Quantenchemische Untersuchungen zu der enzymatischen Wirkungsweise der Isopenicillin-N-Synthase bei der Isopenicillin-N-Synthese und zu cyclischen Stannylsilanen

genehmigte

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

des Fachbereichs Chemie

der Universität Dortmund

eingereicht von

Tobias Brüggemann

aus Herdecke/Ruhr

Dortmund, Oktober 2004

Diese Arbeit ist im Zeitraum April 2000 bis April 2004 an der Universität Dortmund im Fachbereich Chemie unter der Betreuung von Prof. Dr. Paul Bleckmann entstanden.

1. Berichterstatter: Prof. Dr. P. Bleckmann

2. Berichterstatter: Prof. Dr. A. Geiger

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. P. Bleckmann dafür, daß er mir ermöglicht hat, diese Arbeit in seinem Arbeitskreis durchzuführen. Desweiteren danke ich Prof. Dr. A. Geiger für die Übernahme des Korefferates.

Weiterhin danke ich dem Arbeitskreis Bleckmann für gemeinsame Administration des Rechnerclusters, die vielen anregenden Diskussionen und das angenehme Arbeitsklima.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

Kapitel 1

Einleitung

Proteine sind biologisch aktive Makromoleküle, die für zahlreiche Abläufe in den Zellen aller uns bekannten Pflanzen und Lebewesen verantwortlich sind[3]. Daher besteht großes Interesse an der Aufklärung ihres Aufbaus und ihrer Funktionsweise. Eine wichtige Klasse von Proteinen sind die Enzyme, welche alle lebenswichtigen Funktionen wie Stoffwechsel, Replikation und Lebensdauer einer Zelle steuern[4, 5]. Das Verständnis dieser katalytischen Aktivität ist zur Aufklärung biochemischer Prozesse unerläßlich. In der Chemie sind katalytische Funktionen ebenfalls von großer Bedeutung für Forschung und industrielle Anwendung, da die Synthese vieler Produkte oft nicht spontan abläuft. Die Untersuchung und Aufklärung von Katalysemechanismen ist daher ein wichtiges Gebiet in der Chemie. Die katalytische Wirkung vieler Enzyme übertrifft die Effizienz klassischer chemischer Katalysatoren bei weitem.

Da Proteine in der Regel große und sehr komplexe Moleküle sind, ist eine vollständige Aufklärung ihrer Wirkungsweisen sehr schwierig. Insbesondere ist eine direkte experimentelle Betrachtung wichtiger Übergangszustände am aktiven Zentrum der Enzyme kaum möglich. Andererseits trägt die Kenntnis der Struktureigenschaften von Übergangszuständen sehr zum Verständnis der enzymatischen Wirkung bei.

In letzter Zeit ist es gelungen, mittels Inhibitoren die Reaktion in ihrem Ablauf „anzuhalten" und somit Zwischenschritte spektroskopisch zu ermitteln[2, 6]. Diese Untersuchungen liefern wichtige Hinweise auf den Reaktionsmechanismus bis hin zum Zeitpunkt des Eingriffs der inhibitorischen Funktion. Im Rahmen des hier dargestellten Projektes sollen theoretische quantenmechanische Verfahren eingesetzt werden, um den Ablauf für eine solche enzymatischen Reaktion zu rekonstruieren. Die vorliegenden experimentellen Ergebnisse liefern dabei die entscheidenden Informationen zum Aufbau der quantenchemischen Simulation.

Hier wird deshalb an einer konkreten Reaktion versucht, mit Hilfe theoretischer Methoden eine solche Reaktion nachzuvollziehen. Als Beispiel wurde die Synthese der Isopenicillin-N (IPN) ausgewählt, die enzymatisch mittels der Isopenicillin-N-Synthase (IPNS) synthetisiert wird. Für diese Reaktion liegen Röntgenstrukturen des Produktes, des Eduktes sowie eines Inhibitors vor [2].

Aufgrund der Größe des Enzyms ist eine vollständige $ab\ initio$-Rechnung mit den gegenwärtig zur Verfügung stehenden Ressourcen nicht möglich. Aus diesem Grund sollen zur Durchführung des Projekts kombinierte MM/MO-Methoden (Molecular Mechanics/ Molecular Orbital) eingesetzt werden. Bei diesen Verfahren werden die Teile des Moleküls, die nicht direkt an der Reaktion beteiligt sind, in einer klassischen (MM) Näherung behandelt. Hier ist dies die Hauptkette des Proteins sowie alle Seitengruppen, die sich nicht in unmittelbarer Nähe des Substrats befinden. MM- Methoden sind zu Berechnungen von Proteinstrukturen, Eigenschaften und Faltungsprozessen etabliert[7, 8, 9, 10] Der molekularmechanische Ansatz erlaubt es jedoch nicht, kovalente Bindungen zu brechen oder neu zu bilden. Aus diesem Grund muß die Behandlung des Reaktionszentrums zwingend mit quantenmechanischen Verfahren durchgeführt werden. Diese werden hier durch Dichtefunktionalmethoden representiert, die in den letzten Jahren immer größere Bedeutung zur Beschreibung auch organometallischer Reaktionsmechanismen erlangt haben, zur Geometrieoptimierung zum Einsatz kommen. Mit diesen beiden Verfahrensgruppen kommen sowohl im MM- wie auch im MO- Teil der Rechnung etablierte Methoden zum Einsatz.

In Rahmen einer Zusammenarbeit mit Dr. F. Uhlig [11, 12] sollten Bildungsenthalpien von Zinn/Silicium-Verbindungen berechnet werden, um daraus Reaktionsenthalpien zu ermitteln. Damit sollte geklärt werden, ob energetische Gründe für experimentell beobachtete Reaktionsverläufe vorliegen.

Die Chemie der höheren Elemente der 14. Gruppe, insbesondere die des Siliziums und des Zinns, gehört zu den industriell am meisten genutzten Zweigen der Organoelementchemie. Aufgrund ihrer vielfältigen Anwendungen und interessanten Eigenschaften wurden diese Zinn- und Siliciumverbindungen schon sehr früh umfassend untersucht. Erste Organosiliciumverbindungen wurden bereits 1863 von FRIEDEL und CRAFTS[13] hergestellt. Seit den 70er Jahren dieses Jahrhunderts gewinnen Siliciumverbindungen durch ihre Anwendbarkeit in der Halbleitertechnik und der Siliconchemie zunehmend an Bedeutung. Eine andere Anwendung ist die Herstellung von Siliciumcarbid-Keramiken[14]. Siliciumcarbide finden aufgrund ihrer hohen Härte und ihrer elektrischen Eigenschaften auch als Schleifmittel oder als Bestandteil elektronischer Bauteile Anwendung. Sauerstoffderivate der Organosiliciumverbindungen werden als Silicone in Dichtmassen und Isolierstoffen verwendet. Siliconkautschuke dienen zur Herstellung von Implantaten in der plastischen Chirurgie[11]. In der organischen Chemie werden Siliciumorganyle als Alkylierungsmittel verwendet und können darüber hinaus zur Einführung von Schutzgruppen benutzt werden[15]. Neuere Entwicklungen zeigen außerdem eine enorme Nachfrage auf dem Gebiet der siliciumbasierten Polymere[16]. Die Geschichte der Zinnorganyle reicht noch einige Jahre weiter zurück. Der erste Vertreter dieser Verbindungsklasse wurde 1859 von FRANKLAND dargestellt[13]. VAN DER KERK entdeckte 1959 die biozide Wirkung dieser Verbindungen[17], die in der Folgezeit breite Anwendung in Holz- und Pflanzenschutzmitteln und als Algenschutzanstrich bei Wasserfahrzeugen fanden. Diese Anwendungen sind jedoch aufgrund der ökologischen Problematik von Organozinnverbindungen rückläufig. In der Kunststoffindustrie werden Zinnorganyle als Katalysatoren (z. B. bei der Polyurethansynthese und Stabilisatoren (PVC-Herstellung) eingesetzt. Andere industrielle Anwendungen beinhalten die Hydrophobierung von Textilien und die Beschichtung von Gläsern [18]. Auch in der organischen Chemie finden Organostannane Anwendung, beispielsweise in Reaktionen wie der Stille-Kupplung.

Die erste Verbindung mit einer Silicium-Zinn-Bindung, die KRAUS 1933 herstellte , verband diese beiden Gebiete der Organometallchemie. Allerdings beschränkte sich das Wissen über derartige Verbindungen bis in die jüngste Zeit weitestgehend auf monomere

Stannylsilane. Cyclische Stannasilane wurden erstmals von HENGGE und Mitarbeitern synthetisiert .

Bei den Reaktionen der Zinn-Silizium-organischen Verbindungen, die von Uhlig et. al [11] synthetisiert wurden, bilden sich in Abhängigkeit der Substituenten unterschiedliche Ringgrößen aus. Zur Lösung dieses Problems existieren einige theoretische Verfahrten, die in Abhängigkeit der Größe des Moleküls sehr rechenintensiv und somit zeitaufwendig sind. Insbesondere die Berechnung der notwendigen Nullpunktsschwingungsenergie, die aus einer Frequenzanalyse erhältlich ist, kann mehrere Monate in Anspruch nehmen. Da die dafür notwendige Zeit nicht vorhanden war, wurde auf die Methode der Wibergfragmente zurückgegriffen, welche für die Klasse der hier zu untersuchenden Verbindungen bereits erfolgreich eingesetzt wurde[19, 20]. Der Vorteil dieser Methode ist, daß eine einfache Hartree-Fock-Berechnung, die in Verbindung mit experimentellen Ergebnissen gebracht werden, ausreicht.

Zu dieser Anwendbarkeit der Wibergfragmentmethode ist Voraussetzung, daß experimentelle Bildungsenthalpien strukturell verwandter Verbindungen vorliegen[21, 22, 23, 24, 25, 26]. Da dies für die hier zu untersuchenden Vierringe nicht der Fall ist, wird in dieser Arbeit ein Modell zur Anwendbarkeit der Wibergfragmente für diese Substanzklasse entwickelt.

Kapitel 2

Theoretischer Teil

In dieser Arbeit werden Geometrien und Energien von Molekülen berechnet. Das Programmpaket GAUSSIAN [27] beinhaltet sämtliche zu dieser Arbeit notwendigen Verfahren.

2.1 Hartree-Fock - Verfahren

Die Hartree-Fock (HF) - Verfahren basieren auf der Lösung der zeitunabhängigen Schrödingergleichung:

$$E\Psi = \hat{\mathbf{H}}\Psi \tag{2.1}$$

Der Hamiltonoperator $\hat{\mathbf{H}}$ ist ein Energieeigenwertoperator, der angewandt auf eine Wellenfunktion Ψ die Energie E eines quantenmechanischen Systems multipliziert mit der Wellenfunktion liefert. Er teilt sich auf in einen Anteil der kinetischen Energie $\hat{\mathbf{T}}$ und einen Anteil der potentiellen Energie, der klassischen Coulombenergie V.

$$\hat{\mathbf{H}} = \hat{\mathbf{T}} + \mathrm{V} \tag{2.2}$$

Die kinetische Energie $\hat{\mathbf{T}}$ eines Teilchens der Masse m_i ergibt sich aus der Quantenmechanik [28].

$$\hat{\mathbf{T}} = \frac{\hat{\mathbf{p}}^2}{2m_i} \tag{2.3}$$

Unter Berücksichtigung des Impulsoperators $\hat{\mathbf{p}} = \quad i\hbar \quad$ mit $\hbar = \frac{h}{2\pi}$ und dem Plancksche Wirkungsquantum h folgt daraus für den Operator der kinetischen Energie eines Teilchens der Masse m_i:

$$\hat{\mathbf{T}} = \quad \frac{\hbar^2}{2m_i}\Delta_i \tag{2.4}$$

Unter Einführung der Elementarladung e, Berücksichtigung aller K Kerne der Masse M_a und N Elektronen der Masse m_e folgt für den Hamiltonoperator:

$$\hat{\mathbf{H}} = \underbrace{\sum_{a=1}^{K}\frac{\hbar^2}{2M_a}\Delta_a}_{\hat{\mathbf{T}}_{Kern}} \quad \underbrace{\sum_{i=1}^{N}\frac{\hbar^2}{2m_e}\Delta_i}_{\hat{\mathbf{T}}_{Elektron}} + \underbrace{\sum_{a=1}^{K}\sum_{\substack{b=1\\ b>a}}^{K}\frac{q_a q_b}{R_{ab}}}_{V_{Kern-Kern}} \quad \underbrace{\sum_{a=1}^{K}\sum_{i=1}^{N}\frac{q_a e}{r_{ai}}}_{V_{Kern-Elektron}} + \underbrace{\sum_{i=1}^{N}\sum_{\substack{j=1\\ j>i}}^{N}\frac{e^2}{r_{ij}}}_{V_{Elektron-Elektron}} \tag{2.5}$$

mit R_{ab}: Kern-Kern-Abstände; r_{ai}: Kern-Elektron-Abstände; r_{ij}: Elektron-Elektron-Abstände.

Die Gleichung 2.5 stellt sämtliche die in einem Molekül auftretenden potentiellen und kinetischen Energien dar [29]. Sie ist analytisch nur für ein Zweiteilchenproblem (z.B. Wasserstoffatom) lösbar. Für ein Mehrteilchenproblem (H_2^+, He) ist eine exakte analytische Lösung nicht mehr erreichbar. Zur Lösung der Schrödingergleichung für Mehrteilchenprobleme wird deshalb auf geeignete Approximationsverfahren zurückgegriffen.

2.2 Näherungsverfahren

Eine zentrale quantenmechanische Näherung ist die Born-Oppenheimer Näherung. Sie beruht auf dem großen Masseunterschied von Atomkernen zu Elektronen in der Größenordnung von $10^4 \quad 10^5$ [29, 30]. Da sich somit die Elektronen sehr viel schneller als die Atomkerne bewegen, werden die Elektronen augenblicklich auf Kernbewegungen reagieren. Somit kann eine Separation der Kern- und Elektronenbewegungen $\hat{\mathbf{H}} = \hat{\mathbf{H}}_K + \hat{\mathbf{H}}_e$ stattfinden, wobei $\hat{\mathbf{H}}_K = \hat{\mathbf{T}}_K + V_{KK}$ nur reine Kernanteile berücksichtigt, während $\hat{\mathbf{H}}_e = \hat{\mathbf{H}}_e + V_{ee} + V_{eK}$ neben den reinen Elektronenanteilen auch die Elektron-Kern-Wechselwirkung V_{eK} enthält. Für die Quantenchemie ist diese Separation eine zentrale

Näherung, da es für die meisten Probleme völlig ausreicht, die elektronische Schrödingergleichung zu berechnen. Folglich werden weitere Betrachtungen auf die Lösung der elektronischen Schrödingergleichung beschränkt.

Das Verfahren nach Rayleigh - Ritz macht es möglich, Grundzustandsenergien von Mehrelektronensystemen zu berechnen [31]. Als Qualitätsmerkmal für die Güte einer Berechnung dient das Variationsprinzip. Es sagt aus, daß der berechnete Erwartungswert der Energie H aus einer beliebigen Reihe von Testfunktionen ϕ mindestens so groß wie die tatsächliche Energie E des Systems sein muß.

$$H = \frac{\phi \, \hat{\mathbf{H}} \, \phi}{\phi \, \phi} \quad E \tag{2.6}$$

Somit läßt sich für Verfahren, die dem Variationsprinzip gehorchen, die Güte einer Berechnung abschätzen. Der Ansatz für das Rayleigh - Ritz Verfahren ist die Bildung einer Testwellenfunktion $\phi = \sum_i c_i \phi_i$ bei festgelegten ϕ_i und den freien Parametern c_i. Für den Erwartungswert der Energie folgt somit:

$$H = \frac{\phi \, \hat{\mathbf{H}} \, \phi}{\phi \, \phi} = \frac{\sum_i \sum_j c_i c_j \;\; \phi_i \, \hat{\mathbf{H}} \, \phi_j}{\sum_i \sum_j c_i c_j \;\; \phi_i \, \phi_j} \tag{2.7}$$

Zur Minimierung der Energie wird die Ableitung des Erwartungswertes nach den Parametern gleich Null gesetzt: $\frac{\partial \langle H \rangle}{\partial c_i} = 0$. Daraus ergibt sich ein lineares Gleichungssystem

(Gleichung 2.8), welches durch Gleichsetzen der Sekulardeterminante mit Null lösbar wird (Gleichung 2.9).

$$\sum_k c_i \Big(\; \phi_i \, \hat{\mathbf{H}} \, \phi_k \qquad H \quad \phi_i \; \phi_k \Big) = 0 \tag{2.8}$$

$$det \Big| \; \phi_i \, \hat{\mathbf{H}} \, \phi_k \qquad H \quad \phi_i \; \phi_k \; \Big| = 0 \tag{2.9}$$

Aus der Gleichung 2.9 erhält man auf diese Weise einen Satz von Parametern c_i und damit auch eine Wellenfunktion, die für ein betrachtetes System optimiert ist.

Das HF - Verfahren ist ein auf Hartree und Fock zurückgehendes weit verbreitetes Näherungsverfahren der Quantenchemie und der theoretischen Physik, das zur Bestimmung von Wellenfunktionen und Energieniveaus von Systemen mit mehreren Elektronen, z.B. Atomen, Molekülen oder Festkörpern, verwendet wird. Die Grundidee dieser Näherung ist, daß das Mehrelektronenproblem zu einem Einelektronenproblem vereinfacht wird. Der Elektronenanteil des Hamiltonoperators wird durch einen Ansatz der Form

$$\hat{\mathbf{H}} = \sum_{i=1}^{N} \frac{\hbar^2}{2m_e} \Delta_i \quad \sum_{i=1}^{N} \frac{q_a e^2}{r_{ai}} + \sum_{i=1}^{N} V_i^{\text{eff}}(\vec{r_i}) = \sum_{i=1}^{N} \hat{\mathbf{h}}_i^{\text{eff}}(\vec{r_i}) \tag{2.10}$$

von einem Mehrelektronenoperator in die Summe von Einelektronenoperatoren $\hat{\mathbf{h}}_i^{\text{eff}}(\vec{r_i})$ überführt [29]. Physikalisch bedeutet dies, daß ein Elektron i nicht mehr mit allen Elektronen $j(i \; = j)$ in dynamischer Wechselwirkung steht, sondern sich in einem gemittelten Feld aller übrigen Elektronen bewegt. Auf jedes einzelne Elektron wirkt also das Coulombpotential der Kerne und ein effektives Potential $V_i^{\mathrm{eff}}(\vec{r_i})$, das jeweils von den anderen Elektronen verursacht wird[32].

Die Zustandsfunktion im HF-Verfahren wird entwickelt aus einer Zustandsfunktion unabhängiger Elektronen, welche durch das Produkt $\prod_{i=1}^{N} \Psi_i(i)$ gegben ist, wobei die $\Psi_i(i)$ die Ortskoordinaten und die Spinorbitale des i-ten Elektrons erfassen. Die Spinorbitale $\Psi_i(i)$ lassen sich als Produkt einer Ortsfunktion ϕ_i mit einer Spinfunktion η_i auffassen, die angibt, ob sich das Elektron im Spin α oder β befindet:

$$\Psi_i(i) = \phi_i(i)\eta_i(i) = \phi_i(i) \begin{cases} \alpha_i(i) \\ \beta_i(i) \end{cases} \tag{2.11}$$

Die Gleichung 2.11 implementiert, daß die Elektronen unterscheidbare Teilchen sind. Tatsächlich sind Elektronen aber ununterscheidbare Teilchen, was zur Folge hat, daß ein Elektron i sich in einem Spinorbital i $= j$ befinden kann. Folglich müssen alle $N!$ möglichen Vertauschungen berücksichtigt werden.

Zu diesem Zweck wird eine Determinante der Form

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \psi_1(1)\psi_1(2)...\psi_1(N) \\ \psi_2(1)\psi_2(2)...\psi_2(N) \\ \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \\ \psi_N(1)\psi_N(2)...\psi_N(N) \end{vmatrix} \tag{2.12}$$

eingeführt. Sie wird als Slater-Determinante bezeichnet.

Molekulare Systeme mit mehr als einem Teilchen führen zu effektiven Potentialen, die von allen Kernkoordinaten abhängen. Damit liegt kein Zentralfeld vor, was zur Folge hat, daß sich kein Winkelanteil separieren läßt. Die molekularen Einelektronenzustände lassen sich nicht mehr als s, p, d usw. klassifizieren. Folglich müssen bei der analytischen Gestalt der Einelektronenfunktionen gewisse Näherungen erfolgen. Als erfolgreichste Näherung hat sich dabei der LCAO-MO-Ansatz (Linear Combination of Atomic Orbitals-Molecule O rbitals) erwiesen. Hier werden die Linearkombinationskoeffizienten bestimmt. Dies führt zu einem Säkularproblem. Für ein System mit abgeschlossenen Schalen (RHF) gilt der Ansatz:

$$\phi_n(i) = \sum_{\mu=1}^{M} c_{\mu\nu}\chi_\mu(i) \tag{2.13}$$

Hier wird jedes molekulare Orbital ϕ_n aus M atomaren Ortsorbitalen χ_μ entwickelt. Die LCAO-Koeffizienten $c_{\mu\nu}$ sind ein Maß für den Beitrag der einzelnen Atomorbitale χ_μ zur Bindung.

Durch Einsetzen der Elektronenwechselwirkungsintegrale

$$(\mu\nu, \rho\sigma) = \int\int \chi_\mu^*(i)\chi_\nu(i)\frac{e^2}{r_{ij}}\chi_\rho^*(j)\chi_\sigma(j)dV_i dV_j \tag{2.14}$$

in Gleichung 2.13 resultiert:

$$E = \sum_{\mu=1}^{M} \sum_{\nu=1}^{M} P_{\mu\nu} \left\{ h_{\mu\nu} + \frac{1}{2} \sum_{\rho=1}^{M} \sum_{\sigma=1}^{M} P_{\rho\sigma} \left[(\mu\nu, \rho\sigma) \quad \frac{1}{2} (\mu\sigma, \rho\nu) \right] \right\} \tag{2.15}$$

Dabei steht $h_{\mu\nu}$ für das Einelektronenintegral $\quad \chi_\mu(i)\mathrm{h}(i)\chi_\nu(i) \;$. $P_{\mu\nu}$ ergibt sich aus

$$P_{\mu\nu} = 2 \sum_{n=1}^{\frac{N}{2}} c_{n\mu}^{*} c_{v\nu} \tag{2.16}$$

Die Gleichung 2.16 gilt analog für $P_{\rho\sigma}$. Die $P_{\mu\nu}$ lassen sich in einer sogenannten Dichtematrix darstellen. Die Variation der Energie bezüglich der Linearkombinationskoeffizienten $c_{\mu\nu}$ führt zu einem Säkulargleichungssystem,

$$\sum_{\nu=1}^{M} (F_{\mu\nu} \quad \epsilon_n S_{\nu\mu}) c_{n\mu} = 0 \tag{2.17}$$

worin die $F_{\mu\nu}$ die Elemente der Fock-Matrix sind:

$$F_{\mu\nu} = h_{\mu\nu} + \sum_{\rho=1}^{M} \sum_{\sigma=1}^{M} P_{\rho\sigma} \left[(\mu\nu, \rho\sigma) \quad \frac{1}{2} (\mu\sigma, \rho\nu) \right] \tag{2.18}$$

Die Gleichung 2.17 wird als Roothaan-Hall-Gleichung bezeichnet [33]. Sie entspricht der Hartree-Fock-Gleichung für den Fall, daß die Einelektronenfunktionen als Linearkombinationen angesetzt werden. Die Lösung der Roothan-Hall-Gleichung erfolg iterativ. Zunächst werden die Einelektronenintegrale nach Gleichung 2.14 gelöst. Mit einem

Satz von vorgegebenen Linearkombinationskoeffizienten werden die $P_{\mu\nu}$ und $P_{\rho\sigma}$ nach Gleichung 2.16 berechnet. Nach Lösung des Gleichungssystems 2.17 erhält man neue Linearkombinationskoeffizienten. Mit diesem Satz an Koeffizienten wiederholt man die Berechnung solange, bis die Koeffizienten selbstkonsistent sind. Man spricht deshalb von Self-Consistent-Field (SCF)-Verfahren.

2.3 Dichte Funktional Theorie (DFT)

Die DFT entstand aus einem Theorem von Hohenberg und Kohn (1964)[34, 35]. Danach sind alle Grundzustandseigenschaften eines Atoms bzw. Moleküls ein Funktional der Ladungsdichte $\rho(\vec{r})$. Die Gesamtenergie E_t im speziellen läßt sich folgendermaßen ausdrücken[34]:

$$E_t[\rho(\vec{r})] = T[\rho(\vec{r})] + U[\rho(\vec{r})] + E_{xc}[\rho(\vec{r})] \tag{2.19}$$

Die Wellenfunktionen in der DFT sind Kohn - Sham - Orbitale ϕ_i nicht wechselwirkender Teilchen, die sich in einem effektiven (Kohn Sham) - Potential bewegen, so daß sie die gleiche Dichte $\rho(\vec{r})$ reproduzieren wie das tatsächliche Elektronen - Spin - System. Die Kohn - Sham - Orbitale erhält man aus der Lösung der effektiven Einteilchen - Kohn - Sham - Gleichung, die dazu analog dem HF - Verfahren gelöst werden.

Für die Ladungsdichte gilt dann:

$$\rho(\vec{r}) = \sum_i \ \phi_i(\vec{r})\ ^2 \tag{2.20}$$

Für die kinetische Energie T eines Systems mit n - Teilchen ergibt sich die Gleichung 2.21.

$$T = \sum_{i}^{n} < \phi_i \; \frac{\;^2}{2} \; \phi_i > \tag{2.21}$$

Die Anteile der potentiellen Energie eines Mehrteilchensystems setzt sich aus den entsprechenden Wechselwirkungsanteilen zusammen (Gleichungen 2.22 und 2.23).

$$\begin{aligned} U = & \sum_{i}^{n} \sum_{\alpha}^{N} < \phi_i(r) \; \frac{Z_\alpha}{R_\alpha \quad r} \; \phi_i(r) > \\ & + \frac{1}{2} \sum_{i} \sum_{j} < \phi_i(r_1)\phi_j(r_2) \; \frac{1}{r_1 \quad r_2} \; \phi_i(r_1)\phi_j(r_2) > \\ & + \sum_{\alpha}^{N} \sum_{\alpha<\beta}^{N} \frac{Z_\alpha Z_\beta}{R_\alpha \quad R_\beta} \end{aligned} \tag{2.22}$$

$$\underbrace{< \rho(r_1)V_N > + < \rho(r_1)}_{Kern-Elektron} \; \underbrace{\frac{V_e(r_1)}{2} >}_{Elektron-Elekton} \; + \; \underbrace{V_{NN}}_{Kern-Kern} \tag{2.23}$$

Die Berücksichtigung der Austausch - bzw. Korrelationsenergie führt zur lokalen Dichteapproximation (LDA, Local Density Approximation).

$$\epsilon_{xc} = \int \rho(\vec{r})\epsilon_{xc}[\rho(\vec{r})]d\tau \tag{2.24}$$

Unter Berücksichtigung der LDA ergibt sich die Gesamtenergie zu:

$$E_t[\rho(\vec{r})] =$$

$$\sum_{i} < \phi_i \frac{\;^2}{2} \; \phi_i > + < \rho(\vec{r_1}) \left[\epsilon_{xc}[\; rho(\vec{r_1})] + \frac{V_e(\vec{r_1})}{2} \quad V_N \right] > + V_{NN} \tag{2.25}$$

Ein Vorteil gegenüber dem HF - Verfahren liegt in der Rechenzeit. Während bei dem HF - Verfahren der Rechenaufwand bei N^4 bis N^6 (N = Anzahl der Parameter, z.B. Zahl der Basisfunktionen) liegt, liegt diese Abhängigkeit für DFT - Berechnungen bei N^3 [35]. Jedoch ist mit Sicherheit der größte Vorteil in der Anwendbarkeit der DFT auf Übergangsmetalle zu nennen, die mit HF - Verfahren meist nur sehr mäßig beschrieben werden können. Auf Basis des Theorems von Hohenberg und Kohn sind verschiedene Verfahren entwickelt worden. Das in diesem Projekt verwendete wird im folgenden Abschnitt erläutert.

Bei B3LYP[36] handelt es sich um ein Hybridfunktional mit 3 Parametern[1]. Es läßt sich durch folgende Gleichung beschreiben.

$$E_{XC} = E_{XC}^{LDA} + A\,(E_X^{exact} \quad EX^{LDA}) + B\,E_X^{B88} + C\,E_c^{PW91} \tag{2.26}$$

E_{XC}^{LDA} und E_X^{LDA} sind die Austausch- und Korrellationsterme nach der LDA- (Local Density Approximation) Näherung, E_X^{exact} die exakte Austauschenergie. E_X^{B88} beschreibt den Becke Austausch nach der GGA-Näherung und E_c^{PW91} die Korrelationsenergie nach Perdew und Wang[37]. Die Parameter A, B und C sind von Becke anhand experimenteller Werte gefittet.

[1]Becke's drei Parameter Hybrid Functional mit Perdew 86

2.4 Semiempirische Verfahren

Semiempirische Verfahren haben seit der Formulierung der Hückelschen MO - Methode bis Anfang der siebziger Jahre eine dominante Rolle gespielt. Aufgrund der exponentiell gestiegenen Rechnerleistung ist man heute für die Berechnung kleinerer und mittlerer Systeme nicht mehr auf sie angewiesen. Nur für große Systeme, wie Cluster, Polymere und Proteine wird darauf zurückgegriffen. Im Gegensatz zu der *ab initio*-Quantenchemie werden bei semi-empirischen Verfahren entweder von experimentellen Daten zur Festlegung von Parametern Gebrauch gemacht oder diese Parameter an einfachen *ab initio*-Rechnungen justiert. Semiempirische Verfahren benötigen geringere Rechenzeiten als *ab initio* Verfahren. Daher lassen sie sich je nach Parametrisierung auf eine große Zahl von Molekülen anwenden.

Semiempirische Methoden sind sämtlich Valenzelektronmethoden. Die inneren Elektronen werden als Teil eines unpolarisierbaren Rumpfes betrachtet [29, 1]. Für die Valenzelektronen wird eine minimale Basis verwendet (d. h. Basisfunktion pro Valenzorbital). Als Basisfunktionen werden Slater-Funktionen eingesetzt. Sie brauchen nicht mehr durch Gauß-Funktionen approximiert zu werden. Eine Gruppe von semiempierischen Methoden geht von den Fock-Matrixelementen im Roothan-Hall-Formalismuns aus. Zur Berechnung der komplizierten Mehrzentrenintegrale werden hier teils drastische Näherungen vorgenommen. Ausgangspunkt ist die Vernachlässigung der differentiellen Überlappung ((ZDO)-Näherung):

$$\chi_\mu(i)\chi_\nu(i)dV_i = \chi_\mu^*(i)\chi_\nu(i)\delta_{\mu\nu}dV_i \qquad (2.27)$$

Gleichung 2.27 hat zunächst zur Folge, daß für die Überlappungsintegrale $S_{\mu\nu} = \delta_{\mu\nu}$ gilt, was bedeutet, daß man in einer Orthonormalbasis arbeitet. Für die Anwendung der Näherung 2.27 auf die Elektronenwechselwirkungsintegrale 2.14

$$(\mu\nu, \rho, \sigma) = \int\int \chi_\mu^*(i)\chi_{nu}(i)\frac{e^2}{r_{ij}}\chi_\rho^*(j)\chi_\sigma(j)dV_idV_j$$

gibt es folgende Varianten: Gilt Gleichung 2.27 konsequent für alle Basisfunktionen, bleiben nur Ein- und Zweielektronenintegrale vom Typ $(\mu\mu, \rho\rho)$ übrig (CNDO-Methode). Soll Gleichung 2.27 nur für differentielle Zweizentrenüberlappungen gelten, verschwinden also differentielle Einzentrenüberlappungen $\chi_\mu^*(i)\chi_\nu(i)dV_i$ nicht, so werden alle Ein- und Zweizentrenintegrale $(\mu\nu, \rho\sigma)$ berücksichtigt, bei denen χ_μ und χ_ν sowie χ_ρ und χ_σ jeweils zum gleichen Zentrum gehören (NMDO-Methode).

Um die durch die drastischen Integralnäherungen verursachten Fehler zu kompensieren, müssen empirisch justierbare Parameter eingeführt werden. Die Einelektronenmatrixelemente $h_{\mu\nu}$ werden deshalb nicht mehr exakt berechnet, sondern durch geeignete Näherungsformeln ersetzt. Diese unterscheiden sich innerhalb der verschiedenen Methoden, enthalten aber wesentliche empirische Parameter wie das Ionisierungspotential und die Elektronenaffinität, sowie an experimentelle Werte angepasste Strukturparameter. Die AM1 (Austin Method 1) basiert auf der MDDO - Näherung. PM3 (Parametrised Model 3) ist eine Neuparametrisierung von AM1. Die in dem Programmpaket Gaussian enthaltene Parametrisierung der PM3-Methode geht auf Steward zurück [38, 39].

2.5 Kraftfelder

Kraftfelder hatten zu Zeiten geringer Rechnerleistung ebenso wie die semiempirischen Verfahren auch für kleine Moleküle große Bedeutung. Heute nimmt ihre Bedeutung wieder zu, da aufgrund der geringen Rechnerresourcenbelastung auch sehr große Moleküle wie Proteine behandelt werden können.

Das grundlegende Modell ist hier der klassischen Physik entnommen, wobei die Atome als „federnverbundene" starre Kugeln behandelt werden[40]. Der Basisansatz zur Bildung eines Kraftfeldes lautet:

$$E = \sum_i E_{Bindungslaenge,i} + \sum_i E_{Bindungswinkel,i} + \sum_i E_{Diederwinkel,i} +$$

$$\sum_i E_{van-der-Waals,i} + \sum_i E_{Coulomb,i} \tag{2.28}$$

Für die einzelnen Energiebeiträge aus Gleichung 2.28 werden in der Regel effektive Potentiale verwendet. Ein effektives Potential $\vec{(}V$ eines Moleküls aus N Atomen der Massen m_i läßt sich im Raum wie folgt ausdrücken:

$$\vec{V}(\vec{r}_i) = \sum_{Bindungslaengen} \frac{1}{2} K_B (B \quad B_0)^2 + \sum_{Bindungswinkel} \frac{1}{2} K_\theta (\theta \quad \theta_0)^2 +$$

$$\sum_{uneigentlicheDiederwinkel} \frac{1}{2} K_\zeta (\zeta \quad \zeta_0)^2 + \sum_{eigentlicheDiederwinkel} \frac{1}{2} K_\phi (\phi \quad \phi_0)^2 +$$

$$\sum_{ij} \frac{1}{2} \left[\frac{C_{12,ij}}{r_{i,j}^1 2} \quad \frac{C_{6,ij}}{r_{i,j}^6} + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_r\epsilon_0 r_{i,j}} \right] \tag{2.29}$$

Die drei ersten Terme beruhen auf dem Hookschen Gesetz, welches ein harmonisches Potential einer Auslenkung bezüglich der Ruhelage betrachtet. Dies geschieht über alle mögliche Auslenkungen im Molekül. Der letzte Term beschreibt die abstoßenden und anziehenden Wechselwirkungen der intermolekularen Atome in Form eines Lennard-Jones Potentials für die van-der-Waals - Wechselwirkung und ein Coulomb-Anteil für die elektrostatischen Wechselwirkungen.

Die Kraftkonstanten werden in Analogie zu den semiempierischen Verfahren an experimentelle oder seltener an theoretische Werte gefittet. Als eine wichtige experimentelle Datenquelle ist hier die Molekülspektroskopie zu nennen, aus der man die Kraftkonstanten direkt ableiten kann.

Je nach Molekülbasis, die zu Ermittlung dieser Kraftfelder herangezogen wird, ergeben sich spezielle[2] oder universelle Kraftfelder. Ein solches Universelles Kraftfeld ist DREIDING, auf das im folgenden Abschnitt eingegangen wird:

Das universelle Kraftfeld DREIDING läßt sich auf zahlreiche Probleme aus der anorganischen, biologischen und organischen Chemie anwenden, wobei ein Hauptaugenmerk auf der Parametrisierung von komplexen Molekülen mit Metallkoordination liegt. In diesem Kraftfeld sind neben den Hauptgruppenelementen auch zahlreiche Übergansmetalle erfaßt.

Somit ist dieses Kraftfeld für die Behandlung des hier untersuchten Proteins, welches Eisen enthält, anwendbar. Die Geometrien werden durch dieses Kraftfeld zuverlässig repro-

[2]MM2: kleine Moleküle in der Gasphase; AMBER, CHARMM: isolierte Polypeptide und -nucleotide

duziert, sowie globale Minima in einem Conformer Search widergegeben. Die Energie ist somit bezüglich der Minima innerhalb einer Berechnung representativ, jedoch nicht mit analogen, vergleichenden Berechnungen in Übereinstimmung zu bringen. Deshab wird zur Ermittlung von Energiedifferenzen auf $ab \quad initio$ - Methoden zurückgegriffen.

Der Hauptvorteil der Verwendung von Kraftfeldern liegt darin begründet, daß sehr viele Rechnungen mit hoher Anzahl an Atomen in kurzer Zeit durchgeführt werden können. Der Vorteil dieses Kraftfeldes liegt in der zuverlässigen Reproduktion der Geometrie von Proteinen bei sehr geringem Rechenaufwand.

2.6 Basisfunktionen

Von grundlegender Bedeutung für die praktische Berechnung von quantenchemischen Systemen ist die schnelle Berechnung der Elektronenwechselwirkungsintegrale. Dies erfordert eine geeignete analytische Gestalt der Basisfunktionen. Slater-Funktionen STO[41] (Slater Type Orbital) der Form

$$\chi = N r^{n-1} e^{\zeta r} S_l^m(\theta, \phi) \tag{2.30}$$

stimmen in ihrem Kurvenverlauf sehr gut mit den für wasserstoffähnliche Atome exakten Wellenfunktionen überein, fallen insbesondere wie diese mit wachsendem Abstand r vom Kern exponentiell ab (s. Abbildung 2.1).

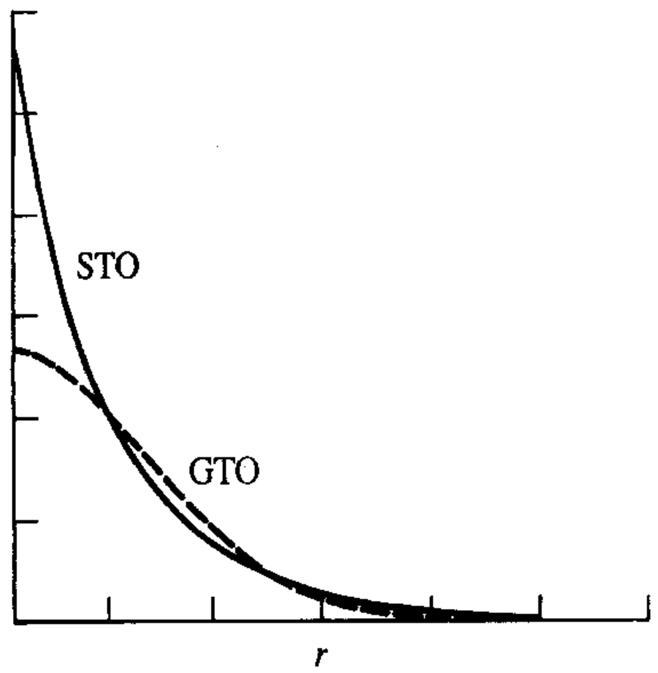


Abbildung 2.1: *Slater-Type-Orbital (STO) und Gauss-Type-Orbital (GTO) im Vergleich[1]*

Die Slaterexponenten ζ werden üblicherweise durch Rechnungen an freien Atomen festgelegt [28, 29, 1]. Die Gauß - Funktionen[3] GTO (Gauss Type Orbital)

$$\chi = N x^u y^v z^w e^{-\alpha r^2} \tag{2.31}$$

unterscheiden sich hauptsächlich im Radialanteil. Im Gegensatz zu den Slaterfunktionen mit dem Exponetialfaktor $e^{-\zeta r}$ fallen die Gauß-Funktionen mit dem Exponetialfak-

[3]hier kartesische

tor $e^{-\alpha r^2}$ mit steigendem r stärker ab. Gerade in Kernnähe ist das Verhalten der Gauß-Funktionen anders als bei den Slater-Funktionen[42]. Durch Linearkombinationen

$$\Psi^{STO} = \sum_{\nu} d_{\nu} \Psi_{\nu}^{GTO} \tag{2.32}$$

mehrerer Gauß-Funktionen mit den Kontraktionskoeffizienten d_{ν} läßt sich eine kontrahierte Slater-Funktion approximieren [28, 29, 1] (vergl. Abbildung2.2).

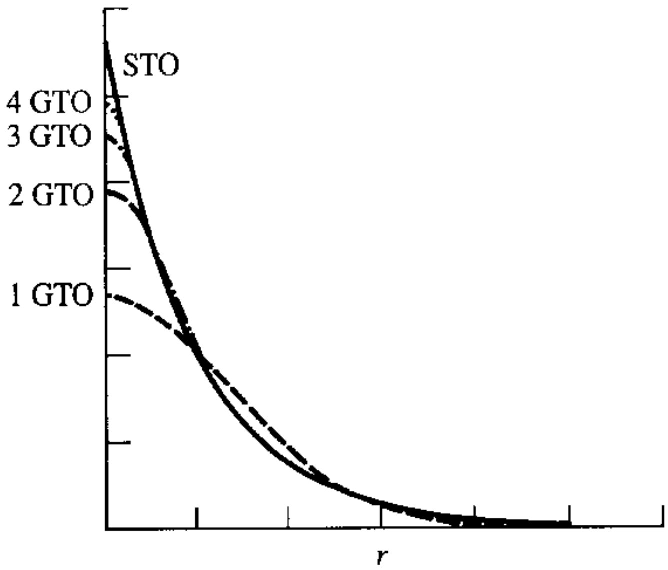


Abbildung 2.2: *Linearkombinationen mehrerer GTO[1]*

Der generellen Bevorzugung der Slater - Funktionen stehen Probleme bei der Integralberechnung von Mehrzentrenintegralen entgegen, was den Einsatz dieser Funktionen hauptsächlich auf semiempirischen Verfahren durch Vereinfachungen bedingt. Gauß-Funktionen haben im Gegensatz dazu die Eigenschaft, daß die Mehrzentrenintegrale rechnerisch besser handhabbar sind. Dies liegt daran, daß das Produkt zweier Gauß - Funktionen, die zu unterschiedlichen Zentren gehören wiederum eine Gauß-Funktion ergibt, die an einem Punkt der Verbindungslinie der Zentren liegt. Somit ist das Mehrzentrenintegral analytisch genau so einfach zu lösen wie ein Einzentrenintegral.

Basissätze nach Gleichung 2.32, die für jedes Atomorbital ein STO verwenden, werden minimale Basissätze genannt. Sie werden mit der Bezeichnung STO - nG abgekürzt, wobei n die Anzahl der GTO's bezeichnet, mit denen jedes STO approximiert wird.

Wellenfunktionen lassen sich besser durch Double-Zeta - Basissätze beschreiben, bei denen jedes Atomorbital durch zwei Basisfunktionen mit unterschiedlichen LCAO-Koeffizienten beschrieben werden. Dadurch werden die Wellenfunktionen in Kernnähe und im Valenzbereich getrennt optimiert, woraus eine bessere Bestimmung der Bindungsverhältnisse folgt.

Relativistische Effekte können sich auf die Eigenschaften von Atomen und Molekülen auswirken. Sie sind bedeutsam in schweren Atomen [43]. Die Rumpfelektronen schwerer Atome bewegen sich mit einer Geschwindigkeit, die der Lichtgeschwindigkeit nahekommen kann. Damit erfahren sie gemäß der Relativitätstheorie eine erhebliche Zunahme der trägen Masse m,

$$m = \frac{m_0}{\sqrt{1 \quad (\frac{v}{c})^2}} \tag{2.33}$$

(mit m_0: Ruhemasse, v: Geschwindigkeit des Teilchens, c: Lichtgeschwindigkeit im Vakuum) woraus eine deutliche Reduktion des mittleren Atomradius resultiert. Relativistische Effekte führen dazu, daß die inneren Orbitale (vor allem die 1 s-Orbitale) schrumpfen. Um die Orthogonalität zu erfüllen, müssen auch die äußeren Orbitale schrumpfen und somit haben relativistische Effekte auch einen Einfluß auf die Valenzelektronen. Z.B. führen sie zu einer Verkürzung des Gleichgewichtskernabstands im Au_2 - Molekül um $40\ \mathrm{pm}$; die Dissoziationsenergie wird etwa verdoppelt gegenüber einer Rechnung, die keine relativistischen Effekte berücksichtigt.

Um relativistischen Effekten Rechnung zu tragen, kann ein entsprechend modifizierter Hamiltonoperator angewant werden. Desweiteren können relativistische Effekte durch Verwendung spezieller Basissätze berücksichtigt werden. In dieser Arbeit werden zwei Double-Zeta-Basissätze verwendet, Lanl2Dz von Dunning [44] und der Stuttgarter Basissatz SDD von Fuentealba [45]. Sie beinhalten zur Berücksichtigung der relativistischen Effekte ECP-(effective core potential) Korrekturen.

2.7 Geometrieoptimierung

Die Potentialflächen $E(\vec{R})$ eines Moleküls hängen formal von $3K$ Koordinaten $\vec{R}$ ab, wenn K die Anzahl der Kerne darstellt. Entsprechend der Anzahl der Freiheitsgrade bei der Bewegung der Kerne relativ zueinander hat man nur noch $3K\quad 6$ (bei linaren Molekülen $3K\quad 5$) unabhängige Variablen. Potentialflächen sind danach Hyperflächen im $(3K\quad 5)$ - bzw. $(3K\quad 4)$ - dimensionalen Raum. Diese stellen komplizierte Funktionen dar, über deren mathematische Struktur nichts ausgesagt werden kann [29]. Durch Lösung der elektronischen Schrödingergleichung würden sich diese Potentialflächen ergeben, jedoch ist dies analytisch nicht machbar. Die punktweise Berechnung einer vollständigen Potentialfläche ist ebenfalls nicht praktikabel, da die Zahl der Einzelberechnungen für eine Variable mit $C^{(3K-6)}$ steigt (C stellt die Rasterzahl dar). Jedoch ist die Kenntnis der kompletten Potentialfläche nicht erforderlich. Man wählt ausgezeichnete Punkte. Die Kernanordnungen eines beobachteten Systems mit K Kernen und N Elektronen, die in einem Minimum der Hyperfläche liegen, stellen stabile Strukturen dar. Die Ermittlung solcher Strukturen wird als Geometrieoptimierung bezeichnet.

Zur Geometrieoptimierung können Gradientenverfahren angewendet werden. Eingesetzt werden die Gradienten der Energie, d.h. die partiellen Ableitungen der Energie nach den Kernkoordinaten:

$$\vec{g} = \frac{\partial E}{\partial \vec{x}} \tag{2.34}$$

Gradientenverfahren im engeren Sinne ermitteln die Kernanordnungen $\vec{x}^{(0)}$, an denen E ein Minimum hat, iterativ durch

$$\vec{x}^{(k+1)} = \vec{x}^{(k)} \quad \lambda^{(k)} \vec{g}^{(k)} \tag{2.35}$$

mit $\vec{g}^{(k)} = \vec{g}(\vec{x}^{(k)})$; λ ist ein Schrittparameter.

Die Schritte $\vec{x}^{(k+1)} \quad \vec{x}^{(k)}$ werden jeweils in Richtung des steilsten Abstiegs in negative Gradientenrichtung geführt. Verfahren des steilsten Abstiegs konvergieren linear und damit relativ langsam. Schnellere Konvergenz (quadratische Konvergenz) erzielt man mit Newtonverfahren. Diese erfordern die zweite Ableitung der Energie.

$$\vec{g} = \frac{\partial^2 E}{\partial \vec{x}^2} \tag{2.36}$$

Das Minimum wird ermittelt, indem man eine Kernanordung $\vec{x}^{(0)}$ sucht, für die der Gradient $\vec{g}(\vec{x}^{(0)})$ ein Nullvektor ist:

$$\vec{x}^{(k+1)} = \vec{x}^{(k)} \quad \lambda^{(k)}(\mathrm{H}^{(k)})^{-1}\vec{g}^{(k)} \tag{2.37}$$

H ist hierbei die Matrix der zweiten Ableitungen von E. Sie wird als Hessematrix bezeichnet. Da die Berechnungen der zweiten Ableitungen extrem aufwendig sind, verwendet man üblicherweise ein Quasinewton-Verfahren. Hier wird die zweite Ableitung der Energie E ermittelt. Statt der Hessematrix H wird im folgenden eine andere geeignete Näherung M eingeführt. Mit Gleichung 2.37 folgt:

$$\vec{x}^{(k+1)} = \vec{x}^{(k)} \quad \lambda^{(k)}\mathrm{M}^{(\mathrm{k})}\vec{g}^{(k)} \tag{2.38}$$

M entspricht der inversen Hessematrix. Sie wird iterativ gelöst. Man spricht deshalb von einer „variablen Matrix“. Befindet man sich mit der Startgeometrie in der Nähe eines Minimums, ist die Konvergenz im allgemeinen recht gut. Als gute Startgeometrien erweisen sich experimentelle oder idealisierte Geometrien.

2.8 Populationsanalysen

In der Quantenmechanik existiert kein Operator für die Ladung eines Atoms. Deshalb wird auf sogenannte Populationsanalysen zurückgegiffen. Populationsanalysen unterteilen die Elektronendichte entlang der Atomkerne, wobei jedem Kern Elektronen zugeordnet werden. Auf diese Weise wird die Ladung der Atome in einem Molekül berechnet. Da jedoch kein quantenmechanischer Operator existiert, ist diese Einteilung stark abhängig von den verwendeten Methoden. Zur Bestimmung der Ladung sind verschiedene Methoden bekannt, von denen die gängigste die Mulliken-Ladungsanalyse ist.

2.8.1 Mulliken-Populationsanalyse

Die Mulliken-Populationsanalyse geht von der Anzahl der Elektronen des betrachteten Systems N_e aus, welche sich aus dem Integral über die Elektronendichte $\rho(\vec{r})$ ergibt [46]:

$$N_e = \int d\vec{r}\rho(\vec{r}). \tag{2.39}$$

Die Anzahl der Elektronen läßt sich damit aus der Dichtematrix **P** und aus der Überlappungsmatrix **S** berechnen:

$$N_e = \sum_{n=1}^{N} P_{nn} + 2\sum_{n=1}^{N}\sum_{m=n+1}^{N} P_{nm}S_{nm} \qquad (2.40)$$

Bei der Mulliken-Populationsanalyse wird die Elektronendichte P_{nm} dem Atom zugeordnet, an dem das zugehörige Orbital χ_n lokalisiert ist. Die verbleibende Elektronendichte (Nichtdiagonalelemente) wird mit der Überlappungs-Population $S_{nm} = \chi_n\chi_m$ in Beziehung gesetzt. Für jedes Element $\chi_n\chi_m$ der Dichtematrix wird die Elektronendichte zur Hälfte auf die Atome aufgeteilt, an denen χ_n und χ_m lokalisiert sind. Die Nettoladung eines Atoms q_A läßt sich demnach durch Einbringen der Kernladung Z_A berechnen:

$$q_A = Z_A \quad \sum_{n=1;n \text{ auf A}}^{N} P_{nn} \quad \sum_{n=1;n \text{ auf A}}^{N}\sum_{m=1;m\neq n}^{N} P_{nm}S_{nm} \qquad (2.41)$$

Die Mulliken-Populationsanalyse ist aus SCF-Berechnung erhältlich, da die Elemente der Dichte- und der Überlappungsmatrix bekannt sind. So wird hier jedem Atomkern die Zahl der Elektronen zugeordnet, die sich in einem zu einem Kern gehörigen Orbital befinden. Da hier eventuelle Wechselwirkungen peripherer Atomorbitale , die die Funktion eines Molekülorbitals aufweisen, nicht als Molekülorbitale berücksichtigt werden, kann ein Elektron fälschlicher Weise einem Atomkern zugeordnet werden. Dies kann im Extremfall zu einer „negativen” Ladungsverteilung an einem Atom führen. Insbesondere bei Verwendung von „großen” Basissätzen, die p-, d-, und f-Orbitale berücksichtigen, ist diese Gefahr sehr groß. Dies führt zu einer sehr starken Basissatzabhängikeit der Atomladungen.

2.8.2 Natural Bond Orbital -Populationsanalyse

Die *natural bond orbital*-Populationsanalyse (NBO) verwendet die Daten aus der Dichtematrix unabhängig von Basissatz und Methode[47].

Sie beruht auf der Tatsache, daß Energie und Eigenschaften einer Vielteilchenwellenfunktion durch die Transformation der Elektronendichte einer SCF-Berechnung in lokalisierte Orbitale konstant sein müssen[48].

Auf diese Weise läßt sich die dem Chemiker vertraute Lewis-Struktur mit den aus *ab initio*-Rechnungen erhaltenen Wellenfunktionen ausdrücken. Ein Satz von orthonormalen NBOs bildet dabei die Wiedergabe der Elektronendichte eines Moleküls. Diese Ergebnisse ermöglichen so die Untersuchung von Ladungsverteilungen, Charge-Transfer- oder Hyperkonjugations-Effekten [49]. Ausgehend von einem Satz orthonormaler Atomorbitale (NAOs) werden die NAOs in orthonormale Hybridorbitale (NHOs) und Bindungsorbitale (NBOs) überführt. Hierbei wird für alle Orbitale eine maximale Besetzung angestrebt.

Die auf diese Weise erhaltenen Orbitale geben die „natürliche“ Besetzung wieder. Die NBOs werden dabei lokalisierten Eigenvektoren der Ein- und Zweizentren-Blöcke der Dichtematrix zugewiesen, welche die Core-, die nichtbindenden, die bindenden und die antibindenden Orbitale beschreiben. Der minimale Satz der Valenz-NBOs enthält den überwiegenden Teil der Elektronendichte des Systems und kann eine Lewis-Struktur des Moleküls erklären. Die verbleibenden Rydberg- (Einzentrums-) und antibindenden Orbitale besitzen in der Regel eine nur geringe Elektronendichte, werden aber trotzdem benötigt, um den vollständigen Bereich der besetzten Molekülorbitale auszufüllen [49].

Zur Bildung der natürlichen Atomorbitale wird von der Elektronendichtematrix Γ und den Basisfunktionen der Verbindung χ_i ausgegangen. Hierbei wird nach Orbitalen mit maximaler Besetzung, die auf einem Atom A lokalisiert sind, gesucht.

$$\Gamma(\vec{r}) = \sum_{n=1}^{N} \sum_{m=1}^{N} P_{nm} \chi_n(\vec{r}) \chi_m(\vec{r}) \tag{2.42}$$

Die Ladungsdichtematrix P_{nm} läßt sich wie folgt herleiten. Die Konstruktion der NAOs findet dann in zwei Schritten statt. Zuerst erfolgt eine Diagonalisierung eines Teils der Elektronendichtematrix Γ, woraus man einen Satz von prä-NAOs erhält. Diese prä-NAOs lassen sich in zwei Gruppen einteilen: Der „minimale“ Satz an Orbitalen läßt sich mit den besetzten Orbitalen des Atoms im Grundzustand gleichsetzen. Der „Rydberg“-Satz an Orbitalen dagegen besteht aus den restlichen geringfügig besetzten Orbitalen. Da die orthonormalen NAOs eines Atoms mit denen anderer Atome überlappen können, werden diese Überlappungen in einem zweiten Schritt beseitigt. Dies wird durch eine besetzungsabhängige Orthonormalisierung aller NAOs des Moleküls durch eine Transformationsmatrix $\mathbf{T}_{\text{owso}}$ erreicht [50]:

$$\mathbf{T}_{\text{owso}} \chi_i = \tilde{\chi}_i \tag{2.43}$$

Die Transformationsmatrix $\mathbf{T}_{\text{owso}}$ minimiert die besetzungsgewichteten quadratischen Abweichungen der $\tilde{\chi}_i$ ausgehend von den nichtorthonormalisierten χ_i unter Einbeziehung eines Gewichtungsfaktors w_i und der Elektronendichtematrix Γ [51]:

$$min\left\{\sum_i w_i \int (\chi_i \quad \tilde{\chi}_i)^2 \, d\tau\right\} \tag{2.44}$$

$$w_i = \ \chi_i \ \Gamma \ \chi_i \tag{2.45}$$

Die orthonormalen NAOs $\tilde{\chi}_i$ stellen eine Basis für eine erweiterte „natürliche Populationsanalyse" dar. Die natürliche Population q_i des Orbitals $\tilde{\chi}_i$ über einem Atom ist das diagonale Dichte-Matrix-Element in der NAO-Basis:

$$q_i = \ \tilde{\chi}_i \ \Gamma \ \tilde{\chi}_i \tag{2.46}$$

Diese Population erfüllt in den meisten Fällen bereits das Pauli-Prinzip und man erhält eine natürliche atomare Population q_n, deren Summe der 1 Anzahl der Elektronen N im Molekül entspricht:

$$q_n = \sum_i q_i \tag{2.47}$$

$$N = \sum_M q_n \tag{2.48}$$

Die NPA-Methode ist auf zahlreiche chemische Systeme angewandt worden. Es besteht eine gute numerische Stabilität und eine gute Übereinstimmung mit anderen theoretischen und experimentellen Bestimmungen der Ladungsverteilung [51].

2.9 Berechnung von Bildungsenthalpien mittels der Wibergfragmentmethode

Zur theoretischen Berechnung von Bildungsenthalpien werden zahlreiche inkrementelle und fragmentelle Methoden herangezogen. Sie basieren lediglich auf experimentellen Daten. Um aus quantenchemischen Berechnungen Bildungsenthalpien berechnen zu können, sind zahlreiche Versuche unternommen worden. Die Verknüpfung mit experimentellen Daten geht auf K. B. Wiberg zurück [21] und wurde durch die Entwicklung der Atomäquivalente ergänzt [22, 25, 23, 24].

Zur Ermittlung der Bildungsentalpien wird in dieser Arbeit auf eine Gruppenäquivalentmethode nach Kenneth B. Wiberg [21, 22] zurückgegriffen. wobei die Gruppenäquivalente im folgenden nach dem Autor „Wibergfragmete” genannt werden [23, 24]. Die Wiberg-fragmente setzen sich aus der experimentell ermittelten Bildungsenthalpie $\Delta_f H^{exp}_{Subst}$, der HF- Energie E^{HF}_{Subst} der Verbindung und schon ermittelten Fragmenten E^{Frag}_i zusammen [21, 22].

$$n_i E_i^{Frag} = E^{HF}_{Subst} \quad \sum_{j \neq i} n_j \quad E_j^{Frag} \quad \Delta_f H^{exp}_{Subst} \tag{2.49}$$

n_i und n_j geben hierbei die Zahl der in der Verbindung vorhandenen Fragmente an. Da Ethan außer zwei Methyl-Fragmenten keine weiteren unbekannten Fragmente enthält, bietet es sich als Ausgangsverbindung an. Für das Ethanfragment E^{Frag}_{Ethan} folgt damit aus Gleichung 2.49:

$$E_i^{Frag} = \frac{E_{Ethan}^{HF} \quad \Delta_f H_{Ethan}^{exp}}{2} \tag{2.50}$$

Zur Berechnung weiterer Fragmente E_i^{Frag} müssen Verbindungen gewählt werden, die nicht mehr als ein unbekanntes Fragment E_j^{Frag} enthält. Die Berechnung der Bildungsenthalpie $\Delta_f H_{Subst}^{ber}$ erfolgt nach Auflösen der Gleichung 2.49 nach der Bildungsenthalpie:

$$\Delta_f H_{Subst}^{ber} = E_{Subst}^{HF} \quad \sum_i n_i E_i^{Frag} \tag{2.51}$$

Sind alle Fragmente einer Substanz bekannt, läßt sich also die Bildungsenthalpie dieser Substanz gemäß Gleichung 2.51 berechnen. Im Gegensatz zu rein aus *ab initio*-Berechnungen ermittelte Bildungsenergien enthalten die mittels Wibergfragmenten ermittelten Bildungsenthalpien experimentelle Energieanteile. Dies sind die Schwingungsanteile des Moleküls[4] und die Bewegungsenergieanteile. Desweiteren ist ein Unterschied darin zu sehen, daß die Bildungsenthalpie bei Raumtemperatur ($25\ ^{o}$C) und nicht bei 0 K, wie bei allen *ab initio*-Berechnungen, ermittelt wird. Mittels Wibergfragmenten oder Atomequivalenten [23, 24] lassen sich auch andere thermodynamische Eigenschaften wie Sublimations - und Verdampfungsenthalpien [26] mittels *ab initio*-Methoden ermitteln.

Der größte Vorteil dieser Methode ist sicherlich die Möglichkeit, aus *ab initio*-Berechnungen Bildungsenthalpien direkt berechnen zu können. Da die HF - Energien aus den Berech-

[4]z.B. Nullpunktsschwingung

nungen abhängig sind von der Zahl der Orbitale ist hier ein Vergleich von HF-Energien zwischen unterschiedlichen Molekülen nicht möglich. Durch Berechnung der Bildungsenthalpie aus HF-Energien kann nun ein energetischer Vergleich zwischen verschiedenen Molekülen gezogen werden und somit Stabilitäten von Molekülen abgeschätzt werden.

Im Vergleich zu PM3, woraus auch Bildungsenthalpien erhältlich sind, haben *ab initio*-Berechnungen einige Vorteile. So ist PM3 nicht für alle Elemente (z.B. Eisen) parametrisiert. Desweiteren werden die experimentell ermittelten Geometrien der hier untersuchten Moleküle sehr schlecht wiedergegeben, was die Ergebnisse fragwürdig erscheinen läßt. Ausserdem lassen sich die Wibergfragmente mit verschiedenen Basissätzen und Methoden der HF-Familie und der DFT-Methoden erfolgreich kombinieren, was eine hohe Flexibilität bedeutet.

Ein weiterer Vorteil der Wibergfragmente liegt in der relativ geringen Rechenzeit. Während mit anderen Methoden zur Vergleichbarkeit der Energien Korrekuren (Counterpoise, Frequenzberechnungen) mit teilweise beträchtlichem Rechenaufwand durchgeführt werden müssen, reicht hier die einfache Geometrieoptimierung aus. Somit sind qualitativ hochwertigen Ergebnisse relativ schnell und billig verfügbar.

Kapitel 3

Quantenmechanische Untersuchungen zur Isopenicillin-N-synthese mittels Isopenicillin-N-synthase

Die Abbildung 3.1 zeigt das zu untersuchende Protein Isopenicillin-N-Synthase (IPN). Es gehört zur Klasse der nicht Häm Eisen - Oxygenasen[52]. Im katalytischen Zentrum ist das Eisen mit „Fe” markiert.

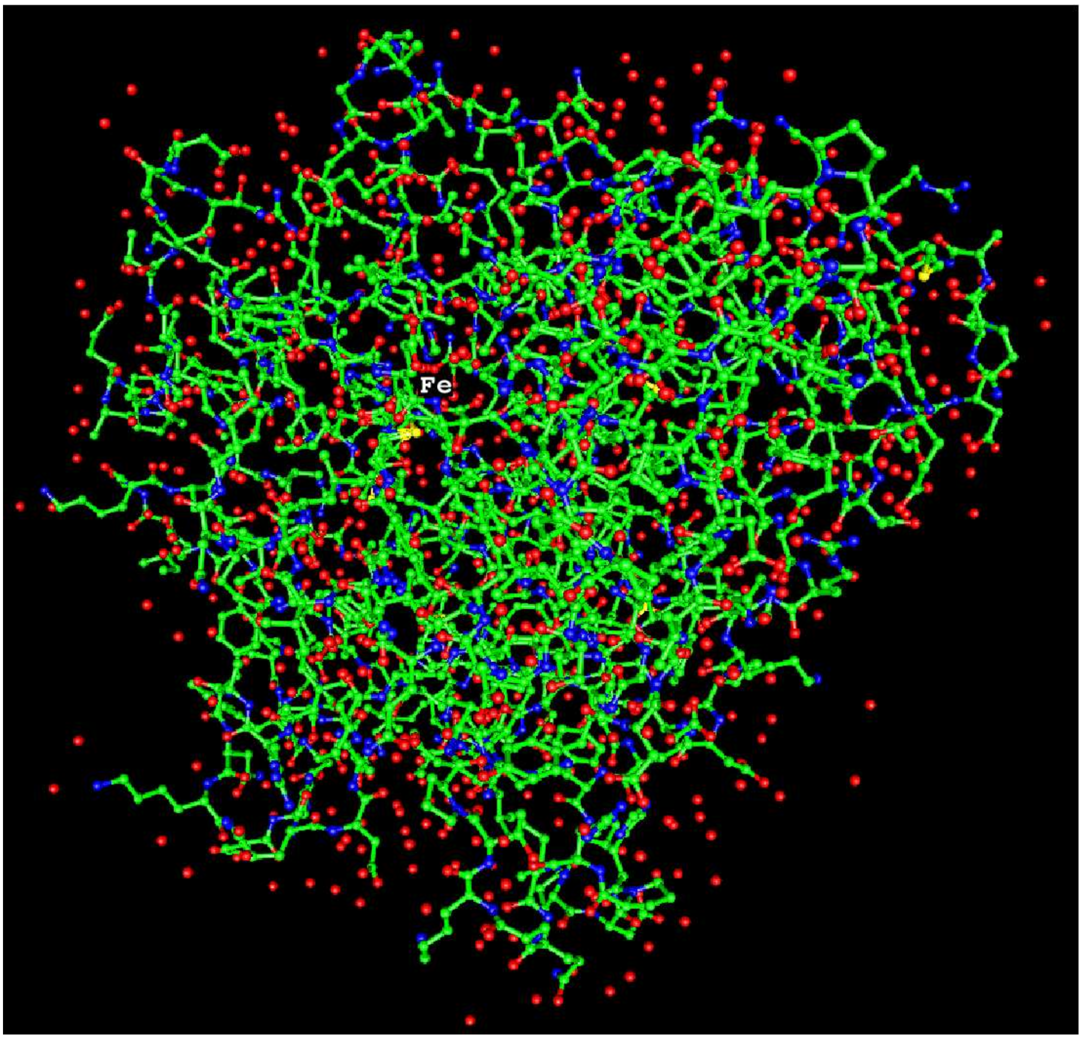


Abbildung 3.1: Röntgenstruktur der IPN[2]

3.1 Experimentelle Befunde

Für die enzymkatalysierte Reaktion liegen Röntgenstrukturen des Produktes (Isopenicillin N (IPN), des Eduktes sowie eines Inhibitors im Enzym (Isopenicillin-N-synthase (IPNS) vor[2] (Abbildung 3.2). In dieser Abbildung ist ein Ausschnitt des Enzyms um das aktive

Zentrum dargestellt.

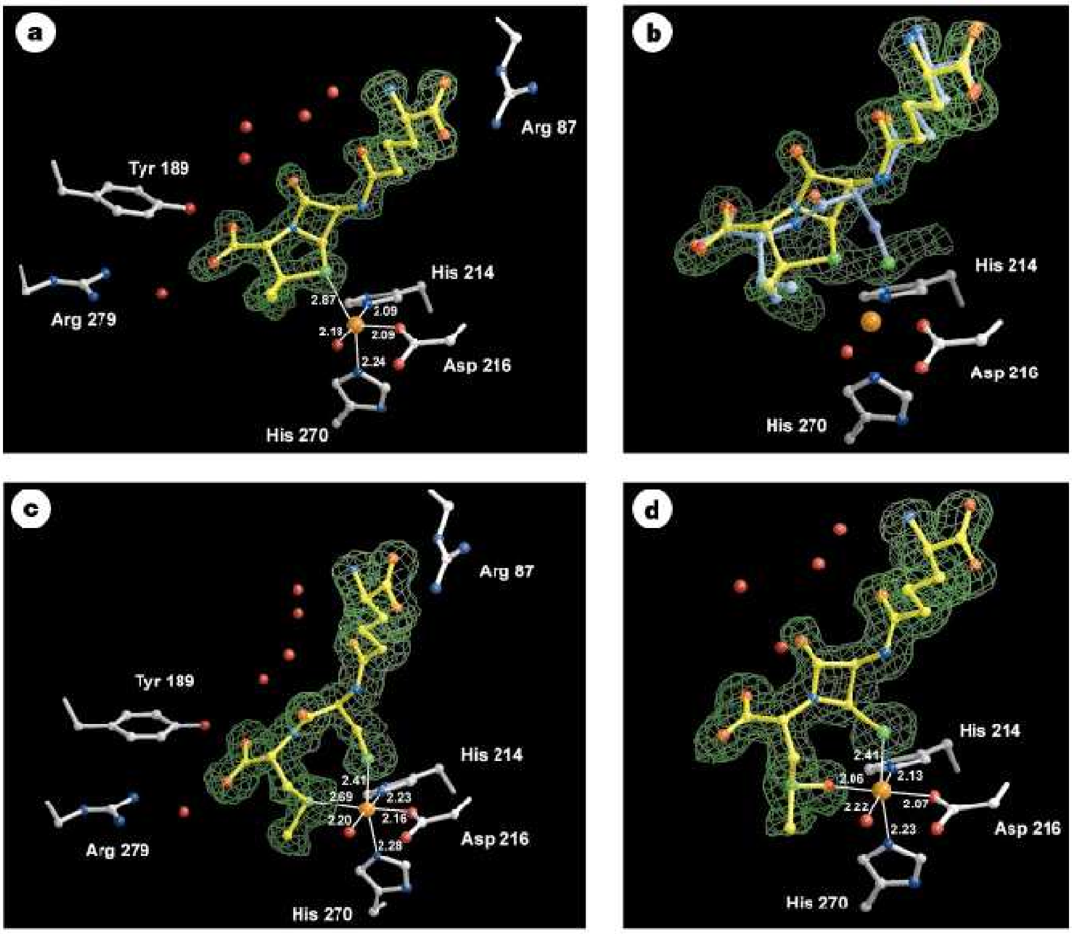


Abbildung 3.2: Röntgenstrukturen des aktiven Zentrums von INPS

In Abb. **3.2a** ist das Endprodukt IPN dargestellt. Die Aminosäurereste (weiß) dienen der Stabilisierung der Lage des Substrates. Das Eisen (orange) markiert die Mitte des katalytischen Zentrums. In der Abbildung **3.2b** ist die Lage des Produktes mit der des Eduktes überlagert dargestellt. Die Abb. **3.2c** und **3.2d** zeigen die Strukturen des Inhibitors am aktiven Zentrum. Aus den Darstellungen Abb. **3.2c** und **3.2d** ist ersichtlich, daß die Reaktion in zwei wesentlichen Teilschritten abläuft. Ausgehend vom Substrat, das an das Eisen koordiniert ist (Abb. **3.2c**), laufen zwei Cyclisierungsreaktionen ab. Zuerst bildet sich ein Vierring (Abb. **3.2d**). Hier greift der Inhibitor und stoppt die Reaktion. Ohne Inhibitor folgt die abschließende Cyclisierung zum Isopenicillin **3.2a**. Anhand dieser Momentaufnahmen der Reaktion wird folgender Mechanismus postuliert [2, 53](Abb. **3.3(1-3)**):

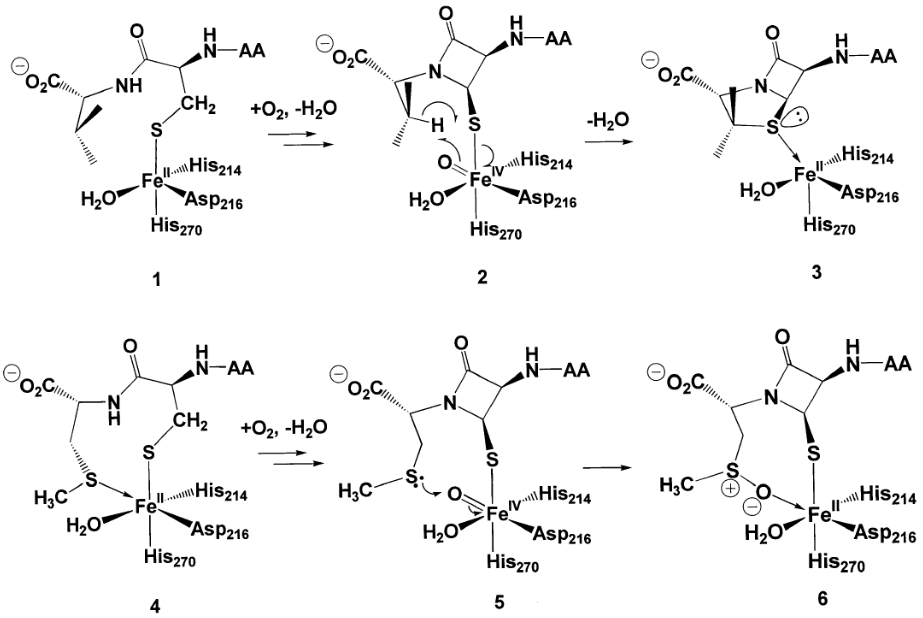


Abbildung 3.3: Mechanismus

In den Abb. **3.3(4-6)** sind die am Inhibitor beobachteten Reaktionsschritte dargestellt. Aus den Abb. **3.3(1-2)** und **3.3(4-5)** ist abzuleiten, daß der erste Reaktionsschritt die Bildung des Vierrings ist. Während **3.3(2)** zum Fünfring **3.3(3)** durch Reduktion des Eisens weiterreagiert, greift im Schritt von **3.3(5)** zu **3.3(6)** der Inhibitor. Durch Reduktion des Eisens durch den zusätzlich eingebauten Schwefel wird eine oxidative Cyclisierung zum Fünfring verhindert.

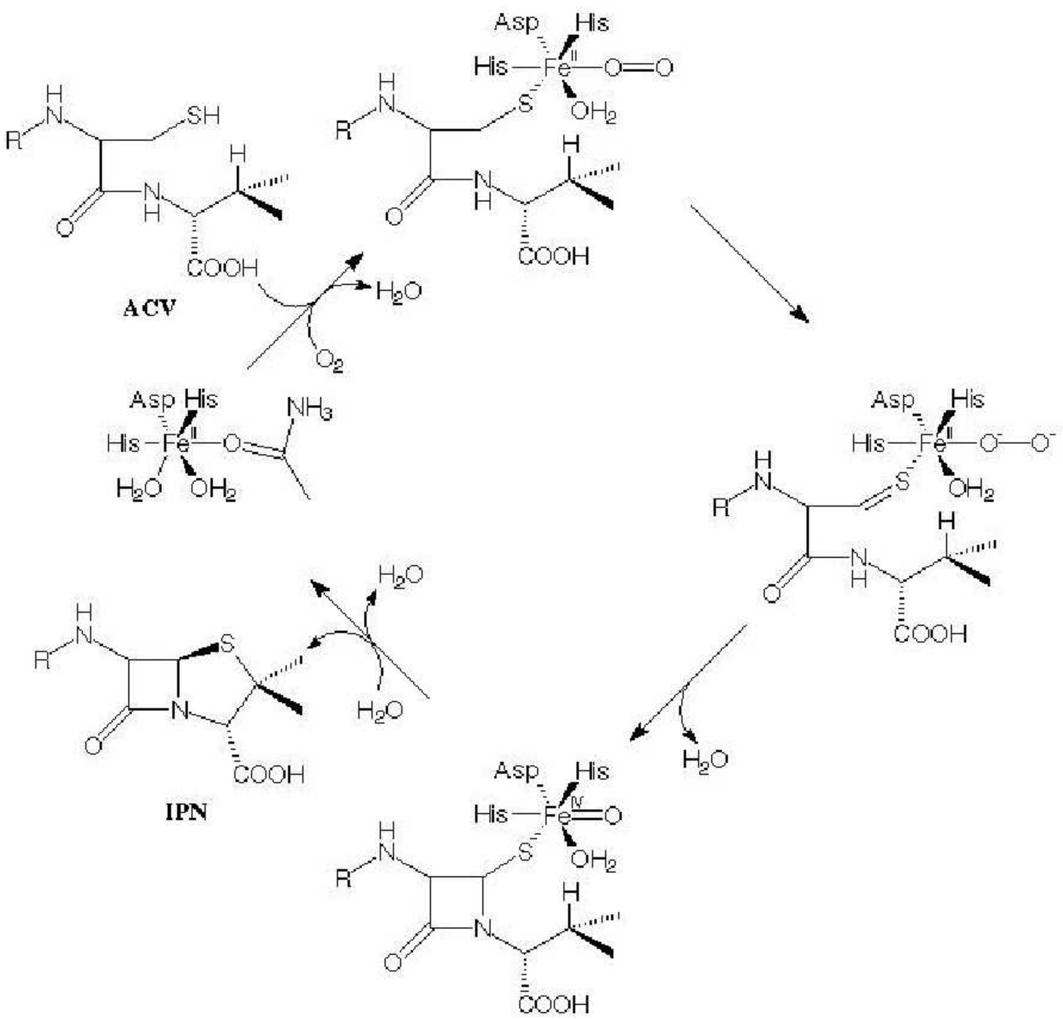


Abbildung 3.4: *Postulierter Reaktionsmechanismus der IPN-Synthese*

Die Abbildung 3.4 stellt einen weiteren möglichen Reaktionsmechanismus dar. Der entscheidende Unterschied ist die hier postulierte Oxidation der SH - Bindung unter Ausbildung einer Doppelbindung. Ziel der quantenchemischen Untersuchungen ist hier, Hinweise auf den tatsächlichen Reaktionsverlauf zu finden und somit die Reaktion nachzuvollziehen.

Aufgrund der Größe des Enzyms ist eine vollständige *ab initio*-Rechnung mit den gegenwärtig zur Verfügung stehenden Ressourcen nicht möglich. Aus diesem Grund sollen zur Durchführung des Projekts kombinierte MM/MO-Methoden (Molecular Mechanics/ Molecular Orbital) eingesetzt werden, die sinnvoll mit einer systematischen Verkleinerung des zu berechnenden Systems kombiniert werden.

3.1.1 Entwicklung eines Modells zur Erfassung der katalytischen Aktivität

Zur Erfassung des aktiven Zentrums (AZ) muß folgendes überlegt werden: Erfaßt werden müssen alle Wechselwirkungen, die die Lage und Geometrie des Substrats beeinflussen. Am katalytischen Zentrum muß eine genaue Reproduktion der chemischen Umgebung geschaffen werden. Das bedeutet, daß das katalytische Zentrum im Modell die gleiche chemische Umgebung besitzen muß wie im natürlich vorkommenden Protein. Aus der Röntgenstrukturanalyse ist ersichtlich, daß das Proteingerüst am aktiven Zentrum für Edukt und Produkt identisch ist. Eine Separation des Problems ist möglich, indem man das katalytisch aktive Eisen mit einer geometrisch konstanten Umgebung einbaut. Zur Erfassung der chemischen Eigenschaften müssen die am Eisen koordinierten Atome mit entsprechenden Nachbarn mit einbezogen werden. Die Abb. 3.5 zeigt die nähere chemische Umgebung des Eisens.

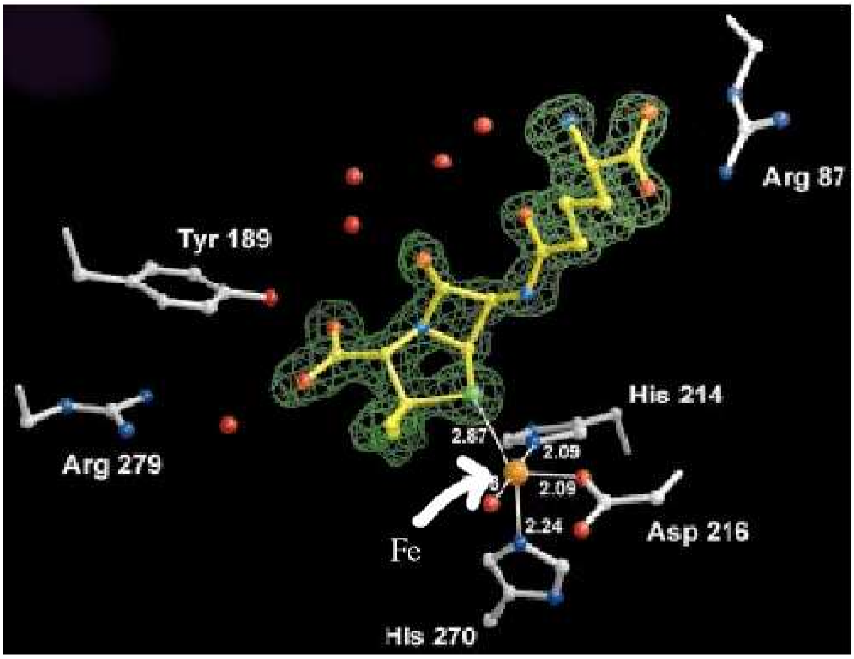


Abbildung 3.5: *Ausschnitt des AZ mit IPN*

Die nächsten Nachbarn des Eisens sind Sauerstoff- und Stickstoffatome in bestimmten organischen Funktionalitäten, welche in einem geeigneten verkleinerten Modell wiedergegeben werden müssen.

Auf der Grundlage der erörterten Fakten und der Röntgenstruktur läßt sich ein Modell entwickeln. Als Eckpfeiler werden die Strukturen von Edukt und Produkt im Enzym herangezogen.

Obwohl Edukt und Produkt geometrisch und chemisch unterschiedlich sind, ist die Proteinstruktur für beide Fälle identisch. Dies deutet auf eine hohe Stabilisierung des AZ durch das Proteingerüst hin (vergl. Abb. 3.6: AZ-Seite). Aufgrund dessen kann davon ausgegangen werden, daß während der Reaktion die Geometrie des AZ erhalten bleibt.

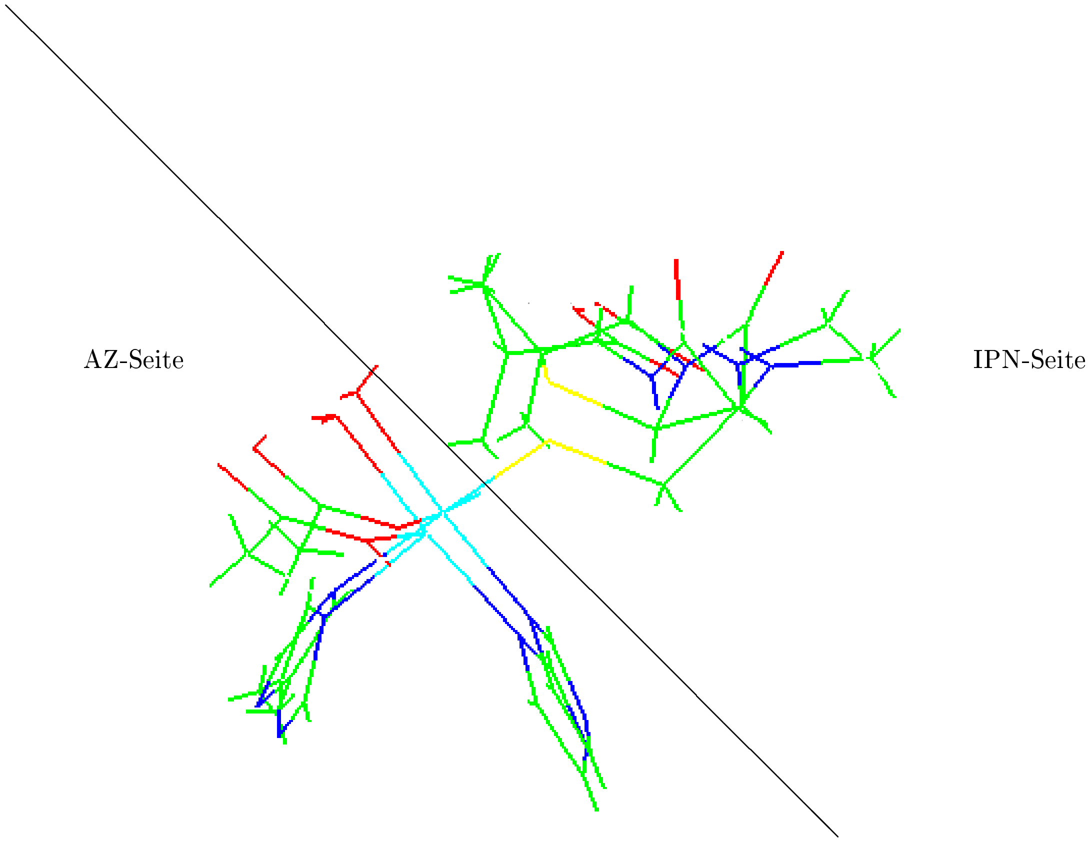


Abbildung 3.6: *Vergleich Edukt und Produkt im AZ*

Dies ist ein Vorteil, da sich so die Zahl der zu berücksichtigenden Freiheitsgrade um ein beträchtliches Maß reduziert. Daraus resultiert für den Modellansatz auf Enzymseite eine geometrisch konstante Umgebung. Damit ist es nicht erforderlich, weitere Einflüsse des Proteingerüsts auf der AZ-Seite zu berücksichtigen. Somit läßt sich das Modell auf einen relativ kleinen Ausschnitt verkleinern, der den strukturellen Einfluß des Proteingerüsts auf das AZ und IPN berücksichtigt.

Für das Substrat ist der Sachverhalt anders, da sich dessen Geometrie während der Reaktion zwangsläufig änder. Zur Veranschaulichung sind die beiden Strukturen in Abb. 3.6 übereinander gelegt. Von entscheidender Bedeutung ist hier, daß sich einige Atome im Edukt wie Produkt in ihrer Raumlage nicht unterscheiden. Diese Atome sind in Abbildung 3.6 IPN eingekreist.

Durch diese Abbildung wird den Ergebnissen des hier zu entwickelnden Ansatzes vorgegriffen, da es sich bei den in der Abbildung 3.6 dargestellten Strukturen um ein Ergebnis des Ansatzes handelt. Aus der Abbildung wird ersichtlich, daß der Teil, der mit AZ bezeichnet ist, in erster Näherung für Edukt und Produkt bezüglich der Raumlagen identisch ist. Dies führt dazu, daß im Modell diese Atome fixiert werden können.

Hinsichtlich der Seitenkette (s. Abbildung 3.7) des Substrates ist die Geometrie im Edukt und Produkt unterschiedlich.

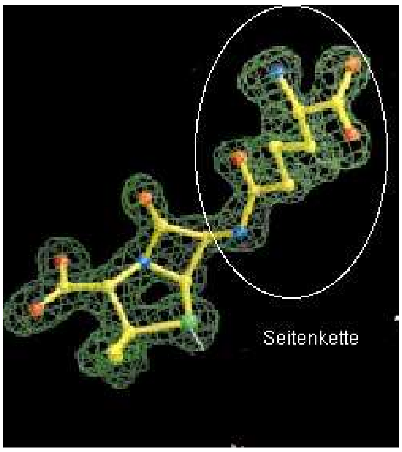


Abbildung 3.7: *Darstellung der Seitenkette*

Es ist eine Streckung der Kette zu beobachten. Da sie jedoch an einem geometrisch fixierten Atom liegt, hat die Seitenkette keinen geometrischen Einfluß auf die Reaktion. Der Energieunterschied der beiden Formen beträgt 9.988 $kJ\ mol^{-1}$ B3Lyp/SDD. Dies wird dadurch begründet, daß sich die Bindungswinkel am geometrisch fixierten Atom, bedingt durch die Cyclisierungen, ändern. Dadurch benötigt die Seitenkette mehr Platz, was zu dieser Streckung führt.

Da die Positionen der Wasserstoffatome aus der Röntgenstruktur nicht erhältlich sind, müssen diese mit ihren spezifischen Funktionalitäten richtig erfaßt werden. Für die nicht aziden Funktionalitäten stellt das kein Problem dar. Anders sieht es bei den aziden Gruppen aus.

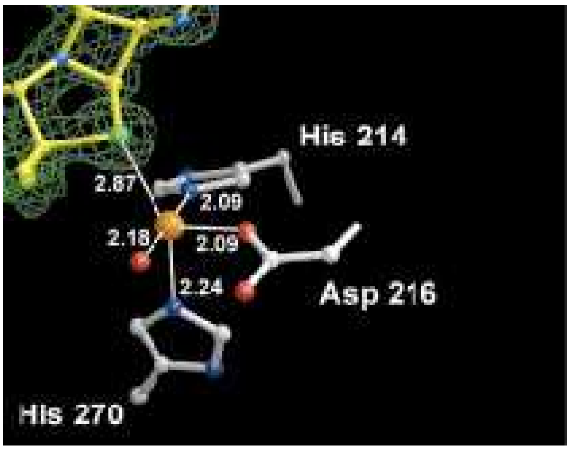


Abbildung 3.8: *Katalytisches Zentrum*

Abbildung 3.8 veranschaulicht das Problem. Zur exakten Reproduktion der chemischen Umgebung am Eisen müssen die koordinierten Funktionalitäten entsprechend berücksichtigt werden. Hierbei tritt das Problem auf, daß die Säure- und die N-H - Funktionen des

Imidazolrings im His azide sind, d.h. sie können in protonierter und deprotonierter Form vorliegen, was einen erheblichen elektronischen Einfluß auf das Eisen hat. Im Folgenden wird dieses Problem chemisch diskutiert.

Bei Proteinen handelt es sich um polyfunktionale Verbindungen. Deshalb sind hier Überlegungen zur Berücksichtigung von Basizitäten notwendig. Von besonderer Bedeutung sind azide Funktionalitäten unter physiologischen Bedingungen. Sie können protoniert oder deprotoniert vorliegen. An dem hier zu betrachtenden AZ liegen die aziden Funktionalitäten (z.B. Carbonsäurefunktionen) (s. Abbildung 3.8) unter physiologischen Bedingungen weitestgehend deprotoniert vor (pK_s 4), stellen somit kein Problem bei der Erfassung der chemischen Eigenschaften dar.

Von wesentlich größerer Bedeutung ist das Histidin am katalytischen Zentrum. Zwei Histidinmoleküle sind am Eisen koordiniert[2] (Abb. 3.8). Es gibt zwei Möglichkeiten: Das Histidin kann unter physiologischen Bedingungen an der Koordinationsstelle mit dem Eisen protoniert (Abb. 3.9) oder (Abb. 3.10) deprotoniert vorliegen (pK_s 7). Die Abbildungen zeigen den entsprechenden Ausschnitt des Histidins.

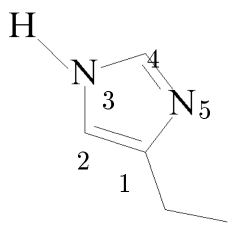


Abbildung 3.9: *His (protoniert)*

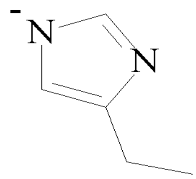


Abbildung 3.10: *His-H (deprotoniert)*

Aufgrund der lewissauren Eigenschaften des Fe^{2+} ist die Möglichkeit einer Aziditätserhöhung der NH - Bindung gegeben. Übergangsmetalle niedriger Oxidationsstufen bilden im allgemeinen mit den Basen schwacher Säuren stabile Komplexe aus. Das Eisen liegt in einer niedrigen Oxidationsstufe vor. Als schwache Säure fungiert der protonierte Stickstoff des Histidins (pK_s 7). Folglich sollte der Stickstoff deprotoniert vorliegen und am Eisen als anionischer Ligand koordinieren[54]. Dies könnte auf eine Deprotonierung hinweisen.

Zur Verifizierung sind hier zwei Geometrieoptimierungen nötig. Ein Vergleich der optimierten Strukturen mit der Röntgenstruktur sollte darüber Auskunft geben, ob das His protoniert oder deprotoniert vorliegt. Der Vergleich der berechneten Bindungslängen von His und dem experimentellen Wert zeigen eine Tendenz der Verkürzung der Bindung C4-N5. Dies deutet auf eine Positivierung des Stickstoffs und damit des gesamten aromatischen Systems hin. Woraus diese Positivierung resultiert ist zu diesem Zeitpunkt unklar. Allerdings ist die Bindungslänge der N5-C1 - Bindung in beiden berechneten Fällen zu groß. Die relativen Abstände bei His-H sind jedoch gut wiedergegeben. Dies deutet darauf hin, daß der Stickstoff deprotoniert vorliegt und Ladungsdichte dem Ring zugunsten der Koordination mit dem Eisen entzogen wird, was eine Bindungsaufweitung nach sich zieht. Insbesondere die Bindung N3-C4 wird in der protonierten Form zu stark verkürzt wiedergegeben. Dies deutet darauf hin, daß der Stickstoff deprotoniert vorliegt und durch die Koordination mit dem Eisen die elektronischen Verhältnisse massiv durch das Eisen beeinflußt werden. Ein weiterer Aspekt ist die Geometrie des aktiven Zentrums. Die N5-H Bindung liegt in der Ringebene. Der Abstand des Wasserstoffs zum Stickstoff beträgt

1.0107 Å. Der Stickstoff-Eisen - Abstand im AZ liegt bei 2.0408 Å. Damit läge der Abstand Eisen-Wasserstoff bei 1.013 Å . Die Kovalenzradien von Fe^{2+} und H liegen bei 0.74 Åbzw. 0.30 Å [54], woraus eine Bindungslänge von 1.04 Å resultiert. Somit würde das Wasserstoff exakt in die Lücke passen. Keine der erörterten Möglichkeiten weird bevorzugt eingenommen.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Verifizierung der Geometrieoptimierung mit B3Lyp/SDD und DREIDING

Zur Verifizierung der Ergebnisse von Geometrieoptimierung mit B3Lyp/SDD und DREIDING werden diese anhand des hier entwickelten Modells mit der experimentellen Röntgenstruktur verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.1 und 3.2 dargestellt. Die dazugehörigen Atomnummerierungen sind in Abbildung 3.11 wiedergegeben. Weil keine experimentellen Daten zu den Positionen der Wasserstoffatome vorliegen und zur besseren Übersichtlichkeit sind die Wasserstoffatome nicht dargestellt.

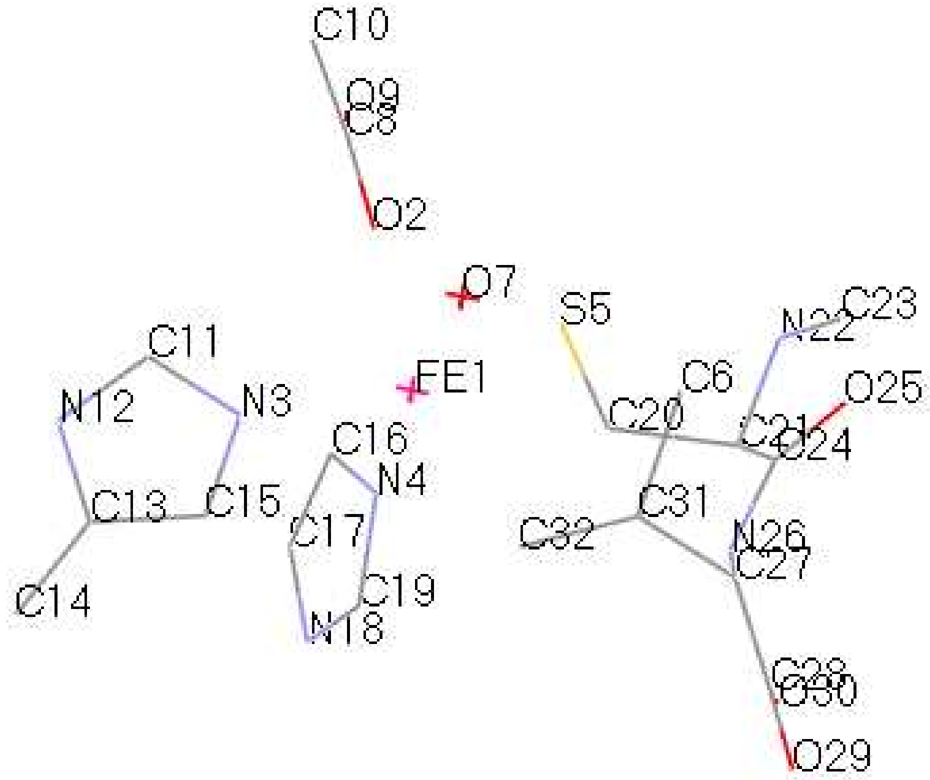


Abbildung 3.11: *Katalytisches Zentrum, Atomnummerierung*

Wie aus den Tabellen 3.1 und 3.2 ersichtlich ist, wird mit den beiden Methoden B3Lyp/SDD und DREIDING die experimentell ermittelte Geometrie gut reproduziert. Insbesondere die Bindungslängen weisen lediglich Abweichungen im unteren $\frac{1}{100}$ Å bereich auf. Sie liegen somit im Bereich experimenteller Genauigkeit.

Bindung	$\frac{r_{exp.}}{10^{-10}m}$	$\frac{r_{B3Lyp/SDD}}{10^{-10}m}$	$\frac{\Delta r_{exp-B3Lyp/SDD}}{10^{-10}m}$	$\frac{r_{DREIDING}}{10^{-10}m}$	$\frac{\Delta r_{exp-DREIDING}}{10^{-10}m}$
C16-N4	1,33	1,33	0	1,33	0
N4-C19	1,31	1,32	-0,01	1,31	0
C19-N18	1,39	1,4	-0,01	1,38	0,01
N18-C17	1,36	1,36	0	1,36	0
C17-C16	1,38	1,38	0	1,38	0
C13-C14	1,46	1,46	0	1,45	0,01
C13-N12	1,38	1,38	0	1,39	-0,01
N12-C11	1,32	1,33	-0,01	1,33	-0,01
C11-N3	1,35	1,34	0,01	1,34	0,01
N3-C15	1,37	1,37	0	1,38	-0,01
C15-C13	1,36	1,36	0	1,38	-0,02
O7-Fe1	2,2	2,2	0	2,2	0
N4-Fe1	2,04	2,03	0,01	2,02	0,02
N3-Fe1	2,21	2,21	0	2,23	-0,02
O2-Fe1	2,08	2,08	0	2,1	-0,02
C32-Fe1	2,63	2,64	-0,01	2,64	-0,01
S5-Fe1	2,19	2,2	-0,01	2,18	0,01

Tabelle 3.1: *Abstände experimenteller und berechneter Werte*

Die Abweichungen mit DREIDING sind in der Summe größer, da DREIDING aber lediglich zu Berechnungen von Hyperflächen herangezogen wird und die so erhaltenen Geometrien mir B3Lyp/SDD nachoptimiert werden, sind diese Abweichungen für die Ergebnisse nicht relevant.

Winkel	$a_{exp.}$	$a_{B3Lyp/SDD}$	$\Delta_{a_{exp-B3Lyp/SDD}}$	$a_{DREIDING}$	$\Delta_{a_{exp-DREIDING}}$
N4-C19-N18	114	114,2	-0,2	114	0
C19-N18-C17	105,1	105	0,1	105	0,1
N18-C17-C16	108,4	108,3	0,1	108,4	0
C13-C14-N12	128,1	128,1	0	128,3	-0,2
C14-N12-C11	137,5	137,3	0,2	137	0,5
N12-C11-N3	107	107,2	-0,2	107,3	-0,3
C11-N3-C15	109,2	109,2	0	109,2	0
N3-C15-C13	121,1	121,0	0,1	121	0,1
F1-O2-C8	140,4	140,2	0,2	140	0,4
Fe1-S5-C20	109,6	109,5	0,1	109,8	-0,2
Fe1-N4-C19	128,6	128,7	-0,1	129,5	-0,9
Fe1-N3-C11	122,7	122,8	-0,1	122,5	0,2
Fe1-C32-C31	41,8	41,6	0,2	41,9	-0,1

Tabelle 3.2: *Winkel experimenteller und berechneter Werte*

Lediglich die Bindungswinkel zeigen teilweise eine Abweichung von bis zu einem Grad auf. Der Fehler ist jedoch im Bereich von unter 1 %. Somit ergeben die verwendeten Methoden die experimentelle Geometrie hinreichend genau wieder.

3.2.2 Reaktion ohne Proteinkatalyse

Da die Reaktion vermutlich in zwei Teilschritten abläuft, lassen sich diese an verkleinerten Systemen getrennt voneinander betrachten.

Durch simple Abstraktion von Wasserstoffatomen wird die Energiebarriere bestimmt, die zu den Ringschlußreaktionen aufgewendet werden muß. Sie stellt sicherlich nur eine Größenordnung dar, da ein Reaktionspartner fehlt. Für diese Reaktion steht kein Reaktionspartner zu Verfügung, der ein ähnliches chemisches Verhalten wie molekularer Sauerstoff aufweist. Anders würde es aussehen, wenn beide Ringschlußreaktionen konzertiert ablaufen würden.

3.2.3 Energetischer Vergleich von Edukt und Produkt

Für die Reaktion von ACV (δ-(L-α-aminoadipoyl)- L-cysteinyl-D-valin) zu IPN beträgt die Reaktionsenthalpie 764.045 $kJ\ mol^{-1}$ B3Lyp/SDD.

Dies bedeutet, daß die Bildung des Produktes eine stark endotherme Reaktion ist. Hier ist eine Änderung der Bedingungen erforderlich: Entweder muß man die Reaktion durch eine beträchtliche Temperaturerhöhung antreiben - was in Lebewesen unmöglich ist - oder einen effektiven Katalysator einsetzen. Von besonderem Interesse ist auch, wie die Reaktionsenergie auf die einzelnen Teilschritte verteilt ist. Dies wird in den folgenden Abschnitten untersucht.

Bei der Ringschlußreaktion müssen zwei Koordinationsstellen, die durch Wasserstoff besetzt sind, freigelegt werden. In dieser Modellrechnung geschieht das durch gleichzeitige Abstraktion der zwei beteiligten Wasserstoffatome. Dieses Verfahren wird mit Coordinate Driving (CD) bezeichnet. Der entsprechende Reaktionsverlauf ist in Abbildung 3.12 dargestellt.

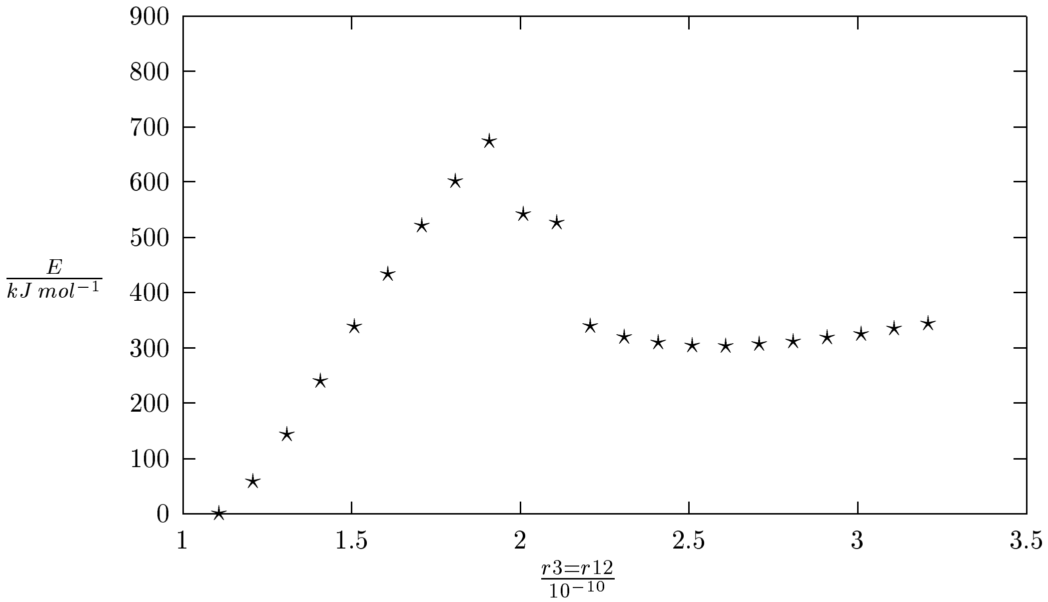


Abbildung 3.12: *CD der 4-Ringbildung, Auftragung der Energie gegen den Abstand der Wasserstoffatome*

Aus der Abbildung ist zu erkennen, daß die Abstraktion der Wasserstoffatome einen Übergangszustand bei einem Abstand von $1,8$ Å aufweist. Der weitere Reaktionsverlauf zeigt bei einem Abstand von $2,0$ Å bis $2,1$ Å ein Abflachen der Kurve. Dies kann zwei Ursachen haben: 1. Das Vorhandensein eines Sattelpunktes, d.h. einer Zwischenstufe. Oder 2. ein weiterer Übergangszustand vorhanden sein. Aufgrund der kleineren Energiebarriere ist das Überwinden dieses Übergangszustandes kein geschwindigkeitsbestimmender

Schritt. Um dieses näher zu untersuchen wird ein Coordinate Driving in einem Bereich von $1,8$ Å bis $2,3$ Å in kleineren Teilschritten ($\frac{1}{100}$ Å) durchgeführt und in Abbildung 3.13 dargestellt.

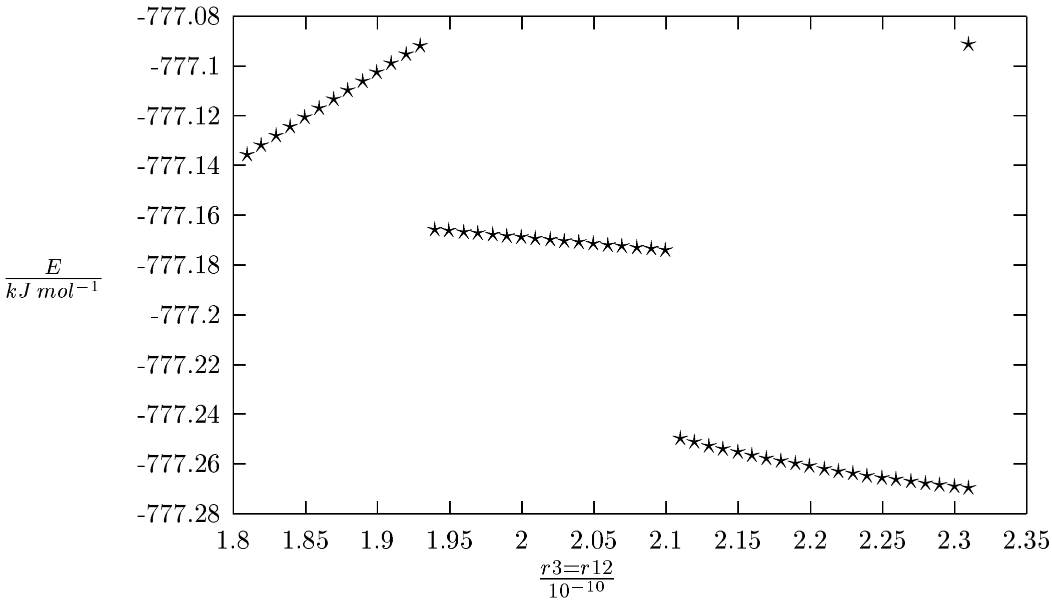


Abbildung 3.13: *Ausschnitt der 4-Ringbildung aus Abbildung 3.26, $\frac{1}{100}$Å-Schritte*

Es zeigt sich, daß in dem Bereich von 1,94Å bis 2,1Å der Abstand der zwei abstrahierten Wasserstoffatome geringer wird. Bei dem Schritt von 2,1Å bis 2,11Å erfolg die Ausbildung eines H_2 - Moleküls.

Die Aktivierungsenergie der Vierringbildung liegt bei $851,340$ kJ mol^{-1}. Die Reaktionsenthalpie liegt bei $380,870$ kJ mol^{-1}. Damit ist die Reaktion energetisch sehr ungünstig. Wird jedoch Sauerstoff angeboten und Wasser gebildet, kann noch die Bildungsenthalpie des Wassers in erster Näherung addiert werden. Somit ergibt sich eine Reaktionsenthalpie von 139.044 kJ mol^{-1}.

Bei der Fünfringbildung liegt der energetische Unterschied zwischen Edukt und Produkt bei 75.143 $kJmol^{-1}$. Ein Coordinate Driving ist in analoger Weise zu der Vierringbildung nicht möglich gewesen. Deshalb müssen mehrere Voruntersuchungen zu der Bildung des 5-Rings angestellt werden.

Um eine Aussage über eine mögliche Reaktionsweise treffen zu können, muß die Ladungsverteilung an den reaktiven Atomen untersucht werden. Die berechneten Mullikenladungen sind in Tabelle 3.3 aufgelistet. Die entsprechende Atomnummerierung ist in Abb. 3.14 wiedergegeben.

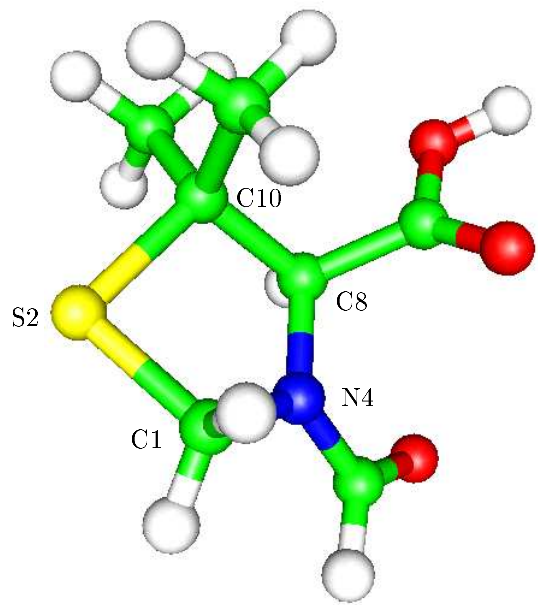


Abbildung 3.14: *5-Ring Produkt mit Atomnummerierung*

Atome	B3LYP/SDD		
	Edukt	Produkt	Δ_{P-E}
1 C	-0,128834	-0,085629	0,043205
2 S	0,121759	0,196077	0,074318
4 N	-0,099414	-0,126417	-0,027003
8 C	0,201359	0,284434	0,083075
10 C	0,219639	-0,112901	-0,33254

Tabelle 3.3: *Mullikenladungen im Edukt und Produkt für die Fünfringbildung*

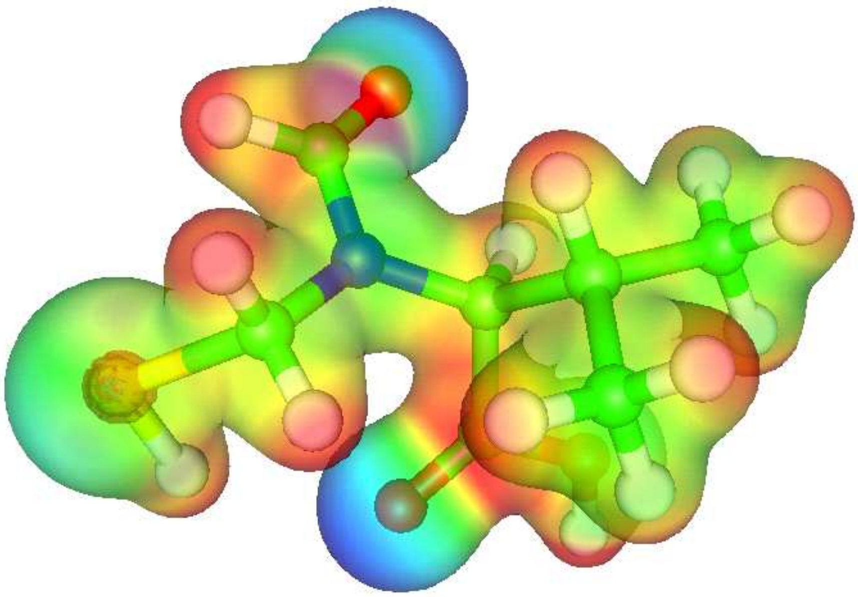


Abbildung 3.15: *Elektronendichteverteilung im 5-Ring Edukt*

Aufgrund der Mullikenladungen (Tabelle 3.3) und den Elektronendichteverteilungen, die in den Abbildungen 3.16 und 3.15 visualisiert ist, sind keine Gründe erkennbar, warum

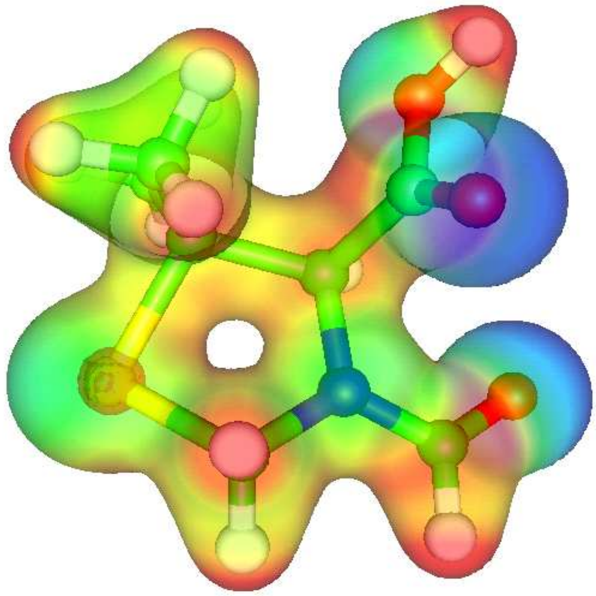


Abbildung 3.16: *Elektronendichteverteilung 5-Ring Produkt*

hier ein Coordinate Driving fehlschlägt. Deshalb wird im folgenden nach Möglichkeiten einer Initiierung der Reaktion gesucht.

Der initiale Reaktionsschritt ist die Abstraktion eines Wasserstoffs. Um die energetisch günstigste Abstraktionsposition zu finden, werden dem Edukt an beiden möglichen Positionen jeweils ein Proton bzw. ein Hydrid entzogen und energetisch miteinander verglichen. Hierbei erwartet man aufgrund der Eigenschaften der verschiedenen funktionellen Gruppen, daß eine negative Ladung besser am Schwefel stabilisiert wird, die positive hingegen am tertiären Kohlenstoff. Die Nummerierung der relevanten Wasserstoffatome ist in Abbildung 3.17 dargestellt.

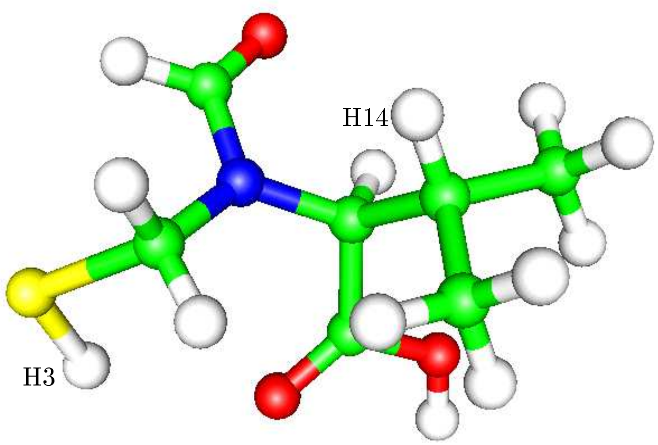


Abbildung 3.17: *5-Ring Edukt, Atomnummerierung*

Hier ist ebenfalls bezüglich der Energien nichts ungewöhnliches festzustellen. Erwartungsgemäß ist die positive Ladung am Kohlenstoffatom (H14 abstrahiert) mit 54,564$kJmol^{-1}$ energetisch günstiger als am Schwefel (H3 abstrahiert). Ebenso ist die negative Ladung am Schwefel um 12,949 $kJ\ mol^{-1}$ energetisch günstiger. Folglich bleibt nur noch die Möglichkeit, eine Hyperfläche der Abstraktion beider Wasserstoffatome (H3, H14) zu bilden. Mit 900 einzelnen Geometrieoptimierungen ist sie sehr aufwendig und rechenintensiv.

Aus der Auswertung dieser Hyperfläche ergibt sich eine Aktivierungsenergie von 918,925 $kJ\ mol^{-1}$. Da sie somit deutlich über den typischen Aktivierungsenergien von 100-400 $kJ\,mol^{-1}$ liegt, scheint auch hier eine spontane Reaktion ohne Katalysator nicht möglich.

3.2.4 Reaktion mit Enzymkatalyse

3.2.4.1 Geometrie des aktiven Zentrums

Von besonderem Interesse ist hier der Vergleich der Lagen der dem aktiven Zentrum (AZ) benachbarten Atome, die an der Reaktion beteiligt sind.

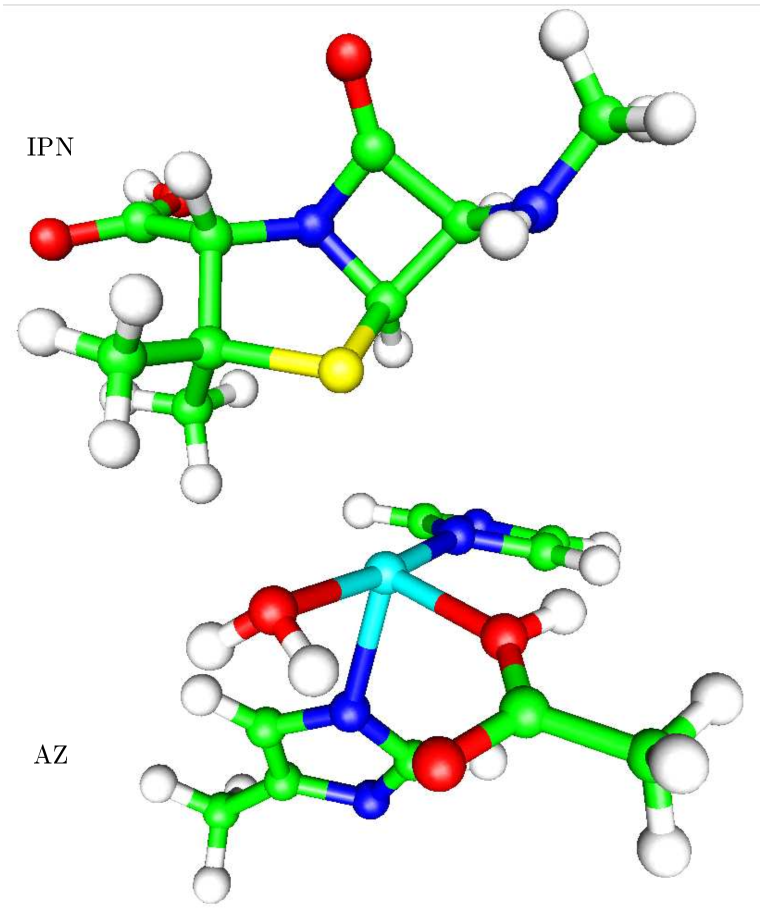


Abbildung 3.18: *AZ mit IPN*

3.2.4.2 Bindungsverhältnisse im aktiven Zentrum

Aus der Optimierung der Positionen von Edukt und Produkt im aktiven Zentrum können aufgrund der Bindungsverhältnisse erste Erkenntnisse über mögliche Reaktivitäten gewonnen werden. Da bei den Reaktionen bevorzugt das HOMO[1] beteiligt ist, läßt sich feststellen, daß im Produkt das HOMO sich nahezu vollständig über das AZ erstreckt und das Edukt weitestgehend am HOMO unbeteiligt ist (vergl. Abb. 3.19).

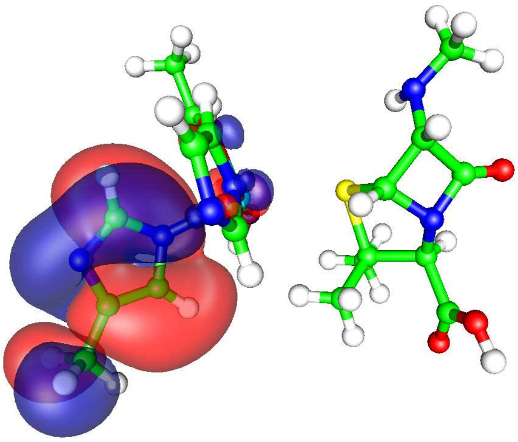


Abbildung 3.19: *HOMO (AZ mit IPN)*

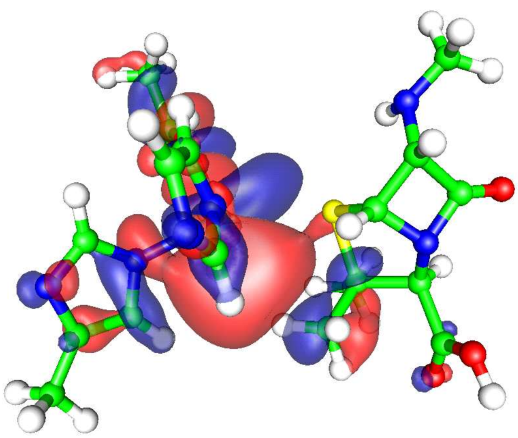


Abbildung 3.20: *LUMO (AZ mit IPN)*

Ein weiterer Aspekt ist das LUMO[2]. Auch hier beschränkt sich das LUMO Hauptsächlich auf das AZ, insbesondere die Bindung vom Schwefel zum Eisen ist nahezu unbeeinflußt (vergl. Abb. 3.20).

Die Energiedifferenz zwischen HOMO und LUMO beträgt $\Delta E_{HOMO-LUMO} = 60.570285 kJmol^{-1}$ für das Enzym. Für das isolierte Produkt liegt die Differenz mit $\Delta E_{HOMO-LUMO} =$

[1] Highest Occupied Molecular Orbital
[2] Lowest Unoccupied Molecular Orbital

$44.029635\ kJ\ mol^{-1}$ im gleichen Bereich. Hier scheint das Enzym keinen nennenswerten Einfluß zu haben. Anders liegt der Fall beim ACV, welches im AZ vorliegt.

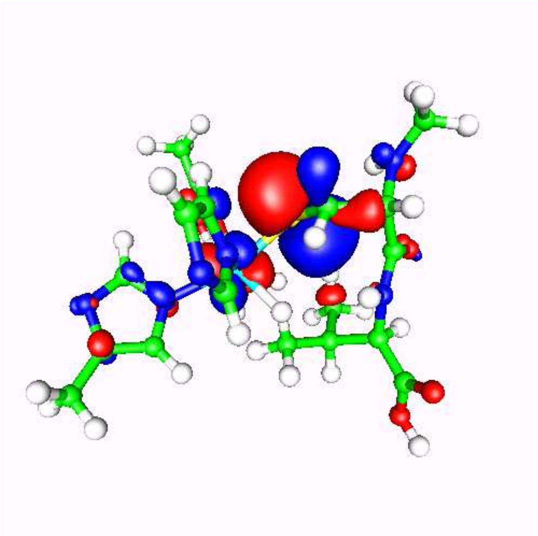


Abbildung 3.21: *HOMO (AZ mit ACV)*

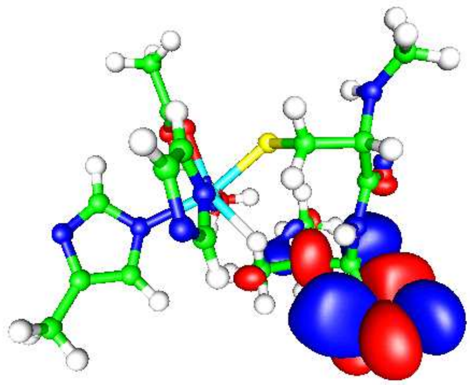


Abbildung 3.22: *LUMO (AZ mit ACV)*

Das HOMO ist hauptsächlich auf einige bestimmte Atome verteilt. Der Anteil der Verteilung am Eisen läßt den Schluß zu, daß das Eisen für den angreifenden Sauerstoff als Elektronenlieferant fungieren kann. Gemäß dem postulierten Mechanismus erfolgt also eine Oxidation des Eisens. Der Schwefel ist ebenfalls am HOMO maßgeblich beteiligt, was für eine erhöhte Reaktionsbereitschaft spricht.

Auch die energetische Differenz zwischen HOMO und LUMO sprechen für eine Aktivierung des Substrats. Die Differenz beträgt im Enzym $\Delta E_{HOMO-LUMO} = 266.278 kJmol^{-1}$, ist somit also um mehr als $200kJ\ mol^{-1}$ günstiger als im ACV ohne Enzymumgebung ($\Delta E_{HOMO-LUMO} = 488.474\ kJ\ mol^{-1}$). Hier ist ein erster Einblick des Einflusses des Enzyms auf das Substrat gewonnen. Dieser Einfluß ist deutlich ausgeprägt und ein erstes

Indiz dafür, daß die Reaktion unter ganz anderen Voraussetzungen ablaufen wird als im Falle ohne Enzymeinfluß.

3.3 Anlagerung des Sauerstoffmoleküls an den Enzymsubstratkomplex

Die Anlagerung des Sauerstoffmoleküls ist eine diffizile Angelegenheit, da hierfür keine Röntgenstruktur vorliegt. Eine erste Voroptimierung ist mit dem universellen Kraftfeld DREIDING[40] durchgeführt worden. Das Resultat ist in Abbildung 3.23 dargestellt.

Die in der Abbildung angegebenen Abstände beziehen sich auf das jeweils nächste Sauerstoffatom zu den jeweiligen Wasserstoffen. Die Geometrie ist aufgrund der Verwendung von DREIDING mit entsprechender Vorsicht zu betrachten. Jedoch lassen sich für den Angriff des Sauerstoffs aufgrund der so ermittelten Geometrie einige wichtige Rückschlüsse ziehen. Die Abstände implementieren eine Prädestination zur Wasserbildung. Zwar sind die Abstände noch etwas hoch, was aber dadurch begründet werden kann, daß hier nur das Sauerstoffmolekül bezüglich seiner Geometrie optimiert wurde. Die Methylgruppe ist frei drehbar, sodaß bei geometrisch konstantem Kohlenstoff die Wasserstoffatome dem Sauerstoff durch Rotation angenähert werden können.

Ein weiterer, für den Mechanismus dieser Reaktion entscheidender Aspekt ist hier zu erkennen. Die Geometrie implementiert eine gleichzeitige Wasserbildung für beide postulierten Teilschritte, womit die Reaktion konzertiert abläuft.

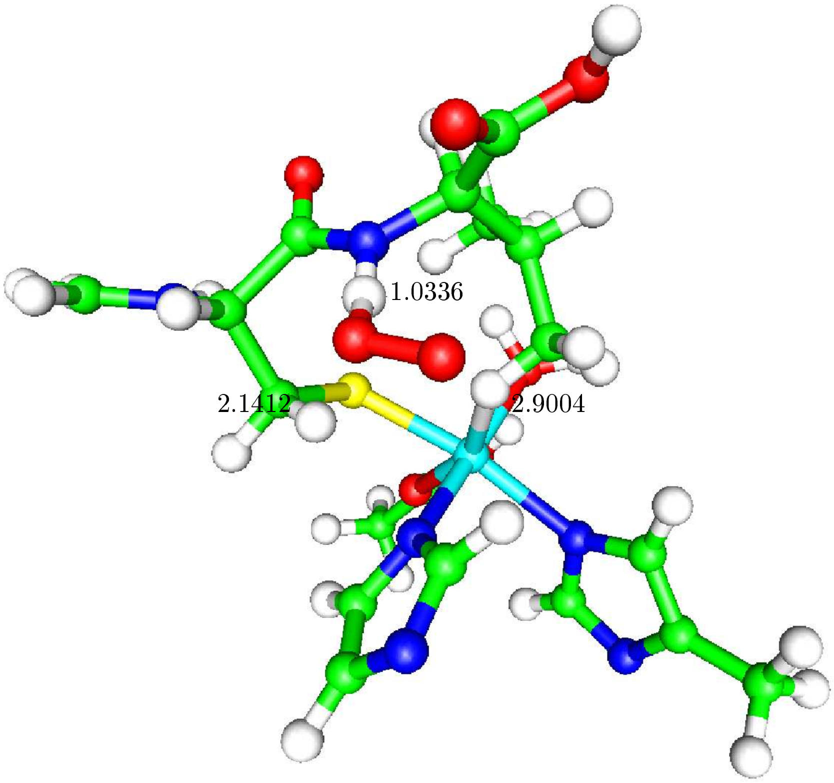


Abbildung 3.23: *Sauerstoffanlagerung, Dreiding, Abstände in Å*

Die unter diesen Überlegungen durchgeführten Berechnungen führen zu einem überraschendem Ergebnis. Vom Sauerstoff wird nicht eines der Wasserstoffatome angegriffen, sondern nur der Schwefel (vgl. Abbildung 3.24). Dies führt zu einer Oxidation des Schwefels, womit der Sauerstoff gebunden ist und für weitere Reaktionen nicht mehr zu Verfügung steht. Somit ist die ermittelte Geometrie für den Angriff des Sauerstoffs an das Substrat nicht mehr geeignet. Deshalb muß an dieser Stelle eine neue Geometrie ermittelt werden. Die Vorgehensweise wird im folgenden Kapitel beschrieben.

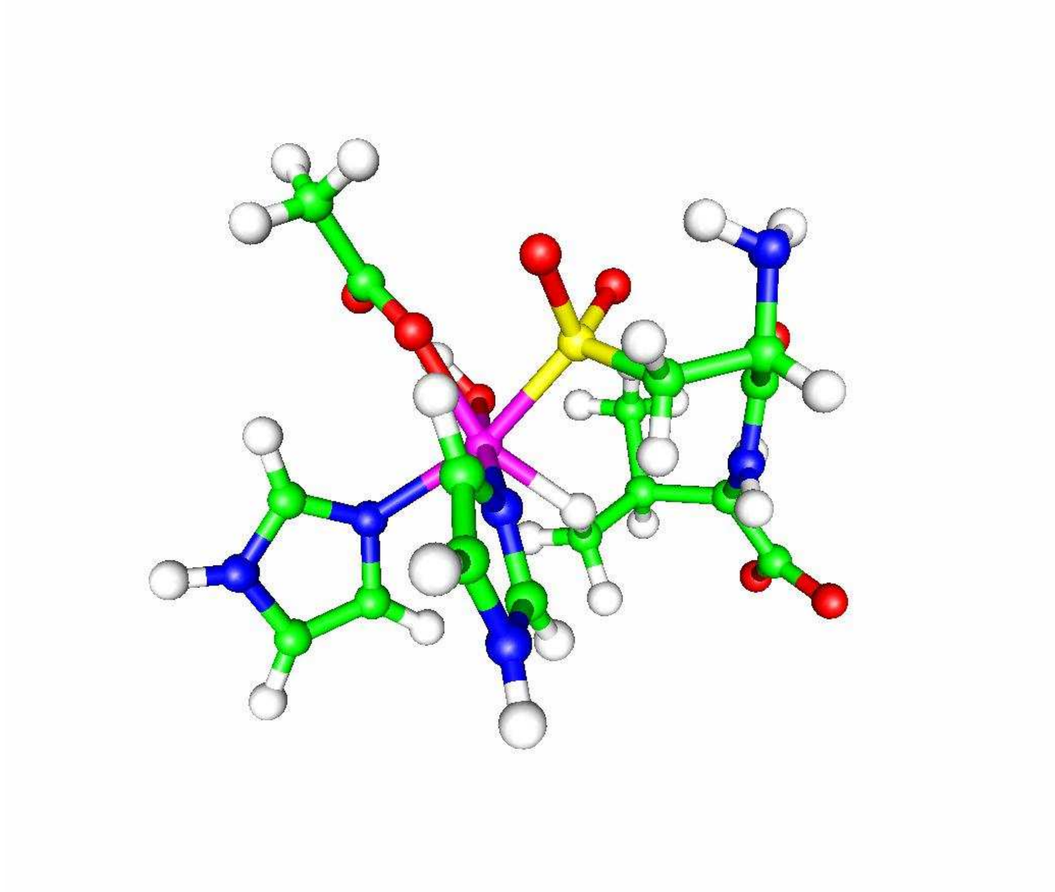


Abbildung 3.24: *Darstellung des oxidierten Schwefels*

Für die Anlagerung des Sauerstoffmoleküls an das aktive Zentrum ist es notwendig, eine energetisch günstige Konformation zu ermitteln. Dies soll mittels eines „Conformer Search" geschehen. Jedoch ist diese Methode, die in einigen Programmpaketen enthalten ist, für dieses Problem nicht einsetzbar, da die Möglichkeiten, das Proteingerüst geometrisch konstant zu halten, stark eingeschränkt sind. Folglich muß eine energetisch günstige Geometrie durch manuelles Variieren der geometrischen Parameter bezüglich der Lage des Sauerstoffatoms ermittelt werden.

3.3.1 Verifizierung der Energieminima einer Hyperfläche

Die Berechnung von Hyperflächen führt im Allgemeinen zu mehreren lokalen und globalen Minima und Maxima. Für eine Konformationsanalyse sind lediglich die Minima als Stabile Geometrien von Bedeutung. Auch die Berechnung der Hyperflächen mit DREIDING führt zu Hyperflächen mit mehreren Minima. Da molekularmechanische Methoden eine geringe Zuverlässigkeit bezüglich der berechneten Energien aufweisen, wird die Lage der Minima in einem Vergleich zu den mit B3Lyp/SDD ermittelten Energien verifiziert. Dabei wird so vorgegangen, daß die mit DREIDING ermittelten Geometrien der lokalen Minima und des globalen Minimums, sowie einige Punkte auf der Hyperfläche um diese Minima miteinander verglichen werden. Die Abbidung 3.25 zeigt diesen Vergleich. Die Energien auf der y-Achse sind relativ zum globalen Minimum aufgetragen.

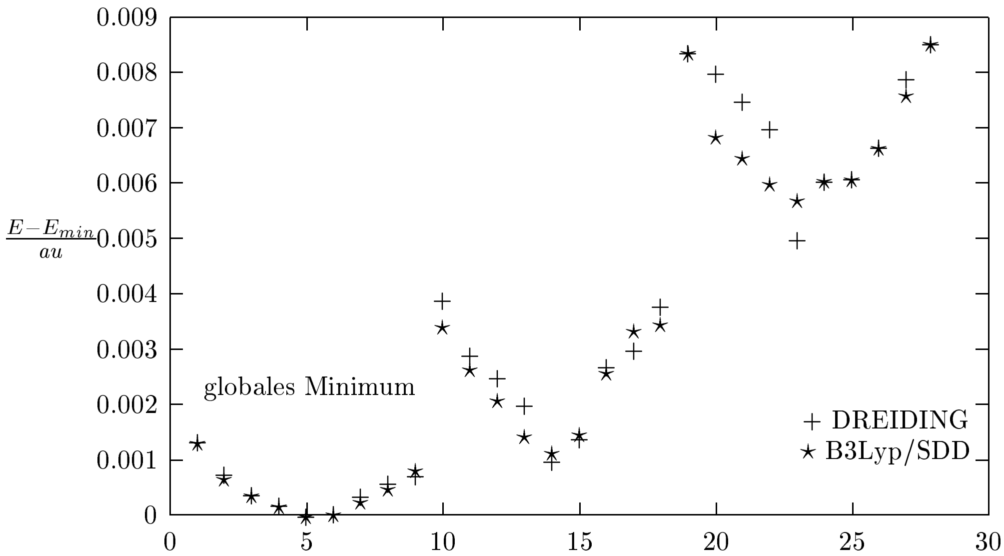


Abbildung 3.25: *Vergleich der Minima von DREIDING mit B3Lyp/SDD*

Wie aus der Abbildung 3.25 zu erkennen ist, liegen die Minima von DREIDING und B3Lyp/SDD bei den gleichen Punkten auf der Hyperfläche. Am globalen Minimum stimmen die Kurven weitestgehend überein. Bei den lokalen Minima weisen die Kurven teils deutlich voneinander ab. Während die Kurven um die Minima von B3Lyp/SDD weitestgehend einer parabolischen Funktion folgen, sind die Kurven von DREIDING unregelmäßig. Dies liegt darin begründet, daß bei DREIDING für jede neue Geometrieoptimierung die atomaren Parameter neu gebildet werden. Somit ist es möglich, daß einzelne Atome bezüglich ihrer Eigenschaften chemisch anders als vorher behandelt werden. Da aber die Lage der Minima gut wiedergegeben wird, stellt sich DREIDING als eine hervorragende Methode heraus, in kurzer Zeit ganze Hyperflächen zu berechnen. Dies stellt eine immense Zeitersparnis dar, da eine einzige Geomitrieoptimirtung mit B3Lyp/SDD mehrere

Monate Rechenzeit in Anspruch nimmt, eine komplette Hyperfläche mit DREIDING (bis zu ca. 10000 Geometrieoptimierungen) jedoch nach einigen Tagen erhältlich ist.

Der Conformer Search wird mit dem Kraftfeld DREIDING ausgehen von der in Abbildung 3.23 Konformation durchgeführt, wobei die Energieminima durch die DFT verifiziert werden müssen. Insgesamt wurden 8 Hyperflächen berechnet, die zwischen 100 und 10800 Geometrien enthalten. In der Abbildung 3.26 ist eine dieser Hyperflächen exemplarisch dargestellt. Hierbei ist das globale Minimum von Bedeutung.

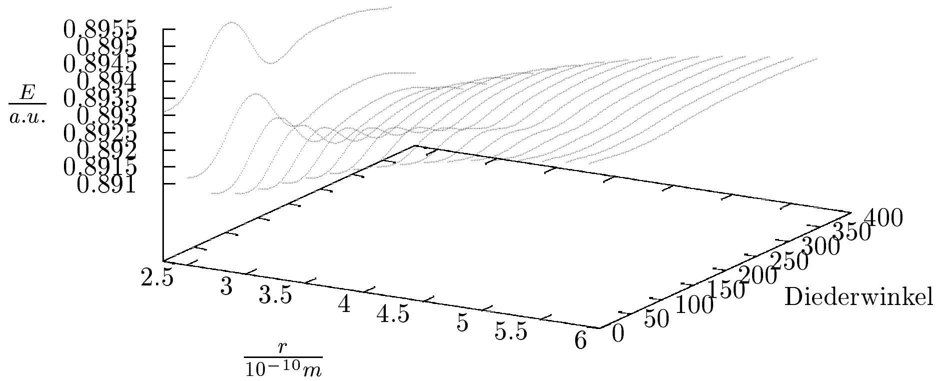


Abbildung 3.26: *Hyperfläche mit 10800 Datenpunkten*

Hier liegt das Minimum bei $r = 3,95$ Å und einem Diederwinkel von 20^o. Diese Geometrie stellt das globale Minimum dar. Eine weitere Geometrie ist lediglich $3\ kJ\ mol^{-1}$ ungünstiger. Beide Geometrien werden in den Abbildungen 3.27 und 3.28 dargestellt.

Die Abbildung 3.27 zeigt das Sauerstoffmolekül zwischen den Histidinresten. Diese Hi-

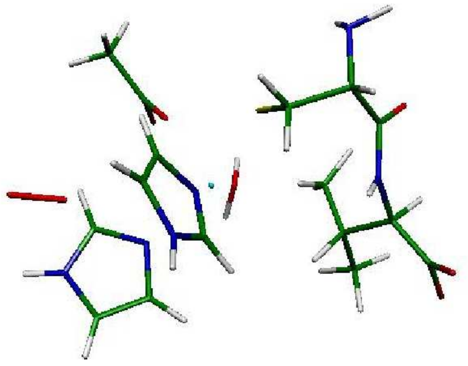


Abbildung 3.27: *Lokales Minimum*

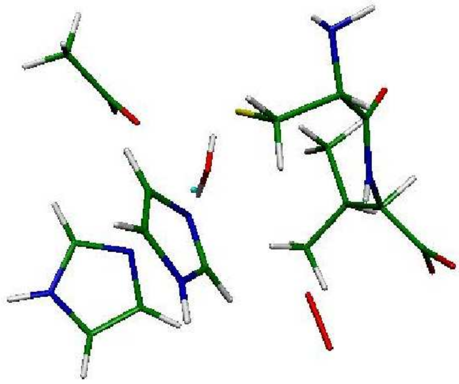


Abbildung 3.28: *Globales Minimum*

stidinreste schirmen das Sauerstoffmolekül jedoch vom Substrat ab. Die in der Abbildung 3.28 gezeigten Anordnung liegt das Sauerstoffmolekül zwischen aktivem Zentrum und Substrat. Eine weitere Verschiebung des Sauerstoffmoleküls in das aktive Zentrum hat einige interessante Auswirkungen. Die Tabelle 3.4 zeigt die Ladungsverteilungen ohne und mit Sauerstoff.

Die in der Tabelle 3.4 dargestellten Ladungen sind mittels einer NBO-Analyse berechnet worden. Die Bezifferung der Atome ist aus Abbildung 3.29 ersichtlich. Die Ladungen der zum Eisen benachbarten Atome zeigen durch den Angriff des Sauerstoffs keine deutliche Ladungsänderung. Jedoch sind erhebliche Unterschiede am Fe6 ersichtlich. Bereits bei einem Abstand von 4,5Å kommt es zu einer Wechselwirkung zwischen Eisen und dem Sauerstoffmolekül. Der Ladungsunterschied beträgt 0,38 Elektronen. Bei weiterer Reduktion des Abstandes erhöht sich diese Differenz auf 1,0 Elektronen. Diese Reduktion des Sauerstoffs ist verknüpft mit einer Bindungsaufweitung von 1,31Å auf 1,46Å bei

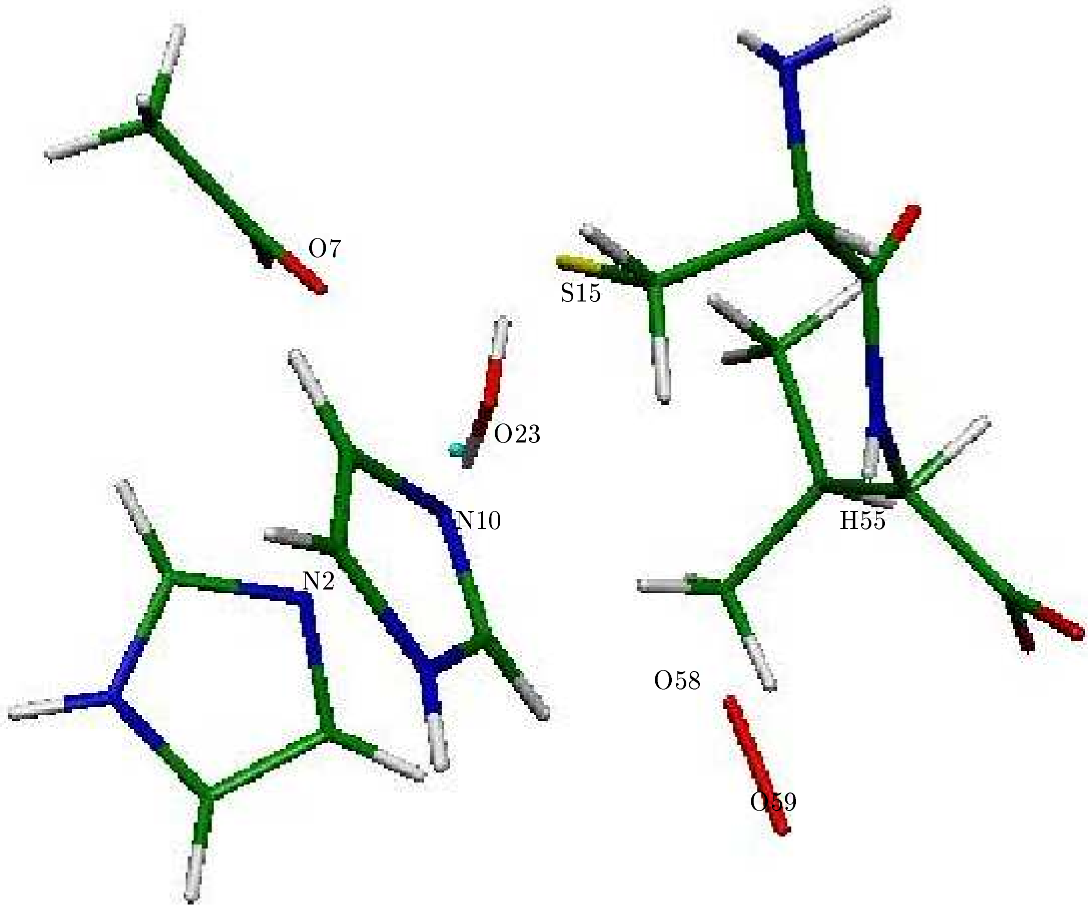


Abbildung 3.29: *Sauerstoffanlagerung mit DREIDING*

gleichzeitiger Abnahme der Bindungsordnung von 2,0 auf 0,9.

Zusätzlich wird das Sauerstoffmolekül mit abnehmenden Abstand zum Eisen polarisiert. Das dem Eisen abgewandte Sauerstoff O59 gewinnt an Ladungsdichte. Da H55 gleichzeitig Ladungsdichte verliert, deutet das auf eine Wechselwirkung beider Atome hin. Somit

Atom	ohne Sauerstoff	mit Sauerstoff	
		$r_{Fe6-O58} = 4.5$Å	$r_{Fe6-O58} = 2.5$Å
N 2	-0,60722	-0,60511	-0,48340
Fe 6	-0,74030	-0,36540	0,30911
O 7	-0,77922	-0,76168	-0,75959
N 10	-0,59092	-0,64903	-0,52078
S 15	-0,44050	-0,40783	-0,31508
O 23	-1,01794	-0,95951	-0,92812
O 58		-0,31595	-0,39960
O 59		-0,31532	-0,55824
H 55	0,39042	0,31243	0,39986

Tabelle 3.4: *Natürliche Ladungen vor und nach Annäherung eines Sauerstoffmolek263s*

ist deutlich, daß die Oxidation des Eisens den ersten, folglich den entscheidenden Reaktionsschritt darstellt.

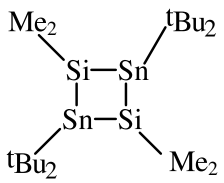
An dieser Stelle ist es mit den vorhandenen Methoden nicht mehr möglich fortzufahren, da das entwickelte Modell hier an seine Grenzen bezüglich der Konvergenz der DFT trifft.

Kapitel 4

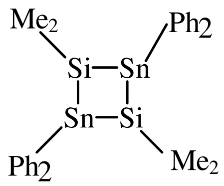
Entwicklung und Anwendung der Wibergfragmentmethode auf cyclische Stannylsilane

In Zusammenhang einer Kooperation mit Prof. Uhlig [11, 12] soll geklärt werden, ob die Ausbildung definierter Ringgrößen der synthetisierten cyclischen Zinn- Silicium- verbindungen thermodynamische Ursachen hat. Hierfür soll die Wibergfragmentmethode eingesetzt werden.

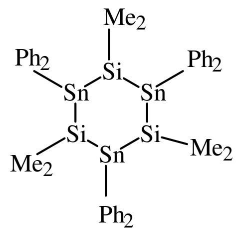
Bei cyclischen Stannylsilanen ist die Ringgröße der gebildeten Produkte in der Regel abhängig von den Liganden. In diesem konkreten Fall weichen die beobachteten Produkte jedoch von der Regel ab.



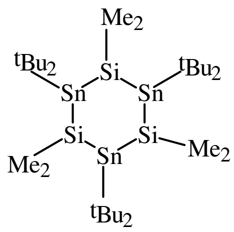
1



2



3



4

Die Verbindungen **1** bis **4** unterscheiden sich durch die Substituenten am Zinn. Bei analogen Verbindungen würden unter gleichen Bedingungen den Phenylresten ein Vierring ausbildet, mit ^{t}Bu- Resten ein Sechsring (Verbindungen **2** und **4**. Beobachtet wird jedoch die Ausbildung der Verbindungen **1** und **3**.

Zur Untersuchung der thermodynamischen Daten wird hier auf die Wibergfragmentmethode zurückgegriffen. Da die hier nötigen experimentellen Bildungsenthalpien für die cyclischen Silane und Stannane aus Literaturdaten nicht verfügbar sind, muß eine Methode zur Erfassung der Ringspannung entworfen werden.

Wie schon in der Dissertation von M. Braunschweig[19] und meiner Diplomarbeit[20] aufgezeigt, ist die Genauigkeit der Energien, die aus Wibergfragmenten ermittelt werden, im Rahmen der chemischen Genauigkeit exakt wiedergegeben. Ebenso lassen sich durch geeignete Korrekturen Bildungsenthalpien bei besonderen molekularen Gegebenheiten erfassen. Eine notwendige Voraussetzung für diese Methode sind experimentell gemessene Bildungsenthalpien ähnlicher Verbindungen. Zu den hier untersuchten Substanzen liegen allerdings keine experimentellen Bildungsenthalpien ähnlicher Verbindungen vor. Dies sind in diesem Fall die zu untersuchenden gespannten Ringsysteme. Deshalb wird die Wibergfragmentmethode weiterentwickelt um das Problem zu umgehen. Der Lösungsansatz wird in den folgenden Abschnitten diskutiert.

4.1 Erfassung der Ringspannung mittels Wibergfragmenten

Das erste Konzept der Ringspannung geht auf Arbeiten von Bayer[55, 3] zurück. Seine Spannungsstheorie besagt, das Ringe aus Kohlenstoff, bei denen der Bindungswinkel vom Tetraederwinkel abweichen, weniger stabil sind. Das Spannungskonzept von Bayer wurde im Laufe der Zeit stark erweitert.

Für gespannte Ringsysteme mit bekannter Bildungsenthalpie stellt die Verwendung von Wibergfragmenten kein Problem dar. Liegen aber keine experimentellen Daten vor, so lassen sich prinzipiell auch keine Wibergfragmente bilden. Um das Problem zu umgehen, wird ein Vergleich von gespannten zu ungespannten Systemen gezogen, woraus sich ein Korrekturterm für die Spannungsenergie berechnen läßt. Ausgehend von einem ungespannten cyclischen Ring der Bildungsenthalpie $\Delta_f H(i_u)$ und einem analogen gespannten System $\Delta_f H(j_g)$ läßt sich unter Verwendung der Spannungsmodelle ein Ansatz zur Korrektur entwickeln.

Nach Bayer stellt die Ringspannung die Energie dar, die als Differenz zwischen dem gespannten Ring und dem aus ungespannten Fragmenten gebildeten theoretischen Ring.

$$RS = \nu_j \Delta_f H_{gespannt,j} \quad \nu_i \Delta_f H_{ungespannt,i} \tag{4.1}$$

Wird nun dafür ein Ausdruck für gespannte Systeme unter Einbeziehung einer Korrektur K_{RS} eingeführt ergibt sich:

$$\Delta_f H_{gespannt} = E^{HF}_{ungespannt,j} \quad \sum_j n_j \left(E_i + K_{RS}\right) \tag{4.2}$$

Somit läßt sich die Korrektur K_{RS} berechnen.

4.2 Verifizierung der Ringspannungserfassung

Im folgenden werden die Ergebnisse der Ringspannungskorrektur anhand einfacher Verbindungen verifiziert.

In der Tabelle 4.1 sind folgende Ergebnisse den experimentellen Daten gegenübergestellt. Die Zugehörigen Fragmente 12 aus HF- Energien und den experimentellen Werten folgender Verbindungen gebildet.

Fragment	$\frac{E}{au}$	Verbindung
CH_3	-39,5872346	Ethan [56]
CH_2	-39,0145924	Propan [56]
$tert \quad CH$	-38,4380853	Isobutan [57]

Tabelle 4.1: *Wibergfragmente von Aliphaten*

Mit den Korrekturen für den Dreiring $K_{RS,3} = 0,0216268364\ au$ und den Vierring $K_{RS,4} = 0,0175736402\ au$, die ausgehend vom Cyclohexan[58] gebildet werden ergeben sich die Werte in der folgenden Tabelle. SDD/Korr bezeichnet die Bildungsenthalpie, die nach der o.g. Erfassung der Ringspannung aus den HF-Energien mit dem Basissatz SDD berechnet sind, SDD bezeichnet die „klassische" Berechnung mittels Wibergfragmenten[20] und PM3 bezeichnet die Bildungsenthalpie aus einer semiempirischen PM3 Berechnung.

Verbindung	$\frac{\Delta_f H}{kJ\ mol^{-1}}$			
	exp.	ber.		
		SDD/Korr	SDD	PM3
cis-1,2-Diethylcyclopropan	$44,6$ $1,63$[59, 60]	-43,6	-47,2	-37,7
trans-1,2-Diethylcyclopropan	$49,12$ $1,8$[59, 60]	-49,7	-53,4	-39,7
Ethylcyclopentan	$127,1$ $1,0$[58]	-125,9	-126,6	-146,5
cis-1,2-Diethylcyclopentan	$129,5$ $1,3$[61]	-128,9	-127,9	-142,3
trans-1,2-Diethylcyclopentan	$136,7$ $1,3$[61]	-136,0	-136,0	-150,8

Tabelle 4.2: *Bildungsenthalpien von Cycloaliphaten im Vergleich*

Wie aus der Tabelle 4.2 ersichtlich ist, liegen die theoretisch berechneten Bildungsenthalpie, mit Ausnahme von PM3, im Rahmen der experimentellen Genauigkeit. Dies gilt für die verschiedenen Ringgrößen gleichermaßen.

Somit erleichtert diese Weiterentwicklung der Wibergfragmentmethode die Anwendung auf universellere Probleme und verringert die Abhängigkeit von experimentellen Daten. Dies ist von besonderem Vorteil für Verbindungen, die extrem gefährlich nur in geringen

Mengen hergestellt werden können, sehr teuer sind oder deren experimentellen energetischen Daten nur sehr schwer respektive überhaupt nicht zugänglich sind. Nach Ermittlung der Korrekturen ist diese Methode ebenso wie die „klassischen" Wibergfragmente schnell und universell einsetzbar. Im Zusammenhang mit einer Datenbank sind somit die Bildungsenthalpien unbekannter Substanzen für jeden Chemiker schnell und einfach zugänglich.

4.3 Anwendung der Methode auf cyclische Zinn- silizium- verbindungen

Die hier Nötigen Fragmente werden in der folgenden Tabelle aufgelistet.

Fragment	$\frac{E}{au}$	Verbindung
Si	-288,8868787	Tetramethylsilan [62]
Zn	-3,311092373	Tetramethylstannan [62]
$C\ \ H(aromatisch)$	-38,44554678542	Benzol[63, 58]
$C(aromatisch)$	-37,87566025686	Toluol [63, 58]

Tabelle 4.3: *Wibergfragmente von Zinn und Silizium*

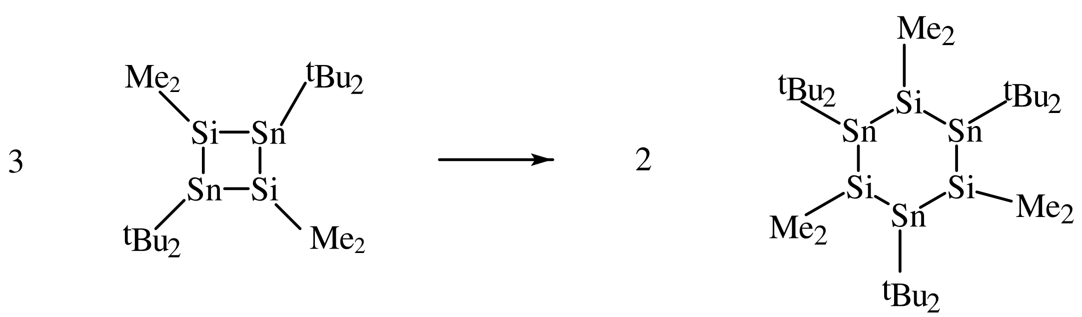
Aufgrund der durchgeführten Rechnungen läßt sich thermodynamische Stabilität der verschiedenen Verbindungen abschätzen. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen und Abbildungen dargestellt.

Für die Bildungsenthalpien wurden für die Verbindungen folgende Werte ermittelt:

Verbindung	$\frac{\Delta_f H}{kJ\ mol^{-1}}$
1	587,4
2	-497,9
3	-456,1
4	321,82

Tabelle 4.4: *Bildungsenthalpien der Verbindungen* **1** - **4**

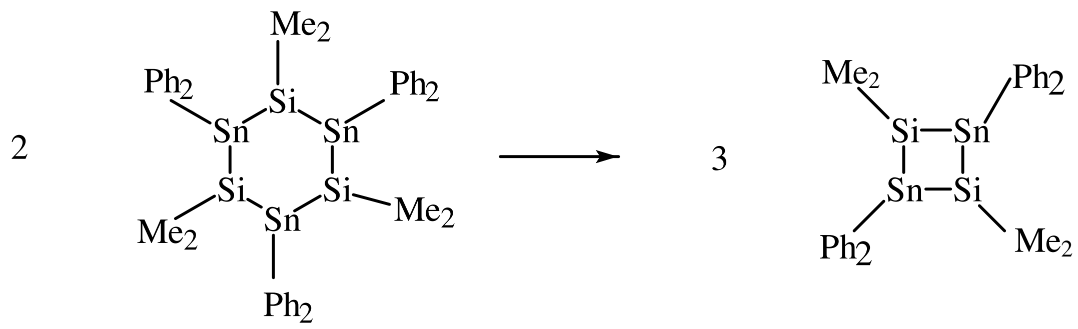
Zur Stabilitätsabschätzung der verschiedenen Ringgrößen werden die Reaktionen



(R1)

1 **4**

und



(R2)

3 **2**

berechnet. Für (R1) ergibt sich eine Reaktionsenthalpie von $\Delta_r H = \; 209,4\ kJ\ mol^{-1}$, für (R2) $\Delta_r H = \; 372,5\ kJ\ mol^{-1}$. Aus dem Vergleich der gedachten Reaktionen folgt ein Stabilitätsunterschied von $163,1\ kJ\ mol^{-1}$ zugunsten der Verbindung **3** im Vergleich mit Verbindung **4**. Damit ist die hier beobachtete Ausnahme durch thermodynamische Stabilitätsunterschiede gegeben.

Kapitel 5

Zusammenfassung

Untersucht worden ist die Reaktion der Isopenicillin-N-synthase von Baldwin et al. Bei dieser Untersuchung sind Röntgenstrukturen vor und nach der Reaktion aufgenommen worden. Anhand dieser experimentellen Anhaltspunkte wird versucht, die Reaktion mit Hilfe theoretischer Methoden nachzuvollziehen. Aufgrund der hohen Atomzahl im Enzym ist eine vollständige $ab\ initio$-Rechnung mit den gegenwärtig zur Verfügung stehenden Ressourcen nicht möglich. Aus diesem Grund werden zur Durchführung des Projekts kombinierte MM/MO-Methoden (Molecular Mechanics/ Molecular Orbital) eingesetzt. Bei diesen Verfahren werden die Teile des Moleküls, die nicht direkt an der Reaktion beteiligt sind, in einer klassischen (MM) Näherung behandelt. Hier ist dies die Hauptkette des Proteins sowie alle Seitengruppen, die sich nicht in unmittelbarer Nähe des Substrats befinden. Für eine solche molekularmechanische Behandlung steht das Standardverfahren DREIDING zur Verfügung. Für die quantechemische Näherung (MO) steht die Dichtefunktionalmethode B3Lyp/SDD zu Verfügung.

Es konnte ein systematisch verkleinertes Modell für den Enzymsubstratkomplex entwickelt werden. Durch Kombination von MM- und MO- Methoden wird der Einfluß des Enzyms auf das Substrat deutlich. Dieser Einfluß zeigt sich zum einen in der Geometrie des Substates, zum anderen in den elektronischen Eigenschaften. Während der geometrische Einfluß sich auf eine an der Reaktion nicht beteiligten Seitenkette bezieht, wirken sich die Änderungen der elektronischen Eigenschaften auf die an der Reaktion beteiligten Atome aus.

Durch Anlagerung des zur Reaktion benötigten Sauerstoffs als initialer Reaktionsschritt werden die elektronischen Eigenschaften der beteiligten Atome massiv beeinflußt. Die Ladungen der zum Eisen benachbarten Atome zeigen durch den Angriff des Sauerstoffs keine deutliche Ladungsänderung. Jedoch sind erhebliche Unterschiede am Eisen ersichtlich. Bereits bei einem Abstand von 4,5Å kommt es zu einer Wechselwirkung zwischen dem Eisen und dem Sauerstoffmolekül. Der Ladungsunterschied am Eisen beträgt 0,38 Elektronen. Bei weiterer Reduktion des Abstandes erhöht sich diese Differenz auf 1,0 Elektronen. Diese Reduktion des Sauerstoffs ist verknüpft mit einer Bindungsaufweitung von 1,31Å auf 1,46Å bei gleichzeitiger Abnahme der Bindungsordnung von 2,0 auf 0,9.

Zusätzlich wird das Sauerstoffmolekül mit abnehmenden Abstand zum Eisen polarisiert. Das dem Eisen abgewandte Sauerstoffatom gewinnt an Ladungsdichte. Da das diesem benachbarte Wasserstoffatom gleichzeitig Ladungsdichte verliert, deutet das auf eine Wechselwirkung beider Atome hin. Somit ist deutlich, daß die Oxidation des Eisens der erste, folglich der entscheidende Reaktionsschritt darstellt. Ebenso wird ersichtlich, daß dieser

Angriff gleichzeitig mit einem Angriff auf das an der Reaktion beteiligte Wasserstoffatom stattfindet. Somit verläuft dieser erste Reaktionsschritt konzertiert.

In Zusammenhang einer Kooperation mit Prof. Uhlig wurde geklärt, ob die Ausbildung definierter Ringgrößen der synthetisierten cyclischen Zinn- Siliciumverbindungen thermodynamische Ursachen hat. Die Synthese von cyclischen Stannylsilanen mit tert-Butyl-Gruppen sollte zu 1,1,3,3,5,5- Hexa- tert- butyl- 1,3,5- tristannyl- 2,2,4,4,6,6- hexamethylcyclohexasilan, mit Phenylgruppen zu 1,1,3,3- Tetra- phenyl- 1,3- di- stannyl-2,2,4,4-tetramethylcyclotetrasilan führen. Beobachtet wird aber die Ausbildung von 1,1,3,3,5,5-Hexa- phenyl- 1,3,5- tristannyl- 2,2,4,4,6,6- hexamethylcyclohexasilan und 1,1,3,3- Tetra-tert- butyl- 1,3- distannyl- 2,2,4,4- tetramethylcyclotetrasilan.

Zur Lösung dieses Problems wurde auf die Wibergfragmentmethode zurückgegriffen. Da die hier nötigen experimentellen Bildungsenthalpien für die cyclischen Silane und Stannane aus Literaturdaten nicht verfügbar sind, muß eine Methode zur Erfassung der Ringspannung entworfen werden.

Für Ringspannung sind bis zur heutigen Zeit verschiedene Modelle entwickelt worden, die prinzipiell auf der Energiedifferenz von ungespannten zu gespannten Systemen basieren. Mit Hilfe dieser Annahme und den ermittelten übrigen Fragmenten lassen sich Energien von gespannten Cyclen relativ zu ungespannten Cyclen berechnen und daraus eine Korrektur für das „ungespannte” in Vergleich zum „gespannten” Gruppenäquivalent errechnen. Die hier enwickelte Methode ist an Cycloaliphaten gestestet worden. Die resultierende Genauigkeit der Berechneter Bildungsenthalpien ist mit Abweichungen von $1\ kJ\ mol^{-1}$ im Rahmen der experimentellen Genauigkeit.

Die Anwendung der hier entwickelten Methode auf das im Rahmen der Zusammenarbeit gestellte Problem bestätigt die experimentellen Befunde. So ist die Bildung 1,1,3,3,5,5-Hexa- phenyl- 1,3,5- tristannyl- 2,2,4,4,6,6- hexamethylcyclohexasilans gegenüber 1,1,3,3,5,5-Hexa- tert- butyl- 1,3,5- tristannyl- 2,2,4,4,6,6- hexamethylcyclohexasilan um $163,1$ $kJ\,mol^{-1}$ bevorzugt.

Damit ist die Wibergfragmentmethode ein Stück erweitert worden und somit universeller einsetzbar. Da die notwendigen ab-initio - Berechnungen einfache HF-Berechnungen sind ist somit der Aufwand relativ gering und somit auch (in Verbindung mit einer Datenbank) einem Laborchemiker relativ einfach und ohne großes theoretisches Vorwissen zugänglich.

Literaturverzeichnis

[1] Andrew R. Leach. Molecular modeling. *Longman*, 1996.

[2] Nicolai I. Burzlaff, Peter J. Rutledge, Ian J. Clifton, Charles M. H. Hensgens, Michael Pickford, Robert M. Adlington, Peter L. Roach and Jack E. Baldwin. *Nature*, 401:721–724, 1999.

[3] K. Peter C. Vollhardt. Organische Chemie, VCH Verlagsgesellschaft MbH, Weinheim, Deutschland, 1988.

[4] L. H. Hartwell, M. B. Kastan. *Science*, 266:1821, 1994.

[5] D. Voet, J.G. Voet. *Biochemie VCH Verlagsgesellschaft MbH, Weinheim, Deutschland (1994).*

[6] Andreas Becker, Ilme Schlichting, Wolfgang Kabsch, Dieter Groche, Sabine Schultz and A. F. Volker Wagner. *Nature America Inc.*, 273:11413–11416, 1998.

[7] Paul A. Rejto, Djamal Bouzida, Gennady M. Verkhivker. *Agouron Pharmaceuticals, Inc., 3301 North Torrey Pines Court, La Jolla, CA 92037, USA*, 1998.

[8] P.K. Weiner, A.J. Wilkinson, P.H. Hünenberger, W.F. van Gunsteren. Computer simulation of biomolecular systems. Theoretical and experimental applications. Kluwer Dordrecht, pp 3-82. 1997.

[9] P.A. Rejto, G.M. Verkhivker. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:325–329, 1996.

[10] Shah NK, Rejto PA, Verkhivker GM. 28:421–433, 1997.

[11] B. Arkles,. *Chem. Tech.*, 1983.

[12] P. Bleckmann, T. Brüggemann, S. Maslennikov, T. Schollmeier, M. Schürmann, I. Spirina, M. Tsarev, F. Uhlig. *J. Organometallic Chem.*, 686:332, 2003.

[13] J. S. Thayer. *Adv. Organomet. Chem.*, 13, 1975.

[14] S. Yajima,. *Am. Ceram. Soc. Bull.*, 62, 1983.

[15] C. A. Pearce. *Chem. Soc.*, 1972.

[16] I. Manners. *Angew. Chem.*, 108, 1996.

[17] G. J. M. van der Kerk, J. G. A. Luijten. *J. Appl. Chem.*, 1956.

[18] J. S. Thayer. *Adv. Organomet. Chem.*, 13, 1975.

[19] M. Braunschweig. *Dissertartion, Universität Dortmund*, 2000.

[20] T. Brüggemann. *Diplomarbeit, Universität Dortmund*, 2000.

[21] Wiberg Kenneth B. *J. Comp. Chem.*, 5(2):197–199, 1984.

[22] M. R. Ibrahim, P. von Ragué Schleyer. *J. Comp. Chem.*, 6(3):157–167, 1985.

[23] Dariush Habibollahzadeh, M. Edward Grice, Monica C. Concha , Jane S. Marray und Peter Politzer. *J. Copm. Chem.*, 16(5):654–658, 1995.

[24] Susan J. Mole, Xuefeng Zhou und Ruifeng Liu. *J. Phys Chem*, 100:14665–14671, 1996.

[25] Kenneth B. Wiberg. *J. Org. Chem.*, 50:5285–5291, 1985.

[26] Besty M. Rice, Sharmila V. Pai und Jennifer Hare. *Combustion and Flame*, 118:445–458, 1999.

[27] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, V.G. Zakrzewski, J.A. Montgomery, Jr., R.E. Stratmann, J.C. Burant, S. Dapprich, J.M. Millam, A.D. Daniels, K.N. Kudin, M.C. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V.Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S.Clifford, J. Ochterski, G.A. Petersson, P.Y. Ayala, Q. Cui, K.Morokuma, D.K. Malick, A.D. Rabuck, K. Raghavachari, J.B. Foresman, J. Cioslowski, J.V. Ortiz, A.G. Baboul, B.B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, R.L. Martin, D.J. Fox, T. Keith, M.A. Al-Laham, C.Y. Peng, A. Nanayakkara, C. Gonzalez, M. Challacombe, P.M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M.W. Wong, J.L. Andres, C. Gonzalez, M. Head-Gordon, E.S. Replogle, J.A. Pople. *Gaussian 98, Revision A.7*. Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 1998.

[28] Attila Szabo und Niel S. Ostlund. *Modern Quantum Chemistry*. Dover Publications, INC., Mineola, New York, 1989.

[29] Joachim Reinhold. *Quantentheorie der Moleküle*. Teubner Studienbücher: Chemie, Stuttgart, 1994.

[30] M. Born and R. Oppenheimer. *Ann. Phys.*, 20:30, 1927.

[31] Peter W. Atkins. *Physikalische Chemie*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 2.korr. Nachdruck der 1. Auflage, 1987.

[32] A. S. Dawydow. Quantenmechanik, 8. Auflage, Johann Ambrosius Barth, 1992.

[33] G. C. Hall. *Proc R. Soc. London B*, 205:5413, 1951.

[34] W. Kohn and L. J. Sham. *Physical Review*, 140:A1133–A1138, 1965.

[35] P. Hohenberg, W. Kohn. *Physical Review*, pages B864–B871, 1964.

[36] A.D. Becke. *J. Chem. Phys. 98 (1993) 5648*.

[37] J.P. Perdew, Y. Wang. *Phys. Rev. B45 (1993) 13244*.

[38] J. J. P. Steward. *J. Comp. Chem.*, 10:209–220, 1989.

[39] J. J. P. Steward. *J. Comp. Chem*, 10:221–231, 1989.

[40] Mayo SL, Olafson BD, Goddard WA III. *Phys Chem*, 94:8897–8909, 1990.

[41] J.C. Slater. *Phys. Rev. 37 (1931) 481*.

[42] A. Messiah. *Quantenmechanik Bd. 2*. de Gruyter, Berlin, 1979.

[43] R. E. Moss. Advanced molecular quantum mechanics, chapman and hall, london 1973.

[44] T. H. Dunning, Jr and P. J. Hay. In modern theoretical chemistry, ed. schaefer, ii plenum: New york. pages 1–28, 1976.

[45] P. Fuentealba, H. Preuss, H. Stoll and L. v. Szentpaly. *Chem. Phys. Lett. 89.*, page 418, 1989.

[46] R.S. Mulliken. *J. Chem. Phys. 23 (1955) 1833.*

[47] A.E. Reed, F. Weinhold. *J. Chem. Phys. 83 (1985) 1736.*

[48] V. Fock. *Z. Phys. 61 (1930) 126.*

[49] J.E. Carpenter, F. Weinhold. *Theochem. 169 (1988) 41.*

[50] A.E. Reed, R.B. Weinstock, F. Weinhold. *J. Chem. Phys. 83 (1985) 735.*

[51] A.E. Reed, L.A. Curtis, F. Weinhold. *Chem. Rev. 88 (1988) 899.*

[52] M. J. Ryle, R. P. Hausinger. *Chemical Biology*, 6:193–201, 2002.

[53] J. M. Elkins, P. J. Rutledge, N. I. Burzlaff,I. J. Clifton, R M. Adlington, P. L. Roach, J. E. Baldwin . *Org. Biomol. Chem*, 1:1455–1460, 2002.

[54] Hollemann Wieberg. Lehrbuch der anorganischen chemie. 91. - 100.,verbesserte Auflage, 1985.

[55] Walter Bayer. *Lehrbuch der Organischen Chemie*. s. Hirzel Verlag, Stuttgart, 1991.

[56] D.A. Pittam und G. Pilcher. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1*, 68:2224–2229, 1972.

[57] W. D. Good. *J. Chem. Thermodyn*, 2:237–244, 1970.

[58] E. J. Prosen, W. H. Johnson und F. D. Rossini. *J. Res. NBS*, pages 51–56, 1946.

[59] K. B. Wiberg, E. C. Lupton, D. J. Wassemann and A. de Meijere. *J. Am. Chem. Soc.*, 106:1740–1744, 1984.

[60] A. E. Beezer, W. Luttke, A. Meijere and C. T. Mortimer . *J. Chem. Soc. B*, pages 648–649, 1966.

[61] W. H. Johnson, E. J. Prosen and F. D. Rossino. *J. Res. NBS*, 42:251–255, 1949.

[62] M. F. Lappert, J. B. Pedley, J. Simpson and T. R. Spalding. *J. org. Chem.*, 29:195–207, 1971.

[63] E. J. Prosen und F. D. Rossini. *J. Res. NBS*, pages 263–267, 1945.