

# **Kraftfeldbasierte Untersuchung der helikalen V-Amylosestruktur und ihrer Einschlusskomplexe mit polymeren Gastmolekülen**

Von der Fakultät für Naturwissenschaften

der Universität Paderborn

genehmigte Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

- *Dr. rer. nat.* -

von

**Markus Tusch**

aus Schmallenberg

Paderborn 2011



Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von November 2007 bis September 2011 im Fachgebiet Organische Chemie der Fakultät für Naturwissenschaften der Universität Paderborn unter Anleitung von Prof. Dr. Gregor Fels angefertigt.

Referent: Prof. Dr. Gregor Fels

Korreferent: Prof. Dr. Katja Loos

Diese Arbeit wurde eingereicht am: 05. Oktober 2011

Datum der mündlichen Prüfung: 04. November 2011



## *Danksagung*

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Gregor Fels für die interessante Themenstellung und die hervorragende Unterstützung und Betreuung während meiner Promotionszeit. Seine ständige Diskussionsbereitschaft und nicht zuletzt die vielen Freiheiten, die er mir einräumte, hatten maßgeblichen Anteil am Gelingen meiner Arbeit.

Frau Prof. Dr. Katja Loos danke ich für die fachlichen Diskussionen und Anregungen sowie für die bereitwillige Übernahme des Korreferates.

Bei Herrn Lars A. Haller, Herrn Dr. Jens Krüger, Frau Iris Schönen und Herrn Dr. Oliver Stüker bedanke ich mich für die zahlreichen unschätzbareren Hilfen bei vielen Softwareanwendungen sowie für die freundliche administrative Unterstützung beim Umgang mit Servern und Betriebssystemen. Herrn Dr. Oliver Stüker gilt mein Dank auch speziell für die Einführung in GROMACS und die Hilfe bei der Erstellung der Amylosetopologie. Bei Herrn Dr. Jens Krüger möchte ich mich darüber hinaus für das Zurverfügungstellen von Rechenzeit und –kapazität, viele simulationsbezogene Anregungen und für das Korrekturlesen großer Teile meiner Arbeit bedanken.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Arbeitskreises Fels danke ich für die hervorragende Zusammenarbeit und die angenehme Atmosphäre. Für das freundliche Büroklima und die ständige Hilfsbereitschaft bei Problemen aller Art sei an dieser Stelle noch einmal besonders Herrn Lars A. Haller und Frau Iris Schönen gedankt.

Bei meinen Freunden bedanke ich mich für die abwechslungsreiche Zeit abseits der Chemie, die für mich stets ein willkommener Ausgleich zum Arbeitsalltag war.

Ganz besonders danke ich Beate für ihre viele Geduld und ihren Glauben an mich in jeder Situation. Gleichermaßen möchte ich meinen Eltern für ihre wertvolle Unterstützung während des Studiums und der Promotionszeit danken. Ohne sie wäre das alles nicht möglich gewesen.



*meinen Eltern*



## **Kurzfassung**

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden unter Verwendung von Techniken des Molecular Modeling und von Molekulardynamik-Simulationen strukturelle Eigenchaften der Amylose in Lösung und grundlegende energetische Aspekte der Einschlusskomplexe der Amylose mit synthetischen Polymeren untersucht.

Anhand eines helikalen Modells aus 55 Glucoseeinheiten wurde das molekulardynamische Verhalten der V-Amylose in Lösungen aus Wasser und DMSO in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen simuliert. Dabei diente insbesondere die Zahl intramolekularer H-Brücken des Glykans (zwischen OH<sub>2</sub> und OH<sub>3</sub>, OH<sub>6</sub> und OH<sub>2</sub> sowie OH<sub>6</sub> und OH<sub>3</sub> benachbarter Glucosereste) als Indikator für den verbleibenden Helixcharakter der Struktur. Die Resultate entsprechen der literaturbekannten These, dass ein steigender DMSO-Anteil die Stabilität der Helix begünstigt. Während Wassermoleküle aufgrund ihrer geringen Größe und idealen Fähigkeiten zur Ausbildung von H-Brücken mit jeder Hydroxylgruppe an der Helixoberfläche interagieren und schnell in die Sekundärstruktur der Amylose eindringen können, sind die größeren und sterisch anspruchsvolleren DMSO-Moleküle zunächst nur in der Lage, einzelne H-Brücken zu einem Teil der OH-Gruppen der Amylose auszubilden, so dass deren intramolekulares H-Brücken-Netzwerk über einen längeren Zeitraum intakt bleibt. Nach genügend langer Simulationszeit geht die helikale Struktur der Amylose jedoch sowohl in Wasser als auch in DMSO zugunsten einer zufälligen Orientierung der Polysaccharidkette verloren. Dabei werden OH<sub>6</sub>-OH<sub>2</sub>/OH<sub>3</sub>-H-Brücken im Vergleich zu OH<sub>2</sub>-OH<sub>3</sub>-H-Brücken bevorzugt abgebaut.

Die verwendete Methode zur energetischen Bewertung der Stabilität von Amylose-Einschlusskomplexen stellt eine Weiterentwicklung eines bereits im Rahmen meiner Masterarbeit entwickelten Konzeptes dar. Es wurden Einschlusskomplexe aus V-Amylose und langketigen Kohlenwasserstoffmolekülen modelliert, die in der Zahl der enthaltenen Ethersauerstoffatome und somit in ihrer hydrophilen Oberflä-

che variieren. Diese Komplexe wurden mithilfe von Molekulardynamik-Simulationen untersucht und schließlich anhand der Näherungsmethode der Linear Interaction Energy (LIE) hinsichtlich ihrer Gibbsschen Komplexbildungsenergie bewertet. Die Ergebnisse zeigen, dass eine nahezu lineare Korrelation zwischen der Größe der hydrophilen Oberfläche der Liganden und deren freier Enthalpie der Komplexbildung mit Amylose besteht. Dadurch werden literaturbekannte experimentelle Resultate von Kaneko *et al.* reproduziert, denen zufolge innerhalb der Reihe der Polymere PTHF, PTO und PEO eine Abnahme der Tendenz zur Komplexbildung mit Amylose auftritt. In diesem Zusammenhang konnte der Wert des in der LIE-Theorie vorgesehenen systemspezifischen Koeffizienten  $\gamma$  näherungsweise auf das Intervall [0,67; 4,46] kJ/mol eingegrenzt werden.

Somit ist es gelungen, ein grundlegendes Verfahren zur Vorhersage und Beschreibung der Eigenschaften von Einschluskomplexen aus Amylose und synthetischen Polymeren auf Basis theoretischer Methoden zu entwickeln, welches in Zukunft auf beliebige Gastmoleküle angewendet werden kann.

## **Abstract**

Within the scope of the present thesis, structural characteristics of amylose in solution and basic energetic features of amylose inclusion complexes with synthetic polymers have been investigated by means of molecular modeling techniques and molecular dynamics simulations.

Using a helical model of 55 glucose units, the dynamic behavior of V-Amylose in solutions of water and DMSO of varying mixing ratios was simulated, particularly employing the number of the glycan's intramolecular hydrogen bonds (between OH<sub>2</sub> and OH<sub>3</sub>, OH<sub>6</sub> and OH<sub>2</sub> as well as OH<sub>6</sub> and OH<sub>3</sub> of neighboring glucose residues) as an indicator for the structure's remaining helix character. The results parallel the assumption known from literature that an increasing percentage of DMSO results in increasing helical stability. While water molecules can interact with every hydroxyl group at the helix surface and quickly penetrate the helix coil due to their small size and ideal hydrogen bonding capabilities, the larger and sterically more demanding DMSO molecules are in the first instance capable of forming only single hydrogen bonds to part of the OH groups of the amylose molecule, thereby allowing a longer conservation of the intramolecular hydrogen bonding network. However, given a long enough simulation time, the helical structure of amylose is lost in water as well as in DMSO, yielding a random orientation of the polysaccharide strand. In this process, OH<sub>6</sub>-OH<sub>2</sub>/OH<sub>3</sub> H bonds are preferentially broken as compared to OH<sub>2</sub>-OH<sub>3</sub> H bonds.

The method used to energetically evaluate the stability of amylose inclusion complexes represents an advanced version of a concept originally developed in my master's thesis. Inclusion complexes were modeled from V-amylose and long-chain hydrocarbon molecules varying in the number of included ether oxygen atoms and consequently in their hydrophilic surface area. After being investigated by means of molecular dynamics simulations, the complexes were rated in terms of their Gibbs

energy of complex formation by the approximation method of the linear interaction energy (LIE). The results show an almost linear correlation between the size of the ligands' hydrophilic surface area and their free enthalpy of complex formation. In this way, experimental results from Kaneko *et al.* are reproduced, according to which the tendency to form a complex with amylose decreases within the polymer series PTHF, PTO, PEO. The value of the system specific LIE coefficient  $\gamma$  could be estimated at the interval [0.67, 4.46] kJ/mol in this context.

Insofar, I succeeded in developing a fundamental procedure for predicting and describing properties of inclusion complexes of amylose and synthetic polymers based on theoretical methods. This new methodology will be applicable to optional guest molecules in the future.

# **Inhaltsverzeichnis**

<b>Kurzfassung.....</b>	<b>I</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>III</b>
<b>Wichtige Abkürzungen und Symbole .....</b>	<b>VII</b>
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1 Die biologische Bedeutung von Kohlenhydraten.....	1
1.1.1 Reservepolysaccharide .....	2
1.1.2 Strukturgebende Polysaccharide.....	4
1.1.3 Kohlenhydrate als Informationsträger.....	5
1.2 Amylose als Bestandteil der Stärke .....	7
1.2.1 Natürliche Vorkommen.....	7
1.2.2 Strukturen .....	9
1.3 Amylose-Einschlusskomplexe .....	13
1.3.1 Der Iod-Amylose-Komplex.....	13
1.3.2 Einschlusskomplexe mit synthetischen Polymeren .....	16
1.3.3 Funktionalität der Amylose-Einschlusskomplexe.....	18
<b>2 Zielsetzung .....</b>	<b>21</b>
<b>3 Durchführung, Auswertung und Diskussion.....</b>	<b>23</b>
3.1 Modellierung und Charakterisierung der V-Amylose.....	23
3.1.1 Modellierung des V-Amylosemoleküls.....	24
3.1.2 Molekulardynamisches Verhalten unter Kristallbedingungen.....	27
3.2 Stabilität der Helixkonformation in Wasser-DMSO-Mischungen .....	32
3.2.1 Vorbereitung der Lösungsmittelgemische .....	33
3.2.2 MD-Simulationen der Amylose.....	36
3.2.3 Auswertung der MD-Simulationen .....	37

3.3	Amylose-Einschluskomplexe .....	54
3.3.1	Modellierung von Amylose-Einschluskomplexen .....	55
3.3.2	MD-Simulationen von Amylose-Einschluskomplexen .....	58
3.3.3	Konzept der Linear Interaction Energy .....	59
3.3.4	Auswertung nach dem Konzept der LIE.....	62
<b>4</b>	<b>Fazit und Ausblick .....</b>	<b>73</b>
<b>5</b>	<b>Technischer Teil .....</b>	<b>79</b>
5.1	Molecular Modeling .....	79
5.1.1	V-Amylose.....	79
5.1.2	Einschluskomplexe.....	79
5.1.3	Lösungsmittel.....	80
5.2	MD-Simulationen .....	81
5.2.1	GROMACS-Topologien .....	81
5.2.2	MD-Parameter .....	83
5.2.3	Auswertung .....	85
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>89</b>
<b>Anhang .....</b>		<b>A-1</b>
A.1	Stabilität der Helixkonformation in Wasser-DMSO-Mischungen bei Verwendung des SPC-Modells .....	A-1
A.2	Topologien .....	A-3
A.2.1	Amylose .....	A-3
A.2.2	Gastmoleküle .....	A-13
A.3	Publikationen .....	A-20

## Wichtige Abkürzungen und Symbole

GROMACS	GRONingen MAchine for Chemical Simulations
MOE	Molecular Operating Environment
MD	Molekuldynamik
PDB	Protein Data Bank
SPC, SPC/E	(Extended) Simple Point Charge
L00, ..., L15	Ligand00, ..., Ligand15 (Die Ziffern spezifizieren die Zahl der im Molekül enthaltenen Sauerstoffatome $\Sigma_O$ .)
PTHF	Poly(tetrahydrofuran)
PTO	Poly(trimethylenoxid)
PEO	Poly(ethylenoxid)
RMSD	Root Mean Square Deviation
SAS	Solvent Accessible Surface
LIE	Linear Interaction Energy
$N_{\text{tot}}$	Gesamtzahl intramolekularer Wasserstoffbrücken der Amylose (maximale Anzahl $N_{\text{max}} = 152$ )
$N_{\text{O}_2-\text{O}_3}, N_{\text{O}_6-\text{O}_2/3}$	Anzahl intramolekularer H-Brücken der Amylose zwischen OH2 und OH3 bzw. zwischen OH6 und OH2 oder OH3
$\omega_i$	Massenanteil der Komponente $i$ im Lösungsmittelgemisch
$\tau_{\text{sim}}$	Simulationszeit
$\Delta G_{\text{bind}}$	Gibbssche Bindungsenergie
$a, \beta, \gamma$	Gewichtungsfaktoren einzelner LIE-Terme
$\Delta \langle V^{j_k} \rangle$	Komplexbildungsbilanz $\Delta$ der über eine MD-Trajektorie gemittelten ( $\langle \rangle$ ) Van-der-Waals- ( $j = vdW$ ) bzw. elektrostatischen ( $j = el$ ) Wechselwirkungen $V$ des Liganden mit seiner Umgebung ( $k = l-i$ ) bzw. mit sich selbst ( $k = l-l$ )
$\Sigma_O$	Anzahl der im Gastmolekül enthaltenen Sauerstoffatome



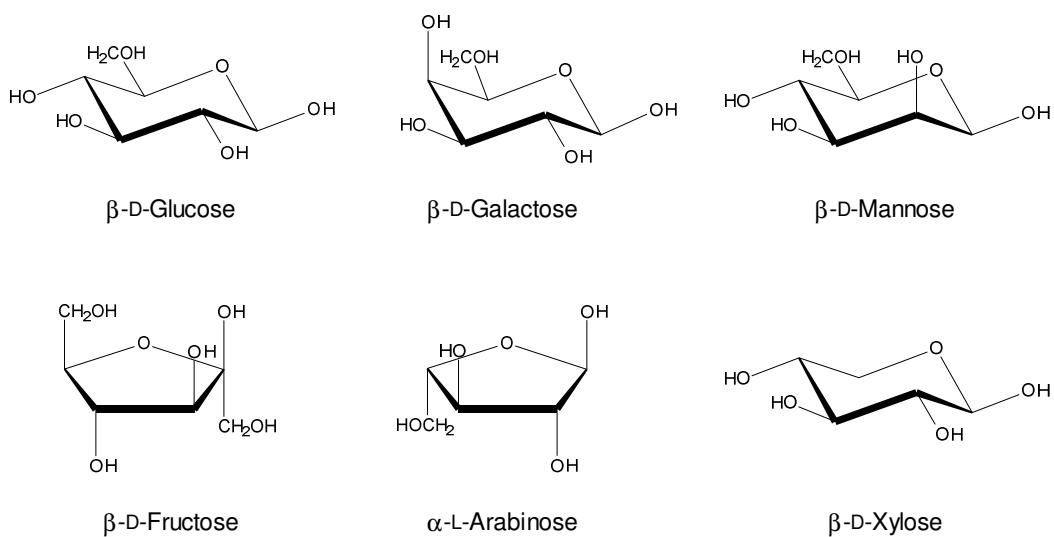
# **1 Einleitung**

## **1.1 Die biologische Bedeutung von Kohlenhydraten**

Die Stoffklasse der Kohlenhydrate ist in der belebten Natur ubiquitär anzutreffen und stellt bei einer weltweiten jährlichen Entstehung von schätzungsweise fast 200 Milliarden Tonnen einen Großteil der vorkommenden Biomasse dar.<sup>[1,2]</sup> Beim vor allem in grünen Pflanzen ablaufenden Prozess der Photosynthese wird atmosphärisches Kohlenstoffdioxid unter Verwendung von Wasser und solarer Energie in einer komplexen Reaktionsabfolge<sup>[3,4]</sup> reduziert, wobei letztendlich D-Glucose entsteht, der häufigste natürlich vorkommende Vertreter der Monosaccharide. Der Zucker kann wiederum im Zuge der Atmung von lebenden Organismen mithilfe von molekularem Sauerstoff oxidativ gespalten werden, um auf diesem Wege Energie zu gewinnen. Bei nicht ausreichender Glucosezufuhr sind vor allem Menschen, Tiere und einige Mikroorganismen auf den zur metabolischen Glykolyse weitgehend inversen Mechanismus der Gluconeogenese angewiesen, durch den Glucose alternativ zur Photosynthese aus Nicht-Kohlenhydraten wie Pyruvat und Lactat synthetisiert werden kann.<sup>[5]</sup>

Durch biochemische Umwandlungsprozesse entstehen aus D-Glucose andere Monosaccharide, vor allem die Hexosen D-Galactose, D-Mannose und D-Fructose sowie die Pentosen D- und L-Arabinose und D-Xylose (Abb. 1.1).<sup>[6]</sup> Im Pflanzenreich sind außerdem die Desoxyzucker L-Fucose und D-Rhamnose und die Uronsäuren D-Glucuron-, D-Galacturon-, D-Mannuron- und D-Guluronsäure weit verbreitet, während im tierischen Bereich vor allem die stickstoffhaltigen Kohlenhydrate Glucosamin und Galactosamin und die Iduronsäure von Bedeutung sind.<sup>[7]</sup>

Aufgrund ihrer inhärenten Oligofunktionalität stellen diese Einfachzucker die Grundbausteine beliebig komplexer Oligo- und Polysaccharide dar, welche eine Vielzahl biologischer Aufgaben übernehmen.



**Abb. 1.1** Die häufigsten natürlich vorkommenden Monosaccharide

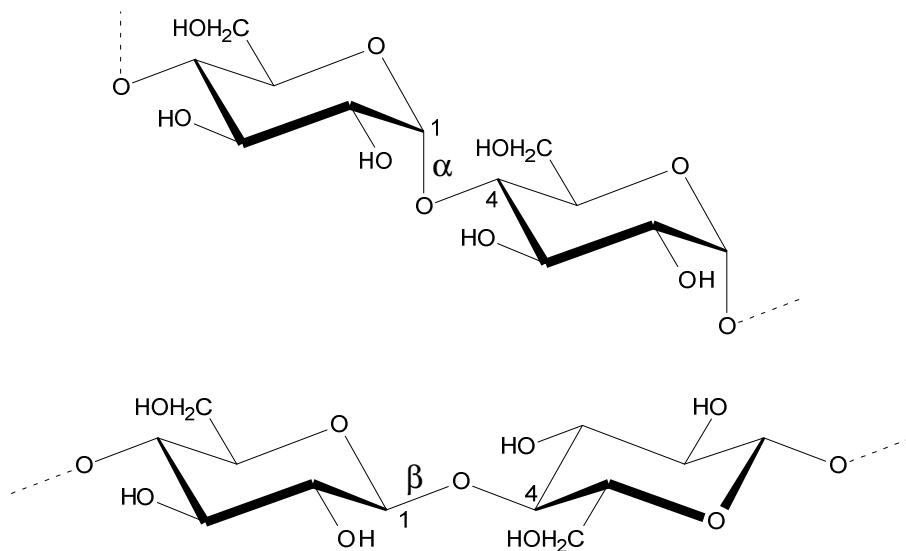
### 1.1.1 Reservepolysaccharide

Bei den sogenannten Reservepolysacchariden handelt es sich um Glycane mit metabolischer Energiespeicherfunktion für viele pflanzliche und tierische Zellen. Da die gespeicherte Energie im Bedarfsfall schnell und effizient freigesetzt werden soll, tritt bei diesen Polysacchariden vornehmlich die  $\alpha$ -glycosidische Bindungsform auf, welche im Vergleich zur  $\beta$ -Form gegenüber Hydrolyse wesentlich weniger stabil ist.<sup>[8]</sup> Der metabolische Abbau der Kohlenhydratpolymere geschieht durch zellendogene Hydrolasen und Glycosidasen, die die Spaltung der verschiedenen glycosidischen Bindungen katalysieren.<sup>[7]</sup>

Das am weitesten verbreitete Reservepolysaccharid der höheren Pflanzen ist die Stärke.<sup>[7]</sup> Diese wird in Form von Körnern im Cytoplasma der Pflanzenzellen deponiert und besteht weitgehend aus einer Mischung von Amylose und Amylopektin in für die pflanzliche Herkunft charakteristischen Anteilen. Bei Amylose handelt es sich um ein Homopolysaccharid aus D-Glucopyranoseeinheiten, die  $\alpha$ -(1→4)-glycosidisch zu linearen Ketten verknüpft sind (Abb. 1.2). Im Falle von Amylopektin sind derartige Ketten in ca. 4 % der möglichen Fälle<sup>[9]</sup> noch über  $\alpha$ -(1→6)-glycosidische Bindungen verzweigt.

In tierischen Zellen (vor allem in Leber- und Skelettmuskelzellen) findet sich als Äquivalent zur pflanzlichen Stärke das Glycogen in Form von cytoplasmatischen Körnchen. Die Primärstruktur des Glycogens unterscheidet sich von der des Amylopektins nur durch einen höheren Anteil an  $\alpha$ -(1→6)-Verzweigungen, die an jeder achten bis zwölften Monomereinheit auftreten. Aufgrund der damit zusammenhängenden großen Zahl an nicht-reduzierenden Kettenenden ist eine besonders schnelle metabolische Mobilisierung durch Glycogenphosphorylase möglich.<sup>[8]</sup>

Weitere bedeutende Reservepolysaccharide sind die Fructane, die oft in unterirdischen pflanzlichen Speicherorganen abgelagert werden, die Galacto- und Glucomannane sowie die vorwiegend in Samen vorkommenden Xyloglucane, die wegen ihrer Anfärbbarkeit mit Iodlösung auch als Amyloide bezeichnet werden, obwohl sie hauptsächlich  $\beta$ -(1→4)-glycosidische Verknüpfungen aufweisen und somit strukturell nicht mit der Amylose verwandt sind.<sup>[7]</sup>



**Abb. 1.2** Vergleich der Strukturmotive von Amylose (oben) und Cellulose (unten). Durch  $\beta$ -(1→4)-glycosidische Bindungen kann Cellulose Fasern aus ausgestreckten Molekülketten bilden, während Amylose wegen der  $\alpha$ -(1→4)-Verknüpfungen helikale Sekundärstrukturen bevorzugt. Zusätzlich ist die  $\beta$ -(1→4)-Bindung stabiler gegenüber Hydrolyse, was Cellulose zu einem typischen Gerüstpolysaccharid und Amylose dagegen zu einem typischen Reservepolysaccharid macht.

### 1.1.2 Strukturgebende Polysaccharide

Vor allem in der pflanzlichen Zellwand spielen Polysaccharide als Gerüstsubstanzen eine wichtige Rolle, die im Wesentlichen darin besteht, der Zelle mechanische Stabilität zu verleihen, aber auch einen wirksamen Schutz gegen Schäden durch UV-Strahlung zu bieten. Anders als bei den Reservepolysacchariden trifft man deshalb hier vornehmlich die stabilere  $\beta$ -glycosidische Bindungsform an.<sup>[8]</sup>

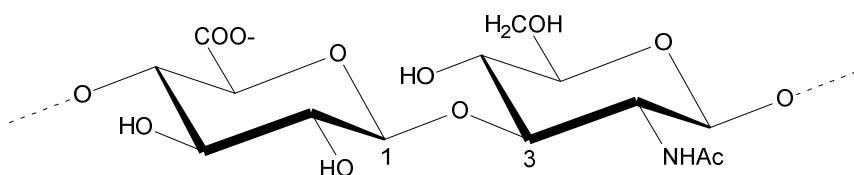
Einer der bedeutendsten Vertreter dieser Funktionsklasse ist Cellulose, das häufigste organische Biopolymer der Erde. Ihre molekulare Konfiguration erlaubt es der Cellulosekette, anders als Amylose eine vollkommen gestreckte Konformation anzunehmen (Abb. 1.2). Die daraus resultierende Tertiärstruktur ist durch parallel liegende Molekülketten charakterisiert, die durch intermolekulare Wasserstoffbrücken und Van-der-Waals-Kräfte zusammengehalten werden und dreidimensionale Mikrofibrillen ausbilden.<sup>[10]</sup> Durch ihre enorme Tragkraft kann Cellulose dem in Pflanzen auftretenden osmotischen Druck von bis zu 20 atm standhalten.<sup>[8]</sup>

Zu den Grundsubstanzen pflanzlicher Zellwände gehören zudem die sogenannten Hemicellulosen (hauptsächlich Xylane, Galactane, Mannane), die als Begleitpolysaccharide unterschiedlich assoziiert mit Cellulose auftreten, und die komplexe Gruppe der Pektine, die vorwiegend aus  $\alpha$ -(1→4)-verbrückten D-Galacturonsäuremolekülen bestehen und vor allem in Früchten auftreten.<sup>[7]</sup>

Eng verwandt mit Cellulose ist Chitin, welches die Gerüstsubstanz des Exoskeletts von Wirbellosen wie Krebstieren, Spinnen und Insekten sowie der Zellwände von Pilzen und vieler Algen darstellt. Es setzt sich aus  $\beta$ -(1→4)-glycosidisch verbundenen N-Acetyl-D-Glucosamineinheiten zusammen und bildet ähnliche Sekundär- und Tertiärstrukturen wie Cellulose aus, wobei allerdings die Acetylaminofunktion eine noch stärkere intramolekulare Assoziation durch Wasserstoffbrücken ermöglicht.

Die Zellwände von Bakterien basieren auf Murein, einem Peptidoglycan aus  $\beta$ -(1→4)-verbrückten N-Acetyl-D-Glucosamin- und N-Acetyl-D-Muraminsäureeinheiten. Letztere besitzen zusätzlich Querverbindungen über Peptidketten, welche der Zellwand weitere Stabilität verleihen.

Die Grundsubstanz der extrazellulären Matrix, speziell in Knorpel, Sehnen und Blutgefäßwänden, wird weitgehend durch Glycosaminoglycane gebildet, die wegen der schleimigen Konsistenz ihrer Lösungen auch als Mucopolysaccharide (von lat. *mucus* = Schleim) bezeichnet werden. Es handelt sich dabei im Allgemeinen um unverzweigte Heteroglycane, die alternierend aus Uronsäuren und Hexosamineinheiten aufgebaut sind. Zu den wichtigsten Glycosaminoglycanen gehören Heparin, welches besonders durch seine hemmende Wirkung auf die Blutgerinnung bekannt ist, Heparansulfat, Chondroitin-4- und -6-sulfat (vor allem Knorpelbestandteile), Dermatan-sulfat, Keratansulfat und Hyaluronsäure.<sup>[10]</sup> Neben ihrer Funktion als Strukturbildner haben besonders die Glycosaminoglycane vielfältige weitere biochemische Funktionen.



**Abb. 1.3** Hyaluronat, der Dissaccharidbaustein der Hyaluronsäure, eines typischen Glycosaminoglycans, bestehend aus D-Glucuronat  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-glycosidisch verbunden mit N-Acetyl-D-Glucosamin. Die Disaccharideinheiten sind untereinander  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glycosidisch verknüpft.

### 1.1.3 Kohlenhydrate als Informationsträger

Oligo- und Polysaccharide besitzen ein inhärentes Potenzial, biochemische Informationen zu speichern und weiterzugeben. Ihre Art der Informationscodierung unterscheidet sich aber weitgehend von der der Oligonucleotide bzw. Nukleinsäuren und Oligopeptide bzw. Proteine, welche Informationen in Form ihrer linearen Monomersequenzen abspeichern. Durch die Oligofunktionalität ihrer Einzelbausteine sind Kohlenhydrate in der Lage, verzweigte Strukturen aufzubauen, und besitzen somit eine enorme Strukturvielfalt, die durch die Möglichkeit zweier unterschiedlicher glycosidischer Bindungsarten noch erhöht wird.<sup>[10]</sup> Biochemische Informationen können dabei in Verzweigungsmustern der dreidimensionalen Strukturen oder in deren Kettenlänge codiert sein, wie es z. B. bei Glycosaminoglycanen wie Hyaluronsäure, Heparin, Heparansulfat und Chondroitinsulfat der Fall ist. Daneben gibt es auch

eine Art der sequenzspezifischen Verschlüsselung analog zu der von DNA, RNA und Proteinen, bei der die funktionelle Information in Sulfatierungs-, Phosphorylierungs- und Epimerisierungsmustern gespeichert wird. Beispiele hierfür sind die Antikoagulationseffekte von Heparin und Heparansulfat, die auf der Erkennung spezifischer Sulfatierungsmotive beruhen. Eine weitere Möglichkeit der Informationsspeicherung besitzen Kohlenhydrate außerdem in Form ihrer Sekundär- und Tertiärstrukturen.<sup>[8]</sup>

Die für die Informationsübertragung relevanten Kohlenhydrate liegen kovalent gebunden an andere natürliche Moleküle vor, mit denen sie sogenannte Glycokonjugate bilden. Vor allem Glycoproteine und Glycolipide gehören zu den wichtigsten Biomolekülen der Zelle und sind u. a. unverzichtbare Bestandteile jeder Zellmembran. So sind sie in eukaryotischen Zellen derart in die Lipiddoppelschicht integriert, dass ihre Zuckerkomponenten (meist Oligosaccharidketten von bis zu 20 Monomeren) antennenartig in den extrazellulären Raum hineinragen und dort einen flaumartigen Mantel bilden, der bis zu 140 nm dick werden kann und als Glycocalix bezeichnet wird.<sup>[10]</sup>

Die in der Glycocalix vorliegenden Oligosaccharidmuster und -strukturen sind von funktioneller Bedeutung für die Zell-Zell-Kommunikation und Zelladhäsion. Die in ihnen enthaltenen biologischen Informationen können durch bestimmte Proteine (Lektine und Selektine) ausgelesen werden, indem diese mit den Kohlenhydratkettchen anhand bestimmter Kohlenhydrat-erkennender Domänen (*carbohydrate recognition domain*, CRD) nicht-kovalente Komplexe bilden. Hierdurch wird zumeist eine Kaskade weiterer Rezeptor-Ligand-Wechselwirkungen ausgelöst, die letztendlich ein biologisches Ereignis oder Signal auslöst. Beispiele für solche durch die Glycocalix gesteuerte Ereignisse finden sich u. a. im Zusammenhang mit Infektionsvorgängen, Immunreaktionen, Entzündungen, der Fertilisation und der Bildung von Metastasen.<sup>[10]</sup>

## 1.2 Amylose als Bestandteil der Stärke

Amylose ist neben Amylopektin der Hauptbestandteil der natürlichen Stärke. Entsprechend leitet sich ihr Name vom lateinischen *amulum* oder *amyrum* für Stärke ab, welches wiederum auf das griechische *amylon* zurückgeht und wörtlich aussagt, dass Stärke ohne die Verwendung einer Mühle gewonnen wird.<sup>[11]</sup>

Neben ihrer biologischen Bedeutung als pflanzliches Reservepolysaccharid (siehe auch Abschnitt 1.1.1) und der damit verbundenen Rolle als unverzichtbarer Bestandteil der Nahrung von Menschen und Tieren wird Stärke seit mindestens 5500 Jahren auch als technischer Hilfsstoff verwendet. Als erste belegte Anwendung gilt der Einsatz als Klebstoff bei der Herstellung von Papyrusblättern im alten Ägypten. Ebenso wurde Stärke bereits im Altertum zur Weißfärbung von Textilien eingesetzt. Anwendungen bei der Papierherstellung und der Herstellung und Bearbeitung von Textilien sind auch für das Mittelalter und die frühe Neuzeit überliefert. Hinzu kamen während dieser Epochen z. B. Verwendungen in Kosmetika und später in Form von Klebstoffen.<sup>[12]</sup>

Neben den genannten Funktionsbereichen der Stärke sind bis zur heutigen Zeit vielfältige Anwendungen in der Lebensmittel- sowie technischen Industrie und darüber hinaus hinzugekommen, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht umfassend thematisiert werden können. Vor dem Hintergrund der weltweiten Rohstoffverknappung wird Stärke als nachwachsender Rohstoff auf vielen Gebieten in steigendem Maße interessant. Hierbei kommt ihr die Vielseitigkeit ihrer Eigenschaften zugute, die einerseits auf ihrer variablen Zusammensetzung aus Amylose und Amylopektin beruht und andererseits durch chemische und/oder physikalische Modifikation beeinflusst werden kann.<sup>[12]</sup>

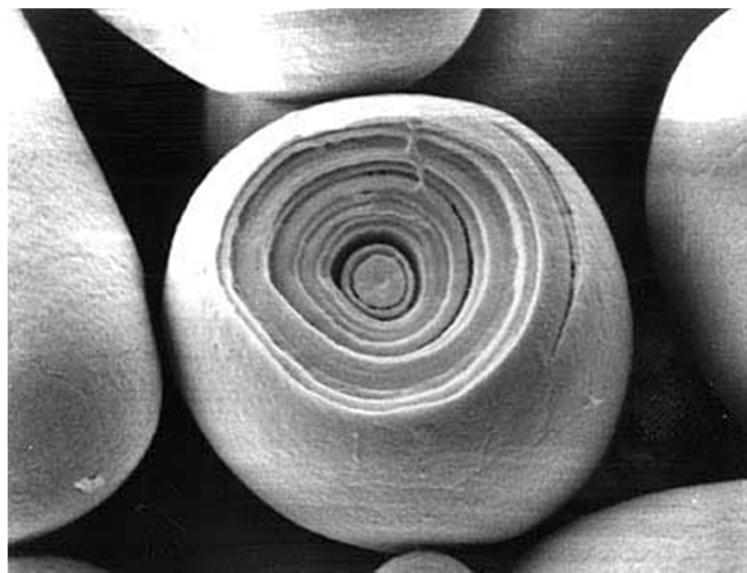
### 1.2.1 Natürliche Vorkommen

Stärke fungiert in der Natur als Reservepolysaccharid für Pflanzen und wird von diesen als Produkt der Photosynthese gebildet. Die zelluläre Ablagerung erfolgt in Form von Stärkekörnern, die in bestimmten Speicherorganen zu finden sind, darunter Samenkörner (Gerste, Hafer, Mais, Reis, Roggen, Weizen), Knollen (Kartoffeln),

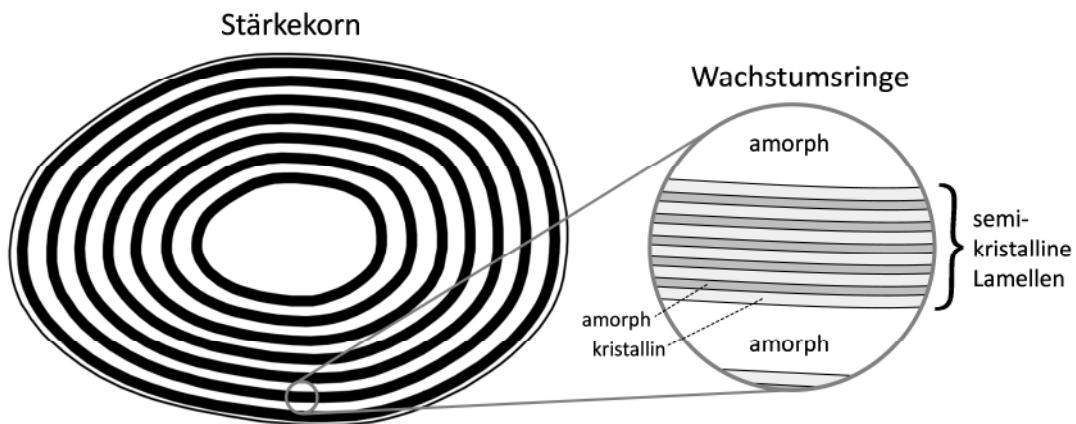
Wurzeln (Maniok, Süßkartoffeln) und Mark (Sago).<sup>[12]</sup> Je nach pflanzlicher Herkunft weisen die Körner unterschiedliche Größen (1 – 100 µm) und Korngrößenverteilungen auf. Außerdem gibt es eine große morphologische Variabilität. So treten u. a. scheibenförmige, kugelförmige, längliche, runde, ovale und polyedrische Formen auf. Die Körner der meisten Stärkearten weisen konzentrische Wachstumsringe auf (Abb. 1.4), die jeweils 120 – 400 nm dick und abwechselnd amorph und semikristallin beschaffen sind. Dies konnte u. a. mittels Raster- und Transmissionselektronenmikroskopie gezeigt werden.<sup>[13]</sup> Die semikristallinen Bereiche setzen sich wiederum aus alternierenden amorphen und kristallinen Lamellen zusammen (Abb. 1.5).<sup>[14]</sup> Ergebnisse aus der Polarisationsmikroskopie und Lichtstreuung zeigen, dass die Polysaccharidketten in den Stärkekörnern im Durchschnitt radial bzw. senkrecht zu den Wachstumsringen ausgerichtet sind.<sup>[15,16]</sup>

Der relative Massenanteil der Amylose liegt bei den meisten natürlichen Stärkearten zwischen 14 und 27 % und der des Amylopektins entsprechend zwischen 73 und 86 %. Allerdings sind auch Stärkesorten bekannt, deren Zusammensetzungen davon deutlich abweichen, z. B. mutierte Mais-, Gerste- und Reissorten mit bis zu 70 % oder aber weniger als 1 % Amylose. Nicht berücksichtigt sind dabei die in Stärkekörnern zusätzlich auftretenden Begleitsubstanzen, die keine Kohlenhydrate sind. Hierbei handelt es sich in erster Linie um Wasser (12 bis 21 %), lipidartige Substanzen, Fette und Fettsäuren (bis zu 0,9 % in Getreidestärken) sowie Proteine (bis zu 0,9 %).<sup>[12]</sup>

Auch das durchschnittliche Molekulargewicht der enthaltenen Polysaccharide variiert erheblich mit der pflanzlichen Herkunft der Stärke und liegt für Amylose zwischen  $3,2 \cdot 10^4$  und  $3,6 \cdot 10^6$  g/mol, was einem Polymerisationsgrad von 200 bis 22000 entspricht. Amylopektin hat eine molare Masse von  $4,5 \cdot 10^4$  bis  $4,2 \cdot 10^8$  g/mol (Polymerisationsgrad 280 –  $1,45 \cdot 10^6$ )<sup>[17]</sup> und ist somit eines der größten natürlich vorkommenden Moleküle.<sup>[10]</sup>



**Abb. 1.4** Elektronenmikroskopische Aufnahme eines teilweise enzymatisch abgebauten Stärkekorns<sup>[18]</sup>



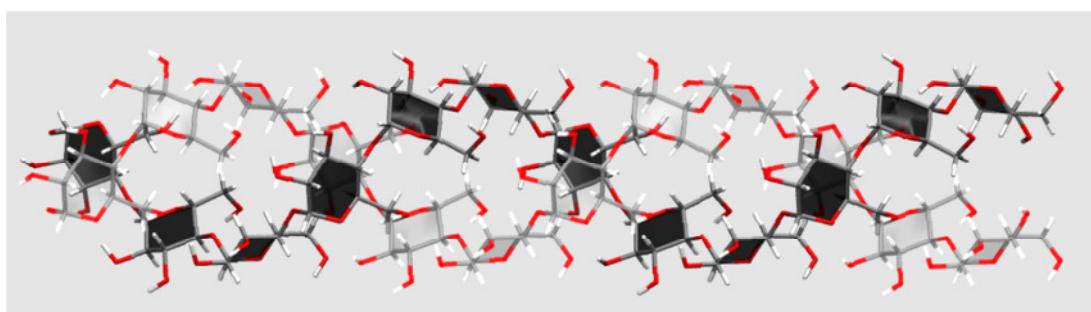
**Abb. 1.5** Schematischer Aufbau eines Stärkekorns (basierend auf einer Abbildung von Liu *et al.*<sup>[19]</sup>). Die konzentrischen Wachstumsringe sind alternierend amorph und semikristallin beschaffen. Die semikristallinen Bereiche bestehen aus sich abwechselnden amorphen und kristallinen Lamellen.

### 1.2.2 Strukturen

Amylose besitzt aufgrund des  $\alpha$ -(1→4)-glycosidischen Verknüpfungsmotivs (Abb. 1.2) eine inhärente Tendenz zur Ausbildung helikaler Sekundärstrukturen. Wie anhand von charakteristischen Röntgenbeugungsmustern gezeigt werden konnte, existieren insgesamt vier unterschiedliche Modifikationen, bekannt als A-, B-, C- und V-Amylose, deren Vorkommen deutlich von der biologischen Herkunft und der Vor-

gehensweise bei der Isolierung abhängt. So tritt die A-Form im Allgemeinen in den nativen Stärkekörnern von Getreidestärken auf, während in den Stärken von Wurzeln und Knollen die B-Form zu finden ist. Deutlich seltener, nur in Bananen und einigen Bohnensorten, ist die C-Amylose anzutreffen, welche eine Mischform aus A- und B-Amylose darstellt.<sup>[20]</sup>

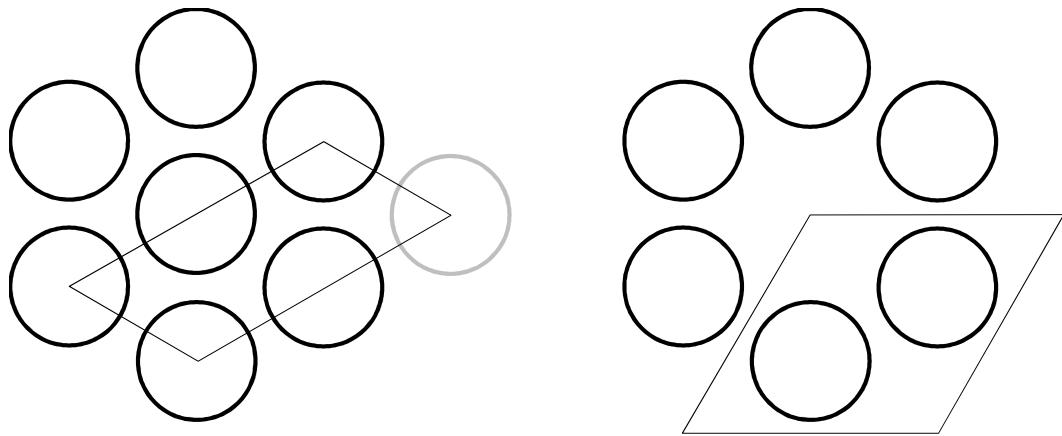
Laut einer Studie auf Basis von Elektronenbeugung, Röntgenpulverdiffraktometrie und Röntgenfaserbeugung besteht A-Amylose aus Doppelhelices, die aus parallel verlaufenden linksgängigen und sechszähligen Strängen aufgebaut sind und eine Ganghöhe von ca. 21,4 Å besitzen. Die Monosaccharideinheiten besitzen dabei die glucosetypische<sup>[6]</sup>  $^4\text{C}_1$ -Konformation, wobei die primären Hydroxylgruppen (OH6) alle in *gauche-gauche*-Stellung bezüglich des Glucoserings ausgerichtet sind, d. h. *gauche* bezüglich des Ringsauerstoffs O5 und gleichzeitig *gauche* bezüglich C4. Zwischen den beiden Amyloseketten bestehen O6-O2-Wasserstoffbrücken unterschiedlicher Länge. Die Doppelhelices sind parallel zueinander gepackt, sodass jede hexagonal von sechs benachbarten Abbildern umgeben ist, und sind wiederum über verschiedene O6-O2- und O3-O3-H-Brücken untereinander verbunden. Außerdem bestehen von O5 und O6 aus H-Brücken zu Wassermolekülen, die sich zwischen den Doppelhelices befinden.<sup>[21]</sup>



**Abb. 1.6** Seitenansicht der Doppelhelix in A-Amylose (basierend auf einem Strukturmodell von Immel<sup>[22]</sup>). Zur besseren Unterscheidung sind für die beiden Amyloseketten unterschiedliche Darstellungsmodi gewählt.

Die B-Modifikation der Amylose ist in ihrer molekularen Konformation nahezu identisch mit der A-Form, unterscheidet sich von dieser aber in der Packung der Doppelhelices (A: monoklin, B: hexagonal). Daraus ergibt sich in diesem Fall zwi-

schen den Molekülen ein zusätzlicher Raum, der mit einer größeren Anzahl an Wassermolekülen gefüllt ist.<sup>[20,23]</sup> Eine Veranschaulichung für die unterschiedlichen Packungsarten bietet Abb. 1.7.



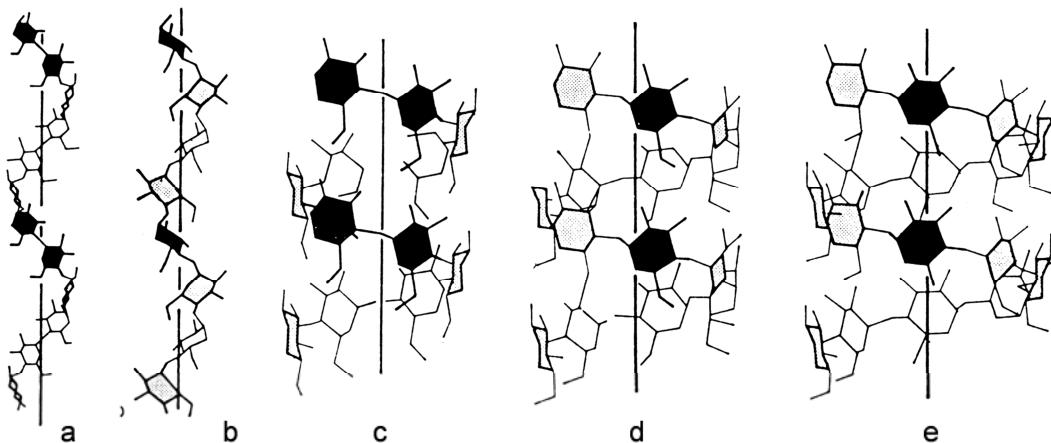
**Abb. 1.7** Vergleich der Packungsmodi in A- (links, monoklin) und B-Amylose (rechts, hexagonal) mit Blick in Richtung der  $\alpha$ -Achse. Die Doppelhelices sind schematisch als Kreise gezeigt. Außerdem sind die Basisebenen der Elementarzellen verdeutlicht.

Die Bezeichnung der als V-Amylose bekannten Modifikation stammt aus der Frühzeit der Stärkeforschung und nimmt Bezug auf die bei der Quellung auftretende Verkleisterung von Stärke. Es wurde dabei fälschlicherweise angenommen, dass diese Form speziell in gequollenen Stärkekörnern auftritt. Später stellte sich jedoch heraus, dass die Kristallisation von Amylose in der V-Form auf die Gegenwart bestimmter anorganischer und organischer Komplexbildner zurückzuführen ist.<sup>[24,25]</sup>

V-Amylose liegt als linksgängige Einzelhelix mit einer Ganghöhe von ca. 8 Å vor. In Abhängigkeit von der Molekülgröße und bestimmter Eigenschaften des jeweiligen Fällungsmittels variiert die Anzahl der Monosaccharideinheiten pro Helixwindung zwischen sechs und acht. Außerdem können in Gegenwart von Alkaliverbindungen wie KOH und KBr gestreckte Helices erhalten werden (Abb. 1.8).<sup>[20]</sup>

Die Existenz der sechszähligen V-Amylosehelix wurde erstmals im Jahre 1937 von C. S. Hanes postuliert. Grundlage des Modells war die Beobachtung, dass Amylose durch  $\alpha$ -Amylase in Stücke aus sechs Glucoseresten gespalten wird.<sup>[26]</sup> Freudenberg *et al.* brachten die sechszählige V-Sekundärstruktur wenig später in Verbindung mit dem Iod-Stärke-Komplex.<sup>[27]</sup> Auf der Basis von Röntgendiffraktionsdaten wurde diese Hypo-

these bis zum heutigen Tag vielfach bestätigt.<sup>[28-31]</sup> Im Allgemeinen wird bei der Beschreibung der V-Amylosehelices zwischen hydratisierten ( $V_H$ ) und wasserfreien ( $V_a$ ) Strukturen unterschieden, da sich diese geringfügig in ihren Kristallparametern unterscheiden.<sup>[32-35]</sup>



**Abb. 1.8** Verschiedene helikale Konformationen der Amylose (basierend auf Abbildungen von D. A. Rees<sup>[36]\*</sup>). a = gestreckte Helix in Gegenwart von KOH mit 6 Glucoseresten pro Windung; b = gestreckte Helix in Gegenwart von KBr mit 4 Glucoseresten pro Windung; c = V-Amylosehelix mit 6 Glucoseresten pro Windung; d = V-Amylosehelix mit 7 Glucoseresten pro Windung; e = V-Amylosehelix mit 8 Glucoseresten pro Windung.

Im Falle sterisch anspruchsvollerer Komplexbildner entstehen V-Amylosehelices mit größeren Innendurchmessern,<sup>[37]</sup> beispielsweise mit *tert*-Butanol und anderen verzweigten Alkoholen, welche eine siebenzählige Helix verursachen.<sup>[38-40]</sup> Hinweise für das Auftreten einer achtzähligen Amylosehelix gibt es bisher nur für die Moleküle  $\alpha$ -Naphthol<sup>[41,42]</sup> und Chinolin<sup>[42]</sup> sowie Salicylsäure<sup>[43]</sup>.

Die in Lösung vorliegende Konformation und der im unkomplexierten Zustand auftretende Helixcharakter der gelösten Amylose sind bis heute umstritten. Deren Untersuchung stellt aus diesem Grund einen Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit dar (siehe Abschnitt 3.2).

---

\* zit. in Ref. [12]

## 1.3 Amylose-Einschlusskomplexe

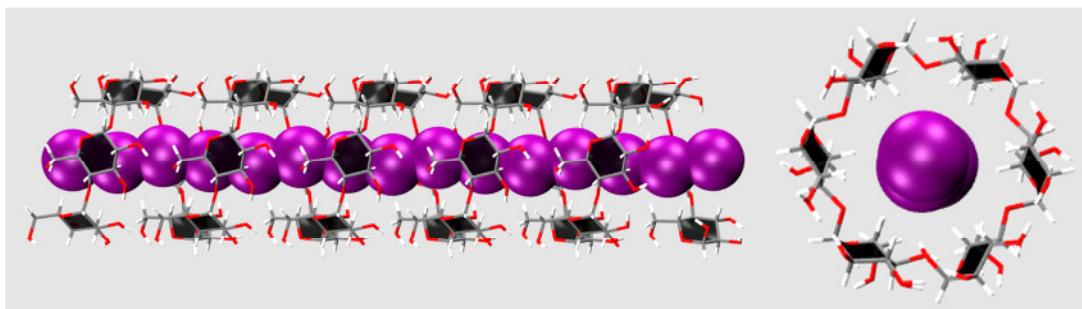
Die helikale Sekundärstruktur der V-Amylose weist im Gegensatz zu den eng verwundenen Doppelhelices der A-, B- und C-Modifikationen, deren Inneres selbst für kleine Solvensmoleküle unzugänglich ist, einen  $\alpha$ -axialen zylindrischen Hohlraum auf, welcher mit einem Durchmesser von ca. 5,4 Å ausreichend Raum bietet, um eine große Bandbreite kleinerer Gastmoleküle aufzunehmen.<sup>[24,25,44]</sup> Laut einer Computermodelingstudie von Immel, in der das molekulare Lipophilitätsmuster der Amylose berechnet wurde, repräsentiert die Oberfläche der zentralen Kavität etwa 28 % der Gesamthelixoberfläche und weist ein ausgesprochen hydrophobes Potential auf. Zurückzuführen ist diese Eigenschaft auf die überwiegende Hydrophobizität der an der inneren Oberfläche beteiligten axial stehenden Glucoseatome O4 (10 % der inneren Oberfläche), H3 (30 %) und H5 (25 %) sowie der Methylgruppe CH<sub>2</sub>6 (35 %). Die Außenseite der Helix hat dagegen einen überwiegend hydrophilen Charakter, welcher in erster Linie durch die Hydroxylgruppen OH<sub>2</sub>, OH<sub>3</sub> und OH<sub>6</sub> sowie den Ringsauerstoff O5 verursacht wird.<sup>[44]</sup>

Einschlusskomplexe der Amylose können mit vielfältigen (meist organischen) Molekülen gebildet werden, darunter Iod (siehe Abschnitt 1.3.1) DMSO<sup>[45,46]</sup>, aliphatische Alkohole, wie *n*-Butanol<sup>[47]</sup>, *tert*-Butanol<sup>[48]</sup>, Glycerin<sup>[49]</sup> und Cyclohexanol<sup>[50]</sup>, Ethylendiamin<sup>[51]</sup>,  $\alpha$ -Naphthol<sup>[41,42]</sup>, Chinolin<sup>[42]</sup>, Salicylsäure<sup>[43]</sup> sowie Fettsäuren und synthetische Polymere (siehe Abschnitt 1.3.2).

### 1.3.1 Der Iod-Amylose-Komplex

Das wohl prominenteste Beispiel eines Amylose-Einschlusskomplexes ist der tiefblaue Iod-Amylose-Komplex, der bereits 1814 erstmals beschrieben wurde.<sup>[52]</sup> Die in den 1930er-Jahren formulierte Vermutung, das Polysaccharid liege in dem Komplex in Form einer Einzelhelix vor,<sup>[27]</sup> konnte im Rahmen einer fundamentalen Studienreihe von Rundle *et al.*<sup>[28,29,47,53,54]</sup> auf Basis des Fließ-Dichroismus von Stärke-Iod-Lösungen, optischer Eigenschaften von Stärkekristallen und Röntgenbeugungsmessungen des Komplexes verifiziert werden. Detailliertere Strukturen des Komplexes wurden später u. a. von Zugenmaier *et.al.*<sup>[30]</sup> und anhand einer Cycloamylose in ato-

marer Auflösung von Nimz *et al.*<sup>[31]</sup> publiziert. Demnach nimmt die Amylose im Komplex mit Iod die Sekundärstruktur einer typischen sechszähligen V-Helix an, die einen Durchmesser von ca. 13 Å, eine Ganghöhe von etwa 8 Å und einen zentralen Kanal von ca. 5 Å Breite besitzt, in dem die Iodteilchen in axialer Lage nahezu linear mit Abständen von durchschnittlich 3.1 Å<sup>[55,56]</sup> platziert sind.



**Abb. 1.9** Strukturmodell des Iod-Amylose-Komplexes (basierend auf einem Modell von Immel<sup>[22]</sup>). Zu sehen sind die Seitenansicht und der Blick entlang der Helixachse ( $z$ -Achse).

Anlass zu Diskussionen bietet jedoch bis heute die genaue Beschaffenheit (Länge, Zusammensetzung und Ladungsverteilung) der eingelagerten Iod-/Iodideinheiten, zu deren Aufklärung eine enorme Bandbreite physikalisch-chemischer Messverfahren eingesetzt wurde.<sup>[57]†</sup>

Vorgeschlagen wurde u. a. das Vorliegen einer Kette äquidistanter neutraler Iodatome mit aliphatischem Charakter,<sup>[58]</sup> separater  $I_2$ -Moleküle<sup>[27]</sup> und längerer  $I_6$ -Zusammenschlüsse<sup>[59]</sup>.

Allgemein durchgesetzt hat sich allerdings die Auffassung, dass auch Iodidanionen wesentlich an der Zusammensetzung des Iod-Amylose-Komplexes beteiligt sind. Zwar ist belegt, dass die Komplexbildung auch ohne explizite Zugabe von Iodid erfolgen kann,<sup>[28]</sup> dieses bildet sich aber in Anwesenheit von Wasser durch Hydrolyse von molekularem Iod.<sup>[60]</sup> Wird diese Reaktion durch Zugabe von Säure unterdrückt, so ist auch keine Komplexbildung zu beobachten.<sup>[61,62]</sup>

Als grundlegender Baustein des komplexierten Polyiodids wurde u. a. Triiodid ( $I_3^-$ )<sup>[61,63-65]</sup> und in anderen Studien Pentaiodid ( $I_5^-$ )<sup>[57]</sup> vermutet. Obwohl diese beiden Modellvorstellungen breite Anerkennung gefunden haben, ergeben sich auch hier

---

<sup>†</sup> und dortige Referenzen

Widersprüche zu einer Reihe experimenteller Ergebnisse. So folgerten z. B. Gilbert und Marriott<sup>[66]</sup> aus potentiometrischen Titrationsmessungen, dass das molekulare Verhältnis  $I_2/I^-$  der eingeschlossenen Spezies in Abhängigkeit von der Iod- bzw. Iodidkonzentration variiert und etwa bei niedriger Iodidkonzentration einen Wert von 3/2 annimmt. Ein neueres Modell, welches eine Koexistenz von Tri- und Pentaiodid als wesentlichen Untereinheiten linearer Polyiodidketten im Amylose-Iod-Komplex annimmt, berücksichtigt derartige Erkenntnisse.<sup>[67]</sup> Es basiert auf dem Gleichgewicht  $I_5^- \rightleftharpoons I_3^- + I_2$ , d. h. der Dissoziation oder Bildung von Pentaiodid in Abhängigkeit der Iodkonzentration in Lösung und anderer äußerer Bedingungen.

Die Komplexbildung wird vermutlich durch Wechselwirkung eines  $I_3^-$ -Ions mit der zunächst geknäult vorliegenden Amylosekette initiiert, wodurch sich ein lokal begrenzter helikaler Bereich ausbildet.<sup>[68]</sup> Die darauf folgende Inklusion von Iodmolekülen und weiteren  $I_3^-$ -Ionen in der lokalen Helix geschieht in einem Prozess, der kooperativ mit der fortschreitenden Formierung der helikalen Amylosestruktur abläuft.<sup>[24]</sup> Der Betrag der freien Energie der Bildung des Iod-Amylose-Komplexes wurde auf ca. 25 kJ/(mol  $I_2$ ) geschätzt.<sup>[69]</sup>

Die gute Löslichkeit des Komplexes in kaltem Wasser im Vergleich zu reiner Amylose beruht laut Murdoch<sup>[62]</sup> darauf, dass die einzelnen Helices sich aufgrund der eingeschlossenen negativ geladenen Polyiodidketten gegenseitig abstoßen und so eine Kristallisation verhindert wird. Außerdem werden durch Ion-Dipol-Wechselwirkungen vor allem Wassermoleküle angezogen, die eine Art Mantel um die Helices bilden.

Die charakteristische Blaufärbung des Iod-Amylose-Komplexes lässt sich mithilfe eines Elektronengasmodells beschreiben.<sup>[70]</sup> Demnach stellt jede Iodidkette ein ganzheitliches Resonanzsystem mit stark gelockertem Elektronensystem dar. Einzelne Iodiduntereinheiten sind dabei laut Saenger<sup>[71]</sup> unter Verwendung ihrer  $5p_x$ -Orbitale verbunden, was die Elektronendelokalisation begünstigt. In Betracht gezogen wird auch die Möglichkeit, dass die elektronischen Niveaus der Iodidkette durch dipolare Wechselwirkungen mit Wassermolekülen und einem in Richtung der Heliachsen orientierten dipolaren Feld der Amylose beeinflusst werden und so neue Elektronenübergänge ermöglicht werden.<sup>[72,73]</sup> Charge-Transfer-Übergänge zwischen

Iodatomen und Sauerstoffatomen der Amylose<sup>[74,75]</sup> konnten dagegen durch röntgenkristallographische Ergebnisse ausgeschlossen werden.<sup>[30]</sup>

Die Farbe des Komplexes hängt von der Länge des Resonanzsystems und somit auch von der Länge der zur Verfügung stehenden Amylosekette ab. So tritt bei einem Polymerisationsgrad (DP) von 4 bis 6 noch keinerlei Färbung auf. Erst bei DP = 8 – 12 ergibt sich eine rote Farbe, die bei weiter zunehmender Kettenlänge über Violett erst ab ca. 30 Glucoseeinheiten in Blau übergeht.<sup>[76]</sup>

### **1.3.2 Einschluskomplexe mit synthetischen Polymeren**

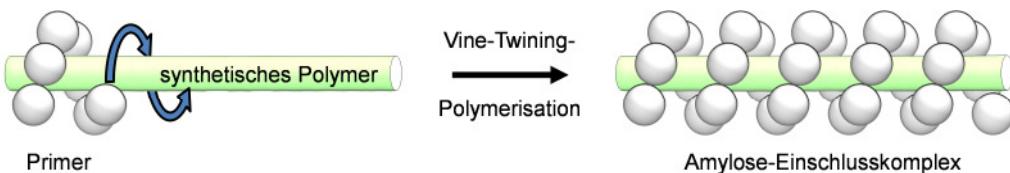
Zu den interessantesten Einschluskomplexen der Amylose gehören sicherlich diejenigen mit langketigen Molekülen. Schon relativ lange bekannt ist in diesem Zusammenhang die Komplexierung von Fettsäuren, die in typischen sechs- oder siebenzähligen V-Amylosehelices<sup>[77]</sup> geschieht.<sup>[78,79]</sup> Laut Ergebnissen aus Röntgenkristallographie-<sup>[80]</sup>, <sup>13</sup>C-NMR-<sup>[81]</sup> und Molecular-Modeling-Studien<sup>[82,83]</sup> werden dabei die unpolaren Kohlenwasserstoffketten der Fettsäuren in gestreckter Konformation axial in den Kanal der Amylose eingeschlossen, während die Carboxylgruppen wegen sterischer und elektrostatischer Hinderung in hydratisierter Form am Helixausgang platziert werden.

Die Komplexierung polymerer Gastmaterialien durch Amylose ist dagegen ein verhältnismäßig neues Forschungsgebiet. Bedingt durch die fortschreitende weltweite Rohstoff- und vor allem Erdölverknappung ist die Stärke vor allem in das Blickfeld der Kunststoffindustrie gerückt, welche in hohem Maße von petrochemischen Produkten abhängig ist. Erste Anwendungen waren hier beispielsweise die Produktion stärkebasierter Folien zum landwirtschaftlichen Gebrauch.<sup>[84]</sup> Neben der Eignung von Stärke als überall verfügbare und vor allem erneuerbare Ressource sind es ihre biologische Abbaubarkeit und ihre CO<sub>2</sub>-Neutralität, welche sie für diese und andere Funktionen interessant machen.

Erst zu Anfang der 1990er-Jahre konnte festgestellt werden, dass die materialtechnischen Eigenschaften von Mischungen der Stärke und synthetischer Polymere wesentlich durch die Bildung von Einschluskomplexen der V-Amylose geprägt werden.<sup>[85-87]</sup> So wird z. B. die Viskosität von Stärkepasten durch Zugabe von Poly-

(ethylen-acrylsäure) und die damit verbundene Komplexbildung stark erhöht, sodass u. a. über die Temperatur und das Konzentrationsverhältnis von Amylose zu Amylopektin Einfluss auf die rheologischen Eigenschaften des Gemisches genommen werden kann. Auch die Beschaffenheit der daraus gefertigten Folien kann auf diese Weise modifiziert werden.<sup>[86]</sup>

Eine wesentliche Schwierigkeit bei der Herstellung der Einschluskomplexe aus Amylose und synthetischen Polymeren besteht häufig darin, dass aufgrund mangelnder intermolekularer Wechselwirkungen eine Phasenseparation auftritt und einfaches Mischen der Polymere somit nur eingeschränkte Erfolge zeigt. Bessere Ergebnisse erzielt eine neuere Synthesemethode, bei der eine Amylosekette - ausgehend von Maltoheptaose als Primer - durch enzymatische Polymerisation in Anwesenheit des gewünschten Gastpolymers aus Glucosemonomeren erzeugt wird. Der sukzessive Aufbau des helikalen Polysaccharidmoleküls erfolgt dabei direkt um die Gastkette herum, sodass die Bildung des Einschluskomplexes im Zuge des Polymerisationsvorgangs abläuft. Wegen der Ähnlichkeit zu einer sich windenden Weinpflanze wird dieser Prozess als Vine-Twining-Polymerisation bezeichnet (Abb. 1.10).



**Abb. 1.10** Das Modellprinzip der Vine-Twining-Polymerisation. Ausgehend vom Primer Maltoheptaose wird mithilfe des Enzyms Phosphorylase eine Amylosekette erzeugt, wobei das synthetische Polymer als Gerüst für die Entwicklung der helikalen Struktur fungiert.

Mithilfe der Vine-Twining-Polymerisation gelang in den letzten Jahren die Synthese von Einschluskomplexen einer Reihe unterschiedlicher aliphatischer Polymere, z. B. der Polyether Poly(tetrahydofuran) (PTHF)<sup>[88]</sup> und Poly(trimethylenoxid) (PTO)<sup>[89]</sup>, der Polyester Poly( $\epsilon$ -caprolacton)<sup>[90]</sup> (PCL) und Poly( $\delta$ -valerolacton) (PVL)<sup>[91]</sup>, eines Poly(ester-ethers)<sup>[91]</sup> und verschiedener Polycarbonate<sup>[92]</sup>.

Kaneko *et al.* konnten im Rahmen ihrer Studien zeigen, dass der hydrophobe Charakter der eingesetzten synthetischen Polymere eine wesentliche Voraussetzung und einen distinktiven Faktor für die Komplexbildung mit Amylose darstellt. So bilden

sich Einschluskomplexe mit PTHF und PTO, während das hydrophilere Poly(ethylenoxid) nicht in nachweisbarem Umfang eingeschlossen wird.<sup>[93]</sup> Gleichzeitig bevorzugt Amylose aus einer Mischung von PTHF und PTO vornehmlich das hydrophobere PTHF.<sup>[94]</sup> Im Falle synthetischer Polymere mit zu langen lipophilen Bereichen (z. B. Polyoxepan,  $-[(CH_2)_6O]_n-$ ) kann eine experimentelle Komplexsynthese allerdings dadurch verhindert oder eingeschränkt werden, dass diese in wässriger Lösung aggregieren und deshalb nicht effektiv als Gerüst für eine Vine-Twining-Polymerisation zur Verfügung stehen.<sup>[95]</sup>

### **1.3.3 Funktionalität der Amylose-Einschluskomplexe**

Potenzielle funktionelle Anwendungen für Amylose-Einschluskomplexe existieren in unterschiedlichen industriellen und technischen Bereichen. Am weitesten verbreitet ist sicherlich die Verwendung in der Lebensmittelindustrie, wofür Amylose aufgrund ihrer Verdaulichkeit und vernachlässigbaren Toxizität hervorragend geeignet ist. Sie wird in diesem Kontext in erster Linie als stabilisierendes Wirtsmolekül für leichtflüchtige Aroma- und Geschmacksstoffe eingesetzt.<sup>[96]</sup> Viele bioaktive Substanzen, z. B. ungesättigte Fettsäuren, wie konjugierte Linolsäuren<sup>[97]</sup>, und Vitamine<sup>[98]</sup> sind zudem hitze- und oxidationsempfindlich und sind deshalb schon bei der Verarbeitung und Lagerung der Gefahr der Zersetzung ausgesetzt. Durch die Einlagerung in den helikalen Hohlraum der Amylose können derartige Wirkstoffe vor äußeren Einflüssen geschützt werden.<sup>[99]</sup>

Durch ihre verringerte Löslichkeit und ihre sterische Unzugänglichkeit sind die kristallinen Amylose-Einschluskomplexe weniger empfindlich gegenüber enzymatischem Abbau als amorph vorliegende Amylose. Aufgrund dieser Eigenschaft können sie die kontrollierte Freisetzung bestimmter Wirkstoffe in geeigneten Bereichen des Verdauungstraktes bewirken und eignen sich somit als Trägersystem für Nahrungsmittelzusätze und Medikamente.<sup>[99]</sup> So überstehen die Komplexe die durch geringe Enzymaktivität geprägte Umgebung des Mundspeichels, schirmen ihre Gastmoleküle vom sauren Milieu des Magens ab und sorgen schließlich für die Freisetzung des Wirkstoffes im Dünndarm, wo ein direkter Übergang in den Blutkreislauf möglich ist.<sup>[100]</sup>

Eine weitere sehr interessante Anwendungsmöglichkeit der Amylose-Einschluskomplexe, die erst in jüngster Zeit näher untersucht wurde, besteht in der Verarbeitung in polymeren lichtemittierenden Dioden (PLEDs). Photolumineszente Polymere wie etwa Poly(*p*-phenylen-vinylen) (PPV) sind oft unlöslich in Lösungsmitteln und daher nur schwierig technisch zu verarbeiten. Die Komplexierung mit Amylose kann hier Abhilfe schaffen, da die entstehenden Komplexe beispielsweise in DMSO löslich sind und so zu Filmen verarbeitet werden können, die zur Fertigung von PLEDs benötigt werden.<sup>[101]</sup> Außerdem verhindern die Einschlusverbindungen das Auftreten starker intermolekularer Wechselwirkungen zwischen den Polymerketten und damit die Löschung der Fluoreszenz durch strahlungslose Prozesse, woraus eine gesteigerte Lumineszenz-Effizienz im Vergleich zu den freien Polymeren resultiert.<sup>[101-103]</sup>

Als übergeordnete organisierte Einheiten von mindestens zwei Molekülen, die durch nicht-kovalente intermolekulare Kräfte zusammengehalten werden, sind die Amylose-Einschluskomplexe *per se* supramolekulare Strukturen. Das Forschungsgebiet der supramolekularen Chemie beschäftigt sich – inspiriert z. B. durch die biologisch relevanten Tertiär- und Quartärstrukturen vieler Makromoleküle – u. a. mit dem Design und der Synthese neuer funktioneller Strukturen, deren Abmessungen im Nano- bis Millimeterbereich liegen und die als Grundlage für neue Werkstoffe mit spezifischen Eigenschaftsprofilen dienen können.<sup>[104]</sup> Einen interessanten diesbezüglichen Ansatz stellen Blockcopolymere aus Amylose und synthetischen Polymeren dar.<sup>[105]</sup> Aufbauend auf den grundlegenden Arbeiten von Pfannemüller *et al.* u. a.<sup>[106]</sup> gelang beispielsweise Loos *et al.*<sup>[107,108]</sup> die Synthese amphiphiler Blockcopolymere aus Amylose und Polystyrol. Der Amyloseteil derartiger Makromoleküle könnte in einer Mischung unterschiedlicher Copolymer-Einschluskomplexe mit anderen Polymerblocks im selben oder in anderen Copolymermolekülen bilden, so dass je nach Zusammensetzung des Gemisches zyklische Systeme, Tri- oder Multiblockcopolymere und ganze supramolekulare Netzwerke zugänglich würden.<sup>[109]</sup>

Dabei könnte die Komplexbildung als vollständig reversibler Prozess durch äußere Einflussnahme gezielt als Designparameter eingesetzt werden. Da die Stabilität der helikalen Amylosestruktur in erheblichem Maße von intramolekularen Wasserstoff-

brücken abhängt, kann ihr Auftreten u. a. durch eine Veränderung der Polarität des Lösungsmittel(gemische)s kontrolliert werden. Ebenso ist es durch gezielte Substitution der Amylosekette möglich, die Komplexstabilität systematisch zu beeinflussen.<sup>[109]</sup>

Ein weiterer interessanter Aspekt der Amylose-Blockcopolymere besteht in der Steifigkeit der Amylosehelix bzw. ihrer Einschlusskomplexe, die Charakteristika von stabförmigen (kalamitischen, engl. *rod-like*) Makromolekülen aufweisen. Aufgrund ihrer anisometrischen Gestalt können diese Blöcke in Lösung flüssigkristalline Phasen ausbilden, in denen die Längsachsen der Moleküle im Mittel parallel zueinander ausgerichtet sind und die somit einen zusätzlichen Ordnungsgrad besitzen. In Verbindung mit den häufig flexibel geknäuelten (*coil-like*) Strukturen der kovalent angebundenen synthetischen Polymerblöcke liegen hier sogenannte Rod-Coil-Systeme vor, die ausgeprägte selbstorganisierende Tendenzen aufweisen und deshalb neue Wege zum Design definierter supramolekularer Nanoobjekte eröffnen.<sup>[105]</sup>

Nicht zuletzt bietet die Komplexierung mit Amylose die Möglichkeit, die Löslichkeit und chemische Stabilität der eingeschlossenen Polymerketten zu beeinflussen. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass PTHF durch den Einschluss in Amylose in deuterierter wässrig-alkalischer Umgebung löslich gemacht werden kann und dass die Hydrolyse von PCL, welche in diesem Milieu für gewöhnlich sehr rasch abläuft, durch die Komplexbildung um mehrere Stunden verzögert wird.<sup>[93]</sup>

## **2 Zielsetzung**

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollen sowohl strukturelle Eigenschaften der Amylose in Lösung als auch grundlegende energetische Aspekte der Einschluskomplexe der Amylose mit synthetischen Polymeren mithilfe von Molecular Modeling und Molekularodynamik-Simulationen untersucht werden.

Zu diesem Zweck soll zunächst ein geeignetes Lösungsmittelsystem modelliert werden, welches aus einer Serie binärer Mischungen von Wasser und DMSO in sich graduell verändernden Anteilen besteht. Um Erkenntnisse über die Stabilität der Helixstruktur der V-Amylose und somit über deren tatsächlich vorliegende Konformation in Lösung zu gewinnen, soll anschließend das molekulardynamische Verhalten des Polysaccharids in den erzeugten Umgebungen simuliert und untersucht werden. Dabei soll im Speziellen die Beeinflussung der Konformation durch unterschiedliche charakteristische Eigenschaften der Lösungsmittel Wasser und DMSO auf molekularer Ebene beleuchtet werden.

Die computerbasierte Untersuchung der Amylose-Einschluskomplexe hat das grundsätzliche Ziel, eine Methode zur energetischen Bewertung der Stabilität solcher Verbindungen zu entwickeln, um damit in zukünftigen Studien praktisch verwendbare Aussagen über deren funktionelle Einsetzbarkeit treffen zu können. Hierfür ist die Weiterentwicklung und Verbesserung eines bereits im Rahmen meiner Masterarbeit konzipierten Ansatzes vorgesehen, welcher auf der Analyse der nichtkovalenten Wechselwirkungen zwischen Amylose und einer modellhaften Serie aliphatischer Mehrfachethermoleküle beruht. Zur Abschätzung der Gibbsenergie der Komplexbildung anhand geeigneter MD-Simulationen soll hierbei das Konzept der Linear Interaction Energy (LIE) erprobt und gegebenenfalls systemspezifisch angepasst werden. Eine weitere Verifizierung der Methode kann anschließend anhand der Komplexe bereits experimentell untersuchter, literaturbekannter Gastmoleküle durchgeführt werden.



### **3 Durchführung, Auswertung und Diskussion**

Alle MD-Simulationen wurden mit dem Programm paket GROMACS<sup>[110,111]</sup> durchgeführt. Dabei wurde das GROMOS96-Kraftfeld G45a3<sup>[112]</sup> und die G45a4-Erweiterung<sup>[113]</sup> für Kohlenhydrate eingesetzt (Näheres siehe Abschnitt 5).

#### **3.1 Modellierung und Charakterisierung der V-Amylose**

Eine fundamentale Voraussetzung für die Durchführbarkeit kraftfeldbasierter Untersuchungen eines molekularen Systems ist die Verfügbarkeit dreidimensionaler Strukturinformationen. Die Aufklärung der Struktur biologischer Makromoleküle erfolgt heute vornehmlich mittels Röntgenstrukturanalyse und NMR-Spektroskopie.

Zwar sind auch für V-Amylose strukturelle Parameter in der Literatur zu finden,<sup>[35,114]</sup> jedoch kann sich die Erzeugung eines individuell angepassten Modells aus diesen Daten unter Umständen als ein nicht triviales Problem herausstellen. Einer der wenigen veröffentlichten Berichte über die Nutzung eines derartigen Modells in einer wissenschaftlichen Studie ist eine Arbeit von Immel und Lichtenthaler, in der eine V-Amylosehelix aus 30 Glucoseeinheiten verwendet wird.<sup>[115]</sup> Die in der Literatur verfügbaren strukturellen Daten beschränken sich gewöhnlich auf die Atomkoordinaten einer einzelnen Glucoseeinheit sowie die entsprechende Raumgruppe und die Maße der Elementarzelle.<sup>[35,46,114,116]</sup> Durch Anwendung der Symmetrioperation einer sechszähligen Schraubenachse (6<sub>5</sub>-Helix) kann anhand dieser Angaben eine Amylosehelix beliebiger Länge erzeugt werden. In der vorliegenden Arbeit wurden die dazu notwendigen Berechnungen mithilfe einer linearen mathematischen Abbildung durchgeführt, welche bereits im Rahmen meiner Masterarbeit entwickelt worden ist.<sup>[117]</sup> Zur Vorbereitung der später durchzuführenden MD-Simulationen sollte anschließend die Eignung des verwendeten Kraftfeldes GROMOS 45a4 im Umgang mit dem erhaltenen Molekülmodell getestet werden. Hierzu wurde das molekulardynamische Verhalten der Helix unter Kristallbedingungen simuliert und die Ergebnisse mit der ursprünglichen Kristallstruktur verglichen.

### 3.1.1 Modellierung des V-Amylosemoleküls

Zur Modellierung der V-Amylosehelix wurden röntgenkristallographische Daten von Rappenecker und Zugenmaier verwendet, die auf der Vermessung dünner Amylose-DMSO-Filme beruhen.<sup>[35]</sup>

Ausgehend vom Ortsvektor  $\vec{x}_i$  eines Atoms  $X_i$  in Glucoseeinheit  $i$  kann die Position jedes analogen Atoms  $X_{i+1}$  in der Glucoseeinheit  $i+1$  der Amylosekette mithilfe der linearen Abbildung (1) berechnet werden.<sup>[117,118]</sup>

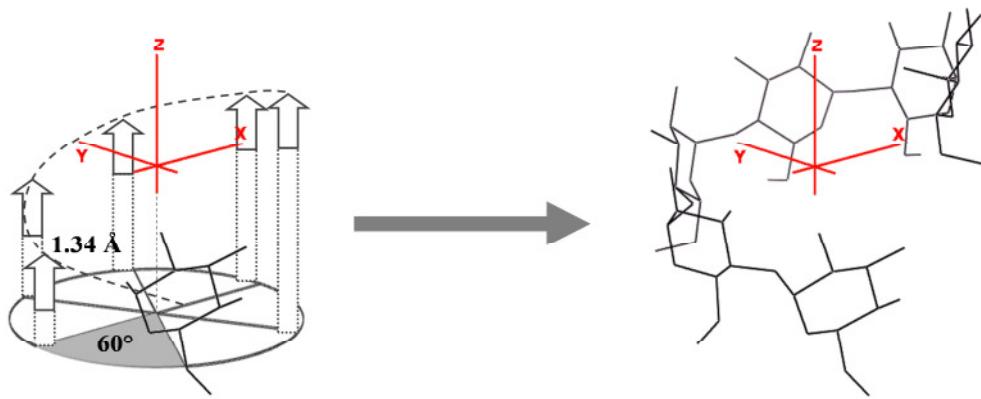
$$\overrightarrow{x_{i+1}} = \begin{pmatrix} \cos(-2\pi/n) & -\sin(-2\pi/n) & 0 \\ \sin(-2\pi/n) & \cos(-2\pi/n) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \cdot \vec{x}_i + \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ p/n \end{pmatrix} \quad (1)$$

Darin steht  $n = 6$  für die Anzahl der sich wiederholenden Einheiten in einer Helixwindung und  $p = 8,05 \text{ \AA}$  für die Ganghöhe der Helix.<sup>[119]</sup> Im Einzelnen besteht die Formel aus einer Rotationsmatrix, die eine Drehung im Uhrzeigersinn um  $2\pi/n$  (entspricht  $360^\circ/6 = 60^\circ$ ) um die  $z$ -Achse beschreibt, und einem Vektor, der die zusätzlich notwendige Translation um  $p/n$  (entspricht  $8,05 \text{ \AA}/6 = 1,34 \text{ \AA}$ ) in Richtung der Drehachse bewirkt. Die wiederholte Anwendung dieses Algorithmus erzeugt sukzessive die Geometrie einer sechszähligen linksgängigen Helix (Abb. 3.1). Allerdings impliziert diese Art der Kettenverlängerung auch, dass benachbarte Monosaccharidmoleküle mit den Atomen O4 und O1 überlappen, sodass die überzähligen Atome O1, H1 und H4 an den jeweiligen Stellen manuell entfernt und die Glucoseeinheiten durch glycosidische Bindungen verknüpft werden müssen.

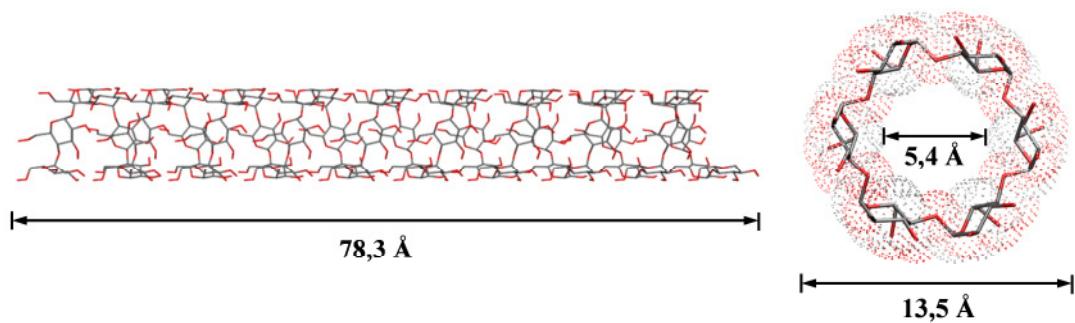
Mithilfe der beschriebenen Methode wurde eine Amylosekette aus neun sechszähligen Windungen und einer zusätzlichen einzelnen Einheit, d. h. insgesamt 55 Glucoseeinheiten generiert ( $C_{330}H_{552}O_{276}$ ). Die idealisierte helikale Struktur hat eine Länge von etwa  $78,3 \text{ \AA}$  und besitzt eine genau definierte zylindrische Kavität mit einem Durchmesser von ca.  $5,4 \text{ \AA}$ <sup>[117]</sup> (Abb. 3.2).

In einer Modeling-Studie konnte gezeigt werden, dass das Äußere der V-Amylosehelix einen hydrophilen Charakter besitzt, während die innere Oberfläche, welche den zentralen Hohlraum umschließt, hydrophobe Eigenschaften aufweist.<sup>[115]</sup> Dieses Ergebnis kann anhand der generierten Modellstruktur eindrucksvoll bestätigt

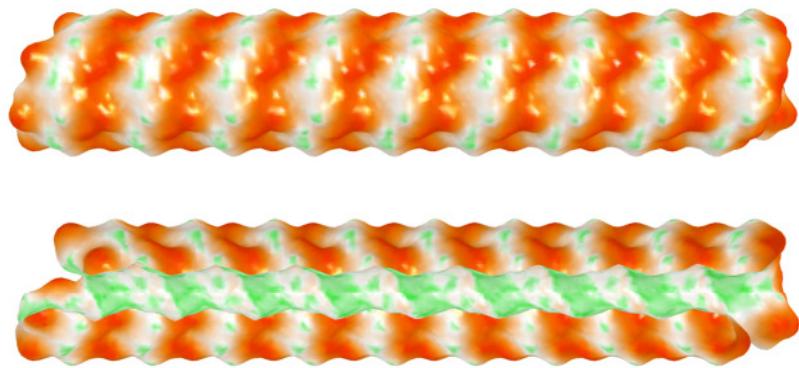
werden. Hierzu wurde eine molekulare Oberfläche des Modells erzeugt und auf diese das lipophile Potenzial des Kohlenhydrates abgebildet (Abb. 3.3). Im Resultat zeigt sich eindeutig die auf der Außenseite vorliegende Dominanz hydrophiler Bereiche, wogegen im inneren Kanal vorwiegend hydrophobe und neutrale Regionen erkennbar sind.



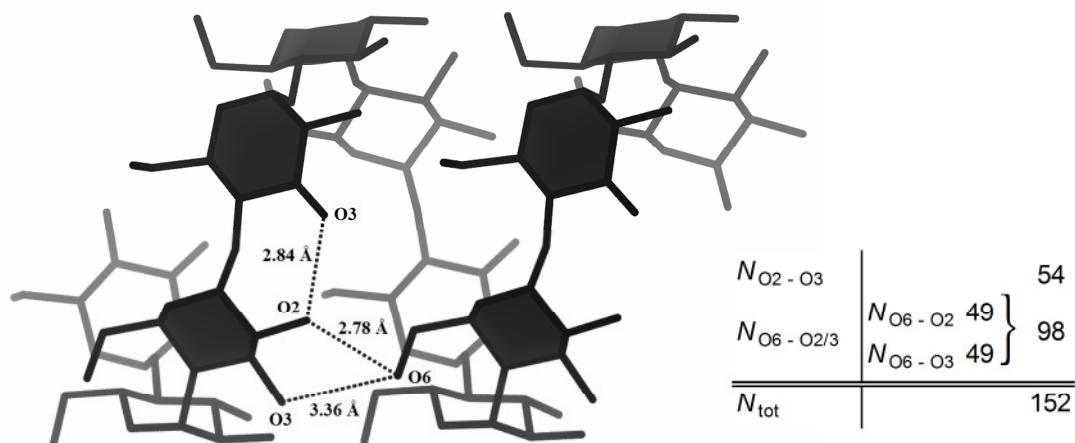
**Abb. 3.1** Schematische Darstellung der Modellierung einer V-Amylosehelix. Durch sukzessive Anwendung der Gleichung (1) auf die gegebenen Koordinaten einer Glucoseeinheit entsteht eine sechszählige helikale Struktur. Die zugrundeliegende Symmetrieeoperation besteht aus einer Drehung  $60^\circ$  um die  $z$ -Achse und einer Verschiebung um  $1,34 \text{ \AA}$  in Richtung der  $z$ -Achse.



**Abb. 3.2** Verschiedene Ansichten und Maße des V-Amylosemodells. Zu sehen sind die Seitenansicht und der Blick entlang der Helixachse ( $z$ -Achse).



**Abb. 3.3** Molekulare Oberfläche des V-Amylosemodells in der Außenansicht (oben) und einem Längsschnitt durch die Helix. Die Farbgebung verdeutlicht Oberflächenregionen mit hydrophilem (orange), hydrophobem (grün) und neutralem Potenzial.



**Abb. 3.4** Schematische Darstellung der im erzeugten V-Amylosemodell auftretenden Typen von Wasserstoffbrückenbindungen mit den zugehörigen O-O-Abständen. Die Tabelle gibt Auskunft über die jeweilige Anzahl  $N$  der H-Brücken.

Einen wesentlichen Beitrag zur Stabilisierung der V-Amylosestruktur liefern regelmäßig auftretende intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen (H-Brücken)<sup>[120]</sup>. Unterschieden werden können in diesem Zusammenhang H-Brücken zwischen OH<sub>2</sub> und OH<sub>3</sub> benachbarter, d. h. im Verlauf der Polymerkette aufeinanderfolgender Glucoseeinheiten und H-Brücken zwischen OH<sub>6</sub> und OH<sub>2</sub> oder OH<sub>3</sub> benachbarter Helixwindungen (Abb. 3.4). Im Folgenden werden erstere auch als *Intraturn*-H-Brücken und letztere als *Interturn*-H-Brücken bezeichnet. Das erzeugte Amylosemodell besitzt insgesamt 152 intramolekulare Wasserstoffbrücken, welche in der Tabelle in Abbildung 3.4 genauer aufgeschlüsselt sind.

Ihres O-O-Abstandes nach zu urteilen handelt es sich bei den Wechselwirkungen zwischen OH6 und OH3 um eher schwache Wasserstoffbrücken. Berücksichtigt werden muss dabei jedoch der Effekt der Kooperativität von H-Brücken.<sup>[121]</sup> Da Hydroxylgruppen gleichzeitig als H-Brücken-Akzeptor und -Donor fungieren können, sind sie in der Lage, ein geschlossenes Netzwerk zu bilden. Die daraus resultierende wechselseitige Polarisation der OH-Gruppen erhöht deren Dipolmoment und somit auch die Stärke der beteiligten Wasserstoffbrückenbindungen.

### 3.1.2 Molekulardynamisches Verhalten unter Kristallbedingungen

Es ist aus früheren Studien bekannt, dass sich die Verwendung einer Lösungsmittelumgebung mit niedriger Permittivität in MD-Simulationen dazu eignet, die Kristallbedingungen von Kohlenhydraten zu simulieren.<sup>[122]</sup> Da das im vorhergehenden Kapitel generierte Amylosemodell auf einer Kristallstruktur basiert, kann demzufolge die Simulation des molekulardynamischen Verhaltens in einem sehr hydrophoben Lösungsmittel als aussagekräftiger Test für die eingesetzten Kraftfeldparameter verwendet werden.

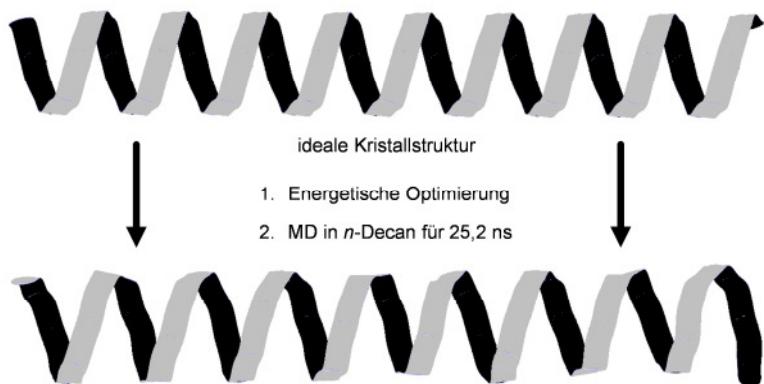
Zur Vorbereitung der Simulation wurde das Molekülmodell in einer rhombisch-dodekaedrischen Simulationsbox eines Volumens von ca. 885 nm<sup>3</sup> in *n*-Decan (2213 Moleküle) gelöst, dann kurzzeitig energetisch optimiert (1. *steepest descent*, 2. *conjugate gradient*) und anschließend für 25,2 ns bei einer Temperatur von 298,15 K und einem Druck von 1 bar simuliert. Dabei hatten die Massendichte und die potentielle Energie innerhalb der Box bereits nach wenigen Pikosekunden ihre Gleichgewichtswerte erreicht. Bei der Auswertung wurde jedoch zur Sicherheit ein Vorlauf von 200 ps ausgelassen.

Eine erste Betrachtung der Ergebnisse zeigt, dass die helikale Struktur der Amylose in ihren Grundzügen über die gesamte Simulationsdauer stabil bleibt. So weist auch die am Simulationsende vorliegende Konformation nur marginale Abweichungen von der idealen Kristallstruktur auf (Abb. 3.5). Sowohl die Kompaktheit der He-

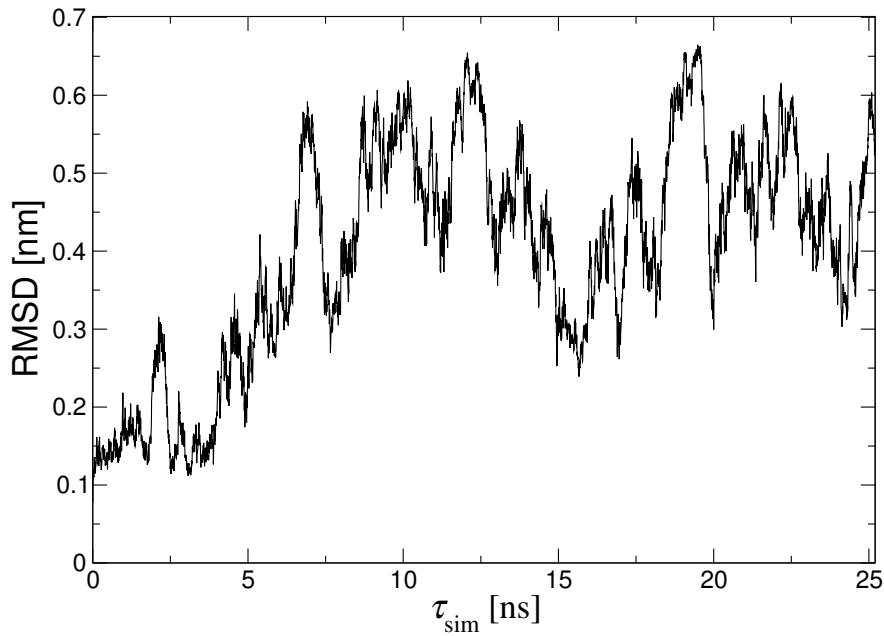
lixwindungen als auch die geradlinige Zylinderform des Systems sind erhalten geblieben, sodass weiterhin eine definierte innere Kavität besteht.

Erst bei einer genaueren Analyse werden geringfügige Unterschiede zwischen der in Decan vorliegenden und der ursprünglichen Struktur der Amylose deutlich. Diese schlagen sich in den RMSD-Werten (engl. *root mean square deviation* = Wurzel der mittleren quadratischen Abweichung) nieder, welche für die Atomabstände innerhalb des Amylosemoleküls in Relation zu den entsprechenden Abstandswerten der idealen Ausgangsstruktur berechnet wurden (Abb. 3.6). Im Simulationszeitintervall  $\tau_{\text{sim}} = 10 \text{ ns}$  bis  $\tau_{\text{sim}} = 25,2 \text{ ns}$  beträgt der RMSD-Wert im Mittel 0,46 nm.

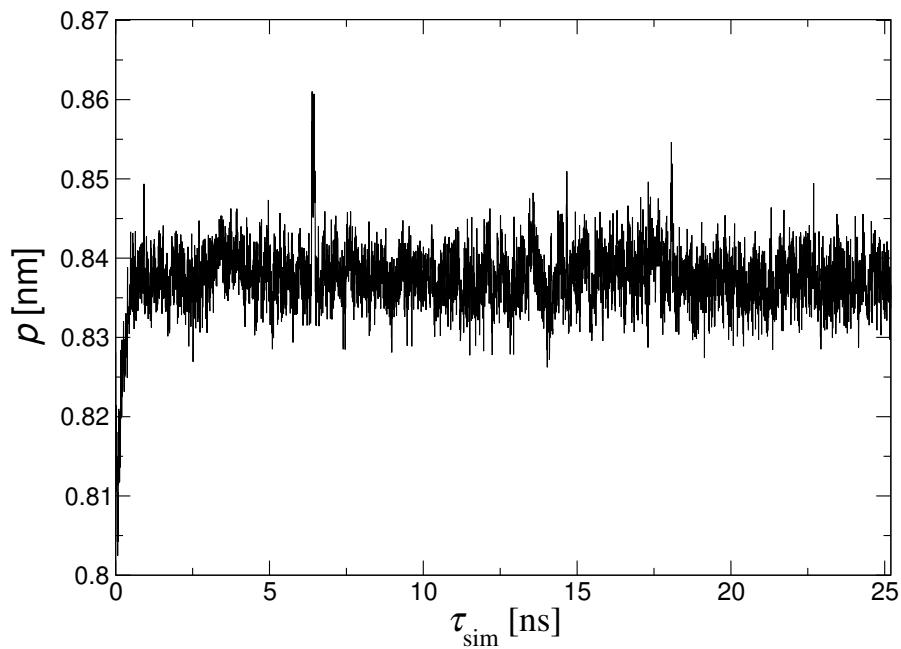
Der Aufbau der Helix hat sich dahingehend verändert, dass eine Windung nicht mehr durch genau sechs, sondern ungefähr sechseinhalb Glucoseeinheiten definiert ist. Dieser Umstand hat auch Auswirkungen auf andere Helixparameter, wie etwa die mittlere Ganghöhe  $p$ , welche sich während der Simulation von 0,805 nm auf durchschnittlich  $0,84 \pm 0,03 \text{ nm}$  erhöht (Abb. 3.7). Diese Abweichung ist jedoch nicht statistisch signifikant, zumal in der Literatur von Ganghöhen bis zu 0,817 nm berichtet wird.<sup>[30]</sup> Des Weiteren erhöht sich auch der Durchmesser  $d$  des inneren Kanals von 0,54 nm auf einen Simulationsmittelwert von ca. 0,62 nm. Es muss in diesem Zusammenhang berücksichtigt werden, dass es sich sowohl bei der Ganghöhe als auch dem Durchmesser aufgrund der Bestimmungsmethoden (siehe Abschnitt 5.2.3.1) lediglich um Näherungswerte handelt.



**Abb. 3.5** Schematische Darstellung des V-Amylosemodells in der idealen Kristallstruktur (oben) und nach kurzer energetischer Optimierung sowie MD-Simulation in *n*-Decan für 25,2 ns. Die helikale Struktur bleibt während der Simulation weitgehend erhalten.

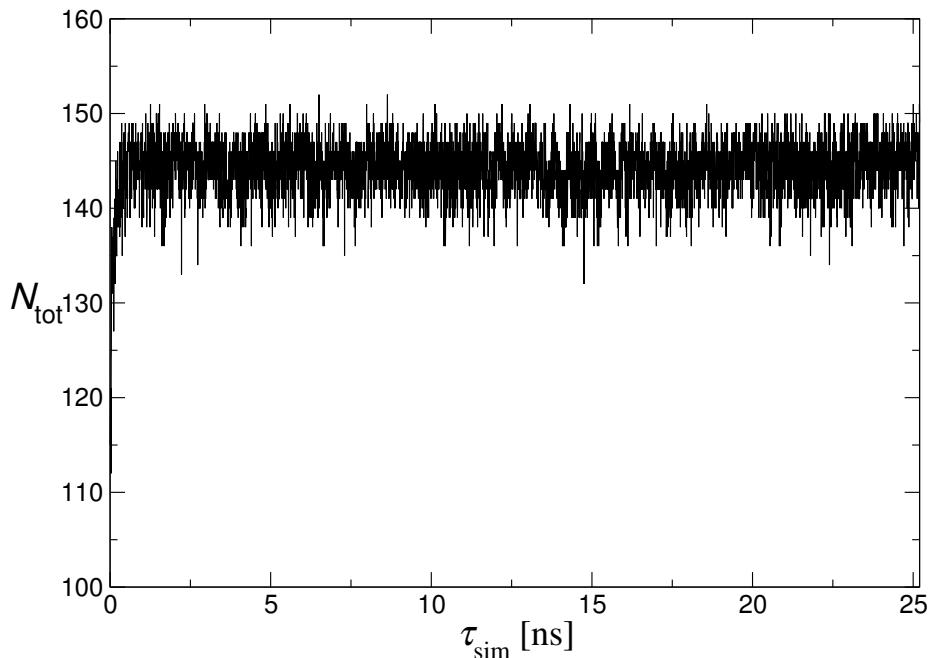


**Abb. 3.6** RMSD-Werte der Atomabstände innerhalb des Amylosemoleküls während der 25-ns-Simulation in *n*-Decan. Als Referenzstruktur wurde dabei das als Ausgangsstruktur dienende ideale Amylosemodell (Abb. 3.2) verwendet.



**Abb. 3.7** Durchschnittliche Helixganghöhe während der 25-ns-Simulation in *n*-Decan

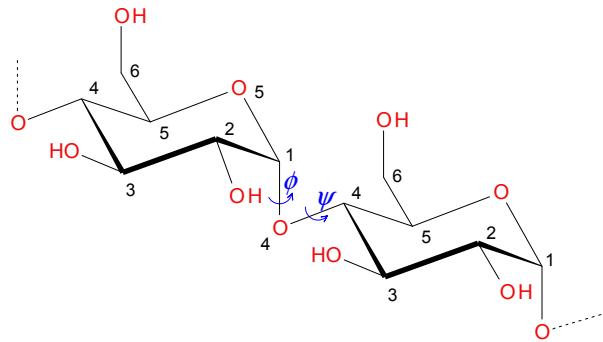
Trotz der geringen geometrischen Veränderungen der Helixstruktur bleibt die Integrität des intramolekularen Wasserstoffbrücken-Netzwerks der Amylose während der Simulation in *n*-Decan gewährleistet. Die Gesamtzahl der intramolekularen H-Brücken  $N_{\text{tot}}$  fluktuiert dementsprechend um einen Wert von 144, bewegt sich also nur unwesentlich unterhalb des maximal möglichen Wertes  $N_{\text{max}}$  von 152 (Abb. 3.8). Der sprunghafte Anstieg von  $N_{\text{tot}}$  zu Beginn der Simulation lässt darauf schließen, dass die Systemequilibrierung zu diesem Zeitpunkt noch nicht abgeschlossen ist.



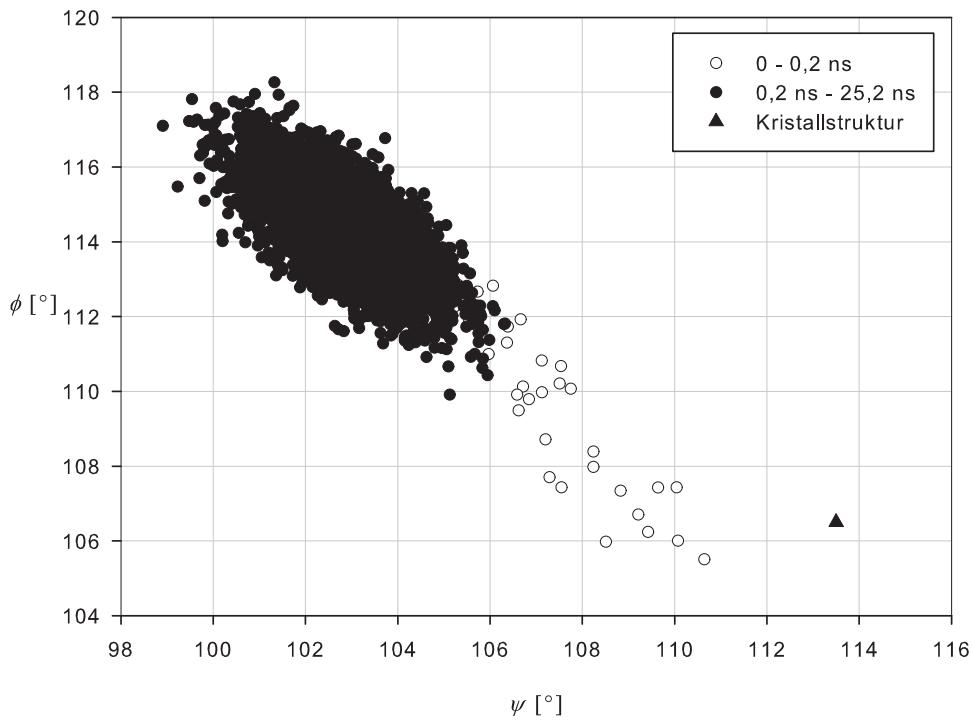
**Abb. 3.8** Zahl der intramolekularen Wasserstoffbrücken des Amylosemodells während der 25-ns-Simulation in *n*-Decan

Eine weitere Möglichkeit zur Beschreibung der Konformation der Amylose bieten die glycosidischen Torsionswinkel  $\phi$  (O5-C1-O4-C4) und  $\psi$  (C1-O4-C4-C3) (Abb. 3.9), welche die gegenseitige Ausrichtung aufeinanderfolgender Glucoseringe bestimmen. Abbildung 3.10 zeigt die Verteilung von  $\phi$  und  $\psi$  während der MD-Simulation in *n*-Decan im Vergleich mit den entsprechenden Idealwerten der Kristallstruktur ( $\phi = 106,5^\circ$  und  $\psi = 113,5^\circ$ ). Offensichtlich stellt sich bereits innerhalb der ersten 200 ps ein neuer Gleichgewichtszustand ein, dessen Mittelwert sich bei ca.  $\phi = 114,4^\circ$  und  $\psi = 102,8^\circ$  befindet. Somit ist bei  $\phi$  eine leichte Zunahme und bei  $\psi$

ein leichter Rückgang zu verzeichnen. Da die Veränderungen der beiden Diederwinkel gegensätzliche Vorzeichen besitzen und sich die relativen Verdrehungen benachbarter Zuckerringe deshalb gegenseitig zum Teil kompensieren, ist deren Auswirkung auf die globale Konformation der Amylose allerdings nur gering.



**Abb. 3.9** Definition der glycosidischen Diederwinkel  $\phi$  (O5-C1-O4-C4) und  $\psi$  (C1-O4-C4-C3)



**Abb. 3.10** Verteilung der glycosidischen Torsionswinkel  $\phi$  (O5-C1-O4-C4) und  $\psi$  (C1-O4-C4-C3) während der MD-Simulation über  $\tau_{\text{sim}} = 25$  ns in *n*-Decan. Die Datenpunkte, welche sich auf den Vorlauf von 200 ps beziehen, sind als weiß ausgefüllte Kreise dargestellt. Zusätzlich gezeigt sind die durchschnittlichen Diederwinkel der zugrundeliegenden Kristallstruktur im Punkt  $\blacktriangle(113,5 | 106,5)$ .

### **3.2 Stabilität der Helixkonformation in Wasser-DMSO-Mischungen**

Aufgrund der großen Anzahl frei drehbarer glycosidischer Bindungen innerhalb eines Amylosemoleküls kann das Polymer eine nahezu unbegrenzte Vielfalt möglicher Konformationen einnehmen. Die Aufklärung solcher Sekundärstrukturen ist der Gegenstand intensiver wissenschaftlicher Forschung, weil mit der Konformation wichtige Eigenschaften eines Moleküls verknüpft sein können. Beispiele für übergeordnete Strukturen, die die Funktionen biologischer Makromoleküle kontrollieren, sind die DNA-Doppelhelix, Lipid-Doppelschichten sowie die Sekundär-, Tertiär- und Quartärstrukturen von Proteinen.<sup>[123]</sup>

Der größte Teil der verfügbaren strukturellen Informationen zur Amylose beruht auf Röntgen-<sup>[35,46,116]</sup> und Elektronenbeugung<sup>[114]</sup> und ist somit auf die kristalline Phase beschränkt. Dagegen ist die Frage der Konformation des Polysaccharids in Lösung bis heute nicht abschließend geklärt, weil die verwendeten Methoden keine definitive Aussage zulassen. Resultate statischer und dynamischer Lichtstreuung sowie Studien zur Viskosität, dem Sedimentationsgleichgewicht, dem osmotischen Druck und der spezifischen optischen Drehung haben für den Fall der Amylose in wässriger Lösung zu unterschiedlichen Deutungen geführt, angefangen bei einer Random-Coil-Struktur ohne jeglichen Helixcharakter<sup>[124]</sup> bis hin zu einer Random-Coil-Struktur, die aus helikalen Segmenten<sup>[125]</sup> mit jeweils über 100 Glucoseeinheiten<sup>[126]</sup> besteht. Die letztere Folgerung wird im Wesentlichen auch durch Monte-Carlo-Studien unterstützt.<sup>[127-129]</sup> Die Sekundärstruktur von Amylose in DMSO wurde ebenfalls kontrovers diskutiert. So beschreiben einige Autoren diese als eine Random-Coil-Struktur<sup>[125,130,131]</sup>, während andere eine kompakte starre oder zumindest aufgeweitete Helix postulieren.<sup>[132-134]</sup> In diesem Zusammenhang wurde darauf hingewiesen, dass eine mögliche Abhängigkeit der globalen Amylosestruktur von der molekularen Masse nicht zu vernachlässigen ist.<sup>[135]</sup>

Für Lösungen in DMSO wurde auf der Basis von NMR-Daten die Existenz stabilisierender Wasserstoffbrücken zwischen OH2 und OH3 der Amylose vermutet<sup>[136,137]</sup>, wohingegen einer Konformationsanalyse zufolge in wässriger Lösung kei-

ne solchen Wechselwirkungen auftreten sollen.<sup>[138]</sup> Ergebnisse einer neueren Studie schließen das Auftreten der H-Brücken auch in DMSO aus.<sup>[134]</sup> Laut Cheetham und Tao<sup>[120]</sup> verändert sich die Konformation der Amylose in Wasser-DMSO-Mischungen mit steigendem Wassergehalt von 0 bis 66 % von einer kompakten Helix über eine aufgeweitete Helix hin zu einer Random-Coil-Struktur, wobei die Zahl der intramolekularen H-Brücken zwischen OH2 und OH3 kontinuierlich abnimmt. Diese Schlussfolgerungen beruhen auf <sup>13</sup>C-NMR-Messungen, Daten zur spezifischen Drehung und zur Grenzviskosität sowie auf Experimenten zur Komplexbildung von Iod und Butanol mit Amylose.

Um mithilfe von computerbasierten Methoden Aussagen bezüglich der Konformation von Amylose in Lösung gewinnen zu können, wurde in der vorliegenden Arbeit von einer idealen V-Amylosehelix ausgegangen und deren strukturelle Stabilität unter molekulardynamischen Bedingungen in Wasser-DMSO-Gemischen unterschiedlicher Zusammensetzung analysiert. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf die Entwicklung der Zahl intramolekularer Wasserstoffbrückenbindungen gelegt.

### 3.2.1 Vorbereitung der Lösungsmittelgemische

Für die spätere Analyse des molekulardynamischen Verhaltens der Amylose in Lösung wurden insgesamt sechs unterschiedliche Lösungsmittelzusammensetzungen vorbereitet, darunter die reinen Solvenzien Wasser und DMSO sowie vier zusätzliche binäre Mischungen. Im Folgenden werden diese anhand ihrer Massenanteile  $\omega$  ( $\omega_{\text{Wasser}} = 0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0$ ) unterschieden.

Für die Parametrisierung von DMSO wurde das im Jahr 2004 von Geerke *et al.* vorgeschlagene Modell verwendet<sup>[139]</sup>. Um möglichst realistische Wechselwirkungen innerhalb der binären Mischungen mit DMSO gewährleisten zu können, wurden drei verschiedene Wassermodelle auf ihre diesbezügliche Tauglichkeit hin getestet: SPC, SPC/E und TIP4P.

Das SPC-Modell<sup>[140]</sup> (*simple point charge*) besteht aus drei Massenpunkten mit Punktladungen, welche jeweils auf den Positionen der Atomkerne platziert sind. Ursprünglich handelt es sich dabei um ein starres Wassermode, d. h. die Geometrie des Mo-

leküls kann sich während der Simulation nicht verändern, jedoch wurde in der vorliegenden Arbeit eine flexible Modifikation verwendet.<sup>[141]</sup>

Das SPC/E-Modell<sup>[142]</sup> (*extended simple point charge*) stellt eine reparametrisierte Version des SPC-Modells dar, welche bei der Berechnung der potenziellen Energie eines Wassermoleküls dessen effektive Polarisation durch einen zusätzlichen Korrekturterm berücksichtigt.

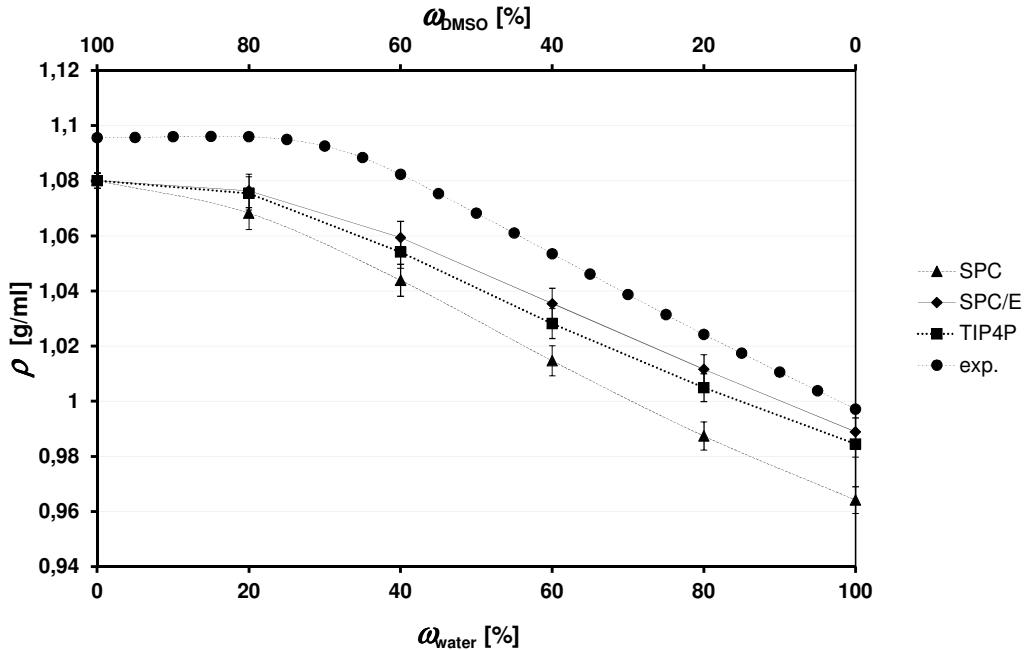
Beim TIP4P-Modell<sup>[143]</sup> (*4 point transferable intermolecular potential*) handelt es sich um ein komplexeres sogenanntes 4-Site-Modell. Die negative Partialladung ist dabei nicht am Sauerstoffatom lokalisiert, sondern stattdessen auf einem Dummyatom, welches sich in einem Abstand von 0,15 Å vom Sauerstoffatom zwischen den Wasserstoffatomen befindet. Dadurch soll eine realistischere Ladungsverteilung über das Wassermolekül erreicht werden.

Jedes der erzeugten Wasser-DMSO-Gemische wurde bei einer Temperatur von 298,15 K und einem Druck von 1,0 bar für einen Zeitraum von 25 ns simuliert. Dabei wurde der Fortschritt der Systemequilibrierung anhand der potenziellen Energie und der Massendichte  $\rho$  protokolliert. Obwohl diese Werte bereits innerhalb einer Simulationszeit von höchstens 100 ps ihre Gleichgewichtswerte erreicht hatten, wurde die Equilibrierungszeit sicherheitshalber auf insgesamt 1 ns ausgedehnt. Die nach 1 ns vorliegenden Gemische wurden für alle weiteren Simulationen der Amylose als Lösungsmittel verwendet.

Um die Leistungen der drei eingesetzten Wassermodelle in ihrer Interaktion mit DMSO vergleichen und beurteilen zu können, wurde die Massendichte  $\rho$  über die gesamte Simulationsdauer von 25 ns ausgewertet, wobei in diesem Fall ein anfänglicher Equilibrierungszeitraum von 0,2 ns nicht mitbewertet wurde. Die erhaltenen Datensätze wurden daraufhin mit experimentellen Messwerten<sup>[144]</sup> verglichen (Abb. 3.11).

Offensichtlich liegen die berechneten Dichtewerte bei allen verwendeten Lösungsmittelmodellen leicht unterhalb der entsprechenden experimentell ermittelten Daten. Für reines Wasser beträgt die mittlere relative Abweichung des SPC-Modells 3,3 %, während SPC/E und TIP4P mit Abweichungen von 0,8 % bzw. 1,3 % bessere Näherungen darstellen. Der Simulationswert von absolutem DMSO liegt durch-

schnittlich 1,4 % zu niedrig. Vergleichbare Daten des DMSO-Modells in Verbindung mit SPC-Wasser wurden bereits von Geerke *et al.*<sup>[139]</sup> publiziert.



**Abb. 3.11** Dichtewerte aus MD-Simulationen und experimentelle Dichtewerte<sup>[144]</sup> *versus* Massenanteile  $\omega$  von Wasser bzw. DMSO der verschiedenen Lösungsmittelgemische. Die Datenpunkte entsprechen den Mittelwerten einer Simulationstrajektorie über 25 ns abzüglich einer anfänglichen Equilirierungszeit von 0,2 ns. Die Fehlerbalken repräsentieren die zugehörigen 2- $\sigma$ -Konfidenzintervalle mit  $\sigma$  als der geschätzten Standardabweichung.

Für einen ganzheitlichen Vergleich der simulierten Datenreihen mit dem experimentellen Datensatz bietet sich der Korrelationskoeffizient nach Pearson an, der den Grad des linearen Zusammenhangs zweier Größen auf einer Skala von -1 bis +1 abbildet. Die Korrelation beträgt demnach 0.985 für SPC, 0.996 für SPC/E und 0.991 für TIP4P. Somit reproduzieren alle drei Wassermodelle in Kombination mit dem DMSO-Modell den nichtlinearen Kurvenverlauf der experimentellen Dichte in zufriedenstellendem Maße. Das beste Ergebnis liefern dabei die Simulationen unter Verwendung des SPC/E-Modells.

Aufgrund seiner höheren Komplexität und des damit verbundenen erhöhten Rechenaufwands im Vergleich zu den beiden anderen Lösungsmittelmodellen wurde TIP4P nicht für weitere Simulationen eingesetzt. Stattdessen wurde im Abschnitt

3.2.2 der vorliegenden Arbeit das SPC/E-Modell verwendet, da dieses bei einem vergleichsweise geringen Bedarf an Rechenkapazität die besten Ergebnisse liefert. Parallel wurden alle Berechnungen zur weiteren Validierung der Ergebnisse auch mit dem SPC-Modell durchgeführt, welches wegen seiner engen Verwandtschaft zu SPC/E keine zusätzliche Simulationsvorbereitung erfordert. Aus Gründen der Übersichtlichkeit und weil das SPC-Modell in qualitativer Hinsicht keine abweichenden Aussagen liefert, sollen aber nur die Ergebnisse unter Verwendung von SPC/E präsentiert und diskutiert werden. Die entsprechenden SPC-Resultate finden sich im Anhang.

### **3.2.2 MD-Simulationen der Amylose**

Die Untersuchung der strukturellen Stabilität der V-Amylose in Lösung erfolgte unter Zuhilfenahme der in Abschnitt 3.2.1 konfigurierten Wasser-DMSO-Gemische. Das Amylosemodell wurde dazu zentral in einer rhombisch-dodekaedrischen Simulationsbox eines Volumens von ca. 885 nm<sup>3</sup> platziert und diese dann mit den Solvensmischungen geflutet. Einen Überblick über die Lösungsmittel-Zusammensetzung der so erzeugten Systeme gibt Tabelle 3.1.

**Tabelle 3.1** Zusammensetzungen der Wasser-DMSO-Gemische in den Amylosesimulationen. Angegeben sind die enthaltenen Teilchenzahlen von Wasser und DMSO sowie die jeweiligen Massenanteile  $\omega$  und Stoffmengenanteile  $\chi$  von Wasser.

H <sub>2</sub> O	DMSO	$\omega(\text{H}_2\text{O})$	$\chi(\text{H}_2\text{O})$
29124	0	1,00	1,00
23596	1128	0,83	0,95
17759	2400	0,63	0,88
13028	3521	0,46	0,79
6870	4903	0,24	0,58
0	6869	0,00	0,00

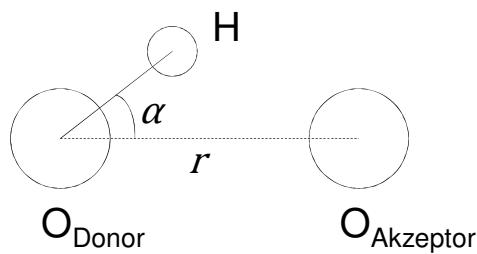
Nach kurzen Simulationen zur Energieminimierung (1. *steepest descent*, 2. *conjugate gradient*) wurden die Systeme jeweils fünfmal für 25,2 ns bei einer Temperatur von 298,15 K und einem Druck von 1 bar simuliert. Zusätzlich wurde jeweils eine exemplarische Simulation in reinem Wasser und DMSO über einen verlängerten

Zeitraum von 100 ns durchgeführt, um das Langzeitverhalten der Amylose beurteilen zu können.

Zur Analyse der spezifischen Wechselwirkungen von Wasser und DMSO mit einer intakten V-Helix wurden die entsprechenden Systeme außerdem je einmal über 5 ns simuliert, wobei nur die Hydroxylgruppen OH2, OH3 und OH6 beweglich gelassen und alle übrigen Atome der Amylose räumlich fixiert wurden.

### 3.2.3 Auswertung der MD-Simulationen

Einen zentralen Beitrag zur Stabilität der helikalen V-Amylosestruktur leisten intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen (Abb. 3.4).<sup>[120]</sup> Wesentliche konformative Änderungen der Amylose, d. h. beispielsweise ein Aufweiten oder Abwickeln der Helix, erfordern ein Brechen derartiger H-Brücken, da diese stark von der gegenseitigen räumlichen Lage und Ausrichtung der Donor- und Akzeptorgruppen abhängig sind. Aus diesem Grund ist es möglich, die sich verändernde Gesamtzahl intramolekularer H-Brücken  $N_{\text{tot}}$  als einen Indikator für den momentanen Helixcharakter der Amylose zu verwenden. Als Referenzpunkt sollte dabei der maximal mögliche Wert von  $N_{\text{tot}}$  gelten, der im vorliegenden Fall durch das idealisierte in Abschnitt 3.1.1 erzeugte V-Amylosemodell als  $N_{\text{max}} = 152$  definiert ist.



**Abb. 3.12** Kriterien für das Auftreten einer H-Brücke zwischen  $\text{O}_{\text{Donor}}\text{H}$  und  $\text{O}_{\text{Akzeptor}}$ . Die Wechselwirkung wird als H-Brücke gewertet, wenn  $\alpha \leq 30^\circ$  und  $r \leq 3,5 \text{ \AA}$ .

Die Bestimmung der zeitabhängigen Zahl der H-Brücken in den MD-Trajektorien wurde mit dem Programm `g_hbond`<sup>[145]</sup> in GROMACS durchgeführt, welches das Auftreten einer H-Brücke anhand geometrischer Kriterien beurteilt. Als Cut-offs wurden dabei ein maximaler Abstand  $r = 3,5 \text{ \AA}$  zwischen  $\text{O}_{\text{Donor}}$  und  $\text{O}_{\text{Akzeptor}}$  sowie

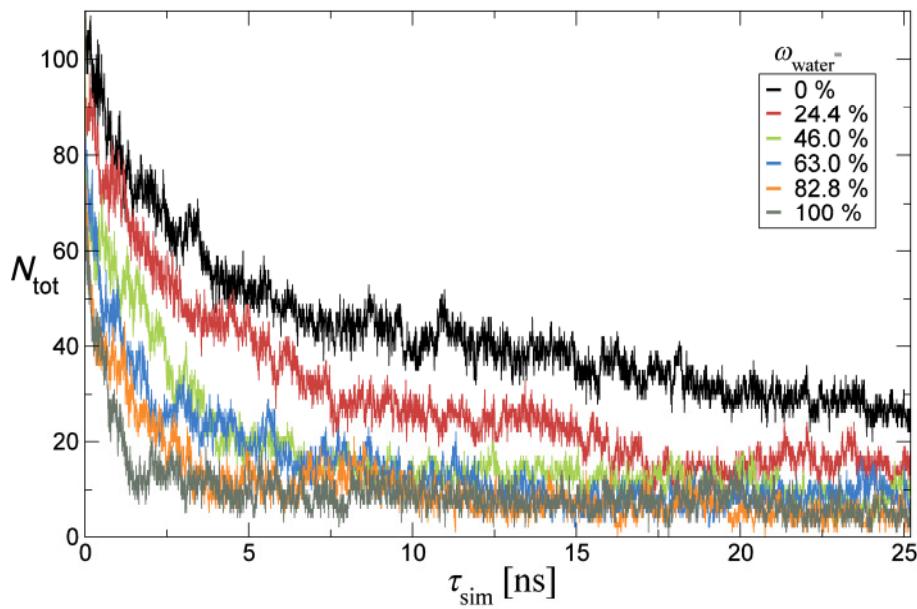
ein maximaler Winkel  $H-O_{\text{Donor}}-O_{\text{Akzeptor}}$  von  $\alpha = 30^\circ$  verwendet (Abb. 3.12). Um die statistische Variation innerhalb der Datenreihen zu verringern, wurden die resultierenden Zahlenwerte mithilfe gleitender Mittelwerte ausgewertet.

### **3.2.3.1 Abbau der helikalen Sekundärstruktur**

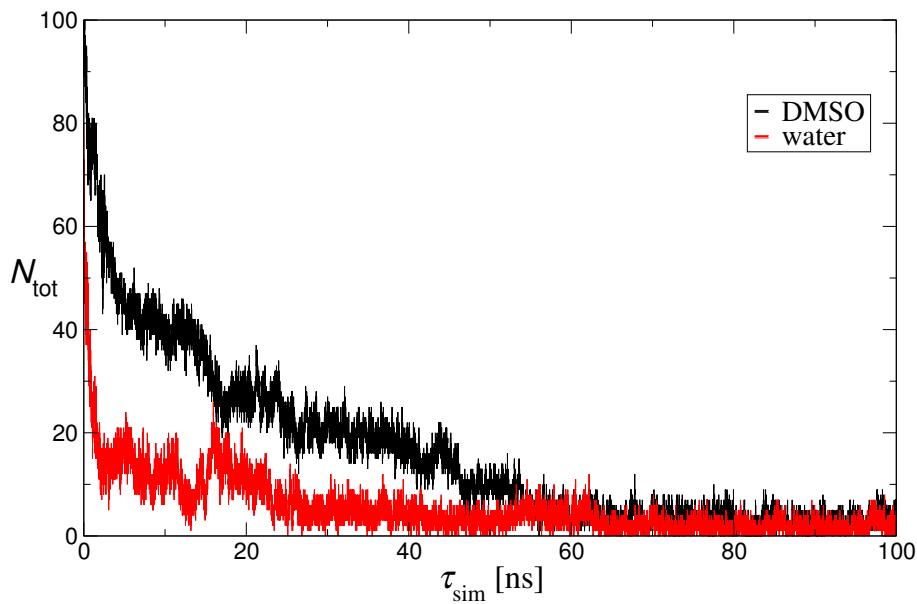
Eine erste Betrachtung der MD-Trajektorien ergibt, dass augenscheinlich alle Simulationen durch einen Abbau der helikalen Sekundärstruktur gekennzeichnet sind, sodass unabhängig von der Lösungsmittelzusammensetzung nach einer Simulationszeit  $\tau_{\text{sim}}$  von 25 ns kein Helixgehalt mehr erkennbar ist und vielmehr eine Random-Coil-Struktur vorliegt. Dieser Eindruck wird durch die durchschnittliche Zahl der intramolekularen H-Brücken  $N_{\text{tot}}$  der Amylose bestätigt, welche über die gesamte Simulationsdauer kontinuierlich abfällt. Eine Illustration für diesen Trend bietet Abbildung 3.13 anhand einer beispielhaften Serie von sechs MD-Simulationen. Die nach 25 ns verbliebenen Werte von  $N_{\text{tot}}$  betragen im Mittel für jedes Solvensgemisch nur noch Bruchteile der maximal möglichen Zahl  $N_{\text{max}} = 152$  (Tabelle 3.2). Allerdings ist der Abbau von H-Brücken nach 25 ns noch nicht beendet, sondern schreitet auch darüber hinaus weiter fort, sodass  $N_{\text{tot}}$  schließlich Werte nahe null annimmt, also praktisch keine intramolekularen Wasserstoffbrücken der Amylosekette mehr vorliegen. Dies kann aus den zwei exemplarischen Simulationen geschlussfolgert werden, welche über eine verlängerte Simulationsdauer von 100 ns in Wasser bzw. in DMSO durchgeführt wurden (Abb. 3.14).

**Tabelle 3.2** Zahl intramolekularer H-Brücken  $N_{\text{tot}}$  der Amylose nach  $\tau_{\text{sim}} = 25$  ns als Mittelwert über alle fünf Simulationen für jede Lösungsmittelzusammensetzung ( $N_{\text{max}} = 152$ )

$\omega_{\text{Wasser}} [\%]$	$N_{\text{tot}} (25 \text{ ns})$
0,0	21,7
24,4	14,7
46,0	10,4
63,0	7,5
82,8	9,9
100,0	7,7



**Abb. 3.13** Reduktion von  $N_{\text{tot}}$  in einer Simulationszeit  $\tau_{\text{sim}}$  von 25 ns anhand einer exemplarischen Serie von sechs MD-Simulationen (je eine Simulation pro Lösungsmittelumgebung)



**Abb. 3.14** Reduktion von  $N_{\text{tot}}$  in einer Simulationszeit  $\tau_{\text{sim}}$  von 100 ns in Wasser und DMSO

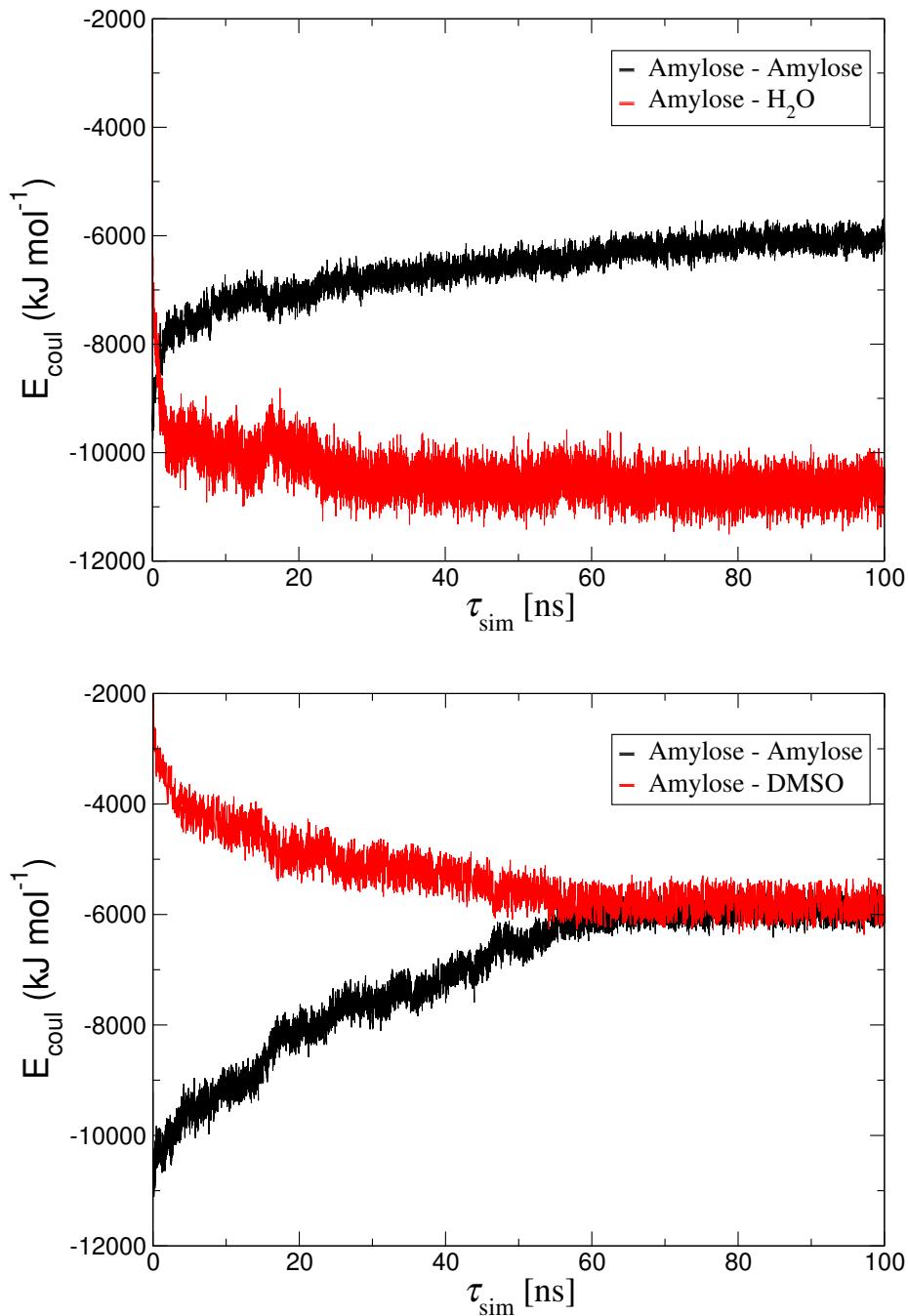
Eine mögliche Begründung für den vollständigen Zerfall der helikalen Sekundärstruktur der Amylose innerhalb der MD-Simulationen findet sich in der dabei ablaufenden Entwicklung der zwischenmolekularen Coulombwechselwirkungen (Abb. 3.15). Der Austausch intramolekularer H-Brücken gegen intermolekulare

H-Brücken zwischen Amylose und Solvensmolekülen resultiert im Falle von Wasser in einem deutlichen Gewinn derartiger Coulombenergien. Ein Vergleich der entsprechenden Energiebilanzen zu Beginn ( $\Sigma [E_{\text{coul}}] \approx -11700 \text{ kJ/mol}$ ) und am Ende ( $\Sigma [E_{\text{coul}}] \approx -16600 \text{ kJ/mol}$ ) der 100-ns-Simulation ergibt einen Ertrag günstiger Wechselwirkungen von ca. 4900 kJ/mol. Im Gegensatz dazu ist das Abwickeln der Helix in DMSO aus diesem Blickwinkel nicht energetisch vorteilhaft, denn hier resultiert ein Defizit von 1300 kJ/mol. Zu berücksichtigen ist jedoch vor allem auch der Einfluss entropischer Faktoren. So wird beim Abbau der regelmäßigen helikalen Struktur zugunsten eines ungeordneten Knäuels der Ordnungsgrad des Systems vermindert, was eine zusätzliche treibende Kraft für den Prozess darstellt.

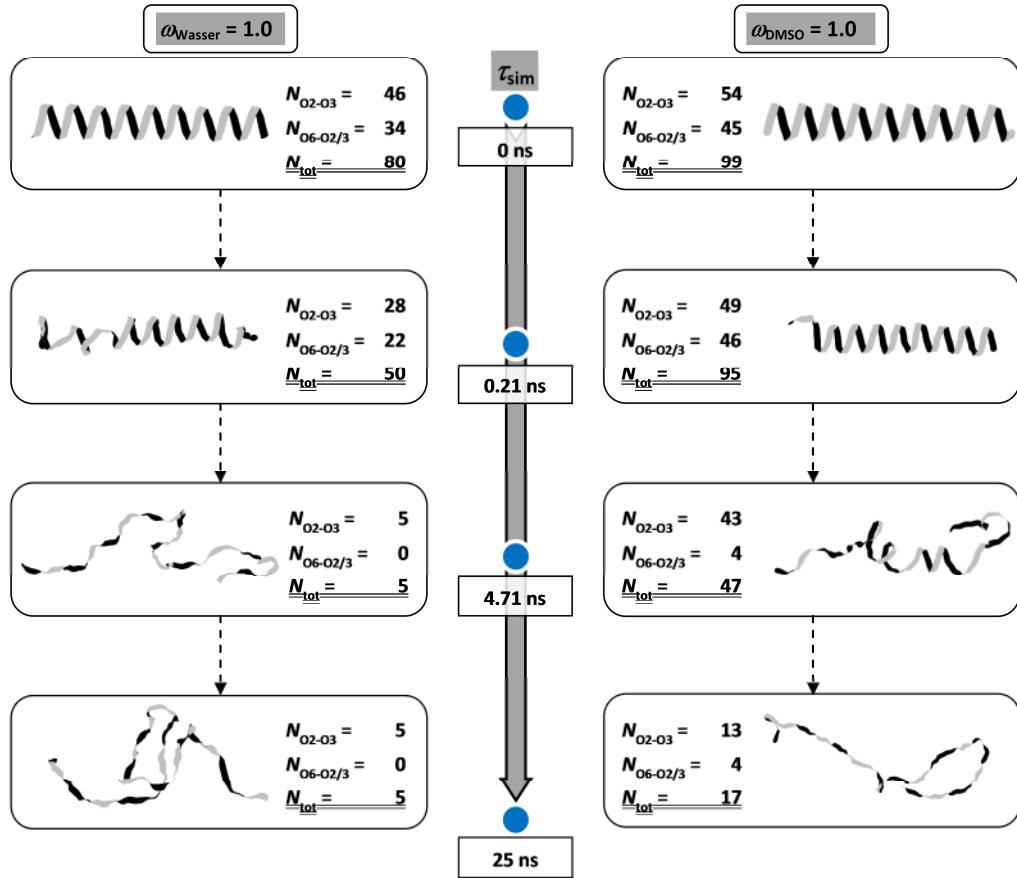
### **3.2.3.2 Einfluss der Lösungsmittelzusammensetzung**

Obwohl in allen durchgeführten MD-Simulationen ein Abbau der helikalen Sekundärstruktur der Amylose zu beobachten ist, gibt es zwischen den Lösungsmitteln Wasser und DMSO doch deutliche Unterschiede hinsichtlich der zeitlichen Entwicklung des Zerfallsprozesses (Abb. 3.13 und 3.14). Dies wird schematisch in Abbildung 3.16 anhand von Momentaufnahmen des Amylosemoleküls zu ausgewählten Simulationszeitpunkten verdeutlicht. Zunächst ist festzustellen, dass die Gesamtzahl der intramolekularen H-Brücken  $N_{\text{tot}}$  bereits während der vorgeschalteten Simulationenläufe zur Energieminimierung (*steepest descent* und *conjugate gradient*) merklich abfällt, nämlich von ursprünglich 152 auf 80 in Wasser bzw. auf 99 in DMSO. In der anschließenden MD-Simulation in Wasser sinkt  $N_{\text{tot}}$  in nur 0,21 ns relativ schnell von 80 auf 50, was einem verbleibenden Helixcharakter  $N_{\text{tot}}/N_{\text{max}}$  von etwa 30 % entspricht und sich in einer sichtbaren Störung der helikalen Konformation äußert, während in DMSO zu diesem Zeitpunkt nur ein geringer Verlust an H-Brücken und nur geringfügige Abweichungen von der idealen V-Helix zu verzeichnen sind. Erst nach einer Simulationszeit von 4,71 ns, wenn das Amylosemolekül in wässriger Lösung offensichtlich bereits vollkommen zufällig orientiert ist, hat die Zahl intramolekularer H-Brücken in DMSO einen vergleichbaren Wert von  $N_{\text{tot}} = 47$  erreicht. Auch am Endpunkt der Simulationen nach  $\tau_{\text{sim}} = 25 \text{ ns}$  ist  $N_{\text{tot}}$  in DMSO (17) immer noch deutlich höher als in Wasser (5), wenngleich dies visuell anhand der vorliegen-

den Strukturen nicht mehr erkennbar ist. Wie bereits in Abschnitt 3.2.3.1 beschrieben, ist jedoch davon auszugehen, dass eine Verlängerung der Simulationsdauer über 25 ns hinaus zu einer Nivellierung dieses Unterschiedes führt, da  $N_{\text{tot}}$  sich auch in DMSO letztlich dem Wert null annähert.

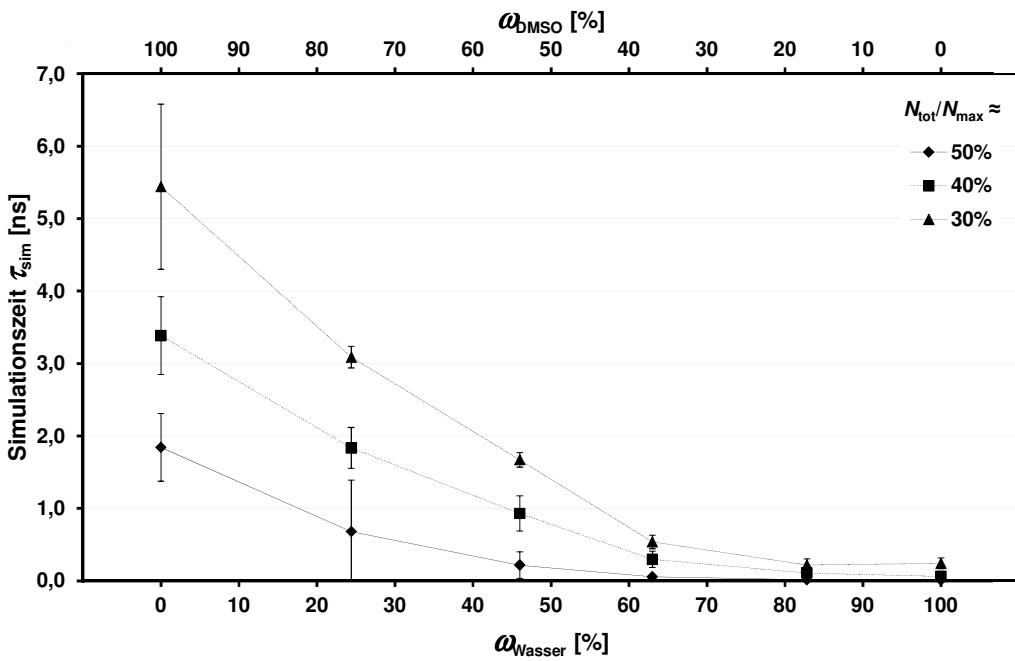


**Abb. 3.15** Intra- und intermolekulare Coulomb-Wechselwirkungsenergien der Amylose über eine Simulationsdauer von 100 ns in Wasser (oben) und DMSO (unten)



**Abb. 3.16** Zeitlich korrespondierende Momentaufnahmen des Amylosemoleküls (schematisch dargestellt) aus zwei exemplarischen MD-Simulationen in reinem Wasser (links) und reinem DMSO (rechts). Für die Schnappschüsse wurden Simulationszeitpunkte ausgewählt, in denen das Verhältnis  $N_{\text{tot}}/N_{\text{max}}$  ungefähr 0,3 beträgt, was in Wasser nach ca. 0,21 ns, in DMSO aber erst nach ca. 4,71 ns der Fall ist. Außerdem werden die Startpunkte gezeigt, d. h. die Zustände nach der geometrischen Optimierung, sowie die Endpunkte der Simulation nach 25 ns.

Berücksichtigt man die gemachten Beobachtungen für die reinen Lösungsmittel Wasser und DMSO und erweitert man nun den Blickwinkel auf die komplette Serie aus sechs verschiedenen Solvensumgebungen (Tabelle 3.1), so fällt auf, dass hinsichtlich der Geschwindigkeiten des Helix-Zerfallsprozesses eine deutliche graduelle Tendenz besteht (Abb. 3.17). Im Wesentlichen verringert sich die Zahl der intramolekularen H-Brücken  $N_{\text{tot}}$  am schnellsten in Wasser und fällt umso langsamer ab, je mehr der Massenanteil von DMSO  $\omega_{\text{DMSO}}$  in den Mischungen erhöht wird. Angefangen bei reinem DMSO fällt die Simulationsdauer  $\tau_{\text{sim}}$ , bei der  $N_{\text{tot}}$  Werte von 50 %, 40 % und 30 % des Idealwertes  $N_{\text{max}}$  (152) unterschreitet, mit ansteigendem Wasseranteil.



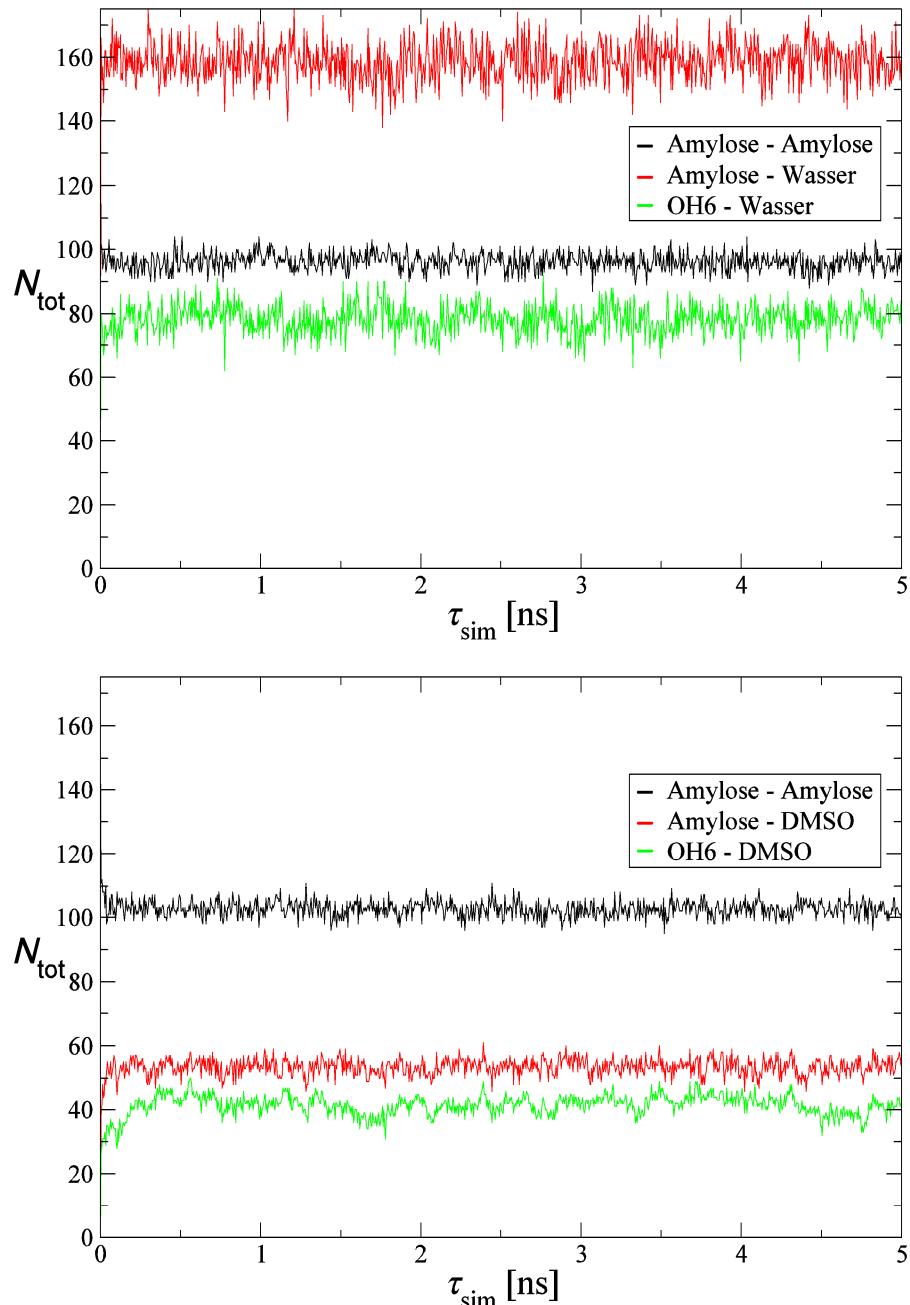
**Abb. 3.17** Durchschnittliche Simulationsdauer, nach der sich  $N_{\text{tot}}$  auf Werte von ca. 50 %, 40 % und 30 % des Wertes  $N_{\text{max}}$  der idealen V-Amylosehelix reduziert hat, als Funktion der Lösungsmittelzusammensetzung

Um eine mögliche Erklärung für den in Abbildung 3.17 erkennbaren Trend zu finden, ist es notwendig, die spezifischen Wechselwirkungen der eingesetzten Lösungsmittel mit dem V-Amylosemolekül zu analysieren und zu vergleichen. Das Wassermoleköl ist stark dipolar und kann bis zu vier Wasserstoffbrückenbindungen gleichzeitig eingehen, davon zwei als Donor und zwei als Akzeptor. Außerdem ist es klein genug, um tief in die Sekundärstruktur des Polysaccharids einzudringen und dadurch das intramolekulare Netzwerk aus H-Brücken zu schwächen. Das DMSO-Moleköl dagegen besitzt zwar eine vergleichbare Polarität, kann aber lediglich als zweifacher H-Brücken-Akzeptor fungieren. Da es zudem das ca. 4,5-fache Van-der-Waals-Volumen von Wasser einnimmt und eine verzweigte Struktur besitzt, ist DMSO das sterisch bei Weitem anspruchsvollere Moleköl und kann nicht alle der relativ nah beieinanderliegenden OH-Gruppen an der Amyloseoberfläche zur selben Zeit binden (siehe dazu auch Abb. 3.19). Zwar ist durchaus denkbar, dass ein DMSO-Moleköl simultan mit z. B. OH2 und OH3 einer einzelnen oder zweier benachbarter Glucoseeinheiten wechselwirkt. Die sich daraus ergebende Situation wäre aber energetisch vergleichsweise ungünstig, da durch die doppelte Interaktion die

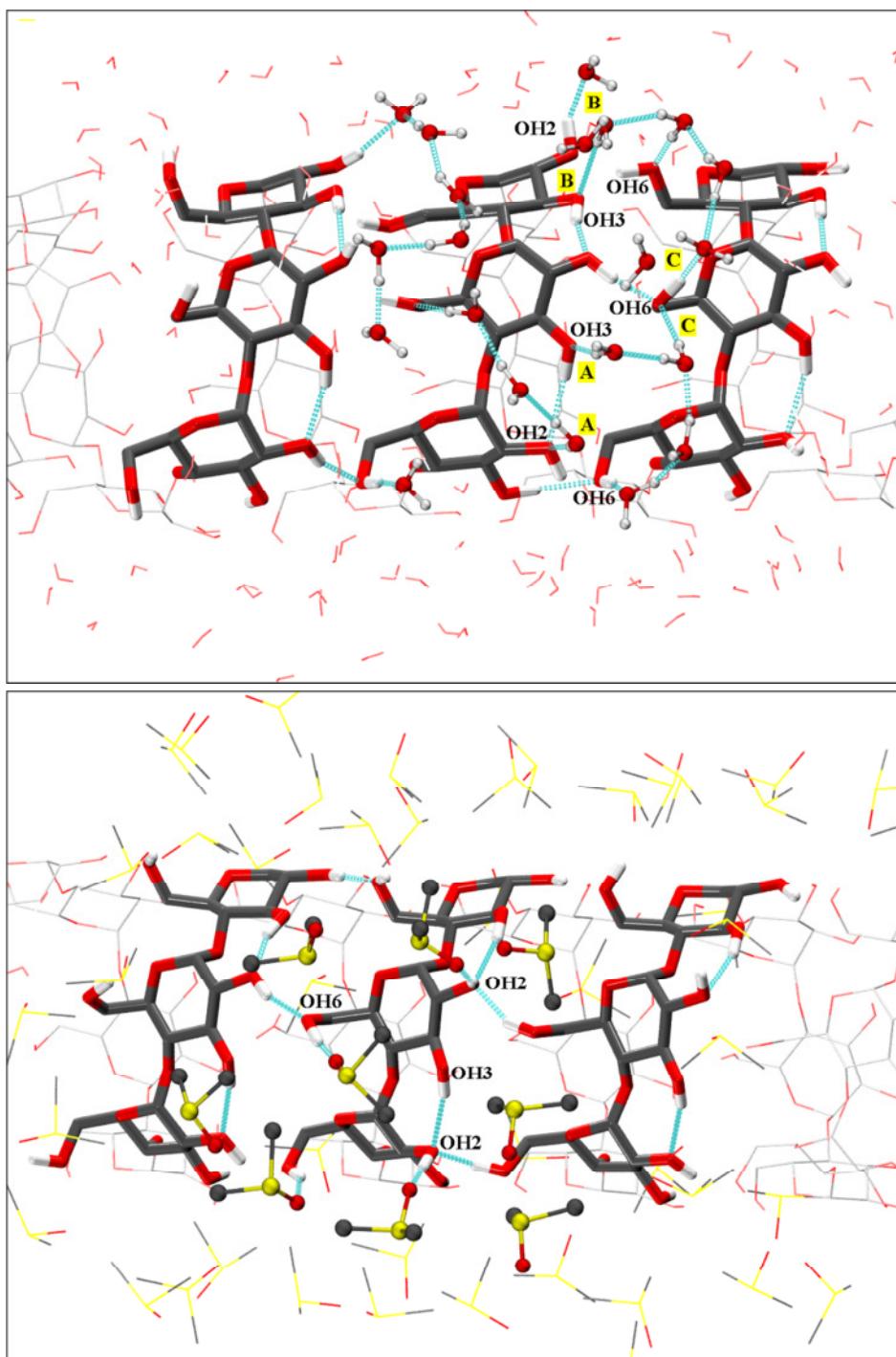
negative Partialladung des DMSO-Sauerstoffatoms verringert würde, sodass zwei eher schwache H-Brücken entstünden. Eine energetisch günstigere Situation läge vor, wenn DMSO-Moleküle nur mit einer oder zwei der drei verfügbaren OH-Gruppen jeder Glucoseeinheit wechselwirken, denn dabei blieben zwei oder mindestens eine OH-Gruppe pro Glucoserest frei und stünden somit für das intramolekulare H-Brücken-Netzwerk zur Verfügung. Der in Abschnitt 3.1.1 beschriebene Effekt der Kooperativität von H-Brücken bliebe folglich gewahrt.

Eine Bestätigung für die vorausgehende Argumentation ergibt sich bei der Auswertung der zwei unter Verwendung von Constraints durchgeföhrten 5-ns-Simulationen in Wasser und DMSO. Bei diesen wurde das Gerüst der Amylosehelix räumlich fixiert und nur die Gruppen OH<sub>2</sub>, OH<sub>3</sub> und OH<sub>6</sub> beweglich gelassen, so dass die spezifischen Wechselwirkungen und der räumliche Anspruch der Solvensmoleküle auf der Oberfläche der intakten Sekundärstruktur untersucht werden konnten. Abbildung 3.18 gibt einen Überblick über die dabei auftretende H-Brücken-Konstellation. Während Wasser mit dem Amylosemoleköl über 150 H-Brücken bildet, sich also durchschnittlich ein Wassermoleköl in Bindungsdistanz zu jeder OH-Gruppe der Amylose befindet, beträgt die mittlere Zahl der H-Brücken zwischen DMSO und Amylose nur etwa 53. Den weitaus größten Anteil daran haben mit ca. 41 die Wechselwirkungen zwischen DMSO und OH<sub>6</sub>, da hauptsächlich die schwache H-Brücke OH<sub>6</sub>-OH<sub>3</sub> gebrochen wird. Die Zahl der H-Brücken zwischen Wasser und OH<sub>6</sub> liegt sogar nahe 80, was auf eine teilweise vorliegende doppelte Koordination der Hydroxylgruppe schließen lässt. Die Präferenz von Wasser für OH<sub>6</sub> ist somit ebenfalls vorhanden, allerdings weniger ausgeprägt als im Falle von DMSO, da gleichzeitig etwa genauso viele OH<sub>2</sub>- und OH<sub>3</sub>-Gruppen koordiniert werden. Eine Illustration der unterschiedlichen molaren Dichten der Solvensmoleküle an der Oberfläche der Amylosehelix bietet Abbildung 3.19. Zu einem gegebenen Zeitpunkt können benachbarte OH<sub>2</sub>- und OH<sub>3</sub>-Gruppen simultan von Wassermolekülen gebunden werden, unabhängig davon, ob sie sich an benachbarten Glucoseresten (A) oder demselben Rest (B) befinden. Der geringe räumliche Anspruch von Wasser lässt es zu, dass die nahegelegenen OH<sub>6</sub>-Gruppen zur selben Zeit ebenfalls hydratisiert sind, teilweise sogar durch zwei Wassermoleküle (C). Da

DMSO-Moleküle wesentlich größer und sperriger sind und nur als zweifache, richtungsabhängige H-Brücken-Akzeptoren fungieren können, bindet DMSO nur einen Teil der Hydroxylgruppen der Amylose, sodass immer eine oder zwei Gruppen pro Glucoseeinheit frei bleiben. Deshalb findet sich im Falle von DMSO eine deutlich geringere molare Dichte an der Helioxoberfläche als bei Wasser.



**Abb. 3.18** Anzahl intramolekularer und ausgewählter intermolekularer H-Brücken für die beiden 5-ns-Simulationen in Wasser (oben) und DMSO (unten). Es wurden *position restraints* für die Amylose mit Ausnahme der Gruppen OH6, OH3 und OH2 verwendet.



**Abb. 3.19** Orthografische Momentaufnahmen der V-Amylose in Wasser (oben) und DMSO aus den 5-ns-Simulationen unter Verwendung von *position restraints*. Gestrichelte Linien (cyanfarben) zeigen H-Brücken an. Der Übersichtlichkeit halber sind nur ausgewählte Glucosereinheiten und Solvensmoleküle hervorgehoben. Wegen ihrer geringen Größe und ihrer Fähigkeit, als H-Brücken-Akzeptor und -Donor zu fungieren, können Wassermoleküle theoretisch jede OH-Gruppe der Amylosehelix binden. Gezeigt sind Beispiele für die gleichzeitige Hydratation von OH2 und OH3 an benachbarten Glucoserenresten (A) und demselben Rest (B). Die jeweils gegenüberliegenden OH6-Gruppen sind ebenfalls hydratisiert, in einem Fall sogar doppelt (C). Auffallend ist die größere molare Dichte von Wasser an der Helioxoberfläche im Vergleich zu DMSO.

Die Graphen zum Vergleich der Zeitskalen des Helixabbaus in Abhängigkeit von der Lösungsmittelzusammensetzung (Abb. 3.17) weisen einen weiteren interessanten Aspekt auf, der in der bisherigen Diskussion noch nicht berücksichtigt wurde. In der Region von  $\omega_{\text{Wasser}} \gtrsim 60\%$  ist die Steigung sehr flach, steigt aber bei weiterer Zugabe von DMSO rapide an. Dieses nicht-lineare Verhalten lässt darauf schließen, dass es eine Grenzkonzentration von DMSO gibt, oberhalb der der Zerfall der intramolekularen H-Brücken der Amylose mehr und mehr verlangsamt wird. Qualitativ ähnliche Diskontinuitäten wurden bereits für einige physikalische Eigenschaften der Amylose in dem betrachteten binären System beobachtet, so z. B. für die Grenzviskosität<sup>[120]</sup> und die spezifische optische Drehung<sup>[125]</sup>. Außerdem wurden Hinweise darauf gefunden, dass ein minimaler Volumenanteil von 60 % Wasser (entspricht  $\omega_{\text{Wasser}} \approx 0,6$ ) erforderlich ist, damit Amylose in nachweisbarem Maße Komplexe mit Butanol<sup>[120]</sup> oder Iod<sup>[120,137]</sup> bilden kann. Diese Beobachtungen wurden teilweise auf die relative Effektivität von Wasser und DMSO bei der Solvatisierung der Amylose zurückgeführt, d. h. auf ein kompetitives Verhalten der beiden Lösungsmittel.<sup>[120,137]</sup> Demgemäß ist davon auszugehen, dass die Rolle von Wasser bei der Solvatation von Amylose und sein Einfluss auf die helikale Struktur ausschließlich in der Region von  $\omega_{\text{Wasser}} \gtrsim 60\%$  gegenüber der Rolle von DMSO überwiegt. Dieser Konzentrationsbereich entspricht in etwa einem molaren Verhältnis Wasser/DMSO von mindestens 6:1 und deckt sich im Wesentlichen mit dem flachen Bereich der Kurven in Abbildung 3.17.

Bei höheren DMSO-Konzentrationen liegen aufgrund der Bildung von DMSO-Hydraten vermutlich nicht genug freie Wassermoleküle in der Lösung vor, um eine effektive Hydratation der Amylose zu gewährleisten. Experimentelle Ergebnisse zu Mischungsenthalpie, Dichte und Viskosität<sup>[146]</sup> sowie NMR-<sup>[147]</sup> und Neutronenstreuungsmessungen<sup>[148,149]</sup> und MD-Simulationen<sup>[149-152]</sup> zeigen, dass diese Wasser-DMSO-Komplexe aus zwei oder drei Wassermolekülen und einem DMSO-Molekül bestehen, welche durch starke H-Brücken zusammengehalten werden. Die höhere Basizität des DMSO-Sauerstoffatoms im Vergleich zum Wasser-Sauerstoffatom macht es zu einem besseren Akzeptor für verfügbare H-Brücken, weshalb DMSO-Hydrate energetisch günstiger sind als die alleinige Wechselwirkung zwischen Was-

sermolekülen. Die verringerte Zahl mobiler Wassermoleküle im Lösungsmittelgemisch bedeutet unmittelbar eine verringerte Belastung für das intramolekulare H-Brücken-Netzwerk der Amylose, was auf die beschriebenen eingeschränkten Wechselwirkungsmöglichkeiten von DMSO mit den OH-Gruppen zurückzuführen ist. Es ist außerdem denkbar, dass auch die DMSO-Hydrate in ähnlicher Weise wie DMSO-Moleküle mit den Hydroxylgruppen interagieren und dadurch die verbleibenden H-Brücken der Amylose stärken.<sup>[153]</sup> Folglich wird die vorgegebene helikale Konformation im Konzentrationsbereich  $\omega_{\text{DMSO}} \gtrsim 40\%$  langsamer abgebaut als bei höheren Wasseranteilen.

Oberhalb der Schwelle von  $\omega_{\text{DMSO}} \approx 80\%$ , die einem molaren Verhältnis Wasser/DMSO von etwa 1:1 entspricht, sollte der Einfluss von freiem DMSO bei der Solvatation von Amylose gegenüber dem Einfluss von Wasser (und hydratisiertem DMSO) dominieren, da DMSO der stärkere H-Brücken-Akzeptor als Wasser ist.<sup>[153]</sup> Aufgrund dessen bleibt ein großer Teil des H-Brücken-Netzwerks der Amylose über einen längeren Zeitraum intakt, was zusätzliche konformativ Stabilität bedeutet und eine weitere geringe Zunahme der Steigung der Graphen in Abbildung 3.17 mit sich bringt.

### **3.2.3.3 Klassifikation der Wasserstoffbrücken**

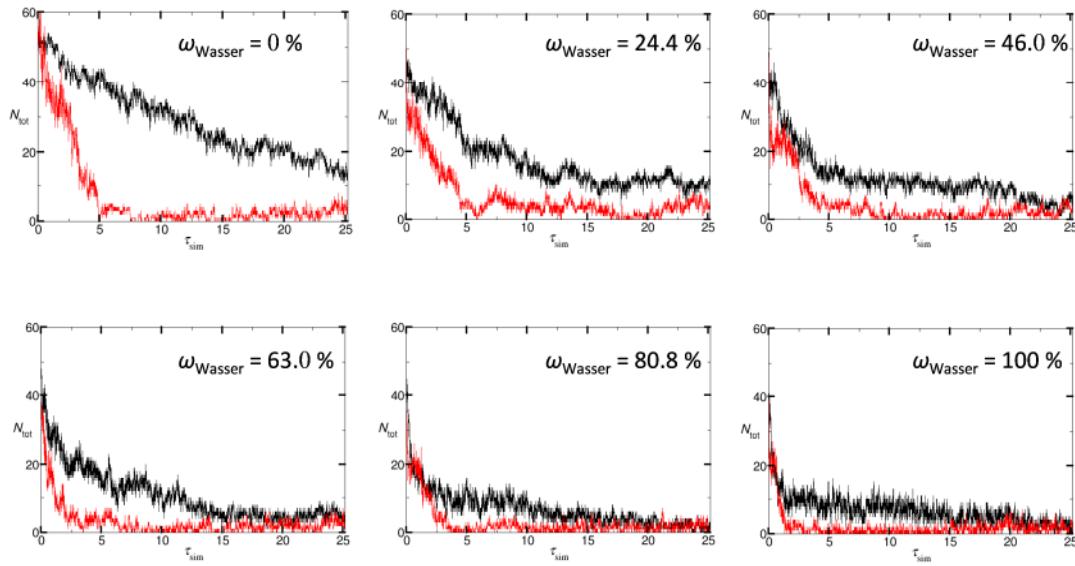
Eine Einteilung der intramolekularen Wasserstoffbrücken der V-Amylose kann in die Kategorien *Interturn-* ( $\text{OH}_6\text{-OH}_2/\text{OH}_3$  oder kurz  $\text{O}_6\text{-O}_2/3$ ) und *Intraturn-* H-Brücken ( $\text{O}_2\text{-O}_3$ ) erfolgen, wobei sich der englische Begriff *turn* auf eine Windung der helikalen Struktur bezieht (siehe auch Abschnitt 3.1.1, besonders Abb. 3.4). H-Brücken zwischen  $\text{OH}_6$  und  $\text{OH}_2$  bzw.  $\text{OH}_3$  werden in der vorliegenden Arbeit als äquivalent betrachtet, da es sich in beiden Fällen um eine Wechselwirkung innerhalb desselben Paares von Glucoseresten handelt. Einen Überblick über die Zahlen der im verwendeten Amylosemodell auftretenden Wasserstoffbrücken gibt die Tabelle in Abbildung 3.4.

Aus Abbildung 3.16 geht hervor, dass  $\text{O}_2\text{-O}_3$ - und  $\text{O}_6\text{-O}_2/3$ -H-Brücken sowohl in Wasser als auch in DMSO unterschiedlich schnell abgebaut werden. Am Startpunkt (0 ns), d. h. nach der Energieminimierung, ist bereits mehr als die Hälfte der

O6-O2/3-H-Brücken zerstört, was wahrscheinlich zum größten Teil auf den raschen Abbau der schwachen H-Brücke zwischen OH6 und OH3 zurückzuführen ist. In der darauf folgenden Simulationsperiode besteht eine permanente Dominanz der *Intraturn*- gegenüber den *Interturn*-H-Brücken, welche in Wasser ihre Größenordnung beibehält, in DMSO aber zwischen 0,21 ns und 4,71 ns deutlich zunimmt. Im weiteren Verlauf der Simulation verringert sich diese Differenz in DMSO, da die verbliebene Zahl der O6-O2/3-H-Brücken ohnehin schon sehr nah an null liegt.

Die Zeitabhängigkeit der *Intraturn*- und *Interturn*-H-Brücken wird in Abbildung 3.20 verdeutlicht. Während jedes Lösungsmittelgemisch in einer Serie von fünf MD-Simulationen simuliert wurde, zeigt die Grafik nur die Daten von jeweils einem exemplarischen Simulationsdurchlauf. Im Allgemeinen bestätigt sich darin der Eindruck einer Dominanz von O2-O3- gegenüber O6-O2/3-H-Brücken, was die Aussage beinhaltet, dass *Intraturn*-H-Brücken beim Abbau der helikalen Sekundärstruktur länger erhalten bleiben als ihre *Interturn*-Äquivalente. Daraus lässt sich die Hypothese ableiten, dass der erste Schritt des Helixabbaus in einer Aufweitung von deren Ganghöhe besteht, wobei die parallel zur  $\zeta$ -Achse ausgerichteten *Interturn*-Wasserstoffbrücken gebrochen werden und die Helix in dieser Richtung ihre Kompaktheit verliert.

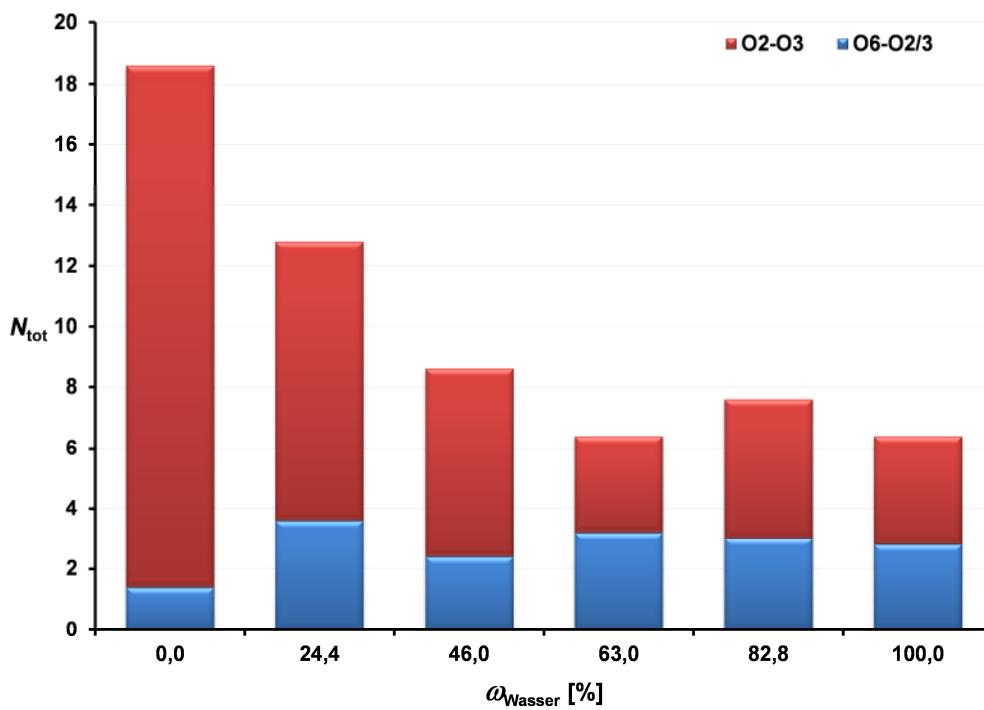
Der Grad der helikalen Krümmung hängt im Wesentlichen von der Orientierung aufeinander folgender Glucoseringe zueinander ab, welche durch die glycosidischen Winkel  $\phi$  und  $\psi$  bestimmt wird. Veränderungen dieser Winkel haben einen unmittelbaren Einfluss auf die Länge und damit die Stabilität der O2-O3-H-Brücke. Es besteht jedoch diesbezüglich ein gewisser Spielraum, in dem ein Fortbestand der H-Brücke gewährleistet bleibt. Im Gegensatz dazu wirken auf die O6-O2/3-H-Brücken drastischere konformativ Veränderungen ein, welche als Summe einer größeren Zahl der beschriebenen kleineren Winkelveränderungen entstehen. Da diese Wasserstoffbrücken sich zwischen verschiedenen Helixwindungen befinden und deshalb wesentlich konformationsabhängiger sind als die relativ fixen O2-O3-H-Brücken, besteht für sie auch eine deutlich erhöhte Störanfälligkeit. Das erklärt den allgemein längeren Fortbestand der *Intraturn*-H-Brücken im Vergleich zu den *Interturn*-H-Brücken.



**Abb. 3.20** Zahlen der intramolekularen H-Brücken  $N_{O_2-O_3}$  (■) und  $N_{O_6-O_2/3}$  (■) versus Simulationszeit. Jede der sechs untersuchten Lösungsmittelzusammensetzungen ist durch einen exemplarischen Graphen aus der jeweiligen Serie von fünf MD-Simulationen repräsentiert.

Die aus den Abbildungen 3.16 und 3.20 hervorgehende Dominanz von O<sub>2</sub>-O<sub>3</sub>- gegenüber O<sub>6</sub>-O<sub>2/3</sub>-Wasserstoffbrücken besitzt in reinem DMSO bei weitem die deutlichste Ausprägung und nimmt mit zunehmendem Wasseranteil in der Lösung stufenweise ab. Zu Beginn des Zerfallsprozesses der Amylosehelix, d. h. bei der ersten Aufweitung der Helixwindungen, können die sterisch anspruchsvollen DMSO-Moleküle zuallererst die OH<sub>6</sub>-Gruppe solvatisieren, da diese sich in einer vergleichsweise exponierten Lage in einiger Entfernung vom Glucosering befindet. Die Solvation der Gruppen OH<sub>2</sub> und OH<sub>3</sub> dagegen, welche nah beieinanderliegen und von der Ringstruktur sterisch abgeschirmt werden, ist für DMSO nicht ohne Weiteres möglich, zumindest bevor sich die Amylosekette weiter entfaltet hat und vollständig vom Lösungsmittel umschlossen ist. Dieser Effekt führt im Prozess des Helixabbaus in DMSO offenbar zu einer erhöhten Tendenz, *Interturn*-H-Brücken zu brechen. Im Gegensatz dazu können die kleineren Wassermoleküle (frei oder in DMSO-Hydraten) die OH<sub>2</sub>- und OH<sub>3</sub>-Gruppen deutlich ungehinderter solvatisieren, sodass die Präferenz für die Hydratation der OH<sub>6</sub>-Gruppen weit weniger ausgeprägt ist. Dieser Unterschied zwischen DMSO und Wasser bezüglich spezifischer Wechselwirkungsmöglichkeiten mit der Amylosehelix wurde bereits in den Abbildungen 3.18 und 3.19 verdeutlicht.

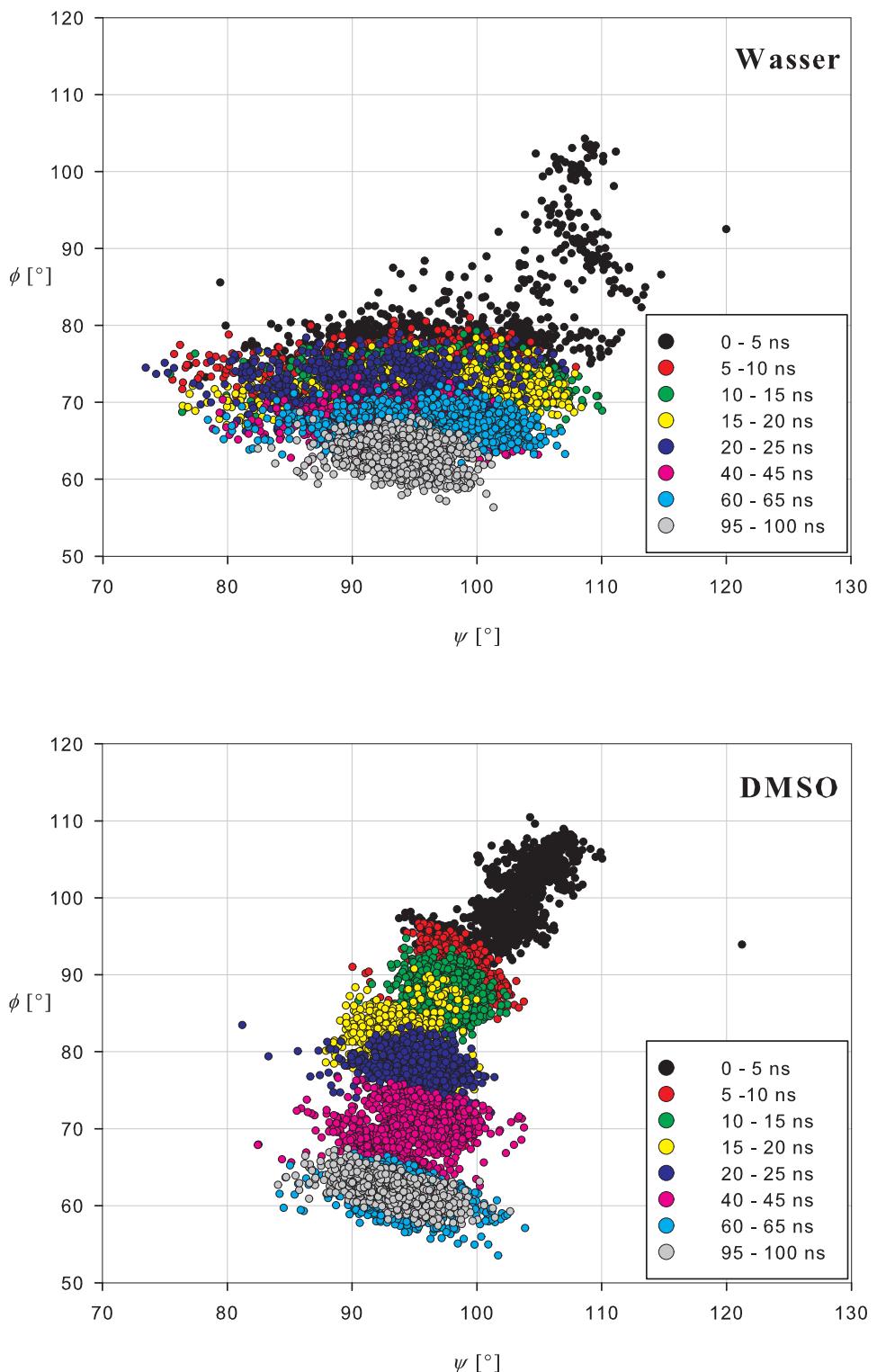
Auch am Ende der 25-ns-Simulationen ist der beschriebene Effekt noch klar erkennbar. Abbildung 3.21 zeigt, dass der durchschnittliche Wert von  $N_{O_6-O_2/3}$  nach Ablauf der Simulationszeit in keinem der sechs Lösungsmittelgemische größer ist als 3,6. Berücksichtigt man die Standardabweichung, welche Werte von 1,1 für  $\omega_{\text{Wasser}} = 63\%$  bis zu 2,8 für  $\omega_{\text{Wasser}} = 100\%$  annimmt, so ist die Zahl der *Interturn-H*-Brücken in allen Lösungsmittelsystemen statistisch gesehen gleich. Der zu erwartende Trend offenbart sich jedoch in den entsprechenden  $N_{O_2-O_3}$ -Werten. Der Durchschnittswert ist für  $\omega_{\text{Wasser}} = 0\%$  mit 17,2 vergleichsweise hoch, fällt dann aber graduell auf Werte zwischen 3 und 5 für  $\omega_{\text{Wasser}} = 63\%$  bis 100% ab. Der daraus resultierende Kurvenverlauf korrespondiert offensichtlich mit den Zeitgraphen in Abbildung 3.17 und kann unter Bezugnahme auf die spezifischen H-Brücken-Kapazitäten, sterischen Merkmale und Mischungseigenschaften der zwei Lösungsmittel Wasser und DMSO auch in ähnlicher Weise interpretiert werden (vgl. Abschnitt 3.2.3.2).



**Abb. 3.21** Durchschnittliche Zahl der *Interturn-* und *Intraturn-H*-Brücken nach einer Simulationszeit von 25 ns *versus*  $\omega_{\text{Wasser}}$

Die im vorliegenden Kapitel durchgeführte kategorisierte Untersuchung der intramolekularen Wasserstoffbrücken der Amylose zeigt, dass die Gesamtzahl der H-Brücken  $N_{\text{tot}}$  nur zu einem gewissen Grad dazu geeignet ist, einen allgemein definierten Helixcharakter in der Konformation der Amylose zu beschreiben. Dies wird besonders in den Abbildungen 3.16, 3.20 und 3.21 deutlich. Die exemplarischen Amylosestrukturen bei 0,21 ns in Wasser und 4,71 ns in DMSO (Abb. 3.16) werden auf der Basis von  $N_{\text{tot}}$  als sehr ähnlich eingestuft ( $N_{\text{tot}}/N_{\text{max}} \approx 30\%$ ), obwohl der Betrachter den Helixgehalt der beiden Strukturen intuitiv durchaus unterschiedlich beurteilt. Dieser tatsächlich vorhandene qualitative Unterschied lässt sich erst durch die Aufschlüsselung von  $N_{\text{tot}}$  in  $N_{\text{O}_2\text{-O}_3}$  und  $N_{\text{O}_6\text{-O}_2/3}$  auch zahlenmäßig erkennen. Während die beiden Werte in Wasser in derselben Größenordnung liegen, basiert  $N_{\text{tot}}$  in DMSO fast nur auf O2-O3-H-Brücken. Die Gewichtung der beiden *Intraturn*- und *Interturn*-Summanden von  $N_{\text{tot}}$  ist demnach für einen umfassenden Vergleich zweierartiger Strukturen von unbedingtem Interesse.

Alternativ kann die Konformation der Amylose auch mithilfe der Verteilung der glycosidischen Diederwinkel analysiert werden, welche in Abbildung 3.22 für die beiden 100-ns-Simulationen in reinem Wasser und reinem DMSO gezeigt ist. In beiden Fällen ist der Abbau der helikalen Sekundärstruktur durch deutliche Veränderungen der Torsionswinkel  $\phi$  (O5-C1-O4-C4) und  $\psi$  (C1-O4-C4-C3) gekennzeichnet. Besonders der Wert von  $\phi$  nimmt mit der Zeit stark ab, nämlich von durchschnittlich 107° im Simulationszeitintervall zwischen 0 und 0,1 ns auf 62° zwischen 95 und 100 ns in DMSO und entsprechend von 102° auf 63° im wässrigen Medium. In Wasser läuft der größte Teil dieser Entwicklung jedoch innerhalb der ersten 5 ns der Simulation ab, während der Prozess in DMSO zeitlich gesehen wesentlich ausgedehnter ist. Diese Feststellung korreliert sehr gut mit der Interpretation der zugehörigen Zahl der intramolekularen Wasserstoffbrücken (Abb. 3.14).



**Abb. 3.22** Zeitabhängige Entwicklung der glycosidischen Torsionswinkel  $\phi$  (O5-C1-O4-C4) und  $\psi$  (C1-O4-C4-C3) über  $\tau_{\text{sim}} = 100$  ns in Wasser und DMSO. Datenpunkte in einer Farbe repräsentieren jeweils ein Zeitintervall von 5 ns. In der Region zwischen 25 und 100 ns sind der besseren Übersichtlichkeit wegen nur ausgewählte Zeitintervalle gezeigt.

### **3.3 Amylose-Einschlusskomplexe**

Die Bildung von Einschlussverbindungen kann im Allgemeinen als ein Reaktionsgleichgewicht angesehen werden, dessen Lage von der freien Reaktionsenthalpie  $\Delta G$  bestimmt wird, welche bei gegebener Temperatur  $T$  von der Reaktionsenthalpie  $\Delta H$  und der Reaktionsentropie  $\Delta S$  abhängig ist.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (2)$$

Als bekannte und erfolgreich angewandte Modelle für V-Amylose und deren Einschlusskomplexe gelten die Cyclodextrine,<sup>[154]</sup> die eine enge strukturelle Verwandtschaft mit dem Polysaccharid aufweisen, wobei ein Cyclodextrinmolekül jeweils eine Windung der Amylosehelix repräsentiert. Anhand verfügbarer thermodynamischer Daten wird ersichtlich, dass die Bildung von Cyclodextrin-Einschlusskomplexen in den meisten Fällen exergonisch verläuft, das heißt mit einem Gewinn freier Reaktionsenthalpie einhergeht ( $\Delta G < 0$ ).<sup>[155]</sup> Die treibende Kraft der Komplexbildung resultiert aus einem Zusammenspiel unterschiedlicher molekularer Wechselwirkungen. Neben den Van-der-Waals-Kräften zwischen Gast- und Wirtsmolekül handelt es sich dabei in erster Linie um sogenannte hydrophobe Wechselwirkungen, die darauf beruhen, dass das Gastmolekül bei der Komplexbildung seine relativ geordnete Hydrathülle verliert und gleichzeitig das innerhalb des Cyclodextrinrings befindliche Wasser verdrängt. Die dabei gewonnenen Freiheitsgrade bewirken eine Zunahme der Systementropie. Ein zusätzlicher Energiegewinn entsteht zudem dadurch, dass die Solvensmoleküle bei der Wanderung aus dem Hohlraum des Cyclodextrins in die Wasserphase eine hydrophobe und damit energetisch ungünstige Umgebung gegen eine hydrophile Umgebung eintauschen, wo sie in das Netzwerk aus Wasserstoffbrückenbindungen eingegliedert werden.<sup>[154]</sup> Aufgrund der chemischen Verwandtschaft zwischen Cyclodextrinen und Amylose kann davon ausgegangen werden, dass die Bildung von Einlagerungskomplexen der Amylose ebenfalls durch die genannten nicht-kovalenten Wechselwirkungen bestimmt wird.<sup>[156]</sup> Allerdings ist die strukturelle Vielfalt der Amylose anders als die der Cyclodextrine nahezu unbegrenzt und die Konformation in Lösung entsprechend umstritten, weshalb der Mechanismus der

Komplexbildung bisher nicht zweifelsfrei aufgeklärt werden konnte. Unter der Annahme, dass die Komplexbildung von einer in Wasser strukturell größtenteils ungeordneten Amylose und einem geknäuelten langkettigen Liganden ausgeht, muss im Zuge des Prozesses eine erhebliche konformative Änderung beider beteiligten Moleküle stattfinden. Von der Stelle der ersten Anlagerung der beiden Moleküle ausgehend ist eine progressive Streckung der Ligandenkette notwendig, um ein Gerüst bereitzustellen, an dem sich unmittelbar die Amylosehelix formieren kann. Gerade wegen der immensen Zahl möglicher Konformationen des verwendeten Amylosemodells ist ein derartiger Vorgang mit molekularmechanischen Methoden kaum nachvollziehbar, ohne dabei ein unnehmbares Maß an rechnerischem und zeitlichem Aufwand zu überschreiten. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb von dem Versuch abgesehen, den Prozess der Bildung von Amylose-Einschluskomplexen zu simulieren, und stattdessen eine gänzlich andere Methode verwendet, um unterschiedliche Komplexe bewerten zu können. Hierzu wurden die zu betrachtenden Komplexe durch Molecular Modeling quasi vorgefertigt und dann ihr Verhalten unter molekulardynamischen Bedingungen simuliert. Die erhaltenen Daten wurden dann anhand der Theorie der Linear Interaction Energy (LIE)<sup>[157-160]</sup> ausgewertet, welche eine Abschätzung der freien Enthalpie der Komplexbildung erlaubt.

### 3.3.1 Modellierung von Amylose-Einschluskomplexen

Da die innere Oberfläche der V-Amylosehelix einen weitgehend hydrophoben Charakter besitzt, sollte die Tendenz zur Bildung von Einschluskomplexen eine Abhängigkeit von der Polarität des Liganden aufweisen. Diese These wird u. a. durch die bereits einleitend beschriebenen experimentellen Ergebnisse von Kaneko *et al.* hinsichtlich der Komplexbildung mit verschiedenen Polyethern gestützt. Um die Annahme mithilfe von Molekulardynamik-Simulationen prüfen zu können, wurde eine Serie von acht kettenförmigen Gastmolekülen modelliert, die sich voneinander in ihrer Hydrophobizität unterscheiden (im Folgenden auch als Liganden bezeichnet)<sup>[161]</sup> (Tabelle 3.3). Ausgehend von einem reinen Kohlenwasserstoffgerüst mit 49 Schweratomen wurden sukzessive Kohlenstoffatome durch Sauerstoffatome ersetzt und dadurch polare Etherfunktionen in die Moleküle eingeführt, wobei auf eine

möglichst symmetrische Verteilung über die Molekülkette Wert gelegt wurde. Der polare Anteil der dem Lösungsmittel zugänglichen molekularen Oberfläche (SAS, *solvent accessible surface*) steigt somit innerhalb der Reihe der Gastmoleküle linear an und umfasst Werte zwischen 0 % im Falle des gänzlich hydrophoben Alkans und 12,3 % im Falle des eher hydrophilen Moleküls mit 15 O-Atomen. Um den direkten Bezug zu den Studien von Kaneko *et al.* herstellen zu können, wurden außerdem drei unterschiedliche Polyethermoleküle (je einmal PTHF, PTO, PEO) mit Hydroxyl-Endgruppen modelliert (Tabelle 3.4).

Als Werkzeug für eine geometrisch sinnvolle Platzierung der Liganden im inneren Kanal der V<sub>H</sub>-Amylosehelix (im Folgenden auch als Rezeptor bezeichnet)<sup>[161]</sup> wurde ein Dockingalgorithmus des Programms MOE<sup>[162]</sup> verwendet. Gewöhnlich generiert dieser durch systematische Kombination von Torsionswinkeln zunächst eine Datenbank aller möglichen Konformationen des Liganden. Bei großen Liganden mit extrem vielen drehbaren Atombindungen wird wegen der Größe des Konformationsraumes nur stichprobenartig ein willkürlicher Satz an Strukturen ausgewählt, der dann für den Dockingprozess verwendet wird. Im Falle der hier eingesetzten langkettigen Liganden ist deshalb eine vorgeschaltete Konformationssuche nicht sinnvoll, da für den Einschluss in die Amylosehelix nur ein Bruchteil der möglichen Konformationen des Liganden infrage kommt. Aus diesem Grund wurden alle Liganden als starre ausgestreckte Ketten (*all-trans*-Konformation) gedockt. Auch die Amylose wurde während des Dockingprozesses starr gehalten.

Hauptbestandteil des Dockings ist das sogenannte Placement des Liganden, also die eigentliche Platzierung im Rezeptor. Hierfür wurde die Methode Alpha PMI ausgewählt, welche die Hauptträgheitsmomente (PMI: *principal moments of inertia*) des Liganden nach einem zufällig generierten Satz von sogenannten Alpha-Spheres im Rezeptor ausrichtet. Diese Alpha-Spheres repräsentieren dicht gepackte Bereiche des Wirtsmoleküls. Der Vorteil von Alpha PMI gegenüber den anderen zur Verfügung stehenden Placementfunktionen liegt darin, dass hierbei nur ein stark eingeschränkter Suchraum betrachtet wird, was den Rechenprozess beschleunigt. Außerdem ist diese Methode am besten für enge Rezeptortaschen geeignet. Nach Abschluss des Placements werden die günstigsten Positionen des Liganden nach einer von vier

wählbaren Scoring-Methoden bestimmt. Im vorliegenden Fall wurde hierfür das London-dG-Scoring benutzt, welches als Bewertungskriterium einen Schätzwert der freien Enthalpie der Komplexbildung verwendet. Aus den zehn am besten bewerteten Positionen jedes Liganden wurde schließlich jeweils eine manuell ausgewählt, die dann als Ausgangspunkt für die nachfolgenden MD-Simulationen verwendet wurde. Hierbei wurde darauf geachtet, dass die Ligandenkette in  $\zeta$ -Richtung möglichst zentral im Kanal der Amylosehelix eingeschlossen ist.

**Tabelle 3.3** Ligandenserie 1: Jeder der acht Liganden besitzt 49 Schweratome. Sie unterscheiden sich jedoch in der Anzahl der darin enthaltenen Ethersauerstoffatome  $\Sigma_O$  und damit auch in ihrer dem Lösungsmittel zugänglichen hydrophilen Oberfläche  $SAS_{\text{polar}}$ . Die Namen der Liganden werden im Text mitunter auch in einer abgekürzten Schreibweise (L00 bis L15) verwendet.

Name	$\Sigma_O$	$SAS_{\text{polar}} [\text{nm}^2]$
Ligand00	0	0,00
Ligand02	2	0,19
Ligand04	4	0,35
Ligand06	6	0,57
Ligand08	8	0,75
Ligand10	10	0,94
Ligand12	12	1,13
Ligand15	15	1,41

**Tabelle 3.4** Ligandenserie 2: Poly(tetrahydofuran) (PTHF), Poly(trimethylenoxid) (PTO) und Poly(ethylenoxid) (PEO). Diese Liganden unterscheiden sich von denen der Serie 1 durch die telechelischen OH-Endgruppen, welche im Wert von  $\Sigma_0$  nicht berücksichtigt werden.

Name		$\Sigma_0$	SAS <sub>polar</sub> [nm <sup>2</sup> ]
PTHF		9	1,57
PTO		11	1,77
PEO		15	2,31

### 3.3.2 MD-Simulationen von Amylose-Einschlusskomplexen

Um die generierten Einschlusskomplexe aus V<sub>H</sub>-Amylose und acht langkettigen Gastmolekülen unterschiedlicher Hydrophobizität sowie den drei telechelischen Polyethermolekülen anhand von Molekulardynamik-Simulationen evaluieren zu können, wurde zunächst für jedes der Modelle eine Lösungsmittelumgebung erzeugt. Zu diesem Zweck wurden die Komplexe zentral in rhombisch-dodekaedrischen Simulationsboxen eines Volumens von ca. 885 nm<sup>3</sup> platziert und diese dann mit rund 29100 Wassermolekülen aufgefüllt. Nach kurzen Simulationen zur Energieminimierung (1. *steepest descent*, 2. *conjugate gradient*) wurden die so erhaltenen Systeme jeweils fünfmal für 1,1 ns bei einer Temperatur von 300 K und einem Druck von 1 bar simuliert. Parallel dazu wurden Berechnungen der in Abwesenheit von Amylose frei im Lösungsmittel vorliegenden Liganden durchgeführt. Dies geschah jeweils dreimal für 1,1 ns und mit den gleichen Einstellungen wie im Fall der Komplexe. Die Simulationsboxen waren zwischen ca. 429 nm<sup>3</sup> und ca. 482 nm<sup>3</sup> groß und enthielten 14152 bis 15866 Wassermoleküle.

Alle Systeme hatten bereits innerhalb der ersten 10 ps ihre Gleichgewichtswerte der kinetischen, potenziellen und totalen Energie sowie der Boxgeometrie erreicht. Um eine vollständige Equilibrierung dieser Parameter zu garantieren, wurden bei der weiteren Auswertung die ersten 100 ps jeder Trajektorie ausgelassen, also nur die Simulationszeit von 101 ps bis 1100 ps berücksichtigt.

### 3.3.3 Konzept der Linear Interaction Energy

Das Konzept der Linear Interaction Energy, welches im Jahr 1994 von Åqvist *et al.* publiziert wurde,<sup>[157]</sup> ist eine semi-empirische Methode zur Abschätzung der freien Enthalpie der Komplexbildung anhand nichtbindender Wechselwirkungsenergien, die aus MD-Simulationen gewonnen werden können. Der dabei verwendete mathematische Ausdruck für die Gibbssche Bindungsenergie  $\Delta G_{bind}$  lautet

$$\Delta G_{bind} = a\Delta\langle V_{l-u}^{vdW} \rangle + \beta\Delta\langle V_{l-u}^{el} \rangle + \gamma \quad (3)$$

mit  $\langle \rangle$  als dem über eine MD-Trajektorie gemittelten Wert der Van-der-Waals- ( $vdW$ ) respektive elektrostatischen ( $el$ ) Wechselwirkungen  $V$  zwischen dem Liganden und seiner jeweiligen Umgebung ( $l-u$ ). Da der Ligand bei der Komplexbildung aus der Lösungsmittelumgebung in die Bindungstasche des Rezeptors übergeht, wird jeweils eine Simulation des freien und des im solvatisierten Komplex gebundenen Liganden benötigt und die Differenz  $\Delta$  der Wechselwirkungen dieser beiden Zustände für die Berechnung verwendet:

$$\begin{aligned} \Delta\langle V_{l-u}^{vdW} \rangle &= \langle V_{l-u}^{vdW} \rangle_{komplexiert} - \langle V_{l-u}^{vdW} \rangle_{frei} \\ \Delta\langle V_{l-u}^{el} \rangle &= \langle V_{l-u}^{el} \rangle_{komplexiert} - \langle V_{l-u}^{el} \rangle_{frei} \end{aligned} \quad (4)$$

Die unpolaren und polaren Beiträge zur freien Enthalpie werden mithilfe der Faktoren  $a$  und  $\beta$  unterschiedlich stark gewichtet. Zusätzlich gibt es einen konstanten Term  $\gamma$ , der für eine Korrektur der erhaltenen Absolutwerte benötigt wird.

Die Annahme, dass der unpolare Anteil an der Gibbs-Energie linear mit den Van-der-Waals-Wechselwirkungen des Liganden mit seiner Umgebung korreliert, lässt sich empirisch begründen. Es ist experimentell belegt, dass die freien Solvatationsenergien verschiedener unpolarer Verbindungen (z. B. der *n*-Alkane) in einer nahezu linearen Beziehung zu molekularen Größen wie deren Kettenlänge oder deren dem Lösungsmittel zugänglichen Oberflächen stehen. Gleichzeitig ist auf der Grundlage von MD-Simulationen bekannt, dass sich eben diese molekularen Größen näherungsweise proportional zu den Van-der-Waals-Wechselwirkungen der Moleküle mit

dem Lösungsmittel verhalten.<sup>[157,163-165]</sup> Durch Verknüpfung dieser beiden Beobachtungen kann auf den oben genannten linearen Zusammenhang zwischen dem unpolaren Anteil an der freien Bindungsenergie und den Van-der-Waals-Wechselwirkungen des Liganden mit seiner Umgebung geschlossen werden.

Die Herleitung des Terms für den elektrostatischen Anteil an der Gibbsschen Bindungsenergie basiert auf der sogenannten Linear-Response-Näherung für polare Flüssigkeiten, die beispielsweise auch der klassischen Born-Gleichung für freie Solvatationsenergien von Ionen zugrunde liegt.<sup>[166]</sup> Die Annahme besteht darin, dass die Polarisation des Solvens in Abhängigkeit von dessen Permittivität linear auf Veränderungen eines elektrischen Feldes reagiert. Als Folge daraus ergibt sich für den Proportionalitätsfaktor  $\beta$  in Formel (3) ein Wert von 0,5 (Details zur Herleitung siehe Ref. [157]). Genauere Untersuchungen haben allerdings gezeigt, dass dieser Wert in erster Linie nur für Ionen zutrifft und dass bei ungeladenen Liganden mit dipolaren Gruppen systematische Abweichungen vom Linear-Response-Verhalten auftreten, die vor allem auf das Vorhandensein von H-Brücken-Netzwerken innerhalb des Lösungsmittels und zwischen Lösungsmittel und gelöstem Stoff zurückzuführen sind.<sup>[158]</sup> Zunächst wurde ausschließlich der Einfluss von Hydroxylgruppen auf den Wert  $\beta$  berücksichtigt, da sich diese wegen ihrer zahlreichen Donor-Akzeptor-Möglichkeiten besser in Wasserstoffbrücken-Netzwerke eingliedern lassen als vergleichbare funktionelle Gruppen.<sup>[159]</sup> Ein neueres Modell bezieht jedoch auch den Einfluss unterschiedlicher anderer Funktionalitäten mit ein.<sup>[160]</sup> Die Formel für den Proportionalitätsfaktor lautet demnach

$$\beta = \beta_0 + \frac{\sum_i w_i \Delta \beta_i}{\sum_i w_i} \quad (5)$$

mit  $\beta_0 = 0,43$ ,

$\Delta \beta_i$  gemäß Tabelle 3.5

und  $w_i = \begin{cases} 1 & \text{für Nettoladung } = 0 \\ 11 & \text{für Nettoladung } = \pm 1 \end{cases}$ ,

wobei  $\beta_0$ , die an funktionelle Gruppen angepassten  $\Delta \beta_i$  und die Gewichtungsfaktoren  $w_i$  anhand von FEP-Berechnungen (*free energy perturbation*) eines Trainingssets von 211 Verbindungen abgeleitet wurden.

**Tabelle 3.5** Parameter  $\Delta\beta_i$  für Formel (5), spezifisch für funktionelle Gruppen innerhalb des Liganden

Verbindung	$\Delta\beta_i$
Alkohol	-0,06
Amin (prim./sek.)	-0,04
Amid (prim.)	-0,02
Carbonsäure	-0,03
Anion	0,02
Kation	0,09
andere	0

Zu beachten ist an dieser Stelle, dass auch funktionelle Gruppen mit  $\Delta\beta_i = 0$  Einfluss auf den Faktor  $\beta$  nehmen können, da diese in den Ausdruck  $\Sigma\alpha_i$  in Formel (5) einberechnet werden. Dies gilt allerdings nur, sofern gleichzeitig mindestens eine Gruppe mit  $\Delta\beta_i \neq 0$  im Molekül vorhanden ist.

Für den unpolaren Koeffizienten in Formel (3) wurde auf der Basis experimenteller Daten von 18 verschiedenen Ligand-Rezeptor-Systemen ein optimaler Wert von  $a = 0,181$  bestimmt, womit später auch die Bindungsdaten einer Reihe anderer Systeme reproduziert werden konnten.<sup>[167-169]</sup>

Es ist sicherlich erwähnenswert, dass bei der Verwendung der LIE-Methode keine Simulation des leeren Rezeptormoleküls notwendig ist, da die Koeffizienten  $a$  und  $\beta$  hydrophobe Wechselwirkungen, konformative Änderungen des Rezeptors und alle Änderungen von Translations- und Rotationsentropie implizit berücksichtigen.<sup>[170]</sup>

Um mithilfe von Formel (3) eine gute Näherung für absolute Gibbssche Bindungsenergien zu erzielen, ist in vielen Fällen die Addition eines von null verschiedenen systemabhängigen Koeffizienten  $\gamma$  erforderlich,<sup>[167][169][171]</sup> welcher offenbar die Hydrophobizität der Rezeptortasche widerspiegelt.<sup>[169][172]</sup>

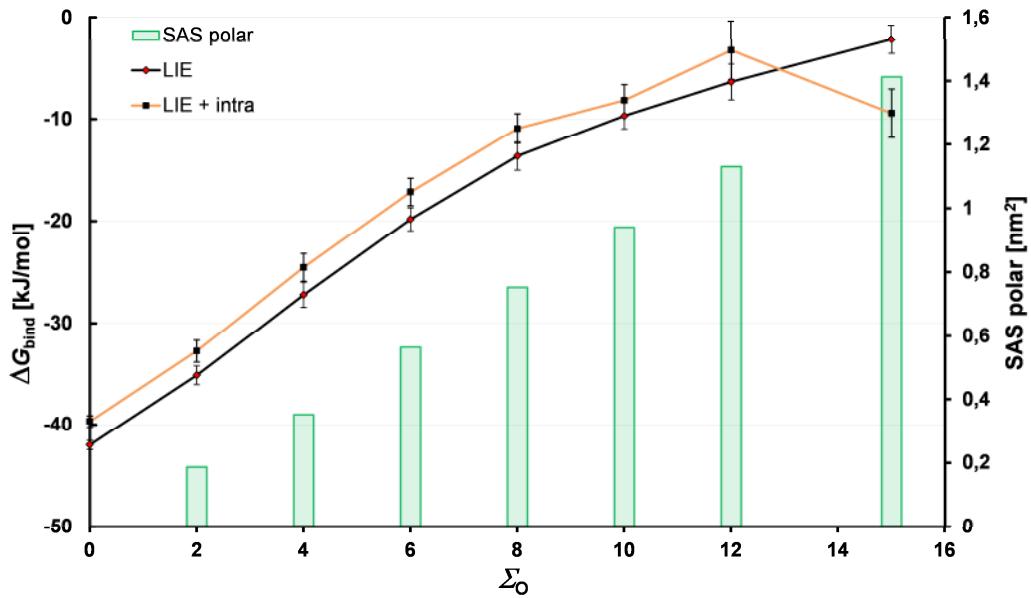
### **3.3.4 Auswertung nach dem Konzept der LIE**

#### **3.3.4.1 Ligandenserie 1**

Die in Abschnitt 3.3.2 durchgeführten MD-Simulationen der Komplexe aus acht langkettigen Liganden (Ligand00 bis Ligand15) und Amylose sollten mithilfe der beschriebenen LIE-Methode hinsichtlich der Liganden-Affinitäten ausgewertet werden. Die hierzu in den Gleichungen (4) benötigten Wechselwirkungsenergien der freien Liganden mit dem Lösungsmittel ( $\langle V_{L-u} \rangle_{frei}$ ) wurden zunächst in Form von Durchschnittswerten der entsprechenden Trajektorien ausgelesen und diese schließlich noch einmal arithmetisch über je drei vorhandene Simulationen gemittelt. Die weitere Auswertung und Verrechnung mit den Komplexwerten gemäß Formel (3) erfolgte dann mit dem GROMACS-Programm `g_lie`<sup>[145]</sup> unter Verwendung der Koefizienten  $\alpha = 0,181$ ,  $\beta = 0,43$  und  $\gamma = 0$ . Der Wert für  $\alpha$  ist dabei der in der Literatur vorgeschlagene Optimalwert (siehe Abschnitt 3.3.3) und der Wert für  $\beta$  richtet sich nach Formel (5), welche sich im Falle der benutzten Ether- und Alkanliganden auf  $\beta = \beta_0$  reduziert. Der Zahlenwert für  $\gamma$ , der von der Beschaffenheit der Rezeptortasche abhängig ist, kann auf rein theoretischem Wege bisher nicht zuverlässig vorhergesagt werden. Da für eine Kalibrierung des vorliegenden Systems keine experimentellen Daten zugänglich sind, wurde der Wert auf null gesetzt. Diese Parametrisierung hat sich bereits für eine Reihe anderer Systeme als sinnvoll erwiesen.<sup>[159]</sup> Darüber hinaus ist es für den Zweck der vorliegenden Studie ausreichend, relative statt absoluter Gibbs-Energien zu bestimmen. Aufgrund der Tatsache, dass die hier verwendete Amylose als Rezeptor in allen betrachteten Komplexen chemisch gleich bleibt und somit in allen Fällen durch einen einzelnen  $\gamma$ -Wert beschrieben werden kann, ist die relative energetische Lage der Komplexe von  $\gamma$  unabhängig.

Die Ergebnisse der LIE-Berechnungen als arithmetisches Mittel von jeweils fünf durchgeführten Simulationen jedes Komplexes präsentiert Abbildung 3.23. Erwartungsgemäß zeigt sich, dass  $\Delta G_{bind}$  innerhalb der Serie unterschiedlich polarer Liganden deutliche Unterschiede aufweist. So besteht zwischen der Komplexbildung des am besten bewerteten gänzlich hydrophoben Alkanliganden L00 und der Komplex-

bildung des am ungünstigsten eingestuften eher polaren Liganden L15 eine durchschnittliche Differenz von 39,9 kJ/mol. Der Übergang zwischen diesen beiden Extremen, d. h. die Entwicklung von  $\Delta G_{bind}$  mit zu- oder abnehmender Zahl der Sauerstoffatome der Liganden, ist durch einen streng monotonen Verlauf gekennzeichnet.



**Abb. 3.23** Gibbs-Energien der Komplexbildung zwischen Amylose und langkettigen Etherliganden der Serie 1 (Tabelle 3.3), berechnet nach dem Näherungsverfahren der Linear Interaction Energy (LIE, Gleichung (3)). Außerdem angegeben sind LIE-Werte, die unter zusätzlicher expliziter Berücksichtigung intramolekularer Wechselwirkungsenergien der Liganden gemäß Gleichung (6) berechnet wurden (LIE + intra), sowie die polare dem Lösungsmittel zugängliche molekulare Oberfläche der Liganden (SAS polar, rechte y-Achse).

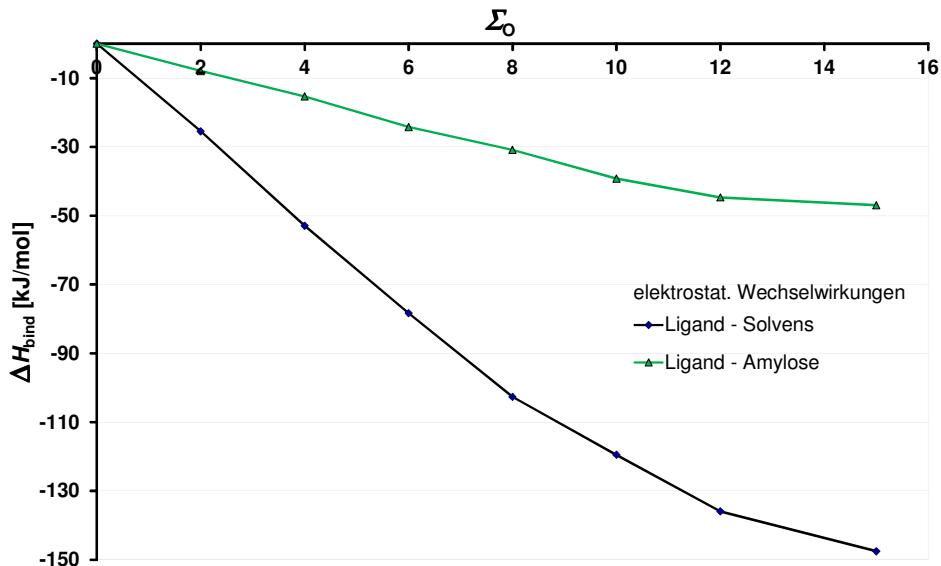
Die fortlaufende Zunahme der Gibbs-Energie korreliert offensichtlich mit der ähnlich dazu verlaufenden Zunahme der hydrophilen Ligandenoberfläche. Es ist unmittelbar plausibel, dass sich ein unpolarer Ligand in einer dipolaren wässrigen Umgebung in einem energetisch ungünstigen Zustand befindet, während er in einer weitgehend hydrophoben Umgebung (im Inneren der Amylosehelix) überwiegend vorteilhafte Wechselwirkungen eingehen kann. Beim Übergang zu einem Liganden mit etwas größerem Dipolmoment und entsprechend größeren polaren Oberflächenanteilen verringert sich die Potenzialdifferenz zwischen freiem und komplexiertem Zustand, da sich die energetische Präferenz mit jeder polaren funktionellen Gruppe

in Richtung des wässrigen Mediums verschiebt. Folglich geht die Komplexbildung in diesem Fall mit einer positiveren bzw. weniger negativen freien Enthalpie einher.

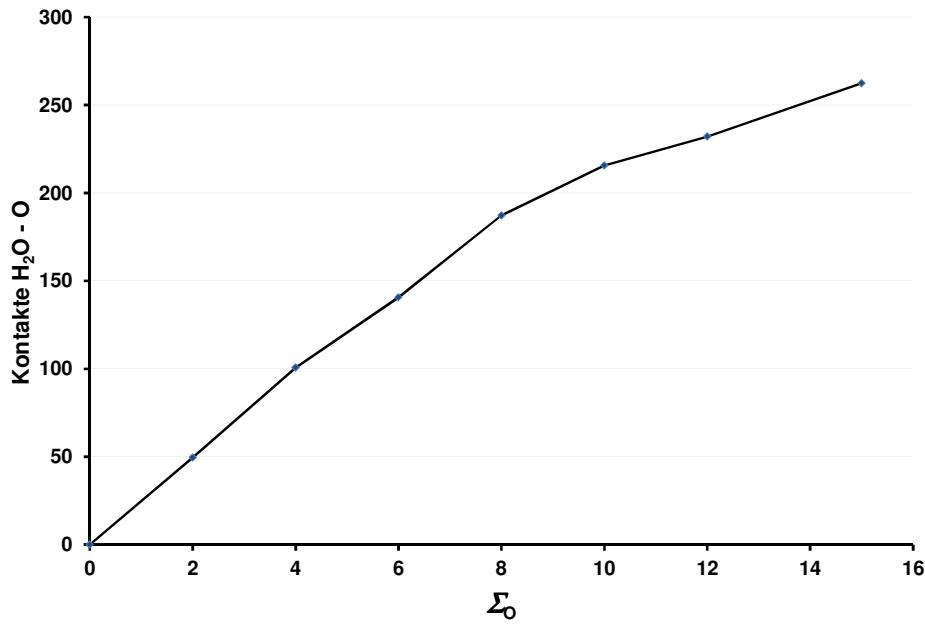
Neben der nachvollziehbar verlaufenden Tendenz der LIE-Kurve in Abbildung 3.23 ist jedoch zu bemerken, dass der kontinuierliche Anstieg von  $\Delta G_{bind}$  nicht vollständig linear verläuft, wie man anhand des geradlinigen Trends der hydrophilen Ligandenoberflächen erwarten könnte. Vielmehr nimmt die Steigung des Graphen nach  $\Sigma_O = 8$  ab, er weist also an dieser Stelle eine leichte negative Krümmung auf und flacht somit in Richtung höherer Polarität der Liganden ab. Dadurch ergeben sich für den Graphen zwei in etwa linear verlaufende Bereiche, einer von  $\Sigma_O = 0$  bis  $\Sigma_O = 8$  ( $R^2 = 0,9985$ ) und ein weiterer von  $\Sigma_O = 10$  bis  $\Sigma_O = 15$  ( $R^2 = 0,9975$ ). Eine Ursache für diesen Effekt findet sich in der Bilanz der elektrostatischen Wechselwirkungen  $\Delta\langle V_{el_{lu}} \rangle$  der Liganden und lässt sich von dort aus zu den Solvatationsenthalpien der in Wasser gelösten freien Liganden zurückverfolgen, welche bereits einen ähnlichen Trend besitzen und diesen auf den LIE-Datensatz übertragen (Abb. 3.24). Der sich für die elektrostatischen Wechselwirkungen ergebende Graph verläuft nämlich nahezu linear im Bereich von null bis acht O-Atomen, knickt dann aber in Richtung der  $y$ -Achse ab. Offensichtlich existiert für die Coulombkräfte, die bei der Hydratation der Liganden auftreten, eine Art Sättigungseffekt, der mit der zunehmenden Anzahl an Ethersauerstoffatomen bzw. den abnehmenden räumlichen Distanzen zwischen diesen Atomen zum Tragen kommt. Je näher sich diese Atome innerhalb der Ligandenkette kommen, desto mehr überschneiden sich auch die zur Verfügung stehenden Räume der mit ihnen in Interaktion tretenden Wassermoleküle. Während zum Beispiel bei Ligand08 die Sauerstoffatome noch hinreichend entfernt voneinander liegen, sind ihre durchschnittlichen Abstände bei Ligand10 scheinbar so gering, dass mit einzelnen Wassermolekülen mitunter keine isolierten Wechselwirkungen mehr möglich sind, sondern diese sich bereits in Reichweite von zwei O-Atomen befinden und mit beiden nur partiell interagieren (Abb. 3.25). Infolgedessen ist der Zuwachs an elektrostatischer Solvatationsenthalpie beim Übergang zwischen Ligand08 und Ligand10 geringer als beispielsweise zwischen Ligand06 und Ligand08. Da der mathematische Bezug von  $\langle V_{el_{lu}} \rangle$  zu  $\Delta\langle V_{el_{lu}} \rangle$  und schließlich zu  $\Delta G_{bind}$  rein

linearer Natur ist (Formeln (3) und (4)), kann sich dieser Effekt unmittelbar auf die Linear Interaction Energy übertragen.

Ähnlich wie beim elektrostatischen Anteil der Hydrationsenthalpien existiert auch im Falle der Coulombwechselwirkungen zwischen Gastmolekülen und dem inneren Kanal der Amylose eine abfallende Steigung im Bereich der polareren Liganden (Abb. 3.24). Dies kann als ein Hinweis darauf betrachtet werden, dass sich der oben beschriebene Sättigungseffekt von Solvensmolekülen teilweise auch auf die OH-Gruppen und glycosidischen Sauerstoffatome der Amylosehelix übertragen lässt. Gemäß Gleichung (4) kompensieren sich diese Effekte der freien und komplexierten Liganden zum Teil. Aufgrund der geringen absoluten Größe der betrachteten Interaktionsenergien mit dem Polysaccharid im Vergleich zu den entsprechenden Werten mit dem Lösungsmittel ist diese Kompensation in den resultierenden Werten der Gibbs-Energie aber nur geringfügig erkennbar.



**Abb. 3.24** Hydrationsenthalpien der freien Liganden und Wechselwirkungen der komplexierten Liganden mit Amylose. Gezeigt ist jeweils nur der elektrostatische Beitrag.



**Abb. 3.25** Durchschnittliche Zahl der Kontakte zwischen Wassermolekülen und Ligandenstoffatomen innerhalb eines Radius von 0,5 nm. Die gleichzeitige Begegnung eines Solvensmoleküls mit zwei oder mehr O-Atomen wird lediglich als ein Kontakt gewertet. Angegeben sind die Mittelwerte über drei Ligandsimulationen. Ein erster Sättigungseffekt ist bereits bei Ligand06 zu erkennen, für die Liganden L10 bis L15 tritt dieser verstärkt in Erscheinung.

Bei den verwendeten Liganden handelt es sich um hochgradig flexible Moleküle, die eine große Zahl möglicher Konformationen besitzen. In Abhängigkeit von der Art der vorliegenden Konformation treten dabei unterschiedliche intramolekulare Kräfte auf. Es ist davon auszugehen, dass ein kettenförmiger Ligand in seiner ausgestreckten Form, wie sie beispielsweise im Komplex mit Amylose vorliegt, deutlich geringere intramolekulare Wechselwirkungen besitzt, als in einer in Lösung vorliegenden geknäuelten Form, in der sich bestimmte Molekülteile gegenseitig annähern. Um festzustellen, wie sich die explizite Berücksichtigung derartiger Kräfte auf die Ergebnisse der LIE-Berechnungen auswirkt, wurde die oben beschriebene Auswertung der MD-Simulationen der Amylosekomplexe ein weiteres Mal mit folgender modifizierter Form von Gleichung (3) durchgeführt:

$$\Delta G_{bind} = a\Delta(\langle V_{l-u}^{vdW} \rangle + \langle V_{l-l}^{vdW} \rangle) + \beta\Delta(\langle V_{l-u}^e \rangle + \langle V_{l-l}^e \rangle) + \gamma. \quad (6)$$

Die Terme mit dem Index  $l/l$  stehen hierbei für die Interaktionsenergien des Liganden mit sich selbst. Die Entscheidung, diese Energien mit den gleichen Faktoren  $\alpha$  und  $\beta$  zu gewichten, die auch für die Wechselwirkungen des Liganden mit seiner Umgebung verwendet werden, wurde zunächst aus rein praktischen Gründen getroffen. Auf diese Weise war es nämlich möglich, die finale Berechnung der Linear Interaction Energy weiterhin mit dem Programm *g\_lie* in GROMACS durchzuführen (siehe Abschnitt 5).

Die Ergebnisse der LIE-Auswertung nach Formel (6) finden sich in Abbildung 3.23. Der Graph verläuft im Bereich von null bis zwölf O-Atomen leicht positiv verschoben nahezu parallel zu den Daten des ursprünglichen LIE-Modells. Diese systematische Verschiebung deutet darauf hin, dass die Bilanz der nun explizit berücksichtigten intramolekularen Wechselwirkungen des Liganden hier in allen Fällen ungünstig ausfällt. Tatsächlich belegen die entsprechenden Zahlenwerte, dass bei der Komplexbildung durchschnittlich ca. 11 bis 18 kJ/mol an attraktiven intramolekularen Wechselwirkungen verloren gehen. Hierbei handelt es sich fast ausschließlich um Van-der-Waals-Kräfte, während die Coulombkräfte nahezu konstant bleiben. Der Grund für diesen Verlust liegt zweifellos in der konformativen Änderung, welche die Liganden im Zuge der Komplexbildung erfahren. Die im Komplex erforderliche weitgehend gestreckte Konformation der Liganden verhindert eine Annäherung unterschiedlicher Molekülteile, wie sie in Lösung möglich ist.

Die einzige wesentliche Unregelmäßigkeit in den modifizierten LIE-Ergebnissen findet sich im Mittelwert des Liganden L15, der sich unter expliziter Einberechnung des intramolekularen Potenzials entgegen des sonstigen Trends deutlich (um ca. 7,3 kJ/mol) verbessert. Dies ist größtenteils auf die Bilanz der 1-4-Wechselwirkungen innerhalb des Liganden zurückzuführen, d. h. Wechselwirkungen zwischen Atomen, die durch drei kovalente Bindungen voneinander getrennt sind. Diese Art von Interaktion würde in einigen Fällen durch ein normales Lennard-Jones-Potenzial überbewertet und wird deshalb in GROMACS gegebenenfalls mit eigenen Parametern berechnet.<sup>[145]</sup> Bei Ligand15 lautet die sich wiederholende atomare Abfolge O-C-C-O. Somit fallen hier in diesem Zusammenhang im Unterschied zu allen anderen Liganden fast nur repulsive 1-4-Wechselwirkungen zwischen gleichgelade-

nen Sauerstoff- bzw. Kohlenstoffatomen an. Das repulsive Potenzial wird offensichtlich vermindert, wenn diese Atome den größtmöglichen Abstand voneinander einnehmen, was in der im Komplex gegebenen all-*trans*-Konformation gewährleistet ist. Deshalb wird Ligand15 bei der Abschätzung der Bindungsenthalpien durch die explizite Berücksichtigung der intramolekularen Wechselwirkungen im Vergleich zu den übrigen Liganden deutlich begünstigt.

### **3.3.4.2 Ligandenserie 2: Telechelische Polyetherliganden**

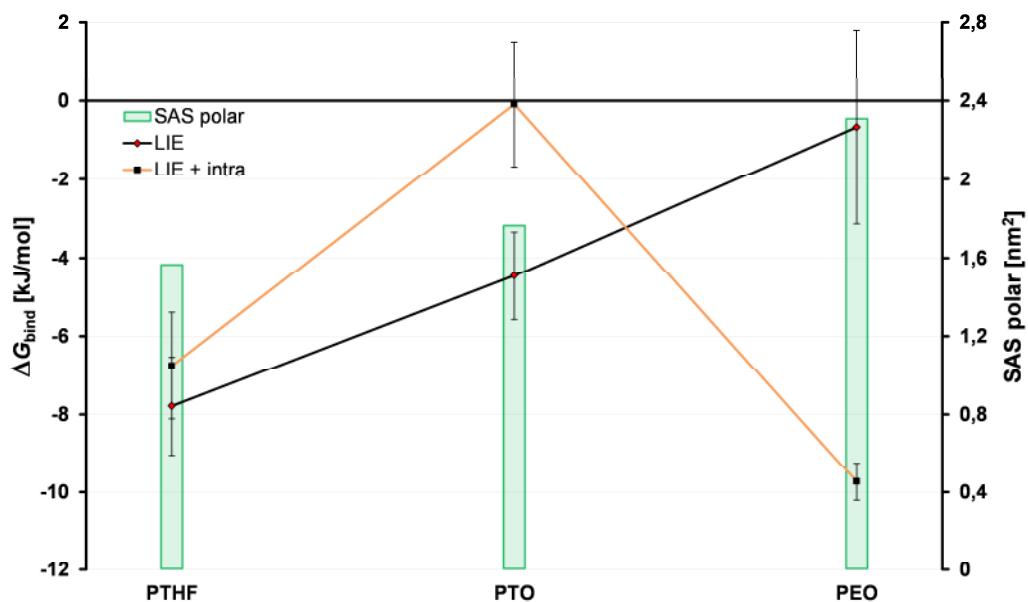
Die Auswertung der MD-Simulationen der telechelischen Polymere PTHF, PTO und PEO wurde analog zur o. a. Vorgehensweise im Falle der Ligandenserie L00 bis L15 mit dem Programm *g\_lie* durchgeführt. Dementsprechend handelt es sich bei den verwendeten Interaktionsenergien der freien Liganden um gemittelte Trajektorienmittelwerte aus je drei Ligandensimulationen und bei den Ergebnissen für  $\Delta G_{bind}$  der Komplexe um entsprechende gemittelte Trajektorienmittelwerte aus je fünf Komplexsimulationen.

Bei der Verwendung der Gleichungen (3) bzw. (6) wurden die Van-der-Waals-Terme wiederum mit dem Koeffizienten  $a = 0,181$  gewertet, ebenso wurde  $\gamma = 0$  gesetzt. Für den Koeffizienten der elektrostatischen Beiträge ergeben sich gemäß Gleichung (5) nun die Werte  $\beta_{PTHF} \approx 0,4191$ ,  $\beta_{PTO} \approx 0,4208$  und  $\beta_{PEO} \approx 0,4229$ . Dabei gehen die in den Molekülen vorhandenen OH-Gruppen jeweils mit  $\Delta\beta_i = -0,06$  und die Ethergruppen jeweils mit  $\Delta\beta_i = 0$  in die Berechnung ein.

Abbildung 3.26 zeigt die Ergebnisse der LIE-Auswertung für die Komplexe aus Amylose und den telechelischen Gastmolekülen. Es ist augenscheinlich, dass die Schätzwerte der Gibbs-Energie tendenziell mit dem polaren Anteil der dem Lösungsmittel zugänglichen Oberfläche der Liganden korrelieren. Hiermit bestätigt sich also die Aussage aus Abschnitt 3.3.4.1, wonach im wässrigen Medium die Komplexbildung mit der inneren weitgehend hydrophoben Oberfläche der Amylosehelix für Gastmoleküle mit größerer Hydrophobizität begünstigt gegenüber der mit hydrophileren Liganden abläuft.

Darüber hinaus geht der qualitative Verlauf des Graphen konform mit den experimentellen Resultaten von Kaneko *et al.*, denen zufolge Amylose aus einer Mischung

von PTHF und PTO selektiv PTHF einschließt.<sup>[94]</sup> Das LIE-Modell unterstützt diese Erkenntnis durch eine Bevorzugung von PTHF gegenüber PTO von durchschnittlich ca. 3,3 kJ/mol in der freien Komplexbildungsenthalpie. Laut Kaneko *et al.* geht PEO aufgrund seiner Hydrophilie dagegen keinerlei Einschlusverbindung mit Amylose ein,<sup>[173]</sup> was für diesen Prozess auf eine nahe bei null gelegene oder positive Gibbs-Energie schließen lässt. Auch in diesem Zusammenhang liefert die Linear Interaction Energy ein qualitativ zufriedenstellendes Ergebnis, indem sie den entsprechenden Wert von PEO auf durchschnittlich ca. -0,67 kJ/mol beziffert und ihn damit im Mittel ungefähr 3,8 kJ/mol über dem Wert von PTO einordnet.



**Abb. 3.26** Gibbs-Energien der Komplexbildung zwischen Amylose und telechelischen PTHF-, PTO- und PEO-Liganden (Tabelle 3.4), berechnet nach dem Näherungsverfahren der Linear Interaction Energy (LIE, Gleichung (3)). Außerdem angegeben sind LIE-Werte, die unter zusätzlicher expliziter Berücksichtigung intramolekularer Wechselwirkungsenergien der Liganden gemäß Gleichung (6) berechnet wurden (LIE + intra), sowie die polare dem Lösungsmittel zugängliche molekulare Oberfläche der Liganden (SAS polar, rechte y-Achse).

Mithilfe der gewonnenen Informationen lässt sich nun ebenfalls eine Aussage bezüglich des Parameters  $\gamma$  aus Formel (3) ableiten, welcher als eine Art Korrekturfaktor für  $\Delta G_{\text{bind}}$  der spezifischen Beschaffenheit des Rezeptorsystems Rechnung trägt. Um den LIE-Wert von PEO auch quantitativ mit den experimentellen Daten in Einklang zu bringen, müsste er um mindestens 0,67 kJ/mol nach oben korrigiert werden.

Dadurch käme die freie Gibbs-Energie in den Bereich größer oder gleich null, was dem beobachteten Ausbleiben der Komplexbildung für PEO entsprechen würde. Gleichzeitig muss aber gewährleistet sein, dass sich der LIE-Wert von PTO nach der systematischen Verschiebung weiterhin im negativen Enthalpiebereich befindet, da für diesen Liganden ja im Experiment die Bildung einer Einschlussverbindung dokumentiert wurde. Folgerichtig muss der Koeffizient  $\gamma$  für den hydrophoben inneren Kanal der Amylosehelix einen Wert zwischen 0,67 kJ/mol und 4,46 kJ/mol besitzen.

Die Ergebnisse der LIE-Berechnung nach Gleichung (6) (Abb. 3.26) bestätigen im Wesentlichen die diesbezüglichen Resultate für die Ligandenserie aus Abschnitt 3.3.4.1. Die gesonderte Berücksichtigung der intramolekularen Wechselwirkungen verursacht für die Werte der Liganden PTHF und PTO eine positive Verschiebung, die hauptsächlich auf den Verlust attraktiver intramolekularer Van-der-Waals-Kräfte, im Falle von PTO aber auch auf einen nicht unerheblichen Verlust entsprechender Coulomb-Kräfte im Zuge der Komplexbildung zurückzuführen ist. Weil für den PEO-Liganden genau wie bei Ligand15 zusätzlich sehr starke repulsive 1-4-Wechselwirkungen auftreten, welche bei der Streckung des Liganden enorm reduziert werden, findet hier stattdessen eine deutliche Verbesserung des LIE-Wertes statt.

Bei Vergleich des sich daraus ergebenden Gesamtbildes für die drei telechelischen Liganden mit den experimentell abgeleiteten Aussagen von Kaneko *et al.* zeigen sich allerdings unvereinbare Abweichungen. So ist vor allem die Einordnung des PEO-Liganden von Grund auf unterschiedlich. Während dieser nämlich bei Bewertung mithilfe des LIE-Modells nach Gleichung (6) die günstigste Gibbs-Energie der Komplexbildung der drei Gastmoleküle erhält, lässt das Laborexperiment umgekehrt auf die ungünstigste Gibbs-Energie schließen und schließt die Bildung einer Einschlussverbindung sogar gänzlich aus. Zudem scheint der Betrag des berechneten Durchschnittswerts für PTO (-0,09 kJ/mol) zu gering, als dass sich damit ein experimentell beobachtbares Ausmaß der Komplexbildung begründen ließe.

Aufgrund der beschriebenen Unstimmigkeiten zwischen theoretischer Berechnung und Experiment ist davon auszugehen, dass die Erweiterung des ursprünglichen Modells der Linear Interaction Energy (Gleichung (3)) durch explizite Berücksichti-

gung intramolekularer Wechselwirkungen der Liganden gemäß Gleichung (6) zu mindest für das untersuchte Amylosesystem nicht sinnvoll ist. Es muss in diesem Zusammenhang jedoch berücksichtigt werden, dass die zur Gewichtung der intramolekularen Bilanzen verwendeten Koeffizienten  $\alpha$  und  $\beta$  einfach von den intermolekularen Bilanzen übernommen wurden und somit prinzipiell willkürlich gewählt sind. In einer früheren Studie von Carlsson *et al.* wurden die intramolekularen Terme beispielsweise mit einem Faktor von 1 gewichtet, was jedoch ebenfalls zu einer Verschlechterung der LIE-Ergebnisse führte.<sup>[174]</sup> Bei den hier berechneten LIE-Werten der telechelischen Liganden (Abb. 3.26) könnte allenfalls die Verwendung sehr kleiner intramolekularer Faktoren die Konsistenz mit den experimentellen Resultaten gewährleisten. Da die Ergebnisse des unmodifizierten LIE-Modells (Gleichung (3)) jedoch durchaus plausibel sind, darf angenommen werden, dass die verwendeten linearen Näherungen intramolekulare Effekte bereits in geeignetem Maße implizit mitberücksichtigen.<sup>[159]</sup> Rückblickend erscheint es daher sinnvoll, auch die Komplexbildung der Ligandenserie aus Abschnitt 3.3.4.1 mit Amylose nur mithilfe dieses Modells zu beurteilen und dabei den abgeleiteten Faktor  $\gamma \approx [0,67; 4,46]$  kJ/mol einzubeziehen. Die LIE-Kurve in Abbildung 3.23 würde sich somit um einen Wert innerhalb dieses Intervalls nach oben verschieben, sodass für das hydrophilste Gastmolekül L15 ein Durchschnittswert von  $\Delta G_{bind}$  größer oder gleich null möglich wird.



## **4 Fazit und Ausblick**

Die vorliegende Arbeit besitzt zwei wesentliche Themenschwerpunkte, welche mit Methoden der Computational Chemistry bearbeitet wurden. Als erstes Kernthema wurde die konformative Stabilität der als V-Amylose bekannten helikalen Struktur in Lösungen aus Wasser und DMSO untersucht. Im Weiteren lag der Fokus auf der energetischen Bewertung von Einschluskomplexen aus Amylose und verschiedenen langkettigen Mehrfachethermolekülen, mit dem Ziel, einen Weg zur grundsätzlichen Vorhersage der Eigenschaften von Amylose-Einschluskomplexen zu erarbeiten.

Als Grundlage für alle durchzuführenden Untersuchungen wurde in Abschnitt 3.1 basierend auf röntgenkristallographischen Literaturdaten das Modell einer V-Amylosehelix aus 55 Glucosemonomeren nach einer in meiner Masterarbeit<sup>[117]</sup> entwickelten mathematischen Methode konstruiert. Unter Kristallbedingungen, nachgestellt durch eine Umgebung des stark hydrophoben Lösungsmittels *n*-Decan, wurde anschließend die Eignung des GROMOS96-Kraftfeldes G45a3 und der Kohlenhydraterweiterung G45a4 zur Vorhersage des Modellverhaltens erprobt. In einer Simulationszeit von 25,2 ns kam es zu geringen geometrischen Veränderungen der Helixstruktur, welche in einem durchschnittlichen RMSD-Wert der Atomabstände von 0,46 nm (zwischen 10 ns und 25,2 ns) sowie in geringfügigen Abweichungen der Helixganghöhe  $p$ , des Innendurchmessers  $d$  und der glycosidischen Rotationswinkel  $\phi$  und  $\psi$  deutlich wurden. Der grundsätzliche helikale Aufbau wurde jedoch nicht zerstört, da vor allem das Netzwerk intramolekularer H-Brücken kaum beschädigt wurde. Deshalb kann das genannte Kraftfeld als geeignet für die Simulation der Amylose angesehen werden.

Zur Vorbereitung der Studien zum Verhalten der V-Amylosehelix in Wasser, DMSO und verschiedenen Mischungen daraus (Abschnitt 3.2) wurden in vorgesetzten MD-Simulationen drei unterschiedliche Wassermodelle (SPC, SPC/E und TIP4P) in ihrer Fähigkeit untersucht, experimentelle Dichtewerte verschiedener Wasser-

DMSO-Mischungen zu reproduzieren (Abb. 3.11). Die bekannte nicht-lineare Dichtentwicklung innerhalb der betrachteten Reihe binärer Solvensgemische wird demnach von allen drei Modellen in zufriedenstellendem Maße abgebildet. Trotz seiner geringeren Komplexität im Vergleich zu TIP4P bietet dabei das SPC/E-Modell die beste Annäherung an die experimentelle Dichtekurve und kann deshalb für Simulationen mit dem eingesetzten DMSO-Modell von Geerke *et al.* empfohlen werden. Es wurde folglich für die weiteren Simulationen dieses Abschnitts als Wassermodell verwendet.

Unter Verwendung der sechs zuvor generierten Lösungsmittelgemische unterschiedlicher Zusammensetzung wurde das molekulardynamische Verhalten des V-Amylosemodells mehrfach über bis zu 100 ns simuliert. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die helikale Konformation der Amylose weder in Wasser noch in DMSO über einen längeren Zeitraum stabil ist und sich stattdessen eine Random-Coil-Struktur ausbildet. Die intramolekularen H-Brücken zwischen den Hydroxylgruppen OH<sub>2</sub> und OH<sub>3</sub>, OH<sub>6</sub> und OH<sub>2</sub> sowie OH<sub>6</sub> und OH<sub>3</sub> benachbarter Glucosereste, welche als stabilisierende Faktoren der helikalen Röntgenstruktur gelten, werden dabei zugunsten intermolekularer H-Brücken zwischen Amylose und dem umgebenden Solvens und zusätzlicher entropischer Vorteile abgebaut (Abb. 3.13, 3.14, 3.15 und 3.16).

Die experimentell bekannten Unterschiede in der Helixstabilität spiegeln sich in den MD-Simulationen darin wieder, dass der Abbau der Helixstruktur mit zunehmendem Wasseranteil des Lösungsmittelgemisches schneller abläuft (Abb. 3.16, 3.17, 3.20 und 3.22). Offensichtlich beschleunigen Wassermoleküle den Helixzerfall wegen ihrer geringen Größe und ihrer besseren Fähigkeiten zum Ausbilden von H-Brücken im Vergleich zu DMSO-Molekülen. Im Konzentrationsbereich zwischen ca. 40 % und 80 % DMSO wird der Helixabbau durch die Bildung von DMSO-Hydraten und die damit verbundene geringere Zahl freier Wassermoleküle gebremst und oberhalb von 80 % DMSO führt der Überschuss an DMSO-Molekülen zu einer weiteren noch deutlicheren Verlangsamung des Vorgangs.

Die Resultate zeigen außerdem, dass die *Intraturn*-H-Brücken im Prozess des Helixzerfalls deutlich stabiler sind als die sterisch leichter zugänglichen und zudem kon-

formationsabhängigeren *Interturn*-H-Brücken (Abb. 3.16, 3.20, 3.21 und 3.22). Daraus kann geschlossen werden, dass der Abbau der Sekundärstruktur mit einer Erweiterung der Helixganghöhe in Richtung der  $\zeta$ -Achse beginnt. Wegen des größeren räumlichen Anspruchs von DMSO-Molekülen ist dieser Trend in DMSO wesentlich ausgeprägter als in Wasser.

Eine Frage, die bei der Bewertung der genannten Ergebnisse berücksichtigt werden muss, lautet, inwieweit die verschiedenen Geschwindigkeiten des Helixzerfalls und die damit zusammenhängenden Zeitskalen tatsächlich mit den experimentell beobachteten Unterschieden in der Helixstabilität vergleichbar sind. Im eigentlichen Sinne besteht nämlich eine Unstimmigkeit der Simulationsergebnisse mit der Langzeitstabilität der Helixkonformation in DMSO, welche im Experiment auf Basis einer makroskopischen Zeitskala beobachtet wurde. Es muss zumindest in Betracht gezogen werden, dass der unter simulierten Bedingungen ablaufende (verlangsamte) Helixabbau durch geringfügige technische Mängel des Kraftfeldes begünstigt oder sogar hervorgerufen wird. Schwachstellen sind für das Kraftfeld G45a4 z. B. hinsichtlich der Ringkonformation sowie der Rotationsstellungen der freien Lactolgruppe und der Hydroxymethylgruppen bekannt, deren Verteilung u. U. fehlerhaft berechnet wird.<sup>[175]</sup> Ein erst kürzlich veröffentlichtes verbessertes GROMOS96-Kraftfeld für Kohlenhydrate mit der Bezeichnung 56A<sub>CARBO</sub><sup>[175]</sup> soll in dieser Hinsicht Abhilfe schaffen, konnte aber aufgrund der Kürze der Zeit und des bereits fortgeschrittenen Entwicklungszustandes der vorliegenden Arbeit nicht mehr getestet werden. Eine solche Untersuchung sollte ein Hauptaugenmerk zukünftiger Studien sein.

In Abschnitt 3.3 wurden Einschlusskomplexe aus V-Amylose und unterschiedlichen Gastmolekülen in einer wässrigen Umgebung modelliert, mithilfe von Molekulardynamik-Simulationen untersucht und schließlich anhand der Näherungsmethode der Linear Interaction Energy hinsichtlich ihrer Gibbsschen Komplexbildungsenergie bewertet.

Verwendet wurden zwei Sätze von langketten Kohlenwasserstoffliganden (Tabellen 3.3 und 3.4), die jeweils in der Zahl der enthaltenen Ethersauerstoffatome und

somit in ihrer hydrophilen Oberfläche variieren. Der zweite Ligandensatz (PTHF, PTO, PEO), welcher von Kaneko *et al.* bereits in praktischen Experimenten untersucht wurde, weist zusätzlich telechelische Hydroxylendgruppen auf.

Für die LIE-Berechnung nach Gleichung (3) wurden die Koeffizienten  $\alpha = 0,181$ ,  $\beta$  unter Berücksichtigung funktioneller Gruppen gemäß Gleichung (5) sowie  $\gamma = 0$  benutzt.

Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass eine nahezu lineare Korrelation zwischen der Größe der hydrophilen Oberfläche der Liganden und deren freier Enthalpie der Komplexbildung mit Amylose besteht (Abb. 3.23 und 3.26). Geringe systematische Abweichungen von der Linearität können auf einen Sättigungseffekt in der Interaktion der Liganden mit dem Solvens Wasser zurückgeführt werden, der ab einer gewissen Anzahl an Ethersauerstoffatomen im Liganden zum Tragen kommt (Abb. 3.24 und 3.25).

Somit konnten die praktisch-experimentellen Ergebnisse von Kaneko *et al.* einwandfrei qualitativ reproduziert werden. Die übereinstimmende Aussage besteht darin, dass die Tendenz zur Komplexbildung mit Amylose innerhalb der Reihe PTHF, PTO, PEO signifikant abnimmt. Der Vergleich ermöglicht zudem eine nachträgliche Korrektur des Koeffizienten  $\gamma$ , welcher demnach für das Rezeptorsystem der V-Amylose näherungsweise aus dem Intervall zwischen 0,67 kJ/mol und 4,46 kJ/mol gewählt werden sollte.

Die hier beschriebene Methode zur energetischen Bewertung der Stabilität von Amylose-Einschlusskomplexen stellt eine sinnvolle Weiterentwicklung eines bereits im Rahmen meiner Masterarbeit<sup>[117]</sup> entwickelten Konzeptes dar. Eine grundlegende Verbesserung besteht in der Verwendung eines spezialisierten Kraftfeldes (GROMOS45a4), welches insbesondere für die Simulation von Kohlenhydraten parametriert ist. Die Beurteilung der Komplexe erfolgt nicht mehr wie ursprünglich vorgesehen anhand starrer gedockter Strukturen, sondern auf der Basis statistischer Trajektorienmittelwerte aus Molekulardynamik-Simulationen. Des Weiteren bietet die Theorie der Linear Interaction Energy die Möglichkeit zur zusätzlichen näherungsweisen Berechnung des entropischen Faktors und damit der Gibbs-Energie der Komplexbildung. Im Großen und Ganzen ermöglicht das beschriebene verbesserte Bewer-

tungsmodell deshalb realistischere Aussagen hinsichtlich der Stabilität der Komplexe in Lösung.

Es ist somit gelungen, ein grundlegendes Verfahren zur Vorhersage und Beschreibung der Eigenschaften von Einschluskomplexen aus Amylose und synthetischen Polymeren auf Basis theoretischer Methoden zu formulieren. Es sollte das Ziel zukünftiger Studien sein, die gewonnenen Erkenntnisse durch die Analyse weiterer Liganden(-Systeme) auszubauen und zu verfeinern, um schließlich praktisch relevante Aussagen zur funktionellen Verwendung der betrachteten supramolekularen Strukturen treffen zu können.

Über die bereits beschriebenen Untersuchungen hinaus wurde in Abschnitt 3.3 anhand der modellierten Einschluskomplexe ein erweitertes LIE-Modell getestet, das intramolekulare Wechselwirkungsbilanzen der Gastmoleküle explizit berücksichtigt (Gleichung (6)). Dieses konnte jedoch die qualitative Aussage der genannten experimentellen Ergebnisse von Kaneko *et al.* nicht in zufriedenstellendem Maße reproduzieren (Abb. 3.23 und 3.26). Aufgrund der Unsicherheit bezüglich der hierbei zu verwendenden Gewichtungsfaktoren kann hinsichtlich der generellen Verwendbarkeit eines solchen Modells allerdings keine abschließende Aussage getroffen werden.



## 5 Technischer Teil

Dieser Abschnitt beschreibt im Wesentlichen die bei der Durchführung der beschriebenen Studien angewandten technischen Arbeitsschritte und Computerprogramme und ergänzt dabei die bereits in Abschnitt 3 gemachten Angaben.

### 5.1 Molecular Modeling

Alle Molekülstrukturen wurden im PDB-Format (Protein Data Bank)<sup>[176,177]</sup> erfasst, dem weltweit standardmäßig verwendeten Dateiformat zur Speicherung und zum Austausch makromolekularer Strukturen auf Basis röntgen- und NMR-spektroskopischer Daten.

#### 5.1.1 V-Amylose

Die von Rappenecker und Zugenmaier<sup>[35]</sup> gegebene Glucosestruktur wurde mithilfe des Programms MOE (Molecular Operating Environment)<sup>[162]</sup> um polare Wassерstoffatome ergänzt. Die Vervielfältigung der kartesischen Koordinaten in einer V-helikalen Anordnung gemäß Gleichung (1) wurde in einem Tabellenkalkulationsprogramm durchgeführt. Nach manueller Löschung der überflüssigen Koordinaten der Atome O1, H1 und H4 an den glycosidischen Bindungsstellen wurden die berechneten Daten als Textdokument abgespeichert und in einem Texteditor an das PDB-Format angepasst.

#### 5.1.2 Einschluskomplexe

Zur Modellierung der Amylose-Einschluskomplexe wurde MOE verwendet. Die Gastmoleküle (Tab. 3.3 und 3.4) wurden *ab initio* mit der Builder-Funktion konstruiert und anschließend unter Verwendung des Kraftfeldes MMFF94x und aller Standardeinstellungen energetisch optimiert. Bei der Verwendung der Docking-Funktion zur Einlagerung in die Amylosehelix wurde sowohl unter *Receptor* als auch unter *Site* das Amylosemolekül und unter *Ligand* das jeweilige Gastmolekül ausgewählt und die

Option *Rotate Bonds* ausgeschaltet, um die Konformation der Liganden während des Dockings starr zu halten. Als Algorithmen für *Placement* und *Rescoring 1* wurden Alpha PMI und London dG eingestellt. Darüber hinaus wurden die Standardeinstellungen benutzt.

### 5.1.3 Lösungsmittel

Zur Erzeugung der Lösungsmittel wurden im Wesentlichen die Programme *editconf* und *genbox* in GROMACS eingesetzt. In *editconf* lassen sich Moleküle mit einer Simulationsbox definierter Größe umgeben, die triklin, kubisch, dodekaedrisch oder oktaedrisch gebaut sein kann. Mithilfe von *genbox* können diese Boxen mit einer nach oben beschränkbaren Anzahl an Solvensmolekülen geflutet werden (Option *-maxsol*), wobei außerdem noch eine definierte Anzahl von Molekülen eines anderen Solvens zugemischt werden kann (Option *-nmol*). Um durch das Fluten entstandene Kollisionen zwischen Molekülen zu beheben, wurden die erhaltenen Systeme energetisch optimiert. Die so erzeugten Lösungsmittel(gemische) wurden dann wiederum unter Verwendung von *genbox* als Solvenzien für Amylose und deren Einschlusskomplexe eingesetzt.

#### 5.1.3.1 n-Decan

Mithilfe der oben beschriebenen Methode wurde eine kubische Simulationsbox der Kantenlänge 37,5 Å mit 162 Decanmolekülen erstellt. Die hierzu durchgeführte energetische Optimierung bestand aus kurzen aufeinanderfolgenden Simulationen mit den Algorithmen *steepest descent* und *conjugate gradient* sowie einer MD-Simulation über 2 ns (Setup siehe Abschnitt 5.2.2). Die Massendichte des Lösungsmittels betrug im Simulationsintervall zwischen 0,5 ns und 2 ns im Mittel 0,731 g/cm<sup>3</sup> und stimmt somit sehr gut mit dem Literaturwert von 0,726 g/cm<sup>3</sup>[178] überein.

### 5.1.3.2 Wasser-DMSO-Mischungen

Ebenso wurden die Lösungsmittel Wasser und DMSO bzw. deren Gemische erzeugt. Einen Überblick über die genaue Zusammensetzung der Mischungen gibt Tabelle 5.1.

**Tabelle 5.1** Zusammensetzungen der vorbereiteten Wasser-DMSO-Gemische, die später zum Fluten der Amylose-Simulationsbox verwendet wurden (dabei entstehende Systeme siehe Tabelle 3.1). Angegeben sind die enthaltenen Teilchenzahlen von Wasser und DMSO sowie die jeweiligen Massenanteile  $\omega$  und Stoffmengenanteile  $\chi$  von Wasser.

H <sub>2</sub> O	DMSO	$\omega(\text{H}_2\text{O})$	$\chi(\text{H}_2\text{O})$
1000	0	1,0	1,00
800	46	0,8	0,95
600	92	0,6	0,87
400	138	0,4	0,74
200	184	0,2	0,52
0	1000	0,0	0,00

## 5.2 MD-Simulationen

Alle MD-Simulationen wurden mit dem Programm Paket GROMACS<sup>[110,111]</sup> durchgeführt. Dabei wurde das GROMOS96-Kraftfeld G45a3<sup>[112]</sup> und die G45a4-Erweiterung<sup>[113]</sup> für Kohlenhydrate eingesetzt. Weil es sich dabei um ein sogenanntes United-Atoms-Kraftfeld handelt, welches zur Begrenzung der Rechenzeit unpolare Wasserstoffatome nicht explizit berücksichtigt, sondern diese mit dem Kohlenstoffatom zu einer Einheit (z. B. Methyl ( $\text{CH}_3$ )) zusammenfasst, wurden für die Arbeiten in GROMACS alle diese Atome aus den verwendeten Strukturen gelöscht.

### 5.2.1 GROMACS-Topologien

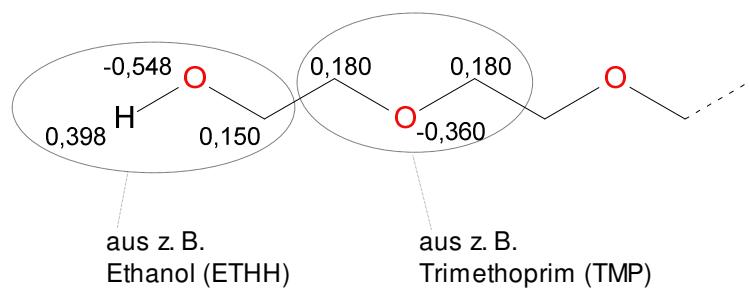
Die GROMACS-Topologiedateien enthalten alle kraftfeldrelevanten molekülspezifischen Parameter einer Struktur. Den in der Strukturdatei definierten Atomnamen werden hier Atomtypen, -massen und -ladungen zugeordnet. Außerdem werden alle Bindungslängen sowie Bindungswinkel und Diederwinkel festgelegt und mit passenden Kraftkonstanten versehen.

### 5.2.1.1 Amylose

Bei der Erstellung der Amylosetopologie diente die von Oliver Stüker<sup>[179]</sup> veröffentlichte Topologie für Cellulose als Grundgerüst, in das die Parameter für das Kraftfeld G45a4<sup>[113]</sup> eingetragen wurden. Um die Länge der Topologie variabel an die Länge der Amylosekette anpassen zu können, wurde auch diese in einem Tabellenkalkulationsprogramm erstellt und von dort aus als Textdatei abgespeichert.

### 5.2.1.2 Gastmoleküle

Grundlegende Topologien der Gastmoleküle wurden mit dem PRODRG2-Server<sup>[180]</sup> erstellt. Hierzu wurde der Inhalt der jeweiligen PDB-Strukturdatei in das dafür vorgesehene Eingabefenster kopiert und die Serveroperation mit den Einstellungen *Chirality: Yes, Charges: Full* und *EM: No* gestartet. In der ausgegebenen Topologie mussten mithilfe eines Texteditors die Atomladungen und die Definition der *charge groups* (Gruppen von meist einem bis drei Atomen, deren Ladung in der Summe ganzzahlig ist) individuell angepasst werden, da GROMOS96 diese Parameter nur für einen gewissen Satz an Molekülbausteinen vorgibt, in dem reine aliphatische Ether nicht enthalten sind. Deshalb wurden passende *building blocks* anderer Moleküle ausgewählt und wie in der beispielhaften Abbildung 5.1 den verschiedenen Molekülfragmenten der Liganden zugewiesen.<sup>[181]</sup>



**Abb. 5.1** Zuweisung von *charge groups* (ellipsenförmige Umrundung) und Atomladungen zu den Ligandenmolekülen am Beispiel von PEO. Außerdem angegeben sind die Bezeichnungen der Topologien aus Ref. [181], aus denen die Molekülbausteine übernommen wurden. Die innerhalb der anderen Liganden vorkommenden Methyl- und Methylengruppen, die nicht in direkter Nachbarschaft zu einem Sauerstoffatom stehen, bilden jeweils eine isolierte *charge group* mit der Ladung 0.<sup>[112]</sup>

### 5.2.1.3 Lösungsmittel

Das GROMACS-Programmpaket beinhaltet Topologien für alle der verwendeten Lösungsmittel, die aber im Falle von *n*-Decan und DMSO unvollständig bzw. veraltet sind.

Die Topologie für *n*-Decan wurde anhand der Vorlage des chemisch ähnlichen Liganden L00 (Tabelle 3.3) vervollständigt.

In der DMSO-Topologie wurden die Atomladungen, Atommassen und Bindungs-längen an die Werte von Geerke *et al.*<sup>[139]</sup> angepasst. Außerdem mussten in der Parameterdatei des Kraftfeldes für nichtbindende Wechselwirkungen (*ffG45a3nb.itp*) die falsch eingetragenen gemischten Van-der-Waals-Parameter der DMSO-Atome S und O durch die ursprünglich für das Kraftfeld vorgesehenen Werte<sup>[181]</sup> ersetzt werden, während für die Methylgruppen neuere Einzelparameter von Geerke *et al.*<sup>[139]</sup> übernommen bzw. gemischte Parameter nach der dort angegebenen Formel berechnet wurden.

### 5.2.2 MD-Parameter

Als Vorbereitung für jede MD-Simulation wurde das jeweilige System einer energetischen Optimierung unterworfen. Diese bestand aus einer *Steepest-Descent*-Simulation mit einer maximalen Schrittweite von 0,01 nm und einer Konvergenzschwelle von 10 kJ mol<sup>-1</sup> nm<sup>-1</sup> und einer anschließenden *Conjugate-Gradient*-Simulation mit einer maximalen Schrittweite von 0,001 nm und einer Konvergenzschwelle von 1 kJ mol<sup>-1</sup> nm<sup>-1</sup>. Jeder der beiden Durchläufe wurde nach spätestens 1000 Schritten abgebrochen.

Alle MD-Simulationen wurden unter periodischen Randbedingungen mit einer Integrationsschrittweite von 2 fs nach dem Leapfrog-Verfahren<sup>[182]</sup> durchgeführt. Mit Hilfe des V-Rescale-Thermostats<sup>[183]</sup> und des Berendsen-Barostats<sup>[184]</sup> wurde die Temperatur des Systems bei 298,15 K bzw. der Druck bei 1 bar gehalten. Die Temperaturkopplung an ein unendlich großes Wärmebad wurde für jede der chemischen Spezies separat mit einer Kopplungskonstanten von 0,1 ps durchgeführt. Für die isotrope Druckkopplung wurden systemspezifische Kopplungskonstanten verwendet, da nur

auf diese Weise die Stabilität der extrem unterschiedlichen Systeme während der MD-Simulationen gewährleistet werden konnte (reines *n*-Decan: 1,5 ps; Amylose in *n*-Decan: 1,2 ps; Wasser-DMSO-Gemische mit und ohne Amylose: 1.0 ps; Liganden mit und ohne Amylose: 0.4 ps). Die dabei verwendeten isothermen Kompressibilitäten  $\kappa_T$  sind Tabelle 5.2 zu entnehmen. Zur Einschränkung aller Bindungslängen und aller Bindungswinkel, an denen Wasserstoffatome beteiligt sind, wurde der LINCS-Algorithmus<sup>[185]</sup> mit den Standardeinstellungen eingesetzt. Van-der-Waals-Wechselwirkungen der Atome wurden innerhalb eines kugelförmigen Raumes vom Radius 0,8 nm bei jedem Integrationsschritt auf Basis einer Nachbarschaftsliste (*neighbor list*) berechnet, welche alle 5 Schritte aktualisiert wurde. Weiter reichende Wechselwirkungen bis zu einem Radius von 1,4 nm wurden gleichzeitig mit jeder Aktualisierung der Liste berechnet und in den Zwischenzeiten konstant gehalten. Zur Berücksichtigung der elektrostatischen Wechselwirkungen wurde die Reaction-Field-Methode mit einem Cut-off von 0,8 nm verwendet, wobei alle darüber hinausgehenden Interaktionen anhand einer spezifischen dielektrischen Permittivität gemäß Tabelle 5.2 berechnet wurden.

Bei den zwei zusätzlichen Simulationen in Wasser und DMSO, die mit einer zum größten Teil räumlich fixierten Amylosehelix durchgeführt wurden, wurden mithilfe des GROMACS-Befehls *genrestr* für alle zu fixierenden Atome drei Kraftkonstanten (jeweils 10000 kJ mol<sup>-1</sup> nm<sup>-2</sup>) für die Bewegung in *x*-, *y*- und *z*-Richtung definiert.

**Tabelle 5.2** Auflistung der in den MD-Simulationen verwendeten Werte der dielektrischen Permittivität  $\epsilon_{RF}$  und der Kompressibilität  $\kappa_T$  für die Lösungsmittel *n*-Decan, DMSO, Wasser und deren Mischungen (gekennzeichnet durch den Wasseranteil  $\omega(\text{H}_2\text{O})$ ). Die Werte der reinen Solvenzien sind experimentell bestimmt und stammen aus folgenden Quellen: *n*-Decan: CRC Handbook of Chemistry and Physics<sup>[186]</sup> ( $\epsilon_{RF}$ ), Pena und Tardajos<sup>[178]</sup> ( $\kappa_T$ ); DMSO: Riddick *et al.*<sup>[187]</sup>; Wasser: Kell<sup>[188]</sup> ( $\kappa_T$ ), Geerke *et al.*<sup>[139]</sup> ( $\epsilon_{RF}$ ). Die Werte der Gemische wurden als Linearkombinationen dieser Werte berechnet.

Solvans	$\omega(\text{H}_2\text{O})$	$\epsilon_{RF}$	$\kappa_T$ [bar <sup>-1</sup> ]
Wasser	100,0	78,5	$4,524 \cdot 10^{-5}$
	82,8	72,9	$4,640 \cdot 10^{-5}$
	63,0	66,5	$4,774 \cdot 10^{-5}$
	46,0	61,0	$4,889 \cdot 10^{-5}$
	24,4	53,9	$5,035 \cdot 10^{-5}$
DMSO	0,0	46,0	$5,200 \cdot 10^{-5}$
<i>n</i> -Decan	–	1,991	$10,940 \cdot 10^{-5}$

### 5.2.3 Auswertung

Bei der Auswertung wurden im Wesentlichen folgende GROMACS-Befehle verwendet:

Befehl:	ausgegebene Größen:
- <code>g_bbond</code>	Anzahl der Wasserstoffbrückenbindungen
- <code>g_mindist</code>	Anzahl der Kontakte zwischen versch. Atomen
- <code>g_bond</code>	Atomabstände
- <code>g_angle</code>	Winkel, speziell Torsionswinkel
- <code>g_rmsdist</code>	RMSD der Atomabstände
- <code>g_energy</code>	kinetische und potenzielle Gesamtenergie, Wechselwirkungsenergien, Massendichten, Maße der Simulationsboxen
- <code>g_lie</code>	Schätzwerte der Gibbsenergie
- <code>g_sas</code>	molekulare Oberflächen

Bestimmte molekulare Deskriptoren wurden mit MOE<sup>[162]</sup> berechnet. Hierbei handelt es sich um die Van-der-Waals-Volumina von Wasser und DMSO (Deskriptor `vdw_vol`) sowie um die molekulare Oberfläche in Abbildung 3.3, welche das lipophile Potenzial auf Basis des Logarithmus des Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten<sup>[189]</sup> abbildet (Cutoff 1,5 Å).

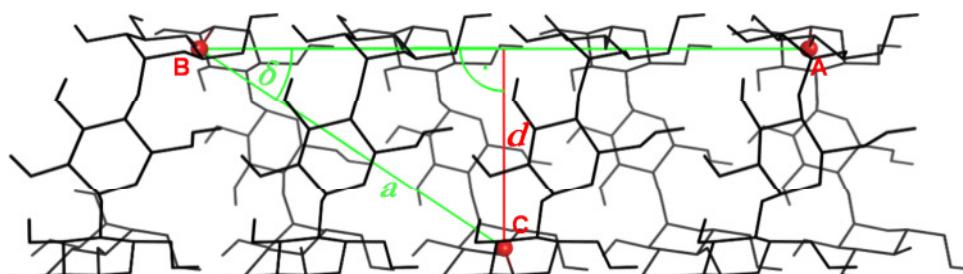
Für die Visualisierung und Darstellung der Ergebnisse sowie jegliches Bearbeiten von Graphiken kamen folgende Programme zum Einsatz:

Programm:	Verwendung:
- Symyx Draw	Molekülstrukturen
- VMD	Visualisierung
- MOE	Visualisierung
- HyperSnap	Bildbearbeitung
- MS PowerPoint	Bildbearbeitung
- MS Excel	Graphen, Tabellen, Kalkulationen
- XmGrace	Graphen
- SigmaPlot	Graphen

### 5.2.3.1 MD-Simulation in *n*-Decan

Zur Abschätzung der sich während der Simulation verändernden Helixganghöhe wurden die Abstände zwischen allen Paaren glycosidischer Sauerstoffatome gemessen, die sich in der idealen Ausgangsstruktur auf einer zur Schraubenachse parallelen Linie in zueinander benachbarten Helixwindungen befinden. Der angegebene Wert ist ein über alle Paare gemittelter Trajektorienmittelwert.

Die approximative Berechnung des Helixinnendurchmessers geschah mittels einer bereits in meiner Masterarbeit entwickelten geometrischen Methode<sup>[117]</sup>, da eine unmittelbare Messung nicht möglich war. Hierzu wurde in der idealen Ausgangsstruktur ein gedachtes Dreieck anhand glycosidischer Sauerstoffatome konstruiert, von denen zwei (A und B) auf derselben Seite und eines (C) auf der gegenüberliegenden Seite des Helixquerschnitts liegen (Abb. 5.2). In dem darin enthaltenen kleineren rechtwinkligen Dreieck ist der Sinus des Winkels  $\delta$ , den die Verbindungsgeraden zwischen A und B mit der Verbindungsgeraden  $a$  zwischen B und C einschließen, *per definitionem* das Verhältnis des Kanaldurchmessers  $d$  zur Strecke  $a$ . Von dem daraus errechenbaren Wert für  $d$  muss anschließend noch das Doppelte des Van-der-Waals-Radius eines Sauerstoffatoms ( $1,4 \text{ \AA}$ <sup>[190]</sup>) subtrahiert werden, um den tatsächlichen Innendurchmesser des Helixkanals zu erhalten. Für den Durchmesser ergibt sich somit der Ausdruck  $d = a \cdot \sin(\delta) - 2,8 \text{ \AA}$ . Die Werte von  $a$  und  $\delta$  wurden im Simulationsverlauf gemessen und darüber gemittelt, sodass für  $d$  ein Näherungswert berechnet werden konnte.



**Abb. 5.2** Prinzip der Bestimmung des Helixdurchmessers. Durch die Konstruktion des vermessbaren Dreiecks ABC anhand von drei glycosidischen Sauerstoffatomen (hervorgehoben) und unter Berücksichtigung des Van-der-Waals-Radius der beteiligten Sauerstoffatome kann der Helixinnendurchmesser über den Zusammenhang  $d = a \cdot \sin(\delta) - 2,8 \text{ \AA}$  berechnet werden.

### 5.2.3.2 MD-Simulationen in Wasser-DMSO-Gemischen

Zur zeitabhängigen Auswertung der von *g\_bbond* ausgegebenen Datenreihen der Zahl intramolekularer H-Brücken wurden diese im Programm Xmgrace mithilfe gleitender Mittelwerte geglättet, um ihre statistische Variation zu verringern. Dabei wurde mit Intervallen von 250 ps gearbeitet. Um auch die Daten im Startabschnitt der Simulation analysieren zu können, wurden im Simulationszeitfenster zwischen 0 und 0,05 ns Intervalle von 10 ps und zwischen 0,05 und 0,125 ns Intervalle von 100 ps verwendet. Beim Ablesen der erhaltenen Mittelwerte bestimmter Simulationszeitpunkte wurden Zwischenwerte zur nächsten ganzen Zahl gerundet. Ein Wert von 49,5 wurde also beispielsweise als 50 H-Brücken interpretiert.

### 5.2.3.3 MD-Simulationen der Einschluskomplexe

Um die Komplexsimulationen anhand der Theorie der Linear Interaction Energy auswerten zu können, wurden zunächst die durchschnittlichen Interaktionsenergien der freien Gastmoleküle mit dem jeweiligen Lösungsmittel(-Gemisch) mithilfe von *g\_energy* ausgegeben. Die erhaltenen Energieterme (Lennard-Jones- und elektrostatische Wechselwirkungen) wurden zusammen mit den jeweiligen Gewichtungsfaktoren  $\alpha$  und  $\beta$  im Rahmen des Befehls *g\_lie* an GROMACS übergeben, wo automatisch die Verrechnung mit den entsprechenden Komplexenergien gemäß Formel (3) stattfand.

Die explizite Berücksichtigung intramolekularer Wechselwirkungen des Liganden ist in *g\_lie* nicht vorgesehen. Um die Auswertung nach Formel (6) trotzdem mit diesem Befehl durchführen zu können, wurde zunächst manuell eine Komplexbildungsbilanz über die mittleren intramolekularen Wechselwirkungen des Liganden erstellt ( $\Delta\langle V^{vdW}_{L-L}\rangle = \langle V^{vdW}_{L-L}\rangle_{komplexiert} - \langle V^{vdW}_{L-L}\rangle_{frei}$ ,  $\Delta\langle V^{el}_{L-L}\rangle = \langle V^{el}_{L-L}\rangle_{komplexiert} - \langle V^{el}_{L-L}\rangle_{frei}$ ) und diese von den Lösungsmittel-Wechselwirkungen subtrahiert. Die dabei entstehenden modifizierten Interaktionsenergien der freien Gastmoleküle mit dem Lösungsmittel wurden dann wiederum an *g\_lie* übergeben.



## 6 Literaturverzeichnis

- [1] Lindhorst, T. K., Struktur und Funktion von Kohlenhydraten, *Chem. Unserer Zeit* **2000**, *34*, 38-52
- [2] Horton, D., The development of carbohydrate chemistry and biology in *Carbohydrate Chemistry, Biology and medical Applications*, H. G. Garg, M. K. Cowman, C. A. Hales, Washington: Elsevier Ltd., **2008**, 1-28
- [3] Bassham, J. A.; Benson, A. A.; Calvin, M., The Path of Carbon in Photosynthesis VIII. The Role of Malic Acid, *J. Biol. Chem.* **1950**, *185*, 781-787
- [4] Bassham, J. A., Mapping the Carbon Reduction Cycle: A Personal Retrospective, *Photosynth. Res.* **2003**, *76*, 35-52
- [5] Horton, H. R. et al., *Biochemie*, 4. Aufl., München: Pearson Education Deutschland GmbH, **2008**
- [6] Collins, P. M.; Ferrier, R. J., *Monosaccharides, Their Chemistry and Their Roles in Natural Products*, 1. Aufl., Chichester: John Wiley & Sons Ltd., **1995**
- [7] Blaschek, W. et al., *Polysaccharide*, 1. Aufl., Berlin: Springer-Verlag, **1991**
- [8] Stern, R.; Jedrzejas, M. J., Carbohydrate Polymers at the Center of Life's Origins: The Importance of Molecular Processivity, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 5061-5085
- [9] Hassid, W. Z.; McCready, R. M., The Molecular Constitution of Amylose and Amylopectin of Potato Starch, *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, *65*, 1157-1161
- [10] Lindhorst, T. K., *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 1. Aufl., Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, **2000**
- [11] Strübing, E., M. Porcius Cato, älteste Literaturquelle zur Geschichte der Stärke, *Starch - Stärke* **1965**, *17*, 58-60
- [12] Haase, N. U. et al., *Stärke und Stärkederivate*, 3. Aufl., Hamburg: Behr's Verlag, **2004**
- [13] Yamaguchi, M.; Kainuma, K.; French, A. D., Electron Microscopic Observations of Waxy Maize Starch, *J. Ultrastruct. Res.* **1979**, *69*, 249-261

- [14] Bule, A. et al., Starch granules : Structure and Biosynthesis, *Int. J. Biol. Macromol.* **1998**, *23*, 85-112
- [15] French, A. D., *Starch: Chemistry and Technology*, 1. Aufl., New York: Academic Press, **1984**
- [16] Borch, J.; Sarko, A.; Marchessault, R. H., Light Scattering Analysis of Starch Granules, *J. Colloid Interf. Sci.* **1972**, *41*, 574-587
- [17] Zhao, W. B., *Polymer Data Handbook*, Oxford University Press, **1999**
- [18] Baumann, B. et al., foodnews - Das aktuelle Magazin über Lebensmittel, Getränke und Ernährung ([http://www.foodnews.ch/x-plainmefood/20\\_lebensmittel/Staerke.html](http://www.foodnews.ch/x-plainmefood/20_lebensmittel/Staerke.html)), Zugriff am 8. September **2011**
- [19] Liu, Z., Starch: From Granules to Biomaterials, *Recent Res. Devel. Appl. Pol. Sci.* **2002**, *1*, 189-219
- [20] Sarko, A.; Zugenmaier, P., Crystal Structures of Amylose and Its Derivatives. A Review, *ACS Sym. Ser. Fiber Diffraction Methods* **1980**, *141*, 459-482
- [21] Imberty, A. et al., The Double-Helical Nature of the Crystalline Part of A-Starch, *J. Mol. Biol.* **1988**, *201*, 365-378
- [22] Immel, S., Organic Chemistry - Structures of Molecules (<http://csi.chemie.tu-darmstadt.de/ak/immel/misc/oc-scripts/tutorials.html>), Zugriff am 19. July **2011**
- [23] Imberty, A.; Pérez, S., A Revisit to the Three-dimensional Structure of B-Type Starch, *Biopolymers* **1988**, *27*, 1205-1221
- [24] Tomasik, P.; Schilling, C. H., Complexes of Starch with Inorganic Guests, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1998**, *53*, 263-343
- [25] Tomasik, P.; Schilling, C. H., Complexes of Starch with Organic Guests, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1998**, *53*, 345-426
- [26] Hanes, C. S., The Action of Amylases in Relation to the Structure of Starch and Its Metabolism in the Plant. Parts IV-VII, *New Phytol.* **1937**, *36*, 189-239
- [27] Freudenberg, K. et al., Neue Ansichten über die Stärke, *Naturwissenschaften* **1939**, *51*, 850-853
- [28] Rundle, R. E.; French, A. D., The Configuration of Starch in the Starch Iodine Complex. III. X-Ray Diffraction Studies of the Starch Iodine Complex, *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, *65*, 1707–1710

- [29] Rundle, R. E., The Configuration of Starch in the Starch-Iodine Complex. V. Fourier Projections from X-Ray Diagrams, *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 1769-1772
- [30] Bluhm, T. L.; Zugenmaier, P., Detailed Structure of the V<sub>h</sub>-Amylose-Iodine Complex. A Linear Polyiodine Chain, *Carbohydr. Res.* **1981**, *89*, 1-10
- [31] Nimz, O. et al., X-Ray Structure of the Cyclomaltohexaicosose Triiodide Inclusion Complex Provides a Model for Amylose-Iodine at Atomic Resolution, *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 977-986
- [32] Zaslow, B.; Murphy, V. G.; French, A. D., The V Amylose-H<sub>2</sub>O System: Structural Changes Resulting From Hydration, *Biopolymers* **1974**, *13*, 779-790
- [33] Winter, W. T.; Sarko, A., Crystal and Molecular Structure of V-Anhydrous Amylose, *Biopolymers* **1974**, *13*, 1447-1460
- [34] Zugenmaier, P.; Sarko, A., Packing Analysis of Carbohydrates and Polysaccharides. IV. A New Method for Detailed Crystal Structure Refinement of Polysaccharides and Its Application to V-Amylose, *Biopolymers* **1976**, *15*, 2121-2136
- [35] Rappenecker, G.; Zugenmaier, P., Detailed Refinement of the Crystal Structure of V<sub>h</sub>-Amylose, *Carbohydr. Res.* **1981**, *89*, 11-19
- [36] Rees, D. A., *Polysaccharide Shapes*, 1. Aufl., London: Chapman and Hall, **1977**
- [37] Bear, R. S., Complex Formation between Starch and Organic Molecules, *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, *66*, 2122-2123
- [38] Zaslow, B., Characterization of a Second Helical Amylose Modification, *Biopolymers* **1963**, *1*, 165-169
- [39] Nishiyama, Y. et al., Molecular and Crystal Structure of 7-Fold V-Amylose Complexed with 2-Propanol, *Macromolecules* **2010**, *43*, 8628-8636
- [40] Putaux, J.-L. et al., Helical Conformation in Crystalline Inclusion Complexes of V-Amylose: A Historical Perspective, *Macromol. Symp.* **2011**, *303*, 1-9
- [41] Yamashita, Y., Single Crystals of Amylose V Complexes. III. Crystals with 8<sub>1</sub> Helical Configuration, *J. Polym. Sci. Part A-2: Polymer Physics* **1971**, *9*, 1471-1481
- [42] Putaux, J.-L. et al., Single Crystals of V-Amylose Inclusion Complexes, *Macromol. Symp.* **2008**, *273*, 1-8

- [43] Oguchi, T. et al., Structural Change and Complexation of Strictly Linear Amylose Induced by Sealed-Heating with Salicylic Acid, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1998**, *94*, 923-927
- [44] Immel, S., Dissertation: *Computer Simulation of Chemical and Biological Properties of Saccharides: Sucrose, Fructose, Cyclodextrins, and Starch*, Technologische Universität Darmstadt, **1995**
- [45] French, A. D.; Zobel, H. F., X-Ray Diffraction of Oriented Amylose Fibers. I. Amylose-Dimethyl Sulfoxide Complex, *Biopolymers* **1967**, *5*, 457-464
- [46] Winter, W. T.; Sarko, A., Crystal and Molecular Structure of the Amylose-DMSO Complex, *Biopolymers* **1974**, *13*, 1461-1482
- [47] Rundle, R. E.; Edwards, F. C., The Configuration of Starch in the Starch-Iodine Complex. IV. An X-Ray Diffraction Investigation of Butanol-Precipitated Amylose, *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, *65*, 2200-2203
- [48] Yamashita, Y.; Hirai, N., Single Crystals of Amylose V Complexes. II. Crystals with  $\text{7}_1$  Helical Configuration, *J. Polym. Sci. Part A-2: Polymer Physics* **1966**, *4*, 161-171
- [49] Hulleman, S. H. D.; Helbert, W.; Chanzy, H., Single Crystals of V Amylose Complexed with Glycerol, *Int. J. Biol. Macromol.* **1996**, *18*, 115-122
- [50] Yamashita, Y.; Ryugo, J.; Monobe, K., An Electron Microscopic Study on Crystals of Amylose V Complexes, *J. Electron Microsc.* **1973**, *22*, 19-26
- [51] Simpson, T. D., X-Ray Diffraction of Ethylenediamine-Amylose Complex, *Biopolymers* **1970**, *9*, 1039-1047
- [52] Colin, J. J.; Claubry, H. G. de, Sur les combinaisons de l'iode avec les substances végétales et animales, *Ann. Chim.* **1814**, *90*, 87-100
- [53] Rundle, R. E.; Baldwin, R. R., The Configuration of Starch and the Starch Iodine Complex. I. The Dichroism of Flow of Starch Iodine Solutions, *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, *65*, 554-558
- [54] Rundle, R. E.; French, A. D., The Configuration of Starch and the Starch Iodine Complex. II. Optical Properties of Crystalline Starch Fractions, *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, *65*, 558-561
- [55] West, C. D., Structure-Optical Studies I. X-Ray Diffraction by Addition Compounds of Halogens with Hydrophilic Organic Polymers, *J. Chem. Phys.* **1947**, *15*, 689

- [56] Rundle, R. E., Halogen-Halogen Distances in Halogen- Polymer Complexes, *J. Chem. Phys.* **1947**, *15*, 880
- [57] Teitelbaum, R. C.; Ruby, S. L.; Marks, T. J., A Resonance Raman/Iodine Moessbauer Investigation of the Starch-Iodine Structure. Aqueous Solution and Iodine Vapor Preparations, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 3322-3328
- [58] Latte, B. et al., Resonance Raman Spectra and Crystal Structure of Lithium Phthalocyaninate(1-) Iodine: A Realistic Model for the Starch-Iodine Complex, *J. Porphyr. Phthalocya.* **1997**, *1*, 267-273
- [59] Minick, M.; Fotta, K.; Khan, A., Polyiodine Units in Starch-Iodine Complex: INDO CI Study of Spectra and Comparison with Experiments, *Biopolymers* **1991**, *31*, 57-63
- [60] Allen, T. L.; Keefer, R. M., The Formation of Hypoiodous Acid and Hydrated Iodine Cation by the Hydrolysis of Iodine, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 2957-2960
- [61] Kuge, T.; Ono, S., Amylose-Iodine Complex. II. Effects of Inorganic Salts, *B. Chem. Soc. Jpn.* **1960**, *33*, 1269-1272
- [62] Murdoch, K. A., The Amylose-Iodine Complex, *Carbohydr. Res.* **1992**, *233*, 161-174
- [63] Mould, D. L., Potentiometric and Spectrophotometric Studies of Complexes of Hydrolysis Products of Amylose with Iodine and Potassium Iodide, *Biochem. J.* **1954**, *58*, 593-600
- [64] Thoma, J. A.; French, A. D., The Starch-Iodine-Iodide Interaction. Part I. Spectrophotometric Investigations, *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *82*, 4144-4147
- [65] Tanaka, J., Color of the Iodine Starch Complex, *Kagaku Kyōkō* **1980**, *28*, 257-263
- [66] Gilbert, G. A.; Marriott, J. V. R., Starch-Iodine Complexes. Part I, *Trans. Faraday Soc.* **1948**, *44*, 84-93
- [67] Yu, X.; Houtman, C.; Atalla, R. H., The Complex of Amylose and Iodine, *Carbohydr. Res.* **1996**, *292*, 129-141
- [68] Cesàro, A.; Benegas, J. C.; Ripoll, D. R., Molecular Model of the Cooperative Amylose-Iodine-Triiodide Complex, *J. Phys. Chem.* **1986**, *90*, 2787-2791
- [69] Eliassaf, J.; Lewin, M., Interaction of Starch with Iodine, *Nature* **1964**, *201*, 1023-1024

- [70] Cramer, F., Über Einschlußverbindungen, II. Mitteil.: Die blauen Jodadditionsverbindungen organischer Moleküle, *Chem. Ber.* **1951**, *84*, 855-859
- [71] Saenger, W., The Structure of the Blue Starch-Iodine Complex, *Naturwissenschaften* **1984**, *71*, 31-36
- [72] Rundle, R. E.; Foster, J. F.; Baldwin, R. R., On the Nature of the Starch-Iodine Complex, *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, *66*, 2116-2120
- [73] Stein, R. S.; Rundle, R. E., On the Nature of the Interaction between Starch and Iodine, *J. Chem. Phys.* **1948**, *16*, 195-207
- [74] Murakami, H., Electronic Structure of the Amylose-Iodine Complex, *J. Chem. Phys.* **1954**, *22*, 367-374
- [75] Rossotti, H., Infrared Studies of Complexes of Iodine with Monohydric Alcohols and with Amylose, *J. Polym. Sci.* **1959**, *36*, 557-558
- [76] Swanson, M. A., Studies on the Structure of Polysaccharides. IV. Relation of the Iodine Color to the Structure, *J. Biol. Chem.* **1948**, *172*, 825-837
- [77] Takeo, K.; Tokumura, A.; Kuge, T., Complexes of Starch and Its Related Materials with Organic Compounds. Part. X. X-Ray Diffraction of Amylose-Fatty Acid Complexes, *Starch - Stärke* **1973**, *25*, 357-362
- [78] Schoch, T. J.; Williams, C. B., Adsorption of Fatty Acid by the Linear Component of Corn Starch, *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, *66*, 1232-1233
- [79] Mikus, F. F.; Hixon, R. M.; Rundle, R. E., The Complexes of Fatty Acids with Amylose, *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, *68*, 1115-1123
- [80] Nimz, O. et al., Inclusion Complexes of V-Amylose with Undecanoic Acid and Dodecanol at Atomic Resolution: X-Ray Structures with Cycloamylose containing 26 D-Glucoses (Cyclohexaicosose) as host, *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 1427-1437
- [81] Snape, C. E. et al., Solid State  $^{13}\text{C}$  NMR Investigation of Lipid Ligands in V-Amylose Inclusion Complexes, *Carbohydr. Polym.* **1998**, *36*, 225-237
- [82] Godet, M. C. et al., Structural Features of Fatty Acid-Amylose Complexes, *Carbohydr. Polym.* **1993**, *21*, 91-95
- [83] Godet, M. C. et al., Molecular Modelling of the Specific Interactions Involved in the Amylose Complexation by Fatty Acids, *Int. J. Biol. Macromol.* **1993**, *15*, 11-16

- [84] Otey, F. H.; Westhoff, R. P.; Doane, W. M., Starch-Based Blown Films, *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* **1980**, *19*, 592-595
- [85] Fanta, G. F.; Swanson, C. L.; Doane, W. M., Composites of Starch and Poly(ethylene-co-acrylic acid). Complexing between Polymeric Components, *J. Appl. Polym. Sci.* **1990**, *40*, 811-821
- [86] Shogren, R. L.; Greene, R. V.; Wu, Y. V., Complexes of Starch Polysaccharides and Poly(ethylene *co*-acrylic acid): Structure and Stability in Solution, *J. Appl. Polym. Sci.* **1991**, *42*, 1701-1709
- [87] Shogren, R. L., Complexes of Starch with Telechelic Poly( $\epsilon$ -caprolactone) Phosphate, *Carbohydr. Polym.* **1993**, *22*, 93-98
- [88] Kadokawa, J.-ichi et al., Synthesis of an Amylose-Polymer Inclusion Complex by Enzymatic Polymerization of Glucose 1-Phosphate Catalyzed by Phosphorylase Enzyme in the Presence of PolyTHF: A New Method for Synthesis of Polymer-Polymer Inclusion Complexes, *Chem. Commun.* **2001**, *39*, 449-450
- [89] Kadokawa, J.-ichi et al., Vine-Twining Polymerization : Amylose Twines around Polyethers to Form Amylose-Polyether Inclusion Complexes, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 3321-3326
- [90] Kadokawa, J.-ichi et al., Formation of an Amylose-Polyester Inclusion Complex by Means of Phosphorylase-Catalyzed Enzymatic Polymerization of  $\alpha$ -D-Glucose 1-Phosphate Monomer in the Presence of Poly( $\epsilon$ -caprolactone), *Macromolecules* **2001**, *34*, 6536-6538
- [91] Kadokawa, J.-ichi et al., Preparation of Inclusion Complexes between Amylose and Ester-Containing Polymers by Means of Vine-Twining Polymerization, *Macromol. Chem. Phys.* **2003**, *204*, 1451-1457
- [92] Kaneko, Y.; Beppu, K.; Kadokawa, J.-ichi, Preparation of Amylose/Polycarbonate Inclusion Complexes by Means of Vine-Twining Polymerization, *Macromol. Chem. Phys.* **2008**, *209*, 1037-1042
- [93] Kaneko, Y.; Kadokawa, J.-ichi, Vine-Twining Polymerization: A New Preparation Method for Well-Defined Supramolecules Composed of Amylose and Synthetic Polymers, *Chem. Rec.* **2005**, *5*, 36-46
- [94] Kaneko, Y.; Beppu, K.; Kadokawa, J.-ichi, Amylose Selectively Includes One from a Mixture of Two Resemblant Polyethers in Vine-Twining Polymerization, *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 2983-2985

- [95] Kaneko, Y. et al., Selectivity and Priority on Inclusion of Amylose toward Guest Polyethers and Polyesters in Vine-Twining Polymerization, *Polym. J.* **2009**, *41*, 279–286
- [96] Wulff, G.; Avgenaki, G.; Guzmann, M. S. P., Molecular Encapsulation of Flavours as Helical Inclusion Complexes of Amylose, *J. Cereal Sci.* **2005**, *41*, 239–249
- [97] Lalush, I. et al., Utilization of Amylose-Lipid Complexes as Molecular Nanocapsules for Conjugated Linoleic Acid, *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 121-130
- [98] Heinemann, C. et al., Influence of Amylose-Flavor Complexation on Build-up and Breakdown of Starch Structures in Aqueous Food Model Systems, *LWT-Food Sci. Tech.* **2005**, *38*, 885-894
- [99] Putseys, J. A.; Lamberts, L.; Delcour, J. A., Amylose-Inclusion Complexes: Formation, Identity and Physico-Chemical Properties, *J. Cereal Sci.* **2010**, *51*, 238-247
- [100] Shimon, E., Nanotechnology for Foods: Delivery Systems in *Global Issues in Food Science and Technology*, G. Barbosa-Cánovas et al., Amsterdam: Elsevier Inc., **2009**, 411-424
- [101] Nishino, S. et al., Application of Soluble Poly (phenylenevinylene) Wrapped in Amylose to Organic Light-Emitting Diodes, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **2007**, *471*, 29–38
- [102] Tamura, K.; Maeda, K.; Yashima, E., Chemical Modification of a Luminescent Poly(phenylenevinylene)-Amylose Composite, *Macromolecules* **2008**, *41*, 5065–5069
- [103] Frampton, M.; Claridge, T.; Latini, G., Amylose-Wrapped Luminescent Conjugated Polymers, *Chem. Commun.* **2008**, *4*, 2797-2799
- [104] Lehn, J.-M., *Supramolecular Chemistry*, 1. Aufl., Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft mbH, **1995**
- [105] van der Vlist, J.; Loos, K., Amylose and Amylopectin Hybrid Materials via Enzymatic Pathways, *Macromol. Symp.* **2007**, *254*, 54-61
- [106] Ziegast, G.; Pfannemüller, B., Linear and Star-Shaped Hybrid Polymers, 2. Coupling of Mono- and Oligosaccharides to  $\alpha,\omega$ -Diamino Substituted Poly(oxyethylene) and Multifunctional Amines by Amide Linkage, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1984**, *5*, 373 -379

- [107] Loos, K.; Stadler, R., Synthesis of Amylose-Block-Polystyrene Rod-Coil Block Copolymers, *Macromolecules* **1997**, *30*, 7641-7643
- [108] Loos, K.; Müller, A. H. E., New Routes to the Synthesis of Amylose-Block-Polystyrene Rod-Coil Block Copolymers, *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 368-373
- [109] Rachmawati, R.; Loos, K., Rijksuniversiteit Groningen, unveröffentlichte Ergebnisse, **2011**
- [110] van der Spoel, D. et al., GROMACS: Fast, Flexible, and Free, *J. Comput. Chem.* **2005**, *26*, 1701-1718
- [111] Hess, B. et al., GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation, *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, *4*, 435-447
- [112] Schuler, L. D.; Daura, X.; van Gunsteren, W. F.; An Improved GROMOS96 Force Field for Aliphatic Hydrocarbons in the Condensed Phase, *J. Comput. Chem.* **2001**, *22*, 1205-1218
- [113] Lins, R. D.; Hünenberger, P. H., A New GROMOS Force Field for Hexopyranose-Based Carbohydrates, *J. Comput. Chem.* **2005**, *26*, 1400-1412
- [114] Brisson, J.; Chanzy, H.; Winter, W. T., The Crystal and Molecular Structure of V<sub>H</sub> Amylose by Electron Diffraction Analysis, *Int. J. Biol. Macromol.* **1991**, *13*, 31-39
- [115] Immel, S.; Lichtenthaler, F. W., The Hydrophobic Topographies of Amylose and Its Blue Iodine Complex, *Starch - Stärke* **2000**, *52*, 1-8
- [116] Murphy, V. G.; Zaslow, B.; French, A. D., The Structure of V Amylose Dehydrate: A Combined X-Ray and Stereochemical Approach, *Biopolymers* **1975**, *14*, 1487-1501
- [117] Tusch, M., Masterarbeit: *Modellierung und Synthese von Einschluskomplexen aus Amylose und synthetischen Polymeren*, Universität Paderborn, **2007**
- [118] Tusch, M.; Krüger, J.; Fels, G., Structural Stability of V-Amylose Helices in Water-DMSO Mixtures Analyzed by Molecular Dynamics, *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, *7*, 2919-2928
- [119] Joint Commission on Biochemical Nomenclature, Symbols for Specifying the Conformation of Polysaccharide Chains, *Pure Appl. Chem.* **1983**, *55*, 1269-1272
- [120] Cheetham, N. W. H.; Tao, L., Amylose Conformational Transitions in Binary DMSO/Water Mixtures, *Carbohydr. Polym.* **1998**, *35*, 287-295

- [121] Jeffrey, G. A., *An Introduction to Hydrogen Bonding*, 1. Aufl., New York: Oxford University Press, **1997**
- [122] López, C. A. et al., Martini Coarse-Grained Force Field: Extension to Carbohydrates, *J. Chem. Theory Comput.* **2009**, *5*, 3195-3210
- [123] Alberts, B. et al., *Lehrbuch der Molekularen Zellbiologie*, 1. Aufl., Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, **1999**
- [124] Brant, D. A.; Dimpfl, W., A Theoretical Interpretation of the Aqueous Solution Properties of Amylose and Its Derivatives, *Macromolecules* **1970**, *3*, 655-664
- [125] Dintzis, F. R.; Tobin, R., Optical Rotation of some  $\alpha$ -1,4-linked Glucopyranosides in the System H<sub>2</sub>O-DMSO and Solution Conformation of Amylose, *Biopolymers* **1969**, *7*, 581-593
- [126] Elmgren, H., Helical Conformation of Amylose in Aqueous Solution. I. Viscosity Measurements, *Biopolymers* **1984**, *23*, 2525-2542
- [127] Jordan, R. C.; Brant, D. A.; Cesàro, A., A Monte Carlo Study of the Amylosic Chain Conformation, *Biopolymers* **1978**, *17*, 2617-2632
- [128] Gagnaire, D.; Pérez, S.; Tran, V., Configurational Statistics of Single Chains of  $\alpha$ -Linked Glucans, *Carbohydr. Polym.* **1982**, *2*, 171 - 191
- [129] Kitamura, S. et al., A Monte Carlo Study of the Excluded-Volume Effect on the Amylosic Chain Conformation, *Biopolymers* **1987**, *26*, 537-548
- [130] Everett, W.; Foster, J. F., The Conformation of Amylose in Dilute Solution, *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 3464-3469
- [131] Banks, W.; Greenwood, C. T., The Hydrodynamic Behaviour of Native Amylose in Good Solvents, *Carbohydr. Res.* **1968**, *7*, 414-420
- [132] Cowie, J. M. G., Studies on Amylose and Its Derivatives. Part I. Molecular Size and Configuration of Amylose Molecules in Various Solvents, *Makromol. Chem.* **1961**, *42*, 230-247
- [133] Fujii, M.; Honda, K.; Fujita, H., Dilute Solution of Amylose in Dimethylsulfoxide, *Biopolymers* **1973**, *12*, 1177-1195
- [134] Sugiyama, H. et al., The Conformation of  $\alpha$ -(1-->4)-Linked Glucose Oligomers from Maltose to Maltoheptaose and Short-Chain Amylose in Solution, *Carbohydr. Res.* **2000**, *325*, 177-182

- [135] Nakanishi, Y. et al., Conformation of Amylose in Dimethyl Sulfoxide, *Macromolecules* **1993**, *26*, 4220-4225
- [136] St-Jaques, M. et al., Nuclear Magnetic Resonance and Conformational Studies on Amylose and Model Compounds in Dimethyl Sulfoxide Solution, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 4386-4391
- [137] Peng, Q.-J.; Perlin, A. S., Observations on N.M.R. Spectra of Starches in Dimethyl Sulfoxide, Iodine-Complexing, and Solvation in Water-Dimethyl Sulfoxide, *Carbohydr. Res.* **1987**, *160*, 57-72
- [138] Pérez, S.; Vergelati, C., Solid State and Solution Features of Amylose and Amylosic Fragments, *Polym. Bull.* **1987**, *17*, 141-148
- [139] Geerke, D. P. et al., An Effective Force Field for Molecular Dynamics Simulations of Dimethyl Sulfoxide and Dimethyl Sulfoxide-Water Mixtures, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 1436-1445
- [140] Berendsen, H. J. C. et al., Interaction Models for Water in Relation to Protein Hydration in *Intermolecular Forces*, B. Pullman, Dordrecht: D. Reidel Publishing Company, **1981**, 331-342
- [141] Ferguson, D. M., Parameterization and Evaluation of a Flexible Water Model, *J. Comput. Chem.* **1995**, *16*, 501-511
- [142] Berendsen, H. J. C.; Grigera, J. R.; Straatsma, T. P., The Missing Term in Effective Pair Potentials, *J. Phys. Chem.* **1987**, *91*, 6269-6271
- [143] Jorgensen, W. L. et al., Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water, *J. Chem. Phys.* **1983**, *79*, 926-935
- [144] LeBel, R. G.; Goring, D. A. I., Density, Viscosity, Refractive Index, and Hygroscopicity of Mixtures of Water and Dimethyl Sulfoxide, *J. Chem. Eng. Data* **1962**, *7*, 100-101
- [145] van der Spoel, D. et al., Gromacs User Manual Version 4.5.4, **2010**, 213, 277
- [146] Cowie, J. M. G.; Toporowski, P. M. M., Association in the Binary Liquid System Dimethyl Sulphoxide - Water, *Can. J. Chem.* **1961**, *39*, 2240-2243
- [147] Glasel, J. A., Deuteron Magnetic Relaxation Studies on the Solution Properties of Some Denaturing Agents and Surfactants, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 372-5
- [148] Soper, A. K.; Luzar, A., A Neutron Diffraction Study of Dimethyl Sulphoxide-Water Mixtures, *J. Chem. Phys.* **1992**, *97*, 1320-1331

- [149] Soper, A. K.; Luzar, A., Orientation of Water Molecules around Small Polar and Nonpolar Groups in Solution: A Neutron Diffraction and Computer Simulation Study, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 1357-1367
- [150] Luzar, A.; Chandler, D., Structure and Hydrogen Bond Dynamics of Water-Dimethyl Sulfoxide Mixtures by Computer Simulations, *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 8160-8173
- [151] Vaisman, I. I.; Berkowitz, M. L., Local Structural Order and Molecular Associations in Water-DMSO Mixtures. Molecular Dynamics Study, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7889-7896
- [152] Borin, I. A.; Skaf, M. S., Molecular Association between Water and Dimethyl Sulfoxide in Solution: A Molecular Dynamics Simulation Study, *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 6412-6420
- [153] Erlander, S. R.; Tobin, R., The Stability of the Helix of Amylose and Amylopectin in DMSO and Water Solutions, *Makromol. Chem.* **1968**, *111*, 194-211
- [154] Saenger, W., Cyclodextrin-Einschlußverbindungen in Forschung und Industrie, *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 343-361
- [155] Rekharsky, M. V.; Inoue, Y., Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1875-1918
- [156] Kubik, S., Dissertation: *Charakterisierung von Amylosekomplexen und chemische Stabilisierung helikaler Strukturen der Amylose*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **1992**
- [157] Åqvist, J.; Medina, C.; Samuelsson, J.-E. E., A New Method for Predicting Binding Affinity in Computer-Aided Drug Design, *Protein Eng.* **1994**, *7*, 385-391
- [158] Åqvist, J.; Hansson, T., On the Validity of Electrostatic Linear Response in Polar Solvents, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 9512-9521
- [159] Hansson, T.; Marelius, J.; Åqvist, J., Ligand Binding Affinity Prediction by Linear Interaction Energy Methods, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1998**, *12*, 27-35
- [160] Almlöf, M.; Carlsson, J.; Åqvist, J., Improving the Accuracy of the Linear Interaction Energy Method for Solvation Free Energies, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 2162-2175
- [161] Conde-Petit, B.; Escher, F.; Nuessli, J., Structural Features of Starch-Flavor Complexation in Food Model Systems, *Trends Food Sci. Technol.* **2006**, *17*, 227-235

- [162] Chemical Computing Group Inc., *Molecular Operating Environment (MOE)* 2010.10, 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, **2010**
- [163] Ben-Naim, A.; Marcus, Y., Solvation Thermodynamics of Nonionic Solutes, *J. Chem. Phys.* **1984**, *81*, 2016-2027
- [164] Hermann, R. B., Theory of Hydrophobic Bonding. II. Correlation of Hydrocarbon Solubility in Water with Solvent Cavity Surface Area, *J. Phys. Chem.* **1972**, *76*, 2754–2759
- [165] Amidon, G. L. et al., Solubility of Nonelectrolytes in Polar Solvents. V. Estimation of the Solubility of Aliphatic Monofunctional Compounds in Water Using a Molecular Surface Area Approach, *J. Phys. Chem.* **1975**, *79*, 2239-2246
- [166] Born, M., Volumen und Hydratationswärme der Ionen, *Z. Phys.* **1920**, *1*, 45-48
- [167] Ljungberg, K. B. et al., Computational Modelling of Inhibitor Binding to Human Thrombin, *Eur. J. Pharm. Sci.* **2001**, *12*, 441-6
- [168] Ersmark, K. et al., C<sub>2</sub>-Symmetric Inhibitors of *Plasmodium falciparum* Plasmepepsin II: Synthesis and Theoretical Predictions, *Bioorgan. Med. Chem.* **2003**, *11*, 3723-3733
- [169] Almlöf, M.; Brandsdal, B. O.; Åqvist, J., Binding Affinity Prediction with Different Force Fields: Examination of the Linear Interaction Energy Method, *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1242-1254
- [170] Carlsson, J.; Åqvist, J., Calculations of Solute and Solvent Entropies from Molecular Dynamics Simulations, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8*, 5385-5395
- [171] Åqvist, J.; Marelius, J., The Linear Interaction Energy Method for Predicting Ligand Binding Free Energies, *Comb. Chem. High T. Str.* **2001**, *4*, 613-626
- [172] Brandsdal, B. O. et al., Free Energy Calculations and Ligand Binding, *Adv. Protein Chem.* **2003**, *66*, 123-158
- [173] Kaneko, Y.; Kadokawa, J.-ichi, Synthesis of Nanostructured Bio-Related Materials by Hybridization of Synthetic Polymers with Polysaccharides or Saccharide Residues, *J. Biomater. Sci. Polymer Edn* **2006**, *17*, 1269-1284
- [174] Carlsson, J.; Boukharta, L.; Åqvist, J., Combining Docking, Molecular Dynamics and the Linear Interaction Energy Method to Predict Binding Modes and Affinities for Non-Nucleoside Inhibitors to HIV-1 Reverse Transcriptase, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2648-2656

- [175] Hansen, H. S.; Hünenberger, P. H., A Reoptimized GROMOS Force Field for Hexopyranose-Based Carbohydrates Accounting for the Relative Free Energies of Ring Conformers, Anomers, Epimers, Hydroxymethyl Rotamers, and Glycosidic Linkage Conformers, *J. Comput. Chem.* **2011**, *32*, 998-1032
- [176] Gasteiger, J.; Engel, T., *Chemoinformatics*, 1. Aufl., Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, **2003**
- [177] Berman, H. M. et al., The Protein Data Bank, *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 235-242
- [178] Peña, M. D.; Tardajos, G., Isothermal Compressibilities of *n*-Alkanes and Benzene, *J. Chem. Thermodyn.* **1978**, *10*, 19-24
- [179] Stüker, O., Dissertation: *Kraftfeld-basierte Untersuchungen der Wechselwirkung von Liganden mit Cellulose-Oberflächen und Erstellung eines webbasierten Services zur interaktiven Berechnung von Reaktionsanimationen mehrstufiger organischer Reaktionen*, Universität Paderborn, **2008**
- [180] Schüttelkopf, A. W.; van Aalten, D. M. F., PRODRG - A Tool for High-Throughput Crystallography of Protein-Ligand Complexes, *Acta Crystallogr.* **2004**, *D60*, 1355-1363
- [181] van Gunsteren, W. F. et al., *Biomolecular Simulation: The GROMOS96 Manual and User Guide*, ETH Zürich: vdf Hochschulverlag, **1996**
- [182] van Gunsteren, W. F.; Berendsen, H. J. C., A Leap-Frog Algorithm for Stochastic Dynamics, *Mol. Sim.* **1988**, *1*, 173-185
- [183] Bussi, G.; Donadio, D.; Parrinello, M., Canonical Sampling through Velocity Rescaling, *J. Chem. Phys.* **2007**, *126*, 014101
- [184] Berendsen, H. J. C. et al., Molecular Dynamics with Coupling to an External Bath, *J. Chem. Phys.* **1984**, *81*, 3684-3690
- [185] Hess, B. et al., LINCS: A Linear Constraint Solver for Molecular Simulations, *J. Comput. Chem.* **1997**, *18*, 1463-1472
- [186] Acree, W. E. et al., *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 74. Aufl., London: CRC Press, Inc., **1994**
- [187] Riddick, J. A.; Bunger, W. B.; Sakand, T. K., *Organic Solvents: Physical Properties and Methods of Purification*, New York: John Wiley and Sons, **1986**
- [188] Kell, G. S., Precise Representation of Volume Properties of Water at One Atmosphere, *J. Chem. Eng. Data* **1967**, *12*, 66-69

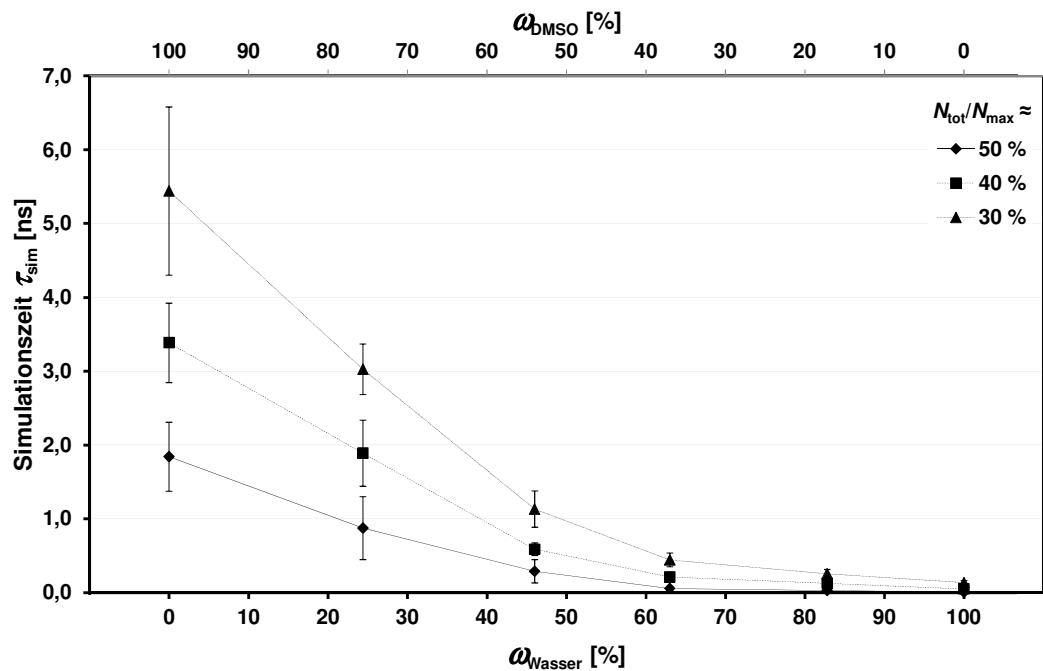
- [189] Wildman, S. A.; Crippen, G. M., Prediction of Physicochemical Parameters by Atomic Contributions, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1999**, *39*, 868-873
- [190] Fluck, E.; Heumann, K. G., *Periodensystem der Elemente*, 2. Aufl., Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, **1999**



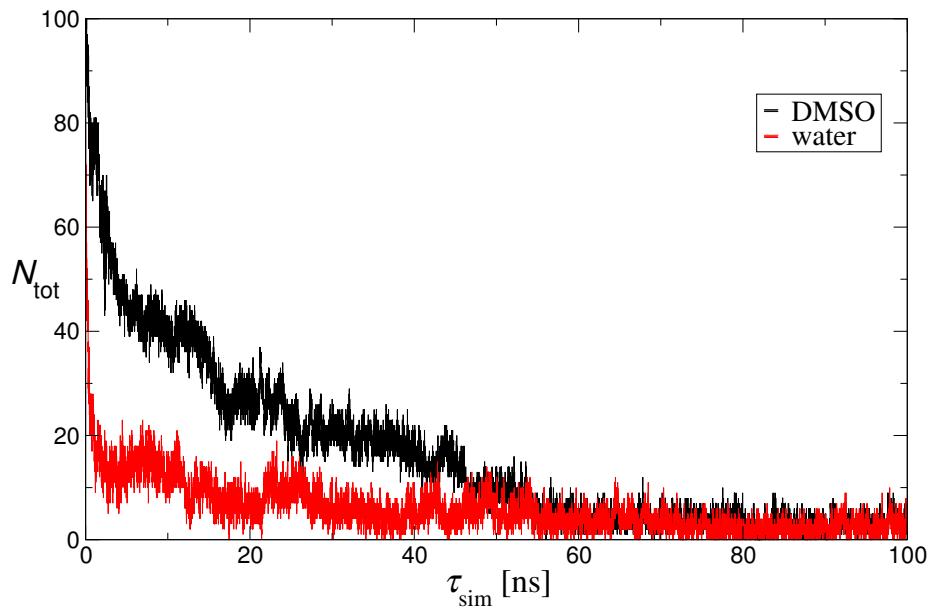
## Anhang

### A.1 Stabilität der Helixkonformation in Wasser-DMSO-Mischungen bei Verwendung des SPC-Modells

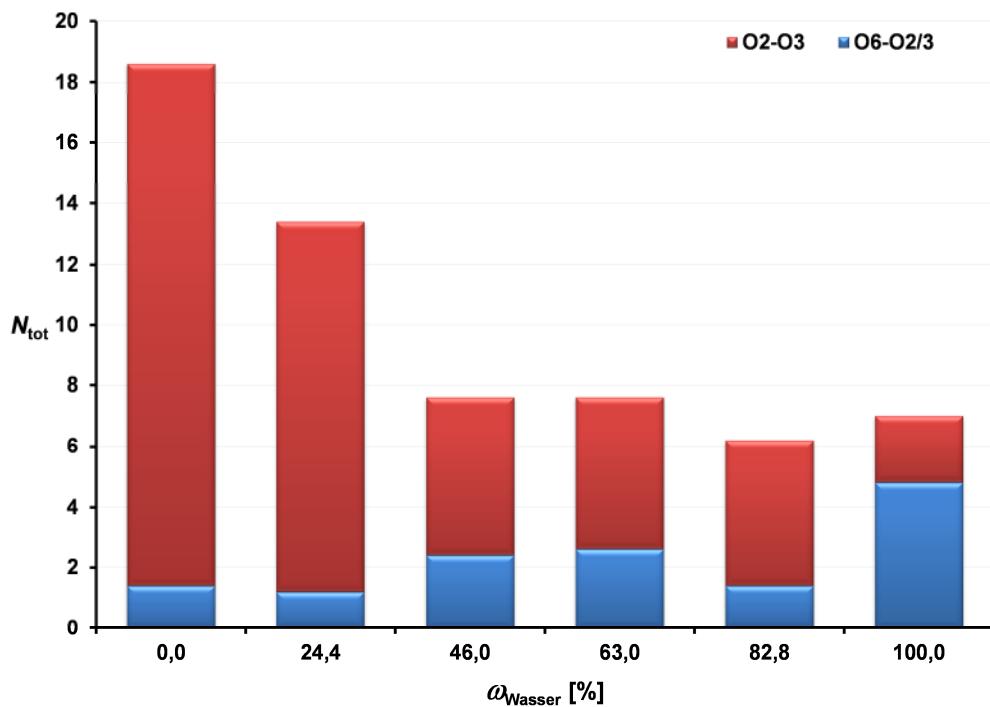
Alle Simulationen der Amylose in Abschnitt 3.2 wurden parallel auch unter Verwendung des SPC-Wassermodells anstelle des SPC/E-Modells durchgeführt, wobei sich jedoch in qualitativer Hinsicht keine abweichenden Aussagen ergaben. Der Vollständigkeit halber sind nachstehend noch einmal die wesentlichen dabei erhaltenen Ergebnisse abgebildet.



**Abb. A.1** Durchschnittliche Simulationsdauer, nach der sich  $N_{\text{tot}}$  auf Werte von ca. 50 %, 40 % und 30 % des Wertes  $N_{\text{max}}$  der idealen V-Amylosehelix reduziert hat, als Funktion der Lösungsmittelzusammensetzung



**Abb. A.2** Reduktion von  $N_{\text{tot}}$  in einer Simulationszeit  $\tau_{\text{sim}}$  von 100 ns in Wasser und DMSO



**Abb. A.3** Durchschnittliche Zahl der *Interturn-* und *Intraturn-H-Brücken* nach einer Simulationszeit von 25 ns *versus*  $\omega_{\text{Wasser}}$

## A.2 Topologien

### A.2.1 Amylose

Die Topologie der Amylose ist aus Platzgründen verkürzt dargestellt. Angegeben sind die Parameter der drei jeweils letzten Glucoseeinheiten an beiden Kettenenden.

```

;      Topologie fuer Amylose
;
;      Kette aus 55 Glucopyranose-Ringen
;
;      Total Charge = 0
;
;
;      Die Parameter wurden nach Vorlage von [1] erstellt.
;
; [1]    Lins, Hünenberger; J. Comput. Chem. 26: 1400-1412, 2005
;
;
;      2008/03/25 mtusch

; DEFINITIONS
; bonds      b_0   k_b
#define     glc_b_cc  0.1525.43E+06
#define     glc_b_co  0.1435      6.43E+06
#define     glc_b_oh  0.1      1.57E+07

; angles      th_0  k_th
#define     glc_a_ccc 109.5285
#define     glc_a_cco 109.5320
#define     glc_a_oco 109.5320
#define     glc_a_coc 109.5380
#define     glc_a_coh 109.5450

; improper      q0   cq
;     glc_imp      35.26439  0.102      (180/pi)^2  3282;80635
#define     glc_imp      35.26439  334.84625

[ moleculetype ]
;      Name nrexcl
GLC  3

[ atoms ]
;      nr      type    resnr   resid   atom    cgnr    charge    mass
      1       H        1       GLC     H1      1      0.4100    1.0080
      2       OA       1       GLC     O1      1      -0.5380   15.9994
      3      CH1      1       GLC     C1      1      0.2320   13.0190
      4       OA       1       GLC     O5      1      -0.4800   15.9994
      5      CH1      1       GLC     C5      1      0.3760   13.0190
      6      CH2      1       GLC     C6      2      0.2320   14.0270
      7       OA       1       GLC     O6      2      -0.6420   15.9994
      8       H        1       GLC     H6      2      0.4100    1.0080
      9      CH1      1       GLC     C2      3      0.2320   13.0190
     10      OA       1       GLC     O2      3      -0.6420   15.9994
     11       H       1       GLC     H2      3      0.4100    1.0080
     12      CH1      1       GLC     C3      4      0.2320   13.0190
     13      OA       1       GLC     O3      4      -0.6420   15.9994
     14       H       1       GLC     H3      4      0.4100    1.0080
     15      CH1      1       GLC     C4      5      0.2320   13.0190

```

16	OA	1	GLC	O4	5	-0.3600	15.9994
17	CH1	2	GLC	C1	5	0.2320	13.0190
18	OA	2	GLC	O5	5	-0.4800	15.9994
19	CH1	2	GLC	C5	5	0.3760	13.0190
20	CH2	2	GLC	C6	6	0.2320	14.0270
21	OA	2	GLC	O6	6	-0.6420	15.9994
22	H	2	GLC	H6	6	0.4100	1.0080
23	CH1	2	GLC	C2	7	0.2320	13.0190
24	OA	2	GLC	O2	7	-0.6420	15.9994
25	H	2	GLC	H2	7	0.4100	1.0080
26	CH1	2	GLC	C3	8	0.2320	13.0190
27	OA	2	GLC	O3	8	-0.6420	15.9994
28	H	2	GLC	H3	8	0.4100	1.0080
29	CH1	2	GLC	C4	9	0.2320	13.0190
30	OA	2	GLC	O4	9	-0.3600	15.9994
31	CH1	3	GLC	C1	9	0.2320	13.0190
32	OA	3	GLC	O5	9	-0.4800	15.9994
33	CH1	3	GLC	C5	9	0.3760	13.0190
34	CH2	3	GLC	C6	10	0.2320	14.0270
35	OA	3	GLC	O6	10	-0.6420	15.9994
36	H	3	GLC	H6	10	0.4100	1.0080
37	CH1	3	GLC	C2	11	0.2320	13.0190
38	OA	3	GLC	O2	11	-0.6420	15.9994
39	H	3	GLC	H2	11	0.4100	1.0080
40	CH1	3	GLC	C3	12	0.2320	13.0190
41	OA	3	GLC	O3	12	-0.6420	15.9994
42	H	3	GLC	H3	12	0.4100	1.0080
43	CH1	3	GLC	C4	13	0.2320	13.0190
44	OA	3	GLC	O4	13	-0.3600	15.9994
45	CH1	4	GLC	C1	13	0.2320	13.0190
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
730	OA	52	GLC	O4	209	-0.3600	15.9994
731	CH1	53	GLC	C1	209	0.2320	13.0190
732	OA	53	GLC	O5	209	-0.4800	15.9994
733	CH1	53	GLC	C5	209	0.3760	13.0190
734	CH2	53	GLC	C6	210	0.2320	14.0270
735	OA	53	GLC	O6	210	-0.6420	15.9994
736	H	53	GLC	H6	210	0.4100	1.0080
737	CH1	53	GLC	C2	211	0.2320	13.0190
738	OA	53	GLC	O2	211	-0.6420	15.9994
739	H	53	GLC	H2	211	0.4100	1.0080
740	CH1	53	GLC	C3	212	0.2320	13.0190
741	OA	53	GLC	O3	212	-0.6420	15.9994
742	H	53	GLC	H3	212	0.4100	1.0080
743	CH1	53	GLC	C4	213	0.2320	13.0190
744	OA	53	GLC	O4	213	-0.3600	15.9994
745	CH1	54	GLC	C1	213	0.2320	13.0190
746	OA	54	GLC	O5	213	-0.4800	15.9994
747	CH1	54	GLC	C5	213	0.3760	13.0190
748	CH2	54	GLC	C6	214	0.2320	14.0270
749	OA	54	GLC	O6	214	-0.6420	15.9994
750	H	54	GLC	H6	214	0.4100	1.0080
751	CH1	54	GLC	C2	215	0.2320	13.0190
752	OA	54	GLC	O2	215	-0.6420	15.9994
753	H	54	GLC	H2	215	0.4100	1.0080
754	CH1	54	GLC	C3	216	0.2320	13.0190
755	OA	54	GLC	O3	216	-0.6420	15.9994
756	H	54	GLC	H3	216	0.4100	1.0080
757	CH1	54	GLC	C4	217	0.2320	13.0190
758	OA	54	GLC	O4	217	-0.3600	15.9994
759	CH1	55	GLC	C1	217	0.2320	13.0190
760	OA	55	GLC	O5	217	-0.4800	15.9994
761	CH1	55	GLC	C5	217	0.3760	13.0190
762	CH2	55	GLC	C6	218	0.2320	14.0270
763	OA	55	GLC	O6	218	-0.6420	15.9994
764	H	55	GLC	H6	218	0.4100	1.0080
765	CH1	55	GLC	C2	219	0.2320	13.0190

```

    766   OA    55    GLC    O2    219   -0.6420  15.9994
    767   H     55    GLC    H2    219   0.4100  1.0080
    768   CH1   55    GLC    C3    220   0.2320  13.0190
    769   OA    55    GLC    O3    220   -0.6420  15.9994
    770   H     55    GLC    H3    220   0.4100  1.0080
    771   CH1   55    GLC    C4    221   0.2320  13.0190
    772   OA    55    GLC    O4    221   -0.6420  15.9994
    773   H     55    GLC    H4    221   0.4100  1.0080
; total Charge                                0.0000000

[ bonds ]
; ai    aj    fu    c0;  c1;  ...
; residue
    1    2    2    glc_b_oh ;    H1    O1
    2    3    2    glc_b_co ;    O1    C1
    3    4    2    glc_b_co ;    C1    O5
    4    5    2    glc_b_co ;    O5    C5
    5    6    2    glc_b_cc ;    C5    C6
    6    7    2    glc_b_co ;    C6    O6
    7    8    2    glc_b_oh ;    O6    H6
    9    3    2    glc_b_cc ;    C2    C1
    9    10   2    glc_b_co ;    C2    O2
    10   11   2    glc_b_oh ;    O2    H2
    12   9    2    glc_b_cc ;    C3    C2
    12   13   2    glc_b_co ;    C3    O3
    13   14   2    glc_b_oh ;    O3    H3
    15   5    2    glc_b_cc ;    C4    C5
    15   12   2    glc_b_cc ;    C4    C3
    16   15   2    glc_b_co ;    O4    C4

;connection
    16   17   2    glc_b_co ;    O4    C1

; residue
    17   18   2    glc_b_co ;    C1    O5
    18   19   2    glc_b_co ;    O5    C5
    19   20   2    glc_b_cc ;    C5    C6
    20   21   2    glc_b_co ;    C6    O6
    21   22   2    glc_b_oh ;    O6    H6
    23   17   2    glc_b_cc ;    C2    C1
    23   24   2    glc_b_co ;    C2    O2
    24   25   2    glc_b_oh ;    O2    H2
    26   23   2    glc_b_cc ;    C3    C2
    26   27   2    glc_b_co ;    C3    O3
    27   28   2    glc_b_oh ;    O3    H3
    29   19   2    glc_b_cc ;    C4    C5
    29   26   2    glc_b_cc ;    C4    C3
    30   29   2    glc_b_co ;    O4    C4

;connection
    30   31   2    glc_b_co ;    O4    C1

; residue
    31   32   2    glc_b_co ;    C1    O5
    32   33   2    glc_b_co ;    O5    C5
    33   34   2    glc_b_cc ;    C5    C6
    34   35   2    glc_b_co ;    C6    O6
    35   36   2    glc_b_oh ;    O6    H6
    37   31   2    glc_b_cc ;    C2    C1
    37   38   2    glc_b_co ;    C2    O2
    38   39   2    glc_b_oh ;    O2    H2
    40   37   2    glc_b_cc ;    C3    C2
    40   41   2    glc_b_co ;    C3    O3
    41   42   2    glc_b_oh ;    O3    H3
    43   33   2    glc_b_cc ;    C4    C5
    43   40   2    glc_b_cc ;    C4    C3
    44   43   2    glc_b_co ;    O4    C4

;connection
    44   45   2    glc_b_co ;    O4    C1
    .    .    .

```

```

. . .
. . .
. . .
. . .

730 731 2 glc_b_co ; O4 C1

; residue
731 732 2 glc_b_co ; C1 O5
732 733 2 glc_b_co ; O5 C5
733 734 2 glc_b_cc ; C5 C6
734 735 2 glc_b_co ; C6 O6
735 736 2 glc_b_oh ; O6 H6
737 731 2 glc_b_cc ; C2 C1
737 738 2 glc_b_co ; C2 O2
738 739 2 glc_b_oh ; O2 H2
740 737 2 glc_b_cc ; C3 C2
740 741 2 glc_b_co ; C3 O3
741 742 2 glc_b_oh ; O3 H3
743 733 2 glc_b_cc ; C4 C5
743 740 2 glc_b_cc ; C4 C3
744 743 2 glc_b_co ; O4 C4

;connection
744 745 2 glc_b_co ; O4 C1

; residue
745 746 2 glc_b_co ; C1 O5
746 747 2 glc_b_co ; O5 C5
747 748 2 glc_b_cc ; C5 C6
748 749 2 glc_b_co ; C6 O6
749 750 2 glc_b_oh ; O6 H6
751 745 2 glc_b_cc ; C2 C1
751 752 2 glc_b_co ; C2 O2
752 753 2 glc_b_oh ; O2 H2
754 751 2 glc_b_cc ; C3 C2
754 755 2 glc_b_co ; C3 O3
755 756 2 glc_b_oh ; O3 H3
757 747 2 glc_b_cc ; C4 C5
757 754 2 glc_b_cc ; C4 C3
758 757 2 glc_b_co ; O4 C4

;connection
758 759 2 glc_b_co ; O4 C1

; residue
759 760 2 glc_b_co ; C1 O5
760 761 2 glc_b_co ; O5 C5
761 762 2 glc_b_cc ; C5 C6
762 763 2 glc_b_co ; C6 O6
763 764 2 glc_b_oh ; O6 H6
765 759 2 glc_b_cc ; C2 C1
765 766 2 glc_b_co ; C2 O2
766 767 2 glc_b_oh ; O2 H2
768 765 2 glc_b_cc ; C3 C2
768 769 2 glc_b_co ; C3 O3
769 770 2 glc_b_oh ; O3 H3
771 761 2 glc_b_cc ; C4 C5
771 768 2 glc_b_cc ; C4 C3
772 771 2 glc_b_co ; O4 C4
772 773 2 glc_b_oh ; O4 H4

[ pairs ]
; ai aj fu c0; c1; ...
; residue
1 4 1 ; H1 O5
1 9 1 ; H1 C2
2 5 1 ; O1 C5
2 10 1 ; O1 O2
2 12 1 ; O1 C3

```

```

3   6   1   ;   C1   C6
4   7   1   ;   O5   O6
5   8   1   ;   C5   H6
9   5   1   ;   C2   C5
10  4   1   ;   O2   O5
11  3   1   ;   H2   C1
12  4   1   ;   C3   O5
12  6   1   ;   C3   C6
12  11  1   ;   C3   H2
13  3   1   ;   O3   C1
13  5   1   ;   O3   C5
13  10  1   ;   O3   O2
14  9   1   ;   H3   C2
15  3   1   ;   C4   C1
15  7   1   ;   C4   O6
15  10  1   ;   C4   O2
15  14  1   ;   C4   H3
16  4   1   ;   O4   O5
16  6   1   ;   O4   C6
16  9   1   ;   O4   C2
16  13  1   ;   O4   O3

;connection
5   17  1   ;   C5   C1+
12  17  1   ;   C3   C1+
15  18  1   ;   C4   O5+
15  23  1   ;   C4   C2+
16  19  1   ;   O4   C5+
16  24  1   ;   O4   O2+
16  26  1   ;   O4   C3+

; residue
17  20  1   ;   C1   C6
18  21  1   ;   O5   O6
19  22  1   ;   C5   H6
23  19  1   ;   C2   C5
24  18  1   ;   O2   O5
25  17  1   ;   H2   C1
26  18  1   ;   C3   O5
26  20  1   ;   C3   C6
26  25  1   ;   C3   H2
27  17  1   ;   O3   C1
27  19  1   ;   O3   C5
27  24  1   ;   O3   O2
28  23  1   ;   H3   C2
29  17  1   ;   C4   C1
29  21  1   ;   C4   O6
29  24  1   ;   C4   O2
29  28  1   ;   C4   H3
30  18  1   ;   O4   O5
30  20  1   ;   O4   C6
30  23  1   ;   O4   C2
30  27  1   ;   O4   O3

;connection
19  31  1   ;   C5   C1+
26  31  1   ;   C3   C1+
29  32  1   ;   C4   O5+
29  37  1   ;   C4   C2+
30  33  1   ;   O4   C5+
30  38  1   ;   O4   O2+
30  40  1   ;   O4   C3+

; residue
31  34  1   ;   C1   C6
32  35  1   ;   O5   O6
33  36  1   ;   C5   H6
37  33  1   ;   C2   C5
38  32  1   ;   O2   O5
39  31  1   ;   H2   C1
40  32  1   ;   C3   O5

```

```

40  34   1   ;    C3   C6
40  39   1   ;    C3   H2
41  31   1   ;    O3   C1
41  33   1   ;    O3   C5
41  38   1   ;    O3   O2
42  37   1   ;    H3   C2
43  31   1   ;    C4   C1
43  35   1   ;    C4   O6
43  38   1   ;    C4   O2
43  42   1   ;    C4   H3
44  32   1   ;    O4   O5
44  34   1   ;    O4   C6
44  37   1   ;    O4   C2
44  41   1   ;    O4   O3

;connection
33  45   1   ;    C5   C1+
40  45   1   ;    C3   C1+
43  46   1   ;    C4   O5+
43  51   1   ;    C4   C2+
44  47   1   ;    O4   C5+
44  52   1   ;    O4   O2+
44  54   1   ;    O4   C3+
.
.
.
.
.
.

;connection
737 731 730 2  glc_a_cco ;  C2+  C1+  O4
732 731 730 2  glc_a_oco ;  O5+  C1+  O4
731 730 729 2  glc_a_coc ;  C1+  O4  C4

;residue
731 732 733 2  glc_a_coc ;  C1   O5  C5
732 733 734 2  glc_a_cco ;  O5   C5  C6
733 734 735 2  glc_a_cco ;  C5   C6  O6
734 735 736 2  glc_a_coh ;  C6   O6  H6
737 731 732 2  glc_a_cco ;  C2   C1  O5
737 738 739 2  glc_a_coh ;  C2   O2  H2
738 737 731 2  glc_a_cco ;  O2   C2  C1
740 737 731 2  glc_a_ccc ;  C3   C2  C1
740 737 738 2  glc_a_cco ;  C3   C2  O2
740 741 742 2  glc_a_coh ;  C3   O3  H3
740 743 733 2  glc_a_ccc ;  C3   C4  C5
741 740 737 2  glc_a_cco ;  O3   C3  C2
743 733 732 2  glc_a_cco ;  C4   C5  O5
743 733 734 2  glc_a_ccc ;  C4   C5  C6
743 740 737 2  glc_a_ccc ;  C4   C3  C2
743 740 741 2  glc_a_cco ;  C4   C3  O3
744 743 733 2  glc_a_cco ;  O4   C4  C5
744 743 740 2  glc_a_cco ;  O4   C4  C3

;connection
751 745 744 2  glc_a_cco ;  C2+  C1+  O4
746 745 744 2  glc_a_oco ;  O5+  C1+  O4
745 744 743 2  glc_a_coc ;  C1+  O4  C4

;residue
745 746 747 2  glc_a_coc ;  C1   O5  C5
746 747 748 2  glc_a_cco ;  O5   C5  C6
747 748 749 2  glc_a_cco ;  C5   C6  O6
748 749 750 2  glc_a_coh ;  C6   O6  H6
751 745 746 2  glc_a_cco ;  C2   C1  O5
751 752 753 2  glc_a_coh ;  C2   O2  H2
752 751 745 2  glc_a_cco ;  O2   C2  C1
754 751 745 2  glc_a_ccc ;  C3   C2  C1
754 751 752 2  glc_a_cco ;  C3   C2  O2
754 755 756 2  glc_a_coh ;  C3   O3  H3
754 757 747 2  glc_a_ccc ;  C3   C4  C5
755 754 751 2  glc_a_cco ;  O3   C3  C2

```

```

    757  747  746  2      glc_a_cco ;      C4      C5      O5
    757  747  748  2      glc_a_ccc ;      C4      C5      C6
    757  754  751  2      glc_a_ccc ;      C4      C3      C2
    757  754  755  2      glc_a_cco ;      C4      C3      O3
    758  757  747  2      glc_a_cco ;      O4      C4      C5
    758  757  754  2      glc_a_cco ;      O4      C4      C3

;connection
    765  759  758  2      glc_a_cco ;      C2+    C1+    O4
    760  759  758  2      glc_a_oco ;      O5+    C1+    O4
    759  758  757  2      glc_a_coc ;      C1+    O4      C4

;residue
    759  760  761  2      glc_a_coc ;      C1      O5      C5
    760  761  762  2      glc_a_cco ;      O5      C5      C6
    761  762  763  2      glc_a_cco ;      C5      C6      O6
    762  763  764  2      glc_a_coh ;      C6      O6      H6
    765  759  760  2      glc_a_cco ;      C2      C1      O5
    765  766  767  2      glc_a_coh ;      C2      O2      H2
    766  765  759  2      glc_a_cco ;      O2      C2      C1
    768  765  759  2      glc_a_ccc ;      C3      C2      C1
    768  765  766  2      glc_a_cco ;      C3      C2      O2
    768  769  770  2      glc_a_coh ;      C3      O3      H3
    768  771  761  2      glc_a_ccc ;      C3      C4      C5
    769  768  765  2      glc_a_cco ;      O3      C3      C2
    771  761  760  2      glc_a_cco ;      C4      C5      O5
    771  761  762  2      glc_a_ccc ;      C4      C5      C6
    771  768  765  2      glc_a_ccc ;      C4      C3      C2
    771  768  769  2      glc_a_cco ;      C4      C3      O3
    772  771  761  2      glc_a_cco ;      O4      C4      C5
    772  771  768  2      glc_a_cco ;      O4      C4      C3
    771  772  773  2      glc_a_coh ;      C4      O4      H4

[ dihedrals ]
; improper
; ai   aj   ak   al   fu   c0; c1
;residue
    3     4     2     9     2      glc_imp ; imp C1      O5
    9    10    12     3     2      glc_imp ; imp C2      O2
   12    13     9    15     2      glc_imp ; imp C3      O3
   15    12    16     5     2      glc_imp ; imp C4      C3
    5     4     6    15     2      glc_imp ; imp C5      O5

;connection
    17    18    16    23     2      glc_imp ; imp C1+    O5+
;residue
    23    24    26    17     2      glc_imp ; imp C2      O2
    26    27    23    29     2      glc_imp ; imp C3      O3
    29    26    30    19     2      glc_imp ; imp C4      C3
    19    18    20    29     2      glc_imp ; imp C5      O5

;connection
    31    32    30    37     2      glc_imp ; imp C1+    O5+
;residue
    37    38    40    31     2      glc_imp ; imp C2      O2
    40    41    37    43     2      glc_imp ; imp C3      O3
    43    40    44    33     2      glc_imp ; imp C4      C3
    33    32    34    43     2      glc_imp ; imp C5      O5

;connection
    45    46    44    51     2      glc_imp ; imp C1+    O5+
    .     .     .     .     .
    .     .     .     .     .
    .     .     .     .     .
    .     .     .     .     .

;connection
    731   732   730   737    2      glc_imp ; imp C1+    O5+

```

```

;residue
    737 738 740 731 2     glc_imp          ; imp C2   O2
    740 741 737 743 2     glc_imp          ; imp C3   O3
    743 740 744 733 2     glc_imp          ; imp C4   C3
    733 732 734 743 2     glc_imp          ; imp C5   O5
;connection
    745 746 744 751 2     glc_imp          ; imp C1+  O5+
;residue
    751 752 754 745 2     glc_imp          ; imp C2   O2
    754 755 751 757 2     glc_imp          ; imp C3   O3
    757 754 758 747 2     glc_imp          ; imp C4   C3
    747 746 748 757 2     glc_imp          ; imp C5   O5
;connection
    759 760 758 765 2     glc_imp          ; imp C1+  O5+
;residue
    765 766 768 759 2     glc_imp          ; imp C2   O2
    768 769 765 771 2     glc_imp          ; imp C3   O3
    771 768 772 761 2     glc_imp          ; imp C4   C3
    761 760 762 771 2     glc_imp          ; imp C5   O5

; proper
;residue
    4   3   2   1   1   0   3.650   3   ; dih   O5-C1-O1-H1
    4   3   2   1   1   180  9.450   1   ; dih   O5-C1-O1-H1
    9   3   4   5   1   0   3.770   3   ; dih   C2-C1-O5-C5
   15   5   4   3   1   0   3.770   3   ; dih   C4-C5-O5-C1
    3   9   12  15  1   0   5.920   3   ; dih   C1-C2-C3-C4
    9   12  15  5   1   0   5.920   3   ; dih   C2-C3-C4-C5
   12   9   3   4   1   0   5.920   3   ; dih   C3-C2-C1-O5
   12   15  5   4   1   0   5.920   3   ; dih   C3-C4-C5-O5
   10   9   12  13  1   0   2.090   2   ; dih   O2-C2-C3-O3
   13   12  15  16  1   0   2.090   2   ; dih   O3-C3-C4-O4
   15   12  9   10  1   0   0.418   2   ; dih   C4-C3-C2-O2
    3   9   12  13  1   0   0.418   2   ; dih   C1-C2-C3-O3
    5   15  12  13  1   0   0.418   2   ; dih   C5-C4-C3-O3
    9   12  15  16  1   0   0.418   2   ; dih   C2-C3-C4-O4
    6   5   15  16  1   0   0.418   2   ; dih   C6-C5-C4-O4
   12   9   3   4   1   0   0.418   2   ; dih   C3-C2-C1-O5
   12   15  5   4   1   0   0.418   2   ; dih   C3-C4-C5-O5
    4   5   6   7   1   0   9.500   3   ; dih   O5-C5-C6-O6_a(w~)
    4   5   6   7   1   180  9.350   1   ; dih   O5-C5-C6-O6_a(w~)
    3   9   10  11  1   0   3.900   3   ; dih   C1-C2-O2-H2_(x2)
    9   12  13  14  1   0   3.900   3   ; dih   C2-C3-O3-H3_(x3)
    5   6   7   8   1   0   3.900   3   ; dih   C5-C6-O6-H6_(x6)

;connection
    12   15  16  17  1   0   3.900   3   ; dih   C3-C4-O4-C1* C3-C4-O4-H4_(x4)
    16   17  23  24  1   0   2.090   2   ; dih   O4 -C1*-C2*-O2* O1-C1-C2-O2
    26   23  17  16  1   0   0.418   2   ; dih   C3*-C2*-C1*-O4 C3-C2-C1-O1
    18   17  16  15  1   0   3.650   3   ; dih   O5*-C1*-O4 -C4 O5-C1-O1-H1;C_c_(p)
    18   17  16  15  1   180  9.450   1   ; dih   O5*-C1*-O4 -C4 O5-C1-O1-H1;C_c_(p)

;residue
    23   17  18  19  1   0   3.770   3   ; dih   C2-C1-O5-C5
    29   19  18  17  1   0   3.770   3   ; dih   C4-C5-O5-C1
    17   23  26  29  1   0   5.920   3   ; dih   C1-C2-C3-C4
    23   26  29  19  1   0   5.920   3   ; dih   C2-C3-C4-C5
    26   23  17  18  1   0   5.920   3   ; dih   C3-C2-C1-O5
    26   29  19  18  1   0   5.920   3   ; dih   C3-C4-C5-O5
    24   23  26  27  1   0   2.090   2   ; dih   O2-C2-C3-O3
    27   26  29  30  1   0   2.090   2   ; dih   O3-C3-C4-O4
    29   26  23  24  1   0   0.418   2   ; dih   C4-C3-C2-O2
    17   23  26  27  1   0   0.418   2   ; dih   C1-C2-C3-O3
    19   29  26  27  1   0   0.418   2   ; dih   C5-C4-C3-O3
    23   26  29  30  1   0   0.418   2   ; dih   C2-C3-C4-O4
    20   19  29  30  1   0   0.418   2   ; dih   C6-C5-C4-O4

```

```

26 23 17 18 1 0 0.418 2 ; dih C3-C2-C1-05
26 29 19 18 1 0 0.418 2 ; dih C3-C4-C5-05
18 19 20 21 1 0 9.500 3 ; dih O5-C5-C6-06_a(w~)
18 19 20 21 1 180 9.350 1 ; dih O5-C5-C6-06_a(w~)
17 23 24 25 1 0 3.900 3 ; dih C1-C2-O2-H2_(x2)
23 26 27 28 1 0 3.900 3 ; dih C2-C3-O3-H3_(x3)
19 20 21 22 1 0 3.900 3 ; dih C5-C6-O6-H6_(x6)

;connection
26 29 30 31 1 0 3.900 3 ; dih C3 -C4 -O4 -C1*
30 31 37 38 1 0 2.090 2 ; dih O4 -C1*-C2*-O2*
40 37 31 30 1 0 0.418 2 ; dih C3*-C2*-C1*-O4
32 31 30 29 1 0 3.650 3 ; dih O5*-C1*-O4 -C4
32 31 30 29 1 180 9.450 1 ; dih O5*-C1*-O4 -C4

;residue
37 31 32 33 1 0 3.770 3 ; dih C2-C1-O5-C5
43 33 32 31 1 0 3.770 3 ; dih C4-C5-O5-C1
31 37 40 43 1 0 5.920 3 ; dih C1-C2-C3-C4
37 40 43 33 1 0 5.920 3 ; dih C2-C3-C4-C5
40 37 31 32 1 0 5.920 3 ; dih C3-C2-C1-05
40 43 33 32 1 0 5.920 3 ; dih C3-C4-C5-05
38 37 40 41 1 0 2.090 2 ; dih O2-C2-C3-O3
41 40 43 44 1 0 2.090 2 ; dih O3-C3-C4-O4
43 40 37 38 1 0 0.418 2 ; dih C4-C3-C2-O2
31 37 40 41 1 0 0.418 2 ; dih C1-C2-C3-O3
33 43 40 41 1 0 0.418 2 ; dih C5-C4-C3-O3
37 40 43 44 1 0 0.418 2 ; dih C2-C3-C4-O4
34 33 43 44 1 0 0.418 2 ; dih C6-C5-C4-O4
40 37 31 32 1 0 0.418 2 ; dih C3-C2-C1-05
40 43 33 32 1 0 0.418 2 ; dih C3-C4-C5-05
32 33 34 35 1 0 9.500 3 ; dih O5-C5-C6-06_a(w~)
32 33 34 35 1 180 9.350 1 ; dih O5-C5-C6-06_a(w~)
31 37 38 39 1 0 3.900 3 ; dih C1-C2-O2-H2_(x2)
37 40 41 42 1 0 3.900 3 ; dih C2-C3-O3-H3_(x3)
33 34 35 36 1 0 3.900 3 ; dih C5-C6-O6-H6_(x6)

;connection
40 43 44 45 1 0 3.900 3 ; dih C3 -C4 -O4 -C1*
44 45 51 52 1 0 2.090 2 ; dih O4 -C1*-C2*-O2*
54 51 45 44 1 0 0.418 2 ; dih C3*-C2*-C1*-O4
46 45 44 43 1 0 3.650 3 ; dih O5*-C1*-O4 -C4
46 45 44 43 1 180 9.450 1 ; dih O5*-C1*-O4 -C4
. . . . . . . .
. . . . . . . .
. . . . . . . .
. . . . . . . .
. . . . . . . .

;connection
726 729 730 731 1 0 3.900 3 ; dih C3 -C4 -O4 -C1*
730 731 737 738 1 0 2.090 2 ; dih O4 -C1*-C2*-O2*
740 737 731 730 1 0 0.418 2 ; dih C3*-C2*-C1*-O4
732 731 730 729 1 0 3.650 3 ; dih O5*-C1*-O4 -C4
732 731 730 729 1 180 9.450 1 ; dih O5*-C1*-O4 -C4

;residue
737 731 732 733 1 0 3.770 3 ; dih C2-C1-O5-C5
743 733 732 731 1 0 3.770 3 ; dih C4-C5-O5-C1
731 737 740 743 1 0 5.920 3 ; dih C1-C2-C3-C4
737 740 743 733 1 0 5.920 3 ; dih C2-C3-C4-C5
740 737 731 732 1 0 5.920 3 ; dih C3-C2-C1-05
740 743 733 732 1 0 5.920 3 ; dih C3-C4-C5-05
738 737 740 741 1 0 2.090 2 ; dih O2-C2-C3-O3
741 740 743 744 1 0 2.090 2 ; dih O3-C3-C4-O4
743 740 737 738 1 0 0.418 2 ; dih C4-C3-C2-O2
731 737 740 741 1 0 0.418 2 ; dih C1-C2-C3-O3
733 743 740 741 1 0 0.418 2 ; dih C5-C4-C3-O3
737 740 743 744 1 0 0.418 2 ; dih C2-C3-C4-O4
734 733 743 744 1 0 0.418 2 ; dih C6-C5-C4-O4
740 737 731 732 1 0 0.418 2 ; dih C3-C2-C1-05
740 743 733 732 1 0 0.418 2 ; dih C3-C4-C5-05

```

```

732 733 734 735 1 0 9.500 3 ; dih O5-C5-C6-O6_a(w~)
732 733 734 735 1 180 9.350 1 ; dih O5-C5-C6-O6_a(w~)
731 737 738 739 1 0 3.900 3 ; dih C1-C2-O2-H2_(x2)
737 740 741 742 1 0 3.900 3 ; dih C2-C3-O3-H3_(x3)
733 734 735 736 1 0 3.900 3 ; dih C5-C6-O6-H6_(x6)
;connection
740 743 744 745 1 0 3.900 3 ; dih C3 -C4 -O4 -C1*
744 745 751 752 1 0 2.090 2 ; dih O4 -C1*-C2*-O2*
754 751 745 744 1 0 0.418 2 ; dih C3*-C2*-C1*-O4
746 745 744 743 1 0 3.650 3 ; dih O5*-C1*-O4 -C4
746 745 744 743 1 180 9.450 1 ; dih O5*-C1*-O4 -C4

;residue
751 745 746 747 1 0 3.770 3 ; dih C2-C1-O5-C5
757 747 746 745 1 0 3.770 3 ; dih C4-C5-O5-C1
745 751 754 757 1 0 5.920 3 ; dih C1-C2-C3-C4
751 754 757 747 1 0 5.920 3 ; dih C2-C3-C4-C5
754 751 745 746 1 0 5.920 3 ; dih C3-C2-C1-O5
754 757 747 746 1 0 5.920 3 ; dih C3-C4-C5-O5
752 751 754 755 1 0 2.090 2 ; dih O2-C2-C3-O3
755 754 757 758 1 0 2.090 2 ; dih O3-C3-C4-O4
757 754 751 752 1 0 0.418 2 ; dih C4-C3-C2-O2
745 751 754 755 1 0 0.418 2 ; dih C1-C2-C3-O3
747 757 754 755 1 0 0.418 2 ; dih C5-C4-C3-O3
751 754 757 758 1 0 0.418 2 ; dih C2-C3-C4-O4
748 747 757 758 1 0 0.418 2 ; dih C6-C5-C4-O4
754 751 745 746 1 0 0.418 2 ; dih C3-C2-C1-O5
754 757 747 746 1 0 0.418 2 ; dih C3-C4-C5-O5
746 747 748 749 1 0 9.500 3 ; dih O5-C5-C6-O6_a(w~)
746 747 748 749 1 180 9.350 1 ; dih O5-C5-C6-O6_a(w~)
745 751 752 753 1 0 3.900 3 ; dih C1-C2-O2-H2_(x2)
751 754 755 756 1 0 3.900 3 ; dih C2-C3-O3-H3_(x3)
747 748 749 750 1 0 3.900 3 ; dih C5-C6-O6-H6_(x6)

;connection
754 757 758 759 1 0 3.900 3 ; dih C3 -C4 -O4 -C1*
758 759 765 766 1 0 2.090 2 ; dih O4 -C1*-C2*-O2*
768 765 759 758 1 0 0.418 2 ; dih C3*-C2*-C1*-O4
760 759 758 757 1 0 3.650 3 ; dih O5*-C1*-O4 -C4
760 759 758 757 1 180 9.450 1 ; dih O5*-C1*-O4 -C4

;residue
765 759 760 761 1 0 3.770 3 ; dih C2-C1-O5-C5
771 761 760 759 1 0 3.770 3 ; dih C4-C5-O5-C1
759 765 768 771 1 0 5.920 3 ; dih C1-C2-C3-C4
765 768 771 761 1 0 5.920 3 ; dih C2-C3-C4-C5
768 765 759 760 1 0 5.920 3 ; dih C3-C2-C1-O5
768 771 761 760 1 0 5.920 3 ; dih C3-C4-C5-O5
766 765 768 769 1 0 2.090 2 ; dih O2-C2-C3-O3
769 768 771 772 1 0 2.090 2 ; dih O3-C3-C4-O4
771 768 765 766 1 0 0.418 2 ; dih C4-C3-C2-O2
759 765 768 769 1 0 0.418 2 ; dih C1-C2-C3-O3
761 771 768 769 1 0 0.418 2 ; dih C5-C4-C3-O3
765 768 771 772 1 0 0.418 2 ; dih C2-C3-C4-O4
762 761 771 772 1 0 0.418 2 ; dih C6-C5-C4-O4
768 765 759 760 1 0 0.418 2 ; dih C3-C2-C1-O5
768 771 761 760 1 0 0.418 2 ; dih C3-C4-C5-O5
760 761 762 763 1 0 9.500 3 ; dih O5-C5-C6-O6_a(w~)
760 761 762 763 1 180 9.350 1 ; dih O5-C5-C6-O6_a(w~)
759 765 766 767 1 0 3.900 3 ; dih C1-C2-O2-H2_(x2)
765 768 769 770 1 0 3.900 3 ; dih C2-C3-O3-H3_(x3)
761 762 763 764 1 0 3.900 3 ; dih C5-C6-O6-H6_(x6)
768 771 772 773 1 0 3.900 3 ; dih C3 -C4 -O4 -H4

```

## A.2.2 Gastmoleküle

Aus Platzgründen sind hier nur die Topologien einiger beispielhafter Liganden angegeben. Die Parametrisierung der übrigen Gastmoleküle lässt sich daraus ableiten.

### A.2.2.1 Ligand00

```
[ moleculetype ]
; Name nrexcl
MOL      3

[ atoms ]
;   nr   type  resnr resid atom  cgnr  charge  mass
  1   CH3   1     MOL   CAB    1    0.000  15.0350
  2   CH2   1     MOL   CAA    2    0.000  14.0270
  3   CH2   1     MOL   CAC    3    0.000  14.0270
  4   CH2   1     MOL   CAD    4    0.000  14.0270
  5   CH2   1     MOL   CAE    5    0.000  14.0270
  6   CH2   1     MOL   CAF    6    0.000  14.0270
  7   CH2   1     MOL   CAG    7    0.000  14.0270
  8   CH2   1     MOL   CAH    8    0.000  14.0270
  9   CH2   1     MOL   CAI    9    0.000  14.0270
 10  CH2   1     MOL   CAJ   10    0.000  14.0270
 11  CH2   1     MOL   CAK   11    0.000  14.0270
 12  CH2   1     MOL   CAL   12    0.000  14.0270
 13  CH2   1     MOL   CAM   13    0.000  14.0270
 14  CH2   1     MOL   CAN   14    0.000  14.0270
 15  CH2   1     MOL   CAO   15    0.000  14.0270
 16  CH2   1     MOL   CAP   16    0.000  14.0270
 17  CH2   1     MOL   CAQ   17    0.000  14.0270
 18  CH2   1     MOL   CAR   18    0.000  14.0270
 19  CH2   1     MOL   CAS   19    0.000  14.0270
 20  CH2   1     MOL   CAT   20    0.000  14.0270
 21  CH2   1     MOL   CAU   21    0.000  14.0270
 22  CH2   1     MOL   CAV   22    0.000  14.0270
 23  CH2   1     MOL   CAW   23    0.000  14.0270
 24  CH2   1     MOL   CAX   24    0.000  14.0270
 25  CH2   1     MOL   CAY   25    0.000  14.0270
 26  CH2   1     MOL   CAZ   26    0.000  14.0270
 27  CH2   1     MOL   CBA   27    0.000  14.0270
 28  CH2   1     MOL   CBB   28    0.000  14.0270
 29  CH2   1     MOL   CBC   29    0.000  14.0270
 30  CH2   1     MOL   CBD   30    0.000  14.0270
 31  CH2   1     MOL   CBE   31    0.000  14.0270
 32  CH2   1     MOL   CBF   32    0.000  14.0270
 33  CH2   1     MOL   CBG   33    0.000  14.0270
 34  CH2   1     MOL   CBH   34    0.000  14.0270
 35  CH2   1     MOL   CBI   35    0.000  14.0270
 36  CH2   1     MOL   CBJ   36    0.000  14.0270
 37  CH2   1     MOL   CBK   37    0.000  14.0270
 38  CH2   1     MOL   CBL   38    0.000  14.0270
 39  CH2   1     MOL   CBM   39    0.000  14.0270
 40  CH2   1     MOL   CBN   40    0.000  14.0270
 41  CH2   1     MOL   CBO   41    0.000  14.0270
 42  CH2   1     MOL   CBP   42    0.000  14.0270
 43  CH2   1     MOL   CBQ   43    0.000  14.0270
 44  CH2   1     MOL   CBR   44    0.000  14.0270
 45  CH2   1     MOL   CBS   45    0.000  14.0270
 46  CH2   1     MOL   CBT   46    0.000  14.0270
 47  CH2   1     MOL   CBU   47    0.000  14.0270
 48  CH2   1     MOL   CBV   48    0.000  14.0270
 49  CH3   1     MOL   CBW   49    0.000  15.0350
```

```

[ bonds ]
; ai aj fu c0, c1, ...
2   1   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAA CAB
2   3   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAA CAC
3   4   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAC CAD
4   5   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAD CAE
5   6   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAE CAF
6   7   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAF CAG
7   8   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAG CAH
8   9   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAH CAI
9  10   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAI CAJ
10 11   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAJ CAK
11 12   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAK CAL
12 13   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAL CAM
13 14   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAM CAN
14 15   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAN CAO
15 16   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAO CAP
16 17   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAP CAQ
17 18   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAQ CAR
18 19   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAR CAS
19 20   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAS CAT
20 21   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAT CAU
21 22   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAU CAV
22 23   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAV CAW
23 24   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAW CAX
24 25   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAX CAY
25 26   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAY CAZ
26 27   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAZ CBA
27 28   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBA CBB
28 29   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBB CBC
29 30   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBC CBD
30 31   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBD CBE
31 32   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBE CBF
32 33   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBF CBG
33 34   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBG CBH
34 35   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBH CBI
35 36   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBI CBJ
36 37   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBJ CBK
37 38   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBK CBL
38 39   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBL CBM
39 40   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBM CBN
40 41   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBN CBO
41 42   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBO CBP
42 43   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBP CBQ
43 44   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBQ CBR
44 45   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBR CBS
45 46   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBS CBT
46 47   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBT CBU
47 48   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBU CBV
48 49   2   0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBV CBW

[ pairs ]
; ai aj fu c0, c1, ...
1   4   1   ; CAB CAD
2   5   1   ; CAA CAE
3   6   1   ; CAC CAF
4   7   1   ; CAD CAG
5   8   1   ; CAE CAH
6   9   1   ; CAF CAI
7  10   1   ; CAG CAJ
8  11   1   ; CAH CAK
9  12   1   ; CAI CAL
10 13   1   ; CAJ CAM
11 14   1   ; CAK CAN
12 15   1   ; CAL CAO
13 16   1   ; CAM CAP
14 17   1   ; CAN CAQ
15 18   1   ; CAO CAR
16 19   1   ; CAP CAS
17 20   1   ; CAQ CAT
18 21   1   ; CAR CAU

```

```

19  22  1 ; CAS  CAV
20  23  1 ; CAT  CAW
21  24  1 ; CAU  CAX
22  25  1 ; CAV  CAY
23  26  1 ; CAW  CAZ
24  27  1 ; CAX  CBA
25  28  1 ; CAY  CBB
26  29  1 ; CAZ  CBC
27  30  1 ; CBA  CBD
28  31  1 ; CBB  CBE
29  32  1 ; CBC  CBF
30  33  1 ; CBD  CBG
31  34  1 ; CBE  CBH
32  35  1 ; CBF  CBI
33  36  1 ; CBG  CBJ
34  37  1 ; CBH  CBK
35  38  1 ; CBI  CBL
36  39  1 ; CBJ  CBM
37  40  1 ; CBL  CBN
38  41  1 ; CBM  CBP
39  42  1 ; CBN  CBQ
40  43  1 ; CBO  CBR
41  44  1 ; CBP  CBS
42  45  1 ; CBQ  CBT
43  46  1 ; CBR  CBU
44  47  1 ; CBS  CBV
45  48  1 ; CBT  CBW

[ angles ]
; ai aj ak fu c0, c1, ...
1   2   3   2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAB  CAA  CAC
2   3   4   2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAA  CAC  CAD
3   4   5   2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAC  CAD  CAE
4   5   6   2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAD  CAE  CAF
5   6   7   2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAE  CAF  CAG
6   7   8   2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAF  CAG  CAH
7   8   9   2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAG  CAH  CAI
8   9   10  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAH  CAI  CAJ
9   10  11  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAI  CAJ  CAK
10  11  12  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAJ  CAK  CAL
11  12  13  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAK  CAL  CAM
12  13  14  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAL  CAM  CAN
13  14  15  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAM  CAN  CAO
14  15  16  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAN  CAO  CAP
15  16  17  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAO  CAP  CAQ
16  17  18  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAP  CAQ  CAR
17  18  19  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAQ  CAR  CAS
18  19  20  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAR  CAS  CAT
19  20  21  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAS  CAT  CAU
20  21  22  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAT  CAU  CAV
21  22  23  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAU  CAV  CAW
22  23  24  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAV  CAW  CAX
23  24  25  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAW  CAX  CAY
24  25  26  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAX  CAY  CAZ
25  26  27  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAY  CAZ  CBA
26  27  28  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAZ  CBA  CBB
27  28  29  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBA  CBB  CBC
28  29  30  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBB  CBC  CBD
29  30  31  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBC  CBD  CBE
30  31  32  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBD  CBE  CBF
31  32  33  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBE  CBF  CBG
32  33  34  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBF  CBG  CBH
33  34  35  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBG  CBH  CBI
34  35  36  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBH  CBI  CBJ
35  36  37  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBI  CBJ  CBK
36  37  38  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBJ  CBK  CBL
37  38  39  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBK  CBL  CBM
38  39  40  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBL  CBM  CBN
39  40  41  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBM  CBN  CBO
40  41  42  2   109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBN  CBO  CBP

```

```

        41      42      43      2      109.5    520.0    109.5    520.0    ;    CBO    CBP    CBQ
        42      43      44      2      109.5    520.0    109.5    520.0    ;    CBP    CBQ    CBR
        43      44      45      2      109.5    520.0    109.5    520.0    ;    CBQ    CBR    CBS
        44      45      46      2      109.5    520.0    109.5    520.0    ;    CBR    CBS    CBT
        45      46      47      2      109.5    520.0    109.5    520.0    ;    CBS    CBT    CBU
        46      47      48      2      109.5    520.0    109.5    520.0    ;    CBT    CBU    CBV
        47      48      49      2      109.5    520.0    109.5    520.0    ;    CBU    CBV    CBW

[ dihedrals ]
; ai aj ak al fu   c0, cl, m, ...
4   3   2   1   1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAD CAC CAA CAB
5   4   3   2   1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAE CAD CAC CAA
6   5   4   3   1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAF CAE CAD CAC
7   6   5   4   1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAG CAF CAE CAD
8   7   6   5   1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAH CAG CAF CAE
9   8   7   6   1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAI CAH CAG CAF
10  9   8   7   1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAJ CAI CAH CAG
11 10  9   8   1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAK CAJ CAI CAH
12 11 10  9   1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAL CAK CAJ CAI
13 12 11 10  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAM CAL CAK CAJ
14 13 12 11  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAN CAM CAL CAK
15 14 13 12  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAO CAN CAM CAL
16 15 14 13  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAP CAO CAN CAM
17 16 15 14  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAQ CAP CAO CAN
18 17 16 15  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAR CAQ CAP CAO
19 18 17 16  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAS CAR CAQ CAP
20 19 18 17  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAT CAS CAR CAQ
21 20 19 18  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAU CAT CAS CAR
22 21 20 19  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAV CAU CAT CAS
23 22 21 20  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAW CAV CAU CAT
24 23 22 21  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAX CAW CAV CAU
25 24 23 22  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAY CAX CAW CAV
26 25 24 23  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CAZ CAY CAX CAW
27 26 25 24  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBA CAZ CAY CAX
28 27 26 25  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBB CBA CAZ CAY
29 28 27 26  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBC CBB CBA CAZ
30 29 28 27  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBD CBC CBB CBA
31 30 29 28  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBE CBD CBC CBB
32 31 30 29  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBF CBE CBD CBC
33 32 31 30  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBG CBF CBE CBD
34 33 32 31  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBH CBG CBF CBE
35 34 33 32  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBI CBH CBG CBF
36 35 34 33  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBJ CBI CBH CBG
37 36 35 34  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBK CBJ CBI CBH
38 37 36 35  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBL CBK CBJ CBI
39 38 37 36  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBM CBL CBK CBJ
40 39 38 37  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBN CBM CBL CBK
41 40 39 38  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBO CBN CBM CBL
42 41 40 39  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBP CBO CBN CBM
43 42 41 40  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBQ CBP CBO CBN
44 43 42 41  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBR CBQ CBP CBO
45 44 43 42  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBS CBR CBQ CBP
46 45 44 43  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBT CBS CBR CBQ
47 46 45 44  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBU CBT CBS CBR
48 47 46 45  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBV CBU CBT CBS
49 48 47 46  1   0.0   5.9   3   0.0   5.9   3   ; dih CBW CBV CBU CBT

```

### A.2.2.2 Ligand15

```

[ moleculetype ]
; Name nrexcl
MOL      3

[ atoms ]
;   nr      type  resnr resid   atom   cgnr   charge     mass
    1      CH3      1  MOL     CAA      1    0.000  15.0350
    2      CH2      1  MOL     CAB      2    0.000  14.0270
    3      CH2      1  MOL     CAC      3    0.180  14.0270
    4      OA       1  MOL     OAD      3   -0.360  15.9994

```

5	CH2	1	MOL	CAE	3	0.180	14.0270
6	CH2	1	MOL	CAF	4	0.000	14.0270
7	CH2	1	MOL	CAG	5	0.180	14.0270
8	OA	1	MOL	OAH	5	-0.360	15.9994
9	CH2	1	MOL	CAI	5	0.180	14.0270
10	CH2	1	MOL	CAJ	6	0.000	14.0270
11	CH2	1	MOL	CAK	7	0.000	14.0270
12	CH2	1	MOL	CAL	8	0.180	14.0270
13	OA	1	MOL	OAM	8	-0.360	15.9994
14	CH2	1	MOL	CAN	8	0.180	14.0270
15	CH2	1	MOL	CAO	9	0.000	14.0270
16	CH2	1	MOL	CAP	10	0.000	14.0270
17	CH2	1	MOL	CAQ	11	0.180	14.0270
18	OA	1	MOL	OAR	11	-0.360	15.9994
19	CH2	1	MOL	CAS	11	0.180	14.0270
20	CH2	1	MOL	CAT	12	0.000	14.0270
21	CH2	1	MOL	CAU	13	0.180	14.0270
22	OA	1	MOL	OAV	13	-0.360	15.9994
23	CH2	1	MOL	CAW	13	0.180	14.0270
24	CH2	1	MOL	CAX	14	0.000	14.0270
25	CH2	1	MOL	CAY	15	0.000	14.0270
26	CH2	1	MOL	CAZ	16	0.000	14.0270
27	CH2	1	MOL	CBA	17	0.180	14.0270
28	OA	1	MOL	OB <sub>B</sub>	17	-0.360	15.9994
29	CH2	1	MOL	CBC	17	0.180	14.0270
30	CH2	1	MOL	CBD	18	0.000	14.0270
31	CH2	1	MOL	CBE	19	0.180	14.0270
32	OA	1	MOL	OB <sub>F</sub>	19	-0.360	15.9994
33	CH2	1	MOL	CBG	19	0.180	14.0270
34	CH2	1	MOL	CBH	20	0.000	14.0270
35	CH2	1	MOL	CBI	21	0.000	14.0270
36	CH2	1	MOL	CBJ	22	0.180	14.0270
37	OA	1	MOL	OB <sub>K</sub>	22	-0.360	15.9994
38	CH2	1	MOL	CBL	22	0.180	14.0270
39	CH2	1	MOL	CBM	23	0.000	14.0270
40	CH2	1	MOL	CBN	24	0.000	14.0270
41	CH2	1	MOL	CBO	25	0.180	14.0270
42	OA	1	MOL	OB <sub>P</sub>	25	-0.360	15.9994
43	CH2	1	MOL	CBQ	25	0.180	14.0270
44	CH2	1	MOL	CBR	26	0.000	14.0270
45	CH2	1	MOL	CBS	27	0.180	14.0270
46	OA	1	MOL	OB <sub>T</sub>	27	-0.360	15.9994
47	CH2	1	MOL	CBU	27	0.180	14.0270
48	CH2	1	MOL	CBV	28	0.000	14.0270
49	CH3	1	MOL	CBW	29	0.000	15.0350

[ bonds ]								
;	ai	aj	fu	c0, c1, ...				
2	1	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAB	CAA
2	3	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAB	CAC
3	4	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAC	OAD
5	4	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAE	OAD
5	6	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAE	CAF
6	7	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAF	CAG
7	8	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAG	OAH
9	8	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAI	OAH
9	10	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAI	CAJ
10	11	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAJ	CAK
11	12	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAK	CAL
12	13	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAL	OAM
14	13	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAN	OAM
14	15	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAN	CAO
15	16	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAO	CAP
16	17	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAP	CAQ
17	18	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAQ	OAR
19	18	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAS	OAR
19	20	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAS	CAT
20	21	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAT	CAU
21	22	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAU	OAV
23	22	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAW	OAV
23	24	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAW	CAX

```

24 25 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAX CAY
25 26 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAY CAZ
26 27 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CAZ CBA
27 28 2 0.143 8180000.0 0.143 8180000.0 ; CBA OBB
29 28 2 0.143 8180000.0 0.143 8180000.0 ; CBC OBB
29 30 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBC CBD
30 31 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBD CBE
31 32 2 0.143 8180000.0 0.143 8180000.0 ; CBE OBF
33 32 2 0.143 8180000.0 0.143 8180000.0 ; CBG OBF
33 34 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBG CBH
34 35 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBH CBI
35 36 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBI CBJ
36 37 2 0.143 8180000.0 0.143 8180000.0 ; CBJ OBK
38 37 2 0.143 8180000.0 0.143 8180000.0 ; CBL OBK
38 39 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBL CBM
39 40 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBM CBN
40 41 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBN CBO
41 42 2 0.143 8180000.0 0.143 8180000.0 ; CBO OBP
43 42 2 0.143 8180000.0 0.143 8180000.0 ; CBQ OBP
43 44 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBQ CBR
44 45 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBR CBS
45 46 2 0.143 8180000.0 0.143 8180000.0 ; CBS OBT
47 46 2 0.143 8180000.0 0.143 8180000.0 ; CBU OBT
47 48 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBU CBV
48 49 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBV CBW

[ pairs ]
; ai aj fu c0, c1, ...
1 4 1 ; CAA OAD
2 5 1 ; CAB CAE
3 6 1 ; CAC CAF
4 7 1 ; OAD CAG
5 8 1 ; CAE OAH
6 9 1 ; CAF CAI
7 10 1 ; CAG CAJ
8 11 1 ; OAH CAK
9 12 1 ; CAI CAL
10 13 1 ; CAJ OAM
11 14 1 ; CAK CAN
12 15 1 ; CAL CAO
13 16 1 ; OAM CAP
14 17 1 ; CAN CAQ
15 18 1 ; CAO OAR
16 19 1 ; CAP CAS
17 20 1 ; CAQ CAT
18 21 1 ; OAR CAU
19 22 1 ; CAS OAV
20 23 1 ; CAT CAW
21 24 1 ; CAU CAX
22 25 1 ; OAV CAY
23 26 1 ; CAW CAZ
24 27 1 ; CAX CBA
25 28 1 ; CAY OBB
26 29 1 ; CAZ CBC
27 30 1 ; CBA CBD
28 31 1 ; OBB CBE
29 32 1 ; CBC OBF
30 33 1 ; CBD CBG
31 34 1 ; CBE CBH
32 35 1 ; OBF CBI
33 36 1 ; CBG CBJ
34 37 1 ; CBH OBK
35 38 1 ; CBI CBL
36 39 1 ; CBJ CBM
37 40 1 ; OBK CBN
38 41 1 ; CBL CBO
39 42 1 ; CBM OBP
40 43 1 ; CBN CBO
41 44 1 ; CBO CBR
42 45 1 ; OBP CBS
43 46 1 ; CBQ OBT

```

```

44 47 1 ; CBR CBU
45 48 1 ; CBS CBV
46 49 1 ; OBT CBW

[ angles ]
; ai aj ak fu c0, c1, ...
1 2 3 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAA CAB CAC
2 3 4 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAB CAC OAD
3 4 5 2 109.5 380.0 109.5 380.0 ; CAC OAD CAE
4 5 6 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; OAD CAE CAF
5 6 7 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAE CAF CAG
6 7 8 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAF CAG OAH
7 8 9 2 109.5 380.0 109.5 380.0 ; CAG OAH CAI
8 9 10 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; OAH CAI CAJ
9 10 11 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAI CAJ CAK
10 11 12 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAJ CAK CAL
11 12 13 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAK CAL OAM
12 13 14 2 109.5 380.0 109.5 380.0 ; CAL OAM CAN
13 14 15 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; OAM CAN CAO
14 15 16 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAN CAO CAP
15 16 17 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAO CAP CAQ
16 17 18 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAP CAQ OAR
17 18 19 2 109.5 380.0 109.5 380.0 ; CAQ OAR CAS
18 19 20 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; OAR CAS CAT
19 20 21 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAS CAT CAU
20 21 22 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAT CAU OAV
21 22 23 2 109.5 380.0 109.5 380.0 ; CAU OAV CAW
22 23 24 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; OAV CAW CAX
23 24 25 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAW CAX CAY
24 25 26 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAX CAY CAZ
25 26 27 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAY CAZ CBA
26 27 28 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAZ CBA OBB
27 28 29 2 109.5 380.0 109.5 380.0 ; CBA OBB CBC
28 29 30 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; OBB CBC CBD
29 30 31 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBC CBD CBE
30 31 32 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBD CBE OBF
31 32 33 2 109.5 380.0 109.5 380.0 ; CBE OBF CBG
32 33 34 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; OBF CBG CBH
33 34 35 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBG CBH CBI
34 35 36 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBH CBI CBJ
35 36 37 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBI CBJ OBK
36 37 38 2 109.5 380.0 109.5 380.0 ; CBJ OBK CBL
37 38 39 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; OBK CBL CBM
38 39 40 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBL CBM CBN
39 40 41 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBM CBN CBO
40 41 42 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBN CBO OBP
41 42 43 2 109.5 380.0 109.5 380.0 ; CBO OBP CBQ
42 43 44 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; OBP CBQ CBR
43 44 45 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBQ CBR CBS
44 45 46 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBR CBS OBT
45 46 47 2 109.5 380.0 109.5 380.0 ; CBS OBT CBU
46 47 48 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; OBT CBU CBV
47 48 49 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CBU CBV CBW

[ dihedrals ]
; ai aj ak al fu c0, c1, m, ...
4 3 2 1 1 0.0 5.9 3 0.0 5.9 3 ; dih OAD CAC CAB CAA
2 3 4 5 1 0.0 1.3 3 0.0 1.3 3 ; dih CAB CAC OAD CAE
6 5 4 3 1 0.0 1.3 3 0.0 1.3 3 ; dih CAF CAE OAD CAC
7 6 5 4 1 0.0 5.9 3 0.0 5.9 3 ; dih CAG CAF CAE OAD
8 7 6 5 1 0.0 5.9 3 0.0 5.9 3 ; dih OAH CAG CAF CAE
6 7 8 9 1 0.0 1.3 3 0.0 1.3 3 ; dih CAF CAG OAH CAI
10 9 8 7 1 0.0 1.3 3 0.0 1.3 3 ; dih CAJ CAI OAH CAG
11 10 9 8 1 0.0 5.9 3 0.0 5.9 3 ; dih CAK CAJ CAI OAH
12 11 10 9 1 0.0 5.9 3 0.0 5.9 3 ; dih CAL CAK CAJ CAI
13 12 11 10 1 0.0 5.9 3 0.0 5.9 3 ; dih OAM CAL CAK CAJ
11 12 13 14 1 0.0 1.3 3 0.0 1.3 3 ; dih CAK CAL OAM CAN
15 14 13 12 1 0.0 1.3 3 0.0 1.3 3 ; dih CAO CAN OAM CAL
16 15 14 13 1 0.0 5.9 3 0.0 5.9 3 ; dih CAP CAO CAN OAM
17 16 15 14 1 0.0 5.9 3 0.0 5.9 3 ; dih CAQ CAP CAO CAN
18 17 16 15 1 0.0 5.9 3 0.0 5.9 3 ; dih OAR CAQ CAP CAO

```

16	17	18	19	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CAP	CAQ	OAR	CAS
20	19	18	17	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CAT	CAS	OAR	CAQ
21	20	19	18	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CAU	CAT	CAS	OAR
22	21	20	19	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	OAV	CAU	CAT	CAS
20	21	22	23	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CAT	CAU	OAV	CAS
24	23	22	21	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CAX	CAW	OAV	CAU
25	24	23	22	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CAY	CAX	CAS	OAV
26	25	24	23	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CAZ	CAY	CAX	CAS
27	26	25	24	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBA	CAZ	CAY	CAX
28	27	26	25	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	OBG	CBA	CAZ	CAY
26	27	28	29	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CAZ	CBA	OBG	CBC
30	29	28	27	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBD	CBC	OBG	CBA
31	30	29	28	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBE	CBD	CBC	OBG
32	31	30	29	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	OBF	CBE	CBD	CBC
30	31	32	33	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBD	CBE	OBF	CBG
34	33	32	31	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBH	CBG	OBF	CBE
35	34	33	32	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBI	CBH	CBG	OBF
36	35	34	33	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBJ	CBI	CBH	CBG
37	36	35	34	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	OBK	CBJ	CBI	CBH
35	36	37	38	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBI	CBJ	OBK	CBL
39	38	37	36	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBM	CBL	OBK	CBJ
40	39	38	37	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBN	CBM	CBL	OBK
41	40	39	38	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBO	CBN	CBM	CBL
42	41	40	39	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	OBP	CBO	CBN	CBM
40	41	42	43	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBN	CBO	OBP	CBQ
44	43	42	41	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBR	CBQ	OBP	CBO
45	44	43	42	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBS	CBR	CBQ	OBP
46	45	44	43	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	OBT	CBS	CBR	CBQ
44	45	46	47	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBR	CBS	OBT	CBU
48	47	46	45	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBV	CBU	OBT	CBS
49	48	47	46	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBW	CBV	CBU	OBT

### A.2.2.3 PTHF

```
[ moleculetype ]
; Name nrexcl
MOL      3

[ atoms ]
;   nr      type    resnr resid   atom   cgnr   charge    mass
1        OA      1       MOL     OAC     1      -0.548   15.9994
2        H       1       MOL     HCI     1      0.398    1.0080
3        CH2     1       MOL     CAB     1      0.150   14.0270
4        CH2     1       MOL     CAA     2      0.000   14.0270
5        CH2     1       MOL     CAD     3      0.000   14.0270
6        CH2     1       MOL     CAE     4      0.180   14.0270
7        OA      1       MOL     OAF     4      -0.360   15.9994
8        CH2     1       MOL     CAG     4      0.180   14.0270
9        CH2     1       MOL     CAH     5      0.000   14.0270
10       CH2     1       MOL     CAI     6      0.000   14.0270
11       CH2     1       MOL     CAJ     7      0.180   14.0270
12       OA      1       MOL     OAK     7      -0.360   15.9994
13       CH2     1       MOL     CAL     7      0.180   14.0270
14       CH2     1       MOL     CAM     8      0.000   14.0270
15       CH2     1       MOL     CAN     9      0.000   14.0270
16       CH2     1       MOL     CAO    10      0.180   14.0270
17       OA      1       MOL     OAP    10      -0.360   15.9994
18       CH2     1       MOL     CAQ    10      0.180   14.0270
19       CH2     1       MOL     CAR    11      0.000   14.0270
20       CH2     1       MOL     CAS    12      0.000   14.0270
21       CH2     1       MOL     CAT    13      0.180   14.0270
22       OA      1       MOL     OAU    13      -0.360   15.9994
23       CH2     1       MOL     CAV    13      0.180   14.0270
24       CH2     1       MOL     CAW    14      0.000   14.0270
25       CH2     1       MOL     CAX    15      0.000   14.0270
26       CH2     1       MOL     CAY    16      0.180   14.0270
27       OA      1       MOL     OAZ    16      -0.360   15.9994
28       CH2     1       MOL     CBA    16      0.180   14.0270
29       CH2     1       MOL     CBB    17      0.000   14.0270
```

30	CH2	1	MOL	CBC	18	0.000	14.0270
31	CH2	1	MOL	CBD	19	0.180	14.0270
32	OA	1	MOL	OBE	19	-0.360	15.9994
33	CH2	1	MOL	CBF	19	0.180	14.0270
34	CH2	1	MOL	CBG	20	0.000	14.0270
35	CH2	1	MOL	CBH	21	0.000	14.0270
36	CH2	1	MOL	CBI	22	0.180	14.0270
37	OA	1	MOL	OBJ	22	-0.360	15.9994
38	CH2	1	MOL	CBK	22	0.180	14.0270
39	CH2	1	MOL	CBL	23	0.000	14.0270
40	CH2	1	MOL	CBM	24	0.000	14.0270
41	CH2	1	MOL	CBN	25	0.180	14.0270
42	OA	1	MOL	dbo	25	-0.360	15.9994
43	CH2	1	MOL	CBP	25	0.180	14.0270
44	CH2	1	MOL	CBQ	26	0.000	14.0270
45	CH2	1	MOL	CBR	27	0.000	14.0270
46	CH2	1	MOL	CBS	28	0.180	14.0270
47	OA	1	MOL	OBT	28	-0.360	15.9994
48	CH2	1	MOL	CBU	28	0.180	14.0270
49	CH2	1	MOL	CBV	29	0.000	14.0270
50	CH2	1	MOL	CBW	30	0.000	14.0270
51	CH2	1	MOL	CBX	31	0.150	14.0270
52	OA	1	MOL	OBY	31	-0.548	15.9994
53	H	1	MOL	HCJ	31	0.398	1.0080

[ bonds ]  
; ai aj fu c0, c1, ...

1	2	2	0.100	15700000.0	0.100	15700000.0 ;	OAC	HCI
3	1	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAB	OAC
3	4	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAB	CAA
4	5	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAA	CAD
5	6	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAD	CAE
6	7	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAE	OAF
8	7	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAG	OAF
8	9	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAG	CAH
9	10	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAH	CAI
10	11	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAI	CAJ
11	12	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAJ	OAK
13	12	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAL	OAK
13	14	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAL	CAM
14	15	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAM	CAN
15	16	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAN	CAO
16	17	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAO	OAP
18	17	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAQ	OAP
18	19	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAQ	CAR
19	20	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAR	CAS
20	21	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAS	CAT
21	22	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAT	OAU
23	22	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAV	OAU
23	24	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAV	CAW
24	25	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAW	CAX
25	26	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CAX	CAY
26	27	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CAY	OAZ
28	27	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CBA	OAZ
28	29	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CBA	CBB
29	30	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CBB	CBC
30	31	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CBC	CBD
31	32	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CBD	OBE
33	32	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CBF	OBE
33	34	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CBF	CBG
34	35	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CBG	CBH
35	36	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CBH	CBI
36	37	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CBI	OBJ
38	37	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CBK	OBJ
38	39	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CBK	CBL
39	40	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CBL	CBM
40	41	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CBM	CBN
41	42	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CBN	OOB
43	42	2	0.143	8180000.0	0.143	8180000.0 ;	CBP	OOB
43	44	2	0.153	7150000.0	0.153	7150000.0 ;	CBP	CBQ

```

44 45 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBQ CBR
45 46 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBR CBS
46 47 2 0.143 8180000.0 0.143 8180000.0 ; CBS OBT
48 47 2 0.143 8180000.0 0.143 8180000.0 ; CBU OBT
48 49 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBU CBV
49 50 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBV CBW
50 51 2 0.153 7150000.0 0.153 7150000.0 ; CBW CBX
51 52 2 0.143 8180000.0 0.143 8180000.0 ; CBX OBY
52 53 2 0.100 15700000.0 0.100 15700000.0 ; OBY HCJ

[ pairs ]
; ai aj fu c0, c1, ...
1 5 1 ; OAC CAD
2 4 1 ; HCI CAA
3 6 1 ; CAB CAE
4 7 1 ; CAA OAF
5 8 1 ; CAD CAG
6 9 1 ; CAE CAH
7 10 1 ; OAF CAI
8 11 1 ; CAG CAJ
9 12 1 ; CAH OAK
10 13 1 ; CAI CAL
11 14 1 ; CAJ CAM
12 15 1 ; OAK CAN
13 16 1 ; CAL CAO
14 17 1 ; CAM OAP
15 18 1 ; CAN CAQ
16 19 1 ; CAO CAR
17 20 1 ; OAP CAS
18 21 1 ; CAQ CAT
19 22 1 ; CAR OAU
20 23 1 ; CAS CAV
21 24 1 ; CAT CAW
22 25 1 ; OAU CAX
23 26 1 ; CAV CAY
24 27 1 ; CAW OAZ
25 28 1 ; CAX CBA
26 29 1 ; CAY CBB
27 30 1 ; OAZ CBC
28 31 1 ; CBA CBD
29 32 1 ; CBB OBE
30 33 1 ; CBC CBF
31 34 1 ; CBD CBG
32 35 1 ; OBE CBH
33 36 1 ; CBF CBI
34 37 1 ; CBG OBJ
35 38 1 ; CBH CBK
36 39 1 ; CBI CBL
37 40 1 ; OBJ CBM
38 41 1 ; CBK CBN
39 42 1 ; CBL OBO
40 43 1 ; CBM CBP
41 44 1 ; CBN CBQ
42 45 1 ; OBO CBR
43 46 1 ; CBP CBS
44 47 1 ; CBQ OBT
45 48 1 ; CBR CBU
46 49 1 ; CBS CBV
47 50 1 ; OBT CBW
48 51 1 ; CBU CBX
49 52 1 ; CBV OBY
50 53 1 ; CBW HCJ

[ angles ]
; ai aj ak fu c0, c1, ...
2 1 3 2 109.5 450.0 109.5 450.0 ; HCI OAC CAB
1 3 4 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; OAC CAB CAA
3 4 5 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAB CAA CAD
4 5 6 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAA CAD CAE
5 6 7 2 109.5 520.0 109.5 520.0 ; CAD CAE OAF
6 7 8 2 109.5 380.0 109.5 380.0 ; CAE OAF CAG

```

7	8	9	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	OAF	CAG	CAH
8	9	10	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CAG	CAH	CAI
9	10	11	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CAH	CAI	CAJ
10	11	12	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CAI	CAJ	OAK
11	12	13	2	109.5	380.0	109.5	380.0 ;	CAJ	OAK	CAL
12	13	14	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	OAK	CAL	CAM
13	14	15	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CAL	CAM	CAN
14	15	16	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CAM	CAN	CAO
15	16	17	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CAN	CAO	OAP
16	17	18	2	109.5	380.0	109.5	380.0 ;	CAO	OAP	CAQ
17	18	19	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	OAP	CAQ	CAR
18	19	20	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CAQ	CAR	CAS
19	20	21	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CAR	CAS	CAT
20	21	22	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CAS	CAT	OAU
21	22	23	2	109.5	380.0	109.5	380.0 ;	CAT	OAU	CAV
22	23	24	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	OAU	CAV	CW
23	24	25	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CAV	CW	CAX
24	25	26	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CW	CAX	CAY
25	26	27	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CAX	CAY	OAZ
26	27	28	2	109.5	380.0	109.5	380.0 ;	CAY	OAZ	CBA
27	28	29	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	OAZ	CBA	CBB
28	29	30	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBA	CBB	CBC
29	30	31	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBB	CBC	CBD
30	31	32	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBC	CBD	OBE
31	32	33	2	109.5	380.0	109.5	380.0 ;	CBD	OBE	CBF
32	33	34	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	OBE	CBF	CBG
33	34	35	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBF	CBG	CBH
34	35	36	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBG	CBH	CBI
35	36	37	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBH	CBI	OBJ
36	37	38	2	109.5	380.0	109.5	380.0 ;	CBI	OBJ	CBK
37	38	39	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	OBJ	CBK	CBL
38	39	40	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBK	CBL	CBM
39	40	41	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBL	CBM	CBN
40	41	42	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBM	CBN	ODO
41	42	43	2	109.5	380.0	109.5	380.0 ;	CBN	ODO	CBP
42	43	44	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	ODO	CBP	CBQ
43	44	45	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBP	CBQ	CBR
44	45	46	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBQ	CBR	CBS
45	46	47	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBR	CBS	OBT
46	47	48	2	109.5	380.0	109.5	380.0 ;	CBS	OBT	CBU
47	48	49	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	OBT	CBU	CBV
48	49	50	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBU	CBV	CBW
49	50	51	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBV	CBW	CBX
50	51	52	2	109.5	520.0	109.5	520.0 ;	CBW	CBX	OBY
51	52	53	2	109.5	450.0	109.5	450.0 ;	CBX	OBY	HCJ

[ dihedrals ]												
;	ai	aj	ak	al	fu	c0, c1, m, ...						
4	3	1	2	1	0.0	1.3 3	0.0	1.3 3 ; dih	CAA	CAB	OAC	HCI
5	4	3	1	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	CAD	CAA	CAB	OAC
6	5	4	3	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	CAE	CAD	CAA	CAB
7	6	5	4	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	OAF	CAE	CAD	CAA
5	6	7	8	1	0.0	1.3 3	0.0	1.3 3 ; dih	CAD	CAE	OAF	CAG
9	8	7	6	1	0.0	1.3 3	0.0	1.3 3 ; dih	CAH	CAG	OAF	CAE
10	9	8	7	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	CAI	CAH	CAG	OAF
11	10	9	8	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	CAJ	CAI	CAH	CAG
12	11	10	9	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	OAK	CAJ	CAI	CAH
10	11	12	13	1	0.0	1.3 3	0.0	1.3 3 ; dih	CAI	CAJ	OAK	CAL
14	13	12	11	1	0.0	1.3 3	0.0	1.3 3 ; dih	CAM	CAL	OAK	CAJ
15	14	13	12	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	CAN	CAM	CAL	OAK
16	15	14	13	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	CAO	CAN	CAM	CAL
17	16	15	14	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	OAP	CAO	CAN	CAM
15	16	17	18	1	0.0	1.3 3	0.0	1.3 3 ; dih	CAN	CAO	OAP	CAQ
19	18	17	16	1	0.0	1.3 3	0.0	1.3 3 ; dih	CAR	CAQ	OAP	CAO
20	19	18	17	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	CAS	CAR	CAQ	OAP
21	20	19	18	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	CAT	CAS	CAR	CAQ
22	21	20	19	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	OAU	CAT	CAS	CAR
20	21	22	23	1	0.0	1.3 3	0.0	1.3 3 ; dih	CAS	CAT	OAU	CAV
24	23	22	21	1	0.0	1.3 3	0.0	1.3 3 ; dih	CAW	CAV	OAU	CAT
25	24	23	22	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	CAX	CAW	CAV	OAU
26	25	24	23	1	0.0	5.9 3	0.0	5.9 3 ; dih	CAY	CAX	CAW	CAV

27	26	25	24	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	OAZ	CAY	CAX	CW
25	26	27	28	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CAX	CAY	OAZ	CBA
29	28	27	26	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBB	CBA	OAZ	CAY
30	29	28	27	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBC	CBB	CBA	OAZ
31	30	29	28	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBD	CBC	CBB	CBA
32	31	30	29	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	OBE	CBD	CBC	CBB
30	31	32	33	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBC	CBD	OBE	CBF
34	33	32	31	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBG	CBF	OBE	CBD
35	34	33	32	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBH	CBG	CBF	OBE
36	35	34	33	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBI	CBH	CBG	CBF
37	36	35	34	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	OBJ	CBI	CBH	CBG
35	36	37	38	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBH	CBI	OBJ	CBK
39	38	37	36	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBL	CBK	OBJ	CBI
40	39	38	37	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBM	CBL	CBK	OBJ
41	40	39	38	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBN	CBM	CBL	CBK
42	41	40	39	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	OBO	CBN	CBM	CBL
40	41	42	43	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBM	CBN	OBO	CBP
44	43	42	41	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBQ	CBP	OBO	CBN
45	44	43	42	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBR	CBQ	CBP	OBO
46	45	44	43	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBS	CBR	CBQ	CBP
47	46	45	44	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	OBT	CBS	CBR	CBQ
45	46	47	48	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBR	CBS	OBT	CBU
49	48	47	46	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBV	CBU	OBT	CBS
50	49	48	47	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBW	CBV	CBU	OBT
51	50	49	48	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	CBX	CBW	CBV	CBU
52	51	50	49	1	0.0	5.9	3	0.0	5.9	3 ; dih	OBY	CBX	CBW	CBV
50	51	52	53	1	0.0	1.3	3	0.0	1.3	3 ; dih	CBW	CBX	OBY	HCJ

### A.3 Publikationen

- [1] Tusch, M.; Fels G., Molecular Modeling of Inclusion Complexes of Amylose and Synthetical Polymers, *4. German Conference on Chemoinformatics*, Goslar, 09.-11. Nov. **2008** (Posterbeitrag)
- [2] Tusch, M.; Krüger, J.; Fels, G., Structural Stability of V-Amylose Helices in Water-DMSO Mixtures Analyzed by Molecular Dynamics, *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, 7, 2919-2928

*»Incundi acti labores.«*

- Marcus Tullius Cicero -

*»So eine Arbeit wird eigentlich nie fertig,  
man muß sie für fertig erklären,  
wenn man nach Zeit und Umständen  
das möglichste getan hat.«*

- Johann Wolfgang von Goethe -

*»Wenn's denkst, ist eh zu spät.«*

- Gerd Müller -