

# Molekulardynamik Simulationen supramolekularer Komplexe unter Einfluss einer externen Kraft

Dissertation zur Erlangung des Grades  
“Doktor der Naturwissenschaften”  
im Promotionsfach Chemie

dem Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften der Johannes  
Gutenberg-Universität in Mainz vorgelegt von

Thomas Schlesier  
geboren in Frankfurt am Main

Mainz, 2013

**Dekan:**

**1. Berichterstatter:**

**2. Berichterstatter:**

**Tag der mündlichen Prüfung: 16.7.2013**

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom September 2008 bis Juli 2013 im Institut für Physikalische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz im Arbeitskreis für Theoretische Chemie angefertigt.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Theoretische Grundlagen</b>	<b>9</b>
2.1	Simulationen molekularer Systeme	9
2.1.1	Wechselwirkungspotentiale	11
2.1.2	Integration der Bewegungsgleichungen	14
2.1.3	Statistische Ensemble	16
2.2	Potential of Mean Force	18
2.2.1	Definition des Potential of Mean Force	19
2.2.2	Berechnung	20
2.3	Modellierung stochastischer Prozesse	22
2.3.1	Modellierung eines Zweizustandsmodells	22
2.3.2	Einfluss einer Kraft auf das Zweizustandsmodell	25
<b>3</b>	<b>Einfluss einer konstanten Kraft auf ein Zweizustandsmodell</b>	<b>29</b>
3.1	Einleitung	29
3.2	Theorie	30
3.3	Modellierung des Zweizustandssystems	34
3.3.1	Rechentechische Details	34
3.3.2	Diskussion	34
<b>4</b>	<b>Untersuchung des Calix[4]aren-Catenan-Dimersystems</b>	<b>39</b>
4.1	Einführung	39
4.1.1	Durchführung der MD Simulationen	42
4.2	Vergleich zwischen dem Tetra-Loop und dem Bis-Loop System	45
4.2.1	Das Tetra-Loop System	45
4.2.2	Das Bis-Loop System	58
4.2.3	Zusammenfassung	67
4.3	Zuverlässigkeit von Kraftfeldern	70
4.3.1	Gleichgewichtssimulationen	71
4.3.2	Zugsimulationen	73
4.3.3	Zusammenfassung	85
<b>5</b>	<b>Ionenpaarbindung in einem Carbohydrat-Kation-Carbohydrat Komplex</b>	<b>89</b>
5.1	Einleitung	89
5.2	Radiale Verteilungsfunktionen (RDF)	91
5.2.1	Voruntersuchung	93
5.2.2	Bestimmung der RDF	94
5.2.3	RDF der Zuckerringe	95

5.2.4	RDF der Sulfatgruppen und Kationen	97
5.2.5	RDF der Sulfatgruppen	99
5.3	Brown'sche Simulationen eines Clusters aus vielen Bindungen	104
5.4	Zusammenfassung	109
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>111</b>
<b>A</b>	<b>Weitere Simulationsergebnisse</b>	<b>115</b>
A.1	Detaillierte Betrachtung der H-Bindungen im Calixaren Dimersystem	115
A.1.1	Adhäsionscluster mit unterschiedlich starken Bindungen	115
A.1.2	Nichtequivalenz der UE-Bindungen	117
<b>B</b>	<b>Weitere theoretische Grundlagen</b>	<b>119</b>
B.1	Brown'sche Dynamik	119
B.2	RESP Ladungen	120
B.3	Observablen in dynamischen Simulationen	121
B.3.1	Das Mittlere Verschiebungsquadrat	121
B.3.2	Die Radiale Verteilungsfunktion	122
<b>C</b>	<b>Rechentechnische Details</b>	<b>123</b>
C.1	Molekulardynamik Simulationen	123
C.1.1	Simulationen der Calix[4]aren-Catenan-Dimere	123
C.1.2	Kraftfeldparameter für die Calix[4]aren-Catenan-Dimer Simulationen	124
C.1.3	Simulationen der Carbohydrat-Kation-Carbohydrat Komplexe	129
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>131</b>
	<b>Veröffentlichte Publikationen</b>	<b>137</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>138</b>

# Kapitel 1

## Einleitung

Computersimulationen gewinnen eine immer größere Bedeutung in der naturwissenschaftlichen Forschung. Durch die methodischen Fortschritte und anwachsenden Computerressourcen vervielfältigen sich die möglichen Anwendungsbereiche. In Bezug auf chemische Fragestellungen liefern quantenchemische Rechnungen und Molekulardynamik (MD) Simulationen [1][2] Einblicke auf Prozesse, die auf atomarer Ebene eines molekularen Systems geschehen und häufig nur indirekt mit experimentellen Methoden untersucht werden können. Daher können Computersimulationen eingesetzt werden, um die Interpretation von Experimenten zu erleichtern oder experimentelle Befunde zu bestätigen. Auf der anderen Seite werden Simulationen verwendet, um Experimente zu motivieren oder sogar Fragestellungen zu beantworten, die experimentell nicht untersucht werden können.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Dynamik reversibel gebundener, supramolekularer Komplexe mit Hilfe von MD Simulationen untersucht. Allgemein werden solche Komplexe durch schwache, nichtkovalente Bindungen stabilisiert [3][4]. Diese Bindungen werden durch elektrostatische Wechselwirkungen und Dispersionswechselwirkungen verursacht. Zu den wichtigsten Vertretern der nichtkovalenten Bindungen gehören Ionenpaarbindungen, Wasserstoffbrückenbindungen und Bindungen zwischen aromatischen Gruppen (engl.:  $\pi$ -stacking). In biologischen Systemen wie Proteinen und Nukleinsäuren sind nichtkovalente Bindungen für die Sekundärstruktur der Moleküle und somit auch für die Funktion verantwortlich [5][6]. Supramolekulare Komplexe sind jedoch nicht nur für die Naturstoffchemie relevant. In der Wirt-Gast-Chemie werden synthetische Moleküle entwickelt, die andere Moleküle selektiv komplexieren können. Hierzu zählen beispielsweise Kronenether, die diverse Kationen binden können [7]. Bringt man an die Wirtmoleküle Farbstoffe an, welche die Wellenlänge des emittierten Lichts ändern, wenn ein Gastmolekül an den Wirt bindet, kann man einen selektiven Sensor erhalten, der auf molekularer Ebene arbeitet [8].

Die Bindungsenergien nichtkovalenter Bindungen liegen typischerweise in der Größenordnung der thermischen Energie bei Raumtemperatur [9][10]. Daher können diese Bindungen durch thermische Fluktuationen geöffnet werden und weisen nur eine begrenzte Lebensdauer auf. Supramolekulare Komplexe werden jedoch häufig durch eine große Zahl nichtkovalenter Bindungen stabilisiert. Beispielsweise findet man in gefalteten Proteinen im Mittel etwa 0.7 Wasserstoffbrückenbindungen pro Aminosäure [11]. Befinden sich beide Bindungspartner in räumlicher Nähe zueinander, beispielsweise aufgrund von benachbarten Bindungen, kann die geöffnete Bindung prinzipiell wieder geschlossen werden. Auf diese Weise wird die Stabilität des Systems durch kleine Fluktuationen in der Zahl der Bindungen nicht beeinflusst. Durch das Zusammenspiel vieler reversibler Bindungen vergrößert sich die Lebensdauer des Komplexes gegenüber einer einzelnen nichtkovalenten Bindung erheblich.

Die einfachste Beschreibung eines reversibel gebundenen Komplexes liefert ein Zweizustandsmodell. Allgemein stellt der gebundene Zustand das globale und der ungebundene Zustand ein lokales

Minimum auf der Potentialhyperfläche des Systems dar. Die Übergangsraten zwischen diesen Zuständen werden im Wesentlichen durch die Energiebarriere bestimmt, die diese Zustände trennt [12]. Die Rate für den Übergang vom gebundenen in den ungebundenen Zustand ist im Allgemeinen kleiner als für den Übergang in die umgekehrte Richtung [13]. Sieht man von speziellen, sehr schnell faltenden Proteinen ab [14], lässt sich die Proteinfaltung bzw. Entfaltung in einer Gleichgewichtssimulation nicht beobachten, da die Zeitskala dieser Übergänge wesentlich größer ist als die Zeitskala, die derzeit mit MD Simulationen erreichbar ist. Um dieses Zeitskalenproblem zu umgehen, gibt es eine Reihe von Methoden. Diesen ist allen gemein, dass das dem System zugrunde liegende Potential in der Form manipuliert wird, dass die Energiebarrieren zwischen den verschiedenen Zuständen leichter überwunden werden können. In der sogenannten Metadynamik [15] werden zu der Potentialfunktion artifizielle Terme hinzugefügt, die bereits in der Simulation aufgetretene Konformationen energetisch benachteiligen. Auf diese Weise werden Konformationen, die normalerweise in MD Simulationen nicht beobachtet werden, energetisch begünstigt. In 'replica exchange' MD Simulationen [16] werden parallel mehrere Kopien des Systems bei unterschiedlichen Temperaturen modelliert. Nach einer gewissen Zeit werden zufällig die Koordinaten des Systems bei unterschiedlichen Temperaturen ausgetauscht. Durch diesen Austausch werden Konformationen, die nur durch hohe Temperaturen erreicht werden können auch bei niedrigen Temperaturen zugänglich. Eine weitere Methode, dieses Zeitskalenproblem zu umgehen, orientiert sich an der experimentellen Einzelmolekülkraftspektroskopie. Durch einen mechanischen Zug lässt sich der Komplex strecken und auch trennen, wenn die externe Kraft groß genug ist [17][18][19]. Hierdurch lässt sich beispielsweise auch die Proteinentfaltung auf der Zeitskala der MD Simulationen beobachten. Im Gegensatz zu den beiden anderen Methoden wird hier gezielt die Dynamik des Systems beeinflusst. Es ist jedoch zu beachten, dass der Dissoziationspfad davon abhängen kann, an welchen Stellen die externe Kraft angelegt und in welche Richtung gezogen wird [20][21]. Im englischen Sprachgebrauch werden solche 'Zugsimulationen' als 'steered MD simulations' oder 'force probe simulations' bezeichnet.

Im Modell des Zweizustandssystems wird die Energiebarriere durch die Kraft abgesenkt und die Rate für den Übergang vom gebundenen in den ungebundenen Zustand vergrößert sich entsprechend [22][23]. Im Prinzip wird durch die angelegte Kraft das Gleichgewicht des Systems vom gebundenen zum ungebundenen Zustand verschoben. Bestimmt man die Verteilung der Abrisskräfte bzw. der Übergangszeiten, ist es möglich, die Übergangsraten und die Energiebarriere zu berechnen. Da neben der Kraft, die an den Komplex angelegt wird, auch die relative Abstandsänderung zwischen Gruppen innerhalb des Komplexes gemessen werden kann, ist es möglich, die elastischen Eigenschaften des Komplexes zu ermitteln [24]. Die Konformationsänderungen, die während der Dissoziation auftreten, werden ebenfalls von Abstandsänderungen begleitet, die in der experimentellen Kraftspektroskopie detektiert werden können. Somit ist es möglich, zumindest ein grobes Bild des Dissoziationspfads zu erhalten [25][26][27]. Für eine genauere Betrachtung erweisen sich Computersimulationen als hilfreich, da mit diesen der geometrische Dissoziationspfad bestimmt werden kann. Durch die Kombination von MD Simulationen und Untersuchungen mit Rasterkraftmikroskopen konnten die Dissoziations- bzw. Faltungspfade einiger Rezeptor-Ligand Komplexe [23][28][29] und Proteine bestimmt werden [19][30].

Die Übergänge, die durch den mechanischen Zug erzwungen werden, sind keine deterministischen sondern stochastische Prozesse. Aus diesem Grund beobachtet man beispielsweise für die Abrisskraft eine Verteilung von Werten, wenn dieselbe Messung mehrmals wiederholt wird. Möchte man die Verteilungen bestimmen, benötigt man dementsprechend viele Experimente bzw. Simulationen.

In der vorliegenden Dissertation wurden zwei supramolekulare Komplexe untersucht, die durch unterschiedliche Arten von nichtkovalenten Bindungen stabilisiert werden. In beiden Fällen richtet sich das Hauptaugenmerk der Untersuchung auf die Bindungsstrukturen und deren Stabilität, wobei zu diesem Zweck MD Simulationen eingesetzt wurden. Im Folgenden wird die Gliederung der vorliegenden Dissertationsschrift vorgestellt:

In Kapitel 2 werden die theoretischen Grundlagen dargestellt, die benötigt wurden, um diese Arbeit anzufertigen. Hierbei wird zum Einen auf MD Simulationen und zum Anderen auf die stochastische Modellierung von Übergängen in einem Zweizustandsmodell eingegangen.

In den folgenden Kapiteln werden Systeme untersucht, die entweder durch Wasserstoffbrückenbindungen (Kapitel 4) oder durch Ionenpaarbindungen (Kapitel 5) stabilisiert werden. Bevor die Systeme und Ergebnisse vorgestellt werden, soll zunächst in Kapitel 3 ein Verfahren zur Analyse von Zweizustandstrajektorien eines reversiblen Komplexes unter dem Einfluss einer konstanten Kraft vorgestellt werden. Es wird keine Aussage darüber getroffen, durch welche Wechselwirkungen der Komplex stabilisiert wird. Mit der vorgestellten Methode lässt sich daher eine breite Auswahl von Systemen untersuchen. Allgemein findet man für Zeiten, die groß gegenüber der Summe der inversen Raten sind, eine lineare Zunahme der Zahl der Übergänge [31][32]. Ist die Gleichgewichtskonstante des Systems wesentlich größer bzw. kleiner als 1, das heißt, ist eine Rate um einiges größer als die andere, kann es durch die endliche zeitliche Auflösung experimenteller Methoden schwierig werden, die Verteilung der Übergangszeiten der größeren Rate zu messen. In diesen Fällen kann es von Vorteil sein, statt die beiden Übergänge getrennt voneinander zu betrachten, diese zu einem Kreisprozess zusammenzufassen und diese 'Kreisübergänge' zu zählen. Um die vorgestellte Methode zu validieren, wurden kinetische Monte-Carlo Simulationen [12][33] durchgeführt. Hierbei wurde untersucht, mit welcher Genauigkeit sich die Zahl der Übergänge in Abhängigkeit von der Größe des untersuchten Datensatzes, die durch die Zahl und Länge der gemessenen Trajektorien gegeben ist, bestimmen lässt.

In Kapitel 4 wird die Untersuchung von zwei Calix[4]aren-Catenan-Dimersystemen [34] vorgestellt. In beiden Systemen werden die zwei Monomere durch Wasserstoffbrückenbindungen aneinander gebunden. Aufgrund von verschlauften Alkylketten, die an die Monomere gebunden sind, kann das Dimer nicht vollständig dissoziieren und das System ist somit prinzipiell reversibel. In einer experimentellen Arbeit [27] wurden zwei Calix[4]aren-Catenan-Dimersysteme untersucht, die sich in der Anzahl und Länge der Alkylketten unterscheiden. Für das System mit den kürzeren Ketten wird ein einzelner reversibler Übergang beobachtet. Im Fall des Systems mit den längeren Alkylketten werden zwei Übergänge gefunden, wobei das System nur für kleine Zuggeschwindigkeiten ein reversibles Verhalten aufweist. In der vorliegenden Arbeit sollen die Unterschiede der beiden Systeme bezüglich der Zahl der Übergänge und des reversiblen Verhaltens geklärt werden. Hierbei wird unter anderem der Dissoziationspfad sowie die Verteilungen der Übergangskräfte untersucht. Die Simulationen und Ergebnisse werden in Kapitel 4.2 vorgestellt.

Da für das System mit den kürzeren Alkylketten in den MD Simulationen ebenfalls reversible Übergänge beobachtet werden, eignet sich dieses System, um die Zuverlässigkeit von MD Simulationen unter dem Einfluss eines mechanischen Zuges zu untersuchen. Im Gegensatz zu quantenchemischen Methoden, mit denen die Schrödinger-Gleichung gelöst und somit das Wechselwirkungspotential zwischen den Atomen explizit berechnet wird, verwendet man in MD Simulationen eine empirische Potentialfunktion, das sogenannte Kraftfeld. Allgemein lassen sich mit MD Simulationen die Bindungsenergien kleiner Komplexe mit einer Genauigkeit von 1-2 kcal/mol bestimmen [35]. Da die Bindungsenergie einer einzelnen nichtkovalenten Bindung ähnlich groß ist wie der Fehler der Bindungsenergie dieser kleinen Komplexe, können verschiedene Kraftfelder in Gleichgewichtssimulationen unterschiedliche Ergebnisse liefern. Wie stark sich die Ergebnisse verschiedener Kraftfelder unterscheiden bzw. von experimentellen Werten abweichen, hängt vom System und der betrachteten Eigenschaft ab. Im Fall von Proteinen bevorzugen einzelne Kraftfelder bestimm-

te sekundäre Strukturelemente [36][37][38][39]. In extremen Fällen sagen manche Kraftfelder die schnelle Denaturierung von Nukleinsäuren voraus, die nachgewiesenermaßen stabil sind [40][41]. Ziel der in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchung ist es, drei populäre Kraftfelder in Nichtgleichgewichtssimulationen zu vergleichen, wobei das Gleichgewicht durch den mechanischen Zug gestört wird. Hierbei ist die Frage, ob sich eventuelle Abweichungen in den Ergebnissen auf Unterschiede zurückführen lassen, die auch in den Gleichgewichtssimulationen beobachtet werden oder ob die Störung des Gleichgewichts eine zusätzliche Stufe der Komplexität darstellt.

Die zweite Art von nichtkovalenten Bindungen, die in dieser Arbeit untersucht wurden, sind Ionenpaarbindungen. In dem untersuchten System setzt sich der supramolekulare Komplex aus zwei Zuckermolekülen zusammen, die über ein Kation aneinander gebunden sind. Dieser Komplex lässt sich prinzipiell mit typischen anorganischen Komplexen vergleichen, in denen Liganden an ein zentrales Metallion binden. Das betrachtete System spielt eine wichtige Rolle für die Selbstadhäsion von Meeresschwammzellen. Allgemein nutzen Meeresschwämme zur Zellaggregation sogenannte Aggregationsfaktoren, die einerseits an die Zellen des Schwammes binden und zum Anderen untereinander Bindungen ausbilden, um die Zellen miteinander zu vernetzen. Bemerkenswert ist, dass die Bindungen zwischen den Aggregationsfaktoren durch Calciumionen vermittelt werden [42]. Im Fall des Meeresschwamms *Microciona prolifera* konnte das für die Kationen vermittelte Bindung entscheidende Residuum isoliert werden. Es handelt sich um das sulfatisierte Disaccharid  $\text{Glc}p\text{NAc}3\text{S}(\beta 1-3)\text{Fuc}p$  [43]. In experimentellen Arbeiten wurde gezeigt, dass mit Magnesiumionen kein vergleichbarer Carbohydrat-Kation-Carbohydrat Komplex gebildet wird [44][45]. Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit zielen darauf ab, eine Bindungsstruktur für den Carbohydrat-Calcium-Carbohydrat Komplex zu ermitteln und herauszufinden, aus welchem Grund mit Magnesiumionen kein vergleichbarer Komplex gebildet wird. Die Simulationen und Ergebnisse werden in Kapitel 5 vorgestellt.

In Kapitel 6 werden abschließend die wichtigsten Ergebnisse dieser Arbeit nochmals kurz vorgestellt und diskutiert.

## Kapitel 2

# Theoretische Grundlagen

In diesem Kapitel sollen die theoretischen Grundlagen, die zum Anfertigen dieser Arbeit benötigt wurden, vorgestellt werden. Kapitel 2.1 behandelt zunächst die Grundlagen für Computersimulationen von molekularen Systemen. Die Physik solcher Systeme wird durch die Quantenmechanik beschrieben. Da die Modellierung mit quantenchemischen *ab initio* Methoden recht aufwendig ist, ersetzt man die explizite Berechnung des Wechselwirkungspotentials durch ein empirisches Wechselwirkungspotential. In der eigentlichen Simulation werden die Newton'schen Bewegungsgleichungen numerisch gelöst.

Die potentielle Energie in Abhängigkeit aller Teilchenkoordinaten wird als Potentialhyperfläche bezeichnet. Mit dieser Potentialhyperfläche lässt sich ein System prinzipiell vollständig charakterisieren. Häufig ist man jedoch nur an der freien Energie entlang einer Reaktionskoordinate interessiert. Die Reaktionskoordinate ergibt sich aus ausgewählten Koordinaten des Systems und kann frei gewählt werden. Diese freie Energie, das *Potential of mean force*, beschreibt letztendlich das effektive Potential entlang der gewählten Reaktionskoordinate und ist somit anschaulicher als die Potentialhyperfläche, die von allen Systemkoordinaten abhängt. In Kapitel 2.2 wird näher auf das Potential of mean force eingegangen.

In der Einleitung wurde bereits beschrieben, dass ein System durch das Anlegen einer externen Kraft vom gebundenen Zustand in einen ungebundenen Zustand überführt werden kann. In Kapitel 2.3 soll anhand eines einfachen Zweizustandsmodells gezeigt werden, wie sich Übergänge in einem solchen System mit Hilfe von stochastischen Methoden beschreiben und modellieren lassen.

### 2.1 Simulationen molekularer Systeme

Möchte man die zeitliche Entwicklung eines molekularen Systems mit Hilfe von Computersimulationen bestimmen, benötigt man zunächst zwei grundlegende Dinge. Zum Einen braucht man eine Potentialfunktion, die die Wechselwirkungen zwischen den Teilchen beschreibt. Diese Wechselwirkungen finden zwischen den Atomkernen und den Elektronen statt und werden durch die Quantenmechanik beschrieben. Geht man von der Born-Oppenheimer Näherung [46] aus, lässt sich die Bewegung der Atomkerne und der Elektronen separieren. Kann man quantenmechanische Effekte, wie den Tunneleffekt vernachlässigen, können die Atomkerne als klassische Teilchen approximiert werden, deren Dynamik durch die klassischen Bewegungsgleichungen gegeben ist. In der Born-Oppenheimer Näherung setzt sich die interatomare Wechselwirkung aus einem Beitrag, der die Elektrostatik zwischen den Kernen beschreibt und einem effektiven Potential zusammen, wobei letzteres aus der Wechselwirkung der Kerne und Elektronen, sowie der Elektronen untereinander resultiert. Idealerweise würde man dieses interatomare Wechselwirkungspotential mit quantenchemischen *ab initio* Methoden bestimmen. Diese Simulationen werden dementsprechend *ab initio*

Molekulardynamik (AIMD) Simulationen genannt. Da die quantenmechanischen Methoden sehr rechenintensiv sind, ist es nur für sehr kleine Systeme ( $\approx 500$  Atome) möglich, die Dynamik für kurze Zeiten ( $\approx 50$  ps) zu modellieren [47]. Anstatt das Potential explizit aus der Wechselwirkung der Elektronen und Atome zu berechnen, wird dieses in der klassischen Molekulardynamik (MD) durch eine empirische Funktion, die nur von den Koordinaten der Atome abhängt, approximiert. Dieses Potential wird als Kraftfeld bezeichnet.

Als zweite Grundlage benötigt man einen Formalismus, mit dem die Koordinaten und Impulse der Atome von einem Zeitpunkt  $t$  zu einem Zeitpunkt  $t + \Delta t$  überführt werden. Um die zeitliche Entwicklung des Systems zu berechnen, werden in der Molekulardynamik die Newton'schen Bewegungsgleichungen integriert. Da die Dynamik des Systems in diesem Fall nur von den Anfangsbedingungen und dem Wechselwirkungspotential abhängt, ist diese Dynamik deterministisch. MD Simulationen werden allgemein verwendet, wenn man die Dynamik eines atomistischen Systems, wie beispielsweise ein gelöstes Molekül und das umgebende Lösungsmittel modellieren möchte. Man gibt zunächst die Koordinaten und Impulse aller Teilchen des Systems vor. Aus den Koordinaten und dem Potential lassen sich die Kräfte, die auf alle Teilchen wirken, berechnen. Mit diesen Kräften und den integrierten Bewegungsgleichungen lassen sich anschließend die Koordinaten und Impulse vom Zeitpunkt  $t$  zum Zeitpunkt  $t + \Delta t$  überführen, wobei  $\Delta t$  der Zeitschritt der Simulation ist. Dieser Integrationsschritt, die Berechnung der Kräfte, der neuen Koordinaten und Impulse wird sooft wiederholt, bis die gewünschte Simulationszeit  $t_{\text{end}} = N_{\text{steps}} \cdot \Delta t$  erreicht ist, wobei  $N_{\text{steps}}$  die Zahl der Integrationsschritte angibt.

In einer Simulation befinden sich die Teilchen in einer sogenannten Simulationsbox. Das heißt, dass nur die Teilchen in der Mitte der Box vollständig von anderen Teilchen umgeben sind. Die Teilchen am Rand der Simulationsbox halten sich jedoch an einer Grenzfläche zum Vakuum auf. Bei einem System aus  $N$  gleichverteilten Teilchen befinden sich etwa  $N^{2/3}$  Teilchen direkt an der Grenzfläche. Das heißt, dass erst bei  $10^6$  Teilchen nur 1% der Teilchen von Grenzflächeneffekten betroffen sind. Um die Fehler durch Grenzflächeneffekte zu minimieren, könnte man die Simulationsbox vergrößern und weitere Teilchen hinzufügen. Der Rechenaufwand einer Simulation skaliert mit  $N^2$ , daher wäre eine Vergrößerung der Teilchenzahl ungünstig, da der Rechenaufwand drastisch ansteigen würde. Statt dessen arbeitet man mit periodischen Randbedingungen. Hierbei wird die Simulationsbox mit unendlich vielen Abbildern ihrer selbst umgeben. In Analogie zur Festkörperphysik entspricht die Simulationsbox der Elementarzelle einer periodischen Kristallstruktur. In der Simulation führen die periodischen Abbilder der einzelnen Teilchen die gleiche Bewegung aus wie die 'Originalteilchen'. Auf diese Weise ist jedes Teilchen von anderen Teilchen umgeben und das Problem mit einer Grenzfläche zum Vakuum ist umgangen.

Integriert man in einer Simulation bei einem konstanten Volumen die Newton'schen Bewegungsgleichungen, liegt dieser Simulation das mikrokanonische Ensemble (NVE-Ensemble) zugrunde. Da sich die Ergebnisse einer solchen Simulation nicht direkt mit experimentellen Ergebnissen vergleichen lassen, die bei einer konstanten Temperatur und / oder einem konstantem Druck erhalten wurden, ist es erstrebenswert, die Simulationen im kanonischen Ensemble (NVT-Ensemble) oder isobaren-isothermen Ensemble (NPT-Ensemble) durchzuführen. Ein Zusammenhang zwischen den in einer MD Simulation zugänglichen mechanischen Größen und der thermodynamischen Temperatur  $T$  ist durch den Gleichverteilungssatz gegeben. Dieser besagt, dass die mittlere kinetische Teilchenenergie eines idealen Gases, die durch die Teilchengeschwindigkeit  $v$  berechnet werden kann, proportional zur Temperatur ist. Durch eine Skalierung der Teilchengeschwindigkeiten ist es daher möglich, die Temperatur zu kontrollieren. Bildlich gesprochen koppelt man das System an ein Wärmebad mit der Temperatur  $T_B$ . Weicht die Temperatur des Systems von  $T_B$  ab, tauscht es mit dem Wärmebad Energie aus, bis sich beide im thermischen Gleichgewicht befinden. Aus diesem Grund werden die Methoden zur Temperaturkontrolle Thermostate genannt. Für ein ideales Gas ist das Produkt aus Druck  $P$  und Volumen  $V$  bei gegebener Temperatur konstant.

Skaliert man in jedem Simulationsschritt das Volumen des Systems neu, ist man in der Lage, den Druck zu kontrollieren. Die hierbei verwendeten Algorithmen werden unter dem Begriff Barostat zusammengefasst.

### 2.1.1 Wechselwirkungspotentiale

Die Potentialfunktion spielt eine entscheidende Rolle in der Simulation von molekularen Systemen, da sie die Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Teilchen beschreibt. Grundsätzlich lassen sich die Wechselwirkungen in intra- und intermolekulare Wechselwirkungen unterteilen, wobei erstere die Interaktionen innerhalb eines Moleküls und letztere die Interaktionen zwischen den Molekülen beschreiben. Beim Design empirischer Kraftfelder bedient man sich einer ähnlichen Unterteilung und man unterscheidet zwischen den *bindenden* Wechselwirkungen, die nur innerhalb eines Moleküls wirken und den *nichtbindenden* Wechselwirkungen, die zwischen allen Teilchen wirken. Im Fall sehr großer Moleküle wäre es mühsam, jede Interaktion durch eine bindende Wechselwirkung zu beschreiben, die von der relativen Anordnung der Teilchen abhängt. Man beschränkt sich daher bei der Beschreibung der bindenden Wechselwirkungen auf die Interaktionen, die zwischen Atomen wirken, die maximal drei Bindungen voneinander entfernt sind.<sup>1</sup> Die intramolekularen Wechselwirkungen zwischen Atomen, die weiter als drei Bindungen voneinander getrennt sind, werden mit Hilfe der nichtbindenden Wechselwirkungen modelliert. Im Fall der bindenden Wechselwirkungen berücksichtigt man Bindungslängen und -winkel, sowie die Dihedralwinkel. Zur Beschreibung der nichtbindenden Wechselwirkungen wird das Coulombpotential, das die Wechselwirkung zwischen geladenen Teilchen beschreibt und die Lennard-Jones-Wechselwirkung verwendet. Letztere setzt sich aus der Dispersionswechselwirkung und einem repulsiven Beitrag aufgrund der Austauschwechselwirkung zusammen.

Hat man sich für eine Potentialfunktion entschieden, müssen als nächstes die Parameter bestimmt werden. Im Fall des Coulombpotentials sind dies die Partialladungen der Atome. Während der Parametrisierung werden diese Wechselwirkungsparameter so bestimmt, dass verschiedene Eigenschaften reproduziert werden, die experimentell zugänglich sind oder aus quantenchemischen ab initio Rechnungen erhalten werden können. Zu diesen gehören beispielsweise Bindungslängen, aber auch Verdampfungs- und Solvatationsenthalpien. Allen Kraftfeldern ist gemein, dass die Parameter atomspezifisch sind und von der chemischen Umgebung eines betrachteten Atoms abhängen. Für die Kohlenstoffatome in Alkanen findet man in einem Kraftfeld typischerweise 5 Parametersätze. Aufgrund der unterschiedlichen Zahl an Wasserstoffatomen, die an die Kohlenstoffatome gebunden sein können, unterscheidet sich deren chemische Umgebung und man differenziert zwischen Methan, primären, sekundären, tertiären und quartären Kohlenstoffen.

Da die Wahl der Potentialfunktion nicht eindeutig ist und es unterschiedliche Parametrisierungsprotokolle gibt, ergibt sich eine Vielzahl verschiedener Kraftfelder. Im Folgenden soll daher die Potentialfunktion eines typischen Kraftfeldes vorgestellt werden.

### Bindende Wechselwirkungen

Wie bereits gesagt, beschränken sich die bindenden Wechselwirkungen auf Atome innerhalb eines Moleküls, die maximal drei Bindungen voneinander entfernt sind. Für die Modellierung der

---

<sup>1</sup>Beispielsweise hätte man im Fall eines Propanmoleküls zwischen allen Atomen, außer den Wasserstoffatomen der beiden Methylgruppen bindende Wechselwirkungen. Zwischen den Wasserstoffatomen der beiden Methylgruppen bestehen keine bindenden Wechselwirkungen, da diese Atome über vier Bindungen (H-C-C-C-H) hinweg miteinander verknüpft sind.

Bindungslängen und -winkel werden harmonische Potentiale der Form

$$V_{\text{Bindung}} = \frac{1}{2}k_{\text{Bindung}}(r - r_{\text{eq}})^2 \quad (2.1)$$

$$V_{\text{Winkel}} = \frac{1}{2}k_{\text{Winkel}}[\cos(\theta) - \cos(\theta_{\text{eq}})]^2 \quad (2.2)$$

verwendet.  $k_{\text{Bindung}}$  bzw.  $k_{\text{Winkel}}$  entsprechen jeweils der Kraftkonstanten des Potentials.  $r$  und  $\theta$  geben die momentane Bindungslänge bzw. Bindungswinkel an,  $r_{\text{eq}}$  und  $\theta_{\text{eq}}$  bezeichnen deren Gleichgewichtswerte.

Für die Beschreibung der Dihedralwinkel werden allgemein periodische Funktionen verwendet

$$V_{\text{Dihedral}} = k_{\text{Dihedral}}[1 + \cos(\delta_{\text{Dihedral}}) \cdot \cos(m_{\text{Dihedral}} \cdot \phi)]. \quad (2.3)$$

Hierbei gibt  $\phi$  den momentanen Wert des Dihedralwinkels an. Analog zu den Potentialen der Bindungslängen und -winkel entspricht  $k_{\text{Dihedral}}$  der Kraftkonstante des Potentials. Die Parameter  $\delta_{\text{Dihedral}}$  und  $m_{\text{Dihedral}}$  geben die Phasenverschiebung bzw. die Multiplizität (Anzahl der Minima) des Potentials an.

Des Weiteren finden spezielle Dihedralwinkel, die sogenannten *Improper Dihedrals* Anwendung, um gewisse Strukturelemente zu bewahren. Hierzu zählen beispielsweise planare Gruppen, wie Phenylringe. Hierfür wird ein harmonisches Potential der Form

$$V_{\text{Improper}} = \frac{1}{2}k_{\text{Improper}}(\varphi - \varphi_{\text{Improper}})^2 \quad (2.4)$$

verwendet, wobei  $k_{\text{Improper}}$  die Kraftkonstante des Potentials und  $\varphi$  bzw.  $\varphi_{\text{Improper}}$  den momentanen und angestrebten Wert des Dihedralwinkels angeben.

## Nichtbindende Wechselwirkungen

Um die elektrostatische Wechselwirkung zwischen den Atomen zu beschreiben, wird das Coulombpotential

$$V_{\text{Coulomb}}(r_{ij}) = \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}}, \quad (2.5)$$

mit  $\epsilon_0$ , der Permittivität des Vakuums, verwendet. Hierbei bezeichnet  $r_{ij}$  den Abstand der beiden Atome und  $q_i, q_j$  gibt deren Partiaalladungen an. Die meisten konventionellen Kraftfelder vernachlässigen Polarisierungseffekte, wobei es Bestrebungen gibt, polarisierbare Kraftfelder zu entwickeln [48]. Die Polarisierungseffekte werden jedoch oft in der Parametrisierung des Kraftfeldes indirekt berücksichtigt, da man nicht nur versucht, Moleküleigenschaften in der Gasphase zu reproduzieren, sondern auch Eigenschaften des flüssigen Zustandes. Dadurch sind die Partiaalladungen der Atome größer, als man es von ab initio Rechnungen in der Gasphase erwarten würde. Beispielsweise besitzen verschiedene Wassermoleküle, die alle die richtige Dichte und Struktur des flüssigen Zustandes reproduzieren, ein erhöhtes Dipolmoment gegenüber einem Wassermolekül in der Gasphase. Es wird angenommen, dass dieses erhöhte Dipolmoment dem mittleren Dipolmoment (intrinsisches plus induziertes Dipolmoment) eines Wassermoleküls in der flüssigen Phase entspricht [2].

Das Lennard-Jones-Potential ist durch

$$V_{\text{LJ}}(r_{ij}) = 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (2.6)$$

gegeben. Die Parameter  $\epsilon_{ij}$  und  $\sigma_{ij}$  geben die Tiefe bzw. die Nullstelle des Potentials an. Beide Parameter werden für jede Kombination von Atomen benötigt. Typischerweise definiert man jedoch die atomspezifischen Parameter  $\epsilon_i$  und  $\sigma_i$ , aus denen die Parameter der Paarwechselwirkung mit Hilfe des geometrischen Mittels ( $x_{ij} = \sqrt{x_i x_j}$  mit  $x = \epsilon, \sigma$ ) berechnet werden.

## Nichtbindende Wechselwirkungen und periodische Randbedingungen

In einem periodischen System hat jedes Teilchen unendlich viele Wechselwirkungspartner und somit müsste man unendlich viele Potentialterme berechnen. Da die potentielle Energie der nichtbindenden Wechselwirkungen proportional zu  $r^{-n}$  ist, wobei  $n$  vom betrachteten Potential abhängt, werden die Beiträge für Wechselwirkungen, bei denen  $r$  groß ist, sehr klein. Um nicht alle Wechselwirkungen berechnen zu müssen, macht man die Näherung  $V(r > r_{\text{cut}}) = 0$ , wobei  $r_{\text{cut}}$  ein Cut-off Radius ist, bei dem das Potential abgeschnitten wird. Ist der Abstand zweier Teilchen größer als dieser Cut-off Radius, wird der Beitrag dieser Wechselwirkung zur potentiellen Energie vernachlässigt.

Diese Näherung macht es zwar möglich, die potentielle Energie eines periodischen Systems zu berechnen, führt auf der anderen Seite jedoch zu Artefakten. Im Fall des Lennard-Jones-Potentials fällt der repulsive Beitrag ( $r^{-12}$ ) schneller auf 0 ab als der attraktive Beitrag ( $r^{-6}$ ) und man vernachlässigt daher einen größeren Teil der attraktiven Wechselwirkungen. Dies führt dazu, dass sich die Teilchen stärker abstoßen, als wenn man das vollständige Potential verwenden würde. In Folge dessen werden die potentielle Energie und der Druck überschätzt. Im Fall der elektrostatischen Wechselwirkungen lässt sich keine allgemeine Aussage darüber treffen, in welche Richtung der Fehler tendiert. Für die radiale Verteilungsfunktion von Ionen in Wasser findet man, dass  $g(r_{\text{cut}})$  für Ionen der gleichen Ladung überschätzt und für Ionen mit entgegengesetzter Ladung unterschätzt wird [49]. Für genaue MD Simulationen ist man daher auf Korrekturen angewiesen, die den vernachlässigten Beitrag zur potentiellen Energie näherungsweise berechnen.

Für ein homogenes System kann der Fehler, der sich durch die Näherung  $V(r > r_{\text{cut}}) = 0$  ergibt, mit Hilfe von

$$V_{\text{err}} = \frac{N\rho}{2} \int_{r_{\text{cut}}}^{\infty} dr g(r) 4\pi r^2 V(r) \quad (2.7)$$

abgeschätzt werden, wobei  $V(r)$  hier das vollständige Potential meint.  $\rho$  gibt die mittlere Teilchendichte des Systems an. Die radiale Verteilungsfunktion  $g(r)$  beschreibt die abstandsabhängigen Fluktuationen der Dichte und konvergiert für große Abstände gegen 1. Das Integral multipliziert mit  $\rho$  gibt die mittlere potentielle Energie eines Teilchens an, das mit allen anderen Teilchen wechselwirkt, die sich zwischen den beiden Kugelschalen mit  $r = r_{\text{cut}}$  und  $r = \infty$  befinden. Mit dem Term  $N/2$  ergibt sich dann die potentielle Energie für alle Teilchen, wobei der Faktor  $1/2$  aufgrund der Doppelzählung benötigt wird. Fällt das Potential  $V(r)$  schneller als  $r^{-3}$  ab, divergiert  $V_{\text{err}}$  nicht und kann genutzt werden, um eine Korrektur zur potentiellen Energie zu berechnen.

Im Fall der Lennard-Jones-Wechselwirkung ist dies möglich. Nähert man die Lennard-Jones-Wechselwirkung für  $r > r_{\text{cut}}$  durch den attraktiven Beitrag  $V_{\text{LJ}}(r) \approx -4\epsilon(\sigma/r)^6$  an, kann die Korrektur  $V_{\text{LJ,korr}}$  berechnet werden. Für ein inhomogenes System ist  $g(r)$  im Allgemeinen unbekannt und man verwendet die Näherung  $g(r > r_{\text{cut}}) = 1$ . Für die Korrektur des Lennard-Jones Potentials erhält man

$$V_{\text{LJ,korr}} = -\frac{8}{3}\pi N\rho\epsilon\sigma^6 r_{\text{cut}}^{-3}. \quad (2.8)$$

Für den Druck lässt sich ein ähnlicher Korrekturterm aufstellen, der ebenfalls nur von den Parametern des Lennard-Jones-Potentials und von  $r_{\text{cut}}$  abhängt [50].

Im Fall des Coulombpotentials ist es nicht möglich, mit Hilfe von Gleichung (2.7) eine Korrektur zu berechnen, da  $V_{\text{err}}$  divergiert und man ist daher auf andere Näherungslösungen angewiesen. Zwei verwandte Methoden sind die Ewald-Summation [51] und die Particle-Mesh-Ewald Methode (PME) [52]. Da die Herleitung dieser Methoden jedoch länglich ist, soll im Folgenden nur die grundlegende Idee der Ewald-Summation skizziert werden. Abbildung 2.1 dient dabei zur Veranschaulichung und der nachfolgende Text erklärt die Methode:

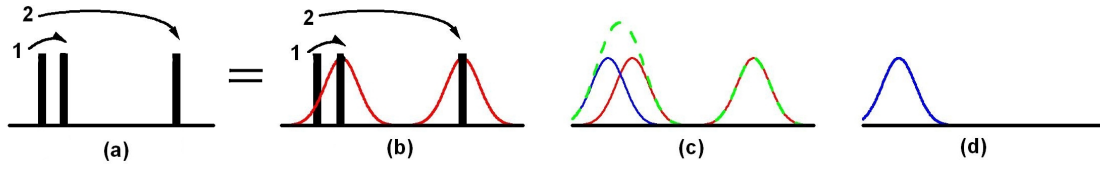


Abbildung 2.1: Veranschaulichung der Ewald-Summation

(a) Ziel ist es, die potentielle Energie aufgrund der Wechselwirkung der linken Punktladung (linker Strich) mit den anderen beiden Punktladungen (mittlerer und rechter Strich) zu berechnen. Diese Wechselwirkungen sollen mit (1) und (2) bezeichnet werden. Der schwarze horizontale Strich versinnbildlicht die eindimensionale Elementarzelle.

(b) Umgibt man die anderen beiden Ladungen mit einer Ladungswolke (rote Kurven), die jeweils die entgegengesetzte Ladung hat, kann der Beitrag der beiden Wechselwirkungen zur potentiellen Energie leicht berechnet werden. Bezüglich der linken Ladung wird die rechte Ladung vollständig von der Ladungswolke abgeschirmt und der Beitrag der Wechselwirkung (2) verschwindet. Im Fall der Wechselwirkung (1) ist die mittlere Ladung nur unvollständig abgeschirmt (die schwarze linke Punktladung überlappt mit der roten Kurve) und es ergibt sich ein Beitrag zur potentiellen Energie.

Es war jedoch nicht das Ziel, das Potential aufgrund von abgeschirmten Punktladungen zu berechnen. Daher müssen die Beiträge der Ladungswolken wieder abgezogen werden: (c) Fügt man für die linke Punktladung auch eine Ladungswolke hinzu (blaue Kurve), lassen sich alle Ladungswolken als eine periodische Funktion darstellen (grüne unterbrochene Kurve, wobei die Ladungswolken der anderen beiden Ladungen als rote Linien eingezeichnet sind) und der Beitrag lässt sich mit einer schnell konvergierenden Fourier-Reihe im reziproken Raum berechnen. (d) Abschließend muss der Beitrag der linken Ladungswolke wieder herausgerechnet werden, da diese Ladungswolke in (b) nicht vorhanden ist.

### 2.1.2 Integration der Bewegungsgleichungen

Möchte man die Koordinaten und Impulse eines molekularen Systems als Funktion der Zeit berechnen, müssen die Newton'schen Bewegungsgleichungen gelöst werden. Die Gleichungen, die erhalten werden, werden als Integrator bezeichnet und propagieren die Teilchenkoordinaten von einem Zeitpunkt  $t$  zum nächsten Zeitpunkt  $t + \Delta t$ , wobei  $\Delta t$  den Zeitschritt der Simulation angibt. Zur Herleitung der verschiedenen Algorithmen verwendet man Taylor-Entwicklungen der Koordinaten  $\mathbf{r}_i$  und der Geschwindigkeiten  $\mathbf{v}_i = \dot{\mathbf{r}}_i$  der  $N$  Teilchen als Funktion der Zeit [1]. Im Folgenden soll exemplarisch der *leap frog* Algorithmus [53] vorgestellt werden. Eine Taylor-Entwicklung bis zur zweiten Ordnung der Koordinaten  $\mathbf{r}(t \pm \Delta t)$  liefert

$$\mathbf{r}_i(t + \Delta t) = \mathbf{r}_i(t) + \dot{\mathbf{r}}_i(t)\Delta t + \frac{1}{2}\ddot{\mathbf{r}}_i(t)\Delta t^2 \quad (2.9)$$

$$\mathbf{r}_i(t - \Delta t) = \mathbf{r}_i(t) - \dot{\mathbf{r}}_i(t)\Delta t + \frac{1}{2}\ddot{\mathbf{r}}_i(t)\Delta t^2. \quad (2.10)$$

Addiert man beide Gleichungen, erhält man die Koordinaten zum Zeitpunkt  $t + \Delta t$

$$\mathbf{r}_i(t + \Delta t) = 2\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i(t - \Delta t) + \ddot{\mathbf{r}}_i(t)\Delta t^2. \quad (2.11)$$

Die Geschwindigkeiten, die bezüglich der Koordinaten um einen halben Zeitschritt verschoben sind, werden wie folgt berechnet

$$\mathbf{v}_i(t + \frac{1}{2}\Delta t) = \frac{\mathbf{r}_i(t + \Delta t) - \mathbf{r}_i(t)}{\Delta t}. \quad (2.12)$$

Stellt man diese Gleichung um, erhält man die Bestimmungsgleichung der neuen Koordinaten

$$\mathbf{r}_i(t + \Delta t) = \mathbf{r}_i(t) + \mathbf{v}_i(t + \frac{1}{2}\Delta t)\Delta t. \quad (2.13)$$

Die Geschwindigkeiten zum Zeitpunkt  $t - \frac{1}{2}\Delta t$  sind ähnlich wie in Gleichung (2.12) definiert

$$\mathbf{v}_i(t - \frac{1}{2}\Delta t) = \frac{\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i(t - \Delta t)}{\Delta t}. \quad (2.14)$$

Setzt man Gleichung (2.12) und (2.14) in Gleichung (2.11) ein und nutzt das zweite Newton'sche Gesetz  $\mathbf{F}_i(t) = m_i\ddot{\mathbf{r}}_i(t)$ , erhält man die Bestimmungsgleichung der Geschwindigkeiten

$$\mathbf{v}_i(t + \frac{1}{2}\Delta t) = \mathbf{v}_i(t - \frac{1}{2}\Delta t) + \frac{\mathbf{F}_i(t)}{m_i}\Delta t, \quad (2.15)$$

wobei die Kräfte durch die negative Ableitung des Potentials nach den Koordinaten

$$\mathbf{F}_i(t) = -\frac{\partial V(\mathbf{r}_i(t))}{\partial \mathbf{r}_i} \quad (2.16)$$

gegeben sind.

Möchte man eine Simulation durchführen, müssen zunächst die Koordinaten  $\mathbf{r}_i(0)$  und Geschwindigkeiten  $\mathbf{v}_i(-\frac{1}{2}\Delta t)$  aller Teilchen vorgegeben werden. Anschließend werden die Kräfte zwischen den Teilchen berechnet und mit diesen die Geschwindigkeiten aktualisiert (rote Schritte in Abbildung 2.2). In einem zweiten Schritt werden mit Hilfe der neuen Geschwindigkeiten die neuen Koordinaten bestimmt (blaue Schritte in Abbildung 2.2). Diesen Vorgang führt man solange durch, bis die gewünschte Simulationszeit erreicht ist. Abbildung 2.2 veranschaulicht die Funktionsweise des leap frog Algorithmus.

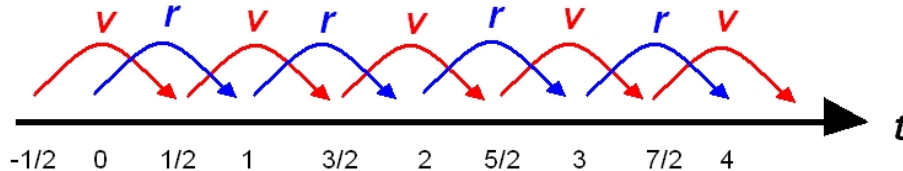


Abbildung 2.2: Funktionsweise des leap frog Algorithmus. Zur Veranschaulichung wurde ein Zeitschritt  $\Delta t = 1$  gewählt. Rote Sprünge zeigen die Berechnung der neuen Geschwindigkeiten und blaue Sprünge die der neuen Koordinaten. Als Anfangsbedingungen müssen  $\mathbf{r}(0)$  und  $\mathbf{v}(-\frac{1}{2})$  vorgegeben werden.

Ist man an den Geschwindigkeiten zum Zeitpunkt  $t$  interessiert, wird der Mittelwert der Geschwindigkeiten zu den Zeitpunkten  $t \pm \frac{1}{2}\Delta t$  bestimmt.

Die Anfangskoordinaten werden durch die Geometrie des Systems vorgegeben. Die Anfangsgeschwindigkeiten sind jedoch, wenn nicht eine alte Simulation fortgesetzt wird, unbekannt. Die einfachste Möglichkeit, Anfangsgeschwindigkeiten zu generieren, besteht darin, diese zufällig aus der Maxwell-Boltzmann-Verteilung bei der gewünschten Temperatur zu bestimmen. Dabei wird jedem Teilchen eine zufällige Geschwindigkeit zugewiesen. Die so erhaltene Geschwindigkeitsverteilung ist jedoch nur für ein ideales Gas korrekt. Daher wird vor der eigentlichen Simulation eine kurze Simulation durchgeführt, während der das System equilibriert.

Der Zeitschritt  $\Delta t$ , der in einer Simulation verwendet wird, ist durch die schnellsten Bewegungen

im System bestimmt. Hierzu zählen die Bindungsstretschwingungen, vor allem wenn Wasserstoffatome involviert sind. Friert man diese schnellen Bewegungen ein, hält also die Bindungslängen konstant auf ihrem Gleichgewichtswert, wird der Zeitschritt nun durch die langsameren Schwingungen der Bindungswinkel bestimmt und kann vergrößert werden. Um dies zu erreichen, werden über den Lagrange-Formalismus Zwangsbedingungen  $\lambda_\alpha \sigma_\alpha$  in die Bewegungsgleichungen eingeführt, wobei  $\lambda_\alpha$  ein Lagrange'scher Multiplikator ist und  $\sigma_\alpha$  die eigentliche Nebenbedingung

$$\sigma_\alpha = r_\alpha^2 - d_\alpha^2$$

beschreibt.  $r_\alpha$  gibt dabei die tatsächliche Bindungslänge der Bindung  $\alpha$  an und  $d_\alpha$  entspricht deren Gleichgewichtswert. Wird die Zwangsbedingung erfüllt, verschwindet ihr Beitrag in den Bewegungsgleichungen. Werden sie dagegen verletzt, wirken zusätzliche Kräfte auf die Teilchen, die gewährleisten, dass die Nebenbedingungen erfüllt werden [1].

### 2.1.3 Statistische Ensemble

In MD Simulationen benötigt man ein statistisches Ensemble, mit dem die thermodynamischen Größen wie Energie, Temperatur, Volumen und Druck kontrolliert werden können. Die naheliegendste Wahl fällt zunächst auf das mikrokanonische Ensemble (NVE-Ensemble). Werden keine externen Potentiale verwendet, ist die Energie in einer MD Simulation eine Erhaltungsgröße. Da in MD Simulationen keine Teilchen entstehen oder vernichtet werden können, ist die Bedingung der konstanten Teilchenzahl automatisch erfüllt. Das konstante Volumen ist durch das Volumen der Simulationsbox gegeben, die periodisch in alle Raumrichtungen repliziert wird. Bei den meisten Simulationen ist man jedoch daran interessiert, dass die Temperatur und / oder der Druck konstant<sup>2</sup> gehalten werden, da diese Größen im Experiment normalerweise konstant sind. Anstelle des mikrokanonischen Ensembles verwendet man deswegen das kanonische (NVT-Ensemble) oder das isobare-isotherme Ensemble (NPT-Ensemble). Um die Temperatur und den Druck zu kontrollieren, benötigt man daher zusätzliche Mechanismen, die im Folgenden vorgestellt werden sollen.

#### Das kanonische Ensemble

In der Einleitung dieses Kapitels wurde bereits erwähnt, dass der Gleichverteilungssatz

$$K = \left\langle \frac{1}{2}mv^2 \right\rangle = \frac{3}{2}\beta^{-1}, \quad \text{mit } \beta^{-1} = k_B T$$

einen Zusammenhang zwischen der mittleren kinetischen Energie  $K$  eines Teilchens und der thermischen Energie  $\beta$ , die durch die Temperatur  $T$  und die Boltzmann-Konstante  $k_B$  berechnet werden kann, herstellt. Durch Regulierung der kinetischen Energie kann die Temperatur des Systems kontrolliert werden. Koppelt man an das System ein Wärmebad mit der kinetischen Energie  $\bar{K}$  und somit der Temperatur  $\bar{T}$ , das mit dem System Energie austauschen kann, erfolgt der Energieaustausch so lange, bis das System und das Wärmebad im thermischen Gleichgewicht sind. Dies ist analog zu Experimenten, bei denen die Temperatur in der Messzelle bzw. im Reaktionsgefäß über ein Wärmebad gesteuert wird. Der entscheidende Unterschied zum experimentellen Aufbau ist jedoch, dass in der Simulation alle Teilchen mit dem Wärmebad wechselwirken, während im Experiment nur die Teilchen am Rand des Gefäßes über die Gefäßwand mit dem Wärmebad Energie austauschen. Die Änderung der kinetischen Energie des Systems wird über eine Skalierung der Teilchengeschwindigkeiten erzielt. Da die kinetische Energie direkt proportional zur Temperatur

<sup>2</sup>Es ist dabei zu beachten, dass die beiden Größen nicht wirklich konstant gehalten werden, sondern um einen Mittelwert fluktuieren.

ist, wird für die weitere Herleitung die kinetische Energie betrachtet.

Man geht nun davon aus, dass die Änderung der kinetischen Energie  $dK$ , aufgrund des Energieaustauschs zwischen dem System und dem Wärmebad durch das Zeitgesetz

$$\dot{K} = \frac{\bar{K} - K(t)}{\tau_T}. \quad (2.17)$$

bestimmt wird, wobei  $\tau_T$  eine Konstante ist, die die Stärke der Kopplung angibt. Löst man die Differentialgleichung für eine Zeit  $\Delta t$ , erhält man in erster Ordnung für die Änderung der kinetischen Energie in der Zeitspanne  $\Delta t$

$$\Delta K(t, \Delta t) = (\bar{K} - K(t - \Delta t)) \frac{\Delta t}{\tau_T}. \quad (2.18)$$

Die neuen Geschwindigkeiten  $v^{\text{neu}}$  werden durch Skalierung der Geschwindigkeiten  $v$  erhalten

$$\begin{aligned} v^{\text{neu}}(t) &= (1 + \alpha_T) v^{\text{alt}}(t) \quad \text{mit} \\ v^{\text{alt}}(t) &= v(t - \Delta t) + \frac{F(t)}{m} \Delta t \end{aligned} \quad (2.19)$$

wobei mit  $v^{\text{alt}}$  die Geschwindigkeiten gemeint sind, die durch die Integration der Kräfte erhalten werden, siehe Gleichung (2.15). Die Skalierungskonstante ist durch die Änderung der kinetischen Energie gegeben

$$\alpha_T = \sqrt{\frac{\Delta K(t, \Delta t)}{K(t - \Delta t)}}. \quad (2.20)$$

Die Wurzel ergibt sich dadurch, dass die kinetische Energie proportional zum Quadrat der Geschwindigkeiten ist. Insgesamt erhält man für die Skalierungskonstante

$$\alpha_T = \sqrt{\frac{\Delta t}{\tau_T} \left( \frac{\bar{K}}{K(t - \Delta t)} - 1 \right)}. \quad (2.21)$$

Allgemein verwendet man für die Kopplungskonstante  $\tau_T$  einen gemeinsamen Wert für alle Teilchen der Simulation. Das hier vorgestellte Thermostat ist unter dem Namen Berendsen-Thermostat bekannt [56].

Es gibt noch weitere Thermostate, die hier nur kurz vorgestellt werden sollen. Beim *velocity-rescaling*-Thermostat wird das Berendsen-Thermostat als Grundlage verwendet. Anstatt für das Wärmebad eine konstante kinetische Energie anzunehmen, wird hier von einer kanonisch verteilten kinetischen Energie ausgegangen und  $\bar{K}$  wird in jedem Integrationsschritt zufällig bestimmt [57]. Im Nosé-Hoover-Thermostat wird über die Lagrange-Gleichung ein zusätzlicher Freiheitsgrad in die Bewegungsgleichung eingeführt, der die Geschwindigkeiten skaliert [58][59].

### Das isobare-isotherme Ensemble

Beim isobaren-isothermen Ensemble wird im Vergleich zum kanonischen Ensemble der Druck an Stelle des Volumens konstant gehalten. Dies lässt sich über eine Skalierung des Volumens und somit der Boxvektoren realisieren. Man kann sich dies so vorstellen, dass das System durch eine externe Kraft zusammengedrückt wird bzw. die externe Kraft abnimmt und das System expandieren kann. Zusätzlich müssen die Teilchenkoordinaten entsprechend skaliert werden, um sich dem neuen Volumen anzupassen.

Analog zum Berendsen-Thermostat geht man beim Berendsen-Barostat [56] davon aus, dass die zeitliche Änderung des Drucks bezüglich der Kopplung durch

$$\dot{P} = \frac{P_t - P}{\tau_P}, \quad (2.22)$$

gegeben ist, wobei  $P_t$  der angestrebte Druck und  $\tau_P$  die Kopplungskonstante ist. Der tatsächliche Druck ist durch

$$P = \frac{2}{3V} (K - \Xi), \quad (2.23)$$

gegeben, wobei  $K$  die kinetische Energie und  $\Xi$  das Virial ist, welches durch

$$\Xi = -\frac{1}{2} \sum_{i<j} \mathbf{r}_{ij} \cdot \mathbf{F}_{ij} \quad \text{mit} \quad \mathbf{r}_{ij} = \mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j, \quad (2.24)$$

gegeben ist und den Konfigurationsanteil des Druckes beschreibt.

Die Änderung der Koordinaten und des Volumens durch die isotrope Druckankopplung ist durch

$$\dot{\mathbf{r}} = \alpha_P \mathbf{r} \quad (2.25)$$

$$\dot{V} = \alpha_P^3 V \quad (2.26)$$

gegeben, wobei  $\alpha_P$  eine Proportionalitätskonstante ist. Die Druckänderung steht mit der isothermalen Kompressibilität  $\kappa$  in Beziehung:

$$\dot{P} = -\frac{1}{\kappa V} \dot{V} = -\frac{\alpha_P^3}{\kappa}. \quad (2.27)$$

Mit Gleichung (2.22) ergibt sich für  $\alpha_P$

$$\alpha_P = -\left(\frac{\kappa(P_t - P)}{\tau_P}\right)^{1/3}. \quad (2.28)$$

Mit Hilfe der Proportionalitätskonstanten  $\alpha_P$  und den Gleichungen (2.25) und (2.26) lassen sich die Änderungen der Koordinaten und des Volumens für jeden Integrationsschritt berechnen. Werden Zwangsbedingungen verwendet, um die Bindungslängen konstant auf ihrem Gleichgewichtswert zu halten, wird die Koordinatenskalierung nach der Erfüllung der Zwangsbedingungen durchgeführt. Dadurch werden die Zwangsbedingungen zwar geringfügig verletzt, da diese aber im nächsten Integrationsschritt zunächst wieder erfüllt werden, akkumuliert sich der Fehler nicht.

## 2.2 Potential of Mean Force

Die Potentialhyperfläche ist zwar eine wichtige Größe, um ein System zu charakterisieren, ist jedoch, da sie von allen Teilchenkoordinaten abhängt, für komplexe Systeme unanschaulich. Betrachtet man beispielsweise ein solvatisiertes Dimer, das in einer Zugsimulation auseinander gezogen wird, hängt die Potentialhyperfläche von allen Teilchenkoordinaten des Dimers und aller Koordinaten der Lösungsmittelmoleküle ab. Man wäre jedoch viel mehr an einer Darstellung der Energie in Abhängigkeit des Abstandes der beiden Monomere interessiert, da solch eine Darstellung im Gegensatz zur multidimensionalen Potentialhyperfläche anschaulich ist. Des Weiteren sind viele Informationen, die aus der kompletten Potentialhyperfläche gezogen werden können, für das eigentliche Problem relativ uninteressant. Reduziert man das Dimersystem auf ein Ionenpaar in Wasser, ist ersichtlich, dass das Wasser einen entscheidenden Einfluss auf die effektive Wechselwirkung zwischen den beiden Ionen hat, da die Wassermoleküle die Ionen solvatisieren und somit die Wechselwirkung zwischen diesen abschirmen können. Der Einfluss, den ein beliebiges Wassermolekül auf die Wechselwirkung zwischen den beiden Ionen hat, ist in den meisten Fällen irrelevant für die Betrachtung besagter Wechselwirkung. Man ist viel mehr daran interessiert, welchen Einfluss das Wasser im Mittel auf die Wechselwirkung hat. Das *Potential of mean force* (PMF) stellt genau so eine reduzierte Beschreibung der Potentialhyperfläche dar und gibt die freie Energie entlang einer sogenannten Reaktionskoordinate an, die sich aus ausgewählten Koordinaten des Systems ergibt. Im Folgenden wird der Ausdruck des PMF hergeleitet und es wird erläutert, wie es in Simulationen berechnet werden kann.

### 2.2.1 Definition des Potential of Mean Force

Als Ausgangspunkt betrachtet man zunächst die freie Energie  $A$ , welche nach der statistischen Thermodynamik im kanonischen Ensemble durch

$$A = -\frac{1}{\beta} \ln Z \quad (2.29)$$

gegeben ist [63].  $Z$  bezeichnet hierbei die Zustandssumme

$$Z = \int d\mathbf{r} \int d\mathbf{p} \exp(-\beta H(\mathbf{r}, \mathbf{p})), \quad (2.30)$$

mit der Energie  $H(\mathbf{r}, \mathbf{p}) = K(\mathbf{p}) + V(\mathbf{r})$ . Da die kinetische und potentielle Energie von unterschiedlichen Koordinaten abhängen, lassen sich die beiden Integrale in Gleichung (2.30) getrennt berechnen. Das Integral über die Impulse ist ein Gaußintegral und lässt sich analytisch lösen  $C_K = \int d\mathbf{p} \exp(-\beta K(\mathbf{p}))$  und für die Zustandssumme ergibt sich

$$Z = C_K \int d\mathbf{r} \exp(-\beta V(\mathbf{r})) = C_K Z'. \quad (2.31)$$

Einsetzen von  $Z$  in Gleichung (2.29) liefert

$$A = -\frac{1}{\beta} \ln Z' - \frac{1}{\beta} \ln C_K. \quad (2.32)$$

Der zweite Term liefert einen konstanten Beitrag und kann ignoriert werden, da der Nullpunkt der Energie frei wählbar ist. Schließlich ist die freie Energie durch

$$A = -\frac{1}{\beta} \ln \left[ \int d\mathbf{r} \exp(-\beta V(\mathbf{r})) \right] \quad (2.33)$$

gegeben. Nun definiert man eine Reaktionskoordinate  $\xi(\mathbf{r})$  als eine Funktion der Teilchenkoordinaten, die so gewählt ist, dass sie den Konfigurationsraum von 'Edukt' und 'Produkt' verbindet. Abbildung 2.3 veranschaulicht dies für ein einfaches Beispiel.

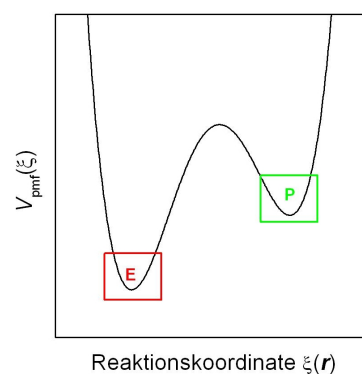


Abbildung 2.3: *Potential of mean force* entlang der Reaktionskoordinate  $\xi$ . Diese verbindet den Konfigurationsraum von Edukt (rot) und Produkt (grün).

Typischerweise verwendet man als Reaktionskoordinate den Abstand zweier Fragmente des Systems, wie beispielsweise den End-zu-End Abstand eines Proteins in der Proteinfaltung. Für die Beschreibung der wesentlichen Konformationen eines 1,3-Butadiens ist der Dihedralwinkel eine

geeignete Wahl. Letztendlich ist die Wahl der Reaktionskoordinate jedoch sehr flexibel und es können prinzipiell verschiedene Koordinaten (Abstände, Winkel, etc.) kombiniert werden. Dies verkompliziert jedoch die Bestimmung des PMF und die Reaktionskoordinate ist nicht unbedingt anschaulich. Aus diesem Grund beschränkt man sich meist nur auf einzelne oder wenige Abstände und Winkel. Die kartesischen Koordinaten  $\mathbf{r}$  werden in die generalisierten Koordinaten  $(\xi, \mathbf{q})$  transformiert. Hierbei beschreibt  $\xi$  die Reaktionskoordinate und  $\mathbf{q}$  die restlichen Koordinaten. Durch diese Koordinatentransformation tritt in Gleichung (2.33) zusätzlich die Jacobi-Determinante  $|\mathbf{J}| = |\partial\mathbf{r}/\partial(\xi, \mathbf{q})|$  auf. Um die freie Energie bei einem bestimmten Wert der Reaktionskoordinate  $\xi'$  zu erhalten, wird über alle Koordinaten  $(\xi, \mathbf{q})$  integriert

$$V_{\text{pmf}}(\xi') = -\frac{1}{\beta} \ln \left[ \int d\xi d\mathbf{q} |\mathbf{J}| \exp(-\beta V(\xi, \mathbf{q})) \delta(\xi - \xi') \right]. \quad (2.34)$$

Durch die Delta-Funktion  $\delta(\xi - \xi')$  verschwinden die Beiträge der Konformationen, für die  $\xi \neq \xi'$  gilt. Integriert man anschließend über die Reaktionskoordinate, erhält man schließlich wieder die freie Energie

$$A = -\frac{1}{\beta} \ln \left[ \int d\xi' \exp(-\beta V_{\text{pmf}}(\xi')) \right]. \quad (2.35)$$

Addiert man zu Gleichung (2.34) die Konstante  $\frac{1}{\beta} \ln Z$  so erhält man

$$\begin{aligned} V_{\text{pmf}}(\xi') &= -\frac{1}{\beta} \ln \left[ \frac{1}{Z} \int d\xi d\mathbf{q} |\mathbf{J}| \exp(-\beta V(\xi, \mathbf{q})) \delta(\xi - \xi') \right] \\ &= -\frac{1}{\beta} \ln P(\delta(\xi - \xi')), \end{aligned} \quad (2.36)$$

wobei auf der rechten Seite der ersten Gleichung die Konstante in die freie Energie gezogen wurde.  $P(\delta(\xi - \xi'))$  gibt die Wahrscheinlichkeit an, das System in einer Konformation zu finden, bei der die Reaktionskoordinate  $\xi$  den Wert  $\xi'$  annimmt.

In einer MD Simulation ist das zugrunde liegende Wechselwirkungspotential durch das Kraftfeld gegeben und man könnte auf die Idee kommen, das PMF mit Hilfe von Gleichung (2.34) direkt zu berechnen. Dies ist zwar theoretisch möglich, rechentechnisch jedoch in den meisten Fällen unmöglich, da man alle möglichen Konformationen berücksichtigen müsste, wobei es prinzipiell unendliche viele von diesen gibt. Viele dieser möglichen Konformationen haben jedoch ein verschwindendes Boltzmanngewicht und können daher zur Berechnung des PMFs vernachlässigt werden. Hierzu zählen beispielsweise alle Konformationen, bei denen der Abstand zweier Atome so klein ist, dass diese fast schon überlappen, oder Konformationen, in denen zwei gebundene Atome einen Abstand aufweisen, der ein Vielfaches des Gleichgewichtsabstands ist. Bestimmt man das PMF statt dessen auf der Grundlage einer MD Simulation, findet aufgrund der Simulation eine Vorauswahl der Konformationen statt, die in die Berechnung des PMF einfließen.

## 2.2.2 Berechnung

Eine naheliegende Möglichkeit, das PMF zu bestimmen, wäre eine Gleichgewichtssimulation durchzuführen und  $P(\delta(\xi - \xi'))$  anhand der Zeit  $t_{\xi'}$  zu berechnen, die das System in einer Konformation mit  $\xi = \xi'$  verbringt

$$P(\delta(\xi - \xi')) = t_{\xi'} / t_G, \quad (2.37)$$

wobei  $t_G$  die gesamte Zeit der Simulation angibt. Betrachtet man das PMF einer homogenen Flüssigkeit oder eines Gases mit der Reaktionskoordinate  $r$ , die den Abstand zweier Moleküle

beschreibt, geht die Wahrscheinlichkeit  $P(\delta(\xi - r))$  in die radiale Verteilungsfunktion  $g(r)$  über und das PMF kann mit

$$V_{\text{pmf}}(r) = -\frac{1}{\beta} \ln g(r), \quad (2.38)$$

bestimmt werden [64].

Für komplexere Systeme ist das Vorgehen über Gleichung (2.37) in den meisten Fällen jedoch nicht zielführend. Als Beispiel wird das PMF in Abbildung 2.3 betrachtet. Ist die Potentialbarriere zwischen den beiden Zuständen groß gegenüber  $\beta$ , ist die Wahrscheinlichkeit dafür, dass sie in einer Gleichgewichtssimulation überwunden wird, verschwindend gering. In Folge würde man das PMF nur für den Zustand bestimmen, in dem die Simulation startet. Nur wenn die Potentialbarriere ausreichend klein ist, können beide Bereiche (E und P) gut genug abgetastet werden, um  $P(\delta(\xi - \xi'))$  zuverlässig zu bestimmen. Aus diesem Grund wird Gleichung (2.36) bzw. (2.37) nur selten verwendet, um das PMF zu bestimmen und man benötigt daher andere Methoden, um das Abtastproblem zu lösen. Diesen Methoden ist allen gemein, dass auf unterschiedliche Weise die Besetzungswahrscheinlichkeit der einzelnen Konformationen artifiziell geändert wird, wodurch auch Konformationen mit einer großen potentiellen Energie häufiger besucht werden. Um dann das PMF zu bestimmen, muss diese artifizielle Beeinflussung wieder heraus gerechnet werden [2]. Eine solche Methode ist die thermodynamische Integration, die im Folgenden vorgestellt wird.

### Thermodynamische Integration

Bei der thermodynamischen Integration werden mehrere Konformationen des Systems generiert, bei denen die Reaktionskoordinate  $\xi$  bestimmte Werte  $\xi'$  annimmt. Anschließend führt man für jede dieser Konformationen eine Gleichgewichtssimulation durch, wobei durch eine Zwangsbedingung  $\xi = \xi'$  gewährleistet wird. Integriert man über die Kräfte, die benötigt werden, um die Zwangsbedingung zu erfüllen, erhält man das PMF [2][65].

Grundlegend für die Herleitung ist Gleichung (2.34). Die negative Ableitung des PMF nach der Reaktionskoordinate liefert eine Kraft, die entlang der Reaktionskoordinate wirkt [65]. Diese Kraft ist durch

$$F_{\text{pmf}}(\xi') = \frac{\left\langle \left[ -\frac{\partial V(\xi, \mathbf{q})}{\partial \xi'} + \beta^{-1} \frac{\partial \ln |\mathbf{J}|}{\partial \xi'} \right] \delta(\xi - \xi') \right\rangle}{\langle \delta(\xi - \xi') \rangle} \quad (2.39)$$

gegeben, wobei die Definition des kanonischen Mittelwerts  $\langle X \rangle$  ausgenutzt wurde

$$\langle X \rangle = \frac{1}{Z} \int d\mathbf{r} X \exp(-\beta V(\mathbf{r})). \quad (2.40)$$

Die Kraft  $F_c(\xi') = -\frac{\partial V(\xi, \mathbf{q})}{\partial \xi'}$  wird durch die Zwangsbedingung verursacht, die  $\xi = \xi'$  erzwingt. Integriert man schließlich über die Reaktionskoordinate, erhält man

$$V_{\text{pmf}}(\xi') = - \int_0^{\xi'} d\xi'' F_{\text{pmf}}(\xi'') = - \int_0^{\xi'} d\xi'' \left\langle F_c(\xi'') + \beta^{-1} \frac{\partial \ln |\mathbf{J}|}{\partial \xi''} \right\rangle_{\mathbf{q}}, \quad (2.41)$$

wobei  $\langle \dots \rangle_{\mathbf{q}}$  meint, dass über alle Koordinaten außer der Reaktionskoordinate gemittelt wird.

In der vorliegenden Arbeit wird das PMF zweier Teilchen mit der Reaktionskoordinate  $r$ , die den Abstand beider Teilchen beschreibt, benötigt. Setzt man eines der beiden Teilchen in den Koordinatenursprung, entsprechen die generalisierten Koordinaten den Kugelkoordinaten und für die Jacobi-Determinante folgt  $|\mathbf{J}| = r^2 \cos \varphi$ . Da dieser Term nicht von den Koordinaten  $\mathbf{q}$  abhängt, lässt er sich aus dem Mittelwert  $\langle \dots \rangle_{\mathbf{q}}$  herausziehen. Einsetzen in Gleichung (2.41) liefert [65]

$$V_{\text{pmf}}(r) = - \int_r^{r_{\text{max}}} ds \left[ \langle F_c(s) \rangle_{\mathbf{q}} + \frac{2}{\beta s} \right], \quad (2.42)$$

wobei  $r_{\max}$  dem maximalen Wert der Reaktionskoordinate entspricht. Der zweite Term, der aus der Jacobi-Determinante resultiert, wird auch als entropischer Beitrag bezeichnet, da dieser Term eine Vergrößerung des Konfigurationsraums mit steigendem  $r$  berücksichtigt. Vergleicht man zwei Teilchenabstände  $r_1$  und  $r_2$  mit  $r_1 < r_2$ , ist sofort ersichtlich, dass es im dreidimensionalen Raum mehr Konfigurationen mit  $r_2$  als mit  $r_1$  gibt.

## 2.3 Modellierung stochastischer Prozesse

Stochastische Prozesse haben nicht nur in der Physik sondern auch beispielsweise in den Wirtschaftswissenschaften eine große Bedeutung. In allen Fällen wird ein System betrachtet, dass aus mehreren Variablen besteht, die sich zufällig ändern. Im Gegensatz zu deterministischen Prozessen ist die Dynamik des Systems nicht vollständig durch die Anfangsbedingungen festgelegt. Man betrachtet daher die Wahrscheinlichkeitsverteilungen der interessierenden Größen.

Im Folgenden soll die Modellierung stochastischer Prozesse anhand eines Zweizustandsmodells demonstriert werden, da sich die Systeme, die in dieser Arbeit betrachtet wurden, auf ein solches Modell reduzieren lassen. Prinzipiell lässt sich der hier vorgestellte Formalismus auch auf komplexere Systeme übertragen, die sich aus mehr als zwei Zuständen zusammensetzen.

### 2.3.1 Modellierung eines Zweizustandsmodells

Abbildung 2.4 zeigt das Potential und die beiden relevanten Übergänge eines Zweizustandssystems. In einem komplexeren System, wie beispielsweise einem Protein, würde der  $A$ -Zustand den Konformationen des gefalteten und der  $B$ -Zustand den Konformationen des ungefalteten Proteins entsprechen. In solch einem System würde man nicht die komplette Potentialhyperfläche betrachten, sondern nur ein effektives Potential, wie das Potential of mean force, entlang dem Faltungspfad, der der Reaktionskoordinate entspricht.

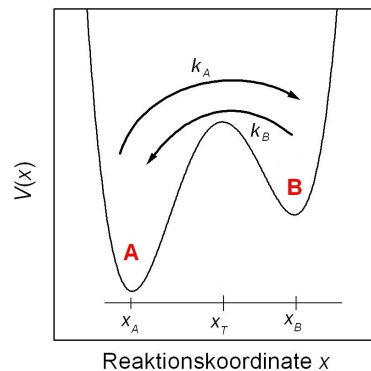


Abbildung 2.4: Potential eines Zweizustandssystems mit den Zuständen  $A$  und  $B$ . Die geschwungenen Linien verdeutlichen die beiden möglichen Übergänge.

Die beiden Zustände, das heißt die Bereiche um die Minima der Potentialkurve, werden im Folgenden als  $A$ - bzw.  $B$ -Zustand bezeichnet. Das Maximum des Potentials entspricht dem Übergangszustand ( $T$ ), der erreicht werden muss, damit ein Übergang möglich ist. Sind die Übergänge zwischen den beiden Zuständen ein seltenes Ereignis, kann eine Zeitskalentrennung bzgl. der Bewegung innerhalb eines Zustandes und der Bewegung zwischen den Zuständen durchgeführt werden. Ist die Zeitspanne, die das System in einem Zustand verweilt, groß gegenüber der Zeitskala der Bewegung innerhalb dieses Zustandes, befindet sich das System in diesem Zustand im Gleichgewicht

bzgl. des Zeitpunktes, bei dem der Übergang erfolgt. Das heißt, die Wahrscheinlichkeit, sich in einer bestimmten Konformation des Zustandes zu befinden, hängt alleine von dem Boltzmanngewicht der jeweiligen Konformation ab. Die Zeitdauer, die das System in diesem Zustand verweilt, ist dabei unerheblich. Folglich hängt die Wahrscheinlichkeit bzw. die Übergangsrates  $k_A$  für den Übergang  $A \rightarrow B$  nur von diesen beiden Zuständen und dem Potential ab<sup>3</sup> und somit unabhängig von der Historie des Systems. Diese Charakteristik ist die Eigenschaft einer Markov-Kette. Solche Prozesse werden daher auch Markov-Prozesse genannt [69][70].

Die Rate  $k_A$  charakterisiert die Wahrscheinlichkeit pro Zeiteinheit, dass ein Übergang  $A \rightarrow B$  stattfindet. Diese Rate lässt sich beispielsweise mit Hilfe der *transition state theory* aus der Potentialhyperfläche berechnen [71]. In erster Näherung wird die Rate durch die Energiebarriere  $\Delta V_A = V(x_T) - V(x_A)$  bestimmt

$$k_A \propto \exp(-\beta \Delta V_A). \quad (2.43)$$

Allgemein können die Übergangsrates zeitabhängig sein, im Folgenden wird jedoch auf eine explizite Angabe der Zeitabhängigkeit verzichtet. Die Dynamik des System wird durch die zwei Ratengleichungen beschrieben

$$\begin{pmatrix} \dot{p}_A(t) \\ \dot{p}_B(t) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -k_A & k_B \\ k_A & -k_B \end{pmatrix} \begin{pmatrix} p_A(t) \\ p_B(t) \end{pmatrix}. \quad (2.44)$$

Diese Gleichungen werden auch als Mastergleichung bezeichnet. Das System wird also vollständig durch die beiden Übergangsrates charakterisiert, welche sich zur Gleichgewichtskonstanten  $K = k_B/k_A$  zusammenfassen lassen. Die Gleichgewichtspopulationen  $\mathbf{p}^{\text{st}}$  sind durch

$$\begin{pmatrix} p_A^{\text{st}} \\ p_B^{\text{st}} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{k_B}{k_A + k_B} \\ \frac{k_A}{k_A + k_B} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{K}{1+K} \\ \frac{1}{1+K} \end{pmatrix} \quad (2.45)$$

gegeben.

Betrachtet man nur den  $A \rightarrow B$  Übergang ( $k_A \neq 0$  und  $k_B = 0$ ), lässt sich die Population  $p_A(t)$  als eine Überlebenswahrscheinlichkeit auffassen, die die Wahrscheinlichkeit angibt, dass das System zum Zeitpunkt  $t$  den Zustand  $A$  noch nicht verlassen hat, wenn es zum Zeitpunkt  $t = 0$  diesen Zustand betreten hatte. Die Änderung der Überlebenswahrscheinlichkeit ist durch

$$\frac{d}{dt} p_A(t) = -k_A p_A(t), \quad (2.46)$$

gegeben. Mit der Anfangsbedingung  $p_A(0) = 1$  erhält man

$$p_A(t) = \exp\left(-\int_0^t k_A dt\right). \quad (2.47)$$

Die Wahrscheinlichkeitsdichte  $\Phi_A(t)$ , dass der nächste Übergang zum Zeitpunkt  $t$  erfolgt, wird auch Wartezeitverteilung genannt und ist durch die negative Ableitung von  $p_A(t)$  gegeben,  $\Phi_A(t) = -\dot{p}_A$ . Aus den Gleichungen (2.46) und (2.47) folgt für die Wartezeitverteilung

$$\Phi_A(t) = k_A p_A(t) = k_A \exp\left(-\int_0^t k_A dt\right). \quad (2.48)$$

---

<sup>3</sup>Betrachtet man ein komplexeres System, dass sich aus mehreren Zuständen zusammensetzt, ist für den Übergang nur das Potential of mean force, das die beiden Zustände verbindet, relevant.

Das erste Moment der Wartezeitverteilung ist die mittlere Wartezeit  $\langle \tau_A \rangle$  und ist durch die inverse Übergangsrate gegeben

$$\langle \tau_A \rangle = \int_0^\infty dt \Phi_A(t) \cdot t = k_A^{-1}. \quad (2.49)$$

Betrachtet man ein System, das aus mehr als zwei Zuständen besteht, ist die Ratengleichung für den Zustand  $A$  durch

$$\dot{p}_A(t) = - \sum_{X \neq A} k_{XA} p_A(t) + \sum_{X \neq A} k_{AX} p_X(t)$$

gegeben, wobei  $X$  alle anderen Zustände benennt und  $k_{XY}$  die Rate für den  $Y \rightarrow X$  angibt. Die Herleitung für die Überlebenswahrscheinlichkeit  $p_A^{\text{many}}(t)$  und die Wartezeitverteilung  $\Phi_A^{\text{many}}(t)$  ist analog zum Zweizustandsmodell, es müssen jedoch alle möglichen Übergänge berücksichtigt werden und man erhält

$$p_A^{\text{many}}(t) = \exp \left[ - \int_0^t \left( \sum_{X \neq A} k_{XA} \right) dt \right]$$

$$\Phi_A^{\text{many}}(t) = \left( \sum_{X \neq A} k_{XA} \right) \exp \left[ - \int_0^t \left( \sum_{X \neq A} k_{XA} \right) dt \right].$$

Für einfache Systeme, wie das Zweizustandssystem lässt sich die Mastergleichung analytisch lösen. Für komplexere Systeme ist man jedoch auf eine numerische Lösung angewiesen. Eine Möglichkeit stellt die kinetische Monte-Carlo (KMC) Methode dar [12][33], die ausnutzt, dass das System durch eine Markov-Kette beschrieben werden kann. Ausgehend von den Anfangsbedingungen wird ein Zustand zum Zeitpunkt  $t = 0$  besetzt. Anschließend wird für jeden möglichen Übergang zufällig eine Wartezeit bestimmt, wobei letztendlich der Übergang mit der kleinsten Wartezeit ausgewählt wird und das System zum Zeitpunkt  $t = \tau_1$  den entsprechenden Zustand betritt. Nun bestimmt man ausgehend von diesem neuen Zustand wieder für alle möglichen Übergänge eine zufällige Wartezeit und propagiert das System wie im vorigen Schritt in den Zustand, dessen Wartezeit die kleinste ist. Dieses Vorgehen wiederholt man solange, bis die gewünschte Simulationszeit erreicht ist. Simuliert man viele Trajektorien und mittelt über diese, erhält man eine numerische Lösung für die Populationen. Im Folgenden wird die Bestimmung der einzelnen Wartezeiten anhand eines Zweizustandsmodells erklärt werden.

Um zufällig eine Wartezeit zu bestimmen, bedient man sich der kumulativen Wartezeitverteilung

$$f_A(\tau_A) = \int_0^{\tau_A} \Phi_A(t) dt = - \int_0^{\tau_A} \dot{p}_A(t) dt = p_A(0) - p_A(\tau_A). \quad (2.50)$$

Diese gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass im Zeitraum  $[0, \tau_A]$  ein Übergang  $A \rightarrow B$  stattfindet. Mit der Anfangsbedingung  $p_A(0) = 1$  erhält man

$$f_A(\tau_A) = 1 - p_A(\tau_A) = 1 - \exp \left( - \int_0^{\tau_A} k_A dt \right). \quad (2.51)$$

Die kumulative Wartezeitverteilung ist eine streng monoton steigende Funktion mit dem Wertebereich  $[0, 1]$ . Bestimmt man zufällig eine Zahl  $\xi$  aus diesem Wertebereich, kann mit Hilfe der Umkehrfunktion  $f_A^{-1}$  die Wartezeit bestimmt werden

$$\tau_A = f_A^{-1}(1 - \xi), \quad (2.52)$$

wobei ausgenutzt wurde, dass die Zufallszahlen  $\xi$  und  $1 - \xi$  equivalent sind. Mit Gleichung (2.51) ergibt sich im allgemeinen Fall einer zeitabhängigen Rate

$$-\ln(\xi) = \int_0^{\tau_A} k_A(t) dt. \quad (2.53)$$

Sind die Raten zeitunabhängig, vereinfacht sich der Ausdruck und für die Wartezeit erhält man

$$\tau_A = -\frac{\ln(\xi)}{k_A}. \quad (2.54)$$

### 2.3.2 Einfluss einer Kraft auf das Zweizustandsmodell

Wird im Zweizustandssystem entlang der Reaktionskoordinate eine externe Kraft angelegt, ändert sich das Potential

$$V(x, F) = V(x, 0) - F \cdot x = V(x, 0) + V_{\text{ext}}(x, F), \quad (2.55)$$

wobei  $V(x, 0)$  das Potential ohne eine externe Kraft meint. Abbildung 2.5 zeigt das Potential aus Abbildung 2.4 und dessen Änderung aufgrund einer externen Kraft.

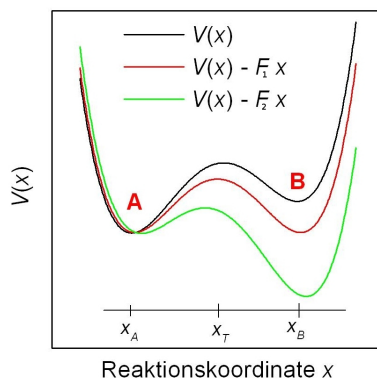


Abbildung 2.5: Einfluss einer externen Kraft  $F$  auf das Potential eines Zweizustandsystems, wobei  $F_2 > F_1$  gilt.

Man erkennt deutlich, dass mit Zunahme der externen Kraft der  $B$ -Zustand gegenüber dem  $A$ -Zustand begünstigt wird und die Energiebarriere bzgl. des  $A \rightarrow B$  Übergangs abgesenkt wird. Da nach Gleichung (2.43) die Übergangsraten im Wesentlichen durch die Größe der Energiebarriere festgelegt werden, hat die externe Kraft einen großen Einfluss auf das System, da sich das Gleichgewicht in Richtung des  $B$ -Zustandes verschiebt. Betrachtet man Abbildung 2.5 genauer, erkennt man, dass sich auch die Positionen des  $A$ - und  $B$ -Zustandes, sowie die Position des Übergangszustandes verschieben. Wollte man nun den Betrag der kraftabhängigen Energiebarriere berechnen, müsste man die Verschiebung der Positionen der Zustände berücksichtigen. Im einfachen Bell-Modell, auch phenomenologisches Modell genannt, wird diese Kraftabhängigkeit vernachlässigt und  $x_A$ ,  $x_B$  und  $x_T$  werden als konstant angenommen [22]. Der Betrag der Energiebarriere ist somit durch

$$\begin{aligned} \Delta V_A(\Delta x_A, F) &= V(x_T, 0) - V(x_A, 0) + V_{\text{ext}}(x_T, F) - V_{\text{ext}}(x_A, F) \\ &= \Delta V_A^0 + \Delta V_{\text{ext}}(\Delta x_A, F) \end{aligned} \quad (2.56)$$

gegeben, wobei  $\Delta x_A = x_T - x_A$  den Abstand zwischen dem Übergangszustand und dem  $A$ -Zustand angibt. Anhand der Gleichungen (2.43) und (2.56) ergibt sich für die Kraftabhängigkeit

der Übergangsrates allgemein

$$k_A(F) = k_A^0 \exp(-\beta \Delta V_{\text{ext}}(\Delta x_A, F)), \quad (2.57)$$

wobei  $k_A^0$  die Übergangsrates für den kraftfreien Fall angibt, siehe Gleichung (2.43).

Häufig werden die beiden folgenden Zugprotokolle verwendet. Zum Einen kann eine konstante Kraft angelegt werden, dieses Protokoll wird *force clamp* bzw. *constant force* genannt. Die andere Möglichkeit ist, dass eine zeitabhängige Kraft angelegt wird, die ihren Ursprung in einem harmonischen Potential hat. Dies kann man sich so vorstellen, dass eine Feder mit der Kraftkonstanten  $k_c$  an das System befestigt wird und diese mit konstanter Geschwindigkeit  $v$  entlang der Zugrichtung weggezogen wird. Durch die Rückstellkraft der ausgelenkten Feder wirkt auf das System eine zeitabhängige Kraft. Dieses Protokoll wird im Englischen als *force ramp* oder *linear load* bezeichnet.

### Konstante Kraft

Im force clamp Protokoll ist das externe Potential durch

$$V_{\text{ext}}(x, F) = -F \cdot x \quad (2.58)$$

gegeben. Für die Änderung der Energiebarriere folgt  $\Delta V_{\text{ext}}(\Delta x_A, F) = -F \cdot \Delta x_A$ . Ausgehend von Gleichung (2.56) lässt sich eine kritische Kraft definieren, bei der die Energiebarriere verschwindet

$$F_{\text{krit}} = \frac{\Delta V_A^0}{\Delta x_A}. \quad (2.59)$$

Ist die angelegte Kraft  $F$  kleiner als diese kritische Kraft, erfolgt der  $A \rightarrow B$  Übergang durch thermische Aktivierung. Für größere Kräfte lässt sich der Übergang als *down hill* Prozess beschreiben, da keine Energiebarriere überwunden werden muss.

Einsetzen von Gleichung (2.58) in (2.57) liefert für die Kraftabhängigkeit der Rate

$$k_A(F) = k_A^0 \exp(\beta F \cdot \Delta x_A). \quad (2.60)$$

Die Verteilung der Wartezeiten, in diesem Fall Abrisszeiten genannt, kann mit Hilfe von Gleichung (2.48) zu

$$\Phi_A(t) = k_A(F) \exp(-k_A(F)t) \quad (2.61)$$

berechnet werden. Betrachtet man die  $B \rightarrow A$  Übergänge, ergibt sich die Rate

$$k_B(F) = k_B^0 \exp(-\beta F \cdot \Delta x_B), \quad (2.62)$$

wobei  $\Delta x_B = x_B - x_T$  verwendet wird. Die Wartezeitverteilung ist analog zu Gleichung (2.61) definiert, es muss nur der Index  $A$  durch  $B$  ersetzt werden.

### Zeitabhängige, harmonische Kraft

Da die Kraft in diesem Fall zeitabhängig ist, muss die Kraftabhängigkeit der Größen in Kapitel 2.3.2 durch eine Zeitabhängigkeit ersetzt werden. Sieht man von dieser formalen Änderung ab, ändert sich jedoch nichts an den Ausdrücken.

Die angelegte Kraft und das externe Potential sind nun durch

$$F(t) = -k_c(x - vt) \quad (2.63)$$

$$V_{\text{ext}}(x, t) = \frac{1}{2} k_c (x - vt)^2 \quad (2.64)$$

gegeben. Die Kraftkonstante der Feder ist durch  $k_c$  gegeben und die Zuggeschwindigkeit durch  $v$ . Für die zeitabhängige Änderung der Energiebarriere ergibt sich

$$\Delta V_{\text{ext}}(\Delta x_A, t) = - \underbrace{k_c v}_{\mu} \Delta x_A t + \underbrace{\frac{1}{2} k_c (x_T^2 - x_A^2)}_{\approx 0}, \quad (2.65)$$

wobei der letzte Term vernachlässigt wird, da dieser vor allem für große Zeiten klein gegenüber dem ersten Term ist. Die Zuggeschwindigkeit und die Kraftkonstante werden zu einem einzigen Parameter  $\mu = k_c v$  zusammengefasst, welcher Laderate genannt wird.

Analog zu der kritischen Kraft, Gleichung (2.59), lässt sich eine kritische Zeit

$$t_{\text{krit}} = \frac{\Delta V_A^0}{\mu \Delta x_A} \quad (2.66)$$

bestimmen, zu der die Energiebarriere vollständig verschwunden ist und die somit die ungefähre Zeitskala der Übergangszeiten angibt. Übergänge zu einem Zeitpunkt  $t < t_{\text{krit}}$  erfolgen durch thermische Aktivierung. Dies ist analog zum force clamp Protokoll mit  $F < F_{\text{krit}}$ .

Nutzt man Gleichung (2.57), erhält man für die Rate

$$k_A(t) = k_A^0 \exp(\beta \mu \Delta x_A t). \quad (2.67)$$

Analog zum force clamp Protokoll lässt sich die Wartezeitverteilung bestimmen. Häufig ist man jedoch eher an der Verteilung der Abrisskräfte interessiert, die durch die Substitution  $F = \mu t$  aus der Wartezeitverteilung erhalten werden kann

$$\Phi_F(F) = \frac{k_A(F)}{\mu} \exp\left(\frac{1}{\beta \mu \Delta x_A} [k_A^0 - k_A(F)]\right). \quad (2.68)$$

Diese Verteilung weist ein ausgeprägtes Maximum bei

$$F_{\text{max}}(\mu) = \frac{1}{\beta \Delta x_A} \ln\left(\frac{\beta \mu \Delta x_A}{k_A^0}\right) \quad (2.69)$$

auf. Das Kraftspektrum  $F_{\text{max}}(\mu)$  hängt also logarithmisch von der Laderate ab. Vergleiche zwischen Zugexperimenten, die mit einem Rasterkraftmikroskop oder einer optischen Pinzette durchgeführt wurden und Zugsimulationen zeigen jedoch, dass das Bell-Modell für große Laderaten nicht mehr gültig ist. Durch die Beschränkung der Simulationen auf kleine Zeitskalen, verglichen mit den Experimenten, ist man gezwungen, wesentlich größere Zuggeschwindigkeiten und somit Laderaten als im Experiment zu verwenden. Die Unterschiede betragen meist sechs oder mehr Größenordnungen. Insgesamt beobachtet man, dass die mittlere Abrisskraft, die aus Simulationen bestimmt wird stärker ansteigt, als man es durch die experimentellen Abrisskräfte erwarten würde. Abbildung 2.6 soll diesen Unterschied qualitativ zeigen.

Zur Erklärung dieser Tatsache gibt es zwei unterschiedliche Versuche, die jedoch beide relevant sein können:

In Referenz [23] wird davon ausgegangen, dass die Dynamik des System und somit auch die Abrisskräfte in den beiden Regimen der Laderate unterschiedlich sind. Sind die Zuggeschwindigkeiten klein (rote Quadrate in Abbildung 2.6), ist die Energiebarriere groß gegenüber  $F \cdot \Delta x$  und das Abrissereignis erfolgt durch thermische Aktivierung. Aus diesem Grund wird dieses Regime 'Regime der aktivierten Übergänge' genannt. Ist die Zuggeschwindigkeit wie im Fall der Zugsimulationen sehr groß (grüne Kreise in Abbildung 2.6), so ist die Energiebarriere klein gegenüber der skalierten Kraft und die Abrisskräfte werden durch die Reibung des Moleküls mit dem umgebenden

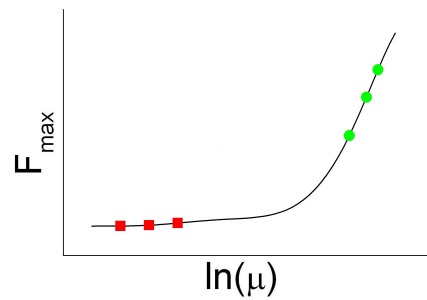


Abbildung 2.6: Abhängigkeit der häufigsten Abrisskraft  $F_{\max}$  von dem Logarithmus der Laderate  $\mu$ . Die roten Quadrate korrespondieren zu den Abrisskräften, die experimentell gemessen werden, während die grünen Kreise den Abrisskräften entsprechen, die typischerweise in Simulationen gefunden werden.

Lösungsmittel bestimmt. Dieses Regime wird das 'Regime der Driftbewegung' genannt.

Die andere Erklärung ist, dass das zugrunde liegende Potential in den untersuchten Systemen nicht ein Zwei- sondern ein Dreizustandsmodell ist. In einem Dreizustandsmodell gibt es zwei statt einer einzigen Energiebarriere, die überwunden werden müssen, um den ungebundenen Zustand zu erreichen. Im Allgemeinen ist die Größere der beiden Energiebarrieren die für die Übergangsrate relevante Barriere. Nun kann es jedoch passieren, dass ab einer bestimmten Kraft die ehemals niedrigere Energiebarriere nun die Größere ist. In diesem Fall ändert sich der Abstand zum Übergangszustand drastisch und kann nicht mehr, wie im Bell-Modell angenommen, als konstant angesehen werden. Abbildung 2.7 soll dies verdeutlichen.

Für die Systeme, die bisher sowohl mit Simulationen sowie Experimenten (Rasterkraftmikroskop

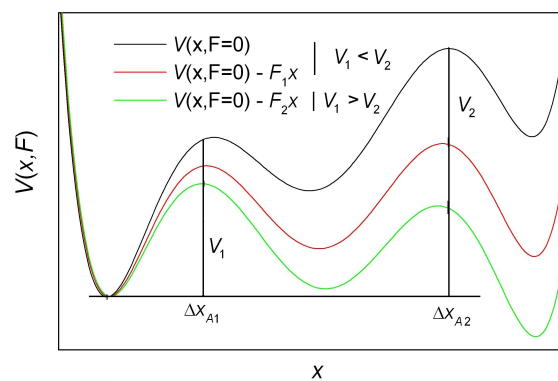


Abbildung 2.7: Potential eines Dreizustandsmodells in Abwesenheit einer externen Kraft (schwarz) und für zwei unterschiedliche Kräfte, wobei  $F_1$  (rot) kleiner als  $F_2$  (grün) ist. Im Fall der schwarzen und roten Kurve ist die zweite Energiebarriere größer als die erste und somit bestimmt  $\Delta x_{A2}$  die Übergangsrate und die Abrisskraft. Bei größeren Kräften (grün) ist jedoch die erste Energiebarriere ( $V_1 > V_2$ ) relevant und der Abstand zum Übergangszustand reduziert sich auf  $\Delta x_{A1}$ .

oder optischen Pinzetten) untersucht wurden, wurde die in Abbildung 2.6 aufgeführte Diskrepanz in der Abhängigkeit der mittleren Kraft von der Laderate gefunden. Dies erschwert den direkten Vergleich der experimentellen Abrisskräfte und der Abrisskräfte, die aus Simulationen gewonnen werden.

## Kapitel 3

# Einfluss einer konstanten Kraft auf ein Zweizustandsmodell

### 3.1 Einleitung

Zweizustandsmodelle spielen eine große Rolle in der Beschreibung von Einzelmolekülexperimenten. Die Faltung von Proteinen, aber auch Nukleinsäuren lässt sich vereinfacht durch ein Zweizustandsmodell beschreiben, wobei das Ensemble der gefalteten / nativen Konformationen und das Ensemble der entfalteten Konformationen jeweils einem Zustand entspricht. Die Häufigkeit der Übergänge zwischen diesen beiden Zuständen wird durch die Übergangsraten bestimmt. Im Allgemeinen ist die Rate für den Übergang (nativer Zustand  $\rightarrow$  offener Zustand) wesentlich kleiner, als für den Übergang in die umgekehrte Richtung und das Protein bzw. die Nukleinsäure liegt hauptsächlich im nativen Zustand vor. Mit der Einzelmolekül Förster-Resonanzenergietransfer- (FRET-) Methode lassen sich die gefalteten und offenen Konformationsensembles unter nahezu nativen Bedingungen untersuchen [72]. Hierbei kann durch einen Energietransfer zwischen zwei Farbstoffmolekülen, die an das betrachtete Molekül gebunden sind, der Abstand dieser beiden Farbstoffmoleküle bestimmt werden. Werden die Farbstoffmoleküle an geeigneten Stellen angebracht, lassen sich die gefalteten und ungefalteten Konformationen unterscheiden. Misst man die Wartezeiten der Übergänge, können die Übergangsraten und auch die Energiebarriere bestimmt werden [73]. Mit Hilfe der Kraftspektroskopie ist prinzipiell eine ähnliche Messung möglich, da der Abstand zwischen den beiden Stellen, an denen das Molekül auseinander gezogen wird, gemessen werden kann. Da die Übergangsraten kraftabhängig sind, kann zusätzlich über die externe Kraft das Gleichgewicht des Systems beeinflusst werden. Letzteres ist mit der FRET-Methode nicht möglich.

Im Folgenden sollen zwei Möglichkeiten vorgestellt werden, wie die Wartezeitverteilung in force clamp Experimenten bestimmt werden kann. Diese Methoden unterscheiden sich darin, wie die Übergänge gezählt werden. Man kann einerseits alle Übergänge zählen, zum Anderen ist es auch möglich zwei Übergänge, von einem Zustand in den anderen und wieder zurück, als Kreisprozess aufzufassen und die Zahl der 'Kreisübergänge' zu zählen [74]. Zunächst wird ein einfaches Zweizustandsmodell theoretisch untersucht. Um die vorgestellte Methode anschließend zu validieren, werden kinetische Monte Carlo Simulationen vorgestellt. Mit Hilfe dieser soll untersucht werden, mit welcher Genauigkeit sich die Observablen wie die Zahl der Übergänge bestimmen lassen.

### 3.2 Theorie

Analog zu Kapitel 2.3 werden die beiden Zustände mit  $A$  und  $B$  gekennzeichnet. Die Dynamik wird vollständig durch die Master-Gleichung (2.44)

$$\dot{\mathbf{p}} = \mathbf{W}\mathbf{p} \quad \text{mit} \quad \mathbf{W} = \begin{pmatrix} -k_A & k_B \\ k_A & -k_B \end{pmatrix} \quad (3.1)$$

beschrieben, wobei die Kraftabhängigkeit der Raten  $k_X$  (mit  $X = A, B$ ) nicht extra aufgeführt wird. Durch diese Kraftabhängigkeit ist es möglich, die Gleichgewichtskonstante des Systems  $K = k_B/k_A$  über weite Bereiche zu variieren. Abbildung 3.1 zeigt auf der linken Seite qualitativ das Potential für ein Zweizustandssystem mit zwei verschiedenen Gleichgewichtskonstanten. In der Mitte und auf der rechten Seite sind jeweils Trajektorien abgebildet, die die Übergänge zwischen den beiden Zuständen zeigen.

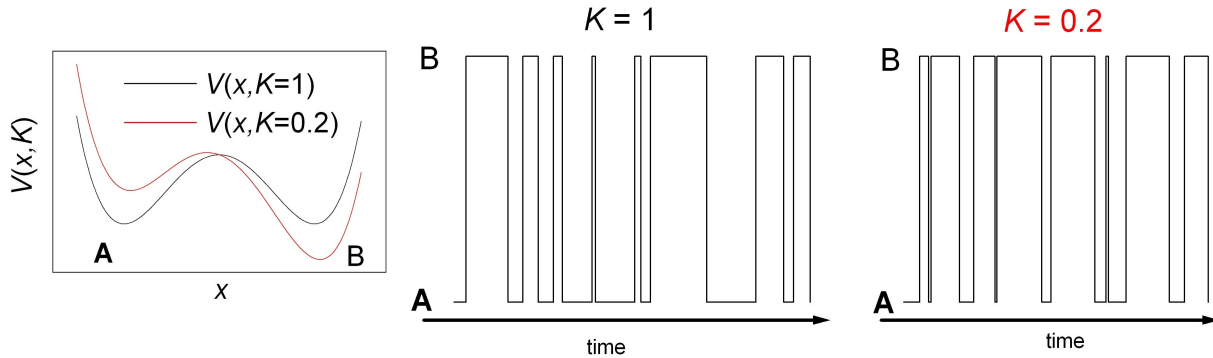


Abbildung 3.1: Exemplarische Trajektorien für die Gleichgewichtskonstanten  $K = 1$  (Mitte) und  $K = 0.2$  (rechts). Diese wurden aus kinetischen Monte-Carlo Simulationen erhalten. Auf der linken Seite ist qualitativ das Potential für diese zwei Gleichgewichtskonstanten gezeigt.

Im Fall von  $K = 1$  residiert das System im Mittel in beiden Zuständen gleich wahrscheinlich. Für die Gleichgewichtskonstante  $K = 0.2$  gilt  $k_B < k_A$  und das System hält sich im Mittel länger im  $B$ -Zustand als im  $A$ -Zustand auf. Die Wartezeit  $\tau$  entspricht der Zeit, die zwischen den einzelnen Übergängen verstreicht. Bestimmt man die Wartezeit für jeden Übergang, ist es möglich, die phänomenologische Rate  $\hat{k}_X = 1/\langle\tau\rangle_X$  zu bestimmen, siehe Gleichung (2.49). Hierbei bedeutet  $\langle\tau\rangle_X$ , dass über alle Wartezeiten  $\tau$  der  $(X \rightarrow Y)$  Übergänge gemittelt wird.  $\langle\tau\rangle_X$  entspricht somit dem ersten Moment der Wartezeitverteilung  $\Phi_X$ . Bestimmt man  $\langle\tau\rangle_X$  kraftabhängig, ist es möglich,  $k_X^0 = k_X(F = 0)$  und  $\Delta x_X$  zu ermitteln. Im Fall eines reinen Zweizustandsmodells gleichen diese Raten den Übergangsraten ( $\hat{k}_X = k_X$ ). Geht man von einem komplexerem System aus, bei dem sich die Ensemblezustände  $A, B$  in viele Konformationszustände unterteilen lassen, entsprechen die  $\hat{k}_X$  effektiven Übergangsraten zwischen den beiden Ensemblezuständen [74][75].

Die Bestimmung der Wartezeitverteilung kann problematisch sein, wenn die Raten sich stark voneinander unterscheiden. In solch einem Fall werden die Wartezeiten des Übergangs mit der größeren Rate sehr klein. In Experimenten ist man durch die Messapparatur an eine endliche zeitliche Auflösung gebunden. Ist die mittlere Wartezeit eines der beiden Übergänge in der gleichen Größenordnung wie die zeitliche Auflösung der Messapparatur, kann die Verteilung dieser Wartezeit nicht vollständig bestimmt werden. Daher sollen im Folgenden zwei unterschiedliche Zählmuster vorgestellt werden. Zum Einen ist es möglich, jeden Übergang zu zählen (Eventzählung). Des

Weiteren ist es möglich, nicht die beiden Übergänge getrennt voneinander zu betrachten, sondern jeweils zwei Übergänge zu einem Kreisprozess zusammenzufassen und diese zu zählen (Kreiszahlung). Diese Methode bietet sich an, wenn die Raten stark unterschiedlich sind und die Wartezeit des einen Überganges nicht wirklich bestimmt werden kann. Im Folgenden wird für die Eventzählung der Index 'ev' und für die Kreiszahlung der Index 'c' verwendet.

Abbildung 3.2 veranschaulicht die beiden Zählmuster anhand einer exemplarischen Trajektorie. In schwarz (oben) sind die Übergänge gekennzeichnet, die in der Eventzählung gezählt werden und in rot (unten) sind die Übergänge markiert, die in der Kreiszahlung berücksichtigt werden.

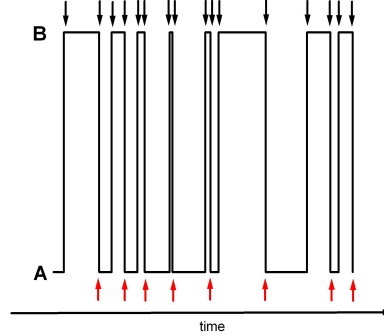


Abbildung 3.2: Verdeutlichung der beiden Zählmuster: Zum Einen ist es möglich, jeden Übergang (oben / schwarz) zu zählen ( $\rightarrow$  Eventzählung), oder man betrachtet jeden zweiten Übergang (unten / rot), hierbei lassen sich beide Übergänge als ein Kreisprozess auffassen ( $\rightarrow$  Kreiszahlung). Im Fall der Kreiszahlung könnte man auch jeweils die anderen Übergänge zählen.

Die mittlere Wartezeit für den Kreisprozess ergibt sich aus der Summe der Wartezeiten der beiden einzelnen Übergänge

$$\langle \tau \rangle_c = \langle \tau \rangle_A + \langle \tau \rangle_B. \quad (3.2)$$

Sind die Raten sehr unterschiedlich, lässt sich die mittlere Wartezeit des Kreisprozesses durch die mittlere Wartezeit des langsameren Übergangs annähern

$$\langle \tau \rangle_c \approx \langle \tau \rangle_B \quad \text{für } K \ll 1 \quad (3.3)$$

$$\langle \tau \rangle_c \approx \langle \tau \rangle_A \quad \text{für } K \gg 1. \quad (3.4)$$

Gleichung (3.2) kann für Systeme, die die Auswertung beider Zählmuster erlauben, als interner Konsistenzcheck verwendet werden.

Als eine weitere Überprüfung der Daten bietet sich die Anzahl der Übergänge pro Zeit  $\langle N(t) \rangle^\kappa$  (mit  $\kappa = \text{ev}, c$ ) an. Analytisch lassen sich diese über die *erzeugende Funktion* [32]

$$F(z, t) = \mathbf{1}^T \exp [(\mathbf{W}' + z\mathbf{V})t] \mathbf{V}\mathbf{p}^{\text{st}} / \langle n \rangle \quad (3.5)$$

berechnen, wobei  $\langle n \rangle$  die mittlere Anzahl der beobachtbaren Übergänge pro Zeit angibt

$$\langle n \rangle = \mathbf{1}^T \mathbf{V}\mathbf{p}^{\text{st}} = \frac{2k_A k_B}{k_A + k_B} = \frac{2k_B}{1 + K}. \quad (3.6)$$

Die Matrix  $\mathbf{V}$  setzt sich aus den beobachtbaren Übergängen zusammen und es gilt nach Gleichung (3.1)  $\mathbf{W}' = \mathbf{W} - \mathbf{V}$ . Somit ergeben sich die folgenden Matrizen:

$$\mathbf{W}'_{\text{ev}} = \begin{pmatrix} -k_A & 0 \\ 0 & -k_B \end{pmatrix}, \quad \mathbf{V}_{\text{ev}} = \begin{pmatrix} 0 & k_B \\ k_A & 0 \end{pmatrix} \quad (3.7)$$

für die Eventzählung und

$$\mathbf{W}'_c = \begin{pmatrix} -k_A & 0 \\ k_A & -k_B \end{pmatrix}, \quad \mathbf{V}_c = \begin{pmatrix} 0 & k_B \\ 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (3.8)$$

für die Kreiszahlung, wobei man hier die Raten  $k_A, k_B$  auch hätte vertauschen können. Die Gleichgewichtspopulationen sind durch Gleichung (2.45) gegeben. Da die Matrizen zweidimensional sind, kann die Diagonalisierung analytisch erfolgen und der Matrixexponent berechnet werden.

Die mittlere Zahl der Übergänge ergibt sich aus der Ableitung der erzeugenden Funktion nach  $z$

$$\langle N(t) \rangle = \left. \frac{\partial F(z, t)}{\partial z} \right|_{z=1} \quad (3.9)$$

und man erhält für die beiden Zählmuster

$$\langle N(t) \rangle^{\text{ev}} = \frac{(k_A - k_B)^2}{2(k_A + k_B)^2} (1 - \exp[-(k_A + k_B)t]) + \langle n \rangle t \quad (3.10)$$

$$\langle N(t) \rangle^c = \frac{\langle n \rangle}{2(k_A + k_B)} (\exp[-(k_A + k_B)t] - 1) + \frac{1}{2} \langle n \rangle t. \quad (3.11)$$

Man erkennt an beiden Gleichungen, dass nach einer Zeit, die größer ist als die Summe der inversen Raten, die Anzahl der Übergänge linear mit der Zeit wächst. Im Fall der Eventzählung werden doppelt so viele Übergänge beobachtet als bei der Kreiszahlung, da im letzteren Fall die beiden individuellen Übergänge ( $X \rightarrow Y$ ) als ein Übergang zusammen gefasst werden:

$$\langle N(t) \rangle^{\text{ev}} = 2 \langle N(t) \rangle^c = \langle n \rangle t, \quad \text{für } t \gg (k_A + k_B)^{-1}. \quad (3.12)$$

Das zweite Moment der Anzahl der Übergänge lässt sich ebenfalls mit Hilfe der erzeugenden Funktion berechnen

$$\langle N(N-1)(t) \rangle = \left. \frac{\partial^2 F(z, t)}{\partial z^2} \right|_{z=1}. \quad (3.13)$$

Aus den ersten beiden Momenten lässt sich der Mandelparameter  $Q(t)$  [76] bestimmen

$$Q(t) = \frac{\langle N^2(t) \rangle - \langle N(t) \rangle^2}{\langle N(t) \rangle} - 1. \quad (3.14)$$

Für den Mandelparameter gilt  $Q \neq 0$ , wenn das System Abweichungen von einem Poisson-Verhalten aufweist.<sup>1</sup> Analog zu dem linearen Verhalten von  $\langle N(t) \rangle^k$  für  $t \gg (k_A + k_B)^{-1}$ , konvergiert der Mandelparameter für lange Zeiten. Die analytischen Ausdrücke für die beiden Zählmuster lauten wie folgt

$$Q_\infty^{\text{ev}} = \frac{(K-1)^2}{(K+1)^2} \quad (3.15)$$

$$Q_\infty^c = -2 \frac{K}{(K+1)^2}. \quad (3.16)$$

Das Langzeitlimit des Mandelparameters hängt demnach einzig von der Gleichgewichtskonstanten und damit der externen Kraft ab, im Gegensatz zu  $\langle n \rangle$ , das explizit von beiden Raten abhängig ist.

Betrachtet man Gleichung (3.15), erkennt man, dass im Fall der Eventzählung für die Übergänge

<sup>1</sup>Prozesse, denen eine exponentiellen Wartezeitverteilung zugrunde liegt, werden als Poisson-Prozesse bezeichnet.

ein Poisson-Prozess bei  $K = 1$  vorliegt. Die Wartezeitverteilung der beiden Übergänge ergibt sich aus der Summe der Wartezeitverteilungen der individuellen Übergänge

$$\Phi_{\text{ev}}(t) = \frac{1}{2} [\Phi_A(t) + \Phi_B(t)] = \frac{1}{2} [k_A \exp(-k_A t) + k_B \exp(-k_B t)], \quad (3.17)$$

wobei der Faktor  $1/2$  für die Normierung sorgt. Bei einer Gleichgewichtskonstanten  $K = 1$  gilt  $k_A = k_B$ , mit  $k_{\text{ev}} = k_A = k_B$  folgt

$$\Phi_{\text{ev}}(t) = k_{\text{ev}} \exp(-k_{\text{ev}} t) \quad (3.18)$$

und man erkennt, dass eine exponentiell verteilte Wartezeitverteilung vorliegt.

Die Wartezeitverteilung für die Kreiszahl  $\Phi_c$  ergibt sich aus

$$\Phi_c(t) = \int_0^t d\tau \Phi_{A,B}(\tau, t - \tau), \quad (3.19)$$

wobei  $\Phi_{A,B}(\tau, t - \tau)$  die Wartezeitverteilung für den Fall ist, dass zum Zeitpunkt  $t$  ein  $B \rightarrow A$  Übergang stattfindet, unter der Voraussetzung, dass zum Zeitpunkt  $\tau$  ein  $A \rightarrow B$  Übergang stattfand. Wenn die Übergänge unkorreliert sind gilt

$$\Phi_{A,B}(\tau, t - \tau) = \Phi_A(\tau) \Phi_B(t - \tau) \quad (3.20)$$

und man erhält schließlich

$$\Phi_c(t) = \frac{k_A k_B}{k_A - k_B} [\exp(-k_B t) - \exp(-k_A t)], \quad (3.21)$$

wobei die Gleichung bzgl.  $k_A$  und  $k_B$  symmetrisch ist. Betrachtet man nun Fälle, bei denen die Gleichgewichtskonstante stark von 1 abweicht, ergeben sich die folgenden Näherungen

$$\Phi_c(t) \approx \begin{cases} k_B \exp(-k_B t) & \text{für } K \ll 1, \quad k_B \ll k_A \\ k_A \exp(-k_A t) & \text{für } K \gg 1, \quad k_B \gg k_A \end{cases}. \quad (3.22)$$

Dies stimmt mit Gleichung (3.16) überein, aus der sich für die Kreiszahl ein Poisson-Verhalten für Gleichgewichtskonstanten ergibt, die stark von 1 abweichen. In diesen Fällen wird die Wartezeitverteilung durch die kleinere Rate bestimmt, da der Beitrag der großen Rate zur Wartezeit praktisch vernachlässigbar ist.

Um zu überprüfen, ob die vorliegende Theorie auch auf eine endliche Zahl an Trajektorien anwendbar ist, wurden kinetische Monte-Carlo Simulationen durchgeführt und die Zahl der Übergänge mit der theoretischen Vorhersage verglichen.

### 3.3 Modellierung des Zweizustandssystems

#### 3.3.1 Rechentechnische Details

Im Bell-Modell sind die Übergangsraten durch die Gleichungen (2.60) und (2.62) gegeben:

$$\begin{aligned} k_A(F) &= k_A^0 \exp(\alpha_A F) \\ k_B(F) &= k_B^0 \exp(-\alpha_B F), \\ &\text{mit } \alpha_X = \beta \Delta x_X. \end{aligned}$$

Für die Simulationen wurden die folgenden Parameter verwendet. Die kraftunabhängigen Raten betragen  $k_A^0 = 1 \text{ s}^{-1}$  und  $k_B^0 = 10^4 \text{ s}^{-1}$ . Die Abstände zwischen den Zuständen  $A$  bzw.  $B$  zum Übergangszustand waren  $\Delta x_A = \alpha_A/\beta = 0.3 \text{ nm}$  und  $\Delta x_B = \alpha_B/\beta = 0.7 \text{ nm}$ . Für die Temperatur wurde  $300 \text{ K}$  gewählt, womit sich  $\beta^{-1} \approx 4.14 \text{ pN}\cdot\text{nm}$  ergibt. Die Gleichgewichtskonstante  $K$  lässt sich mit diesen Parametern in Abhängigkeit der Kraft berechnen

$$K = \frac{k_B^0}{k_A^0} \exp[(\alpha_A + \alpha_B)F].$$

In den Simulationen wurden die Gleichgewichtskonstanten  $K = 0.01, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10$  und  $100$  verwendet.

Es wurden zwei Gruppen von Simulationen durchgeführt, wobei die Simulationszeit  $t_{\text{end}}$  und die Zahl der einzelnen Simulationen variiert wurde, siehe Tabelle 3.1. Für die Simulationszeit wurde ein Vielfaches der mittleren Wartezeit eines Kreisübergangs  $\langle \tau \rangle_c = 1/k_A + 1/k_B$  verwendet. Für die beiden Anfangsbedingungen  $p_A(0) = 1$  bzw.  $p_B(0) = 1$  wurden jeweils  $n_{\text{sim}}$  Simulationen durchgeführt.

Simulationsgruppe	$n_{\text{sim}}$	$t_{\text{end}}/\langle \tau \rangle_c$
(1)	50	5
(2)	100	15

Tabelle 3.1: Parameter der Simulationen

Für die Auswertung der einzelnen Simulationen wurde der einfachste Weg gewählt und bezüglich des ersten Übergangs zum Zeitpunkt  $t = 0$  die Zahl der Übergänge  $N(t)$  bestimmt. Anschließend wurde über alle Simulationen gemittelt. Wertet man eine einzelne längere Trajektorie aus, kann neben dem ersten Übergang bei  $t = 0$  auch ein späterer Übergang als Startpunkt der Auswertung verwendet werden. Effektiv wird dabei die Trajektorie in viele kleine Auswertefenster zerlegt und diese werden getrennt voneinander analysiert. Der Datensatz der Simulationsgruppe (1) würde einer einzelnen Trajektorie der Länge  $t_{\text{end}}/\langle \tau \rangle_c = 65$  entsprechen und für die Simulationsgruppe (2) würde man eine Trajektorie der Länge  $t_{\text{end}}/\langle \tau \rangle_c = 125$  benötigen. In der Praxis sollte es generell möglich sein solch große, oder noch größere Datensätze zu messen.

Um die Genauigkeit der Ergebnisse abzuschätzen, wurden die Simulationen 5000 mal wiederholt und die Standardabweichung der ermittelten Werte bestimmt.

#### 3.3.2 Diskussion

Im Folgenden sollen die Ergebnisse der Simulationen vorgestellt und mit den theoretischen Vorhersagen verglichen werden.

In Abbildung 3.3 ist die Zahl der Übergänge gegen die Zeit für die Gleichgewichtskonstanten  $K = 0.01$  (links) und  $K = 1$  (rechts) aufgetragen.

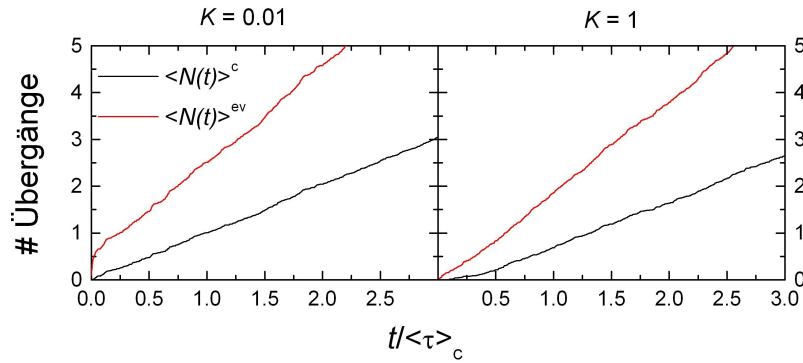


Abbildung 3.3: Auftragung der Anzahl der Übergänge gegen die Zeit für die Gleichgewichtskonstanten  $K = 0.01$  (links) und  $K = 1$  (rechts). In schwarz ist  $\langle N(t) \rangle^c$  und in rot  $\langle N(t) \rangle^{ev}$  aufgetragen, wobei diese Ergebnisse aus den Simulationen mit  $j_c = 15$  und  $n_{sim} = 100$  (Gruppe (2)) bestimmt wurden.

Man erkennt deutlich, dass bei beiden Gleichgewichtskonstanten innerhalb kürzester Zeit  $t < \langle\tau\rangle_c$  die Zahl der Übergänge pro Zeit einen konstanten Wert annimmt.

In Abbildung 3.4 sind die Steigungen  $\langle n \rangle / 2$  (Kreiszählung - schwarz) und  $\langle n \rangle$  (Eventzählung - rot) von  $\langle N(t) \rangle^c$  im linearen Regime für die einzelnen Gleichgewichtskonstanten gezeigt. Die durchgezogenen Linien entsprechen den analytischen Lösungen von  $\langle n \rangle / 2$  bzw.  $\langle n \rangle$ . Die Ergebnisse aus den Simulationen sind als schwarze Kreise aufgetragen und die Länge der Fehlerbalken entspricht der Standardabweichung, der 5000 Messgruppen.

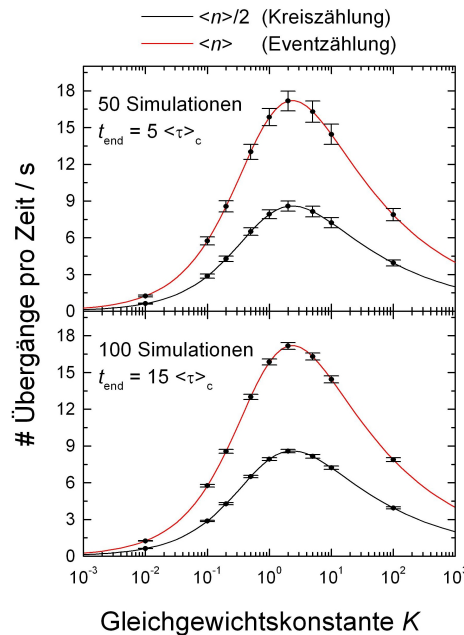


Abbildung 3.4: Auftragung der mittleren Zahl der Übergänge pro Zeit,  $\langle n \rangle / 2$  (Kreiszählung - schwarz) und  $\langle n \rangle$  (Eventzählung - rot). Die theoretischen Vorhersagen sind als durchgezogene Linien aufgetragen und die Ergebnisse der Simulationen als Kreise, wobei oben die Resultate der Simulationsgruppe (1) und unten die der Gruppe (2) abgebildet sind.

Man erkennt deutlich, dass die Ergebnisse der Simulationen sehr gut mit den theoretischen Vorhersagen übereinstimmen. Generell zeigt sich, dass die Standardabweichung, die durch die Größe der Fehlerbalken gegeben ist, für Gleichgewichtskonstanten, die stark von 1 abweichen geringer ist, als die für  $K = 1$ . Vergleicht man die beiden Simulationsgruppen, erkennt man, dass für die Gruppe (1) die statistische Abweichung größer ist, als für die Gruppe (2). Der Grund hierfür ist weniger die kleinere Zahl der Simulationen  $n_{\text{sim}}$ , sondern vielmehr die kürzeren Trajektorien, die ausgewertet wurden.<sup>2</sup> Dennoch lassen sich selbst mit sehr kurzen Trajektorien, die im Mittel gerade mal 5 Kreis- bzw. 10 Eventübergänge enthalten, die Steigungen von  $\langle N(t) \rangle^\kappa$  recht gut abschätzen und somit auch die Übergangsraten bestimmen. Ist man in der Lage, längere Trajektorien zu messen, sollte eine genaue Bestimmung von  $\langle n \rangle$  und  $\langle n \rangle / 2$  problemlos möglich sein.

Der Mandelparameter ist in Abbildung 3.5 für die Gleichgewichtskonstanten  $K = 0.01$  (links) und  $K = 1$  (rechts) abgebildet.

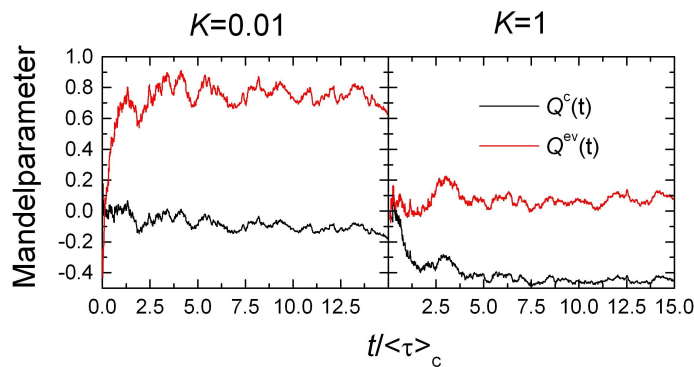


Abbildung 3.5: Verlauf von  $Q^c(t)$  (schwarz) und  $Q^{\text{ev}}(t)$  (rot) für die Gleichgewichtskonstanten  $K = 0.01$  (links) und  $K = 1$  (rechts). Als Grundlage dienten die Simulationen mit  $j_c = 15$  und  $n_{\text{sim}} = 100$ .

Sieht man von den kleinen Oszillationen ab, ist deutlich zu erkennen das  $Q^\kappa(t)$  für  $t \gg \langle \tau \rangle_c$  gegen einen konstanten Wert läuft. Im Gegensatz zur Zahl der Übergänge pro Zeit, die schon nach kurzer Zeit  $t/\langle \tau \rangle_c \approx 1$  einen konstanten Wert annimmt, erreicht  $Q^\kappa(t)$  erst später das Langzeitlimit. Des Weiteren sind die Fluktuationen von  $Q^\kappa(t)$  größer als bei  $\langle N(t) \rangle^\kappa$ , da der Mandelparameter nicht nur vom ersten, sondern auch zweiten Moment der Wartezeitverteilung abhängt. Das heißt um den Mandelparameter mit einer ähnlichen Genauigkeit wie  $\langle n \rangle$  zu bestimmen, benötigt man zum Einen längere Trajektorien, die ausgewertet werden ( $t/\langle \tau \rangle_c > 10$ ) und zum Anderen muss über eine größere Zahl von Trajektorien gemittelt werden.

Abbildung 3.6 zeigt die Auftragung von  $Q_\infty^c$  (schwarz) und  $Q_\infty^{\text{ev}}$  (rot) gegen die Gleichgewichtskonstante. Die Ergebnisse der Simulationen sind ähnlich wie in Abbildung 3.4 als schwarze Kreise gezeigt, wobei die Standardabweichung durch die Fehlerbalken gegeben ist. Um  $Q_\infty^\kappa$  in den Simulationen zu bestimmen, wurde über  $Q^\kappa(t)$  für  $t > t_{\text{end}}/2$  gemittelt.

Ähnlich wie in Abbildung 3.4 zeigt sich, dass die Ergebnisse der Simulationen gut mit den theoretischen Vorhersagen übereinstimmen. Im Gegensatz zur mittleren Zahl der Übergänge ist der statistische Fehler für den Mandelparameter deutlich größer. Zum Anderen fällt auf, dass es neben dem statistischen Fehler in manchen Fällen auch einen systematischen Fehler gibt, dieser ist jedoch generell kleiner als der statistische Fehler. Dies erkennt man am besten im oberen Teil der Abbildung. Weicht die dem System zugrunde liegende Statistik von einer Poisson-Statistik ab

<sup>2</sup>Für Simulationen mit  $j_c = 5$  und  $n_{\text{sim}} = 100$  werden gegenüber  $n_{\text{sim}} = 50$  nur etwas kleinere Standardabweichungen gefunden.

( $Q_\infty^\kappa \neq 0$ ), beobachtet man eine Abweichung zwischen dem bestimmten Wert und der theoretischen Vorhersage. Vor allem für  $K = 0.01$  und  $100$  wird  $Q_\infty^{\text{ev}}$  unterschätzt und für  $K = 1$  wird  $Q_\infty^c$  überschätzt. Legt man der Analyse längere Trajektorien zugrunde (untere Abbildung), wird dieser systematische Fehler kleiner. Dennoch kann man festhalten, dass es auch mit relativ wenigen und kurzen Trajektorien möglich ist, den generellen Verlauf von  $Q_\infty^\kappa$  zu bestimmen.

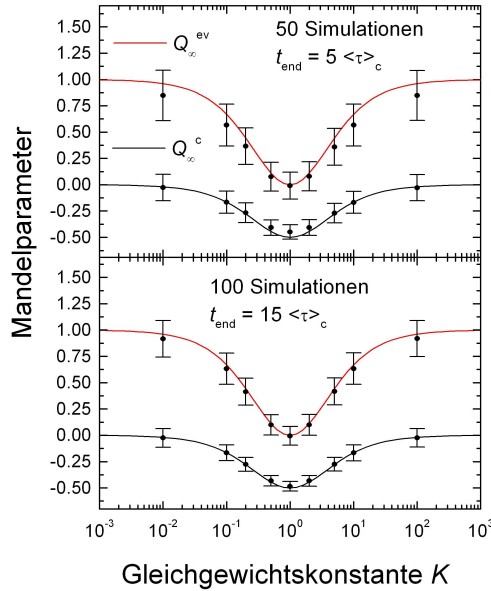


Abbildung 3.6: Langzeitlimit des Mandelparameters:  $Q_\infty^\kappa$  mit  $\kappa = c$  (schwarz),  $ev$  (rot). Die theoretischen Vorhersagen sind als durchgezogene Linien und die Ergebnisse der Simulationen als Fehlerbalken aufgetragen, wobei oben die Resultate der Simulationsgruppe (1) und unten die der Gruppe (2) abgebildet sind.

Insgesamt zeigt sich, dass force clamp Experimente eine wertvolle Methode darstellen, um die Übergangsraten und deren Kraftabhängigkeit in Systemen zu untersuchen, die sich auf ein Zweizustandsmodell reduzieren lassen. In der hier durchgeführten Analyse wurden relativ kleine Datensätze untersucht, die sich in der Praxis durch die Messung einer einzelnen Trajektorie mit etwas weniger als 150 Kreisübergängen erzeugen lassen. In Bezug auf die mittlere Zahl der Übergänge ist die Übereinstimmung zwischen Theorie und Simulationen sehr gut und es zeigt sich, dass  $\langle n \rangle$  selbst mit sehr kleinen Datensätzen sehr gut bestimmt werden kann. Da  $\langle N(t) \rangle^\kappa$  sehr schnell in den linearen Bereich übergeht, reichen schon sehr kurze Zeitfenster aus, die wenige Übergänge aufweisen, um die Steigung zu ermitteln. Die Bestimmung des Mandelparameters ist jedoch aufwendiger. Zum Einen hängt der Mandelparameter nicht nur vom ersten, sondern auch vom zweiten Moment der Wartezeitverteilung ab, weshalb eine größere Zahl von Trajektorien bzw. Zeitfenstern untersucht werden muss, um diesen mit einer ähnlichen Genauigkeit wie  $\langle N(t) \rangle^\kappa / t$  bestimmen zu können. Im Gegensatz zur Zahl der Übergänge pro Zeit, die schon nach wenigen Kreisübergängen einen konstanten Wert erreicht, müssen für den Mandelparameter deutlich mehr Übergänge beobachtet werden, bis dieser das Langzeitlimit erreicht. Das heißt, die Zeitfenster, die innerhalb der Trajektorien untersucht werden, müssen größer sein, als bei der Bestimmung von  $\langle N(t) \rangle^\kappa / t$ . Für Zeitfenster, die im Mittel 5 Kreisübergänge aufweisen, beobachtet man für Gleichgewichtskonstanten, die zu einer starken Abweichung von einer Poisson-Statistik führen, einen systematischen Fehler in  $Q_\infty^\kappa$ . Dieser Fehler ist jedoch geringer als der statistische Fehler,

der aus der endlichen Zahl der ausgewerteten Trajektorien herrührt. Untersucht man ein relativ stabiles System, mit dem sich mehrere hundert Übergänge innerhalb einer Messung beobachtet werden lassen, lässt sich diese systematische Abweichung eliminieren, wenn man die Zeitfenster, die innerhalb einer Trajektorie ausgewertet werden, vergrößert. Dennoch ist es mit einem recht kleinen Datensatz möglich,  $Q_{\infty}^{\kappa}(K)$  zumindest qualitativ zu bestimmen.

Die Ergebnisse, die mit den theoretischen Vorhersagen verglichen wurden, beruhen auf relativ kleinen Datensätzen und in der Praxis sollte es in den meisten Fällen möglich sein, größere Datensätze zu analysieren. Daher ist anzunehmen, dass sich die hier vorgestellte Methode zur Untersuchung von Zweizustandssystemen auch in der Praxis bewähren wird.

# Kapitel 4

## Untersuchung des Calix[4]aren-Catenan-Dimersystems

### 4.1 Einführung

Calix[ $n$ ]arene sind zyklische Oligomere, die sich durch Kondensation von Formaldehyd mit  $p$ -Alkylphenol in einem basischen Medium darstellen lassen [77][78].  $n$  gibt hierbei die Zahl der Monomereinheiten an (Abbildung 4.1).

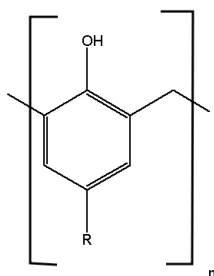


Abbildung 4.1: Monomereinheit eines Calix[ $n$ ]arens.

Die Eigenschaften der Calix[ $n$ ]arene lassen sich nicht nur durch die Wahl der Zahl der Monomereinheiten  $n$ , sondern auch durch den Substituenten R steuern. Calix[ $n$ ]arene sind in der Komplexchemie relevant, da sie durch geeignete Wahl der Größe (Anzahl der Monomereinheiten) und der Substituenten (R bzw. durch Substitution der Hydroxylgruppe) eine Vielzahl von Molekülen komplexieren können. Beispielsweise können mit  $R=CH_3$  Caesiumionen gebunden werden. Wird das Calix[ $n$ ]aren mit Sulfonamidgruppen substituiert, können verschiedene Anionen komplexiert werden. Da die Wahl der Substituenten auch das Lösungsverhalten der Calix[ $n$ ]arene in verschiedenen Lösungsmitteln bestimmt, stellen Calix[ $n$ ]arene eine sehr flexible Stoffgruppe in der Komplexchemie dar [78][79][80][81]. Darüber hinaus gibt es Bemühungen, substituierte Calix[ $n$ ]arene als selektive Sensoren zu benutzen [82].

In der vorliegenden Arbeit wurden Calix[4]arene untersucht, die mit Harnstoffgruppen substituiert sind. Im Dimer ordnen sich die beiden Monomere so an, dass die Harnstoffgruppen ein kreisförmiges Netzwerk aus Wasserstoffbrückenbindungen bilden. Abbildung 4.2 zeigt das Dimer von der Seite (links) und von oben (rechts).

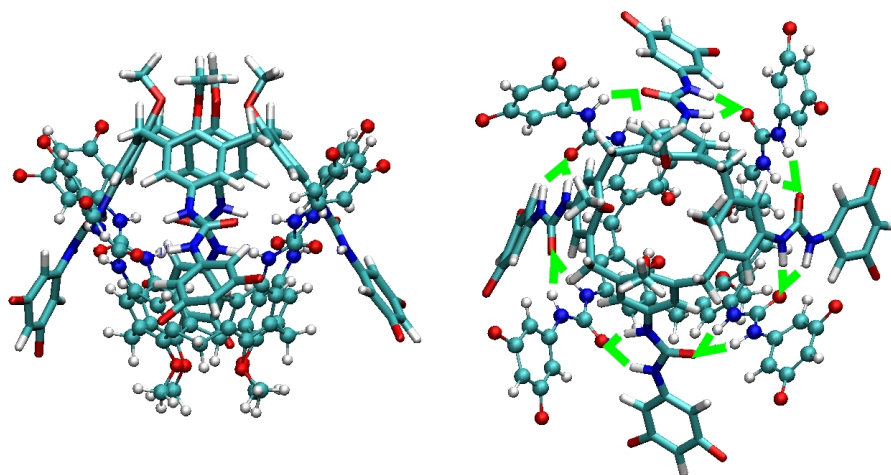


Abbildung 4.2: Stabmodell eines Dimers aus zwei, mit Harnstoffgruppen substituierten Calix[4]arenen, links in einer Seitenansicht, rechts von oben. Für die bessere Unterscheidbarkeit sind die beiden Monomere unterschiedlich dargestellt. Auf der rechten Seite sind die relevanten Wasserstoffbrückenbindungen als grüne Linien eingezeichnet.

Es ergibt sich eine maximale Zahl von 16 Wasserstoffbrückenbindungen, da zwischen den benachbarten Paaren von Harnstoffgruppen, von denen es acht gibt, jeweils zwei Bindungen gebildet werden können. Das Calix[4]aren-Dimer ist daher ein ideales Modellsystem für einen Adhäsionscluster unter dem Einfluss eines mechanischen Zuges. In Experimenten wird mittels einer Feder eine externe Kraft an das System angelegt. Durch die externe Kraft wird das Dimersystem zunächst gestreckt. Ist die Kraft ausreichend groß, kann das Öffnen der Wasserstoffbrückenbindungen und schließlich die Dissoziation des Dimers beobachtet werden. Fehlt die Stabilisierung durch die Wasserstoffbindungen, kann sich die Feder entspannen und der Abstand der beiden Monomere vergrößert sich schlagartig. Durch die große Entfernung der beiden Monomere wird eine Rückbindung der Wasserstoffbindungen verhindert. Der Übergang von der geschlossenen zur offenen Struktur ist somit irreversibel, da er nicht umgekehrt werden kann.

Möchte man jedoch auch Rückbindungsereignisse beobachten, muss die vollständige Separation der beiden Monomere verhindert werden. Dies lässt sich erreichen, in dem man beispielsweise verschlaufte Alkylketten in das System einführt. Im Calix[4]aren-Catenan-Dimer sind diese Ketten jeweils an den Sauerstoffatomen der äußeren Benzolringe gebunden, siehe Abbildung 4.3. Diese sind so angeordnet, dass die Alkylketten der verschiedenen Monomere verschlauft sind, ähnlich zweier ineinander geschlungener Ringe. Allgemein werden solche Systeme, die aus mehreren Monomeren bestehen, die ineinander geschlungen sind und somit nicht getrennt werden können, als Catenane bezeichnet [83]. In den geschlossenen Strukturen stehen die Alkylketten orthogonal zur Verbindungsachse der beiden Monomere, weshalb man davon ausgehen kann, dass sie das Netzwerk der Wasserstoffbrückenbindungen nur in geringem Maße beeinflussen. Dissoziiert das Dimer, können sich die beiden Monomere maximal soweit entfernen, bis die Alkylketten gestreckt sind. Eine weitere Separation wird durch die sterische Abstoßung zwischen den Ketten verhindert. Da die beiden Monomere nun, in Abhängigkeit der Kettenlänge, in relativer Nähe zueinander stehen, sind Rückbindungen prinzipiell möglich, wenn die externe Kraft wieder verringert wird. Solch ein System wird als reversibel bezeichnet, da der Übergang von einer Struktur (geschlossen) zur anderen (gestreckt) wieder rückgängig gemacht werden kann.

Im Folgenden wird das Calix[4]aren-Catenan allgemein mit dem Begriff Calixaren abgekürzt.

In einer experimentellen Arbeit untersuchten M. Janke *et al.* [27] zwei verschiedene Calixaren-Systeme mit Hilfe dynamischer Kraftspektroskopie. Zum Einen wurde das sogenannte Bis-Loop System untersucht. In diesem sind an jedes Monomer jeweils zwei Alkylketten mit 20 CH<sub>2</sub>-Einheiten gebunden. Das andere System wird als Tetra-Loop bezeichnet, da hier an jedes Monomer vier kürzere (14 CH<sub>2</sub>-Einheiten) Alkylketten gebunden sind. Beide Dimersysteme sind in Abbildung 4.3 schematisch dargestellt.

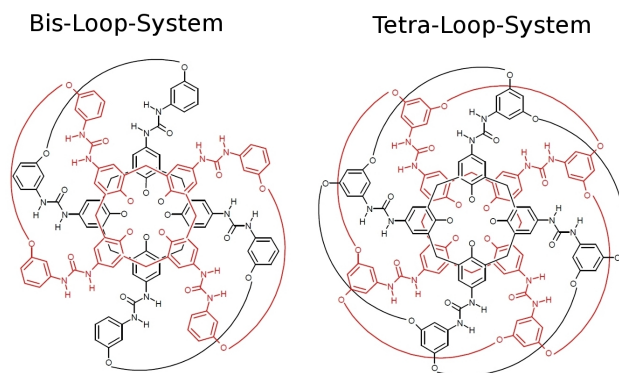


Abbildung 4.3: Schematische Darstellung der Struktur der beiden Dimersysteme. Die Alkylketten sind durch geschwungene Linien angedeutet und bestehen jeweils aus 20 (Bis-Loop) bzw. 14 CH<sub>2</sub>-Einheiten (Tetra-Loop). Die einfach gebundenen Sauerstoffatome im inneren Ring stehen jeweils für eine Methoxygruppe (-OCH<sub>3</sub>).

Experimentell wird beim Anlegen einer externen Kraft an das Tetra-Loop System ein einzelner Übergang beobachtet, der den End-zu-End-Abstand des Systems vergrößert [27]. Im Fall des Bis-Loop Systems legen die Verteilungen der Abstandsänderungen und Abrisskräfte nahe, dass es bei diesem System zwei gestreckte Strukturen mit unterschiedlichen Abständen zwischen den Monomeren gibt und somit ein Intermediat beobachtet wird. Mit Hilfe von MD Simulationen und stochastischer Modellierung konnte die Existenz des Intermediates bewiesen werden. Startet man nun von einem gestreckten System und reduziert die externe Kraft langsam, in dem man die Zugrichtung umkehrt, bewegen sich die beiden Monomere wieder aufeinander zu und es können Übergänge zurück zur Anfangsstruktur beobachtet werden. Im Fall des Bis-Loop Systems wurde hierbei ein Hystereseeffekt beobachtet, dessen Größe von der Laderate<sup>1</sup> abhängt. Das heißt, dass die gemessenen Rückbindungskräfte kleiner sind als die Abrisskräfte, wobei die Differenz dieser beiden Kräfte mit steigender Laderate zunimmt. Diese Hysterese wird auch in anderen reversibel gebundenen Systemen beobachtet [88][89]. Überschreitet die Laderate einen kritischen Wert, wurden keine Rückbindungsereignisse beobachtet.

In der experimentellen dynamischen Kraftspektroskopie ist es lediglich möglich, die externe Kraft und indirekt die Änderung des End-zu-End Abstandes des Systems zu messen. Hieraus lassen sich zwar weitere Größen, wie die Übergangsraten oder Potentialbarrieren berechnen, strukturelle Details, beispielsweise die Zahl der Wasserstoffbrückenbindungen oder die relative Anordnung der Monomere zueinander, können auf diese Weise jedoch nicht untersucht werden. In der experimentellen Arbeit konnte auch nicht geklärt werden, auf welche Art das Intermediat des Bis-Loop Systems stabilisiert wird. MD Simulationen können zur Aufklärung dieser Fragen beitragen, da diese die Dynamik des Systems auf atomarer Ebene modellieren und somit die Messung von Observablen ermöglichen, die experimentell nicht zugänglich sind. Kapitel 4.2 beschäftigt sich mit der

<sup>1</sup>Die Laderate ergibt sich aus dem Produkt der Zuggeschwindigkeit und der Kraftkonstante der Feder, die für den mechanischen Zug verantwortlich ist.

detaillierte Analyse der beiden Systeme, die mit Hilfe von MD Simulationen untersucht wurden. In diesem Zusammenhang soll auf die Dynamik der Systeme und deren Unterschiede eingegangen werden.

Während man bei der experimentellen Kraftspektroskopie auf Zeitskalen im Millisekunden- bis Sekundenbereich arbeitet, ist man in MD Simulationen auf eine Zeitskala von einigen hundert Nanosekunden beschränkt. Dies hat zur Folge, dass in Zugsimulationen Zuggeschwindigkeiten verwendet werden müssen, die 6 oder mehr Größenordnungen größer sind als im Experiment. Wie bereits in Kapitel 2.3.2 angesprochen wurde, verhindert dieser Umstand einen direkten Vergleich der Abrisskräfte zwischen den Experimenten und Simulationen.

Auf der anderen Seite ist bekannt, dass die Ergebnisse von MD Simulationen vom verwendeten Kraftfeld<sup>2</sup> abhängen. Allgemein kann die Genauigkeit von Kraftfeldern auf etwa 1-3 kcal/mol für Wechselwirkungsenergien abgeschätzt werden [35]. Da Wasserstoffbrückenbindungen in solvatisierten Biomolekülen eine Energie von etwa 0.5-2 kcal/mol aufweisen [9], ist es offensichtlich, dass die quantitativen Ergebnisse von MD Simulationen vom gewählten Kraftfeld abhängen. Beispielsweise bevorzugen manche Kraftfelder bei der Simulation von Proteinen bestimmte sekundäre Strukturelemente, wie die  $\alpha$ -Helix oder das  $\beta$ -Faltblatt [36][37][38][39]. Für kleine Proteine ist es möglich, die Faltung unter Gleichgewichtsbedingungen zu simulieren. Hier ist zu beobachten, dass der Faltungspfad von der Wahl des Kraftfeldes abhängen kann, selbst wenn verschiedene Kraftfelder die native und entfaltete Struktur des Proteins korrekt beschreiben [84].

Zur Untersuchung des Bis- und Tetra-Loop System wurde nur ein einzelnes Kraftfeld verwendet. Um nun die Genauigkeit der MD Simulationen abschätzen zu können, wurden die Simulationen für das Tetra-Loop System mit zwei weiteren Kraftfeldern wiederholt. In Kapitel 4.3 werden die Ergebnisse der drei Kraftfelder verglichen und auftretende Unterschiede diskutiert. Weiterhin ist solch eine Studie wünschenswert, da der Einfluss von Kraftfeldern auf Nichtgleichgewichtssimulationen, in denen das Gleichgewicht durch eine externe mechanische Wechselwirkung gestört wird, noch nicht untersucht wurde.

Bevor die Ergebnisse der MD Simulationen vorgestellt und diskutiert werden, wird erläutert wie die MD Simulationen durchgeführt wurden. Im Folgenden sollen die Simulationen, bei denen das System gestreckt wird als *pull-mode* Simulationen und die bei denen es wieder zusammen gedrückt wird, als *relax-mode* Simulationen bezeichnet werden.

#### 4.1.1 Durchführung der MD Simulationen

In diesem Kapitel soll die Durchführung der Simulationen erläutert werden, wobei nur die Parameter, die eine tatsächliche physikalische Relevanz haben, vorgestellt werden. Zu diesen Parametern zählen beispielsweise die Temperatur und der Druck bei der die Simulation durchgeführt wurde. Die rechen-technischen Details, wie die Kraftfeldparameter und die verwendeten Algorithmen, werden im Anhang C.1 vorgestellt, da diese wenig zur Analyse der Ergebnisse beitragen und nur benötigt werden, wenn man die Simulationen reproduzieren möchte.

Die MD Simulationen wurden mit dem GROMACS 4.0.7 [60] Programmpaket durchgeführt und das GROMOS G53a5 [85][86] Kraftfeld wurde verwendet. An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass es sich bei den Kraftfeldern der GROMOS-Familie um united-atom Kraftfelder handelt. Die aliphatischen Wasserstoffatome werden hier nicht explizit beschrieben, sondern mit den Kohlenstoffatomen, an die sie gebunden sind, zu einem artifiziellen Superteilchen zusammengefasst. Hierdurch lässt sich gegenüber Kraftfeldern, in denen alle Atome explizit beschrieben werden, die Teilchenzahl und somit der Rechenaufwand reduzieren. Der Zeitschritt, mit dem die Simulation durchgeführt wird, hängt von den schnellsten Bewegungen des Systems ab. Im Allgemeinen sind

---

<sup>2</sup>Als Kraftfeld bezeichnet man die Parameter, die die Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Teilchen beschreiben.

dies die Bindungsschwingungen. Da in den hier durchgeführten Simulationen die Bindungslängen konstant auf ihrem Gleichgewichtswert gehalten wurden, konnte ein Zeitschritt von 2 fs gewählt werden.

Zunächst wurden die Dimere in Mesitylen solvatisiert, da dieses Lösungsmittel auch in den Experimenten verwendet wurde. Zunächst wurde eine Energieminimierung durchgeführt, um eventuelle sterische Konflikte aufzulösen. Werden während der Solvatisierung Moleküle sehr nahe aneinander angeordnet, wirken zwischen den betreffenden Teilchen sehr große Kräfte. Da die MD Simulationen einen endlichen Zeitschritt verwenden, führen diese großen Kräfte zu großen Verschiebungen der Teilchen, wodurch sich wieder sehr kleine Teilchenabstände ergeben. Im Endeffekt führt diese Kettenreaktion zu einer instabilen Simulation.<sup>3</sup>

Anschließend wurde das System an ein Wärmebad mit einer Temperatur von  $T = 300$  K gekoppelt. In einer zweiten Equilibrierungsphase wurde zusätzlich ein Barostat ( $p = 1$  bar) angekoppelt, um den Druck zu kontrollieren. Die anschließenden Produktions- bzw. Zugsimulationen, bei denen die Daten gesammelt wurden, erfolgten unter den gleichen Bedingungen und verwendeten die Endstruktur der zweiten Equilibrierungsphase als Anfangsgeometrie.

Abbildung 4.4 zeigt die für die Zugsimulation relevanten Gruppen und verdeutlicht, wie die externe Kraft angelegt wird.

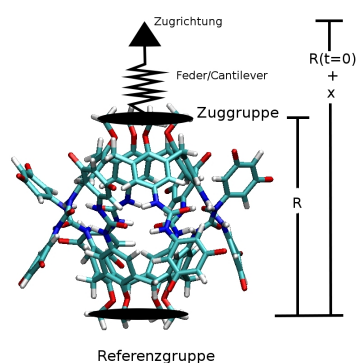


Abbildung 4.4: Stabmodell des Calixarens (ohne die Alkylketten) und schematische Darstellung der Zugsimulation. Der Massenschwerpunkt, der vier Methoxykohlenstoffatome (schwarze Ovale) entspricht jeweils der Referenz- bzw. Zuggruppe. In der Zugsimulation wird an die Zuggruppe das externe Potential angelegt, das zu der gemessenen Kraft führt. Dieses Potential wirkt relativ zur Referenzgruppe, die für den Zug als ortsfest angenommen wird.

Die für die Zugsimulation relevanten Gruppen sind die Referenz- und die Zuggruppe. Beide werden durch den Schwerpunkt der vier Methoxykohlenstoffatome eines Monomers definiert. Die Referenzgruppe wird in der Zugsimulation als ortsfest betrachtet und entspricht somit der Oberfläche, an der das Molekül im Experiment gebunden ist. An die Zuggruppe wird ein zeitabhängiges harmonisches Zugpotential angelegt. Im Experiment entspricht dieses beispielsweise dem Cantilever eines Kraftmikroskops. Die Kraft, die auf die Zuggruppe bzw. die Feder wirkt, ist durch

$$F = k_c(vt - z) \quad (4.1)$$

<sup>3</sup>Nutzt die Simulation konstante Bindungslängen, kann der Algorithmus in solch einem Fall die Bindungslängen nicht wieder auf ihren konstanten Wert setzen. Doch auch die Verwendung von flexiblen / harmonischen Bindungen führt zu Problemen, da sich die Bindungslängen sukzessive vergrößern würden. Die große Kraft führt zu einer Verschiebung der Teilchen, die in einer noch größeren Bindungslänge resultiert. Die Kraft, die sich aus der neuen Anordnung ergibt, ist größer als die Kraft im vorigen Simulationsschritt, und im nächsten Schritt ergibt sich eine noch größere Bindungslänge.

gegeben, wobei  $z = R(t) - R(t = 0)$  die Verschiebung der Zuggruppe von ihrer ursprünglichen Position und somit die Änderung des End-zu-End Abstandes angibt. Hierbei entspricht  $k_c$  der Kraftkonstante des Potentials und  $v$  der Zuggeschwindigkeit. In den hier durchgeführten Simulationen wurde durchgehend die Kraftkonstante  $k_c = 830.5$  pN/nm und die Zuggeschwindigkeiten  $v = 10, 1$  und  $0.1$  m/s verwendet. Hiermit ergeben sich Laderaten in der Größenordnung  $\mu = k_c \cdot v = 10^{11} - 10^{13}$  pN/s. Dies sind typische Werte für Zugsimulationen [66]. Für die kleinste Zuggeschwindigkeit ( $v = 0.1$  m/s) wurden 50 Zugsimulationen und für die anderen beiden Geschwindigkeiten jeweils 100 Simulationen durchgeführt. Um alle Übergänge zu beobachten, wurde mit absteigender Zuggeschwindigkeit für 0.5, 3 und 25 ns simuliert. Für die relax-mode Simulationen wurde jeweils die Endstruktur einer pull-mode Simulation als Anfangsgeometrie gewählt und die gleiche Simulationszeit wie bei den pull-mode Simulationen verwendet.

Bevor die Ergebnisse der Simulationen besprochen werden, sollen zunächst noch zwei wichtige Abstände definiert werden, siehe hierzu auch Abbildung 4.4. Der Abstand zwischen der Referenz- und der Zuggruppe wird als End-zu-End Abstand bezeichnet und mit  $R$  abgekürzt, wobei auf eine explizite Angabe der Zeitabhängigkeit verzichtet wird. Der andere Abstand  $x = vt$  beschreibt die Bewegung des Ursprungs des Zugpotentials bzw. der Feder und dient als Kontrollparameter. Aus diesem Grund erfolgt in den meisten Abbildungen der Resultate die Auftragung der gemessenen Größen gegen  $x$  anstatt gegen die Zeit. Des Weiteren hat diese Auftragung den Vorteil, dass sich die Ergebnisse bei unterschiedlichen Zuggeschwindigkeiten direkt vergleichen lassen. Durch die logarithmische Abhängigkeit der mittleren Abrisskraft von der Zuggeschwindigkeit, siehe Gleichung (2.69), liegen die Abrisskräfte verschiedener Zuggeschwindigkeiten, die in dieser Arbeit beobachtet werden in der gleichen Größenordnung. Vernachlässigt man die Relaxation des Systems, ist diese Kraft durch  $F \approx k_c \cdot vt = k_c \cdot x$  gegeben. Eine Auftragung gegen die Zeit führt dazu, dass die Ergebnisse unterschiedlicher Zuggeschwindigkeiten auf unterschiedlichen Zeitskalen liegen. Durch eine Auftragung gegen  $x$  kann man dieses Problem umgehen. In den relax-mode Simulationen wird der Kontrollparameter von  $x_{\max} = vt_{\text{end}}$  zu 0 geändert, wobei  $t_{\text{end}}$  die Dauer einer Simulation angibt. Das heißt, dass die Abbildungen der pull-mode Simulationen von links nach rechts und die, der relax-mode Simulationen von rechts nach links zu lesen sind, wenn man der zeitlichen Entwicklung des Systems folgen will.

Um das Netzwerk der Wasserstoffbrückenbindungen zu untersuchen, benötigt man zunächst ein Kriterium, um zu entscheiden, ob eine Wasserstoffbrückenbindung vorliegt. Bei der Analyse wurde folgendes geometrisches Kriterium verwendet: Der Abstand zwischen dem Protonendonator (N) und dem Protonenakzeptor (O) musste kleiner als 0.35 nm sein und der Winkel zwischen den drei involvierten Atomen kleiner als  $30^\circ$ . Die Zahl der Wasserstoffbrückenbindungen ist in einem gewissen Rahmen relativ unabhängig von der Wahl dieser beiden Parameter. Getestet wurden Distanzen im Bereich 0.3-0.4 nm und Winkel zwischen  $25-40^\circ$ .

Im Folgenden werden die Wasserstoffbrückenbindungen im Allgemeinen als *H-Bindungen* und im Speziellen als *XY-Bindungen* bezeichnet, wobei *XY* die involvierten Gruppen kennzeichnet.

## 4.2 Vergleich zwischen dem Tetra-Loop und dem Bis-Loop System

### 4.2.1 Das Tetra-Loop System

Wird an das Tetra-Loop System eine externe Kraft angelegt, beobachtet man einen wohl definierten Übergang zu einer gestreckten Struktur. Dieser Übergang wird durch das Öffnen der H-Bindungen zwischen den Harnstoffgruppen der beiden Monomere (UU-Bindungen) begleitet. Die neue, gestreckte Struktur wird durch ein Netzwerk von H-Bindungen stabilisiert, die sich zwischen den Harnstoffgruppen und den Ethersauerstoffen bilden, die die Calixaren-Kelche mit den Alkylketten verbinden (UE-Bindungen). Die beiden Zustände des System lassen sich somit eindeutig über den End-zu-End Abstand  $R$  und die Art der stabilisierenden H-Bindungen charakterisieren. Im Folgenden soll der anfänglich geschlossene Zustand als  $C_T$ -Zustand und der gestreckte Zustand als  $O_T$ -Zustand bezeichnet werden. Abbildung 4.5 zeigt typische Strukturen, wie sie vor und nach dem Übergang zu beobachten sind.

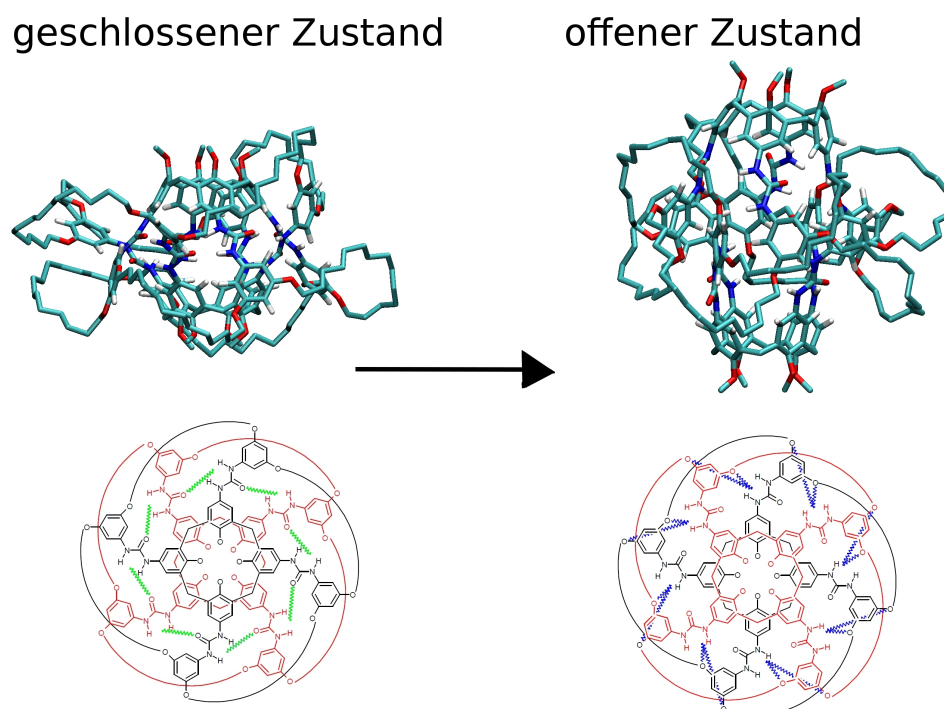


Abbildung 4.5: Typische Strukturen für den  $C_T$ -Zustand (oben links) und den  $O_T$ -Zustand (oben rechts) die vor bzw. nach dem Übergang zu beobachten sind. Die schematischen Abbildungen unter den Stabmodellen verdeutlicht die Natur der beiden H-Bindungsnetzwerke. Auf der linken Seite sind die UU-Bindungen in grün und rechts die UE-Bindungen in blau gezeigt, wobei zu beachten ist, dass pro Linie jeweils zwei H-Bindungen gebildet werden können.

Man erkennt deutlich, dass das System im  $C_T$ -Zustand eine kompaktere Struktur mit einem kleineren End-zu-End Abstand im Vergleich zum  $O_T$ -Zustand aufweist. Die Harnstoffgruppen ordnen sich im  $C_T$ -Zustand (Abb. 4.5, links) ringförmig an und bilden ein Netzwerk aus maximal 16 UU-Bindungen (grün; jeweils zwei H-Bindungen pro Linie). Im  $O_T$ -Zustand (Abb. 4.5, rechts) liegen die Harnstoffgruppen der beiden Monomere, bedingt durch den größeren End-zu-End Abstand, nicht mehr in einer Ebene und es können keine UU-Bindungen ausgebildet werden. Die Harnstoffgruppen eines Moleküls befinden sich jedoch auf gleicher Höhe wie die Ethersauerstoffe

des anderen Monomers und die UE-Bindungen (blau; jeweils zwei H-Bindungen pro Linie) können gebildet werden. Im Tetra-Loop System ist es zwar prinzipiell möglich, dass eine Harnstoffgruppe UE-Bindungen mit beiden Ethersauerstoffen eines Benzolrings ausbilden könnte, aus sterischen Gründen werden jedoch nur UE-Bindungen mit einem Sauerstoff beobachtet, weshalb sich eine maximale Anzahl von 16 UE-Bindungen ergibt. Bezüglich der UE-Bindungen sind die beiden Ethersauerstoffe eines Benzolrings nicht equivalent, da die Distanz der Wasserstoffatome der Harnstoffgruppen zu den Ethersauerstoffen unterschiedlich ist, siehe auch Abbildung 4.5. Im Allgemeinen ist die Unterscheidung zwischen den beiden Ethersauerstoffen bzgl. der UE-Bindungen uninteressant, weswegen eine detailliertere Betrachtung im Anhang A.1.2 erfolgen soll.

### Analyse einer einzelnen force probe Simulation

Im Folgenden sollen zunächst die Ergebnisse jeweils einer pull- und relax-mode Simulation bei der Zuggeschwindigkeit  $v = 0.1$  m/s vorgestellt werden. Für die anderen pull- und relax-mode Simulationen werden qualitativ ähnliche Ergebnisse gefunden.

Ergebnisse einer pull-mode Simulation:

Die folgende Abbildung 4.6 zeigt den Verlauf der externen Kraft (Kraftabstandskurve; rot) und des End-zu-End Abstandes (schwarz) als Funktion des Kontrollparameters  $x = vt$  für eine exemplarische pull-mode Simulation.

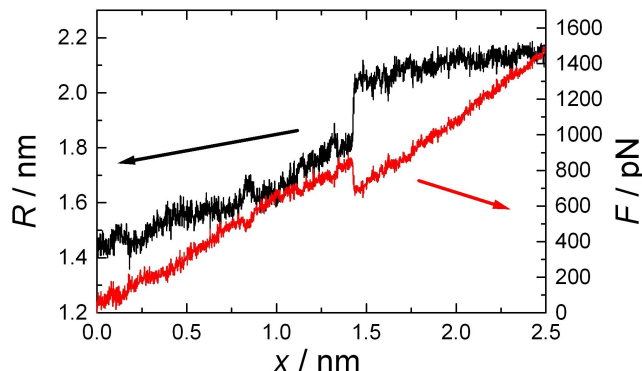


Abbildung 4.6: Gemessene Kraft  $F$  (rot) und End-zu-End Abstand  $R$  (schwarz) des Tetra-Loop Systems als Funktion von  $x$  mit der Zuggeschwindigkeit  $v = 0.1$  m/s.

Die Trajektorie lässt sich in zwei Bereiche unterteilen, wobei das Übergangsereignis bei 1.42 nm diese beiden Bereiche voneinander trennt. Im ersten Bereich steigt die Kraft zunächst linear an und das Dimer wird ausgehend von  $R = 1.45$  nm langsam gestreckt. In diesem Bereich befindet sich das System im  $C_T$ -Zustand und die UU-Bindungen halten die beiden Monomere zusammen. Nimmt man an, dass sich das System harmonisch verhält, wirkt die Kraft  $F = k_{\text{mol}}z$  auf das Dimer, wobei  $k_{\text{mol}}$  die molekulare Kraftkonstante des Dimers entlang der Zugrichtung beschreibt. Ist das System im Gleichgewicht, muss auf die Feder die gleiche Kraft, welche durch Gleichung (4.1) gegeben ist, wirken. Gleichsetzen beider Kräfte liefert für die Änderung des End-zu-End Abstandes in Abhängigkeit von  $x$

$$z = \frac{k_c}{k_c + k_{\text{mol}}}x. \quad (4.2)$$

Setzt man diesen Ausdruck in  $F = k_{\text{mol}}z$  ein, erhält man die Kraft als Funktion des Kontrollparameters

$$F = \frac{k_c \cdot k_{\text{mol}}}{k_c + k_{\text{mol}}} x = k_{\text{eff}} x. \quad (4.3)$$

Da sich in Abbildung 4.6  $R$  (somit auch  $z$ ) und  $F$  in erster Näherung linear ändern, kann das System in beiden Zuständen als harmonisch beschrieben werden.

Bei 1.42 nm ist eine kritische Kraft, die sogenannte Abrisskraft, erreicht und die UU-Bindungen öffnen sich (siehe Abbildung 4.7 für die Dynamik der H-Bindungen). Da nun die Stabilisierung der H-Bindungen fehlt, vergrößert sich der End-zu-End Abstand rapide auf  $R = 2.1$  nm und das System wechselt vom  $C_T$ -Zustand in den  $O_T$ -Zustand. Gleichzeitig beobachtet man eine plötzliche Verringerung der Kraft, da sich die Feder entspannen kann. Dies lässt sich auch anhand von Gleichung (4.1)  $F = k_c(x - z)$  nachvollziehen. Vergrößert sich  $R$  und somit  $z$  schneller als  $x = vt$ , muss die Kraft abnehmen.

Nach dem Abrissereignis folgen  $R$  und  $F$  wieder einem linearen Verlauf, wobei sich der End-zu-End Abstand nur noch wenig vergrößert. Für die Änderung des End-zu-End Abstandes in Abhängigkeit des Kontrollparameters gilt (Ableitung von Gleichung (4.2) nach  $x$ )

$$\frac{\partial R}{\partial x} = \frac{\partial z}{\partial x} = \frac{k_c}{k_c + k_{\text{mol}}}. \quad (4.4)$$

Durch die geringere Steigung von  $R$  im offenen Zustand im Vergleich zum geschlossenen Zustand kann man darauf schließen, dass das System im  $O_T$ -Zustand starrer ist und somit die molekulare Kraftkonstante größer ist. Der Unterschied zwischen den beiden Zuständen lässt sich wie folgt erklären: Zwar existieren in beiden Zuständen ähnlich viele H-Bindungen (siehe Abbildung 4.7), der offene Zustand wird jedoch zusätzlich durch die verschlauteten Alkylketten stabilisiert.<sup>4</sup> Im  $O_T$ -Zustand verhindern letztendlich die verschlauteten Alkylketten die weitere Dissoziation des Dimers, da die Bindungen innerhalb der Alkylketten in der Simulation nicht gebrochen werden können. Die UE-Bindungen stabilisieren den Zustand zwar, können aber eine komplette Dissoziation nicht verhindern, da H-Bindungen bei einer ausreichend großen externen Kraft prinzipiell geöffnet werden können. Da sich  $F$  und  $R$  im  $O_T$ -Zustand kontinuierlich vergrößern, kann man davon ausgehen, dass keine Konformationsänderungen geschehen, die die molekulare Kraftkonstante beeinflussen. Das heißt, die UE-Bindungen und die verschlauteten Alkylketten bestimmen die molekulare Kraftkonstante des  $O_T$ -Zustandes für alle Abstände gleichermaßen. Daher es findet kein Übergang statt, dass erst die UE-Bindungen und dann die Alkylketten (oder umgekehrt) für die Stabilität des Zustandes verantwortlich sind.

Abbildung 4.7 zeigt auf der linken Seite die zeitliche Entwicklung der UU-Bindungen (grün) und der UE-Bindungen (blau). Zusätzlich ist der Verlauf von  $R$  (schwarz) eingezeichnet, um die Kurven leichter mit Abbildung 4.6 vergleichen zu können. Auf der rechten Seite ist die Dynamik der einzelnen H-Bindungen zu erkennen, wobei Zahl der einzelnen H-Bindungen (0,1 oder 2) aufgetragen ist. Man erkennt deutlich, dass im  $C_T$ -Zustand bei kleinen Werten des Kontrollparameters  $x$  im Mittel 10-11 UU-Bindungen gefunden werden. Da nicht die volle Zahl der möglichen 16 UU-Bindungen ausgebildet wird, können sich bereits im  $C_T$ -Zustand 1-2 UE-Bindungen bilden. Streckt man das System, nimmt die Zahl der UU-Bindungen nahezu linear ab. Aus der detaillierten Auftragung (vgl. rechte Seite von Abbildung 4.7) kann man entnehmen, dass sich zunächst jeweils eine UU-Bindung eines Protonendonors öffnet. Die zweite Bindung öffnet sich erst zu einem wesentlich späteren Zeitpunkt und man kann annehmen, dass die zwei UU-Bindungen eine unterschiedliche Stabilität aufweisen. In Kristallstrukturen

<sup>4</sup>Bzgl. des  $C_T$ -Zustandes kann man in erster Näherung davon ausgehen, dass die Alkylketten nur einen geringen Einfluss auf die statischen und dynamischen Eigenschaften des Systems haben, da die Alkylketten nicht gestreckt sind.

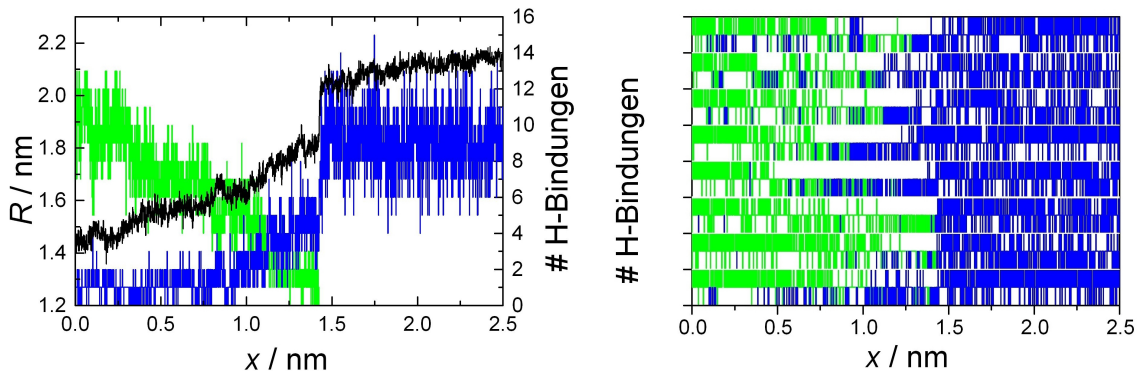


Abbildung 4.7: Links: Anzahl der UU- (grün) und UE-Bindungen (blau) als Funktion von  $x$ . Um den Vergleich mit Abbildung 4.6 zu vereinfachen, ist zusätzlich  $R$  (schwarz) eingezeichnet. Rechts: Dynamik der einzelnen H-Bindungen. Jeder Spur zeigt hier den Verlauf der UU- bzw. UE-Bindungen (null, eine oder zwei) eines Akzeptor-Donor-Paares.

des Tetra-Loop Systems werden für die N-O Abstände, die für die UU-Bindungen relevant sind, zwei unterschiedliche Abstände gemessen [34]. Somit kann die unterschiedliche Stabilität der beiden Bindungen erklärt werden. Ab  $x = 1.0$  nm existieren nahezu ausschließlich die starken UU-Bindungen und man beobachtet eine Zunahme der Zahl der UE-Bindungen.

Das Abrissereignis ist bei 1.42 nm deutlich durch das Öffnen der restlichen UU-Bindungen und durch einen großen Anstieg in der Zahl der UE-Bindungen zu erkennen. Im  $O_T$ -Zustand beobachtet man im Mittel etwa 10-11 UE-Bindungen. Deren Zahl bleibt im weiteren Verlauf des Zuges jedoch nahezu konstant, da sich der End-zu-End Abstand im offenen Zustand nur wenig ändert.

Dass die UU-Bindungen zwei unterschiedliche Bindungsstärken aufweisen, geht auch aus der Dynamik der Gesamtzahl der UU-Bindungen (Abbildung 4.7 links) hervor. Erdmann *et al.* untersuchten mittels kinetischer Monte-Carlo Simulationen starre Adhäsionscluster in einem zeitabhängigen Potential [87]. Hierbei wurde beobachtet, dass die Zahl der Bindungen zunächst nur langsam, nahe des Übergangereignisses jedoch rapide abnimmt. Da die Kraft sich über alle Bindungen gleichmäßig verteilt, steigt mit jedem Bindungsbruch die Wahrscheinlichkeit für den nächsten Bindungsbruch an, wodurch sich der in den Monte-Carlo Simulationen beobachtete Verlauf ergibt. Die abweichende, lineare Abnahme der Zahl der UU-Bindungen im Fall des Tetra-Loop Systems in den MD Simulationen lässt sich dadurch erklären, dass die Bindungen eine unterschiedliche Stabilität aufweisen. Zunächst öffnen sich nur die schwachen Bindungen und anschließend die stärkeren Bindungen. In Kapitel A.1.1 werden kinetische Monte-Carlo Simulationen vorgestellt, die ein einfaches Modell nutzen, um dieses Verhalten zu verdeutlichen.

Ergebnisse einer relax-mode Simulation:

Startet man von einer gestreckten Struktur des Tetra-Loop Systems und reduziert die angelegte Kraft langsam, indem man die Zugrichtung umkehrt, ist es möglich, eine Rückbindung in den  $C_T$ -Zustand zu beobachten. Abbildung 4.8 zeigt die gemessene Kraft und den End-zu-End Abstand in einer relax-mode Simulation (rot) bei einer Zuggeschwindigkeit von  $v = 0.1$  m/s. Zusätzlich sind die beiden Größen für die vorangegangene pull-mode Simulation aufgetragen (schwarz). Sieht man von der Hysterese im Bereich  $0.5 < x < 1.5$  nm ab, folgen  $R$  und  $F$  in der relax-mode Simulation dem Verlauf, der durch die pull-mode Simulation vorgegeben ist. Analog zur pull-mode Simulation, in der  $R$  und  $F$  monoton steigen, nehmen beide Werte in der relax-mode Simulation monoton ab. Dabei ändert sich der Betrag der Steigung für beide Größen

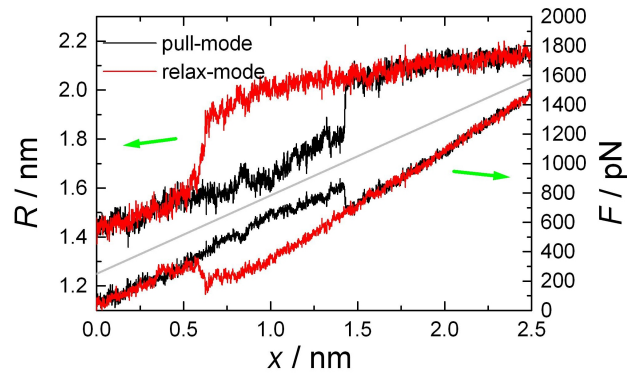


Abbildung 4.8: Auftragung der gemessenen Kraft (unterhalb der grauen Linie / rechts) und des End-zu-End Abstandes (oberhalb der grauen Linie / links) für eine typische pull-mode Simulation (schwarz) und der dazu gehörigen relax-mode Simulation (rot). Im Fall der pull-mode Simulation ist die Abbildung von links nach rechts zu lesen. Für die relax-mode Simulation gilt die umgekehrte Richtung.

nicht. Dies ist nicht verwunderlich, da der Reaktionspfad lediglich in umgekehrter Richtung durchlaufen wird. Würden die Kurvenverläufe voneinander abweichen, müssten die elastischen Eigenschaften der beiden Zustände von der Zugrichtung abhängen. Ähnlich wie beim Abrissereignis ändern sich  $R$  und  $F$  beim Rückbindungsereignis sprunghaft. Der End-zu-End Abstand verringert sich auf einen Wert, der auch im  $C_T$ -Zustand in der pull-mode Simulation beobachtet wird. Zum gleichen Zeitpunkt steigt die Kraft rapide an, da die Feder durch die Verringerung von  $R$  gespannt wird. Letztendlich ist dies der gleiche Effekt, der auch beim Abrissereignis beobachtet wird, nur in umgekehrter Richtung. Am Ende der relax-mode Simulation weist das System einen End-zu-End Abstand auf, der auch zu Beginn des pull-relax Zyklus beobachtet wurde. Man kann davon ausgehen, dass sich das System nicht nur im  $C_T$ -Zustand befindet, sondern dass auch eine Struktur gefunden wird, die ähnlich der Startgeometrie ist.

Auffallend ist, dass das Rückbindungsereignis nicht mit dem Abrissereignis zusammenfällt, sondern erst bei einem kleineren  $x$  auftritt. Diese Hysterese wird allgemein in reversibel gebundenen Systemen beobachtet [88][89]. Durch die Nichtgleichgewichtsnatur der Zugsimulationen nimmt die Abrisskraft mit steigender Laderate zu (vgl. Kapitel 2.3.2). Im Fall der relax-mode Simulationen nehmen die Rückbindungskräfte jedoch ab, da hier der Kontrollparameter  $x$  in umgekehrter Richtung geändert wird. Dies hat zur Folge, dass sich die Abriss- und Rückbindungskräfte und somit auch die Zeitpunkte (bzw. Werte von  $x$ ), zu denen die Übergangsereignisse auftreten, unterscheiden. Im Limit eines quasi-statischen Zuges sollten die beiden Kräfte im Mittel jedoch übereinstimmen, da sich das System zu jedem Zeitpunkt im Gleichgewicht befindet. Als Rückbindungskraft wurde die Kraft gemessen, die direkt nach dem Rückbindungsereignis wirkt. Durch diese Wahl wird die Änderung der Kraft beim Übergang herausgerechnet und die Kräfte lassen sich direkt miteinander vergleichen. Man kann als Rückbindungskraft auch die Kraft definieren, die direkt vor dem Rückbindungsereignis gemessen wird, da diese Kraft zum Zeitpunkt des Überganges wirkt und in die Übergangsrate einfließt. Beide Kräfte unterscheiden sich etwa um den Wert  $k_c \cdot \Delta R$ , wobei  $\Delta R$  die Änderung des End-zu-End Abstandes während des Übergangs angibt. Sieht man davon ab aus den Übergangskräften weitere Größen, wie beispielsweise die Übergangsraten, zu berechnen, ist die Unterscheidung der beiden Kräfte von kosmetischer Natur, da sich die Ergebnisse qualitativ nicht unterscheiden. In dieser Arbeit wurden die Rückbindungskräfte mit Hilfe der ersten Methode bestimmt.

Die zeitliche Entwicklung der Zahl der H-Bindungen in einer relax-mode Simulation ist in Abbil-

dung 4.9 gezeigt. Analog zu Abbildung 4.7 ist zusätzlich der End-zu-End Abstand eingezeichnet. Da es sich um eine relax-mode Simulation handelt, wird der Kontrollparameter von  $x = 2.5$  nm zu  $x = 0$  nm geändert. Die Abbildung muss folglich von rechts nach links gelesen werden, wenn man der zeitlichen Entwicklung der Simulation folgen will.

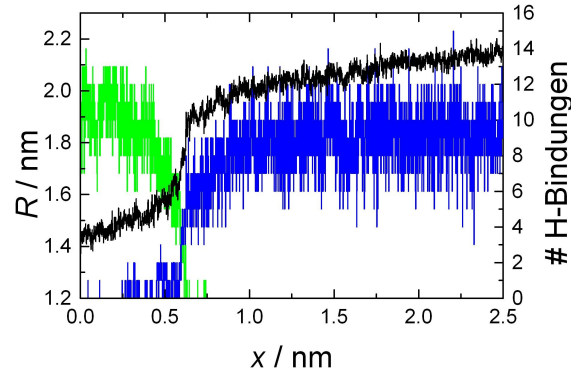


Abbildung 4.9: Zahl der UU- (grün), UE-Bindungen (blau) und der End-zu-End Abstand (schwarz) als Funktion des Kontrollparameters einer relax-mode Simulation.

Vergleicht man die zeitliche Entwicklung der UE-Bindungen in der relax-mode Simulation mit der der UU-Bindungen in der pull-mode Simulation, fällt auf, dass sich die Zahl der UE-Bindungen zunächst nur wenig ändert. Erst ab etwa  $x = 1.0$  nm verringert sich die Zahl der UE-Bindungen merklich und bei  $x \approx 0.6$  nm beobachtet man die sprunghafte Änderung, die den Übergang zum  $C_T$ -Zustand kennzeichnet. Diese nicht-lineare Abnahme der Zahl der Bindungen entspricht eher dem Verhalten, dass von Erdmann *et al.* in der Untersuchung von Adhäsionsclustern unter dem Einfluss einer mechanischen Spannung gefunden wurde [87]. Man kann daher annehmen, dass die einzelnen UE-Bindungen untereinander eine vergleichbare Stabilität aufweisen, im Gegensatz zu den UU-Bindungen, für die eine unterschiedliche Bindungsstärke festgestellt wurde. Während des Übergangs in den  $C_T$ -Zustand nimmt die Zahl der UU-Bindungen rapide zu. Auffallend ist, dass die Zahl der UU-Bindungen in der relax-mode Simulation zunächst sprunghaft zunimmt und sich nicht, wie in der pull-mode Simulation beobachtet, kontinuierlich ändert. Die Erklärung hierfür ist, dass beim Übergang in der relax-mode Simulation ein End-zu-End Abstand von etwa  $R = 1.6$  nm erreicht wird, wohingegen der Übergang in der pull-mode Simulation bei  $R \approx 1.8$  nm erfolgt. Hierdurch wird in der relax-mode Simulation ein Bereich von  $0.2$  nm des  $C_T$ -Zustandes übersprungen in dem nur wenige UU-Bindungen bestehen.

In der hier vorgestellten Simulation stimmt die Zahl der UU-Bindungen, die zu Beginn und am Ende des pull-relax Zyklus beobachtet werden, überein. Da für den End-zu-End Abstand Gleiches gilt, kann man davon ausgehen, dass am Ende der relax-mode Simulation eine Bindungsstruktur gefunden wird, die vergleichbar mit der Ausgangsstruktur ist. Dieser Fall tritt jedoch nicht in allen Simulationen ein. In einem Teil der Simulationen wird zwar ein Rückbindungsereignis beobachtet, der gemessene End-zu-End Abstand ist jedoch größer als  $1.45$  nm und es werden weniger als die 10-11 UU-Bindungen gemessen, die in der Startstruktur gefunden werden. In solchen Fällen kehrt das System zwar formal in den  $C_T$ -Zustand zurück, es wird dennoch nicht die optimale Bindungsstruktur gefunden. Der Anteil der Simulationen, bei denen am Ende des pull-relax Zyklus eine geringere Zahl der UU-Bindungen gemessen wird als zu Beginn der pull-mode Simulation, nimmt mit steigender Zuggeschwindigkeit zu und im Fall von  $v = 10$  m/s werden praktisch keine Rückbindungsereignisse beobachtet.

### Statistische Analyse der force probe Simulationen

Da die Abriss- und Rückbindungsübergänge zufällige Ereignisse sind, reicht es nicht aus, eine einzelne Trajektorie eines Zugexperimentes zu analysieren. Vielmehr muss die statistische Verteilung der beobachteten Größen über viele Experimente hinweg untersucht werden. Die naheliegendste Größe, die betrachtet werden kann, ist die Verteilung der Übergangskräfte. Aber auch eine Analyse der gemittelten Kraft oder des gemittelten End-zu-End Abstandes ist interessant. Aus der mittleren Kraft können die elastischen Eigenschaften des Systems abgeleitet werden und der mittlere End-zu-End Abstand gibt Auskunft über das Rückbindungsverhalten des Systems. In diesem Kapitel sollen diese Größen vorgestellt werden.

Abriss- und Rückbindungskräfte:

Abbildung 4.10 zeigt links die Übergangskräfte für die drei Zuggeschwindigkeiten. Da für die größte Zuggeschwindigkeit  $v = 10$  m/s keine Rückbindungsereignisse beobachtet wurden, fehlen die dazu gehörigen Kräfte in der Verteilung. Auf der rechten Seite sind die mittleren Übergangskräfte als Funktion der Zuggeschwindigkeit aufgetragen.

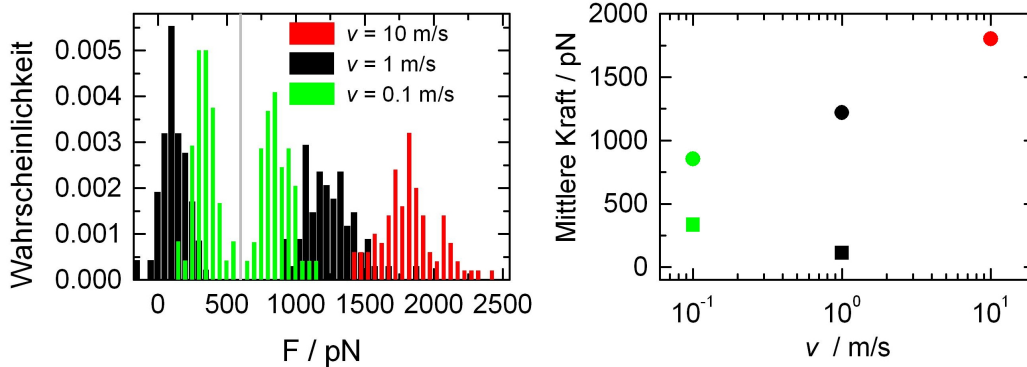


Abbildung 4.10: Linke Seite: Verteilung der Abriss- (rechts der grauen Linie) und Rückbindungskräfte (links der Linie) für verschiedene Zuggeschwindigkeiten. Rechte Seite: Auftragung der mittleren Übergangskräfte gegen die Zuggeschwindigkeit  $v$ , wobei die Abrisskräfte als Kreise und die Rückbindungskräfte als Quadrate dargestellt sind. Die mittleren Übergangskräfte wurden durch die Annäherung der jeweiligen Verteilung an eine Gaussverteilung erhalten.

Der generelle Trend der mittleren Übergangskräfte ist im Einklang mit der theoretischen Erwartung, dass die Abrisskräfte mit zunehmender Zuggeschwindigkeit steigen und die Rückbindungskräfte abnehmen [22][90]. Im Vergleich zu den experimentellen Abrisskräften des Bis-Loop Systems werden in den Simulationen Kräfte gemessen, die um eine Größenordnung größer sind. Des Weiteren ist der Anstieg der Abrisskraft als Funktion der Laderate, die proportional zur Zuggeschwindigkeit ist, wesentlich steiler als in den Experimenten. Experimentell beobachtet man eine Vergrößerung der Abrisskraft um 60 pN bei einer Änderung der Laderate um eine Dekade [27], wohingegen in den Simulationen eine Vergrößerung der Abrisskraft um 470 pN gefunden wird. Dieser Effekt wird auch bei anderen Systemen beobachtet [66] (vgl. Abbildung 2.6).

Für  $v = 1$  m/s werden teilweise negative Rückbindungskräfte gemessen. Relaxiert das Dimer langsamer als sich die Feder bewegt, kann der Term  $(z - vt)$  und somit die Kraft negativ werden. In diesem Fall wird das Dimer zusammengedrückt. Treten in diesem Bereich die Rückbindungsereignisse auf, werden ebenfalls negative Rückbindungskräfte gemessen. Ist die Hysterese sehr stark ausgeprägt, können die Rückbindungsübergänge zu Kräften verschoben werden, die nicht auf der Zeitskala der Simulation erreicht werden können und es werden somit

keine Rückbindungsereignisse beobachtet. Die Zeitskala einer relax-mode Simulation wird durch die Simulationszeit ( $t_{\text{end}}$ ) der vorangegangenen pull-mode Simulation bestimmt.

Mittlere Kraft  $\langle F \rangle$ :

Die gemittelten Kraftabstandskurven entsprechen der *dynamic strength*  $\langle F \rangle$  des Systems [88][91][92], die eine 'bulk'-Eigenschaft ist. Die Bestimmung dieser Größe ist vor allem für Zweizustandssysteme hilfreich, die nahe dem Gleichgewicht sind. In diesen Fällen können Fluktuationen die Bestimmung einzelner Übergänge und somit auch der Kraftverteilungen erschweren oder sogar ganz verhindern [93]. Im Fall von Adhäsionsclustern lassen sich die Übergänge der einzelnen Bindungen experimentell gar nicht beobachten. Durch stochastische Modellierung von  $\langle F \rangle$  und der Abrisskraft des Gesamtsystems kann jedoch auf die Stabilität der einzelnen Bindungen geschlossen werden. Des Weiteren ist es möglich, aus  $\langle F \rangle$  die elastischen Eigenschaften des Systems abzuleiten, da die Steigung  $\partial \langle F \rangle / \partial x$  einer effektiven Kraftkonstante entspricht. Diese setzt sich aus der molekularen Kraftkonstante des untersuchten Systems und der Kraftkonstante der Feder bzw. der Krümmung des Zugpotentials zusammen, vgl. Gleichung (4.3).

Abbildung 4.11 zeigt  $\langle F \rangle$  für alle drei Zuggeschwindigkeiten.

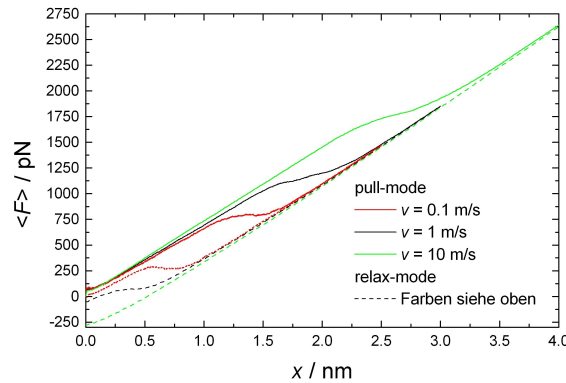


Abbildung 4.11: Gemittelte Kraftabstandskurven für alle drei Zuggeschwindigkeiten: Im Fall der pull-mode Simulationen wurden durchgehende Linien verwendet, bei den relax-mode Simulationen sind diese unterbrochen. Für die Zuggeschwindigkeit  $v = 10 \text{ m/s}$  (grün) wurden die Simulationen zwar bis  $x = 5 \text{ nm}$  durchgeführt, die Auftragung erfolgt jedoch nur bis  $x = 4 \text{ nm}$ , da sich im Bereich  $x = 4 - 5 \text{ nm}$  die Steigung der Kurven nicht ändert.

Insgesamt beobachtet man, dass die Steigungen der einzelnen Kurven ähnlich sind, und man kann davon ausgehen, dass die elastischen Eigenschaften der beiden Zustände nicht von der Zugrichtung und der Zuggeschwindigkeit abhängen. Dies wurde schon bei den individuellen Kurven beobachtet. Die Hysterese, die in den einzelnen Kurven und in den Verteilungen der Übergangskräfte zu beobachten ist, wird auch in den gemittelten Kraftabstandskurven gefunden. Im Gegensatz zu den individuellen Kraftabstandskurven, bei denen sich die Kraft beim Übergangsereignis sprunghaft ändert, beobachtet man in  $\langle F \rangle$  eine gleichmäßigere Änderung der Kraft zwischen den beiden linearen Regionen. Der Grund hierfür ist, dass der Übergang kein deterministisches sondern ein stochastisches Ereignis ist, weshalb eine Verteilung von Übergangsereignissen entsteht. Mittelt man nun über verschiedene Kraftabstandskurven, tritt das gemittelte Übergangsereignis als Plateau-artige Struktur auf. Da die Breiten der Verteilungen mit zunehmender Zuggeschwindigkeit steigen, beobachtet man in  $\langle F \rangle$  mit steigender Zuggeschwindigkeit eine stärkere Abweichung von der sprunghaften Änderung der Kraft.

Vergleicht man die gemessene Kraft am Anfang der pull-mode Simulation und am Ende der

relax-mode Simulation, erkennt man, dass diese nicht übereinstimmen und man mit steigender Zuggeschwindigkeit eine größere Differenz zwischen diesen beiden Kräften beobachtet. Der Grund hierfür wurde bereits bei der Diskussion der negativen Rückbindungskräfte besprochen. Da dieser Effekt auch für den mittleren End-zu-End Abstand gefunden wird, soll dieses Thema im nächsten Kapitel besprochen werden.

Mittlerer End-zu-End Abstand  $\langle R \rangle$ :

Abbildung 4.12 zeigt den mittleren End-zu-End Abstand  $\langle R \rangle$  des Systems. Im Gegensatz zu  $\langle F \rangle$  ist hier der gesamte Bereich des Kontrollparameters aufgetragen und man kann erkennen, dass auch für die größte Zuggeschwindigkeit (grün) die pull- und relax-mode Kurven bei großen Werten von  $x$  zusammenlaufen. Zusätzlich ist für die größte Zuggeschwindigkeit der Verlauf gezeigt, der sich ergibt, wenn die relax-mode Simulationen nicht bei  $x = 0$  nm abgebrochen, sondern bis  $x = -0.5$  nm fortgesetzt werden.

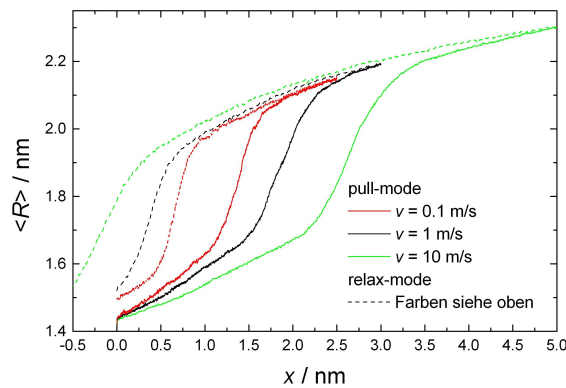


Abbildung 4.12: Mittlerer End-zu-End Abstand  $\langle R \rangle$  für alle drei Zuggeschwindigkeiten. Im Fall der pull-mode Simulationen wurden durchgehende Linien verwendet, bei den relax-mode Simulationen sind diese unterbrochen. Für die Zuggeschwindigkeit  $v = 10$  m/s (grün) wurden die Simulationen nicht bei  $x = 0$  nm abgebrochen, sondern bis  $x = -0.5$  nm fortgeführt.

Da  $R$  und  $F$  direkt über Gleichung (4.1) zusammenhängen, wird auch für  $\langle R \rangle$  eine Verbreiterung des Übergangereignisses beobachtet und es ergibt sich ein sigmoidaler Kurvenverlauf. Für die pull-mode Simulationen mit  $v = 10$  m/s (grün) findet man für  $\langle R \rangle$  bis etwa 1.7 nm ( $x \approx 2.25$  nm) einen linearen Verlauf. Für größere Abstände bzw. Werte des Kontrollparameters nimmt die Steigung stark zu und der Übergang zum  $O_T$ -Zustand findet statt. Das heißt, dass sich in den Zugsimulationen sich der  $C_T$ -Zustand über den Bereich  $R \approx 1.4 - 1.7$  nm erstreckt. Für die beiden kleineren Zuggeschwindigkeiten wird jeweils ein kleinerer End-zu-End Abstand beobachtet, bei dem die Kurve vom linearen Verlauf abweicht. Dies kann man damit erklären, dass bei einer kleineren Zuggeschwindigkeit die Energiebarriere um einen kleineren Betrag abgesenkt werden muss, damit thermisch aktivierte Übergänge möglich sind. Nach dem Bell-Modell steigt die mittlere Abrisskraft mit der Zuggeschwindigkeit an. Sieht man von Relaxationen des Systems ab, besteht zwischen der Kraft und dem Kontrollparameter der Zusammenhang  $F = k_c x$ . Daraus folgt, dass mit zunehmender Zuggeschwindigkeit, die Übergänge bei einem größeren Wert des Kontrollparameters stattfinden. Aus der relax-mode Simulation mit der Zuggeschwindigkeit  $v = 10$  m/s kann geschlossen werden, dass der  $O_T$ -Zustand ab einem End-zu-End Abstand von  $R > 1.9$  nm beobachtet wird.

Auffallend ist, dass für alle drei Zuggeschwindigkeiten am Ende der relax-mode Simulation ein größerer mittlerer End-zu-End Abstand als 1.45 nm beobachtet wird. Diese Differenz  $\langle \Delta R \rangle$  vergrößert

sich mit steigender Zuggeschwindigkeit. Im Fall der Zuggeschwindigkeit  $v = 10$  m/s beobachtet man  $\langle R(x=0) \rangle = 1.8$  nm, dieser Wert ist größer als der größte Abstand (1.7 nm), der im Mittel für den  $C_T$ -Zustand beobachtet wird. Führt man die relax-mode Simulation fort, ergibt sich bei  $x = -0.5$  nm ein mittlerer End-zu-End Abstand, der ähnlich dem ist, der für  $v = 1$  m/s bei  $x = 0$  nm gefunden wird. Dies bedeutet zunächst, dass für die größte Zuggeschwindigkeit im Mittel keine Rückbindungen in den  $C_T$ -Zustand auf der Zeitskala, die durch die pull-mode Simulation vorgegeben ist, beobachtet werden. Daher kann das System für diese Zuggeschwindigkeit als irreversibel betrachtet werden. Bei den Zuggeschwindigkeiten  $v = 0.1$  und  $1$  m/s kann man davon ausgehen, dass zwar der  $C_T$ -Zustand ( $R = 1.45 - 1.7$  nm) erreicht wird, das System aber nicht unbedingt die Bindungsstruktur einnimmt, die im Gleichgewicht (Abwesenheit einer externen Kraft) gefunden wird, da auch hier  $\langle \Delta R \rangle > 0$  ist. Die Gründe, warum kein Rückbindungsereignis eintritt ( $v = 10$  m/s), bzw. nicht immer die Gleichgewichtsstruktur erreicht wird ( $v = 0.1, 1$  m/s) sind die gleichen. In beiden Fällen verhindern entweder interne sterische Konflikte im Dimer oder Konflikte mit dem umgebenden Lösungsmittel<sup>5</sup> eine vollständige Rückbindung in den Ausgangszustand des Systems. Im Limit eines quasi-statischen Zuges würde man erwarten, dass in jedem Fall die Gleichgewichtsstruktur gefunden wird ( $\langle \Delta R \rangle = 0$ ), da beliebig viel Zeit bleibt, diese Konflikte aufzulösen. Zieht man mit einer endlichen Zuggeschwindigkeit, bleiben diese Konflikte unter Umständen bestehen und man beobachtet in diesen Fällen am Ende der relax-mode Simulation einen größeren End-zu-End Abstand als in der Anfangsstruktur und somit ist im Mittel  $\langle \Delta R \rangle > 0$ . Daher bietet sich  $\langle \Delta R \rangle$  an, um die Reversibilität des Systems bei gegebener Zuggeschwindigkeit qualitativ abzuschätzen.

- $\langle \Delta R \rangle \gg 0$ : Es werden keine Rückbindungen beobachtet  $\rightarrow$  das System ist vollständig irreversibel.
- $\langle \Delta R \rangle > 0$ : Es werden zwar Rückbindungen beobachtet, der End-zu-End Abstand ist im Mittel jedoch größer als bei der Anfangsstruktur zu Beginn der pull-mode Simulation  $\rightarrow$  das System ist reversibel.
- $\langle \Delta R \rangle \approx 0$ : Das System kehrt in die Ausgangsstruktur zurück  $\rightarrow$  das System ist vollständig reversibel.

Für eine quantitative Betrachtung reicht die Analyse von  $\langle \Delta R \rangle$  nicht aus, da durch die Mittlung die Differenz des End-zu-End Abstandes der individuellen Simulationen verloren geht. Abbildung 4.13 zeigt die Verteilung der End-zu-End Abstände  $p(R)$ , die am Ende der relax-mode Simulationen gefunden werden. Als Referenz (cyan) ist zusätzlich  $p(R)$  für eine Gleichgewichtssimulation gezeigt, in der keine externe Kraft angelegt wurde.

---

<sup>5</sup>Beispielsweise würde ein Lösungsmittelmolekül, das zwischen die beiden Calixaren-Kelche diffundiert, eine vollständige Annäherung verhindern.

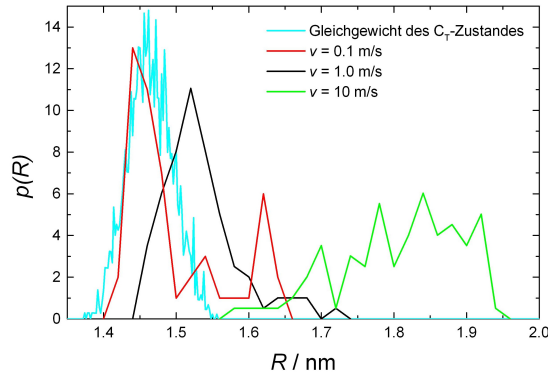


Abbildung 4.13: Verteilung  $p(R)$  der End-zu-End Abstände, wie sie am Ende der jeweiligen relax-mode Simulationen gefunden werden. Als Referenz (cyan) dient die Verteilung der Abstände, die in einer Gleichgewichtssimulation des Dimersystems gemessen werden.

Im Gleichgewicht beobachtet man für das Tetra-Loop System 1.55 nm als größten End-zu-End Abstand. Findet man am Ende einer relax-mode Simulation einen Abstand von  $R < 1.55$  nm, so befindet sich das System in einer Konformation, die auch im Gleichgewicht beobachtet wird und man kann diese Simulation als vollständig reversibel bezeichnen. In Tabelle 4.1 ist der Anteil der Simulationen, die diese Bedingung erfüllen quantifiziert. Man kann daher  $p_{\text{Rückb.}}$  als das Überlappungsintegral der Verteilung der Abstände in der Gleichgewichtssimulation mit der Verteilung der Abstände am Ende der relax-mode Simulationen auffassen. Im Fall von  $v = 0.1$  m/s erreicht der Großteil der relax-mode Simulationen (88%) eine Konformation, die auch im Gleichgewicht beobachtet wird. Mit steigender Zuggeschwindigkeit nimmt dieser Anteil immer weiter ab.

$v$ / m/s	$p_{\text{Rückb.}}$
0.1	0.88
1	0.73
10	0.0

Tabelle 4.1: Rückbindungswahrscheinlichkeit  $p_{\text{Rückb.}}$  der drei Zuggeschwindigkeiten.  $p_{\text{Rückb.}}$  ist definiert als der Anteil der Simulationen, die ein  $R$  am Ende der relax-mode Simulation aufweisen, dass auch in den Gleichgewichtssimulationen beobachtet wird und entspricht somit dem Überlappungsintegral dieser beiden Verteilungen. Die Verteilungen sind in Abbildung 4.13 aufgetragen.

Weist der End-zu-End Abstand einen Wert im Bereich von  $1.55 < R < 1.7$  nm auf, findet zwar ein Übergang in den  $C_T$ -Zustand statt, das System ist jedoch nicht vollständig reversibel, da keine Gleichgewichtsstruktur erreicht wird. Für die Zuggeschwindigkeiten  $v = 0.1$  und  $1$  m/s fallen nur wenige Simulationen in diesen Bereich und die Simulation endet in den meisten Fällen in einer Gleichgewichtsstruktur. Vergrößert man die Zuggeschwindigkeit weiter ( $v = 10$  m/s) finden zum Einen nur noch sehr wenige Übergänge in den  $C_T$ -Zustand statt und zum Anderen wird der Bereich, der durch die Gleichgewichtssimulation aufgespannt wird, überhaupt nicht erreicht. Somit ist das System bei dieser Zuggeschwindigkeit fast vollständig irreversibel.

Mittlere Zahl der H-Bindungen:

Wie bereits zu Anfang angesprochen, stellt das Netzwerk der H-Bindungen neben dem End-zu-End Abstand eine charakteristische Größe zur Unterscheidung des  $C_T$ - und  $O_T$ -Zustandes dar. Abbildung 4.14 zeigt den zeitlichen Verlauf der mittleren Zahl der H-Bindungen. Im Fall der UU-Bindungen erfolgt die Auftragung nur bis  $x = 3.5$  nm, da für größere Werte von  $x$  keine

UU-Bindungen beobachtet werden.

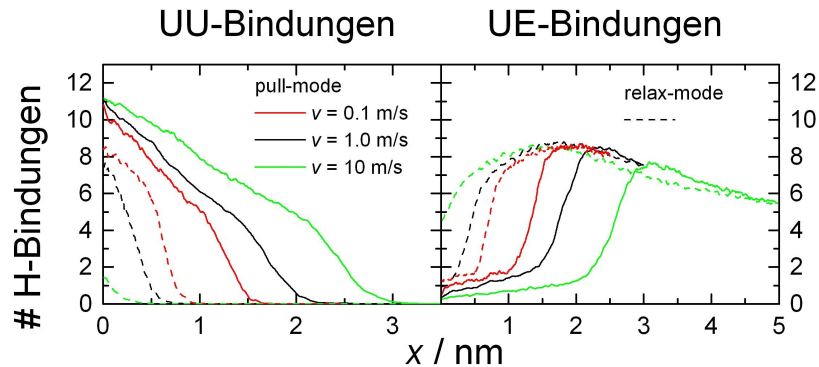


Abbildung 4.14: Mittlere Zahl der H-Bindungen als Funktion des Kontrollparameters: Auf der linken Seite ist die Zahl der UU-Bindungen und auf der rechten die der UE-Bindungen aufgetragen. Ähnlich wie bei den vorangegangenen Auftragungen für  $\langle F \rangle$  und  $\langle R \rangle$  kennzeichnen durchgezogene Linien die pull-mode und unterbrochene Linien die relax-mode Simulationen.

Auch im Fall der mittleren Zahl der H-Bindungen beobachtet man eine Verbreiterung des Übergangsereignisses gegenüber den individuellen Kurven und eine Hysterese zwischen den pull- und relax-mode Simulationen. Die Gründe für beide Effekte wurden bereits besprochen.

In den pull-mode Simulationen fällt auf, dass die Zahl der UU-Bindungen mit steigender Zuggeschwindigkeit langsamer abnimmt als bei einer kleineren Zuggeschwindigkeit. Dieser Effekt ist auf die logarithmische Abhängigkeit der Abrisskraft von der Zuggeschwindigkeit zurückzuführen, siehe Gleichung (2.69). Diese Beziehung gilt nicht nur für die Abrisskraft des Gesamtsystems, sondern auch für die einzelnen Bindungen [120]. Da die Abrisszeit proportional zur Abrisskraft ist und  $x = vt$  gilt, hat man für den mittleren Wert des Kontrollparameters, bei dem der Abriss erfolgt, die gleiche Abhängigkeit. Daher beobachtet man mit steigender Zuggeschwindigkeit das Öffnen der einzelnen H-Bindungen bei einem größeren Wert von  $x$  als bei einer kleineren Zuggeschwindigkeit. Erreicht die Zahl der UU-Bindungen einen Wert von 5, ändert sich die Steigung der Kurven ( $x \approx 1, 1.5$  und  $2.1$  nm). Zu diesem Zeitpunkt haben sich alle schwachen Bindungen geöffnet und das System wird nur durch die starken Bindungen stabilisiert. Wird das System weiter auseinander gezogen, nimmt die Zahl der UU-Bindungen weiterhin ab und die UE-Bindungen werden nun verstärkt gebildet. Für sehr große Werte von  $x$  beobachtet man wieder eine abnehmende Zahl von UE-Bindungen. Hierdurch kann man davon ausgehen, dass die UE-Bindungen den offenen Zustand zwar stabilisieren, die vollständige Separation der Monomere jedoch durch die Alkylketten verhindert wird. Wären diese Ketten länger, sollte es möglich sein, auch das Netzwerk der UE-Bindungen vollständig zu öffnen.

Zu Beginn der relax-mode Simulation schließen sich zunächst die wenigen UE-Bindungen, die sich am Ende der pull-mode Simulation öffneten. Im weiteren Verlauf der Simulationen nimmt die Zahl der UE-Bindungen wieder ab und die UU-Bindungen werden zurückgebildet. Ähnlich wie beim mittleren End-zu-End Abstand, bei dem zwischen der End- und Anfangsstruktur des pull-relax Zyklus die Differenz  $\langle \Delta R \rangle$  gemessen wird, bilden sich im Mittel nicht alle UU-Bindungen zurück. Im Fall der Zuggeschwindigkeit  $v = 10$  m/s beobachtet man im Mittel nur 2 UU-Bindungen, da es in einem Großteil der Simulationen zu keinem Rückbindungsereignis in den  $C_T$ -Zustand kommt. Für die anderen beiden Zuggeschwindigkeiten beobachtet man, dass mit abnehmendem  $v$  mehr UU-Bindungen zurückgebildet werden, da hier entsprechend kleinere  $\langle \Delta R \rangle$  gemessen werden. Daher kann die Zahl der zurückgebildeten UU-Bindungen eingesetzt werden, um die Reversibilität

des Systems zu charakterisieren. Da die Zahl der UU-Bindungen direkt von  $R$  abhängt, bietet diese Analyse gegenüber der, die  $\langle \Delta R \rangle$  nutzt keinen Vorteil.

### Zusammenfassung

Insgesamt kann das Tetra-Loop System als ein Zweizustandssystem beschrieben werden. Die beiden Zustände lassen sich durch den End-zu-End Abstand und die Art der involvierten Wasserstoffbrückenbindungen (UU/UE) unterscheiden. Durch das Anlegen einer externen Kraft können ausgehend vom geschlossenen  $C_T$ -Zustand Übergänge zum gestreckten  $O_T$ -Zustand beobachtet werden. Eine weitere Separation wird durch die Alkylketten verhindert. Im Gegensatz zu den Experimenten ist das System auf der Zeitskala der MD Simulationen jedoch nicht vollständig reversibel. Dies erkennt man deutlich an der zuggeschwindigkeitsabhängigen Hysterese und der Tatsache, dass in Abhängigkeit der Zuggeschwindigkeit nicht alle relax-mode Simulationen den  $C_T$ -Zustand erreichen.

Werden sehr große Kräfte an das System angelegt, ist festzustellen, dass ein Teil der UE-Bindungen, die den  $O_T$ -Zustand stabilisieren, geöffnet werden. Man kann daher erwarten, dass beim Bis-Loop System, das längere Alkylketten besitzt, eine vollständige Separation der beiden Monomere möglich ist.

## 4.2.2 Das Bis-Loop System

### Vorstellung des Systems

Das Bis-Loop System ist dem Tetra-Loop System recht ähnlich. Anstelle von 4 Alkylketten mit jeweils 14 CH<sub>2</sub>-Einheiten sind hier an jedes Monomer zwei Alkylketten gebunden, die jedoch länger sind und 20 CH<sub>2</sub>-Einheiten aufweisen. Experimentell wurde festgestellt, dass das Bis-Loop System drei und nicht zwei Zustände wie das Tetra-Loop System aufweist [27]. Ausgehend vom Tetra-Loop System kann man davon ausgehen, dass der geschlossene Zustand, der im Gleichgewicht vorliegt, durch UU-Bindungen stabilisiert wird und dass ein gestreckter Zustand existiert, für den UE-Bindungen relevant sind. Da die Alkylketten des Bis-Loop Systems länger als die des Tetra-Loop Systems sind, sollte es möglich sein die beiden Monomere weiter auseinander zu ziehen als im Tetra-Loop System. In diesem Fall sind die beiden Calix[4]aren-Monomere relativ weit voneinander entfernt und es sollten sich keine intermolekularen H-Bindungen ausbilden können. Diese Vermutungen wurden in den MD Simulationen bestätigt. Abbildung 4.15 zeigt typische Strukturen, die in den MD Simulationen gefunden werden sowie die involvierten H-Bindungen. Analog zum Tetra-Loop System verhindern auch im offenen Zustand des Bis-Loop Systems die Alkylketten die vollständige Dissoziation des Dimers.

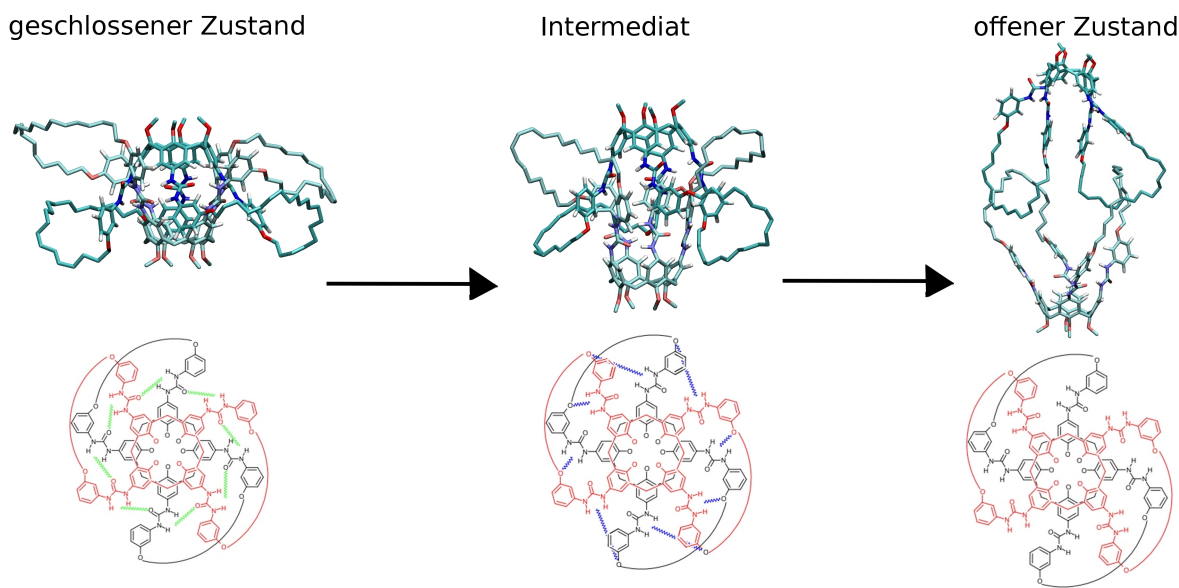


Abbildung 4.15: Typische Strukturen für das Bis-Loop System, sowie die relevanten Zustände. Von links nach rechts: geschlossener C<sub>B</sub>-Zustand, Intermediat I<sub>B</sub>-Zustand und offener O<sub>B</sub>-Zustand.

Für das Bis-Loop System wurden 50 Zugsimulationen mit einer Zuggeschwindigkeit von  $v = 0.1$  m/s und 100 Simulationen mit  $v = 1$  m/s durchgeführt. Analog zum Tetra-Loop System soll zunächst eine einzelne Trajektorie vorgestellt werden.

### Eine exemplarische Trajektorie

Abbildung 4.16 zeigt auf der linken Seite die Ergebnisse einer typischen pull-mode Simulation bei der Zuggeschwindigkeit  $v = 0.1$  m/s. Analog zum Tetra-Loop System ist oben die gemessene Kraft

(rot), unten die Zahl der H-Bindungen (grün/blau) und der End-zu-End Abstand  $R$  (schwarz) aufgetragen. Die rechte Seite der Abbildung zeigt den End-zu-End Abstand für das Bis-Loop System (schwarz) und den des Tetra-Loop Systems (rot), um die Gemeinsamkeiten der beiden Systeme aufzuzeigen.

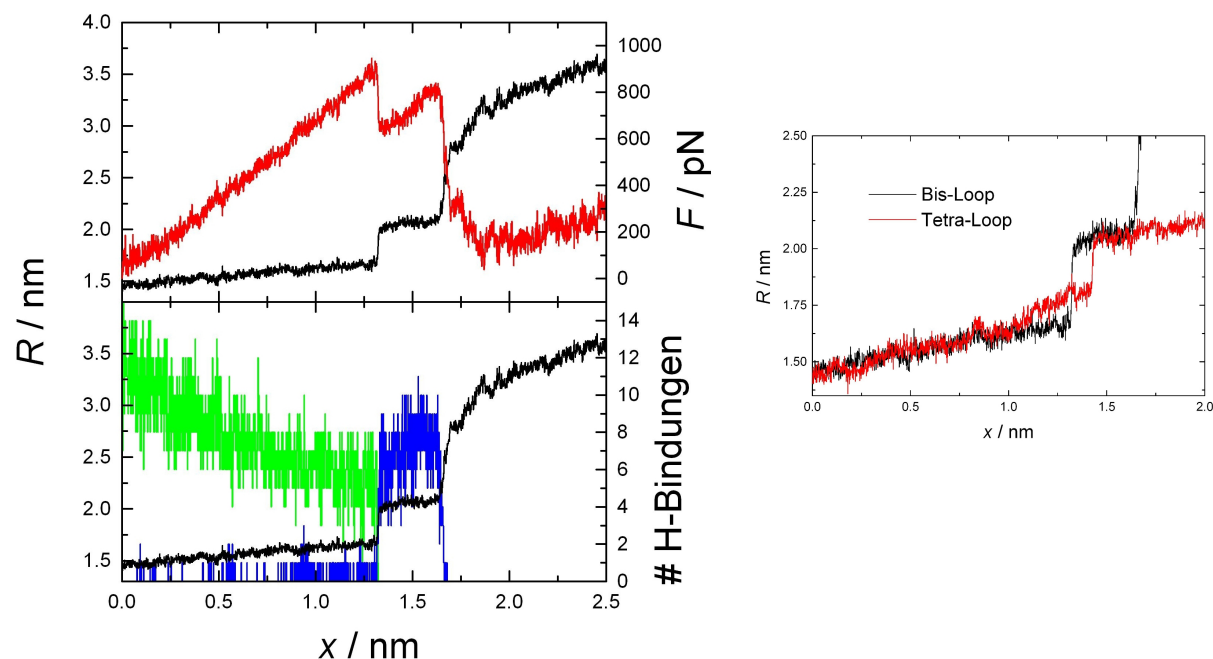


Abbildung 4.16: Links: Typische Trajektorie für das Bis-Loop System bei einer Zuggeschwindigkeit von  $v = 0.1$  m/s. In der oberen Abbildung sind die gemessene Kraft (rot; rechte Achse) und der End-zu-End Abstand (schwarz; linke Achse) dargestellt. Die untere Abbildung zeigt neben  $R$  (schwarz) die Anzahl der H-Bindungen (rechte Achse), wobei die UU-Bindungen grün und die UE-Bindungen blau dargestellt sind. Rechts: End-zu-End Abstand für das Bis-Loop (schwarz) und Tetra-Loop System (rot).

Ähnlich wie beim Tetra-Loop System ändert sich der End-zu-End Abstand zunächst nur langsam, wenn das System gestreckt wird. Auch im Fall des Bis-Loop Systems beobachtet man einen linearen Anstieg der Kraft und des Abstandes. Daher kann man annehmen, dass sich auch dieses System im geschlossenen Zustand ebenfalls harmonisch verhält. Im Gegensatz zum Tetra-Loop System beobachtet man nur für  $x < 0.75$  nm eine lineare Abnahme der Zahl der UU-Bindungen. Wird eine Zahl von 7-8 Bindungen erreicht, bleibt diese bis zum Abrissereignis im Mittel nahezu konstant. Auf der anderen Seite beobachtet man für das Bis-Loop System deutlich weniger UE-Bindungen im geschlossenen Zustand als beim Tetra-Loop System, da das Bis-Loop System nur halb so viele Ethersauerstoffe besitzt, die zur Ausbildung der UE-Bindungen benötigt werden. Bei  $x = 1.3$  nm findet der Übergang zum  $I_B$ -Zustand statt. Das Netzwerk der UU-Bindungen wird vollständig durch das Netzwerk der UE-Bindungen ersetzt und der End-zu-End Abstand vergrößert sich auf  $R = 2.1$  nm. Analog zum Tetra-Loop System beobachtet man einen Abfall der gemessenen Kraft, da sich die Feder um den Betrag entspannen kann, den das Dimer gestreckt wird. Im rechten Teil der Abbildung erkennt man, dass sich der  $I_B$ - und  $O_T$ -Zustand beide den gleichen End-zu-End Abstand aufweisen. Des Weiteren beobachtet man im weiteren Verlauf für beide Systeme nur einen kleinen Anstieg des Abstandes, wenn man vom zweiten Übergangereignis

im Fall des Bis-Loop Systems absieht. Da in beiden Systemen ein ähnlicher End-zu-End Abstand gefunden wird und beide Zustände durch UE-Bindungen stabilisiert werden, ist es naheliegend anzunehmen, dass der  $I_B$ - und  $O_T$ -Zustand ähnlich sind.

Da die Alkylketten im Fall des Bis-Loop Systems länger sind, ist ein weiterer Übergang möglich. Dieser wird bei etwa  $x = 1.65$  nm beobachtet. Die UE-Bindungen öffnen sich,  $R$  vergrößert sich ein weiteres mal und die Kraft nimmt rapide ab. Auffallend ist, dass für diesen zweiten Übergang eine kleinere Kraft benötigt wird als für den ersten. Man kann daher annehmen, dass das Netzwerk der UE-Bindungen eine ähnliche oder geringere Stabilität besitzt als die UU-Bindungen. Wären die UE-Bindungen stärker als die UU-Bindungen, müsste der zweite Übergang bei einer größeren Kraft erfolgen als der erste Übergang. In manchen Simulationen führt dies dazu, dass die beiden Übergangsereignisse nahe beieinander liegen und daher eine eindeutige Identifizierung des zweiten Übergangsereignisses erschwert wird. In diesen Fällen wird die Abrisszeit anhand des Öffnens der letzten UE-Bindung bestimmt.

Nach dem zweiten Übergangsereignis beobachtet man zwischen  $x = 1.7 - 1.8$  nm einen Bereich in dem die Kraft langsam abfällt. Der End-zu-End Abstand vergrößert sich hier schneller als im Bereich des  $C_B$ - oder  $I_B$ -Zustandes, jedoch langsamer als während eines Übergangs. In diesem Bereich ordnen sich die Alkylketten neu an, um eine weitere Separation der beiden Monomere zu ermöglichen. In Abbildung 4.15 ist dies gut zu erkennen. Im  $C_B$ - und  $I_B$ -Zustand ist die Anordnung der Alkylketten noch relativ ähnlich, wohingegen sich im  $O_B$ -Zustand eine komplett andere Anordnung ergibt.

Während der Umlagerung der Alkylketten ändert sich der Torsionswinkel  $\alpha$  der Calixaren-Kelche<sup>6</sup> im Bis-Loop System (schwarz) um etwa  $20-25^\circ$ , siehe Abbildung 4.17. Diese Änderung ist signifikant, da sich durch die Symmetrie des Systems der Torsionswinkel um maximal  $45^\circ$  ändern kann. In diesem Fall würden die Harnstoffgruppen der beiden Monomere nicht mehr in einer gestaffelten, sondern in einer ekliptischen Konformation zueinander stehen. Im Tetra-Loop System (rot) wird die Torsion der beiden Calixaren-Kelche durch die größere Zahl der Alkylketten stark eingeschränkt und  $\alpha$  ändert sich praktisch nicht.

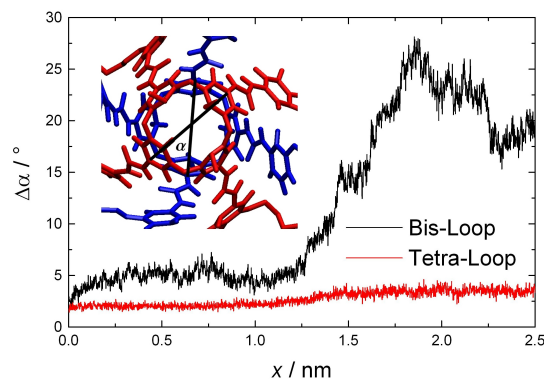


Abbildung 4.17: Änderung des Torsionswinkels  $\alpha$ . In der Abbildung ist die Änderung des Winkels gemäß  $\Delta\alpha = |\alpha - 45^\circ|$  aufgetragen, wobei die  $45^\circ$  dem Winkel im Gleichgewicht entsprechen.

Ist die Konformationsänderung abgeschlossen, steigt die gemessene Kraft wieder an und  $R$  ändert sich nur langsam. Analog zum Tetra-Loop System werden im offenen Zustand des Bis-Loop

<sup>6</sup>Zur Bestimmung des Torsionswinkels wurde zunächst für jedes Monomer der Vektor bestimmt, der zwei gegenüberliegende Kohlenstoffatome der Benzolringe verbindet, die sich zwischen den Harnstoff- und Methoxygruppen befinden. Anschließend wurden diese Vektoren bezüglich der Zugrichtung orthogonalisiert, so dass beide Vektoren in der Ebene liegen, die orthogonal zur Zugrichtung steht. Mit Hilfe dieser beiden Vektoren ist es möglich die Änderung des Torsionswinkels der beiden Calixaren-Kelche zu bestimmen.

Systems die Alkylketten gestreckt, die eine weitere Separation verhindern.

### Netzwerk der H-Bindungen

Für die Analyse des Netzwerks der H-Bindungen ist es von Vorteil, die Zahl der H-Bindungen statt gegen  $x$  gegen den End-zu-End Abstand des Dimers aufzutragen. Dies hat zum Einen den Vorteil, dass die Zahl der H-Bindungen direkt in Relation zu der Struktur des Systems gesetzt werden kann. Zum Anderen lassen sich auf diese Weise die Netzwerke der beiden Systeme direkt vergleichen. Aus den pull-mode Simulationen ist die Zahl der H-Bindungen und  $R$  als Funktion von  $x$  bekannt und beide Größen können gegeneinander aufgetragen werden. Abbildung 4.18 zeigt solch eine Auftragung, die aus der Mittlung aller pull-mode Simulationen mit einer Zuggeschwindigkeit  $v = 0.1$  m/s erhalten wird.

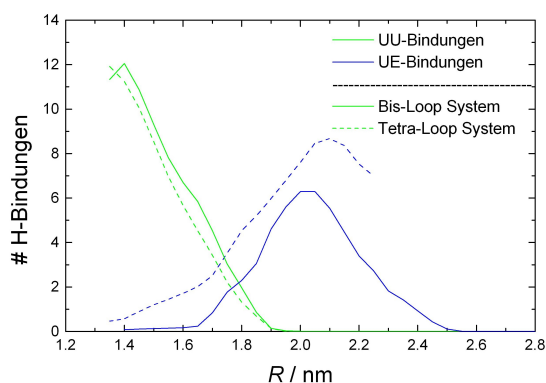


Abbildung 4.18: Auftragung der Zahl der H-Bindungen gegen den End-zu-End Abstand für das Bis-Loop (durchgezogene Linien) und das Tetra-Loop System (unterbrochene Linien) für die Zuggeschwindigkeit  $v = 0.1$  m/s. Analog zu den vorherigen Abbildungen sind die UU-Bindungen grün und die UE-Bindungen blau dargestellt.

Man erkennt deutlich, dass die Netzwerke der H-Bindungen für beide Systeme qualitativ ähnlich sind. In Bezug auf die UU-Bindungen beobachtet man im Mittel für das Bis-Loop System eine Bindung mehr als für das Tetra-Loop System. Der Grund hierfür ist, dass im geschlossenen Zustand des Tetra-Loop Systems leichter UE-Bindungen gebildet werden, die die Ausbildung der UU-Bindungen verhindern. Ab einem Abstand von 1.9 nm werden für beide Systeme keine UU-Bindungen beobachtet. Im offenen Zustand findet man für das Bis-Loop System im Durchschnitt 1-2 UE-Bindungen weniger als für das Tetra-Loop System. Dies ist zu erwarten, da im Bis-Loop System nur halb so viele Ethersauerstoffe vorhanden sind, die zur Ausbildung der UE-Bindungen benötigt werden. Für das Bis-Loop System findet man einen etwas kleineren End-zu-End Abstand (2.0 nm), bei dem die maximale Zahl der UE-Bindungen beobachtet wird als für das Tetra-Loop System (2.1 nm). Es ist anzunehmen, dass auch hierfür die unterschiedliche Zahl der Ethersauerstoffe in beiden Systemen verantwortlich ist. Eine ausführliche Analyse der Netzwerke der UE-Bindungen für beide Systeme würde an dieser Stelle jedoch zu weit führen, weswegen auf den Anhang A.1.2 verwiesen wird.

Bei  $R = 1.7$  nm bzw. 1.8 nm kreuzen sich die Kurven für die Zahl der UU- und UE-Bindungen im Fall des Tetra- bzw. Bis-Loop Systems. Mittelt man über die Abstände des geschlossenen und offenen Zustandes, bei denen jeweils die meisten H-Bindungen beobachtet werden (Tetra-Loop: 1.4 nm und 2.1 nm; Bis-Loop: 1.45 nm und 2.05 nm), erhält man für beide Systeme  $R \approx 1.75$  nm. Dieser Abstand weist nur eine geringe Abweichung von den Abständen auf, bei denen sich jeweils der Verlauf der UU- und UE-Bindungen kreuzt. Daher stellt dieser Abstand  $R \approx 1.75$

nm, auf Grundlage der H-Bindungen, den Übergang vom geschlossenen zum offenen bzw. intermediären Zustand dar und man kann annehmen, dass hier der Übergangszustand zu finden ist. In Referenz [27] wurde eine stochastische Modellierung des Bis-Loop Systems durchgeführt, wobei die experimentellen Ergebnisse als Grundlage dienten. Hierbei wurde geschätzt, dass der Abstand zwischen dem geschlossenen Zustand und dem Übergangszustand etwa 0.3 nm beträgt. In den MD Simulationen beobachtet man für den mittleren End-zu-End Abstand des Bis-Loop Systems  $R = 1.46$  nm und für die Position des Übergangszustands ergibt sich  $R \approx 1.76$  nm. Dies deckt sich mit den Abschätzungen aus den MD Simulationen.

### Potential of mean force

Eine andere Möglichkeit die Reaktionskoordinate zu charakterisieren stellt das *Potential of mean force* (PMF) dar. Dieses gibt die freie Energie des Systems entlang der Reaktionskoordinate an, siehe auch Kapitel 2.2. Für die Bestimmung wurde die thermodynamische Integration [2][65] verwendet. Hierbei generiert man Konfigurationen entlang der Reaktionskoordinate mit unterschiedlichem  $R$  und integriert die Kraft  $F_c$ , die nötig ist, um den entsprechenden End-zu-End Abstand konstant zu halten. Das PMF ist letztendlich durch

$$V_{\text{pmf}}(R) = - \int_R^{R_{\text{max}}} \left[ F_c(s) + \frac{2k_{\text{B}}T}{s} \right] ds$$

gegeben, wobei  $R_{\text{max}}$  den maximalen End-zu-End Abstand angibt.

Im Fall des Tetra-Loop Systems wurden Konfigurationen mit einem End-zu-End Abstand zwischen 1.2 und 2.3 nm in einem Intervall von 0.01 nm betrachtet. Um diese Konfigurationen zu erzeugen, wurde ausgehend von der Startgeometrie, die auch für die pull-mode Simulationen verwendet wurde, in beide Richtungen der Reaktionskoordinate mit einer Geschwindigkeit von  $\dot{R} = 0.1$  m/s gezogen. Nach einer Equilibrierungsphase von 1.2 ns wurden die Kräfte  $F_c$  über die nächsten 3 ns bestimmt. Um auszuschließen, dass das PMF von der Zugsimulation abhängt, die zur Generierung der Konfigurationen verwendet wurde, wurde das PMF dreimal, ausgehend von verschiedenen Zugsimulationen, bestimmt. Da die Unterschiede vernachlässigbar sind, zeigt Abbildung 4.19 die gemittelten Ergebnisse. Im Fall des Bis-Loop Systems wurde das PMF nur durch Konfigurationen bestimmt, die aus einer Zugsimulation erhalten wurden und es wurde ein größeres Intervall von 0.02 nm verwendet. Da sich das Bis-Loop System weiter strecken lässt als das Tetra-Loop System, wurden Konfigurationen mit einem maximalen End-zu-End Abstand von 3.75 nm generiert.

Da die freie Energie nur bis auf eine Konstante bestimmbar ist, wurden beide Kurven derart verschoben, dass  $V_{\text{pmf}}(R_{\text{eq}}) = 0$  gilt, wobei  $R_{\text{eq}}$  den Gleichgewichtsabstand des betreffenden Systems angibt. Man erkennt in Abbildung 4.19 deutlich, dass bis etwa 2.1 nm die PMFs der beiden Systeme praktisch identisch sind. Dies lässt sich durch die ähnliche Struktur der beiden Systeme erklären, vor allem wenn man bedenkt, dass beide Systeme durch die gleichen H-Bindungen stabilisiert werden, siehe Abbildung 4.18. Bei etwa 1.45 nm findet man für beide Systeme das globale Minimum im PMF. Dieser Abstand stimmt mit den Abständen überein, bei denen für beide Systeme jeweils die meisten UU-Bindungen beobachtet werden. Für größere  $R$  steigt das PMF zunächst an. Bei  $R = 2.0$  nm beobachtet man ein kleines Plateau, bei dem die Energie sich nur wenig ändert. Da bei diesem Abstand auch die meisten UE-Bindungen gefunden werden, kann man davon ausgehen, dass dieses Plateau dem  $I_{\text{B}}$ -Zustand bzw. dem  $O_{\text{T}}$ -Zustand entspricht. Ab etwa  $R = 2.1$  nm unterscheiden sich die PMFs der beiden Systeme. Für das Tetra-Loop System steigt die Energie stark an, da die kurzen Alkylketten gestreckt werden. Im Fall des Bis-Loop Systems beobachtet man einen kleineren Anstieg der Energie bis etwa 2.5 nm. In diesem Bereich werden die UE-Bindungen geöffnet, die das Intermediat stabilisieren. Um 2.5 nm beobachtet man ein Plateau, bei dem sich das PMF kaum ändert. In diesem Bereich ändert sich die Anordnung der

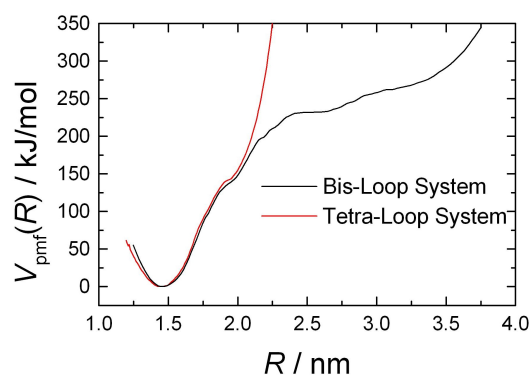


Abbildung 4.19: *Potential of mean force* für das Bis-Loop (schwarz) und Tetra-Loop System (rot).

Alkylketten. Für größere Abstände steigt die Energie wieder langsam an, da nun die Alkylketten gestreckt werden.

### Abrisskraftverteilung und Mittlere Kraft

Abbildung 4.20 zeigt die Verteilung der Abrisskräfte für das Bis-Loop System und zum Vergleich die Verteilungen des Tetra-Loop Systems.

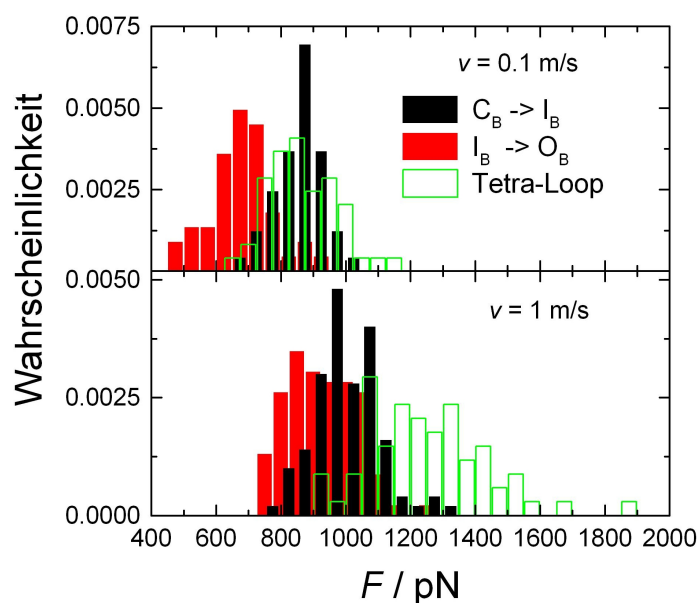


Abbildung 4.20: Verteilungen der Abrisskräfte. Im oberen Teil sind die Ergebnisse für die Zuggeschwindigkeit  $v = 0,1$  m/s und im unteren Teil für  $v = 1$  m/s gezeigt. Die Verteilungen der Kräfte für die  $C_B \rightarrow I_B$  Übergänge sind schwarz dargestellt, die für die  $I_B \rightarrow O_B$  Übergänge rot. Zusätzlich sind die Abrisskräfte des Tetra-Loop Systems (grün) angegeben.

Wie beim Tetra-Loop System steigen die Abrisskräfte mit der Zuggeschwindigkeit an. Die Abrisskräfte der beiden Übergänge des Bis-Loop Systems liegen sehr nahe beieinander, wobei die mittlere Abrisskraft für den  $C_B \rightarrow I_B$  Übergang größer ist als beim  $I_B \rightarrow O_B$  Übergang. Im Fall der Zuggeschwindigkeit  $v = 0,1$  m/s sind die Maxima der beiden Verteilungen scharf voneinander

getrennt, wohingegen die Verteilungen für  $v = 1$  m/s nahezu vollständig überlappen. Nach dem ersten Abrissereignis reduziert sich die Kraft um einen kleinen Betrag, da sich die Feder etwas entspannen kann. Im Fall der großen Zuggeschwindigkeit wird die Kraft schneller wieder aufgebaut als bei der kleinen Zuggeschwindigkeit. Dies hat zur Folge, dass für  $v = 1$  m/s größere Abrisskräfte für den zweiten Übergang beobachtet werden als für  $v = 0.1$  m/s und somit die Abrisskräfte für den ersten und zweiten Übergang sich ähnlicher sind.

Im vorangegangenen Kapitel wurde herausgearbeitet, dass der  $C_B$ - und  $C_T$ -Zustand bzw.  $I_B$ - und  $O_T$ -Zustand ähnlich sind, weswegen man davon ausgehen könnte, dass die Übergänge zwischen diesen Zuständen eine ähnliche Abrisskraftverteilung aufweisen. Für die Zuggeschwindigkeit  $v = 0.1$  m/s ist dies ebenfalls der Fall. Die mittlere Abrisskraft beider Systeme unterscheidet sich nur wenig. Im Fall der großen Zuggeschwindigkeit weist das Tetra-Loop System eine mittlere Abrisskraft auf, die etwa 200 pN größer ist als für das Bis-Loop System und die Verteilung ist fast doppelt so breit. Auf Grund der leicht unterschiedlichen Dynamik der UU- und UE-Bindungen der beiden Systeme ist eine prinzipielle Abweichung der Abrisskräfte vorstellbar, durch die statistischen Unsicherheiten ist jedoch keine Aussage darüber möglich, wie signifikant dieser Unterschied ist.

Abbildung 4.21 zeigt  $\langle F \rangle$  des Bis-Loop Systems für die beiden Zuggeschwindigkeiten. Als Referenz ist zusätzlich  $\langle F \rangle$  für das Tetra-Loop Systems für  $v = 0.1$  m/s (grün) eingezeichnet.

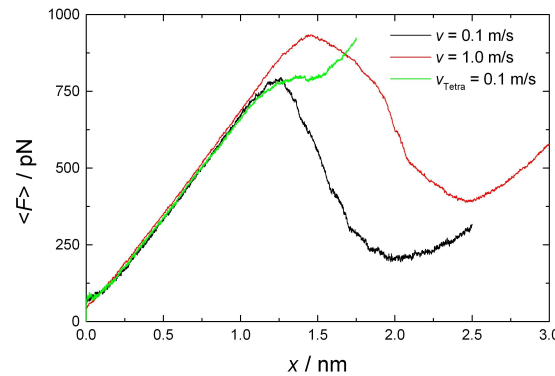


Abbildung 4.21: Mittlere Kraft  $\langle F \rangle$  des Bis-Loop Systems für  $v = 0.1$  m/s (schwarz),  $v = 1$  m/s (rot) und des Tetra-Loop Systems für  $v = 0.1$  m/s (grün).

Zunächst fällt auf, dass im Gegensatz zur individuellen Kraftabstandskurve in  $\langle F \rangle$  das Intermediat nicht zu beobachten ist. Da die Abrisskraftverteilungen der beiden Übergänge teilweise ( $v = 0.1$  m/s) oder ganz ( $v = 1$  m/s) überlappen, finden die beiden Übergänge für verschiedene Simulationen teilweise bei dem gleichen Wert für  $x$  statt und werden dadurch gemeinsam gemittelt. Um das Intermediat auch im Fall der gemittelten Kraftabstandskurven beobachten zu können, müssten die Abrisskraftverteilungen scharf voneinander getrennt sein. Im Vergleich zum Tetra-Loop System findet man für das Bis-Loop System einen wesentlich größeren Abfall der Kraft nach dem Übergang (Maximum in  $\langle F \rangle$ ). Das liegt daran, dass sich die Feder im Fall des Bis-Loop Systems während der beiden Übergänge um eine größere Strecke entspannen kann als bei dem einen Übergang im Tetra-Loop System. Vergleicht man die Steigungen der drei Kurven bis  $x = 1$  nm, fällt auf, dass diese sich nur wenig unterscheiden, wodurch die Annahme der Ähnlichkeit des  $C_T$ - und  $C_B$ -Zustandes weiter bestärkt wird.

### Reversibles Verhalten

Um das reversible Verhalten des Bis-Loop Systems zu untersuchen, wurden für  $v = 0.1$  und 1 m/s jeweils 10 relax-mode Simulationen durchgeführt, die von einer gestreckten Struktur des Bis-Loop

Systems starteten. Im Gegensatz zum Tetra-Loop System wird auf der Zeitskala der MD Simulationen kein reversibles Verhalten für das Bis-Loop System beobachtet. Dies ist in Einklang mit den AFM-Experimenten, bei denen ab einer Laderate von  $\mu = 6 \cdot 10^4$  pN/s keine Rückbindungsergebnisse beobachtet wurden [27]. Da die kleinste Laderate in den hier durchgeführten Simulationen um etwa 6 Größenordnungen größer ist als dieser Wert, ist es nicht verwunderlich, dass auch in den Simulationen keine Rückbindungen beobachtet werden.

Es gibt drei Gründe, die ein Scheitern der Rückbindungen auf der Zeitskala der MD Simulationen erklären. Betrachtet man in Abbildung 4.15 die Struktur des offenen Zustandes, erkennt man, dass diese im Vergleich zu den anderen beiden Zuständen relativ offen ist und einen großen Freiraum zwischen den beiden Calixaren-Kelchen aufweist. Im Laufe der Simulation können Mesitylenmoleküle in den Zwischenraum diffundieren und zunächst eine vollständige Annäherung der Calixaren-Kelche verhindern. Ist die Zuggeschwindigkeit zu groß, können die Lösungsmittelmoleküle den Zwischenraum nicht verlassen und werden dort eingesperrt, wenn das Dimer zusammengedrückt wird. Auf diese Weise wird eine Rückbindung vollständig verhindert.

Die Alkylketten verhindern zwar auf der einen Seite die vollständige Separation der beiden Monomere, auf der anderen Seite können sie jedoch eine mögliche Rückbindung erschweren oder gar vollständig verhindern. Vergleicht man den  $C_B$ - und  $I_B$ -Zustand des Systems mit dem  $O_B$ -Zustand in Abbildung 4.15, fällt auf, dass die Alkylketten in den ersten beiden Zuständen anders angeordnet sind als in dem offenen Zustand. In der exemplarischen Trajektorie (Abb. 4.16;  $x \approx 1.75$  nm) wurde festgestellt, dass die Umlagerung der Alkylketten durchaus in den MD Simulationen zu beobachten ist und mit einer Änderung des Torsionswinkels der beiden Calixaren-Kelche einhergeht. Um eine Rückbindung zu ermöglichen, müssten diese beiden Konformationsänderungen zunächst rückgängig gemacht werden. Vor allem die Änderung des Torsionswinkels führt dazu, dass die Harnstoffgruppen der beiden Monomere nicht mehr in einer gestaffelten, sondern eher in einer ekliptischen Konformation zueinander stehen. Drehen sich die Calixaren-Kelche nicht schnell genug zurück in die gestaffelte Konformation, können sich die Monomere verkeilen, so dass eine Rückbindung unmöglich wird.

Da der  $I_B$ -Zustand Ähnlichkeiten mit dem  $O_T$ -Zustand des Tetra-Loop Systems aufweist, könnte man annehmen, dass zumindest  $I_B \rightarrow C_B$  Übergänge auf der Zeitskala der MD Simulationen zu beobachten sind. Die, im Vergleich zum  $O_B$ -Zustand geschlossene Struktur des  $I_B$ -Zustands verhindert weitestgehend, dass Mesitylenmoleküle zwischen die beiden Calixaren-Kelche diffundieren können. Des Weiteren ändert sich der Torsionswinkel beim  $C_B \rightarrow I_B$  Übergang nur wenig. Das heißt, die beiden Gründe, die zu einem Scheitern der Rückbindungen aus dem  $O_B$ -Zustand führen, können für den  $I_B \rightarrow C_B$  Übergang ausgeschlossen werden. Dennoch beobachtet man keine Rückbindungen. Der Grund hierfür sind intramolekulare UU-Bindungen, die im  $I_B$ - und  $O_B$ -Zustand des Bis-Loop Systems auftreten (siehe Abbildung 4.22). Damit sich die Struktur des geschlossenen Zustandes ausbilden kann, müssen diese Bindungen zunächst aufgebrochen werden, da sich das System sonst 'verkeilt'. Im geschlossenen Zustand des Bis- und Tetra-Loop Systems werden diese intramolekularen UU-Bindungen praktisch nicht beobachtet, da ihre Bildung durch die bestehenden UU-Bindungen verhindert wird. Tabelle 4.2 zeigt jeweils für den  $O_T$ - und  $I_B$ -Zustand die Zahl der intramolekularen H-Bindungen und deren relative Häufigkeit  $p_X$ . Im Fall des Tetra-Loop Systems werden deutlich seltener intramolekulare UU-Bindungen beobachtet als für das Bis-Loop System. Hierfür gibt es zwei Gründe: Zum Einen verhindert die größere Zahl der UE-Bindungen ihre Ausbildung. Auf der anderen Seite besitzt das Tetra-Loop System zwischen jeder der äußeren Phenylringe eine Alkylkette, die verhindert, dass sich die benachbarten Harnstoffgruppen so nahe kommen, dass die intramolekularen UU-Bindungen in größerem Maße ausgebildet werden können, siehe hierzu auch Abbildung 4.22.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Unterschiede im reversiblen Verhalten der beiden Systeme in erster Linie durch die unterschiedliche Zahl der Alkylketten bedingt wird.

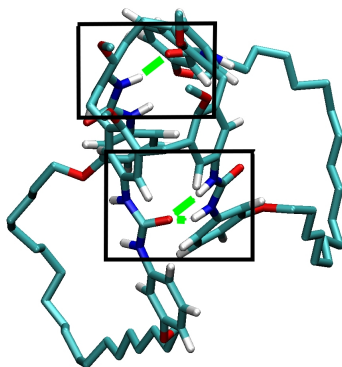


Abbildung 4.22: Beispiel für intramolekulare UU-Bindungen (grün), die im  $I_B$ - und  $O_B$ -Zustand des Bis-Loop Systems auftreten. Im Tetra-Loop System werden diese H-Bindungen deutlich seltener vorgefunden, da hier jede der äußeren Phenylgruppe mit den beiden benachbarten Phenylgruppen über eine Alkylkette verbunden ist. Betrachtet man die untere schwarze Box, so könnten sich die beiden Harnstoffgruppen nicht so nahe kommen, da die Phenylgruppen an die sie gebunden sind, durch die Alkylketten voneinander weggedrückt würden.

# Bindungen	$p_T$	$p_B$
0	90.6%	35.09%
1	8.43%	34.39%
2	0.96%	24.95%
3	0.05%	4.33%
4	<0.001%	1.24%

Tabelle 4.2:  $p_X$  gibt die Wahrscheinlichkeit an, eine gewisse Anzahl von intramolekularen UU-Bindungen für das Tetra-Loop ( $X=T$ ) bzw Bis-Loop System ( $X=B$ ) im  $O_T$ - bzw.  $I_B$ -Zustand zu finden. Als Grundlage für die Analyse dienen die pull-mode Simulationen mit der Zuggeschwindigkeit  $v = 0.1$  m/s. Analysiert wurde der Teil der Trajektorien in dem sich das System im  $O_T$ - bzw.  $I_B$ -Zustand befindet.

### Stabilität des Intermediates

Das Intermediat wird zwar durch die UE-Bindungen stabilisiert, dennoch kann das System diesen Zustand durch Übergänge in den offenen Zustand verlassen. Daher stellt sich die Frage nach der Stabilität des Intermediates, die durch die Lebenszeit  $\tau$  quantifiziert werden kann. In den Experimenten [27] wurde diese auf  $\tau \approx 4$  ms geschätzt. Da diese Zeitskala in MD Simulationen jedoch nicht erreichbar ist, kann die Lebenszeit nicht mit Hilfe einer Gleichgewichtssimulation bestimmt werden.

Nach dem phenomenologischen Bell-Modell hängt die Lebenszeit einer Bindung von der Kraft ab, welche auf die Bindung wirkt. Gleichung (2.60) gibt die Kraftabhängigkeit der Übergangsrates an. Mit Hilfe von Gleichung (2.54), die die Raten in Beziehung zu der mittleren Lebenszeit eines Zustandes setzt, erhält man

$$\tau(F) \approx \tau(0) \exp\left(-\frac{F\Delta x^\ddagger}{RT}\right). \quad (4.5)$$

Legt man also eine konstante Kraft an das System an, reduziert sich die mittlere Lebenszeit dementsprechend. Ist die Kraft geeignet gewählt, ist es möglich die Abrisszeit auf die Zeitskala der MD Simulationen zu reduzieren. Um die Stabilität zu bestimmen, wurden 27 force clamp Simu-

lationen (siehe auch Kapitel 2.3.2) bei einer Kraft von  $F = 250$  pN durchgeführt. Das untersuchte Zeitfenster betrug 50 ns. Als Startpunkt dienten verschiedene Strukturen aus dem  $I_B$ -Zustand, die aus den Trajektorien mit der Zuggeschwindigkeit  $v = 0.1$  m/s extrahiert wurden.

Ähnlich wie bei den pull-mode Simulationen lässt sich der  $I_B \rightarrow O_B$  Übergang durch eine Vergrößerung des End-zu-End Abstandes und dem Öffnen der UE-Bindungen beobachten. Da im force clamp Modus die externe Kraft bei einem konstanten Wert gehalten wird, lässt sich im Gegensatz zum linear load Modus keine Änderung der Kraft während dem Übergangsereignis beobachten. In 16 Simulationen wurden Übergänge beobachtet und deren Lebenszeit  $\tau(F)$  bestimmt. In den restlichen 11 Simulationen fanden in dem Zeitfenster von 50 ns keine Übergänge statt. Mit diesen Zeiten lässt sich die Überlebenswahrscheinlichkeit  $p(F, t)$  bestimmen, welche den Anteil der Simulationen angibt, in denen sich zum Zeitpunkt  $t$  das Dimer noch im  $I_B$ -Zustand befindet. Die Überlebenswahrscheinlichkeit lässt sich durch einen exponentiellen Zerfall beschreiben, siehe Gleichung (2.47) und ist durch

$$p(F, t) \approx \exp\left(-\frac{t}{\tau(F)}\right) \quad (4.6)$$

gegeben, womit die Bestimmung der kraftabhängigen Lebenszeit  $\tau(F)$  möglich ist. Abbildung 4.23 zeigt die Auftragung von  $p(F, t)$  gegen die Zeit  $t$ .

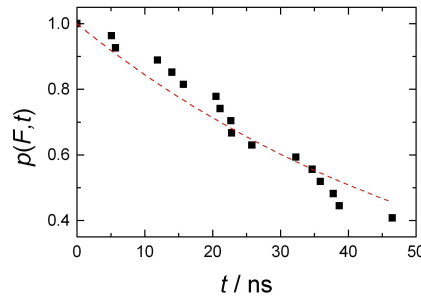


Abbildung 4.23: Anteil der Dimere, die sich zum Zeitpunkt  $t$  im  $I_B$ -Zustand befinden (schwarz). Nähert man die Daten an einen exponentiellen Zerfall an, lässt sich mit Gleichung (4.6) die Lebenszeit zu  $\tau(F = 250 \text{ pN}) \approx (59 \pm 33)$  ns abschätzen (rot).

Gleichung (4.5) ermöglicht es, die Lebenszeit in Abwesenheit der externen Kraft zu bestimmen, sofern der Abstand zum Übergangszustand  $\Delta x^\ddagger$  bekannt ist. Für Proteine wird dieser Wert auf etwa  $x^\ddagger = 0.3$  nm geschätzt [94][95]. Für den kräftefreien Fall erhält man die folgenden Lebenszeiten

$$\begin{aligned} \tau(x^\ddagger = 0.2 \text{ nm}) &\approx 10 \text{ ms} \\ \tau(x^\ddagger = 0.3 \text{ nm}) &\approx 4 \text{ s} \\ \tau(x^\ddagger = 0.4 \text{ nm}) &\approx 1800 \text{ s}, \end{aligned}$$

was bedeutet, dass der  $I_B$ -Zustand auch auf experimentellen Zeitskalen relevant sein sollte. Somit bestätigt sich die vorläufige Studie in Referenz [27].

### 4.2.3 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde die Untersuchung zweier Calix[4]aren-Catenan-Dimersysteme vorgestellt, die sich durch die Anzahl und Länge der Alkylketten, die für die Catenanstruktur verantwortlich sind, unterscheiden. Im Gleichgewicht wird für beide Systeme eine kompakte Struktur ( $C_T$ - bzw.  $C_B$ -Zustand) mit vergleichbarem End-zu-End Abstand ( $R \approx 1.45$  nm) gefunden. In diesem

Zustand sind die Harnstoffgruppen der beiden Monomere ringförmig angeordnet und ermöglichen die Ausbildung eines Netzwerkes von maximal 16 Wasserstoffbrückenbindungen (UU-Bindungen), die den Zustand stabilisieren. Allerdings werden durch thermische Fluktuationen im Mittel nur 10-11 Bindungen für beide Systeme gefunden. Wird eine externe Kraft angelegt, beobachtet man das Öffnen der UU-Bindungen und einen wohl definierten Übergang zu einer gestreckten Struktur ( $O_T$ - bzw.  $I_B$ -Zustand). Dieser Zustand wird nicht mehr durch die UU-Bindungen, sondern durch H-Bindungen zwischen den Harnstoffgruppen eines Monomers und den Ethersauerstoffen des anderen Monomers (UE-Bindungen) stabilisiert. Für beide Systeme beobachtet man in dieser gestreckten Struktur einen ähnlichen End-zu-End Abstand ( $R = 2.0 - 2.1$  nm). Zieht man weiter an dem System, wird nur für das Bis-Loop System ein weiterer Übergang zu einer Struktur beobachtet, in der die beiden Monomere vollständig separiert sind und keine stabilisierenden intermolekularen H-Bindungen auftreten. Die kürzeren Alkylketten des Tetra-Loop Systems verhindern diesen zweiten Übergang aufgrund ihrer sterischen Abstoßung.

Abbildung 4.24 zeigt typische Strukturen, die in den einzelnen relevanten Zuständen gefunden werden. Diese Abbildung verdeutlicht, dass das Tetra-Loop System als effektives Zwei- und das Bis-Loop System als effektives Dreizustandssystem aufgefasst werden kann. Aufgrund der Gemeinsamkeiten der jeweils ersten beiden Zustände kann man das Bis-Loop System als eine 'Erweiterung' des Tetra-Loop Systems sehen. Bedingt durch die ähnlichen Strukturen der beiden Systeme findet man für den  $C_B \rightarrow I_B$  und den  $C_T \rightarrow O_T$  Übergang ähnliche Abrisskraftverteilungen.

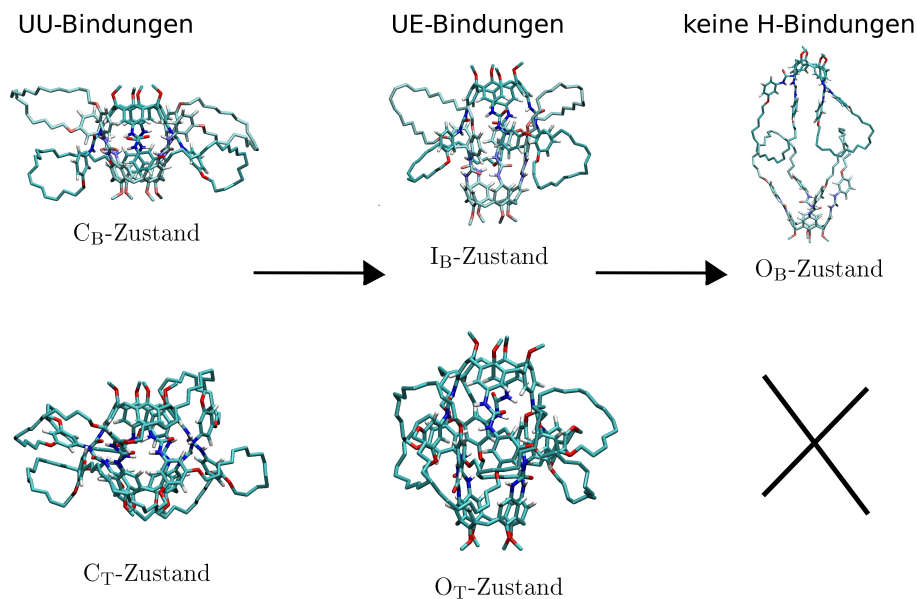


Abbildung 4.24: Die relevanten Zustände des Bis-Loop (oben) und Tetra-Loop Systems. Gezeigt sind jeweils typische Strukturen, die in diesen Zuständen gefunden werden.

Betrachtet man das reversible Verhalten der Systeme, so hat die wesentlich größere Laderate, verglichen mit dem Experiment, einen starken Einfluss. Auf der Zeitskala der MD Simulationen ist nur das Tetra-Loop System reversibel, wobei auch hier bei der größten Laderate keine Rückbindungsereignisse gefunden werden. Bei den anderen beiden Zuggeschwindigkeiten beobachtet man zwar Rückbindungsereignisse, die Nichtgleichgewichtsnatur der Simulationen lässt sich jedoch in

Form einer Hysterese in den Übergangskräften wiederfinden. Im Fall des Bis-Loop Systems werden keine Rückbindungsereignisse beobachtet, dies ist jedoch mit der hier verwendeten Laderate erklärbar. Auch im Experiment wurden ab einer bestimmten Laderate keine Rückbindungsereignisse beobachtet. Das, im Vergleich zum Tetra-Loop System, eingeschränkte reversible Verhalten des Bis-Loop Systems kann durch die geringere Zahl der Alkylketten erklärt werden. Die größere Zahl der Alkylketten im Tetra-Loop System legt den Reaktionspfad eindeutiger fest als beim Bis-Loop System und verhindert eine Änderung des Torsionswinkels der beiden Calixaren-Kelche. Durch die größere Flexibilität kann sich das Bis-Loop System in den relax-mode Simulationen verkeilen und somit mögliche Rückbindungen verhindern. Zum Anderen erlaubt die größere Flexibilität die Ausbildung von intramolekularen UU-Bindungen im Intermediat, die ebenfalls einem Rückbindungsereignis im Wege stehen.

### 4.3 Zuverlässigkeit von Kraftfeldern

In diesem Kapitel sollen drei populäre Kraftfelder in Zugsimulationen verglichen werden. Als Testsystem wurde das Tetra-Loop System ausgewählt, da dieses auf der einen Seite gut verstanden ist und einen eindeutigen Reaktionspfad aufweist. Zum Anderen hat das Tetra-Loop System gegenüber dem Bis-Loop System den Vorteil, dass es auf der Zeitskala der MD Simulationen reversibel ist und somit auch relax-mode Simulationen durchgeführt werden können.

Neben dem GROMOS G53a5 [85][86] Kraftfeld (im folgenden als GROMOS Kraftfeld bezeichnet) wurde das Tetra-Loop System noch mit dem OPLS [96][97] und dem GAFF [98] Kraftfeld untersucht. Im Gegensatz zum GROMOS Kraftfeld sind diese beiden Kraftfelder keine united-atom Kraftfelder, sondern es werden alle involvierten Atome explizit modelliert. Von der Designphilosophie sind sich das GROMOS und OPLS Kraftfeld sehr ähnlich. In beiden Fällen wird versucht, die Eigenschaften von kleinen organischen Molekülen, Aminosäuren und Nukleotiden zu reproduzieren. Am Ende wird ein Satz an Parametern erhalten, der durch die Atomtypen<sup>7</sup> charakterisiert wird. Mit diesem Parametersatz lassen sich Moleküle beschreiben, die mit denen, die bei der Parametrisierung verwendet wurden, verwandt sind.<sup>8</sup> Im Fall des OPLS Kraftfeldes wurde während der Parametrisierung ein größerer Satz an Molekülen verwendet als beim GROMOS Kraftfeld, weshalb sich mit dem OPLS Kraftfeld eine größere Zahl von funktionellen Gruppen beschreiben lässt. Möchte man nun ein 'neues' Molekül untersuchen, besteht der erste Schritt darin, die Atomtypen zu bestimmen, die das Molekül adäquat beschreiben. Da der Parametersatz jedoch beschränkt ist, kann es sein, dass bestimmte Atomtypen nicht definiert sind, oder die Wechselwirkung zwischen verschiedenen Atomtypen nicht beschrieben wird. In diesen Fällen ist man darauf angewiesen die neuen Parameter entweder abzuschätzen oder besser, neu zu bestimmen. An dieser Stelle unterscheidet sich das GAFF Kraftfeld von den anderen beiden Kraftfeldern. Ähnlich wie bei den beiden vorigen Kraftfeldern werden Atomtypen zwar über die chemische Umgebung des betreffenden Atoms definiert, die Wechselwirkungen zwischen den Atomtypen werden jedoch nicht einzeln bestimmt, sondern ergeben sich anhand von empirischen Formeln aus den Parametern der wechselwirkenden Atomtypen. Hierdurch sind, im Gegensatz zum GROMOS und OPLS Kraftfeld, die bindenden und nichtbindenden Wechselwirkungen zwischen allen Atomtypen definiert und somit die Beschreibung von Molekülen möglich, die nicht bei der Parametrisierung berücksichtigt wurden. Im Fall des GAFF Kraftfeldes wurden die Partialladungen in einer unabhängigen ab-initio Rechnung bestimmt (siehe RESP-Ladungen, Kapitel B.2). Für die anderen beiden Kraftfelder sind die Partialladungen durch das Kraftfeld gegeben.

Für das OPLS und GAFF Kraftfeld wurde das gleiche Simulationsprotokoll verwendet wie für die Simulationen mit dem GROMOS Kraftfeld (Kapitel 4.1.1). Der einzige Unterschied zwischen den Simulationsprotokollen ist, dass für das GAFF Kraftfeld ein kleinerer Cut-off Radius (1.0 gegenüber 1.4 nm) verwendet wurde, dies ist jedoch durch die unterschiedliche Parametrisierung der Kraftfelder bedingt.

In diesem Kapitel wird für die Kraftfelder der folgende Farbcode verwendet: **GROMOS**, **OPLS**, **GAFF**. Analog zum GROMOS Kraftfeld wurden jeweils 50 Simulation mit der Zuggeschwindigkeit  $v_{\text{slow}} = 0.1$  m/s und 100 mit  $v_{\text{fast}} = 1$  m/s durchgeführt. Bevor auf die Ergebnisse der pull- und relax-mode Simulationen eingegangen wird, sollen zunächst die Strukturen des geschlossenen und offenen Zustandes für die einzelnen Kraftfelder verglichen werden.

---

<sup>7</sup>Für Kohlenstoffatome gibt es typischerweise aliphatische und aromatische Atomtypen. Aber auch Kohlenstoffe, die an Carbonyl- oder Hydroxysauerstoff gebunden sind und viele mehr.

<sup>8</sup>Nutzt man beispielsweise für die Parametrisierung nur Alkane, lassen sich zwar Alkane mit unterschiedlicher Kettenlänge, jedoch keine Alkohole beschreiben.

### 4.3.1 Gleichgewichtssimulationen

Für jedes Kraftfeld wurden zwei Simulationen durchgeführt, um den geschlossenen ( $C_T$ ) und offenen ( $O_T$ ) Zustand zu charakterisieren. Für den  $C_T$ -Zustand wurde das System im Gleichgewicht, also ohne das externe Zugpotential simuliert. Zur Untersuchung des  $O_T$ -Zustandes ist eine normale Gleichgewichtssimulation jedoch nicht praktikabel, da der  $O_T$ -Zustand durch eine externe Kraft stabilisiert wird. Fehlt diese externe Kraft, würde das System in kurzer Zeit in den  $C_T$ -Zustand übergehen. Aus diesem Grund wurde bei diesen Simulationen eine konstante externe Kraft entlang der Reaktionskoordinate angelegt, um diesen Zustand zu stabilisieren. Diese Simulationen lassen sich demnach als quasi-Gleichgewichtssimulationen bezeichnen, da das System unter Berücksichtigung der externen Kraft in ein Gleichgewicht relaxiert.

#### Der geschlossene Zustand

Um den  $C_T$ -Zustand zu charakterisieren wurde für jedes Kraftfeld eine Gleichgewichtssimulation im NPT Ensemble ( $T = 300$  K und  $p = 1$  bar) mit einer Dauer von 20 ns durchgeführt. Um die Strukturen der einzelnen Kraftfelder zu vergleichen, wurden zwei Strukturmerkmale des Dimers untersucht.

Zum Einen sind die Alkylketten für das System relevant, da diese die komplette Separation der Dimeren nach dem Abrissereignis verhindern. Hierfür wurde die Wahrscheinlichkeitsverteilung (PDF - linke Seite in Abbildung 4.25) der Abstände zwischen dem Massenschwerpunkt des Dimers (roter Punkt in Abbildung 4.25) und dem Massenschwerpunkt der inneren beiden Kohlenstoffatome jeder Alkylkette (rote offene Kreise in Abbildung 4.25) bestimmt.

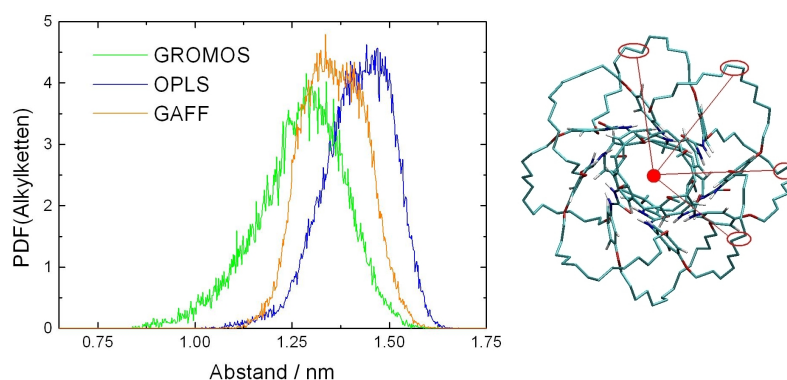


Abbildung 4.25: Links: PDF der Alkylketten. Rechts: Erklärung der Abstände zwischen dem Massenschwerpunkt des gesamten Dimers (roter Punkt) und dem Mittelpunkt einer Alkylkette, der durch die beiden innersten Kohlenstoffatome (rote offene Kreise) gegeben ist.

Die Gestalt der Kurven kann als gaussförmig beschrieben werden, wobei das GROMOS Kraftfeld einen Ausläufer bei kleinen Abständen aufweist. Ignoriert man diesen Ausläufer, weisen alle Verteilungen eine Breite von etwa 0,25 nm auf.

Das andere Strukturmerkmal des Dimersystems, das in den Gleichgewichtssimulationen untersucht wurde, ist der End-zu-End Abstand  $R$ , der zwischen den Massenschwerpunkten der Methoxykohlenstoffatome der beiden Monomere gemessen wird (Zug- und Referenzgruppe in Abbildung 4.4). Da dieser Abstand gleichzeitig die Reaktionskoordinate beschreibt, ist er von besonderem Interesse. Abbildung 4.26 zeigt die Verteilung von  $R$  in der Gleichgewichtssimulation.

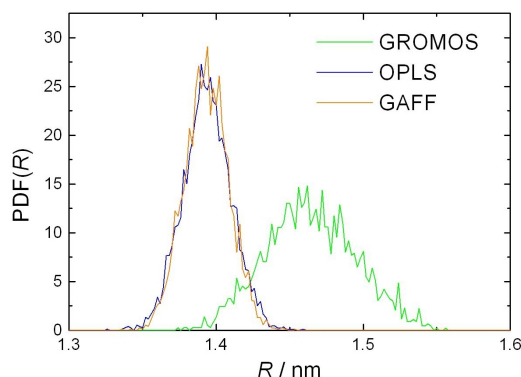


Abbildung 4.26: Verteilung der End-zu-End Abstände  $PDF(R)$  für die Gleichgewichtssimulation des  $C_T$ -Zustandes der drei Kraftfelder.

Man erkennt deutlich, dass die Verteilungen für das OPLS (blau) und das GAFF (orange) Kraftfeld identisch sind. In beiden Fällen beträgt der mittlere End-zu-End Abstand 1.4 nm. Für das GROMOS Kraftfeldes (grün) wird ein größerer mittlerer End-zu-End Abstand beobachtet ( $R = 1.45$  nm) und die Verteilung ist im Vergleich zu den anderen beiden Kraftfeldern breiter (0.1 nm gegenüber 0.04 nm).

Die breitere Verteilung im Fall des GROMOS Kraftfeldes bedeutet, dass das Dimersystem für dieses Kraftfeld entlang der Reaktionskoordinate flexibler ist. Betrachtet man das System als eine harmonische Feder, muss diese für das GROMOS Kraftfeld eine niedrigere effektive Kraftkonstante aufweisen, da die Abstandsfluktuationen bei gleicher thermischer Energie größer sind. Für diese effektive Kraftkonstante spielen zwei Faktoren eine Rolle. Zunächst einmal muss die Flexibilität eines Calixaren-Kelchs entlang der Reaktionskoordinate in Betracht gezogen werden. Da es sich bei Calixarenen um sehr starre Strukturen handelt, kann man annehmen, dass diese nur für einen kleinen Teil der Fluktuationen in  $R$  verantwortlich sind. Der zweite und größere Faktor ist das Netzwerk der UU-Bindungen. Im Fall des OPLS und GAFF Kraftfeldes bildet sich meist die maximale Zahl von 16 UU-Bindungen aus, durch Fluktuationen kann die Zahl jedoch auf 13 abnehmen. Für das GROMOS Kraftfeld beobachtet man im Durchschnitt weniger Bindungen und die Zahl fluktuiert stärker ( $10 \pm 4$  UU-Bindungen). Nimmt man an, dass die H-Bindungen in den drei Kraftfeldern ähnlich gut beschrieben werden und eine vergleichbare Bindungsstärke besitzen, kann man die Unterschiede in  $PDF(R)$  erklären. Die geringere Zahl der UU-Bindungen im Fall des GROMOS Kraftfeldes führt zu einer schwächeren Bindung zwischen den Monomeren, was zu einem größeren End-zu-End Abstand und einer weicheren Kraftkonstante entlang der Reaktionskoordinate führt. Letzteres erklärt auch die breitere Verteilung. Im Folgenden wird man sehen, dass die größere Zahl der UU-Bindungen im Fall des OPLS und GAFF Kraftfeldes einen erheblichen Einfluss auf die Verteilung der Abrisskräfte hat.

### Der offene Zustand

Um den  $O_T$ -Zustand zu untersuchen, ist eine einfache Gleichgewichtssimulation (ohne eine externe Kraft) wie im Fall des  $C_T$ -Zustandes nicht praktikabel, da sich das gestreckte System innerhalb kürzester Zeit entspannen würde. Um die Konfigurationen des offenen Zustandes zu stabilisieren wurde eine konstante externe Kraft von 1000 pN entlang der Reaktionskoordinate angelegt. Dieser Wert wurde gewählt, weil er größer ist als alle Rückbindungskräfte, die für die drei Kraftfelder beobachtet wurden (siehe Kapitel 4.3.2) und man somit spontane Rückbindungen ausschließen kann. Die Anfangsgeometrien für die drei Simulationen wurden aus relax-mode Simulationen der entsprechenden Kraftfelder mit  $v_{\text{slow}}$  erhalten. Der Grund, relax-mode an Stelle von pull-mode

Simulationen für die Generierung der Startgeometrie zu verwenden, ist der, dass die Hysterese ausgenutzt werden kann, um Strukturen des offenen Zustandes bei einer kleineren externen Kraft zu erhalten. Die Strukturen wurden zu Zeitpunkten aus Trajektorien extrahiert, bei denen die angelegte Kraft etwa 1000 pN betrug. Die quasi-Gleichgewichtssimulationen wurden, abgesehen von der angelegten Kraft, unter den gleichen Bedingungen wie die Gleichgewichtssimulationen des  $C_T$ -Zustandes durchgeführt und dauerten 25 ns, wobei für die Analyse nur die letzten 20 ns verwendet wurden.

Abbildung 4.27 zeigt auf der linken Seite die Abstandsverteilungsfunktion für die Alkylketten und auf der rechten Seite die Abstandsverteilung von  $R$ .

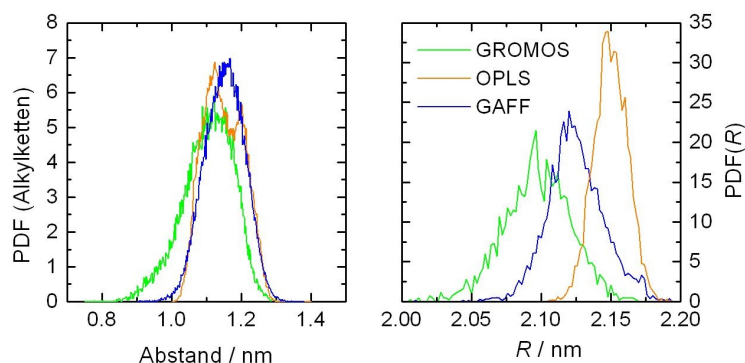


Abbildung 4.27: PDF der Abstände der Alkylketten (links) und PDF( $R$ ) (rechts).

Vergleicht man die Abstandsverteilungen der Alkylketten für die drei Kraftfelder, erkennt man, dass diese sich ähnlicher sind als beim  $C_T$ -Zustand. Die Zentren der Verteilungen sind zu kleineren Abständen hin verschoben und die Breite ist ebenfalls kleiner. Beide Beobachtungen können durch die Tatsache erklärt werden, dass das Dimer und somit auch die Alkylketten im offenen Zustand gestreckt sind. Durch die Streckung der Ketten nähern sich die Mittelpunkte der Ketten dem Schwerpunkt des Dimers an und die Ketten können sich weniger frei bewegen. Anhand der Verteilung der End-zu-End Abstände (Abb. 4.27, rechts) erkennt man deutlich, dass das Dimer für alle drei Kraftfelder gestreckt ist und einen mittleren Abstand von  $R = 2.1\text{-}2.15$  nm aufweist. Im Fall des GROMOS Kraftfeldes kann man sehen, dass die Verteilung für den  $O_T$ -Zustand weniger breit ist als die des  $C_T$ -Zustands, woraus man schließen kann, dass das System entlang der Reaktionskoordinate im Fall des  $O_T$ -Zustands steifer ist als im Fall des  $C_T$ -Zustands.

Für die Zahl der UE-Bindungen im  $O_T$ -Zustand beobachtet man etwa 10 Bindungen bei dem GROMOS und GAFF Kraftfeld und 7 für das OPLS Kraftfeld.

### 4.3.2 Zugsimulationen

In Kapitel 4.2.1 wurden bereits ausführlich die Zugsimulationen für das GROMOS Kraftfeld vorgestellt. Im Fall der anderen beiden Kraftfelder beobachtet man qualitativ das gleiche Verhalten. Wird eine externe Kraft angelegt, reißen ab einer bestimmten Kraft die UU-Bindungen, die den geschlossenen Zustand stabilisieren und man beobachtet den Übergang zu den gestreckten Strukturen des offenen Zustandes, welche durch die UE-Bindungen stabilisiert werden. Kehrt man die Zugrichtung um und verringert langsam die angelegte Kraft, beobachtet man Rückbindungen in den geschlossenen Zustand. Die Details, wie zum Beispiel die genaue Zahl der H-Bindungen und die Kräfte, bei denen die Übergänge stattfinden, hängen vom gewählten Kraftfeld ab. Diese Unterschiede werden anhand der Kraftverteilungen und der gemittelten Observablen herausgearbeitet.

Dennoch zeigt Abbildung 4.28 zunächst jeweils eine typische Kraftabstandskurve für die drei Kraftfelder, da hier bereits die ersten Unterschiede im dynamischen Verhalten offensichtlich werden.

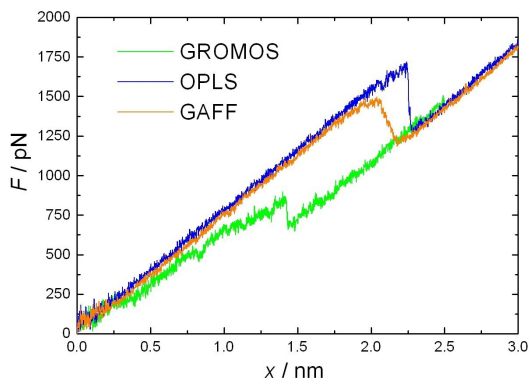


Abbildung 4.28: Typische Kraftabstandskurven für die drei Kraftfelder mit  $v_{\text{slow}}$ .

Zunächst einmal erkennt man, dass sich für das OPLS und GAFF Kraftfeld eine größere Abrisskraft ergibt als für das GROMOS Kraftfeld. Diese Tatsache kann durch die kleinere Zahl der stabilisierenden UU-Bindungen im Fall des GROMOS Kraftfeldes erklärt werden. Nimmt man an, dass diese Bindungen in allen drei Kraftfeldern ähnlich beschrieben werden, ist es offensichtlich, dass eine größere Kraft benötigt wird, um mehr Bindungen aufzubrechen. Vergleicht man die Steigungen der drei Kraftabstandskurven vor dem Abrissereignis, erkennt man, dass diese für das OPLS und GAFF Kraftfeld ähnlich sind und dass das GROMOS Kraftfeld eine kleinere Steigung aufweist. Dies bedeutet, dass das System im Fall des GROMOS Kraftfeldes eine geringere effektive Kraftkonstante entlang der Reaktionskoordinate aufweist als die anderen beiden Kraftfelder. Dieser Befund wurde bereits bei der Diskussion über die Breite der Verteilungen der End-zu-End Abstände des geschlossenen Zustandes in Abbildung 4.26 beobachtet und wurde durch die unterschiedliche Zahl der UU-Bindungen erklärt.

Auffallend ist, dass im Fall des GAFF Kraftfeldes der Übergang nicht instantan geschieht, wie bei den anderen beiden Kraftfeldern, für die man eine sprunghafte Änderung der Kraft beobachtet. Dies lässt darauf schließen, dass das System eine gewisse Zeit benötigt, um nach dem Übergang in den  $O_T$ -Zustand zu relaxieren. Dieser Unterschied zwischen dem GAFF und den anderen beiden Kraftfeldern wird bei der Diskussion der mittleren Kraft  $\langle F \rangle$  noch einmal relevant werden.

### Abriss- und Rückbindungskräfte

Die Verteilungen der Übergangskräfte sind in Abbildung 4.29 gezeigt. Analog zu den Ergebnissen des GROMOS Kraftfeldes beobachtet man auch für das OPLS und GAFF Kraftfeld, dass zum Einen die Abrisskräfte mit steigender Zuggeschwindigkeit zunehmen und auf der anderen Seite die Rückbindungskräfte kleiner werden. Beide Effekte sind in der logarithmischen Abhängigkeit der Übergangskräfte von der Laderate begründet. Für alle drei Kraftfelder wird die Hysterese zwischen den Abriss- und Rückbindungskräften kleiner, wenn die Zuggeschwindigkeit reduziert wird. Dies ist im Einklang mit der Erwartung, dass bei einer unendlich kleinen Zuggeschwindigkeit keine Hysterese beobachtet wird, da das System im Gleichgewicht ist.

Wie bei den einzelnen Kraftabstandskurven erwähnt, lässt sich der Trend der Abrisskräfte über die Zahl der UU-Bindungen erklären. Für das GROMOS Kraftfeld werden deutlich weniger UU-Bindungen (10 gegenüber 16) beobachtet und es ergibt sich eine geringere Abrisskraft. Im Fall des

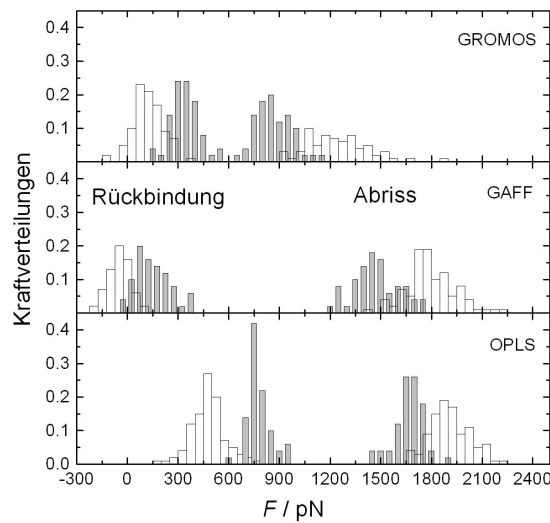


Abbildung 4.29: Verteilung der Abrisskräfte (rechts) und Rückbindungskräfte (links) für  $v_{\text{fast}}=1$  m/s (weiß) und  $v_{\text{slow}}=0.1$  m/s (grau).

OPLS und GAFF Kraftfeldes beobachtet man vor allem für  $v_{\text{slow}}$  nur eine kleine Abweichung in der Verteilung der Abrisskräfte.

Auch der Trend der Rückbindungskräfte lässt sich mit Hilfe der H-Bindungen erklären. Durch die, verglichen mit den anderen beiden Kraftfeldern, geringere Zahl der UE-Bindungen im Fall des OPLS Kraftfeldes ergeben sich größere Rückbindungskräfte. Für das GROMOS und GAFF Kraftfeld werden wegen der ähnlichen Zahl der UE-Bindungen vergleichbare Rückbindungskräfte gemessen. Auffallend ist, dass für das GAFF Kraftfeld mit  $v_{\text{fast}}$  mehr als die Hälfte der Rückbindungsereignisse bei negativen Kräften geschehen. Mit den Ergebnissen aus der ausführlichen Diskussion des Tetra-Loop Systems (siehe Kapitel 4.2.1) kann man darauf schließen, dass in diesem Fall nicht alle relax-mode Simulationen die optimale Bindungsstruktur des  $C_T$ -Zustandes erreichen.

### Gemittelte Kraftabstandskurven

Die mittlere Kraft  $\langle F \rangle$  ergibt sich aus den gemittelten Kraftabstandskurven und ist in Abbildung 4.30 abgebildet. Qualitativ ist  $\langle F \rangle$  für alle drei Kraftfelder ähnlich, man beobachtet, neben den unterschiedlichen Positionen der Übergangereignisse, zwei große Unterschiede:

Der erste Unterschied ist im Verlauf der Kurven bei den Übergangereignissen zu finden. Im Fall des OPLS Kraftfeldes beobachtet man deutlich ein Maximum bei den Übergangereignissen, während man bei den anderen beiden Kraftfeldern eher ein Plateau erkennt. Wie bereits bei der detaillierten Diskussion des Tetra-Loop Systems festgestellt wurde, kommt die Abweichung zwischen  $\langle F \rangle$  und der sprunghaften Änderung der Kraft in den individuellen Kurven durch die Verteilung der Übergangereignisse zustande. Durch diese wird der stufenweise Abfall der Kraft heraus gemittelt. Im Fall des GROMOS Kraftfeldes beobachtet man eine breitere Verteilung als beim OPLS Kraftfeld, womit sich der Unterschied in  $\langle F \rangle$  beim Übergang erklären lässt. Für das OPLS und GAFF Kraftfeld beobachtet man jedoch ähnlich breite Verteilungen, weshalb die Breite der Verteilung nicht der einzige Grund für die unterschiedliche Gestalt der Übergangereignisse (OPLS: lokales Maximum; GAFF: Plateau) in den gemittelten Kraftabstandskurven sein kann. Ein zweiter Grund lässt sich durch die einzelnen Kraftabstandskurven erklären. In Abbildung 4.28 erkennt man, dass im Fall des GAFF Kraftfeldes der Übergang nicht sprunghaft erfolgt, sondern

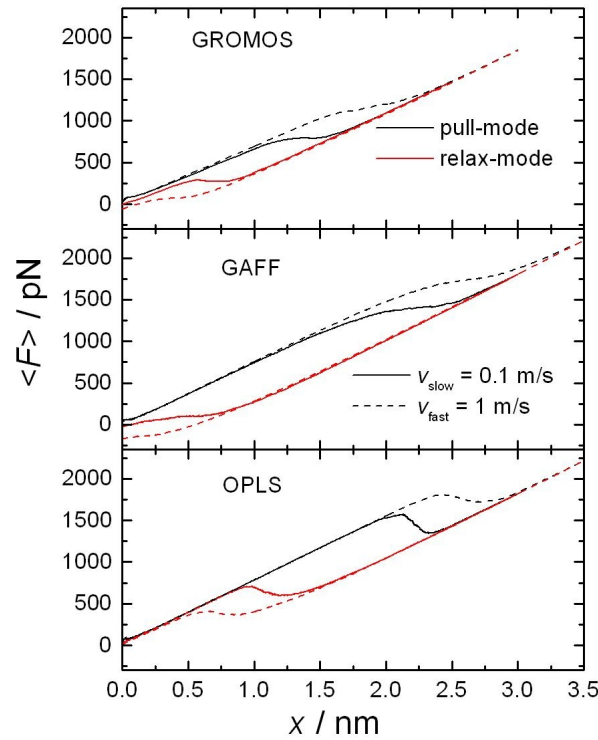


Abbildung 4.30: Gemittelte Kraftabstandskurven für alle drei Kraftfelder. Die Ergebnisse der pull-mode Simulationen sind schwarz und die der relax-mode Simulationen rot gezeigt. Durchgezogene Linien zeigen  $v_{\text{slow}}$  und unterbrochene Linien  $v_{\text{fast}}$ .

eine gewisse Zeit benötigt, da hier das System nicht sofort in den  $O_T$ -Zustand relaxiert. Dieser Effekt sorgt unabhängig von der Verteilung der Übergangereignisse für eine Verbreiterung des Übergangereignisses in  $\langle F \rangle$ . Hieraus kann man schließen, dass für das OPLS Kraftfeld wesentlich häufiger Kraftkurven beobachtet werden, die die charakteristische sprunghafte Änderung der Kraft zeigen und man im Fall des GAFF Kraftfeldes eher Trajektorien findet, in denen der Übergang eine gewisse Zeit benötigt.

Der zweite Unterschied ist in den Differenzen der Kräfte am Anfang und am Ende des pull-relax Zyklus  $\Delta F = \langle F(x=0) \rangle_{\text{pull}} - \langle F(x=0) \rangle_{\text{relax}}$  zu finden. Im Fall des GAFF Kraftfeldes ist der Unterschied zwischen den beiden Kräften größer als beim GROMOS Kraftfeld, wohingegen beim OPLS Kraftfeld diese Differenz fast vollständig verschwindet. Bei der detaillierten Diskussion des Tetra-Loop Systems wurde angemerkt, dass  $\Delta F > 0$  gilt, wenn nicht alle relax-mode Simulationen im (optimalen)  $C_T$ -Zustand enden. Dieser Effekt wird im gemittelten End-zu-End Abstand deutlicher beobachtet, weswegen die weitere Diskussion ins nächste Kapitel verlegt wird.

Es ist möglich, aus  $\langle F \rangle$  die elastischen Eigenschaften des Systems zu bestimmen. Die Steigung von  $\langle F \rangle_\alpha$ , wobei  $\alpha$  den Zustand des Systems angibt ( $C_T$  oder  $O_T$ ), ist in Gauss'scher Näherung [88] durch die effektive Kraftkonstante

$$k_{\text{eff}}^\alpha = \frac{k_c \cdot k_{\text{mol}}^\alpha}{k_c + k_{\text{mol}}^\alpha}$$

gegeben, siehe auch Gleichung 4.3. Hierbei gibt  $k_c$  die Kraftkonstante der Feder bzw. des Zugpotentials und  $k_{\text{mol}}^\alpha$  die Krümmung des Minimum der freien Energie in harmonischer Näherung an. Bestimmt man die Steigung der gemittelten Kraftkurven, erhält man  $k_{\text{eff}}^\alpha$  und kann  $k_{\text{mol}}^\alpha$  be-

rechnen. Tabelle 4.3 gibt die molekulare Kraftkonstante  $k_{\text{mol}}^{\alpha}$  der beiden Zustände für die drei Kraftfelder an.

Kraftfeld	$k_{\text{mol}}^{\text{C}_T} / \frac{\text{pN}}{\text{nm}}$	$k_{\text{mol}}^{\text{O}_T} / \frac{\text{pN}}{\text{nm}}$
GROMOS	3140	7050
GAFF	6960	14670
OPLS	10960	10570

Tabelle 4.3: Molekulare Kraftkonstante des Calixaren-Dimers für den geschlossenen ( $\text{C}_T$ ) und offenen ( $\text{O}_T$ ) Zustand für alle drei Kraftfelder. Die Unsicherheiten der Werte werden auf etwa 20-30% geschätzt.

Qualitativ stimmen die hier erhaltenen Ergebnisse mit den Abschätzungen der molekularen Kraftkonstante durch die Breiten der Verteilungen der End-zu-End Abstände (Abbildungen 4.26 und 4.27) überein. Im Fall des geschlossenen Zustandes beobachtet man für das GROMOS Kraftfeld eine wesentlich breitere Verteilung als für die anderen beiden Kraftfelder, was sich mit der kleineren molekularen Kraftkonstante des GROMOS Kraftfelds deckt. Geht man zum offenen Zustand über, erkennt man, dass für das GROMOS und GAFF Kraftfeld die Werte der molekularen Kraftkonstante größer werden, was auch durch die schmalere Verteilungen des End-zu-End Abstandes des  $\text{O}_T$ -Zustandes (Abbildung 4.27) gegenüber dem  $\text{C}_T$ -Zustandes (Abbildung 4.26) bestätigt wird.

### End-zu-End Abstand

Der End-zu-End Abstand  $R$  ist ein wichtiger struktureller Parameter, der empfindlich vom Zustand abhängt, in dem sich das System befindet. In Kapitel 4.2.1 wurde für das GROMOS Kraftfeld der Verlauf von  $R$  für eine pull- und relax-mode Simulation vorgestellt. Für das OPLS und GAFF Kraftfeld beobachtet man qualitativ einen ähnlichen Verlauf (siehe Abbildung 4.31), jedoch ist die Steigung von  $R$  im  $\text{C}_X$ -Zustand für diese beiden Kraftfelder kleiner, da diese Kraftfelder eine größere molekulare Kraftkonstante aufweisen.

Durch die Mittlung der individuellen Kurven verbreitert sich die sprunghafte Änderung des Abstandes und aus der stufenartigen Funktion der individuellen Kurven wird eine sigmoidale Funktion. Die Gründe hierfür sind die gleichen wie beim Übergang von den einzelnen Kraftkurven zu  $\langle F \rangle$ .

Analog zu den gemittelten Kraftabstandskurven findet man eine Abweichung von  $\langle R \rangle$  zu Beginn und am Ende des pull-relax Zyklus. Die Differenz der Werte ist durch  $\Delta R = \langle R(x=0) \rangle_{\text{relax}} - \langle R(x=0) \rangle_{\text{pull}}$  gegeben und ist eine Konsequenz daraus, dass nicht alle relax-mode Simulationen die optimale Bindungsstruktur des geschlossenen Zustandes finden. Da mit steigender Zuggeschwindigkeit die Wahrscheinlichkeit sinkt, dass das System ein Rückbindungsereignis aufweist, steigt  $\Delta R$  ebenfalls mit der Zuggeschwindigkeit an. Im Fall des OPLS Kraftfeldes beobachtet man praktisch keine Lücke, während diese für das GAFF Kraftfeld deutlich ausgeprägter ist als für das GROMOS Kraftfeld.

Mit Hilfe der Verteilung des End-zu-End Abstandes für die Gleichgewichtssimulation des  $\text{C}_T$ -Zustandes und der Verteilung der End-zu-End Abstände lässt sich die Rückbindungswahrscheinlichkeit  $p_{\text{Rückb}}$  bestimmen (siehe Abbildung 4.13 und Tabelle 4.1). Im Folgenden wird definiert, dass in einer Simulation nur eine Rückbindung in die optimale Bindungsstruktur erfolgte, wenn  $R_{\text{relax}}(x=0)$  einen Wert aufweist, der auch in der Gleichgewichtssimulation des geschlossenen Zustandes gefunden wird. Ist  $R_{\text{relax}}(x=0)$  größer, aber kleiner als 1.7 nm, findet zwar ein Übergang in den  $\text{C}_T$ -Zustand statt, die erhaltene Struktur ist jedoch gegenüber der optimalen Bindungsstruktur merklich gestreckt und es werden nicht alle UU-Bindungen zurück gebildet. Ist der Abstand noch größer ( $R_{\text{relax}}(x=0) > 1.7 \text{ nm}$ ), bedeutet dies, dass überhaupt keine Rückbindung geschieht

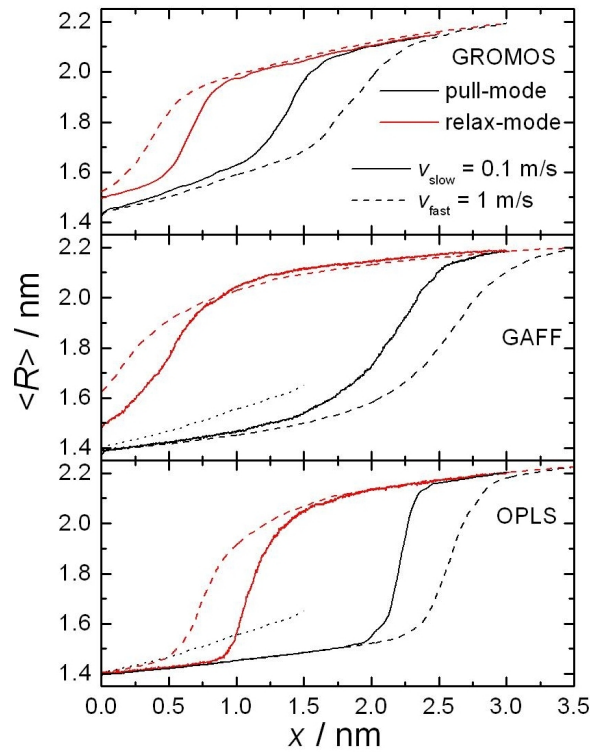


Abbildung 4.31: Gemittelter End-zu-End Abstand  $\langle R \rangle$  für alle drei Kraftfelder. Die Ergebnisse der pull-mode Simulationen sind in schwarz und die der relax-mode Simulationen in rot gezeigt. Durchgezogene Linien zeigen  $v_{\text{slow}}$  und unterbrochene Linien  $v_{\text{fast}}$ . Beim OPLS und GAFF Kraftfeld wurde zusätzlich der Verlauf der pull-mode Simulation des GROMOS Kraftfeldes mit  $v_{\text{slow}}$  im Bereich  $0 < x < 1.5 \text{ nm}$  als gepunktete Linie eingezeichnet.

und dass sich das System weiterhin im  $O_T$ -Zustand befindet. Tabelle 4.4 zeigt die Ergebnisse von  $p_{\text{Rückb.}}$  für die verschiedenen Kraftfelder und Zuggeschwindigkeiten.

Kraftfeld	$v / \text{m/s}$	$p_{\text{Rückb.}}$
GROMOS	0.1	0.88
	1	0.73
	10	0.0
GAFF	0.1	0.52
	1	0.07
OPLS	0.1	0.96
	1	0.95

Tabelle 4.4: Rückbindungswahrscheinlichkeit  $p_{\text{Rückb.}}$  der drei Zuggeschwindigkeiten.  $p_{\text{Rückb.}}$  ist definiert als der Anteil der Simulationen, die einen End-zu-End Abstand am Ende der relax-mode Simulation aufweisen, der auch in den Gleichgewichtssimulationen beobachtet wird.

Anhand Tabelle 4.4 erkennt man deutlich, dass im Fall des OPLS Kraftfeldes ein nahezu vollständig reversibles Verhalten vorliegt. Vergleicht man die anderen beiden Kraftfelder, stellt sich heraus, dass das GAFF Kraftfeld ein ähnliches reversibles Verhalten aufweist wie das GROMOS Kraftfeld bei einer Zuggeschwindigkeit, die eine Dekade größer ist als beim GAFF Kraftfeld. Die Tatsache, dass bei allen drei Kraftfeldern mit steigender Zuggeschwindigkeit eine Verringerung der

Rückbindungswahrscheinlichkeit beobachtet wird, ist im Einklang mit der allgemeinen Beobachtung, dass eine größere Zuggeschwindigkeit das Gleichgewicht stärker stört. Im Extremfall führt dies dazu, dass die Abrisse irreversibel werden und man keine Rückbindungen beobachtet.

### Potential of mean force

Für das GROMOS Kraftfeld wurde in Abbildung 4.19 das *Potential of mean force* (PMF) für das Tetra-Loop System vorgestellt. Um die Zuverlässigkeit der Kraftfelder zu bestimmen, wurde das PMF für das OPLS und GAFF Kraftfeld ebenfalls mit Hilfe der thermodynamischen Integration berechnet.<sup>9</sup> Abbildung 4.32 zeigt die Ergebnisse für die drei Kraftfelder (durchgezogene Linien).

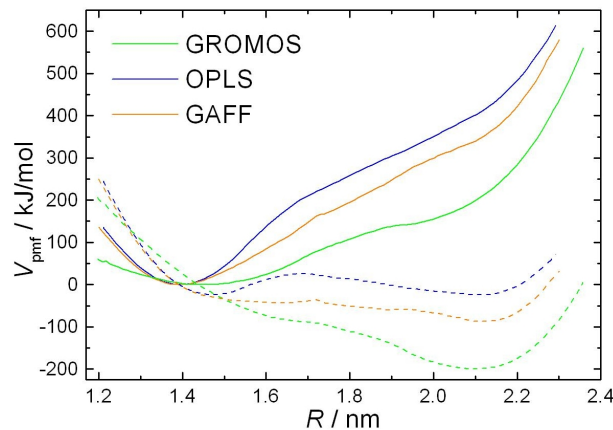


Abbildung 4.32: Das PMF für alle drei Kraftfelder. Durchgezogene Linien entsprechen dem kraftfreien PMF und unterbrochene Linien kennzeichnen das PMF für den Fall, dass an dem System eine externe Kraft von  $F = 1000$  pN anliegt.

Qualitativ ist das PMF für alle drei Kraftfelder recht ähnlich. Im Bereich  $R = 1.2 - 1.6$  nm ist das PMF nahezu harmonisch. Dies ist in guter Übereinstimmung mit der Tatsache, dass die gemessene Kraft zunächst linear ansteigt. Im Fall des GROMOS Kraftfeldes ist die Krümmung der Kurve in diesem Bereich geringer als für die anderen beiden Kraftfelder, da für das GROMOS Kraftfeld eine kleinere molekulare Kraftkonstante gefunden wird (siehe Tabelle 4.3). Im Fall des GROMOS und OPLS Kraftfeldes lässt sich die molekulare Kraftkonstante auch über die Krümmung des PMF im Minimum bestimmen. Für das GROMOS Kraftfeld wird der Wert  $k_{\text{mol}}^{\text{CT}} = 3990$  pN/nm und für das OPLS Kraftfeld  $k_{\text{mol}}^{\text{CT}} = 14950$  pN/nm ermittelt. In beiden Fällen sind die Werte etwas größer als jene, die sich aus der Bestimmung über  $\langle F \rangle$  ergeben aber dennoch durchaus im Rahmen des Fehlers. Im Fall des GAFF Kraftfeldes wurde die molekulare Kraftkonstante nicht bestimmt, da das PMF zu sehr vom harmonischen Verlauf abweicht.<sup>10</sup>

Bis etwa  $R = 1.5$  nm ist die Krümmung des PMFs für das OPLS und GAFF Kraftfeld gleich. Dieser Abstand entspricht auch dem maximalen Abstand der in den Gleichgewichtssimulationen gefunden wird. Da beide Kraftfelder in diesem Bereich die gleiche Anzahl von UU-Bindungen

<sup>9</sup>Für das OPLS und GAFF Kraftfeld wurde das gleiche Protokoll verwendet, wie bei der Bestimmung des PMF für das Tetra-Loop System im Fall des GROMOS Kraftfeldes. Das genaue Vorgehen wird im Text über Abbildung 4.19 erklärt.

<sup>10</sup>Für  $R < 1.4$  nm findet man eine Krümmung, die ähnlich der Krümmung des PMFs des OPLS Kraftfeldes ist, für größere Abstände ist die Krümmung jedoch geringer. Man kann jedoch davon ausgehen, dass die molekulare Kraftkonstante im Fall des GAFF Kraftfeldes einen Wert aufweist, der zwischen den Werten der anderen beiden Kraftfelder liegt.

aufweisen, ist auch das PMF gleich. Für größere Abstände ist die Krümmung im Fall des GAFF Kraftfeldes jedoch kleiner. Dies kann auf die Tatsache zurückgeführt werden, dass sich die UU-Bindungen leichter öffnen als beim OPLS Kraftfeld. In der Diskussion über die Dynamik der H-Bindungen im folgenden Kapitel wird dies bestätigt (siehe Abbildung 4.33).

Für das OPLS und GAFF Kraftfeld findet man das Minimum des PMF bei etwa 1.4 nm und für das GROMOS Kraftfeld bei 1.45 nm. In allen drei Fällen stimmt dieser Wert gut mit dem häufigsten Abstand überein, der in den Gleichgewichtssimulationen des C<sub>T</sub>-Zustandes gefunden wird. Betrachtet man größere Abstände, steigt die Energie, wobei sich ab  $R = 2.1$  nm die Zunahme der Energie stark vergrößert. Bei dieser Distanz ist der offene Zustand zu finden und die größere Steigung des PMF wird durch die Alkylketten verursacht, die gestreckt werden.

Wird eine externe Kraft an das Dimer System angelegt, ändert sich das PMF, da die gestreckten Strukturen energetisch bevorzugt werden. Im einfachsten Modell ist das kraftabhängige PMF durch

$$V_{\text{pmf}}(F, R) = V_{\text{pmf}}(R) - R \cdot F$$

gegeben. Die unterbrochenen Linien in Abbildung 4.32 zeigen das PMF für den Fall, dass eine konstante Kraft von  $F = 1000$  pN anliegt. Im Fall des GROMOS Kraftfeldes ist der O<sub>T</sub>-Zustand nun das globale Minimum ( $R = 2.1$  nm) und der C<sub>T</sub>-Zustand ist bei  $R = 1.6$  nm kaum wahrnehmbar. Für das OPLS Kraftfeld beobachtet man zwei Minima bei  $R = 1.44$  nm (C<sub>T</sub>-Zustand) und  $R = 2.15$  nm (O<sub>T</sub>-Zustand), die durch eine Energiebarriere bei  $R = 1.68$  nm getrennt sind. Das kraftabhängige PMF für das GAFF Kraftfeld ist nahezu flach, doch auch hier kann man bei etwa 1.6 nm den C<sub>T</sub>-Zustand und bei 2.12 nm den O<sub>T</sub>-Zustand erkennen. Nimmt man an, dass bei der Gleichgewichtsübergangskraft  $F^{\text{eq}}$  die beiden Zustände energetisch gleich sind, lässt sich der Trend mit Hilfe der Abriss- und Rückbindungskraftverteilung erklären. Die Gleichgewichtsabrisskraft kann in erster Näherung aus dem Mittelwert der Abriss- und Rückbindungskräfte abgeschätzt werden und es ergibt sich folgender Trend:

$$F_{\text{OPLS}}^{\text{eq}} > F_{\text{GAFF}}^{\text{eq}} \approx 1000 \text{ pN} \gg F_{\text{GROMOS}}^{\text{eq}}$$

Im Fall des GROMOS Kraftfeldes ist  $F^{\text{eq}}$  deutlich kleiner als 1000 pN, weswegen der offene Zustand klar das globale Minimum darstellt. Im Fall des OPLS und GAFF Kraftfeldes liegt  $F^{\text{eq}}$  deutlich näher an den 1000 pN weshalb der C<sub>T</sub>- und O<sub>T</sub>-Zustand eine ähnliche Energie besitzen. Da für das OPLS Kraftfeld jedoch ein größeres  $F^{\text{eq}}$  beobachtet wird als für das GAFF Kraftfeld, ist der C<sub>T</sub>-Zustand gegenüber dem O<sub>T</sub>-Zustand etwas bevorzugter und besitzt relativ gesehen eine niedrigere Energie.

Die traditionelle Definition des Übergangszustandes als lokales Maximum zwischen den lokalen Minima zweier Zustände lässt sich nicht auf das PMF  $V_{\text{pmf}}(R)$  im Fall des Calixaren-Dimersystems anwenden, da kein lokales Maximum und nur ein Minimum beobachtet wird. Das PMF steigt für größere Abstände kontinuierlich an, da Strukturen mit einem größeren Abstand als dem Gleichgewichtsabstand nur unter dem Einfluss einer externen Kraft stabil sind. Man kann jedoch die Position des Übergangszustandes anhand des kraftabhängigen PMF abschätzen. Für das OPLS Kraftfeld beobachtet man in diesem Fall bei 1.68 nm ein lokales Maximum und für das GAFF Kraftfeld findet man bei etwa 1.72 nm eine kleine Energiebarriere. Betrachtet man das PMF für alle drei Kraftfelder so erkennt man, dass sich ungefähr bei  $R = 1.7$  nm die Steigung ändert. Daher ist anzunehmen, dass sich der Übergangszustand bei  $R \approx 1.7$  nm befindet.

## Netzwerk der H-Bindungen

Zunächst einmal soll die Dynamik der H-Bindungen anhand der Auftragung der mittleren Zahl der H-Bindungen gegen den Kontrollparameter  $x$  besprochen werden. Im zweiten Abschnitt dieses Kapitels wird auf die Zahl der Bindung in Abhängigkeit des End-zu-End Abstandes des Systems

eingegangen werden. Die zweite Auftragung hat gegenüber der ersten den Vorteil, dass sie ein besseres Verständnis der Reaktionskoordinate ermöglicht. Auf der anderen Seite ist jedoch keine Aussage über die Dynamik möglich, weswegen beide Auftragsvarianten ihre Berechtigung haben.

Abbildung 4.33 zeigt die mittlere Zahl der H-Bindungen als Funktion des Kontrollparameters für alle drei Kraftfelder.

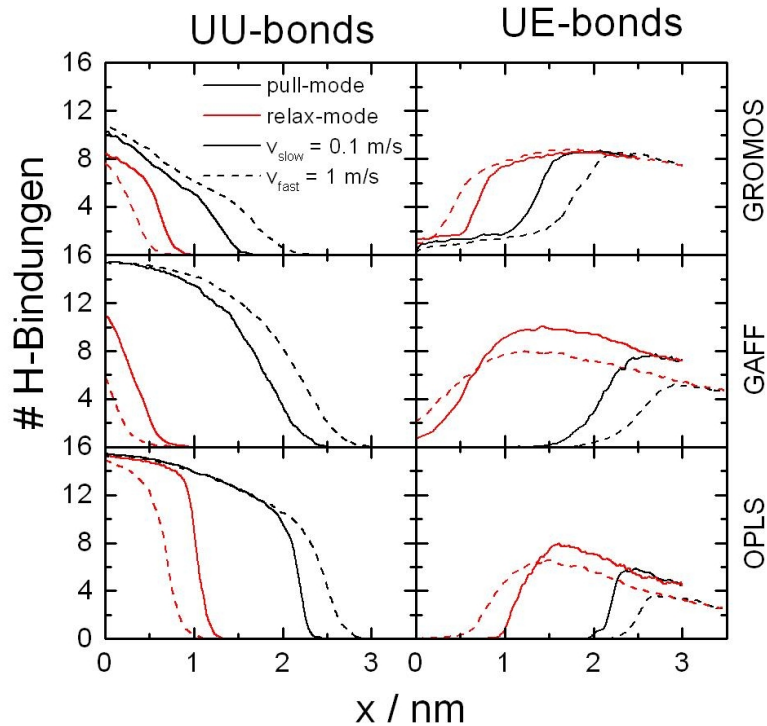


Abbildung 4.33: Mittlere Zahl der H-Bindungen. Auf der linken Seite sind die UU- und auf der rechten Seite die UE-Bindungen gezeigt.

Die mittlere Zahl der H-Bindungen zeigt ähnlich wie  $\langle F \rangle$  und  $\langle R \rangle$  eine Verbreiterung der Übergangereignisse, wenn man diese mit den individuellen Trajektorien vergleicht (siehe Abbildung 4.7 für eine pull-mode und 4.9 für eine relax-mode Simulation mit dem GROMOS Kraftfeld). Für das OPLS und GAFF Kraftfeld werden 16 UU-Bindungen und für das GROMOS Kraftfeld etwa 10 UU-Bindungen im geschlossenen Zustand beobachtet. Im Fall des offenen Zustandes findet man für alle drei Kraftfelder etwa 8-10 UE-Bindungen. In beiden Fällen stimmt die Zahl der beobachteten H-Bindungen mit der überein, die in den Gleichgewichtssimulationen des  $C_T$ - und  $O_T$ -Zustandes gefunden werden. Die generelle Dynamik der H-Bindungen ähnelt der der anderen beiden Observablen. Beispielsweise beobachtet man im Fall des OPLS Kraftfeldes die schärfsten gemittelten Übergangereignisse. Die Zahl der H-Bindungen und auch  $\langle R \rangle$  ändert sich wesentlich stärker als für die anderen beiden Kraftfelder, da die Kraftverteilung schmalere ist.

Für alle drei Kraftfelder findet man am Ende der relax-mode Simulationen weniger UU-Bindungen als zum Beginn der pull-mode Simulation. Dieser Effekt hat den gleichen Ursprung wie die Differenz  $\Delta R$  in  $\langle R \rangle$  und auch die Kraftfeld- und Zuggeschwindigkeitsabhängigkeit ist die Gleiche. Beispielsweise ändert sich für das OPLS Kraftfeld die Zahl der UU-Bindungen am Anfang und Ende des pull-relax Zyklus kaum, während man für das GAFF Kraftfeld die größten Unterschiede beobachtet.

Im Fall des OPLS und GAFF Kraftfeldes findet man während der relax-mode Simulation mehr UE-Bindungen als in der pull-mode Simulation. Der Grund hierfür könnte sein, dass in den relax-mode Simulationen kleinere End-zu-End Abstände innerhalb des  $O_T$ -Zustandes erreicht werden als während den pull-mode Simulationen und sich somit leichter UE-Bindungen ausbilden können. Gestützt wird die Vermutung dadurch, dass für beide Kraftfelder die Zahl der UE-Bindungen bei sehr großen Werten für  $x$  abnimmt. Die Tatsache, dass für das OPLS und GAFF Kraftfeld weniger UE-Bindungen in den Simulationen mit  $v_{fast}$  gebildet werden als mit  $v_{slow}$  kann dadurch erklärt werden, dass bei der größeren Zuggeschwindigkeit weniger Zeit bleibt die UE-Bindungen auszubilden. Im Fall des GROMOS Kraftfeldes ist die Zahl der UE-Bindungen jedoch praktisch unabhängig von der Zuggeschwindigkeit oder der Zugrichtung.

Ein Unterschied im Fall des GROMOS Kraftfeldes gegenüber den anderen beiden Kraftfeldern ist, dass die Zahl der UU-Bindungen nahezu linear abnimmt, während man für das OPLS und GAFF Kraftfeld zunächst nur eine langsame Abnahme beobachtet, die sich jedoch beim Abrissereignis massiv beschleunigt. Wie bereits bei der detaillierten Besprechung des Tetra-Loop Systems mit dem GROMOS Kraftfeld angesprochen, wird das letztgenannte nichtlineare Verhalten in kinetischen Monte-Carlo Simulationen von Adhäsionsclustern paralleler Bindungen in Zugexperimenten beobachtet [87]. Die Abweichung von diesem nichtlinearen Verhalten im Fall des GROMOS Kraftfeldes kann durch die unterschiedliche Stärke der beiden UU-Bindungen zwischen zwei Harnstoffgruppen erklärt werden. Abbildung 4.34 zeigt analog zu Abbildung 4.7 die Dynamik eines Paares von UU-Bindungen der drei Kraftfelder für jeweils eine typische pull-mode Simulation.

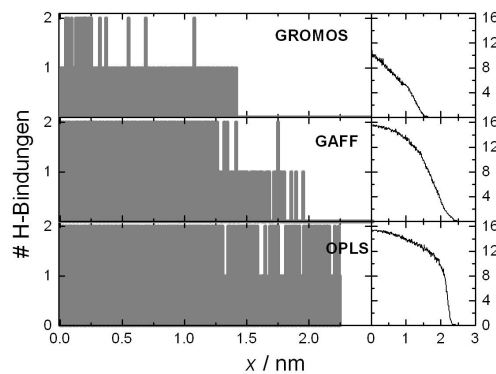


Abbildung 4.34: Links: Dynamik der beiden UU-Bindungen zwischen einem Harnstoffgruppenpaar. Rechts: Mittlere Zahl der UU-Bindungen.

Im Fall des OPLS öffnen sich die beiden Bindungen nahezu zeitgleich, während man beim GROMOS Kraftfeld eine signifikante Verzögerung zwischen dem Öffnen der beiden Bindungen beobachtet. Für das GAFF Kraftfeld beobachtet man ein Verhalten, das zwischen diesen beiden Extremen liegt. Nimmt man an, dass die beiden UU-Bindungen eines Harnstoffgruppenpaares nicht equivalent sind, kann die lineare Abnahme der Zahl der Bindungen erklärt werden, da zunächst die schwachen und erst dann die starken Bindungen reißen. Auch für das GAFF Kraftfeld beobachtet man eine deutliche Verzögerung zwischen dem Öffnen der ersten und zweiten Bindung. In Kapitel A.1.1 werden kinetische Monte-Carlo Simulationen vorgestellt, die den Einfluss einer unterschiedlichen Bindungsstärke auf die mittlere Zahl der Bindungen in pull-mode Simulationen verdeutlichen sollen.

Die unterschiedliche Stärke der beiden UU-Bindungen wird indirekt auch in Experimenten beobachtet. In Kristallstrukturanalysen ergeben sich für die N-O Abstände der beiden Stickstoffe des Protonendonors zwei unterschiedliche Werte. Im Folgenden wird das Stickstoffatom, dass di-

rekt an die Calixareneinheit gebunden ist, als  $N_\beta$  bezeichnet. Die  $N_\alpha$  Stickstoffatome sind an die Phenylringe gebunden, die mit den Alkylketten verbunden sind. Experimentell ergibt sich für den  $N_\beta$ -O Abstand ein größerer Wert als für den  $N_\alpha$ -O Abstand. Tabelle 4.5 zeigt die gemittelten Abstände der drei Kraftfelder und die experimentellen Werte.

Kraftfeld	$N_\beta$ -O Abstand / Å	$N_\alpha$ -O Abstand / Å
GROMOS	3.212	2.928
GAFF	2.980	2.964
OPLS	2.977	2.870
Exp.	3.155	2.818

Tabelle 4.5: N-O Abstände der UU-Bindungen.  $N_\beta$  bezeichnet das Stickstoffatom, das direkt an die Calixareneinheit gebunden ist.

Vergleicht man die experimentellen Werte mit den Ergebnissen der Kraftfelder, erkennt man, dass zwar alle drei Kraftfelder die Tatsache reproduzieren, dass der  $N_\beta$ -O Abstand größer ist als der  $N_\alpha$ -O Abstand. Nur das GROMOS Kraftfeld gibt jedoch auch die Differenz der beiden Abstände quantitativ wieder. Auf der anderen Seite beruhen die experimentellen Werte auf Kristallstrukturen und nicht auf einem System, das sich in Lösung befindet. Im Fall des GROMOS Kraftfeldes findet man im Vergleich zu den anderen beiden Kraftfeldern einen deutlich größeren Unterschied zwischen den beiden Abständen, weshalb die Dynamik der einzelnen UU-Bindungen in Abbildung 4.34 erklärt werden kann. Die schwachen  $N_\beta$ -UU-Bindungen reißen deutlich vor den starken  $N_\alpha$ -UU-Bindungen. Da für das OPLS Kraftfeld ein geringerer Unterschied in den beiden Abstände gefunden wird, weisen die beiden UU-Bindungen eine vergleichbare Stärke auf und öffnen sich nahezu zeitgleich. Das Verhalten der UU-Bindungen im Fall des GAFF Kraftfeldes kann nicht aufgrund der N-O Abstände geklärt werden. Hier findet man den kleinsten Unterschied zwischen den beiden Abständen und würde daher erwarten, dass die beiden UU-Bindungen eine ähnliche Stärke aufweisen, man beobachtet jedoch bei der Dynamik der einzelnen UU-Bindungen ein Verhalten, das zwischen den beiden Extremen der anderen beiden Kraftfelder liegt.

Im Fall des Netzwerkes der H-Bindungen ist nicht nur die Zahl der Bindungen in Abhängigkeit von  $x$  (Abbildung 4.33) sondern als Funktion von  $R$  interessant. Für das GROMOS Kraftfeld wurde solche eine Analyse bereits durchgeführt, siehe Abbildung 4.18. Es wurde gezeigt, dass die Zahl der H-Bindungen als Funktion von  $R$  direkt über die force probe Simulationen bestimmt werden kann, da beide Größen als Funktion von  $x$  bekannt sind. Bevor jedoch die Zahl der H-Bindungen auf diese Weise ausgewertet wird, soll die Analyse zunächst über einen anderen Weg erfolgen, da dieser einen Vergleich zwischen den drei Kraftfeldern vereinfacht. Zur Berechnung des PMF wurden Simulationen von Konfigurationen des Systems bei einem konstanten End-zu-End Abstand durchgeführt. Es ist möglich die Zahl der H-Bindungen während dieser einzelnen Simulationen zu messen und gegen  $R$  aufzutragen. Da die zugrunde liegenden Simulationen bei einem Quasi-Gleichgewicht (unter der Einschränkung des konstanten End-zu-End Abstandes) durchgeführt wurden, soll diese Methode als statisch bzw. als eine Gleichgewichtsmethode bezeichnet werden. Abbildung 4.35 zeigt die Ergebnisse für die drei Kraftfelder.

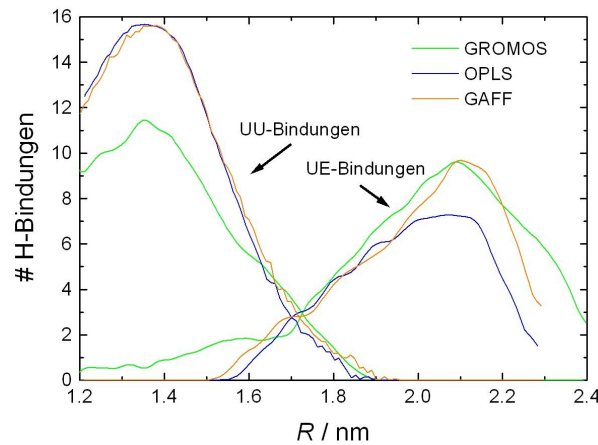


Abbildung 4.35: Mittlere Zahl der H-Bindungen als Funktion des End-zu-End Abstandes. Als Grundlage dienen die Quasi-Gleichgewichtssimulationen, aus denen auch das PMF bestimmt wurde, weswegen diese Methode als die statische Methode bezeichnet wird. Auf der linken Seite sind die UU- und auf der rechten Seite die UE-Bindungen gezeigt.

Die maximale Zahl der UU-Bindungen findet man bei etwa  $R = 1.4$  nm und dieser Abstand kennzeichnet damit den  $C_T$ -Zustand. Für das OPLS und GAFF Kraftfeld beobachtet man jeweils 16 und für das GROMOS Kraftfeld 11 Bindungen. Der  $O_T$ -Zustand befindet sich bei  $R = 2.1$  nm und man beobachtet für das GROMOS und GAFF Kraftfeld 10 UE-Bindungen, wohingegen es für das OPLS Kraftfeld nur 7 sind. Diese Befunde sind im Einklang mit den Gleichgewichtssimulationen für beide Zustände. Betrachtet man die Verläufe der UU-Bindungen für das OPLS und das GAFF Kraftfeld, fällt auf, dass diese fast identisch sind. Dies ist jedoch zu erwarten, wenn man bedenkt, dass sich beide Kraftfelder in den pull-mode Simulationen und der Gleichgewichtssimulation für den  $C_T$ -Zustand nahezu identisch verhalten.

Im Fall des GROMOS Kraftfeldes werden schon bei kleinem  $R$  etwa zwei UE-Bindungen beobachtet. Da die UU-Bindungen für dieses Kraftfeld im Vergleich zu den anderen beiden Kraftfeldern nicht so stabil sind, werden sie schon bei geringen Kräften geöffnet und die betreffenden Harnstoffgruppen können als Protonendonoren für die UE-Bindungen dienen. Ab  $R = 1.65$  nm erhöht sich die Zahl der UE-Bindungen für alle drei Kraftfelder in gleicher Weise. Für das OPLS Kraftfeld werden bei größeren Abständen im Mittel zwei UE-Bindungen weniger beobachtet, der generelle Verlauf der Kurve entspricht aber qualitativ dem, der anderen Kraftfelder.

Es fällt auf, dass sich der Verlauf der UU- und UE-Bindungen für alle drei Kraftfelder bei etwa 1.7 nm kreuzt und man beobachtet jeweils drei H-Bindungen. Dieser Punkt markiert somit den Übergang zwischen den beiden Wasserstoffbrückenbindungsnetzwerken und ist ein weiteres Indiz, dass der Übergangszustand bei etwa  $R = 1.7$  nm zu finden ist.

Die andere Methode zur Bestimmung der mittleren Zahl der H-Bindungen als Funktion des End-zu-End Abstandes verwendet direkt die Ergebnisse der Zugsimulationen. Beide Observablen sind als Funktion von  $x$  bekannt und können so direkt gegen einander aufgetragen werden. Im Gegensatz zur statischen Methode, die Quasi-Gleichgewichtssimulationen zur Bestimmung verwendet, ist die direkte Bestimmung über die Zugsimulationen eine dynamische Methode. Abbildung 4.36 zeigt die Ergebnisse der dynamischen Methode für die pull-mode (schwarz) und relax-mode (rot) Simulationen für die Zuggeschwindigkeit  $v_{\text{slow}}$ . Für  $v_{\text{fast}}$  werden qualitativ identische Ergebnisse gefunden. Zusätzlich sind die Resultate der statischen Methode (unterbrochene cyane Linien) als Referenz angegeben. Da die dynamische Methode die Zugsimulationen als Grundlage verwendet, werden Abstände  $R < 1.35$  nm und  $R > 2.25$  nm nur schlecht beschrieben, da diese Abstände nur

in wenigen Simulationen gemessen werden.

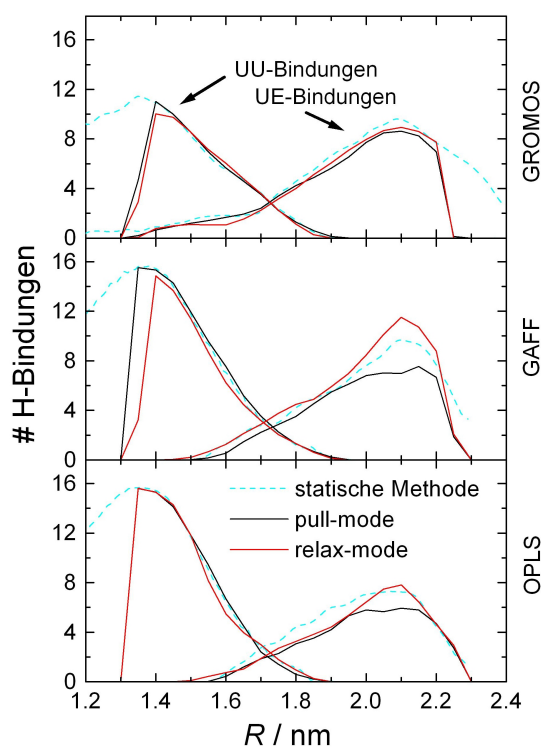


Abbildung 4.36: Mittlere Zahl der H-Bindungen als Funktion des End-zu-End Abstandes. Auf der linken Seite sind die UU- und auf der rechten Seite die UE-Bindungen gezeigt. Die Ergebnisse sind für die pull-mode (schwarz) und relax-mode Simulationen (rot) getrennt aufgetragen. Zusätzlich ist für jedes Kraftfeld das Ergebnis der statischen Methode als Referenz (unterbrochene cyan Linie) angegeben.

Zunächst einmal fällt auf, dass die Ergebnisse der dynamischen Methode sehr gut mit denen der statischen Methode übereinstimmen. Die Abweichungen der beiden Methoden (und zwischen den pull- und relax-mode Simulationen) innerhalb eines Kraftfeldes sind geringer als die Abweichungen der drei Kraftfelder untereinander. Die größten Unterschiede zwischen den Methoden beobachtet man für die UE-Bindungen. Hier findet man allgemein mehr Bindungen in den relax-mode als in den pull-mode Simulationen. Dieses Verhalten deckt sich jedoch mit der Dynamik der H-Bindungen (siehe Abbildung 4.33).

Die Tatsache, dass beide Methoden die gleichen Ergebnisse liefern, ist bemerkenswert, da die statische Methode auf Quasi-Gleichgewichtssimulationen und die dynamische Methode auf Nichtgleichgewichtssimulationen beruht. In Bezug auf die dynamische Methode ist es erstaunlich, dass die Hysterese, die in einer Auftragung gegen den Kontrollparameter beobachtet wird, hier nur am Rande bei den UE-Bindungen auftritt. Die Zahl der UU-Bindungen scheint von der Zugrichtung vollkommen unabhängig zu sein.

### 4.3.3 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde das Tetra-Loop System zusätzlich zum GROMOS Kraftfeld mit dem OPLS und dem GAFF Kraftfeld untersucht und die Unterschiede in der Beschreibung des Systems analysiert.

Qualitativ beschreiben die drei Kraftfelder das System ähnlich gut. Der Gleichgewichtszustand ( $C_T$ ) lässt sich in allen Fällen als eine kompakte Struktur beschreiben, die durch UU-Bindungen stabilisiert wird. Legt man eine externe Kraft an, beobachtet man einen Übergang zu einer gestreckten Struktur ( $O_T$ -Zustand), wobei das Netzwerk der UU-Bindungen vollständig durch das Netzwerk der UE-Bindungen ersetzt wird. Auch das reversible Verhalten des Systems wird von allen drei Kraftfeldern reproduziert. Insgesamt betrachtet, ist es nicht verwunderlich, dass die drei Kraftfelder das generelle Verhalten des Systems korrekt wiedergeben, da das System durch die starren Calixaren-Kelche und die Alkylketten einen relativ beschränkten Konfigurationsraum aufweist. Des Weiteren ist der Reaktionspfad durch die Geometrie des Systems und die Zugrichtung klar definiert. Die Details hängen jedoch von dem gewählten Kraftfeld ab.

Betrachtet man die Konfigurationen des geschlossenen Zustandes, unterscheidet sich der häufigste End-zu-End Abstand um weniger als 0.1 nm ( $\approx 7\%$ ) und die Abweichungen im offenen Zustand sind noch geringer. Die beiden größten Unterschiede zwischen den drei Kraftfeldern sind, dass im Fall des GROMOS Kraftfeldes weniger UU-Bindungen im  $C_T$ -Zustand und für das OPLS Kraftfeld weniger UE-Bindungen im  $O_T$ -Zustand gefunden werden. Beides beeinflusst die Verteilungen der Übergangskräfte merklich. Für das GROMOS Kraftfeld werden geringere Abrisskräfte gemessen als für die anderen beiden Kraftfelder, was im Einklang mit der geringeren Zahl der stabilisierenden UU-Bindungen ist. Auch ist die molekulare Kraftkonstante kleiner und in Folge wird eine breitere Verteilung der End-zu-End Abstände beobachtet. Vergleicht man das OPLS und GAFF Kraftfeld, sind diese in den pull-mode Simulationen nahezu ununterscheidbar. Betrachtet man die relax-mode Simulationen, beobachtet man für das OPLS Kraftfeld größere Rückbindungskräfte als bei den anderen beiden Kraftfeldern, da die gestreckten Strukturen durch weniger UE-Bindungen stabilisieren werden. Die Verteilung der Rückbindungskräfte der anderen beiden Kraftfelder unterscheiden sich trotz der gleichen Zahl an UE-Bindungen etwas.

Den größten Unterschied zwischen den drei Kraftfeldern beobachtet man in ihrem reversiblen Verhalten. Dies lässt sich anhand der Zahl der UU-Bindungen, die am Ende der relax-mode Simulationen zurückgebildet werden und anhand des Unterschiedes in  $R$  am Anfang und Ende des pull-relax Zyklus charakterisieren. Im Fall des OPLS Kraftfeldes enden so gut wie alle relax-mode Simulationen in der optimalen Bindungsstruktur des geschlossenen Zustandes. Eine Vergrößerung der Zuggeschwindigkeit verringert den Anteil der Rückbindungen nur geringfügig. Für die anderen beiden Kraftfelder beobachtet man eine geringere Rückbindungswahrscheinlichkeit und auch die Zuggeschwindigkeit wirkt sich wesentlich stärker auf diese aus. Vergleicht man die Rückbindungswahrscheinlichkeiten des GROMOS und GAFF Kraftfeldes, wirkt es, als wären die Simulationen im Fall des GAFF Kraftfeldes bei einer Zuggeschwindigkeit durchgeführt worden, die ungefähr eine Größenordnung größer ist als beim GROMOS Kraftfeld. Die Gründe für dieses unterschiedliche dynamische Verhalten der Kraftfelder konnte in dieser Arbeit jedoch nicht geklärt werden. Betrachtet man den Reaktionspfad anhand der Zahl der H-Bindungen als Funktion des End-zu-End Abstandes, ist dieser für alle drei Kraftfelder praktisch identisch, wenn man jeweils von der geringeren Zahl der UU-Bindungen (GROMOS Kraftfeld) bzw. UE-Bindungen (OPLS Kraftfeld) absieht. Auch sind die Ergebnisse für den Reaktionspfad relativ unabhängig von der verwendeten Bestimmungsmethode. Sowohl der statische als auch dynamische Ansatz liefern beide vergleichbare Resultate. Es ist bemerkenswert, dass die Zuggeschwindigkeit und -richtung nur einen geringen Einfluss auf den Reaktionspfad hat, da im Fall der dynamischen Observablen ( $F$ ,  $R$  und Zahl der H-Bindungen) eine Hysterese beobachtet wird.

Qualitativ verhalten sich die drei Kraftfelder in den Simulationen ähnlich und reproduzieren das reversible Verhalten des Systems, aber die Dynamik der Zugsimulationen hängt zu einem unterschiedlichen Grad von der Zuggeschwindigkeit ab. Generell führt eine größere Zuggeschwindigkeit dafür, dass das System weiter vom Gleichgewicht entfernt ist und sorgt im Extremfall dazu, dass das System irreversibel wird. Das Ausmaß dieses Effektes hängt jedoch vom gewählten Kraftfeld

ab und lässt sich grob im folgenden Trend einteilen: OPLS < GROMOS < GAFF. Auf der anderen Seite beobachtet man für die drei Kraftfelder in Bezug auf die statischen Eigenschaften, wie dem Reaktionspfad oder dem mittleren End-zu-End Abstand der beiden Zustände, eine größere Übereinstimmung als bei den dynamischen Observablen.

Insgesamt sehen die Ergebnisse vielversprechend aus, da alle drei Kraftfelder qualitativ ein ähnliches Bild liefern. Die Unterschiede, die in den Zugsimulationen gefunden werden, wie die Abrisskraftverteilungen, lassen sich größtenteils auf eine unterschiedliche Beschreibung des Netzwerks der H-Bindungen zurückzuführen. Diese Diskrepanz wird jedoch auch in den Gleichgewichtssimulationen beobachtet, das heißt, dass sich das unterschiedliche Verhalten der Kraftfelder in den Zugsimulationen durch die unterschiedlichen Kraftfeldparameter erklären lässt. Man kann demnach davon ausgehen, dass der mechanische Zug die Zuverlässigkeit der Kraftfelder nicht zusätzlich beeinflusst und dass die Genauigkeit der Zugsimulationen ähnlich gut ist wie die der Gleichgewichtssimulationen.



## Kapitel 5

# Ionenpaarbindung in einem Carbohydrat-Kation-Carbohydrat Komplex

### 5.1 Einleitung

In der Natur finden sich viele Systeme, in denen supramolekulare Komplexe durch divalente Kationen stabilisiert werden. Diese Systeme sind häufig für die Zelladhäsion und -aggregation relevant. Hierbei dienen die Kationen als Gegenionen, damit sich zwei oder mehr negativ geladene Gruppen einander annähern können. Ohne die ausgleichende Ladung des Kations würden sich die Gruppen gegenseitig abstoßen und der Komplex könnte seine biologische Funktion nicht erfüllen. Als Beispiel seien die Cadherine zu nennen, die zur Familie der Adhäsionsproteine gehören. Einzelne Cadherineinheiten binden über Calciumionen aneinander und es entsteht eine kurze Kette, die wiederum an eine Zellmembran binden kann. Auf diese Weise werden mehrere Zellen miteinander vernetzt [100][101]. In anderen Systemen sorgen die Kationen dafür, dass sich negativ geladene Gruppen nähern und miteinander reagieren können. Beim Aufbau der DNA muss beispielsweise die Phosphatgruppe eines Nukleotids mit der Hydroxylgruppe eines anderen Nukleotids verknüpft werden. Da sich diese beiden Gruppen aufgrund von negativen Ladungen normalerweise abstoßen würden, wird die Reaktion durch die DNA-Polymerase katalysiert. Im aktiven Zentrum dieses Enzyms befinden sich zwei Magnesiumionen in relativer Nähe. Die zu verknüpfenden Nukleotide binden an diese Kationen und befinden sich daher relativ nahe beieinander und die beiden Gruppen können miteinander reagieren [102].

In dieser Arbeit soll ein Komplex untersucht werden, der durch Ionenpaarbindungen stabilisiert wird und für die Selbstadhäsion von Meeresschwammzellen verantwortlich ist. Diese Selbstadhäsion wird durch so genannte Aggregationsfaktoren, die aus zwei Proteoglykanen bestehen, vermittelt [42]. Proteoglykane sind Makromoleküle, die aus einem zentralen Protein bestehen, an das ein oder mehrere Glykosaminoglykane (Polysaccharide aus wiederholenden Disacchariden, wobei eines der beiden Saccharideinheiten ein Aminozucker ist) gebunden sind. Die eine Gruppe der Proteoglykane bindet an Rezeptoren, die sich an der Zelloberfläche befinden und sorgen somit dafür, dass die Aggregationsfaktoren an die einzelnen Zellen gebunden werden. Die eigentliche Adhäsion zwischen den Zellen wird durch die zweite Klasse von Proteoglykanen über eine durch Calciumionen vermittelte nichtkovalente Bindung verursacht. Die Bindungen der Aggregationfaktoren sind sehr spezifisch. Mischt man die Aggregationsfaktoren verschiedener Schwämme, werden nur Bindungen zwischen den Faktoren der jeweils gleichen Schwammsorte beobachtet [103]. Das heißt, die Zellen unterschiedlicher Schwämme können nicht aggregieren. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass

die Anwesenheit von Kationen für die Zelladhäsion zwingend erforderlich ist, wobei andere Metallionen teilweise das Calcium in seiner Funktion ersetzen können [104][105].

Für verschiedene Meeresschwämme konnten die Aggregationsfaktoren isoliert und identifiziert werden [42]. Im Folgenden soll der Meeresschwamm *Microciona prolifera* näher betrachtet werden. Für diesen Schwamm wurde festgestellt, dass das sulfatisierte Disaccharid  $\text{Glc}\beta\text{Nac}3\text{S}(\beta 1-3)\text{Fuc}\beta$  (siehe Abbildung 5.1) für den Komplex, der durch die Calciumionen stabilisiert wird, relevant ist [43].

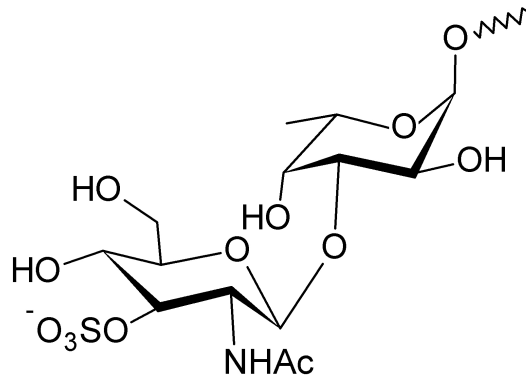


Abbildung 5.1: Das sulfatisierte Disaccharid  $\text{Glc}\beta\text{Nac}3\text{S}(\beta 1-3)\text{Fuc}\beta$ , das für den durch Calciumionen verbrückten Carbohydrat-Carbohydrat Komplex verantwortlich ist. 'Glc' ist die Abkürzung für einen Glukosezucker und 'Fuc' bezeichnet einen Fucosezucker. 'Ac' steht für eine Acetylgruppe ( $-\text{CO}-\text{CH}_3$ ) und die geschwungene Linie deutet die Bindung zum restlichen Proteoglykan an. In den Simulationen wurde an dieser Stelle eine Alkylkette mit 5 Kohlenstoffeinheiten verwendet.

In einer experimentellen Arbeit wurde das Aggregationsverhalten des Aggregationsfaktors in Abhängigkeit von verschiedenen Kationen untersucht [45]. Hierbei wurde festgestellt, dass Magnesiumionen im Gegensatz zu Calciumionen zu keiner Aggregation führen. Verwendet man statt dessen Cadmiumionen, wird zwar eine Aggregation beobachtet, diese ist jedoch schwächer ausgeprägt als bei Calciumionen. In einer weiteren Arbeit wurde das Disaccharid-Kation System (für die Kationen  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{Cd}^{2+}$ ) mit einem Rasterkraftmikroskop untersucht [44]. Hierbei wurden jeweils die Spitze des Cantilevers und die Oberfläche mit dem Disaccharid beschichtet. Bringt man Spitze und Oberfläche in Kontakt zueinander, können sich aus den Zuckern und den Ionen eventuell Komplexe bilden. Für eine wässrige Umgebung, ohne die Zugabe zusätzlicher Kationen wurde für kleine Abstände (bevor sich Spitze und Oberfläche im direkten Kontakt befanden) eine repulsive Wechselwirkung festgestellt. Diese wurde auf die Abstoßung der negativ geladenen Monolagen des Disaccharids zurückgeführt. Durch die Zugabe von Magnesiumionen konnte diese repulsive Wechselwirkung unterdrückt werden, es wurde jedoch keine Bildung eines Komplexes beobachtet. Im Fall von Calciumionen kam es in 95% der Messungen zu bindenden Wechselwirkungen und die Abrisskraft für einen einzelnen Komplex wurde zu  $30 \pm 6$  pN bestimmt. In den Experimenten, in denen Cadmiumionen verwendet wurden, wurde nur in etwa 30% der Fälle ein Bindungsereignis beobachtet.

Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, den Bindungsmechanismus der Calciumionen vermittelten Carbohydrat-Carbohydrat-Bindung aufzuklären und zu untersuchen, aus welchem Grund kein analoger Magnesiumkomplex gefunden wird. Im Folgenden werden die einzelnen Simulationen und deren Ergebnisse vorgestellt. Alle MD Simulationen wurden mit dem GROMACS (Version 4.0.7) [60] Programmpaket durchgeführt und es wurde ein ähnliches Protokoll verwendet

wie für die Simulationen der Calix[4]aren-Catenane. Für die Modellierung der Wechselwirkungen zwischen den Atomen wurde das OPLS-AA-SEI Kraftfeld [96][97][106] genutzt und die Parameter für die deprotonierte Sulfatgruppe stammten aus Referenz [107]. In allen Simulationen wurden die Carbohydrate und Ionen mit Wasser solvatisiert. Im Anhang C.1.3 wird das Protokoll für die besprochenen Simulationen vorgestellt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Simulationen durchgeführt, in denen mehrere Disaccharidmoleküle und Kationen in einem wässrigen Medium modelliert wurden, wobei die überschüssige Ladung der Kationen durch Chlorionen ausgeglichen wurde. Anschließend wurden verschiedene radiale Verteilungsfunktionen  $g(r)$  betrachtet. Diese erlauben es zu analysieren, in wie weit sich unterschiedliche Gruppen in der Simulation aneinander anlagern. Im Anhang B.3.2 wird auf die theoretischen Grundlagen der radialen Verteilungsfunktion eingegangen. Bevor die Ergebnisse der Simulationen vorgestellt werden, soll zunächst gezeigt werden, wie  $g(r)$  allgemein interpretiert werden kann. Des Weiteren ist es möglich, aus der radialen Verteilungsfunktion zwischen den Disaccharidmolekülen ein *Potential of mean force* zu berechnen, das als effektives Potential für die Wechselwirkung zweier gebundener Disaccharidmoleküle verwendet werden kann. Mit diesem Potential lassen sich in Brown'schen Simulationen Adhäsionscluster modellieren, die durch viele Carbohydrat-Calcium-Carbohydrat Komplexe stabilisiert werden. Die Grundlagen, der Brown'schen Simulationen werden im Anhang B.1 vorgestellt.

## 5.2 Radiale Verteilungsfunktionen (RDF)

Die radiale Verteilungsfunktion gibt die abstandsabhängige Wahrscheinlichkeit an, ein Teilchen in einem Abstand  $r$  von einem Referenzteilchen zu finden. Ist das Potential des Systems bekannt, kann  $g(r)$  mit Hilfe von

$$g(r) = \frac{N!}{\rho^2(N-2)!} \frac{1}{Z_N} \int \dots \int \exp(-\beta V_N) d\mathbf{r}_3 \dots d\mathbf{r}_N, \quad (5.1)$$

berechnet werden, wobei  $Z_N$  die Zustandssumme des  $N$ -Teilchensystems angibt und  $\rho$  die Dichte. Geht man von einem wechselwirkungsfreien System aus, weist  $g(r)$  für alle Abstände einen Wert von 1 auf, da die Positionen der Teilchen nicht miteinander korrelieren. Das heißt, die Wahrscheinlichkeit ein Teilchen im Abstand  $r$  von einem Referenzteilchen zu finden, ist für alle Abstände gleich. Oder anders ausgedrückt, die lokale Dichte um das Referenzteilchen entspricht in jedem Punkt der mittleren Dichte des Gesamtsystems. Wechselwirken die Teilchen miteinander, weicht  $g(r)$  vor allem für kleine Abstände von 1 ab, da die Teilchenkoordinaten aufgrund der Wechselwirkungen zwischen den Teilchen korreliert sind. Beispielsweise sorgt eine kurzreichweitige repulsive Wechselwirkung dafür, dass die Wahrscheinlichkeit sinkt, zwei Teilchen zu finden, die sehr nahe beieinander sind und es gilt  $g(r) < 1$ . Umgekehrt führen attraktive Wechselwirkungen zu einer relativen Anhäufung der Teilchen gegenüber einem wechselwirkungsfreien System und es folgt  $g(r) > 1$ . Würde man einen Kristall betrachten, wäre die radiale Verteilungsfunktion für die meisten Abstände gleich 0. Für einen Abstand  $r$ , der dem Abstand zwischen zwei benachbarten Teilchen im Kristall entspricht, findet man einen Wert für  $g(r)$  der größer ist als 1. Gleiches gilt für Abstände zu den übernächsten und weiter entfernten Nachbarn, wobei der Wert der radialen Verteilungsfunktion für größere Abstände abnimmt und sich 1 annähert. Für Flüssigkeiten findet man eine radiale Verteilungsfunktion, die man als eine Überlagerung der beiden eben erwähnten Fälle verstehen kann. Für sehr kleine Abstände ist  $g(r) = 0$ , da sich die Teilchen gegenseitig abstoßen. Ähnlich wie für den Kristall findet man für Abstände, die den Abständen der Koordinationssphären entsprechen  $g(r) > 1$ . Anders als beim Kristall ist die radiale Verteilungsfunktion zwischen diesen Bereichen jedoch ungleich 0, da Teilchen in den Bereich zwischen zwei Koordinationssphären diffundieren können. Für große Abstände weist die radiale Verteilungsfunktion einen

Wert von 1 auf, da die Positionen und Bewegungen der Teilchen nicht mehr miteinander korrelieren. Abbildung 5.2 zeigt die radiale Verteilungsfunktion von flüssigem Argon. Im unteren Teil der Abbildung befindet sich eine schematische Zeichnung, die die Anordnung der Argonatome und die Bedeutung der Koordinationssphären verdeutlichen soll.

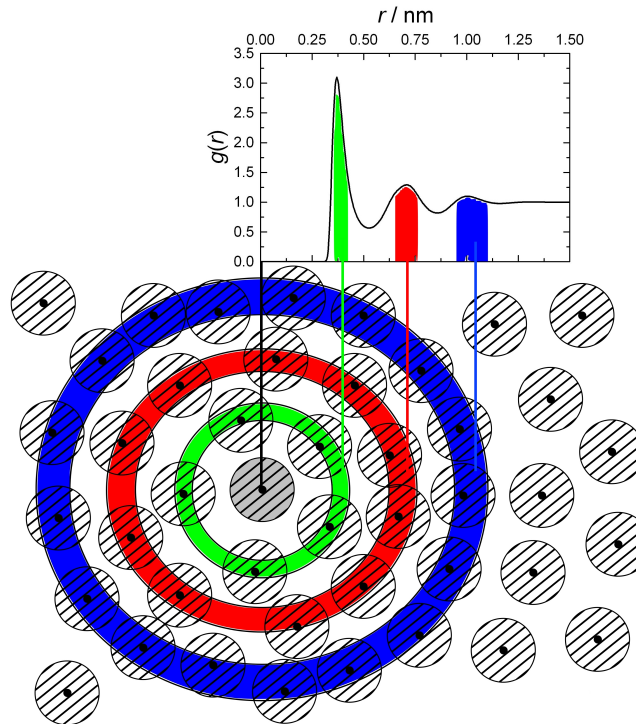


Abbildung 5.2: Oben: Radiale Verteilungsfunktion von flüssigem Argon bei 80 K.<sup>1</sup> Unten: Schematische Zeichnung der Anordnung der Argonatome um ein zentrales Argonatom (grau eingefärbt). Dieses Referenzteilchen ist so positioniert, dass sich dessen Mitte parallel zum Ursprung der obigen Abbildung befindet. Die ersten drei Koordinationssphären um das zentrale Teilchen sind jeweils farblich hervorgehoben. In diesen Bereichen findet man eine relative Anhäufung der Atome ( $g(r) > 1$ ), wohingegen die Teilchendichte zwischen diesen Bereichen gegenüber der mittleren Dichte erniedrigt ist ( $g(r) < 1$ ). Hinter der dritten Koordinationssphäre sind die Teilchen aus Sicht des Referenzteilchens ungeordnet und die Wahrscheinlichkeit, dort ein anderes Atom zu finden, ist unabhängig vom Abstand  $r$  des Atoms zum Referenzteilchen ( $g(r) = 1$ ).

Die radiale Verteilungsfunktion ist jedoch nicht nur für homogene sondern auch für heterogene Systeme definiert. Vor allem in Simulationen ist es möglich,  $g(r)$  nur zwischen bestimmten Atomen zu bestimmen. Da die radiale Verteilungsfunktion die Wahrscheinlichkeit beschreibt, ein Teilchen in einem gewissen Abstand  $r$  zu einem Referenzteilchen zu finden, ist es möglich, die relative Affinität zwischen den verschiedenen Teilchen abzuschätzen. Im Folgenden soll ein stark verdünntes System betrachtet werden, das drei unterschiedliche Teilchensorten A, B und C enthält. Sind die Bindungen zwischen den Teilchen schwach, bindet ein Teilchen im Laufe einer langen Gleichgewichtssimulation nicht immer an die gleichen anderen Teilchen, sondern wechselt die Bindungspartner. Die radiale Verteilungsfunktion zwischen unterschiedlichen Teilchen ist durch  $g_{X,Y}(r)$  gegeben, wobei X und Y die Namen der Teilchen angeben. Findet man

<sup>1</sup>Um die Verteilungsfunktion zu erhalten, wurde ein Lennard-Jones System (1000 Teilchen) für 250 ps bei 80 K und konstantem Volumen in einer MD Simulation modelliert.

$g_{A-B}(r_{\max}) > g_{A-C}(r_{\max})$ , wobei  $r_{\max}$  jeweils der Abstand zur ersten Koordinationssphäre angibt, bedeutet dies, dass im zeitlichen Mittel sich mehr B als C an A anlagert. Das heißt, dass A zu B eine größere Affinität besitzt als zu C. Dieser qualitative Zusammenhang zwischen radialer Verteilungsfunktion und Bindungsaffinität ergibt sich auch aus Gleichung (2.38), die die radiale Verteilungsfunktion mit dem *Potential of mean force* (PMF) in Verbindung bringt.

Im Folgenden soll für die radiale Verteilungsfunktion  $g(r)$  die Nomenklatur  $g_{A-B}$  verwendet werden, wobei 'A' und 'B' hierbei die beiden Gruppen angeben, zwischen denen die radiale Verteilungsfunktion bestimmt wird. Beinhaltet die radiale Verteilungsfunktion nicht die Kationen, wird die Nomenklatur  $g_{A-B}(\text{Kation})$  verwendet, damit klar ersichtlich ist, welche 'Kationart' (z.B.  $\text{Ca}^{2+}$ ) in der betreffenden Simulation verwendet wurde. Allgemein wird im Folgenden auf die explizite Angabe der Distanzabhängigkeit ( $r$ ) der radialen Verteilungsfunktion verzichtet.

Für die verschiedenen Systeme werden drei unterschiedliche radiale Verteilungsfunktionen betrachtet. Diese sollen hier zunächst kurz vorgestellt werden.

Zum Einen wird die radiale Verteilungsfunktion zwischen den einzelnen Zuckerringen der Disaccharide betrachtet. Hieraus lässt sich ableiten, ob eine bestimmte Anordnung der Disaccharidmoleküle bevorzugt wird. Beispielsweise könnte es sein, dass die Disaccharide vornehmlich über die Glukoseeinheiten an das Kation binden. In diesem Fall würde man in der radialen Verteilungsfunktion bezüglich der Glukoseeinheiten das Maximum bei einem kleineren Abstand finden als für eine radiale Verteilungsfunktion, die die Fucoseeinheiten berücksichtigt.

In einer Voruntersuchung (Kapitel 5.2.1) wurde festgestellt, dass sich die Kationen vor allem an die deprotonierten Sulfatgruppen binden. Es bietet sich daher an, die radiale Verteilungsfunktion bezüglich der Sauerstoffatome der Sulfatgruppen und der Kationen zu analysieren, da hieraus Unterschiede zwischen den Kationarten in Bezug auf die Affinität zu der Sulfatgruppe ermittelt werden können.

Abschließend soll die radiale Verteilungsfunktion der Sulfatgruppen untersucht werden, da sich zeigt, dass diese Gruppen wichtig für die Bildung des Komplexes sind. Aus dieser radialen Verteilungsfunktion wird des Weiteren ein PMF berechnet, das ein Maß für die Stabilität des Carbohydrat-Kation-Carbohydrat Komplex in Abhängigkeit des Abstands der Sulfatgruppen ist. Da das PMF im Wesentlichen eine logarithmische Darstellung von  $g(r)$  ist und aus beiden Größen im Prinzip die gleichen Erkenntnisse gewonnen werden können, soll nur das PMF diskutiert werden.

### 5.2.1 Voruntersuchung

Um das Carbohydrat-Kation System zu untersuchen wurden Simulationen durchgeführt, in denen mehrere Disaccharidmoleküle und divalente Kationen ( $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{Mg}^{2+}$ ) modelliert wurden. Bevor diese Simulationen und deren Ergebnisse vorgestellt werden, soll zunächst über eine Voruntersuchung gesprochen werden, da diese weitere Simulationen motivierte.

In dieser Voruntersuchung wurden zwei Systeme untersucht, die jeweils ein solvatisiertes Disaccharidmolekül und 20 Kationen ( $\text{Ca}^{2+}$  oder  $\text{Mg}^{2+}$ ) enthielten. Um die überschüssige positive Ladung der Kationen auszugleichen wurden 39 Chlorionen als Gegenionen hinzu gegeben. Diese Simulationen dienen dazu, um zu ermitteln, an welche Gruppen bzw. Atome innerhalb des Disaccharids sich die Kationen überhaupt anlagern. Prinzipiell kommen hierfür vor allem die Sauerstoffatome des Disaccharids aufgrund ihrer negativen Partialladung in Frage. Für beide Simulationen wurden die radialen Verteilungsfunktionen der Kationen und Sauerstoffatome des Disaccharids bestimmt. Es zeigt sich, dass sich die Kationen vornehmlich an die deprotonierte Sulfatgruppe und in etwas geringerem Maße an das Carbonylsauerstoffatom der N-Acetylgruppe anlagern. Zu den anderen Sauerstoffatomen besteht eine weitaus geringere Affinität. Auffallend ist, dass die Tendenz der

Magnesiumionen an die Sauerstoffatome des Disaccharids zu binden, deutlich geringer ausfällt als bei den Calciumionen. Grund hierfür ist der kleinere Ionenradius des Magnesiumions gegenüber dem Calciumion. In Folge dessen bindet ein solvatisiertes Magnesiumion die Wassermoleküle der Hydrathülle stärker an sich, als dies ein Calciumion tut. Dieser Unterschied der beiden Ionen schlägt sich auch auf deren Hydrationsenthalpien  $\Delta H_{\text{hydra}}$  und den Geschwindigkeitskonstanten für den Wasseraustausch  $k_{\text{ex}}$  nieder. Tabelle 5.1 gibt die experimentell bestimmten Werte sowie den Kationenradius  $r_{\text{kation}}$  von beiden Kationarten an.

Kationart	$r_{\text{kation}} / \text{Å}$	$\Delta H_{\text{hydra}} / \text{kJ/mol}$	$k_{\text{ex}} / \text{s}^{-1}$
Mg <sup>2+</sup>	0.60	-1922	$5.3 \cdot 10^5$
Ca <sup>2+</sup>	0.95	-1577	$(6 - 9) \cdot 10^8$

Tabelle 5.1: Kationenradius  $r_{\text{kation}}$  [108], Hydrationsenthalpie  $\Delta H_{\text{hydra}}$  [109] und Geschwindigkeitskonstante für den Wasseraustausch  $k_{\text{ex}}$  für die zwei Kationarten (Ca<sup>2+</sup> und Mg<sup>2+</sup>). Für die Werte von  $k_{\text{ex}}$  siehe folgende Referenzen: Mg<sup>2+</sup> [110][111] und Ca<sup>2+</sup> [112].

Für Magnesium findet man die kleinere Hydrationsenthalpie, was bedeutet, dass Magnesium die Hydrathülle stärker bindet als Calcium. Dies hat zur Folge, dass der Wasseraustausch langsamer erfolgt als beim Calciumsystem.

Damit die Kationen überhaupt an die Sauerstoffatome des Disaccharids binden können, muss die Hydrathülle zunächst teilweise aufgebrochen werden. Da Magnesium die Hydrathülle stärker bindet als Calcium, wird die Ausbildung der Kation-Disaccharid Bindung kinetisch gehemmt. Um zu überprüfen, ob die Stärke der Bindung der Hydrathülle die Unterschiede in der Affinität der Kationarten erklären kann, wurden neben den Simulationen mit Calcium- und Magnesiumionen weitere Simulationen mit Magnesiumionen durchgeführt, in denen das verwendete Wassermodell modifiziert wurde. In erster Näherung ist die Coulombwechselwirkung zwischen dem Sauerstoffatom des Wassermoleküls und dem Kation für die Bindungsstärke der Hydrathülle an das Kation verantwortlich. Reduziert man die Partialladung des Sauerstoffatoms, kann die Stärke der Wechselwirkung zwischen Magnesiumion und Wassermolekül reduziert werden und die Hydrathülle sollte weniger stark an das Magnesiumion binden. In Folge sollte sich das Kation eher an das Disaccharid anlagern können. Der Abstand zwischen einem Kation und einem Sauerstoffatom eines Wassermoleküls in der ersten Solvatationsschale beträgt für Calcium  $r_{\text{Ca}} = 0.256$  nm und für Magnesium  $r_{\text{Mg}} = 0.214$  nm. Skaliert man die Partialladungen der Wassermoleküle mit dem Faktor  $r_{\text{Mg}}/r_{\text{Ca}} = 0.84$ , ist die Stärke der Coulombwechselwirkung zwischen einem Calciumion und einem normalen Wassermolekül die gleiche wie für ein Magnesiumion und einem modifizierten Wassermolekül. Die Ladungen der Wasserstoffatome müssen ebenfalls entsprechend skaliert werden, da sonst das Wassermolekül nicht neutral wäre. Um die Simulationen mit dem modifizierten Wassermodell von den normalen Simulationen zu unterscheiden, wird für erstere die Bezeichnung 'Mg\*' eingeführt.

## 5.2.2 Bestimmung der RDF

Um eine Bindungsstruktur für die Kation-Carbohydrat Komplexe und deren Stabilität zu bestimmen, wurden mehrere Simulationen durchgeführt, in denen jeweils eine unterschiedliche Zahl von Disaccharidmolekülen und Kationen modelliert wurde. Für jede Kationart (Ca, Mg und Mg\*) wurden drei Disaccharidkonzentrationen mit jeweils vier Kationkonzentrationen untersucht. Für jede Kationart ergeben sich somit 12 Simulationen. Tabelle 5.2 gibt Auskunft über die genaue Zahl der Disaccharidmoleküle und Kationen, die in den Simulationen verwendet wurden.

Disaccharide	Kationen (Ca, Mg, Mg*)
5	15, 20, 25, 40
10	20, 40, 60, 80
15	20, 40, 60, 80

Tabelle 5.2: Zahl der Disaccharidmoleküle und Kationen, die in den Simulationen verwendet wurden. Für jede Kationart wurden drei Disaccharidkonzentrationen mit jeweils vier verschiedenen Kationkonzentrationen modelliert. In einer Zeile ist daher die Zahl der Disaccharidmoleküle angegeben, sowie die Zahl der Kationen für die vier Kationkonzentrationen.

In jeder Simulation wurde die überschüssige Ladung der Kationen durch Chlorionen ausgeglichen. Des Weiteren wurden für die drei Disaccharidkonzentrationen Simulationen durchgeführt, in denen die negative Ladung der Disaccharide durch Natriumionen ausgeglichen wurde und keine weiteren Ionen hinzu gegeben wurden. Somit enthalten diese Simulationen dementsprechend 5, 10 bzw. 15 Natriumionen und es wurden daher nur 3 Simulationen durchgeführt und nicht 12 wie bei den anderen Kationarten. Diese Simulationen dienen als Modell für ein System, in dem keine Kationen vorhanden sind. Die Zugabe der Natriumionen ist jedoch zwingend erforderlich, da sich in einer Simulation alle Ladungen ausgleichen müssen. Aus Experimenten ist bekannt, dass mit Natriumionen kein Disaccharidkomplex gebildet wird, da sich vermutlich die deprotonierten Sulfatgruppen gegenseitig abstoßen. Es ist daher zu erwarten, dass in den MD Simulationen des Natriumsystems ebenfalls keine Komplexbildung beobachtet wird. Man kann diese Simulationen daher als eine 'negative Blindprobe' auffassen. Für die Simulationen mit den Natriumionen wird die Bezeichnung 'Na' eingeführt.

In allen Fällen wurde eine kubische Simulationsbox mit der Kantenlänge 6.5 nm verwendet und das System wurde in Wasser solvatisiert. In den Simulationen wurde das System an ein Thermostat und ein Barostat gekoppelt um die Temperatur ( $T = 300$  K) und den Druck ( $p = 1$  bar) zu kontrollieren. In allen Fällen wurde das jeweilige System für 150 ns simuliert.

### 5.2.3 RDF der Zuckerringe

Abbildung 5.3 zeigt drei prinzipielle Möglichkeiten, wie die Disaccharidmoleküle über die Kationen aneinander binden können. Die Kationen sind dabei nicht eingezeichnet, da es bei dieser Betrachtung um die relative Anordnung der Disaccharide geht. Im Fall der Anordnungen (1 und 2) kommen auch Konformationen in Frage, bei denen eines der beiden Disaccharide aus der Paperebene herausgedreht wird, so dass sich beide Moleküle nicht mehr entlang einer Linie befinden, sondern einen Winkel einschließen. In Abbildung 5.3 sind die Glukoseringe, an die die Sulfatgruppen gebunden sind, rot und die Fucoseringe, an die die Alkylketten gebunden sind, grün eingefärbt. In den Anordnungen (1 und 2) bei denen jeweils zwei gleiche Zuckerringe über ein Kation binden, sind die Zuckerringe durch entsprechend farbige Linien verbunden. Wechselwirkungen, die zwischen verschiedenen Zuckerringen bestehen, sind blau hervorgehoben, siehe Anordnung (3).

Für die Bestimmung der radialen Verteilungsfunktionen wurden jeweils die Abstände zwischen den Schwerpunkten der jeweiligen Zuckerringe (ohne die Seitengruppen) bestimmt. Im Folgenden soll der Glukoseringe mit dem Index 'Glc' und der Fucosering mit dem Index 'Fuc' bezeichnet werden. Untersucht man die drei möglichen radialen Verteilungsfunktionen  $g_{\text{Glc-Glc}}$ ,  $g_{\text{Fuc-Fuc}}$  und  $g_{\text{Glc-Fuc}}$ , kann man ableiten, ob eine der drei möglichen Anordnungen (1, 2 oder 3) im Komplex bevorzugt wird. Abbildung 5.4 zeigt die drei radialen Verteilungsfunktionen für alle Kationarten, wobei der gleiche Farbcode wie in Abbildung 5.3 verwendet wird. Die radialen Verteilungsfunktionen wurden jeweils über alle Simulationen der betreffenden Kationart gemittelt. Bei der Bestimmung von  $g_{\text{Glc-Fuc}}$  wurden nur die intermolekularen Beiträge zur radialen Verteilungsfunktion berücksichtigt, da nur diese für die folgende Betrachtung interessant sind.

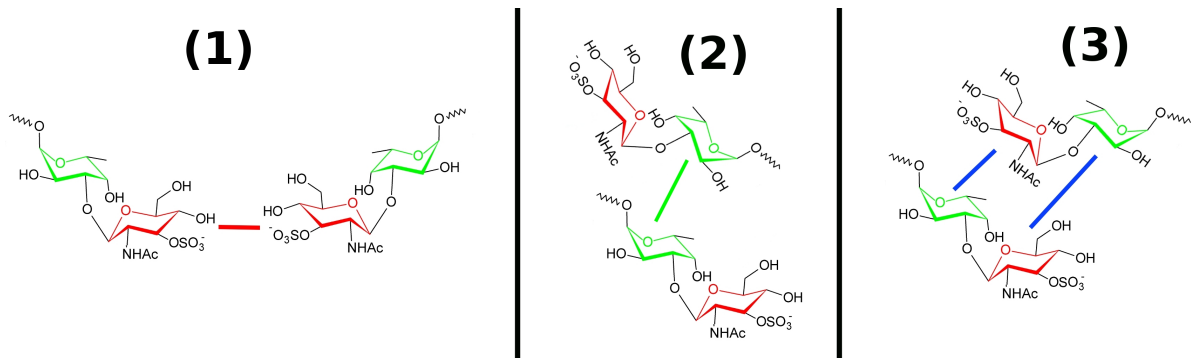


Abbildung 5.3: Mögliche Anordnungen der Disaccharide im Komplex. Natürlich können noch weitere ähnliche Konformationen durch Drehung eines Disaccharidmoleküls erzeugt werden. Die farbigen Linien geben Kontakte zwischen gleichen (rot bzw. grün) und unterschiedlichen (blau) Zuckerringen an.

Vergleicht man die drei radialen Verteilungsfunktionen des Natriumsystems mit denen der anderen Kationarten fallen zwei Dinge auf. Auf der einen Seite weisen die drei Verteilungsfunktionen kleinere Maximalwerte ( $g_{X-Y} < 3$ ) auf als für die anderen Kationarten ( $g_{X-Y} > 4$ ). Dies bedeutet, dass sich die Disaccharide im Fall des Natriumsystems nicht so sehr annähern wie bei den anderen Kationssystemen. Das hiervon vor allem die Glukoseeinheiten betroffen sind, erkennt man daran, dass für das Natriumsystem  $g_{\text{Glc-Glc}}(\text{Na}) < g_{\text{Fuc-Fuc}}(\text{Na}), g_{\text{Glc-Fuc}}(\text{Na})$  gilt, während man bei den anderen Kationssystemen genau den umgekehrten Trend beobachtet. Dieser Trend lässt sich durch die deprotonierten Sulfatgruppen erklären, die an die Glukoseeinheiten gebunden sind. Die wenige Kationen im Natriumsystem können die negative Ladung der Sulfatgruppen nicht in der gleichen Form ausgleichen wie die vielen divalenten Kationen. In Folge beobachtet man im Natriumsystem keine ausgeprägte Annäherung der Disaccharide. Man kann daher davon ausgehen, dass eine gewisse Menge (divalenter) Kationen für die Aggregation der Disaccharide zwingend erforderlich ist.

Im Fall der Calciumionen findet man einen ausgeprägten Peak in  $g_{\text{Glc-Glc}}(\text{Ca})$  bei etwa  $r = 0.6$  nm und es ist offensichtlich, dass Anordnung (1) aus Abbildung 5.3 klar gegenüber den anderen beiden Anordnungen bevorzugt wird. Die divalenten Kationen fungieren hier als eine Art 'Puffer', der die negative Ladung der Sulfatgruppen ausgleicht und somit die Annäherung dieser Gruppen ermöglicht. Geht man weiter zu den Magnesiumionen (mit dem normalen Wassermode), fehlt dieser ausgeprägte Peak in  $g_{\text{Glc-Glc}}(\text{Mg})$ . Dennoch weist  $g_{\text{Glc-Glc}}(\text{Mg})$  für kleine Abstände ( $r \approx 0.55$  nm) einen größeren Wert auf als  $g_{\text{Fuc-Fuc}}(\text{Mg})$  und  $g_{\text{Glc-Fuc}}(\text{Mg})$ , weshalb man auch hier von einer leichten Bevorzugung der Anordnung (1) sprechen kann. Der Grund für das Fehlen der ausgeprägten Peakstruktur dürfte die Tatsache sein, dass Magnesiumionen die Hydrathülle stärker binden. In Folge dessen binden die Magnesiumionen indirekt über die Hydrathülle an die Sulfatgruppe, wodurch eine schwächere Bindung resultiert als beim Calciumsystem. Dies führt dazu, dass der Komplex weniger stabil ist und im zeitlichen Mittel seltener auftritt als bei Ca, in Folge ist  $g_{\text{Glc-Glc}}(\text{Mg}) < g_{\text{Glc-Glc}}(\text{Ca})$ . Betrachtet man die radialen Verteilungsfunktionen im Fall des Magnesiumsystems mit dem modifizierten Wassermode  $g_{X-Y}(\text{Mg}^*)$  wird die Relevanz der Bindungsstärke der Hydrathülle bestätigt. In diesem System wird die Hydrathülle weniger stark gebunden als beim Magnesiumsystem mit dem normalen Wassermode (Mg). In Folge können die Magnesiumionen leichter an die Sulfatgruppe binden und man beobachtet vor allem für kleine Abstände  $g_{\text{Glc-Glc}}(\text{Mg}^*) > g_{\text{Glc-Glc}}(\text{Mg})$ .

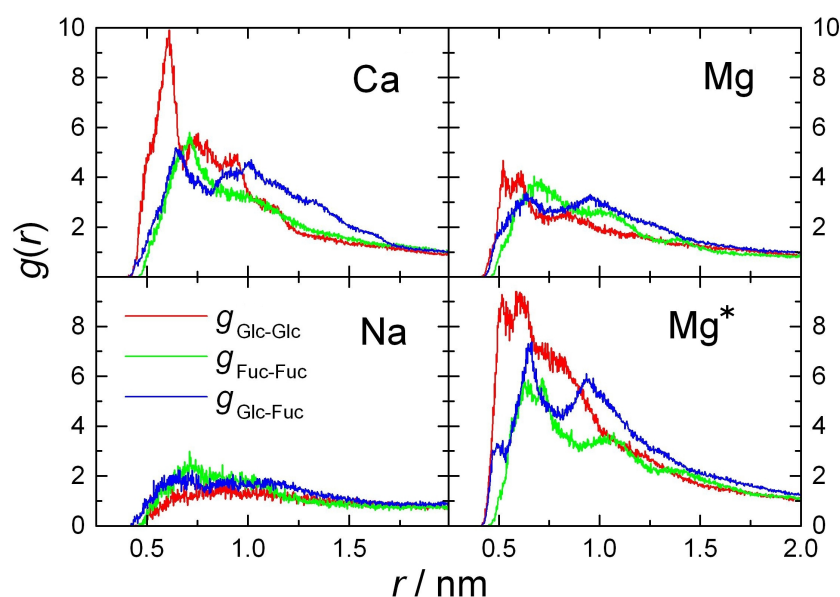


Abbildung 5.4: Radiale Verteilungsfunktion bezüglich der Schwerpunkte der Zuckerringe. Das Farbschema ist das Gleiche wie in Abbildung 5.3. Mit dem Index 'Glc' sind die Glukoseringe und mit 'Fuc' die Fucoseringe gemeint.

Vergleicht man  $g_{\text{Fuc-Fuc}}(\text{Kation})$  und  $g_{\text{Glc-Fuc}}(\text{Kation})$ , sind diese jeweils für alle Kationenarten recht ähnlich. Im Vergleich zu  $g_{\text{Glc-Glc}}(\text{Kation})$  findet man die Maxima jedoch bei etwas größeren Abständen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass vor allem für Ca und Mg\* ein Komplex bevorzugt wird, in dem die Glukoseeinheiten aneinander binden. Für solch einen Komplex sind divalente Kationen jedoch zwingend erforderlich, um die negative Ladung der Sulfatgruppen auszugleichen, die sich sonst abstoßen würden (siehe  $g_{\text{Glc-Glc}}(\text{Na})$ ).

#### 5.2.4 RDF der Sulfatgruppen und Kationen

Da die Disaccharide vornehmlich über die Glukoseeinheiten binden, lohnt es sich, die radiale Verteilungsfunktion der Kationen und Sulfatsauerstoffatome<sup>2</sup> zu betrachten, da die Sulfatgruppen an eben diese Glukoseeinheiten gebunden sind. Des Weiteren wurde schon bei der Diskussion der Voruntersuchung (Kapitel 5.2.1) angemerkt, dass die Kationen vor allem an die Sulfatgruppen binden. Die Carbonylgruppe der N-Acetylgruppe wird gegenüber den anderen Sauerstoffatomen des Disaccharids zwar auch als Bindungspartner bevorzugt, jedoch in geringerem Maße als die Sulfatgruppe.

Bevor die Ergebnisse vorgestellt werden, soll zunächst ein technisches Detail diskutiert werden. Vergleicht man die Werte von  $g_{\text{Sul-Kation}}(r_{\text{max}})$ , wobei  $r_{\text{max}}$  die Position des ersten Peaks angibt, für verschiedene Kationenkonzentrationen bei einer gegebenen Disaccharidkonzentration, findet man, dass die Werte mit steigender Kationenkonzentration abnehmen. Dies lässt sich dadurch erklären, dass die Zahl der Kationen, die an die Sulfatgruppen binden, nicht im gleichen Maße zunimmt, wie die Zahl der Kationen, die in der Simulation modelliert werden. Am ersichtlichsten wird diese Tatsache, wenn man ein einzelnes Disaccharidmolekül betrachtet. Ab einer bestimmten Kation-

<sup>2</sup>Hierbei werden nur die drei Sauerstoffatome betrachtet, die nur an das Schwefelatom binden. Das vierte Sauerstoffatome, das die Sulfatgruppe mit dem Disaccharid verknüpft, wird bei dieser Betrachtung ausgeklammert, da man davon ausgehen kann, dass dieses Atom für die Kationen nicht so einfach zugänglich ist wie die anderen drei Sauerstoffatome.

konzentration ist die Sulfatgruppe mit Kationen gesättigt, erhöht man die Kationkonzentration, ändert sich die Zahl der Kationen, die an die Sulfatgruppe binden nicht. Die Zahl der Kationen, die sich weiter von der Sulfatgruppe entfernt befinden, erhöht sich jedoch. Dies führt dazu, dass die Wahrscheinlichkeit steigt, ein (bestimmtes) Kation nicht in der unmittelbaren Nähe der Sulfatgruppe zu finden und im Gegenzug sinkt die Wahrscheinlichkeit, dass ein (bestimmtes) Kation an die Sulfatgruppe bindet. Da die Simulationen der verschiedenen Kationarten von diesem Effekt gleichermaßen betroffen sind, können die Ergebnisse einer gegebenen Disaccharid- und Kationkonzentration für verschiedene Kationarten miteinander verglichen werden. Abbildung 5.5 zeigt die radiale Verteilungsfunktion der Sulfatsauerstoffatome und Kationen  $g_{\text{Sul-Kation}}(r)$  für die drei Kationarten (Ca, Mg, Mg\*), wobei die Ergebnisse aus den Simulationen mit 10 Disacchariden und 60 Kationen erhalten wurden. Für die anderen Simulationen werden qualitativ ähnliche Resultate erhalten und man findet den gleichen Trend bezüglich der Affinität der Kationarten an die Sulfatgruppe zu binden.

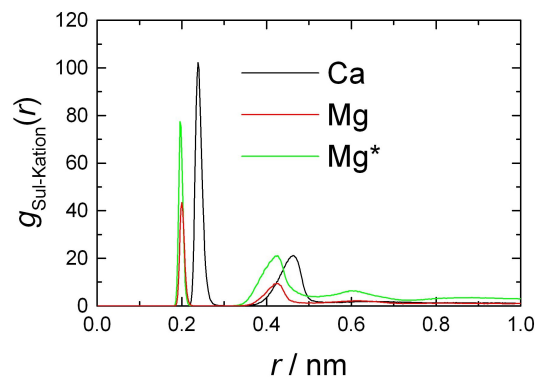


Abbildung 5.5: Radiale Verteilungsfunktion bezüglich der Kationen und den Sauerstoffatomen der Sulfatgruppen.

Im Fall der Calciumionen findet man in  $g_{\text{Sul-Ca}}$  zwei Peaks bei  $r = 0.24$  und  $0.46$  nm. Der erste Peak korrespondiert zu Calciumionen, die direkt an die Sulfatsauerstoffatome binden. Der Abstand von  $0.24$  nm stimmt auch mit Abständen überein, die zwischen Calcium und Sauerstoff in kristallinen Zucker-Calcium Komplexen gefunden werden [113]. Dem zweiten Peak entsprechen Kationen, die indirekt an das betreffende Sauerstoffatom gebunden sind. Hierzu gehören zum Einen Calciumionen, die über ein Wassermolekül an die Sulfatgruppe binden. Zum Anderen ist dieser Peak auch auf die Tatsache zurückzuführen, dass die Sulfatgruppe drei Sauerstoffatome enthält, an die die Kationen binden können. Bindet das Calciumion an eines der drei Atome, befindet es sich in der Nähe der anderen beiden Atome, wobei der Abstand größer ist. Im Fall der Magnesiumionen sind die beiden Peaks unabhängig vom verwendeten Wassermodell zu kleineren Abständen verschoben, da aufgrund des kleineren Ionenradius des Magnesiums im Vergleich zum Calcium kleinere Bindungsabstände möglich sind. Die Gründe für das Auftreten des zweiten Peaks sind die gleichen wie bei  $g_{\text{Sul-Ca}}$ .

Vergleicht man  $g_{\text{Sul-Ca}}(r_{\text{max}})$  und  $g_{\text{Sul-Mg}}(r_{\text{max}})$ , fällt auf, dass die radiale Verteilungsfunktion im Fall der Calciumionen um ungefähr einen Faktor 2.5 größer ist als beim Magnesiumsystem. Dies bedeutet, dass sich im zeitlichen Mittel deutlich mehr Calciumionen an die Sulfatgruppe anlagern als Magnesiumionen. Schwächt man die Bindung zwischen Magnesiumion und der Hydrathülle, in dem das modifizierte Wassermodell verwendet wird, beobachtet man, dass die Magnesiumionen deutlich besser an die Sulfatgruppe binden ( $g_{\text{Sul-Mg}^*} > g_{\text{Sul-Mg}}$ ).

Zusammenfassend bestätigt sich hiermit die Annahme, dass die Bildung einer Bindung zwischen

Kation und Disaccharid im Fall des Magnesiumsystems aufgrund der stärker gebundenen Hydrathülle gegenüber dem Calciumsystem kinetisch gehemmt ist.

### 5.2.5 RDF der Sulfatgruppen

Die radiale Verteilungsfunktion der Sulfatgruppen ist für die Untersuchung der Stabilität der Carbohydrat-Kation-Carbohydrat Komplexe von besonderem Interesse. Es wurde bereits festgestellt, dass die Kationen vornehmlich an die Sulfatgruppe binden. Des Weiteren konnte man in Kapitel 5.2.3 sehen, dass die Disaccharide sich vor allem über die Glukoseeinheiten, an die die Sulfatgruppen gebunden sind, aneinander anlagern. Man kann daher annehmen, dass im Carbohydrat-Kation-Carbohydrat Komplex die Disaccharide über die Sulfatgruppen und Kationen verbrückt sind. Somit ist der Abstand zweier Sulfatgruppen eine geeignete Wahl für die Reaktionskoordinate der Komplexbildung bzw. -dissoziation. Des Weiteren kann man sich sicher sein, dass zwei Disaccharide über ein Kation verbrückt sind, wenn diese sich sehr nahe kommen, da sich die Gruppen ohne die kompensierende Ladung des Kations aufgrund ihrer negativen Ladung gegenseitig abstoßen würden.

Im nächsten Kapitel wird das PMF vorgestellt, da dieses im Wesentlichen eine logarithmische Darstellung der radialen Verteilungsfunktion ist und daher aus beiden Größen im Prinzip die gleichen Informationen gewonnen werden können. Zunächst soll hier jedoch kurz über den generellen Trend von  $g_{\text{Sul-Sul}}(\text{Ca})$  für verschiedene Disaccharidkonzentrationen und unterschiedliche Größen, der Simulationsbox gesprochen werden. Diese Diskussion ist eher von technischem Interesse, dennoch zeigt sie, dass  $g_{\text{Sul-Sul}}(\text{Ca})$  adäquat bestimmt wurde.

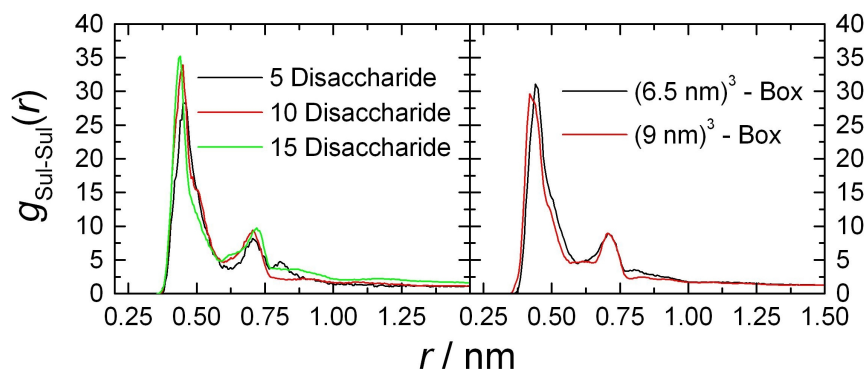


Abbildung 5.6:  $g_{\text{Sul-Sul}}$  für das Calciumsystem. Links:  $g_{\text{Sul-Sul}}(\text{Ca})$  bei gegebener Disaccharidkonzentration, wobei jeweils über die vier Calciumkonzentrationen gemittelt wurde. Rechts: Vergleich von  $g_{\text{Sul-Sul}}(\text{Ca})$  für zwei unterschiedliche Simulationsboxen, wobei die kleinere Box verwendet wurde, um die radialen Verteilungsfunktionen der vorigen Kapitel zu bestimmen.

Vergleicht man die radialen Verteilungsfunktionen der Sulfatgruppen für verschiedene Disaccharid- bzw. Kationkonzentrationen fällt auf, dass diese nicht immer exakt das gleiche Ergebnis liefern und man unterschiedliche Werte findet. Im Gegensatz zu  $g_{\text{Sul-Kation}}$  lässt sich jedoch keine Abhängigkeit von der Disaccharid- bzw. Kationkonzentration finden. Mittelt man bei gegebener Disaccharidkonzentration über die verschiedenen Kationkonzentrationen, erhält man für die drei Disaccharidkonzentrationen Ergebnisse, die einander sehr ähnlich sind. Dies ist für das Calciumsystem auf der linken Seite von Abbildung 5.6 zu sehen. Um zu überprüfen, ob  $g_{\text{Sul-Sul}}(\text{Ca})$  durch die Größe der Simulationsbox beeinflusst wird, wurden für das Calciumsystem weitere Simulationen mit einer größeren Simulationsbox (9 nm Kantenlänge anstatt 6.5 nm) durchgeführt. Hierbei wurden 30 Disaccharide und 120, 150 bzw. 180 Calciumionen untersucht. Auf der rechten Seite

von Abbildung 5.6 ist  $g_{\text{Sul-Sul}}(\text{Ca})$  für die beiden Simulationsboxen abgebildet. In beiden Fällen stellt  $g_{\text{Sul-Sul}}(\text{Ca})$  den Mittelwert der Ergebnisse für alle Disaccharid- und Kationkonzentrationen dar.

In beiden Abbildungen erkennt man, dass sich die gemittelten radialen Verteilungsfunktionen nur wenig voneinander unterscheiden. Vor allem da die gemittelten radialen Verteilungsfunktionen für die beiden unterschiedlichen Simulationsboxen nur geringe Abweichungen voneinander aufweisen, kann man davon ausgehen, dass  $g_{\text{Sul-Sul}}(\text{Ca})$  zuverlässig bestimmt wurde und dass für die anderen Kationarten gleiches gilt.

## Potential of mean force

Aus einer radialen Verteilungsfunktion lässt sich mit Hilfe von Gleichung (2.38)

$$V_{\text{pmf}}(r) = -\frac{1}{\beta} \ln g(r)$$

ein *Potential of mean force* berechnen, das die Freie Energie entlang der Reaktionskoordinate  $r$  beschreibt. Als Reaktionskoordinate wird hier der Abstand zweier Sulfatgruppen genutzt. Im Folgenden soll für das PMF eines bestimmten Kationensystems die Bezeichnung  $V_{\text{Kation}}(r)$  eingeführt werden.

Vergleicht man  $V_{\text{Ca}}(r)$  aus Abbildung 5.7 mit den radialen Verteilungsfunktionen aus Abbildung 5.6 erkennt man, dass beide Größen in Bezug auf die wesentlichen Eigenschaften der Kurvenverläufe äquivalent sind. Die Maxima von  $g_{\text{Sul-Sul}}(\text{Ca})$  finden sich in  $V_{\text{Ca}}(r)$  als Minima wieder und in beiden Kurven weist die jeweilige Größe ab  $r \approx 1$  nm einen konstanten Wert auf.

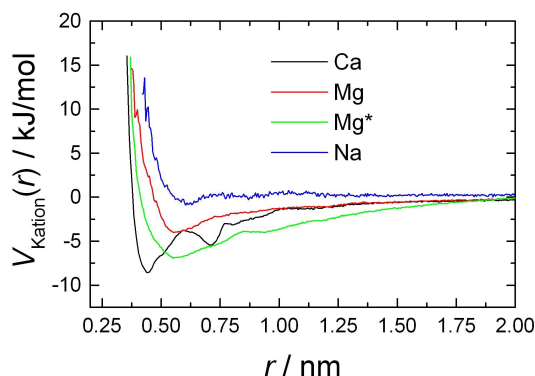


Abbildung 5.7: Potential of mean für den Carbohydrat-Kation-Carbohydrat Komplex, wobei als Reaktionskoordinate der Abstand der Sulfatgruppen dient.

Betrachtet man das PMF des Natriumsystems  $V_{\text{Na}}(r)$ , fällt auf, dass dieses im Vergleich zu den anderen Kationensystemen praktisch kein Minimum aufweist und schon bei größeren Abständen stark ansteigt. Da diese Simulationen nur wenige monovalente Kationen enthalten, kann der Kurvenverlauf durch die elektrostatische Abstoßung der Sulfatgruppen erklärt werden. In den drei anderen Systemen können die divalenten Kationen die negative Ladung der Sulfatgruppen kompensieren und in Folge können sich die Sulfatgruppen weiter annähern. Dies erkennt man daran, dass der repulsive Bereich von  $V_{\text{Kation}}(r)$  für Ca, Mg und  $\text{Mg}^*$  zu kleineren Abständen verschoben ist im Vergleich zu  $V_{\text{Na}}(r)$ . Des Weiteren beobachtet man für die divalenten Kationen negative Werte in  $V_{\text{Kation}}(r)$ , das heißt, bei diesen Abständen erfahren die Sulfatgruppen eine attraktive Wechselwirkung. Die Abständen, bei denen die Minima gefunden werden, entsprechen dem Abstand

der beiden Sulfatgruppen im gebundenen Komplex. Das Minimum des PMF entspricht der negativen Bindungsenergie. Für die drei Systeme der divalenten Kationen findet man in absteigender Reihenfolge die Bindungsenergien 8.5 kJ/mol (Ca), 6.9 kJ/mol (Mg<sup>\*</sup>) und 3.9 kJ/mol (Mg). Der Trend der Bindungsenergien gleicht dem Trend der Affinität der Kationarten, an die Sulfatgruppe zu binden und dieser Trend kann mit den Argumenten aus Kapitel 5.2.4 erklärt werden.

Um einen experimentellen Wert für die untere Schranke der Bindungsenergie abschätzen zu können, bieten sich die Ergebnisse von Zugexperimenten an. In Referenz [44] wurde die mittlere Abrisskraft eines einzelnen Calciumkomplexes zu  $F \approx 30 \pm 6$  pN bestimmt. Der Abstand zwischen dem gebundenen Zustand und dem Übergangszustand wurde in Referenz [115] auf  $\Delta x \approx 0.3$  nm geschätzt. Das Produkt dieser beiden Werte entspricht dem Betrag, den die Energiebarriere im Mittel abgesenkt wird, bevor der Übergang erfolgt. Da der Übergang im Allgemeinen durch thermische Aktivierung erfolgt, ist die Energiebarriere und somit die Bindungsenergie größer als der Betrag der Absenkung. Für die Absenkung der Energiebarriere erhält man  $\Delta V \approx F \cdot \Delta x = 5.4$  kJ/mol, wobei man davon ausgehen kann, dass der Fehler etwa 3 kJ/mol beträgt.<sup>3</sup> Der Wert dieser unteren Schranke liegt zumindest in der gleichen Größenordnung wie die hier bestimmte Bindungsenergie, es lässt sich jedoch nicht sagen, um wie viel größer der tatsächliche Wert ist. Um eine bessere Vergleichbarkeit mit den Experimenten zu erzielen, wurden mit Hilfe von Brown'schen Simulationen Zugexperimente simuliert. Die Abrisskraft, die sich aus diesen bestimmen lässt, kann mit den experimentellen Abrisskräften verglichen werden und bietet somit einen besseren Vergleichswert als die Bindungsenergien. Diese Simulationen und deren Ergebnisse sollen in Kapitel 5.3 besprochen werden.

In allen drei Fällen ist die Bindungsenergie in der Größenordnung der thermischen Energie  $k_B T \approx 2.5$  kJ/mol (für  $T = 300$  K). Die Differenz der Bindungsenergien für den Calcium- und Magnesiumkomplex kann vermutlich erklären, warum letzterer nicht in den Experimenten beobachtet wird. Für den Magnesiumkomplex beträgt die Bindungsenergie nicht mal das zweifache der thermischen Energie, das heißt, der Komplex sollte sehr leicht durch thermische Fluktuationen geöffnet werden können. Im Fall des Calciumkomplexes ist die Bindungsenergie jedoch um mehr als einen Faktor 3 größer als die thermische Energie, weshalb dieser Komplex etwas stabiler sein sollte als der Magnesiumkomplex. Da die Bindungsenergie dennoch recht klein ist, ist für den Calciumkomplex ebenfalls zu erwarten, dass dieser bereits durch thermische Fluktuationen dissoziieren kann.<sup>4</sup> Für die Zellaggregation ist jedoch ein einzelner Komplex zu vernachlässigen und erst viele solcher 'Komplexbindungen' binden die Schwammzellen aneinander.

Vergleicht man die Gestalt der Kurven, fällt auf das  $V_{Ca}(r)$  zwei Minima aufweist, wohingegen man in  $V_{Mg}(r)$  und  $V_{Mg^*}(r)$  jeweils nur ein Minimum findet. Um diesen Sachverhalt zu klären, müssen die Bindungsstrukturen der einzelnen Komplexe analysiert werden. Bevor dies getan wird, soll zunächst  $V_{Mg^*}(r)$  mit den anderen beiden Kurven verglichen werden. Der Verlauf von  $V_{Mg^*}(r)$  gleicht im Prinzip dem von  $V_{Mg}(r)$ , wenn man davon absieht, dass insgesamt kleinere Energien gefunden werden. Dieser Sachverhalt lässt sich dadurch erklären, dass durch das modifizierte Wassermodell der Komplex häufiger gebildet wird und dadurch im Vergleich zum normalen Wassermodell im zeitlichen Mittel stabiler ist. Auffallend ist jedoch, dass  $V_{Mg^*}(r)$  erst bei größeren Abständen den Wert 0 erreicht im Vergleich zu  $V_{Ca}(r)$  und  $V_{Mg}(r)$ . Dies bedeutet, dass im Fall des modifizierten Wassermodells die Sulfatgruppen über größere Abstände hinweg eine attraktive Wechselwirkung verspüren als beim normalen Wassermodell. Diese verstärkte attraktive Wechselwirkung ist ein ungewolltes Artefakt, das aus der Verwendung des modifizierten Wassermodells resultiert. Durch die Verringerung der Partialladungen wird das Dipolmoment eines Wassermoleküls kleiner. Dies

<sup>3</sup>Der Fehler der Abrisskraft beträgt [44] zufolge 6 pN, womit sich für die Bindungsenergie ein Fehler von 1 kJ/mol ergibt. Für die Abschätzung von  $\Delta x$  wurde keine Angabe zum möglichen Fehler gemacht. Geht man jedoch von einem Fehler der Größenordnung 0.1 nm aus, ergibt dies für die Bindungsenergie einen Fehler von etwa 2 kJ/mol.

<sup>4</sup>In den MD Simulationen wird dies zumindest beobachtet.

hat zur Folge, dass die Dielektrizitätskonstante des Wassers sinkt und in Folge das modifizierte Wasser elektrostatische Wechselwirkungen weniger stark abschwächt als 'normales' Wasser.

Betrachtet man ein einzelnes solvatisiertes Calciumion, lässt sich die Struktur der Sauerstoffatome der Wassermoleküle, die an das Kation binden, am ehesten durch ein quadratisches Antiprisma beschreiben. Untersucht man den Carbohydrat-Calcium-Carbohydrat Komplex, findet man eine vergleichbare Struktur, wenn man neben den Sauerstoffatomen der Wassermoleküle auch die Sauerstoffatome der Disaccharide (vor allem der Sulfatgruppe) berücksichtigt. In den Simulationen wurden zwei verschiedene Anordnungen der Sulfatgruppen an das Calciumion gefunden, die das Auftreten der zwei Minima in  $V_{Ca}(r)$  erklären. Abbildung 5.8 zeigt diese beiden Bindungsstrukturen, wobei nur das Calciumion und die Sauerstoffatome, die direkt an das Kation binden und die Schwefelatome der Sulfatgruppen eingezeichnet sind. Auf der linken Seite ist die Struktur zu erkennen, die einen kleinen Abstand zwischen den Sulfatgruppen ( $r_{Sul-Sul} \approx 0.44$  nm) aufweist und somit zu dem ersten Peak in  $V_{Ca}(r)$  korrespondiert. Auf der rechten Seite ist dementsprechend die Struktur mit dem größeren Abstand ( $r_{Sul-Sul} \approx 0.71$  nm) gezeigt. In manchen Fällen ist eines der Wasser-Sauerstoffatome durch das Carbonylsauerstoffatom der N-Acetylgruppe ersetzt. Solche eine Struktur sollte stabiler sein, als ein Komplex, der nur durch die Sulfatgruppen stabilisiert wird. Anhand des Abstandes der Sulfatgruppen lassen sich diese unterschiedlichen Fälle jedoch nicht unterscheiden und das PMF berücksichtigt diese Fälle daher in einer gemittelten Form.

Im Magnesiumsystem wird unabhängig vom verwendeten WassermodeLL im PMF nur ein Minimum gefunden und der mittlere Abstand der Sulfatgruppen liegt zwischen den beiden Werten, die für das Calciumsystem gefunden werden. Man kann daher annehmen, dass der Magnesiumkomplex eine andere Struktur aufweist als der Calciumkomplex. Des Weiteren würde man für den Magnesiumkomplex im Vergleich zum Calciumkomplex kleinere Abstände der Sulfatgruppen erwarten, da das Kation kleiner ist und sich die Sulfatgruppen somit stärker annähern können. Daher ist zu vermuten, dass im Magnesiumsystem die Sulfatgruppen teilweise indirekt über die Hydrathülle an das Magnesiumion binden. Analog zum Calciumsystem wurden auch für das Magnesiumsystem die in den Simulationen auftretenden Bindungsstrukturen untersucht und man findet, dass sich die Sauerstoffatome um das Kation in einer oktaedrischen Struktur anordnen. Diese Struktur wird auch in Simulationen eines einzelnen solvatisierten Magnesiumions gefunden und man kann die kleinere Koordinationszahl im Vergleich zum Calciumion auf den kleineren Ionenradius des Magnesiumions zurückführen. Abbildung 5.9 zeigt die Bindungsstruktur des Magnesiumkomplexes und man findet in der Tat, dass eine der Sulfatgruppen nur indirekt an das Magnesiumion bindet. Um diese indirekte Bindung hervorzuheben wurden blaue Linien verwendet, die die betreffenden Atome verbinden, die an der Bindung teilhaben. Diese indirekte Bindung zwischen Magnesiumion und Sulfatgruppe, die durch ein Wassermolekül vermittelt wird, dürfte auch erklären, warum der Magnesiumkomplex eine geringere Stabilität aufweist als der Calciumkomplex.

### Vergleich mit einem Monosaccharidsystem

Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass für die Komplexbildung maßgeblich die Sulfatgruppen verantwortlich sind, die an die Glukoseeinheit des Disaccharids gebunden sind. Experimentell wurde in [114] gezeigt, dass ein Monosaccharid, das nur aus der Glukoseeinheit des hier vorgestellten Disaccharids besteht, keinen stabilen Carbohydrat-Calcium-Carbohydrat Komplex bildet. In den Experimenten wurden Goldnanopartikel mit dem Disaccharid bzw. Monosaccharid beschichtet. Gibt man zu einer Lösung solcher Nanopartikel Calciumionen hinzu, lässt sich im Fall des Disaccharidsystems die Aggregation der Nanopartikel beobachten. Da diese für das Monosaccharidsystem ausbleibt, wurde gefolgert, dass mit dem Monosaccharid kein Carbohydrat-Calcium-Carbohydrat Komplex gebildet wird.

In MD Simulationen sollten ebenfalls Unterschiede in der Komplexbildung der beiden Saccharide

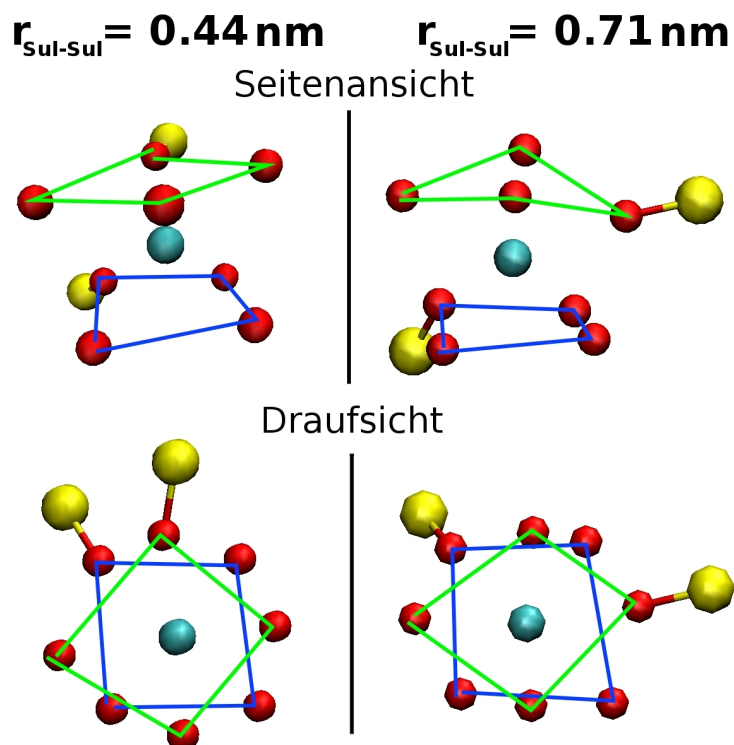


Abbildung 5.8: Die beiden Bindungsstrukturen, die im Calciumkomplex gefunden werden. Abgebildet ist jeweils das Calciumion (türkis) und die acht Sauerstoffatome (rot), die direkt an das Kation binden. Zusätzlich sind die Schwefelatome (gelb) der Sulfatgruppen gezeigt. Links ist die Bindungsstruktur mit dem kleinen Abstand der Sulfatgruppen abgebildet und rechts die Struktur mit dem großen Abstand. Um das quadratische Antiprisma besser zu erkennen, sind in blau bzw. grün Hilfslinien eingezeichnet.

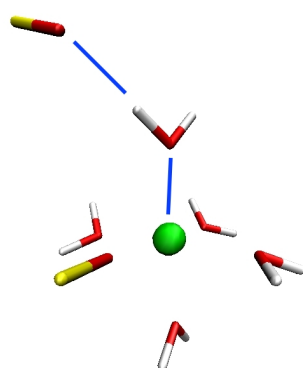


Abbildung 5.9: Bindungsstruktur im Fall der Magnesiumionen. Im Gegensatz zum Calciumsystem sind die Sauerstoffatome (rot) hier oktaedrisch um das Magnesiumion (grün) angeordnet. Zum Anderen bindet nur eine Sulfatgruppe (die Schwefelatome sind gelb eingefärbt) direkt an das Kation und die zweite Gruppe indirekt über ein Wassermolekül (blaue Striche verdeutlichen diese indirekte Bindung).

festzustellen sein. Daher wurden mit dem Monosaccharid, das in Abbildung 5.10 gezeigt ist, die gleichen Simulationen wie für das Disaccharidsystem durchgeführt.

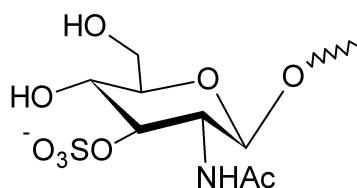


Abbildung 5.10: Monosaccharid, das nur aus der Glukoseeinheit des Disaccharids aus Abbildung 5.1 besteht.

Abbildung 5.11 zeigt das PMF im Fall der Calciumionen für die beiden Saccharidsysteme.

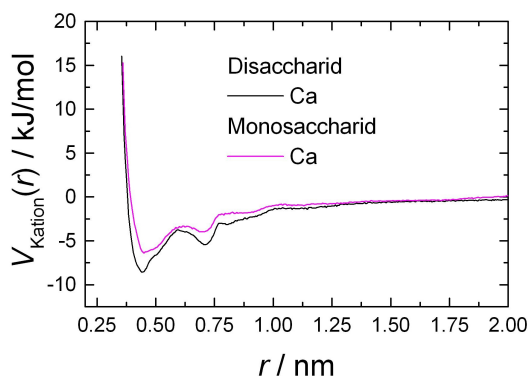


Abbildung 5.11: *Potential of mean force* für den Carbohydrat-Calcium-Carbohydrat Komplex für das Disaccharid- und Monosaccharidsystem. Als Reaktionskoordinate dient wie in Abbildung 5.7 der Abstand der Sulfatgruppen.

Sieht man von den Zahlenwerten von  $V_{\text{Kation}}(r)$  ab, ist der Verlauf des PMF für beide Systeme gleich. Dies ist zu erwarten, da die nähere Umgebung der Sulfatgruppen, deren Abstand als Reaktionskoordinate dient, in beiden Systemen gleich ist. Im Fall des Monosaccharids beobachtet man jedoch eine kleinere Bindungsenergie ( $\approx 6$  kJ/mol statt 8.5 kJ/mol). Diese ist somit um eine Einheit der thermischen Energie  $k_B T$  kleiner als für das Disaccharidsystem. Die Tatsache, dass das Monosaccharidsystem weniger stabil ist als das Disaccharidsystem, ist in Bezug auf die Vergleichbarkeit mit den Experimenten positiv. Dennoch ist die relativ kleine Energiedifferenz auffallend.

### 5.3 Brown'sche Simulationen eines Clusters aus vielen Bindungen

In der bisherigen Untersuchung wurde nur die Stabilität einzelner Komplexe betrachtet. Es wurde festgestellt, dass die Bindungsenergie eines Komplexes in der Größenordnung der thermischen Energie liegt und die Komplexe daher nur eine geringe Stabilität aufweisen. Die Zelladhäsion wird jedoch durch die Bindungen vieler Komplexe ermöglicht. Öffnet sich eine einzelne 'Komplexbindung', wird das Gesamtsystem weiterhin durch die restlichen Bindungen stabilisiert und die Bindung kann sich im Laufe der Zeit wieder schließen. Um die Stabilität mehrerer Bindungen zu untersuchen, wurden Brown'sche Simulationen durchgeführt, wobei nur Komplexe der Mono- und

Disaccharide mit Calciumionen betrachtet wurden. Im Fall der Magnesiumionen sind die Bindungsenergien so gering, dass man davon ausgehen kann, dass selbst ein Adhäsionscluster, der durch sehr viele Komplexbindungen stabilisiert wird, innerhalb kürzester Zeit dissoziieren würde. Die theoretischen Grundlagen dieser Simulationen werden im Anhang B.1 vorgestellt. Im Prinzip sind Brown'sche Simulationen mit MD Simulationen verwandt. Zwei wesentliche und anschauliche Unterschiede sind, dass zum Einen die Atome häufig nicht einzeln modelliert werden, sondern man mehrere Atome zu größeren Teilchen wie Molekülfragmenten oder Molekülen zusammenfasst und deren Dynamik beschreibt. Hierbei handelt es sich im Prinzip um eine weniger fein aufgelöste Darstellung des Systems. Zum Anderen wird eventuell vorhandenes Lösungsmittel nicht direkt modelliert, sondern als Kontinuum dargestellt, das nur indirekt mit den interessierenden Teilchen wechselwirkt. Zusätzlich zu den intermolekularen Kräften, die zwischen den Teilchen wirken, wirkt auf jedes Teilchen eine geschwindigkeitsabhängige Reibungskraft, die von der Diffusionskonstante des Teilchens abhängt und eine stochastische Kraft, die aus Stößen der Lösungsmittelmoleküle mit dem Teilchen resultiert.

### Modell und Parameter

Abbildung 5.12 zeigt den Aufbau einer Brown'schen Simulation des Saccharidsystems. Allgemein lässt sich der Aufbau wie folgt beschreiben. Mehrere Saccharid-Calcium-Saccharid Komplexe werden über die Alkylketten an zwei gegenüberliegende Oberflächen gebunden, so dass die Komplexe parallel zueinander angeordnet sind. Eine der beiden Oberflächen wird während des Zugs ortsfest gehalten (hier linke Oberfläche), wohingegen die andere Oberfläche durch eine Feder weggezogen wird (rechte Oberfläche). In den Simulationen werden die Zuckermoleküle und die beiden

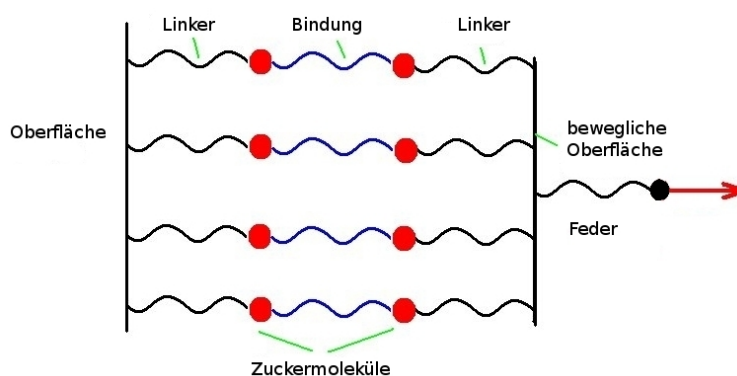


Abbildung 5.12: Skizze des Aufbaus der Brown'schen Simulationen eines Adhäsionsclusters, der durch mehrere Bindungen stabilisiert wird. In rot sind die Zuckermoleküle dargestellt, zwischen denen eine durch Calciumionen vermittelte Bindung (blaue geschwungene Linien) besteht. Die Saccharidmoleküle sind über Alkylketten (sogenannte Linker; schwarze geschwungene Linien) an die beiden Oberflächen befestigt. Die rechte Oberfläche wird durch eine Feder entlang der Zugrichtung (roter Pfeil) weggezogen. Während der Simulationen werden die Positionen der beiden Oberflächen und der Zuckermoleküle explizit modelliert.

Oberflächen als masselose Teilchen dargestellt, die über Federn miteinander verbunden sind. Aus den Positionen der Teilchen lassen sich die Auslenkungen der Federn und somit auch die Kräfte berechnen, die wiederum auf die Teilchen wirken. Diese Federn unterteilen sich zum Einen in eine harmonische Feder, die an die bewegliche Oberfläche gebunden ist und für den mechanischen Zug verantwortlich ist. Die Feder zwischen zwei Zuckermolekülen (blaue Linie) repräsentiert die Komplexbindung zwischen den beiden Sacchariden und dem Kation. Die Potentialfunktion dieser

Bindung wird durch die Annäherung des PMF an ein Morsepotential erhalten, siehe Gleichung (5.2) und den folgenden Abschnitt. Die schwarzen geschwungenen Linien in Abbildung 5.12 stehen zum Einen für die Alkylketten (Linker), die die Zuckermoleküle mit den Oberflächen verbinden. Zum Anderen wird mit diesem Potential auch die Streckung der Zuckermoleküle selbst beschrieben.

Um die Potentialfunktion für die Streckung eines einzelnen Saccharidmoleküls (inklusive Alkylkette) zu erhalten, wurde ein einzelnes Disaccharidmolekül für 20 ns simuliert und die Verteilung der auftretenden End-zu-End Abstände bezüglich des letzten Kohlenstoffatoms der Alkylkette und dem Schwefelatom bestimmt. Diese Verteilungsfunktion wurde mit Gleichung (2.36) in ein PMF umgerechnet und dieses an ein harmonisches Potential  $V_{\text{link}}(r) = \frac{1}{2}k_{\text{link}}(x - x_{\text{link}})^2$  angenähert, wobei  $x$  den End-zu-End Abstand des Disaccharidmoleküls angibt. Für den Gleichgewichtsabstand erhält man durch die Näherung  $x_{\text{link}} = 1.29$  nm und für die Kraftkonstante  $k_{\text{link}} = 120$  kJ/(mol·nm<sup>2</sup>). Da die Flexibilität der Saccharidmoleküle vor allem durch die Alkylkette bestimmt wird, wurden für das Monosaccharidsystem in den Brown'schen Simulationen die gleichen Werte verwendet wie für das Disaccharidsystem. Die Diffusionskonstante der Saccharidmoleküle wurde über das mittlere Verschiebungsquadrat (siehe Anhang B.3.1) aus den Simulationen der Disaccharide zu  $D_{\text{Sugar}} = 0.5$  nm<sup>2</sup>/ns bestimmt.

Des Weiteren muss noch die bewegliche Oberfläche modelliert werden. Für die Diffusionskonstante dieser wurde der Wert  $D_{\text{tip}} = 0.5 \cdot 10^{-5}$  nm<sup>2</sup>/ns angenommen [67]. Die Zuggeschwindigkeit betrug  $v_{\text{tip}} = 4 \cdot 10^{-4}$  nm/ns und ist um einen Faktor 1000 größer als im Experiment [44]. Für die Kraftkonstante wurde der Wert  $k_{\text{tip}} = 60$  pN/nm verwendet, welcher um einen Faktor 2 größer ist als im Experiment. Der Grund für die Verwendung der größeren Werte war, die Simulationszeit zu reduzieren. Der Zeitschritt der Simulationen betrug 0.1 ps und die Simulationen wurden 0.2  $\mu$ s, nachdem die kleinste Bindungslänge<sup>5</sup> 5 nm betrug, beendet. Sieht man von der Potentialfunktion des Bindungspotentials zwischen den Zuckermolekülen ab, wurden für die Simulationen mit dem Monosaccharid der Einfachheit halber die gleichen Parameter wie für das Disaccharidsystem verwendet.

Abbildung 5.13 zeigt die Näherung des PMF durch ein Morsepotential (oben: Disaccharid; unten: Monosaccharid)

$$V(r) = D[1 - e^{-a(r-r_e)}]^2 - D, \quad (5.2)$$

wobei der Parameter  $D$  die Bindungsenergie angibt. Der Parameter  $a$  hängt mit der Krümmung des Potentials zusammen und  $r_e$  gibt den Gleichgewichtsabstand an.

Parameter	Disaccharid	Monosaccharid
$D$ / kJ/mol	8.40925	6
$a$ / nm <sup>-1</sup>	10.285	10.905
$r_e$ / nm	0.438	0.455

Tabelle 5.3: Parameter der genäherten Morsepotentiale aus Abbildung 5.13.

Für das Disaccharid- und Monosaccharidsystem wurde jeweils ein Adhäsionscluster bestehend aus 10, 20, 30 und 40 Bindungen modelliert. In beiden Fällen wurden für jede Clustergröße 50 Simulationen durchgeführt.

<sup>5</sup>Mit Bindungslänge ist hier der Abstand zweier Zuckermoleküle gemeint, siehe auch die blauen Linien in Abbildung 5.12.

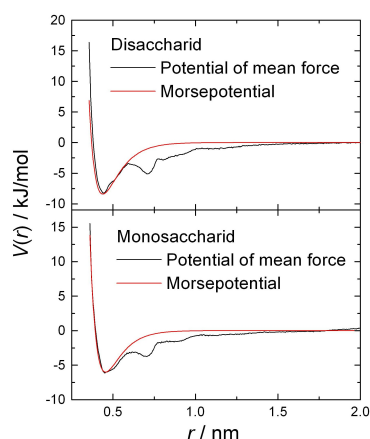


Abbildung 5.13: Wechselwirkungspotential des Calciumkomplexes: *Potential of mean force* (schwarz) und genähertes Morsepotential (rot) für das Disaccharidsystem (oben) und das Monosaccharidsystem (unten). Die Parameter der genäherten Morsepotentiale sind in Tabelle 5.3 zu finden.

## Ergebnisse

Abbildung 5.14 zeigt die Ergebnisse einer Simulation mit 30 Bindungen des Disaccharidsystems. Im oberen Teil der Abbildung ist die Kraft gegen die Zeit aufgetragen. Der untere Teil zeigt den Zustand der Bindungen. Jeder Pixel entspricht einer Bindung in einem Zeitfenster von  $0.2 \mu\text{s}$ , wobei auf der y-Achse die 30 Bindungen und auf der x-Achse die einzelnen Zeitfenster aufgetragen sind. Ist ein Feld grün, ist die Bindung zu jedem Zeitpunkt geschlossen. Rote Pixel geben an, dass die Bindung innerhalb des Zeitfensters zeitweise offen ist. Als Kriterium für eine offene Bindung wurde für die Bindungslänge ein Schwellwert von  $0.8 \text{ nm}$  verwendet, da bei diesem Abstand, das Morsepotential sich asymptotisch  $0 \text{ kJ/mol}$  annähert.

Die Kraft nimmt linear in der Zeit zu und man beobachtet schon für relativ geringe Zeiten, dass sich ein paar Bindungen öffnen (rote Pixel). Da sich diese wieder schließen können, fluktuiert die Zahl der geschlossenen bzw. offenen Bindungen. Mit steigender Kraft nimmt der Anteil der offenen Bindungen immer weiter zu, bis bei etwa  $30.7 \mu\text{s}$  alle Bindungen geöffnet sind. Zu diesem Zeitpunkt beobachtet man in der Kraftabstandskurve ein Maximum und die Kraft nimmt im weiteren Verlauf des Zuges stetig ab. Das Maximum der Kraft wird als Abrisskraft bezeichnet und wurde für jede Simulation bestimmt.

Die nachfolgende Abbildung 5.15 zeigt die Abrisskraftverteilungen und die mittlere Abrisskraft in Abhängigkeit der Clustergröße. Man erkennt, dass für beide Saccharidsysteme die Abrisskräfte mit der Clustergröße zunehmen, wobei die Breiten der Verteilungen nahezu konstant bleiben. Für das Monosaccharidsystem werden bei gleicher Clustergröße kleinere Abrisskräfte gefunden als beim Disaccharidsystem. Für beide Systeme findet man, dass die mittlere Abrisskraft linear mit der Clustergröße zunimmt. Im Fall des Disaccharidsystems wird diese Abhängigkeit auch in den Zugexperimenten in Referenz [44] beobachtet. Die Tatsache, dass die mittlere Abrisskraft linear mit zunehmender Clustergröße steigt, wurde auch in früheren theoretischen Arbeiten festgestellt [87][116].

Nähert man die Kurven an eine lineare Funktion an, kann aus der Steigung die mittlere Abrisskraft einer einzelnen Bindung bestimmt werden. Im Fall des Disaccharidsystems erhält man für diese Abrisskraft etwa  $17 \text{ pN}$  und für das Monosaccharidsystem  $10 \text{ pN}$ . Der Trend dieser Werte ist zu erwarten, wenn man die Bindungsenergien betrachtet, die aus dem PMF bestimmt wurden und die

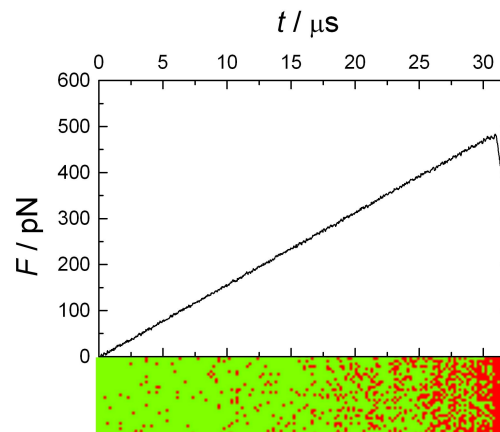


Abbildung 5.14: Adhäsionscluster aus 30 Disaccharidkomplexen. Oben: Kraftabstandskurve des Gesamtsystems. Unten: Binäre Karte, die zeigt in welchem Zustand (grün - geschlossen; rot - offen) sich jede einzelne Bindung befindet. In der Vertikalen entspricht jeder Pixel einer Bindung und in der horizontalen einer Zeitspanne von  $0.2 \mu\text{s}$ . Eine Bindung gilt als geschlossen, sofern die Bindungslänge kleiner als  $0.8 \text{ nm}$  ist.

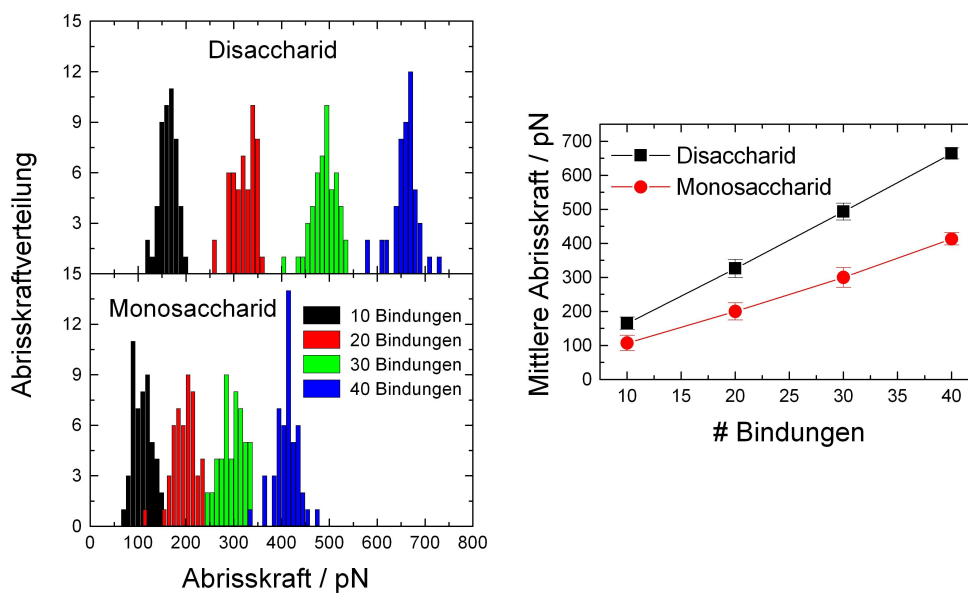


Abbildung 5.15: Ergebnisse der Brown'schen Simulationen: Links: Abrisskraftverteilungen des Disaccharidsystems (oben) und des Monosaccharidsystems (unten) für die verschiedenen Clustergrößen. Für beide Systeme und jede Clustergröße wurden 50 Zugsimulationen durchgeführt. Rechts: Auftragung der mittleren Abrisskraft gegen die Clustergröße. Die mittlere Abrisskräfte wurde durch Näherung der Verteilungen an eine Gaussverteilung erhalten, wobei der Fehlerbalken der Breite der genäherten Gaussverteilung entspricht.

in die Brown'schen Simulationen in Form des Morsepotentials eingehen. In den Zugexperimenten aus Referenz [44] wurde für eine einzelne Bindung die Abrisskraft  $30 \pm 6$  pN gemessen. Verglichen mit dem Experiment, sind die hier bestimmten Abrisskräfte zwar in der gleichen Größenordnung wie die experimentellen Abrisskräfte. Wegen der logarithmischen Abhängigkeit der Abrisskraft würde man für das simulierte Disaccharidsystem jedoch Abrisskräfte erwarten, die ungefähr eine Größenordnung größer sind als 30 pN, da eine Laderate verwendet wurde, die um einen Faktor 2000 größer ist als im Experiment. Diese Abweichung kann teilweise durch die einfachen Modelle erklärt werden, die in den MD und Brown'schen Simulationen eingesetzt wurden und soll unter anderem im nächsten Kapitel diskutiert werden.

### Abweichungen der Abrisskräfte zwischen Simulation und Experiment

Die Abweichungen der Abrisskräfte lassen sich einerseits durch das einfache Modell erklären, das in den Brown'schen Simulationen verwendet wurde. Zum Anderen ist die Beschreibung stark geladener Metallionen in MD Simulationen nicht ganz unproblematisch, da in MD Simulationen quantenmechanische Effekte nicht berücksichtigt werden können. Die Wechselwirkung der Kationen mit anderen Atomen wird in MD Simulationen durch die Coulomb- und die Lennard-Jones-Wechselwirkung beschrieben, wobei beides isotrope Zweikörperwechselwirkungen sind. Die Partialladung eines einatomigen Kations wird durch die (formale) ganzzahlige Ladung bestimmt. Ein Calciumion hat demnach eine Partialladung von +2. Das bedeutet, dass sich alle Kationen mit der gleichen Ladung (z.B. alle Erdalkalimetallionen, wie  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{Mg}^{2+}$ ), nur durch die beiden Parameter des Lennard-Jones-Potentials unterscheiden. Allgemein werden Kraftfelder so konstruiert, dass thermodynamische Parameter, wie beispielsweise Solvatationsenthalpien, reproduziert werden. Die spezifischen Parameter für die Lennard-Jones-Wechselwirkung zwischen einem Kation und Ligandatomen werden jedoch meist durch heuristische Kombinationsregeln erhalten, siehe hierzu auch Kapitel 2.1.1 und Gleichung (2.6). Das heißt, die Wechselwirkung zwischen den Kationen und Ligandatomen wird häufig nicht explizit parametrisiert und es werden möglicherweise ungeeignete Parameter erhalten [117][118][119].

## 5.4 Zusammenfassung

In diesem Teil der Arbeit wurde die durch Kationen vermittelte Aggregation von Disacchariden untersucht, die für die Selbstadhäsion der Zellen des Meeresschwammes *Microciona prolifera* relevant ist. Experimentell ist bekannt, dass Calciumionen im Gegensatz zu Magnesiumionen zu einer Aggregation der Disaccharide führen. Ziel der Untersuchung war es, die Unterschiede im Bindungsverhalten der beiden Kationarten zu bestimmen.

Zunächst wurde festgestellt, dass die Kationen vornehmlich an die Sulfatgruppen der Disaccharide binden. Dies hat zur Folge, dass sich im Carbohydrat-Kation-Carbohydrat Komplex die Disaccharide vor allem über die Glukoseeinheit, an die die Sulfatgruppe gebunden ist, an das Kation binden. Die Bevorzugung dieser Bindungsstruktur ist für das Calciumsystem besonders ausgeprägt. Um die Stabilität der Komplexe abzuschätzen, wurde einerseits ein *Potential of mean force* bestimmt. Als Reaktionskoordinate wurde der Abstand der Sulfatgruppen verwendet, da man für geringe Abstände dieser Gruppen davon ausgehen kann, dass diese über ein Kation verbrückt sind. Fehlt das Kation stoßen, sich die Sulfatgruppen aufgrund ihrer negativen Ladung gegenseitig ab und die Komplexbildung ist nicht möglich.

Die Bindungsenergie für den Calciumkomplex wurde zu 8.5 kJ/mol bestimmt und im Fall des Magnesiumkomplex beträgt sie 3.9 kJ/mol. In beiden Fällen ist die Bindungsenergie relativ klein. Dies ist jedoch zu erwarten, da aus Experimenten bekannt ist, dass der Calciumkomplex nicht sehr stabil ist und der Magnesiumkomplex überhaupt nicht beobachtet wird. Ausgehend von den

MD Simulationen lassen sich die Unterschiede der beiden Kationssysteme wie folgt erklären. Zum Einen binden die Magnesiumionen deutlich schlechter an das Disaccharid als die Calciumionen. Der Grund hierfür ist, dass Magnesiumionen aufgrund des kleineren Ionenradius im Vergleich zu Calciumionen die Hydrathülle stärker an sich binden. Damit ein Kation an das Disaccharid binden kann, muss die Hydrathülle zunächst aufgebrochen werden. Da dies im Fall der Magnesiumionen energetisch aufwendiger ist, ist die Komplexbildung gegenüber dem Calciumsystem kinetisch gehemmt. Zu diesem Ergebnis kommt man auch, wenn man im Fall des Magnesiumsystems ein modifiziertes Wassermodell verwendet, in dem die Ladungen der Wasseratome verringert werden. Durch Verwendung des modifizierten Wassermodells binden die Magnesiumionen die Hydrathülle weniger stark an sich als beim 'normalen' Wassermodell und die Komplexbildung mit den Disacchariden wird erleichtert. Der andere wesentliche Unterschied der beiden Kationkomplexe ist, dass im Fall der Calciumionen beide Disaccharide über die Sulfatgruppen direkt an das Kation binden. Für das Magnesiumsystem beobachtet man, dass nur eines der beiden Disaccharide eine direkte Bindung eingeht. Das andere Disaccharid bindet indirekt über ein Wassermolekül an das Magnesiumion, wodurch die Bindungsstärke gegenüber einer direkten Bindung abgeschwächt wird.

Anhand der Ergebnisse erkennt man, dass die Sulfatgruppe für die Komplexbildung entscheidend ist. Experimentell ist bekannt, dass ein Monosaccharid, das nur aus der Glukoseeinheit des Disaccharids besteht, an die die Sulfatgruppe gebunden ist, zu keinem stabilen Carbohydrat-Calcium-Carbohydrat Komplex führt. Um zu überprüfen, ob die Stabilitätsunterschiede zwischen den beiden Sacchariden ebenfalls in den Simulationen zu beobachten sind, wurden die Simulationen des Calciumsystems mit dem Monosaccharid wiederholt. Wie zu erwarten war, fiel die Bindungsenergie des Monosaccharidkomplexes gegenüber dem Disaccharidkomplex geringer aus (6 kJ/mol). Dennoch ist die Differenz der Bindungsenergien der beiden Komplexe vergleichsweise klein.

Zusätzlich wurden in Zugsimulationen Adhäsionscluster unterschiedlicher Größe modelliert, die durch mehrere Komplexbindungen stabilisiert werden. Anhand dieser Simulationen war es möglich, die mittlere Abrisskraft eines einzelnen Komplexes zu bestimmen. Verglichen mit den Zugexperimenten aus [44] wird in den Simulationen für einen einzelnen Komplex eine Abrisskraft gefunden, die etwa eine Größenordnung zu gering ist. Die Abweichung lässt sich vermutlich auf die Vereinfachungen in den Modellen, die in den Simulationen verwendet wurden, zurückführen. Dennoch ist es bemerkenswert, dass in den Simulationen die Experimente qualitativ reproduziert werden konnten, da Unterschiede in der Stabilität der Komplexe der verschiedenen Saccharid- bzw. Kationssystemen festgestellt wurden.

# Kapitel 6

## Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden zwei supramolekulare Komplexe unter dem Einfluss einer externen Kraft mit Hilfe von klassischen Molekulardynamik (MD) Simulationen untersucht. Die betrachteten Systeme unterscheiden sich in der Art der nichtkovalenten Wechselwirkungen, die den jeweiligen Komplex stabilisieren.

Zum Einen wurden zwei synthetische Calix[4]aren-Catenan-Dimersysteme betrachtet, in denen die beiden Monomere über Wasserstoffbrückenbindungen aneinander gebunden sind. Die Besonderheit dieser Komplexe ist, dass die Monomere aufgrund von verschlauften Alkylketten (Catenan-Struktur) durch einen mechanischen Zug nicht komplett voneinander getrennt werden können. Reduziert man ausgehend von einer gestreckten Struktur die angelegte Kraft, können die Monomere wieder zusammengeführt werden. Das System ist somit reversibel. Für beide Dimere wurden die Strukturen analysiert, die in den Zugsimulationen auftreten. Des Weiteren wurde eines der beiden Systeme verwendet, um die Zuverlässigkeit verschiedener Kraftfelder unter dem Einfluss einer externen Kraft zu testen.

Als Modell für einen Komplex, der durch Ionenpaarbindungen stabilisiert wird, wurden zwei Saccharide betrachtet, die an ein zentrales Kation binden. Solch eine Struktur spielt für die Zellaggregation von Meeresschwämmen eine wichtige Rolle. Experimentell ist bekannt, dass Magnesiumionen im Gegensatz zu Calciumionen keinen stabilen Komplex bilden und es stellt sich daher die Frage, wodurch dieser Unterschied bedingt wird.

Des Weiteren wurde eine in der Literatur beschriebene Methode zur Auswertung von Trajektorien erweitert, die erhalten werden, wenn an einen reversiblen Komplex, der sich als Zweizustandssystem beschreiben lässt, eine konstante externe Kraft angelegt wird.

Im Folgenden sollen die Ergebnisse kurz zusammengefasst und diskutiert werden.

### Einfluss einer konstanten Kraft auf ein Zweizustandssystem

Im einfachsten Modell lässt sich ein Komplex, der aus zwei Monomeren besteht, die aneinander binden, als ein Zweizustandssystem beschreiben, wobei ein Zustand zu den gebundenen Konformationen und der andere zu den ungebundenen Konformationen korrespondiert. Durch Anlegen einer externen Kraft lässt sich das System vom gebundenen in den ungebundenen Zustand überführen. Für reversible Komplexe, wie sie hier betrachtet werden, sind zusätzlich auch Übergänge in die umgekehrte Richtung möglich. Die mittlere Wartezeit, die das System in einem Zustand verharret, bis ein Übergang zum Anderen Zustand erfolgt, wird durch eine kraftabhängige Übergangsrate bestimmt. Die zwei Raten für die beiden Übergänge legen daher die Dynamik des Systems vollständig fest. Es ist schon länger bekannt, dass für Zeiten, die größer als die inverse Summe der beiden Raten sind, die mittlere Zahl der Übergänge als Funktion der Zeit,  $\langle N(t) \rangle$ , einen linearen

Verlauf aufweist, wobei die Steigung durch die Übergangsraten festgelegt wird. Misst man diese Größe für verschiedene Kräfte, lassen sich prinzipiell die Übergangsraten und deren Kraftabhängigkeit bestimmen. Daneben ist es interessant, die Fluktuationen in der Zahl der Übergänge zu betrachten, da diese Auskunft darüber geben, ob die Übergänge durch einen Poisson-Prozess beschrieben werden können. Weicht der Quotient der beiden Raten stark von 1 ab, kann es aufgrund der endlichen zeitlichen Auflösung experimenteller Methoden problematisch sein, die Übergänge der größeren Rate komplett aufzulösen.

In dieser Arbeit wurde für solche Fälle vorgeschlagen, jeweils zwei aufeinanderfolgende Übergänge zu einem Kreisprozess zusammenzufassen und die Zahl der Kreisübergänge zu zählen (Kreiszahlung). Im Vergleich zu der Variante, die jeden Übergang zählt (Eventzählung), findet man halb so viele Übergänge in der gleichen Zeit. Aus der Steigung der mittleren Zahl der Übergänge können ebenfalls die Übergangsraten bestimmt werden. Um zu ermitteln, mit welcher Genauigkeit  $\langle N(t) \rangle$  und die Fluktuationen für die beiden Zählweisen bestimmt werden können, wurden kinetische Monte-Carlo Simulationen durchgeführt. Es zeigt sich, dass  $\langle N(t) \rangle$  schon mit einem relativ kleinen Datensatz (100 Trajektorien mit jeweils 15 Kreisübergängen) gut bestimmt werden kann. Für eine qualitative Bestimmung der Fluktuationen reicht die Größe des Datensatzes ebenfalls aus, für eine genaue Analyse werden jedoch deutlich mehr Simulationen benötigt. In der Praxis sollte es möglich sein, vergleichbare und sogar größere Datensätze zu erhalten und es ist davon auszugehen, dass die vorgestellte Methode auch für die experimentelle Analyse von Zweizustandssystemen hilfreich sein wird.

## Untersuchung des Calix[4]aren-Catenan-Dimersystems

Die beiden Calix[4]aren-Catenan-Dimersysteme, die mit Hilfe von MD Simulationen untersucht wurden, unterscheiden sich nur durch die Zahl und die Länge der verschlauften Alkylketten. Im sogenannten Bis-Loop System sind an jedes Monomer jeweils zwei Alkylketten gebunden. Im Tetra-Loop System trägt jedes Monomer vier Alkylketten, die jedoch kürzer sind als im Bis-Loop System. Um beide Systeme zu untersuchen, wurden Zugsimulationen durchgeführt. Hierbei wird eine zeitabhängige Kraft entlang der Verbindungslinie der beiden Monomere angelegt, wodurch sich das Dimer strecken lässt. Abbildung 6.1 zeigt die typischen Strukturen, die für beide Komplexe während den Zugsimulationen beobachtet werden. Des Weiteren ist die Freie Energie in Abhängigkeit des End-zu-End Abstandes der Monomere gezeigt.

Im Gleichgewicht oder wenn nur eine kleine Kraft an den Komplex angelegt wird, liegen beide Systeme in einer kompakten Struktur ( $C_T$  bzw.  $C_B$ ) vor, die durch intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Harnstoffgruppen stabilisiert wird (UU-Bindungen). Für größere Kräfte ist es möglich, beide Dimere in eine gestreckte Konformation zu überführen. Da die beiden Komplexe durch die gleiche Zahl von UU-Bindungen stabilisiert werden, ist die benötigte Abrisskraft für beide Übergänge ähnlich. In den gestreckten Konformationen ( $O_T$  bzw.  $I_B$ ) wird das Netzwerk der UU-Bindungen durch einen neuen Satz von Wasserstoffbrückenbindungen (UE-Bindungen) ersetzt. Die Ähnlichkeiten der Konformationen, die bis zu diesem Punkt zu beobachten sind, werden auch offensichtlich, wenn man die Freie Energie (unterer Teil der Abbildung) betrachtet. Für Abstände bis etwa 2 nm ist die freie Energie für beide Komplexe identisch.

Streckt man die Dimere weiter, indem man die angelegte Kraft vergrößert, werden Unterschiede zwischen den Systemen offensichtlich. Aufgrund der kurzen verschlauften Alkylketten lässt sich das Tetra-Loop System nicht weiter strecken. Im Fall des Bis-Loop Systems tritt ein weiterer Übergang zu einer Konformation ( $O_B$ ) auf, in der die Calix[4]aren-Einheiten vollständig voneinander getrennt sind und keine intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen gebildet werden. Um zu überprüfen, ob Übergänge auch in die umgekehrte Richtung möglich sind, wurden Simulationen durchgeführt, in denen die Kraft ausgehend von einer gestreckten Struktur langsam verringert

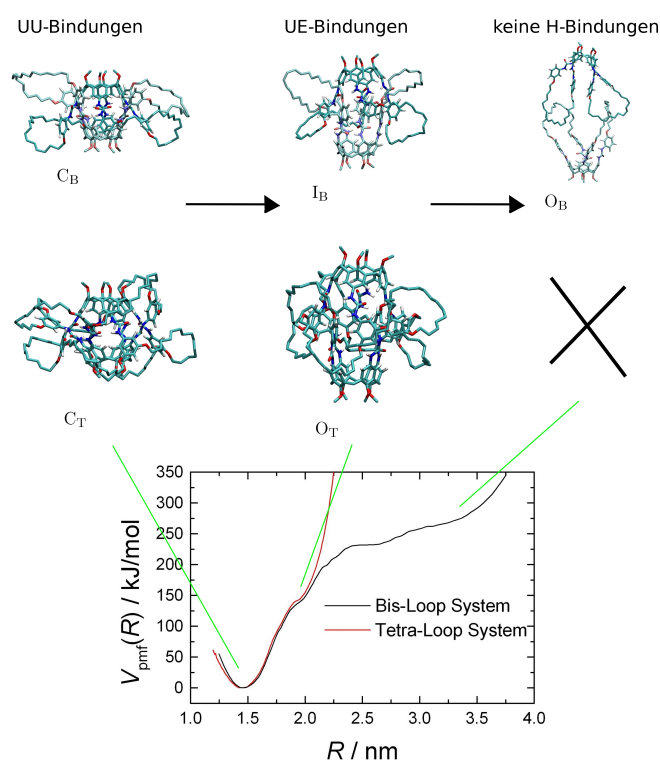


Abbildung 6.1: Typische Strukturen des Bis-Loop (oben) und Tetra-Loop Systems (unten), die in einer Zugsimulation auftreten. Im unteren Teil der Abbildung ist die freie Energie der beiden Dimersysteme entlang des End-zu-End Abstandes aufgetragen, wobei die grünen Linien zeigen, bei welchen Abständen die abgebildeten Strukturen beobachtet werden.

wurde. Im Fall des Tetra-Loop Systems wurden Übergänge zurück zur geschlossenen Struktur beobachtet und das System ist daher reversibel. Für das Bis-Loop System traten keine vergleichbaren Übergänge auf der Zeitskala der MD Simulationen auf. Einer der Gründe hierfür ist, dass in der vollständig gestreckten Struktur (O<sub>B</sub>) Lösungsmittelmoleküle zwischen die Monomere diffundieren können und somit die Annäherung der beiden Monomere behindern.

## Zuverlässigkeit von Kraftfeldern

Von einem qualitativen Standpunkt reproduzieren alle drei Kraftfelder (GROMOS 53a5, OPLS-AA und GAFF) das reversible Verhalten des Tetra-Loop Systems und geben den gleichen Reaktionspfad wieder. Details wie die Zahl der stabilisierenden Wasserstoffbrückenbindungen und die Übergangskräfte hängen vom gewählten Kraftfeld ab. Die Übergangskräfte werden im Wesentlichen durch die Zahl der stabilisierenden Wasserstoffbrückenbindungen bestimmt. Da in den Gleichgewichtssimulationen die gleichen Abweichungen bezüglich der Zahl der Wasserstoffbrückenbindungen gefunden werden wie in den Zugsimulationen, kann man davon ausgehen, dass sich die Unterschiede auf die verschiedenen Parametrisierungsstrategien der drei Kraftfelder zurückführen lassen. Die Störung des Gleichgewichts durch den mechanischen Zug stellt daher keine zusätzliche Einschränkung in Bezug auf die Zuverlässigkeit der Kraftfelder dar.

## Ionenpaarbindung in einem Carbohydrat-Kation-Carbohydrat Komplex

Es zeigt sich, dass im Fall der Calciumionen gegenüber den Magnesiumionen der Carbohydrat-Kation-Carbohydrat Komplex häufiger gebildet wird. Für beide Kationarten findet man, dass die Kationen vornehmlich an die deprotonierte Sulfatgruppe des Disaccharids binden. Im Vergleich fällt auf, dass die Calciumionen eine größere Affinität besitzen an das Disaccharid zu binden als die Magnesiumionen. Diese Tatsache lässt sich durch den kleineren Ionenradius des Magnesiumions erklären. Ein solvatisiertes Magnesiumion bindet die Hydrathülle stärker als ein Calciumion. Da die Hydrathülle zunächst teilweise aufgebrochen werden muss, bevor der Komplex sich bilden kann, ist die Komplexbildung im Magnesiumsystem gegenüber dem Calciumsystem kinetisch gehemmt. Der unterschiedliche Ionenradius beeinflusst des weiteren auch die Bindungsstrukturen und die Stabilität der Komplexe. Im Fall des Calciumsystems lässt sich die Struktur der Sulfatsauerstoffatome, die an das Calciumion binden und der Wassermoleküle, die sich in unmittelbarer Nähe des Kations befinden, am ehesten durch ein quadratisches Antiprisma beschreiben. Für das Magnesiumsystem findet man dagegen eine oktaedrische Struktur, wobei nur eine Sulfatgruppe direkt an das Magnesiumion bindet. Die andere Sulfatgruppe bindet indirekt über ein Wassermolekül an das zentrale Kation. Dies führt dazu, dass der Magnesiumkomplex weniger stabil ist und man findet eine kleinere Bindungsenergie (3.9 kJ/mol) als für den Calciumkomplex (8.5 kJ/mol). Dass vor allem die Stärke der Bindung des Kations zur Hydrathülle einen Einfluss auf die Komplexbildung hat, konnte im Fall des Magnesiumsystems durch Simulationen, die ein modifiziertes Wassermolekül verwendeten, gezeigt werden. In diesen Simulationen wurden die Wechselwirkung zwischen Magnesiumionen und Wassermolekülen künstlich geschwächt, in Folge wurde der Carbohydrat-Magnesium-Carbohydrat Komplex häufiger gebildet und die Bindungsenergie stieg im Vergleich zum 'normalen' Magnesiumsystem (6.9 kJ/mol).

# Anhang A

## Weitere Simulationsergebnisse

### A.1 Detaillierte Betrachtung der H-Bindungen im Calixaren Dimersystem

Im Folgenden sollen die Netzwerke der H-Bindungen des Calixarensystems etwas detaillierter betrachtet werden. Hierbei soll zum Einen die Dynamik der UU-Bindungen durch vergleichende Monte-Carlo Simulationen untersucht werden. Beim Vergleich der Ergebnisse der drei Kraftfelder wurde festgestellt, dass sich die Dynamik dieser Bindungen für das GROMOS und die anderen beiden Kraftfelder unterschied. Zum Anderen soll gezeigt werden, dass die UE-Bindungen, die sich zwischen den Harnstoffgruppen und den Ethersauerstoff bilden können, nicht equivalent sind und man diese in zwei Klassen unterteilen kann.

#### A.1.1 Adhäsionscluster mit unterschiedlich starken Bindungen

Bei der Untersuchung des Tetra-Loop Systems fällt auf, dass die Art und Weise wie die Zahl der UU-Bindungen abnimmt, sich beim GROMOS Kraftfeld gegenüber den anderen beiden Kraftfeldern unterscheidet. Für das GROMOS Kraftfeld findet man eine nahezu lineare Abnahme der Zahl der Bindungen. Im Fall der anderen beiden Kraftfelder beobachtet man zunächst, dass sich nur wenige Bindungen öffnen. Im Laufe des Zuges nimmt die Zahl der Bindungen jedoch immer stärker ab und es ergibt sich ein Verlauf, der am besten durch eine sigmoidale Kurve beschrieben werden kann. Dieser nichtlineare Kurvenverlauf wird auch in Monte-Carlo Simulationen von Adhäsionsclustern, die durch einen mechanischen Zug getrennt werden, beobachtet [87][120].

In Kapitel 4 wurde argumentiert, dass eine unterschiedliche Stabilität der beiden Bindungen zwischen zwei Harnstoffgruppen den nahezu linearen Kurvenverlauf im Fall des GROMOS Kraftfeldes erklären kann. Ist eine der beiden Bindungen wesentlich schwächer als die andere, öffnet sich diese deutlich früher und man beobachtet somit Abweichungen vom sigmoidalen Kurvenverlauf. Im Folgenden sollen die Ergebnisse von Monte-Carlo Simulationen vorgestellt werden, in denen Adhäsionscluster untersucht wurden, die durch starke und schwache Bindungen stabilisiert werden. Um die Modellierung zu vereinfachen, werden Rückbindungen vernachlässigt. Da es bei dieser Untersuchung nicht um quantitative sondern qualitative Ergebnisse geht, sollte diese Näherung jedoch vertretbar sein.

Nach Referenz [120] ist die Wartezeit  $\tau_x$ , nach der sich eine Bindung der Art 'x' öffnet durch

$$\tau_x = \frac{1}{\mu/n} \ln \left( 1 - \frac{\mu/n}{n_x k_x \exp(t\mu/n)} \ln \xi \right) \quad (\text{A.1})$$

gegeben. Im Folgenden wird zwischen starken ( $x=s$ ) und schwachen ( $x=w$ ) Bindungen unterschieden. Die Gesamtzahl der geschlossenen H-Bindungen ist durch  $n$  gegeben, wobei  $n_s$  bzw.  $n_w$  jeweils

für die Zahl der geschlossenen starken bzw. schwachen Bindungen steht. Zu Beginn der Simulation wurde die Zahl der Bindungen auf folgende Werte gesetzt:  $n_s = n_w = 8$  und  $n = n_s + n_w = 16$ . Im Laufe der Simulation nimmt die Zahl der geschlossenen Bindungen ab, da sich diese öffnen. Die Raten für das Öffnen der Bindungen im Gleichgewicht sind durch  $k_x$  mit  $x=s, w$  gegeben. In allen Simulationen wurde  $k_s = 1 \text{ s}^{-1}$  verwendet und die Rate der schwachen Bindungen wurde über drei Dekaden variiert  $k_w = 1, 10, 100, 1000 \text{ s}^{-1}$ . Die Laderate  $\mu$  in Gleichung (A.1) ist mit der intrinsischen Kraftskala des Systems skaliert  $\mu = k_c v \cdot \beta \Delta x$  und hat somit die Einheit einer inversen Zeit. In den Simulationen wurden die Werte  $\mu = 10^3$  und  $10^4 \text{ s}^{-1}$  benutzt. Für jede Kombination aus Ratenverhältnis und Laderate wurden 5000 Simulationen durchgeführt und über die Ergebnisse gemittelt. Die Ergebnisse sind in Abbildung A.1 zu finden.

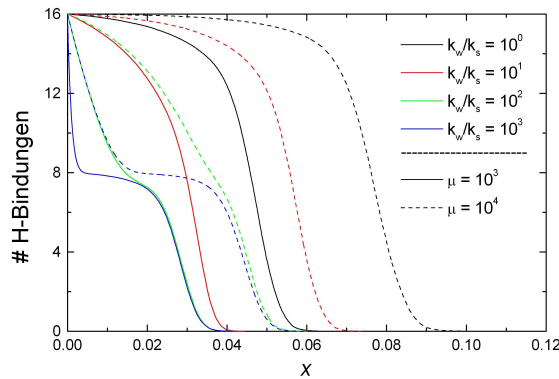


Abbildung A.1: Ergebnisse der Modellierung mittels kinetische Monte-Carlo Simulationen von unterschiedlich starken Bindungen innerhalb eines Adhäsionsclusters.  $k_w$  meint die Rate der schwachen und  $k_s$  die der starken Bindungen. Von beiden Bindungsarten gibt es anfangs jeweils 8 Bindungen.  $\mu$  ist die Laderate und entspricht somit der Zuggeschwindigkeit in Abbildung 4.33.

Man erkennt zunächst, dass bei konstantem Verhältnis  $k_w/k_s$  der Wert von  $x$ , bei dem sich die letzte Bindung öffnet, mit steigender Laderate zunimmt, da die individuellen Abrisskräfte und Abrisszeiten ebenfalls zunehmen. Des Weiteren zeigt sich, dass mit Abnahme von  $\mu$  und Zunahme des Verhältnisses  $k_w/k_s$  die Kurven immer stärker von einem sigmoidalen Verlauf abweichen. Für  $k_w/k_s = 10^3$  ist diese Abweichung besonders stark ausgeprägt und man kann die Bereiche in denen sich die schwachen und starken Bindungen öffnen deutlich unterscheiden. Dies wird vor allem offensichtlich, wenn man für  $\mu = 10^3$  die Kurven für  $k_w/k_s = 10^2$  (grün) und  $10$  (blau) vergleicht. Ab etwa  $0.02 \text{ nm}$  ist der Kurvenverlauf in beiden Fällen praktisch identisch und man kann davon ausgehen, dass in diesem Bereich das System nur durch die starken Bindungen stabilisiert wird. Für das Verhältnis  $k_w/k_s = 10^2$  beobachtet man für beide Laderaten einen Kurvenverlauf, der relativ linear ist und dem ähnelt, der für das GROMOS Kraftfeld gefunden wird (siehe Abbildung 4.33). Die Kurvenverläufe für das OPLS und GAFF Kraftfeld ähneln eher den Kurven mit einem geringeren Verhältnis  $k_w/k_s$ . Das heißt, man kann davon ausgehen, dass die UU-Bindungen im GROMOS Kraftfeld, gegenüber den anderen beiden Kraftfeldern ein größeres Ungleichgewicht in ihrer Stabilität aufweisen. Die hier durchgeführte Studie erlaubt jedoch keine quantitative Aussage darüber, wie stark die Stabilität der beiden Bindungen sich für die drei Kraftfelder unterscheidet. Man kann lediglich davon ausgehen, dass im Fall des GROMOS Kraftfeldes das Verhältnis  $k_w/k_s$  stark von 1 abweicht und dass für die anderen beiden Kraftfelder die beiden Raten in der gleichen Größenordnung sind.

### A.1.2 Nichtequivalenz der UE-Bindungen

Betrachtet man die Struktur des Tetra-Loop Systems im Gleichgewicht, kann man erkennen, dass die beiden Ethersauerstoffe, die an die Phenylringe gebunden sind, in Bezug auf die Ausbildung der UE-Bindungen nicht equivalent sind. Der Grund für diese Nichtequivalenz ist, dass die Harnstoffgruppen im Calixaren nicht frei rotieren können und somit eine feste Ausrichtung besitzen. In Abbildung A.2 erkennt man, dass alle Carbonylsauerstoffe der Harnstoffgruppen in Richtung des Uhrzeigersinns zeigen. Aus diesem Grund sollen im Folgenden die UE-Bindungen in zwei Klassen unterteilt werden. Ausgehend von der Gleichgewichtsstruktur des Dimersystems werden die UE-Bindungen, die eine kleine Distanz zwischen dem betreffenden Wasserstoff- und Ethersauerstoffatom als UEn-Bindung bezeichnet. Für die andere Bindung wird die Bezeichnung UEf-Bindung eingeführt. In Abbildung A.2 soll diese Einteilung verdeutlicht werden.

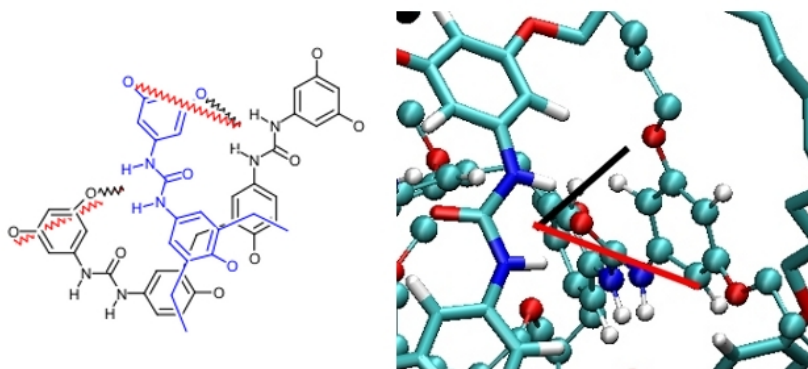


Abbildung A.2: Links: Ausschnitt der schematischen Darstellung des Tetra-Loop Systems (die Alkylketten wurde nicht eingezeichnet). Rechts: Ausschnitt aus der 3D-Struktur des Tetra-Loop Dimers. In beiden Fällen erkennt man, dass es zwei Arten von UE-Bindungen gibt. In schwarz sind die UEn-Bindungen abgebildet, die zu dem Ethersauerstoff gebildet werden, das sich näher an der Harnstoffgruppe befindet. Die UEf-Bindungen zum entfernteren Ethersauerstoff sind rot dargestellt.

Da die anfängliche Distanz zwischen der Harnstoffgruppe und dem einen Ethersauerstoff relativ klein ist, können die UEn-Bindungen prinzipiell schon bei kleinen End-zu-End Abständen ausgebildet werden. Eine ausgeprägte Bildung dieser Bindungen beobachtet man jedoch nur für das Tetra-Loop System im Fall des GROMOS Kraftfeldes. Für die anderen beiden Kraftfelder (Tetra-Loop System) und das Bis-Loop System werden die UEn-Bindungen bei kleinen End-zu-End Abständen kaum gefunden. Durch die Geometrie des Dimersystems können die UEf-Bindungen nur ausgebildet werden, wenn sich die betreffende Phenylgruppe verdreht. Aus diesem Grund bindet eine Harnstoffgruppe im Tetra-Loop System nur an eines der beiden Ethersauerstoffe. Der wesentliche Unterschied zwischen dem Tetra-Loop und Bis-Loop System ist, dass letzteres nur halb so viele Alkylketten besitzt. Dies hat zur Folge, dass an die Phenylgruppen jeweils nur eines der beiden Ethersauerstoffe gebunden ist. Somit ist klar definiert ob eine bestimmte Harnstoffgruppe UEn- oder UEf-Bindungen ausbildet. Dieser Unterschied macht sich vor allem im Netzwerk der UE-Bindungen im  $O_T$ - bzw.  $I_B$ -Zustand bemerkbar. Abbildung A.3 zeigt die Zahl der beiden UE-Bindungen als Funktion des End-zu-End Abstandes für beide Systeme.

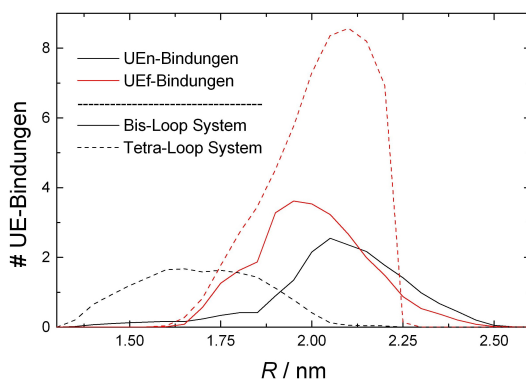


Abbildung A.3: Zahl der UEn-Bindungen (schwarz) und UEf-Bindungen (rot). Im Fall des Tetra-Loop Systems werden durchgezogene und für das Bis-Loop System unterbrochene Linien verwendet. Als Grundlage dienen die pull-mode Simulationen des GROMOS Kraftfeldes mit einer Zuggeschwindigkeit  $v = 0.1$  m/s.

Für den  $O_T$ - bzw.  $I_B$ -Zustand ist der Bereich um  $R \approx 1.9 - 2.2$  nm relevant, weshalb im Folgenden nur auf diesen Bereich eingegangen wird. Im Fall des Tetra-Loop System beobachtet man praktisch ausschließlich UEf-Bindungen, während im Bis-Loop System beide UE-Bindungsarten gefunden werden. Doch auch hier ergibt sich eine Bevorzugung der UEf-Bindungen. Man kann daraus schließen, dass aus strukturellen Gründen sich die Phenylgruppen im  $O_T$ - und  $I_B$ -Zustand verdrehen und somit die Bildung der UEf-Bindungen gegenüber den UEn-Bindungen bevorzugt wird. Im Bis-Loop System trägt jedoch nicht jede Phenylgruppe eines der Ethersauerstoffe, die zur Ausbildung der UEf-Bindungen benötigt werden. Es scheint daher für das System vorteilhafter zu sein, die Verdrehung für diese Phenylgruppen zu verhindern, da so die UEn-Bindungen ausgebildet werden können. Dieser Umstand erklärt vermutlich auch, warum in Abbildung 4.18 die maximale Zahl der UE-Bindungen für das Bis-Loop System bei einem kleineren Abstand ( $R \approx 2.0$  nm) gefunden wird als beim Tetra-Loop System ( $R \approx 2.1$  nm).

# Anhang B

## Weitere theoretische Grundlagen

### B.1 Brown'sche Dynamik

In der Brown'schen Dynamik wird die Bewegung eines gelösten Moleküls als eine Brown'sche Bewegung aufgefasst. Man nimmt dabei an, dass das Lösungsmittel zum Einen die Bewegung des Moleküls durch Reibungseffekte dämpft. Zum Anderen führen zufällige Stöße der Lösungsmittelmoleküle mit dem betrachtenden Molekül zu einer stochastischen Kraft, die auf letzteres wirkt. Im Gegensatz zur Molekulardynamik wird das Lösungsmittel nicht explizit in der Simulation beschrieben, sondern es wechselwirkt implizit mit dem Molekül. Hierdurch reduziert sich die Teilchenzahl und somit der Rechenaufwand erheblich.

Als Ausgangspunkt zur Formulierung der Brown'schen Dynamik dient die Langevin Gleichung [2], die in ihrer gebräuchlichsten Form durch

$$m_i \ddot{r}_i(t) = F_i(t) - \gamma_i m_i \dot{r}_i(t) + \xi_i(t), \quad (\text{B.1})$$

gegeben ist. Die linke Seite und der erste Term auf der rechten Seite entsprechen dem zweiten Newton'schen Gesetz. Die anderen beiden Terme beschreiben die implizite Wechselwirkung mit dem Lösungsmittel. Der erste dieser zwei Beiträge charakterisiert die Reibungseffekte zwischen dem Teilchen und dem Lösungsmittel, dabei ist  $\gamma_i$  die Reibungskonstante, die über

$$\gamma_i = \frac{1}{\beta m_i D_i} \quad (\text{B.2})$$

mit der Diffusionskonstante  $D_i$  zusammen hängt. Der Term  $\xi_i(t)$  stellt eine stochastische Kraft dar, die ihren Ursprung in Stößen des Lösungsmittels auf das Teilchen hat. Es wird angenommen, dass die stochastische Kraft einer Gaussverteilung mit dem Mittelwert  $\langle \xi_i(t) \rangle$  und der Breite  $\langle \xi_i(t) \xi_j(t + \tau) \rangle$  gehorcht:

$$\langle \xi_i(t) \rangle = 0 \quad (\text{B.3})$$

$$\langle \xi_i(t) \xi_j(t + \tau) \rangle = \frac{2m_i \gamma_i}{\beta} \delta(\tau) \delta_{ij} \quad (\text{B.4})$$

Geht man von einem überdämpften System aus, sind die Inertialterme  $m_i \ddot{r}_i(t)$  klein und können vernachlässigt werden. Man erhält schließlich die überdämpfte Langevin Gleichung

$$0 = F_i - \gamma_i m_i \dot{r}_i(t) + \xi_i(t), \quad (\text{B.5})$$

die auch die Grundlage zur Simulation der Brown'schen Dynamik bildet. Auflösen nach  $\dot{r}(t)$  liefert

$$\dot{r}(t) = \beta D_i F_i(t) + \underbrace{\beta D_i \xi_i(t)}_{\Gamma_i}, \quad (\text{B.6})$$

wobei Gleichung (B.2) ausgenutzt wurde. Löst man die Differentialgleichung in erster Ordnung, erhält man den konventionellen Algorithmus der Brown'schen Dynamik, mit der sich die Bewegungsgleichung numerisch lösen lässt

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t) + \beta D_i F_i(t) \Delta t + \Gamma_i, \quad (\text{B.7})$$

wobei die stochastische Kraft einer Gaussverteilung mit dem Mittelwert  $\langle \Gamma_i \rangle = 0$  und der Breite  $\langle \Gamma_i^2 \rangle = 2D_i \Delta t$  gehorcht [54][55].

Durch die implizite Beschreibung des Lösungsmittels verringert sich der Rechenaufwand einer Simulation zwar erheblich, auf der anderen Seite werden jedoch die Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel, die nicht durch die Reibungseffekte und stochastischen Stöße approximiert werden, vernachlässigt. Vor allem in polaren Lösungsmitteln werden die elektrostatischen Wechselwirkungen abgeschirmt. Daher müssen in impliziten Lösungsmittelsimulationen die Potentiale gegenüber den expliziten Lösungsmittelsimulationen modifiziert werden.

## B.2 RESP Ladungen

Wie Eingangs erwähnt verwendet man bei der Entwicklung von Kraftfelder experimentelle Ergebnisse und quantenchemische Rechnungen als Grundlage. Im Fall der Partialladungen werden häufig quantenchemische Rechnungen verwendet, da die Partialladungen experimentell nicht zugänglich sind. Vor allem die Kraftfelder der AMBER-Familie verwenden RESP (restricted electrostatic potential) Ladungen [122], die direkt in MD Simulationen eingesetzt werden können. Als Grundlage für die Berechnung der Ladungen dient das elektrostatische Potential (ESP), welches sich mit quantenchemischen Methoden hoch genau berechnen lässt

$$\phi(\mathbf{r}_i) = \sum_A \frac{Z_A}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_A|} - \sum_{mn} P_{mn} \int \frac{\varphi_m \varphi_n}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} d\mathbf{r}_j, \quad (\text{B.8})$$

wobei die Summe  $A$  über alle Atome läuft und  $Z_A$  deren Kernladung angibt. Die zweite Summe läuft über alle Basisfunktionen  $\varphi_m$  und  $\varphi_n$ .  $P_{mn}$  stellt die Dichtematrix dar, die für die Transformation der Atomorbitale in die Molekülorbitale benötigt wird.

Das ESP wird dabei auf einem Gitter berechnet, wobei die Gitterpunkte außerhalb des Van der Waals Radius des betreffenden Atoms liegen. Meist verwendet man Kugelschalen mit einem Radius, der dem 1.4 - 2.0 fachen van der Waals Radius des Atoms entspricht, das sie umgeben.<sup>1</sup> Anschließend wird dieses quantenmechanische ESP durch ein empirisches elektrostatisches Potential genähert, dass durch Punktladungen  $q_j$ , die an den Atompositionen zentriert sind, hervorgerufen wird

$$\phi(\mathbf{r}_i) = \sum_j \frac{q_j}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|}. \quad (\text{B.9})$$

Die so bestimmten Ladungen werden ESP Ladungen genannt. Durch die numerische Natur der Methode ist das elektrostatische Potential an den Gitterpunkten abhängig von der Orientierung des Moleküls und es sollten daher bei der Berechnung der Partialladungen mehrere Molekülorientierungen gleichzeitig berücksichtigt werden.

Für Partialladungen, die sich nahe an der Oberfläche des Moleküls befinden, ist dieses Vorgehen unproblematisch. Jedoch werden Partialladungen im Inneren des Moleküls schlecht beschrieben. Zum Einen gibt es durch die Einschränkung, dass die Gitterpunkte außerhalb der van der Waals Radien der Atome liegen müssen, wenige Gitterpunkte die nahe der inneren Atome sind, zum

<sup>1</sup>Der Grund, dass die Punkte immer außerhalb des van der Waals Radius liegen, ist darin begründet, dass innerhalb dieses Radius immer  $\phi(\mathbf{r}_i) > 0$  gilt.

Anderen ist der Einfluss der Partiaalladungen auf entferntere Punkte durch die  $1/r$  Abhängigkeit des elektrostatischen Potentials recht klein. Wegen dieser Problematik weisen die Partiaalladungen teilweise starke Fluktuationen in ihrem Wert auf. Kollman *et al* [122] lösten dieses Problem, indem sie während des Fits eine Straffunktion einführten,<sup>2</sup> die Abweichungen der Partiaalladungen vom Wert 0 verkleinern. Hierfür werden meist harmonische oder hyperbolische Funktionen verwendet. Durch die Einführung der Straffunktion verschlechtert sich zwar die Güte des Fits, aber die Werte der schlecht beschriebenen Partiaalladungen fluktuieren nicht mehr so stark.

Die Berechnung der RESP-Ladungen wird meist auf Hartree-Fock-Niveau mit einer 6-31G\* Basis durchgeführt. Dies hat zunächst einmal historische Gründe, da die Berechnung mit genaueren Methoden damals nicht praktikabel war. Ein weiterer Grund ist, dass bei HF/6-31G\* Berechnungen die Gasphasendipolmomente um 10-20% überschätzt werden und man somit indirekt Polarisierungseffekte durch polare Lösungsmittel berücksichtigt werden können [123].

## B.3 Observablen in dynamischen Simulationen

Im Folgenden sollen das mittlere Verschiebungsquadrat und die radiale Verteilungsfunktion vorgestellt werden.

### B.3.1 Das Mittlere Verschiebungsquadrat

Das mittlere Verschiebungsquadrat (Mean square displacement - MSD)  $\Delta r_{\text{msd}}$  beschreibt die mittlere quadratische Bewegung der Teilchen des Systems und ist durch

$$\Delta r_{\text{msd}}(t) = \langle |\mathbf{r}_i(t' + t) - \mathbf{r}_i(t')|^2 \rangle \quad (\text{B.10})$$

gegeben, wobei über die  $i$  Teilchen gemittelt wird. Im Allgemeinen wird für Zeitpunkt  $t'$  nicht nur der Anfang der Trajektorie  $t' = 0$  gewählt, sondern  $t'$  wird während der Berechnung kontinuierlich erhöht. Dadurch erreicht man vor allem für kleine  $t$  eine wesentliche größere Datenmenge, die ausgewertet werden kann, als wenn man nur mit einem festen  $t'$  arbeitet.

Abbildung B.1 zeigt  $\Delta r_{\text{msd}}(t)$  für Wasser bei 300 K und 325 K.

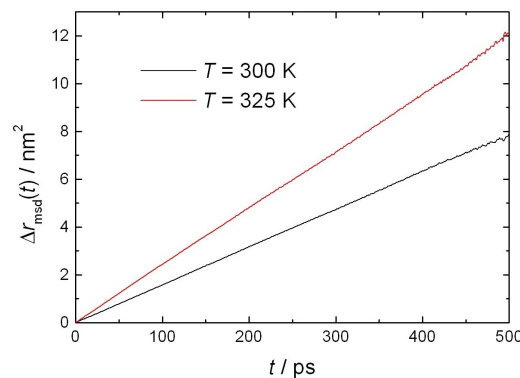


Abbildung B.1:  $\Delta r_{\text{msd}}(t)$  für Wasser bei 300 K (schwarz) und 325 K (rot).

Bei beiden Kurven erkennt man deutlich, dass für große  $t$  das MSD stärker fluktuiert als für kleine Zeiten. Dies ist darin begründet, dass bei kleinem  $t$  wesentlich mehr Startpunkte für die Berechnung in der Trajektorie gewählt werden können als bei großen  $t$ . Des Weiteren fällt auf

<sup>2</sup>Durch die Einführung der Straffunktion (Restraints) ist der Name RESP begründet.

das die Steigung von  $\Delta r_{\text{msd}}(t)$  mit der Temperatur größer wird, was sich durch die schnellere Teilchenbewegung bei höheren Temperaturen erklären lässt.

Die Dichte  $\rho(\mathbf{r}, t)$  von Brown'schen Teilchen gehorcht der Diffusionsgleichung

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = D \nabla^2 \rho, \quad (\text{B.11})$$

wobei  $D$  die Diffusionskonstante ist. Nach Einstein [124] erhält man für die Dichte

$$\rho(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{(4\pi Dt)^{3/2}} \exp\left(-\frac{r^2}{4Dt}\right). \quad (\text{B.12})$$

Das zweite Moment der Verteilung entspricht der MSD und ergibt sich zu

$$\Delta r_{\text{msd}}(t) = 6Dt, \quad (\text{B.13})$$

womit sich die Diffusionskonstante der betreffenden Teilchen berechnen lässt.

### B.3.2 Die Radiale Verteilungsfunktion

Die radiale Verteilungsfunktion (oder Paarkorrelationsfunktion)  $g(r)$  beschreibt in einem System, wie die Dichte mit dem Abstand  $r$  zu einem Referenzteilchen variiert. Die Wahrscheinlichkeit eine bestimmte Konfiguration in einem  $N$ -Teilchensystem zu finden ist durch

$$P^{(N)}(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) = \frac{1}{Z_N} \exp(-\beta V_N), \quad (\text{B.14})$$

gegeben. Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei bestimmte Teilchen einen gewissen Abstand zueinander haben, ergibt sich aus der obigen Gleichung, in dem man die Positionen der beiden Teilchen festhält und über alle anderen Teilchenpositionen integriert.

$$P^{(2)}(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) = \frac{1}{Z_N} \int \dots \int \exp(-\beta V_N) d\mathbf{r}_3 \dots d\mathbf{r}_N. \quad (\text{B.15})$$

Sind die Teilchen ununterscheidbar, ist es praktischer alle Permutationen zu betrachten, bei denen die Teilchen  $i$  und  $j$  den Abstand  $r = |\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|$  haben, die erhaltene Größe ist die 2-Teilchendichte

$$\rho^{(2)}(r) = \frac{N!}{(N-2)!} P^{(2)}(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2). \quad (\text{B.16})$$

Die Verteilungsfunktion  $g(r)$  verknüpft die Dichte mit der 2-Teilchendichte

$$\rho^{(2)}(r) = \rho^n g(r), \quad (\text{B.17})$$

und ist durch

$$g(r) = \frac{V^2 N!}{N^2 (N-2)!} \frac{1}{Z_N} \int \dots \int \exp(-\beta V_N) d\mathbf{r}_3 \dots d\mathbf{r}_N, \quad (\text{B.18})$$

gegeben und wird auch radiale Verteilungsfunktion genannt.

In einer Simulation lässt sie sich über

$$g(r) = \frac{1}{\rho} \sum_{i \neq j} \frac{1}{N} \frac{\delta(r_{ij} - r)}{4/3\pi[(r + \delta r)^3 - r^3]} \quad (\text{B.19})$$

berechnen. Der Quotient gibt die Teilchendichte aller Teilchen an, die sich in einem Abstand  $r$  zu einem Referenzteilchen befinden. Der Faktor  $1/N$  rührt daher, dass bei der Auswertung jedes Teilchen als Referenzteilchen betrachtet wird und die Dichte  $\rho$  sorgt für die Normierung der Verteilungsfunktion. Für eine anschauliche Diskussion der radialen Verteilungsfunktion siehe auch Abbildung 5.2.

# Anhang C

## Rechentechnische Details

### C.1 Molekulardynamik Simulationen

Prinzipiell wurde für alle in dieser Arbeit durchgeführten MD Simulationen das gleiche Verfahren verwendet. Daher soll dieses im Folgenden für die Simulationen der Calix[4]aren-Catenan-Dimer Systeme detailliert vorgestellt werden und für das Zuckersystem der Meeresschwämme nur die Unterschiede gesondert aufgeführt werden.

#### C.1.1 Simulationen der Calix[4]aren-Catenan-Dimere

Alle MD Simulationen wurden mit dem frei zugänglichen GROMACS Version 4.0.7 [60] Programmpacket durchgeführt. Für das Bis-Loop System wurde ausschließlich das GROMOS Kraftfeld G53a5 [85][86] verwendet. Für das Tetra-Loop System wurden zusätzlich Simulationen mit dem OPLS-AA [96][97] und dem GAFF Kraftfeld [98] durchgeführt.

Zunächst wurden die Topologien<sup>1</sup> für das Calix[4]aren-Catenane und das Mesitylen erstellt. Für das GROMOS G53a5 Kraftfeld wurden die Topologien mit Hilfe des  $\beta$ -PRODRG2 Servers [125] generiert und die Partiaalladungen nachträglich korrigiert, wobei sich hierbei an den Ladungen von bereits parametrisierten Aminosäuren orientiert wurde. Die Topologien für das OPLS-AA Kraftfeld wurden per Hand erstellt. Im Fall des GAFF Kraftfeldes wurden zunächst die RESP Ladungen [122] mit Hilfe des REDS Servers [126] berechnet. Dieser Server verwendet das GAUSSIAN09 [127] Programmpacket um die Geometrieoptimierungen und RESP Ladungsberechnungen durchzuführen und benutzt die Hartree-Fock Methode [128] mit einer 6-31G\* Basis [129]. Anschließend wurden die Topologien mit dem 'Antechamber' Modul des AMBER11 [130] Programmpacket generiert und in ein Format konvertiert, das von GROMACS gelesen werden kann.

Für alle Simulationen wurden periodische Randbedingungen verwendet, wodurch die Einführung von Cut-offs für die Berechnung der nichtbindenden Wechselwirkungen zwingend erforderlich ist. Gemäß den Kraftfeldparametrisierungen wurde für das GROMOS und OPLS Kraftfeld ein Cut-off von 1.4 nm und für das GAFF Kraftfeld ein kleinerer Cut-off von 1.0 nm verwendet. Die Nachbarschaftsliste wurde alle 5 Simulationsschritte (10 fs) aktualisiert. Die langreichweitigen Coulombwechselwirkungen wurden mit der PME Methode [52] berechnet und für die langreichweitigen van der Waals Wechselwirkungen wurde eine Dispersionskorrektur [50] verwendet. Mit Hilfe des LINCS Algorithmus [131] wurden alle Bindungslängen auf ihren Gleichgewichtswert gehalten, wodurch ein Zeitschritt von 2 fs ermöglicht wird. Im Fall des Tetra-Loop Systems hatte die Simulationsbox eine Größe von etwa 5.4 nm  $\times$  4.4 nm  $\times$  4.4 nm. Für das Bis-Loop System musste eine größere Box mit 8.2 nm  $\times$  4.6 nm  $\times$  4.6 nm verwendet.

---

<sup>1</sup>Als Topologie bezeichnet man die Verknüpfungen der Atome innerhalb eines Moleküls und die Kraftfeldparameter, die für dieses Molekül genutzt werden.

In den eigentlichen MD Simulationen wurde das folgende Protokoll verwendet. Zunächst wurden die isolierten Strukturen einer Energieminimierung unterworfen. Anschließend wurde das System solvatisiert und eine zweite Energieminimierung wurde für das gesamte System durchgeführt. In einer ersten Equilibrierungsphase wurde das System für 500 ps an ein 'velocity rescaling' Thermostat [57] mit der Temperatur 300 K und einer Zeitkonstanten von 0.1 ps gekoppelt. Die zweite Equilibrierungsphase dauerte 1 ns und es wurde zusätzlich ein Parrinello-Rahman-Barostat [132] mit dem Druck 1 bar und einer Zeitkonstanten von 2.0 ps an das System gekoppelt. Für die Kompressibilität des Mesitylens wurde ein Wert von  $8.26 \times 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$  [133] verwendet.

### C.1.2 Kraftfeldparameter für die Calix[4]aren-Catenan-Dimer Simulationen

Im Folgenden sind die Kraftfeldparameter für das Calix[4]aren-Catenan und Mesitylen angegeben. Für jedes Kraftfeld und Molekül werden die Atomtypen, aus denen sich die van der Waals und bindenden Parameter ableiten lassen, und die Partialladungen gezeigt. Da das Calix[4]aren-Catenan Molekül eine  $C_4$ -Symmetrie besitzt, ist nur ein Viertel des Moleküls gezeigt und die Gruppen R\* benennen den Rest des Moleküls (R<sup>1</sup> für den oberen Rand und R<sup>2</sup> für den unteren Rand bzw. die Alkylketten; siehe Abbildungen). Im Fall der all-atom Kraftfelder (OPLS und GAFF) sind die Abbildungen der Moleküle vereinfacht und es wird nur jeweils ein Wasserstoffatom pro Alkylgruppe gezeigt.

#### GROMOS G53a5 Kraftfeld

Das GROMOS G53a5 Kraftfeld verwendet Atomtypen (siehe Referenz [86]) um die Parameter der bindenden und van der Waals Wechselwirkungen abzuleiten. Da in manchen Fällen Atome, die zum gleichen Atomtyp gehören unterschiedliche Ladungen aufweisen, wurde diesen Atomtypen ein Index '(\*)' hinzugefügt. Beispielsweise gehören die Atomtypen C(1) und C(2) zum Atomtyp C, besitzen jedoch unterschiedliche Ladungen.

Calix[4]aren-Catenan:

Atomtyp	Ladung	Atomtyp	Ladung
CH3	0.303	CH2(1)	0.303
OA	-0.511	CH2(2)	0.292
N	-0.310	C(O)	0.450
H	0.310	C(1)	0.208
O	-0.450	C(2)	-0.146
HC	0.146	C(3)	-0.200
CH2	0.000	C(4)	0.108

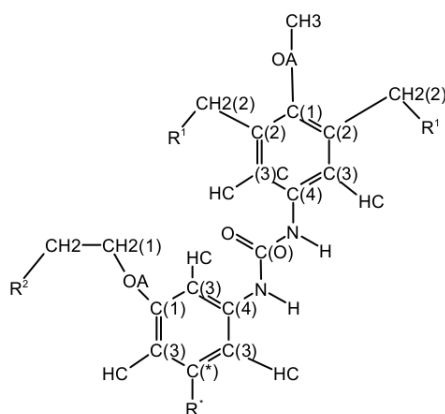


Abbildung C.1: Atomtypen des Calix[4]aren-Catenans für das GROMOS Kraftfeld.  $R^1$  entspricht C(2) der nächsten Viertel-Einheit des Moleküls. Die fehlenden Alkylgruppen der Alkylkette sind durch  $R^2$  repräsentiert und bestehen nur aus CH2 Atomtypen. Da sich die Parameter des Tetra- und des Bis-Loop Systems praktisch nicht unterscheiden sind beide Moleküle gemeinsam abgebildet. Der einzige Unterschied der sich zwischen beiden Systemen ergibt betrifft die Atomtypen C(\*) und R\*. Im Fall des Tetra-Loop Systems gilt C(\*)=C(2) und R\*=OA-... bzw. im Fall des Bis-Loop Systems C(\*)=C(3) und R\*=HC.

Mesitylen:

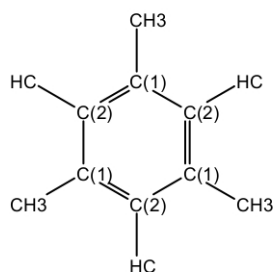


Abbildung C.2: Atomtypen des Mesitylens für das GROMOS G53a5 Kraftfeld.

Atomtyp	Ladung
CH3	0.292
C(1)	-0.292
HC	-0.146
C(2)	0.146

### OPLS-AA Kraftfeld

Im Gegensatz zum GROMOS und OPLS-UA Kraftfeld gibt es für das OPLS-AA Kraftfeld keine Referenz in der die Parameter mit einer klaren Nomenklatur aufgelistet sind. Das GROMACS Programmpaket erweiterte jedoch die Nomenklatur des OPLS-UA Kraftfeldes auf das OPLS-AA Kraftfeld, daher wird im folgenden diese Nomenklatur verwendet. Aus den Atomtypen, die

durchnummeriert sind, lassen sich die nichtbindenden Wechselwirkungsparameter (Partiellladungen und van der Waals Parameter) sowie die Bindungstypen bestimmen. Letztere werden dazu verwendet die bindenden Wechselwirkungsparameter abzuleiten.

Calix[4]aren-Catenan:

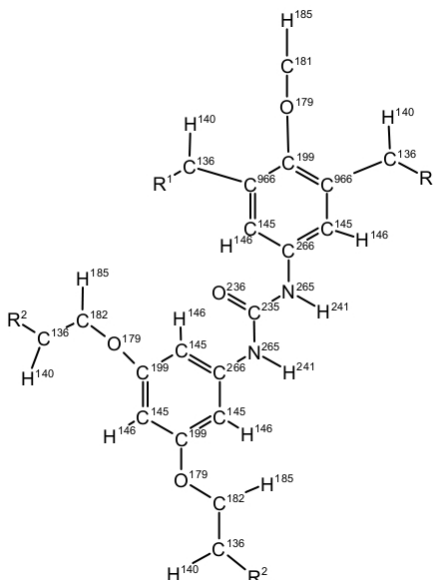


Abbildung C.3: Atomtypen des Calix[4]aren-Catenans für das OPLS-AA Kraftfeld.  $R^1$  entspricht dem Atomtyp  $C^{966}$  der nächsten Viertel-Einheit des Moleküls. Die fehlenden Alkylgruppen der Alkylketten sind durch  $R^2$  gegeben und bestehen aus den Atomtypen  $C^{136}$  und  $H^{140}$ .

Atomtyp	Bindungstyp	Ladung	Atomtyp	Bindungstyp	Ladung
136	CT	-0.120	199	CA	0.085
140	HC	0.060	235	C	0.500
145	CA	-0.115	236	O	-0.500
146	HA	0.115	265	N	-0.385
179	OS	-0.285	266	CA	0.085
181	CT	0.110	241	H	0.300
182	CT	0.140	966	CA	0.000
185	HC	0.030			

Der Atomtyp 966 ist eine neue Definition und ist aus den Atomtypen 141 (Alken:  $R_2-C=$ ) und 145 (C-Atom in Benzol) abgeleitet. Der neue Atomtyp verwendet die gleiche Ladung wie 141 aber die van der Waals und bindenden Parameter von 145. Da für Benzol die gleichen Ladungen verwendet werden wie für unsubstituierte Alkene (vergleiche die Atomtypen 142 / 145 (C-Atom) und 144 / 146 (H-Atom)) sollte dieser neue Atomtyp keine Fehler einführen.

Mesitylen:

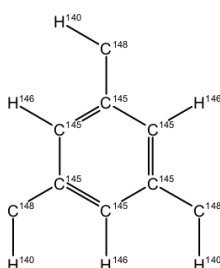


Abbildung C.4: Atomtypen des Mesitylens für das OPLS-AA Kraftfeld.

Atomtyp	Bindungstyp	Ladung
140	HC	0.060
145	CA	-0.115
146	HA	0.115
148	CT	-0.065

### GAFF Kraftfeld

Ähnlich wie das GROMOS G53a5 Kraftfeld verwendet das GAFF Kraftfeld Atomtypen zur Bestimmung der van der Waals und bindenden Wechselwirkungsparameter. Die Partiaalladungen werden jedoch durch ab-initio Rechnungen bestimmt.

Mesitylen:

Für das Mesitylen werden andere Atome verwendet, das heißt das Atom C<sup>1</sup> hier und oben sind nicht equivalent.

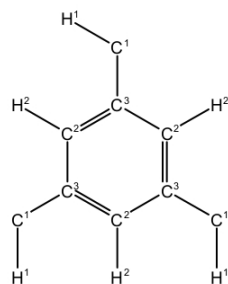


Abbildung C.5: Atomtypen des Mesitylens für das GAFF Kraftfeld.

Atom	Atomtyp	Ladung
C <sup>1</sup>	c3	-0.18655
H <sup>1</sup>	hc	0.06722
C <sup>2</sup>	ca	-0.17724
H <sup>2</sup>	ha	0.14035
C <sup>3</sup>	ca	0.02178

Calix[4]aren-Catenan:

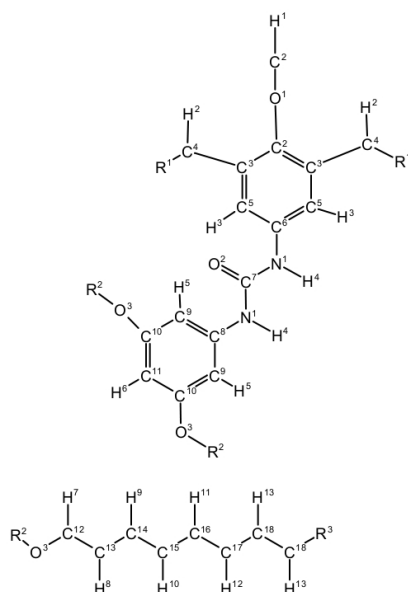


Abbildung C.6: Atomtypen des Calix[4]aren-Catenans für das GAFF Kraftfeld.  $R^1$  entspricht  $C^3$  der nächsten Viertel-Einheit des Moleküls.  $R^2$  repräsentiert die Verbindung der Alkylketten mit dem Calix[4]aren-Kelch, wobei in beiden Fällen das verbindende Sauerstoffatom  $O^3$  abgebildet ist. Die untere Abbildung zeigt die Hälfte eine Alkylkette, wobei die Spiegelachse sich zwischen den beiden  $C^{18}$  Atomen befinden und  $R^3$  wird als Abkürzung für die restlichen Alkylgruppen verwendet.

Atom	Atomtyp	Ladung	Atom	Atomtyp	Ladung
$C^1$	c3	-0.02670	$C^{11}$	ca	-0.09154
$H^1$	h1	0.07346	$H^6$	ha	0.09545
$O^1$	os	-0.30718	$O^3$	os	-0.31096
$C^2$	ca	0.09992	$C^{12}$	c3	0.17265
$C^3$	ca	0.00131	$H^7$	hc	0.02167
$C^4$	c3	-0.01971	$C^{13}$	c3	-0.00005
$H^2$	hc	0.04707	$H^8$	hc	0.01201
$C^5$	ca	-0.16081	$C^{14}$	c3	0.00776
$H^3$	ha	0.14466	$H^9$	hc	-0.00177
$C^6$	ca	0.08217	$C^{15}$	c3	0.17265
$N^1$	n	-0.58680	$H^{10}$	hc	-0.00397
$H^4$	hn	0.33013	$C^{16}$	c3	0.02076
$C^7$	c	0.86686	$H^{11}$	hc	-0.00730
$O^2$	o	-0.54641	$C^{17}$	c3	0.03189
$C^8$	ca	0.08750	$H^{12}$	hc	-0.01504
$C^9$	ca	-0.14198	$C^{18}$	c3	0.02853
$H^5$	ha	0.13511	$H^{13}$	hc	-0.01410
$C^{10}$	ca	0.06806			

### C.1.3 Simulationen der Carbohydrat-Kation-Carbohydrat Komplexe

Alle MD Simulationen wurden mit dem frei zugänglichen GROMACS Version 4.0.7 [60] Programmpaket durchgeführt. Die Wechselwirkungen zwischen den Atomen wurden mit dem OPLS-AA-SEI Kraftfeld [96][97][106] beschrieben und die Parameter für die deprotonierte Sulfatgruppe stammten aus Referenz [107]. Für die Beschreibung der Wassermoleküle wurde das Tip4p Wassermodell genutzt [134]. In den Simulationen mit dem modifizierten Wassermodell wurden die Ladungen der einzelnen Atome eines Wassermoleküls auf 83.654% ihres ursprünglichen Wertes reduziert.

Für alle Simulationen wurden periodische Randbedingungen verwendet. Bei der Berechnung der nichtbindenden Wechselwirkungen wurde ein Cut-off von 1.0 nm eingeführt. Um die daraus resultierenden Artefakte zu minimieren, wurde die Coulombwechselwirkungen für größere Teilchenabstände mit der PME Methode [52] berechnet und für die langreichweitigen van der Waals Wechselwirkungen wurde eine Dispersionskorrektur [50] eingesetzt. Die Nachbarschaftsliste wurde alle 5 Integrationsschritte (10 ps) aktualisiert. Mit Hilfe des LINCS Algorithmus [131] wurden alle Bindungslängen auf ihren Gleichgewichtswert gehalten, wodurch ein Zeitschritt von 2 fs ermöglicht wird.

In den eigentlichen MD Simulationen wurde das folgende Protokoll verwendet. Zunächst wurden die isolierten Strukturen einer Energieminimierung unterworfen. Anschließend wurde das System solvatisiert und zufällig Wassermoleküle durch die Ionen ausgetauscht. Anschließend wurde eine zweite Energieminimierung für das gesamte System durchgeführt. In der ersten Equilibrierungsphase wurde das System für 500 ps an ein 'velocity rescaling' Thermostat [57] mit der Temperatur 300 K und einer Zeitkonstanten von 0.1 ps gekoppelt. Die zweite Equilibrierungsphase dauerte 1 ns und es wurde zusätzlich ein Parrinello-Rahman-Barostat [132] mit dem Druck 1 bar und einer Zeitkonstanten von 1.0 ps an das System gekoppelt. Für die Kompressibilität des Wassers wurde der Wert  $4.5 \times 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$  [60] verwendet. In den anschließenden Simulationen wurden die gleichen Parameter für das Thermostat und Barostat verwendet.

In der Voruntersuchung wurde jeweils ein einzelnes solvatisiertes Disaccharidmolekül und 20 Kationen ( $\text{Ca}^{2+}$  bzw.  $\text{Mg}^{2+}$ ) in einer kubischen Simulationsbox mit der Kantenlänge 3.7 nm für 20 ns modelliert. Um das System zu neutralisieren, wurden zusätzlich 39 Chlorionen als Gegenionen hinzu gegeben.

In den Simulationen mit den vielen Saccharidmolekülen (Mono- bzw. Disaccharid), aus denen die radialen Verteilungsfunktionen bestimmt wurden, wurde eine kubische Simulationsbox mit der Kantenlänge 6.5 nm verwendet und das System wurde für 150 ns simuliert. Tabelle C.1 gibt die Anzahl der verwendeten Saccharidmoleküle, Kationen ( $\text{Ca}^{2+}$  bzw.  $\text{Mg}^{2+}$ ) und Gegenionen ( $\text{Cl}^-$ ) an, die in den einzelnen Simulationen verwendet wurden. Im Fall des Magnesiumsystems wurden die Simulationen mit dem modifizierten Wassermodell wiederholt.

Des Weiteren wurden für diese Simulationsbox drei weitere Simulationen durchgeführt, bei denen die negative Ladung der Disaccharide durch Natriumionen ausgeglichen wurde und sonst keine anderen Ionen hinzugefügt wurden. Diese Simulationen enthielten demnach 5, 10 und 15 Disaccharidmoleküle und eben so viele Natriumionen. Diese Systeme wurden ebenfalls für 150 ns simuliert. Für das Calciumsystem wurden drei weitere Simulationen mit einer größeren Simulationsbox (9 nm Kantenlänge) durchgeführt. Tabelle C.2 gibt Auskunft über die Zahl der Disaccharide, Kationen ( $\text{Ca}^{2+}$ ) und Gegenionen ( $\text{Cl}^-$ ), die in den Simulationen verwendet wurden. Sieht man von der unterschiedlichen Teilchenzahl und der größeren Simulationsbox ab, wurden die gleichen Parameter wie in den anderen Simulationen verwendet.

Saccharide	Kationen / Gegenionen
5	15 / 25
5	20 / 35
5	25 / 45
5	40 / 75
10	20 / 30
10	40 / 70
10	60 / 110
10	80 / 150
15	20 / 25
15	40 / 65
15	60 / 105
15	80 / 145

Tabelle C.1: Zahl der Saccharidmoleküle, Kationen ( $\text{Ca}^{2+}$  bzw.  $\text{Mg}^{2+}$ ) und Gegenionen ( $\text{Cl}^-$ ), die in den Simulationen verwendet wurden.

Saccharide	Kationen / Gegenionen
30	120 / 210
30	150 / 270
30	180 / 330

Tabelle C.2: Zahl der Disaccharidmoleküle, Kationen ( $\text{Ca}^{2+}$  bzw.  $\text{Mg}^{2+}$ ) und Gegenionen ( $\text{Cl}^-$ ), die in den Simulationen mit der größeren Simulationsbox verwendet wurden.

# Literaturverzeichnis

- [1] D. Frenkel, B. Smit; *Understanding Molecular Simulation* 2nd edition, Academic Press, **2002**
- [2] H. J. C. Berendsen; *Simulating the Physical World*, Cambridge University Press, **2007**
- [3] H.-J. Schneider; *Angew. Chem. Int. Ed.* 48: 3924-3977, **2009**
- [4] A. R. Fersht, L. Serrao; *Curr. Opin. Struct. Biol.* 3: 75-83, **1993**
- [5] P. E. Wright, H. J. Dyson; *J. Mol. Biol.* 293: 321-331, **1999**
- [6] C. A. Orengo, F. M. G. Pearl, J. E. Bray, A. E. Todd, A. C. Martin, L. Lo Conte, J. M. Thornton; *Nucl. Acids Res.* 27, 1: 275-279, **1999**
- [7] H. G. O. Becker, W. Berger, G. Domschke; *Organikum* 22te Auflage, Wiley-VCH, **2004**
- [8] A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. McCoy, J. T. Rademacher, T. E. Rice; *Chem. Rev.* 97: 1515-1566, **1997**
- [9] S.-Y. Sheu, D.-Y. Yang, H. L. Selzle, E. W. Schlag; *J. Phys. Chem. A* 112: 797-802, **2008**
- [10] D. E. Anderson, W. J. Becktel, F. W. Dahlquist; *Biochemistry* 29, 9: 2403-2408, **1990**
- [11] A. V. Glyakina, N. S. Bogatyreva, O. V. Galzitskaya; *PLoS ONE* 6, 12: e28464, **2011**
- [12] N. G. van Kampen; *Stochastic processes in physics and chemistry, North-Holland Personal Library*, **1983**
- [13] S. E. Jackson; *Fold. Des.* 3: R81-R91, **1998**
- [14] J. Kubelka, T. K. Chiu, D. R. Davies, W. A. Eaton, J. Hofrichter; *J. Mol. Biol.* 359: 546-553, **2006**
- [15] A. Laio, M. Parrinello; *PNAS* 99, 20: 12562-12566, **2002**
- [16] Y. Sugita, Y. Okamoto; *Chem. Phys. Lett.* 314: 141-151, **1999**
- [17] E.-L. Florin, V. T. Moy, H. E. Gaub; *Science* 264: 415-417, **1994**
- [18] M. Manosas, D. Collin, F. Riort; *Phys. Rev. Lett.* 96: 218301-218304, **2006**
- [19] F. Gräter, H. Grubmüller; *J. Struct. Biol.* 157: 557-569, **2007**
- [20] D. J. Brockwell, E. Paci, R. C. Zinober, G. S. Beddard, P. D. Olmsted, D. A. Smith, R. N. Perham, S. E. Radford; *Nature Struct. Biol.* 10: 731-737, **2003**
- [21] M. Carrion-Vazquez, H. Li, H. Lu, P. E. Marszalek, A. F. Oberhauser, J. M. Fernandez; *Nature Struct. Biol.* 10: 738-743, **2003**

- [22] G. I. Bell; *Science* 200: 618-627, **1978**
- [23] S. Izrailev, S. Stepaniants, M. Balsera, Y. Oono, K. Schulten; *Biophys. J.* 72: 1568-1581, **1997**
- [24] A. Vinchiker, G. Semenza; *FEBS Letters* 430: 12-16, **1998**
- [25] F. Oesterhelt, D. Oesterhelt, M. Pfeiffer, A. Engel, H. E. Gaub, D. J. Müller; *Science* 288: 143-146, **2000**
- [26] Q. Peng, H. Li; *PNAS* 105, 6: 1885-1890, **2008**
- [27] M. Janke, Y. Rudzevich, O. Molokanova, T. Metzroth, I. Mey, G. Diezemann, P. Marszalek, J. Gauss, V. Böhmer, A. Janshoff; *Nat. Nanotechnol.* 4: 225, **2009**
- [28] H. Grubmüller, B. Heymann, P. Tavan; *Science* 271: 997-999, **1996**
- [29] B. Isralewitz, S. Izrailev, K. Schulten; *Biophys. J.* 73: 2972-2979, **1997**
- [30] S. B. Fowler, R. B. Best, J. L. T. Herrera, T. J. Rutherford, A. Steward, E. Paci, M. Karplus, J. Clarke; *J. Mol. Biol.* 322, 4: 841-849, **2002**
- [31] G. Diezemann, A. Janshoff; *J. Chem. Phys.* 130: 041101, **2009**
- [32] F. Brown; *Acc. Chem. Res.* 39: 363, **2006**
- [33] D. T. Gillspie; *J. Comp. Phys.* 22: 403-434, **1976**
- [34] L. Wang, M. O. Vysotsky, A. Bogdan, M. Bolte, V. Böhmer; *Science* 304: 1312, **2004**
- [35] R. S. Paton, J. M. Goodman; *J. Chem. Inf. Model.* 49: 944-955, **2009**
- [36] P. L. Freddolino, S. Park, B. Roux, K. Schulten; *Biophys. J.* 96: 3772-3780, **2009**
- [37] P. L. Freddolino, C. B. Harrison, Y. Liu, K. Schulten; *Nature Physics* 6: 751-758, **2010**
- [38] T. Yoda, Y. Sugita, Y. Okamoto; *Chem. Phys. Lett.* 386: 460-467, **2004**
- [39] Y. Mu, D. S. Kosov, G. Stock; *J. Phys. Chem. B* 107: 5064-5073, **2003**
- [40] N.-J. Deng, P. Cieplak; *Biophys. J.* 98: 627-636, **2010**
- [41] C. G. Ricci, A. S. C. de Andrade, M. Mottin, P. A. Netz; *J. Phys. Chem. B* 114: 9882-9893, **2010**
- [42] X. Fernandez-Busquets, M. M. Burger; *Cell. Mol. Life Sci.* 60: 88-112, **2003**
- [43] D. Spillmann, J. E. Thomas-Oates, J. A. van Kuik, J. F. G. Vliegthart, G. Misevic, M. M. Burger, J. Finne; *J. Biol. Chem.* 270: 5089-5097, **1995**
- [44] A. Carvalhoo de Souza, D. N. Ganchev, M. M. E. Snel, J. P. J. M. van der Eerden, J. F. G. Vliegthart, J. P. Kamerling; *Glycoconj J* 26, 4: 457-465, **2009**
- [45] D. J. Rice, T. Humphreys; *J. Biol. Chem.* 258: 6394-6399, **1983**
- [46] M. Born, R. Oppenheimer; *Annalen der Physik* 389, 20: 457-484, **1927**
- [47] T. D. Kühne, M. Krack, M. Parrinello; *J. Chem. Theory Comput.* 5, 2: 235-241, **2009**

- [48] S. Patel, A. D. Mackerell Jr., C. L. Brooks III; *J. Comp. Chem.* 25, 12: 1504-1514, **2004**
- [49] P. Auffinger, D. L. Beveridge; *Chem. Phys. Lett.* 234: 413-415, **1995**
- [50] M. Allen, D. Tildesley; *Computer Simulations of Liquids*; Oxford Science Publications: Oxford, U.K., **1987**
- [51] P. P. Ewald; *Ann. Phys.* 64: 253-287, **1921**
- [52] T. A. Darden, D. York, L. Pedersen; *J. Chem. Phys.* 98: 10089-10092, **1993**
- [53] R. W. Hockney, J. W. Eastwood; *Computer Simulation Using Particles*, McGraw-Hill, **1981**
- [54] D. L. Ermak; *J. Chem. Phys.* 62: 4189, **1975**
- [55] A. C. Branka, D. M. Heyes; *Phys. Rev. E* 58, 2: 2611-2615, **1998**
- [56] H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola, J. R. Haak, *J. Chem. Phys.* 81: 3684, **1984**
- [57] G. Bussi, D. Donadio, M. Parrinello; *J. Chem. Phys.* 126, **2007**
- [58] S. Nosé; *Mol. Phys.* 52: 255-268, **1984**
- [59] w. G. Hoover; *Phys. Rev. A* 31: 1695-1697, **1985**
- [60] D. van der Spoel, E. Lindahl, B. Hess, A. R. van Buuren, E. Apol, P. J. Meulenhoff, D. P. Tieleman, A. L. T. M. Sijbers, K. A. Feenstra, R. van Drunen and H. J. C. Berendsen; *Gromacs User Manual version 4.0*, **2005**, [www.gromacs.org](http://www.gromacs.org)
- [61] J. P. Ryckaert, G. Ciccotti, H. J. C. Berendsen; *J. Comp. Phys.* 23: 327-341, **1977**
- [62] S. Miyamoto, P. A. Kollman; *J. Comput. Chem.* 13: 952-963, **1992**
- [63] W. Göpel, H.-D. Wiemhöfer; *Statistische Thermodynamik*, Spektrum Akademischer Verlag, **2000**
- [64] T. L. Hill; *Statistical mechanics*, McGraw-Hill, New York, **1956**
- [65] E. Paci, G. Ciccotti, M. Ferrario; *Chem. Phys. Letters* 176, 6: 581-587, **1991**
- [66] M. Rief, H. Grubmüller; *ChemPhysChem* 3: 255-261, **2002**
- [67] G. Hummer, A. Szabo; *Biophys. J.* 85(1): 5-15, **2003**
- [68] H. Lu, K. Schulten; *Chem. Phys.* 247: 141-153, **1999**
- [69] R. Norris; *Markov Chains*, Cambridge University Press, Cambridge, **1997**
- [70] W. Feller; *An Introduction to Probability Theory and its Applications* Vol. 1, Wiley, New York **1966**
- [71] R. Marcellin; *Ann. Physique* 3: 120, **1915**
- [72] B. Schuler, E. Lipman, W. Eaton; *Nature* 419: 743, **2002**
- [73] B. Schuler, W. A. Eaton; *Curr. Opin. Struct. Biol.* 18, 1: 16-26, **2008**

- [74] G. Diezemann, T. Schlesier, B. Geil, A. Janshoff; *Phys. Rev. E* 82: 051132, **2010**
- [75] S. Yang, J. Cao; *J. Phys. Chem. B* 105: 6536, **2001**
- [76] E. Barakai, Y. Jung, R. Silbey; *Annu. Rev. Phys. Chem.* 55: 457, **2007**
- [77] C. D. Gutsche; *Calixarenes*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, England, **1989**
- [78] V. Böhmer; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 34: 713-745, **1995**
- [79] J. Rebek; *Chem. Commun.*, 637, **2000**
- [80] W. Abraham; *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* 43: 159-174, **2002**
- [81] A. Ikeda, S. Shinkai; *Chem. Rev.* 97: 1713-1734, **1997**
- [82] G.-F. Zhang, J.-Y. Zhan, H.-B. Li; *Org. Lett.* 13, 13: 3392-3395, **2011**
- [83] J.-P. Sauvage, C. Dietrich-Buchecker; *Molecular Catenanes, Rotaxanes and Knots*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, **1999**
- [84] S. Piana, K. Lindorff-Larsen, D. E. Shaw; *Biophys. J.* 100: L47-L49, **2011**
- [85] L. D. Schuler, X. Daura, W. F. van Gunsteren; *J. Comput. Chem.* 22: 1205, **2001**
- [86] C. Oostenbrink, A. Villa, A. E. Mark, W. F. Van Gunsteren; *J. Comput. Chem.* 25: 1656-1676, **2004**
- [87] T. Erdmann, U. S. Schwarz; *Europhys. Lett.* 66 (4): 603-609, **2004**
- [88] G. Diezemann, A. Janshoff; *J. Chem. Phys.* 129: 084904, **2008**
- [89] J. Liphardt, B. Onoa, S. Smith, I. Tinoco, C. Bustamante; *Science* 292: 733, **2001**
- [90] E. Evans; *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 30: 105, **2001**
- [91] U. Seifert; *Europhys. Lett.* 58 (5): 792-798, **2002**
- [92] F. Li, D. Leckband; *J. Chem. Phys.* 125: 194702, **2006**
- [93] T. Bornschlögl, M. Rief; *Phys. Rev. Lett.* 96: 118102, **2006**
- [94] M. Li; *Biophys. J.* 93: 2644, **2007**
- [95] L. Dougan, G. Feng, H. Lu, J. Fernandez; *J. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105: 3185, **2008**
- [96] W. L. Jorgensen, D. S. Maxwell, J. Tirado-Rives; *J. Am. Chem. Soc.* 118: 11225, **1996**
- [97] W. L. Jorgensen, J. Tirado-Rives; *J. Am. Chem. Soc.* 110: 1657, **1988**
- [98] J. Wang, R. M. Wolf, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, D. A. Case; *J. Comput. Chem.* 25: 1157-1174, **2004**
- [99] W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, *J. Am. Chem. Soc.* 117: 5179, **1995**
- [100] D. Leckband, A. Parkasam; *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 8: 259-287, **2006**
- [101] M. Sotomayor, K. Schulten; *Biophys. J.* 94: 4621-4633, **2008**

- [102] L. S. Beese, T. A. Steitz; *EMBO J.* 10, 1: 25-33, **1991**
- [103] J. Jarchow, M. M. Burger; *Cell Adhes. Commun.* 6: 405-414, **1998**
- [104] T. Humphreys; *Dev. Biol.* 8: 27-47, **1963**
- [105] A. A. Moscona; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 49: 742-747, **1963**
- [106] D. Kony, W. Damm, S. Stoll, W. F. van Gunsteren; *J. Comp. Chem.* 23: 1416-1429, **2002**
- [107] J. N. C. Lopes, A. A. H. Padua, K. Shimizu; *J. Phys. Chem. B* 112: 5039-5046, **2008**
- [108] J. J. R. Fraústo da Silva, R. J. P. Williams; *The biological chemistry of the elements*, 2nd edition, Oxford University Press, **2001**
- [109] A. F. Holleman, E. Wieberg; *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 102te Auflage, de Gruyter, **1995**
- [110] G. Laurenczy, Y. Dcummon, A. E. Merbach; *Inorg. Chem.* 28: 3024, **1989**
- [111] E. J. Billo, K. K. Brito, R. G. Wilkins; *Bioinorg. Chem.* 8: 461, **1978**
- [112] W. R. Mason; *Inorg. Chem.* 21: 147, **1983**
- [113] M. Dheu-Andries, S. Perez; *Carbohydr. Res.* 124: 324-332, **1983**
- [114] A. Carvalhoo de Souza, K. M. Halkes, J. D. Meeldijk, A. J. Verkleij, J. F. G. Vliegthart, J. P. Kamerling; *ChemBioChem* 6: 828-831, **2005**
- [115] B. Lorenz, L. Álvarez de Cienfuegos, M. Oelkers, E. Kriemen, C. Brand, M. Stephan, E. Sunnick, D. Yüksel, V. Kalsani, K. Kumar, D. B. Werz, A. Janshoff; *J. Am. Chem. Soc.* 134: 3326-3329, **2012**
- [116] U. Seifert; *Phys. Rev. Lett.* 84, 12: 2750-2753, **2000**
- [117] T. A. Halgren; *J. Am. Chem. Soc.* 114: 7827, **1992**
- [118] E. Project, E. Nachliel, M. Gutman; *J. Comp. Chem.* 29, 7: 1163-1169, **2007**
- [119] B. M. Rode, C. F. Schwenk, T. S. Hofer, B. R. Randolph; *Coord. Chem. Rev.* 249: 2993-3006, **2005**
- [120] T. Erdmann; *Dissertation: Stochastische Dynamik von Adhäsionsclustern unter Kraft*, Potsdam, **2004**
- [121] F. Momany; *J. Phys. Chem.* 82: 592, **1978**
- [122] C. I. Bayly, P. Cieplak, W. D. Cornell, P. A. Kollman; *J. Phys. Chem.* 97: 10269-10280, **1993**
- [123] P. W. Ponder, D. A. Case; *Adv. Protein Chem.* 66: 27-85, **2003**
- [124] A. Einstein; *Ann. Phys.* 322, 8: 756-780
- [125] A. W. Schüttelkopf, D. M. F. van Aalten; *Acta Crystallogr.* D60: 1355, **2004**
- [126] E. Vanquelef, S. Simon, G. Marquant, E. Garcia, G. Klimerak, J. C. Delepine, P. Cieplak, F.-Y. Dupradeau; *Nucl. Acids Res.* 39: 511, **2011**

- [127] *Gaussian 09, Revision A.1*; Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, Jr., J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J.; *Gaussian, Inc., Wallingford CT 2009*
- [128] A. Szabo, N. S. Ostlund; *Modern quantum chemistry*; Dover, **1996**
- [129] P.C. Hariharan, J. A. Pople; *Theor. Chim. Acta* 28: 213 , **1973**
- [130] Case, D. A.; Darden, T. A.; Cheatham, III, T. E.; Simmerling, C. L.; Wang, J.; Duke, R. E.; Luo, R.; Walker, R. C.; Zhang, W.; Merz, K. M.; Roberts, B.; Wang, B.; Hayik, S.; Roitberg, A.; Seabra, G.; Kolossváry, I.; Wong, K. F.; Paesani, F.; Vanicek, J.; Wu, X.; Brozell, S. R.; Steinbrecher, T.; Gohlke, H.; Cai, Q.; Ye, X.; Wang, J.; Hsieh, M.-J.; Cui, G.; Roe, D. R.; Mathews, D. H.; Seetin, M. G.; Sagui, C.; Babin, V.; Luchko, T.; Gusarov, S.; Kovalenko, A.; Kollman, P. A.; *AMBER 11*, University of California, San Francisco, **2010**
- [131] B. Hess, H. Bekker, H. J. C. Berendsen; *J. Comp. Chem.* 18: 1463-1472, **1997**
- [132] M. Parrinello, A. Rahman; *J. Appl. Phys.* 52: 7182, **1981**
- [133] E. Aicart, E. Junquera; *J. Chem. Eng. Data* 40: 1225, **1995**
- [134] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, M. L. Klein; *J. Chem. Phys.* 79: 926-935, **1983**

# Veröffentlichte Publikationen

## **Statistics of reversible bond dynamics observed in force clamp spectroscopy**

G. Diezemann, T. Schlesier, B. Geil und A. Janshoff

*Phys. Rev. E* 82: 051132, **2010**

## **Tunable Reversibility in Hydrogen-Bond Network Dynamics:**

### **Molecular Dynamics Simulations of Calix[4]arene Catenanes**

T. Schlesier, T. Metzroth, A. Janshoff, J. Gauss und G. Diezemann

*J. Phys. Chem. B.* 115, 20: 6445-6454, **2011**

## **Performance of Different Force Fields in Force Probe Simulations**

T. Schlesier und G. Diezemann

*J. Phys. Chem. B.* 117, 6: 1862-1871, **2013**

# Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, sowie dem Arbeitskreis für Theoretische Chemie.

Schließlich möchte ich meinen Eltern danken, da diese mir das Chemiestudium und somit die Promotion ermöglichten. Abschließend danke ich allen meinen Freunden für die moralische Unterstützung während meines Studiums und der Promotion.

