

## 2.4 Berechnung von Freien Solvatationsenthalpien

Solvatationsenthalpien von Molekülen ließen sich theoretisch mit Hilfe von Moleküldynamik-Simulationen aus den mittleren Wechselwirkungsenergien zwischen Solvat und Solvens, verglichen mit den mittleren Wechselwirkungsenergien in reinem Wasser, bestimmen. Eine solche Analyse ist jedoch schwierig, weshalb man meist auf Kontinuumssolvensmodelle zurückgreift, in denen alle Wassermoleküle aus dem betrachteten System entfernt und durch ein vereinfachtes Solvatationsmodell ersetzt werden. Um die Freien Solvatationsenthalpieterme für MM-PBSA-Rechnungen (Kapitel 2.6) zu bestimmen, wird mit Hilfe der Poisson-Boltzmann-Gleichung das elektrostatische Potential  $\varphi(r)$  um das betrachtete System berechnet. Die Herleitung dieser Gleichung sowie die Vorgehensweise bei ihrer numerischen Lösung sind in den Kapiteln 2.4.1 und 2.4.2 beschrieben. Ist das elektrostatische Potential am Ort jedes Atoms und damit jeder Punktladung  $q_i$  bekannt, so lässt sich die elektrostatische Energie berechnen:

$$E_{\text{elektr.}} = \sum_i \varphi(r_i) q_i \quad 2.8$$

Die Freie Solvatationsenthalpie eines Systems besteht aus einem elektrostatischen und einem unpolaren Beitrag. Der elektrostatische Beitrag entspricht der Freien Enthalpie, die nötig ist, um die Ladungen des Systems aus dem Vakuum in ein Medium der Dielektrizitätskonstante von Wasser zu bringen. Dieser Beitrag kann aus der Differenz der elektrostatischen Energien des Systems in beiden Zuständen ( $\epsilon=80$  und  $\epsilon=1$ ) berechnet werden. Für den unpolaren Beitrag, der die Schaffung einer Kavität der Größe des Systems im Lösungsmittel symbolisiert und meist wesentlich kleiner ist als der elektrostatische Beitrag, wird eine einfache Abschätzung vorgenommen, die die Oberfläche  $A$  des betrachteten Systems mit empirischen Parametern berücksichtigt:

$$\Delta G_{Solv,elektr.}^0 = E_{elektr.,\epsilon=80} - E_{elektr.,\epsilon=1} \quad 2.9$$

$$\Delta G_{Solv,nonpolar}^0 = \alpha A_{System} + \beta \quad 2.10$$

$$\Delta G_{Solv}^0 = \Delta G_{Solv,elektr.}^0 + \Delta G_{Solv,nonpolar}^0 \quad 2.11$$

Als Parameter  $\alpha$  und  $\beta$  wurden für die Rechnungen in dieser Arbeit Werte aus anderen Arbeiten zu diesem Thema [Srinivasan et al. 1998] übernommen:

$$\alpha = 0,00542 \text{ kcal}/(\text{mol } \text{\AA}^2)$$

$$\beta = 0,92 \text{ kcal/mol}$$

Es ist korrekt, hier von *Freien* Solvatationsenthalpien zu sprechen, da Umordnungseffekte im Lösungsmittel, die die Poisson-Boltzmann-Gleichung berücksichtigt, sowohl energetische als auch entropische Effekte beinhalten.

#### 2.4.1 Die Poisson-Boltzmann-Gleichung

In der klassischen Elektrostatik wird der Zusammenhang zwischen dem elektrostatischen Potential  $\varphi(r)$  in einem homogenen Medium der Dielektrizitätskonstante  $\epsilon$  und der Ladungsdichte  $\rho(r)$  durch die Poissongleichung hergestellt<sup>53</sup>:

$$-\nabla^2 \varphi(r) = \frac{\rho(r)}{\epsilon \epsilon_0} \quad 2.12$$

Berücksichtigt man, dass sich die Dielektrizitätskonstante des Mediums ändern kann, wie zum Beispiel an der Grenze zwischen einem

---

<sup>53</sup> Die folgenden Erläuterungen stützen sich zum Teil auf die Darstellung in: Wedler G., *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*, Wiley-VCH Weinheim, 1997.

Proteininnenraum niedriger und einem wässrigen Medium hoher Polarisierbarkeit, so erhält man mit einer ortsabhängigen Dielektrizitätskonstante  $\epsilon(r)$ :

$$-\epsilon_0 \nabla (\epsilon(r) \nabla \varphi(r)) = \rho(r) \quad 2.13$$

Ersetzt man den allgemeinen Ausdruck für die Ladungsdichte  $\rho(r)$  durch eine Summe von durch Punktladungen  $q_i$  hervorgerufenen Ladungsdichten  $\rho_i$  und berücksichtigt noch den Einfluss von solvatisierten Ionen, die sich um ein geladenes Molekül in Lösung anordnen können, dann erhält man die linearisierte Poisson- Boltzmann- Gleichung<sup>54</sup>:

$$-\epsilon_0 \nabla (\epsilon(r) \nabla \varphi(r)) = \sum_i \rho_i - \frac{2I}{kT} \varphi(r) \quad 2.14$$

Diese inhomogene Differentialgleichung zweiter Ordnung ist schwierig zu lösen, insbesondere da über die unstetigen Potentiale, die von Punktladungen hervorgerufen werden, nicht trivial integriert werden kann. Daher löst man die Poisson- Boltzmann- Gleichung näherungsweise durch iterative Computerverfahren.

#### 2.4.2 Iteratives Lösen der Poisson- Boltzmann- Gleichung

Eine Möglichkeit zur iterativen Lösung der Poisson- Boltzmann- Gleichung stellt die Methode der finiten Differenzen dar. Deren Implementation in den Programmen Delphi IV [Rochia et al. 2001, Nichols et al. 1991] und pbsa wurde in den MM-PBSA-Rechnungen in dieser Arbeit benutzt.

---

<sup>54</sup> Dies stellt bereits eine vereinfachte Berücksichtigung von Ionen dar, die für verdünnte Lösungen monovalenter Ionen gut zulässig ist.

Bei dieser Lösungsmethode wird eine diskretisierte Näherung des elektrostatischen Potentials berechnet. Dazu wird der Raum um das System zunächst mit einem kubischen Punktgitter der Gitterkonstante  $h$  überzogen (Abbildung 23). Die Partiaalladungen des Systems werden so auf die einzelnen Gitterpunkte verteilt, dass der Ladungsschwerpunkt jeder einzelnen Gitterzelle erhalten bleibt. Das Potential  $\varphi_i$  jedes einzelnen Gitterpunktes wird dann aus den Potentialen der sechs benachbarten Gitterpunkte berechnet:

$$\varphi_i = \frac{\sum_{j=1}^6 \left( \epsilon_0 \epsilon_j \varphi_j + \frac{q_i}{h} \right)}{\sum_{j=1}^6 \left( \epsilon_0 \epsilon_j + \frac{2I_j}{kT} h^2 \right)} \quad 2.15$$

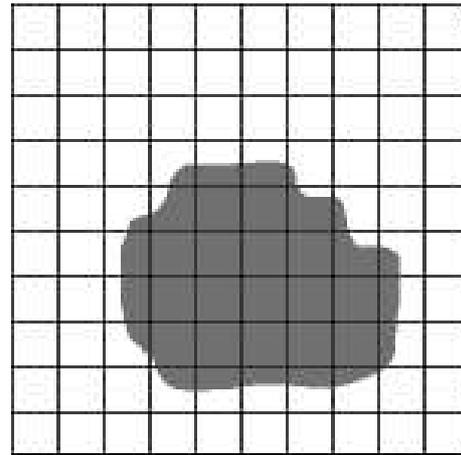


Abbildung 23 Das verwendete Raumgitter zur iterativen Lösung der Poisson-Boltzmann-Gleichung. Die Gitterlinien haben den Abstand  $h$  voneinander, der grau gezeigte Systeminnenraum hat die Dielektrizitätskonstante  $\epsilon_{\text{innen}}$ , das weiß gezeigte äußere Medium  $\epsilon_{\text{außen}}$ .

Die räumlich variable Dielektrizitätskonstante  $\epsilon_j$  wird nicht auf den Gitterpunkten selbst berechnet, sondern in der Mitte der die Gitterpunkte verbindenden Linien. Dabei wird meist nur zwischen zwei möglichen Dielektrizitätskonstanten unterschieden,  $\epsilon_{\text{innen}}$  und  $\epsilon_{\text{außen}}$ , die für den Innenraum des betrachteten Systems bzw. für das umgebende Medium gelten. Bei Proteinen wird für  $\epsilon_{\text{innen}}$  meist ein Wert von 1-4 gewählt,  $\epsilon_{\text{außen}}$  wird gleich 1 bzw. 80 gesetzt, je nachdem ob das System im Vakuum oder in Wasser betrachtet werden soll. Die Ionenstärke wird im Inneren des Systems gleich Null gesetzt, für das äußere Medium kann ein beliebiger Wert angegeben werden. Ein Gitterpunkt wird als innerhalb des Systems liegend betrachtet, wenn an seiner Position keine Kugel mit Radius des Solvens (für

Wasser meist 1.4 Å) platziert werden kann, ohne sich mit Atomen des Systems zu überschneiden.

Da in der obigen Gleichung die elektrostatischen Potentiale der benachbarten Punkte bekannt sein müssen, um das Potential eines Gitterpunktes zu berechnen, bietet sich ein iteratives Verfahren an. Dazu muss jedem Gitterpunkt ein Anfangspotential zugeordnet werden. Ausgehend von diesen Startpotentialen kann dann ein neues Potential für alle Gitterpunkte berechnet werden. Eine weitere Rechnung mit diesen neuen Potentialen ergibt einen weiteren Satz neuer Potentiale, usw. Die Rechnung wird solange fortgesetzt, bis der Unterschied zwischen dem i-ten und (i-1)-ten Satz von Potentialen einen bestimmten Grenzwert unterschritten hat (Selbstkonsistenzmethode). Problematisch ist diese Vorgehensweise nur an den Rändern des gewählten Gitters, da hier weniger benachbarte Gitterpunkte zur Potentialberechnung vorliegen. Diesen Gitterpunkten werden zu Beginn der Rechnung feste Potentiale zugewiesen, je nach Art der gewählten Randbedingungen. In dieser Arbeit wurden sogenannte Coulombsche Randbedingungen verwendet, in denen das Potential eines Gitterpunktes am Rand aus dem Debye-Hückel Potential aller Ladungen des Systems  $q_i$  berechnet wird:

$$\varphi_{Rand} = \sum_i q_i \frac{e^{-\frac{r_i}{\lambda_D}}}{\epsilon_{ausser} r_i} \quad 2.16$$

Dabei ist  $r_i$  der Abstand zwischen Ladung und Gitterpunkt und  $\lambda_D$  die Debye-Länge<sup>55</sup> des umgebenden Mediums.

Wichtige Parameter für das iterative Lösen der Poisson-Boltzmann-Gleichung sind neben den Randbedingungen und Dielektrizitätskonstanten  $\epsilon_{innen}$  und  $\epsilon_{außen}$  die Abmessungen des kubischen Gitters. In dieser Arbeit wurden die Standardeinstellungen einer Gitterkonstante  $h$  von 0.5 Å und

---

<sup>55</sup> Die Debye-Länge ist die Distanz, in der das von einer Ladung erzeugte Potential durch Abschirmungseffekte der umgebenden Lösung auf 1/e abgefallen ist.

eines Füllgrades des Gitters von 80% verwendet. Der Füllgrad-Parameter gibt an, welcher Anteil des Gittervolumens durch das zu untersuchende Molekül besetzt sein soll, dieser Wert sollte groß genug gewählt werden, um eine ausreichende Auflösung des Moleküls zu erreichen, und klein genug, um die Ränder des Moleküls nicht zu nahe an die Gitterränder zu bewegen.

Um die Poisson-Boltzmann-Gleichung nach der Methode der finiten Differenzen zu lösen, sind für jedes Atom des betrachteten Systems seine Koordinaten, Partialladung und Radius nötig. Die ersten beiden Informationen wurden aus den Parameter- und Koordinatendateien der Moleküldynamik-Simulationen entnommen, für die Atomradien wurde der PARSE-Radiensatz [Sitkoff et al. 1994] verwendet<sup>56</sup>.

---

<sup>56</sup> Ein eigener Radienparametersatz ist notwendig, da das *amber*-Kraftfeld keine vergleichbaren Atomradien enthält, sondern nur den van der Waals Koeffizienten  $r_0$ , der meist zu groß ist.