünfgliedriger Ring, geschlossen durch eine (wenn auch ungünstige) intramolekulare Wasserstoffbrücke.

Die Bezeichnungen  $\delta_L$ ,  $\delta_R$  sowie  $\gamma_{CI}$  und  $\gamma_{INV}$  wurden von den in  $\delta$ - und  $\gamma$ -Turns vorliegenden Konformationen abgeleitet [75]. Die Bezeichnungen  $C_7^{ax}$  und  $\gamma_{CI}$  sowie  $C_7^{eq}$  und  $\gamma_{INV}$  werden in der Literatur z. T. auch parallel genutzt [76].

## 5.2 Bevorzugte Peptidkonformationen

Peptide sind in vielen Bereichen der Forschung von großer Bedeutung. Kleine Peptide werden häufig als Modellsysteme für Untersuchungen zur Denaturierung und Renaturierung bzw. Faltung von größeren Systemen – den Proteinen – genutzt [9, 77–80]. Peptide weisen einen großen Teil an Eigenschaften ihrer makromolekularen Verwandten auf und lassen Rückschlüsse auf diese zu. Sie wurden in den letzten Jahren – und werden – mit spektroskopischen Methoden intensiv untersucht. Als Beispiele seien die CD-Spektroskopie, die IR-Spektroskopie, die UV-Resonanz-Raman-Spektroskopie und besonders die NMR-Spektroskopie genannt [81–84]. Auch zu Untersuchungen an Peptiden mit theoretischen Methoden, wie MD-Simulationen [85], MC-Simulationen [86] oder der Quantenmechanik [87], gibt es eine Vielzahl an Publikationen. Insbesondere Polyalanin oder Alanin enthaltende Peptide wurden in den letzten Jahrzehnten intensiv untersucht [88–90] und bieten bis heute die Möglichkeit für wichtige neue Erkenntnisse. Natürlich werden Peptide auch mit anderen als den genannten Methoden untersucht. Im Zusammenhang mit dieser Arbeit sind allerdings vor allem spektroskopisch gewonnene Ergebnisse zu Vergleichszwecken gut geeignet.

Im gefalteten Protein ist das Zusammenspiel lokaler und weiterreichender Wechselwirkungen von Aminosäuren untereinander ein wichtiger Faktor für die Bildung von Sekundärstrukturelementen [91, 92]. Aber auch im denaturierten Zustand, im *random coil*

(siehe unten), gibt es Einflüsse lokaler und weitreichender Wechselwirkungen – vor allem mit Wasser [93].

Schon im Jahr 1991 zeigten V. Daggett und M. Levitt, dass theoretische Untersuchungen zur Peptidfaltung und Konformation von Peptiden in Lösung durch Solvationsmodelle unterstützt werden müssen, indem sie MD-Simulationen an einem Alaninoligopeptid im Vakuum und mit Solvationsmodell [94] durchführten und verglichen. Aber auch bei neueren Arbeiten (und mit anderen Methoden als MD) wird immer wieder deutlich, dass ein (explizites) Solvationsmodell notwendig ist, wenn Peptidkonformationen untersucht werden sollen. Als Beispiel seien hier die kombinierten MC-DFT / *optical-raman-activity* Untersuchungen zu Alanindipeptid-Konformationen von Mukhopadhyay *et al.* genannt [95]. Mukhopadhyay *et al.* stellten die Notwendigkeit eines expliziten Solvationsmodells für die (quantenmechanische) Geometrieoptimierung und weitere quantenmechanische Methoden im Zusammenhang mit der Konformationsbestimmung von Alanindipeptid deutlich heraus. Unabhängig davon wurde 2004 von R. Improta und V. Barone die globale Minimum-Konformation von Dialanin im Vakuum als  $C_7^{eq}$ -Konformation mit einer starken intramolekularen Wasserstoffbrücke bestimmt [96]. Eine Konformation mit intramolekularer Wasserstoffbrückenbindung ist aufgrund des negativen Energiebeitrages der Wasserstoffbrücke im Vakuum durchaus zu erwarten. Durch diesen „Energiegewinn“ können positive Energiebeiträge aufgrund ungünstiger Winkelanordnungen kompensiert werden.

Die Konformation (bzw. Sekundärstruktur) von entfalteten Peptiden wird in Lehrbüchern und im allgemeinen Sprachgebrauch häufig als *random coil* bezeichnet. Schon im Jahre 1934 versuchte W. Kuhn „die Gestalt fadenförmiger Moleküle in Lösung“ theoretisch zu verstehen und kam zu der Auffassung, dass „neben der gestreckten Form noch zahllose andere Formen möglich sind, die sämtlich sehr annähernd gleicher Energie entsprechen“ [97].

Die Zufälligkeit im *random coil* beschränkt sich auf die erlaubten Regionen im Ramachandran-Diagramm. Die verbotenen Regionen entstehen durch sterische Hinderungen in der Polypeptidkette unabhängig von den Aminosäureresten. Mit dem „Harte-Kugeln“-Modell von Ho *et al.* kommen zu den erlaubten Bereichen einige Bereiche hinzu, die weniger verboten sind als andere, was zu einer breiten Verteilung an Konformationen um die Regionen des  $\beta$ -Faltblattes und der  $\alpha$ -Helix im Ramachandran-Diagramm führt [98].

Tatsächlich gibt es jedoch eine große Zahl an Ergebnissen, bei denen keine zufällige Verteilung der Konformationen entfalteter Proteine innerhalb der erlaubten (und weniger verbotenen) Bereiche des Ramachandran-Diagramms erkennbar ist. Es scheint daher auch im entfalteten Zustand eine lokale Ordnung zu geben [99–101].

In den letzten zehn Jahren wurden experimentelle Ergebnisse veröffentlicht, bei denen kleine (z.T. auch große [102]) Peptide in Wasser vornehmlich in PPII-Konformationen nachgewiesen wurden. Schon zuvor hatten M. L. Tiffany und S. Krimm im Jahr 1968 CD-Spektren dahingehend interpretiert, dass Peptide nicht nur als zufälliges *random coil* vorliegen, sondern (auch) in PPII-Struktur [103]. Allerdings hatten sie nicht Polyalanin,

wie bei den neueren Untersuchungen überwiegend, sondern Polyglutaminsäure und Polylysin untersucht.

Bei den in den letzten Jahren untersuchten Polyalaninen wurde auch immer wieder ein geringerer Anteil an  $\beta$ -Faltblatt-Konformationen neben der dominierenden PPII-Konformation in wässriger Lösung nachgewiesen. Einen wichtigen Beitrag lieferten Graf *et al.* durch die Bestimmung der Kopplungskonstanten in Trialanin; die Kombination aus NMR-Spektroskopie und MD-Simulation offenbarte einen Anteil von etwa 90% PPII-Struktur und etwa 10%  $\beta$ -Faltblatt-Struktur [83].

Bei der PPII-Struktur handelt es sich um eine linkshändige Helix mit Torsionswinkeln von ( $\varphi \approx 280^\circ$ ,  $\psi \approx 140^\circ$ ). Drei Aminosäuren sind an einer Windung beteiligt.

Dass PPII die dominierende Konformation von solvatisierten Alaninpeptiden zu sein scheint – in diesem Punkt ist man sich in vielen Publikationen einig. Allerdings gibt es einige Publikationen, bei denen Alaninpeptide zwar zum größten Teil in PPII-Struktur vorliegend charakterisiert wurden, jedoch anstatt einem geringen Anteil  $\beta$ -Faltblattstruktur ein geringer Anteil an  $\alpha_R$ -helikaler Konformation gefunden wurde. Woutsen *et al.* [104] wiesen  $\alpha_R$ -helikale Konformation bei Alanintripeptid und Mukhopadhyay *et al.* [95] bei Alanindipeptid nach.

Zu den Konformationen von Peptiden, die aus anderen Aminosäuren als Alanin bestehen, gibt es weniger Untersuchungen. Die Ergebnisse sind jedoch ähnlich wie für Alaninpeptide. Beispielsweise hatten A. L. Rucker und T. P. Creamer [105] im Jahr 2002  $K_7$  ( $K = \text{Lysin}$ ) als überwiegend in PPII-Konformation vorliegend analysiert. Bochicchio *et al.* machten ebenso bei Abductin, bestehend aus Glycin, Methionin und Phenylalanin, mittels NMR- und CD-Spektroskopie vorherrschend PPII-Struktur in wässriger Lösung aus [106].

Aktuelle Ergebnisse von Duitch *et al.*, die mit mehreren spektroskopischen Methoden erhalten wurden, deuten darauf hin, dass die Ladung der Seitenkette, in ihrem Fall Asparaginsäure, ausschlaggebend für die Konformation in Lösung sein könnte. Vor allem intramolekulare Wasserstoffbrücken wurden als strukturbestimmender Faktor ausgemacht [107]. Auch Zhang *et al.* zeigten, dass intramolekulare Wasserstoffbrücken in Lösung zur Stabilisierung von Konformationen in Peptiden und peptidähnlichen Verbindungen wie Depsipeptiden beitragen können [108].

Damit wird deutlich, wie schwierig es mit theoretischen Methoden ist, die experimentellen Ergebnisse zur Konformation von Peptiden in Lösung zu reproduzieren oder eine gute Vorhersage zu machen. Denn einerseits scheinen intermolekulare Wechselwirkungen mit Wassermolekülen besonders wichtig zu sein – andererseits lassen sich vorherrschende Konformationen in Lösung, wie die PPII-Konformation, auch auf intramolekulare Wechselwirkungen zurückführen. Das sehr sensible Zusammenspiel von inter- und intramolekularen Wechselwirkungen lässt sich mit theoretischen Methoden nur sehr schwer reproduzieren.

Hinzu kommt, dass die Konformation eines Peptids in Lösung auch von der Größe der Seitenkette und damit von deren sterischen Anspruch abzuhängen scheint. Sterisch anspruchsvolle Seitenketten können Wechselwirkungsstellen im Peptid vor Wasser-

molekülen abschirmen, was eine Reduzierung der Solvatationsenergie bedeutet. F. Avbelj und R. L. Baldwin stellten fest, dass sich mit großen Resten eine Verschiebung des  $\varphi$ -Winkels zu kleineren Werten ergibt (was eine Verschiebung vom PPII-Bereich in den  $\beta$ -Faltblatt-Bereich bedeutet) [109]. Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen von Eker *et al.*; diese hatten auf der Grundlage ihrer IR-, Raman- und CD-spektroskopischen Ergebnisse an Tripeptiden Ala–Aminosäure–Ala eine Unterteilung der Aminosäuren in drei Gruppen vorgenommen [110]:

- Valin, Phenylalanin, Tryptophan, Histidin und Serin  
⇒ hauptsächlich  $\beta$ -Faltblatt
- Lysin und Prolin  
⇒ hauptsächlich PPII
- Alanin, Methionin, Glycin und Leucin  
⇒  $\beta$ -Faltblatt / PPII

Die neueren spektroskopischen Ergebnisse von Pizzanelli *et al.* zeigen jedoch, dass der Einfluss der mittleren Aminosäure auf die Konformation bei den Tripeptiden Gly–Phe–Gly und Ala–Phe–Ala nicht unbedingt ausschlaggebend sein muss. Anstatt des sterisch anspruchsvollen Phenylrestes wird den endständigen Alaninen die Fähigkeit zugesprochen, ihre PPII-Vorliebe auf den Phenylnachbarn zu übertragen [71].

Um dies auszuschließen, wurde von Hagarman *et al.* [111] eine IR-, Raman- und CD-spektroskopische Untersuchung in Kombination mit NMR-Spektroskopie an mehreren kein Alanin enthaltenden Tripeptiden Gly–Aminosäure–Gly durchgeführt. Tatsächlich unterscheiden sich die Ergebnisse dieser Arbeit von denen von Eker *et al.* publizierten. Somit stellt sich die Frage, ob die unterschiedlichen Ergebnisse auf die Wahl der endständigen Aminosäuren zurückzuführen sind oder ob die bei den Untersuchungen unterschiedlichen pH-Werte einen Einfluss hatten. Auch bleibt die Frage, ob nicht die hohe Präzision der NMR-Spektroskopie bei den Arbeiten von Eker *et al.* möglicherweise zusätzliche Erkenntnisse hätte bringen können.

Nach Hagarman *et al.* ergibt sich folgende Unterteilung:

- Alanin, Serin  
⇒ hauptsächlich PPII
- aliphatische, sterisch anspruchsvolle Seitenketten, wie in Valin und Phenylalanin  
⇒  $\beta$ -Faltblatt / PPII  
Auch für Glutaminsäure und Lysin wird nur ein ca. 50prozentiger PPII-Anteil ausgemacht. Ein Einfluss des Protonierungsgrades von Glutaminsäure wurde nicht beobachtet.
- Leucin  
⇒ größtenteils PPII / etwas  $\beta$ -Faltblatt



Aus den Ergebnissen von F. Avbelj und R. L. Baldwin kann man ableiten, dass die Energiebarrieren, die zwischen den Konformationen eines Peptids in Lösung liegen, wahrscheinlich recht klein sind [109].

Auch bei IDP's (intrinsically disordered proteins)<sup>4</sup>, deren Eigenschaften und Sekundärstruktur (wenn es bei IDP's überhaupt eine solche gibt – die Sekundärstruktur von IDP's wird jedenfalls als nicht stabil angesehen) man mit der Untersuchung kleiner solvatisierter Proteine verstehen möchte, geht man aktuell davon aus, dass kein globales Minimum auf der Potentialhyperfläche vorliegt, sondern viele kleine Minima, die nur durch niedrige Energiebarrieren voneinander getrennt sind [112]. Da die direkte Untersuchung von IDP's noch immer mit einigem Aufwand und Unsicherheiten verbunden ist [113–116], hofft man durch die Untersuchung und das Verständnis der Konformationen bzw. des Konformationsraums von Peptiden Rückschlüsse auf die Struktur und die strukturelle Veränderlichkeit von IDP's ziehen zu können.

### 5.3 Berechnung von Peptidkonformationen

MOMO wurde zwar vor kurzem neu parametrisiert [37], allerdings wurde dabei das Hauptaugenmerk nicht auf Peptide oder Seitenketten gelegt. MOMO ist ein universelles Kraftfeld für organische Moleküle. Trotzdem besteht der Anspruch, qualitativ gleichwertige Ergebnisse wie die speziell für Peptide parametrisierten und optimierten Kraftfelder von AMBER11 in Form von *ff99sb* [117, 118] erzielen zu können. Auch bei dem etablierten Kraftfeldprogramm CHARMM wurden gesonderte Anpassungen für Peptide vorgenommen [119]. Während bei den genannten Kraftfeldern Ausgleichsterme eingebaut wurden, die auf das solvatisierte Molekül abzielen ( $\phi/\psi$ -„Kreuzterme“ bzw. verbesserte „Proteinrückgrat“-Parameter), um quantenmechanische oder experimentelle Referenzen besser reproduzieren zu können, liegt die Stärke von MOMO in dem ausgefeilten Wasserstoffbrückenpotential, besonders im Zusammenspiel mit expliziten Wassermolekülen. Wassermoleküle in naher Umgebung zum solvatisierten Molekül nehmen an Wasserstoffbrücken teil und werden mit der vollen zur Verfügung stehenden Präzision, die deutlich weiter geht als bei TIP-Molekülen, behandelt. Dies ist bei den Solvationsmodellen von AMBER und CHARMM nicht der Fall.

Wie wichtig nahe Wassermoleküle für die Stabilisierung der PPII-Konformation sind, zeigen auch die quantenmechanischen Minimierungen von *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-

---

<sup>4</sup> Es wird angenommen, dass ein Teil des menschlichen Proteoms aus IDP's besteht. Des Weiteren gibt es Hinweise darauf, dass IDP's einen Anteil an der Signalübertragung und an regulativen Eigenschaften in der Zelle haben können bzw. an MoRFs (molecular recognition features) beteiligt sind [134]. Leider scheinen IDP's auch für Fehlfunktionen im Körper verantwortlich zu sein. Es wird ihnen zugeschrieben, an Krankheiten wie Alzheimer, Parkinson u.a. beteiligt zu sein [135].

Auch bei Pflanzen sind IDP's zu finden. Beispielsweise ist der Redoxschalter CP12 ein IDP und es wird untersucht, wie und ob dessen Sekundärstrukturänderungen zur Kohlenstoff-Assimilation beitragen [136].



methylamid (der zweifach geschützten Aminosäure L-Alanin) mit vier nahen Wassermolekülen durch Han *et al.* [120]. Die im Vakuum als nicht stabil befundene PPII-Konformation wird hier durch die vier Wassermoleküle stabilisiert. In einer ähnlichen, aktuellen quantenmechanischen Minimierung von Alanindipeptid wurden von N. Mirkin und S. Krimm bis zu zwölf nahe Wassermoleküle in die Geometrieoptimierung mit einbezogen [121]. Allerdings konnten N. Mirkin und S. Krimm mit quantenmechanischen Geometrieoptimierungen aufgrund des hohen Rechenzeitaufwandes (immerhin rechneten sie unter anderem mit dem recht genauen Basissatz MP2 6-31++G\*\* und polarisierbarem Kontinuum-Modell) nur von wenigen Startgeometrien ausgehen. So wurden von ihnen nur Konformationen mit Wasser minimiert, die schon von vornherein PPII- und  $\beta$ -Faltblatt-Konformation hatten. Ohne Kontinuum-Modell, nur mit nahen Wassermolekülen, wurde die  $\beta$ -Faltblatt-Struktur als etwa 1 kcal/mol stabiler berechnet. Mit zusätzlichem Kontinuum-Modell wurde die PPII-Konformation als etwa 6 kcal/mol stabiler berechnet. Dies zeigt, wie wichtig weiter entfernte Wassermoleküle sind. Werden diese ebenfalls explizit behandelt, ist mit zusätzlich verbesserten Ergebnissen zu rechnen. Schließlich kann bei der Kombination aus einigen nahen Wassermolekülen mit Kontinuum-Modell kein Austausch der Wassermoleküle stattfinden. Bei einer Konformationsänderung während der Geometrieoptimierung können dann besser zugängliche Wechselwirkungsstellen nicht mit entfernteren Wassermolekülen in Wechselwirkung treten.

## 6. Durchführung und computertechnische Details der systematischen Konformationsanalyse

---

In dieser Arbeit wurden systematische Konformationsanalysen an Di- und Tripeptiden mit dem neu entwickelten TPA3-Solvatationsmodell durchgeführt. Durch die systematische Generierung neuer Startkonformationen ist eine breitflächige Abdeckung des gesamten Konformationsraums der untersuchten Peptide möglich. Auch lokale Minima, unabhängig davon, ob sie von hohen Energiebarrieren verdeckt werden oder nicht, können mit der systematischen Konformationsanalyse erfasst werden.

Nach der Energieminimierung ist eine detaillierte Analyse der nahen Wassermoleküle um das solvatisierte Molekül möglich.

Bei allen in dieser Arbeit durchgeführten Konformationsanalysen mit Solvatationsmodell war die maximale Anzahl der handhabbaren Konformationen auf etwa 5000 begrenzt. Die Limitierung ergab sich durch den begrenzten Festplatten-Speicherplatz und die begrenzte Warteschlangenkapazität des Großrechenclusters CSC, der für die Konformationsanalysen genutzt wurde. Die Warteschlangenkapazität ist auf etwa 1500 Einzelrechnungen pro Benutzer begrenzt, was bedeutet, dass nicht mehr Rechnungen gleichzeitig automatisiert durchgeführt werden können. Waren 1500 zu minimierende Konformationen an die Warteschlange übergeben, musste die Rechnung unterbrochen werden, bis die Ergebnisse vorlagen. Danach konnten erneut bis zu 1500 Konformationen (derselben Konformationsanalyse) minimiert werden.

Für die Rotationen um die zentralen Torsionswinkel  $\varphi$  und  $\psi$  wurden je nach Größe des zu untersuchenden Peptids 30°, 60°- oder 90°-Schritte gewählt. Die Winkel  $\omega$  wurden bei Bedarf in 180°-Schritten rotiert und Torsionswinkel in Seitenketten in 90°-Schritten oder gegebenenfalls in 120°-Schritten. Mit diesen Schrittweiten waren bei allen Konformationsanalysen mit mehr als zwei variierten Torsionswinkeln maximal 2304 Konformationen zu minimieren.

Bei den zweifach geschützten Monopeptiden wurden nur die Winkel  $\varphi$  und  $\psi$  in 30°-Schritten variiert.

### 6.1 Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell

Konformationsanalysen mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell werden in zwei Schritten durchgeführt. Als erstes wird auf einem aktuellen Desktoprechner die nur einige Minuten dauernde Generierung zu minimierender Universe für alle Konformationen durchgeführt. Dazu wird die Koordinatendatei des gewünschten Peptids in das Universe geladen. Mit MOMO ist hier die Verwendung flexibler *mol*-Files möglich. Die

anschließend systematisch generierten Torsionswinkelwerte für  $\varphi$  und  $\psi$  werden an die MMTK-Klasse *InternalCoordinate* zur Einstellung der Startkonformationen der Einzelminimierungen übergeben. Danach wird durch Aufruf der Methode *start*, die der Klasse *CreateWaterbox* angehört und den Beginn der in Kapitel 4.3 beschriebenen Abläufen einleitet, das nun in der entsprechenden Konformation vorliegende Molekül mit einer Solvathülle aus Eiselementarzellen und ungeordneten Wasserzellen versehen.

Die automatisierte Wiederholung dieser Schritte für jede Konformation führt zu einem *zip*-File mit allen Universe (in jedem Universe befindet sich ein Molekül in unterschiedlicher Konformation umgeben von einer maßgeschneiderten Solvathülle). Dieses *zip*-File wird manuell an das CSC hochgeladen.

Mit dem Entpacken dieses Files beginnt der zweite Schritt: Mittels eines Pythonskriptes wird ein Shellskript sequentiell so verändert, dass die Universe nacheinander an das Warteschlangensystem des CSC zum Minimieren übergeben werden. Als Ergebnis der Minimierungen werden Files mit den weiter unten erklärten Energiebeiträgen zusammen mit einem Trajektorie-File zu jedem minimierten Universe erhalten. Diese Ergebnis-Files werden nun wiederum gezippt und bei wenigen Konformationen für die Auswertung auf den Desktoprechner zurückkopiert oder bei großen Datenmengen auf dem CSC ausgewertet. Die Auswertung wird separat in Kapitel 6.4 beschrieben.

Zu Vergleichszwecken durchgeführte Konformationsanalysen im Vakuum wurden in ähnlicher Weise auf einem aktuellen Desktoprechner durchgeführt. Auch hier wurden Trajektorien aufgenommen.

## 6.2 Einzelenergiebeiträge und die Definition einer Stabilisierungsenergie

Mit den Trajektorien- und „Ergebnis“-Files, die auch alle relevanten Informationen zu Wasserstoffbrücken enthalten, war es unter anderem möglich, eine Auswertung der Bewegung einzelner Wassermoleküle, der Energien einzelner Wasserstoffbrücken und der summierten Einzelenergiebeiträge zu jedem Minimierungsschritt durchzuführen.

Bei Minimierungen und Konformationsanalysen mit MOMO können zusätzlich detaillierte Informationen bezüglich der Energie jeder Wechselwirkung eines beliebigen Atoms mit jedem anderen beliebigen Atom in die „Ergebnis“-Files ausgegeben – und nach Bedarf summiert werden. So konnten die *vdw*-, elektrostatischen und Wasserstoffbrücken-Wechselwirkungsenergien zwischen allen Atomen eines solvatisierten Moleküls summiert werden, um  $E_{vdw\_intra}$ ,  $E_{es\_intra}$  oder  $E_{HB\_intra}$  zu erhalten (vgl. Tabelle 3). Genauso konnten die summierten Wechselwirkungsenergien aller Atome eines solvatisierten Moleküls mit Wassermolekülen ausgegeben werden, was zu  $E_{vdw\_inter}$ ,  $E_{es\_inter}$  und  $E_{HB\_inter}$  führt. Ähnlich detaillierte Analysen der Energien sind für alle weiteren Einzelenergiebeiträge des MOMO-Kraftfeldes möglich. Auch Vektoren und Atompositionen wurden während der Programmentwicklung auf diesem Weg ausgegeben. Die Minimalinformation bei jeder Minimierung ist die Ausgabe der Einzelenergien der Energieterme und deren Summe  $E_u$  (vgl. Gleichung (1) in Tabelle 3).

Liegen die Einzelenergiebeiträge der nichtbindenden Wechselwirkungen unterteilt in intra- und intermolekulare Wechselwirkungen vor, kann man für das solvatisierte Molekül den stabilisierenden (oder destabilisierenden) Energiebetrag der Solvathülle  $E_{\text{stab}}$  (Tab. 3 Zeile 3) als Summe aller nichtbindenden intermolekularen Wechselwirkungsenergien und aller intermolekularen Wasserstoffbrückenenergien berechnen.

(1)	$E_u = \sum_r E_r + \sum_\theta E_\theta + \sum_\omega E_\omega + \sum_{\text{vdw}} E_{\text{vdw}} + \sum_{\text{es}} E_{\text{es}} + \sum_{\text{HB}} E_{\text{HB}} + \sum_{\text{solv}} E_{\text{solv}} + \sum_{\text{oop}} E_{\text{oop}}$												
	<table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tbody> <tr> <td style="background-color: #f08080;"><math>E_{\text{vdw inter}}</math></td> <td style="background-color: #ffcc99;"><math>E_{\text{es inter}}</math></td> <td style="background-color: #00ff00;"><math>E_{\text{HB inter}}</math></td> <td style="background-color: #6699ff;"><math>E_{\text{solv r}}</math></td> </tr> <tr> <td style="background-color: #f08080;"><math>E_{\text{vdw intra}}</math></td> <td style="background-color: #ffcc99;"><math>E_{\text{es intra}}</math></td> <td style="background-color: #00ff00;"><math>E_{\text{HB intra}}</math></td> <td style="background-color: #6699ff;"><math>E_{\text{solv } \theta}</math></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td style="background-color: #6699ff;"><math>E_{\text{TPA3}}</math></td> </tr> </tbody> </table>	$E_{\text{vdw inter}}$	$E_{\text{es inter}}$	$E_{\text{HB inter}}$	$E_{\text{solv r}}$	$E_{\text{vdw intra}}$	$E_{\text{es intra}}$	$E_{\text{HB intra}}$	$E_{\text{solv } \theta}$				$E_{\text{TPA3}}$
$E_{\text{vdw inter}}$	$E_{\text{es inter}}$	$E_{\text{HB inter}}$	$E_{\text{solv r}}$										
$E_{\text{vdw intra}}$	$E_{\text{es intra}}$	$E_{\text{HB intra}}$	$E_{\text{solv } \theta}$										
			$E_{\text{TPA3}}$										
(2)	$E_{\text{mol}} = E_u - \sum_{\text{solv}} E_{\text{solv}} - \sum_{\text{vdw inter}} E_{\text{vdw inter}} - \sum_{\text{es inter}} E_{\text{es inter}} - \sum_{\text{HB inter}} E_{\text{HB inter}}$												
(3)	$E_{\text{stab}} = \sum_{\text{vdw inter}} E_{\text{vdw inter}} + \sum_{\text{es inter}} E_{\text{es inter}} + \sum_{\text{HB inter}} E_{\text{HB inter}}$												
(4)	$E_{\text{mol+stab}} = E_{\text{mol}} + E_{\text{stab}} = E_u - \sum_{\text{solv}} E_{\text{solv}}$												
<p><math>E_u</math> = Energie des gesamten Universe</p> <p><b>bindende Wechselwirkungen:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><math>E_r</math> Bindungslängendeformationsenergie</li> <li><math>E_\theta</math> Bindungswinkeldeformationsenergie</li> <li><math>E_\omega</math> Torsionsenergie</li> <li><math>E_{\text{oop}}</math> Energie für „out of plane“-Deformation</li> </ul> <p><b>nichtbindende Wechselwirkungen:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li style="background-color: #f08080;"><math>E_{\text{vdw}}</math> Van-der-Waals-Energie (inter- und intramolekulare Wechselwirkungen)</li> <li style="background-color: #ffcc99;"><math>E_{\text{es}}</math> elektrostatische Energie (inter- und intramolekulare Wechselwirkungen)</li> <li style="background-color: #00ff00;"><math>E_{\text{HB}}</math> Wasserstoffbrückenbindungsenergie (inter- und intramolekulare Wasserstoffbrücken)</li> </ul> <p style="background-color: #6699ff;"><b>Energiebeitrag durch TPA3-Moleküle (<math>E_{\text{solv}}</math>) bestehend aus:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><math>E_{\text{solv r}}</math> = Bindungslängendeformationsenergie von Wassermolekülen in der inneren Shell</li> <li><math>E_{\text{solv } \theta}</math> = Bindungswinkeldeformationsenergie von Wassermolekülen in der inneren Shell</li> <li><math>E_{\text{TPA3}}</math> = Energie der nichtbindenden Wechselwirkungen von TPA3-Molekülen in der äußeren Shell</li> </ul> <p><b>sich für minimierte und solvatisierte Moleküle ergebende Energien:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><math>E_{\text{mol}}</math> = Energie des isolierten Moleküls (Molekül im Vakuum)</li> <li><math>E_{\text{stab}}</math> = Energie der Wechselwirkung des solvatisierten Moleküls mit Wassermolekülen</li> <li><math>E_{\text{mol+stab}}</math> = Summe aus <math>E_{\text{mol}}</math> und <math>E_{\text{stab}}</math></li> </ul>													

Tabelle 3: Energierterme und Energiebeiträge in MOMO.

Um ein Gesamtbild zu erhalten, kann die Energie des isolierten Moleküls  $E_{\text{mol}}$  (Tab. 3 Zeile 2) berechnet werden.

Sowohl intramolekulare elektrostatische Abstoßungen im solvatisierten Molekül als auch intramolekulare Wasserstoffbrücken, die im Vakuum geknickte bzw. zusammengezogene Konformationen begünstigen, können durch elektrostatische Wechselwirkungen und Wasserstoffbrücken mit Wassermolekülen kompensiert werden. Der Verlauf und der nach der Minimierung vorliegende Energiebetrag von  $E_{\text{mol+stab}}$  (anschaulich die Energie des solvatisierten Moleküls) ist hierfür entscheidend.

### 6.3. Konformationsanalyse mit AMBER11 und TIP3P-Solvatationsmodell

Zu jeder mit MOMO durchgeführten Konformationsanalyse wurde zu Vergleichszwecken eine Konformationsanalyse mit AMBER11 durchgeführt.

Für die Durchführung der Konformationsanalysen mit AMBER11 wurden die Programmteile TLEaP (ein vorgelagerter Programmteil, mit dem AMBER11-eigene Dateien erzeugt werden müssen) und SANDER (*Simulated annealing with NMR-derived energy restraints*, ein Programmteil zur Energieminimierung) genutzt. Da mit den verwendeten AMBER11-Kraftfeldern für Peptide nur PDB-Dateien (Protein Data Bank) von TLEaP eingelesen werden können und ein spezielles AMBER11-eigenes Format der PDB-Dateien zwingend notwendig ist, musste zuerst jede PDB-Datei aufwendig (teilweise skriptgestützt) in dem entsprechenden Format erzeugt werden. Dabei darf beispielsweise keine Atombezeichnung doppelt vorkommen, wie sonst bei PDB-Dateien üblich.

Die an Peptiden durchgeführten Minimierungen erfolgten mit dem Kraftfeld *ff99sb* [117] sowohl im Vakuum als auch mit dem Solvatationsmodell TIP3P [49].

Da kein geeignetes vorgefertigtes Programm zur Durchführung einer Konformationsanalyse in dem AMBER11-Programmpaket sowie den zugehörigen „AmberTools“ enthalten war, wurden die Konformationsanalysen basierend auf Pythonskripten durchgeführt. Dabei wurde die Möglichkeit genutzt, TLEaP mit Dateien zu steuern, in denen Befehle aneinandergereiht sind. Diese Dateien werden im Folgenden als *leapcommand*-Files bezeichnet. Die Befehle für die Initialisierung einer Einzelminimierung können mit Pythonskripten automatisch für jede Konformation einer Konformationsanalyse in diesen Files geändert werden. Dazu werden die Variablen „XTOR“ und „YTOR“ (Abb. 26) durch einen Torsionswinkelwert ersetzt. Die Dateinamen „prmtop“ und „inpcrd“ müssen ebenfalls durch fortlaufend nummerierte Dateinamen ersetzt werden. Die anschließende ebenso automatische Eingabe dieser *leapcommand*-Files in TLEaP führt für jede Ausgangskonformation der Konformationsanalyse zu einer Koordinatendatei sowie Topologiedatei. In Abbildung 26 ist der Inhalt eines *leapcommand*-Files gezeigt. Die veränderlichen Stellen sind grau umrandet.

```

source leaprc.ff99SB
cal = loadpdb dateiname.pdb
bond cal.1.N cal.2.C
bond cal.2.N cal.3.C
impose cal {1 2 3} {{H N CA CB XTOR } {O C CA CB YTOR }}
solvatebox cal TIP3PBOX 6.0 iso
saveamberparm cal prmtop inpcrd
quit

```

Abb. 26: *Leapcommand*-File zur automatischen Konformationsanalyse mit AMBER11. Die grau unterlegten Stellen werden skriptgesteuert für jede Konformation ersetzt.

Mit der Ausführung der *leapcommand*-Files werden die für eine Minimierung auf dem Cluster des CSC benötigten Steuerungsdateien für jede Einzelkonformation generiert. Diese können nun, ähnlich wie für MOMO beschrieben, weiterverarbeitet und in das Warteschleifensystem des CSC eingereicht werden.

Leider ist das Ergebnis einer AMBER11-Energieminimierung mit TIP3P-Solvatationsmodell nur die Energie des gesamten Universe  $E_u$  und ein Koordinatenfile, aus dem die Anordnung aller Moleküle im Universe (inklusive Wasser) reproduzierbar ist. Ähnlich detaillierte Ergebnisse und Energien ( $E_{\text{mol}}$ ,  $E_{\text{stab}}$  und  $E_{\text{mol+stab}}$ ) wie bei MOMO sind bei AMBER11-Minimierungen von den Entwicklern nicht vorgesehen. Um möglichst plausible und detaillierte Ergebnisse zu erhalten, wurde jede AMBER11-Minimierung in drei Einzelminimierungen unterteilt:

1. zuerst wird das solvatisierte Molekül in der TIP3P-Wasserbox fixiert und es werden nur die TIP3P-Moleküle minimiert;
2. anschließend wird das nun vorminimierte Universe von 1. ohne Fixierung des solvatisierten Moleküls minimiert ( $E_u$  wird erhalten);
3. abschließend wird das solvatisierte Molekül aus dem minimierten Universe von 2. ausgeschnitten, in ein neues Universe gelegt und dort im Vakuum einen weiteren Schritt minimiert, was zu der Energie  $E_{\text{mol}}$  führt.

Obwohl es sich um drei separate AMBER11-Minimierungen mit der dreifachen Anzahl an Ein- und Ausgabefiles handelt, wurden die drei Punkte skriptgestützt in einem Durchlauf abgearbeitet. Die Anzahl der Rechnungen in der Warteschlange des CSC verdreifachte sich dadurch nicht. So konnte verhindert werden, dass schnell die maximale Anzahl an Warteschlangenplätzen beansprucht wurde.

Die von AMBER11 benötigten und generierten Dateien wurden nicht überschrieben oder gelöscht, um die Zustände an jedem der drei Punkte bei Bedarf reproduzieren zu können. Die Energien  $E_u$  und  $E_{\text{mol}}$  werden allerdings kontinuierlich aus den „Output-Files“

extrahiert und in einem Ergebnisfile zusammengefasst, sodass bei Speicherplatzmangel das Löschen während des Programmablaufes möglich ist.

Bei AMBER11 sind keine Wechselwirkungen und Wechselwirkungsenergien einzelner Atome oder Moleküle zugänglich. Die Ausgabe einer Solvationsenergie erfolgt nur bei Rechnungen mit impliziten Solvationsmodellen. Auch Wasserstoffbrücken zwischen dem solvatisierten Molekül und umgebenden Wassermolekülen konnten nicht erhalten werden. Um eine ähnliche Information wie  $E_{\text{stab}}$  bei den Minimierungen mit dem TIP3P-Modell des AMBER11-Kraftfeldes zu erhalten, wären tiefgehende Eingriffe und Veränderungen an dem Quellcode von AMBER11 notwendig.

#### 6.4 Auswertung der MOMO-Konformationsanalysen

Bei der Minimierung von Konformationen mit TPA3-Solvationsmodell kann es manchmal zu hohen Energien kommen. Dies kann dann passieren, wenn während der Konformationsanalyse Startkonformationen eingestellt werden, bei denen von vornherein ein sehr hoher  $E_{\text{mol}}$ -Wert vorliegt. Während der anschließenden Minimierung muss dann eine deutliche Konformationsänderung stattfinden, und umgebende Wassermoleküle müssen dabei „abgestreift“ und „zur Seite gedrückt“ werden. Gelingt dies nicht vollständig, bleiben die hohen  $E_{\text{mol}}$ -Werte bestehen und es kommen zusätzliche hohe  $E_{\text{stab}}$ -Werte hinzu, sodass unrealistisch hohe  $E_{\text{mol+stab}}$ -Werte resultieren. Daher werden nach jeder Konformationsanalyse mindestens  $N/20$  ( $N$  = Anzahl der durchgeführten Minimierungen) Konformationen mit den höchsten  $E_{\text{mol+stab}}$  verworfen.

Für die Auswertung einer Konformationsanalyse stehen folgende auf Pythonskripten beruhende Analyse- und Auswertungsmöglichkeiten zur Verfügung:

- zweidimensionale (2D) Auftragung der  $\phi$ - und  $\psi$ -Torsionswinkelwerte eines Peptids im Ramachandran-Diagramm;
- dreidimensionale (3D) Darstellung der absoluten Häufigkeiten einer  $\phi/\psi$ -Kombination im Ramachandran-Diagramm als Säulendiagramm;
- Clusteranalyse der minimierten Konformationen nach Torsionswinkeln (bei Peptiden  $\phi$  und  $\psi$ ) mit anschließender Berechnung der Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der Torsionswinkelwerte und der Energien. Die möglichen Energien sind in Tabelle 3 (1)–(4) aufgeführt. Diese Energie-Mediane werden im Folgenden als  $ME_x$  ( $x$  = entsprechende Indizes) bezeichnet;
- 3D-Darstellung der Mittelwerte von  $\phi$  und  $\psi$  eines Clusters mit den Medianen einer Energie dieses Clusters auf der z-Achse. Anschließend können mit Gnuplot [122, 123] Gitternetzlinien über die Werte der z-Achse angepasst werden, was zu einer



Energiefläche aus gerasterten Datenpunkten über einem Ramachandran-Diagramm mit Konturlinien führt;

- Energieverlauf und Visualisierung der Trajektorie des in Wasser minimierten Moleküls. Die Visualisierung kann zur besseren Übersichtlichkeit auf das solvatisierte Molekül beschränkt werden. Die Wassermoleküle können ausgeblendet werden. Ausgegeben wird der Verlauf von  $E_{\text{mol}}$ ;
- auf die innere Shell begrenzter Energieverlauf mit Visualisierung. Aus der inneren Shell in den äußeren Bereich austretende und umgekehrt in die innere Shell eintretende Wassermoleküle werden bei der Visualisierung und in dem Energieverlauf berücksichtigt. Ausgegeben wird der Verlauf von  $E_{\text{mol+stab}}$ ;
- Energieverlauf des gesamten Universe ( $E_U$ ) mit Visualisierung;
- Visualisierung aller Wasserstoffbrücken: Es werden das solvatisierte Molekül und die an Wasserstoffbrücken beteiligten Wassermoleküle gezeigt. Gebrochene Wasserstoffbrücken und umgekehrt neu gebildete Wasserstoffbrücken werden bei der Visualisierung und in dem Energieverlauf berücksichtigt. Energien, Abstände und Winkel jeder Wasserstoffbrücke können ausgegeben oder direkt in der PyMol-Darstellung [124] der Trajektorie gezeigt werden.

Wurde die Trajektorie einer Minimierung aufgenommen, stehen alle aufgeführten Auswertungsmöglichkeiten zur Verfügung. Ist beispielsweise aufgrund von Speicherplatzbeschränkungen die Aufnahme von mehreren Tausend Trajektorien nicht möglich, sind mit der gespeicherten Start- und Endkonformation jeder Minimierung einer Konformationsanalyse immer noch die ersten vier Auswertemöglichkeiten der obigen Aufzählung möglich (○).

Wenn mehr als zwei Torsionswinkel variiert wurden, erfolgte die Auswertung der MOMO-Ergebnisse ebenfalls auf dem CSC. Dort wurde wegen des hohen Arbeitsspeicherbedarfes die Clusteranalyse mit anschließender Berechnung der Mittelwerte der Torsionswinkel sowie der Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen der Energien durchgeführt. Zwischen den ( $\phi/\psi$ )-Wertepaaren wurden euklidische Distanzen berechnet und Cluster mit einem Abstand von maximal 1 rad nach der *average*-Methode fusioniert. Dazu wurde die Pythonbibliothek „hcluster“ [125] genutzt.

Die 3D-Darstellungen erfolgten separat mit dem Programm Gnuplot. Dafür wurden schon während der Auswertung am CSC Eingabedateien erzeugt, die dann mit einem Desktoprechner weiterverarbeitet werden konnten. Über das Ramachandran-Diagramm und die Energie-Mediane  $ME_{\text{stab}}$  oder  $ME_{\text{mol+stab}}$  an den entsprechenden  $\phi$ - und  $\psi$ -Mittelwerten der Cluster wurde mit Gnuplot ein Gitter mit 50·50 Unterteilungen gelegt. Für die Annäherung an die Datenpunkte wurde der *qnorm*-Algorithmus gewählt. Das Programm Gnuplot bietet gleichzeitig die Möglichkeit, Konturlinien einer Energiefläche



einzuzeichnen. Von dieser Möglichkeit wurde für alle gerasterten Datenpunktfelder Gebrauch gemacht.

Die 2D-Darstellung der Verteilung der ungeclusterten ( $\phi/\psi$ )-Torsionswinkelwerte in einem Ramachandran-Diagramm erfolgte mit der Pythonbibliothek „Matplotlib“ [126]. Dieselbe Pythonbibliothek wurde für die 3D-Darstellung der absoluten Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Kombinationen im Ramachandran-Diagramm genutzt. Dazu wurde das Ramachandran-Diagramm in  $72 \cdot 72$  Kästchen unterteilt und alle in gleiche Quadranten fallenden Konformationen wurden summiert. Die Form der Darstellung ist die eines dreidimensionalen Säulendiagramms.

Die Visualisierung der Konformation mit der niedrigsten Energie innerhalb eines Clusters erfolgte mit PyMol. Dazu wurden alle Konformationen des gewünschten Clusters mit ihrer Solvathülle in ein Universe geladen und nach deren zugehörigen Energien  $E_{\text{mol}+\text{stab}}$  sortiert. Bei der günstigsten Konformation wurden nach der Identifizierung der Wasserstoffbrücken alle nicht beteiligten Wassermoleküle entfernt und die Energien und Abstände ausgegeben.

### 6.5 Auswertung der AMBER11-Konformationsanalysen

Die Auswertung der AMBER11-Ergebnisse erfolgte auf dieselbe Weise wie die Auswertung der MOMO-Ergebnisse. Allerdings waren die Auswertemöglichkeiten auf die ersten zwei Punkte der Aufzählung begrenzt. Da von AMBER11 nur die Energie des gesamten Universe  $E_u$  als Ergebnis ausgegeben wurde und die alleinige dreidimensionale Auftragung von  $E_{\text{mol}}$  eines mit Solvationsmodell minimierten Moleküls keine Aussagekraft hat, wurde von einer dreidimensionalen Auswertung abgesehen.

Auch die Möglichkeit zur Ermittlung der ( $\phi/\psi$ )-Torsionswinkelwerte nach der Konformationsanalyse mit AMBER11-eigenen Hilfsmitteln war nicht gegeben. Deshalb wurden die von AMBER11 ausgegebenen Koordinaten mit MMTK-Funktionen und einigen MOMO-Funktionen verarbeitet und die Torsionswinkel wie bei einer MOMO-Konformationsanalyse ermittelt. Die 2D-Auswertungen und 3D-Darstellungen erfolgten ebenfalls wie im vorherigen Kapitel für die MOMO-Konformationsanalysen beschrieben.

Aufgrund fehlender Informationen, zwischen welchem Donor und Akzeptor Wasserstoffbrücken ausgebildet wurden und welchen Einzelenergiebeitrag diese gegebenenfalls beisteuern, war keine Darstellung des Moleküls mit umgebenden und an Wasserstoffbrücken beteiligten Wassermolekülen möglich.

## 7. Konformationsanalysen an Peptiden

---

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Konformationsanalysen an Peptiden dargestellt, erklärt und diskutiert. Dabei werden die mit MOMO erzielten Ergebnisse den entsprechenden Konformationsanalysen mit AMBER11 gegenübergestellt. Zur besseren Unterscheidbarkeit von Abbildungen, die auf [AMBER11-Konformationsanalysen](#) zurückgehen, sind diese blau umrandet; die auf MOMO-Konformationsanalysen zurückgehenden Abbildungen sind wie alle anderen Abbildungen in dieser Arbeit grau umrandet. Die Abbildung 115 des einmalig auftretenden Sonderfalls, dass [Mittelwerte der Energien für die 3D-Ramachandran-Diagramme genutzt](#) wurden, ist gelb umrandet und die mit Ausnahme der Abbildungen 86, 87, 88 und 114 im Anhang zu findenden [Abbildungen zu Konformationsanalysen an Peptiden mit protoniertem C-Terminus bzw. neutralen Carboxylgruppen](#) sind grün umrandet.

### 7.1 *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methyramid

Das doppelt geschützte Alanin *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methyramid wurde einer Konformationsanalyse mit MOMO (im Vakuum und mit TPA3-Solvatationsmodell) sowie mit AMBER11 (mit TIP3P-Solvatationsmodell) unterzogen. In Abbildung 27 ist dieses Peptid mit den variierten Torsionswinkeln  $\phi$  und  $\psi$  gezeigt.

Die für die Konformationsanalyse relevanten Werte sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

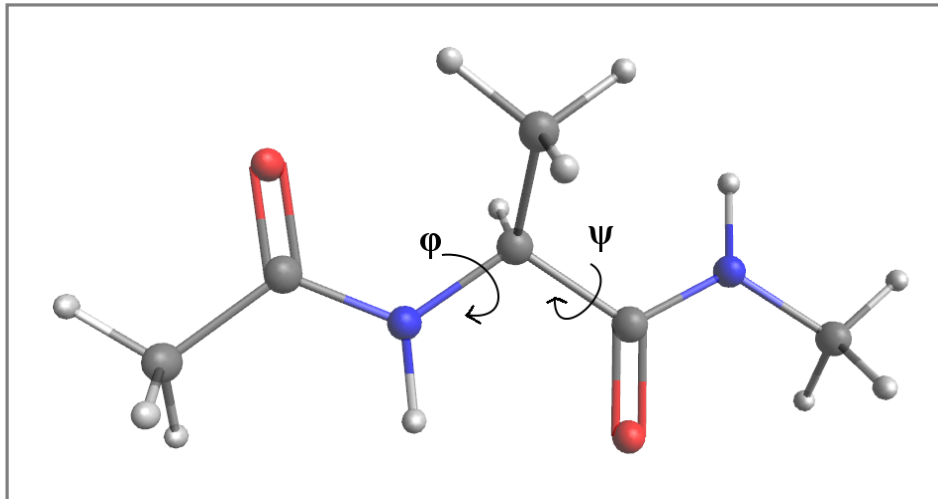


Abb. 27: Strukturformel von *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methyramid. Mit Pfeilen eingezeichnet sind die variierten Torsionswinkel  $\phi$  und  $\psi$ .

	$\phi$	$\psi$			
<i>Schrittweiten</i>	30°	30°			
<i>Anzahl Konformationen</i>	144				
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 0		AMBER11: 0		
<i>Clusteranzahl</i>	20				
$E_{\text{mol+stab}}^{\#}$ (Cluster)	-32,0 kJ/mol				
<i>aussortierte Cluster</i>	Nr. 9 (zwei Werte enthalten, die sich um 42 kJ/mol unterscheiden)				

<sup>#</sup>Energetisch günstigste Konformation innerhalb des Clusters mit der niedrigsten Energie. Diese Konformation ist in Abbildung 36 gezeigt.

Tabelle 4: Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell an *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methyramid.

In der zweidimensionalen Auftragung der minimierten Vakuumkonformationen zeigt sich, dass in allen neun Bereichen Konformationen zu finden sind (Abb. 28). Die in das Ramachandran-Diagramm eingetragenen Punkte liegen sehr dicht beisammen. Die gleichmäßig (systematisch) verteilten Startkonformationen werden somit meist in dieselben lokalen Minima minimiert.

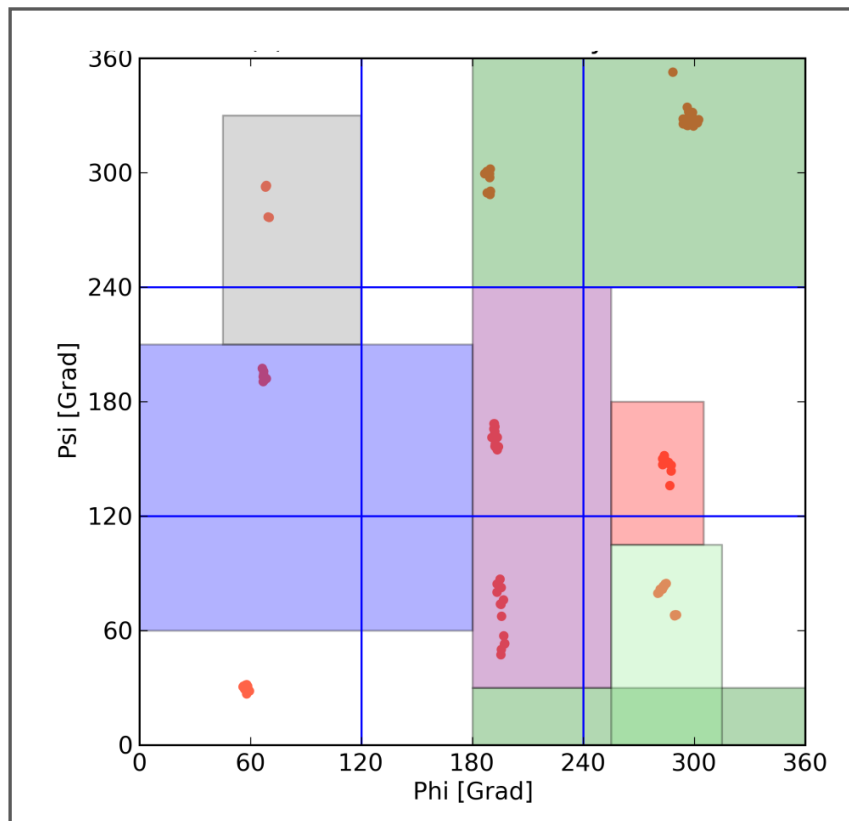


Abb. 28: *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 144  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

Die dreidimensionale Auftragung der gerasterten Datenpunkte von  $ME_{\text{mol}}$  zeigt ein deutliches Maximum im  $\alpha_L$ -Bereich und Minima im  $C_5$ - und  $\delta_R$ -Bereich. Die gerasterte Datenpunktefläche der Konformationsanalyse im Vakuum (Abb. 29) ist verglichen mit der gerasterten  $E_{\text{mol+stab}}$ -Datenpunktefläche (Abb. 32) flacher und die Energieunterschiede zwischen Maxima und Minima sind geringer. Die Barrieren zwischen den flachen Minima sind nur etwa 2 kJ/mol groß. Dies kann seine Ursache darin haben, dass das Molekül zu klein ist, um starke intramolekulare Wasserstoffbrücken, die einen negativen Energiebetrag von ca. 10 kJ/mol beitragen können, auszubilden.

In der zweidimensionalen Verteilung der mit TPA3-Solvatationsmodell minimierten Konformationen ist ohne Berücksichtigung von Energien kein Trend zu erkennen. Es scheint keine Favorisierung einer Konformation vorzuliegen (Abb. 30).

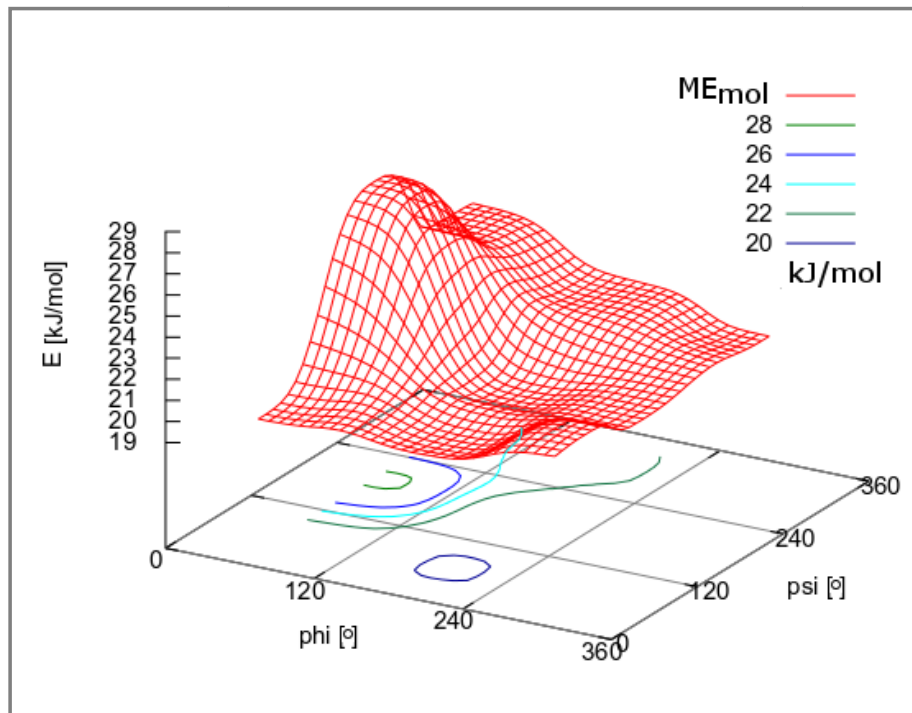


Abb. 29: *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methylamid; 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit gesterter Datenpunktefläche von  $ME_{mol}$  und Konturlinien.

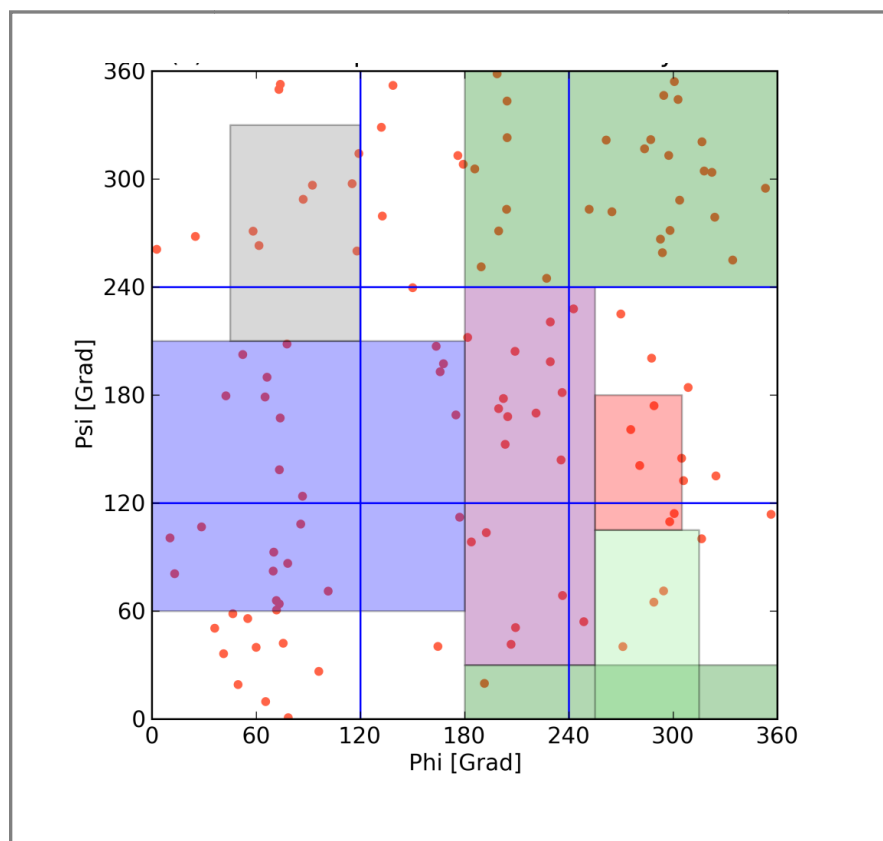


Abb. 30: *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 144  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

Jedoch liegt mit TPA3-Solvatationsmodell eine Stabilisierung der  $\alpha_D$ - und  $\delta_R$ -Konformationen vor. Auch eine Stabilisierung der PPII- und  $\alpha_R$ -Konformation ist in dem Ramachandran-Diagramm mit Konturlinien der gerasterten Datenpunktfäche von  $ME_{stab}$  (Abb. 31) zu erkennen; allerdings fällt diese etwa 10 kJ/mol geringer aus als die Stabilisierungsbeiträge der  $\alpha_D$ - und  $\delta_R$ -Konformationen.

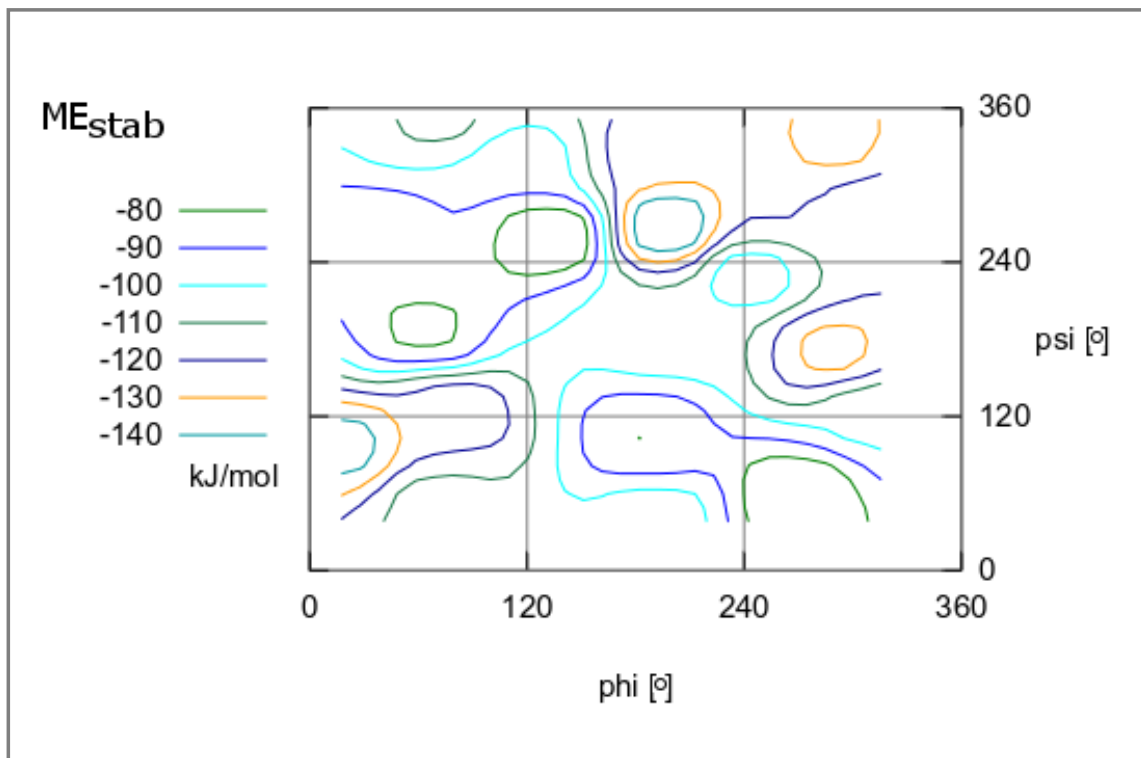


Abb. 31: *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methylamid; Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{stab}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Bei der Beobachtung, dass, die intramolekularen Energiebeiträge ( $E_{mol}$ ) hinzugenommen, die Minima aus Abbildung 31 nicht wiederzufinden sind und der Einfluss der Wassermoleküle in Form von  $E_{stab}$  auf die summierte Energie  $E_{mol+stab}$  im Ramachandran-Diagramm von Abbildung 33 nicht relevant zu sein scheint, ist zu bedenken, dass bei der geringen Anzahl von 144 minimierten Konformationen, die sich auf 20 Cluster verteilen, einige wenige Konformationen bei der statistischen Auswertung stark ins Gewicht fallen. In Abbildung 33 sind die Konturlinien der Energiefläche aus Abbildung 32 im Ramachandran-Diagramm gezeigt.

Es gibt Konformationen, bei denen ungünstige Wechselwirkungen zwischen Peptid und Wassermolekülen während der Minimierung bestehen bleiben können. Beispielsweise können nahe Wassermoleküle eine Deformation der Bindungslängen oder Bindungswinkel des Peptids verursachen, die bis zum Ende der Minimierung bestehen bleibt, wenn der Verband direkter, nächster und übernächster Nachbarn dieser Wassermoleküle sehr

kompakt ist. Durch das Verwerfen einer festen Anzahl ungünstigster Konformationen (30 bei 144 bzw. 200 bei 2304) mit der höchsten Energie werden meist alle diese Konformationen erfasst. Verbleibende Konformationen mit sehr hohen Energien fallen genau wie Konformationen mit sehr niedriger Energie durch die statistische Auswertung mit der Bildung des Medians nicht ins Gewicht, sofern die Cluster groß genug sind. Konformationen mit sehr niedrigen Energien können dann auftreten, wenn überdurchschnittlich viele Wasserstoffbrücken zum Peptid gebildet werden. Während durch das Verwerfen Konformationen mit Energien etwa 1 – 3 Zehnerpotenzen größer als der Median verworfen werden, unterscheiden sich die in die Medianbildung eingehenden Werte nur in derselben Zehnerpotenz. Mit nur drei Werten muss dieser Unterschied jedoch bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden.

Wie vorsichtig bei der Interpretation der Konformationsanalysen mit nur 144 Konformationen vorgegangen werden muss, zeigt eine nähere Betrachtung des Clusters, der für das globale Minimum auf der gerasterten Datenpunktefläche von  $E_{\text{mol+stab}}$  in Abbildung 32 bei einer Energie von ca. -30 kJ/mol verantwortlich ist. Dieser Cluster enthält nur drei Konformationen. Hätte man anstatt des Medians den Mittelwert dieser Clusters zur Auftragung herangezogen, ergäbe sich nur eine Energie von -14 kJ/mol mit einer Standardabweichung von  $\pm 38$  kJ/mol.

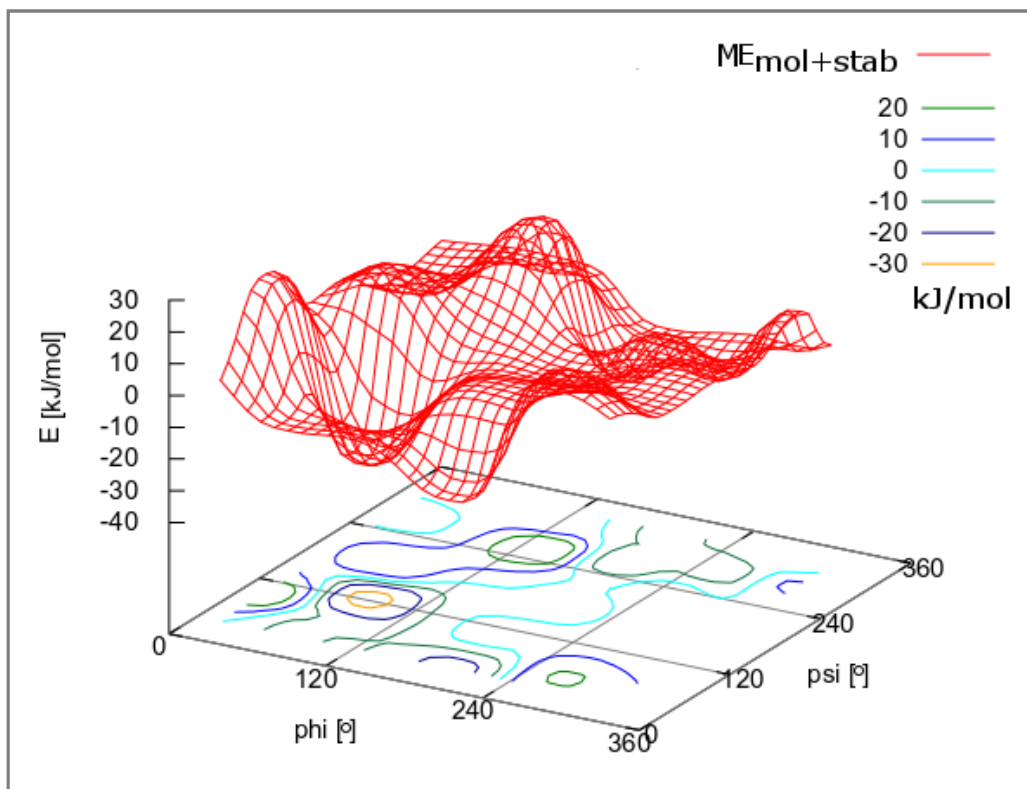


Abb. 32: *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methylamid; 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind farbig die Konturlinien eingezeichnet.

Die Konformationsanalyse an *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methylamid ist aufgrund der geringen Anzahl von 144 Startkonformationen mit der angewandten statistischen Auswertungsmethode, wobei es wie zuvor dargelegt zu Clustern mit nur wenigen Konformationen kommt, mit großen Unsicherheiten verbunden. Da die Gestalt der Solvathülle durch den Aufbau aus Wasserboxen für Moleküle mit Konformationen gleicher oder ähnlicher Ausdehnung immer die Gleiche ist, wären mit kleineren Schrittweiten oder mehreren Minimierungen der gleichen Konformationen keine Verbesserungen der statistischen Aussagekraft verbunden. Es würden lediglich mehrmals dieselben Ausreißer erhalten werden.

An weiteren doppelt geschützten Aminosäuren wurden analoge Konformationsanalysen durchgeführt. Die Ramachandran-Diagramme sind im Anhang (Kapitel 10) gezeigt.

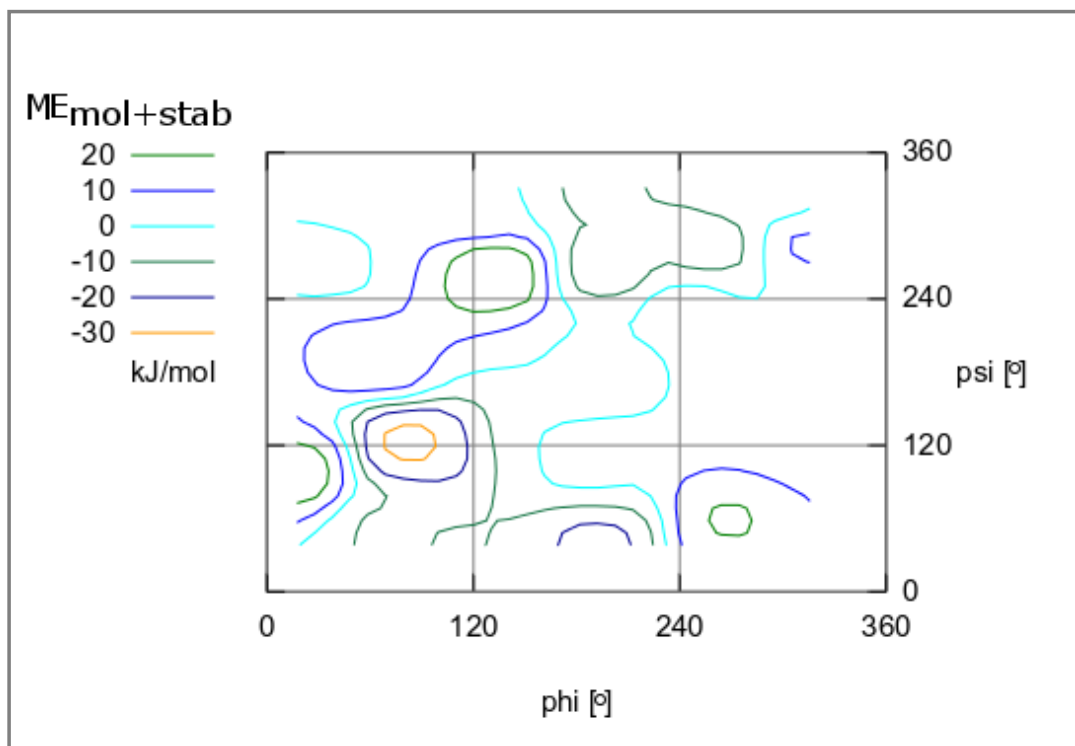


Abb. 33: *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methylamid; Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Die AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Modell zeigt, mit Ausnahme der  $C_5$ -Region, eine nahezu gleichmäßige Verteilung der minimierten Konformationen im Ramachandran-Diagramm. In der  $C_5$ -Region sind deutlich weniger Konformationen zu finden. Der  $\phi$ -Bereich von ca.  $160^\circ$  bis ca.  $260^\circ$  und der  $\psi$ -Bereich von ca.  $160^\circ$  bis  $230^\circ$  enthält überhaupt keine Konformationen (Abb. 34).



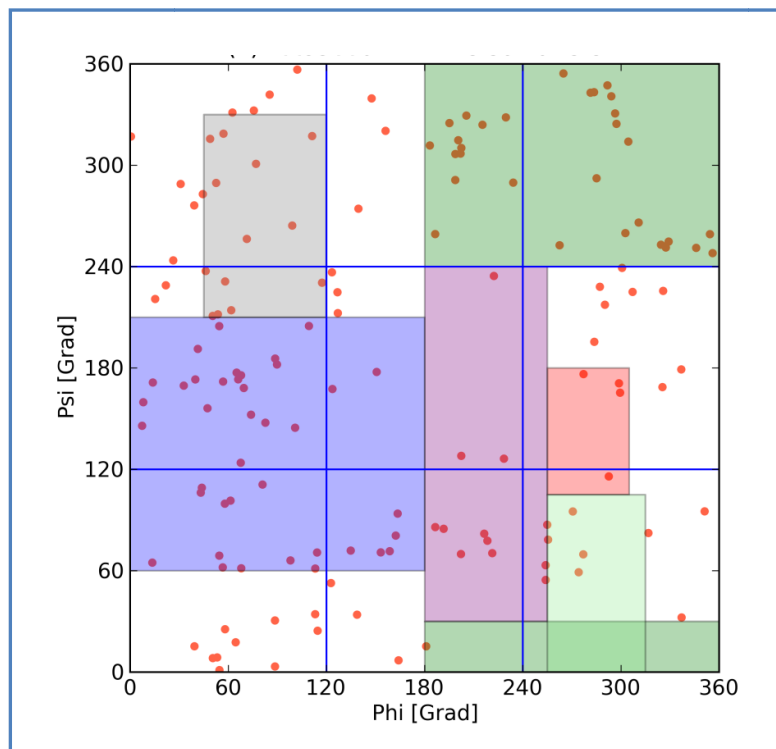


Abb. 34: *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 144  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

Auch das Säulendiagramm der absoluten Häufigkeiten einer Konformation zeigt, dass in dem genannten Bereich keine minimierten Konformationen vorliegen. (Abb. 35).

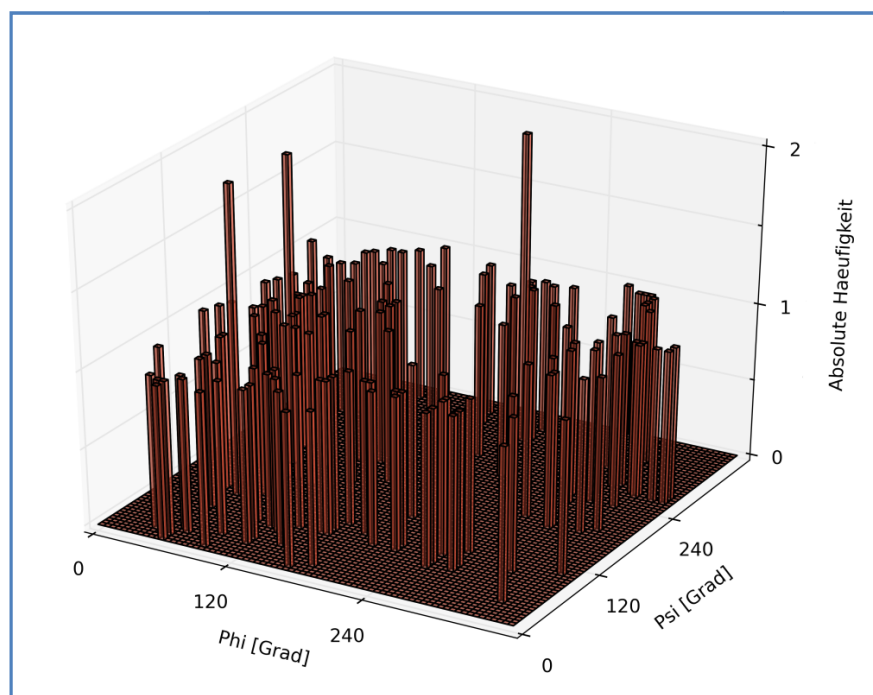


Abb. 35: *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methylamid; AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell. 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen

Abbildung 36 zeigt die Konformation mit der niedrigsten Energie des Clusters aus der  $\alpha$ -helikalen Region mit den an Wasserstoffbrücken beteiligten umgebenden Wassermolekülen. Es sind nur Wassermoleküle mit Wasserstoffbrücken von einem negativen Energiebetrag größer als 3 kJ/mol gezeigt.

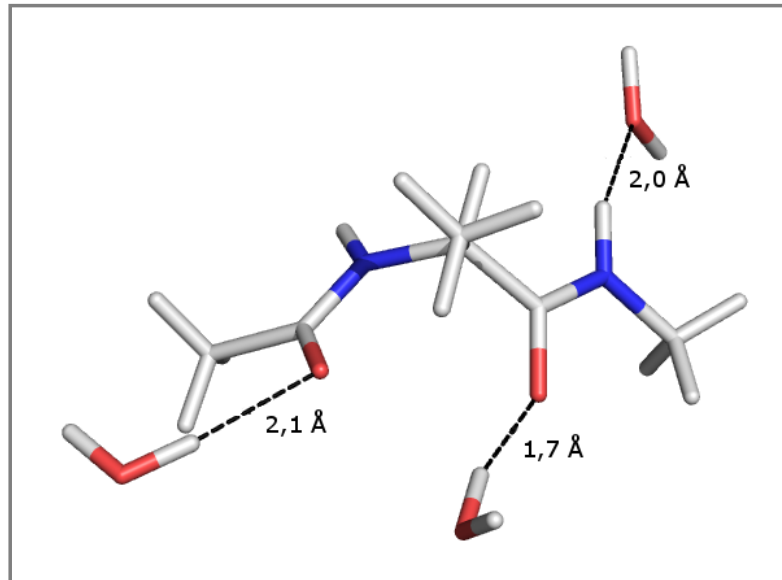


Abb. 36: *N*-Acetyl-L-alanin-*N*-methylamid in der energetisch günstigsten Konformation des Clusters mit der niedrigsten Energie aus dem  $\alpha_D/\alpha_L$ -Bereich und Wassermoleküle, die an Wasserstoffbrücken stärker als 3 kJ/mol beteiligt sind. Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben.  $\varphi = 85,8^\circ$ ;  $\psi = 108,5^\circ$ ;  $E_{\text{mol+stab}} = -32,0$  kJ/mol

## 7.2 *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methyramid

### 7.2.1 Winkelpaar $\varphi_1 / \psi_1$

Das geschützte Dialaninpeptid *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methyramid wurde einer Konformationsanalyse mit MOMO (im Vakuum und mit TPA3-Solvatationsmodell) sowie mit AMBER11 (mit TIP3P-Solvatationsmodell) unterzogen. In Abbildung 37 ist dieses Peptid mit den variierten Torsionswinkeln,  $\varphi_1$ ,  $\psi_1$ ,  $\varphi_2$  und  $\psi_2$  gezeigt. Die mit der Konformationsanalyse erhaltenen Rohdaten wurden für  $\varphi_1 / \psi_1$  und für  $\varphi_2 / \psi_2$  separat ausgewertet. Die für die Konformationsanalysen relevanten Werte sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

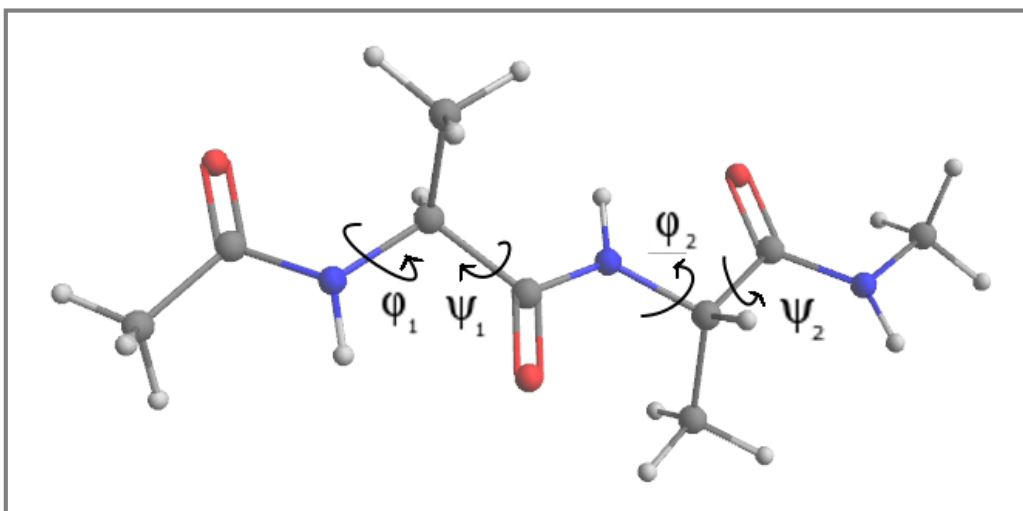


Abb. 37: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methyramid mit den vier variierten Torsionswinkeln  $\varphi_1$  und  $\varphi_2$  sowie  $\psi_1$  und  $\psi_2$ .

	$\varphi_1$	$\psi_1$	$\varphi_2$	$\psi_2$
<i>Schrittweiten</i>	60°	60°	60°	60°
<i>Anzahl Konformationen</i>	1269			
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 0		AMBER11: 75	
<i>Clusteranzahl</i>	$\varphi_1 / \psi_1$ : 25		$\varphi_2 / \psi_2$ : 23	
$E_{\text{mol+stab}}^{\#} \varphi_1 / \psi_1$ (Cluster)	-40,1 kJ/mol (12)	-50,7 kJ/mol (22)	-36,7 kJ/mol (24)	
$E_{\text{mol+stab}}^{\#} \varphi_2 / \psi_2$	-49,6 kJ/mol			
<i>aussortierte Cluster</i>	Nr. 10 (drei Werte enthalten, auffällig große Energiebeträge)* Nr. 16 (zwei Werte enthalten, auffällig große Energiebeträge)*			

\*Winkelpaar 1

# Energetisch günstigste Konformationen innerhalb der Cluster mit der niedrigsten Energie. Diese Konformationen sind in den Abbildungen 49, 50, 51 und 60 gezeigt. In Klammer sind die Clusternummern angegeben, welche auch in den Abbildungen 44 und 45 eingezeichnet sind.

Tabelle 5: Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell an *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid.

Die statistische Auswertung der Energien mit der Bildung des Medians eines jeden Clusters führt hier mit mehr als 1000 Konformationen zu zuverlässigeren Ergebnissen.

In der zweidimensionalen Auftragung der  $\varphi_1/\psi_1$ -Winkelpaarungen im Vakuum sind zwar starke Häufungen in jeder Strukturregion zu erkennen (Abb. 38), jedoch wird mit der dreidimensionalen Auswertung der Häufigkeiten (Abb. 39) deutlich, dass im Vakuum die  $\gamma$ -Turn-Konformationen  $C_7^{\text{eq}}$  und  $C_7^{\text{ax}}$  am häufigsten eingenommen werden. Die beiden größten Säulen im Säulendiagramm der Häufigkeiten einer  $\varphi_1/\psi_1$ -Konformation liegen in diesen Bereichen.

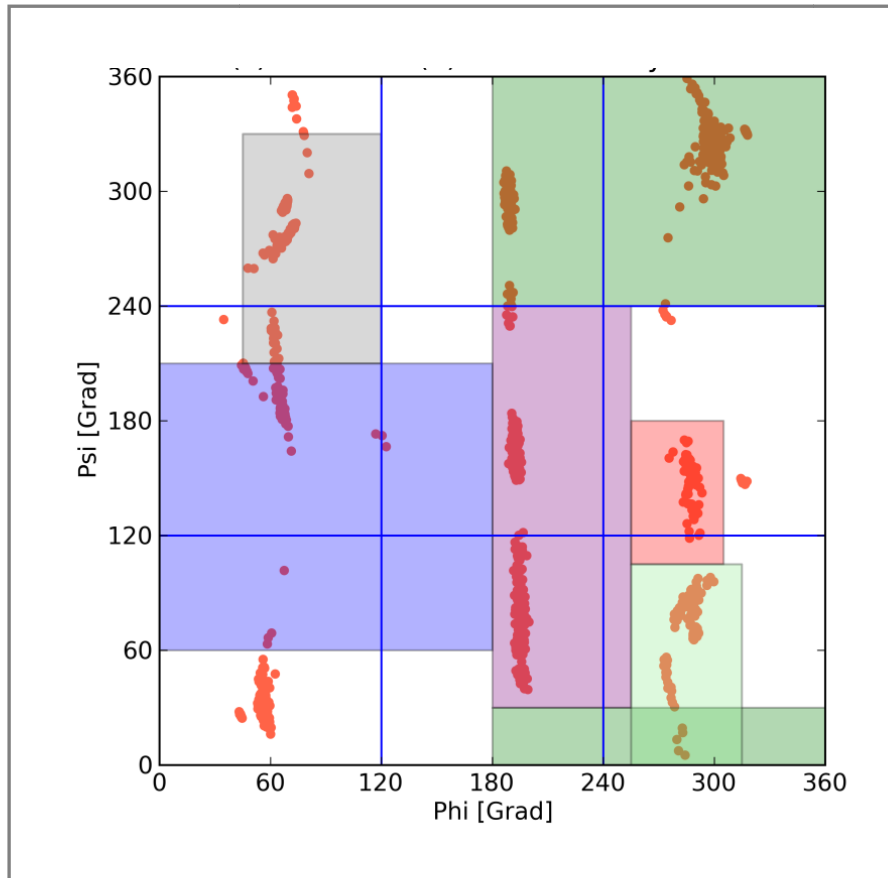


Abb. 38: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 1269  $\phi_1/\psi_1$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

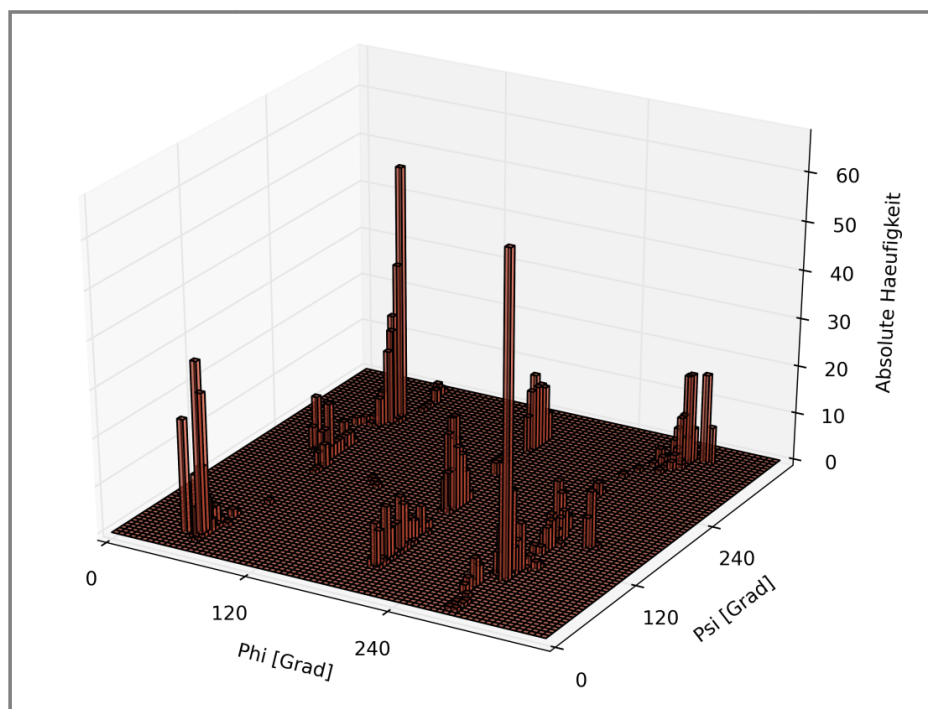


Abb. 39: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi_1/\psi_1$ -Paarungen der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum.

Die Häufigkeiten aus Abbildung 39 folgen jedoch nicht zwangsläufig dem Trend der sterischen Energien der Vakuumskonformationsanalyse. Denn insbesondere  $\beta$ -Faltblattkonformationen sind Teil eines breiten Minimums der Energie  $ME_{\text{mol}}$ , das sich von PPII über  $C_5$  und  $\delta_R$  nach  $\alpha_D$  erstreckt (Abb. 41). Abgesehen von den beiden Maxima im  $\alpha_R$ - und  $\alpha_L$ -Bereich sind die Energieunterschiede zwischen den Strukturregionen jedoch sehr gering. Die Abweichungen deuten darauf hin, dass Minimierungen, die mit Startkonformationen in den ungünstigen  $\alpha_L$ - oder  $\alpha_R$ -Regionen beginnen, meist zu  $C_7^{\text{eq}}$ - oder  $C_7^{\text{ax}}$ -Konformationen führen. Tatsächlich wird mit der Sichtung entsprechender Trajektorien deutlich, dass bei der Minimierung hin zu den besagten Konformationen schon früh intramolekulare Wasserstoffbrücken gebildet und bis zum Ende der Minimierung erhalten bleiben. Der sich damit ergebende Minimierungspfad auf der Potentialhyperfläche führt dann zu dem lokalen Minimum  $C_7^{\text{eq}}$  oder  $C_7^{\text{ax}}$  und nicht zu den Konformationen im globalen Minimum. Die energetisch günstigsten Konformationen der Cluster in den  $C_7^{\text{eq}}$ - und  $C_7^{\text{ax}}$ -Bereichen sind in Abbildung 40 gezeigt.

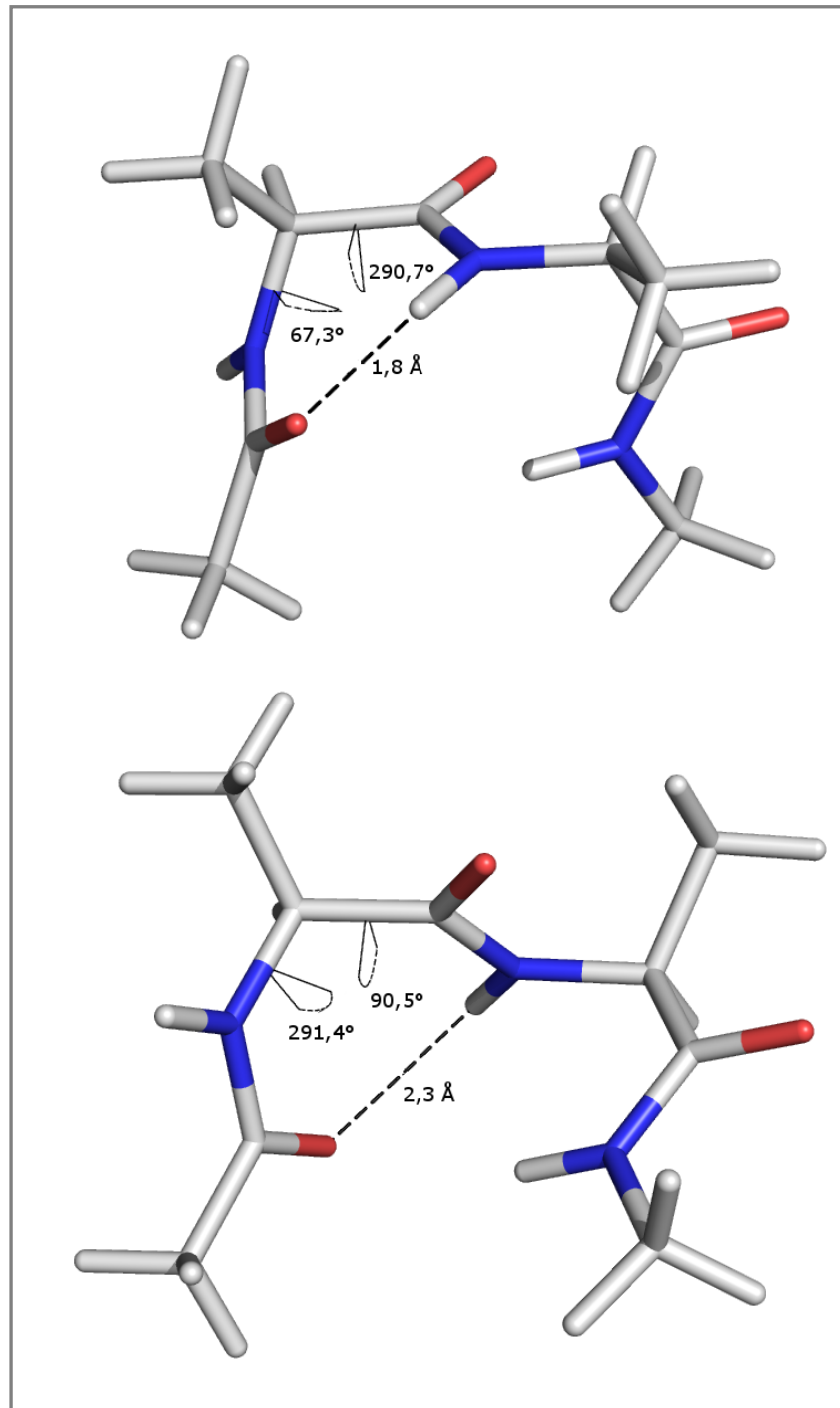


Abb. 40: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; energetisch günstigste Vakuum-Konformationen des Clusters aus dem  $C_7^{ax}$ -Bereich (oben) und  $C_7^{eq}$ -Bereich (unten). Die Längen der intramolekularen Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben und die Torsionswinkel  $\varphi_1 / \psi_1$  in  $^\circ$ .  $E_{mol}$  der Konformationen in kJ/mol: 26,1 (oben), 23,1 (unten);  $E_{HB}$  in kJ/mol: 1,8 (oben), 2,9 (unten).

Damit wird die in der Einleitung angesprochene Notwendigkeit eines (zu Wasserstoffbrücken fähigen) Solvationsmodells deutlich. Um ein Gegengewicht zu intramolekularen Wasserstoffbrücken zu etablieren, ist ein solches Solvationsmodell notwendig, damit Konformationen von Biomolekülen (und anderen zu intramolekularen

Wasserstoffbrücken fähigen Molekülen) in wässriger Lösung richtig und genau vorhergesagt werden können.

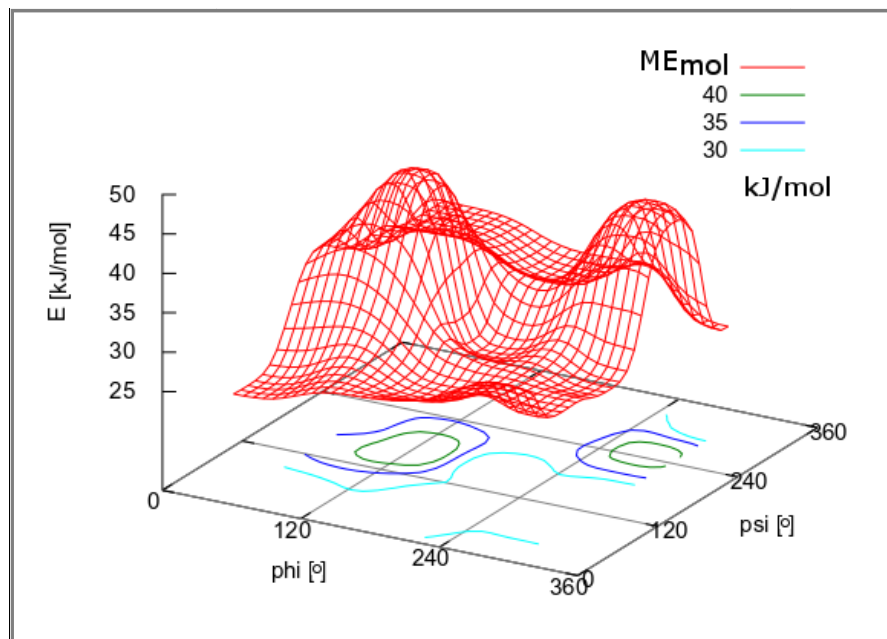


Abb. 41: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit gerasterter Datenpunktoberfläche von  $ME_{mol}$  (rot) und Konturlinien.

In der Verteilung der mit TPA3-Solvatationsmodell minimierten Konformationen ist eine leichte Häufung in und um die PPII-Region zu erkennen.  $\alpha$ -helikale Konformationen sind ebenfalls stark vertreten (Abb. 42). Das Säulendiagramm der Häufigkeiten minimierter Konformationen verdeutlicht dies (Abb. 43).

Des Weiteren zeigt sich, dass die systematische Verteilung der Startkonformationen nach der Minimierung nicht mehr gegeben ist. Insbesondere in den Bereichen  $\phi$  kleiner ca.  $50^\circ$  und  $\phi$  größer ca.  $300^\circ$  sind nach der Minimierung kaum Konformationen angesiedelt. Die Funktion des Minimizers ist somit auch mit Solvatationsmodell gegeben.



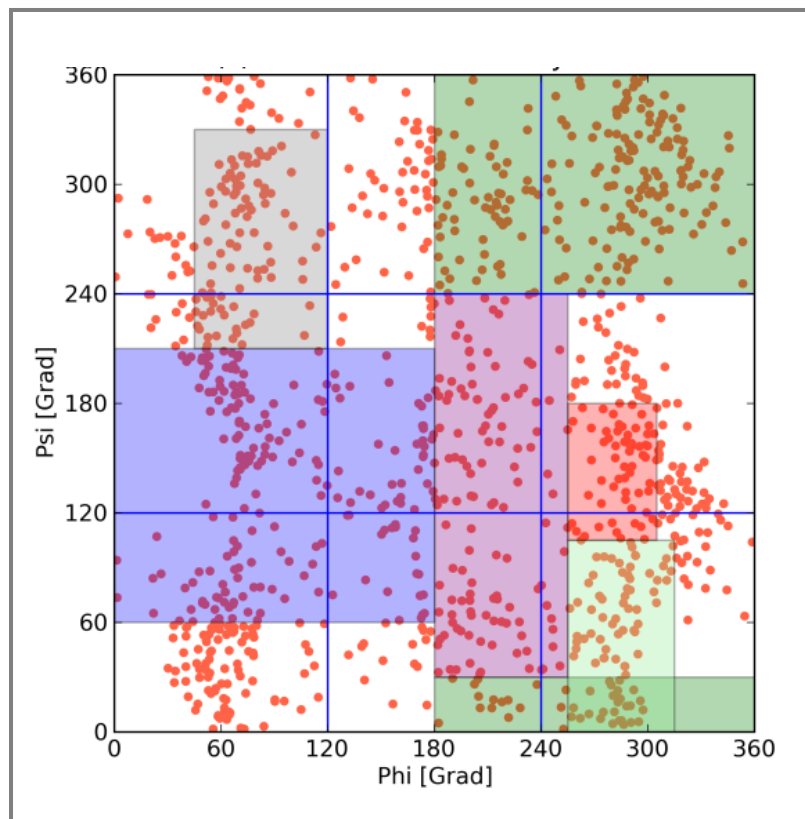


Abb. 42: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 1269 Winkelpaarungen des Winkelpaars 1 eingetragen.

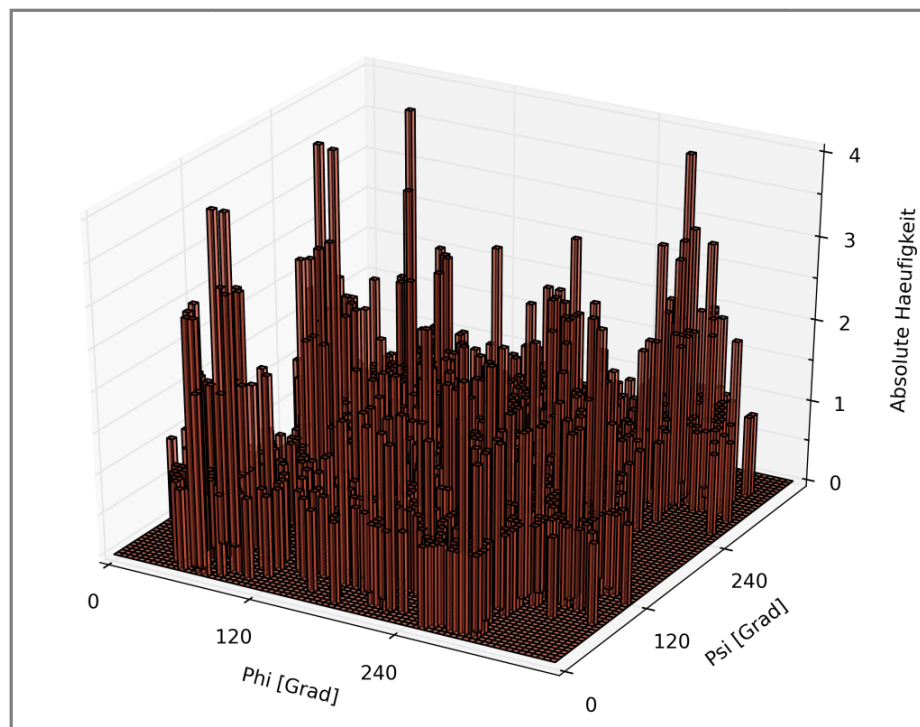


Abb. 43: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi_1/\psi_1$ -Paarungen bei der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell.

Die sich mit dem Rastern der Datenpunkte ergebende Energiefläche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  zeigt Minima in der PPII- und  $\beta$ -Faltblatt-Region. In welche der beiden Regionen das globale Minimum fällt, kann nicht festgelegt werden, da die Energien nahezu identisch sind (Abb. 44 und 45).

Dies deckt sich mit den experimentellen Ergebnisse der NMR-Untersuchungen von Hagarman *et al.* [111] bezüglich des Auffindens der PPII-Konformation als Minimum. Die Tatsache, dass zwei weitere Minima im  $\beta$ -Faltblattbereich auf der gerasterten Datenpunktefläche auftreten und somit sowohl  $\beta$ -Faltblatt-Konformationen ( $C_5$ ) und PPII-Konformationen in Wasser in gleichem Maße begünstigt zu sein scheinen, deckt sich jedoch vor allem mit den Ergebnissen von Eker *et al.* [110].

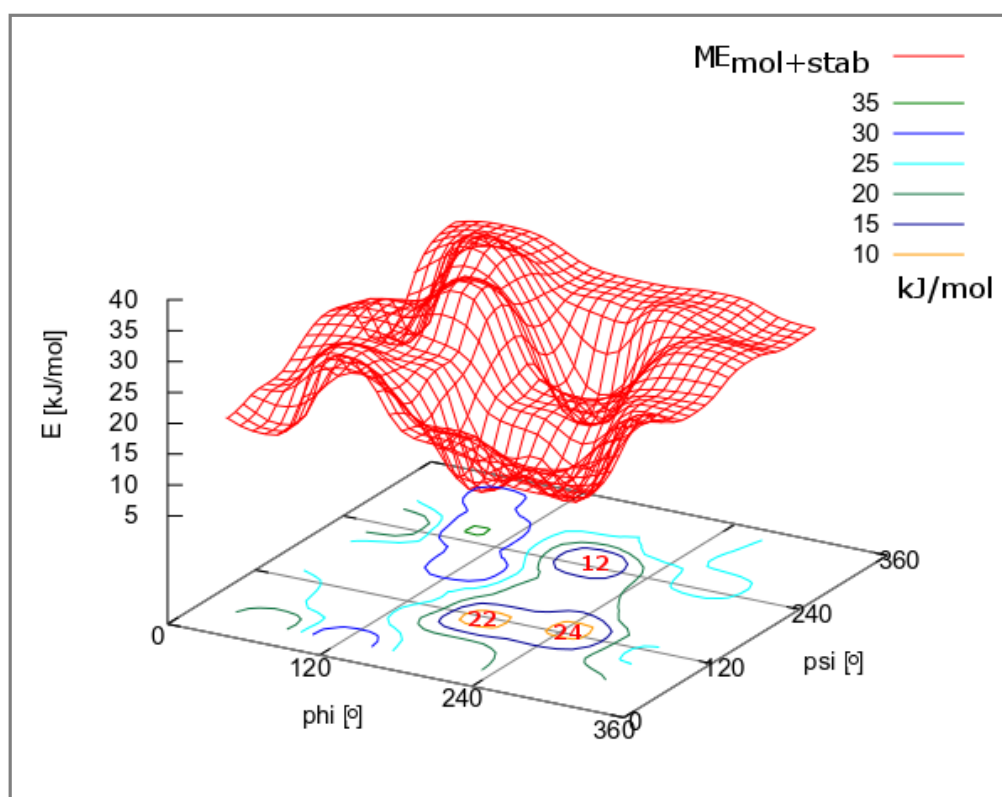


Abb. 44: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Daten-punktefläche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind farbig die Konturlinien und Clusternummern eingezeichnet.

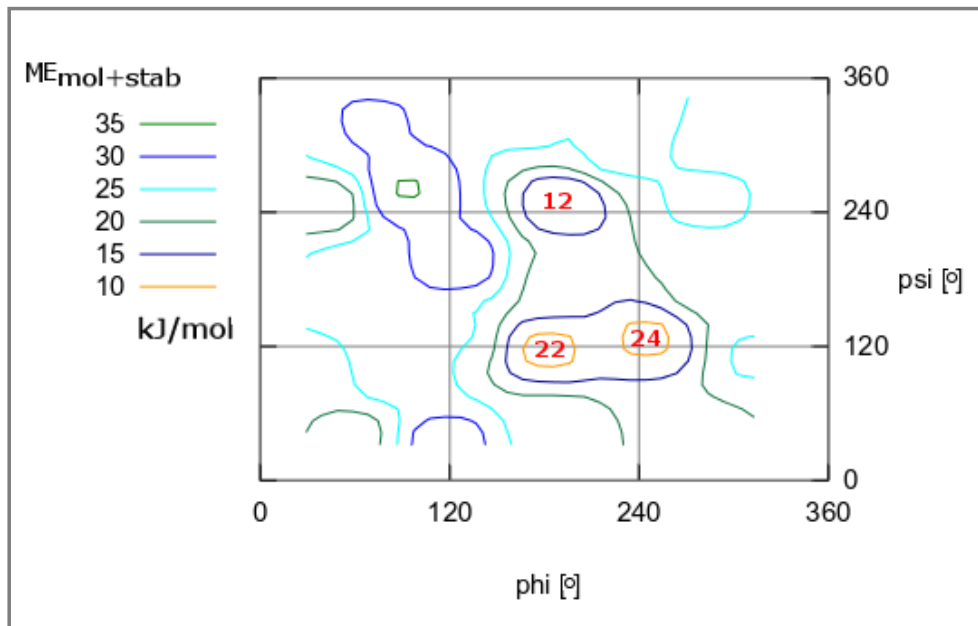


Abb. 45: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$  und Clusternummern. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Abbildung 46 zeigt die Konturlinien der gerasterten Datenpunktfäche von  $ME_{\text{stab}}$ . Die dort auftretenden Minima fallen nahezu exakt mit den Minima aus Abbildung 45 zusammen. Da  $E_{\text{stab}}$  in  $E_{\text{mol+stab}}$  eingeht und in Abbildung 41, die die Energiefläche von  $E_{\text{mol}}$  zeigt, keine vergleichbaren Minima an dieser Stelle zu finden sind, wird klar, dass der stabilisierende Beitrag des Wasser in Form von  $E_{\text{stab}}$  für die Minima in Abbildung 45 ( $E_{\text{mol+stab}}$ ) verantwortlich sein muss. Der Einfluss der umgebenden Wassermoleküle ist somit ausschlaggebend für die (PPII- und  $\beta$ -Faltblatt-)Konformation des Dialanin-Peptids in Lösung.

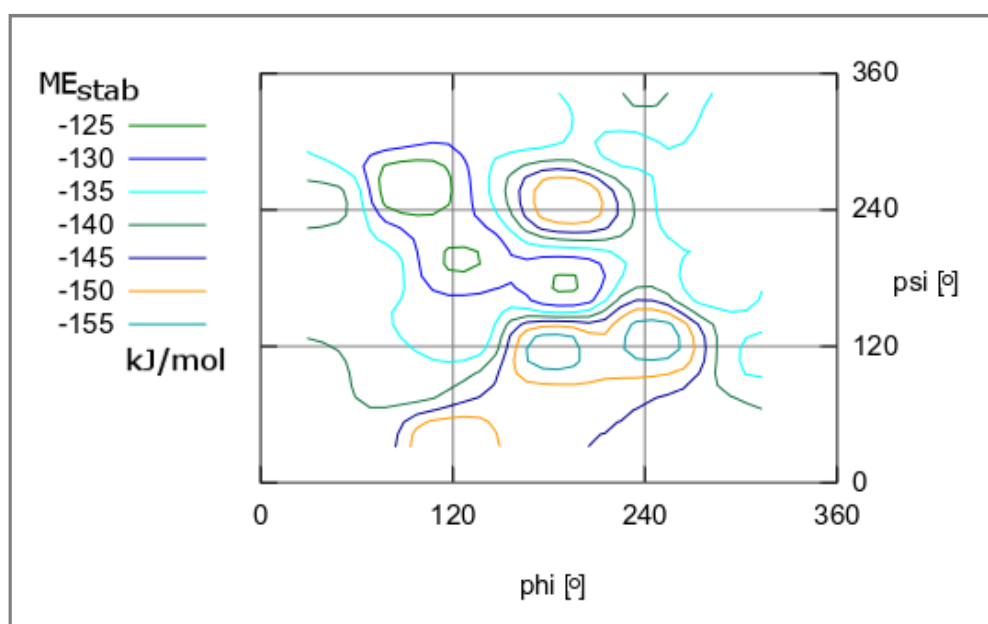


Abb. 46: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Die vergleichende Konformationsanalyse mit AMBER11 und TIP3P-Solvatationsmodell führt für bis auf fünf von 1194 Konformationen ausschließlich zu  $\alpha_L$ -,  $C_5$ - und PPII-Konformationen. Abbildung 47 zeigt die Verteilung der  $\phi/\psi$ -Werte im Ramachandran-Diagramm. Welche Konformation aus diesen drei energetisch bevorzugt ist, lässt sich aufgrund der mit AMBER11 nicht zugänglichen (Energie-)Informationen über Wechselwirkungen des Peptids mit Wassermolekülen nicht angeben. Am häufigsten werden jedoch  $\alpha_L$ -Konformationen eingenommen (Abb. 48). Dass keine 1269, abzüglich 75 fehlerhafte, Punkte zu erkennen sind, liegt daran, dass viele  $\phi/\psi$ -Werte exakt gleich sind und in der zweidimensionalen Auftragung daher nicht zu unterscheiden sind. Dies ist, bedenkt man den Wassereinfluss, erstaunlich, jedoch auch immer wieder bei den folgenden AMBER11-Minimierungen mit TIP3P-Solvatationsmodell der Fall.

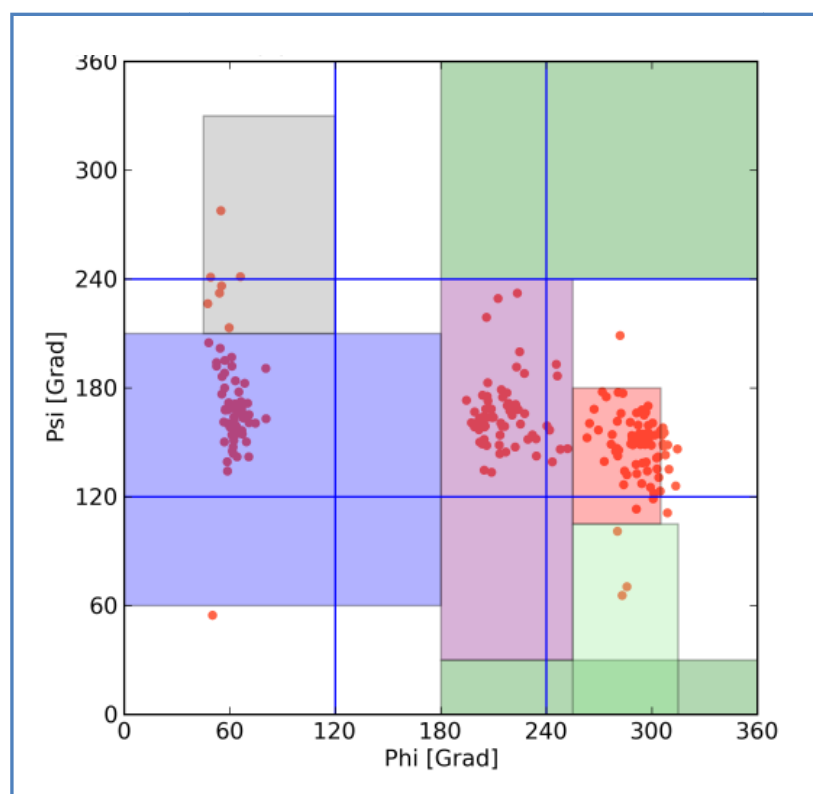


Abb. 47: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 1194  $\phi_1/\psi_1$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

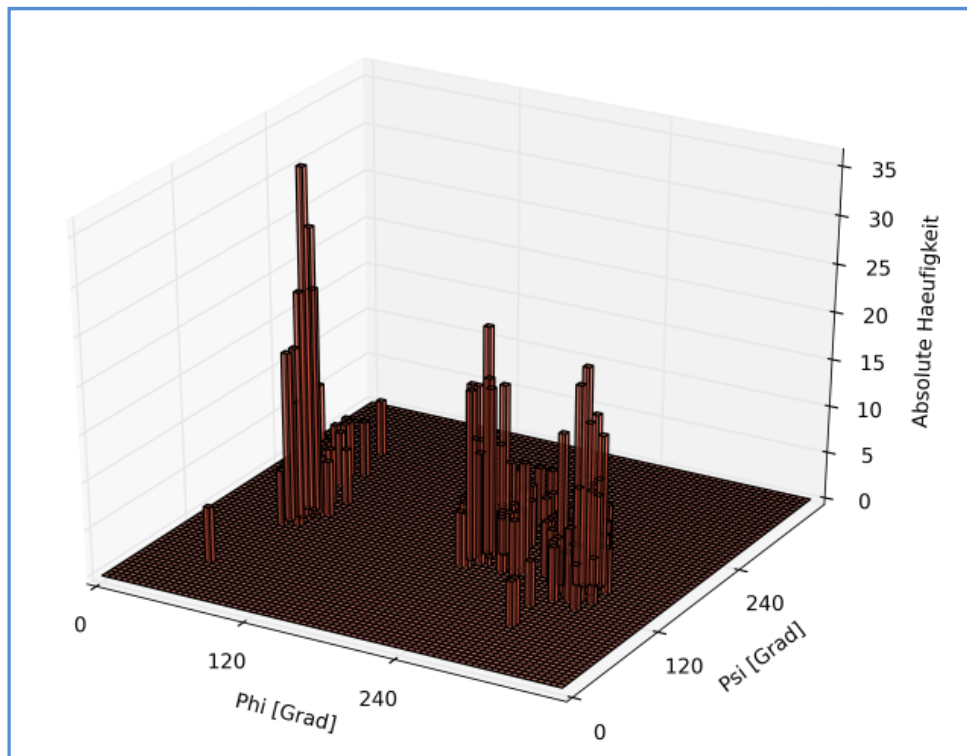


Abb. 48: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi_1/\psi_1$ -Paarungen der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell.

Die energetisch günstigsten Konformationen aus den drei Clustern mit der niedrigsten Energie sind mit den an Wasserstoffbrücken beteiligten Wassermolekülen in den Abbildungen 49, 50 und 51 gezeigt. Es sind nur Wasserstoffbrücken mit einem negativen Energiebetrag von mehr als 3 kJ/mol abgebildet

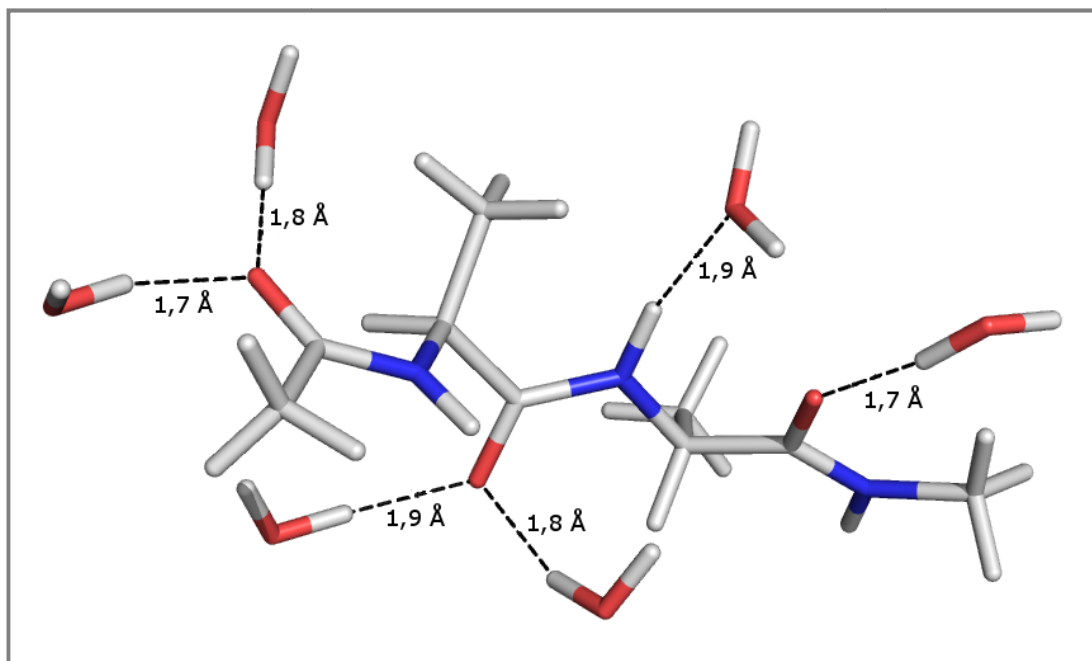


Abb. 49: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid in der energetisch günstigsten Konformation Clusters 12 aus dem  $C_5/\delta_L$ -Bereich und Wassermoleküle, die an Wasserstoffbrücken stärker als 3 kJ/mol beteiligt sind. Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben.  $\phi_1 = 195,5^\circ$ ,  $\psi_1 = 259,0^\circ$ ;  $\phi_2 = 133,8^\circ$ ,  $\psi_2 = 137,6^\circ$ ;  $E_{\text{mol+stab}} = -40,0$  kJ/mol

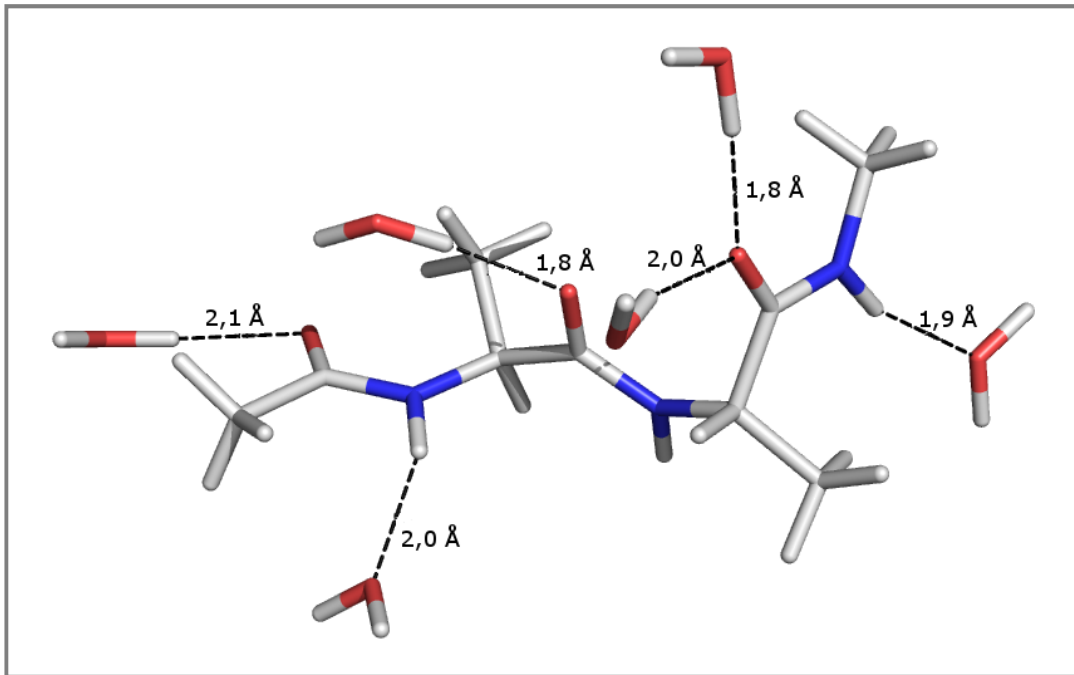


Abb. 50: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid in der energetisch günstigsten Konformation des Clusters 22 aus dem  $C_5/\delta_R$ -Bereich und Wassermoleküle, die an Wasserstoffbrücken stärker als 3 kJ/mol beteiligt sind. Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben.  $\varphi_1 = 152,3^\circ$ ,  $\psi_1 = 110,7^\circ$ ;  $\varphi_2 = 307,2^\circ$ ,  $\psi_2 = 277,8^\circ$ ;  $E_{\text{mol+stab}} = -50,7$  kJ/mol

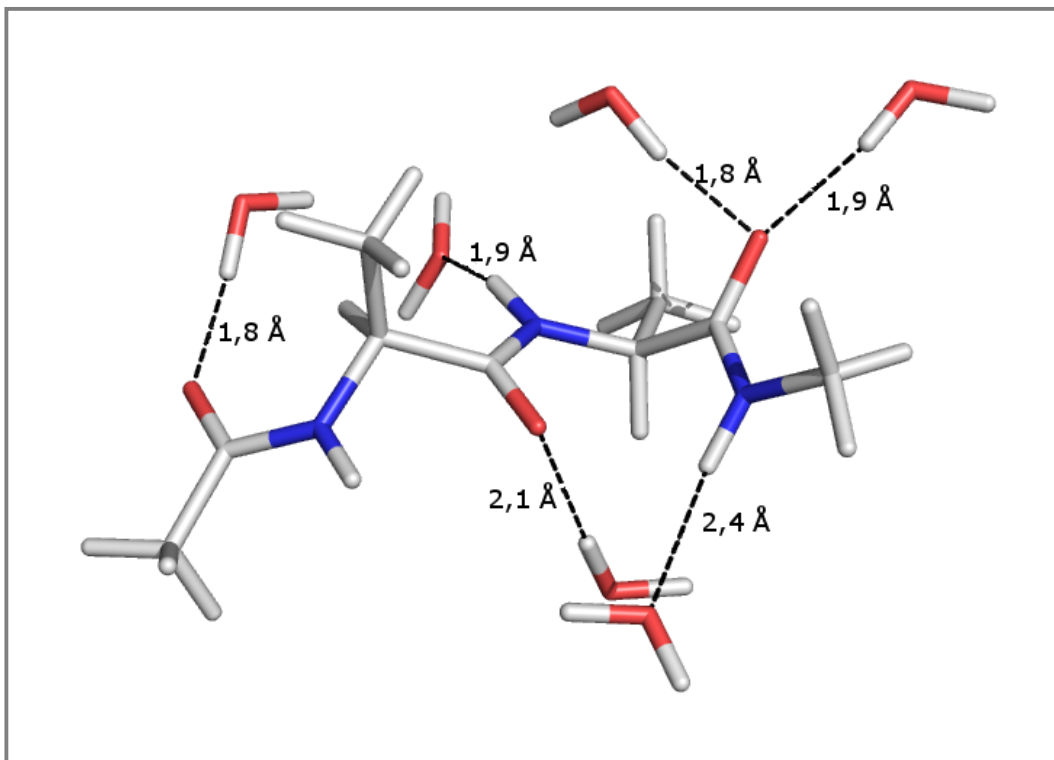


Abb. 51: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid in der energetisch günstigsten Konformation des Clusters 24 aus dem  $C_5/\text{PPII}$ -Bereich und Wassermoleküle, die an Wasserstoffbrücken stärker als 3 kJ/mol beteiligt sind. Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben.  $\varphi_1 = 227,4^\circ$ ,  $\psi_1 = 137,1^\circ$ ;  $\varphi_2 = 303,5^\circ$ ,  $\psi_2 = 89,2^\circ$ ;  $E_{\text{mol+stab}} = -36,7$  kJ/mol

7.2.2 Winkelpaar  $\varphi_2 / \psi_2$ 

In der zweidimensionalen Verteilung der Vakuumkonformationen von  $\varphi_2 / \psi_2$  (Abb. 52) zeigt sich derselbe Trend wie in der Verteilung von  $\varphi_1 / \psi_1$ . Die  $\varphi_2/\psi_2$ -Werte sind sogar etwas stärker gehäuft als die  $\varphi_1/\psi_1$ -Werte. Obwohl es in der zweidimensionalen Verteilung so scheint, als würden viele Konformationen in  $\beta$ -Faltblatt- und PPII-Konformationen vorliegen, zeigt die dreidimensionale Darstellung der Häufigkeiten, dass auch hier wieder die  $\gamma$ -Turn-Konformationen  $C_7^{eq}$  und  $C_7^{ax}$  am häufigsten eingenommen werden (Abb. 53).

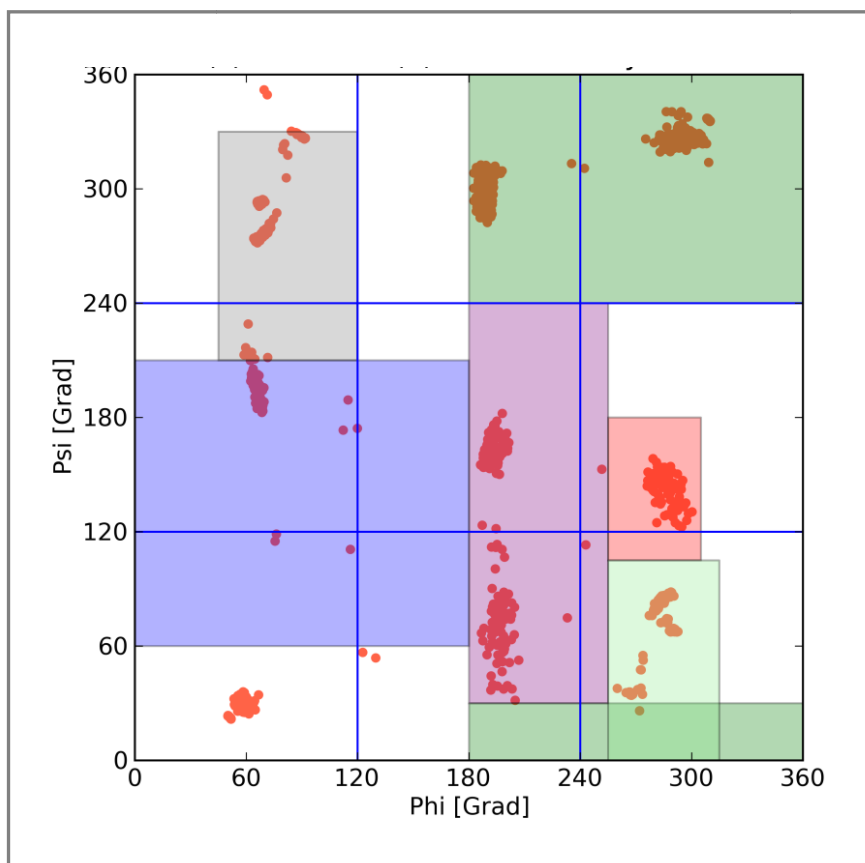


Abb. 52: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 1269  $\varphi_2/\psi_2$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.



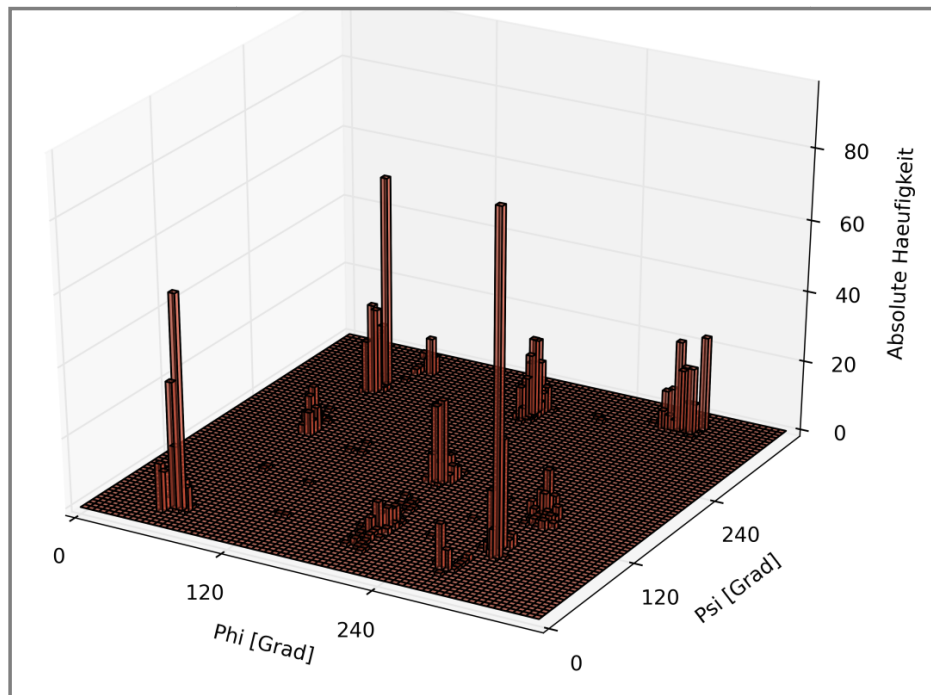


Abb. 53: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 3D-Säulendiagramm der MOMO-Häufigkeiten von  $\varphi_1/\psi_1$ -Paarungen der Konformationsanalyse im Vakuum.

Das Maximum im  $\alpha$ -helikalen Bereich auf der gerasterten Datenpunktoberfläche von  $ME_{\text{mol}}$  (Abb. 54) trat ebenfalls schon in Abbildung 41, welche die  $ME_{\text{mol}}$ -Fläche der  $\varphi_1/\psi_1$ -Winkelpaare zeigt, auf. Das zweite Maximum fehlt bei dem Winkelpaar  $\varphi_2/\psi_2$  jedoch. Für Winkel  $\varphi$  größer  $120^\circ$  sind nur sehr flache und breite Minima vorhanden. In der PPII-Region ist kein Minimum erkennbar.

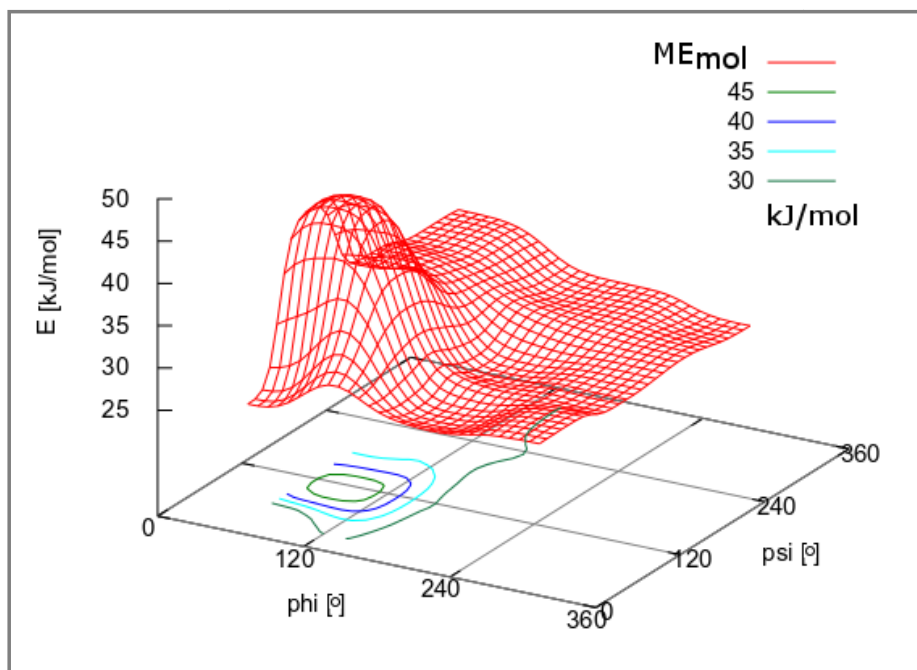


Abb. 54: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit gerasteter Datenpunktoberfläche von  $ME_{\text{mol}}$  und Konturlinien.



In der Verteilung der minimierten Konformationen mit Solvationsmodell (Abb. 55) und dem Säulendiagramm der Häufigkeiten (Abb. 56) ist kein Trend auszumachen.

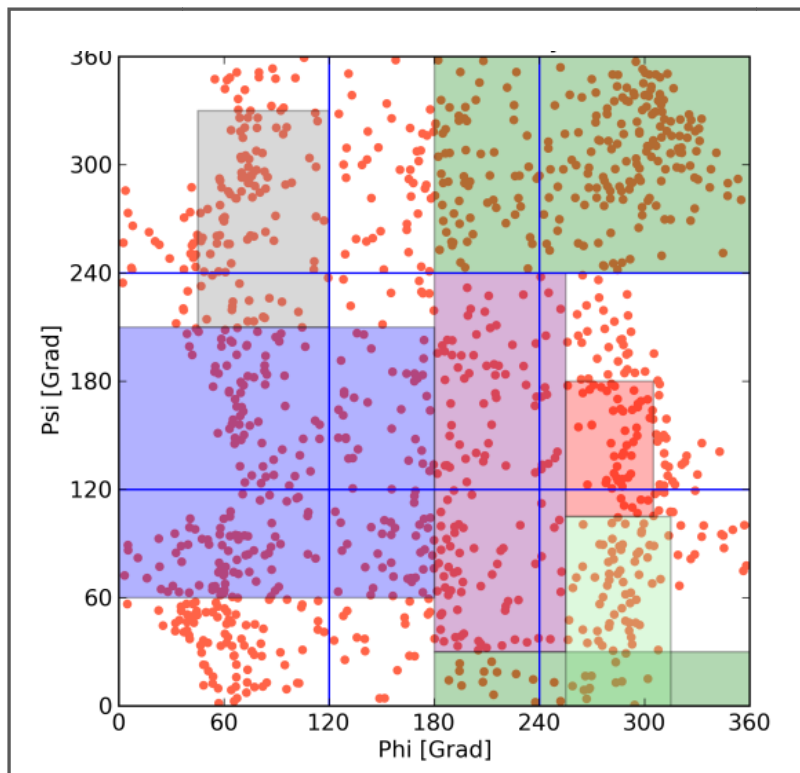


Abb. 55: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 1269 Winkelpaare des Winkelpaares  $\varphi_2 / \psi_2$  eingetragen.

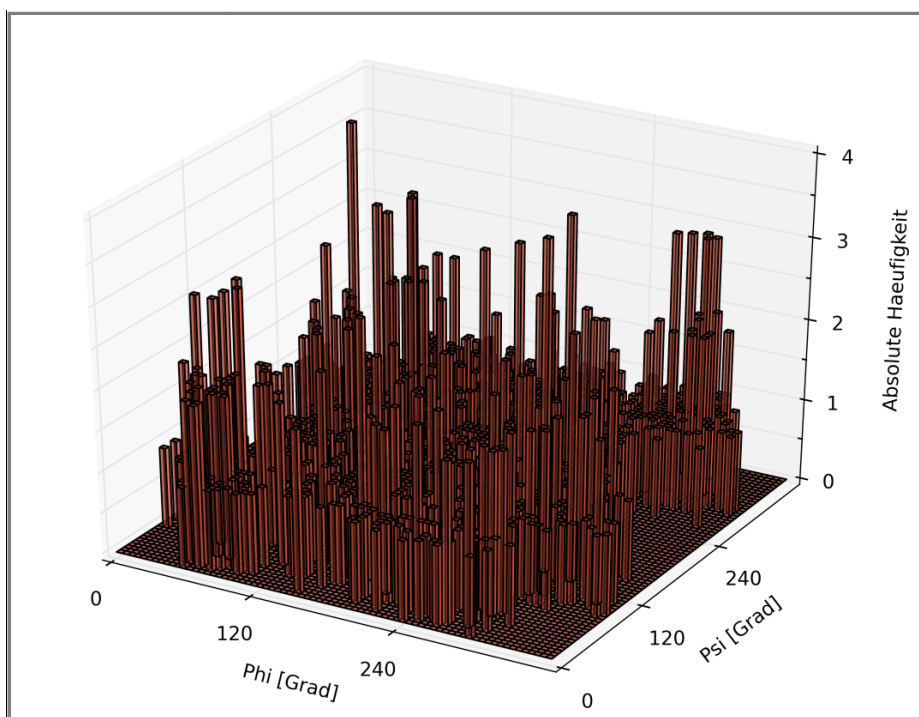


Abb. 56: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\varphi_2/\psi_2$ -Paarungen bei der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvationsmodell.

Jedoch zeigt die Betrachtung der Energie  $E_{\text{mol+stab}}$  eine deutliche Favorisierung der PPII-Struktur, die auf den Beitrag von  $E_{\text{stab}}$  zurückgeht. In dem dreidimensionalen Ramachandran-Diagramm (Abb. 57) ist auf der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  das globale Minimum im Bereich der PPII-Struktur mit  $\varphi \approx 300^\circ / \psi \approx 160^\circ$  gut zu erkennen. Es liegt etwa 10 kJ/mol niedriger als das nächsthöhere Minimum in der  $\alpha_R$ -Region und 15 kJ/mol niedriger als das breite Minimum der  $\beta$ -Faltblatt- und der  $\alpha_L$ -Region und ist in dem Ramachandran-Diagramm mit den Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$  gut zu erkennen (Abb. 58).

Die größten Energien liegen im Bereich von 55 kJ/mol, womit die Energiedifferenzen von 10 kJ/mol und 15 kJ/mol durchaus als signifikant zu bezeichnen sind. Abbildung 59 zeigt, dass dies auf die Beiträge des Solvationsmodells in Form von  $E_{\text{stab}}$  zurückzuführen ist. Ein breites Minimum erstreckt sich von  $\alpha_R$  über PPII /  $\gamma_{\text{inv}}$  nach  $\alpha_L$ , erkennbar an den dunkelblauen Konturlinien. Die beiden tiefsten Minima mit den größten Stabilisierungsbeiträgen durch das Solvationsmodell liegen mit -150 kJ/mol im  $\alpha_R$ - und PPII-Bereich (orange). Da in der Summe  $ME_{\text{mol+stab}}$  die PPII-Struktur die niedrigste Energien besitzt, müssen bei diesen Konformationen die internen Wechselwirkungen günstiger sein als bei den  $\alpha_R$ -Konformationen.

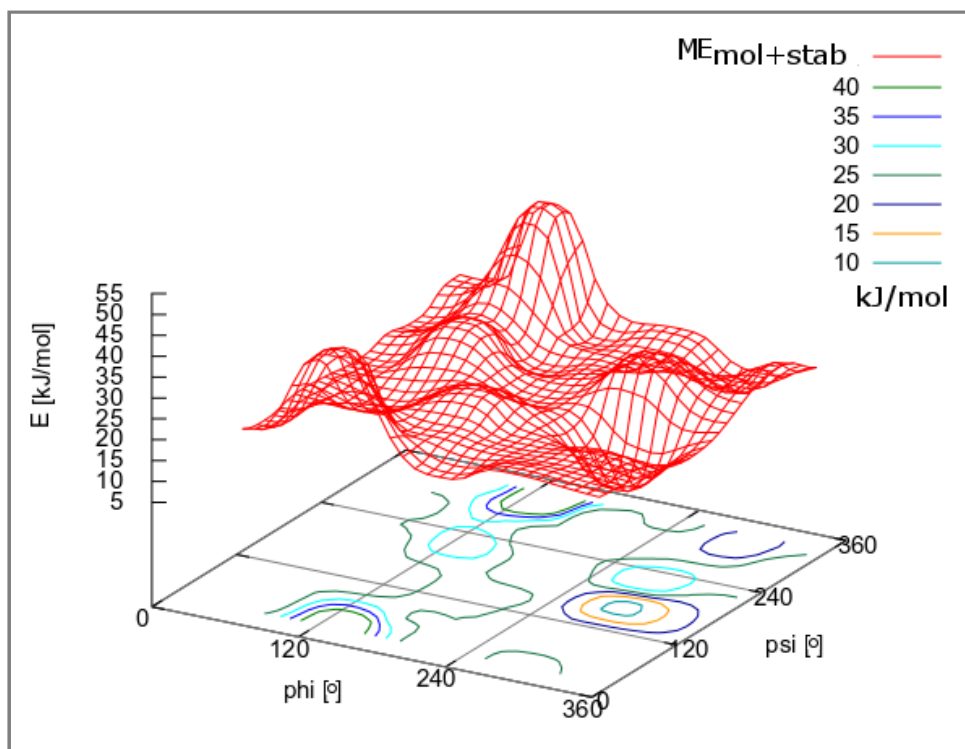


Abb. 57: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind farbig die Konturlinien eingezeichnet.

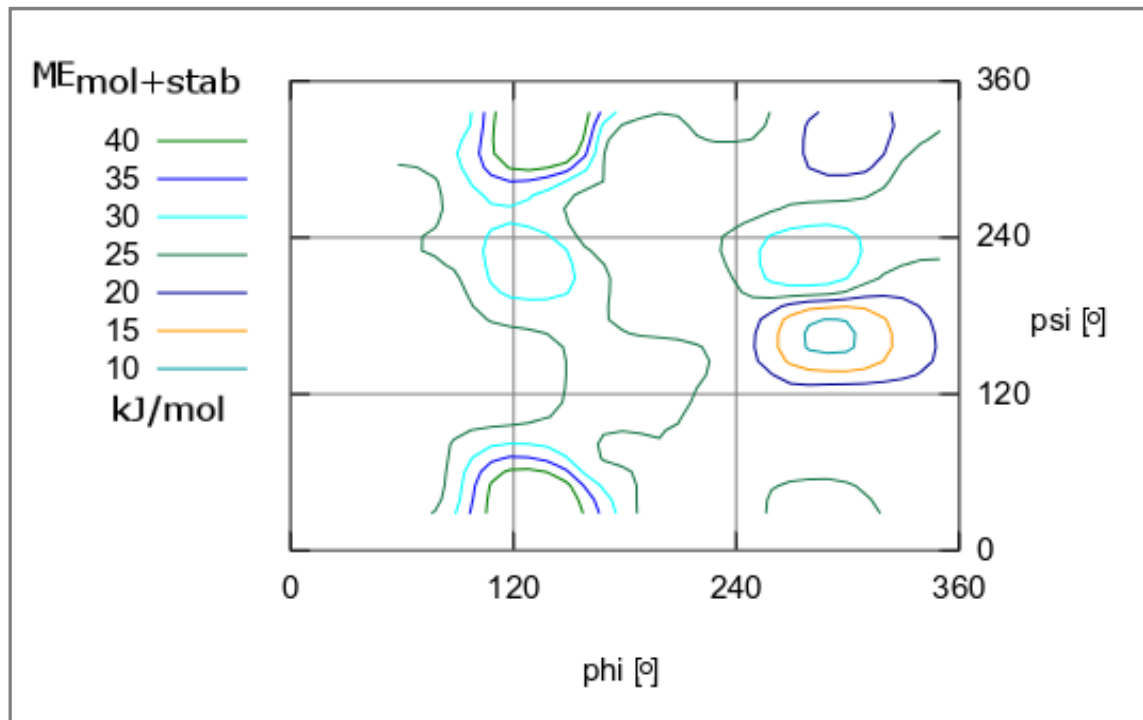


Abb. 58: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

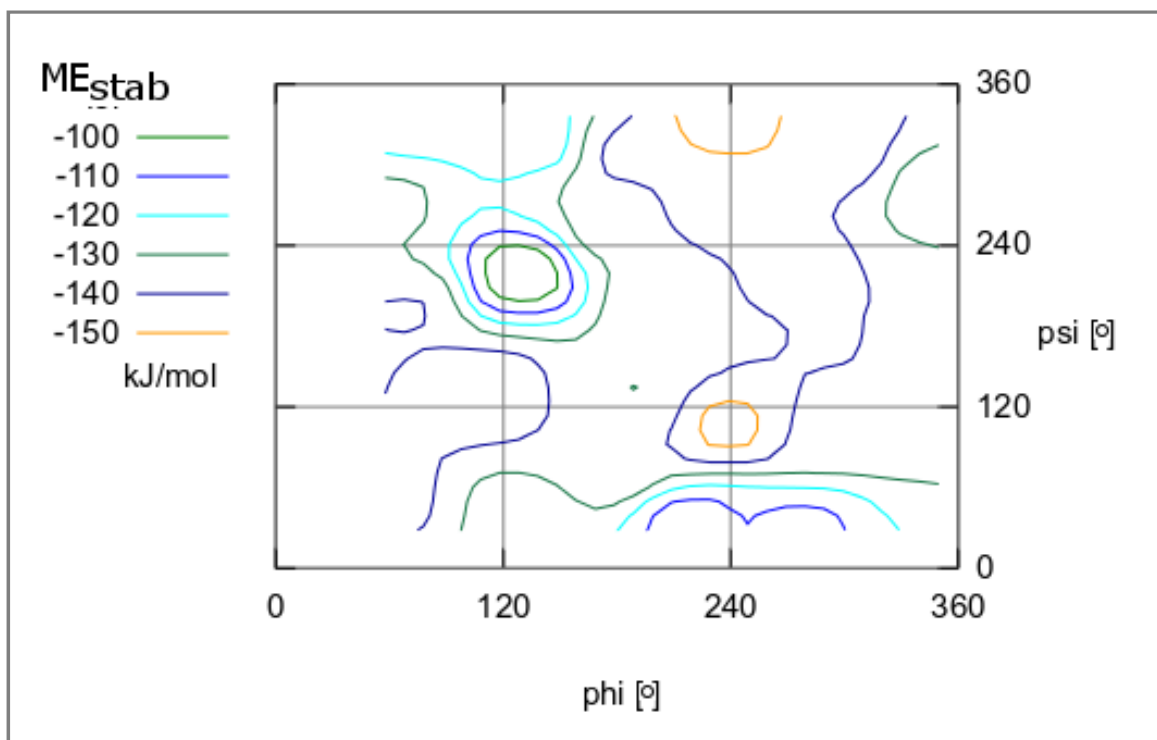


Abb. 59: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Somit ergibt die Auswertung des Winkelpaars 1 Minima im Bereich der PPII- und  $\beta$ -Faltblatt-Bereiche. Für das Winkelpaar 2 ist deutlich erkennbar, dass für Torsionswinkelwerte von etwa  $260^\circ < \varphi < 340^\circ$  und etwa  $130^\circ < \psi < 200^\circ$  die global niedrigste Energie  $ME_{\text{mol+stab}}$  zu finden ist. Das globale Minimum fällt damit eindeutig und ausschließlich in den Bereich der PPII-Struktur.

Auch eine der drei Minimumstrukturen des Winkelpaars 1 nimmt die PPII-Konformation ein. Allerdings kommen zwei Minima im  $\beta$ -Faltblatt-Bereich hinzu. Es lässt sich somit interpretieren, dass die PPII-Konformation von Dialaninpeptid in wässriger Lösung vorherrscht, gefolgt von der  $\beta$ -Faltblattstruktur. Die hier mit dem neu entwickelten Solvationsmodell gewonnenen Ergebnisse sind somit im Einklang mit den zuvor genannten experimentellen Ergebnissen (vgl. Kapitel 5.2).

In Abbildung 60 ist die energetisch günstigste Konformation des Clusters aus der PPII-Region gezeigt. Es sind wieder nur Wasserstoffbrücken mit einem negativen Energiebeitrag von mehr als 3 kJ/mol eingezeichnet.

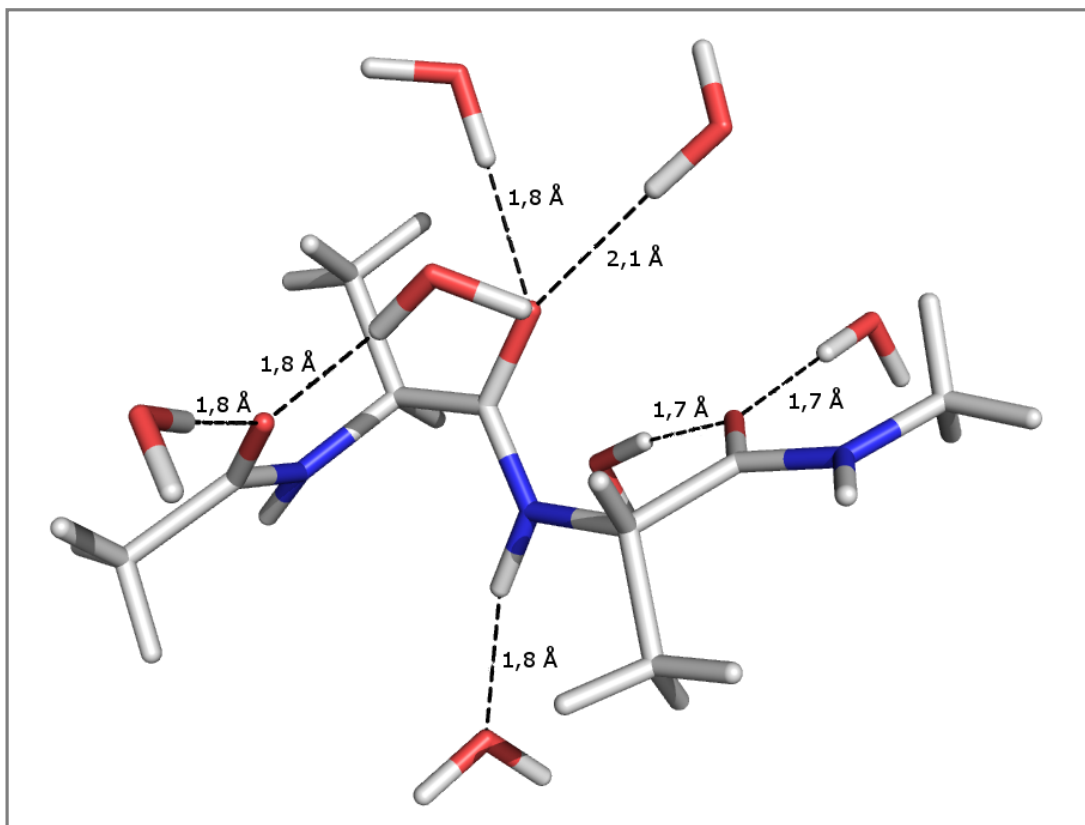


Abb. 60: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid in der energetisch günstigsten Konformation aus dem PPII-Bereich und Wassermoleküle die an Wasserstoffbrücken stärker als 3 kJ/mol beteiligt sind. Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben.  $\varphi_1 = 52,0^\circ$ ,  $\psi_1 = 49,4^\circ$ ;  $\varphi_2 = 294,5^\circ$ ,  $\psi_2 = 175,2^\circ$ ;  $E_{\text{mol+stab}} = -52,0$  kJ/mol

Die zweidimensionale Verteilung der Winkelpaarungen  $\varphi_2 / \psi_2$  im Ramachandran-Diagramm nach der Konformationsanalyse mit AMBER11 und TIP3P-Solvationsmodell zeigt keine Favorisierung einer Region. Auch das Säulendiagramm der Häufigkeit einer bestimmten Konformation lässt keine Aussage über günstigere und ungünstigere Konformationen zu (Abb. 61 und 62).

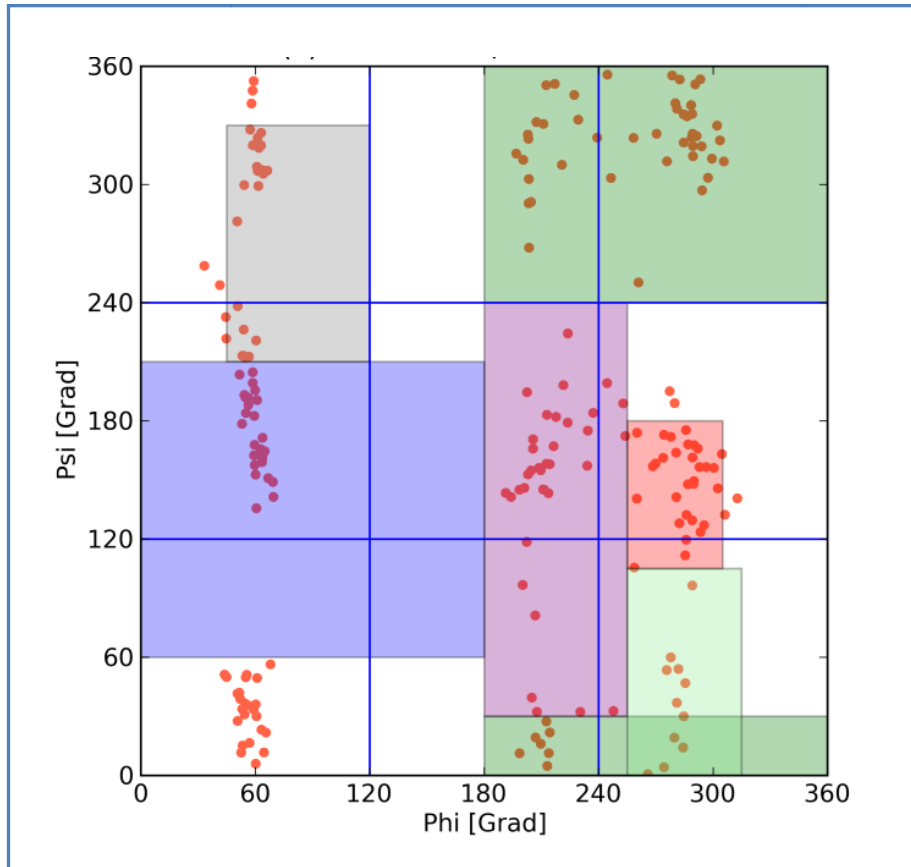


Abb. 61: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 1194  $\phi_2/\psi_2$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

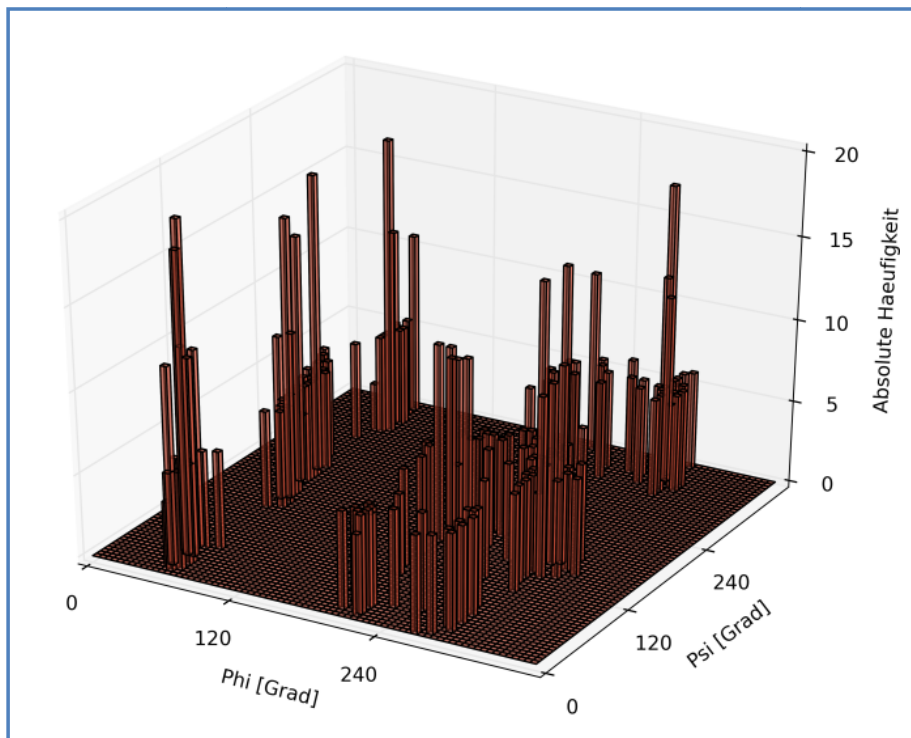


Abb. 62: *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylamid; 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi_1/\psi_1$ -Paarungen der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell.

### 7.3 Tripeptid Ala–Lys–Ala (zwitterionisches Peptidrückgrat)

Das Tripeptid Ala–Lys–Ala wurde einer Konformationsanalyse mit MOMO (im Vakuum und mit TPA3-Solvatationsmodell) sowie AMBER11 (mit TIP3P-Solvatationsmodell) unterzogen. In Abbildung 63 ist dieses Peptid in der zwitterionischen Form des Peptidrückgrats mit den variierten Torsionswinkeln  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\varphi$ ,  $\psi$  und  $\delta$  gezeigt. Da bei den hier durchgeführten Konformationsanalysen das Interesse auf den Torsionswinkeln  $\varphi$  und  $\psi$  der zentralen Aminosäure liegt, wurden (um Verwechslungen zu vermeiden) die entsprechenden Torsionswinkel der äußeren Aminosäuren mit  $\alpha$  und  $\beta$  bezeichnet. Die für die Konformationsanalysen relevanten Werte sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

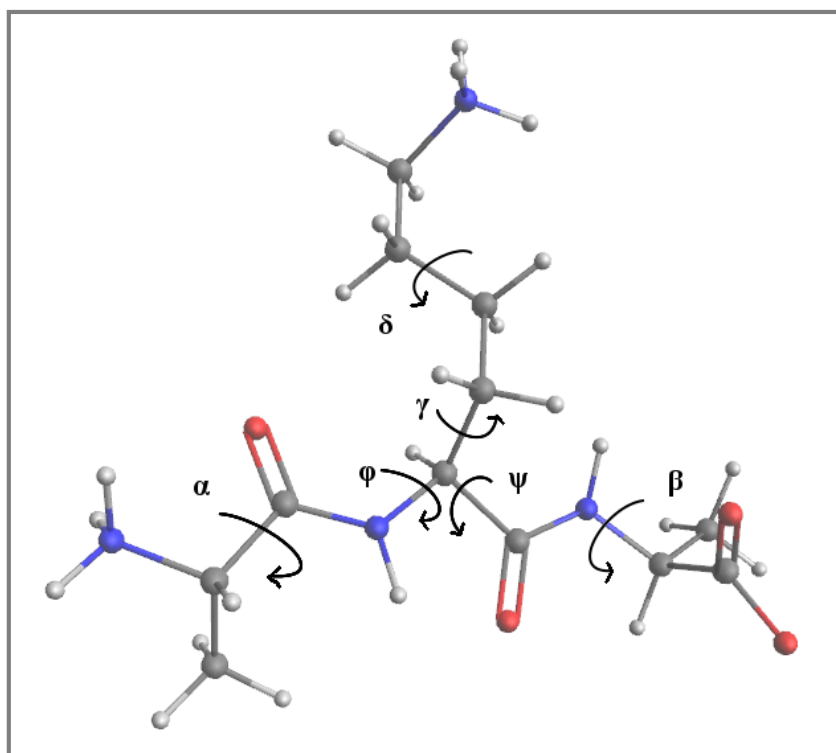


Abb. 63: Das Tripeptid Ala–Lys–Ala in der zwitterionischen Form des Peptidrückgrats. Eingezeichnet sind die sechs variierten Torsionswinkel  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\varphi$  und  $\psi$ .

	$\alpha$	$\varphi$	$\psi$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$
<i>Schrittweiten</i>	90°	90°	90°	90°	120°	120°
<i>Anzahl Konformationen</i>	2304					
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 7		AMBER11: 0			
<i>Clusteranzahl</i>	26					
$E_{\text{mol+stab}}^{\#}$ (Cluster)	-193,4 kJ/mol (16)		-206,3 kJ/mol (19)			
<i>aussortierte Cluster</i>	Nr. 4 (nur ein Wert enthalten) Nr. 22 (Stdabw. von $\pm 156,6$ kJ/mol)					

<sup>#</sup>Energetisch günstigste Konformationen innerhalb der beiden Cluster mit den niedrigsten Energien. Diese Konformationen sind in den Abbildungen 71 und 72 gezeigt.

Tabelle 6: Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell an Ala–Lys–Ala (zwitterionisch).

An der Verteilung der Vakuumkonformationen der zwitterionischen Form des Tripeptids Ala–Lys–Ala im Ramachandran-Diagramm zeigt sich, dass, wie schon bei der Konformationsanalyse des geschützten Dialaninpeptids, wieder alle Sekundärstrukturbereiche eingenommen werden (Abb. 64).

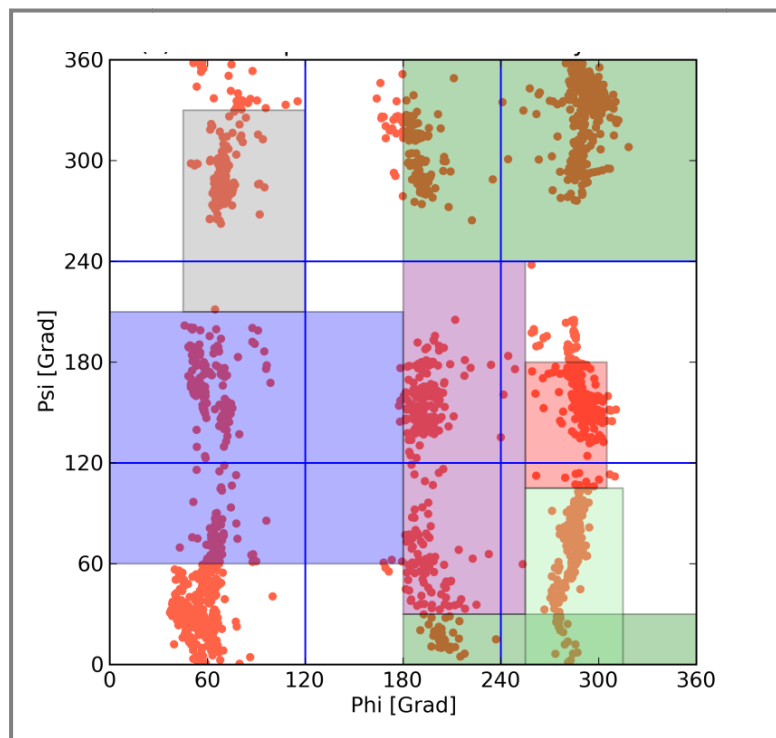


Abb. 64: Tripeptid Ala–Lys–Ala (zwitterionisch); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\varphi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

Unter Einbeziehung der sterischen Energie in Form von  $ME_{\text{mol}}$  zeigt sich in der dreidimensionalen Auftragung ein deutliches Maximum der Energie bei  $\varphi \approx 240^\circ$  und  $\psi \approx 120^\circ$  im Grenzbereich von PPII und  $\beta$ -Faltblatt. Ansonsten ist die Fläche der sterischen Energie bis auf ein breites lokales Maximum im Bereich von  $\alpha_L$  für kleinere  $\varphi$ -Winkel als  $220^\circ$  flach. Auch im Bereich von  $\alpha_R$  ist ein lokales Maximum zu finden (Abb. 65).

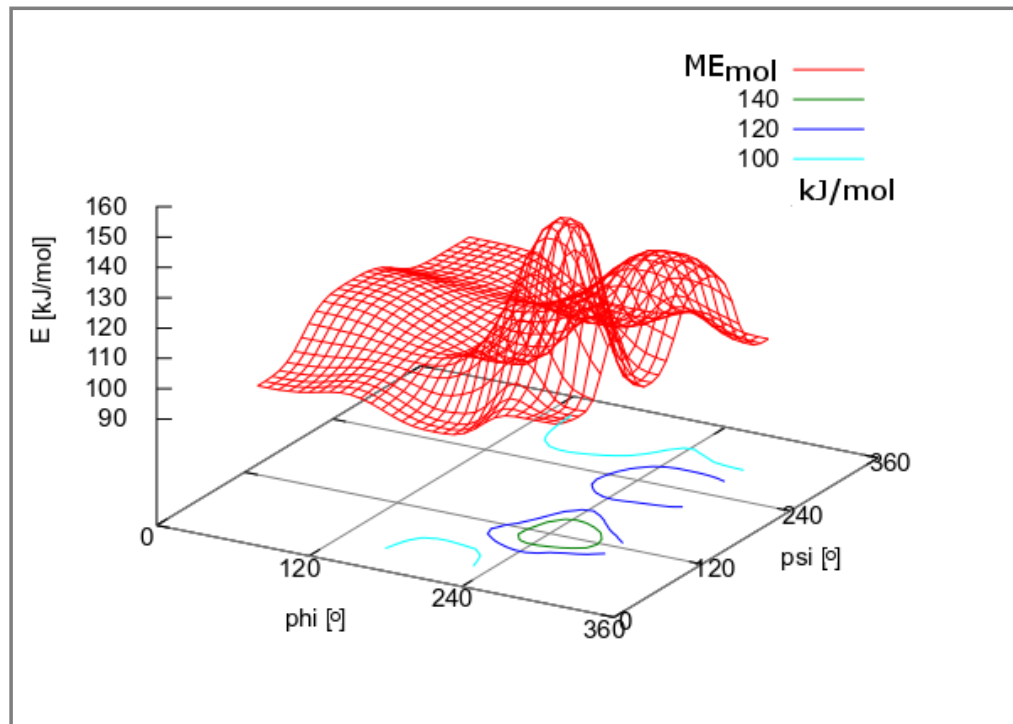


Abb. 65: Tripeptid Ala-Lys-Ala (zwitterionisch); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit gerasterter Datenpunktfäche von  $ME_{\text{mol}}$  und Konturlinien.

Mit TPA3-Solvatationsmodell treten die  $\varphi/\psi$ -Werte weniger stark gehäuft in der Verteilung der minimierten Konformationen auf, da hier die für jede Konformation leicht unterschiedlichen Einflüsse der umgebenden Wassermoleküle hinzukommen.  $\beta$ -Faltblatt-Konformationen werden in geringerem Maße eingenommen als im Vakuum. Konformationen mit Torsionswinkeln  $\varphi$  zwischen ca.  $120^\circ$  und ca.  $240^\circ$  sind nicht so häufig wie Konformationen mit  $\varphi$ -Werten kleiner ca.  $120^\circ$  und größer ca.  $240^\circ$ . Es überwiegen  $\alpha$ -helikale Konformationen (Abb. 66). Das Säulendiagramm der Häufigkeiten minimierter Konformationen verdeutlicht dies (Abb. 67).



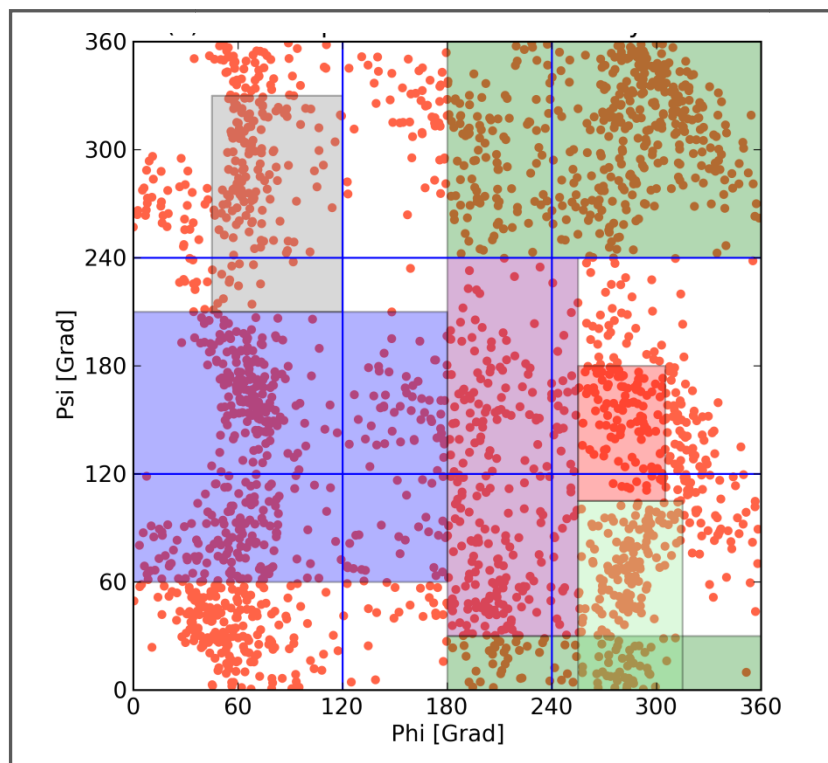


Abb. 66: Tripeptid Ala-Lys-Ala (zwitterionisch); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse an Ala-Lys-Ala mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2297  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

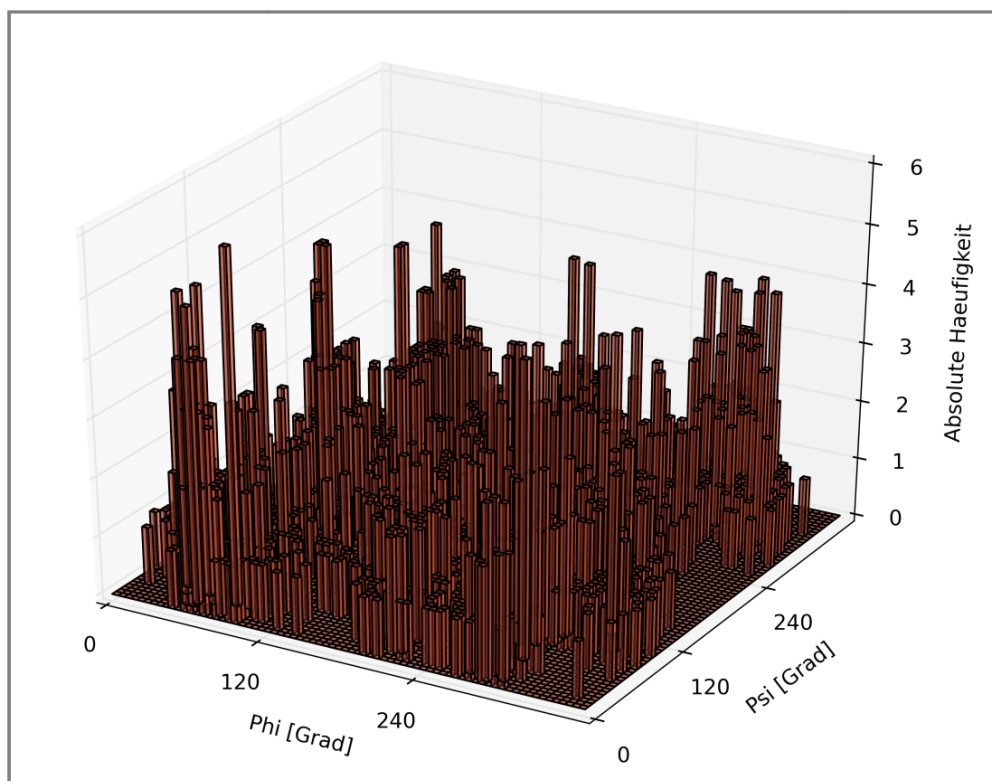


Abb. 67: Tripeptid Ala-Lys-Ala (zwitterionisch); 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen bei der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell.

Mit der großen, sterisch anspruchsvollen Seitenkette des Lysins zeigen sich in der dreidimensionalen Auftragung mit  $ME_{\text{mol+stab}}$  mehrere lokale Minima auf einer ansonsten recht flachen gerasterten Datenpunktefläche (Abb. 68) und mit den Konturlinien im Ramachandran-Diagramm (Abb. 69). Je größer das Molekül (respektive die Seitenkette) ist, desto eher können einige Teile von diesem lokal in einer günstigen Konformation vorliegen, wohingegen andere weiter entfernte Bereiche lokal in mehr oder weniger ungünstigen Konformationen vorliegen können. Dies führt in der Summe zu einer flachen gerasterten Datenpunktefläche mit vielen kleinen Minima und Maxima.

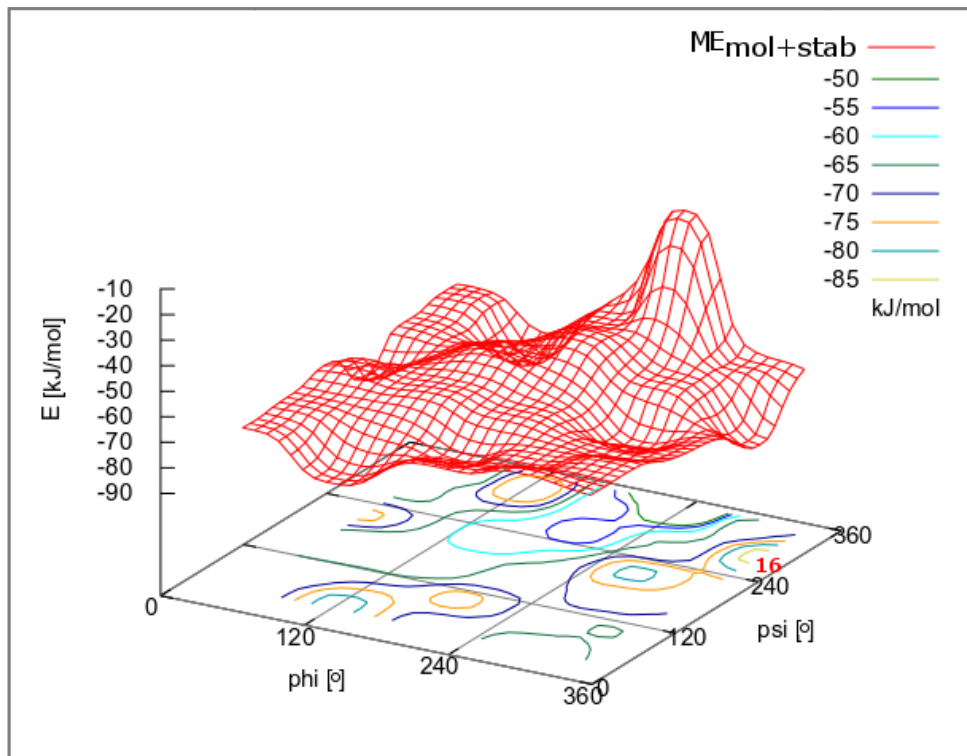


Abb. 68: Tripeptid Ala–Lys–Ala (zwitterionisch); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind farbig die Konturlinien und eine Clusternummer eingezeichnet.

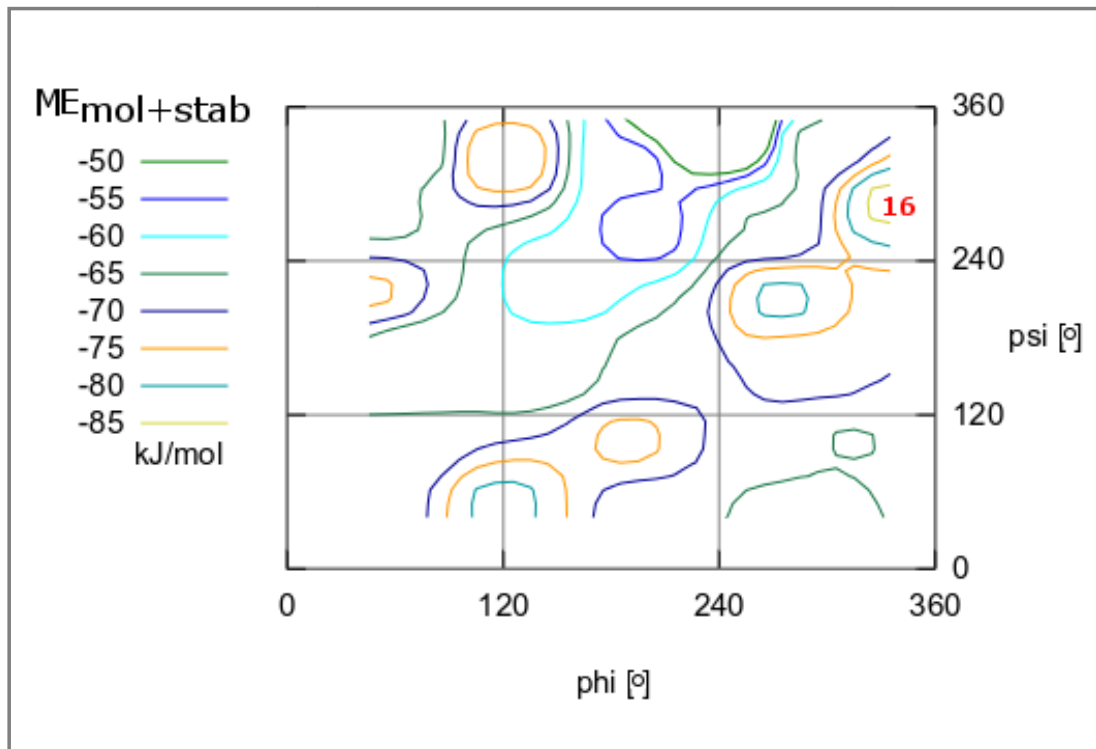


Abb. 69: Tripeptid Ala–Lys–Ala (zwitterionisch); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$  und eine Clusternummer. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

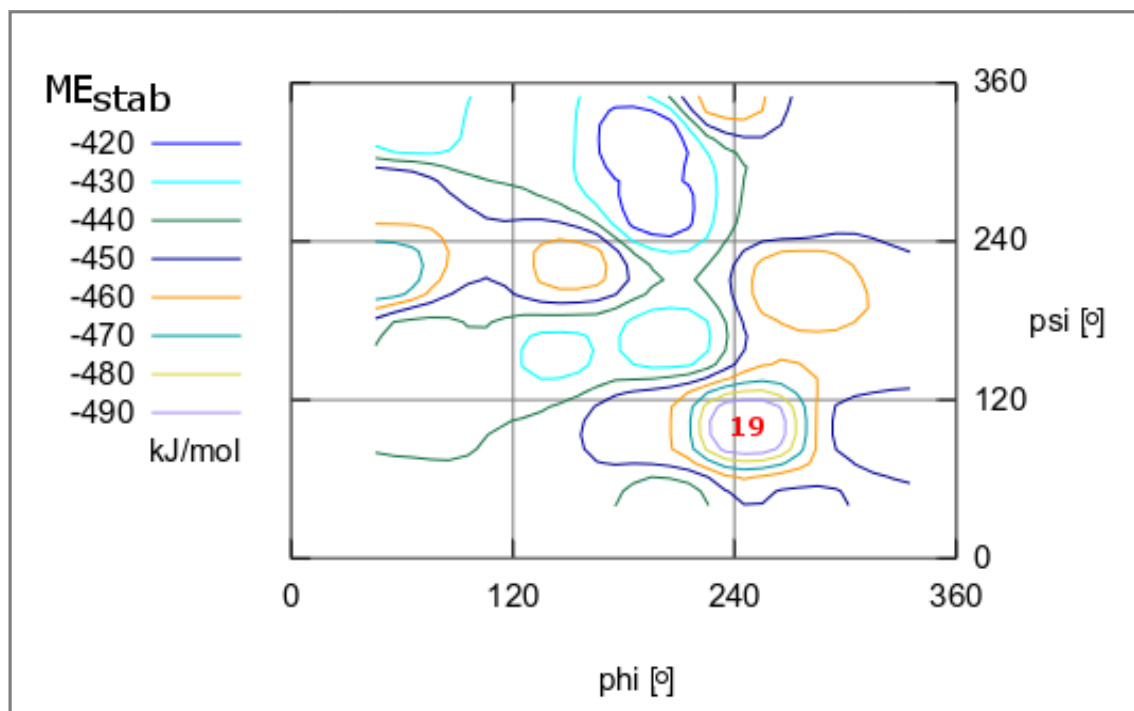


Abb. 70: Tripeptid Ala–Lys–Ala (zwitterionisch); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{stab}}$  und eine Clusternummer. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Das globale Minimum von  $ME_{\text{mol+stab}}$  ist im Bereich von  $\alpha_R$  zu finden. Das Minimum von  $ME_{\text{stab}}$  liegt hingegen im Grenzbereich von  $\beta$ -Faltblatt ( $C_5$ ), PPII und  $C_7^{\text{eq}}$  (Abb. 70).

Analysiert man die Einzelkonformationen der Cluster an der Stelle der Minima von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sowie  $ME_{\text{stab}}$  (Cluster 16 und Cluster 19; deren Lage ist in den Diagrammen eingetragen), stellt sich heraus, dass die energetisch günstigste Einzelkonformation aus Cluster 19 (in Abb. 71 gezeigt) einen niedrigeren  $E_{\text{mol+stab}}$  Wert aufweist als die energetisch günstigste Konformation aus Cluster 16 (in Abb. 72 gezeigt). Beide Konformationen weisen ein verbrückendes, an zwei Wasserstoffbrücken beteiligtes Wassermolekül auf. Erstaunlich ist, dass dieses Wassermolekül bei beiden Konformationen Wasserstoffbrücken zu dem Carbonyl-Sauerstoff und der Aminogruppe des C-terminalen Alanins ausbildet. Das verbrückende Wassermolekül kann daher Einfluss auf den Winkel  $\psi$  haben.

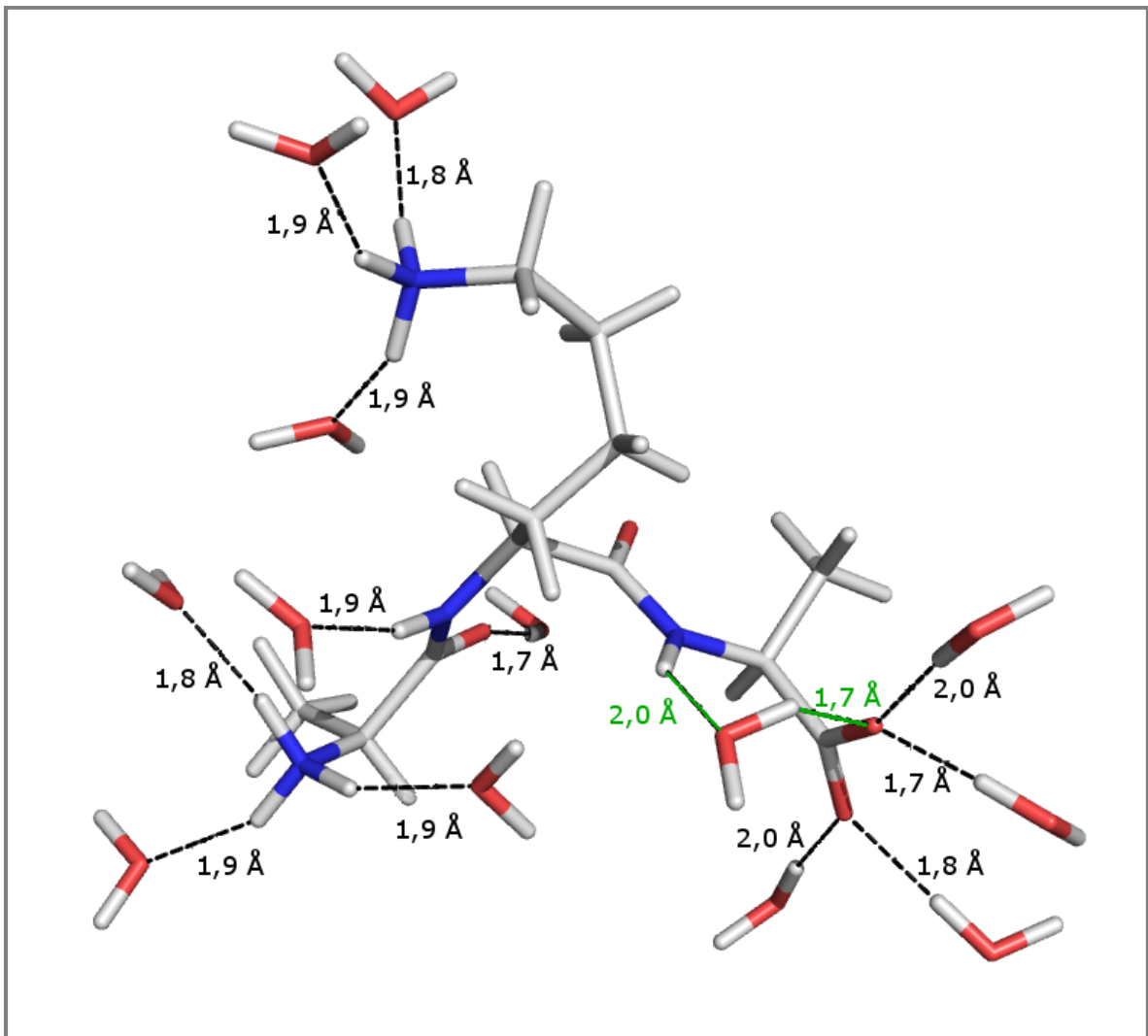


Abb. 71: Tripeptid Ala–Lys–Ala (zwitterionisch); energetisch günstigste Konformation des Clusters 16 aus dem  $\alpha_R$ -Bereich und Wassermoleküle, die an Wasserstoffbrücken stärker als 3 kJ/mol beteiligt sind. Wasserstoffbrücken von Wassermolekülen mit zwei Wasserstoffbrücken sind grün hervorgehoben. Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben.  $\varphi = 314,0^\circ$ ;  $\psi = 283,5^\circ$ ;  $E_{\text{mol+stab}} = -193,4$  kJ/mol

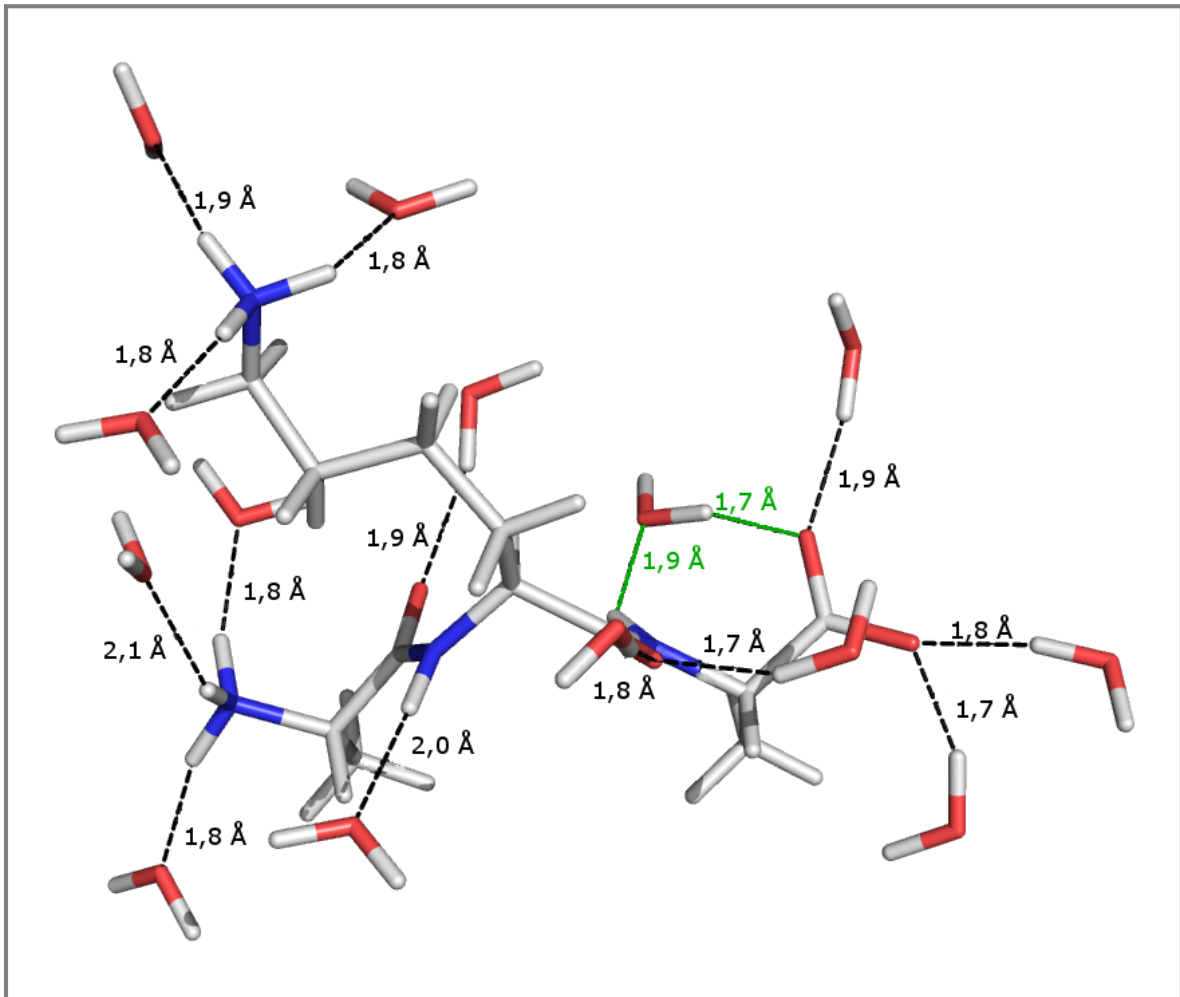


Abb. 72: Tripeptid Ala–Lys–Ala (zwitterionisch); energetisch günstigste Konformation des Clusters 19 aus dem  $C_5$ /PPII/ $C_7^{eq}$ -Bereich und Wassermoleküle, die an Wasserstoffbrücken stärker als 3 kJ/mol beteiligt sind. Wasserstoffbrücken von Wassermolekülen mit zwei Wasserstoffbrücken sind grün hervorgehoben. Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben.  $\varphi = 265,0^\circ$ ;  $\psi = 281,7^\circ$ ;  $E_{mol+stab} = -206,3$  kJ/mol

Neben dem globalen Minimum von  $ME_{mol+stab}$  im Bereich von  $\alpha_R$  gibt es mehrere lokale Minima auf der gerasterten Datenpunktefläche, die sich von  $\alpha_R$  über PPII,  $C_5$ ,  $C_7^{eq}$ ,  $C_7^{ax}$  und  $\delta_R$  verteilen. Mit Berücksichtigung der Einzelkonformationen in den Abbildungen 71 und 72 können durch den Einfluss verbrückender Wassermoleküle Konformationen im  $\alpha_R$ - sowie  $\beta$ -Faltblatt- ( $C_5$ ), PPII- und  $C_7^{eq}$ -Bereich begünstigt werden.

Die Konformationsanalyse mit AMBER11 und dem in diesem Programmpaket enthaltenen TIP3P Solvationsmodell ergab keine Präferenzen für eine bestimmte Konformation. Mit Abbildung 74 wird deutlich, dass die Strukturbereiche  $\alpha_D$ ,  $\alpha_L$ ,  $C_7^{eq}$ ,  $\delta_L$ ,  $\alpha_R$ ,  $C_5$  und PPII etwa gleich häufig eingenommen werden. An der Verteilung der Konformationen (Abb. 73) lässt sich dies nur vermuten.

Des Weiteren treten die größten Häufigkeiten in dem Säulendiagramm nahezu exakt in der Mitte der schematischen Unterteilungen des Ramachandran-Diagramms auf. Es lässt sich keinerlei Aussage darüber machen, welche der Konformationen bevorzugt sein könnte.

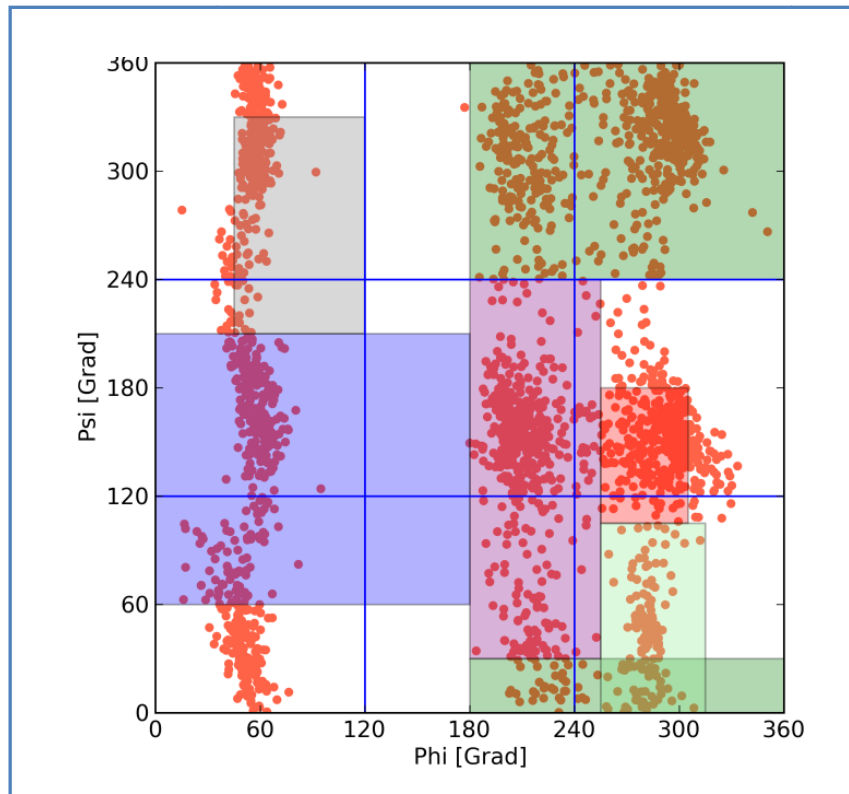


Abb. 73: Tripeptid Ala-Lys-Ala (zwitterionisch); 2D-Ramachandran-Diagramm der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

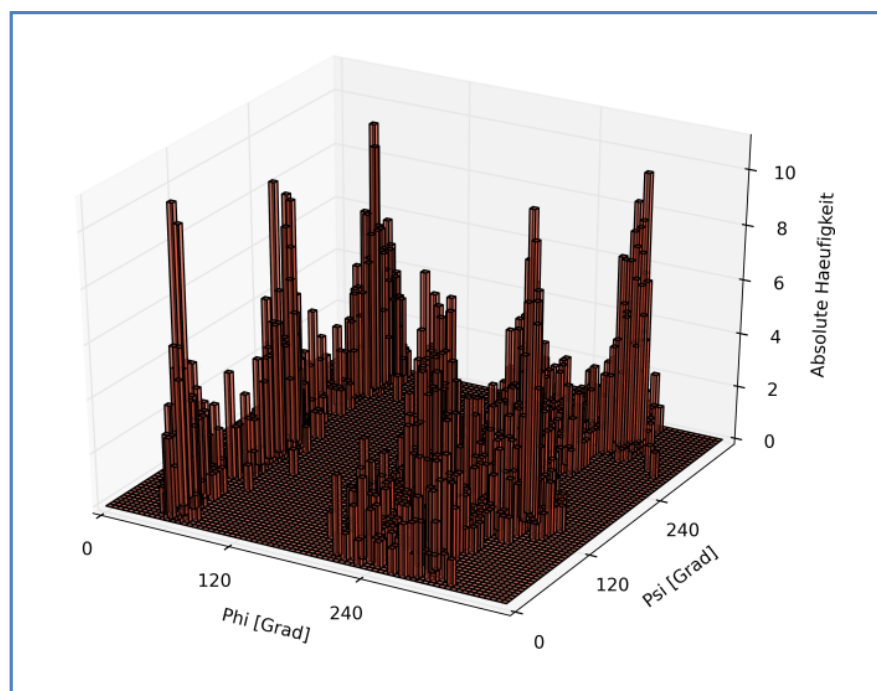


Abb. 74: Tripeptid Ala-Lys-Ala (zwitterionisch); 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell.

### 7.4 Tripeptid Ala–Asp–Ala (zwitterionisches Peptidrückgrat, Carboxylatgruppen)

Das Tripeptid Ala–Asp–Ala wurde einer Konformationsanalyse mit MOMO (im Vakuum und mit TPA3-Solvatationsmodell) sowie AMBER11 (mit TIP3P-Solvatationsmodell) unterzogen. In Abbildung 75 ist dieses Peptid in der zwitterionischen Form des Peptidrückgrats mit den variierten Torsionswinkeln  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\varphi$  und  $\psi$  gezeigt. Da bei den hier durchgeführten Konformationsanalyse das Interesse auf den Torsionswinkeln  $\varphi$  und  $\psi$  der zentralen Aminosäure liegt, wurden (um Verwechslungen zu vermeiden) wieder die entsprechenden Torsionswinkel der äußeren Aminosäuren mit  $\alpha$  und  $\beta$  bezeichnet. Die für die Konformationsanalysen relevanten Werte sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

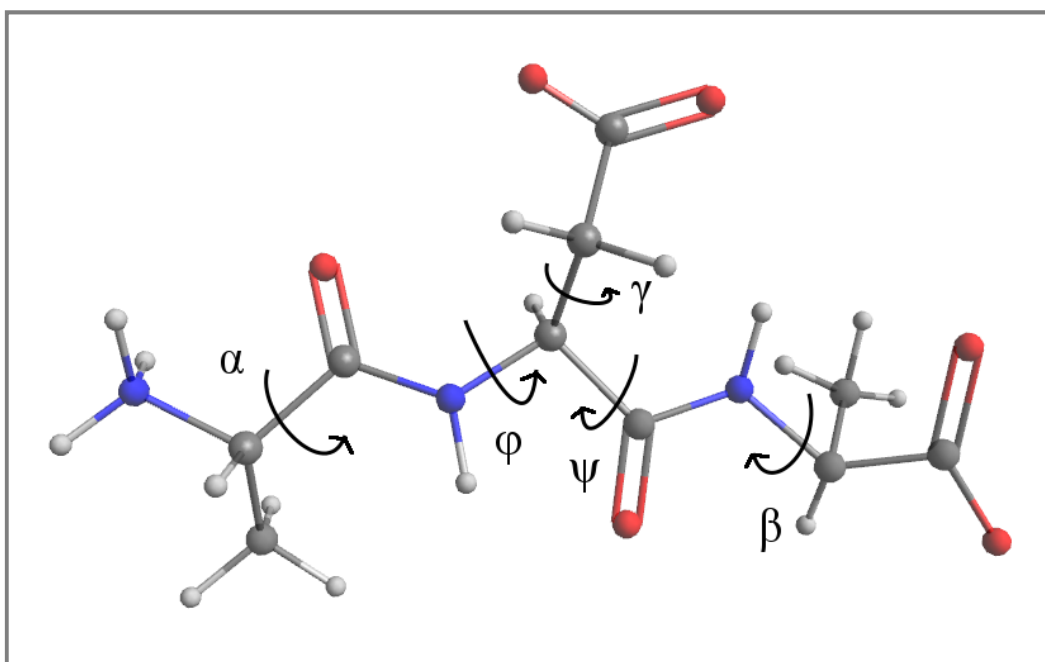


Abb. 75: Das Tripeptid Ala–Asp–Ala in der zwitterionischen Form des Peptidrückgrats (mit Carboxylatgruppen). Eingezeichnet sind die fünf variierten Torsionswinkel  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\varphi$  und  $\psi$ .

	$\alpha$	$\varphi$	$\psi$	$\beta$	$\gamma$
<i>Schrittweiten</i>	90°	60°	60°	90°	90°
<i>Anzahl Konformationen</i>	2304				
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 4		AMBER11: 0		
<i>Clusteranzahl</i>	23				
$E_{\text{mol+stab}}^{\#}$	-251,5 kJ/mol				
<i>aussortierte Cluster</i>	Nr. 1 (eine Rechnung mit $E_{\text{mol+stab}}$ von 1507,2 kJ/mol enthalten)				

<sup>#</sup>Energetisch günstigste Konformation innerhalb des Clusters mit der niedrigsten Energie. Diese Konformation ist in Abbildung 83 gezeigt.

Tabelle 7: Ala–Asp–Ala (zwitterionische Form des Peptidrückgrats, mit Carboxylatgruppen). Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell.



Die zweidimensionale Auftragung der  $\phi/\psi$ -Werte der Vakuumkonformationen im Ramachandran-Diagramm zeigt, dass Konformationen mit Torsionswinkeln  $\phi$  zwischen ca.  $100^\circ$  und ca.  $180^\circ$  nahezu überhaupt nicht eingenommen werden. Trotzdem sind Konformationen aus allen Strukturbereichen vorhanden. Eine Präferenz ist nicht zu erkennen (Abb. 76). Mit Einbeziehung der Mediane der sterischen Energien ( $ME_{\text{mol}}$ ) zeigt die dreidimensionale Darstellung jeweils ein Minimum im Bereich von  $\alpha_D$  und  $C_7^{\text{eq}}$  (Abb. 77).

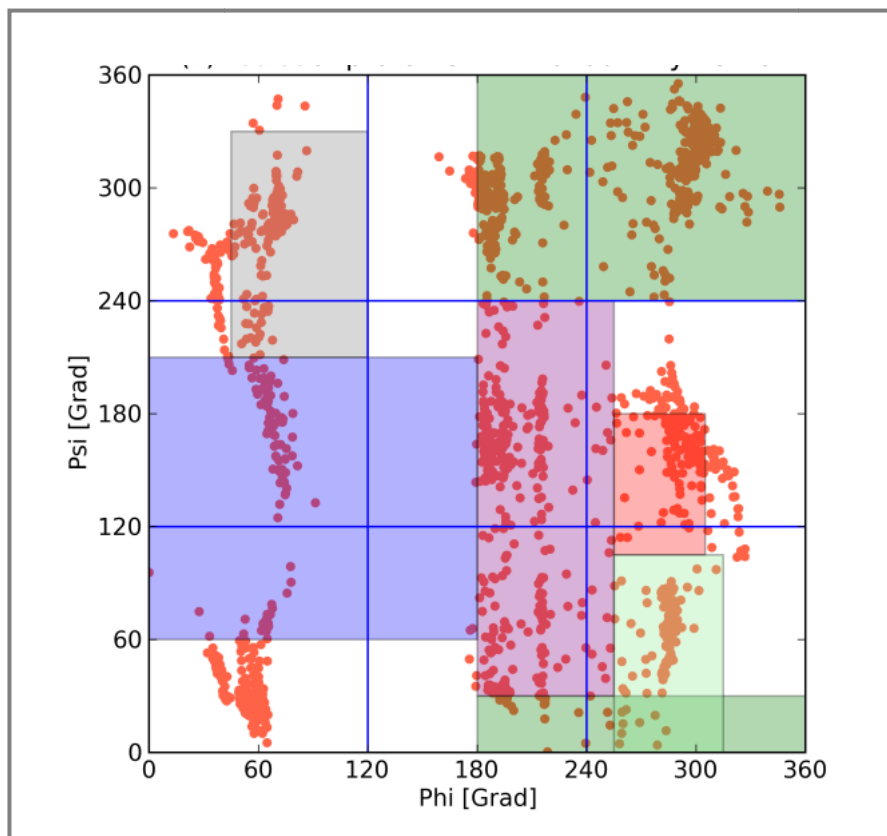


Abb. 76: Tripeptid Ala-Asp-Ala (zwitterionische Form des Peptidrückgrats, mit Carboxylatgruppen); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

Die Verteilung der Konformationen mit TPA3-Solvatationsmodell (Abb. 78) zeigt, dass hier Konformationen mit Torsionswinkeln  $\phi$  zwischen ca.  $120^\circ$  und ca.  $240^\circ$  nicht so häufig eingenommen werden wie Konformationen mit  $\phi$ -Werten kleiner ca.  $120^\circ$  und größer ca.  $240^\circ$ . Verglichen mit der Konformationsanalyse im Vakuum ist somit mit Solvatationsmodell eine Abnahme der Häufigkeiten von  $\beta$ -Faltblatt-Konformationen zu erkennen. Das Säulendiagramm der Häufigkeiten (Abb. 79) verdeutlicht dies.



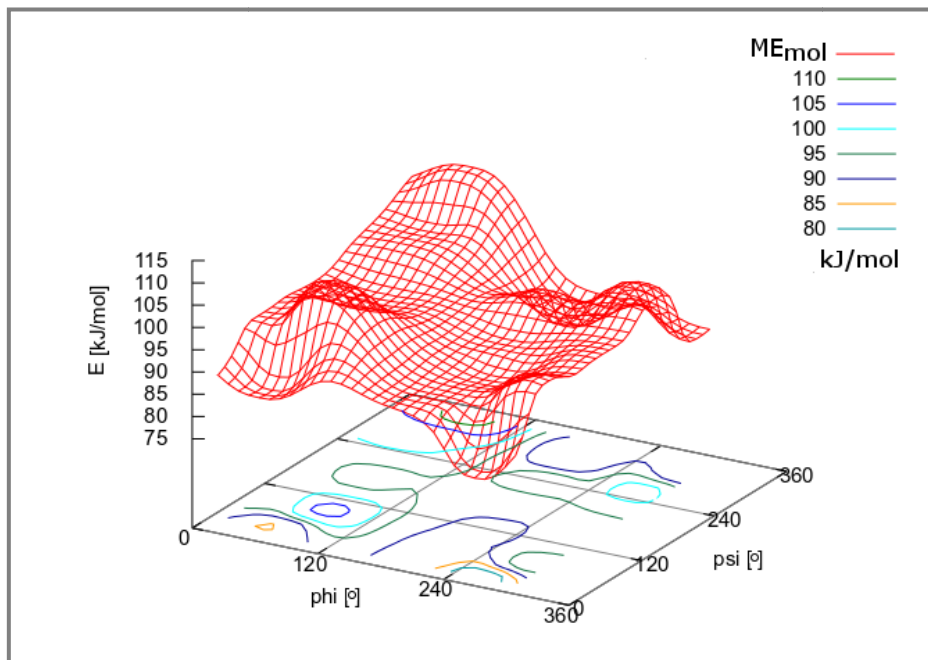


Abb. 77: Tripeptid Ala–Asp–Ala (zwitterionische Form des Peptidrückgrats, mit Carboxylatgruppen); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit Konturlinien der in rot dargestellten gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{mol}$ .

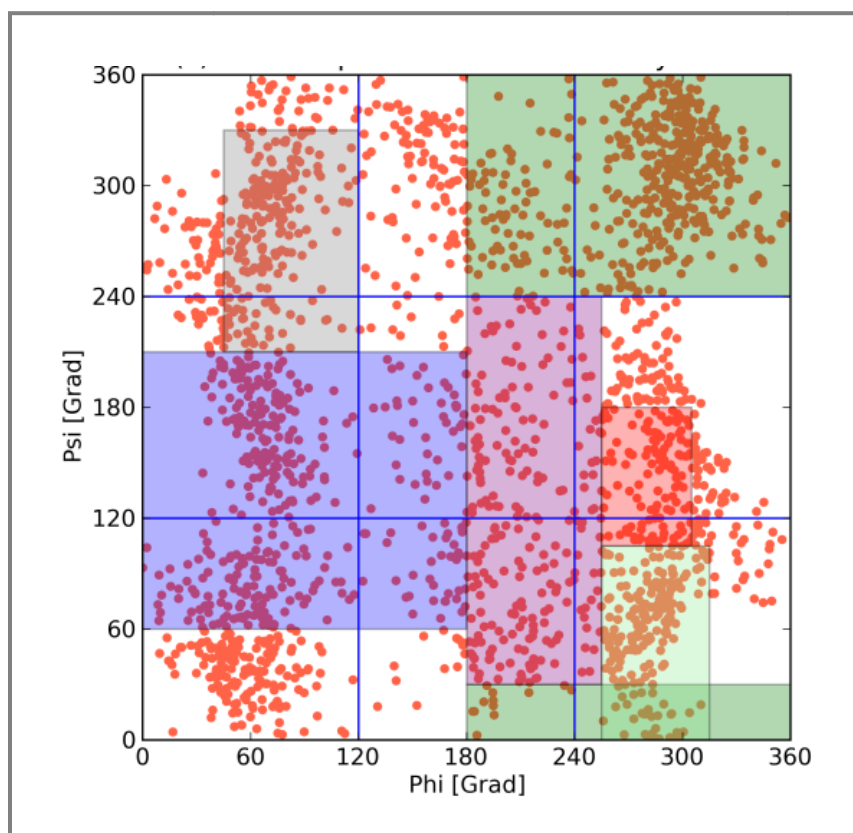


Abb. 78: Tripeptid Ala–Asp–Ala (zwitterionische Form des Peptidrückgrats, mit Carboxylatgruppen); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2300  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

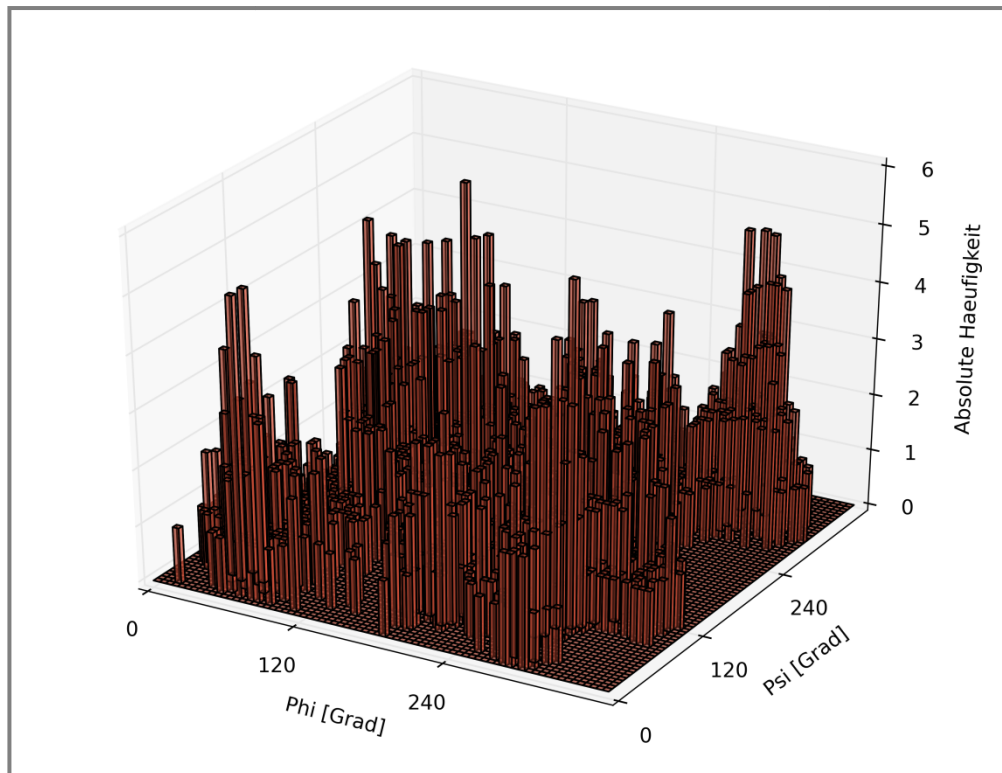


Abb. 79: Tripeptid Ala–Asp–Ala (zwitterionische Form des Peptidrückgrats, mit Carboxylatgruppen); 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen bei der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell.

Nichtsdestotrotz zeigt sich das globale Minimum der gerasterten Datenpunktfäche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  im Bereich des  $\delta_R$ -Strukturbereiches bei  $\phi \approx 200^\circ / \psi \approx 50^\circ$  (Abb. 80 und 81). Dieses liegt jedoch (bei Berücksichtigung der statistischen Ungenauigkeit) mit etwa 5 kJ/mol nur unwesentlich niedriger als ein weiteres Minimum im Bereich von  $C_7^{\text{eq}}$ , das bis in den PPII-Bereich hinein reicht. Damit ergibt sich ein Gebiet niedriger Energie, das sich von  $\delta_R$  über  $C_7^{\text{eq}}$  nach PPII erstreckt. Weitere lokale Minima befinden sich im  $\alpha_L$ - und  $\alpha_R$ -Bereich.

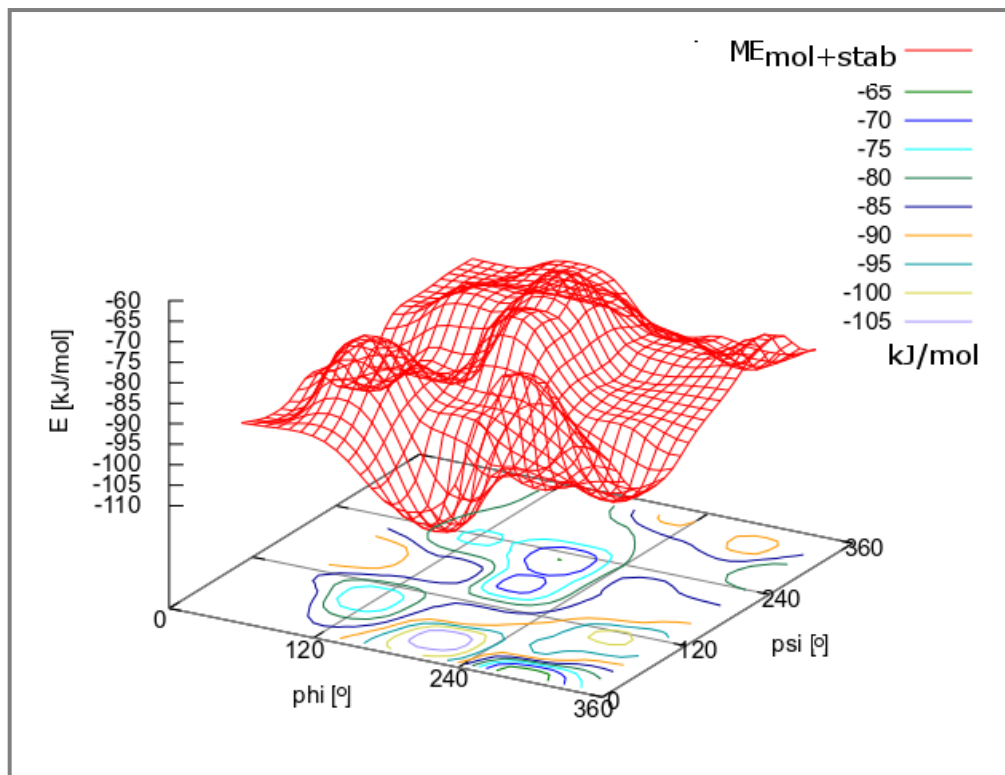


Abb. 80: Tripeptid Ala–Asp–Ala (zwitterionische Form des Peptidrückgrats, mit Carboxylatgruppen); 3D-Ramachandran-Diagramm der Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind farbig die Konturlinien eingezeichnet.

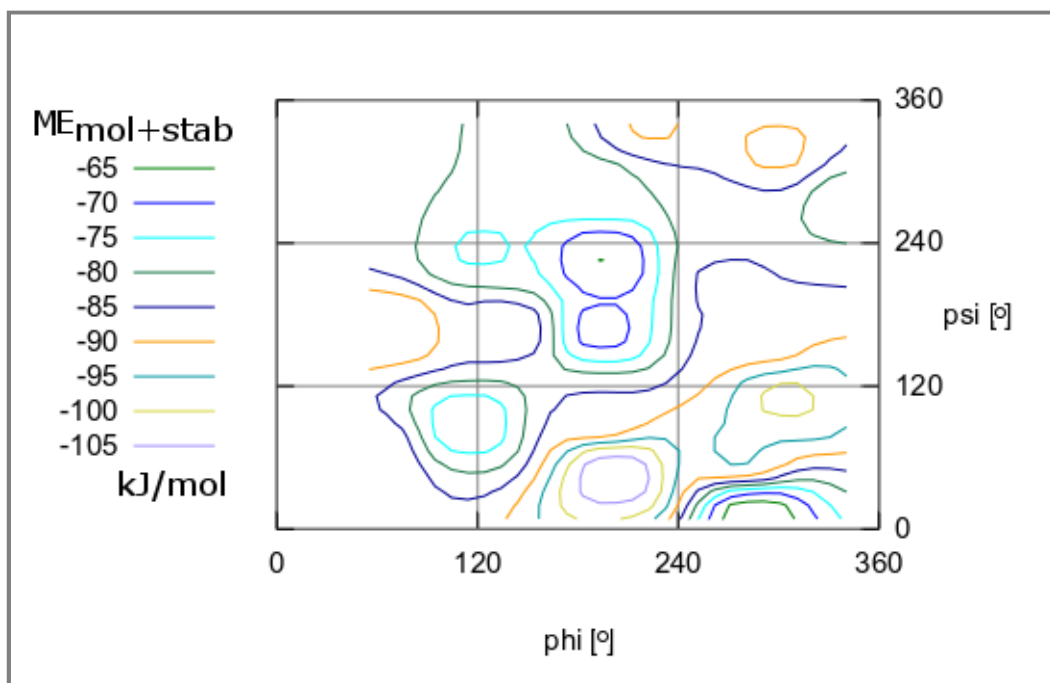


Abb. 81: Tripeptid Ala–Asp–Ala (zwitterionische Form des Peptidrückgrats, mit Carboxylatgruppen); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farbig eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Die Bereiche mit den größten negativen Beträgen von  $ME_{\text{stab}}$  sind  $\delta_R$  und  $C_7^{\text{ax}}$ . In Abbildung 82 sind die besagten Minima auf der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{stab}}$  hellgrün zu erkennen. Diese Konformationen werden somit am stärksten durch Wasser stabilisiert.

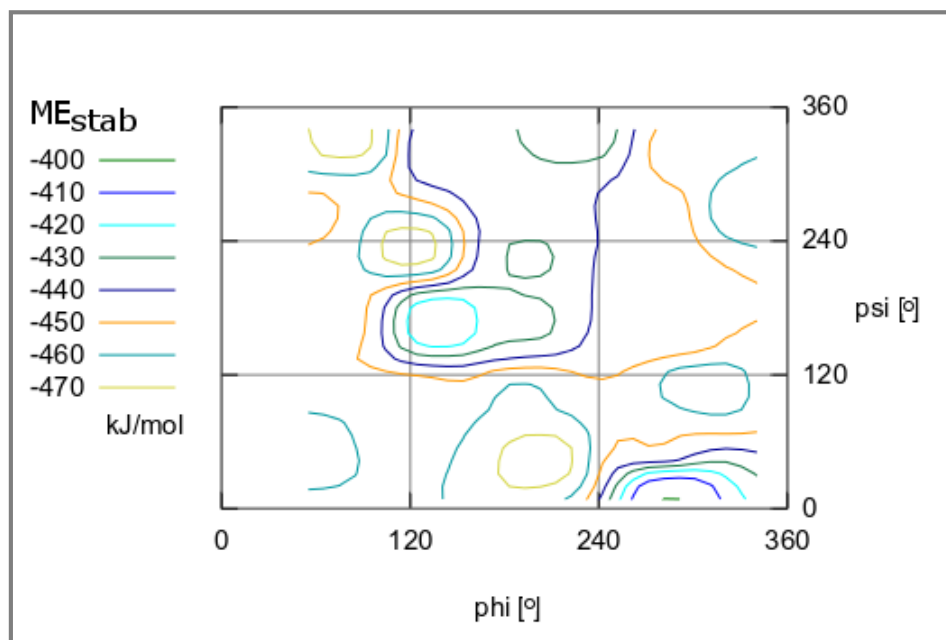


Abb. 82: Tripeptid Ala–Asp–Ala (zwitterionische Form des Peptidrückgrats, mit Carboxylatgruppen); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Das globale Minimum von  $ME_{\text{mol+stab}}$  tritt im  $\delta_R$ -Turn-Bereich auf. Zusätzlich kann man an Abbildung 82 erkennen, dass Strukturen im Bereich von  $C_7^{\text{ax}}$ , also der Struktur mit axial ausgerichtetem Rest von  $i+1$  eines  $\gamma$ -Turns [127], durch Wasser in gleicher Weise stabilisiert werden wie die  $\delta_R$ -Strukturen. Dieses Minimum von  $ME_{\text{stab}}$  in der  $C_7^{\text{ax}}$ -Region befindet sich auch in dem Bereich, den  $\beta$ -Turns vom Typ I' und II im Ramachandran-Diagramm abdecken [128, 129]. Vor kurzem haben Hagarman *et al.*  $\beta$ -Turn-Konformationen bei Gly–Asp–Gly NMR-spektroskopisch nachgewiesen [130]. Polare Seitenketten, wie Asp, sind oft in Turns zu finden [128].

Die Konformation mit der niedrigsten Energie  $E_{\text{mol+stab}}$  des Clusters im  $\delta_R$ -Bereich ist in Abbildung 83 gezeigt. Es sind wieder nur Wasserstoffbrücken mit einem negativen Energiebeitrag von mehr als 3 kJ/mol abgebildet. Diese Konformation weist besonders viele starke Wasserstoffbrücken auf. Neun von dreizehn Wasserstoffbrücken liefern einen negativen Energiebeitrag von mehr als 10 kJ/mol. Es gibt zwei verbrückende Wassermoleküle. Die zwei Wasserstoffbrücken, an welchen diese beteiligt sind, sind grün eingezeichnet. Ein Wassermolekül verbrückt die Carbonylgruppe des N-terminalen

Alanins (Wasserstoffbrücke B1) mit der Carboxylatgruppe von Asp (Wasserstoffbrücke B2). Das zweite Wassermolekül verbrückt die Carbonylgruppe von Asp (Wasserstoffbrücke B3) mit der C-terminalen Carboxylatgruppe (Wasserstoffbrücke B4). Da insbesondere die Wasserstoffbrücken B1 mit  $-12,0$  kJ/mol und B2 mit  $-14,2$  kJ/mol recht stark sind, ist davon auszugehen, dass hier ein Einfluss auf den Winkel  $\phi$  vorliegt.

Die Annahme von Dutich *et al.*, dass die Ladung der Seitenketten ausschlaggebend für die Konformation in Lösung sein könnte und bei deprotoniertem Triaspartat intramolekulare Wasserstoffbrücken die PPII-Konformation stabilisieren [107], kann somit erweitert werden: Auch verbrückende Wassermoleküle können einen bedeutenden stabilisierenden Beitrag leisten. Man muss auch bedenken, dass bei intramolekularen Wasserstoffbrücken eine starke Spannung in dem Peptid entstehen kann, die der intramolekularen Wasserstoffbrücke entgegenwirkt und sich über die Energie  $E_{\text{mol}}$  ungünstig auswirken kann. Mit verbrückenden Wassermolekülen läge diese innere Spannung nicht in solchem Maß vor.

An dem zweiten verbrückenden Wassermolekül mit den Wasserstoffbrücken B3 und B4 ist zwar die Wasserstoffbrücke zum Carbonylsauerstoff von Asp mit  $-15,0$  kJ/mol recht stark, jedoch die Wasserstoffbrücke zur C-terminalen Carboxylatgruppe mit  $-4,0$  kJ/mol eher schwach. Dies spricht für die exklusive Fähigkeit des Aspartatrestes, als Akzeptor mit Wasser verbrückende Wasserstoffbrücken zu begünstigen und so auf die Konformation eines Peptids Einfluss zu nehmen.

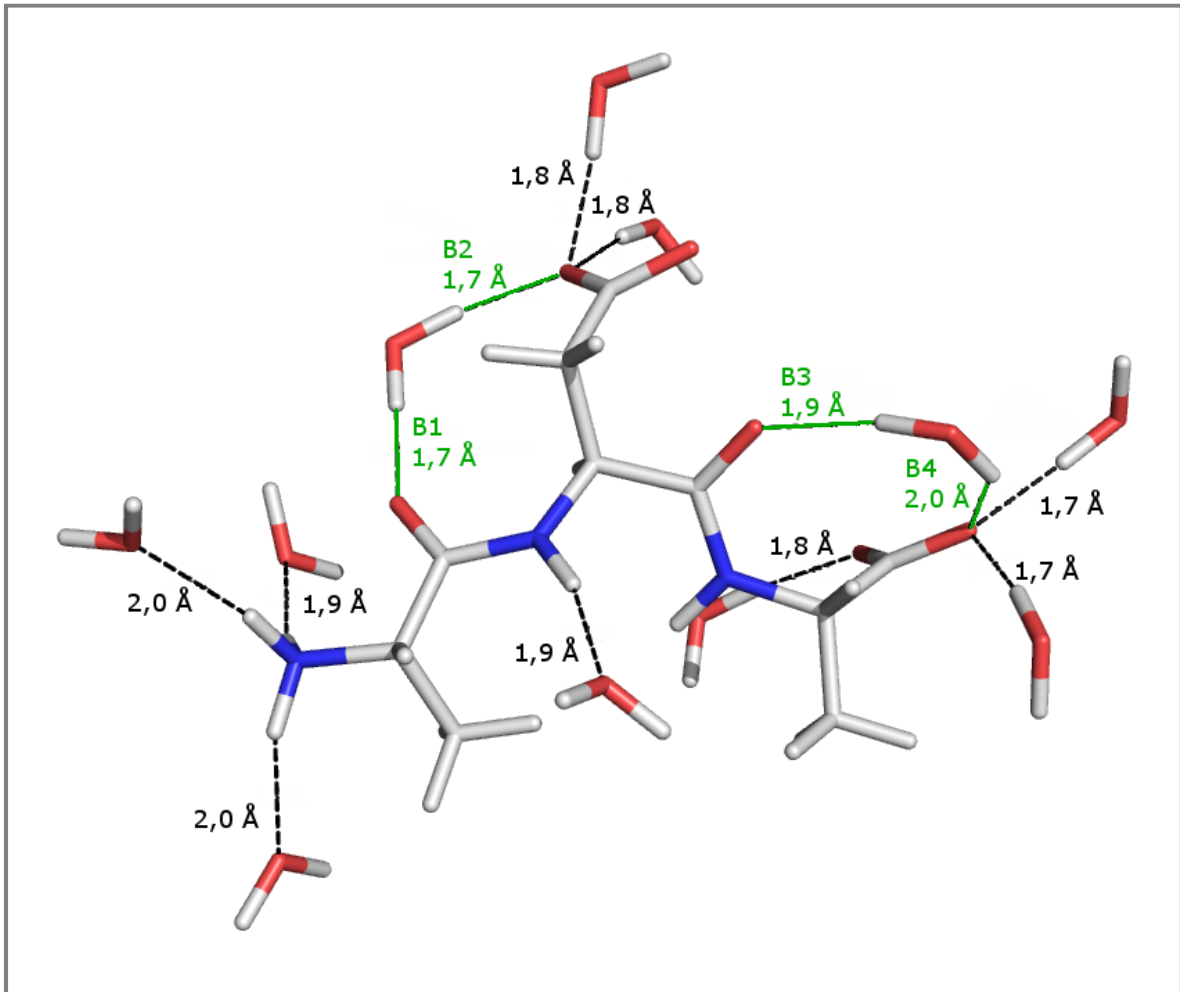


Abb. 83: Ala–Asp–Ala (zwitterionische Form des Peptidrückgrats, mit Carboxylatgruppen); energetisch günstigste Konformation des Clusters mit der niedrigsten Energie aus dem  $\delta_R$ -Bereich und Wassermoleküle, die an Wasserstoffbrücken stärker als 3 kJ/mol beteiligt sind. Wasserstoffbrücken von Wassermolekülen mit zwei Wasserstoffbrücken sind grün hervorgehoben (B1:  $E_{\text{HB}} = -12,0$  kJ/mol, B2:  $E_{\text{HB}} = -14,2$  kJ/mol, B3:  $E_{\text{HB}} = -15,0$  kJ/mol, B4:  $E_{\text{HB}} = -4,0$  kJ/mol). Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben.  $\varphi = 201,0^\circ$ ;  $\psi = 54,2^\circ$ ;  $E_{\text{mol+stab}} = -251,5$  kJ/mol

Die AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Modell ergab eine deutliche Häufung der minimierten Konformationen für  $\varphi < 120^\circ$  in der zweidimensionalen Auftragung der Konformationen im Ramachandran-Diagramm (Abb. 84). Diese Häufung zeigt sich als deutlicher Streifen bei  $\varphi \approx 60^\circ$  für den gesamten  $\psi$ -Bereich. Die  $\alpha$ -helikalen Konformationen  $\alpha_D$  und  $\alpha_L$  sowie  $C_7^{\text{ax}}$ -Struktur scheinen stark begünstigt zu sein.  $\beta$ -Faltblatt ähnliche und vor allem PPII entsprechende Konformationen treten deutlich seltener auf (Abb. 85).

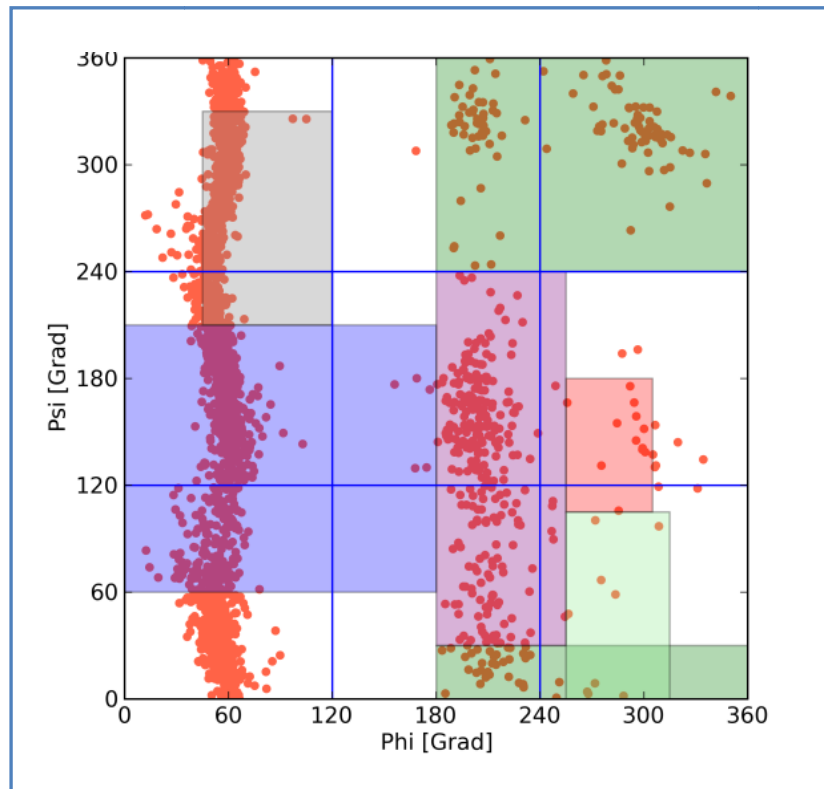


Abb. 84: Tripeptid Ala–Asp–Ala (zwitterionische Form des Peptidrückgrats, mit Carboxylatgruppen); 2D-Ramachandran-Diagramm der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

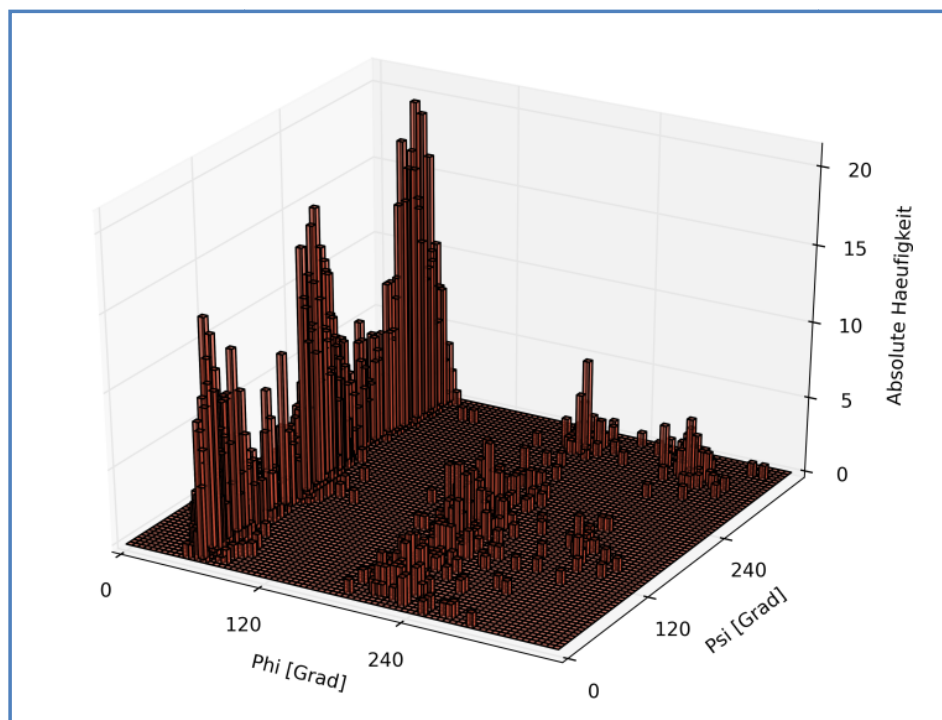


Abb. 85: Tripeptid Ala–Asp–Ala (zwitterionische Form des Peptidrückgrats, mit Carboxylatgruppen); 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen bei der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell.



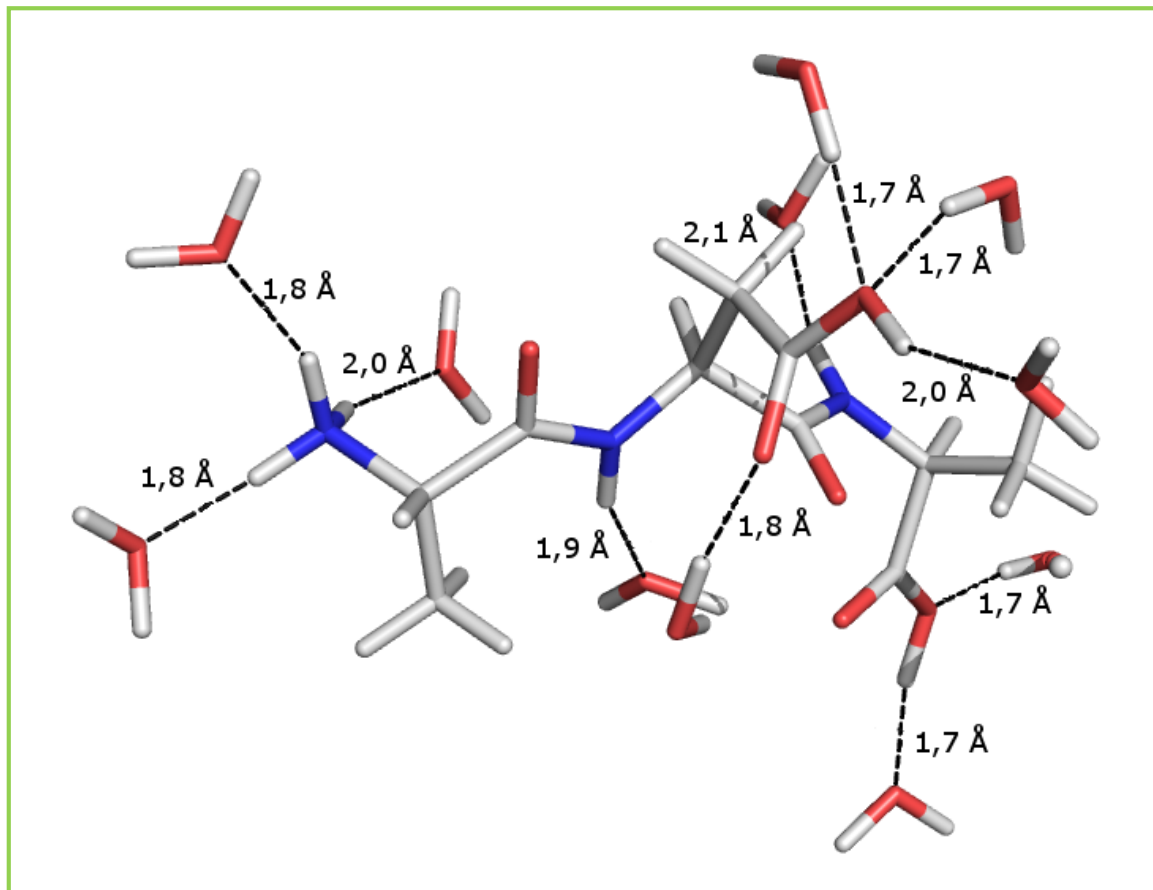


Abb. 86: Ala–Asp–Ala protoniert (mit Carboxylgruppen); energetisch günstigste Konformation des Clusters mit der niedrigsten Energie aus dem  $\alpha_L/\alpha_D$ -Bereich und Wassermoleküle, die an Wasserstoffbrücken stärker als 3 kJ/mol beteiligt sind. Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben. Verbrückende Wassermoleküle sind nicht vorhanden.  $\varphi = 154,6^\circ$ ;  $\psi = 121,3^\circ$ ;  $E_{\text{mol+stab}} = -67,4$  kJ/mol

Im protonierten Zustand der Carboxylgruppen sind die beschriebenen verbrückenden zweifachen Wasserstoffbrücken (unter Beteiligung eines Wassermoleküls) bei der energetisch günstigsten Konformation des Clusters mit der niedrigsten Energie nicht zu beobachten. In Abbildung 86 ist besagte Konformation mit Wassermolekülen, die an Wasserstoffbrücken mit einem größeren negativen Energiebeitrag als 3 kJ/mol beteiligt sind, gezeigt.

Auch sind bei der energetisch günstigsten protonierten Konformation des Clusters mit der niedrigsten Medianenergie  $ME_{\text{mol+stab}}$  nur sechs von elf Wasserstoffbrücken stark (mit negativen Energiebeträgen von mehr als 10 kJ/mol) – drei weniger als bei der unprotonierten Form.

Das Minimum der gerasterten Datenpunktfäche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  der vollständig protonierten Form ist zu kleineren  $\varphi$ -Werten in den  $\alpha_L$ -,  $\alpha_D$ - und  $\delta_R$ -Bereich verschoben (Abb. 87 und 88).



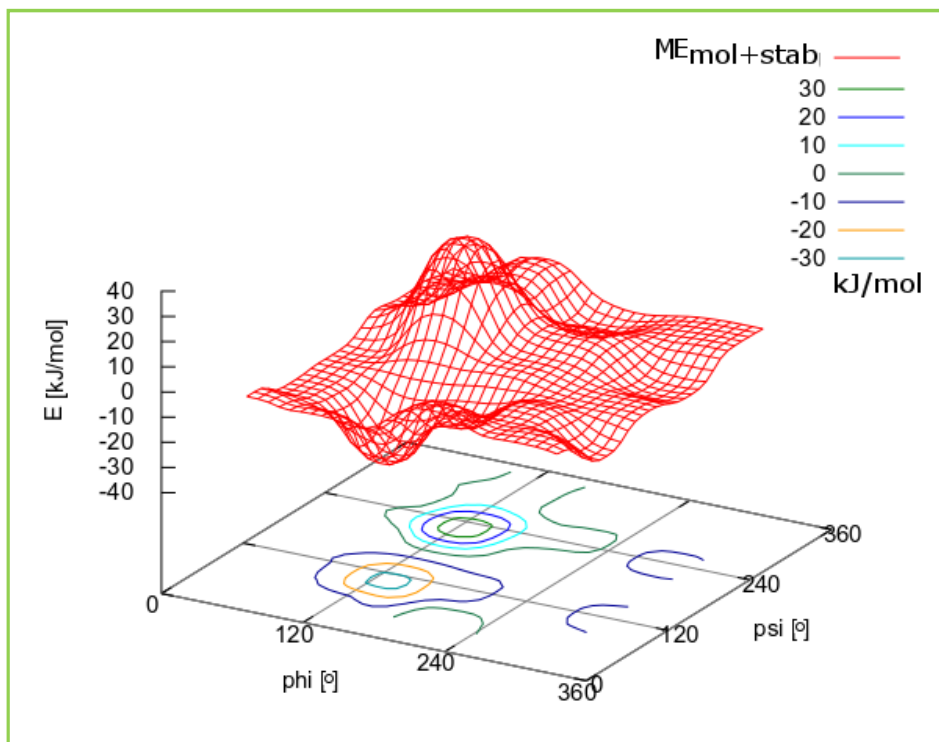


Abb. 87: Tripeptid Ala–Asp–Ala protoniert (mit Carboxylgruppen); 3D-Ramachandran-Diagramm der Konformationsanalyse der vollständig protonierten Form mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktfäche vom  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind farbige die Konturlinien eingezeichnet.

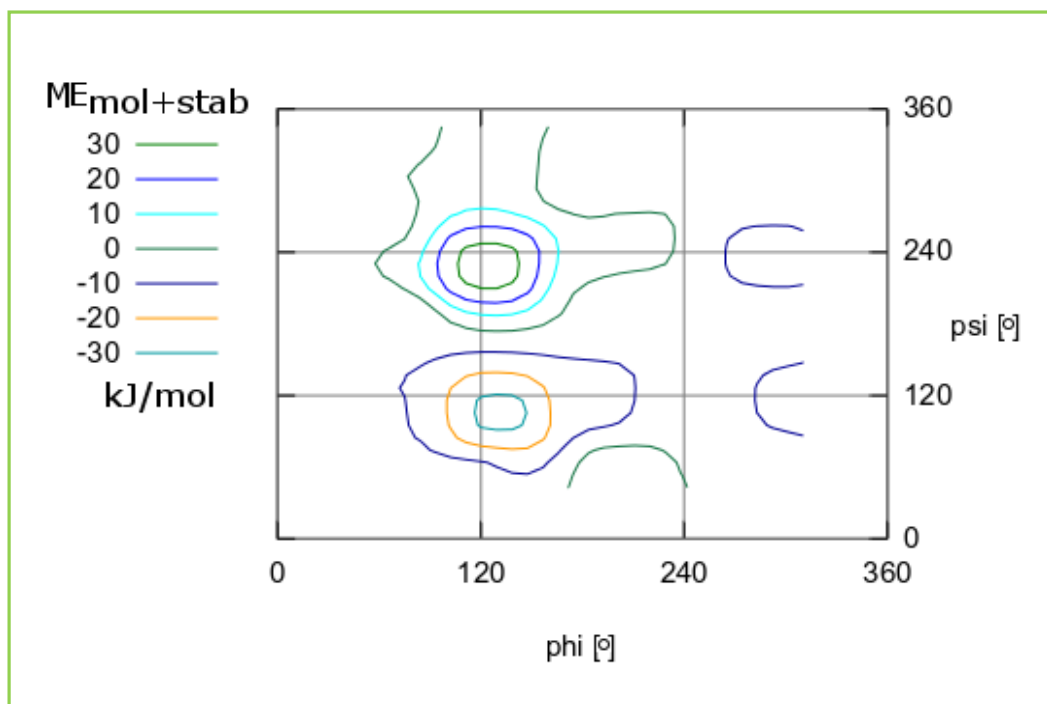


Abb. 88: Tripeptid Ala–Asp–Ala protoniert (mit Carboxylgruppen); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farbige eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Man kann somit davon ausgehen, dass durch die Protonierung der Carboxylatgruppen starke, für die Konformation der zwitterionischen Form relevante, Wasserstoffbrücken (mit verbrückenden Wassermolekülen) im protonierten Zustand nicht gebildet werden.

### 7.5 Tripeptid Cys–Asn–Ser (zwitterionisches Peptidrückgrat)

Das Tripeptid Cys–Asn–Ser wurde ebenfalls einer Konformationsanalyse mit MOMO (im Vakuum und mit TPA3-Solvatationsmodell) sowie AMBER11 (mit TIP3P-Solvatationsmodell) unterzogen. In Abbildung 89 ist dieses Peptid in der zwitterionischen Form des Peptidrückgrats mit den variierten Torsionswinkeln  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\varphi$  und  $\psi$  gezeigt. Da wieder das Interesse auf den Torsionswinkeln  $\varphi$  und  $\psi$  der zentralen Aminosäure liegt, wurden (um Verwechslungen zu vermeiden) die entsprechenden Torsionswinkel der äußeren Aminosäuren mit  $\alpha$  und  $\beta$  bezeichnet. Die für die Konformationsanalysen relevanten Werte sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

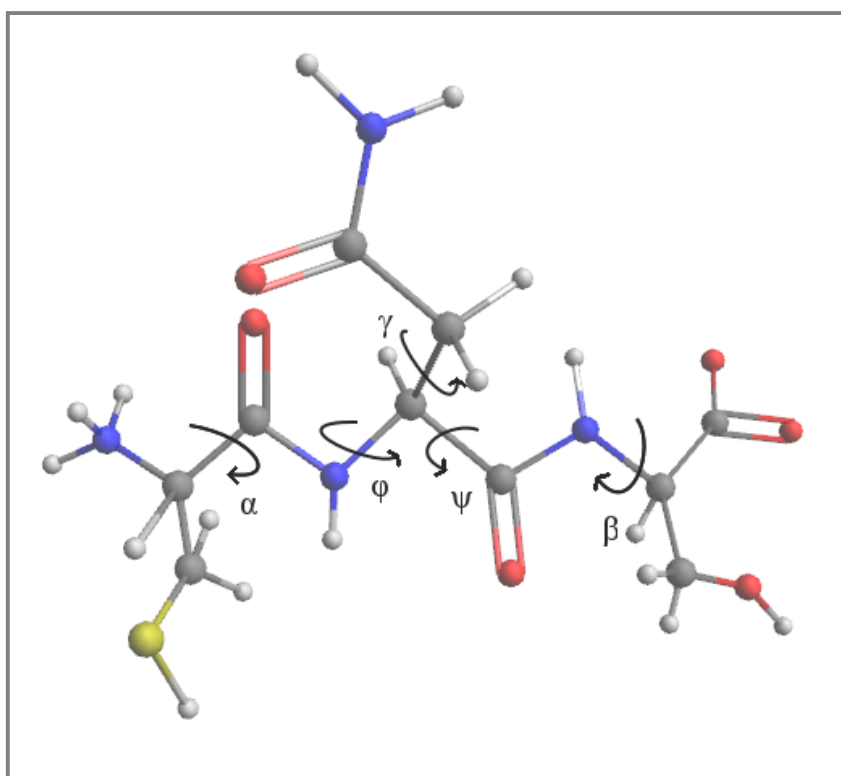


Abb. 89: Das Tripeptid Cys–Asn–Ser in der zwitterionischen Form des Peptidrückgrats. Eingezeichnet sind die fünf variierten Torsionswinkel  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\varphi$  und  $\psi$ .

	$\alpha$	$\varphi$	$\psi$	$\beta$	$\gamma$
<i>Schrittweiten</i>	90°	60°	60°	90°	90°
<i>Anzahl Konformationen</i>	2304				
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 2			AMBER11: 0	
<i>Clusteranzahl</i>	25				
$E_{\text{mol}+\text{stab}}^{\#}$	-194,3 kJ/mol	187,6 kJ/mol			
<i>aussortierte Cluster</i>	Nr. 25 ( nur ein Wert enthalten)				

<sup>#</sup> Energetisch günstigste Konformationen innerhalb der beiden Cluster mit der niedrigsten Energie. Diese Konformationen sind in den Abbildung 96 und 97 gezeigt.

Tabelle 8: Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell an Cys–Asn–Ser (zwitterionisch).

Durch die Konformationsanalyse sollte der Einfluss intramolekularer Wasserstoffbrücken in Peptiden mit polaren, zu Wasserstoffbrücken fähigen Seitenketten untersucht werden. Dieses Peptid – allerdings in der D-Form des Asparagins – war von Soriano-Correa *et al.* mit quantenmechanischen Einzelkonformation-Optimierungen und mit Variation eines Torsionswinkels analysiert worden [131]. Aufgrund der Seitenketten ist es besonders zu intramolekularen Wasserstoffbrücken befähigt. Von Soriano-Correa *et al.* wurden unterschiedliche energetisch günstigste Konformationen bei verschiedenen Protonierungsstufen des Peptids nachgewiesen. Als günstigste Vakuumkonformation der zwitterionischen Form wurde dabei die PPII-Struktur berechnet. Bei dieser Struktur sind zwei Wasserstoffbrücken zwischen Seitenkettenatomen und Peptidrückgratatomen vorhanden, die nicht allzu gut ausgerichtet erscheinen.

Im Gegensatz dazu ergab die Konformationsanalyse mit MOMO im Vakuum, bei der eine nahezu vollständige Abdeckung des Konformationsraums erreicht wird, als energetisch günstigste Konformation eine Konformationen im Strukturbereich  $\alpha_D$  mit zwei intramolekularen Wasserstoffbrücken. Diese Konformation ist in Abbildung 90 gezeigt. Gut zu erkennen ist die nahezu optimale Ausrichtung der beiden Wasserstoffbrückenbindungen.

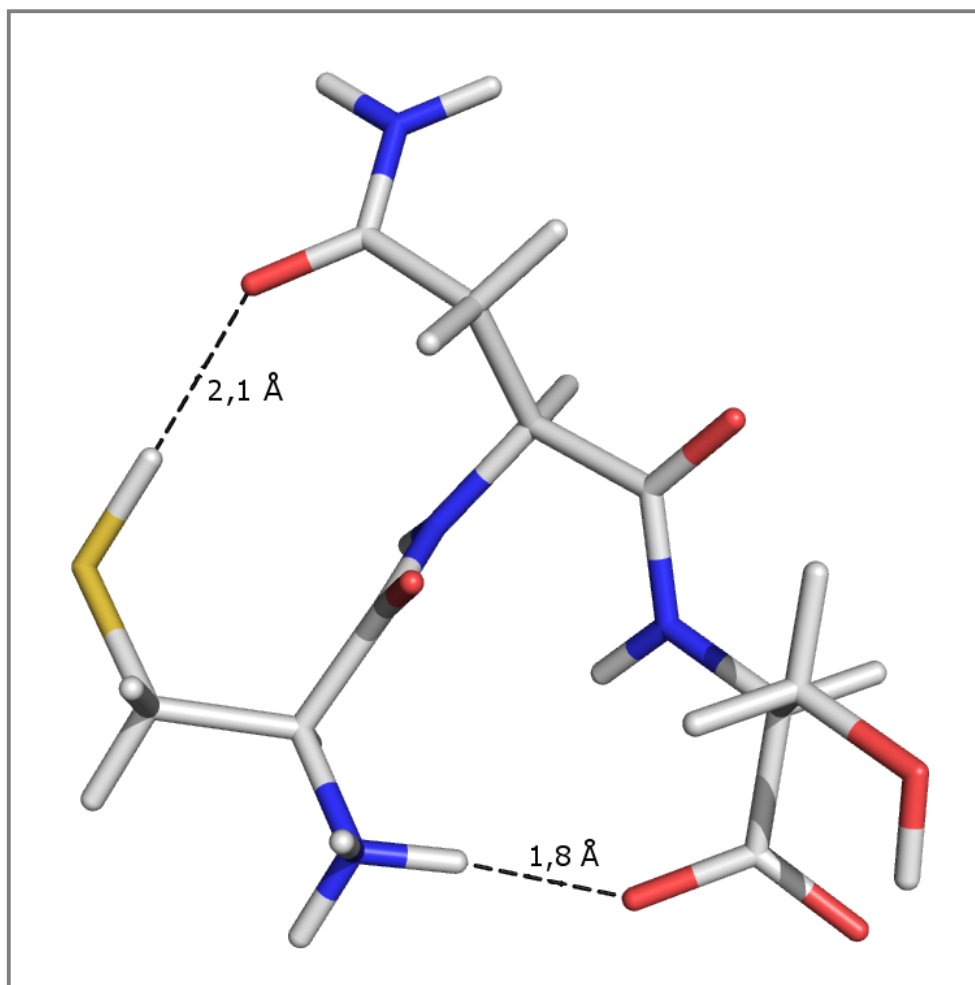


Abb. 90: Cys–Asn–Ser (zwitterionisch); energetisch günstigste Konformation aus dem  $\alpha_D$ -Bereich der Vakuum-Konformationsanalyse mit zwei intramolekularen Wasserstoffbrücken. Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben.  $\varphi = 53,9^\circ$ ;  $\psi = 24,3^\circ$ ;  $E_{\text{mol}} = 31,9 \text{ kJ/mol}$

In Abbildung 91, welche die gerasterte Datenpunktefläche der  $ME_{\text{mol}}$ -Werte zeigt, sind vier weitere Minima in den Bereichen  $\delta_L$ ,  $\delta_R$ , C5 und PPII zu erkennen. Die Energie der entsprechenden Cluster hat jedoch eine um etwa 20 kJ/mol höhere Energie als die des Clusters bei  $\alpha_D$ .

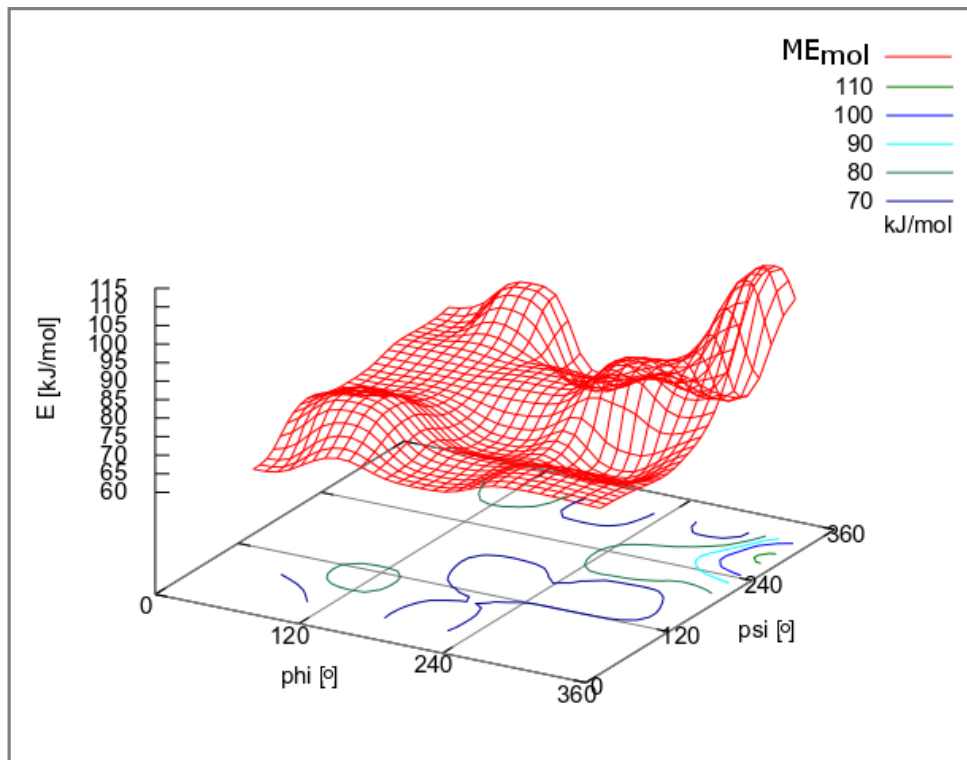


Abb. 91: Cys-Asn-Ser (zwitterionisch); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit Konturlinien der in rot dargestellten gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol}}$ .

Bei den Minimumenergiestrukturen der genannten Cluster liegt in allen Fällen eine starke intramolekulare Wasserstoffbrücke mit einem negativen Energiebeitrag von mehr als 10 kJ/mol vor. Hinzu kommt eine schwächere Wasserstoffbrücke, meist eine S-H $\cdots$ O Wasserstoffbrücke.

In der zweidimensionalen Auftragung der Vakuumkonformationen ist jedoch keine Favorisierung einer Struktur zu erkennen (Abb. 92).

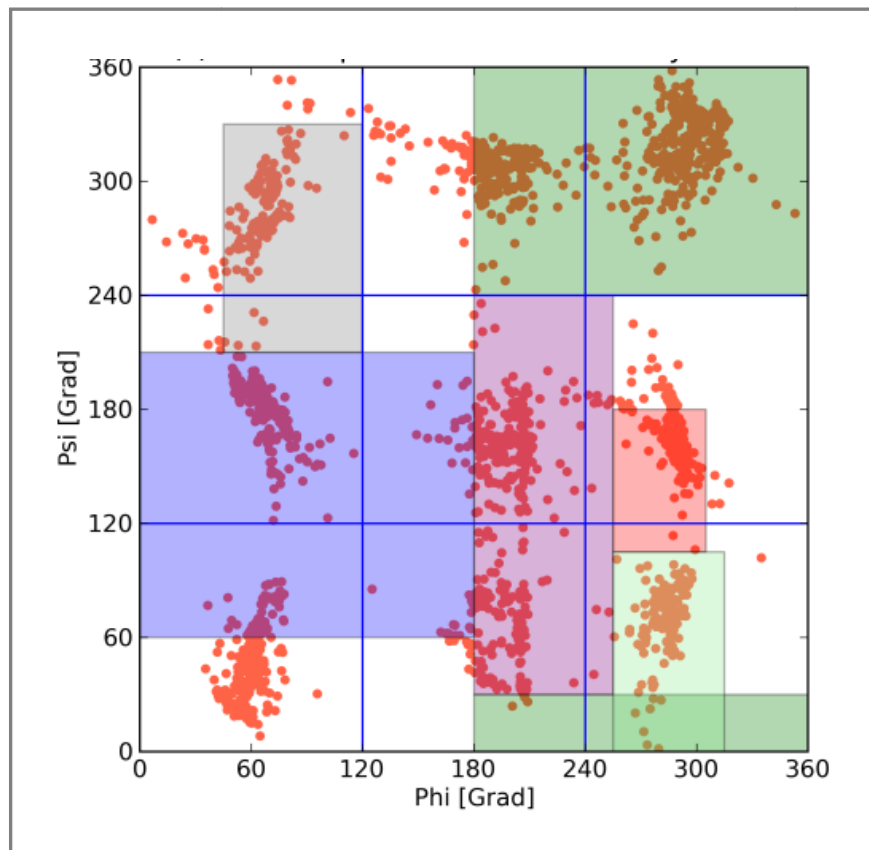


Abb. 92: Cys-Asn-Ser (zwitterionisch); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

Schon die mit MOMO im Vakuum erhaltenen Ergebnisse zeigen Abweichungen von den mit quantenmechanischen Methoden erhaltenen Ergebnissen. Dies mag an der Tatsache liegen, dass Soriano-Correa *et al.* die D-Form der zentralen Aminosäure für ihre Berechnungen einsetzten. Die als günstiger erscheinende Ausrichtung der intramolekularen Wasserstoffbrücken bei den mit MOMO im Vakuum erhaltenen Konformationen hingegen lassen sich nicht nur auf die entgegengesetzte absolute Konfiguration der zentralen Aminosäure zurückführen. Hier könnte die Ursache bei der geringen Anzahl an Startkonformationen liegen, von denen die quantenmechanischen Optimierungen gestartet wurden. Die so verständlich erscheinenden, schon im Vakuum auftretenden, Abweichungen der mit MOMO erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass die Ergebnisse von Soriano-Correa *et al.* durch die nachfolgend dargestellten Ergebnisse der Konformationsanalysen mit Solvationsmodell erweitert werden können. Ein direkter Vergleich der Ergebnisse ist nicht sinnvoll.

Mit TPA3-Solvationsmodell werden die intramolekularen Wasserstoffbrücken zugunsten einer gestreckten, weniger gespannten Konformation mit vielen Wasserstoffbrücken zu umgebenden Wassermolekülen nicht mehr ausgebildet. Stattdessen treten nun, wie bei Ala-Asp-Ala, an zwei Wasserstoffbrücken beteiligte, verbrückende Wassermoleküle auf.

Deren starker Einfluss auf die Konformation wurde bereits in den vorherigen Kapiteln diskutiert.

Soriano-Correa *et al.* hatten auch mit Solvatationsmodell intramolekulare Wasserstoffbrücken bei Cys–Asn–Ser beobachtet.

Auf der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind zwei Minima zu erkennen (Abb. 93). Die Nummern der Cluster, welche die Minima ausmachen, sind rot eingezeichnet.

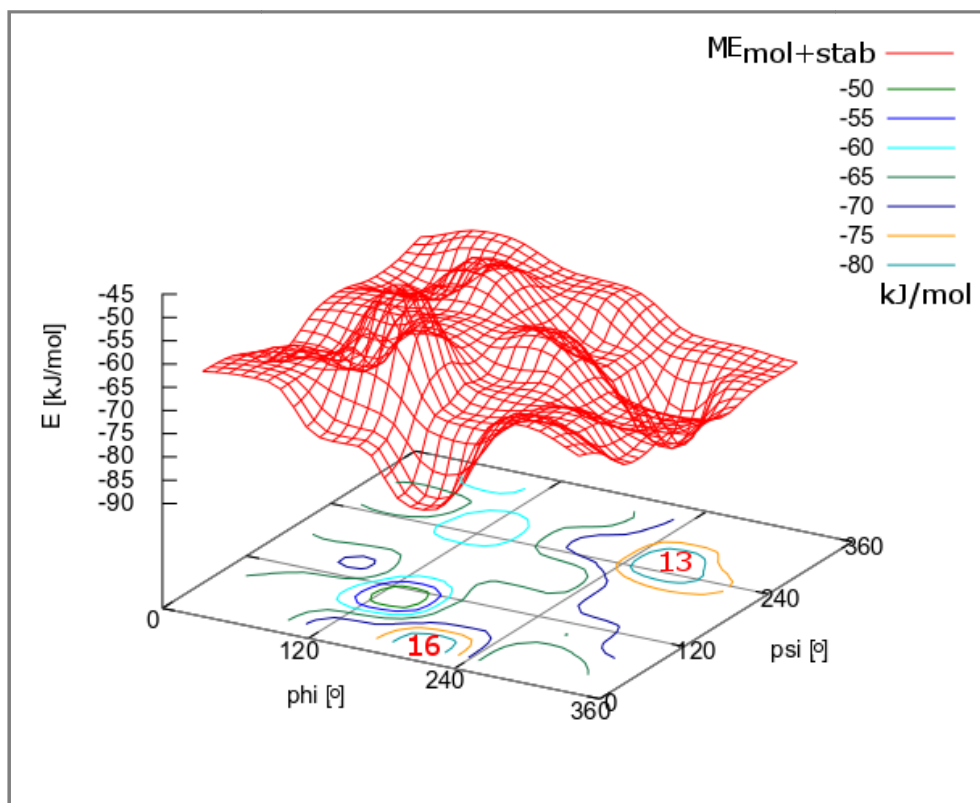


Abb. 93: Cys–Asn–Ser (zwitterionisch); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind farbig die Konturlinien eingezeichnet.

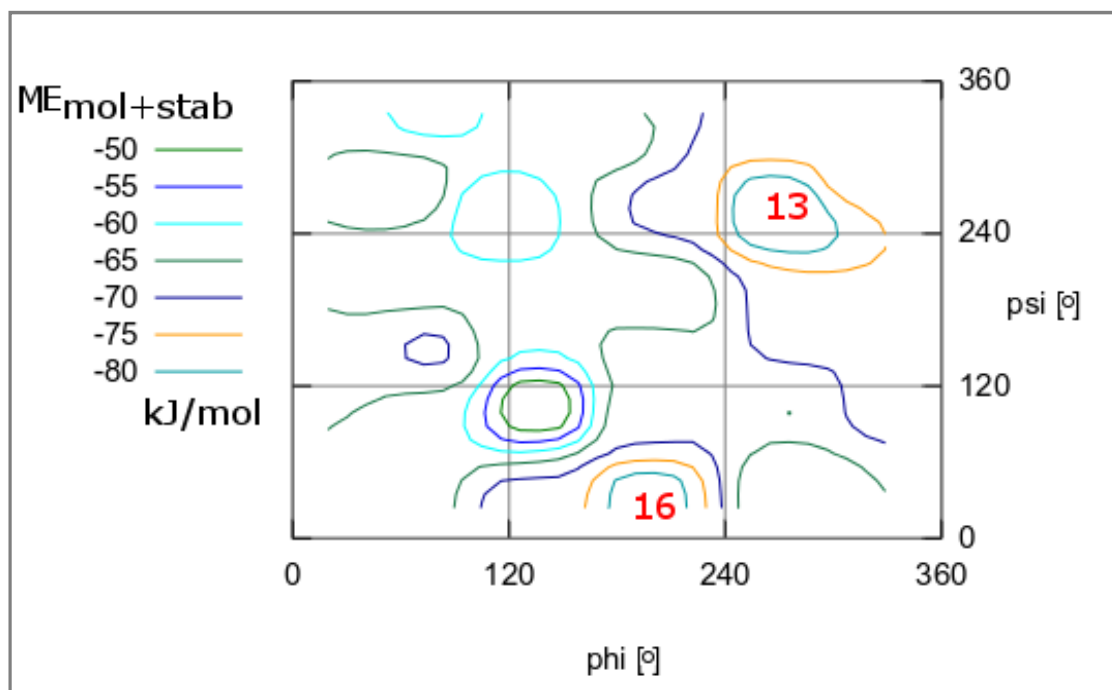


Abb. 94: Cys–Asn–Ser (zwitterionisch); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$  und Clusternummern. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Die Konformation mit der niedrigsten Energie  $E_{\text{mol+stab}}$  des Clusters 16 im  $\delta_R$ -Bereich ist eine solche Konformation mit verbrückendem Wassermolekül (Abb. 96). Das Sauerstoffatom des Wassermoleküls fungiert als zweifacher Akzeptor, was zu einem zehngliedrigen Ring führt. Die Energie  $E_{\text{mol+stab}}$  dieser Konformation ist mit  $-187,6$  kJ/mol etwas höher als die energetisch günstigste Konformation des Clusters 13 (Abb. 97) mit  $-194,3$  kJ/mol im Grenzbereich von PPII und  $\alpha_R$ . Dies lässt sich durch eine etwa  $13$  kJ/mol größere intramolekulare Coulomb-Wechselwirkungsenergie erklären. Die stabilisierenden Einflüsse der Wassermoleküle sind ansonsten für Konformationen mit  $\psi > 200^\circ$  (und damit auch für die Konformationen des Clusters 13) etwas stärker als für Konformationen mit kleineren  $\psi$ -Werten (Abb. 95).



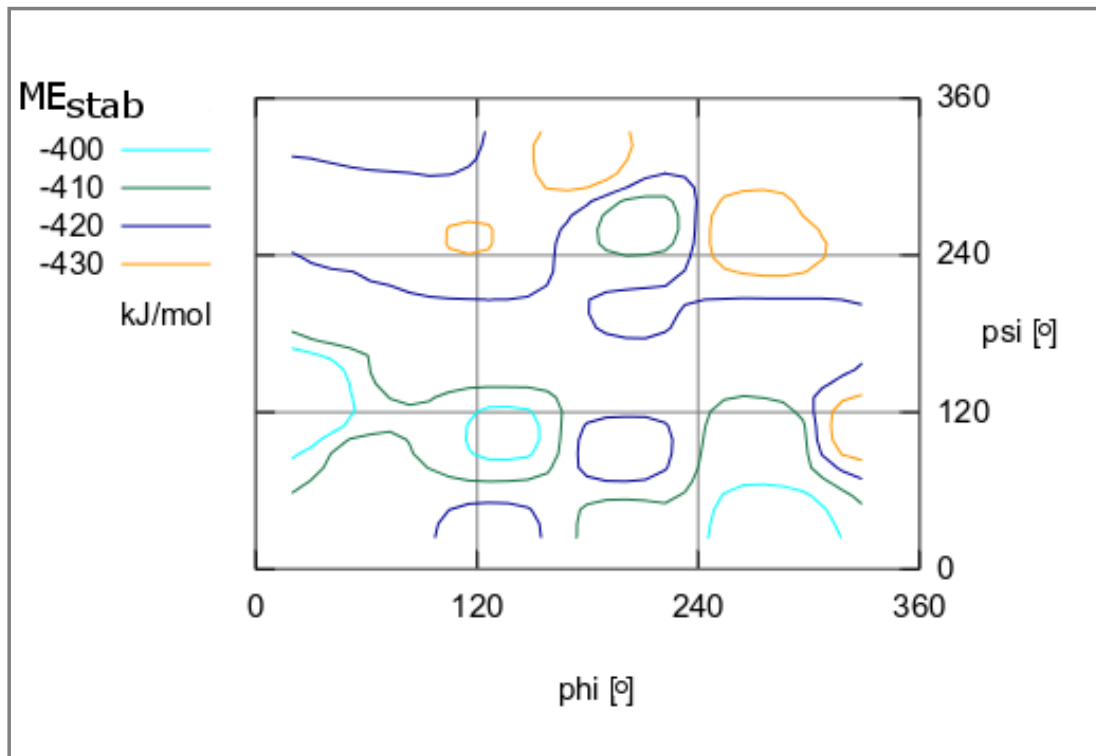


Abb. 95: Cys–Asn–Ser (zwitterionisch); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{stab}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Die schon bei Ala–Asp–Ala in der  $\delta_R$ -Konformation aufgetretenen, verbrückenden, an zwei Wasserstoffbrücken beteiligten Wassermoleküle können für das Vorliegen spezieller Konformationen in Lösung verantwortlich sein. Wenn, wie von Duitch *et al.* für Asp enthaltende Proteine vermutet [107], direkte intramolekulare Wasserstoffbrücken in Lösung ausgebildet würden, wäre das Tripeptid Cys–Asn–Ser möglicherweise stark gespannt. Diese Spannung könnte durch die Verbrückung mittels eines Wassermoleküls zu einem zehngliedrigen Ring umgangen werden. Das würde auch erklären, weshalb die  $\delta_R$ -Konformation hier, genau wie zuvor bei Ala–Asp–Ala beobachtet, vorkommen kann. Zur Bildung eines  $\beta$ -Turns sind diese Peptide zu klein, also wäre die Bildung eines  $\delta$ -Turns die logische Konsequenz, um der Turn-Vorliebe der polaren Seitenketten nachzukommen.

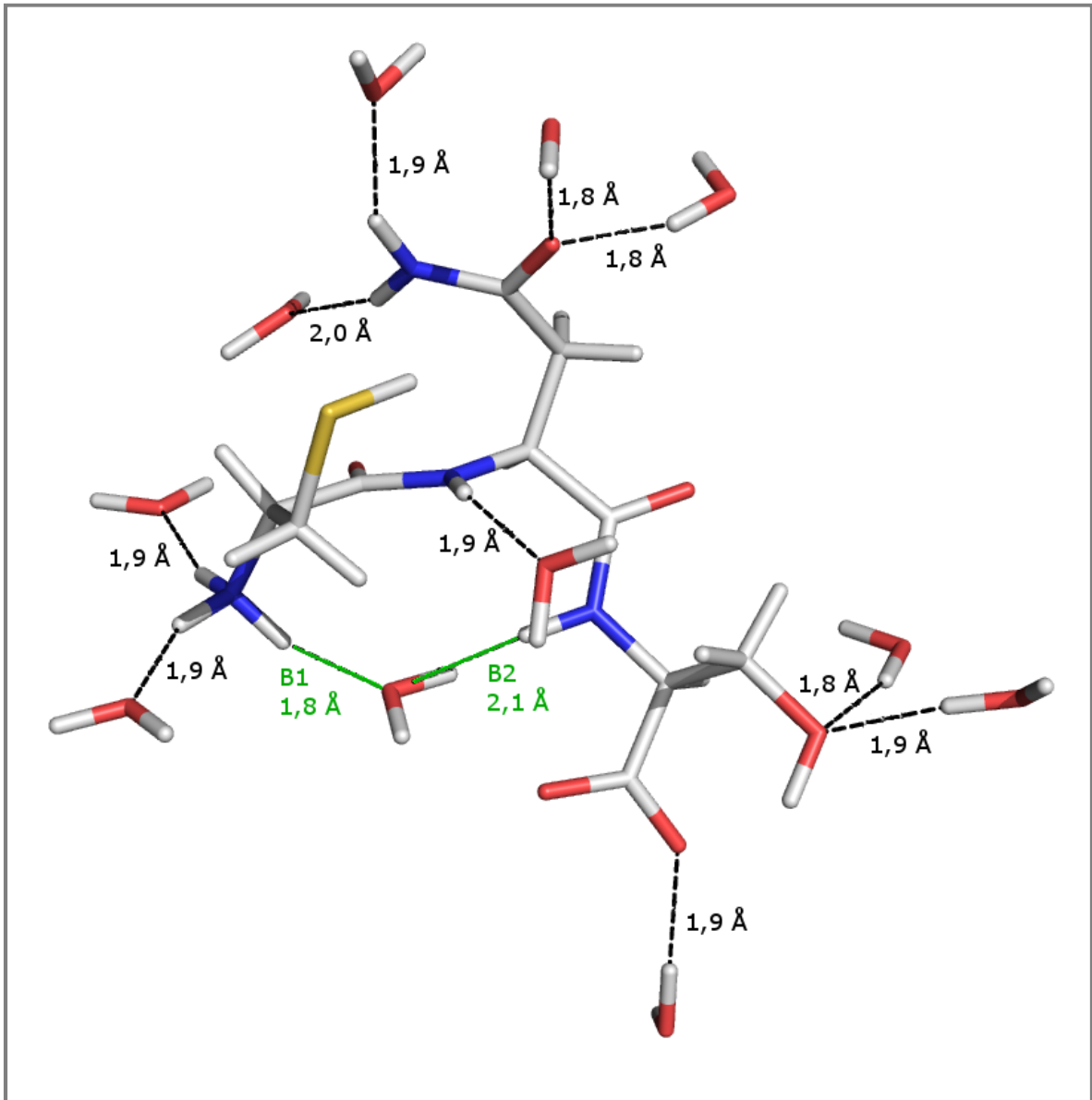


Abb. 96: Cys–Asn–Ser (zwitterionisch); energetisch günstigste Konformation des Clusters 16 aus dem  $\delta_R$ -Bereich und Wassermoleküle, die an Wasserstoffbrücken stärker als 3 kJ/mol beteiligt sind. Wasserstoffbrücken von Wassermolekülen mit zwei Wasserstoffbrücken sind grün hervorgehoben. Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben B1: 7,1 kJ/mol, B2: 8,6 kJ/mol.  $\varphi = 228,6^\circ$ ;  $\psi = 29,3^\circ$ ;  $E_{\text{mol+stab}} = -187,6$  kJ/mol

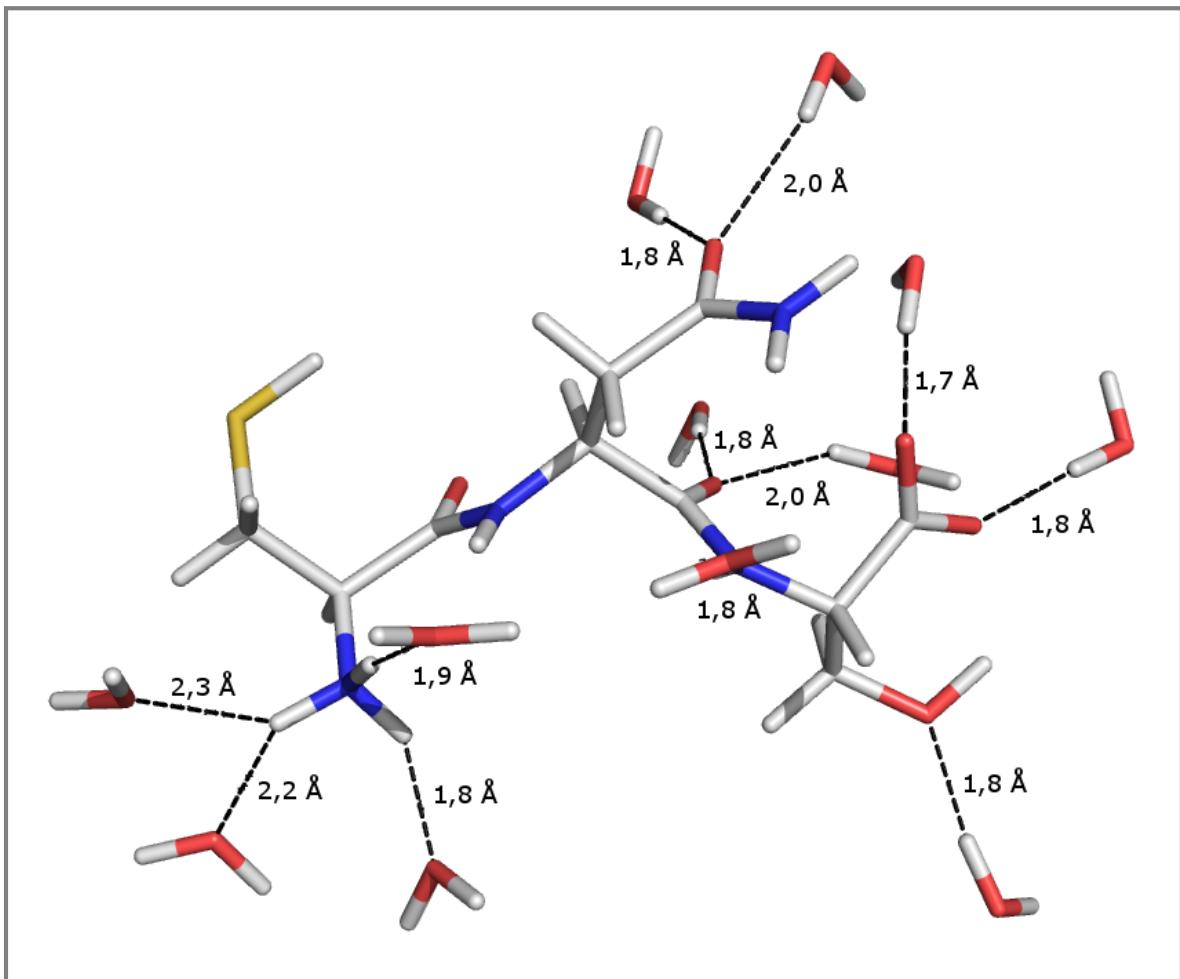


Abb. 97: Cys–Asn–Ser (zwitterionisch); energetisch günstigste Konformation des Clusters 13 aus dem  $\alpha_R$ /PPII-Bereich und Wassermoleküle, die an Wasserstoffbrücken stärker als 3 kJ/mol beteiligt sind. Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben.  $\varphi = 270,5^\circ$ ;  $\psi = 285,5^\circ$ ;  $E_{\text{mol+stab}} = -194,3$  kJ/mol

An der Verteilung der minimierten Konformationen mit TPA3-Solvationsmodell lässt sich das soeben Beschriebene nicht ablesen. Es ist keinerlei Trend zu beobachten, auch wenn auffällt, dass insbesondere bei Konformationen mit  $\varphi$ -Winkeln größer als  $240^\circ$  eine Orientierung in die enger gefasste, farbige Unterteilung des Ramachandran-Diagramms nach Pizzanelli [71] vorliegt (Abb. 98) und bei einigen Minimierungen wiederholt dieselben  $\varphi/\psi$ -Werte im  $C_7^{\text{ax}}$ -Bereich eingenommen werden (Abb. 99).

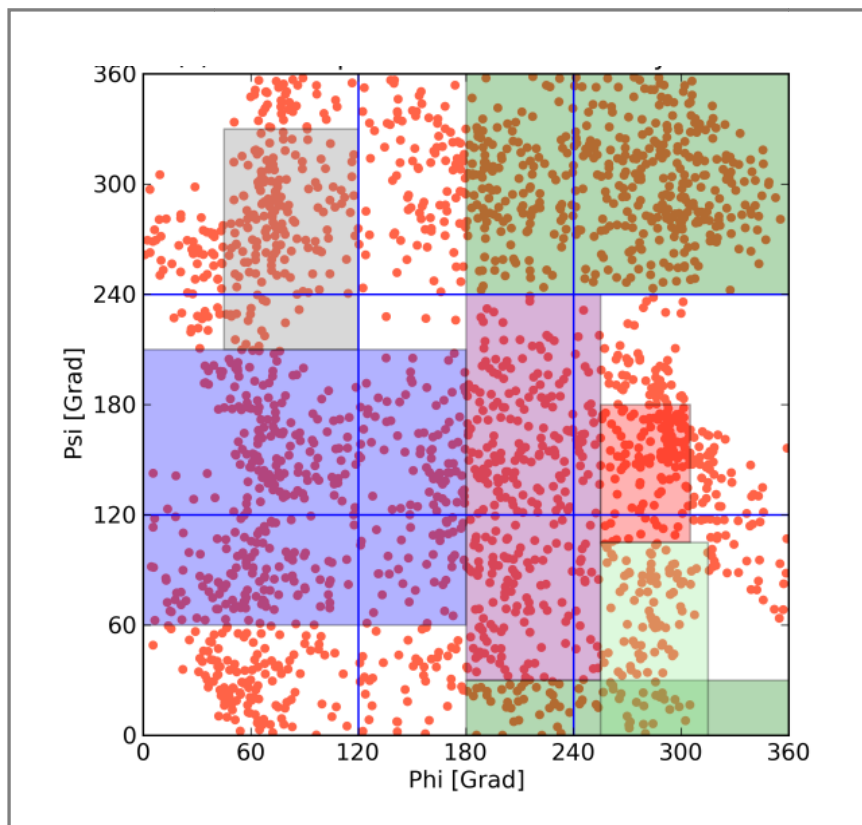


Abb. 98: Cys-Asn-Ser (zwitterionisch); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2302  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

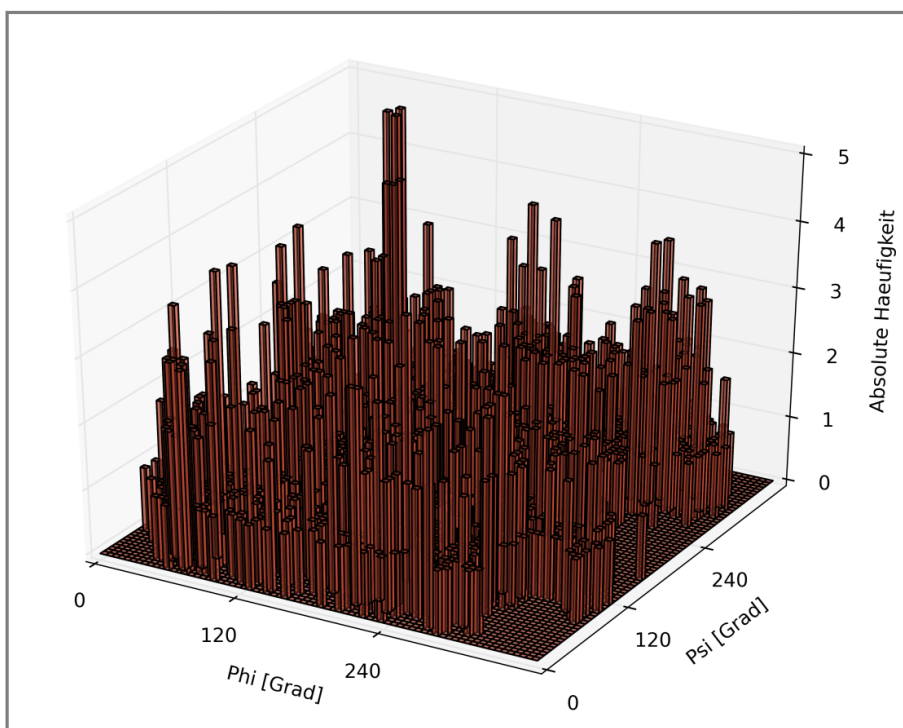


Abb. 99: Cys-Asn-Ser (zwitterionisch); 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen bei der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell.

Mit AMBER11 und TIP3P-Solvatationsmodell nehmen die minimierten Konformationen alle Strukturbereiche mit ähnlicher Häufigkeit ein (Abb. 100 und 101). Auch mit AMBER11 ist eine Orientierung in die enger gefasste, farbige Unterteilung des Ramachandran-Diagramms nach Pizzanelli *et al.* [71] zu beobachten.

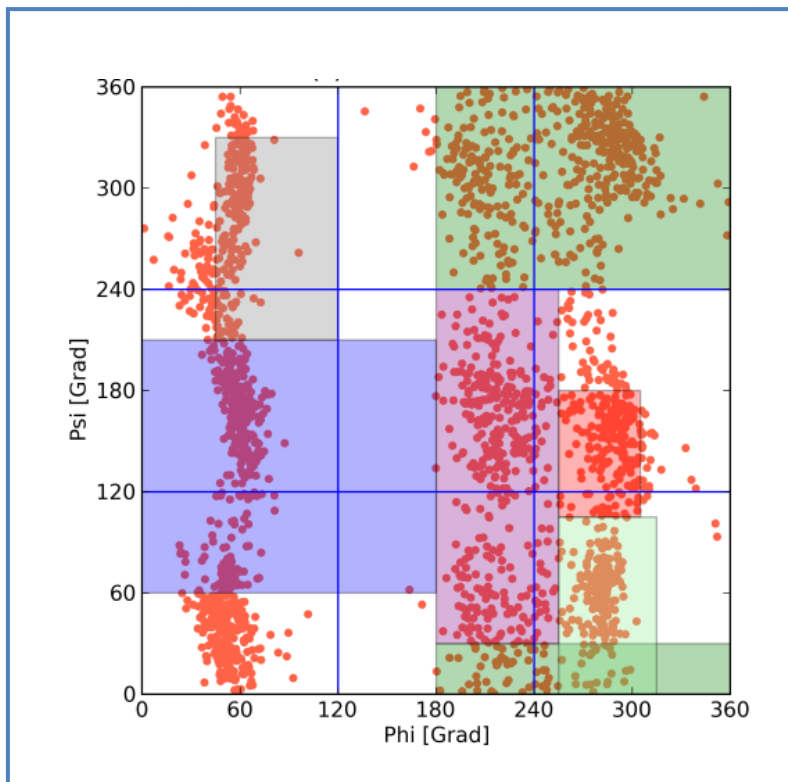


Abb. 100: Cys-Asn-Ser (zwitterionisch); 2D-Ramachandran-Diagramm der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

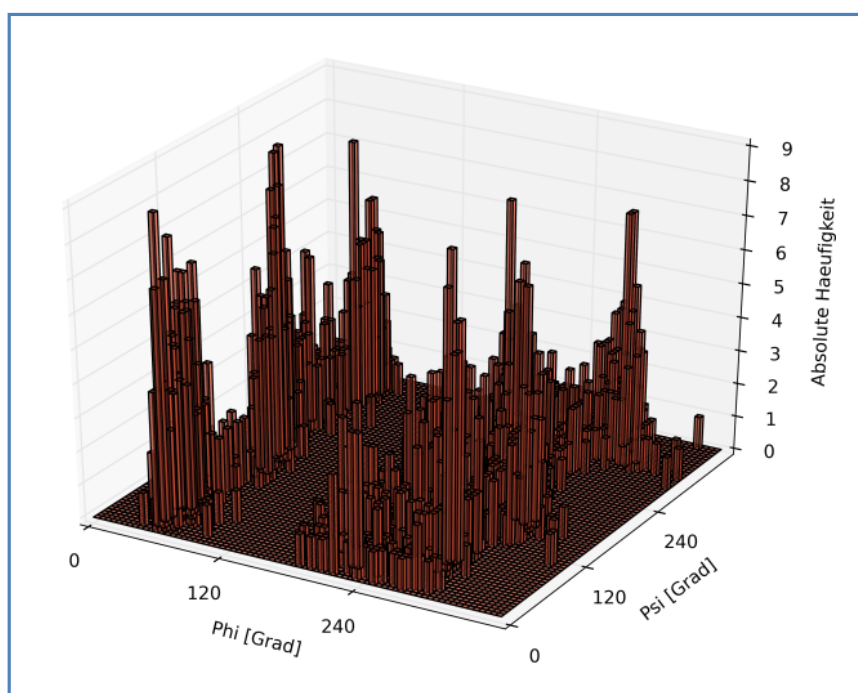


Abb. 101: Cys-Asn-Ser (zwitterionisch); 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen bei der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell.

### 7.6 Tripeptid Ala–Phe–Ala (zwitterionisches Peptidrückgrat)

Das Tripeptid Ala–Phe–Ala wurde wie die vorherigen Peptide einer Konformationsanalyse mit MOMO (im Vakuum und mit TPA3-Solvatationsmodell) sowie AMBER11 (mit TIP3P-Solvatationsmodell) unterzogen. In Abbildung 102 ist dieses Peptid in der zwitterionischen Form des Peptidrückgrats mit den variierten Torsionswinkeln  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\varphi$  und  $\psi$  gezeigt. Da wieder das Interesse auf den Torsionswinkeln  $\varphi$  und  $\psi$  der zentralen Aminosäure liegt, wurden (um Verwechslungen zu vermeiden) die entsprechenden Torsionswinkel der äußeren Aminosäuren mit  $\alpha$  und  $\beta$  bezeichnet. Die für die Konformationsanalysen relevanten Werte sind in Tabelle 9 zusammengefasst.

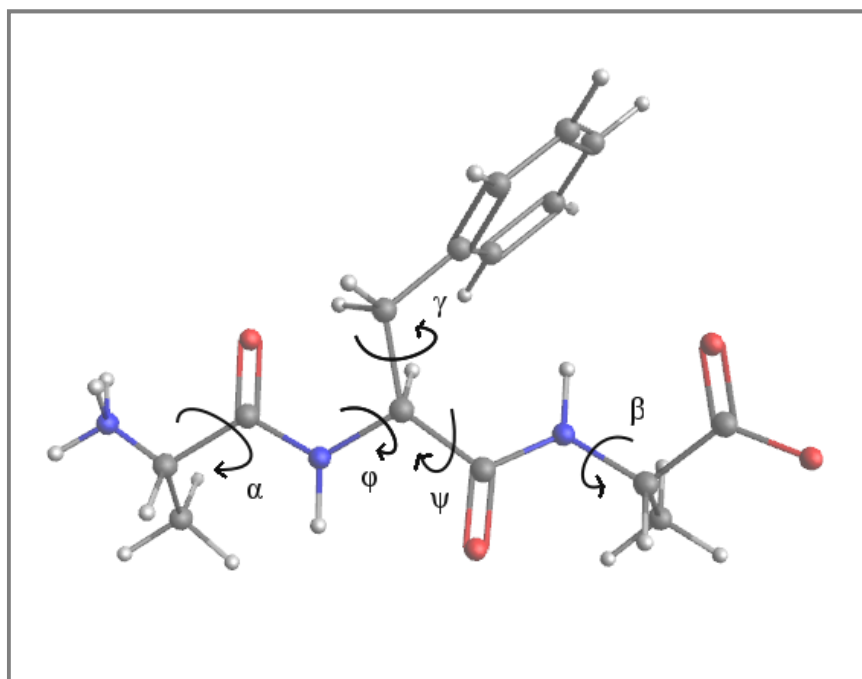


Abb. 102: Das Tripeptid Ala–Phe–Ala in der zwitterionischen Form des Peptidrückgrats. Eingezeichnet sind die fünf variierten Torsionswinkel  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\varphi$  und  $\psi$ .

	$\alpha$	$\varphi$	$\psi$	$\beta$	$\gamma$
<i>Schrittweiten</i>	90°	60°	60°	90°	90°
<i>Anzahl Konformationen</i>	2304				
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 1		AMBER11: 0		
<i>Clusteranzahl</i>	22				
$E_{\text{mol}+\text{stab}}^{\#}$	-140,4 kJ/mol				
<i>aussortierte Cluster</i>	Nr. 8 ( nur ein Wert enthalten) Nr. 17 (nur ein Wert enthalten)				

<sup>#</sup>Energetisch günstigste Konformation innerhalb des Clusters mit der niedrigsten Energie. Diese Konformation ist in Abbildung 110 gezeigt.

Tabelle 9: Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell an Ala–Phe–Ala (zwitterionisch).

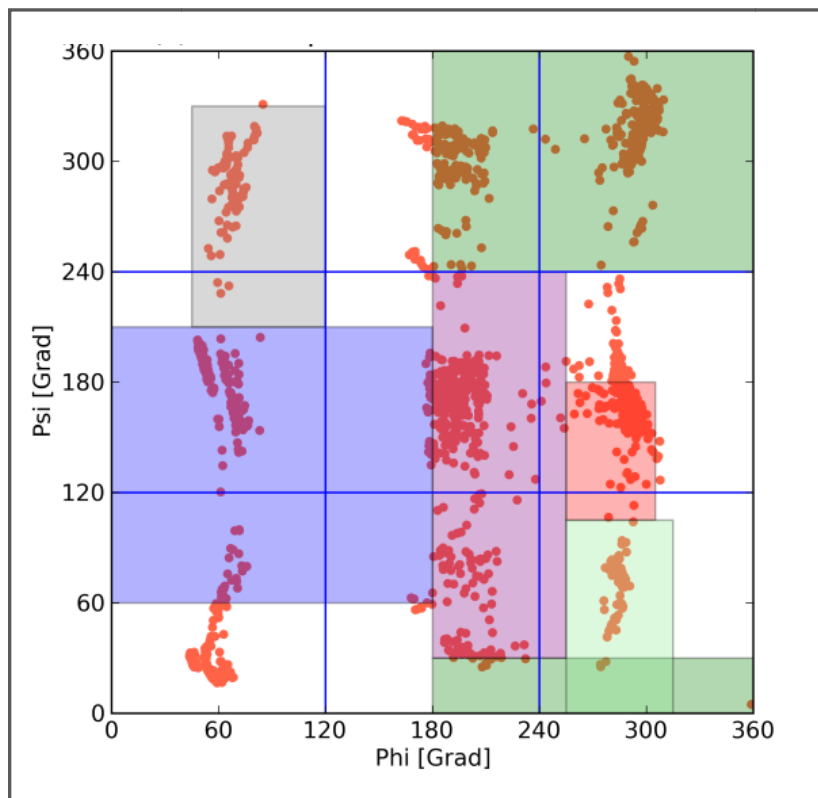


Abb. 103: Ala-Phe-Ala (zwitterionisch); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

Im Vakuum sind  $\alpha$ -Helices für dieses Peptid begünstigt. Dies zeigt sowohl das dreidimensionale Säulendiagramm der absoluten Häufigkeiten der  $\phi/\psi$ -Werte minimierter Konformationen (Abb. 104) als auch die gerasterte Datenpunktfäche von  $ME_{\text{mol}}$  (Abb. 105). Konformationen im Bereich  $\phi \approx 200^\circ$  werden hingegen für den gesamten  $\psi$ -Bereich (größtenteils  $\beta$ -Faltblattbereich) sehr selten eingenommen. In der zweidimensionalen Verteilung (Abb. 103) ist dies genauso wenig zu erkennen, wie die geringen Häufigkeiten an Konformationen im  $\beta$ -Faltblattbereich. Dass  $\alpha_R$ -helikale Konformationen etwas häufiger auftreten als  $\alpha_D$ -helikale, wird seine Ursache darin haben, dass Konformationen aus dem Bereich des Energiemaximums bei  $\phi \approx 300^\circ$  und  $\psi \approx 240^\circ$  bevorzugt in das benachbarte Minimum im  $\alpha_R$ -helikalen Bereich minimiert werden. Die Energien  $ME_{\text{mol}}$  in den beiden  $\alpha$ -helikalen Bereichen sind jedoch etwa gleich groß.

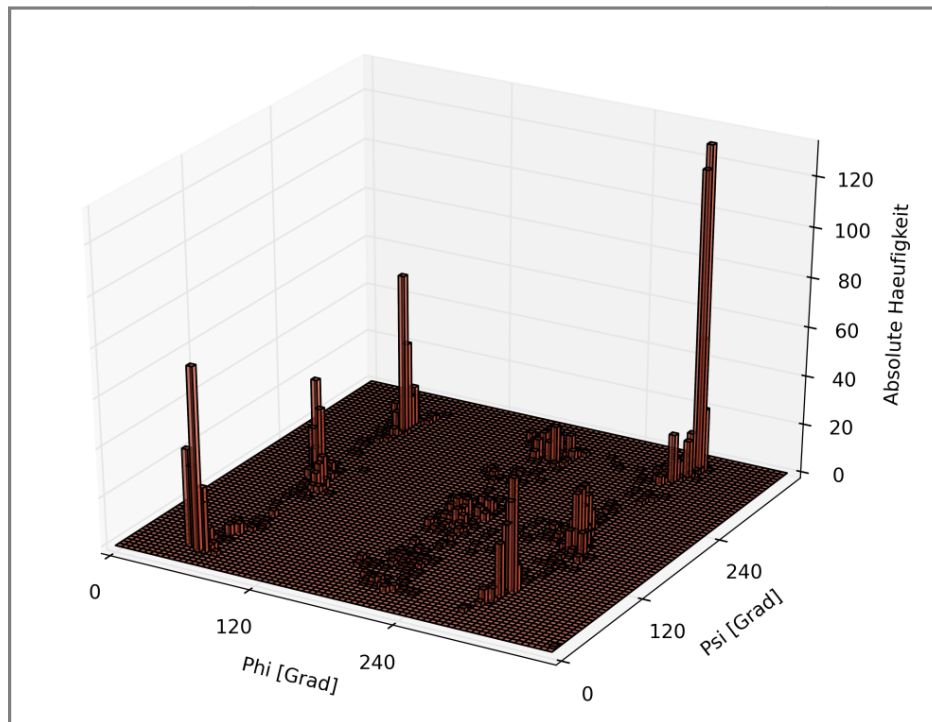


Abb. 104: Ala-Phe-Ala (zwitterionisch); 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen bei der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum.

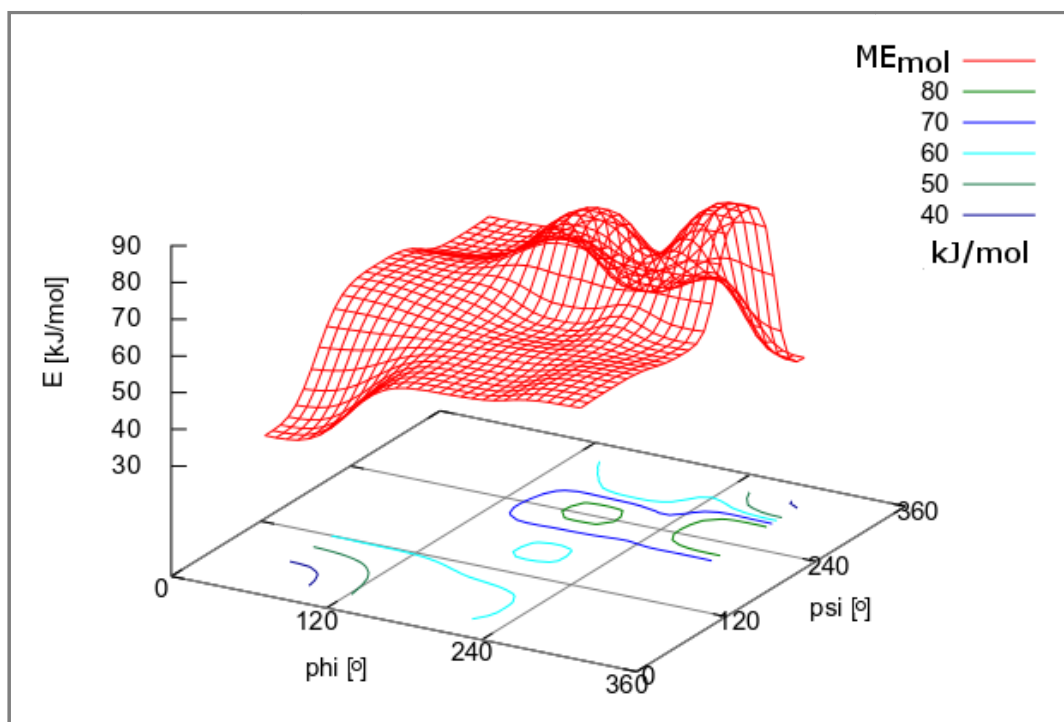


Abb. 105: Ala-Phe-Ala (zwitterionisch); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit Konturlinien der in rot dargestellten gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{mol}$ .



Die Verteilung der minimierten Konformationen mit TPA3-Solvatationsmodell (Abb. 106) zeigt eine gleichmäßige Streuung der Konformationen.

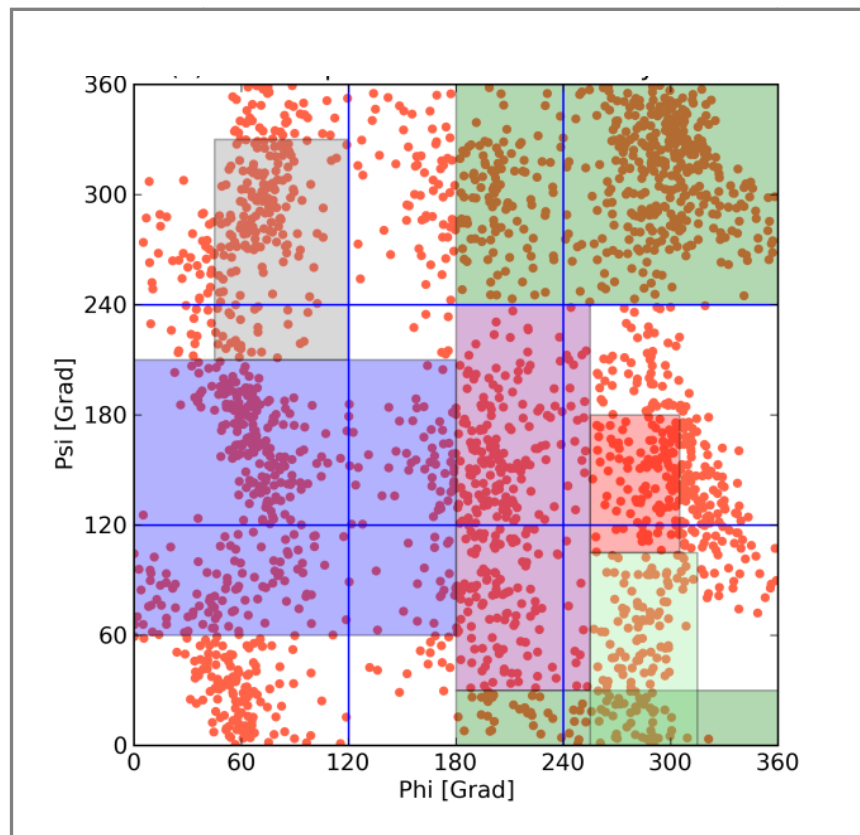


Abb. 106: Ala-Phe-Ala (zwitterionisch); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2303  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

Das Säulendiagramm der Häufigkeiten mit TPA3-Solvatationsmodell minimierter Konformationen (Abb. 107) offenbart jedoch, dass auch mit Solvatationsmodell der schon im Vakuum beobachtete Trend zu  $\alpha$ -helikalen Konformationen bestehen bleibt. Die größten Häufigkeiten zeigen sich im  $\alpha_D$ - und  $\alpha_R$ -helikalen Bereich.

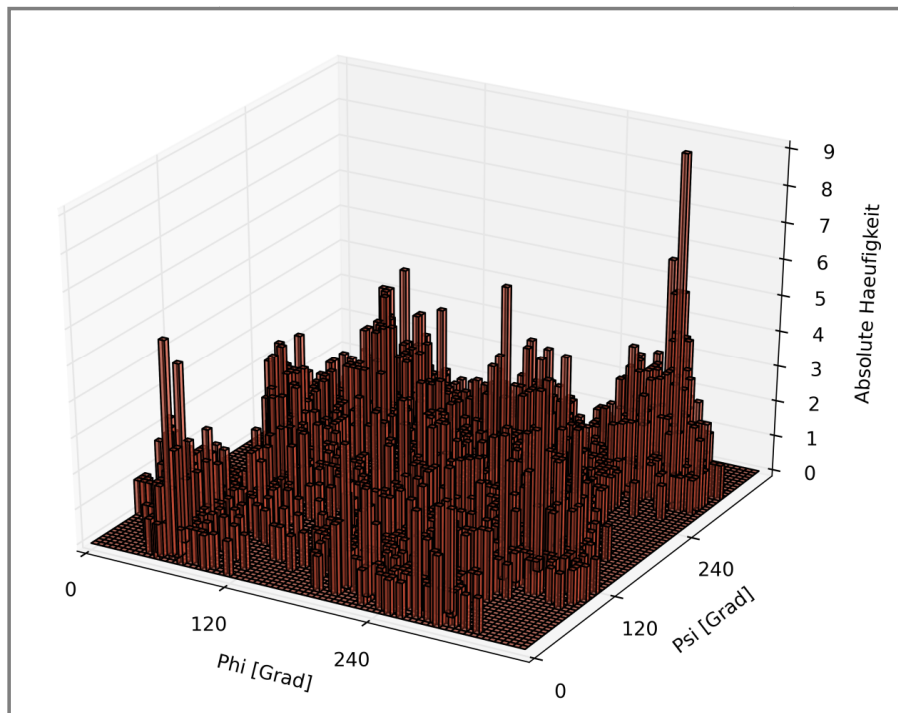


Abb. 107: Ala-Phe-Ala (zwitterionisch); 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen bei der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell.

Die mit der Bildung der Mediane erhaltenen  $ME_{\text{mol+stab}}$ -Werte der Cluster führen nach dem Rastern der Datenpunkte zu einer flachen Datenpunktfäche mit nur einem deutlichen Minimum bei  $\phi \approx 140^\circ / \psi \approx 40^\circ$  im Grenzbereich von  $\alpha_D$  und  $\delta_R$  (Abb. 108 und 109).

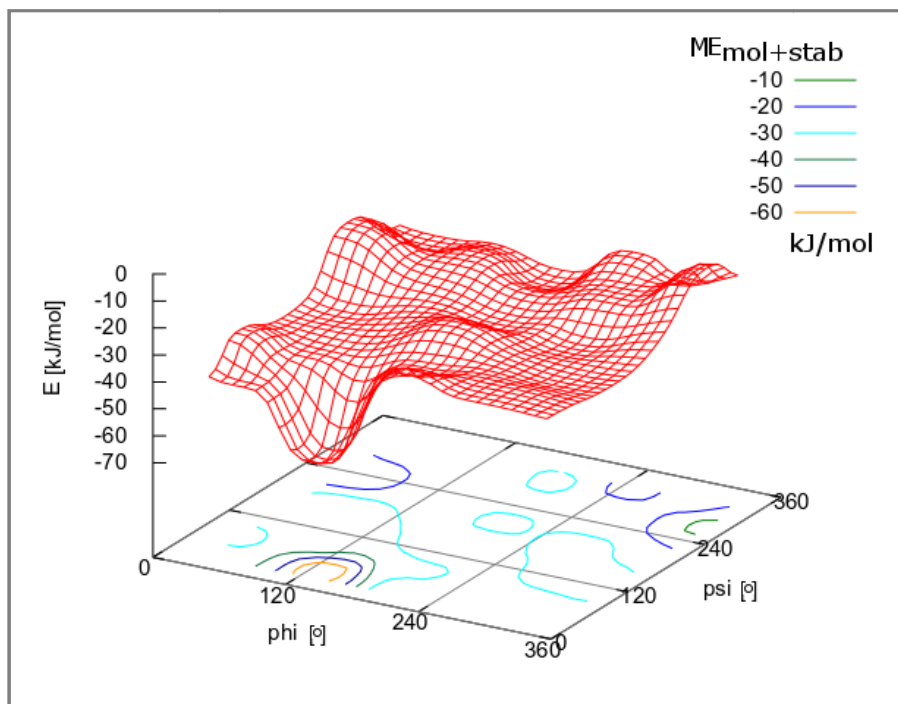


Abb. 108: Ala-Phe-Ala (zwitterionisch); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktfäche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind farbige die Konturlinien eingezeichnet.

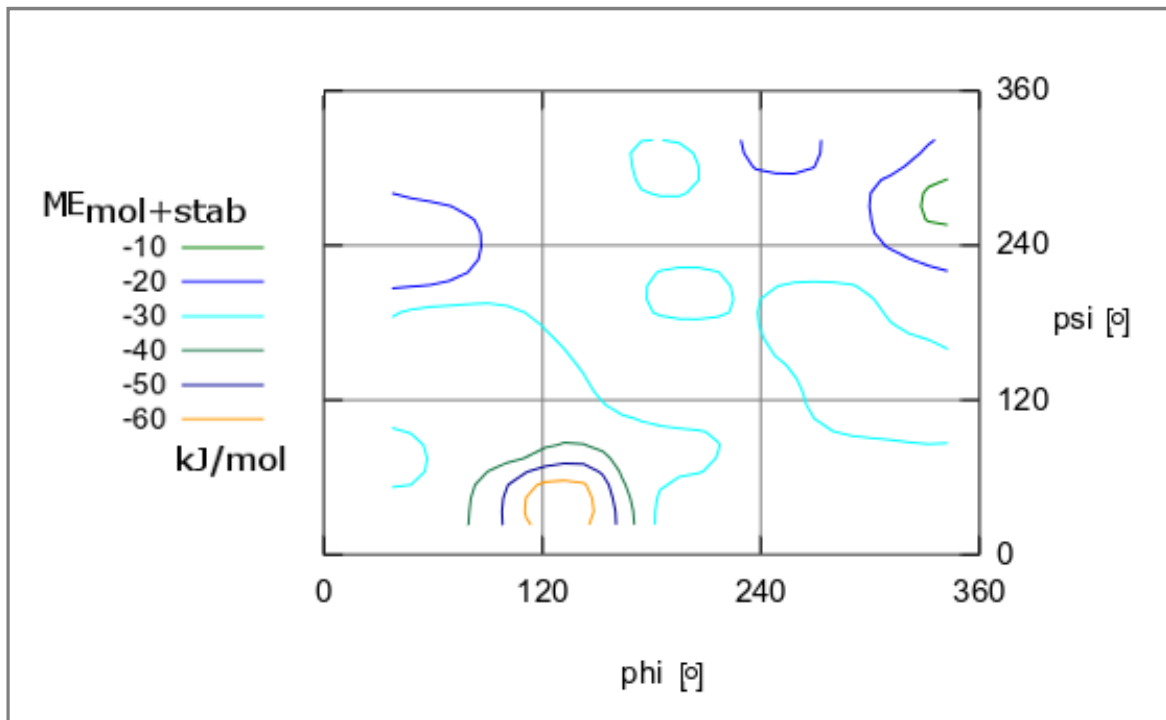


Abb. 109: Ala-Phe-Ala (zwitterionisch); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Der Trend zur  $\alpha_D$ -helikalen Struktur ist klar erkennbar. Berücksichtigt man noch die größte Säule der Häufigkeiten des Auftretens einer Struktur (Abb. 107), wird klar, dass nicht nur  $\alpha_D$ -helikale Konformationen begünstigt zu sein scheinen, sondern auch eine Begünstigung für rechtshändige  $\alpha$ -Helices vorliegt.

Wie mit TPA3-Solvatationsmodell ergab die Konformationsanalyse im Vakuum ebenfalls eine Begünstigung von  $\alpha_D$ - und  $\alpha_R$ -Konformationen. Somit ist der Einfluss von  $E_{\text{mol}}$  auch mit Solvatationsmodell dominant und spiegelt sich in  $ME_{\text{mol+stab}}$  wieder. Dies lässt vermuten, dass bei Ala-Phe-Ala der Einfluss des Solvatationsmodells und damit des Wassers auf die Konformationen dieses Peptids vergleichsweise schwach ist. Der sperrige Phenylrest kann Wechselwirkungen mit Wassermolekülen verhindern. In Abbildung 110, in der die energetisch günstigste Konformation des Clusters mit der niedrigsten Energie  $ME_{\text{mol+stab}}$  zu erkennen ist, schirmt der Phenylrest den oberen Teil des Peptids ab. Gerade in der  $\alpha_D$ -Region kommen nun starke stabilisierende Wechselwirkungen durch die Wassermoleküle an der unteren Seite des Peptids hinzu, die sich bis in den  $\alpha_L$ -Bereich erstrecken (vgl. Konturlinien von  $ME_{\text{stab}}$  in Abb. 111). Diese beiden begünstigenden Einflüsse fallen ausschließlich dort zusammen.

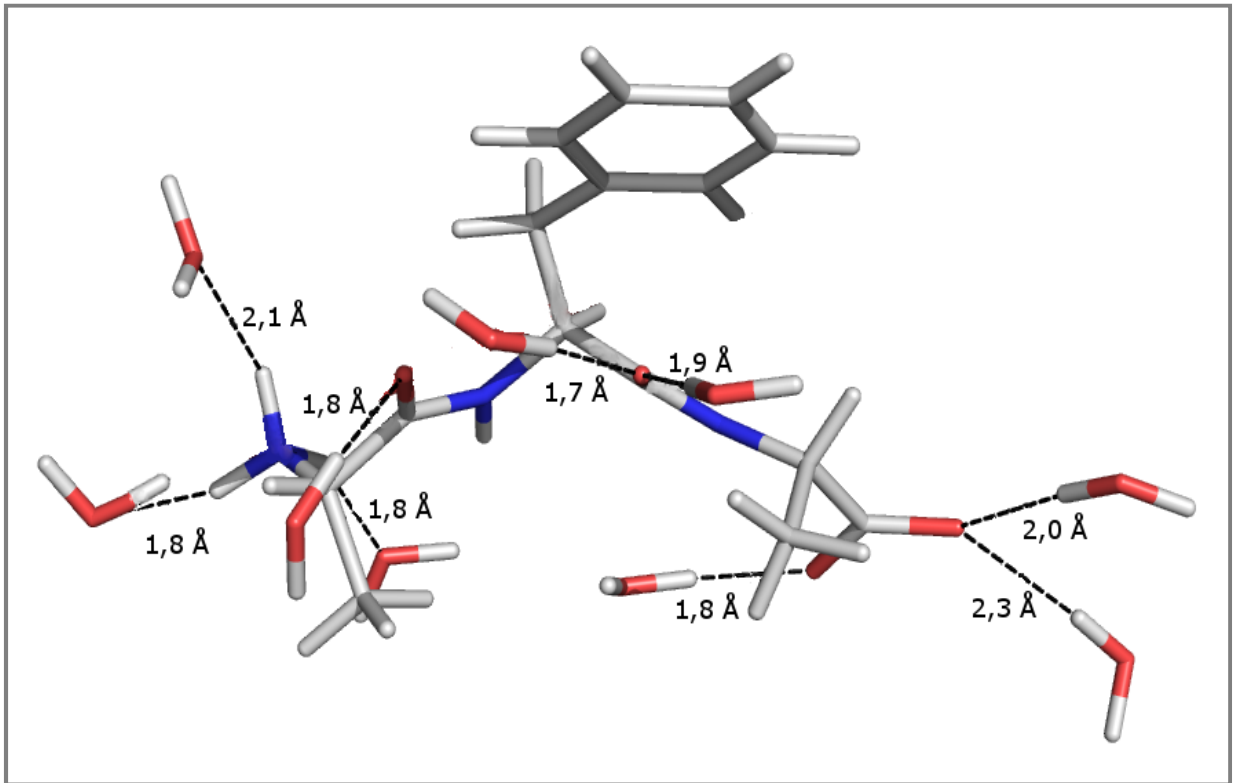


Abb. 110: Ala–Phe–Ala (zwitterionisch); energetisch günstigste Konformation des Clusters mit der niedrigsten Energie aus dem  $\alpha_D/\delta_R$ -Bereich und Wassermoleküle, die an Wasserstoffbrücken stärker als 3 kJ/mol beteiligt sind. Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben.  $\varphi = 81,6^\circ$ ;  $\psi = 94,0^\circ$ ;  $E_{\text{mol+stab}} = -140,4$  kJ/mol

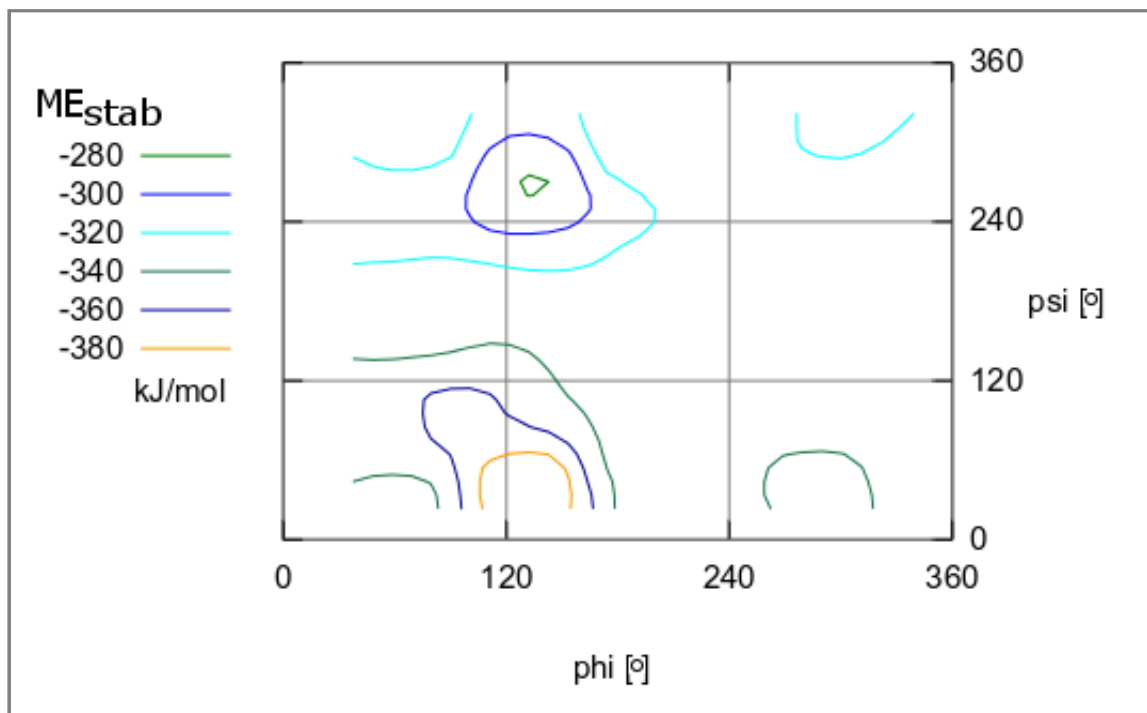


Abb. 111: Ala–Phe–Ala (zwitterionisch); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Die Konformationsanalyse im TIP3P-Solvatationsmodell mit AMBER11 ergab gleichmäßige Häufungen in nahezu allen neun Strukturbereichen des Ramachandran-Diagramms (Abb. 112 und 113). Auffällig sind im Säulendiagramm der Häufigkeiten nur zwei Säulen im C<sub>5</sub>-Bereich mit mehr Konformationen pro Quadrant als bei den umliegenden. Von einer Begünstigung dieser Struktur kann man mit der vorliegenden Verteilung der Konformationen jedoch nicht ausgehen.

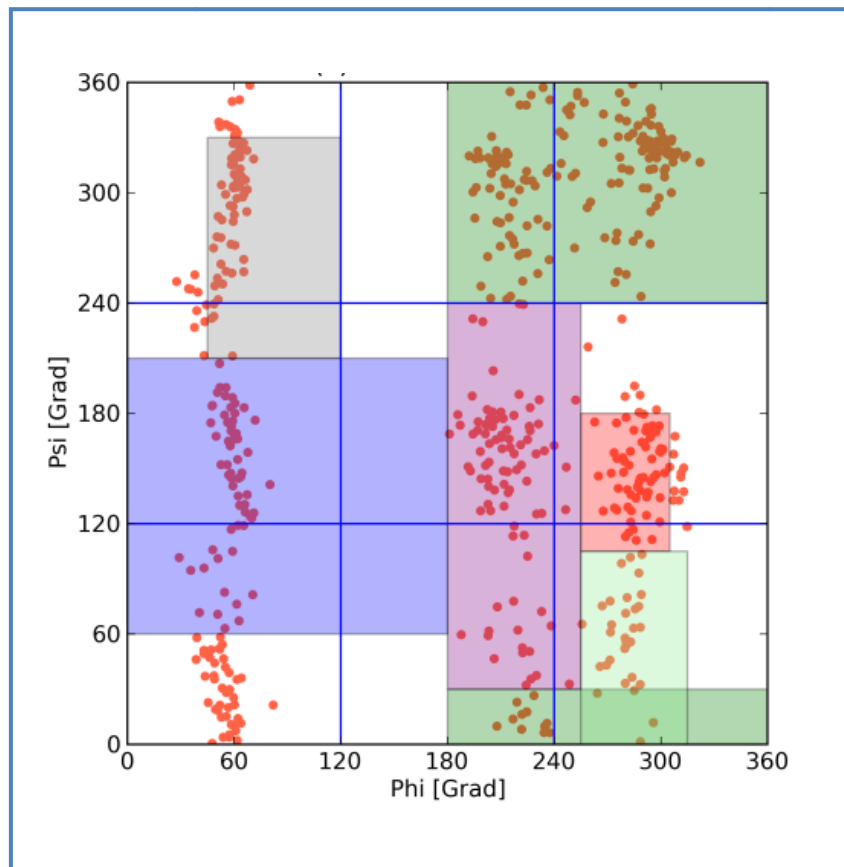


Abb. 112: Ala-Phe-Ala (zwitterionisch); 2D-Ramachandran-Diagramm der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

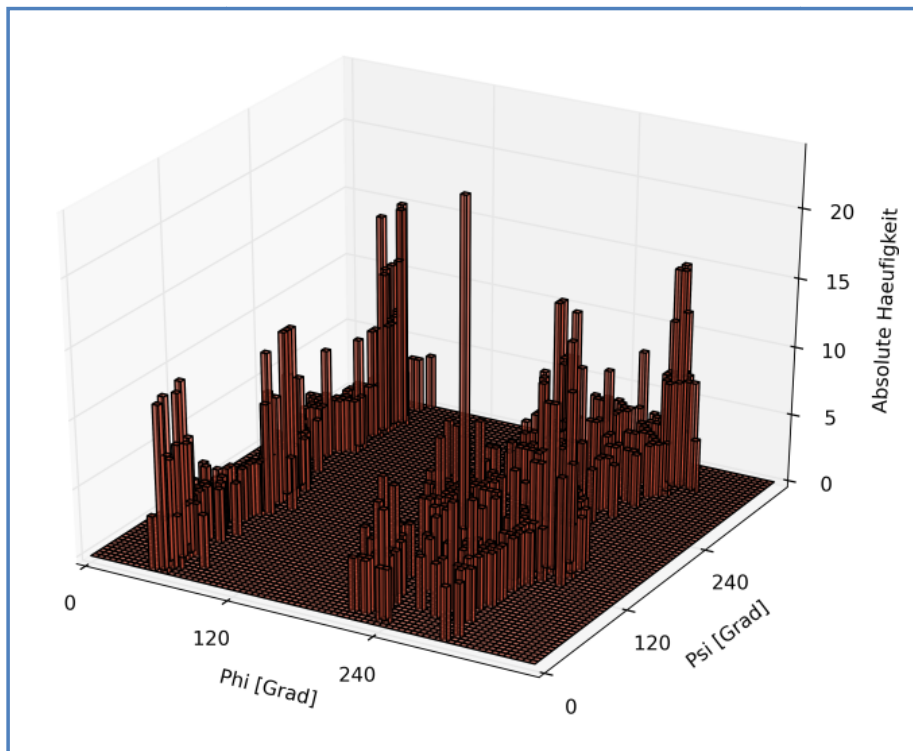


Abb. 113: Ala-Phe-Ala (zwitterionisch); 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen bei der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell.

Mit der Protonierung des C-Terminus zeigten sich neue Minima auf der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{stab}}$  im  $\beta$ -Faltblatt-, PPII- und  $\alpha_L$ -Bereich.  $\alpha_D$ -Konformationen werden durch das Solvatationsmodell ebenfalls begünstigt (Abb. 114).

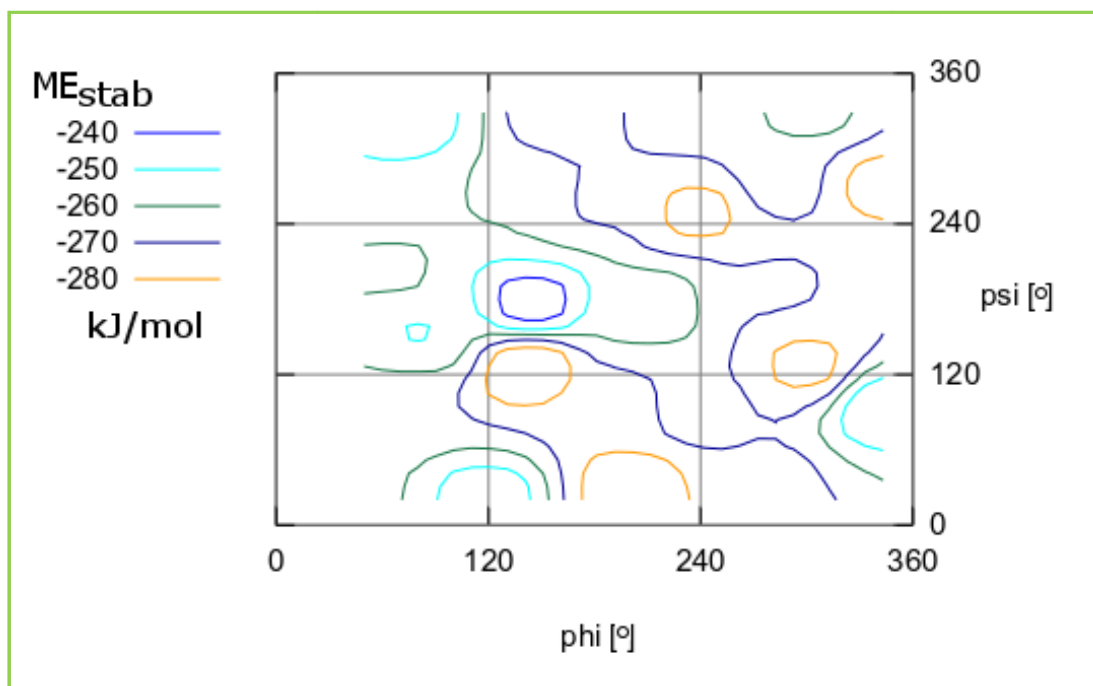


Abb. 114: Ala-Phe-Ala (protonierter C-Terminus); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell an Ala-Phe-Ala mit protoniertem C-Terminus. Farbige eingezeichnet sind die Konturlinien der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Dies deutet darauf hin, dass mit der Protonierung die stabilisierenden Einflüsse des Wassers unspezifischer werden. Über das gesamte Ramachandran-Diagramm hinweg zeigen sich Minima, ohne dass ein bestimmter Strukturbereich besonders begünstigt zu sein scheint. Ein globales Minimum ist in dieser Darstellung nicht zu erkennen, da die in Abbildung 114 an der orangenen Farbe erkennbaren Minima allesamt Energien im Bereich  $-289 \text{ kJ/mol} < \overline{ME}_{\text{stab}} < -283 \text{ kJ/mol}$  aufweisen und auf demselben Niveau der Konturlinien liegen.

Eine AMBER11-Konformationsanalyse war mit protonierten C-Terminus nicht möglich.

Mit der Bildung der Mittelwerte  $\overline{M}$  der Einzelkonformationsenergien  $E_{\text{mol+stab}}$  der Cluster werden  $\overline{ME}_{\text{mol+stab}}$ -Werte der Cluster erhalten, die nach der dreidimensionalen Auftragung eine Verschiebung des Minimums auf der sonst so flachen gerasterten Datenpunktefläche in den Bereich der linkshändigen  $\alpha$ -Helix zeigen. Eine ähnliche Abweichung von Mittelwert und Median war ansonsten bei keinem anderen, mehr als eine Aminosäure enthaltenden Peptid mit mehr als 1500 minimierten Konformationen, zu beobachten. Dies zeigt, dass in dem Cluster, der nun das Minimum bestimmt, einige Konformationen mit großen negativen Energiebeiträgen enthalten sind, die mit der Bildung des Medians verworfen werden. Man kann somit davon ausgehen, dass von Ala-Phe-Ala in Wasser nicht nur  $\alpha_D$ - und  $\alpha_R$ -Konformationen eingenommen werden, sondern eben auch die übriggebliebene  $\alpha_L$ -helikale Konformation. Die gerasterte Datenpunktefläche der  $\overline{ME}_{\text{mol+stab}}$ -Werte ist in Abbildung 115 gezeigt.

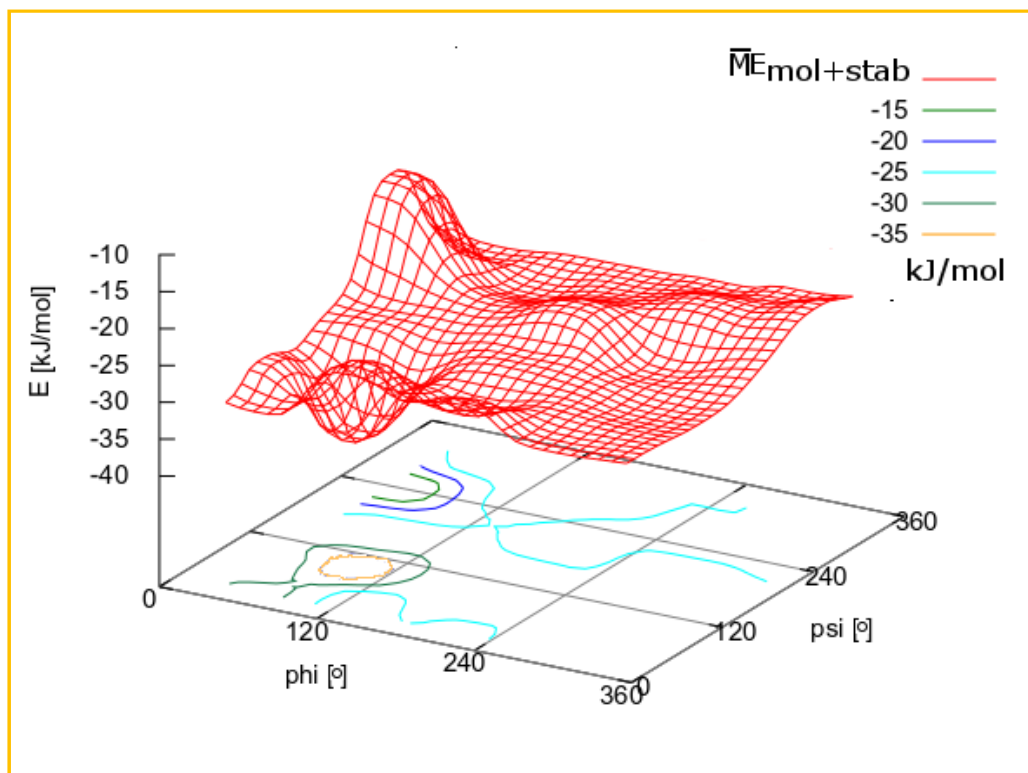


Abb. 115: Ala-Phe-Ala (zwitterionisch); 3D-Ramachandran-Diagramm der Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktefläche, die sich mit der Bildung der Mittelwertenergien  $\overline{ME}_{\text{mol+stab}}$  der Cluster ergibt, sind farbige die Konturlinien eingezeichnet.

### 7.7 Tripeptid Gly–Phe–Gly (zwitterionisches Peptidrückgrat)

Das Tripeptid Gly–Phe–Gly wurde ebenfalls einer Konformationsanalyse mit MOMO (im Vakuum und mit TPA3-Solvatationsmodell) sowie AMBER11 (mit TIP3P-Solvatationsmodell) unterzogen. In Abbildung 116 ist dieses Peptid in der zwitterionischen Form des Peptidrückgrats mit den variierten Torsionswinkeln  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\varphi$  und  $\psi$  gezeigt. Da wieder das Interesse auf den Torsionswinkeln  $\varphi$  und  $\psi$  der zentralen Aminosäure liegt, wurden (um Verwechslungen zu vermeiden) die entsprechenden Torsionswinkel der äußeren Aminosäuren mit  $\alpha$  und  $\beta$  bezeichnet. Die für die Konformationsanalysen relevanten Werte sind in Tabelle 10 zusammengefasst.

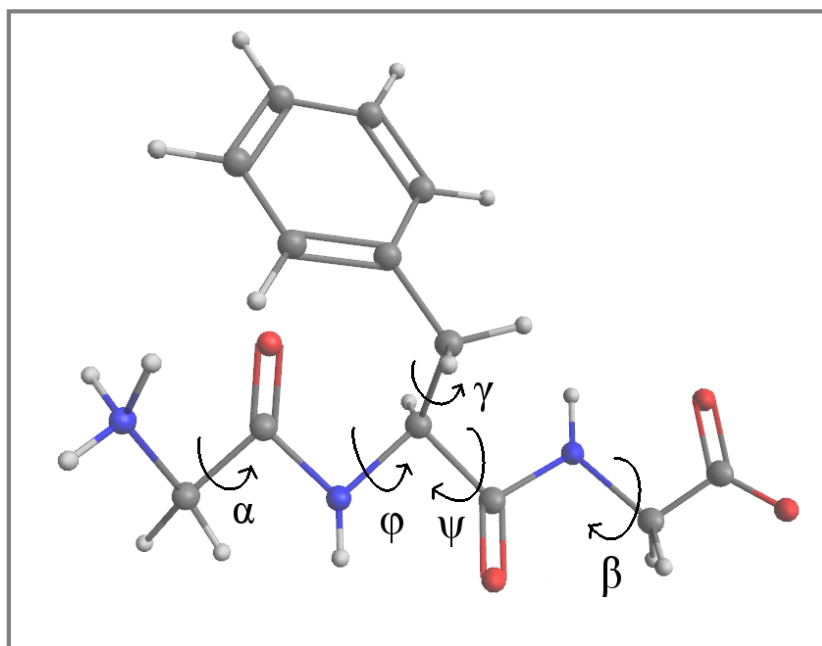


Abb. 116: Das Tripeptid Gly–Phe–Gly in der zwitterionischen Form des Peptidrückgrats. Eingezeichnet sind die fünf variierten Torsionswinkel  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\varphi$  und  $\psi$ .

	$\alpha$	$\varphi$	$\psi$	$\beta$	$\gamma$
<i>Schrittweiten</i>	90°	60°	60°	90°	90°
<i>Anzahl Konformationen</i>	2304				
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 1		AMBER11: 0		
<i>Clusteranzahl</i>	24				
$E_{\text{mol+stab}}^{\#}$	-194,3 kJ/mol				
<i>aussortierte Cluster</i>	keine				

<sup>#</sup>Energetisch günstigste Konformation innerhalb des Clusters mit der niedrigsten Energie. Diese Konformation ist in Abbildung 124 gezeigt.

Tabelle 10: Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell an Gly–Phe–Gly (zwitterionisch).



Durch die Flexibilität der Glycine am C- und N-Terminus wird der Einfluss des sperrigen Restes des Phenylalanins auf die Konformation des gesamten Peptids stärker. Im Vergleich dazu wird bei Ala–Phe–Ala jedoch nicht etwa die (PPII-)Vorliebe der endständigen Alanine auf Phenylalanin übertragen, sondern alleine durch deren geringere Flexibilität, bedingt durch den größeren sterischen Anspruch der Methylgruppen des Alanins, werden einige Konformationen ungünstiger. Dieser Einfluss lässt sich nicht nur auf 1,3-Allylspannungen begrenzen und mit Newman-Projektionen verdeutlichen, da elektrostatische Wechselwirkungen und Dispersionswechselwirkungen der Seitenkette mit Wassermolekülen hinzukommen. Auch in Konformationen, in denen keine direkte Begründung mittels sterischer Wechselwirkungen möglich ist, können beispielsweise durch Abschirmeffekte der Methylreste des Alanins stabilisierende Wechselwirkungen durch Wassermoleküle verhindert werden. Damit ist Glycin die bessere Wahl als endständige Aminosäuren in einem Tripeptid, bei dem alleine die strukturbildenden Eigenschaften der mittleren Aminosäure untersucht werden sollen.

Die Konformationsanalyse im Vakuum ergab ähnliche Ergebnisse wie zuvor für Ala–Phe–Ala. Nicht nur die zweidimensionale Verteilung der minimierten Konformationen sind sich sehr ähnlich (vgl. Abb. 103 und 117) – auch die gerasterte Datenpunktefläche von  $ME_{mol}$  zeigt über dem Ramachandran-Diagramm Minima an ähnlichen Stellen (vgl. Abb. 105 und 118).

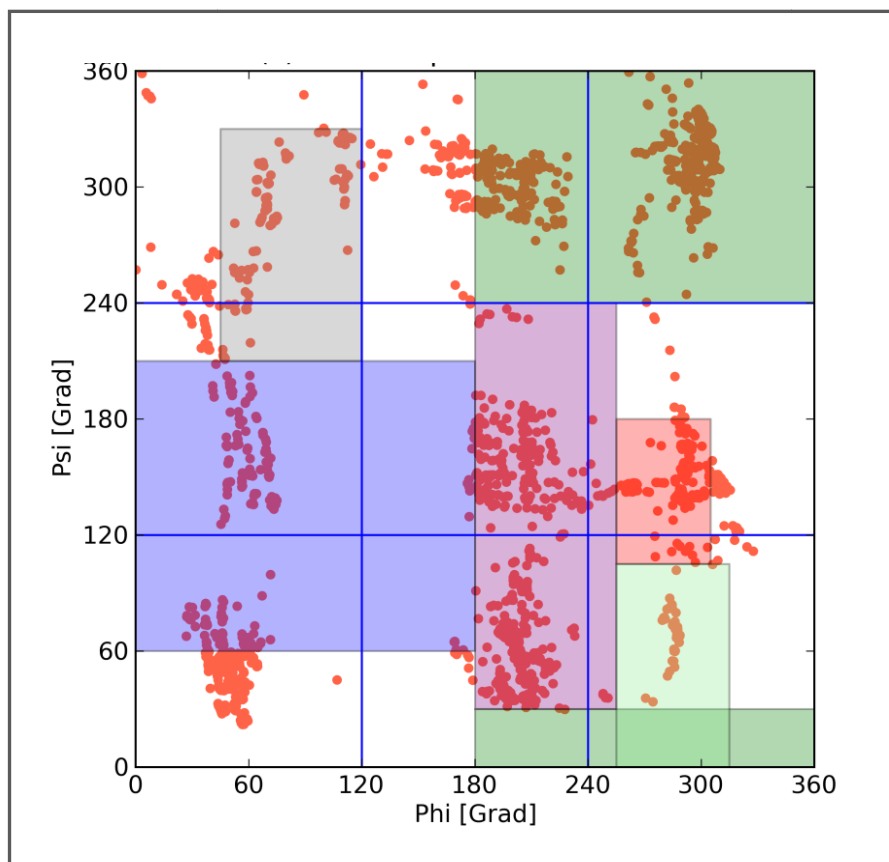


Abb. 117: Gly–Phe–Gly (zwitterionisch); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

Minima im  $\alpha_D$ - und  $\alpha_R$ -Bereich sind auf beiden Datenpunkteflächen vorhanden. Bei Gly–Phe–Gly kommt allerdings noch ein Minimum im C5/PPII-Bereich hinzu, das auf der Datenpunktefläche von Ala–Phe–Ala nicht vorhanden ist.

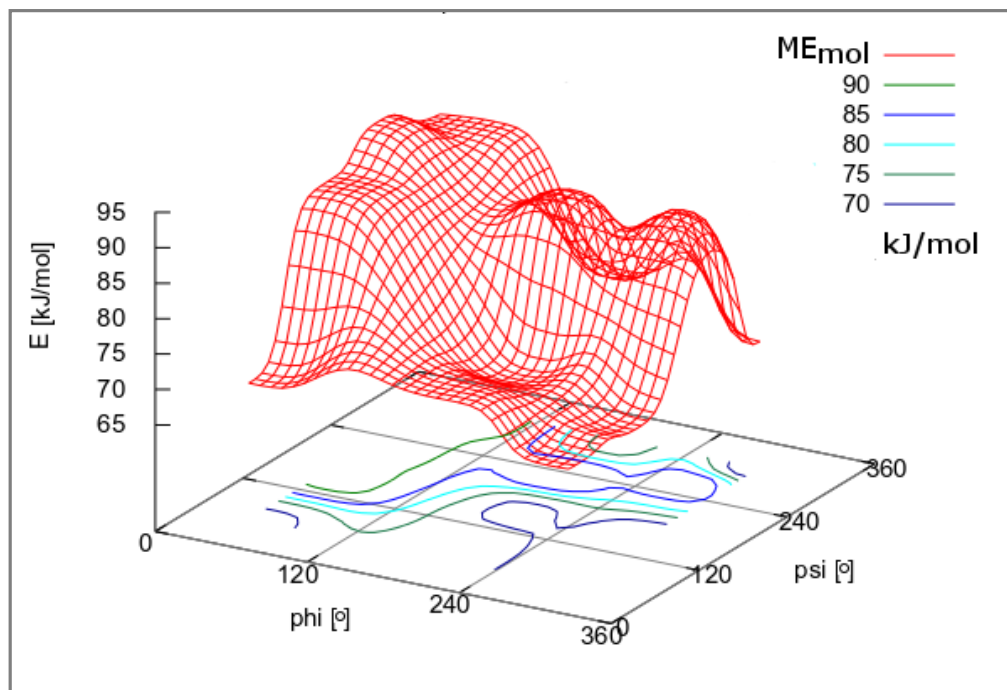


Abb. 118: Gly–Phe–Gly (zwitterionisch); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit Konturlinien der in rot dargestellten gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{mol}$ .

Die Verteilung der minimierten Konformationen mit TPA3-Solvatationsmodell (Abb. 119) ist genau wie das Säulendiagramm der Häufigkeiten minimierter Konformationen (Abb. 120) wieder den entsprechenden Diagrammen von Ala–Phe–Ala sehr ähnlich. Die größten Häufigkeiten zeigen sich auch hier im  $\alpha_D$ - und  $\alpha_R$ -helikalen Bereich.  $\alpha_L$ -Konformationen werden von Gly–Phe–Gly mit nur etwas geringerer Häufigkeit als die  $\alpha_D$ - und  $\alpha_R$ -helikalen Konformationen eingenommen, jedoch immer noch häufiger als die übrigen Bereiche. Bei Ala–Phe–Ala war dies im  $\alpha_L$ -Bereich nicht zu beobachten.

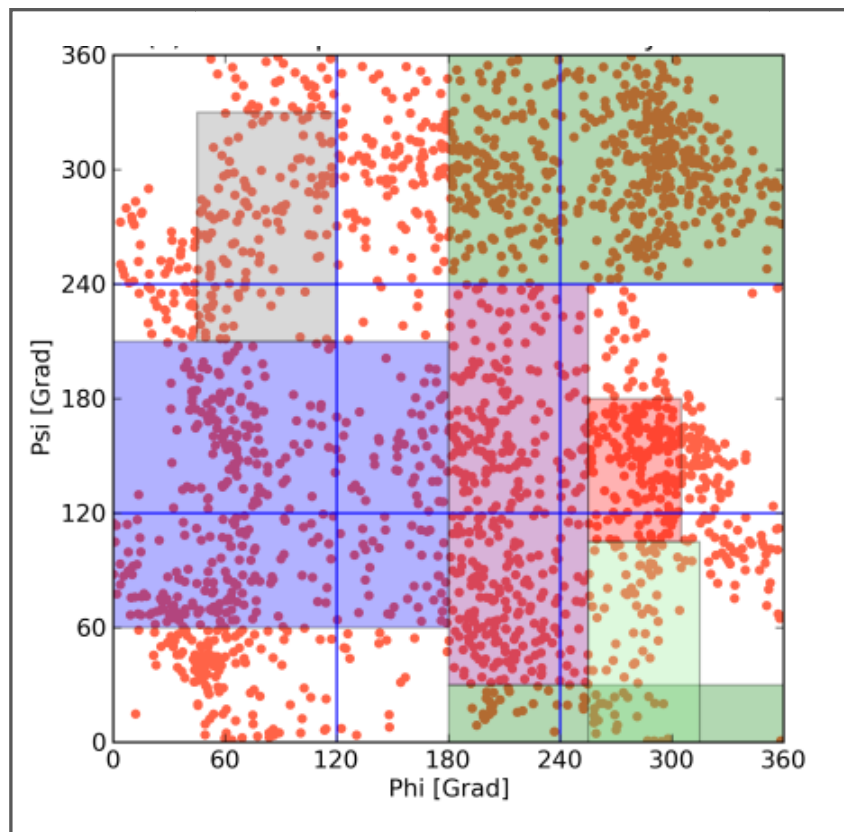


Abb. 119: Gly-Phe-Gly (zwitterionisch); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2302  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

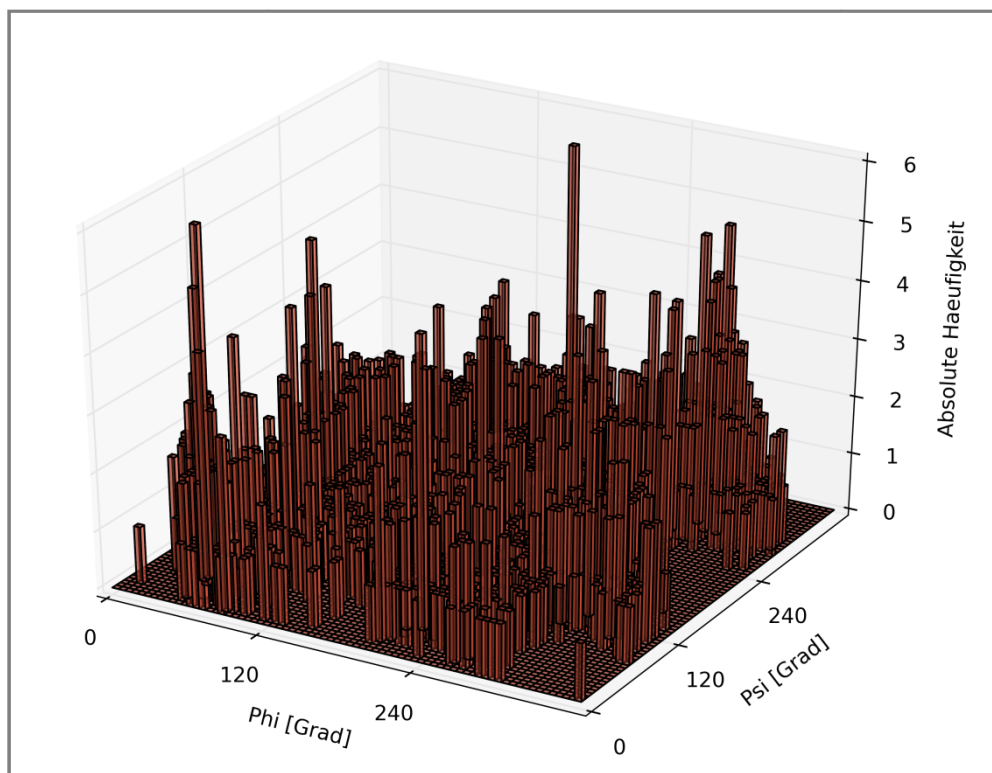


Abb. 120: Gly-Phe-Gly (zwitterionisch); 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen bei der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell.

Auf der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  tritt ein breites globales Minimum im  $\alpha_L$ -helikalen Bereich auf, das sich fast über den gesamten  $C_5$ -Bereich ausdehnt. Hinzu kommt ein etwa 5 kJ/mol höher gelegenes Minimum im  $C_7^{\text{eq}}$  / PPII- und im  $\delta_L/\alpha_R$ -Bereich hinzu (Abb. 121).

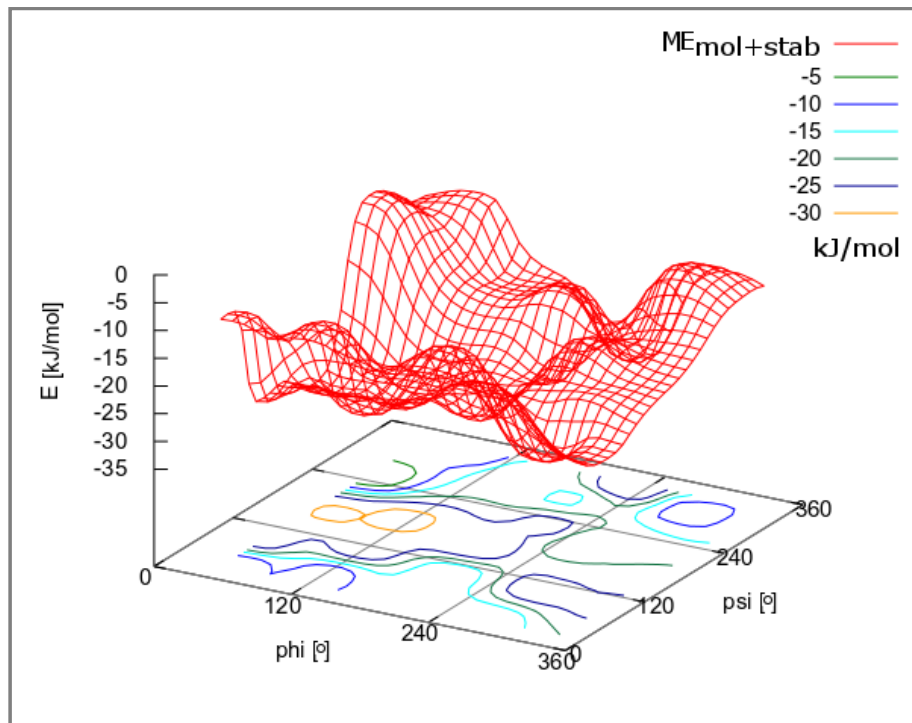


Abb. 121: Gly-Phe-Gly (zwitterionisch); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind farbig die Konturlinien eingezeichnet.

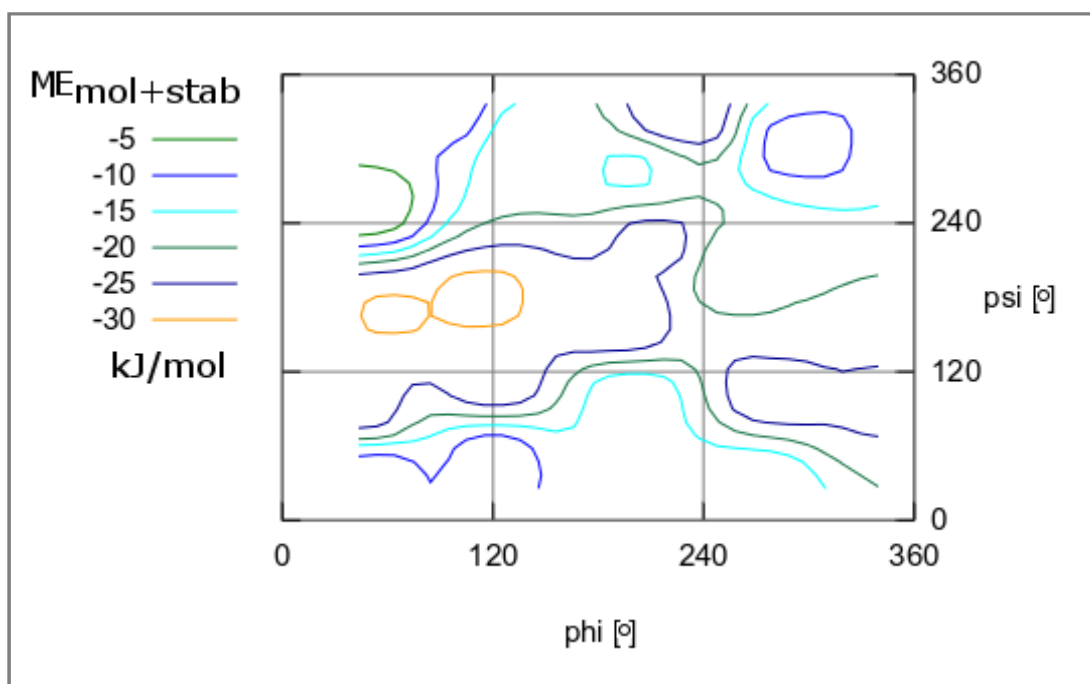


Abb. 122: Gly-Phe-Gly (zwitterionisch); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

Dies deutet darauf hin, dass bei Phenylalanin in wässriger Umgebung nicht nur  $\alpha$ -helikale Strukturen begünstigt sind (vgl. die Ergebnisse für Ala–Phe–Ala, Kapitel 7.6), sondern, wenn auch in geringerem Maße, ebenso  $\beta$ -Faltblatt- und PPII-Strukturen eingenommen werden.

Die bei Ala–Phe–Ala schon mit den Mittelwerten der Energien  $E_{\text{mol+stab}}$  beobachtete Verschiebung des Minimums vom  $\alpha_{\text{D}}$ -helikalen Bereich hin zum  $\alpha_{\text{L}}$ -helikalen Bereich wird nun mit Gly–Phe–Gly, dessen globales Minimum der Datenpunktfäche genau in den  $\alpha_{\text{L}}$ -Bereich fällt, wieder relevant. Obwohl im Zentrum der  $\alpha_{\text{D}}$ - und  $\alpha_{\text{L}}$ -helikalen Bereiche keine Minima auf der Datenpunktfäche von Gly–Phe–Gly vorhanden sind, treten Minima auf, die in diese hineinreichen. Nach der Definition von Pizzanelli *et al.* läge das Minimum bei  $\varphi \approx 240^\circ / \psi \approx 340$  sogar komplett im  $\alpha_{\text{R}}$ -helikalen Bereich.

Da die Minima in diesen Bereichen bei den zwei unterschiedlichen Tripeptiden Ala–Phe–Ala und Gly–Phe–Gly auftreten, müssen diese auf Phenylalanin zurückgehen. Die Vorliebe von Phenylalanin für  $\alpha$ -helikale Konformationen ist natürlich (wie zumeist) nicht ausschließlich; daneben werden auch  $\beta$ -Faltblatt- und PPII-Konformationen eingenommen. Dies lässt sich aus dem Verlauf der Konturlinien der gerasterten Datenpunktfäche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  und  $ME_{\text{stab}}$  folgern (Abb. 122 und 123).

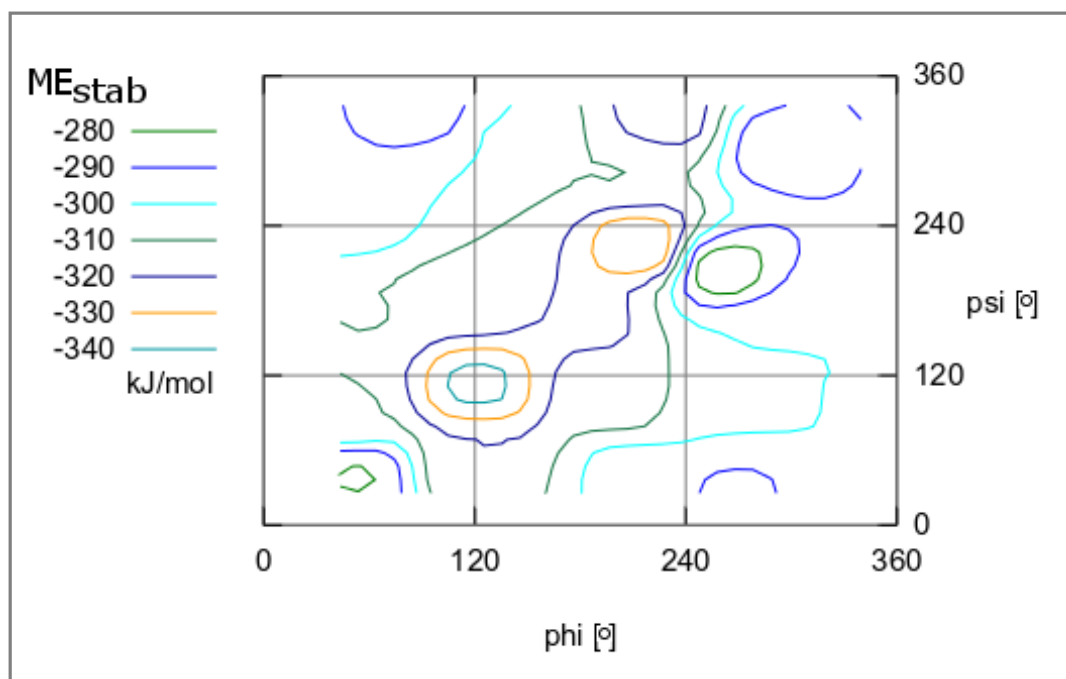


Abb. 123: Gly–Phe–Gly (zwitterionisch); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

In Abbildung 124 ist die energetisch günstigste Konformation des Clusters mit der niedrigsten Energie aus dem  $\alpha_{\text{L}}$ -helikalen Bereich mit an Wasserstoffbrücken beteiligten Wassermolekülen gezeigt. Wassermoleküle, die an Wasserstoffbrücken mit einer Stärke

von weniger als 3 kJ/mol beteiligt sind, sind nicht gezeigt. Gut zu erkennen ist, dass der Phenylring Wasserstoffbrückenbindungen mit den Peptidbindungen aufgrund seines sterischen Anspruches verhindert. Es werden nur Wasserstoffbrücken am N- und C-Terminus gebildet.

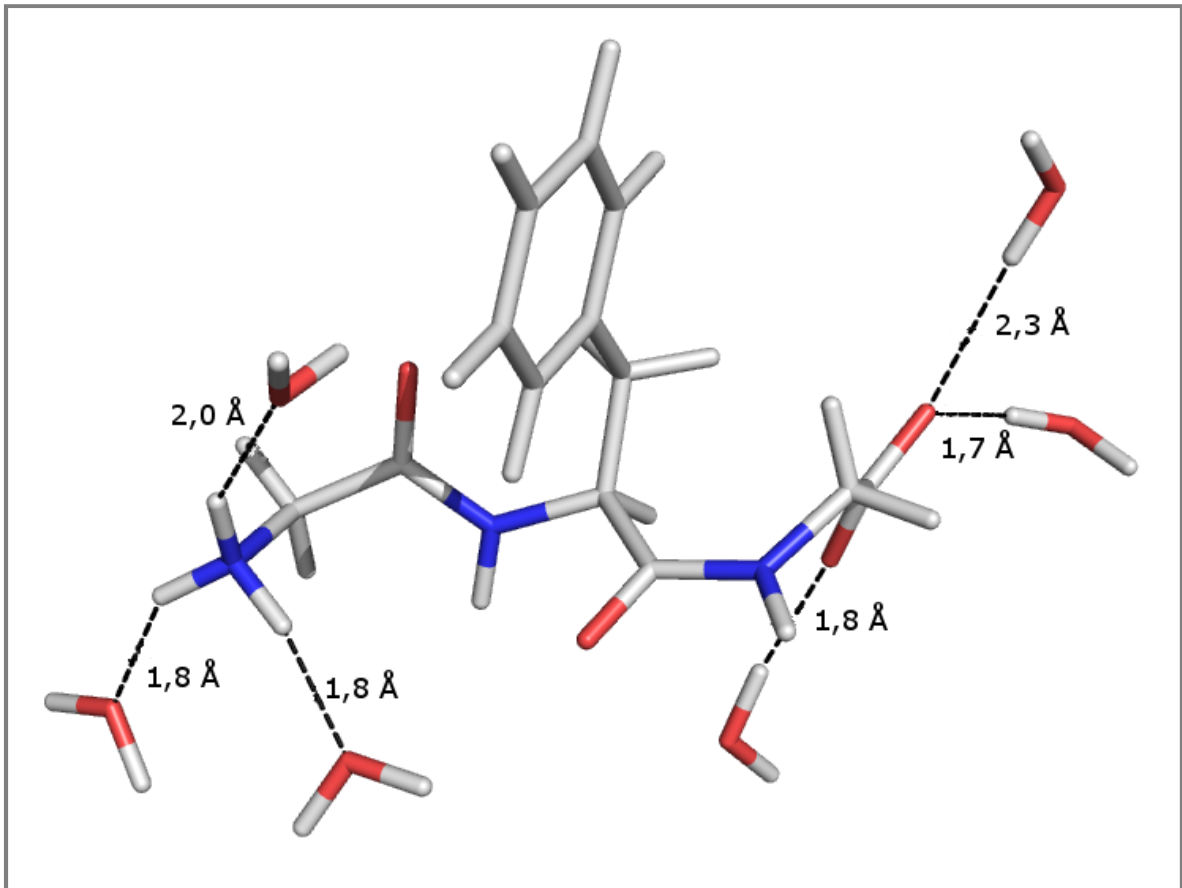


Abb. 124: Ala-Phe-Ala (zwitterionisch); energetisch günstigste Konformation des Clusters mit der niedrigsten Energie aus dem  $\alpha_L$ -Bereich und Wassermoleküle, die an Wasserstoffbrücken stärker als 3 kJ/mol beteiligt sind. Die Längen der Wasserstoffbrücken sind in Å angegeben.  $\phi = 111,7^\circ$ ;  $\psi = 175,3^\circ$ ;  $E_{\text{mol+stab}} = -105,0$  kJ/mol

Die AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P Solvationsmodell ergab bis auf die Bereiche  $C_7^{\text{eq}}$  und  $C_7^{\text{ax}}$  eine gleichmäßige Verteilung in der zweidimensionalen Verteilung der Konformationen im Ramachandran-Diagramm. Eine weniger große Anzahl an Konformationen ist in den  $C_7^{\text{eq}}$ - und  $C_7^{\text{ax}}$ -Bereichen zu erkennen (Abb. 125). Bestätigt wird diese Beobachtung durch das 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten (Abb. 126). Die größte Säule – und damit die größte Einzelhäufigkeit – ist bei  $\phi \approx 230^\circ$  /  $\psi \approx 120^\circ$  im  $C_5$ -Bereich zu finden.

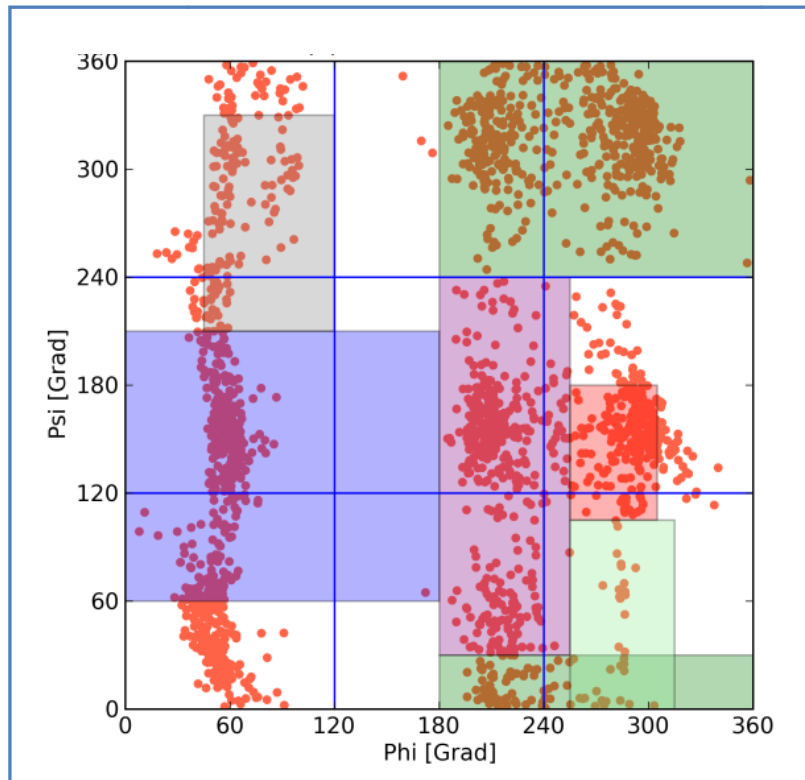


Abb. 125: Gly–Phe–Gly (zwitterionisch); 2D-Ramachandran-Diagramm der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

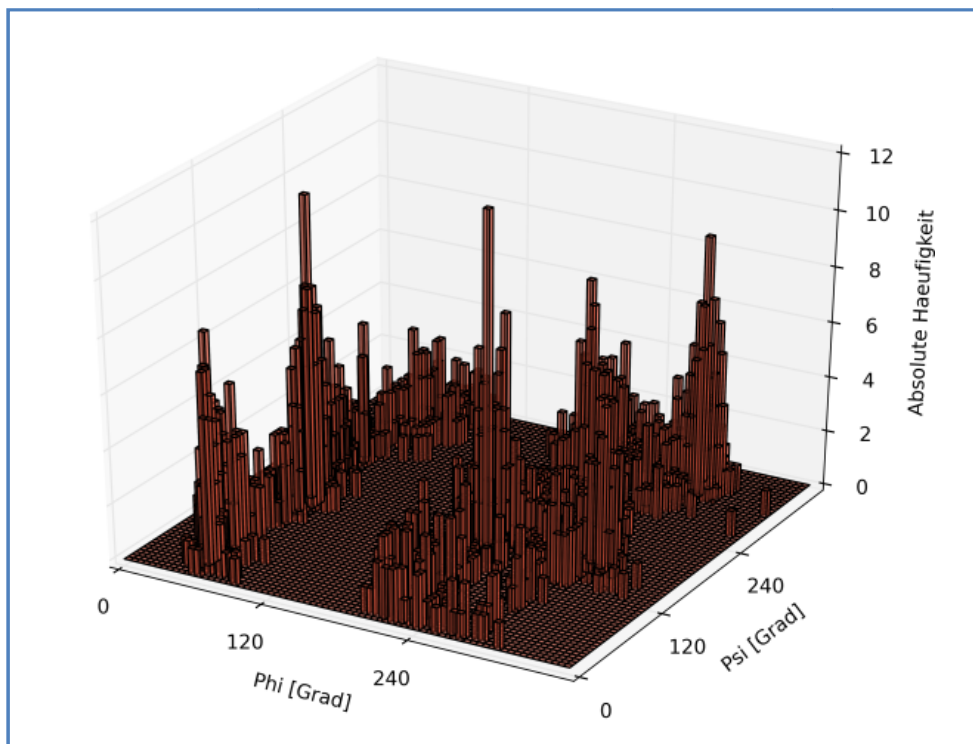


Abb. 126: Gly–Phe–Gly (zwitterionisch); 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen bei der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell.



# 8. Das TPA3-Solvatationsmodell: Von der Entwicklung zur Anwendung

---

## 8.1 Informationslücken als Entwicklungsbarriere

Die sich bei der Entwicklung eines modernen Solvatationsmodells stellenden Aufgaben und zu überwindenden Schwachstellen (meist entstehen solche durch Kompromisse, die eingegangen werden „müssen“, um Rechenzeiterparnisse zu erreichen) sind in den zurückliegenden mehr als 30 Jahren sicherlich von unterschiedlichen Entwicklern mit unterschiedlichen Lösungsansätzen schon viele Male durchdacht worden. Dies bringt allerdings für den Newcomer nur dann einen Vorteil, wenn auf Lösungsansätze von Vorgängern direkt aufgebaut werden kann. Leider ist selbst bei Solvatationsmodellen, die für bekannte und über den genannten Zeitraum als konkurrenzfähig anzusehende Kraftfelder entwickelt wurden, nicht immer möglich, Verbesserungen auf Bestehendes aufzubauen und / oder Bezug zu Vorgängermodellen herzustellen. Dies liegt daran, dass es nur sehr wenige Publikationen zu Algorithmen mit direktem Bezug auf die Entwicklungsphase von Solvatationsmodellen gibt. Eine Literaturrecherche führte tatsächlich nur zu den drei in Kapitel 3 erwähnten Algorithmen – und diese Literaturstellen decken eine Zeitspanne von über 40 Jahren ab, wobei zwei in den 70er Jahren veröffentlicht wurden und die neueste 1992. Nun kann man, wenn die erklärende Publikation fehlt, auf private Kommunikation setzen oder Programmcode (sofern man ihn in unkompilierter Form vorliegen hat und in einer Programmiersprache, die man versteht) analysieren und mit mühsamer Kleinarbeit versuchen, hinter die Idee des „Vorgängermodells“ zu kommen, alleine mit dem gutgemeinten Ziel, dort anzuknüpfen und von dort ausgehend etwas Neues zu erschaffen. Doch nicht nur der Arbeitsaufwand einer solchen Vorarbeit steht dem entgegen – sondern leider auch in diesem wissenschaftlichen Zusammenhang das sensible Thema der Copyright-Verletzung.

Somit bietet sich für jeden Entwickler die Chance, unabhängig von Vorgängermodellen seine ganz eigene wissenschaftliche Idee von einem Solvatationsmodell umzusetzen. Dabei gibt es, was die Beschreibung der Wassermoleküle angeht, kaum Grenzen – solange die mit dem Solvatationsmodell erzielten Ergebnisse bezüglich der solvatisierten Moleküle das Vorgehen rechtfertigen. Dies kann man mit der Entwicklung der TIP4P- und TIP5P-Modelle in den letzten Jahren verdeutlichen. Wassermoleküle haben in diesen Modellen nicht mehr ihre drei Wechselwirkungs- und Ladungspunkte, die sich ihren Atomen zuordnen lassen (wie man als Chemiker vermuten würde), sondern insgesamt vier bzw. fünf (Ladungs-)Punkte im Raum, wobei einige nicht die gleichen Positionen wie die Atome haben [49, 50, 132].



## 8.2 Vorteile des TPA3-Solvatationsmodells gegenüber Vakuumrechnungen

Durch die Entwicklungsphase des in dieser Arbeit vorgestellten TPA3-Algorithmus zieht sich hingegen als Roter Faden der Gedanke, dass durch eine möglichst realistische Beschreibung der Wassermoleküle, die vor allem durch das Nachgeben der Bewegungsvektoren der einzelnen Wassermolekülatome erreicht werden konnte, auch möglichst realistische Konformationen in einem solvatisierten Molekül berechnet werden können.

Dass dieser Anspruch mit dem TPA3-Solvatationsmodell im Vergleich zu Rechnungen im Vakuum erreicht werden konnte, ist augenfällig: Die Konformationsanalysen im Vakuum führten meist zu flachen Energieflächen mit mehreren lokalen Minima und Maxima, sofern keine intramolekularen Wasserstoffbrücken gebildet wurden. Traten solche auf, waren deutliche globale Minima in den entsprechenden Regionen des Ramachandran-Diagramms die Folge. Mit dem TPA3-Solvatationsmodell sind dagegen Konformationen mit intermolekularen Wasserstoffbrücken begünstigt. Obwohl intramolekulare Wasserstoffbrücken noch immer möglich sind, werden diese aufgrund der mit ihnen verbundenen Spannung im Molekül zugunsten intermolekularer Wasserstoffbrücken nicht mehr gebildet. Besonders auffällig war in diesem Zusammenhang die Beobachtung von Wasserstoffbrücken „über ein verbrückendes Wassermolekül hinweg“ bei Aminosäuren mit Donoren / Akzeptoren in der Seitenkette. Aber auch bei Peptiden mit zwitterionischem Peptidrückgrat wurden am C-Terminus (mit der Carboxylatgruppe als Akzeptor) verbrückende Wassermoleküle gefunden. Neben Ala–Lys–Ala konnten vor allem bei Ala–Asp–Ala verbrückende Wassermoleküle zur Stabilisierung von  $\delta$ -Turn-Konformationen beobachtet werden. Auch in den Bereichen des Ramachandran-Diagramms, die  $\gamma$ - und  $\beta$ -Turns zugeordnet werden, waren bei Ala–Asp–Ala Minima vorhanden. Vor kurzem wiesen Hagarman *et al.*  $\beta$ -Turn-Konformationen bei Gly–Asp–Gly-Tripeptiden NMR-spektroskopisch nach [130]. Verbrückende Wassermoleküle sind eine sinnvolle Alternative zu direkten intramolekularen Wasserstoffbrücken und nicht neu. Schon Papoin *et al.* hatten im Jahr 2003 ihre Ergebnisse zu durch Wassermoleküle vermittelten Kontakten zwischen Proteinketten mit den Worten zusammengefasst: „[...] water-mediated contacts may carry significant information content complementary to direct contact information content.“ [133]. Während die Ergebnisse von Papoin *et al.* Hinweise auf die wichtige Rolle verbrückender Wassermoleküle bezüglich der Tertiär- und Quartärstruktur von Proteinen lieferten konnten, ist es sehr wahrscheinlich, dass verbrückende Wassermoleküle auch Einfluss auf die Sekundärstruktur und Konformation von kleinen Peptiden nehmen können.

## 8.3 Vergleich mit experimentellen Untersuchungen

Wie realistisch die mit dem TPA3-Solvatationsmodell erhaltenen Ergebnisse tatsächlich sind, zeigen jedoch vor allem die Konformationsanalysen an geschütztem Alanin und geschütztem Dialaninpeptid. Hier sind deutlich PPII-Konformationen favorisiert. Die auf

mehrere unabhängige Publikationen zurückgehende PPII-Vorliebe von Alaninpeptiden kann als eindeutige Referenz für das Solvatationsmodell angesehen werden. Für alle anderen Aminosäuren ist die Sachlage in der aktuellen Literatur noch nicht so eindeutig und zum Teil widersprüchlich. Gerade bei den hier durchgeführten Konformationsanalysen an Peptiden mit anderen Aminosäuren als Alanin zeigen sich bei Peptiden mit größeren, polaren Aminosäureresten fast immer mehrere Minima auf der „Energiefläche“ über dem Ramachandran-Diagramm, wobei die energetisch günstigsten Konformationen der Cluster bei diesen Minima perfekt mit der direkten Wasserumgebung harmonieren (oder umgekehrt, die Wasserumgebung mit der Konformation des Moleküls). Dies lässt sich nicht nur an den Einzelenergiebeiträgen der Wasserstoffbrücken-, vdw- und Coulomb-Energie festmachen, sondern auch durch Visualisierung der entsprechenden Konformationen (z. B. in Abb. 71 und 72 für Ala–Lys–Ala). Wenn, wie die mehreren lokalen Minima auf der „Energiefläche“ von  $E_{\text{mol+stab}}$  und  $E_{\text{stab}}$  über dem Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalysen andeuten, bei den so wichtigen und nach Alanin bevorzugt untersuchten Aminosäuren mit polaren Seitenketten tatsächlich in Wasser mehrere Konformationen nebeneinander vorlägen, würde dies die Schwierigkeiten bei einer einheitlichen Zuordnung dieser Aminosäuren zu einer bestimmten Strukturregion erklären.

#### 8.4 Vergleich mit AMBER11

Mit AMBER11 war es leider nicht möglich, einzelne Wasserstoffbrücken, Wasserstoffbrückenenergien sowie die stabilisierenden bzw. destabilisierenden Energiebeiträge von Wassermolekülen insgesamt zu analysieren. Die nötigen Funktionen sind in dem Programmpaket nicht vorhanden, wodurch sich der Informationsgehalt einer AMBER11 / TIP3P-Konformationsanalyse auf die Koordinaten und sterischen Energien der minimierten Konformationen beschränkten. Wäre das TPA3-Solvatationsmodell nicht so eng mit dem MOMO-Programm verzahnt, könnte eine Konformationsanalyse mit dem *ff99sb*-Kraftfeld des AMBER11-Programmpaketes in Kombination mit dem TPA3-Solvatationsmodell Aufschluss darüber geben, ob der spärliche Informationsgehalt auf Limitierungen durch das TIP3P-Modell oder des Kraftfelds an sich zurückzuführen ist. Doch leider lässt sich dieses Gedankenexperiment nur schwer in die Tat umsetzen. Der Grund hierfür ist, dass das TPA3-Solvatationsmodell nicht als eigenständiger Programmteil in einem File gebündelt vorliegt, sondern sich in nahezu jedem Programmteil des MOMO-Hauptprogramms *for*-Schleifen und *if*-Abfragen befinden, die ohne Berücksichtigung der AMBER11-eigenen Programmstruktur schon alleine wegen der unterschiedlichen Programmiersprachen (AMBER11 ist größtenteils in Fortran, C und C++ geschrieben) nur mit enormem Aufwand portiert werden könnten. Nähme man dies in Kauf, müssten anschließend die mit vielen Testrechnungen auf MOMO abgestimmten Parameter, die sich meist nicht einmal als Zahlenwerte greifen lassen, erneut auf AMBER11 abgestimmt werden. Beispielsweise stellen sich dann erneut die Fragen, ob Wassermoleküle auf der Oberfläche eines solvatisierten Moleküls in sinnvolle Entfernungen minimiert würden oder ob dabei mit dem (anderen) Minimizer Konvergenz

erreicht würde, und sicherlich müsste dann auch das Abbruchkriterium bei kleinen Bewegungen des solvatisierten Moleküls neu definiert werden. Da bei AMBER11 kein fest definierter *Cutoff* von 6,5 Å vorhanden ist, würde auch mit Sicherheit das Dipolmoment der Eiselementarzellen berücksichtigt werden müssen, womit man bei der Wahl einer anderen Eiselementarzelle und somit schon fast bei der Entwicklung eines anderen Solvatationsmodells als des TPA3-Modells angekommen wäre.

### 8.5 Vorteile des expliziten TPA3-Solvatationsmodells gegenüber Kontinuum-Modellen

Die für die Aussagekraft der MOMO-Konformationsanalysen mit TPA3-Solvatationsmodell so wichtige detaillierte Analyse der Energien, Wasserstoffbrücken und Interaktionen des solvatisierten Moleküls mit Wassermolekülen geht auf die zu Beginn der Arbeit getroffene Entscheidung zugunsten eines expliziten Solvatationsmodells zurück. Mit einem Kontinuum-Modell wäre dies nicht möglich gewesen. Dem mathematisch-physikalisch fokussierten Leser mag die Entwicklung des TPA3-Solvatationsmodells basierend auf kreativer chemischer Intuition teilweise willkürlich erschienen sein. Doch sie entspricht der Philosophie, die hinter der Kraftfeldentwicklung an sich steht. Kraftfeldentwicklung bedeutet komplexe quantenmechanische Gegebenheiten mit Potentialen der klassischen Mechanik qualitativ zu erfassen und durch sorgfältige Testung sowie fortwährendes (manuelles) Optimieren empirischer Parameter Konformationen von Molekülen richtig vorherzusagen.

Bei einem Kontinuum-Modell stehen nur wenige Ansatzpunkte zur Optimierung von Parametern zur Verfügung – nämlich bei der Berechnung der Born-Radien (wobei dies ein Sonderfall ist und allgemeiner von der Berechnung der solvenszugänglichen Oberfläche gesprochen werden müsste) sowie dem Verhalten des gesamten Kontinuums und damit vieler Wassermoleküle gleichzeitig. Mit einem expliziten Solvatationsmodell bieten sich schier unerschöpfliche Möglichkeiten zum Einbringen neuer Parameter und zum „manuellen“ Verbessern der Leistungsfähigkeit – gegebenenfalls mit neuen (Ausgleichs-)Funktionen, die bei Bedarf für jedes einzelne Wassermolekül und Atom des solvatisierten Moleküls formuliert werden können. Wichtig ist dabei nur, dass die Allgemeingültigkeit des Solvatationsmodells für alle solvatisierten Moleküle gewährleistet ist. An dem Beispiel der „Kreuzterme“ und „Peptidrückgrat-Parameter“ [117, 118] des Kraftfelds *ff99sb* kann man aufzeigen, dass die nahezu unendliche Anzahl an Eingriffsmöglichkeiten sorgsam gegeneinander abgewogen werden müssen. Die alleinige Konzentration auf das Peptidrückgrat ist bei großen Peptiden und Proteinen aufgrund des vermutlich enormen Rechenzeitgewinns sicherlich sinnvoll, jedoch für kleine Peptide müsste auch – wenn nicht gar besonders – dem Einfluss der Seitenketten und nahen Wassermoleküle Beachtung geschenkt werden.

## 8.6 Fokussierung auf das solvatisierte Molekül

Die bei der Entwicklung des TPA3-Modells eingebrachten Vektoroperationen, das Potential für den äußeren Bereich, die initiale Bewegung von Wassermolekülen auf die Moleküloberfläche, die Wahl der Eiselementarzellen oder der Aufbau und das systematische Verkippen der Wasserzellen für den inneren Bereich bedeutete komplexe physikalische Gegebenheiten des Wassers im flüssigen Zustand mit Anleihen aus dem festen Zustand (Eiselementarzellen) durch Potentiale und Vektoroperationen der klassischen Mechanik qualitativ widerzuspiegeln und für das Kraftfeldprogramm nutzbar zu machen.

Die Fokussierung auf das solvatisierte Molekül ist dabei ausschlaggebend. Nicht das Verhalten und die Dynamik des Wassers sollten simuliert werden. Deshalb ergab sich die Möglichkeit, mit Bereichen punktuell höherer bzw. niedriger Dichte und einem Gemisch aus Eiselementarzellen und ungeordneten Wasserzellen ein Solvatationsmodell zu schaffen, bei dem der Nahbereich um ein solvatisiertes Molekül mit den so wichtigen Wasserstoffbrücken und die Konvergenz der Minimierung im Mittelpunkt stehen.

## 8.7 Rückblick auf die Entwicklungsphase

Dass tatsächlich den Literaturergebnissen entsprechende Minimum-Konformationen und Minima auf der Energiefläche erhalten würden, war zum Zeitpunkt der Entwicklung zwar das Ziel, jedoch nicht direkt steuerbar. Erst nachdem das in mehr als dreijähriger Entwicklungsarbeit aus den Bausteinen vieler Einzelüberlegungen entstandene Programm fehlerfrei und ohne Abstürze arbeitete, konnten zum ersten Mal Konformationsanalysen an Tripeptiden durchgeführt und ausgewertet werden. Dies liegt daran, dass die Konformationsanalysen an Tripeptiden schlichtweg zu aufwändig (bezüglich Rechenzeit und Auswertung) sind, um nach jeder Programmcodeänderung eine solche nur zu Testzwecken durchzuführen. Hinzu kommt, dass die Gestalt einer gerasterten Datenpunktefläche keinerlei Rückschluss auf einzelne Parameter im Programmcode zulässt. Wie sich beispielsweise der Abstand von Wassermolekülen auf der Oberfläche des solvatisierten Moleküls während einer Minimierung mit unterschiedlichen Parametern verändert, kann nur mit Einzelminimierungen getestet werden; diese wiederum lassen keinerlei Extrapolation auf die Gestalt einer Energiefläche über einem Ramachandran-Diagramm zu. Auch um bei einer Testminimierung die mit einem „*print*“-Befehl zur Fehlersuche erhaltene Informationsflut möglichst gering zu halten, wurden in den meisten Fällen nur kleine Moleküle (wie Aceton) umgeben von einigen Wassermolekülen genutzt. Dies machte die Arbeit insbesondere gegen Ende hin, als die ersten 3D-Ramachandran-Diagramme von Peptiden vorlagen, sehr spannend. Denn erst zu diesem Zeitpunkt offenbarte sich, ob die vielen kleinen Einzelentscheidungen und Überlegungen als Ganzes zu einer erfolgreichen Arbeit führen würden oder nicht. Grundlegende Korrekturen wären dann nur mit einer weiteren mehrjährigen Entwicklungsphase möglich gewesen. Umso erfreulicher ist es, dass nicht nur das Programm ohne Abstürze und Energieunterschiede

von mehreren Tausend kJ/mol zwischen den Konformationen arbeitet, sondern Ergebnisse erhalten werden, die der Literatur entsprechen (sofern es eindeutige Referenzen gibt) und sogar neue Denkanstöße geliefert werden, wie das wiederholte und sehr sinnvoll erscheinende Auffinden stabilisierender verbrückender Wassermoleküle als Ersatz für intramolekulare Wasserstoffbrücken.

## 9. Zusammenfassung

---

Zur Vorhersage der Konformationen organischer Moleküle in wässriger Lösung wurde ein explizites Solvationsmodell (TPA3) für das Kraftfeldprogramm MOMO entwickelt, getestet und erfolgreich angewendet. Für jede zu optimierende Konformation wird eine der räumlichen Ausdehnung entsprechende Solvathülle generiert. Dadurch werden zu große Solvathüllen mit vielen Wassermolekülen vermieden. Diesem ersten Schritt liegt das Aneinanderreihen von Eiselementarzellen und ungeordneten Wasserzellen zugrunde. Überschneidungen oder unrealistisch nahe Orientierungen von Wassermolekülen zu dem solvatisierten Molekül werden ausgeschlossen. Gleichzeitig wird sichergestellt, dass in der Umgebung von Wasserstoffbrücken-Donoren und -Akzeptoren im solvatisierten Molekül Wassermoleküle zu finden sind.

Die Optimierung vereinfachter Wassermoleküle ohne molekularen Zusammenhalt basiert auf vektoriellen Ausgleichsbewegungen, in die die Bewegungsvektoren der minimierten Wassermolekül-Atome eingehen. Dadurch ist es möglich, ein einziges Potential für Coulomb- und vdw-Wechselwirkungen ohne Vernachlässigung der Rotation zu nutzen, was eine deutliche Rechenzeitoptimierung bedeutet. Die besondere Beachtung der Programmstruktur von MOMO und die sich daraus ergebende Interaktion des Solvationsmodells mit nahezu allen relevanten Programmteilen des Kraftfeldprogramms ermöglicht trotz ihres kontinuierlichen Austauschs eine Unterscheidung von präzise behandelten nahen und vereinfachten fernen Wassermolekülen während der gesamten Minimierung. Gleichzeitig werden von jedem nahen Wassermolekül die Einzelenergiebeiträge der Wechselwirkungen mit dem solvatisierten Molekül direkt in den Potentialen gesammelt und durch Summation die Stabilisierungsenergie  $E_{\text{stab}}$  bestimmt.

Somit wird ein Nahbereich mit ungeordneten Wassermolekülen um ein solvatisiertes Molekül herum mit der gesamten in MOMO möglichen Präzision behandelt. Hierbei ist die Berechnung von Wasserstoffbrücken zwischen dem solvatisierten Molekül und umgebenden Wassermolekülen für  $E_{\text{stab}}$  von entscheidender Bedeutung. Hingegen wird der Fernbereich ausgehend und basierend auf der Eisstruktur rechenzeitoptimiert behandelt. Dynamik und Durchmischung mit dem Nahbereich werden durch den auf der Minimierung der isolierten Atome basierenden TPA3-Algorithmus erreicht.

Mit den erreichten Rechenzeitoptimierungen können systematische Konformationsanalysen an Di- und Tripeptiden in Wasser mit bis zu 2500 Konformationen problemlos durchgeführt werden. Mit den statistischen Auswertungsmethoden des Clusterings, der Medianbildung und der Datenrasterung ergaben sich aussagekräftige Energieflächen über Ramachandran-Diagrammen der berechneten Peptide. Die Visualisierung der Trajektorien und der Minimum-Konformationen der Peptide mit deren Wasserstoffbrücken und der daran beteiligten Wassermoleküle sowie die detaillierte Analyse der Energiebeiträge lieferten eine solide Interpretationsbasis der vorhergesagten Strukturen.

Insgesamt wurden Konformationsanalysen im Vakuum und mit dem neu entwickelten TPA3-Solvationsmodell an zehn Peptiden durchgeführt. Ungeschützte Peptide wurden in unterschiedlich protonierten Formen berechnet. Vergleichende Konformationsanalysen mit



AMBER11 und TIP3P-Solvatationsmodell waren nur für die zwitterionische Form möglich.

Bei dem geschützten Alaninpeptid *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylanilid zeigte sich eine Begünstigung der PPII-Struktur. Daneben trat ein Minimum im  $\beta$ -Faltblattbereich auf; eine Stabilisierung des  $\alpha_R$ -helikalen Bereichs wurde ebenfalls beobachtet. Dies entspricht den in der aktuellen Literatur zu findenden spektroskopisch erhaltenen Ergebnissen.

Aufgrund nicht vorhandener Informationen bezüglich der Energiebeiträge durch das explizite TIP3P-Solvatationsmodell war die Auswertung der AMBER11-Konformationsanalysen auf die Verteilung der Konformationen im Ramachandran-Diagramm begrenzt und somit stark eingeschränkt. Bezüglich *N*-Acetyl-L-L-dialanin-*N*-methylanilid ergaben sich auch mit AMBER11 Häufungen im PPII- und  $\beta$ -Faltblatt-Bereich und darüber hinaus im  $\alpha_D$ -helikalen Bereich.

Für Peptide mit negativ geladenen Seitenketten in der zentralen Position wurden Konformationen, die in Turns zu finden sind, als begünstigt berechnet. Bei Tripeptiden mit Aminosäuren, die Donoren D bzw. Akzeptoren A zur Wasserstoffbrückenbildung in ihren Seitenketten besitzen (Ala-Lys-Ala, Ala-Asp-Ala, Cys-Asn-Ser), wurden in allen Fällen zweifache Wasserstoffbrücken über verbrückende Wassermoleküle hinweg ( $D/A \cdots H_2O \cdots D/A$ ) beobachtet. Diese scheinen insbesondere bei Ala-Asp-Ala durch Beteiligung des Aspartatrestes und einem zweimalig negativen Energiebetrag von mehr als 10 kJ/mol Einfluss auf die Konformation zu nehmen und  $\delta$ -Turn-Konformationen zu stabilisieren. Die AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Modell ergab hingegen eine deutliche Häufung minimierter Konformationen für  $\varphi < 120^\circ$ . Diese Häufung zeigt sich als deutlicher Streifen im Ramachandran-Diagramm bei  $\varphi \approx 60^\circ$ . Die  $\alpha$ -helikalen Konformationen  $\alpha_D$  und  $\alpha_L$  sowie die  $C_7^{ax}$ -Struktur sind von AMBER11 hier stark begünstigt. Die Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell an Ala-Lys-Ala zeigte mehrere Minima; die Konformationen im Bereich  $\delta_R$  / PPII /  $C_7^{eq}$  werden jedoch besonders stabilisiert. Ein verbrückendes Wassermolekül ist auch hier beteiligt.

Bei den Tripeptiden mit sperrigen Seitenketten, wie Ala-Phe-Ala und Gly-Phe-Gly, wird eine sterische Abschirmung durch den Phenylrest deutlich, die zu einer Abschwächung der Begünstigung von PPII-Konformationen führt. Stattdessen sind  $\alpha$ -helikale Konformationen favorisiert. Bei Gly-Phe-Gly scheint diese Abschirmung einen weniger starken Einfluss zu haben: im PPII- und  $\beta$ -Faltblattbereich sind wieder Minima vorhanden. Generell sind die Ergebnisse der MOMO/TPA3-Konformationsanalysen im Einklang mit der aktuellen Literatur und sehr plausibel für Peptide, bei denen (noch) keine eindeutigen Literaturergebnisse vorliegen. Die aktuelle Annahme, dass intramolekulare Wasserstoffbrücken in Peptiden Turn-Konformationen in Wasser stabilisieren könnten, wird mit den in dieser Arbeit mehrfach aufgetretenen zweifachen Wasserstoffbrücken über verbrückende Wassermoleküle erweitert.

Mit AMBER11 konnte dagegen kaum Bezug zu experimentellen Literaturergebnissen hergestellt werden. Dies liegt vor allem daran, dass die für eine aussagekräftige Auswertung unverzichtbaren Energiebeiträge der Peptid-Wechselwirkungen mit einzelnen Wassermolekülen mit AMBER11 nicht zur Verfügung standen. AMBER11 eignet sich daher kaum als Referenz für die mit MOMO und dem neu entwickelten TPA3-Solvatationsmodell erhaltenen Ergebnisse.

# 10. Anhang

Im Anhang werden die Ergebnisse von Konformationsanalysen im Vakuum und mit TPA3-Solvatationsmodell an den geschützten Aminosäuren Serin, Valin und Threonin sowie an den Tripeptiden Ala–Asp–Ala, Cys–Asn–Ser, Ala–Phe–Ala und Gly–Phe–Gly in ihrer protonierten Form gezeigt. Ergebnisse von AMBER11-Konformationsanalysen werden nur für die geschützten Aminosäuren gezeigt, da protonierte Peptiden von AMBER11 nicht verarbeitet werden konnten.

## 10.1 *N*-Acetyl-L-serin-*N*-methyramid

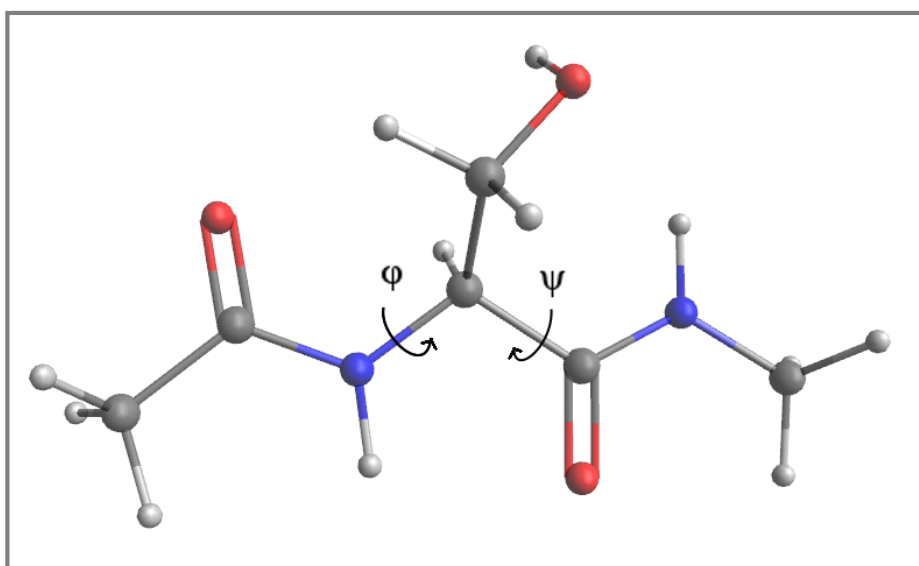


Abb. 127: Strukturformel von *N*-Acetyl-L-serin-*N*-methyramid. Mit Pfeilen eingezeichnet sind die in 30°-Schritten variierten Torsionswinkel  $\varphi$  und  $\psi$ .

	$\varphi$	$\psi$			
<i>Schrittweiten</i>	30°	30°			
<i>Anzahl Konformationen</i>	144				
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 0		AMBER11: 0		
<i>Clusteranzahl</i>	20				
$E_{\text{mol+stab}}^{\#}$ (Cluster)	-56,2 kJ/mol				
<i>aussortierte Cluster</i>	Nr. 9 (nur ein Wert enthalten)				

<sup>#</sup>Energetisch günstigste Konformation innerhalb des Clusters mit der niedrigsten Energie.

Tabelle 11: Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell an *N*-Acetyl-L-serin-*N*-methyramid.



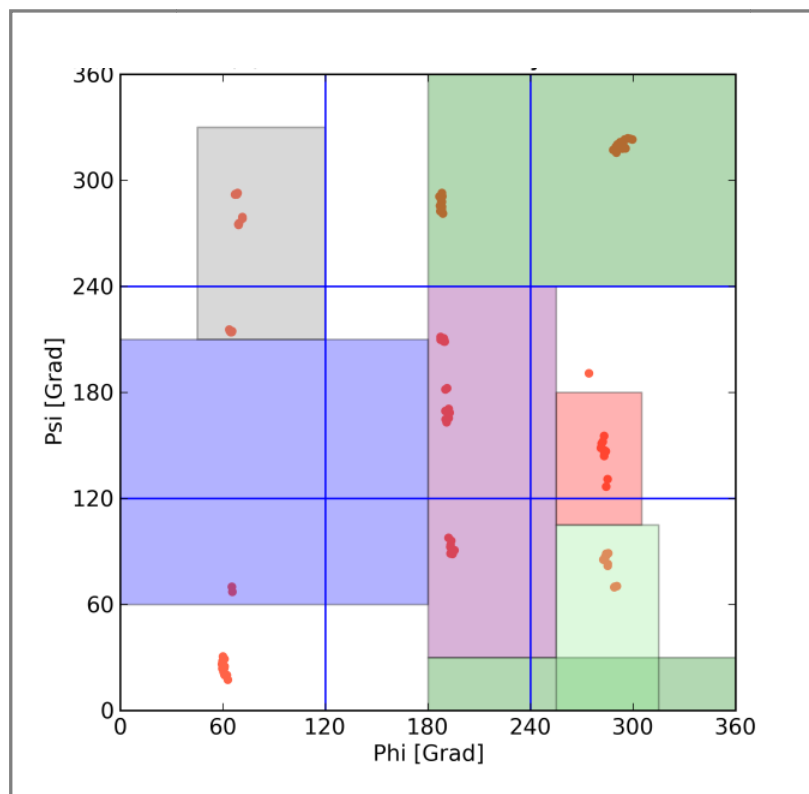


Abb. 128: *N*-Acetyl-L-serin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 144  $\varphi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

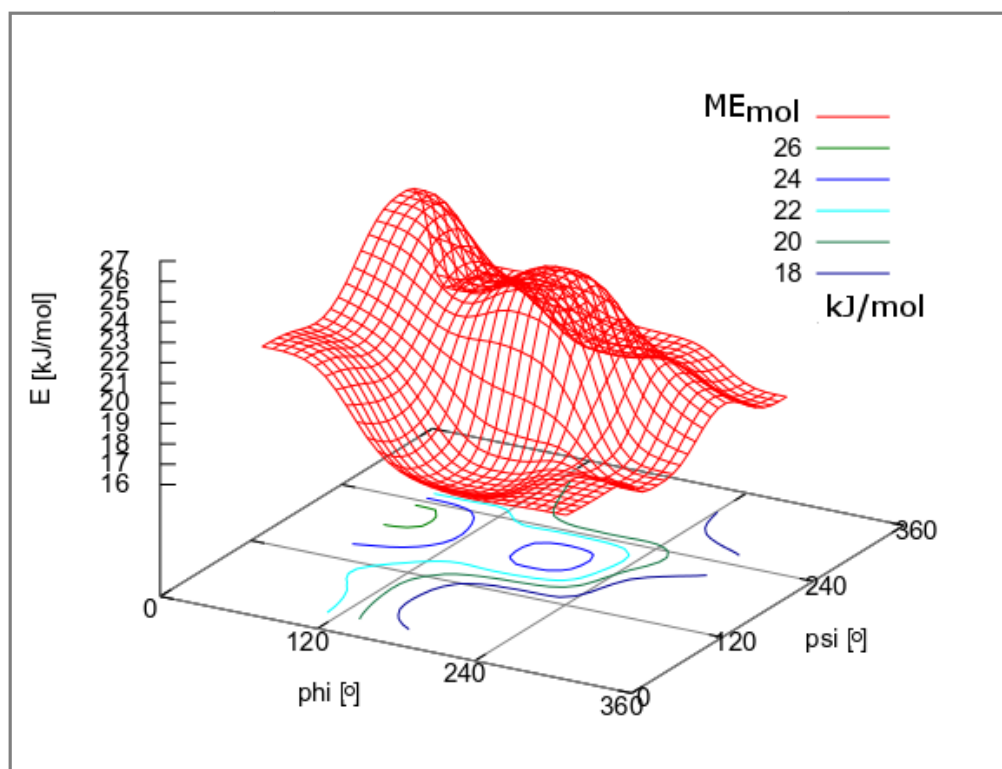


Abb. 129: *N*-Acetyl-L-serin-*N*-methylamid; 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit gerasterter Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol}}$  und Konturlinien.

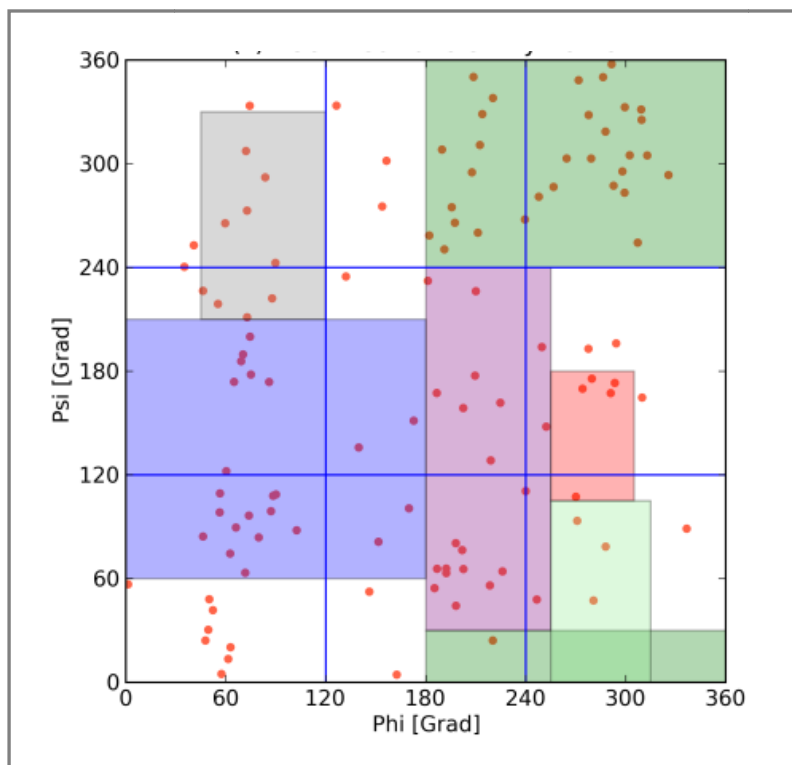


Abb. 130: *N*-Acetyl-L-serin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 144  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

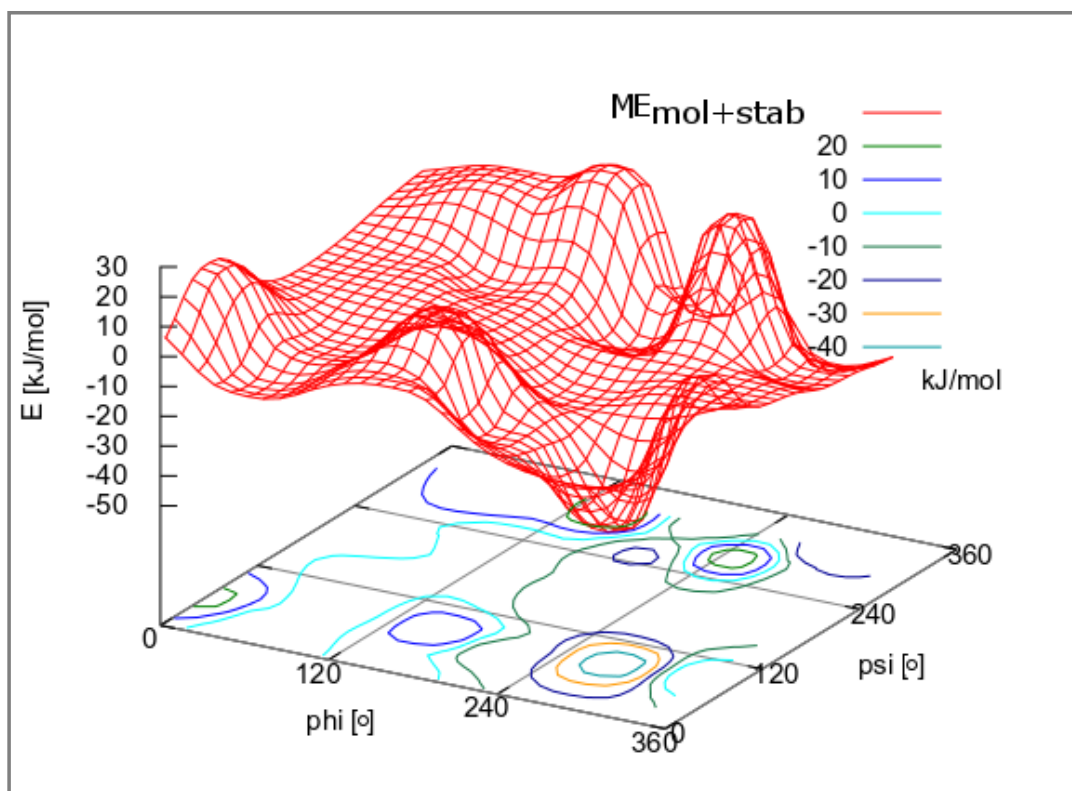


Abb. 131: *N*-Acetyl-L-serin-*N*-methylamid; 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktfäche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind farbige die Konturlinien eingezeichnet.

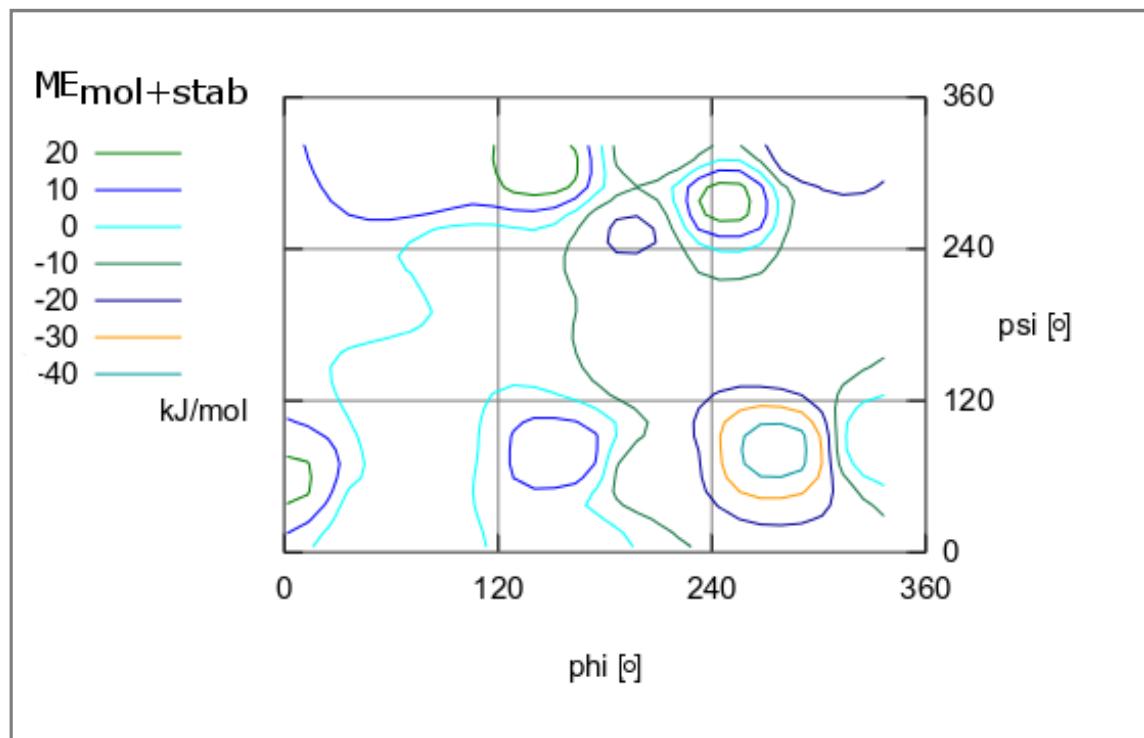


Abb. 132: *N*-Acetyl-L-serin-*N*-methylamid; Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

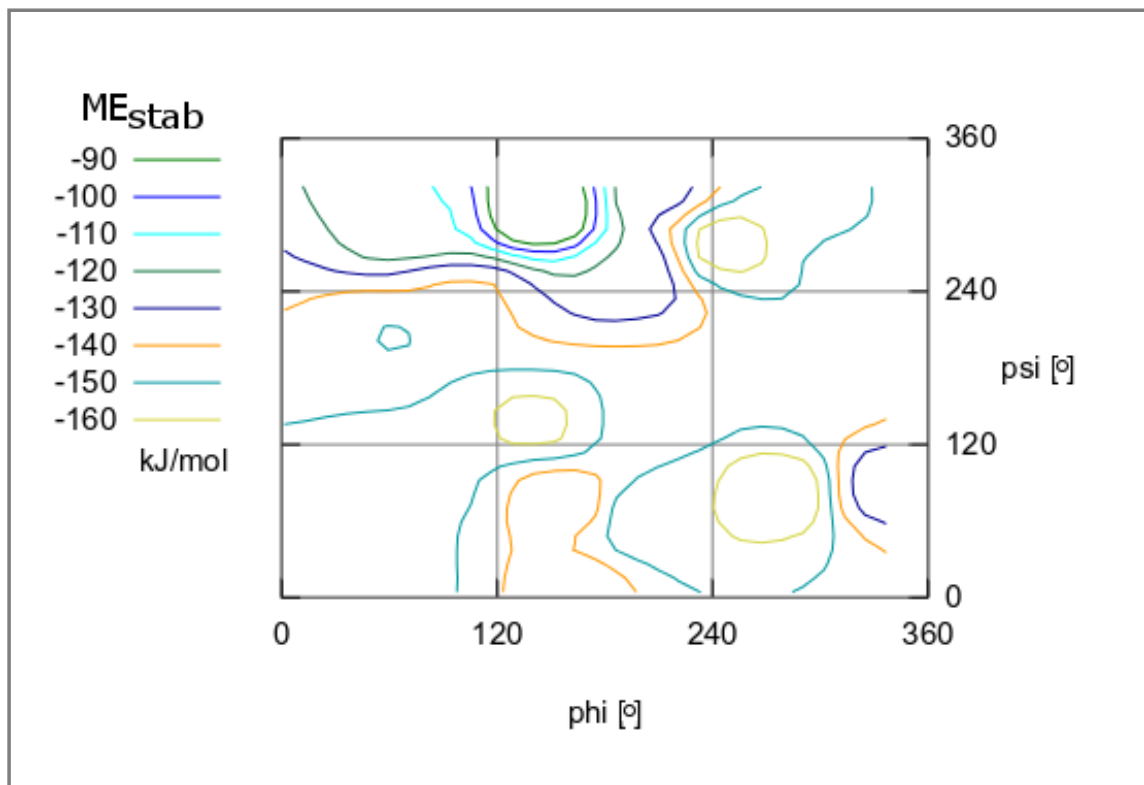


Abb. 133: *N*-Acetyl-L-serin-*N*-methylamid; Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

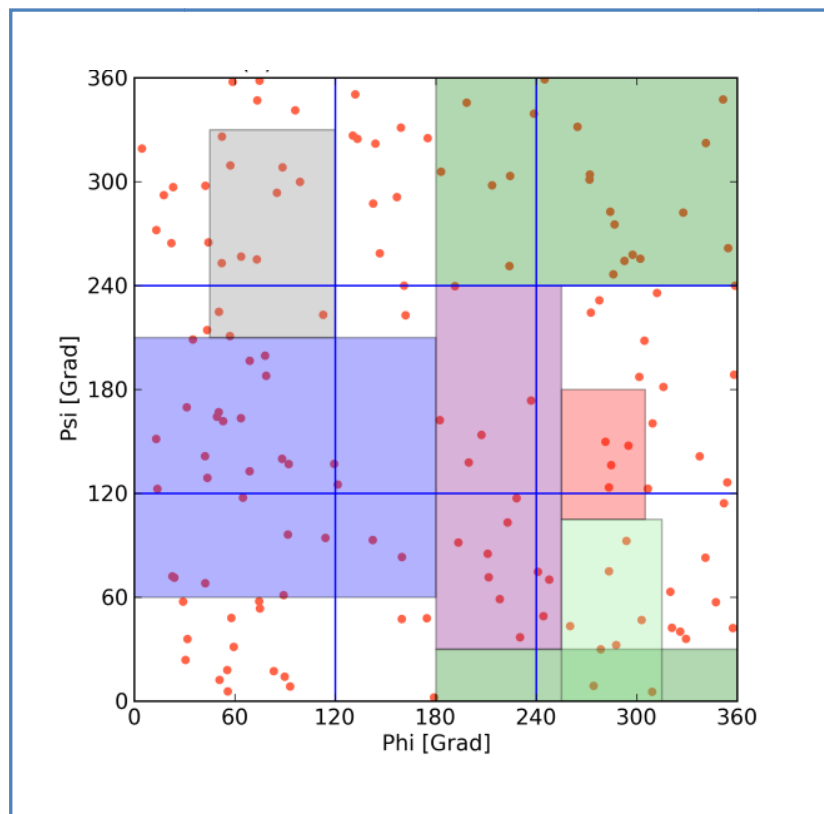


Abb. 134: *N*-Acetyl-L-serin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 144  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

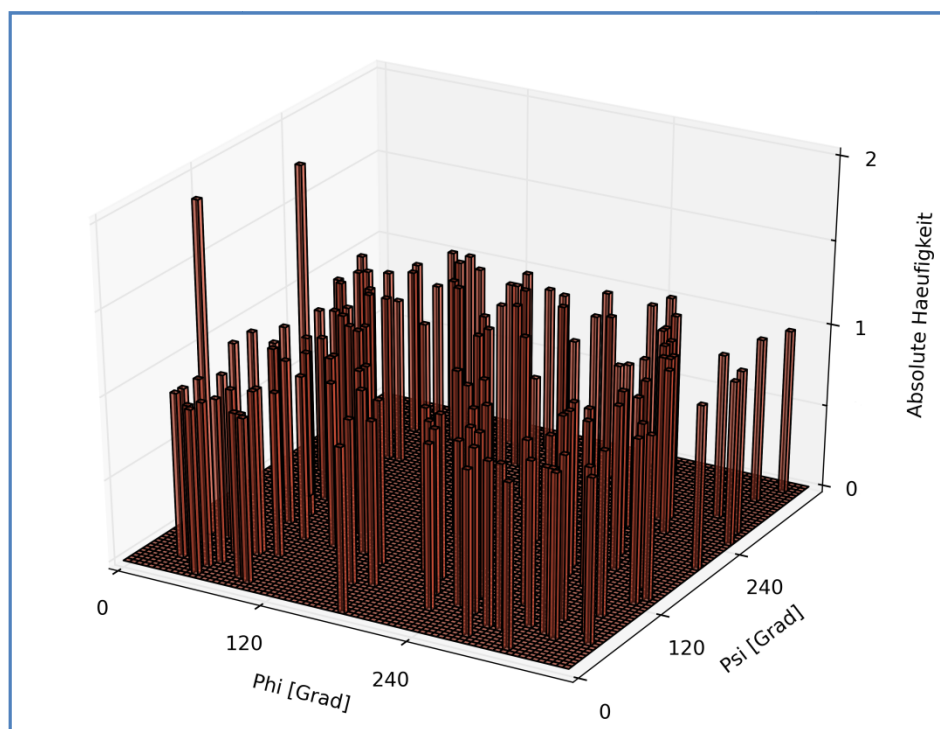


Abb. 135: *N*-Acetyl-L-serin-*N*-methylamid; 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen bei der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell.

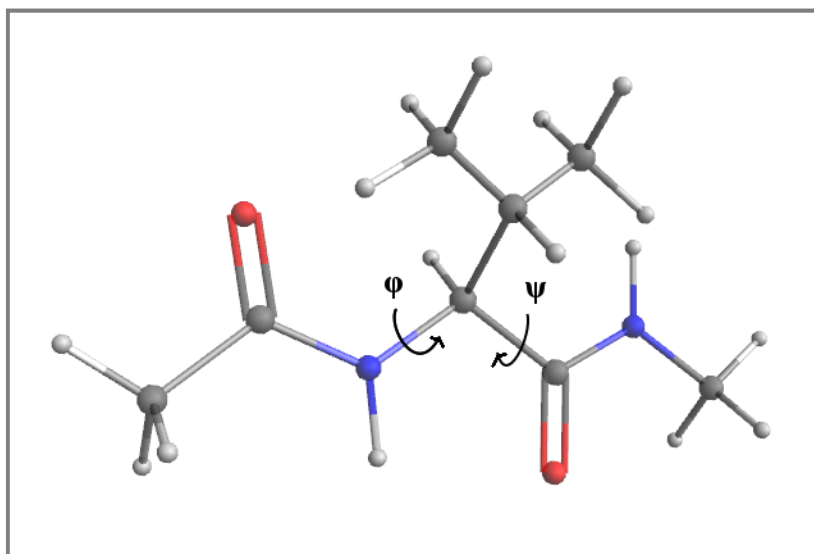
10.2 *N*-Acetyl-L-valin-*N*-methyamid

Abb. 136: Strukturformel von *N*-Acetyl-L-valin-*N*-methyamid. Mit Pfeilen eingezeichnet sind die in 30°-Schritten variierten Torsionswinkel  $\varphi$  und  $\psi$ .

	$\varphi$	$\psi$			
<i>Schrittweiten</i>	30°	30°			
<i>Anzahl Konformationen</i>	144				
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 0		AMBER11: 0		
<i>Clusteranzahl</i>	13				
$E_{\text{mol+stab}}^{\#}$	-41,1 kJ/mol (Standardabw. der Clusterenergie $\pm$ 31,2 kJ/mol)				
<i>aussortierte Cluster</i>	Nr. 13 (nur ein Wert enthalten)				

<sup>#</sup>Energetisch günstigste Konformation innerhalb des Clusters mit der niedrigsten Energie.

Tabelle 12: Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell an *N*-Acetyl-L-valin-*N*-methyamid.

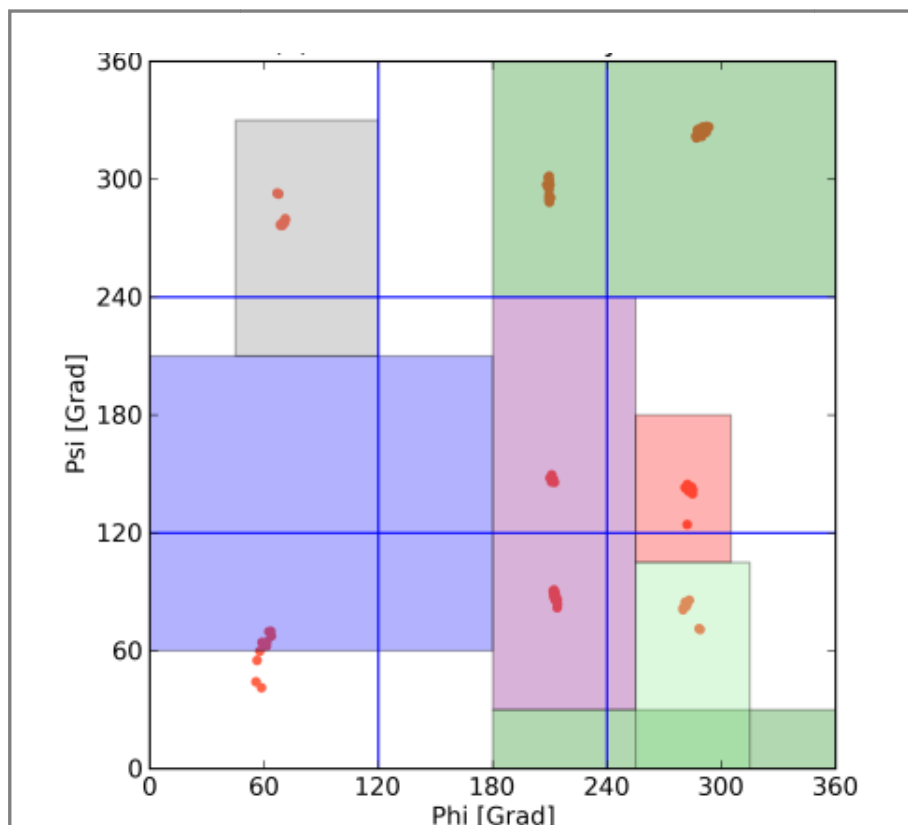


Abb. 137: *N*-Acetyl-L-valin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 144  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

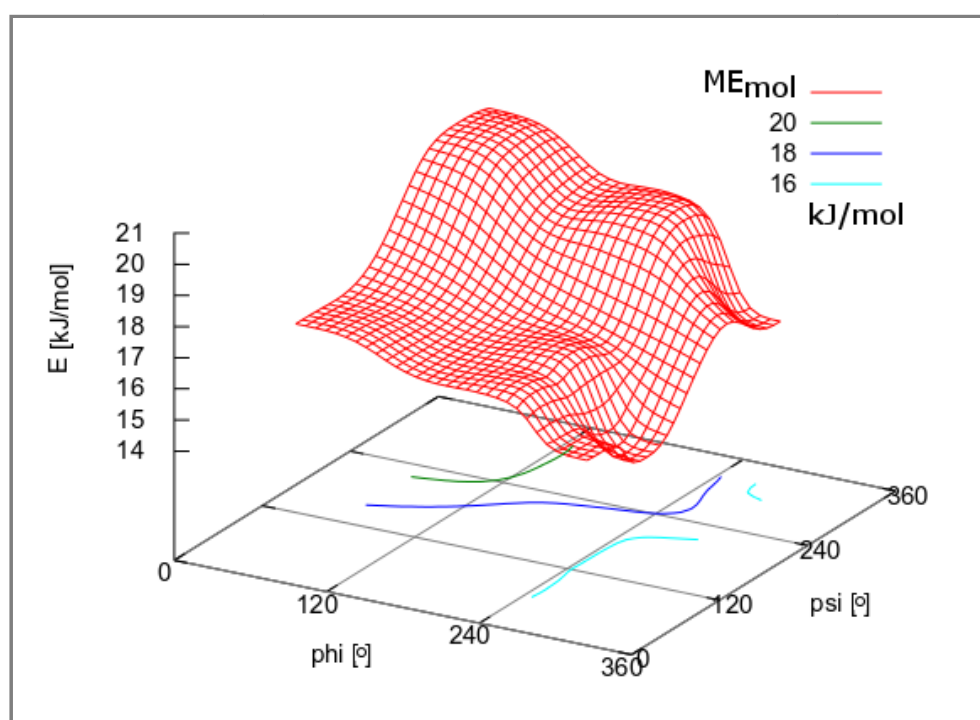


Abb. 138: *N*-Acetyl-L-valin-*N*-methylamid; 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit gerasterter Datenpunktefläche von  $ME_{mol}$  und Konturlinien.

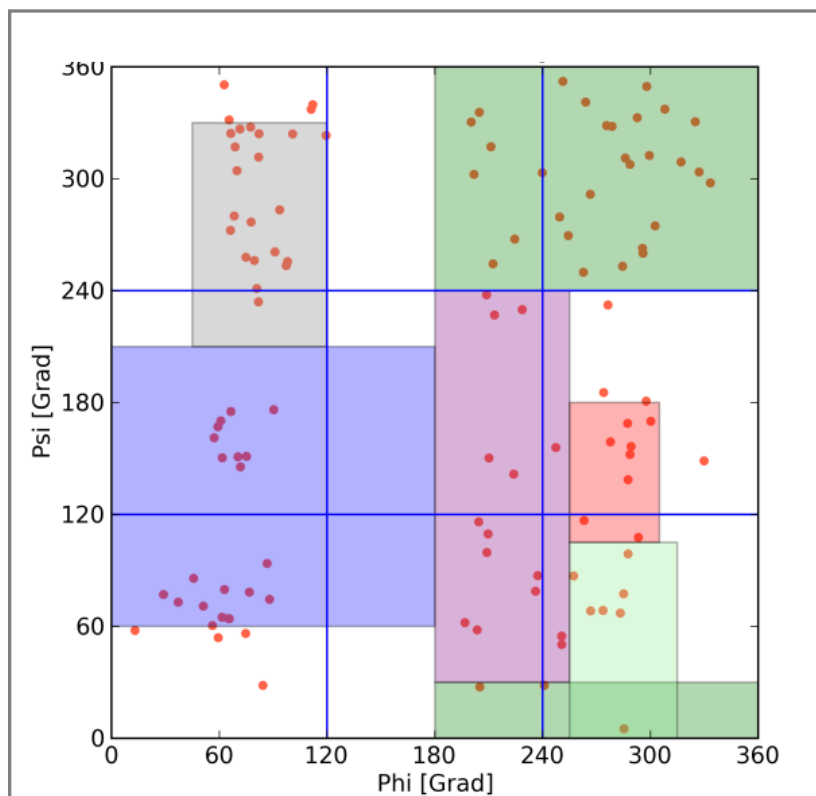


Abb. 139: *N*-Acetyl-L-valin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 144  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

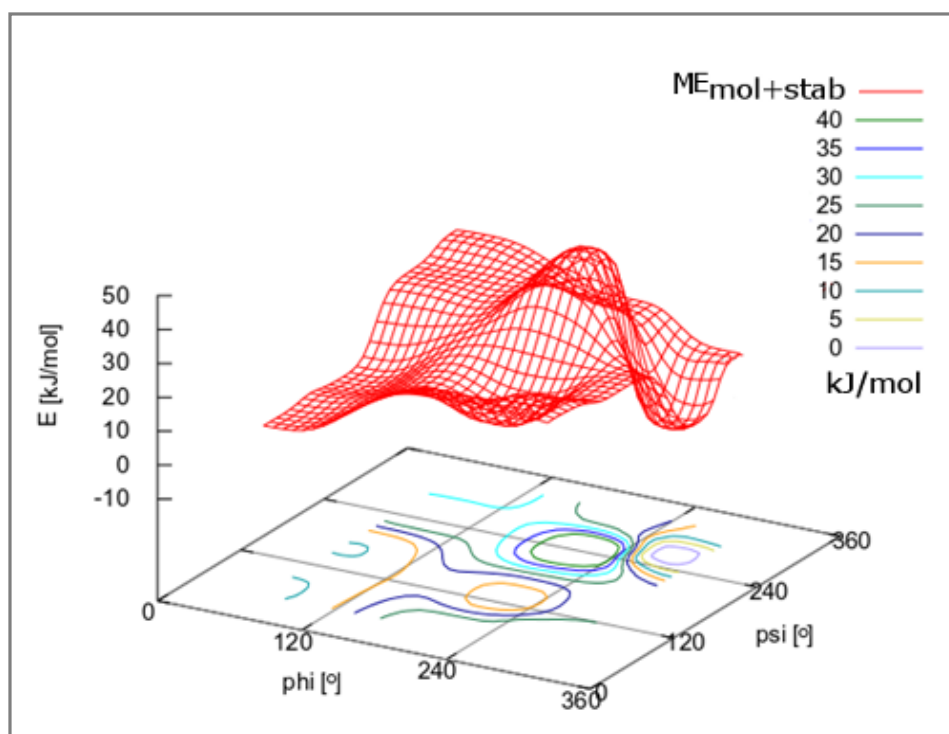


Abb. 140: *N*-Acetyl-L-valin-*N*-methylamid; 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind farbige die Konturlinien eingezeichnet.

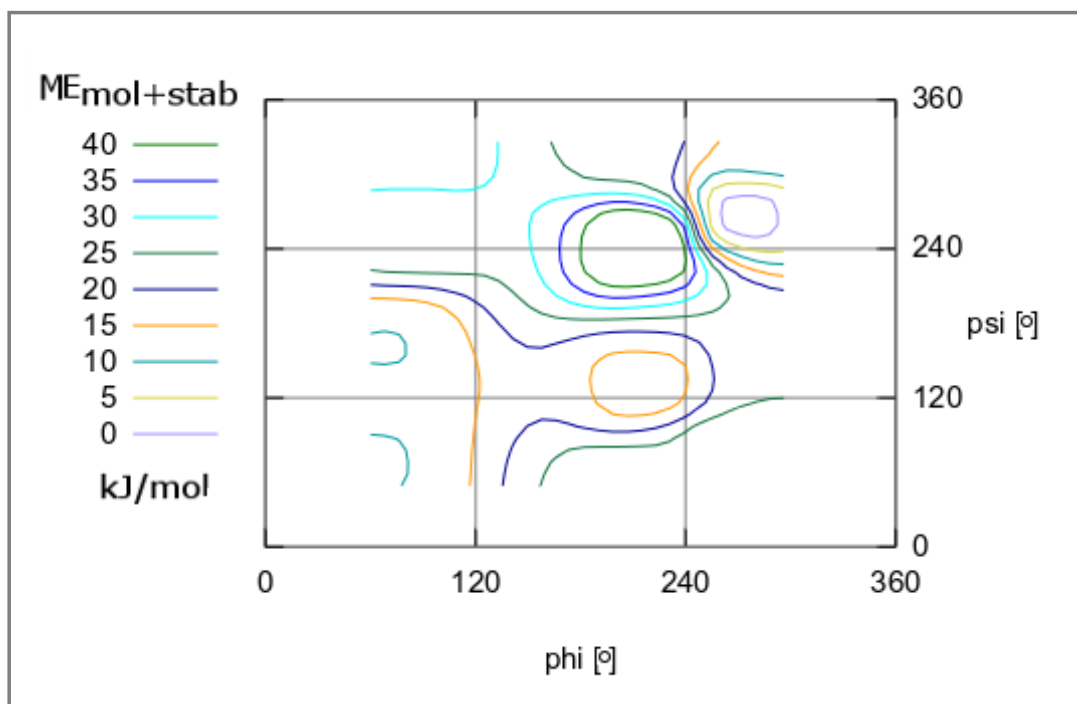


Abb. 141: *N*-Acetyl-L-valin-*N*-methylamid; Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

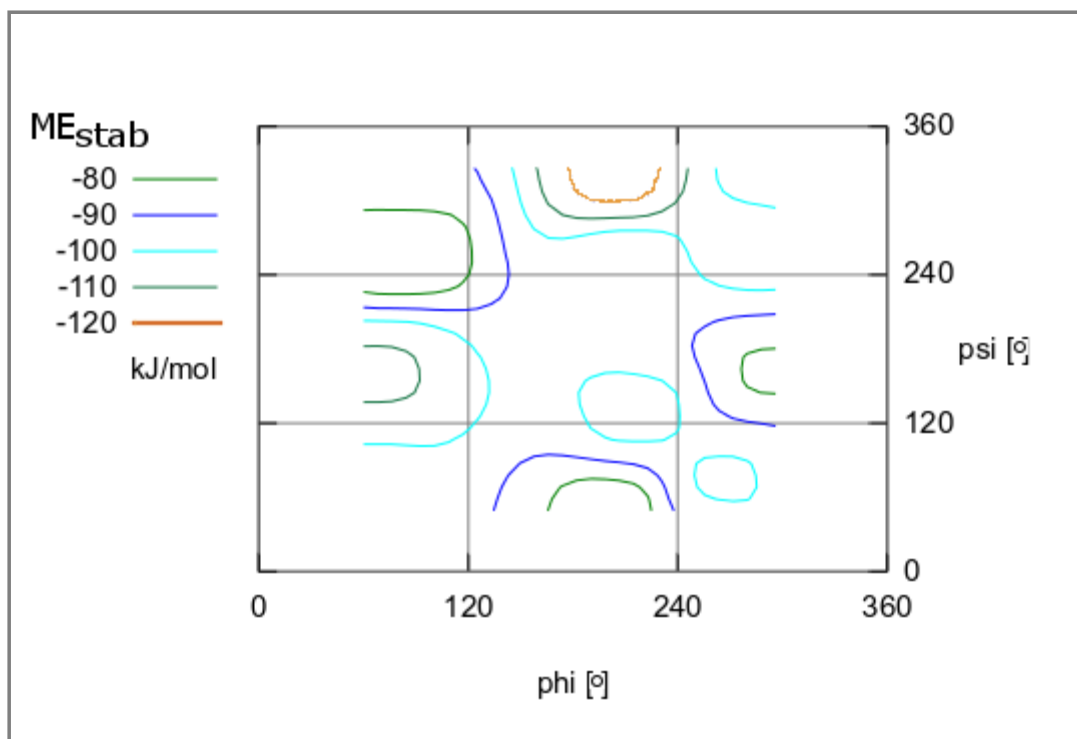


Abb. 142: *N*-Acetyl-L-valin-*N*-methylamid; Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.



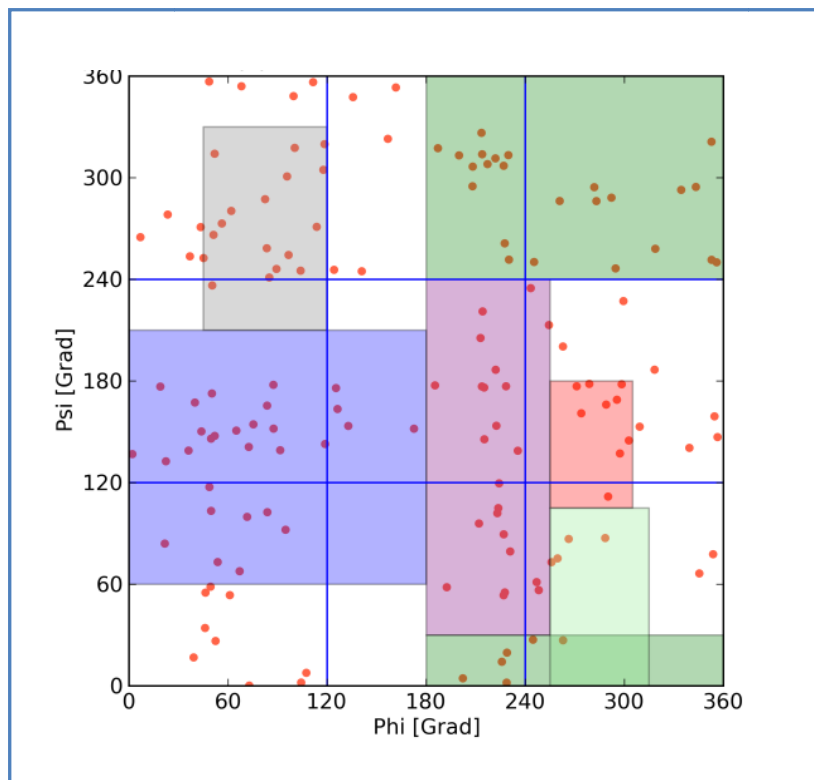


Abb. 143: *N*-Acetyl-L-valin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 144  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

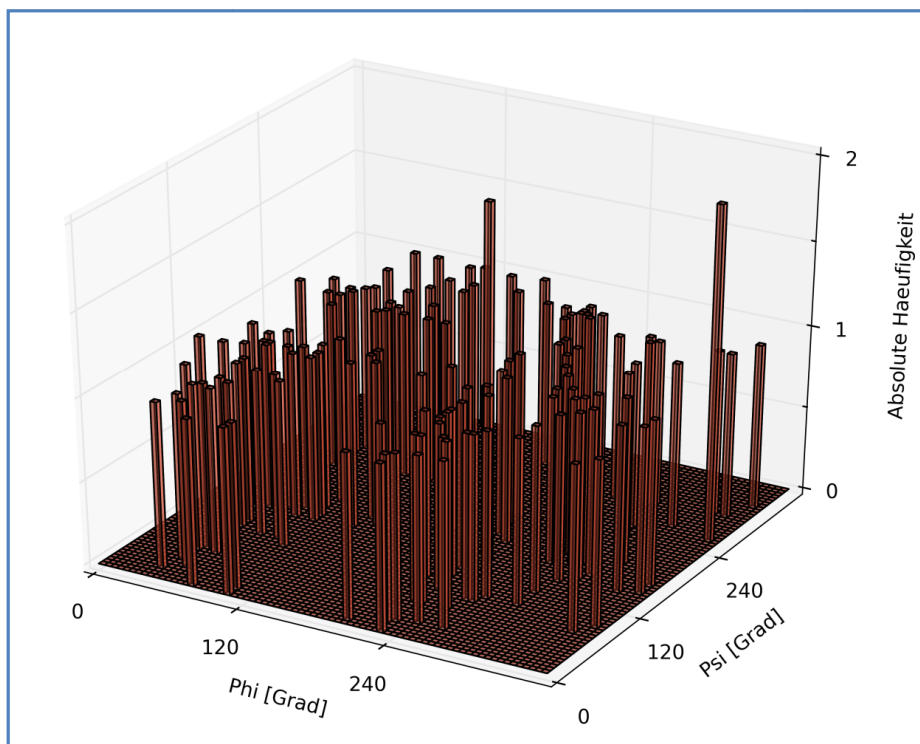


Abb. 144: *N*-Acetyl-L-valin-*N*-methylamid; 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen bei der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell.

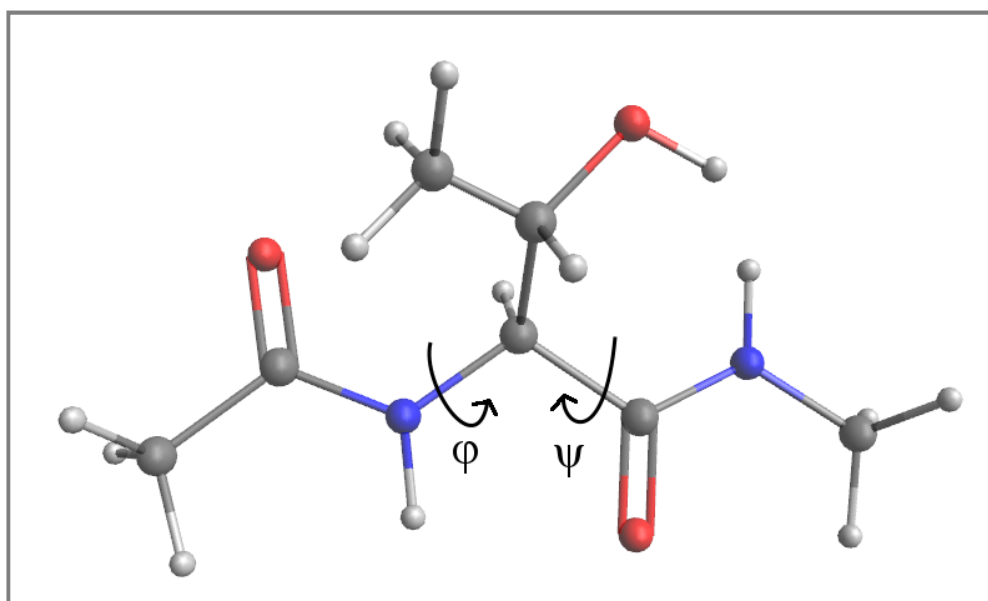
10.3 *N*-Acetyl-L-threonin-*N*-methyramid

Abb. 145: Strukturformel von *N*-Acetyl-L-threonin-*N*-methyramid. Mit Pfeilen eingezeichnet sind die in 30°-Schritten variierten Torsionswinkel  $\varphi$  und  $\psi$ .

	$\varphi$	$\psi$			
<i>Schrittweiten</i>	30°	30°			
<i>Anzahl Konformationen</i>	144				
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 0		AMBER11: 0		
<i>Clusteranzahl</i>	15				
$E_{\text{mol+stab}}^{\#}$	-49,8 kJ/mol				
<i>aussortierte Cluster</i>	Nr. 3 (nur zwei Werte enthalten) Nr. 13 (nur zwei Werte enthalten) Nr. 15 (nur ein Wert enthalten)				

<sup>#</sup> Energetisch günstigste Konformation innerhalb des Clusters mit der niedrigsten Energie.

Tabelle 13: Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell an *N*-Acetyl-L-threonin-*N*-methyramid.

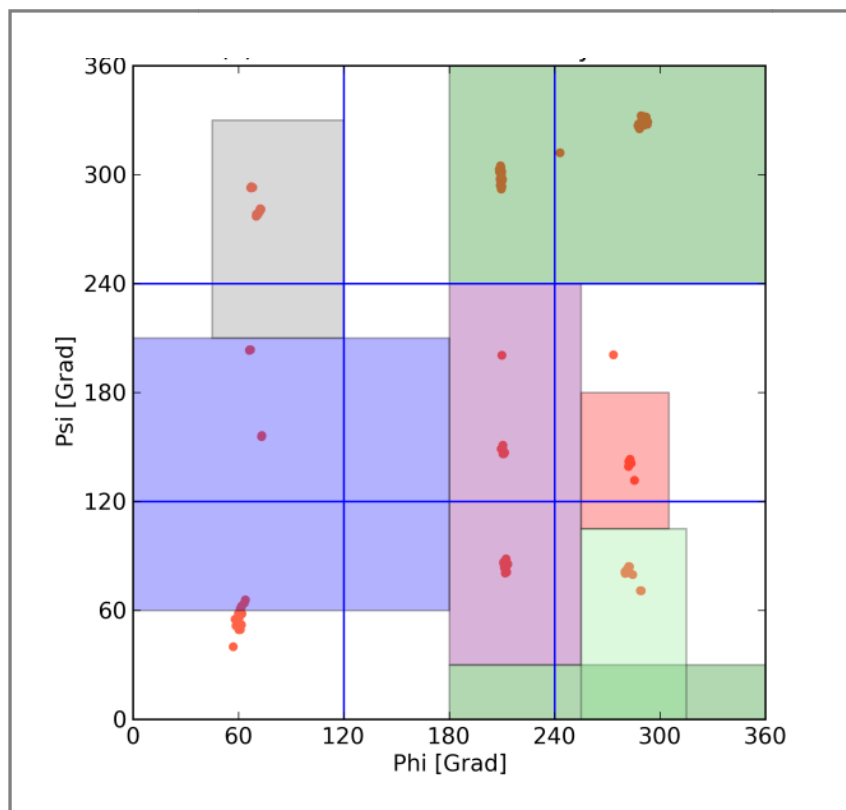


Abb. 146: *N*-Acetyl-L-threonin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 144  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

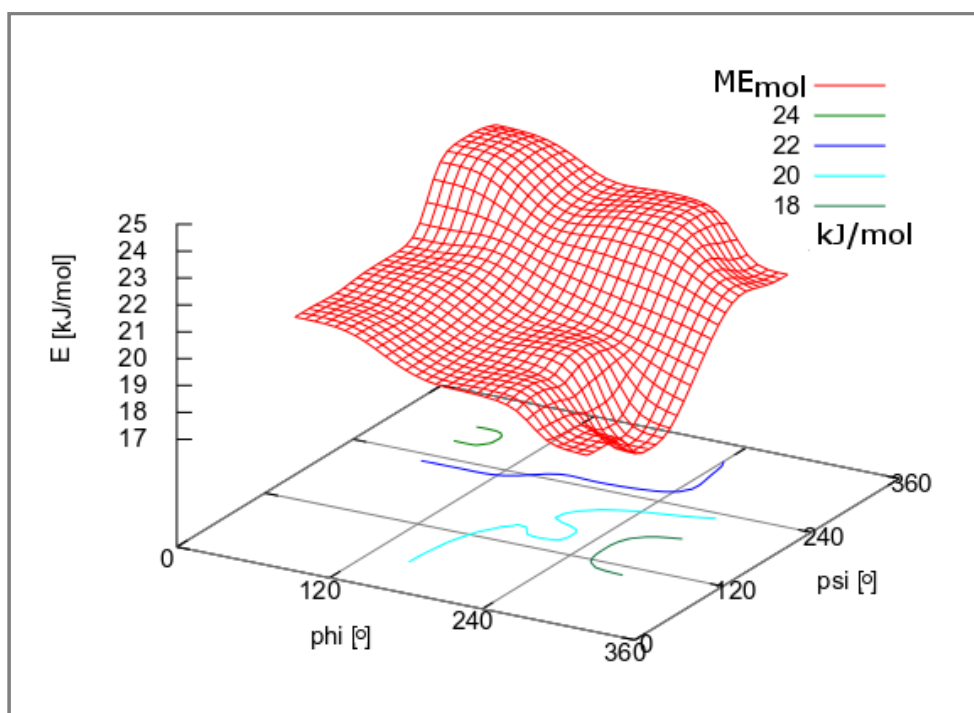


Abb. 147: *N*-Acetyl-L-threonin-*N*-methylamid; 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit gerasterter Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol}}$  und Konturlinien.

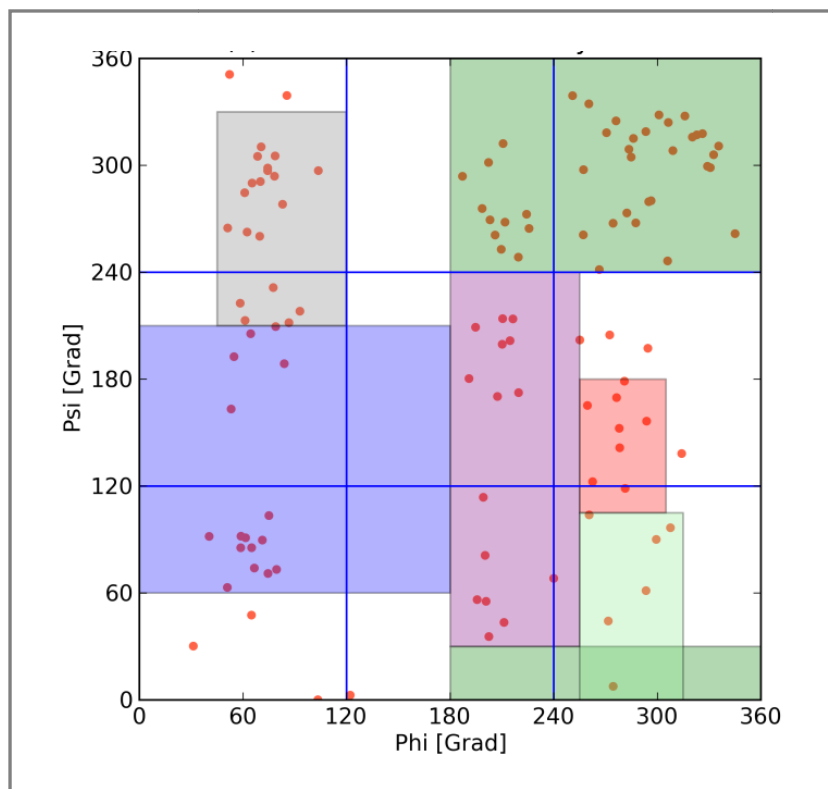


Abb. 148: *N*-Acetyl-L-threonin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 144  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

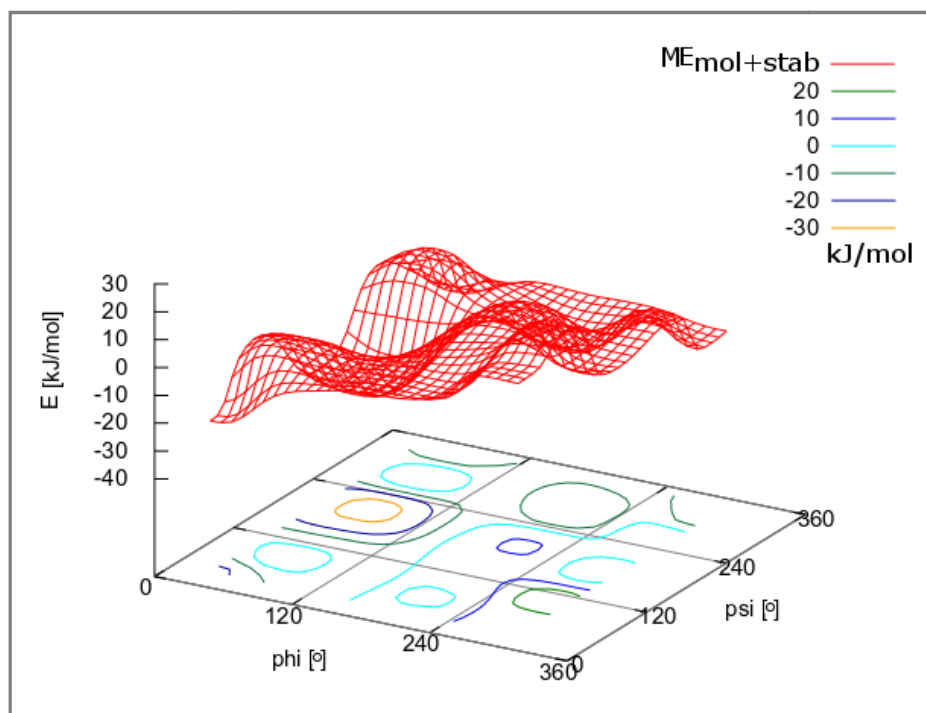


Abb. 149: *N*-Acetyl-L-threonin-*N*-methylamid; 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol}+\text{stab}}$  sind farbig die Konturlinien eingezeichnet.

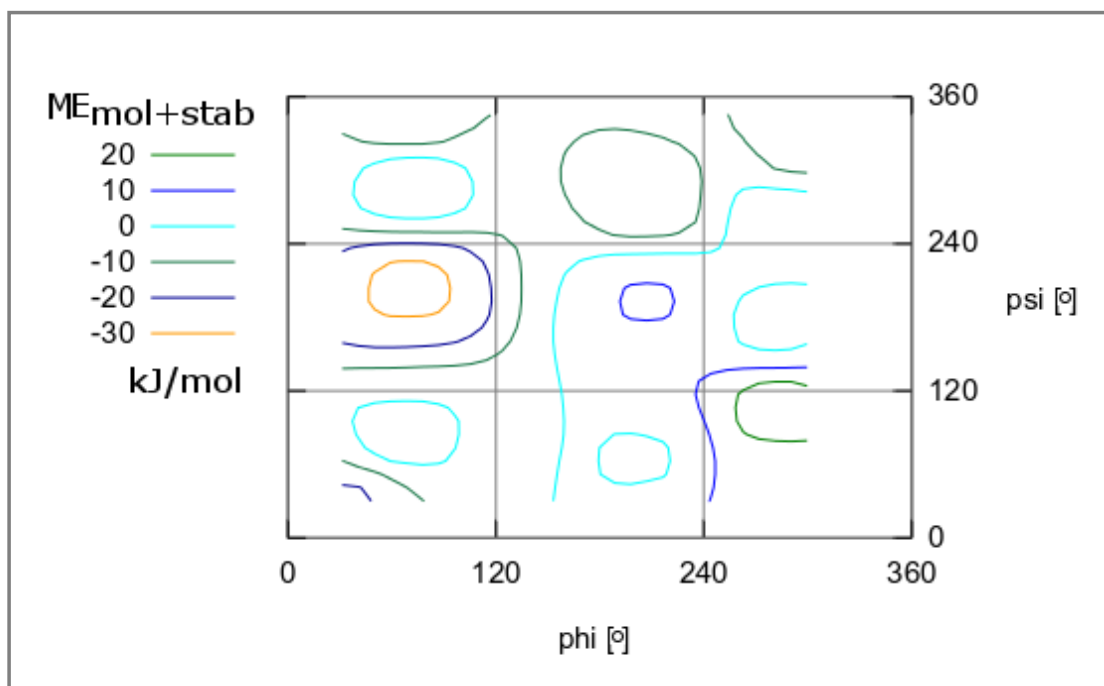


Abb. 150: *N*-Acetyl-L-threonin-*N*-methylamid; Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

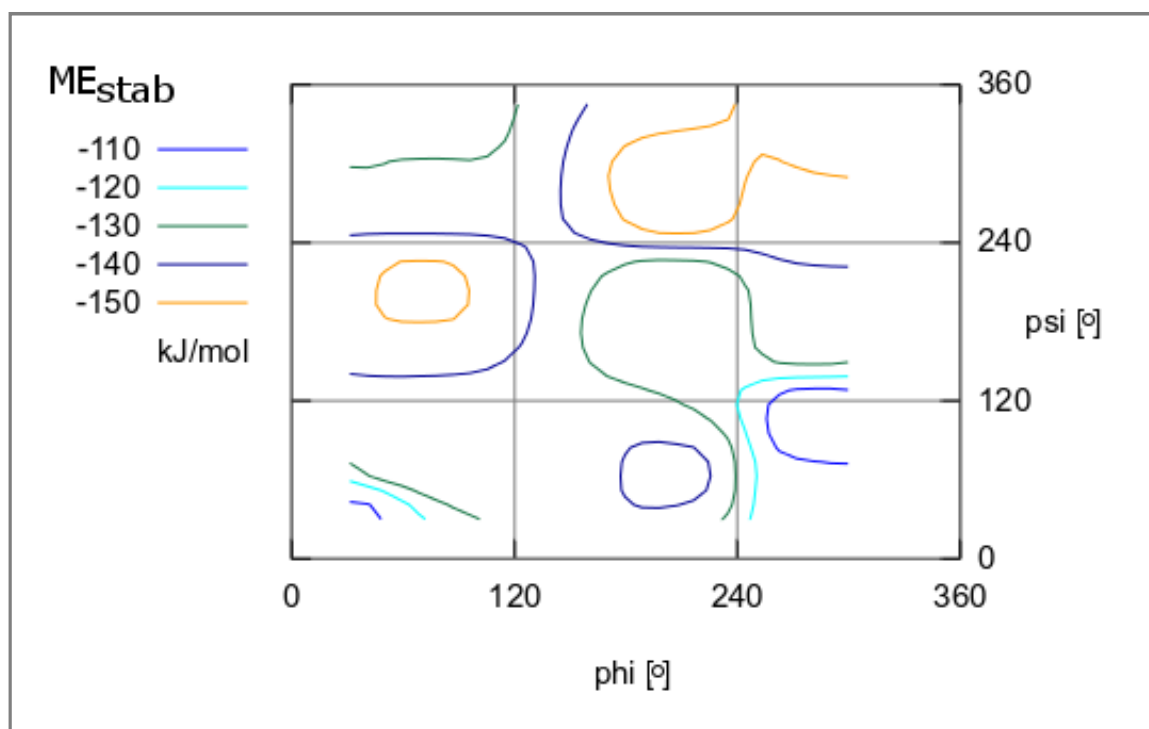


Abb. 151: *N*-Acetyl-L-threonin-*N*-methylamid; Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

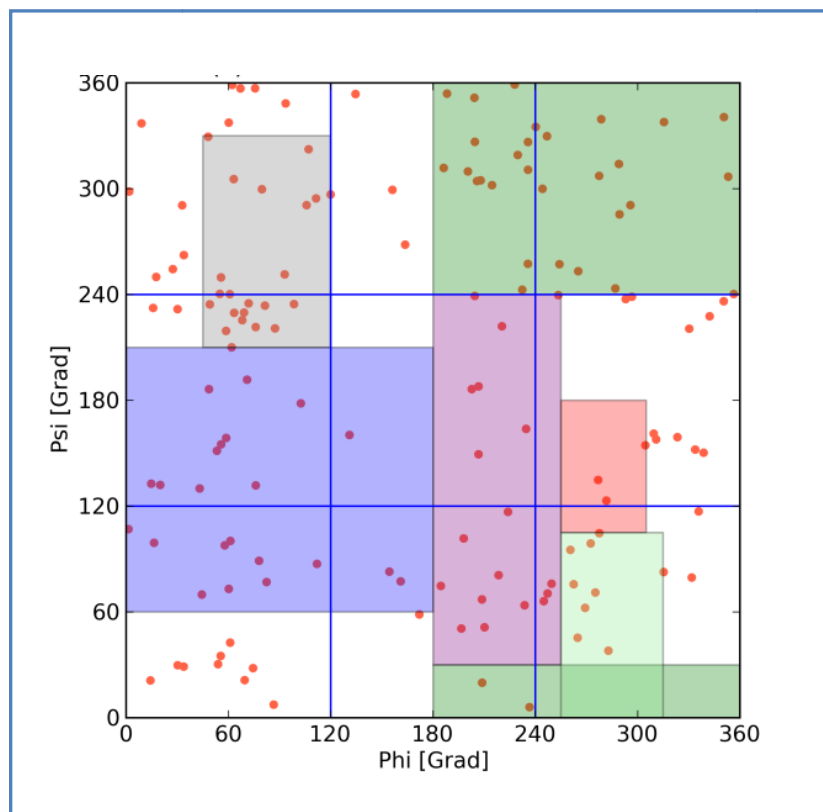


Abb. 152: *N*-Acetyl-L-threonin-*N*-methylamid; 2D-Ramachandran-Diagramm der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 144  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

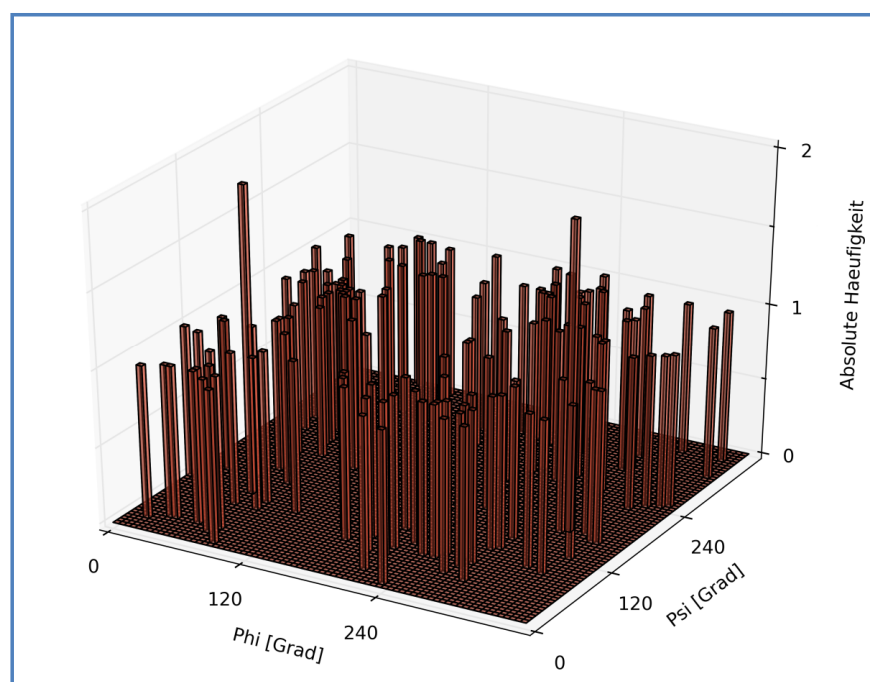


Abb. 153: *N*-Acetyl-L-threonin-*N*-methylamid; 3D-Säulendiagramm der Häufigkeiten von  $\phi/\psi$ -Paarungen bei der AMBER11-Konformationsanalyse mit TIP3P-Solvatationsmodell.

### 10.4 Tripeptid Ala–Asp–Ala (protonierte Carboxylgruppen)

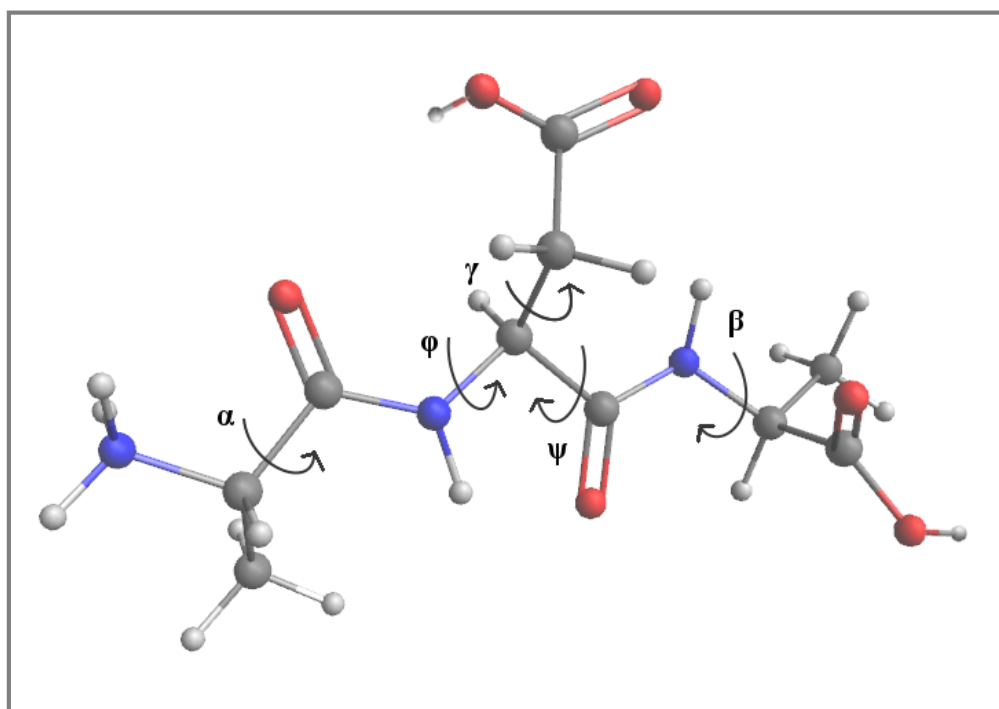


Abb. 154: Das Tripeptid Ala–Asp–Ala (mit protonierten Carboxylgruppen). Eingezeichnet sind die fünf variierten Torsionswinkel  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\phi$  und  $\psi$ .

	$\alpha$	$\phi$	$\psi$	$\beta$	$\gamma$	
<i>Schrittweiten</i>	90°	60°	60°	90°	90°	
<i>Anzahl Konformationen</i>	2304					
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 2					
<i>Clusteranzahl</i>	21					
$E_{\text{mol+stab}}^{\#}$	-67,4 kJ/mol					
<i>aussortierte Cluster</i>	Nr. 4 (nur ein Wert enthalten)					

<sup>#</sup>Energetisch günstigste Konformation innerhalb des Clusters mit der niedrigsten Energie.

Tabelle 14: Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell an protoniertem Ala–Asp–Ala.

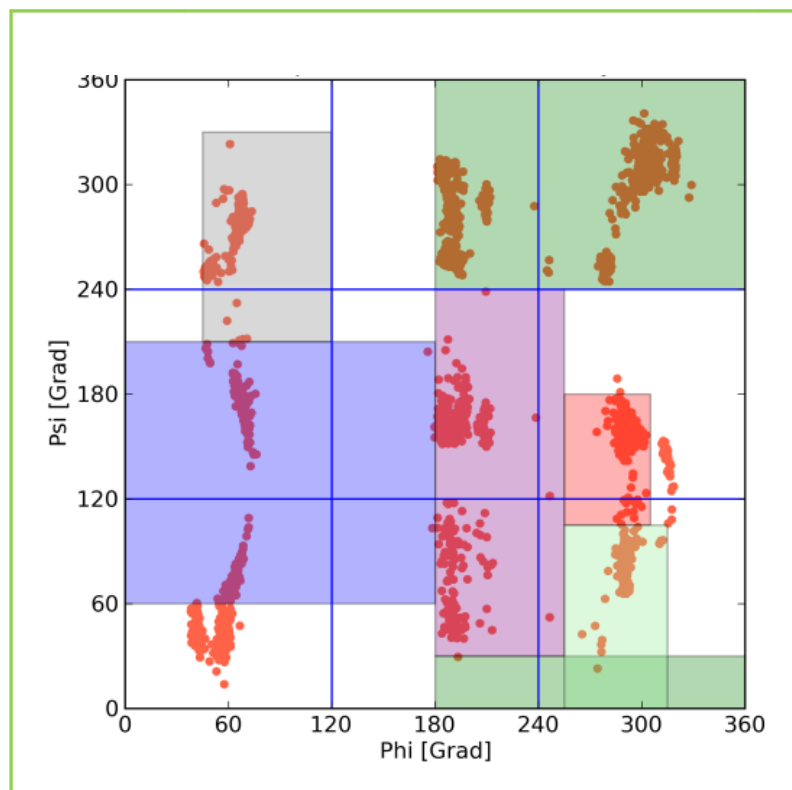


Abb. 155: Ala-Asp-Ala (Carboxylgruppen); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

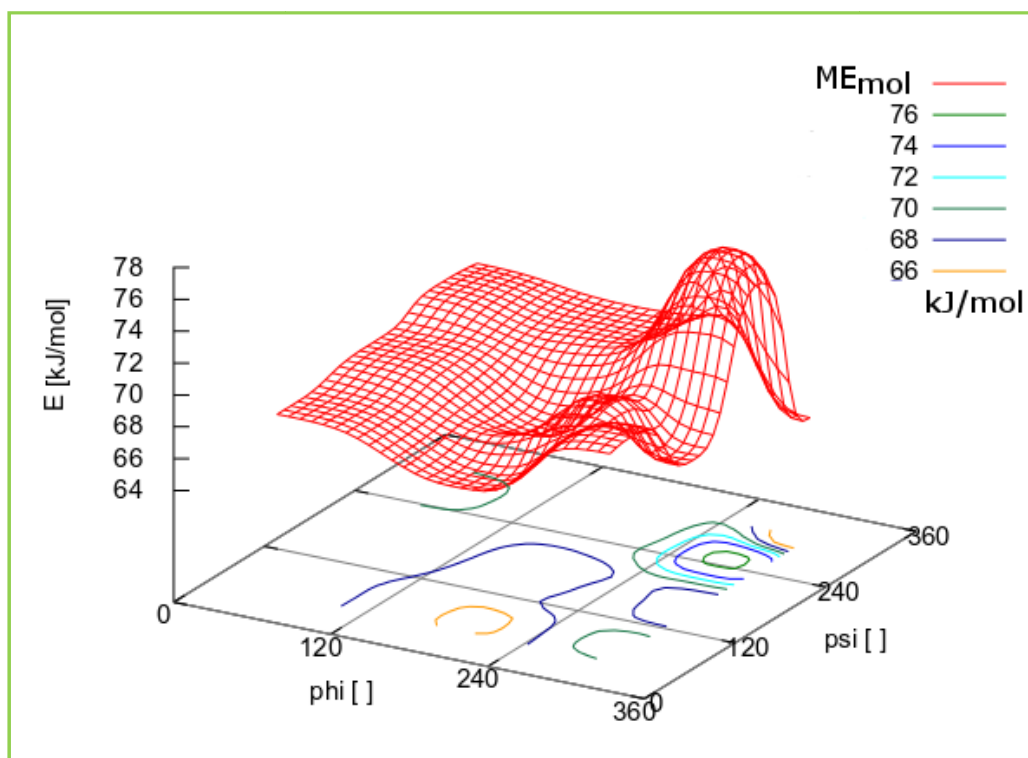


Abb. 156: Ala-Asp-Ala (Carboxylgruppen); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit gerasterter Datenpunktefläche von  $ME_{mol}$  und Konturlinien.



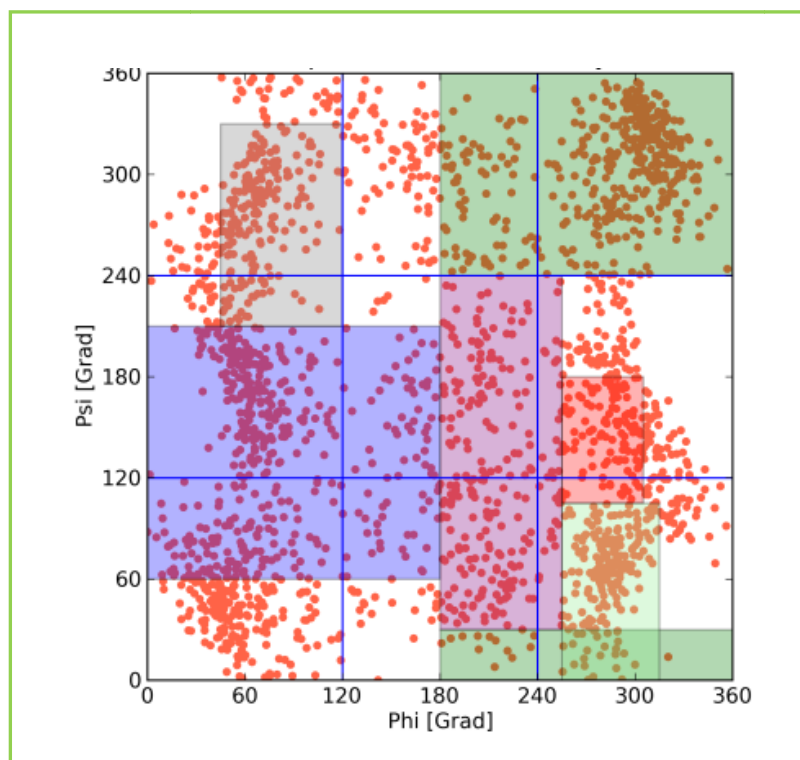


Abb. 157: Ala-Asp-Ala (Carboxylgruppen); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2302  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

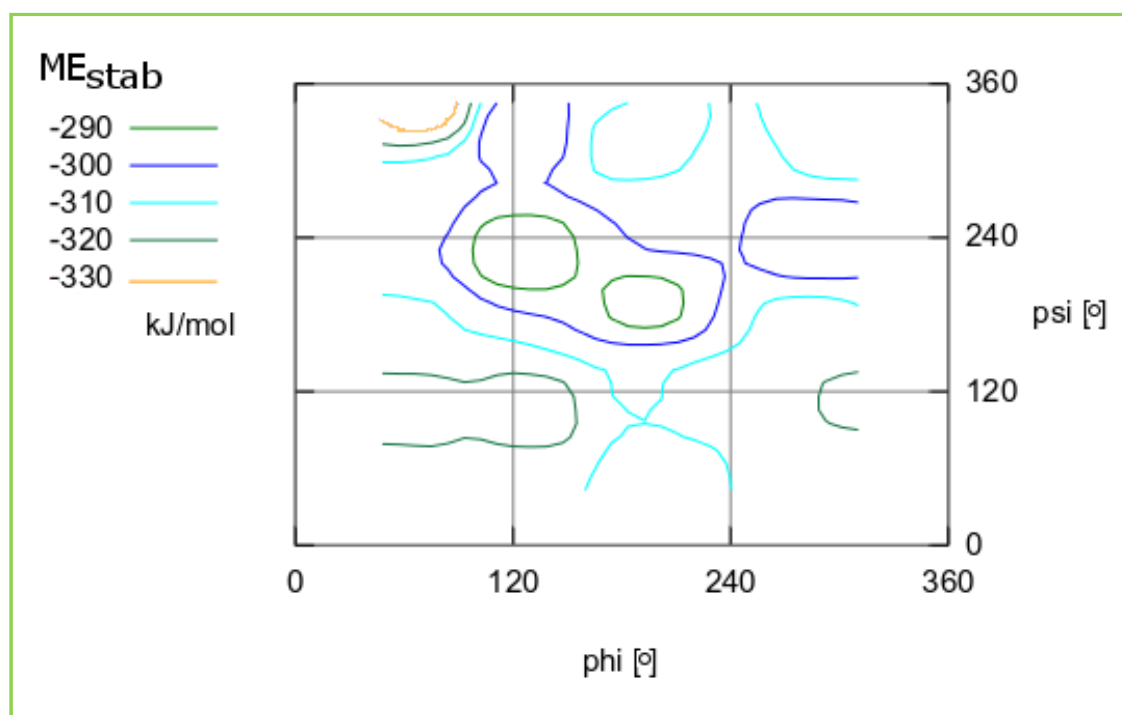


Abb. 158: Ala-Asp-Ala (Carboxylgruppen); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{stab}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

## 10.5 Tripeptid Cys–Asn–Ser (protoniert)

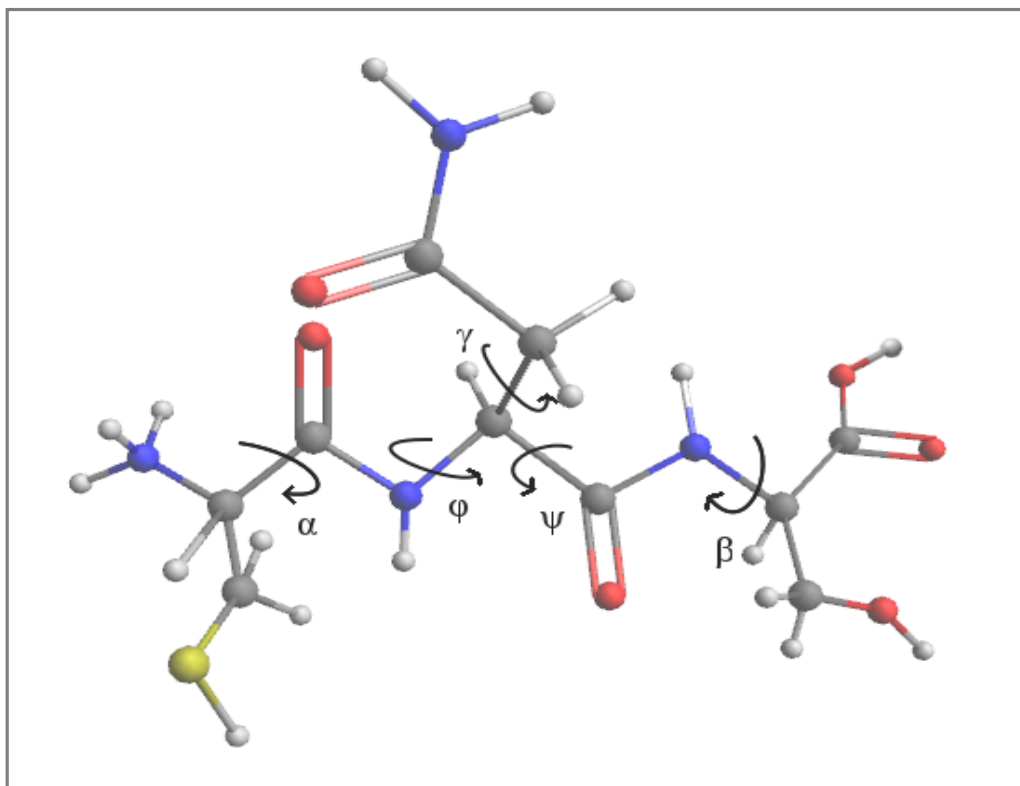


Abb. 159: Das Tripeptid Cys–Asn–Ser in der protonierten Form des Peptidrückgrats. Eingezeichnet sind die fünf variierten Torsionswinkel  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\varphi$  und  $\psi$ .

	$\alpha$	$\varphi$	$\psi$	$\beta$	$\gamma$	
<i>Schrittweiten</i>	90°	60°	60°	90°	90°	
<i>Anzahl Konformationen</i>	2304					
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 1					
<i>Clusteranzahl</i>	23					
$E_{\text{mol+stab}}^{\#}$	-141,0 kJ/mol					
<i>aussortierte Cluster</i>	Nr. 4 (nur ein Wert enthalten)					

<sup>#</sup>Energetisch günstigste Konformation innerhalb des Clusters mit der niedrigsten Energie.

Tabelle 15: Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell an protoniertem Cys–Asn–Ser.

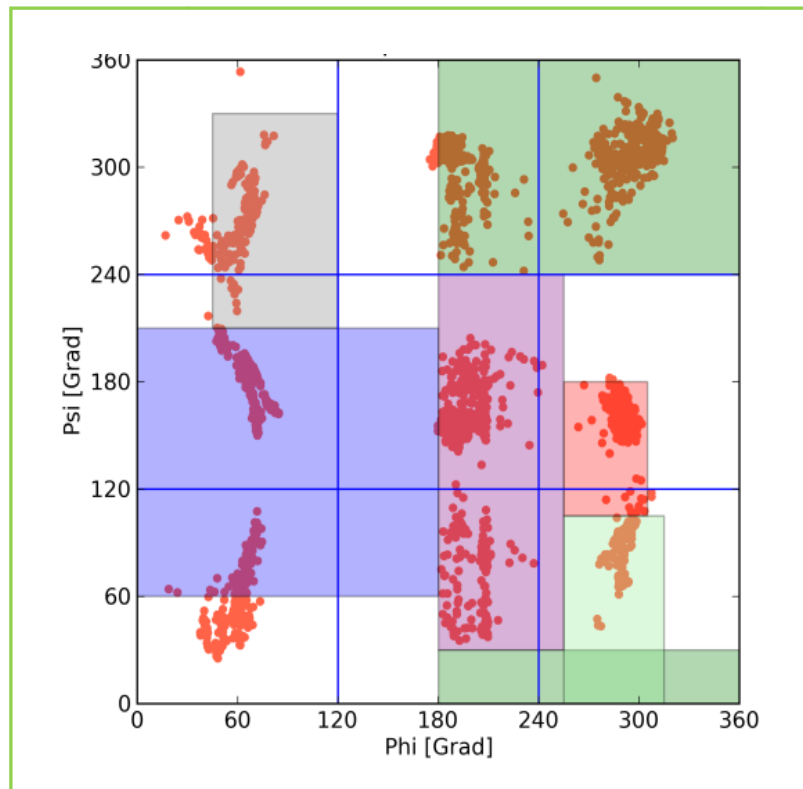


Abb. 160: Tripeptid Cys-Asn-Ser (protoniert); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

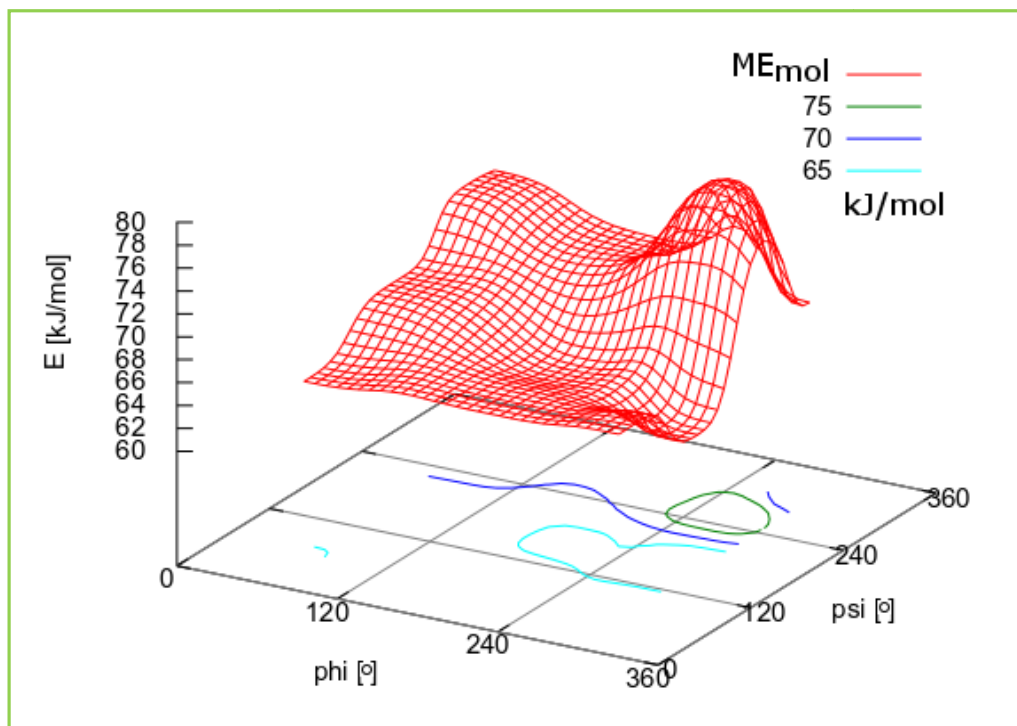


Abb. 161: Tripeptid Cys-Asn-Ser (protoniert); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit gerasterter Datenpunktfäche von  $ME_{mol}$  und Konturlinien.

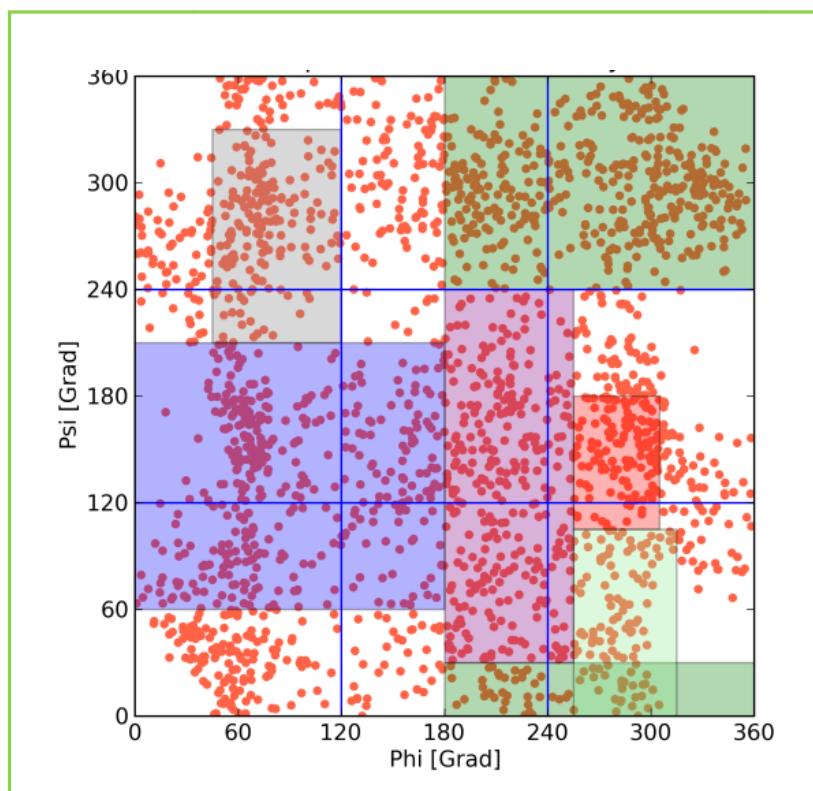


Abb. 162: Cys-Asn-Ser (protoniert); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2303  $\varphi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

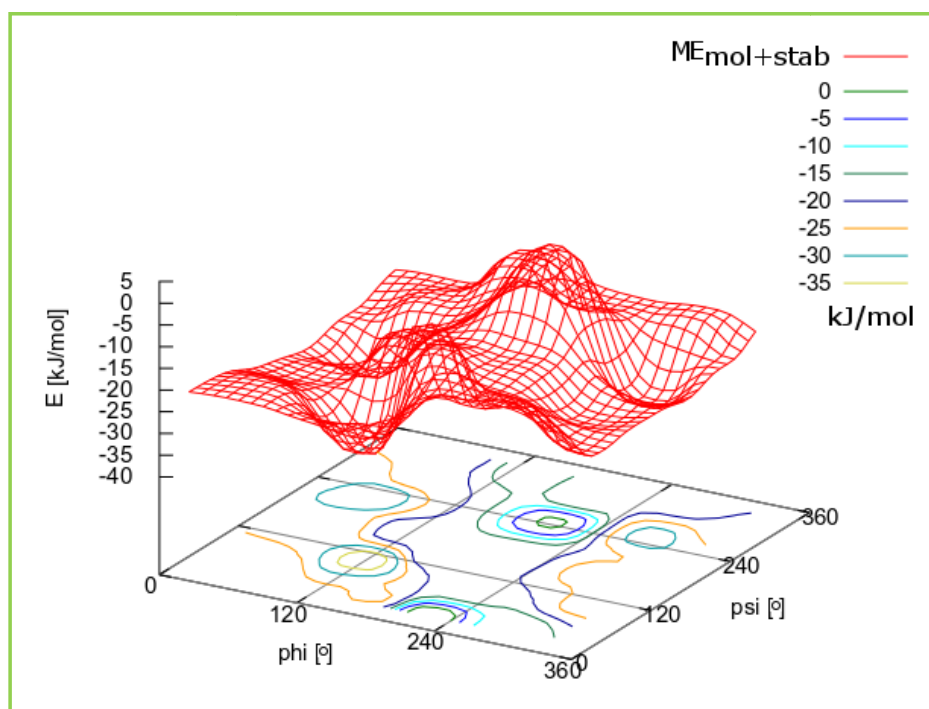


Abb. 163: Cys-Asn-Ser (protoniert); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktfäche von  $ME_{\text{mol}+\text{stab}}$  sind farbige Konturlinien eingezeichnet.

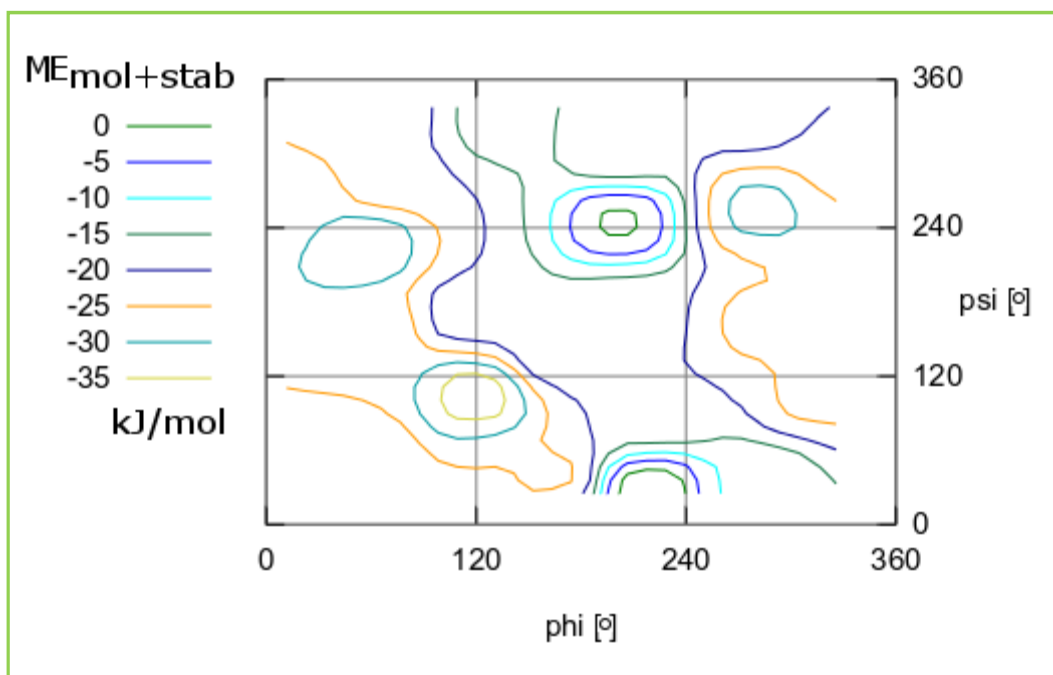


Abb. 164: Cys-Asn-Ser (protoniert); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

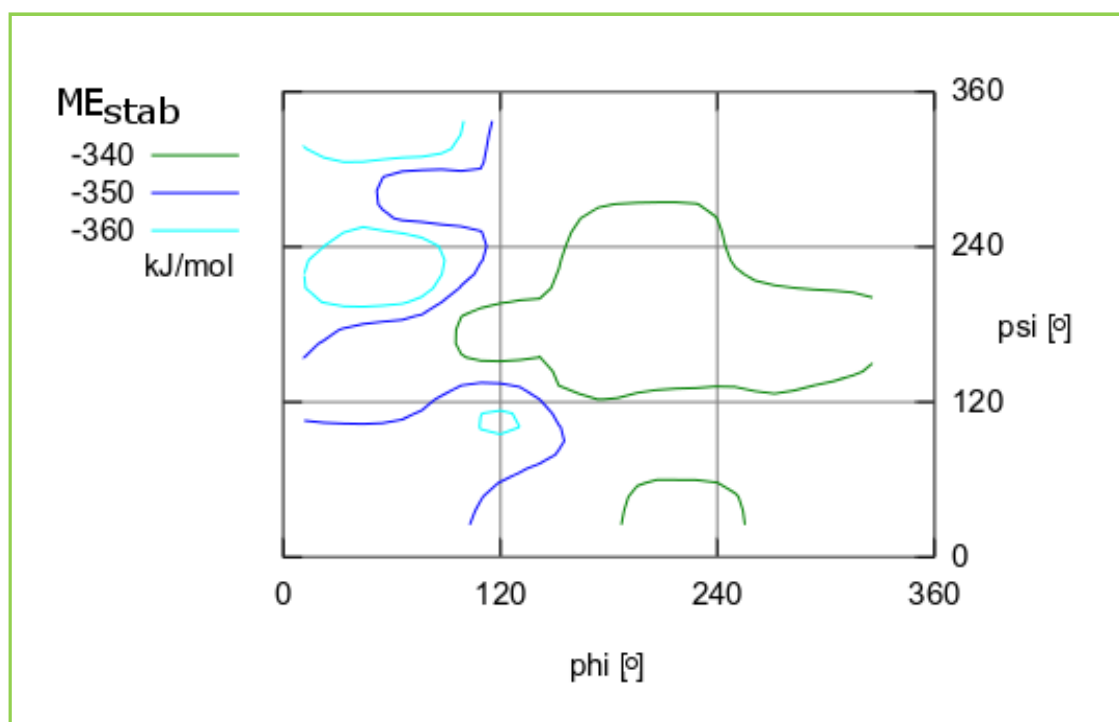


Abb. 165: Cys-Asn-Ser (protoniert); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

## 10.6 Tripeptid Ala–Phe–Ala (protoniert)

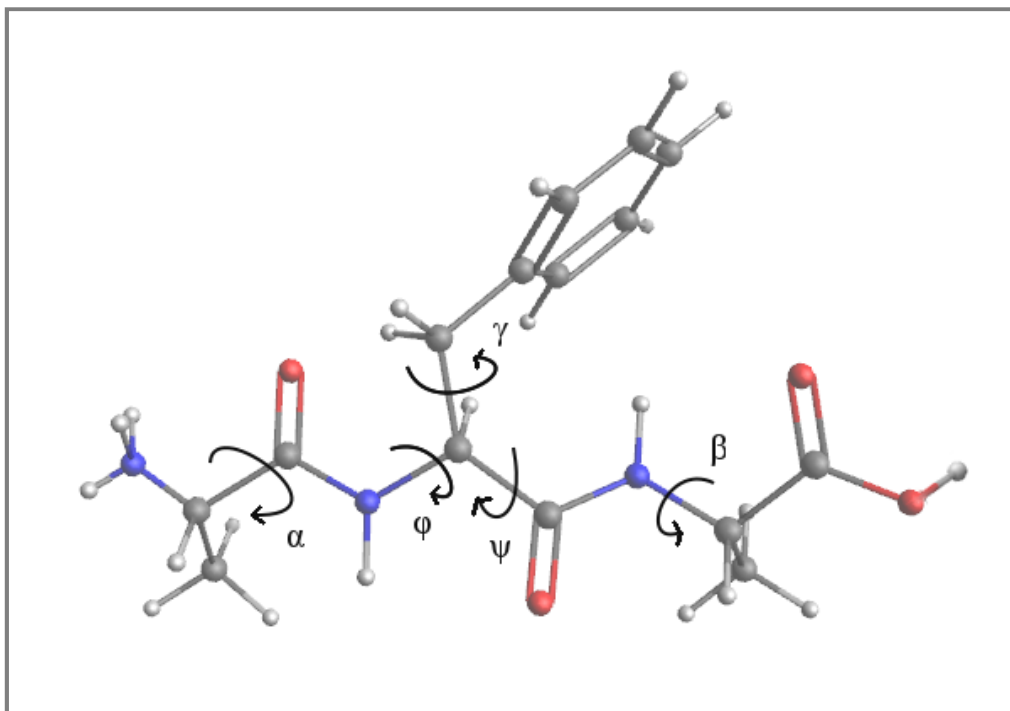


Abb. 166: Das Tripeptid Ala–Phe–Ala in der protonierten Form des Peptidrückgrats. Eingezeichnet sind die fünf variierten Torsionswinkel  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\phi$  und  $\psi$ .

	$\alpha$	$\phi$	$\psi$	$\beta$	$\gamma$	
<i>Schrittweiten</i>	90°	60°	60°	90°	90°	
<i>Anzahl Konformationen</i>	2304					
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 1					
<i>Clusteranzahl</i>	26					
$E_{\text{mol+stab}}^{\#}$	-84,5 kJ/mol					
<i>aussortierte Cluster</i>	Nr. 6 ( nur 2 Werte enthalten)					

<sup>#</sup>Energetisch günstigste Konformation innerhalb des Clusters mit der niedrigsten Energie.

Tabelle 16: Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell an Ala–Phe–Ala (protoniert).

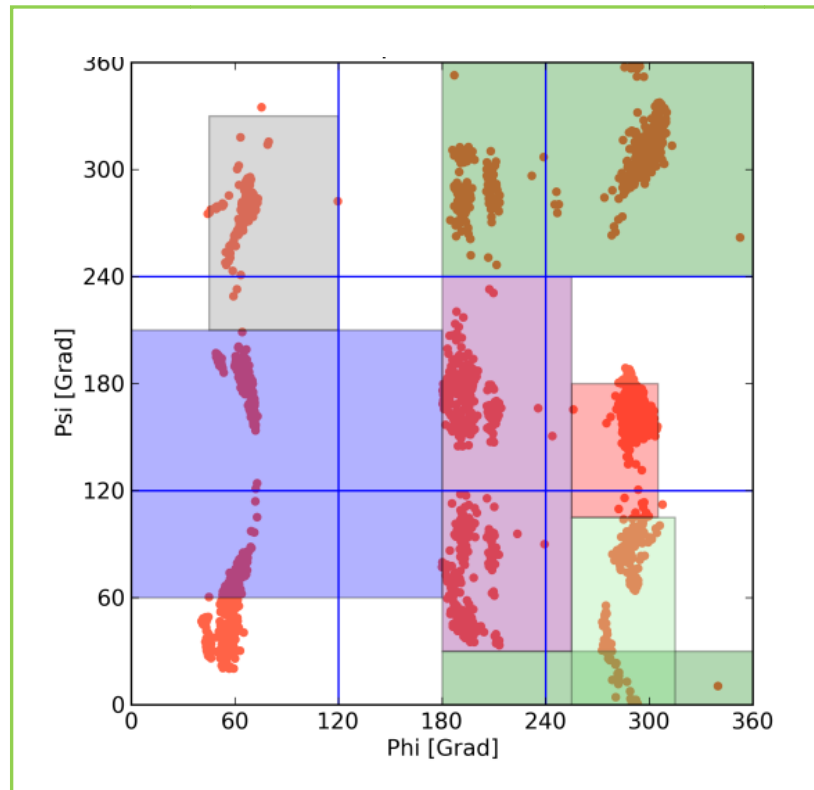


Abb. 167: Tripeptid Ala-Phe-Ala (protoniert); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

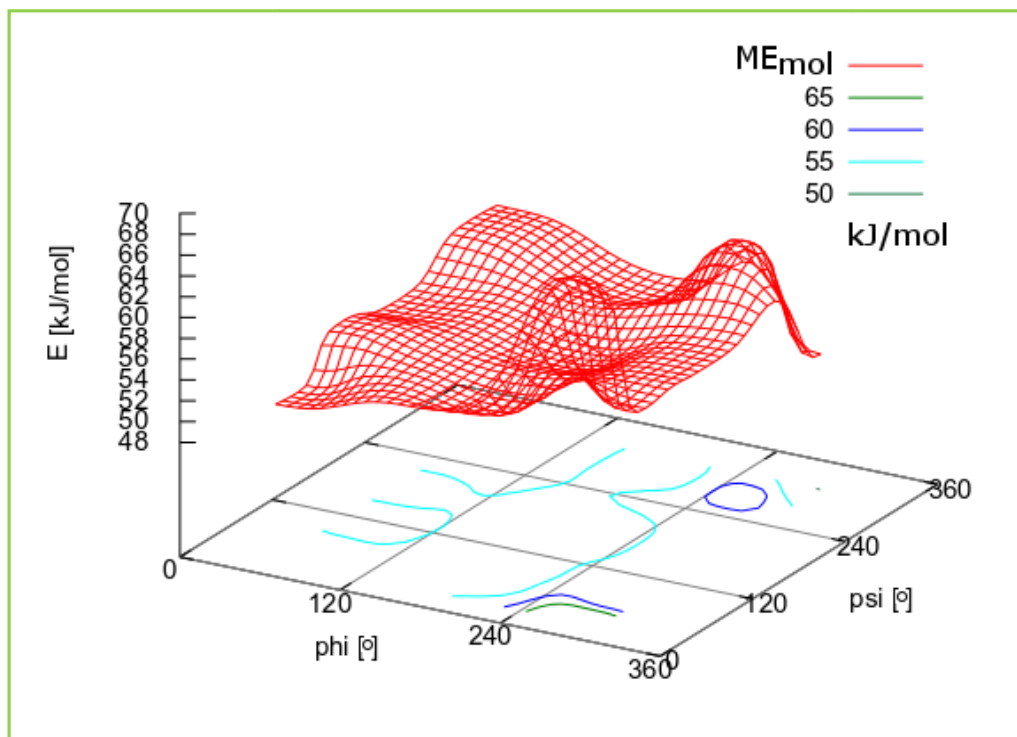


Abb. 168: Tripeptid Ala-Phe-Ala (protoniert); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit gerasterter Datenpunktefläche von  $ME_{mol}$  und Konturlinien.

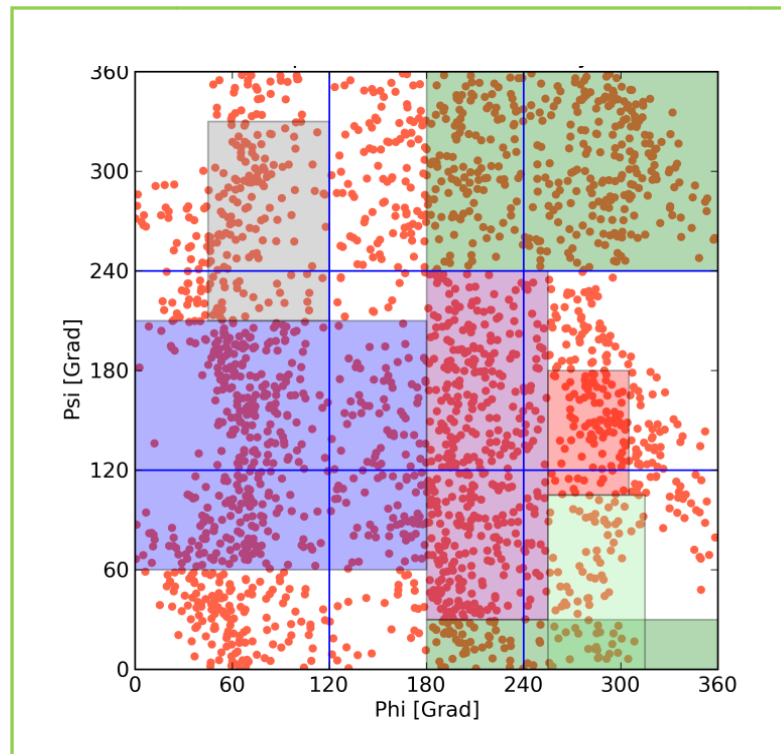


Abb. 169: Ala-Phe-Ala (protoniert); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2303  $\varphi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

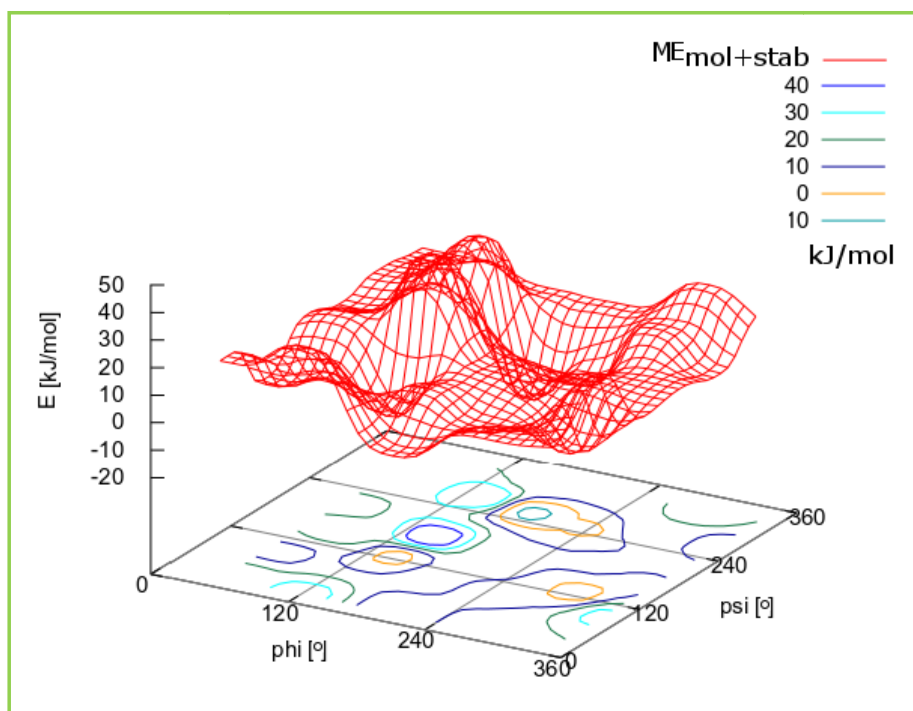


Abb. 170: Ala-Phe-Ala (protoniert); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktefläche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind farbige die Konturlinien eingezeichnet.



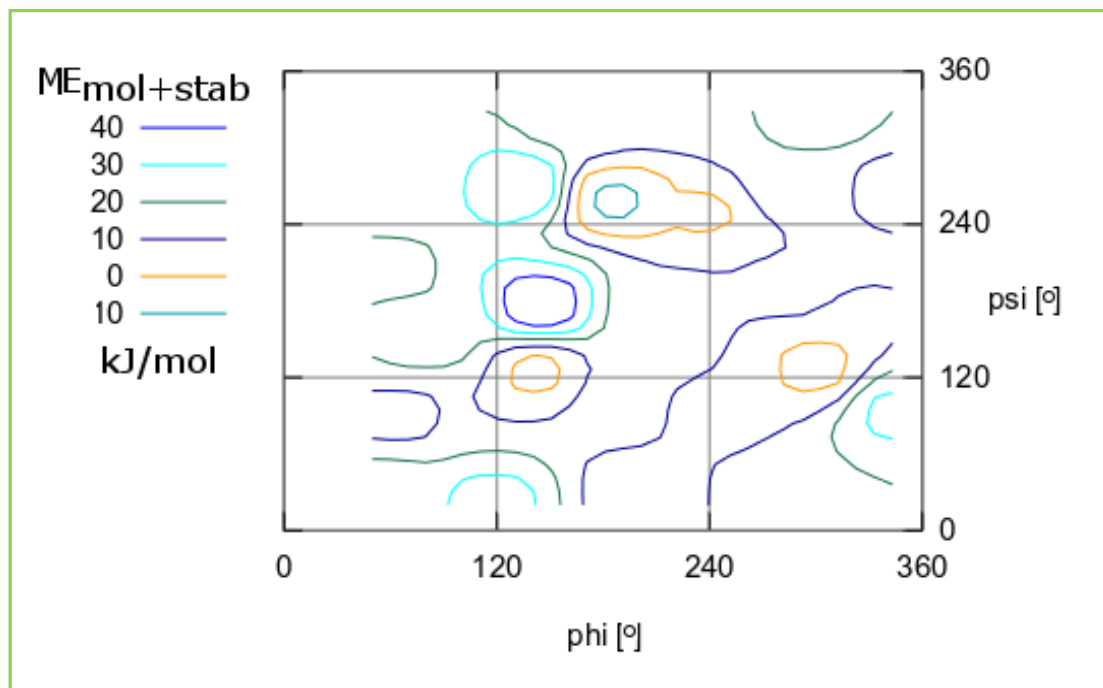


Abb. 171: Ala-Phe-Ala (protoniert); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

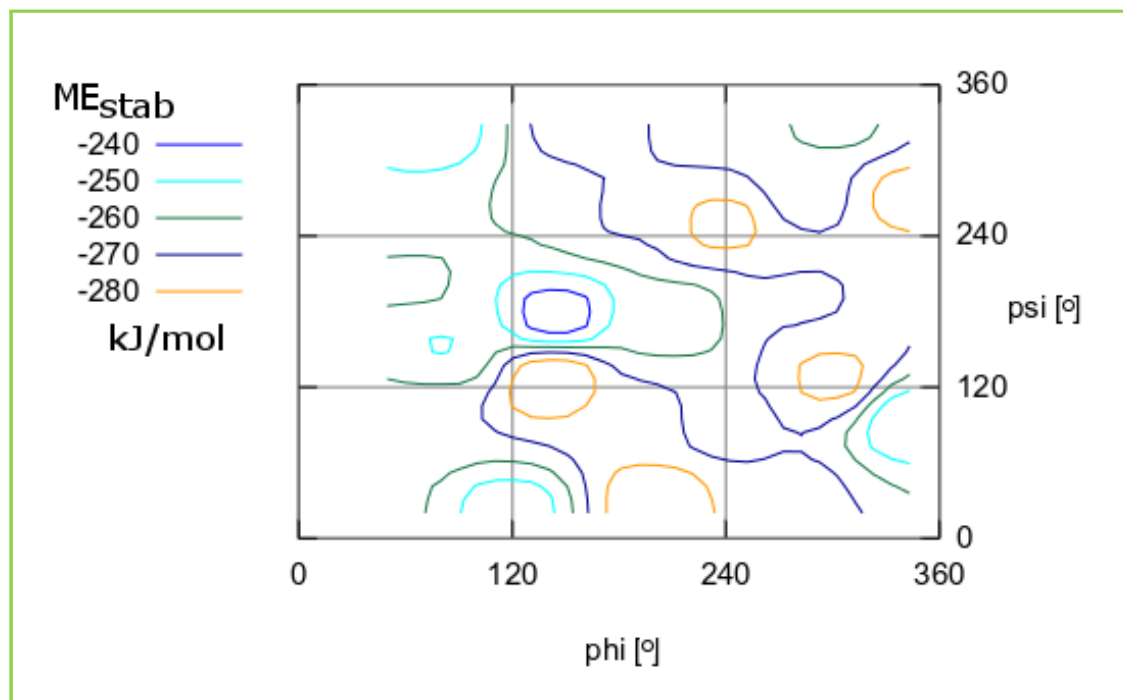


Abb. 172: Ala-Phe-Ala (protoniert); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

## 10.7 Tripeptid Gly–Phe–Gly (protoniert)

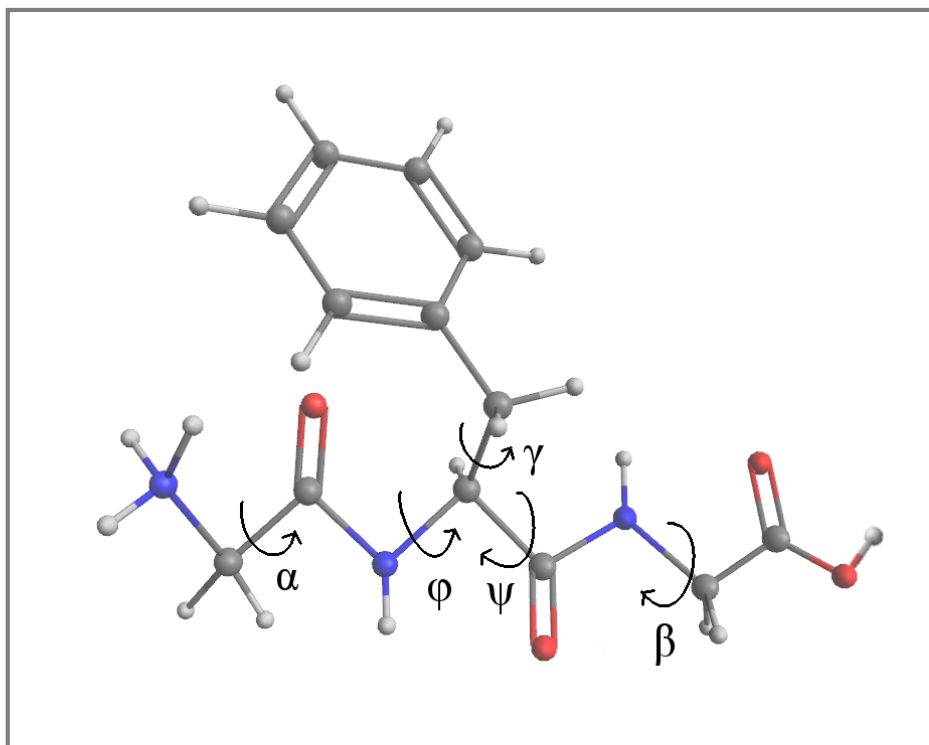


Abb. 173: Das Tripeptid Gly–Phe–Gly in der protonierten Form des Peptidrückgrats. Eingezeichnet sind die fünf variierten Torsionswinkel  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\phi$  und  $\psi$ .

	$\alpha$	$\phi$	$\psi$	$\beta$	$\gamma$	
<i>Schrittweiten</i>	90°	60°	60°	90°	90°	
<i>Anzahl Konformationen</i>	2304					
<i>fehlerhafte Rechnungen</i>	MOMO: 0					
<i>Clusteranzahl</i>	23					
$E_{\text{mol+stab}}^{\#}$	-91,7 kJ/mol					
<i>aussortierte Cluster</i>	Nr. 23 ( nur ein Wert enthalten)					

<sup>#</sup>Energetisch günstigste Konformation innerhalb des Clusters mit der niedrigsten Energie.

Tabelle 17: Daten und Ergebnisse der Konformationsanalyse mit MOMO und TPA3-Solvatationsmodell an Gly–Phe–Gly (protoniert).

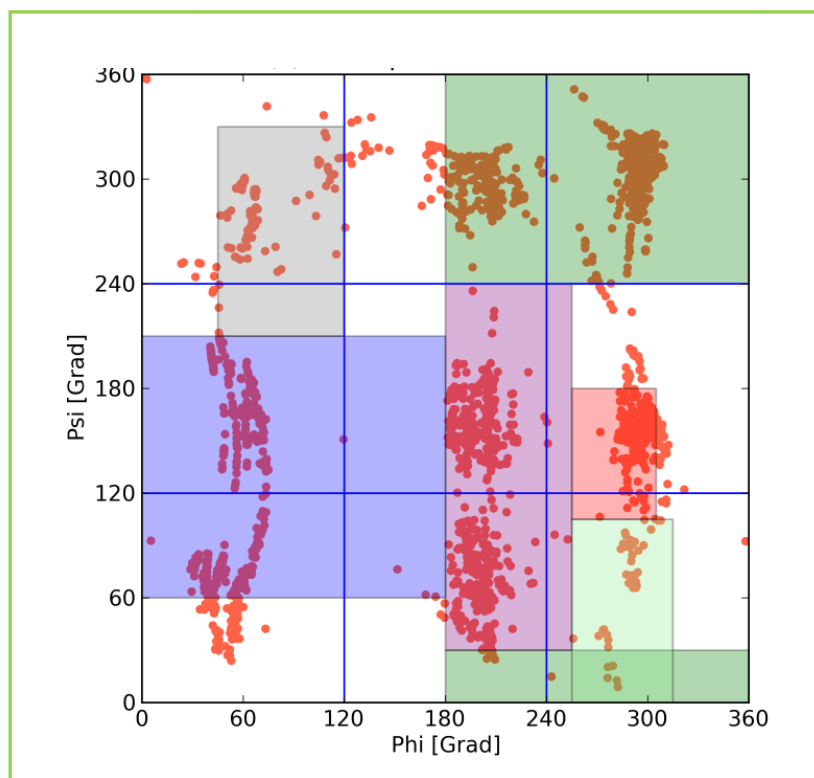


Abb. 174: Tripeptid Gly-Phe-Gly (protoniert); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

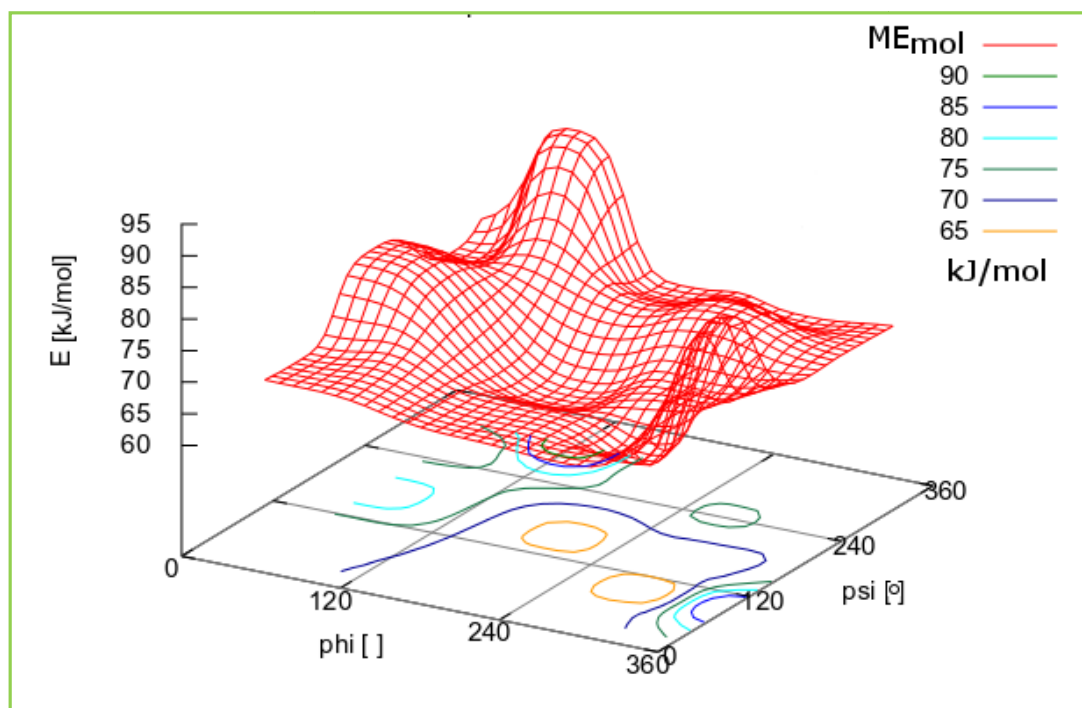


Abb. 175: Tripeptid Gly-Phe-Gly (protoniert); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse im Vakuum mit gerasterter Datenpunktefläche von  $ME_{mol}$  und Konturlinien.

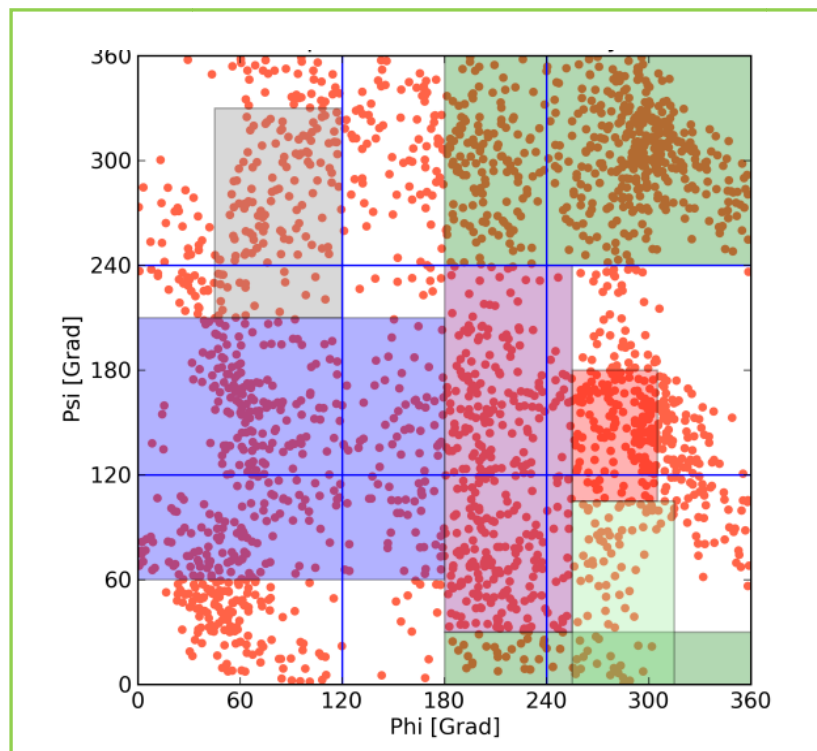


Abb. 176: Gly-Phe-Gly (protoniert); 2D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden. In rot sind die 2304  $\phi/\psi$ -Winkelpaarungen der minimierten Konformationen eingetragen.

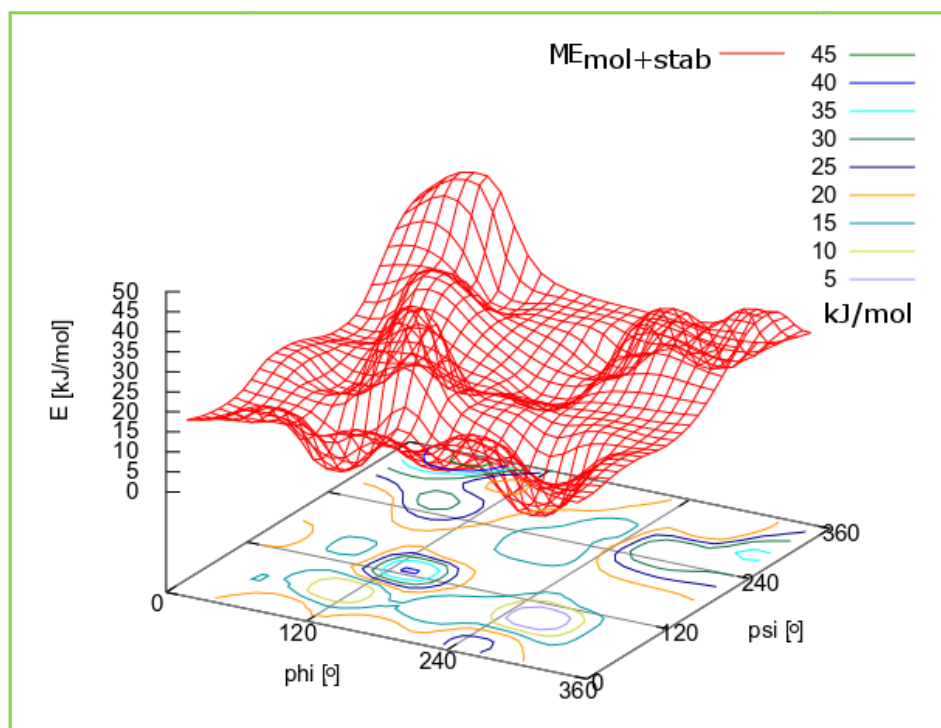


Abb. 177: Gly-Phe-Gly (protoniert); 3D-Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Unter der gerasterten Datenpunktfäche von  $ME_{\text{mol+stab}}$  sind farbige die Konturlinien eingezeichnet.

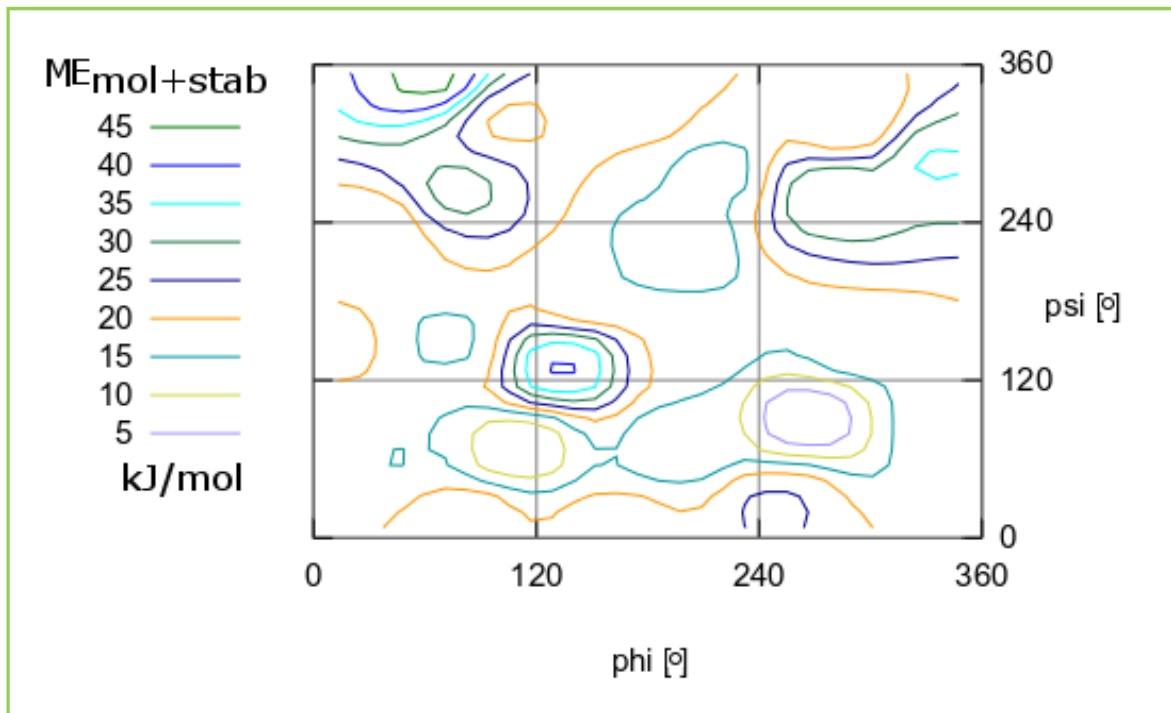


Abb. 178: Gly-Phe-Gly (protoniert); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{mol+stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

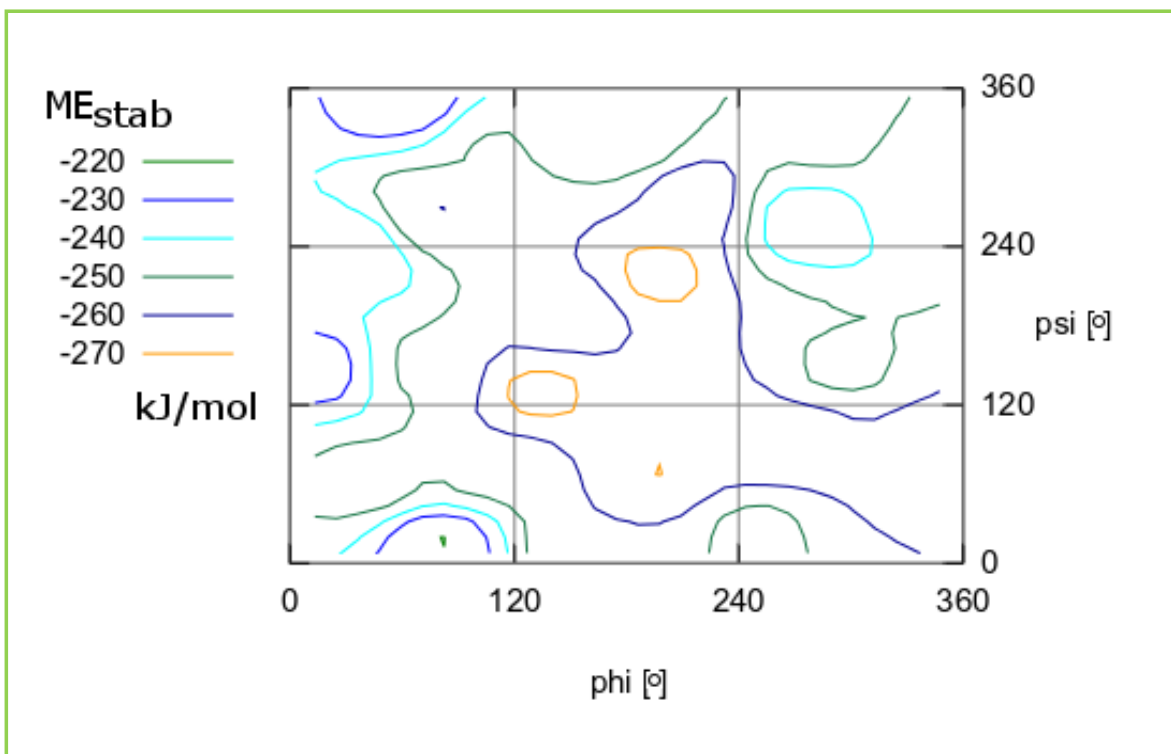


Abb. 179: Gly-Phe-Gly (protoniert); Ramachandran-Diagramm der MOMO-Konformationsanalyse mit TPA3-Solvatationsmodell. Farblich eingezeichnet sind die Konturlinien von  $ME_{\text{stab}}$ . Die Bezeichnungen der Strukturregionen können Abbildung 25 entnommen werden.

# 11. Literaturverzeichnis

---

1. M. Chaplin, *Nat. Rev. Mol. Cel. Biol.* (2006), **7**, 861
2. Y. Levy, J. N. Onuchic, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* (2006), **35**, 389
3. K. A. Dill, *Biochemistry* (1990), **29**, 7133
4. T. Raschke, *Curr. Opin. Struct. Biol.* (2006), **16**, 152
5. P. R. Hall, L. Malone, L. O. Sillerud, C. Ye, B. L. Hjelle, R. S. Larson, *Chem. Biol. Drug. Des.* (2007), **69**, 180
6. J. Tomasi, *Theor. Chem. Acc.* (2004), **112**, 184
7. D. R. Nutt, J. C. Smith, *Choosing an appropriate Model for use in biomolecular Simulations.* in: *Physics and Chemistry of Ice*, The Royal Society of Chemistry (2007)
8. C. Reichardt, T. Welton, *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, 4. Auflage (2011), Wiley-VCH
9. N. Prabhu, K. Sharp. *Chem. Rev.* (2006), **106**, 1616
10. D. A. Case, T. A. Darden, T. E. Cheatham, C. L. Simmerling, J. Wang, R. E. Duke, R. Luo, R. C. Walker, W. Zhang, K. M. Merz, B. Roberts, B. Wang, S. Hayik, A. Roitberg, G. Seabra, I. Kolossváry, K. F. Wong, F. Paesani, J. Vanicek, J. Liu, X. Wu, S. R. Brozell, T. Steinbrecher, H. Gohlke, Q. Cai, X. Ye, J. Wang, M.-J. Hsieh, G. Cui, D. R. Roe, D. H. Mathews, M. G. Seetin, C. Sagui, V. Babin, T. Luchko, S. Gusarov, A. Kovalenko, P. A. Kollman, *AMBER 11* (2010), University of California, San Francisco
11. K. Hinsen, *J. Comp. Chem.* (2000), **21**, 79
12. J. Cramer, D. G. Truhlar, *Chem. Rev.* (1999), **99**, 2161
13. J. Tomasi, B. Mennucci, R. Cammi, *Chem. Rev.* (2005), **105**, 2999
14. C. Tan, L. Yang, R. Luo, *J. Phys. Chem. B* (2006), **110**, 18686
15. C. Tan, Y.H. Tan, R. Luo, *J. Phys. Chem. B* (2007), **111**, 12263
16. D. Shivakumar, Y. Deng, B. Roux, *J. Chem. Theory Comput.* (2009), **5**, 919
17. A. V. Morozov, T. Kortemme, *Potential functions for hydrogen bonds in protein structure prediction and design: Application of hydrogen bonding potentials*, in: *Advances in Protein Chemistry; Volume 72: Peptide Solvation and H-Bonds*, Buchverfasser: D. S. Eisenberg, J. Kuriyan, F. M. Richards, Elsevier (2006)
18. R. Zhou, X. Huang, C. J. Margilus, B. J. Berne, *Science* (2004), **305**, 1605
19. H. Nymeyer, A. E. Garcia, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2003), **100**, 13934
20. Y. M. Rhee, E. J. Sorin, G. Jayachandran, E. Lindahl, V. S. Pande, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2004), **101**, 6456
21. M. Marino, L. Braun, P. Cossart, P. Gosh, *Mol. Cell.* (1999), **4**, 1063

22. N. Huang, D. Schlesinger, D. Nordlund, C. Huang, T. Tyliszczak, T. M. Weiss, Y. Acremann, L. G. M. Petterson, A. Nilsson, *J. Chem. Phys.* (2012), **136**, 074507
23. C. Cappelli, B. Mennucci, S. Monti, *J. Phys. Chem. A* (2005), **109** 1933
24. A. Warshel, M. Levitt, *J. Mol. Biol.* (1976), **103**, 2227
25. J. Kongsted, C. B. Nielsen, K.V. Mikkelsen, O. Christiansen, K. Ruud, *J. Chem. Phys.* (2007), **126**, 34510
26. B. Mennucci, J. Martinez, *J. Phys. Chem. B* (2005), **109**, 9818
27. B. Mennucci, J. M. Martinez, J. Tomasi, *J. Phys. Chem. A* (2001), **105**, 7287
28. A. H. Steindal, K. Ruud, L. Frediani, K. Aidas, J. Kongsted, *J. Phys. Chem. B* (2011), **115**, 3027
29. S. Chaudhury, M. A. Olsen, G. Tawa, A. Wallqvist, M. S. Lee, *J. Chem. Theo. Comp.* (2012), **8**, 677
30. M. Nina, D. Beglov, B. Roux, *J. Phys. Chem. B* (1997), **101**, 5239
31. B. Jayaram, D. Sprous, D. L. Beveridge, *J. Phys. Chem. B* (1998), **102**, 9571
32. N.K. Banvali, B. Roux, *J. Phys. Chem. B* (2002), **106**, 11026
33. H.-Y. Zou, X. Liu, *J. Phys. Chem. B* (2006), **110**, 9304
34. A. Achenbach, *Entwicklung eines Solvatationsmodells für das Kraftfeldprogramm MOMO*, Dissertation, Universität Frankfurt (1996)
35. G. B. Bacskay, J. R. Reimers, *Solvation: Modeling*, in: *Encyclopedia of computational chemistry*, Buchverfasser: P. Schleyer, Wiley (1998)
36. A. Ghosh, C. S. Rapp, R. A. Friesner, *J. Phys. Chem. B* (1998), **102**, 10983
37. G. Wagner, *Entwicklung und Implementierung einer Prozedur zur automatischen Parametrisierung des MOMO-Kraftfeldes*, Dissertation, Universität Frankfurt am Main (2009)
38. M. Tutughamiarso, T. Pisternick, E. Egert, *Acta Cryst. C* (2012), **68**, 344
39. M. Tutughamiarso, G. Wagner, E. Egert, *Acta Cryst. B* (2012), **68**, 431
40. M. Tutughamiarso, E. Egert, *Acta Cryst. B* (2012), **68**, 444
41. E. J. Sorin, Y. M. Rhee, M. R. Shirts, *J. Mol. Biol.* (2006), **356**, 248
42. H. Beck, *MOMO - Ein Beitrag zur Weiterentwicklung des Molecular Modelling*, Dissertation, Universität Göttingen (1989)
43. A. Vedani, J. D. Dunitz, *J. Amer. Chem. Soc.* (1985), **107**, 7653
44. P. Ewald, *Annalen der Physik* (1921), **64**, 253
45. A. R. Leach, *Molecular Modelling: Principles and Applications*, Pearson Education Limited (2001)

46. F. Eisenhaber, P. Lijnzaad, P. Argos, C. Sander, M. Scharf, *J. Comput. Chem.* (1995), **16**, 273
47. S. Lifson, A. Hagler, *J. Amer. Chem. Soc.* (1979), **101**, 5111
48. W. L. Jorgensen, *J. Amer. Chem. Soc.* (1981), **103**, 335
49. W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, M. L. Klein, *J. Chem. Phys.* (1983), **79**, 926
50. M. W. Mahoney, W. L. Jorgensen, *J. Chem. Phys.* (2000), **112**, 8910
51. Q. Ji, R. Pellenq, V. Van, J. Krystyn, *Comp. Mat. Sci.* (2012), **53**, 234
52. V. Luzhkov, *Mol. Sim.* (2012), **38**, 326
53. B. Barz, B. Urbanc, *PLOS One* (2012), **4**, 34345
54. A. Rahman, F. H. Stillinger, *J. Chem. Phys.* (1971), **55**, 3336
55. D. J. Evans, S. Murad, *Mol. Phys.* (1977), **34**, 327
56. S. Miyamoto, P. A. Kollman, *J. Comput. Chem.* (1992), **13**, 952
57. A. A. Shabana, *Computational Dynamics*, John Wiley & Sons (2001)
58. S. K. Pal, A. H. Zewail, *Chem. Rev.* (2004), **104**, 2099
59. P. W. Fenimore, H. Frauenfelder, B. H. McMahon, F. G. Parak., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2002), **99**, 16047
60. V. Vanovschi, *Parallel Python*, <http://www.parallelpython.com>
61. T. K. Hirsch, L. Ojamäe, *J. Phys. Chem. B* (2004), **108**, 15856
62. R. Howe, R. W. Whitworth, *J. Chem. Phys.* (1989), **90**, 4450
63. T. Iitaka, *eprint arXiv:1007.1792v1 [cond-mat.matrl-sci]* (2010), Cornell University Library
64. B. Kamb, *Acta Cryst.* (1964), **17**, 1437
65. W. F. Kuhs, J. L. Finney, C. Vettier, D. V. Bliss, *J. Chem. Phys.* (1984), **81**, 3612
66. J. D. Londono, W. F. Kuhs, J. L. Finney, *J. Chem. Phys.* (1993), **98**, 4878
67. C. M. B. Line, R. W. Whitworth, *J. Chem. Phys.* (1996), **104**, 10008
68. K. Modig, B. G. Pfrommer, B. Halle, *Phys. Rev. Lett.* (2003), **90**, 75502
69. A. Perczel, J. G. Angyan, M. Kajtar, W. Viviani, J.-L. Rivail, J.-F. Marcoccia, I. G. Csizmadia, *J. Amer. Chem. Soc.* (1991), **113**, 6256
70. F. F. Garcia-Prieto, I. F. Galvan, M. A. Aguilar, *J. Chem. Phys.* (2011), **135**, 194502
71. S. Pizzanelli, C. Forte, S. Monti, G. Zandomenighi, A. Hagarmann, T. J. Measey, R. Schweitzer-Stenner, *J. Phys. Chem. B* (2010), **114**, 3965
72. G. M. Seabra, R. C. Walker, A. E. Roitberg, *J. Phys. Chem. A* (2009), **113**, 11938



73. Nomenclature, IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, *Biochemistry* (1970), **9**, 3471
74. S. S. Zimmerman, M. S. Pottle, G. Nemethy, H. A. Scheraga. *Macromolecules* (1977), **10**, 1
75. A. Perczel, M. A. McAllister, P. Csaszar, I. G. Csizmadia. *J. Amer. Chem. Soc.* (1993), **115**, 4849
76. Ö. Farkas, M. A. McAllister, J. H. Ma, A. Perczel, M. Hollosi, I. G. Csizmadian, *J. Mol. Struc. (Theochem.)* (1996), **369**, 105
77. S. Ganakaran, H. Nymeyer, J. Portman, K. Sanbonmatsu, Y. Kevin, A. Garcia, *Curr. Opin. Struc. Biol.* (2003), **13**, 168
78. C. L. Brooks, *Acc. Chem. Res.* (2002), **35**, 447
79. S. Gellman, *Curr. Opin. Chem. Biol.* (1998), **2**, 717
80. D. Charles, S. Li, *Biopolymers* (1995), **37**, 295
81. A. Ozdemir, I. K. Lednev, S. Asher, *Biochemistry* (2002), **41**, 1893
82. N. Sureshbabu, R. Kirubakaran, R. Jayakumar, *Europ. Biophys. J.* (2009), **38**, 355
83. J. Graf, H. Nguyen, G. Stock, H. Schwalbe, *J. Am. Chem. Soc.* (2007), **129**, 1179
84. Z. Shi, C. A. Olson, G. D. Rose, R. L. Baldwin, N. R. Kallenbach, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2002), **99**, 9190
85. H. A. Scheraga, M. Khalili, A. Liwo, *Ann. Rev. Phys. Chem.* (2007), **58**, 57
86. H. T. Tran, X. Wang, V. Pappu, *Biochemistry* (2005), **44**, 11369
87. M. D. Beachy, D. Chasman, R. B. Murphy, T. A. Halgren, R. A. Friesner, *J. Amer. Chem. Soc.* (1997), **119**, 5908
88. B. M. Pettitt, M. Karplus, *J. Phys. Chem.* (1988), **92**, 3994
89. C. Brooks, D. A. Case, *Chem. Rev.* (1993), **93**, 2487
90. P. H. Nguyen, Y. Okamoto, P. Derreumaux, *J. Chem. Phys.* (2013), **138**, 61102
91. D. L. Minor Jr., P. S. Kim, *Nature* (1996), **380**, 730
92. D. Kihara, *Prot. Sci.* (2005), **14**, 1955
93. Z. Shi, K. Chen, Z. Liu, N. R. Kallenbach, *Chem. Rev.* (2006), **106**, 1877
94. V. Daggett, M. Levitt, *J. Mol. Biol.* (1991), **223**, 1121
95. P. Mukhopadhyay, G. Zuber, D. N. Beratan, *Biophys. J.* (2008), **95**, 5574
96. R. Improta, V. Barone, *J. Comput. Chem.* (2004), **25**, 1333
97. W. Kuhn, *Kolloid-Zeitschr.* (1934), **68**, 2
98. B. K. Ho, A. Thomas, R. Brasseur, *Prot. Sci.* (2003), **12**, 2508
99. G. Wilson, L. Hecht, L. D. Barron, *Biochemistry* (1996), **35**, 12518

100. R. W. Kriwacki, L. Hengst, L. Tennant, S. I. Reed, P. E. Wright, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1996), **123**, 6142
101. D. Shortle, M. S. Ackerman, *Science* (2001), **293**, 487
102. W. Cao, W. Bracken, N. R. Kallenbach, M. Lu, *Protein Sci.* (2004), **13**, 177
103. M. L. Tiffany, S. Krimm, *Biopolymers* (1968), **6**, 1379
104. S. Woutsen, R. Pfister, P. Hamm, Y. G. Mu, D. S. Kosov, G. Stock, *J. Chem. Phys.* (2002), **117**, 6833
105. A. L. Rucker, T. P. Creamer, *Prot. Sci.* (2002), **11**, 980
106. B. Bochicchio, A. Pepe, A. M. Tamburro, *Chirality* (2005), **17**, 364
107. L. Duitch, S. Toal, T. J. Measey, R. Schweizer-Stenner, *J. Phys. Chem. B* (2012), **116**, 5160
108. J. Zhang, M. King, L. Suggs, P. Ren, *Biomacromolecules* (2007), **8**, 3015
109. F. Avbelj, R. L. Baldwin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2004), **101**, 10967
110. F. Eker, K. Griebenow, X. Cao, L. N. Nafie, R. Schweitzer-Stenner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2004), **101**, 10054
111. A. Hagarman, T. J. Measey, D. Mathieu, H. Schwalbe, R. Schweitzer-Stenner, *J. Amer. Chem. Soc.* (2010), **132**, 540
112. K. K. Turoverov, I. M. Kuznetsova, V. N. Uversky, *Prog. Biophys. Mol. Biol.* (2010), **102**, 73
113. D. Eliezer, *Curr. Opin. Struct. Biol.* (2009), **19**, 23
114. C. M. Pfefferkorn, J. C. Lee, *Meth. Mol. Biol.* (2012), **895**, 197
115. W. Bermel, I. Bertini, I. C. Felli, L. Connelli, W. Kozminski, A. Piai, R. Pierattelli, J. Stanek, *J. Biomol. NMR* (2012), **53**, 293
116. K. Lindorff-Larsen, N. Trbovic, P. Maragakis, S. Piana, D. E. Shaw, *J. Amer. Chem. Soc.* (2012), **134**, 3787
117. V. Hornak, R. Abel, A. Okur, B. Strockbine, A. Roitberg, C. Simmerling, *Proteins: Struct. Funct. Bioinf.* (2006), **65**, 712
118. K. Lindorff-Larsen, S. Piana, K. Palmo, P. Maragakis, J. L. Klepeis, R. O. Dror, D. E. Shaw, *Proteins: Struct. Funct. Bioinf.* (2010), **78**, 1950
119. A. D. Mackerell Jr., M. Feig, C. L. Brooks III, *J. Comput. Chem.* (2004), **25**, 1400
120. W.-G. Han, K. J. Jalkanen, M. Elstner, S. Suhai, *J. Phys. Chem. B* (1998), **102**, 2587
121. N. Mirkin, S. Krimm, *Biopolymers* (2012), **97**, 789
122. T. Williams, C. Kelley, Gnuplot, [www.gnuplot.info](http://www.gnuplot.info)
123. B. G. Moore, *J. Chem. Ed.* (2000), **77**, 785

124. [www.pymol.org](http://www.pymol.org), The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.5.0.4 Schrödinger, LLC
125. D. Eads, hcluster: Hierarchical Clustering for SciPy (2008), <http://scipy-hcluster.googlecode.com>
126. J. D. Hunter, *Comput. Sci. Eng.* (2007), **9**, 90
127. C. Toniolo, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* (1980), **9**, 1
128. E. G. Hutchinson, J. M. Thornton, *Prot. Sci.* (1994), **3**, 2207
129. K.-C. Chou, *Anal. Biochem.* (2000), **286**, 1
130. A. Hagarman, D. Mathieu, S. Toal, T. J. Measey, H. Schwalbe, R. Schweitzer-Stenner, *Chem. Eur. J.* (2011), **17**, 6789
131. C. Soriano-Correa, F. J. O. del Valle, A. Munoz-Losa, M. A. Aguilar, *J. Phys. Chem. B* (2010), **114**, 8961
132. M. Lisal, J. Colava, I. Nezbeda, *J. Chem. Phys.* (2002), **117**, 8892
133. G. A. Papoian, J. Ulander, P. G. Wolynes, *J. Amer. Chem. Soc.* (2003), **125**, 9170
134. A. Mohan, C. J. Oldfield, P. Radivojac, V. Vacic, M. S. Cortese, A. K. Dunker, V. N. Uversky, *J. Mol. Biol.* (2006), **362**, 1043
135. M. M. Babu, R. van der Lee, N. Sanchez de Groot, J. Gsponer, *Curr. Opin. Struct. Biol.* (2011), **21**, 432
136. S. Fermani, X. Trivelli, F. Sparla, A. Thuminger, M. Calvaresi, L. Marri, G. Falini, F. Zerbetto, P. Trost, *J. Biol. Chem.* (2012), **25**, 21372
137. W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten, *J. Molec. Graphics* (1996), **14**, 33
138. Jmol: an open-source Java viewer for chemical structures in 3D, <http://www.jmol.org>
139. <http://www.gimp.org>
140. C. F. Macrae, I. J. Bruno, J. A. Chisholm, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, L. Rodriguez-Monge, R. Taylor, J. van de Streek, P. A. Wood, *J. Appl. Cryst.* (2008), **41**, 466
141. Trimble Navigation Limited, [www.sketchup.com](http://www.sketchup.com)
142. <http://www.krita.org>
143. <http://avogadro.openmolecules.net>

# Verwendete Grafikprogramme

---

PyMol [124], VMD [137], Jmol [138], GIMP [139], Gnuplot [122], Matplotlib [126], Mercury [140], SketchUP [141], Krita [142], Avogadro [143]

# Eidesstattliche Erklärung

---

Ich erkläre hiermit an Eidesstatt, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

Frankfurt am Main, der

Thorsten Pisternick

# Danksagung

---

Die Erinnerungen an viele große Kleinigkeiten und das Bedürfnis, den betreffenden Personen persönlich meinen Dank auszusprechen, lassen sich nur schwer in den Rahmen dieser Danksagung bringen. Für umso wichtiger halte ich es an dieser Stelle zumindest einen Versuch zu unternehmen, meinen Dank in Worte zu fassen.

Zuallererst möchte ich mich bei meinen Eltern und Großeltern bedanken. Das Vertrauen und die grenzenlose Unterstützung ihrerseits (sei es bei dem Treffen von Entscheidungen, durch Daumendrücker oder auch „nur“ durch Zuhören) waren in allen Phasen meines Studium und während meiner Zeit als Doktorand ein unerschütterlicher Rückhalt und der Quell von Energie und Kraft.

Bedanken möchte ich mich auch bei meiner Freundin, die mich immer wieder geduldig mit dem von ihr stammend Satz, „Man sollte ein Problem erst dann bewundern, wenn es da ist!“, auf den Boden der Tatsachen zurückbringen konnte.

Prof. Dr. Ernst Egert danke ich vielmals für die Betreuung und Begleitung meiner Doktorarbeit. Ich sehe es als glückliche Fügung an, dass ich meine Doktorarbeit in seiner Arbeitsgruppe anfertigen konnte. Er hatte mit seinem unglaublichen Wissens- und Erfahrungsschatz in fachlichen, programmiertechnischen sowie organisatorischen Dingen immer einen – ich möchte fast sagen „weisen“ – Rat parat. Was die Arbeitsbedingungen und das Arbeitsklima angeht, kann ich mir keine besseren als die sehr guten und das harmonisch-konstruktive in unserer Arbeitsgruppe vorstellen.

Für ihre sehr motivierte, interessierte und fleißige Mithilfe möchte ich mich bei meinen ehemaligen Praktikantinnen bzw. Praktikanten Fatma Uzelli, Bilge Varhan, Pit Möbus, Jan Wahl, Sabrina Steinwand, Annika Löffler, René Blöcher, Martina Schönnenbeck, Tanja Trepte, Helvi Hartmann, Peter Eberhardt und Orawan Jaktetchai bedanken.

Meinen Kollegen und Freunden Dr. Maya Tutughamiarso, Dr. Quoc-Cuong Ton, Valeska Gerhardt und Maximilian Hützler danke ich für die angenehme und schöne Zeit. Ob bei Klausurkorrekturen oder Praktikumsdiensten sowie Grillabenden oder Arbeitsgruppenausflügen war es immer schön ein Teil dieses tollen Teams zu sein.