

Dynamisches Protonierungsgleichgewicht der in Wasser gelösten Essigsäure**

Wei Gu, Tomaso Frigato, Tjerk P. Straatsma und Volkhard Helms*

Die biologischen Funktionen vieler Proteine hängen entscheidend mit Protonierungsgleichgewichten zusammen, z. B. die enzymatischen Reaktionen von Serinproteasen^[1–3] und Carboanhydrase^[4] oder die der membranständigen Protonenpumpen Bakteriorhodopsin,^[5] Cytochrom-*c*-Oxidase (COX)^[6,7] und F₀F₁-ATP-Synthase.^[8] Auch in vielen anderen Bereichen ist Protonentransfer (PT) von Bedeutung, z. B. bei der Permeation von Membranen in Wasserstoff-Brennstoffzellen oder in Polymeren.^[9] Trotz ihrer enormen Bedeutung sind viele Aspekte von PT-Reaktionen in Biomolekülen noch wenig verstanden. Da experimentelle Techniken auf grundsätzliche und/oder technische Schwierigkeiten stoßen, wenn es um die direkte Beobachtung von PT-Reaktionen geht, ist ihre Unterstützung durch numerische Methoden sehr wünschenswert.

Es gibt bereits mehrere numerische Methoden, mit denen man die pK_S-Werte von Aminosäureseitenketten berechnen und Proteinsimulationen bei konstantem pH-Wert durchführen kann.^[10–17] Diese Methoden nutzen z. B. nicht ganzzahlige Ladungen^[10] oder implizite Solvensmodelle,^[16,17] können daher jedoch den Protonenaustausch zwischen den titrierbaren Gruppen und der umgebenden wässrigen Lösung oder den Austausch zwischen verschiedenen titrierbaren Gruppen nicht explizit modellieren. Dies erschwert die Entschlüsselung von PT-Pfaden oder der Mechanismen von PT-Reaktionen.

Abhilfe schafft hier die dynamische Simulation expliziter Protonenaustauschreaktionen. Tuckerman et al. untersuchten ein gemeinsames Proton in Wasserstoffbrücken^[18] und ein

gelöstes, zusätzliches Proton in Wasser^[19] mit der Car-Parinello-Moleküldynamiksimulation (CPMD).^[20,21] Lobaugh und Voth untersuchten den Protonentransport in Wasser durch Simulation eines zusätzlichen Protons in einem Kasten mit Wassermolekülen^[22] mithilfe der Centroid-Moleküldynamikmethode^[23] und nutzten zudem ein empirisches Valenzbindungsmodell mit mehreren Zuständen (MS-EVB) für PT.^[24–26] Eine aktuelle Studie stellte ebenfalls die dynamische Simulation von pK_S-Werten für Aminosäureseitenkettenanaloge vor,^[27] in der die MS-EVB-Methode und die Umbrella-Sampling-Technik verwendet wurden.^[28,29] Die Abweichung zwischen dem dort berechneten Wert und dem experimentellen pK_S-Wert betrug 1–2 pK_S-Einheiten. CPMD kombiniert mit Metadynamik und „transition path sampling“ wurde weiterhin verwendet, um Profile der freien Enthalpie für die Deprotonierung von Essigsäure in Wasser zu berechnen.^[30] Theoretische Methoden wurden auch zur Untersuchung wichtiger PT-Reaktionen in Proteinsystemen genutzt, z. B. für den PT in Bakteriorhodopsin,^[31] in Gramicidin A,^[32,33] oder entlang einer Kette von Wassermolekülen im D-Pfad in COX^[34] und die Protonentranslokation in Carboanhydrase.^[35]

2001 stellten wir eine Simulationsmethode mit mittlerer Genauigkeit vor, die Q-HOP-MD-Methode, mit der man den dynamischen Protonentransport zwischen beliebigen titrierbaren Gruppen in biomolekularen Systemen untersuchen kann.^[36–39] In der Q-HOP-Methode werden die PT-Wahrscheinlichkeiten für jedes Protonen-Donor/Akzeptor-Paar während der MD-Simulation mithilfe eines semiempirischen Ansatzes berechnet (Details finden sich in den Hintergrundinformationen). Durch Vergleich der PT-Wahrscheinlichkeit mit einer Zufallszahl ergibt sich, ob der PT stattfinden soll oder nicht, und die Topologie des Systems wird vor dem nächsten Schritt der MD-Simulation demzufolge entweder modifiziert oder bleibt unverändert. Die Transferwahrscheinlichkeiten hängen vom momentanen Donor-Akzeptor-Abstand (R_{DA}) und vom Energieunterschied zwischen den beiden Minima an Donor und Akzeptor (E_{12}) ab. Diese Methode wurde erfolgreich eingesetzt, um den Protonenshuttle im grün fluoreszierenden Protein zu untersuchen^[40] und um den Mechanismus zu verstehen, der Aquaporin undurchlässig für Protonen macht.^[41]

Hier stellen wir die Anwendung von Q-HOP-MD auf die Berechnung des expliziten Protonierungsgleichgewichts der gelösten Essigsäure auf einer Zeitskala von 50 ns bei sinnvollen pH-Bedingungen (pH 1) vor. Der pK_S-Wert wird aus den relativen Häufigkeiten der protonierten und deprotonierten Zustände berechnet, die während einer 50 ns langen Q-HOP-MD-Simulation beobachtet wurden. Die Analyse der ohne Zwangsbedingungen durchgeführten MD-Simulation ermöglicht es zudem, die Mechanismen für das Protonen-

[*] W. Gu, Dr. T. Frigato, Prof. Dr. V. Helms
Zentrum für Bioinformatik
Universität des Saarlandes
66041 Saarbrücken (Deutschland)
Fax: (+49) 681-302-64180
E-Mail: volkhard.helms@bioinformatik.uni-saarland.de
Homepage: <http://gepard.bioinformatik.uni-saarland.de>
Dr. T. P. Straatsma
Computational Sciences and Mathematics Division
Pacific Northwest National Laboratory
Richland, WA 99352 (USA)

[**] Für diese Rechnungen wurde das am Pacific Northwest National Laboratory (PNNL; Washington, USA) entwickelte und vom US Department of Energy geförderte Programm NWChem in der Version 4.7 eingesetzt. Wir danken Elena Herzog (MPI für Biophysik, Frankfurt) für die Berechnung der *cis*-Konformation von Essigsäure sowie Dr. Michael Hutter und Dr. Tihamér Geyer für wertvolle Diskussionen. Die Rechnungen wurden mit Unterstützung des EMSL Grand Challenge Projects (Projekt gc3551) am PNNL durchgeführt.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

Hopping und die Triebkräfte der aktivierten PT-Prozesse zu identifizieren. Diese Untersuchung dient als Nachweis der prinzipiellen Eignung der Methode und liefert darüber hinaus detaillierte mechanistische Einblicke in atomistische Protonierungsgleichgewichte auf zwei unterschiedlichen Zeitskalen (Femto- und Nanosekunden).

Während der Q-HOP-MD-Simulation wurden zwei verschiedene Protonierungsgleichgewichte beobachtet. Abbildung 1 a,b zeigt die Position des „freien“ Protons während der ersten 10 ns und den Abstand zwischen dem Hydroniumion und der deprotonierten Essigsäure (in diesem Fall gehört das Proton zum Hydroniumion). (Die Ergebnisse für die gesamte Dauer der Simulation werden in Abbildung 5 in den Hintergrundinformationen vorgestellt.) Es lassen sich zwei Situationen unterscheiden: An der ersten Form des Protonierungsgleichgewichts sind lediglich das Essigsäuremolekül und ein benachbartes $\text{H}_2\text{O}/\text{H}_3\text{O}^+$, das mit Essigsäure eine H-Bindung eingeht, beteiligt. Die andere Form – „umherwanderndes Proton“ – betrifft das zusätzliche Proton und alle Wassermoleküle der Simulationsbox (Abbildung 1 c,d).

Mehr als 90 % aller PT-Vorgänge zählen zum ersten Fall (Abbildung 1 b). Obgleich das an die Essigsäure gebundene Proton energetisch günstiger ist, kann es durch Fluktuationen der Umgebung oft auf das gebundene Wassermolekül übertragen werden (siehe unten). Meistens hüpfte es danach fast sofort wieder zur Essigsäure zurück. Während dieses schnellen Protonenaustauschs ist die Besetzung der protonierten Essigsäure wesentlich höher (97 %) als die des Hydroniumions. Dies entspricht dem energetischen Unterschied zwischen den beiden Zuständen und stimmt sehr gut mit den Ergebnissen von Park et al. überein.^[30]

In manchen Fällen des schnellen Protonenaustauschs hüpfte das Proton jedoch nicht zur Essigsäure zurück, sondern entwich zu einem anderen Wassermolekül, das ebenfalls eine H-Bindung mit dem Hydroniumion bildet. Setzt sich dieser Prozess fort, fängt das Proton an, in der Wasserbox umherzuwandern (Spitzen in Abbildung 1 a). Solche Prozesse dauern von einigen bis zu mehreren hundert Pikosekunden, bevor das Proton schließlich wieder zur Essigsäure zurückhüpfte, und wurden mehrere Male pro Nanosekunde beobachtet. Die gesamte so verbrachte Zeit betrug etwas weniger als 7 % der gesamten Simulationszeit. Wir haben dies noch nicht für größere Boxen überprüft, jedoch dürfte die Dauer dieser Abschnitte proportional zur Größe der Simulationsbox sein. Abbildung 1 c,d zeigt charakteristische Schnappschüsse beider Fälle.

In Abbildung 2 ist die radiale Verteilungsfunktion für Hydroniumionen um die beiden Carboxy-O-Atome der Essigsäure dargestellt. Der erste prominente Peak bei 2.4–2.6 Å resultiert aus dem schnellen Protonenaustausch zwischen Essigsäure und den gebundenen Wassermolekülen. Bei 4–5 Å erscheint ein weiterer kleiner Peak, der zur ersten Solvathülle des $\text{AcO}^-/\text{H}_3\text{O}^+$ -Paares gehört. Die Verteilungsfunktion wird dann zwischen 5 und 12 Å flach, bevor sie für noch größere Abstände langsam auf null absinkt. Die flache Verteilung ist kennzeichnend für eine gleichförmige Verteilung des Hydroniumions, solange das Proton in der Simulationsbox umherwandert. Sofern die Größe der Box wesentlich größer als 5 Å ist (jenseits des zweiten Peaks liegt), ermöglicht es uns die

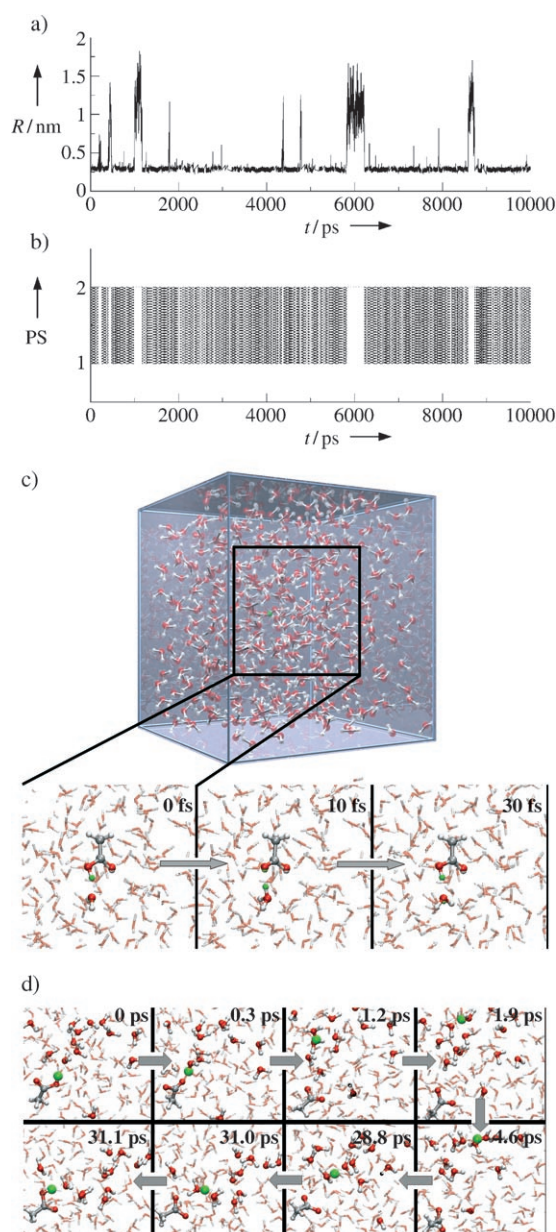


Abbildung 1. a) Zeitliche Entwicklung des Abstands R zwischen dem O_δ -Atom der Essigsäure und dem OW-Atom von H_3O^+ . b) Zeitliche Entwicklung der Protonierungszustände (PS) des Systems aus (a) in abstrahierter Form. 1: Zustand, in dem das Proton an Essigsäure gebunden ist; 2: Zustand, in dem das Proton an H_3O^+ gebunden ist. c) Schnappschüsse während einer Phase „schnellen Austauschs“ (oben: Simulationsbox, in der das Donor/Akzeptor-Paar vergrößert dargestellt ist). d) Schnappschüsse einer typischen Wanderphase, die 31 ps dauerte und an der 16 Wassermoleküle beteiligt waren. Gezeigt sind nur die vier ersten und die drei letzten Transferprozesse sowie die beteiligten Moleküle; O: rot, transferierte Protonen: grün.

flache Verteilung, die Dauer der Wanderabschnitte abzuschätzen. Der Abfall der Verteilungsfunktion jenseits von 12 Å ist auf die Eckeneffekte des kubischen Kastens mit Abmessungen von 24 Å zurückzuführen. Die gestrichelten und durchgezogenen Linien zeigen die getrennt berechneten radialen Verteilungsfunktionen um die beiden Carboxy-O-

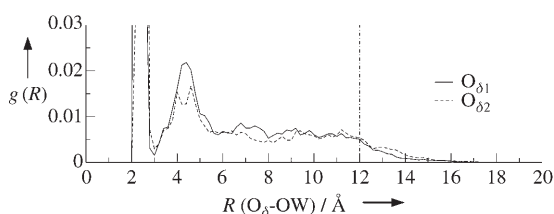


Abbildung 2. Normierte radiale Verteilung der Hydroniumionen um die beiden Carboxy-O-Atome der Essigsäure. (Die komplette Abbildung ist in den Hintergrundinformationen gezeigt.)

Atome der Essigsäure. Der Unterschied zwischen beiden Linien gibt uns einen Anhaltspunkt für die Größe des statistischen Fehlers der Simulation.

Abbildung 3a illustriert eine typische Anordnung für den PT zwischen Essigsäure und $\text{H}_3\text{O}^+/\text{H}_2\text{O}$. Um den Mechanismus des Protonenaustausches besser zu verstehen, betrachten wir das H-Bindungsnetzwerk aus dem Donor-Akzeptor-Paar und drei Wassermolekülen, die entweder mit dem Donor- oder dem Akzeptoratom H-Bindungen bilden. Wat1 und Wat2 kennzeichnen die beiden nächsten Wassermoleküle, die (als Akzeptoren) mit dem Hydroniumion H-Bin-

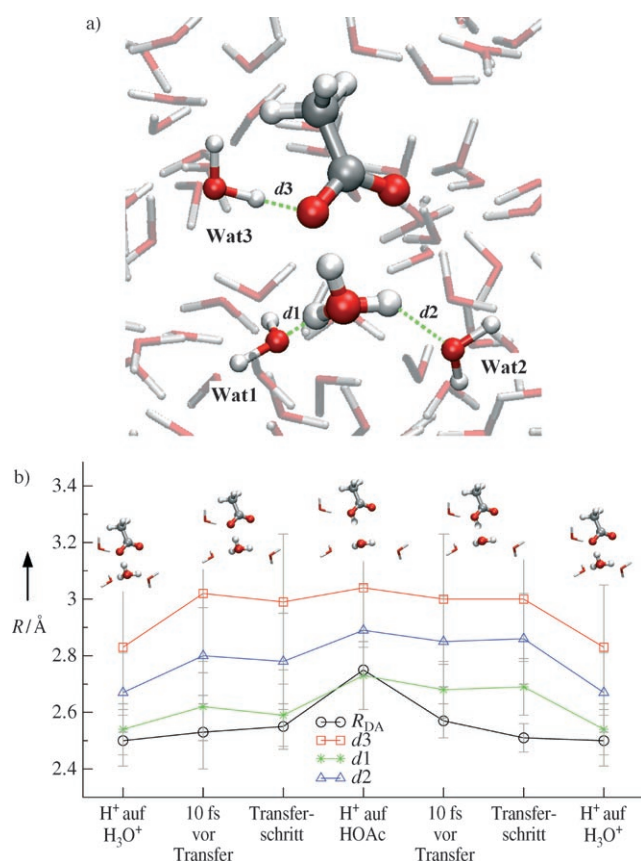


Abbildung 3. a) Schnappschuss einer typischen Transferanordnung während der Simulation. Gezeigt sind der Donor (H_3O^+) und der Akzeptor (AcOH) sowie die drei nächsten Wassermoleküle in einer Atom- und Bindungs-Darstellung. O: rot, H: weiß. Gestrichelte grüne Linien: mögliche H-Brücken. b) Entwicklung der Abstände R_{DA} und $d1$ – $d3$ in den verschiedenen Transferschritten. R_{DA} : O_δ – $\text{OW}(\text{H}_3\text{O}^+)$, $d1$: $\text{OW}(\text{H}_3\text{O}^+)$ – OW1 , $d2$: $\text{OW}(\text{H}_3\text{O}^+)$ – OW2 , $d3$: O_δ – OW3 .

dungen bilden. Wat3 steht für das nächste Wassermolekül, das mit dem O_δ -Atom der Essigsäure als Donor eine H-Bindung bildet. Abbildung 3b zeigt die mittleren Abstände zwischen den H-gebundenen Atomen in verschiedenen Protonierungszuständen sowie die Konformationen unmittelbar vor dem Protonenaustausch. Die drei Abstände zwischen den OW-Atomen der Wassermoleküle Wat1–Wat3 und ihren H-Bindungspartnern sind mit $d1$ – $d3$ gekennzeichnet. R_{DA} gibt den Abstand zwischen Donor- und Akzeptoratom an.

Wir beginnen die Diskussion auf der linken Seite in einer Anordnung, in der sich das Proton auf H_3O^+ befindet und sich Wat1–Wat3 sehr nahe bei ihren H-Bindungspartnern befinden [$d1$: (2.54 ± 0.09) Å; $d2$: (2.67 ± 0.14) Å; $d3$: (2.83 ± 0.22) Å]. Auch die Donor- und Akzeptoratom liegen sehr nahe beieinander [R_{DA} : (2.50 ± 0.09) Å]. Diese engen Kontakte stabilisieren diesen Systemzustand mit getrennten Ladungen. 10 fs vor sowie direkt beim PT zur Essigsäure sind jedoch alle drei Wassermoleküle weiter vom Donor-Akzeptor-Paar entfernt als zuvor [$d1$: (2.62 ± 0.12) (10 fs vor dem Transfer), (2.59 ± 0.11) Å (beim Transferschritt); $d2$: (2.80 ± 0.17) , (2.78 ± 0.17) Å; $d3$: (3.02 ± 0.24) , (3.00 ± 0.25) Å]. Auch das Donor- und Akzeptoratom sind an diesem Punkt etwas weiter voneinander entfernt [R_{DA} : (2.53 ± 0.13) , 2.55 ± 0.08 Å]. Diese gemeinsame Bewegung destabilisiert den gegenwärtigen Protonierungszustand und begünstigt den Protonenaustausch. Nach Transfer des Protons auf die Essigsäure passt sich die Umgebung schnell an den neuen Protonierungszustand an [$d1$: (2.73 ± 0.12) Å; $d2$: (2.89 ± 0.16) Å; $d3$: (3.04 ± 0.24) Å]. Auffällig ist der deutlich größere R_{DA} -Wert, der von (2.55 ± 0.08) auf (2.75 ± 0.14) Å steigt. Die hauptsächliche Triebkraft für den Rücktransfer des Protons von Essigsäure zu Wasser scheint wiederum ein deutlich kleinerer R_{DA} -Wert in Kombination mit kleinen Abständen der umgebenden Wassermoleküle zu sein. Diese Ergebnisse ähneln sehr denen von Park et al.,^[30] die eine Bildung des Kontaktpaars nach Umorientierung des Lösungsmittels beobachteten.

Wie erwähnt, ist Essigsäure während etwa 90 % der gesamten Simulationsdauer protoniert. Für die gegenwärtige Simulationsanordnung beträgt die Konzentration des freien Protons (H_3O^+) 0.1 mol L^{-1} , solange das Proton an H_3O^+ gebunden ist, und 0 mol L^{-1} , solange es an Essigsäure gebunden ist. Nach der klassischen Definition des pK_S -Werts [Gl. (1)] kann der pK_S -Wert von Essigsäure aus den in unserer

$$\text{pK}_\text{S} = \lg \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (1)$$

Simulation beobachteten Häufigkeiten zu etwa 3.0 abgeschätzt werden. Durch Aufteilung der gesamten Trajektorie in 25 Fenster zu je 2 ns Länge erhält man eine mittlere relative Häufigkeit der AcOH von 0.90 ± 0.09 (siehe Hintergrundinformationen). Dies entspricht pK_S -Werten zwischen 2.4 und 4.5. Zum Vergleich: Der experimentelle pK_S -Wert von Essigsäure beträgt 4.7. Da keine Simulationsparameter angepasst wurden, um den experimentellen pK_S -Wert zu reproduzieren, sehen wir den berechneten pK_S -Wert als einen sehr annehmbaren Wert an.

Gewiss ermöglichen es andere numerische Methoden, mittlere pK_S -Werte wesentlich genauer und mit erheblich geringerem numerischem Aufwand zu berechnen;^[14,16,17] allerdings liefert das Q-HOP-Konzept außer dem pK_S -Wert vor allem auch Einblicke in zeitabhängige Prozesse und ermöglicht es, die Triebkräfte der aktivierten PT-Prozesse zu identifizieren und Ideen für mögliche mechanistische PT-Pfade abzuleiten. Falls gewünscht, können einzelne Schritte entlang dieser so entdeckten Pfade dann mit viel größerer Genauigkeit mithilfe von Elektronenstrukturrechnungen untersucht werden, die mit Ratentheorien wie der Theorie des variationalen Übergangszustands (VTST)^[42] gekoppelt werden.

Auch der Diffusionskoeffizient des zusätzlichen Protons bietet sich für einen Vergleich zwischen unserer Simulation und experimentellen Beobachtungen an: Der von uns berechnete Wert $[(9.29 \pm 1.43) \times 10^{-1} \text{ Å}^2 \text{ ps}^{-1}]$ stimmt hervorragend mit dem experimentellen Wert $9.3 \times 10^{-1} \text{ Å}^2 \text{ ps}^{-1}$ überein. Auch für unterschiedlich große Fenster ergeben sich wenig gestreute Werte zwischen 9.0×10^{-1} und $9.5 \times 10^{-1} \text{ Å}^2 \text{ ps}^{-1}$ (siehe Hintergrundinformationen), was belegt, dass der Wert im Wesentlichen unabhängig von der Größe der Fenster ist. Die gute Übereinstimmung ist ein Beleg für die korrekte Beschreibung der diffusiven Dynamik des zusätzlichen Protons durch die Q-HOP-MD-Simulation.

Unser Hauptanliegen war der Nachweis, dass man mit modernen Simulationsmethoden das dynamische Protonierungsgleichgewicht zwischen dem Analogon einer Aminosäureseitenkette und einer wässrigen Lösungsumgebung simulieren kann. Anders als bei früheren Arbeiten^[27,30] war es bei unserer Simulation nicht notwendig, einen bestimmten PT-Pfad vorzugeben; stattdessen ergeben sich der Pfad und die Triebkräfte aus der Simulation. Man kann die bestehende Simulationsmethode daher leicht auf Protein- oder Polymersysteme erweitern, in denen das Proton längere Strecken zurücklegen muss und der PT-Pfad nicht vorher bekannt ist.

Die Änderungen von $d1$ – $d3$ in verschiedenen Protonierungszuständen des Systems (Abbildung 3b) sowie die dynamische Entwicklung von $d1$ – $d3$ in den zwei Arten von Protonierungsgleichgewichten (Abbildung 7a in den Hintergrundinformationen) lassen darauf schließen, dass die Fluktuationen des H-Bindungsnetzwerkes um das Donor-Akzeptor-Paar wichtige Triebkräfte für die Aktivierung des PT-Prozesses sind. Ein weiteres entscheidendes Kriterium für den erfolgreichen Protonenaustausch ist der Donor-Akzeptor-Abstand R_{DA} . Ein Hüpfen tritt nur dann ein, wenn R_{DA} und $d1$ – $d3$ bestimmte Bedingungen erfüllen. Im Vakuum ist die protonierte Essigsäure bei großen R_{DA} -Werten energetisch günstiger als das Hydroniumion, nicht so deutlich jedoch bei kleinerem R_{DA} -Wert. In wässriger Umgebung kann das gut entwickelte H-Bindungsnetzwerk mit umgebenden Wassermolekülen eine weitere Stabilisierung des Hydroniumions bewirken, sodass ein Protonenaustausch stattfindet. Fluktuationen dieses H-Bindungsnetzwerkes bewirken jedoch eine Schwächung dieses Effekts und begünstigen den Rücktransfer des Protons zur Essigsäure.

In früheren theoretischen Untersuchungen an dem gelösten zusätzlichen Proton in Wasser^[19,43] wurde vorgeschlagen, dass beim Protonenaustausch zwischen benachbarten Wassermolekülen eine H-Bindung zwischen der ersten und

der zweiten Hydrathülle des Hydroniumions induziert durch Fluktuationen aufbricht.^[19] Diese Fluktuation des H-Bindungsnetzwerkes destabilisiert zuweilen den Donor (H_3O^+) und stabilisiert den protonierten Akzeptor, wodurch letztlich die PT-Prozesse stattfinden.^[43] Die in unserer Simulation beobachtete Transferstatistik passt gut zu diesem Mechanismus. Weiterhin können auch die Änderungen des R_{DA} -Werts in unserer Simulation mit den Fluktuationen des H-Bindungsnetzwerkes gekoppelt sein.

Erstmals wurde das dynamische Protonierungsgleichgewicht zwischen dem Analogon einer Aminosäureseitenkette und der Wasserumgebung in numerischen Simulationen ohne Zwangsbedingungen beobachtet. Zwei verschiedene Protonenaustauschreaktionen wurden binnen einer 50 ns dauernden Q-HOP-MD-Simulation identifiziert. Während des überwiegenden Teils der Simulationszeit fand ein schneller Protonenaustausch zwischen der Essigsäure und dem benachbarten Wassermolekül statt, wobei das Proton meist an die Essigsäure gebunden war. Mehrere Male pro Nanosekunde verließ das Proton die Essigsäure, wurde zwischen verschiedenen Wassermolekülen ausgetauscht und kehrte schließlich wieder zur Essigsäure zurück. Als Triebkraft für die aktivierten Prozesse stellten sich die Fluktuationen des Wasserstoffbrückennetzwerkes sowie der Abstand zwischen Donor- und Akzeptoratom heraus. Der aus den relativen Häufigkeiten der protonierten und deprotonierten Zustände berechnete pK_S -Wert der Essigsäure sowie die Diffusionskonstante des zusätzlichen Protons in Wasser stimmen gut mit den experimentellen Werten überein. Da der numerische Aufwand der Q-HOP-Methode ähnlich wie derjenige klassischer MD-Simulationen ist, sind Simulationen auf dieser Zeitskala für vielerlei Anwendungen an organischen und biomolekularen Systemen sowie in den Polymerwissenschaften möglich.

Methoden

Die Segmente für protonierte und deprotonierte Essigsäure wurden basierend auf den Segmenten für protonierte und deprotonierte Asparaginsäure im AMBER-Kraftfeld^[44] konstruiert. Dabei wurde die C_α – C_β -Bindung gelöscht und das C_α -Atom durch ein H_β -Atom ersetzt. Alle Parameter für die kovalenten und nichtkovalenten Wechselwirkungen des neu hinzugefügten H_β -Atoms wurden auf dieselben Werte wie die der beiden anderen H_β -Atome gesetzt. Die verbleibende atomare Partialladung wurde zu der des C_β -Atoms addiert, damit die Nettoladung des Segments einen ganzzahligen Wert von null für die protonierte Essigsäure und von $-1e$ für die deprotonierte Essigsäure annimmt. Die hier verwendeten AMBER- und Q-HOP-Parametrisierungen für Essigsäure sind detailliert in den Hintergrundinformationen aufgeführt.^[45]

Die Q-HOP-MD-Simulationen sowie die Single-Point-Rechnungen für die Anpassung der Ladungen erfolgten mit einer modifizierten Version des NWChem-4.7-Programms und dem AMBER99-Kraftfeld.^[44] In dieser Implementierung wird die Particle-Mesh-Ewald(PME)-Methode^[46] für die Berechnung langreichweitiger elektrostatischer Wechselwirkungen während der Moleküldynamik verwendet. Zur Bestimmung der Umgebungskorrektur von E_{12}^{env} (siehe Hintergrundinformationen) wurden alle Coulomb-Wechselwirkungen zwischen dem Donor-Akzeptor-Paar und allen anderen Atomen der Simulationsbox berechnet. In den Q-HOP-MD-Simulationen wurden das AcOH – H_2O -Paar und das AcO^- – H_3O^+ -Paar jeweils in kubischen Boxen mit SPC/E-Wassermolekülen^[47] und 24 Å

Kantenlänge solvatisiert. Dasselbe gilt für die MD-Simulationen, in denen günstige Hopping-Konfigurationen erzeugt wurden. Alle Koordinatensätze wurden zunächst über 500 Schritte energieminiert (steepest descent), wobei Q-HOP abgeschaltet war. Anschließend wurden das Lösungsmittel und die modellierten Residuen vor der Q-HOP-MD-Simulation mit einer gewöhnlichen MD-Simulation von 100 ps Dauer bei einer Temperatur von 300 K relaxiert. Daraufhin wurden für jedes System zwei Q-HOP-MD-Simulationen von jeweils 10 ns Dauer durchgeführt. Nach der Feststellung, dass beide Systeme sehr ähnliche Ergebnisse lieferten, wurde die vom AcO^- - H_3O^+ -Paar aus gestartete Simulation bis zu einer Gesamtdauer von 50 ns fortgesetzt. Alle gezeigten Analysen beruhen auf dieser 50 ns dauernden Simulation. Während der Simulation wurden die Temperatur (300 K) und der Druck (10^5 Pa) stets schwach an ein externes Bad gekoppelt.^[48] Mithilfe des SHAKE-Algorithmus^[49] wurden die Längen aller Bindungen, an denen Wasserstoffatome beteiligt sind, konstant gehalten. Nichtkovalente Wechselwirkungen wurden innerhalb eines Abschneideradius von 10 Å berechnet, und die langreichweitigen elektrostatischen Wechselwirkungen wurden, wie zuvor erwähnt, mit der PME-Methode berechnet. Der Zeitschritt betrug in allen Simulationen 1 fs. Alle zehn MD-Schritte wurde auf mögliche PT-Vorgänge geprüft. Damit alle Hopping-Vorgänge aufgezeichnet werden konnten, wurden Schnappschüsse ebenfalls alle zehn Schritte gespeichert. Alle Wassermoleküle sowie die Essigsäure wurden als mögliche Donoren/Akzeptoren behandelt. Im Prinzip konnten alle Protonen der Wassermoleküle jederzeit transferiert werden.

Die Teile der Trajektorie bis auf die Phasen schnellen Austausches, die ein wanderndes Hydroniumion enthalten, wurden in elf große Fenster von jeweils 200 ps Länge unterteilt. Für jedes dieser Fenster wurde anschließend die Verschiebung des zusätzlichen Protons innerhalb eines 10 ps großen Schiebefensters berechnet. Daraus ergab sich mit der Einstein-Beziehung die Diffusionskonstante gemäß Gleichung (2), wobei die Mittelung über ein großes Fenster erfolgte.

$$\langle D = \frac{|r(t) - r(0)|^2}{6t} \rangle \quad (2)$$

Eingegangen am 1. September 2006,

veränderte Fassung am 8. Januar 2007

Online veröffentlicht am 15. März 2007

Stichwörter: Acidität · Carbonsäuren · Moleküldynamik · Protonentransfer · Reaktionsmechanismen

- [1] A. Warshel, G. Narayzabo, F. Sussman, J. K. Hwang, *Biochemistry* **1989**, 28, 3629.
- [2] G. S. Li, B. Maigret, D. Rinaldi, M. F. Ruiz-Lopez, *J. Comput. Chem.* **1998**, 19, 1675.
- [3] H. Umeyama, S. Hirano, S. Nakagawa, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, 81, 6266.
- [4] D. S. Lu, G. A. Voth, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 4006.
- [5] H. Luecke, B. Schobert, H. T. Richter, J. P. Cartailler, J. K. Lanyi, *Science* **1999**, 286, 255.
- [6] S. Iwata, C. Ostermeier, B. Ludwig, H. Michel, *Nature* **1995**, 376, 660.
- [7] H. Michel, *Biochemistry* **1999**, 38, 15129.
- [8] J. P. Abrahams, A. G. W. Leslie, R. Lutter, J. E. Walker, *Nature* **1994**, 370, 621.
- [9] S. S. Jang, S. T. Lin, T. Cagin, V. Molinero, W. A. Goddard, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 10154.
- [10] U. Borjesson, P. H. Hunenberger, *J. Chem. Phys.* **2001**, 114, 9706.
- [11] R. Burgi, P. A. Kollman, W. F. van Gunsteren, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **2002**, 47, 469.
- [12] A. M. Baptista, P. J. Martel, S. B. Petersen, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **1997**, 27, 523.
- [13] A. Onufriev, D. A. Case, G. M. Ullmann, *Biochemistry* **2001**, 40, 3413.
- [14] J. Mongan, D. A. Case, J. A. McCammon, *J. Comput. Chem.* **2004**, 25, 2038.
- [15] M. S. Lee, F. R. Salsbury, C. L. Brooks, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2004**, 56, 738.
- [16] A. M. Walczak, J. M. Antosiewicz, *Phys. Rev. E* **2002**, 66, 051911.
- [17] A. M. Baptista, V. H. Teixeira, C. M. Soares, *J. Chem. Phys.* **2002**, 117, 4184.
- [18] M. E. Tuckerman, D. Marx, M. L. Klein, M. Parrinello, *Science* **1997**, 275, 817.
- [19] D. Marx, M. E. Tuckerman, J. Hutter, M. Parrinello, *Nature* **1999**, 397, 601.
- [20] D. Marx, M. Parrinello, *J. Chem. Phys.* **1996**, 104, 4077.
- [21] M. E. Tuckerman, D. Marx, M. L. Klein, M. Parrinello, *J. Chem. Phys.* **1996**, 104, 5579.
- [22] J. Lobaugh, G. A. Voth, *J. Chem. Phys.* **1996**, 104, 2056.
- [23] J. S. Cao, G. A. Voth, *J. Chem. Phys.* **1994**, 100, 5093.
- [24] U. W. Schmitt, G. A. Voth, *J. Phys. Chem. B* **1998**, 102, 5547.
- [25] U. W. Schmitt, G. A. Voth, *J. Chem. Phys.* **1999**, 111, 9361.
- [26] T. J. F. Day, A. V. Soudackov, M. Cuma, U. W. Schmitt, G. A. Voth, *J. Chem. Phys.* **2002**, 117, 5839.
- [27] C. M. Maupin, K. F. Wong, A. V. Soudackov, S. Kim, G. A. Voth, *J. Phys. Chem. A* **2006**, 110, 631.
- [28] C. Pangali, M. Rao, B. J. Berne, *J. Chem. Phys.* **1979**, 71, 2975.
- [29] G. N. Patey, J. P. Valleau, *J. Chem. Phys.* **1975**, 63, 2334.
- [30] J. M. Park, A. Laio, M. Iannuzzi, M. Parrinello, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 11318.
- [31] A. N. Bondar, M. Elstner, S. Suhai, J. C. Smith, S. Fischer, *Structure* **2004**, 12, 1281.
- [32] R. Pomes, B. Roux, *Biophys. J.* **1996**, 71, 19.
- [33] R. Pomes, B. Roux, *Biophys. J.* **1998**, 75, 33.
- [34] J. C. Xu, G. A. Voth, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, 102, 6795.
- [35] S. Braun-Sand, M. Strajbl, A. Warshel, *BioPhys. J.* **2004**, 87, 2221.
- [36] M. A. Lill, V. Helms, *J. Chem. Phys.* **2001**, 115, 7985.
- [37] M. A. Lill, V. Helms, *J. Chem. Phys.* **2001**, 115, 7993.
- [38] M. A. Lill, V. Helms, *J. Chem. Phys.* **2001**, 114, 1125.
- [39] M. A. Lill, M. C. Hutter, V. Helms, *J. Phys. Chem. A* **2000**, 104, 8283.
- [40] M. A. Lill, V. Helms, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 2778.
- [41] B. L. de Groot, T. Frigato, V. Helms, H. Grubmüller, *J. Mol. Biol.* **2003**, 333, 279.
- [42] A. D. Isaacson, D. G. Truhlar, *J. Chem. Phys.* **1982**, 76, 1380.
- [43] H. Lapid, N. Agmon, M. K. Petersen, G. A. Voth, *J. Chem. Phys.* **2005**, 122, 014506.
- [44] W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 2309.
- [45] E. Herzog, T. Frigato, V. Helms, C. R. D. Lancaster, *J. Comput. Chem.* **2006**, 27, 1534.
- [46] H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera, T. P. Straatsma, *J. Phys. Chem.* **1987**, 91, 6269.
- [47] H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera, T. P. Straatsma, *J. Phys. Chem.* **1987**, 91, 6269.
- [48] H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola, J. R. Haak, *J. Chem. Phys.* **1984**, 81, 3884.
- [49] J. P. Ryckaert, G. Ciccotti, H. J. C. Berendsen, *J. Comput. Phys.* **1977**, 23, 327.