

QM/MM-Methoden für biomolekulare Systeme

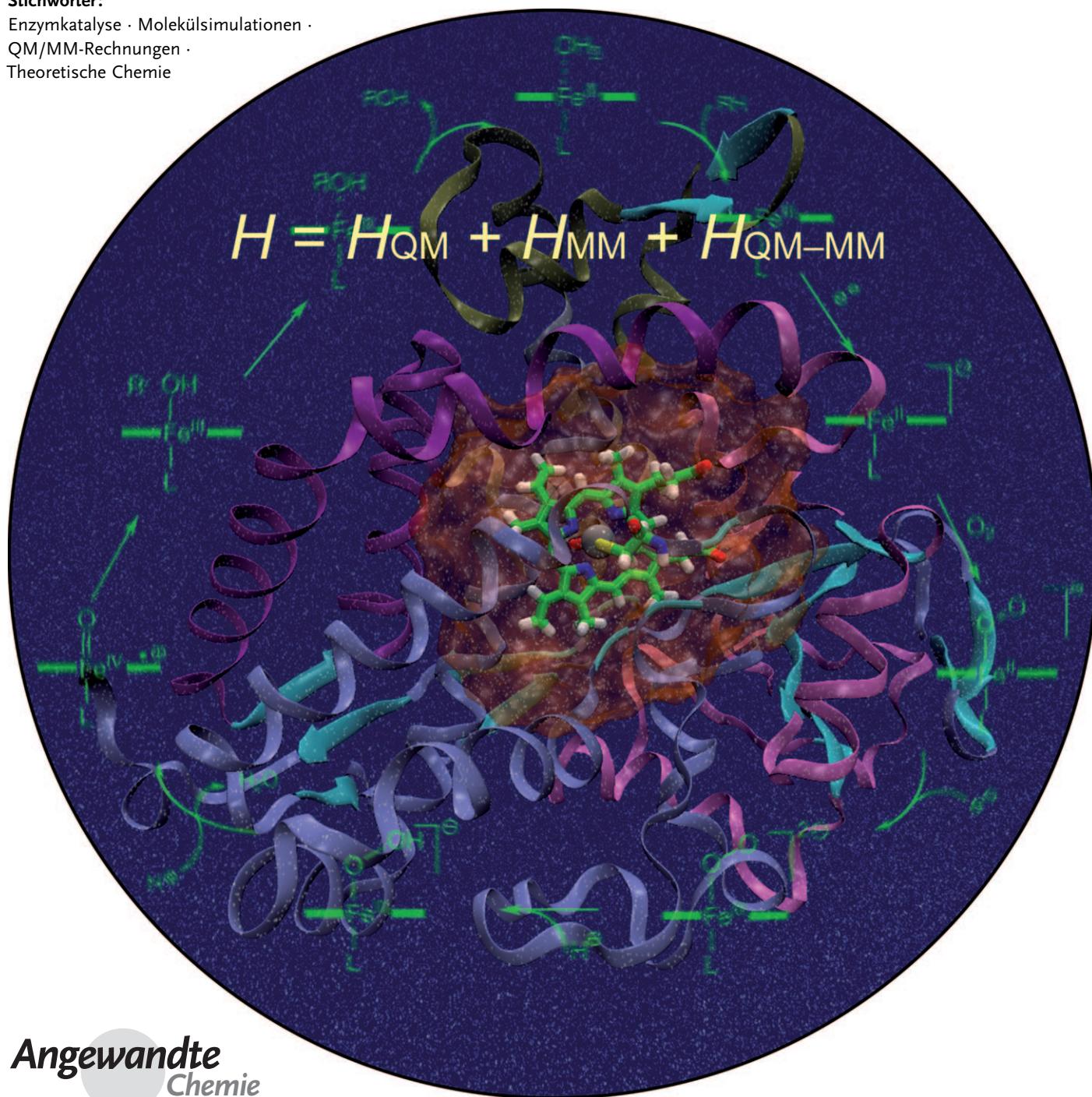
Hans Martin Senn* und Walter Thiel*

Stichwörter:

Enzymkatalyse · Molekülsimulationen ·

QM/MM-Rechnungen ·

Theoretische Chemie



Kombinierte quantenmechanische/molekülmechanische (QM/MM)-Ansätze sind zur Methode der Wahl bei der Modellierung von Reaktionen in biomolekularen Systemen geworden. Einerseits braucht man quantenmechanische Methoden, um chemische Reaktionen und andere elektronische Prozesse wie Ladungstransfer oder elektronische Anregungen zu beschreiben; allerdings bleibt deren Anwendbarkeit auf Systeme mit bis zu einigen hundert Atomen beschränkt. Andererseits fordert die Größe und konformative Komplexität von Biopolymeren Methoden, mit denen man Systeme mit 100 000 oder mehr Atomen behandeln und über eine Zeitskala von einigen Nanosekunden simulieren kann. Dies ist mit effizienten kraftfeldbasierten molekularmechanischen Verfahren möglich. Zur Beschreibung großer Biomoleküle bietet es sich daher an, quantenmechanische Methoden für die chemisch aktive Region (z. B. Substrate und Cofaktoren in einer enzymatischen Reaktion) zu nutzen und mit einer molekularmechanischen Behandlung der Umgebung (z. B. Protein und Solvens) zu kombinieren. Die resultierenden Ansätze werden gemeinhin als kombinierte oder Hybrid-QM/MM-Methoden bezeichnet. Sie ermöglichen die Modellierung reaktiver biomolekularer Systeme mit vertretbarem Rechenaufwand und der nötigen Genauigkeit.

1. Einleitung

Der wegweisende Beitrag von Warshel und Levitt aus dem Jahr 1976^[1] markiert den Beginn der QM/MM-Ära. Diese Autoren führten das QM/MM-Konzept ein, präsentierte eine Methode mit vielen Merkmalen, die auch heute noch als essenziell gelten, und wendeten sie auf eine enzymatische Reaktion an. Der QM/MM-Ansatz fand erst viel später, in den 1990er Jahren, weitere Verbreitung, beginnend mit einer Arbeit von Field, Bash und Karplus aus dem Jahr 1990,^[2] die im Detail die Kopplung semiempirischer QM-Methoden mit dem CHARMM-Kraftfeld beschreibt und sorgfältig die Genauigkeit und Effektivität der QM/MM-Behandlung in Bezug auf Ab-initio- und experimentelle Daten evaluiert. Im vergangenen Jahrzehnt haben zahlreiche Übersichtsartikel die Weiterentwicklung des QM/MM-Ansatzes und dessen Anwendung auf biomolekulare Fragestellungen dokumentiert.^[3–39] Aus jüngster Zeit seien hier der Überblick über aktuelle methodische Aspekte von Lin und Truhlar^[36] und ein umfangreiches Buchkapitel der beiden Autoren des vorliegenden Aufsatzes erwähnt.^[38] Zahlreiche Artikel haben, mit unterschiedlicher Akzentuierung, Darstellungen über QM/MM- und andere Berechnungsmethoden für biomolekulare Systeme mit Anwendungsstudien kombiniert.^[22,27,35,37,38] Neuere Übersichten befassen sich mit der Verwendung von QM/MM-Verfahren im Zusammenhang mit modernen kinetischen Theorien, auch unter Berücksichtigung von Quanteneffekten bei der Kernbewegung,^[25,40,41] und mit der Berechnung von freien Energien und Reaktionspfaden,^[39,42] jeweils mit Schwerpunkt auf enzymatischen Reaktionen.

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	1221
2. Die QM/MM-Methode	1222
3. Optimierungs- und Simulations-techniken für QM/MM	1228
4. Übersicht über QM/MM-Anwendungen	1231
5. Aktuelle biomolekulare QM/MM-Studien	1238
6. Zusammenfassung und Ausblick	1238

Der QM/MM-Ansatz ist inzwischen als ein wertvolles Werkzeug nicht nur für die Modellierung von Biomolekülen, sondern auch für die Untersuchung von organischen/anorganischen^[43–60] und Festkörpersystemen^[61–68] sowie von Prozessen in explizitem Lösungsmittel^[4,56,57,69–77] etabliert. Der vorliegende Aufsatz wird sich vollständig auf das biomolekulare Gebiet konzentrieren. Wir beginnen in Abschnitt 2 mit einer Einführung in grundlegende methodische Merkmale des QM/MM-Ansatzes und behandeln die Themen QM-MM-Aufteilung, die geeignete Wahl von QM- und MM-Methode, die Behandlung der QM-MM-Wechselwirkung und der QM/MM-Grenzregion. Abschnitt 3 widmet sich Fragen aus den Bereichen QM/MM-Geometrieeoptimierung, QM/MM-Molekulardynamik (MD) und Freie-Energie-Simulationstechniken. Abschnitt 4 bietet einen Überblick über Anwendungen, in denen sich der QM/MM-Ansatz als besonders nützlich erwiesen hat. Die dort besprochenen drei Fallstudien zeigen exemplarisch, welche Einblicke aus QM/MM-Rechnungen an enzymatischen Reaktionen gewonnen werden können. In Abschnitt 5 geben wir einen ausführlichen tabellarischen Überblick über QM/MM-Studien an biomolekularen Systemen für die Zeit von 2006 bis 2007, welcher eine entsprechende frühere Übersicht^[38] auf den neuesten Stand bringt. Wir schließen mit einer Zusammenfassung und einem Ausblick in Abschnitt 6.

[*] Dr. H. M. Senn

WestCHEM und Department of Chemistry, University of Glasgow
Glasgow G12 8QQ (Großbritannien)

E-Mail: senn@chem.gla.ac.uk

Prof. Dr. W. Thiel

Max-Planck-Institut für Kohlenforschung
45470 Mülheim an der Ruhr (Deutschland)

2. Die QM/MM-Methode

2.1. Allgemeines

2.1.1. Die QM-MM-Unterteilung

Die Aufteilung eines Systems in einen QM- und MM-Teil ist in Abbildung 1 skizziert. Das Gesamtsystem (\mathbb{S}) wird unterteilt in eine innere Region (\mathbb{I}), die quantenmechanisch behandelt wird, und eine äußere Region (\mathbb{O}), die durch ein



Abbildung 1. Unterteilung eines Gesamtsystems (\mathbb{S}) in ein inneres (\mathbb{I}) und äußeres Subsystem (\mathbb{O}). Der Rand um die innere Region stellt die Grenzregion dar.

Kraftfeld beschrieben wird. Die innere und äußere Region werden daher als QM- bzw. MM-Region bezeichnet. Wegen der (starken) QM-MM-Wechselwirkungen kann die Energie des Gesamtsystems nicht einfach als die Summe der Energien der Subsysteme berechnet werden. Vielmehr müssen Koppelsterme berücksichtigt werden, wobei an der Grenze zwischen den Subsystemen besondere Sorgfalt notwendig ist, insbesondere wenn die Grenze eine kovalente Bindung durchschneidet. Der Ausdruck Grenzregion bezeichnet relativ vage jene Region, in der die QM- und MM-Prozeduren in irgendeiner Weise modifiziert oder erweitert werden. In Abhängigkeit vom QM/MM-Kopplungsschema kann diese Region zusätzliche Atome (Linkatome) enthalten, die das QM-Subsystem absättigen, aber nicht zum Gesamtsystem gehören, oder sie kann Atome mit besonderen Eigenschaften enthalten, die sowohl in die QM- als auch die MM-Rechnung eingehen.

Wir werden uns in diesem Aufsatz ausschließlich mit statischen QM/MM-Unterteilungen beschäftigen, bei denen die Grenze zwischen der QM- und MM-Region zu Beginn der Rechnung definiert wird und anschließend unverändert

bleibt. Eine Übersicht über QM/MM-Kopplungsmethoden mit variabler Grenze wird in Lit. [78] und den darin zitierten Arbeiten gegeben. Sie ermöglichen die Simulation von Prozessen, bei denen sich die aktive Region verschiebt, beispielsweise die Propagation von Defekten in Materialien oder die Bewegung solvatisierter Ionen.

2.1.2. Wahl der QM- und MM-Methoden

Der QM/MM-Formalismus erlaubt die Kombination fast aller QM- und MM-Methoden. Die Wahl der QM-Methode folgt dabei denselben Kriterien wie in reinen QM-Studien und wird daher hier nicht weiter behandelt. Grundsätzlich muss das QM-Programm aber in der Lage sein, SCF(self-consistent field)-Rechnungen in der Gegenwart von externen Punktladungen auszuführen, die im Falle der elektronischen oder polarisierten Einbettung das MM-Ladungsmodell repräsentieren (siehe Abschnitt 2.2.2). In der Praxis wird in vielen aktuellen biomolekularen QM/MM-Anwendungen die Dichtefunktionaltheorie (DFT) als QM-Methode genutzt, bei der Rechenaufwand und Genauigkeit in einem günstigen Verhältnis stehen. Die traditionell oft verwendeten semiempirischen QM-Methoden bleiben aus Effizienzgründen weiterhin wichtig für QM/MM-Molekulardynamik. Die semi-empirische, DFT-inspirierte SCC-DFTB-Methode (self-consistent charge density-functional tight-binding)^[79] findet zunehmend Anwendung in biomolekularen QM/MM-Studien.^[80–83] Am anderen Ende des Spektrums in Bezug auf Genauigkeit und Rechenaufwand befinden sich die Post-Hartree-Fock-ab-initio-Elektronenkorrelationsmethoden, wie Møller-Plesset-Störungstheorie (z.B. zweiter Ordnung, MP2) oder Coupled-Cluster-Theorie (z.B. CCSD mit Ein- fach- und Doppelanregungen oder CCSD(T) mit der zusätzlichen störungstheoretischen Behandlung von Dreifachanregungen). Die Entwicklung^[84–91] von linear skalierenden lokalen Korrelationsmethoden (z.B. LMP2, LCCSD) hat die Größe der Systeme, die mit solchen Methoden behandelt werden können, signifikant auf bis zu 50–100 Atome erweitert. Daher kann die höhere Genauigkeit korrelierter Ab-initio-Methoden nun auch bei biomolekularen QM/MM-Studien genutzt werden,^[92–94] zumindest bei Einzelpunkt-Energieberechnungen an fixierten Geometrien.



Walter Thiel studierte von 1966 bis 1971 Chemie an der Universität Marburg und promovierte dort 1973 (bei A. Schweig). Nach einem Postdoc-Aufenthalt an der University of Texas in Austin (bei M. J. S. Dewar) habilitierte er sich 1981 an der Universität Marburg. Er wurde 1983 Professor für theoretische Chemie an der Universität Wuppertal und 1992 Professor für Chemie an der Universität Zürich. Seit 1999 ist er Direktor am Max-Planck-Institut für Kohlenforschung und seit 2001 Honorarprofessor an der Universität Düsseldorf. Seine Forschungsinteressen umfassen viele Themenbereiche der theoretischen Chemie und der Computerchemie, mit Schwerpunkt auf großen Molekülen, Spektroskopie und Katalyse.



Hans Martin Senn ist Lord Kelvin/Adam Smith-Forschungsstipendiat im Departement Chemie der University of Glasgow. Er erwarb Diplom und Doktortitel an der Eidgenössischen Technischen Hochschule (ETH) in Zürich. 2001–2002 war er als Postdoktorand an der Universität Calgary (Kanada) bei T. Ziegler und von 2002 bis 2007 als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Max-Planck-Institut für Kohlenforschung bei W. Thiel. Seine Forschungsinteressen umfassen QM/MM-Methoden und deren Anwendung auf enzymatische Reaktionen, Übergangsmetallchemie und homogene Katalyse sowie die Modellierung von Lösungsmittelleffekten.

Obwohl es sich nicht um eine quantenmechanische Methode im herkömmlichen Sinne handelt, gehen wir an dieser Stelle auch auf die empirische Valenzbindungs methode (EVB) ein.^[95–98] Dieser Ansatz basiert auf einer Valenzbindungsbeschreibung des reaktiven Teils des Systems. Die Energien der wechselwirkenden diabatischen (Resonanz)-Zustände werden durch einfache empirische Potentialaus drücke dargestellt, welche die Wechselwirkungen der Ladungen mit ihrer Umgebung mit einschließen; die EVB-Energien werden so kalibriert, dass sie experimentelle oder Ab-initio-Daten reproduzieren. Die EVB-Methode wurde mit großem Erfolg angewendet, besonders von Warshel und Mitarbeitern, um den Einfluss von Lösungsmitteln und Proteinumgebungen auf Reaktionen zu simulieren.

Bei der Wahl der MM-Methode stehen zahlreiche biomolekulare Kraftfelder zur Verfügung. Beliebte Beispiele sind AMBER,^[99–102] CHARMM,^[103–107] GROMOS,^[108,109] und OPLS-AA.^[110–112] Der Ausdruck „biomolekular“ umfasst typischerweise Proteine^[113,114] und in den meisten Fällen Nucleinsäuren,^[115,116] seltener auch Kohlenhydrate^[117] oder Lipide. Übersichten über diese Kraftfelder sind in der Literatur zu finden.^[118–120]

2.1.3. Der MM-Energieausdruck

Falls nicht anderweitig angemerkt, umfasst die klassische Funktion der Potentialenergie (das „Kraftfeld“) im Folgenden Bindungsterme (typischerweise Bindungsdehnungen, Winkelbeugungen, Torsionen und Out-of-plane-Deformatio nen oder uneigentliche Torsionen), Van-der-Waals-Wechselwirkungen auf der Basis von Lennard-Jones-Potentialen und Coulomb-Wechselwirkungen zwischen festen Punktladun gen. Ein typischer MM-Energieausdruck dieser Art ist in Gleichung (1) angegeben.

$$\begin{aligned} E_{\text{MM}} = & \sum_{\text{Bindungen}} k_d(d - d_0)^2 + \sum_{\text{Winkel}} k_\theta(\theta - \theta_0)^2 \\ & + \sum_{\text{Torsionen}} k_\phi[1 + \cos(n\phi + \delta)] \\ & + \sum_{\substack{\text{ungebundene} \\ \text{Paare AB}}} \left\{ \varepsilon_{AB} \left[\left(\frac{\sigma_{AB}}{r_{AB}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{AB}}{r_{AB}} \right)^6 \right] + \frac{1}{4\pi\varepsilon_0} \frac{q_A q_B}{r_{AB}} \right\} \end{aligned} \quad (1)$$

d , θ und ϕ bezeichnen Bindungslängen, Winkel und Torsionen; d_0 und θ_0 sind die entsprechenden Gleichgewichtswerte; n und δ sind die Multiplizität und Phase der Torsion. Die zugehörigen Kraftkonstanten sind k_d , k_θ und k_ϕ . In der Summe über die ungebundenen Paare ist r_{AB} der Abstand zwischen den Atomen A und B; ε_{AB} und σ_{AB} sind Lennard-Jones-Parameter; q_A und q_B sind die atomaren Partialladungen, und ε_0 ist die relative Permittivität (Dielektrizitäts konstante) des Vakuums. Für ausführlichere Informationen zu Kraftfeldern verweisen wir auf die Literatur.^[107,118,119,121]

2.2. Der QM/MM-Energieausdruck

2.2.1. Subtraktive und additive QM/MM-Schemata

Bei der Anwendung eines subtraktiven QM/MM-Schemas werden 1) eine MM-Rechnung des Gesamtsystems, 2) eine QM-Rechnung des inneren Subsystems und 3) eine MM-Rechnung des inneren Subsystems durchgeführt. Die QM/MM-Energie des Gesamtsystems wird berechnet durch Summation von (1) und (2) sowie Subtraktion von (3), um Doppelzählungen zu vermeiden:

$$E_{\text{OM/MM}}^{\text{sub}}(\mathbb{S}) = E_{\text{MM}}(\mathbb{S}) + E_{\text{QM}}(\mathbb{I} + \mathbb{L}) - E_{\text{MM}}(\mathbb{I} + \mathbb{L}) \quad (2)$$

Hier und später bezeichnet ein Subskript die Art der Rechnung, während das zugehörige System in Klammern angegeben ist. Gleichung (2) ist für den allgemeinen Fall formuliert, dass das innere Subsystem durch Linkatome \mathbb{L} abgesättigt wird ($\mathbb{I} + \mathbb{L}$).

Das subtraktive QM/MM-Schema kann konzeptionell als ein MM-Ansatz angesehen werden, bei dem eine bestimmte Region ausgeschnitten und auf dem QM-Niveau beschrieben wird. Dieser Ansatz ist sehr einfach: Es werden keine expliziten QM-MM-Kopplungsterme benötigt, die herkömmlichen QM- und MM-Prozeduren können ohne Modifikation genutzt werden, und die Implementation ist daher problemlos möglich. Die Subtraktion korrigiert Artefakte, die von den Linkatomen verursacht werden, unter der Voraussetzung, dass das Kraftfeld das QM-Potential an den Linkatomen adäquat reproduziert. Das subtraktive Schema hat den Nachteil, einen kompletten Satz an MM-Parametern auch für die innere Region zu benötigen, der unter Umständen nur schwer oder mit hohem Aufwand zu erhalten ist. Ein weiterer und schwerwiegender Nachteil ist, dass die Kopplung zwischen den Subsystemen ausschließlich auf MM-Niveau behandelt wird. Dies ist besonders problematisch für die elektrostatische Wechselwirkung, die dann typischerweise als Coulomb-Wechselwirkung zwischen festen Atomladungen in den QM- und MM-Regionen beschrieben wird.

Als Beispiel für ein subtraktives QM/MM-Schema erwähnen wir die IMOMM-Methode (integrated molecular orbital/molecular mechanics) von Morokuma und Mitarbeitern.^[45] Sie wurde später auf die Kombination zweier QM-Methoden (IMOMO^[122]) erweitert und schließlich für n Schichten verallgemeinert (typischerweise $n=3$), wobei jede Schicht auf einem beliebigen QM- oder MM-Niveau beschrieben werden kann (ONIOM, our n -layered integrated molecular orbital and molecular mechanics).^[123–125] Spätere Ergänzungen des ONIOM-Ansatzes^[126–128] erlauben die Aufnahme der MM-Ladungen in den QM-Hamilton-Operator (elektrostatische Einbettung, siehe Abschnitt 2.2.2) und erweitern ihn daher über ein streng subtraktives Schema hinaus. Ryde hat ebenfalls einen subtraktiven QM/MM-Ansatz mit elektrostatischer Einbettung beschrieben.^[129,130]

Der grundlegende Energieausdruck eines additiven QM/MM-Schemas lautet:

$$E_{\text{QM/MM}}^{\text{add}}(\mathbb{S}) = E_{\text{MM}}(\mathbb{O}) + E_{\text{QM}}(\mathbb{I} + \mathbb{L}) + E_{\text{QM-MM}}(\mathbb{I}, \mathbb{O}) \quad (3)$$

Im Unterschied zu Gleichung (2) wird die MM-Rechnung

nun ausschließlich für das äußere Subsystem durchgeführt, und es taucht ein expliziter Kopplungsterm, $E_{QM-MM}(\mathbb{I}, \mathbb{O})$, auf, der die Wechselwirkung zwischen den Subsystemen beschreibt. Das abgesättigte innere Subsystem, $\mathbb{I} + \mathbb{L}$, wird wie im subtraktiven Schema auf dem QM-Niveau behandelt. Die Mehrheit der momentan verwendeten QM/MM-Schemata gehört zum additiven Typ [Gl. (3)].

Die exakte Form des QM-MM-Kopplungsterms E_{QM-MM} definiert eine spezifische QM/MM-Methode. In Übereinstimmung mit den Wechselwirkungen, die auch im Kraftfeld berücksichtigt werden [Gl. (1)], umfasst der Kopplungsterm Bindungs-, Van-der-Waals- und elektrostatische Wechselwirkungen zwischen den QM- und den MM-Atomen:

$$E_{QM-MM}(\mathbb{I}, \mathbb{O}) = E_{QM-MM}^b + E_{QM-MM}^{vdW} + E_{QM-MM}^{el} \quad (4)$$

Die folgenden Abschnitte behandeln die einzelnen Beiträge zu E_{QM-MM} detaillierter. Wir beginnen mit dem elektrostatischen Kopplungsterm, der meist der wichtigste und auch technisch anspruchsvollste ist. Die Van-der-Waals-Wechselwirkungen und die Bindungsterme werden danach zusammen diskutiert. Abschließend präsentieren wir unterschiedliche Methoden, die entwickelt wurden, um kovalente Bindungen durch die QM-MM-Grenze zu behandeln.

2.2.2. Die elektrostatische QM-MM-Wechselwirkung

Die elektrostatische Kopplung zwischen der QM-Ladungsdichte und dem Ladungsmodell in der MM-Region kann unterschiedlich genau beschrieben werden. Die Kopplungsmodelle werden im Wesentlichen durch das Ausmaß der gegenseitigen Polarisierung charakterisiert^[131, 132] und entsprechend als mechanische Einbettung (Modell A), elektrostatische Einbettung (Modell B) und polarisierte Einbettung (Modelle C und D) klassifiziert.

Im Falle der mechanischen Einbettung werden die elektrostatischen QM-MM-Wechselwirkungen analog zur MM-MM-Elektrostatik behandelt. Das Ladungsmodell der MM-Methode (meist feste atomare Punktladungen, andere Ansätze wie z. B. Bindungsdipole sind möglich) wird einfach auf die QM-Region ausgedehnt. Dies ist konzeptionell einfach und mit geringem Rechenaufwand verbunden. Allerdings gibt es einige wichtige Nachteile und Beschränkungen: 1) Die Ladungen in der äußeren Region wechselwirken nicht mit der QM-Ladungsdichte, die daher nicht direkt von der elektrostatischen Umgebung beeinflusst (polarisiert) wird. 2) Wenn sich die Ladungsverteilung in der QM-Region verändert, z. B. im Laufe einer Reaktion, erschiene es chemisch sinnvoll, die Ladungen zu aktualisieren. Dies würde jedoch Unstetigkeiten auf der Potentialenergiefläche hervorrufen. 3) Die Herleitung passender MM-Punktladungen für die innere Region ist nicht trivial und kann mit nennenswertem Aufwand verbunden sein. 4) Diese MM-Ladungen müssen nicht notwendigerweise der wahren Ladungsverteilung in der inneren Region entsprechen, da die MM-Ladungen keine klare physikalische Bedeutung haben, sondern nur im Rahmen des Kraftfelds eine insgesamt ausgewogene Beschreibung bieten müssen.

Die Hauptnachteile der mechanischen Einbettung können eliminiert oder wenigstens gemildert werden, wenn man die QM-Rechnung in Gegenwart eines MM-Ladungsmodells durchführt. Dies kann durch die Einbindung der MM-Punktladungen in den QM-Hamilton-Operator geschehen, der dann um zusätzliche Einelektronenterme erweitert wird. In atomaren Einheiten:

$$\hat{H}_{QM-MM}^{el} = - \sum_i^N \sum_{j \in \mathbb{O}}^L \frac{q_j}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_j|} + \sum_{\alpha \in \mathbb{I} + \mathbb{L}}^M \sum_{j \in \mathbb{O}}^L \frac{q_j Q_\alpha}{|\mathbf{R}_\alpha - \mathbf{R}_j|} \quad (5)$$

Hier sind q_j die MM-Punktladungen und Q_α die Kernladungen der QM-Atome; \mathbf{r}_i , \mathbf{R}_j und \mathbf{R}_α bezeichnen die Positionen der Elektronen, Punktladungen und QM-Atome. Die Indizes i , J und α laufen über die N Elektronen, L Punktladungen bzw. M QM-Kerne.

Bei dieser elektrostatischen oder elektronischen Einbettung kann sich die elektronische Struktur der inneren Region an die Ladungsverteilung der Umgebung anpassen; sie wird automatisch durch diese polarisiert. Die elektrostatischen QM-MM-Wechselwirkungen werden auf dem QM-Niveau behandelt, was im Vergleich zur mechanischen Einbettung eine genauere Beschreibung bietet. Die elektrostatische Einbettung erhöht natürlich auch den Rechenaufwand, besonders bei der Berechnung der Coulomb-Kräfte, die aus der Wechselwirkung zwischen der QM-Ladungsdichte und den (vielen) MM-Punktladungen resultieren. Spezielle Sorgfalt ist an der QM-MM-Grenze geboten, wo sich die MM-Ladungen in unmittelbarer Nähe zur QM-Elektronendichte befinden und diese daher überpolarisieren können. Dieses Problem tritt insbesondere dann auf, wenn die QM-MM-Grenze eine kovalente Bindung durchschneidet.

Zu klären bleibt die Frage der Kompatibilität zwischen dem MM-Ladungsmodell und der QM-Elektronendichte. Wie bereits zuvor angemerkt, entsprechen die elektrostatischen MM-Parameter nicht unbedingt der wahren Ladungsverteilung in einem Molekül. Es ist daher im Prinzip nicht legitim, die wahre Ladungsverteilung aus einer QM-Rechnung mit dem sorgfältig parametrisierten MM-Ladungsmodell zu verknüpfen. Dennoch hat sich diese Vorgehensweise etabliert, und die Erfahrungen zeigen, dass die Resultate grundsätzlich vernünftig sind, zumindest für Kombinationen der QM-Dichte mit einem der häufig eingesetzten biomolekularen Kraftfelder. Der offensichtliche Reiz dieses Ansatzes liegt darin, dass die MM-Partialladungen sofort verfügbar sind und effizient in den QM-Hamilton-Operator integriert werden können. Die elektrostatische Einbettung ist das derzeit populärste Einbettungsschema, besonders für biomolekulare Anwendungen.

Da die elektrostatische Einbettung die Wechselwirkungen der polarisierbaren QM-Dichte mit den festen MM-Ladungen berücksichtigt, ist der nächste logische Schritt, ein flexibles MM-Ladungsmodell einzuführen, das von der QM-Ladungsverteilung polarisiert wird. Die polarisierten Einbettungsschemata können unterteilt werden in Ansätze, bei denen das polarisierbare MM-Ladungsmodell vom elektrischen Feld der QM-Region polarisiert wird, aber nicht auf die QM-Dichte zurückwirkt (Modell C), und vollständig selbstkonsistente Formulierungen, die eine gegenseitige Polarisie-

rung erlauben, indem das polarisierbare MM-Modell in den QM-Hamilton-Operator aufgenommen wird (Modell D). Im Rahmen klassischer Simulationen existieren verschiedene Modelle zur Behandlung der Polarisierung,^[118,133–142] bislang gibt es aber noch keine allgemein etablierten polarisierbaren Kraftfelder für biomolekulare Systeme. Die Entwicklung polarisierbarer Kraftfelder für Proteine ist noch nicht abgeschlossen.^[101,143–154] Obwohl bereits die ersten QM/MM-Ansätze^[1,155] und frühe semiempirische QM/MM-Implementierungen^[131,156–158] eine polarisierte Einbettung benutzt haben, sind biomolekulare Anwendungen dennoch selten geblieben; eine bemerkenswerte Ausnahme ist eine QM/MM-Untersuchung der angeregten Zustände des photosynthetischen Reaktionszentrums mit selbstkonsistenter Berücksichtigung der MM-Polarisierung.^[156] Ansonsten waren QM/MM-Rechnungen mit polarisierter Einbettung im Wesentlichen auf die Untersuchung expliziter Solvatation (insbesondere Hydratation) beschränkt, wobei das gelöste Molekül auf dem QM-Niveau und das Solvens durch ein polarisierbares Kraftfeld beschrieben wurde.^[16,157–165] Eine vor kurzem publizierte polarisierte QM/MM-Implementierung gibt die induzierten Dipolmomente in der MM-Region durch ein „Charge on spring“-Modell wieder.^[164] Ein anderer Ansatz beschreibt die MM-Polarisierung mittels induzierter Ladungen, die durch eine QM-basierte Analyse verteilter Multipole bestimmt werden.^[166] Schließlich soll noch ein kürzlich vorgeschlagener Ansatz erwähnt werden,^[167,168] bei dem nur die MM-Atome an der Grenze polarisiert werden und der daher effizient sein sollte.

Eine genaue Beschreibung der elektrostatischen Kräfte der Umgebung auf das QM-Subsystem ist essenziell, um Biomoleküle realistisch simulieren zu können. Die explizite Berücksichtigung aller elektrostatischen Wechselwirkungen stellt hohe Anforderungen an die Rechenleistung. Die Nutzung simpler Cutoffs für die QM-MM-Elektrostatik ist aufgrund der langreichweiten Natur der Coulomb-Wechselwirkung problematisch.^[169–171] Zuverlässige und effiziente Beschreibungen der langreichweiten elektrostatischen Wechselwirkungen sind in klassischen MD-Simulationen seit langem etabliert, finden aber erst seit kurzem zunehmende Aufmerksamkeit im Kontext von QM/MM-Methoden. Wir erwähnen eine linear skalierende Particle-Mesh-Ewald-Methode für QM/MM-Simulationen unter periodischen Randbedingungen,^[171] eine Ladungsskalierungsprozedur basierend auf der Elektrostatik eines dielektrischen Kontinuums, bei der nur eine begrenzte Zahl an expliziten Solvensmolekülen berücksichtigt wird und die Ladungen so skaliert werden, dass der abschirmende Effekt des Solvens imitiert wird,^[172] die variationelle elektrostatische Projektionsmethode,^[173,174] die auf einen geringeren Aufwand für die Berechnung der elektrostatischen Kräfte auf die beweglichen Atome durch die fixierte externe Umgebung mittels einer stochastischen Grenze zielt,^[175–178] und die Adaption des verallgemeinerten Solvensrandpotentials (GSBP)^[179] für QM/MM-Rechnungen.^[169,180,181]

2.2.3. Weitere gebundene und ungebundene QM-MM-Wechselwirkungen

Zusätzlich zu den elektrostatischen Wechselwirkungen, die im vorhergehenden Abschnitt diskutiert wurden, gibt es Bindungs- und Van-der-Waals-Beiträge zum QM-MM-Kopplungsterm [Gl. (4)]. Deren Behandlung ist deutlich einfacher, da sie unabhängig von der Art des QM/MM-Schemas (subtraktiv oder additiv) ausschließlich auf MM-Niveau erfolgt.

Die Van-der-Waals-Wechselwirkungen werden normalerweise durch ein Lennard-Jones-Potential [Gl. (1)] beschrieben, sodass geeignete Lennard-Jones-Parameter für die QM-Atome in der inneren Region benötigt werden. Diese können häufig von ähnlichen MM-Atomtypen übernommen werden, es ist jedoch nicht ungewöhnlich, dass bestimmte QM-Atome von den Atomtypen und den Parametrisierungsregeln des Kraftfeldes nicht erfasst werden. Auch wenn passende Lennard-Jones-Parameter für eine gegebene Konfiguration existieren, können QM-Atome ihren Charakter, und damit ihren MM-Atomtyp z.B. im Laufe einer Reaktion verändern. Daraus ergibt sich die Frage, ob der Parametersatz entlang der Reaktionskoordinate gewechselt werden soll, quasi von einer „Eduktbeschreibung“ hin zu einer „Produktbeschreibung“. In der Praxis werden diese Komplikationen aber stark gemildert durch die kurzreichweite Natur der Van-der-Waals-Wechselwirkung. Während alle Atome der QM-Region Van-der-Waals-Wechselwirkungen mit allen Atomen der MM-Region eingehen, tragen nur jene in unmittelbarer Nähe zur Grenze signifikant bei. Bei Besorgnis über potentielle Fehler aufgrund nicht-optimaler Lennard-Jones-Parameter können die nachteiligen Effekte minimiert werden, indem man die QM/MM-Grenze weiter von den problematischen QM-Atomen weg bewegt.

Friesner und Mitarbeiter^[182] haben Lennard-Jones-Parameter für QM-Atome an QM-Daten von kleinen wasserstoffverbrückten Aminosäuremodellen reoptimiert. Die so erhaltenen Lennard-Jones-Radien sind 5–10% größer als jene des zugrundeliegenden Kraftfeldes; die Tiefe des Potentialminimums blieb unverändert. Die resultierende Zunahme der Van-der-Waals-Abstoßung kompensiert die ebenfalls zu starke elektrostatische QM-MM-Anziehung aufgrund der Überpolarisierung an der Grenze. Ein spezieller Satz von Lennard-Jones-Parametern für die B3LYP/AMBER-Kombination wurde vor kurzem vorgestellt.^[183] Cui und Mitarbeiter^[184] konnten jedoch zeigen, dass thermodynamische Größen in kondensierter Phase (z.B. freie Energien), die auf der Basis von QM/MM-Simulationen berechnet wurden, eher unempfindlich in Bezug auf die QM-MM-van-der-Waals-Parameter sind, wohingegen ein leichter Einfluss auf strukturelle Details um die QM-Region herum feststellbar war.

Hinsichtlich der QM-MM-van-der-Waals-Kopplung sind subtraktive und additive Schemata identisch. Im additiven Schema werden nur Paare mit je einem Atom im inneren und äußeren Subsystem in $E_{\text{QM-MM}}^{\text{vdW}}$ berücksichtigt. Bei einem subtraktiven Schema bleiben die exakt gleichen Terme nach der Subtraktion erhalten.

Die formalen Vorbehalte gegen die Nutzung von Standard-MM-Parametern für QM-MM-Wechselwirkungen betreffen auch die bindenden Wechselwirkungen (Bindungsdehnungen, Winkelbeugungen, Torsionen usw.). In der Praxis wird pragmatisch trotzdem der Standard-MM-Parametersatz beibehalten und falls nötig um zusätzliche Bindungsterme erweitert, sofern diese nicht von den Parametrisierungsregeln des Kraftfeldes abgedeckt werden.

2.3. Kovalente Bindungen durch die QM/MM-Grenze

2.3.1. Übersicht über Grenzschemata

Dieser Abschnitt befasst sich mit den unterschiedlichen Ansätzen, die entwickelt wurden, um kovalente Bindungen durch die QM-MM-Grenze zu behandeln. Um die Diskussion zu vereinfachen, führen wir zuerst Konventionen für die Bezeichnung der Atome an der QM-MM-Grenze ein, gezeigt in Abbildung 2. Die QM- und MM-Atome, die direkt mitein-

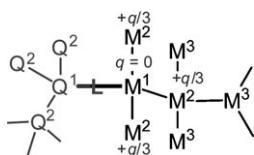


Abbildung 2. Bezeichnung der Atome an der Grenze zwischen der inneren und äußeren Region. Die Partialladungen illustrieren das Ladungsverschiebungsschema. Die ursprüngliche MM-Ladung q auf M^1 wird gelöscht und gleichmäßig über die M^2 -Atome verteilt. Zusätzliche Ladungspaare werden in der Nähe der M^2 -Atome platziert, um die ursprünglichen M^1 - M^2 -Dipole wiederherzustellen (nicht gezeigt).

ander verbunden sind, werden als Q^1 und M^1 bezeichnet und manchmal auch Grenz-, Rand- oder Verbindungsatom genannt. Die MM-Atome in der ersten Schicht, die direkt mit M^1 verbunden sind, werden als M^2 bezeichnet. Die Atome in der darauffolgenden Schicht, die von M^1 zwei Bindungen entfernt sind, heißen M^3 . Die weiteren Bezeichnungen folgen dem Molekülgraphen von M^1 nach außen. Die entsprechenden Bezeichnungen werden auch auf der QM-Seite angewendet: Die Atome Q^2 sind eine Bindung entfernt von Q^1 , die Atome Q^3 sind zwei Bindungen entfernt usw. Bei Anwendung eines Linkatomschemas wird die durchschnittene Bindung von Q^1 durch ein Linkatom L abgesättigt. Zur Vorsicht weisen wir darauf hin, dass Ausdrücke wie Link-, Grenz-, Absättigungs- oder Verbindungsatome in der Literatur nicht einheitlich definiert sind und ihre Verwendung bei verschiedenen Autoren variiert.

Am einfachsten ist die QM/MM-Grenzregion zu beschreiben, wenn die Subsysteme so definiert werden können, dass die Grenze keine kovalenten Bindungen durchschneidet. Dies ist trivial bei Untersuchungen mit expliziter Solvatation, in denen normalerweise ein gelöstes QM-Molekül von MM-Solvensmolekülen umgeben ist. Eine derartig vorteilhafte Situation ergibt sich unter Umständen auch für biomolekulare Systeme, z. B. falls Substrat und Cofaktor einer enzymatischen Reaktion nicht kovalent an das Enzym gebunden sind. In vielen Fällen ist es jedoch unvermeidbar, dass die QM/

MM-Grenze eine kovalente Bindung durchschneidet. In diesem Fall muss drei Punkten Aufmerksamkeit geschenkt werden: 1) Die durchtrennte Bindung am QM-Atom Q^1 muss abgesättigt werden, da es völlig unrealistisch wäre, eine abgeschnittene QM-Region zu beschreiben (und diese Bindung somit als homolytisch oder heterolytisch gebrochen zu behandeln). 2) Bei der elektrostatischen oder polarisierten Einbettung muss der Überpolarisierung der QM-Dichte durch die MM-Ladungen nahe der Grenze, besonders bei Verwendung von Linkatomen, vorgebeugt werden. 3) Die gebundenen MM-Terme mit Atomen aus beiden Subsystemen müssen so selektiert werden, dass Doppelzählungen von Wechselwirkungen vermieden werden. Insgesamt ist eine ausgewogene Beschreibung der QM-MM-Wechselwirkungen an der Grenze zwischen den Subsystemen anzustreben. In der Literatur finden sich im Wesentlichen drei unterschiedliche Klassen von Grenzschemata:

- Die Linkatom-Schemata führen ein zusätzliches Atom L ein (meist ein Wasserstoffatom), das nicht zum realen System gehört. Es ist kovalent mit Q^1 verbunden und sättigt die freie Valenz ab.
- In den Grenzatom-Schemata wird das MM-Atom M^1 durch ein spezielles Grenzatom ersetzt, das sowohl in die QM- als auch die MM-Rechnung eingeht. Auf der QM-Seite imitiert es die durchschnittene Bindung und nach Möglichkeit auch den elektronischen Charakter des MM-Rests, der an Q^1 gebunden ist. In der MM-Rechnung verhält es sich wie ein normales MM-Atom.
- Schemata mit lokalisierten Orbitalen platzieren Hybridorbitale an der Grenze und fixieren diese. Sie dienen dazu, die QM-Region abzusättigen und die durchschnittene Bindung zu ersetzen.

Im Allgemeinen können mögliche Artefakte durch eine geeignete Wahl der Grenze minimiert werden. Es ist offensichtlich, dass die QM/MM-Grenze vom chemisch aktiven Bereich so weit entfernt sein sollte, wie dies im Rahmen des Rechenaufwands (bestimmt durch die Größe der QM-Region) praktikabel ist. QM-Atome, die an Bindungsbrüchen oder -bildungen partizipieren, sollten nicht an bindenden Kopplungstermen beteiligt sein.^[128] Da die Diedersterme maximal zwei Bindungen weit in die innere Region hineinreichen (in Abhängigkeit vom genutzten Grenzschemata), sollten solche Atome zur Sicherheit mindestens drei Bindungen von der Grenze entfernt sein. Die durchschnittene Bindung sollte unpolar und nicht an konjugativen Wechselwirkungen beteiligt sein. Eine gute Stelle für einen Schnitt sind aliphatische, „unschuldige“ C-C-Bindungen, wohingegen z. B. Amidbindungen mit partiell Doppelbindungscharakter weniger geeignet sind. Es sollte vermieden werden, durch MM-Ladungsgruppen zu schneiden, da dadurch eine künstliche Nettoladung in unmittelbarer Nähe zur QM-Dichte verursacht wird. Schließlich sollte die Gesamtladung der MM-Atome, die durch den QM-Teil ersetzt werden, neutral sein.

2.3.2. Linkatome

Die Methode der Linkatome, die bereits in frühen QM/MM-Untersuchungen angewendet wurde,^[2,155] ist konzeptio-

nell einfach: Die freie Valenz, die am Q^1 -Atom durch die QM/MM-Unterteilung entsteht, wird durch ein zusätzliches Atom abgesättigt, das kovalent mit Q^1 verbunden ist (siehe Abbildung 2). Dieses Linkatom L ist meist ein Wasserstoffatom, es können jedoch alle einwertigen Atome oder Gruppen genutzt werden. Die QM-Rechnungen werden dann mit einem elektronisch gesättigten System durchgeführt, das aus dem inneren Subsystem und den Linkatomen besteht, $\text{II} + \text{L}$. Die $Q^1\text{-M}^1$ -Bindung wird auf dem MM-Niveau beschrieben. Die Einführung eines zusätzlichen Atoms, das nicht zum realen System gehört, ruft jedoch einige Probleme hervor, die beachtet werden müssen: 1) Jedes Linkatom erzeugt drei künstliche strukturelle Freiheitsgrade, die im realen System nicht vorhanden sind. 2) Das Linkatom, und damit die QM-Elektronendichte, befindet sich räumlich sehr nahe am MM-Randatom M^1 , sodass die Punktladung auf M^1 die QM-Dichte bei elektrostatischer oder polarisierter Einbettung tendenziell überpolarisiert. 3) Im Allgemeinen unterscheidet sich das Linkatom chemisch und elektronisch von der Gruppe, die es ersetzt. Um diese Probleme zu minimieren, sind aufwendigere Grenzschemata eingeführt worden, die in den folgenden Abschnitten behandelt werden.

In der Praxis haben Linkatome weite Anwendung gefunden. Dementsprechend hat sich eine große Vielfalt an Linkatom-Verfahren entwickelt.^[2, 45, 50, 62, 124, 125, 129, 155, 185–191] In einigen Fällen^[2, 155, 187] werden die Linkatome als unabhängige Atome behandelt, wodurch drei zusätzliche Freiheitsgrade pro Linkatom eingeführt werden. Diese können durch die Anwendung von Zwangsbedingungen eliminiert werden.^[45] Um exakt drei Freiheitsgrade zu entfernen, wird üblicherweise die Position des Linkatoms als eine Funktion der Positionen von Q^1 und M^1 definiert. Das Linkatom L wird entlang der $Q^1\text{-M}^1$ -Bindung platziert, wobei der $Q^1\text{-L}$ -Abstand durch einen Skalierungsfaktor mit dem $Q^1\text{-M}^1$ -Abstand verknüpft wird.^[50, 62, 125, 129, 186, 188–190] Der Großteil der Linkatom-Verfahren folgt diesem allgemeinen Ansatz.

Falls die Position der Linkatome durch Regeln festgelegt oder als Funktion anderer Atompositionen ausgedrückt wird, werden die Koordinaten der Linkatome aus der Menge der unabhängigen Variablen entfernt. Die Linkatome tauchen ausschließlich in der internen Beschreibung des QM/MM-Kopplungsschemas auf und sind transparent für die Geometrioptimierungs- oder Molekulardynamikalgorithmen, die nur auf die Menge der unabhängigen Variablen wirken. In den QM-Rechnungen treten Kräfte auf, die auf die Linkatome wirken und auf jene Atome übertragen werden müssen, die die Position der Linkatome bestimmen.^[62] Die Linkatome sind dann effektiv frei von Kräften; ihre Koordinaten im nächsten Optimierungs- oder Zeitschritt werden vollständig durch die Positionierungsregeln bestimmt und nicht durch die auf sie wirkenden Kräfte propagiert.

Wie schon zuvor erläutert, wird bei elektrostatischer oder polarisierter Einbettung die QM-Dichte tendenziell durch die festen Punktladungen des MM-Ladungsmodells überpolarisiert. Obwohl dieser Effekt in einem gewissen Ausmaß immer auftritt, sobald eine Punktladung mit einer polarisierbaren Ladungsverteilung wechselwirkt, wird er umso ausgeprägter sein, je näher die Punktladung der QM-Dichte kommt und je flexibler diese Dichte in ihrer räumlichen

Verteilung ist. Dieses Problem ist daher besonders kritisch an der QM/MM-Grenze mit Linkatomen, da diese in unmittelbarer Nähe zu MM-Randatomen, typischerweise mit einem Abstand von ca. 0.5 Å, positioniert werden. Die Überpolarisierung ist weniger ausgeprägt, wenn kleine atomzentrierte Basissätze in der QM-Rechnung verwendet werden, z.B. bei semiempirischen Methoden mit einer Minimalbasis. Große Basissätze, die Polarisations- und diffuse Funktionen mit einschließen, sind flexibler und anfälliger für Überpolarisierung. Besonders betroffen sind Methoden, die ebene Wellen als Basissatz einsetzen.

Es wurden unterschiedliche Ansätze entwickelt, um die Überpolarisierung bei der Verwendung von Linkatomen zu lindern: 1) Weglassen der Ein-elektronen-Integrale, die zu den Linkatomen gehören.^[2, 131, 132, 189, 192, 193] 2) Löschen der MM-Punktladungen in der Grenzregion aus dem Hamilton-Operator.^[129, 132, 155, 185, 187, 194–198] 3) Verschiebung oder Umverteilung der Punktladungen in der Grenzregion (siehe Abbildung 2).^[19, 64, 82, 188, 198, 199] Da die letzteren Ansätze die Gesamtladung und oft auch das Dipolmoment in der Grenzregion bewahren und dennoch die überpolarisierende Partialladung am M^1 -Atom entfernen, beseitigen sie die Hauptmängel,^[82, 198, 200] die mit dem Löschen von Ladungen verbunden sind. Breite Anwendung hat die Charge-Shift-Methode gefunden, die von Sherwood und Mitarbeitern^[19, 64, 188, 199] eingeführt wurde. 4) „Verschmieren“ der Ladungen in der Nähe der QM-Region,^[186, 191, 200] indem diese durch (z.B. Gauß-förmige) Ladungsverteilungen ersetzt werden.

2.3.3. Grenzatome

Alternativ kann das MM-Randatom M^1 durch ein spezielles Grenzatom mit janusartigem Charakter ersetzt werden, das als normales MM-Atom in die MM-Rechnung eingeht, aber auch über QM-Eigenschaften verfügt, um die freie Valenz an Q^1 abzusättigen. Solche Grenzatome vermeiden die Komplikationen, die durch die Einführung zusätzlicher Atome entstehen, und zielen darauf ab, die elektronischen Eigenschaften des abgeschnittenen MM-Rests nachzuahmen. Die meisten vorgeschlagenen Grenzatom-Schemata basieren auf einer Variante eines monovalenten Pseudopotentials (oder effektiven Potentials), das sich an der M^1 -Position befindet und so parametrisiert ist, dass bestimmte Eigenschaften reproduziert werden. Eine typische Wahl ist z.B., bei einer durchschnittenen C-C-Einfachbindung eine Methylgruppe nachzuahmen. Von den unterschiedlichen Schemata, die vorgeschlagen wurden, nennen wir hier die speziell parametrisierten Verbindungsatome für semiempirische QM-Methoden,^[201] den Pseudobindungsansatz für Ab-initio- und DFT-Methoden^[202–204] und die Verwendung maßgeschneideter Pseudopotentiale für QM-Methoden auf der Basis ebener Wellen.^[205] Weitere neue Entwicklungen in diesem Gebiet^[206–212] haben noch keine breite Anwendung gefunden.

2.3.4. Fixierte lokalisierte Orbitale

Der Ansatz, fixierte Hybridorbitale zu nutzen, um die durchschnittene Bindung an der QM/MM-Grenze abzusättigen,

gen, geht zurück auf die frühe Arbeit von Warshel und Levitt.^[1] Die seither entwickelten Methoden basieren auf der Idee, einen Satz geeigneter orientierter lokalisierter Orbitale auf einem der Randatome zu platzieren und diese Orbitale zu fixieren, sodass sie nicht an den SCF-Iterationen teilnehmen.

- Lokales selbstkonsistentes Feld (LSCF):^[213–217] Die LSCF-Methode, die von Rivail und Mitarbeitern entwickelt wurde, beginnt mit einer QM-Rechnung an einem Modellsystem, das die betreffende Grenzbindung enthält. Mittels eines Lokalisierungsschemas wird ein streng lokalisiertes Bindungssorbital (SLBO) für diese Bindung konstruiert, das ausschließlich Beiträge von den Randatomen hat und für welches Transferierbarkeit angenommen wird. In den QM/MM-Rechnungen wird es von den SCF-Iterationen ausgeschlossen, sodass es nicht mit den anderen Orbitalen mischt. Es ist entlang des $Q^1 \cdot M^1$ -Vektors orientiert und kann daher als eine Art nichtbindendes Elektronenpaar an Q^1 gesehen werden, das in Richtung M^1 zeigt (Abbildung 3a). Aktuelle Modifikationen der LSCF-

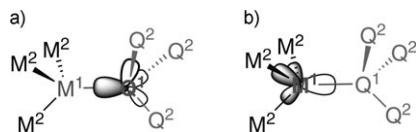


Abbildung 3. Grenzmethoden mit fixierten Orbitalen. a) LSCF-Methode: Ein Satz lokalisierter Orbitale wird auf Q^1 platziert, von denen eines (schraffiert) fixiert wird und auf M^1 zeigt. b) GHO-Methode: Ein Satz lokalisierter Orbitale wird auf M^1 platziert, von denen eines (offen) aktiv ist und auf Q^1 zeigt.

Methode umfassen den Einsatz extrem lokalisierter Molekülorbitale (ELMOs)^[218–220] und fixierter Kernorbitale^[221] am Randatom sowie die optimierte LSCF-Methode,^[222] bei der den SLBOs erlaubt wird, mit ihren antibindenden Gegenstücken zu mischen.

- Fixierte Orbitale:^[182, 223, 224] Friesner und Mitarbeiter präsentierten eine Variante der LSCF-Prozedur, die sich in einigen technischen Details von der Originalmethode unterscheidet. Insbesondere sind die QM-MM-Wechselwirkungen an der Grenze im Unterschied zu den meisten anderen QM/MM-Schemata stark parametrisiert.
- Verallgemeinerte Hybridorbitale (GHOs):^[225–230] Die GHO-Methode von Gao und Mitarbeitern ist mit den beschriebenen Ansätzen verwandt in dem Sinn, dass sie lokalisierte Hybridorbitale konstruiert und einige davon fixiert. Der Satz der lokalisierten Hybridorbitale wird jedoch an M^1 statt Q^1 platziert (Abbildung 3b). M^1 wird dadurch ein Grenzatom, und damit verschwindet auch die Unterscheidung zwischen den Methoden, die Grenzatome oder fixierte Orbitale einsetzen. Das Orbital, das auf Q^1 zeigt, nimmt an den SCF-Iterationen teil, während die anderen („Hilfs-Hybridorbitale“) fixiert werden und nicht mit den anderen Orbitalen mischen dürfen. Die GHO-Methode wurde vor kurzem von Jung et al. erweitert.^[231]
- An dieser Stelle gehen wir auch auf den Ansatz der effektiven Fragmentpotentiale (EFPs)^[232–235] ein, obwohl er sich konzeptionell stark von den anderen Methoden mit

fixierten Orbitalen unterscheidet. Hierbei werden separate Rechnungen an Modellsystemen genutzt, um Ein-Elektronenterme (die EFPs) herzuleiten, welche die elektrostatischen, induktiven und repulsiven Wechselwirkungen für das untersuchte Fragment abbilden. Die EFPs gehen dann in den Hamilton-Operator der QM-Rechnung mit ein, wo sie den Einfluss der Umgebung auf den QM-Teil beschreiben. Ursprünglich wurde die EFP-Methode entwickelt, um eine Solvensumgebung in QM-Rechnungen zu modellieren, aber der Anwendungsbereich wurde anschließend auf biomolekulare Systeme erweitert, indem eine LSCF-basierte Prozedur für die Behandlung der kovalenten Bindungen durch die Grenze eingeführt wurde.^[234, 235] Weitere Entwicklungen haben die Beschränkung aufgehoben, dass die Fragmente räumlich fixiert sein müssen.^[236–238]

2.3.5. Zusammenfassung

Die unterschiedlichen Grenzmethoden wurden in zahlreichen Studien evaluiert. Da Linkatome am häufigsten eingesetzt werden, vergleichen die meisten dieser Untersuchungen^[82, 132, 192, 198, 200, 239–241] Ansätze, die Linkatome einsetzen und sich vor allem in der Behandlung der Ladungen an der Grenze unterscheiden. Daneben gibt es aber auch Vergleiche von Verfahren, die Linkatome oder fixierte Orbitale einsetzen.^[192, 239, 240, 242] Ansätze auf der Basis von Hybridorbitalen sind vom theoretischen Standpunkt aus fundamentaler, da mit ihnen die Grenze im Wesentlichen auf dem QM-Niveau beschrieben wird. Sie sind aber auch technisch erheblich komplizierter, nicht zuletzt aufgrund der Orthogonalitätsbedingungen, die notwendig sind, um das Mischen von fixierten und aktiven Orbitalen während der SCF-Iterationen zu verhindern. Außerdem müssen durch vorbereitende Rechnungen an Modellsystemen die zugehörigen fixierten Orbitale bzw. Parametersätze bestimmt werden. Diese Parameter sind im Allgemeinen nicht transferierbar und müssen modifiziert werden, wenn das MM-Kraftfeld, die QM-Methode oder der Basissatz verändert wird. Insgesamt erscheinen die Schemata auf der Basis von Linkatomen und fixierten Orbitalen ebenbürtig in ihrer Leistungsfähigkeit. Beide bieten eine angemessene Genauigkeit, wenn sie mit der nötigen Sorgfalt angewendet werden.

3. Optimierungs- und Simulationstechniken für QM/MM

3.1. Allgemeine Bemerkungen

QM/MM-Rechnungen liefern für vorgegebene Strukturen die zugehörigen Energien und Kräfte. Sie können daher mit jedem Ansatz kombiniert werden, der diese Informationen nutzt, um die Struktur zu propagieren, d.h. mit jeder Optimierungs-, Molekulardynamik- oder Monte-Carlo-Technik. QM/MM-Rechnungen werden häufig für Biomoleküle mit Tausenden von Atomen durchgeführt, auch wenn die Evaluierung der QM/MM-Energie und -Gradienten im Vergleich mit reinen MM-Behandlungen einen deutlich höheren

Rechenaufwand fordert. Für die Erkundung der Potentialenergieläche (PES) werden daher Methoden benötigt, die Tausende von Freiheitsgraden handhaben können und dennoch effizient sind. Im Idealfall sollten die Algorithmen für die Manipulation der Koordinaten (z.B. in Optimierungen) mit $\mathcal{O}(N)$ skalieren, wobei N die Zahl der Freiheitsgrade ist, und Suchalgorithmen sollten lediglich eine minimale Zahl an Schritten bis zur Konvergenz benötigen. Einige der Techniken, die im Folgenden umrissen werden, skalieren mit $\mathcal{O}(N)$. Andere sind dadurch effizient, dass sie die besonderen Vorteile nutzen, die sich aus der Partitionierung des Systems in eine rechenzeitintensive QM-Region und eine effizient berechenbare MM-Region ergeben.

Im Zusammenhang mit der Bestimmung der stationären Punkte (d.h. Minima und Sattelpunkte) auf den Potentialenergielächen biomolekularer Reaktionen gibt es ein Problem, das über rein algorithmische Fragen hinausgeht. Die schiere Größe des verfügbaren Konfigurationsraums (im Vergleich zu kleinen Molekülen oder Modellsystemen) reduziert die Signifikanz einzelner stationärer Punkte drastisch. Im Gegensatz zu typischen QM-Untersuchungen an kleinen molekularen Systemen ist die Kenntnis von Edukt, Übergangszustand und Produkt nicht „alles“, selbst dann, wenn ein verbindender Reaktionspfad bestimmt und entropische Effekte vernachlässigt werden. Warshel und Mitarbeiter^[243] stellten heraus, dass in QM/MM-Studien von Minimalenergielpfaden zumindest mehrere „repräsentative“ Übergangszustände und ihre zugehörigen Minima berücksichtigt werden sollten. Auch wenn dies nur eine sehr limitierte Erkundung des Konformationsraumes darstellt, wird so der Einfluss der konformativen Diversität der Umgebung auf die Reaktion zumindest teilweise erfasst. Eine geeignete Auswahl an Konfigurationen kann beispielsweise durch einzelne Momentaufnahmen aus einer klassischen MD-Trajektorie erzeugt werden, die als Ausgangspunkt für QM/MM-Geometrioptimierungen dienen können. Dies wurde z.B. in Lit. [244] gezeigt.

3.2. Stationäre Punkte und Reaktionspfade

Wie der Literatur^[26,245–249] zu entnehmen ist, gehören die Quasi-Newton-Methoden in Kombination mit internen Koordinaten zu den effizientesten Methoden, um stationäre Punkte auf der PES zu lokalisieren. Sie benötigen Informationen über die Krümmung der Oberfläche, d.h. über die zweiten Ableitungen, auch als Hesse-Matrix bezeichnet. Mit der Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno(BFGS)-Formel kann die Hesse-Matrix angenähert und während der Erkundung der PES fortlaufend aktualisiert werden. Jedoch skalieren die Rechenanforderungen der Quasi-Newton-Methoden (in Bezug auf Speicherkapazität und CPU-Leistung) mit $\mathcal{O}(N^2)$ oder $\mathcal{O}(N^3)$, wodurch sie für große Systeme unbrauchbar werden. Ein beliebter Algorithmus, der lineare Skalierung bezüglich CPU- und Speicheranforderungen bietet, ist der BFGS-Algorithmus mit limitiertem Speicher (L-BFGS), der ausschließlich die Diagonalelemente der Hesse-Matrix speichert und nur die Informationen aus einer begrenzten Zahl vorheriger Schritte nutzt.

Ein zweiter Flaschenhals in Bezug auf die Skalierung ist mit der Konvertierung von internen in kartesische Koordinaten verbunden. Es wurde eine Reihe von Methoden vorgeschlagen, um mithilfe verschiedener algorithmischer Verbesserungen den damit verbundenen Aufwand auf $\mathcal{O}(N^2)$ oder sogar $\mathcal{O}(N)$ zu reduzieren.^[250–259] Das Verfahren von Billeter et al.^[260] unterteilt das System in Fragmente und führt die aufwendigen Koordinatentransformationen ausschließlich innerhalb der Fragmente durch („Divide and conquer“-Verfahren). Es verwendet hybride delokalisierte Koordinaten (HDLCs), bei denen die delokalisierten internen Koordinaten mit einem gewissen Anteil an kartesischen Koordinaten gemischt werden, die notwendig sind, um die relative Position der Fragmente zu beschreiben.

Für die Optimierung von Übergangszuständen wurde die Idee der Mikroiterationen^[45,261,262] mit den HDLCs kombiniert.^[260] Hierbei wird ein Kernfragment definiert, das alle Atome enthält, die direkt an der Reaktion beteiligt sind. Für die Freiheitsgrade dieses Kernfragments wird die Hesse-Matrix berechnet und mittels eines traditionellen Algorithmus zweiter Ordnung ein Schritt in Richtung Sattelpunkt gemacht. Anschließend werden die Umgebungsfragmente vollständig relaxiert, wobei das Kernfragment fixiert und der L-BFGS-Algorithmus mit HDLCs angewendet wird. Diese Prozedur mit aufeinanderfolgenden Schritten im Kernfragment und Optimierung der Umgebung wird bis zur Konvergenz iteriert. Die Suche nach einem Sattelpunkt erster Ordnung wird somit durch die (niedrigdimensionale) Hesse-Matrix des Kernfragments kontrolliert, während die Energie hinsichtlich der Freiheitsgrade der Umgebung minimiert wird. Die Umgebung folgt den Freiheitsgraden des Kernfragments adiabatisch.

Wenden wir uns nun den QM/MM-spezifischen Optimierungstechniken zu. Ihre grundlegende Idee liegt darin, die Unterteilung des Systems in QM- und MM-Regionen im Sinne des mikroiterativen Ansatzes während der Optimierung auszunutzen.^[45,261,262] Die Kernregion umfasst (mindestens) die QM-Atome, während die (verbleibenden) MM-Atome die Umgebung bilden. Die Optimierung der Kernregion wird als „Makroiteration“, die der Umgebung als „Mikroiteration“ bezeichnet. In den beiden Regionen können unterschiedliche Koordinaten und Algorithmen angewendet werden; z.B. einfache kartesische Koordinaten und ein trunkierter oder „Conjugate gradient“-Newton-Algorithmus für die Freiheitsgrade der Umgebung (wodurch aufwendige Manipulationen der Koordinaten oder der Hesse-Matrix vermieden werden) und ein effizienter Quasi-Newton-Algorithmus mit einer Form von internen Koordinaten für die Freiheitsgrade der Kernregion. Die beiderseitige Konvergenz der Optimierungen kann auf zwei Arten erzielt werden: 1) Mit dem adiabatischen Ansatz, in dem die Umgebung in jedem Makroschritt vollständig relaxiert wird.^[45,129,182,239,263,264] 2) Mit dem alternierenden Ansatz, bei dem die Optimierungen der Kern- und Umgebungsregion abwechselnd bis zur Konvergenz iteriert werden,^[155,265,266] wobei die Kernatome während der Mikroiterationen fixiert werden und umgekehrt. Die unterschiedlichen Optionen innerhalb des mikroiterativen Ansatzes bezüglich Häufigkeit der Umgebungsminimierungen, der Größe der Kernregion

und der Näherungen für die elektrostatischen QM-MM-Wechselwirkungen wurden anhand einer enzymatischen Reaktion untersucht.^[267]

Die Separation der Optimierung der Kernregion (QM) und der Umgebung (MM) bereitet bei mechanischer Einbettung keine Probleme und wurde schon früh in der IMOMM-Methode verwendet.^[45] Im Fall der elektrostatischen Einbettung ist dies komplizierter: Die elektrostatischen QM-MM-Wechselwirkungen werden auf dem QM-Niveau berechnet, sodass im Prinzip in jeder MM-Mikroiteration eine QM-Rechnung notwendig ist, um es der QM-Dichte zu erlauben, sich an die neue MM-Konfiguration anzupassen, und dann die Kräfte auf die MM-Atome durch die QM-Dichte zu berechnen. Um die QM- und MM-Rechnungen wieder zu entkoppeln, kann die QM-Dichte während der MM-Mikroiterationen durch ein Punktladungsmodell repräsentiert werden. Hierfür können atomare Ladungen verwendet werden,^[182,266,268] die das elektrostatische Potential reproduzieren (ESP-Ladungen), wobei man annimmt, dass die QM-Ladungsverteilung auf diese Weise mit ausreichender Genauigkeit beschrieben wird und dass ihre Relaxation während der MM-Optimierung vernachlässigt werden kann. Alternativ wurde vorgeschlagen, anstelle des Punktladungsmodells eine wenig aufwendige QM-Methode zu nutzen, um die elektrostatischen QM-MM-Wechselwirkungen während der MM-Optimierung zu berechnen.^[269–271] Dies hat ein verbessertes Konvergenzverhalten zur Folge, da sich die QM-Dichte an die Änderungen der MM-Umgebung anpassen kann und ihre Berechnung dennoch praktikabel bleibt.

Die Anwendung von Reaktionspfadtechniken in QM/MM erfordert besondere Sorgfalt bei der Auswahl der Koordinaten, die in die Pfaddefinition eingehen, und bezüglich der Glätte des Pfades. Unter anderen waren Yang und Mitarbeiter in diesem Bereich aktiv.^[39,272–274] Sie erweiterten die „Nudged elastic band“-Methode (NEB) für große Systeme,^[272] adaptierten die Pfadoptimierungsprozedur von Ayala und Schlegel^[275] für die Nutzung in QM/MM^[273] und kombinierten diese zwei Methoden zu einer zweistufigen Prozedur.^[274]

3.3. Molekulardynamik- und Simulationstechniken

Die QM/MM-Energie und -Kräfte können in Molekulardynamik(MD)- oder Monte-Carlo(MC)-Verfahren eingesetzt werden. In den meisten Fällen ist das Ziel solcher Simulationen die Erkundung des Konfigurationsraums, um statistisch-thermodynamische Ensemble-Mittelwerte zu bestimmen. Typische Beispiele sind Freie-Energie-Differenzen wie freie Reaktions-, Aktivierungs- oder Solvatationsenergien. Da zur Konvergenz der Mittelwerte eine große Zahl von Konfigurationen berücksichtigt werden muss, sind die Rechenanforderungen dieser Simulationen extrem hoch. Um diese Anforderungen zu reduzieren, wurden Näherungen entwickelt, die wiederum Nutzen aus der QM/MM-Unterteilung ziehen; insbesondere wird versucht, das aufwendige direkte Sampling der QM-Beiträge zu vermeiden. Im Folgenden heben wir einige Simulationstechniken hervor, die in QM/MM-Rechnungen an biomolekularen Systemen verwendet wurden.

3.3.1. QM/MM-Molekulardynamik- und Monte-Carlo-Simulationen

Volle QM/MM-Simulationen (d.h. mit frei beweglichen QM-Atomen) wurden zuerst in Studien mit expliziten Solvansmolekülen eingesetzt, um freie Solvations- oder Reaktionsenergien in Lösung zu berechnen.^[3,4,276–282] Sie verwendeten für das Sampling sowohl Molekulardynamik- als auch Monte-Carlo-Methoden und kombinierten diese mit Freie-Energie-Berechnungen durch Free-Energy-Perturbation (FEP), Umbrella-Sampling und thermodynamische Integration. In den meisten Fällen wurden semiempirische QM-Methoden genutzt, aber es gibt auch einige Beispiele^[279–282] für QM/MM-MD-Studien mit einer First-Principles-QM-Methode wie der Dichtefunktionaltheorie (DFT) oder Hartree-Fock (HF). Simulationen auf dem semiempirischen Niveau sind heutzutage gut praktikabel (siehe z. B. Lit. [283]), während QM/MM-MD-Untersuchungen mit First-Principles-QM-Methoden weiterhin sehr rechenzeitintensiv sind.

In den vorgenannten MD-Studien stammen die QM-Energie und -Kräfte in jedem Schritt aus einer konvergierten SCF-Rechnung (Born-Oppenheimer-MD). Eine Alternative ist Car-Parrinello-MD (CP-MD),^[284,285] bei der die Wellenfunktion wie eine fiktive dynamische Variable in einem Lagrange-Schema behandelt wird und der Kerndynamik folgt. QM/MM-Methoden auf der Basis von CP-MD wurden von verschiedenen Gruppen entwickelt.^[49–51,186,205,209,286–291] Besonders die Gruppen von Röthlisberger und Carloni waren im Gebiet der biomolekularen Simulationen aktiv.^[205,209,288–294]

3.3.2. QM/MM-Free-Energy-Perturbation

Ein QM/MM-FEP-Schema zur Berechnung der freien Energie entlang einer vordefinierten Reaktionskoordinate wurde von Yang und Mitarbeitern eingeführt.^[39,266] Eine allgemeinere Formulierung stammt von Rod und Ryde^[130,295] (QTCP, quantum-mechanical thermodynamic-cycle perturbation), und Valiev und Mitarbeiter^[296,297] schlugen vor kurzem ein dreistufiges (Coupled Cluster/DFT/MM) FEP-Verfahren vor. Die grundlegende Idee besteht bei diesen Ansätzen darin, ausschließlich über die MM-Freiheitsgrade zu mitteln, während der QM-Teil festgehalten wird, und so die Rechenanforderungen im Vergleich mit einer vollen QM/MM-Behandlung zu reduzieren. QM/MM-FEP (manchmal auch als QM/MM-FE bezeichnet) ist mit älteren Techniken^[298–301] verwandt, die ebenfalls die Einflüsse der QM-Freiheitsgrade vernachlässigen. In diesen quantenmechanischen Freie-Energie-Ansätzen (QM-FE) wird der Reaktionspfad in der Gasphase bestimmt, die QM- und MM-Potentiale sind somit nicht gekoppelt. Dies ist gleichbedeutend mit der Annahme, dass sowohl der Einfluss der Umgebung auf den Reaktionspfad als auch die Polarisierungseffekte vernachlässigbar sind; beide Näherungen werden in QM/MM-FEP nicht gemacht.

Analog zu einigen QM/MM-Optimierungsmethoden nutzt das QM/MM-FEP-Schema ein ESP-Ladungsmodell für die QM-Dichte (siehe Abschnitt 3.2). Dadurch lässt sich die aufwendige Berechnung der elektrostatischen QM-MM-Wechselwirkungen auf dem QM-Niveau vermeiden; dies

impliziert jedoch, dass die kontinuierliche QM-Dichte durch Punktladungen genähert und fixiert wird, sodass sie sich nicht an die verändernde MM-Umgebung anpassen kann. Wir haben kürzlich gezeigt, dass ein solcher approximativer QM/MM-FEP-Ansatz Ergebnisse liefert, die mit denen einer vollen thermodynamischen Integration oder eines Umbrella-Samplings vergleichbar sind, aber nur einen Bruchteil der Rechenzeit fordert^[302] und daher für die Behandlung enzymatischer Reaktionen gut geeignet ist. QTCP^[130,295] in seiner allgemeinsten Form berechnet auch die Freie-Energie-Unterschiede, die mit dem Wechsel von einer QM-Ladungsdichte zu einem Punkladungsmodell einhergehen, durch zusätzliche FEP-Schritte.

Um freie Reaktions- und Aktivierungsenergien effizient zu berechnen, haben Warshel und Mitarbeiter^[303–306] einen Ansatz entwickelt, in dem das Sampling mit einem EVB-Referenzpotential durchgeführt wird, das an Ab-initio-Daten angeglichen wird. Anschließend wird eine Lineare-Response-Beschreibung angewendet, um die freie Energie für den Transfer von der EVB- auf die Ab-initio-Oberfläche zu bestimmen. Es wurden auch unterschiedliche Formulierungen vorgeschlagen, um die Probleme zu lösen, die bei „alchemischen“ FEP-Simulationen mit einem QM/MM-Potential auftreten.^[307–311]

3.3.3. Weitere Freie-Energie-Methoden

Jarzynski entdeckte eine bemerkenswerte Gleichung,^[312–318] die die Freie-Energie-Differenz im Gleichgewicht mit der irreversiblen Arbeit verknüpft, die verrichtet werden muss, um mittels einer Zwangsbedingung oder eines Leitpotentials zwischen zwei Zuständen zu wechseln.^[316,319–321] Erste Anwendungen von Freie-Energie-Methoden auf Basis der Jarzynski-Gleichung im Kontext von enzymatischen QM/(DFT)/MM-Simulationen sind publiziert.^[322,323]

Das Übergangspfad-Sampling (TPS) verwendet das Monte-Carlo-Wichtigkeits-Sampling im Raum der Trajektorien, die Edukt- und Produktbassin verbinden, und generiert ein Ensemble reaktiver Trajektorien.^[324–334] Dabei werden keine vorgefassten Annahmen bezüglich des Reaktionspfads oder des Übergangszustands gemacht, aber man braucht Ordnungsparameter von niedriger Dimensionalität (z.B. Kombinationen von Bindungslängen), mit denen es möglich ist, Edukt- und Produkt-Konfigurationen eindeutig zu trennen. TPS wurde auf eine enzymatische Reaktion angewendet, wobei die Trajektorien mittels semiempirischer QM/MM-MD generiert wurden.^[335]

Mit der Metadynamik^[336–345] kann man freie Energiefächen ohne vorherige Information über die Position der Minima oder Übergangszustände erkunden, ähnlich wie mit verwandten früheren Methoden.^[346–351] Die Dynamik wird hierbei durch kollektive Koordinaten beschrieben, die den zu untersuchenden Prozess charakterisieren. Die Metadynamik ist mittels eines während der Simulation erzeugten Zusatzpotentials an die Dynamik des realen Systems gekoppelt, wobei dieses Potential das System von jenen Bereichen der Freie-Energie-Fläche fernhält, die es schon besucht hat. Diese Technik ist bereits auf enzymatische Reaktionen angewendet worden.^[352,353]

In MD-Simulationen bei konstanter Temperatur kann das Phasenraum-Sampling verbessert werden, indem ausgewählte Freiheitsgrade an einen separaten Thermostat gekoppelt und bei höherer Temperatur als der Rest des Systems gehalten werden. Um den Wärmefluss von den heißen Freiheitsgraden in die kühlere Umgebung zu minimieren, werden die Massen der heißen Atome hochskaliert, wodurch eine adiabatische Separation zwischen den heißen, langsamem und den kühlen, schnellen Freiheitsgraden erreicht wird. Die Dynamik der langsamem Freiheitsgrade läuft dann effektiv auf der freien Energieoberfläche ab, die von der Umgebung generiert wird. Solche Methoden sind bekannt als adiabatische Freie-Energie-Dynamik^[354,355] oder als kanonisches adiabatisches Sampling der freien Energie.^[356] In Lit. [357] wird eine biomolekulare Anwendung beschrieben, die Car-Parrinello-QM/MM-MD nutzt.

Lu und Yang^[358] erweiterten das Konzept des Reaktionspfad-Hamilton-Operators^[359] auf große QM/MM-Systeme. Auf der Basis der Energien und Schwingungsfrequenzen der QM-Region entlang eines QM/MM-Reaktionspfads (z.B. des Minimalenergielpfads) konstruieren sie ein harmonisches Reaktionspotential. Dieses bietet einen analytischen Ausdruck für die QM/MM-Potentialenergie entlang des Pfads und berücksichtigt die gekoppelte Dynamik von QM- und MM-Region. Anschließend kann dieses Potential für das Sampling genutzt werden, z.B. um eine thermodynamische Integration mit einer beschränkten MD durchzuführen.

Ebenfalls aus der Yang-Gruppe stammt der QM/MM-Pfad minimaler freier Energie (MFEP), ein Ansatz, der die Gradienten der freien Energie berechnet, um den Minimalenergielpfad auf der Freie-Energie-Fläche zu optimieren.^[360] Er kombiniert QM/MM-FEP mit einer Optimierungsmethode, die eine Kette von Repliken einsetzt (z.B. NEB oder Ayala-Schlegel-MEP)

4. Übersicht über QM/MM-Anwendungen

4.1. QM/MM-Implementierungen

QM/MM-Anwendungen benötigen effiziente Programme mit breiter Funktionalität. Es gibt im Wesentlichen drei Strategien, die bei der Entwicklung von QM/MM-Programmen verfolgt worden sind: 1) Das Hinzufügen von QM-Funktionalität zu einem MM-Programmpaket, 2) das Hinzufügen von MM-Funktionalität zu einem QM-Programmpaket oder 3) die Kombination existierender QM- und MM-Programme in modularer Weise mit einer zentralen QM/MM-Kontrolleinheit. Die Ansätze (1) und (2) profitieren von den inhärenten Stärken des jeweiligen Basisprogramms. MM-Programmpakete sind dafür konzipiert, große komplexe Systeme zu handhaben und bieten die zugehörigen Simulations- und Analysewerkzeuge, wohingegen QM-Programmpakete effiziente Algorithmen zur Lokalisierung stationärer Punkte auf Energiehyperflächen zur Verfügung stellen.

Der modulare Ansatz (3) bietet eine größere Flexibilität. Die externen QM- und MM-Programmpakete sind über Schnittstellen mit einer zentralen Kontrolleinheit verknüpft, die Module sowohl für die generische QM/MM-Kopplung als

auch für Standardaufgaben wie Strukturoptimierung und Molekulardynamik zur Verfügung stellt (Abbildung 4). Die Kontrolleinheit bietet dazu oft eine einheitliche Benutzeroberfläche für die externen Programme, zumindest für die am

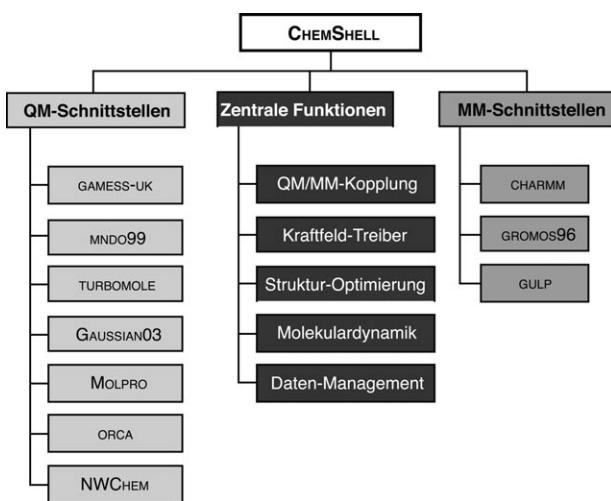


Abbildung 4. Überblick über das Programm Paket ChemShell.

häufigsten verwendeten Optionen. Erweiterungen und Updates sind relativ einfach, da sie lediglich die Einbindung zusätzlicher oder aktualisierter QM- und MM-Programme erfordern. Das Programm Paket ChemShell^[199,361] ist ein Beispiel für eine solche modulare Implementierung.

4.2 QM/MM-Anwendungsbereiche

Für lange Zeit sind biomolekulare QM/MM-Anwendungen von Studien zur enzymatischen Reaktivität dominiert worden. Auch heutzutage bleiben Fragestellungen zur Struktur und Energetik enzymatischer Reaktionen der wichtigste Bereich, in dem QM/MM-Methoden ihr Potenzial voll zur Geltung bringen können; die Diskussion über Optimierungs- und Simulationstechniken im vorhergehenden Abschnitt sollte in diesem Zusammenhang gesehen werden. Dies spiegelt sich auch in der Übersicht der Anwendungen in Abschnitt 5 wider. Indes erfordern nicht nur chemische Reaktionen eine QM/MM-Beschreibung, sondern auch andere Prozesse, die mit einer Reorganisation der Elektronenstruktur verbunden sind. Beispiele hierfür sind elektronische Anregungen (Spektroskopie und Dynamik angeregter Zustände) und Ladungstransferprozesse. In den letzten Jahren ist eine wachsende Zahl von Studien erschienen, die QM/MM-Methoden auch auf Fragestellungen aus diesen Bereichen anwenden; wir präsentieren nachfolgend einige Beispiele (Abschnitt 4.3), bevor wir uns mit QM/MM-Studien ausgewählter enzymatischer Reaktionen befassen (Abschnitt 4.4).

Eine weitere Anwendung der QM/MM-Methode liegt im Bereich der Strukturbestimmung von Makromolekülen. QM/MM-Strukturverfeinerungen wurde erstmals von Ryde und Mitarbeitern durchgeführt.^[362–364] Diese entwickelten einen

Ansatz, der QM-Rechnungen als Hilfsmittel bei der experimentellen Strukturbestimmung von biologischen Makromolekülen nutzt, insbesondere bei Proteinen. Die grundlegende Idee besteht darin, bei der Verfeinerung im Bereich des aktiven Zentrums ein QM/MM- anstelle eines reinen MM-Modells einzusetzen. Dies mindert das bislang oft beobachtete Problem, dass die Qualität der experimentellen Strukturen im aktiven Zentrum und dessen Umgebung weniger verlässlich ist, da die gemeinhin verwendeten MM-Modelle Proteine meist besser beschreiben als Substrate oder Cofaktoren (bzw. generell: nicht proteinogene Anteile). Die Methode ist zur Verfeinerung von Einkristall-Röntgenstruktur-,^[362–370] NMR-^[371] und EXAFS-Daten^[372–374] verwendet worden. Merz und Mitarbeiter haben einen ähnlichen Ansatz präsentiert.^[375]

4.3 QM/MM-Berechnung spektroskopischer Eigenschaften und angeregter Zustände

Wir stellen hier einige ausgewählte Anwendungen heraus, in denen QM/MM-Methoden verwendet wurden, um spektroskopische Eigenschaften zu berechnen und elektronische Anregungszustände von Biomakromolekülen zu untersuchen.

- Vertikale elektronische Anregungsenergien (UV/Vis-Ab-sorptions-, Emissions- oder Fluoreszenzspektren): Üblicherweise gewinnt man die nötigen Geometrien durch eine QM/MM-Optimierung, z.B. auf DFT/MM-Niveau, oder als Momentaufnahme (Snapshot) aus QM/MM-MD-Simulationen, z.B. auf semiempirischem QM/MM-Niveau. Die Berechnung der angeregten Zustände und der zugehörigen Anregungsenergien erfolgt dann meist unter Verwendung von zeitabhängiger Dichtefunktionaltheorie (TD-DFT), Ab-initio-Multikonfigurationsmethoden (z.B. CASSCF oder CASPT2) oder Ab-initio-Multireferenzmethoden (z.B. MRCI). Die Umgebung wird dabei normalerweise durch atomare Punktladungen berücksichtigt. Entsprechende Anwendungen auf photoaktive Proteine sind in Abschnitt 5 tabellarisch zusammengestellt. Ein typisches Beispiel ist der Mechanismus der Absorptionsverschiebung in Rhodopsinen.^[376]
- Magnetische Resonanzspektroskopie: Mit einer ähnlichen Strategie wie bei den optischen Spektren können magnetische Resonanzparameter berechnet werden. Beispiele sind die chemischen Verschiebungen von Retinal in Rhodopsinen,^[377,378] die anisotropen ⁵¹V-NMR-Verschiebungen in Vanadiumchlorperoxidase^[379] und, in der EPR-Spektroskopie, die g- und Hyperfeinkopplungstensoren der Häm-Einheit in Cytochrom P450^[380] und Plastocyanin.^[381]
- Mößbauer-Parameter: Die ⁵⁷Fe-Mößbauer-Spektroskopie ist als wirkungsvolle Technik zur Aufklärung von Intermediaten in hohen Oxidationsstufen eisenhaltiger Proteine etabliert. Da diese Intermediate hoch reaktiv, somit entsprechend kurzlebig und schwer zu charakterisieren sind, kann die Berechnung von Mößbauer-spektroskopischen Eigenschaften wesentlich zur Interpretation und Analyse solcher Spektren beitragen, z.B. in Cyto-

- chrom P450^[380] und Nichthäm-Eisen/2-Oxoglutarat-abhängigen Dioxygenasen.^[382]
- Reaktivität angeregter Zustände: Über die Berechnung statischer spektroskopischer Eigenschaften hinaus gehen Untersuchungen zur Reaktivität und Dynamik angeregter Zustände. Beispiele hierfür sind die Simulationen der *cis-trans*-Isomerisierung des *p*-Cumarinsäure-Chromophors in gelben photoaktiven Proteinen^[383] und der Dynamik photoaktiver C-G-Basenpaare in DNA.^[384]

4.4. QM/MM-Studien enzymatischer Reaktionen

QM/MM-Untersuchungen enzymatischer Reaktionen sind nicht trivial. So ist vor den eigentlichen QM/MM-Rechnungen ein beachtlicher Aufwand in das Aufsetzen und die Vorbereitung des Systems zu investieren. Fehler und falsche Entscheidungen in dieser frühen Phase können normalerweise zu einem späteren Zeitpunkt nicht mehr korrigiert werden. Die praktischen Probleme, mit denen man sich in QM/MM-Arbeiten befassen muss, sind ausführlich in Lit. [38] diskutiert, die für detailliertere Informationen zu Rate gezogen werden sollte. Weitere praktische Hilfestellungen finden sich in den Originalpublikationen, die sich mit solchen Problemen auseinandersetzen, z.B. Lit. [385, 386].

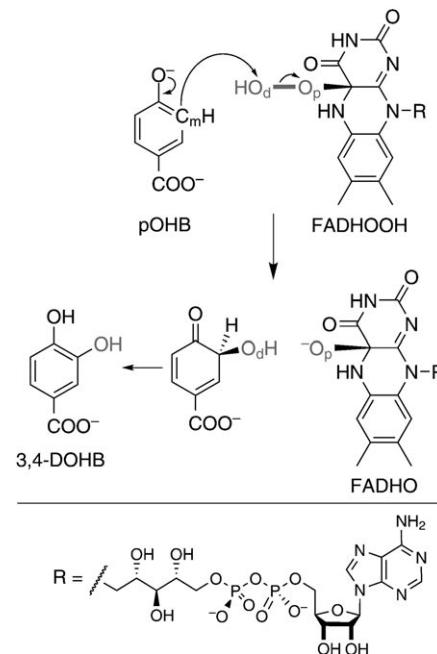
Ein umfassender Überblick über QM/MM-Studien an Enzymen würde den Rahmen dieses Aufsatzes sprengen. Frühe Anwendungen bis 2001 sind in Lit. [25] zusammengefasst. Für die Zeit von 2001 bis Anfang 2006 existiert eine tabellarische Übersicht,^[38] die wir in Abschnitt 5 auf die gesamte Zeitspanne von 2006 bis 2007 erweitern. In diesem Kapitel illustrieren wir zunächst die Anwendung von QM/MM-Methoden auf enzymatische Reaktionen anhand dreier Beispiele. Die ausgewählten Enzyme sind jeweils von mehreren Gruppen mit einer großen Vielfalt an methodischen Ansätzen untersucht worden, zudem sind die betreffenden Reaktionen aus chemischer Sicht sehr unterschiedlich.

4.4.1. para-Hydroxybenzoat-Hydroxylase

Das Enzym *para*-Hydroxybenzoat-Hydroxylase^[387] (PHBH) katalysiert die Umwandlung von *para*-Hydroxybenzoat (pOHB) zu 3,4-Dihydroxybenzoat (3,4-DOHB). Es ist beispielsweise in Bodenbakterien aktiv, wo es eine bedeutende Rolle im oxidativen Abbau von aromatischen Verbindungen wie Lignin spielt und das entstehende 3,4-DOHB als Substrat für nachfolgende Catechol-Ringspaltungsreaktionen dient. PHBH ist zudem als Biokatalysator für die Hydroxylierung von fluorierten und chlorierten pOHB-Derivaten vorgeschlagen worden.^[388, 389] Das Enzym enthält ein Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD) als Cofaktor. Da der Sauerstoff in der transferierten Hydroxygruppe aus O₂ stammt und das zweite Sauerstoffatom nicht zur Produktbildung verwendet, sondern zu Wasser reduziert wird, wird PHBH als Monoxygenase klassifiziert.

Der Katalysezyklus von PHBH kann in einen oxidativen und einen reduktiven Zweig unterteilt werden, abhängig von der Oxidationsstufe des Cofaktors. Im reduktiven Halbzyklus wird der Flavin-Cofaktor zu FADH₂ reduziert. Im nachfol-

genden oxidativen Halbzyklus reagiert FADH₂ mit molekularem Sauerstoff zu Flavinhydroperoxid (FADHOOH), das als aktives Hydroxylierungsreagens wirkt. Nach der Hydroxylierung von pOHB durch FADHOOH in der *meta*-Position erhält man FADHO⁻ (FADHOH nach Protonierung) und ein Hydroxycyclohexadienon-Intermediat, das schnell zu 3,4-DOHB tautomerisiert (Schema 1). Der Zyklus schließt sich,



Schema 1. Hydroxylierungsschritt in PHBH. O_p und O_d bezeichnen das proximale bzw. distale Peroxidsauerstoffatom des Hydroperoxyflavins. C_m ist das *meta*-Kohlenstoffatom von pOHB.

indem FADHOH ein Wassermolekül verliert, wodurch FAD regeneriert und 3,4-DOHB freigesetzt wird.

Während der letzten 30 Jahre ist PHBH als Musterbeispiel für Flavoprotein-Monoxygenasen Gegenstand zahlreicher experimenteller Untersuchungen gewesen.^[387] Die Hydroxylierungsreaktion verläuft nach dem Mechanismus der aromatischen elektrophilen Substitution (S_EAr), d.h., FADHOOH wirkt formal als „OH⁻“-Donor. Das Substrat reagiert in seiner dianionischen (Phenolat-)Form, wobei der Oxidosubstituent in S_EAr-Reaktionen stark aktivierend und *ortho*-dirigierend wirkt.

Der Hydroxylierungsschritt im PHBH-Katalysezyklus hat von theoretischer Seite einige Aufmerksamkeit auf sich gezogen und ist zu einem Prototyp für theoretische Untersuchungen an enzymatischen Reaktionen geworden. Eine frühe QM-Studie fand eine gute Korrelation zwischen den experimentellen Umsätzen verschiedener fluosubstituierter pOHB-Derivate und den Energien des höchsten besetzten Molekülorbitals (HOMO), die für die freien Substrate aus Gasphasenrechnungen auf dem semiempirischen AM1-Niveau bestimmt wurden.^[390] Diese Beobachtung stützte die Auffassung, dass unter den Messbedingungen die Hydroxylierung den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt darstellt.

Sie zeigte zugleich, dass das aktive Substrat als Dianion vorliegt und nach dem $S_E\text{Ar}$ Mechanismus reagiert. Ridder et al. berichteten in einer Serie von Beiträgen über QM/MM-Rechnungen.^[391–394] Sie verwendeten AM1 für das Substrat und den Isoalloxazin-Teil von FADHOOH (50 Atome) sowie das CHARMM-Kraftfeld für den übrigen Teil des Cofaktors und das gesamte Protein inklusive Kristallwasser (4840 Atome). Reaktionsprofile wurden entlang einer Reaktionskoordinate für den Angriff von Hydroperoxy-„OH⁺“ auf die *meta*-Position des Substrats berechnet, wobei an jedem Punkt der Reaktionskoordinate die Geometrie innerhalb einer geeignet definierten aktiven Region optimiert wurde. Die so erhaltenen Aktivierungsbarrieren korrelierten wiederum gut mit den experimentell erhaltenen Umsätzen für verschiedene fluorsubstituierte pOHB-Derivate und mit den experimentellen Geschwindigkeitskonstanten für den Hydroxylierungsschritt für eine Reihe modifizierter Flavine und Substrate, was wiederum den $S_E\text{Ar}$ -Mechanismus und den dianionischen Zustand des Substrats bestätigte. Weitere mechanistische Einsichten wurden durch die detaillierte Analyse der strukturellen und elektronischen Änderungen entlang des Reaktionspfads gewonnen, einschließlich der Wechselwirkungen von Substrat und Cofaktor mit spezifischen Aminosäuren.^[392] Der Einfluss des umgebenden Proteins auf die Energetik der Reaktion erwies sich als relativ gering, die dominierenden Beiträge zur Barriere kamen aus dem QM-Teil. Die Rolle des Enzyms scheint in diesem Fall vorwiegend darin zu bestehen, das Substrat durch Deprotonierung zu aktivieren, den „OH⁺“-Donor FADHOOH zu generieren und ihn vor der Reaktion mit Wasser zu schützen sowie die beiden Reaktanten in einer für die Reaktion günstigen Position zu halten. In einer späteren Arbeit^[394] wurde das Niveau der Rechnungen verbessert: Die QM-Region wurde in QM/MM-Optimierungen mit HF/6-31G(d) anstatt AM1 beschrieben, und es wurden zusätzlich Einzelpunktrechnungen für die isolierte QM-Region mit B3LYP/6-311+G(d,p) und LMP2/6-31+G(d) durchgeführt. Die Ergebnisse bestätigten im Wesentlichen die bereits früher gezogenen Schlussfolgerungen bezüglich des Mechanismus und der Rolle des Enzyms.

Die für die Hydroxylierung von pOHB mit AM1/CHARMM berechnete Barriere beträgt 17.6 kcal mol⁻¹.^[391] HF/CHARMM liefert einen deutlich höheren Wert (ungefähr 30 kcal mol⁻¹), und Einzelpunktrechnungen an HF/CHARMM-Geometrien ergeben schließlich Werte von 12.1 (B3LYP) und 11.2 kcal mol⁻¹ (LMP2).^[394] Die Reaktionsenergie auf diesem Niveau liegt bei ungefähr -55 kcal mol⁻¹. Gasphasenrechnungen an Modellreaktionen für die PHBH-Hydroxylierung mit verschiedenen Methoden (bis zum MP2/6-31++G(d,p)//HF/6-31++G(d,p)-Niveau) zeigen, dass HF die Barriere drastisch überschätzt, während B3LYP sie unterschätzt. AM1 überschätzt die Barriere in etwa demselben Maß wie sie B3LYP zu niedrig berechnet.^[395]

Angefangen mit der Arbeit von Billeter et al.^[395] hat unsere Gruppe den OH-Transfer in PHBH zur Untersuchung methodischer Fragen bei QM/MM-Simulationen verwendet. In Zusammenarbeit mit Werner und Mitarbeitern haben wir dabei hochgenaue korrelierte Ab-initio-QM-Methoden in statischen QM/MM-Rechnungen eingesetzt.^[92,94] Das ver-

wendete Modellsystem umfasste das vollständig hydratisierte Protein mit Solvathülle (ungefähr 23 000 Atome, davon etwa 50 QM-Atome). Zu seiner Beschreibung wurde das GROMOS-Kraftfeld mit QM-Methoden von HF über DFT (B3LYP) bis hin zu LMP2 und LCCSD(T0) kombiniert, wobei die größten Coupled-Cluster-Rechnungen 284 Elektronen und 1294 Basisfunktionen einbezogen. Die Strukturen an den stationären Punkten und die Reaktionsprofile wurden auf DFT/MM-Niveau optimiert und dann in korrelierten Einzelpunktrechnungen verwendet. Um den Einfluss struktureller Veränderungen der Umgebung zu testen, wurden zehn unabhängige Optimierungen durchgeführt, ausgehend von Startstrukturen aus MD-Simulationen. Wie in Tabelle 1 gezeigt, liefern diese Ab-initio-QM/MM-Rechnungen nahezu quantitative Aktivierungsenthalpien.

Tabelle 1: Aktivierungsenthalpien für den OH-Transfer in PHBH unter Verwendung sukzessiv höherer QM-Niveaus.^[a]

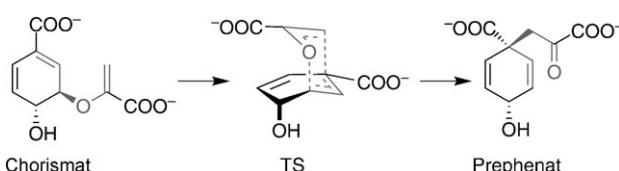
Methode ^[b]	$\Delta^+ H^\circ(300 \text{ K}) [\text{kcal mol}^{-1}]^{[c]}$
HF	36.7 ± 2.6
B3LYP	8.4 ± 1.4
LMP2	10.7 ± 1.2
LCCSD(T0)	13.3 ± 1.5
Experiment	12.0

[a] Daten aus Lit. [92]. [b] Strukturen optimiert auf B3LYP/GROMOS-Niveau. [c] QM/MM-Barriere plus Nullpunktsschwingungsenergie und thermische Korrekturen, die aus reinen QM-Rechnungen an Cluster-Modellen erhalten wurden. Das angezeigte Fehlerintervall ist die RMS-Abweichung für die zehn untersuchten Strukturen.

In weiteren methodischen Studien haben wir durch QM/MM-MD-Simulationen Freie-Energie-Profile für PHBH bestimmt, wobei die semiempirische AM1-Methode für die QM-Region verwendet wurde. Ausgehend von Momentaufnahmen aus klassischen MD-Trajektorien erhielten wir mit punktweiser thermodynamischer Integration zehn solcher Profile und daraus die durchschnittliche freie Aktivierungsenergie.^[283] Diese Simulationen lieferten Einsichten in die dynamische Reorganisation des Wasserstoffbrückennetzes im aktiven Zentrum entlang der Reaktionskoordinate. Insbesondere wurde festgestellt, dass die Amidcarbonylgruppe von Pro293 den OH-Transfer in der Nähe des Übergangszustands stabilisiert. Die Ergebnisse der thermodynamischen Integration dienten als Referenz für eine nachfolgende Studie zur Implementierung und Validierung der QM/MM-FEP-Methode (siehe Abschnitt 3.3.2).^[302] Ein neues Verfahren zur Analyse der Daten aus Umbrella-Sampling-Simulationen, „Umbrella-Integration“ genannt, wurde ebenfalls am Beispiel PHBH getestet und validiert.^[302,396]

4.4.2. Chorismatmutase

Chorismatmutase katalysiert die Claisen-Umlagerung von Chorismat zu Prephenat (Schema 2). Die Reaktion ist ein Schlüsselschritt des Shikimisäure-Wegs für die Synthese aromatischer Aminosäuren in Pflanzen, Pilzen und Bakterien und ist ein seltenes Beispiel für eine pericyclische Reaktion in der Biochemie. Sie war Gegenstand zahlreicher theoretischer



Schema 2. Claisen-Umlagerung von Chorismat zu Prephenat in Chorismatmutase. Die Allylvinylether-Einheit, die sich in ein 4,5-ungesättigtes Keton umlagert, ist grau hervorgehoben.

Studien, welche die Struktur des Enzym-Substrat-Komplexes, die Reaktionswege und die Rolle spezifischer Aminosäuren bei der Stabilisierung des Übergangszustandes behandelten. Sie diente zudem als ein wichtiges Beispiel zum Testen und Entwickeln von Theorien über den Ursprung enzymatischer Katalyse.

Lyne, Mullholland und Richards veröffentlichten 1995 die erste QM/MM-Studie (AM1/CHARMM) zur Chorismatmutase,^[397] in der sowohl der Edukt-Komplex als auch das Reaktionsprofil optimiert und die wesentlichen Aminosäuren im aktiven Zentrum identifiziert wurden. Sie zeigten, dass die Struktur des enzymgebundenen Chorismats im Vergleich zur Gasphase verzerrt ist und dadurch stärker dem Übergangszustand ähnelt, wobei die stabilisierenden Wechselwirkungen mit Arg 90 und Glu 78 maximiert werden. Diese beiden Aminosäuren tragen auch am meisten zur Stabilisierung des Übergangszustandes bei. Spätere Studien verwendeten verbesserte Modelle mit mehr Atomen, einem höheren QM-Niveau und strikteren Optimierungsmethoden.^[398,399] Der Konformation des enzymgebundenen Reaktanten widmeten sich mehrere Untersuchungen,^[400–403] die mittels Optimierungen und QM/MM-MD-Simulationen die konformativen Präferenzen im Enzym, in Lösung und in der Gasphase miteinander verglichen. Guo et al.^[402] kamen zu dem Schluss, dass das Enzym nicht bevorzugt das reaktive Konformer bindet, sondern vielmehr durch das Binden die schnelle Umwandlung der in Lösung vorherrschenden nichtreaktiven Konformere in die reaktive Form bewirkt.

Die Gültigkeit des NAC-Konzepts (near-attack conformations) in der enzymatischen Katalyse wurde ausführlich am Beispiel der Chorismatmutase diskutiert.^[403–414] Während Bruice und Mitarbeiter^[403–407,414] NAC als den dominierenden katalytischen Effekt hervorheben, sehen Warshel und Mitarbeiter,^[408] Mulholland und Mitarbeiter^[412,413,415–417] und andere^[411] die elektrostatische Stabilisierung des Übergangszustands als den wesentlichen Faktor. Belege für diese Schlussfolgerung kommen aus AM1/MM- und HF/MM-Reaktionspfadoptimierungen (mit Korrekturen aus DFT- und MP2-Einzelpunktrechnungen), aus dem Vergleich der Reaktion im Enzym und Kontinuumssolvens^[412,415] und aus dem Vergleich von Claisen- und Cope-Umlagerungen im Enzym.^[411] Darüber hinaus lässt die zum Erzeugen von NACs benötigte freie Energie vermuten,^[412] dass diese nicht alleine für den katalytischen Effekt zuständig sein können. Unter Verwendung des Ansatzes der differentiellen Übergangszustandsstabilisierung wurden die entsprechenden individuellen Beiträge einzelner Aminosäuren analysiert.^[417,418] Um den Einfluss von Veränderungen in der Proteinumgebung auf die

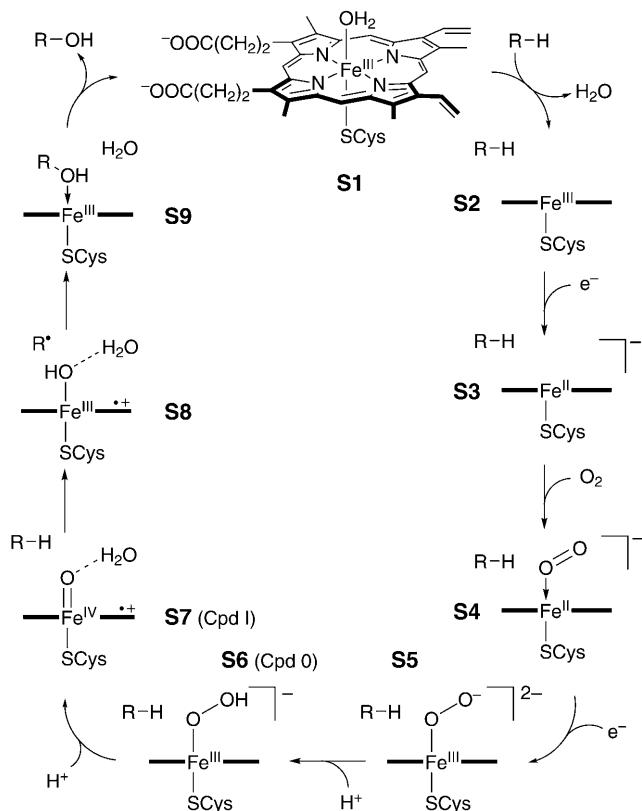
Reaktionsbarriere abschätzen zu können, berechnete die Mulholland-Gruppe Reaktionspfade ausgehend von 16 Startstrukturen, die aus QM/MM-MD-Simulationen erhalten wurden.^[413] Die Analyse des katalytischen Effekts ergab zwei betragsmäßig ähnlich große Energiebeiträge für die Bildung von NACs und die Stabilisierung des Übergangszustands. Als Ursache für die Bindung der NACs an das Enzym wurde die geometrische Ähnlichkeit zum Übergangszustand vorgeschlagen; da das Enzym auf die Stabilisierung des Übergangszustandes angepasst ist, stabilisiert es ebenso die entsprechenden NACs. Der NAC-Effekt wird somit als Konsequenz der elektrostatischen Stabilisierung des Übergangszustands erklärt. Bruice und Mitarbeiter schreiben weiterhin lediglich ca. 10 % des katalytischen Effektes der Übergangszustandsstabilisierung zu.^[414] Die unterschiedlichen Ansichten sind auch aus kinetischer Sicht analysiert worden.^[419]

Die Rolle, die Arg 90 für die Stabilisierung des Reaktanten und des Übergangszustands spielt, wurde detailliert mit QM/MM-MD^[420] und QM/MM-Monte-Carlo-Simulationen^[421] in Kombination mit verschiedenen Techniken zur Berechnungen der freien Energie untersucht. Zusätzlich wurden auf semiklassischen Modellen beruhende Berechnungen kinetischer Isotopeneffekte (primärer ¹³C- und ¹⁸O- sowie sekundärer ³H-kinetischer Isotopeneffekt) vorgestellt.^[269,422] Wie PHBH diente auch Chorismatmutase als Fallbeispiel in stärker methodenorientierten Arbeiten, z.B. zur Replica-Pfad-Methode für die Reaktionspfadoptimierung,^[423] zu DFT-Korrekturen semiempirischer Energien,^[269,424,425] Simulationen der freien Energie auf Basis der Jarzynski-Gleichung,^[323] neuen QM/MM-Implementierungen^[426–428] und vollständigen Ab-initio-QM-Rechnungen am Enzym.^[429] In der bereits bei PHBH erwähnten Ab-initio-QM/MM-Studie^[92] wurde auch für Chorismatmutase eine hervorragende Übereinstimmung zwischen den experimentellen Ergebnissen und den besten, auf Coupled-Cluster-Niveau berechneten theoretischen Barrieren gefunden.

4.4.3. Cytochrom P450

Die Cytochrom-P450-Enzyme sind Monooxygenasen, die in fast allen Lebewesen eine große Zahl essenzieller Funktionen wahrnehmen, z.B. für Biosynthese und Entgiftung.^[430–432] Diese Hämproteine katalysieren viele verschiedene Oxidationsreaktionen, oft mit hoher Regio- und Stereoselektivität, so bei Hydroxylierungen, Epoxidierungen und Heteroatom-Oxidationen. Ein ausführlicher Übersichtsartikel^[433] beschreibt die umfangreichen theoretischen Arbeiten zu diesen Enzymen bis 2004, insbesondere DFT-Modellstudien und frühe QM/MM-Studien. In diesem Abschnitt werden wir uns QM/MM-Untersuchungen neueren Datums widmen und uns dabei auf das prototypische bakterielle Enzym Cytochrom P450cam konzentrieren, das die stereospezifische Hydroxylierung der nicht-aktivierten C⁵-H^{exo}-Bindung in Campher unter physiologischen Bedingungen katalysiert.^[380,385,386,434–449]

Die Schlüsselschritte des Katalyzyklus von Cytochrom P450cam sind in Schema 3 dargestellt. Der Zyklus^[430–432] beginnt mit dem Ruhezustand **S1**, einem hexakoordinierten Fe^{III}-Komplex mit einem Wasserliganden in distaler Position.



Schema 3. Katalytischer Zyklus für die Hydroxylierung eines aliphatischen Kohlenwasserstoffsubstrats R-H in Cytochrom P450.

Der Eintritt des Camphersubstrats entfernt das Wassermolekül und führt zu einer pentakoordinierten Fe^{III} -Spezies **S2**, die dann zu einem Fe^{II} -Komplex **S3** reduziert wird. Die Anlagerung von molekularem Sauerstoff ergibt den Fe^{II} -Sauerstoffkomplex **S4**, der zur Fe^{III} -Peroxidspezies **S5** reduziert wird. Anschließende Protonierung erzeugt den Fe^{III} -Hydroperoxokomplex **S6**, auch Compound 0 genannt. Die folgende Aufnahme eines weiteren Protons bewirkt einen heterolytischen O-O-Bindungsbruch, wodurch sich Compound I (**S7**) und Wasser bilden. Aufgrund seiner Fe^{IV} -Oxo-Einheit ist Compound I sehr reaktiv, es kann daher über einen Rebound-Mechanismus, bei dem zuerst durch Wasserstoffabstraktion ein Radikalpaar **S8** und dann durch Rekombination der Produktkomplexe **S9** gebildet wird, ein Sauerstoffatom auf das Camphersubstrat übertragen. Der Katalysezyklus wird durch die Dissoziation des Alkoholprodukts und die Anlagerung eines Wassermoleküls geschlossen.

Alle Intermediate des Katalysezyklus von Cytochrom P450cam sind inzwischen durch DFT/MM-Rechnungen charakterisiert worden. Eine wichtige Aufgabe ist dabei die korrekte Zuordnung der Spinzustände dieser Intermediate. Deren relative Energien sind stark vom Anteil an exaktem Hartree-Fock-Austausch im gewählten Dichtefunktional abhängig, zudem werden sie von den Wechselwirkungen mit der Enzymumgebung beeinflusst. Das B3LYP-Hybridfunktional liefert in Kombination mit den etablierten Kraftfeldern für Proteine (z.B. CHARMM oder OPLS) realistische Energien für die unterschiedlichen Spinzustände, die mit den verfügbaren experimentellen Ergebnissen vereinbar sind. Genauer gesagt: B3LYP/CHARMM-Rechnungen ergeben korrekt den Low-Spin-Dublett-Grundzustand für **S1**,^[438] einen High-Spin-Sextett-Grundzustand für **S2**, der nur wenig unterhalb des Dubletts und Quartetts liegt,^[440] einen High-Spin-Quintett-Grundzustand für **S3**,^[440] der sich energetisch stark vom Triplet und Singulett unterscheidet, und einen offenschaligen Singulett-Grundzustand für **S4** mit geringem Energieunterschied zu den übrigen Spinzuständen.^[449] Diese Rechnungen liefern sowohl für **S5**^[449] als auch **S6**^[448] einen Dublett-Grundzustand, für **S7** einen mit dem benachbarten Quartett nahezu entarteten Dublett-Grundzustand,^[380,434] für **S8** verschiedene nahe beieinander liegende Dublett- und Quartettzustände^[436] und für **S9** ein Dublett mit einer kurzen Fe-O-Bindung, das energetisch etwas günstiger ist als die Quartett- und Sextettzustände mit längeren Fe-O-Bindungen.^[439] Die relativen Energien der Spinzustände in **S6**, **S7** und **S8** aus den B3LYP/CHARMM-Rechnungen stimmen gut mit den Ergebnissen korrelierter Ab-initio-QM/MM-Rechnungen überein, in denen die QM-Region auf CASSCF/MRCI-Niveau behandelt wurde.^[380,448]

Neben den relativen Energien der Spinzustände führen die DFT/MM-Rechnungen außerdem zu realistischen Ergebnissen für weitere Eigenschaften der Intermediate. Zudem erlauben sie eine Bewertung der Einflüsse der Enzymumgebung. Im Falle des Ruhezustands (**S1**) stimmen die berechnete Geometrie und die spektroskopischen Parameter des Dublett-Grundzustands gut mit den verfügbaren experimentellen Daten überein, und Vergleiche mit Modellrechnungen in der Gasphase zeigen, dass die Proteinumgebung durch Wasserstoffbrücken innerhalb der Bindungstasche eine aufrechte Anordnung des axialen Wassermoleküls bevorzugt.^[438] Das Camphersubstrat wird durch eine Wasserstoffbrücke zu Tyr96, deren Stärke auf BP86/AMBER-Niveau mit ca. 6 kcal mol⁻¹ beziffert wird,^[441] am aktiven Zentrum von Cytochrom P450 gehalten. Im Fall des pentakoordinierten Fe^{III} -Komplexes (**S3**) ändert sich die Orbitalbesetzung des Quintetts im Vergleich zur Gasphasenrechnung. Das d_{xz} -Orbital ist im Enzym doppelt besetzt, was durch gute Übereinstimmung zwischen berechneten und gemessenen Mößbauer-Parametern bestätigt wird.^[440] B3LYP/CHARMM-Rechnungen für den Fe^{II} -Sauerstoff-Komplex (**S4**) weisen darauf hin, dass die Proteinumgebung den energetischen Abstand zwischen dem offenschaligen Singulett und Quintett verringert, was die notwendige Spininversion im Katalysezyklus erleichtern würde.^[449] Der Fe^{III} -Peroxokomplex (**S5**) erweist sich während der Geometrieeoptimierung auf B3LYP/CHARMM-Niveau nur für das Dublett als stabil, während Quartett- und Sextettzustände zur Dissoziation führen.^[449]

Compound I (**S7**) wird allgemein als das entscheidende reaktive Intermediat von Cytochrom P450cam angesehen. Es ist eine Fe^{IV} -Oxo-Spezies mit drei ungepaarten Elektronen, von denen zwei in den π^* -Orbitalen der FeO-Einheit lokalisiert sind, während das dritte über den Liganden delokalisiert ist. B3LYP/CHARMM-Rechnungen haben gezeigt, dass die Proteinumgebung die Spindichteverteilung im Porphyrin- und im Schwefelring durch Wasserstoffbrücken zum Schwefel kontrolliert, was zu einem Porphyrin-Radikalkation und einer im Wesentlichen geschlossenschaligen Situation am

Schwefel führt.^[434] Diese Vorhersage für das bis dato experimentell nicht bekannte P450cam Compound I wurde später durch eine ENDOR-Studie am Compound I der Chlorperoxidase bestätigt,^[450] in welcher in guter Übereinstimmung mit dem berechneten Wert eine Spindichte von lediglich $0.2e$ am Schwefel erhalten wurde. Korrelierte Ab-initio-QM/MM-Rechnungen sagen eine geringe antiferromagnetische Kopplung voraus und untermauern somit einen Dublett-Grundzustand für P450cam Compound I.^[380] Die Aufspaltung zwischen Dublett und Quartett ist allerdings so gering, dass die durch Spin-Bahn-Kopplung verursachte Nullfeldaufspaltung ausreicht, um drei Kramers-Dubletts gemischter Multiplizität zu erzeugen, die allesamt bei Raumtemperatur populiert sind.^[380] B3LYP/CHARMM-Rechnungen weisen darauf hin, dass es eine Vielfalt relativ niedrig liegender Sextetts und Quartetts unterschiedlicher Orbitalbesetzung gibt (ca. 12 kcal mol^{-1} oberhalb des Grundzustandes),^[380] wohingegen Konfigurationen mit einer Fe^V-Oxo-Einheit energetisch sehr viel höher liegen.^[445]

In Bezug auf P450cam-Reaktionen sind DFT/MM-Studien für die Protonierungsschritte (**S5** → **S6** → **S7**)^[437, 443, 447] und für die Hydroxylierung (**S7** → **S8** → **S9**)^[385, 386, 435–437, 442, 444, 445] publiziert worden. Von den in P450cam möglichen Protonenquellen scheint der Asp251-Kanal, der das Häm durch ein Wasserstoffbrückennetzwerk (über Thr252-Wasser-Asp251-Arg186) mit dem umgebenden Lösungsmittel verbindet, die günstigste zu sein. Der erste Protonentransfer (**S5** → **S6**) ist im Wildtyp-Enzym mit einer berechneten Barriere von 1 kcal mol^{-1} extrem leicht, sodass der reduzierte Oxyhäm-Komplex (**S5**) selbst bei Temperaturen von flüssigem Helium (4–7 K) kaum detektiert werden kann.^[447] In der D251N-Mutante, in der Asp251 durch Asn251 ersetzt ist, rotiert Asn251 und unterbricht dadurch das Wasserstoffbrückennetzwerk, was zu einer höheren Barriere und somit zu einer (auch experimentell beobachteten) längeren Lebensdauer von **S5** führt.^[447] Die Umwandlung von Compound 0 in Compound I (**S6** → **S7**) wird gemeinhin als ein heterolytischer Prozess angesehen, beginnend mit der Addition eines Protons an den Hydroperoxoliganden und gefolgt von der Abspaltung eines Wassermoleküls. B3LYP/CHARMM-Rechnungen deuten hingegen auf einen gemischten homolytisch-heterolytischen Reaktionsweg als bevorzugte Alternative. Dabei folgt der anfänglichen Spaltung der O–O-Bindung in Compound 0 ein gleichzeitig ablaufender Elektronen- und Protonentransfer, durch den auf eine insgesamt heterolytische Weise Compound I und Wasser erhalten werden.^[443] Der traditionelle Mechanismus über ein protoniertes Compound 0 schien gemäß einer DFT-Modellstudie mit freier Geometrieoptimierung möglich,^[451] ist aber im Enzym wegen struktureller Beschränkungen durch die Proteinumgebung energetisch benachteiligt.^[443]

B3LYP/CHARMM-Studien zur Campherhydroxylierung durch Compound I (Schema 3) stützen den Zweizustands-Reboundmechanismus (**S7** → **S8** → **S9**), der zuvor auf Grundlage von QM-Modellrechnungen vorgeschlagen worden war. Für die Wasserstoffabstraktion zu Beginn trifft man in beiden Spinzuständen auf ähnliche Barrieren (etwas niedriger für das Dublett), während die nachfolgende Rekombination im Falle des Dubletts im Wesentlichen barrierefrei ist, im Quartett

hingegen eine nicht vernachlässigbare Barriere zu überwinden hat.^[436] Die letztgenannte Barriere ist elektronischer Natur: Um einen Quartettzustand während des Reboundschritts zu generieren, muss ein Elektron das Fe-d₂-Orbital besetzen, das in axialer Richtung antibindend und damit destabilisierend wirkt.^[436] B3LYP/OPLS-Studien haben zu der Vermutung geführt, der Quartettübergangszustand der Wasserstoffabstraktion in P450cam sei durch langreichweite Effekte, d.h. durch elektrostatische Wechselwirkungen zwischen der A-Propionatseitenkette des Porphyrins und dem benachbarten Arg299, stabilisiert.^[435, 437] Dieser ungewöhnliche Mechanismus der Übergangszustandsstabilisierung wurde allerdings durch nachfolgende sorgfältige DFT/MM-Rechnungen nicht gestützt,^[385, 442, 444] bei denen sich unter anderem protoniertes Arg297 als bevorzugt erwies (konsistent mit den verfügbaren Röntgenstrukturdaten). Im Verlauf dieser Untersuchungen wurde entdeckt, dass ein einzelnes Wassermolekül (beispielsweise das durch Umlagerung von Compound 0 in Compound I freigesetzte Wassermolekül) eine signifikante Herabsetzung der Barriere um 4 kcal mol^{-1} bewirken kann, da seine Wasserstoffbrücke zum Oxo-Atom im Übergangszustand aus einfachen elektrostatischen Gründen stärker wird.^[385, 442] Als alternative Reaktionswege für die Hydroxylierung von Campher ist auch die Wasserstoffabstraktion durch einen der elektronisch angeregten Sextett- und Quartettzustände von Compound I in Betracht gezogen worden.^[380] Die B3LYP/CHARMM-Barrieren für diese angeregten Zustände sind relativ gering, allerdings liegen die pentaradikalischen Übergangszustände energetisch etwas höher als die entsprechenden triradikalischen Strukturen und sollten daher normalerweise nicht von Bedeutung sein.^[445] Laut DFT-Modellrechnungen werden die pentaradikalischen Spezies während des Reboundschrittes (**S8** → **S9**) stärker stabilisiert, was zu einer Multizustandsreakтивität führen kann.^[452] Außer Compound I sind auch andere aktive Spezies für die Campherhydroxylierung wiederholt in der Literatur diskutiert worden. Allerdings sind Fe^V-Oxo-Spezies laut kürzlich durchgeführten B3LYP/CHARMM-Rechnungen energetisch zu hoch liegend, um von Bedeutung zu sein, und die um ein Elektron reduzierte Spezies (Compound II) zeigt nur eine geringe Reaktivität im Vergleich zu Compound I.^[445] Die verfügbaren QM/MM-Ergebnisse bestätigen somit die zentrale Rolle von Compound I im Zweizustands-Reboundmechanismus der Campherhydroxylierung.

Wie anfangs erwähnt haben wir in diesem Abschnitt vornehmlich die mechanistischen Einsichten angesprochen, die aus QM/MM-Studien über das prototypische P450cam-Enzym erhalten worden sind. Selbstverständlich hat es darüber hinaus viele QM/MM-Untersuchungen an verwandten Systemen gegeben. Um nur einige zu zitieren, seien DFT/MM-Studien zu Compound I in Isoformen von Cytochrom P450 im Menschen,^[453, 454] in Peroxidasen,^[455–458] in Stickstoffmonoxid-Synthasen^[459] und in Selenocystein enthaltenden Mutanten von Cytochrom P450^[460] sowie DFT/MM-Studien zur Meerrettich-Peroxidase^[461, 462] und anderen Hämproteinen erwähnt.^[463]

5. Aktuelle biomolekulare QM/MM-Studien

In Lit. [38] hatten wir biomolekulare QM/MM-Untersuchungen, die zwischen 2000 und Anfang 2006 veröffentlicht wurden, tabellarisch zusammengestellt. Wir bieten hier eine Aktualisierung dieser Übersicht für die Zeit von 2006 bis 2007. Tabelle 2 ist wie vorher^[38] aufgebaut: Die Einträge sind nach den untersuchten Typen von Biomolekülen gruppiert; die Enzyme sind zudem nach ihrer Klasse (EC-Nummer) sortiert. Dabei ist zu beachten, dass die Klassifikation durch die Hauptfunktion des Enzyms bestimmt wird, die nicht notwendigerweise mit dem untersuchten Prozess in der zitierten Studie übereinstimmt. Um die Tabelle übersichtlicher zu gestalten, werden identische Einträge in den Spalten „Biomolekül“, „Untersuchter Prozess“, „QM-Niveau“, „MM-Niveau“ und „Art der Rechnung“ in aufeinanderfolgenden Zeilen für das gleiche Biomolekül nicht wiederholt; „Kommentare“ gelten allerdings immer nur für die entsprechende Zeile.

Ebenso gelten dieselben Vorbehalte wie bisher:^[38] Wenn eine Publikation keinen der Schlüsselbegriffe (wie „QM/MM“, „combined quantum mechanics/molecular mechanics“, „hybrid quantum mechanics/molecular mechanics“ usw.) im Titel oder in der Zusammenfassung enthält, ist es wahrscheinlich, dass sie in unserer Literatursuche nicht gefunden wurde. Wir beanspruchen daher nicht, eine vollständige Liste vorzulegen, und entschuldigen uns, wenn wir einzelne Arbeiten übersehen oder ausgelassen haben sollten.

6. Zusammenfassung und Ausblick

QM/MM-Verfahren sind inzwischen die etablierte Methode der Wahl für die Behandlung reaktiver oder anderer elektronischer Prozesse in biomolekularen Systemen. Die schnell anwachsende Zahl an Publikationen, in denen QM/MM-Techniken verwendet werden, belegt eindrucksvoll, dass diese seit ihren Anfängen vor dreißig Jahren^[1] mittlerweile enorm ausgereift sind. In diesem Aufsatz haben wir allgemeine methodische Aspekte des QM/MM-Ansatzes, die zu gehörigen Optimierungs- und Simulationstechniken und die wesentlichen Anwendungsfelder zusammengefasst, immer mit Blick auf biomolekulare Systeme. Wir haben zusätzlich aus diesem Bereich einige typische Fallstudien vorgestellt und eine tabellarische Übersicht über kürzlich durchgeführte Anwendungen gegeben.

Wie in vielen dieser Publikationen dokumentiert, liefern QM/MM-Rechnungen detaillierte mechanistische Einsichten in enzymatische Reaktionen. Der QM/MM-Formalismus ermöglicht eine Aufteilung der Gesamtenergie, insbesondere der QM/MM-Wechselwirkungsenergie, in unterschiedliche Anteile und bietet daher die Möglichkeit, den Einfluss der Proteinumgebung (bis hin zu einzelnen Aminosäuren) auf den Katalysezyklus zu analysieren. Zusätzlich kann man zu diesem Zweck auch zwischen QM/MM-Resultaten für das vollständige Enzym und QM-Resultaten für ein geeignet ausgewähltes Modellsystem vergleichen. Ein genaueres Verständnis für den Ursprung der katalytischen Wirkung von Enzymen und deren teilweise spektakulärer Erhöhung der

Umsatzrate erfordert Simulationen der jeweils katalysierten Reaktion im Enzym und in wässriger Lösung. QM/MM-Ansätze sind grundsätzlich hierfür gut geeignet, und es gibt eine Reihe von QM/MM-Studien, die dieser Frage für verschiedene Enzyme nachgegangen sind. Insgesamt ist eine Vielfalt von Konzepten und Ideen entwickelt worden, um den Ursprung der enzymatischen Katalyse zu erklären, von denen viele zum Gegenstand kritischer und oft kontroverser Diskussionen in der Literatur geworden sind (für Übersichten siehe Lit. [25, 40–42, 97, 98, 618–625]). Ohne auf Details einzugehen halten wir fest, dass die Übergangszustandsstabilisierung, basierend auf elektrostatischen Effekten,^[621] allgemein als der dominierende Faktor im entscheidenden chemischen Schritt enzymatisch katalysierter Umsetzungen betrachtet wird, durchaus im Einklang mit Linus Paulings ursprünglichem Vorschlag,^[626] wonach die Funktionsweise von Enzymen in der stärkeren Bindung des Übergangszustands verglichen mit dem Substrat und der damit verbundenen Herabsetzung der Aktivierungsbarriere begründet liege.

Obwohl wir uns in diesem Aufsatz auf biomolekulare Systeme konzentriert haben, ist doch klar, dass QM/MM-Methoden geeignet sind, viele andere komplexe Systeme aus allen Bereichen der Chemie zu behandeln. Sie können angewendet werden, wann immer ein lokales elektronisches Ereignis an einem aktiven Zentrum (typischerweise in der Größenordnung von 100 Atomen) simuliert werden soll, das von einer mit ihm wechselwirkenden Umgebung beeinflusst wird. Es ist sicher nötig, die verfügbaren QM/MM-Werkzeuge weiter zu verbessern, insbesondere wenn man auf höhere Genauigkeit und ein besseres Sampling abzielt, aber die vorhandenen QM/MM-Methoden sind bereits hinreichend gut, um ein realistisches Modellieren realer chemischer Probleme zu erlauben. Wir erwarten in der Zukunft eine zunehmende Anzahl solcher Anwendungen.

H.M.S. dankt Johannes Kästner und Tell Tuttle für aufschlussreiche Diskussionen. Wir danken Dongqi Wang für das Vortitelbild und Tobias Benighaus und Sebastian Metz für die deutsche Übersetzung. Diese Arbeit wurde von der Volkswagenstiftung unterstützt.

Eingegangen am 29. April 2008

Tabelle 2: Überblick über biomolekulare QM/MM-Anwendungen zwischen 2006 und 2007.

Biomolekül	Untersuchter Prozess	QM-Niveau	MM-Niveau	Art der Rechnung ^[a]	Kommentare	Lit.
Oxidoreduktasen (EC 1); O₂- und Elektronentransportproteine						
<i>Flavin-abhängige Oxidoreduktasen</i>						
p-Hydroxybenzoathydroxylase	OH-Transfer	AM1	GROMOS	Opt, QM/MM FEP, US(MD)	Vergleich von Freie-Energie-Methoden	[302]
Flavinreduktase	Flavin-Fluoreszenz	INDO/S-CIS	CHARMM	MD		[464]
Flavodoxinreduktase	Flavin-Fluoreszenz	INDO/S-CIS	CHARMM	MD		[464]
„Medium chain“-Acyl-CoA-Dehydrogenase (MCAD)	FAD-Redoxpotential	SCC-DFTB	CHARMM	US(MD)		[465]
Cholesterinoxidase	FAD-Redoxpotential	SCC-DFTB	CHARMM	US(MD)		[465]
<i>NAD(P)-abhängige Oxidoreduktasen</i>						
Leber-Alkoholdehydrogenase (LADH)	elektronische Anregungen von gebundenem NADH	TD-DFT, TD-HF, CIS	CHARMM	Einzelpunktrechnungen		[466]
Aldehyddehydrogenase	Thioacetalbildung, H ⁺ -Transfer	PM3	OPLS-AA	Opt, US(MD)		[467]
Dihydrofolatreduktase	H ⁺ -Transfer	PM3, HF, DFT	AMBER	Opt, TI(MD)		[468]
		AM1	CHARMM	US(MD), KIE	VTST mit Tunneln	[469]
		PM3, DFT	AMBER	TI(MD)	2D-MFEP	[470]
<i>TTQ-abhängige Oxidoreduktasen</i>						
Methylamindehydrogenase	H ⁺ -Transfer	PM3	CHARMM	US(MD), KIE	VTST mit Tunneln	[471]
Aromatische Amindehydrogenase	H ⁺ -Transfer	PM3	CHARMM	US(MD), KIE	VTST mit Tunneln	[472-474]
<i>Nichthäm-Eisen-Oxidoreduktasen</i>						
HIF-1α-Asparaginylhydroxylase	O ₂ -Aktivierung	CASSCF	EFP (AMBER)	Opt	Elektronenstruktur	[475]
Isopenicillin-N-Synthase	O ₂ -Bindung	DFT	AMBER	Opt		[476]
Sojabohnen-Lipoxygenase 1	H-Abstraktion	PM3/d, DFT	CHARMM	Opt	PM3/d-Parameter	[477]
<i>Häm-abhängige Oxidoreduktasen</i>						
Cytochrom-c-Peroxidase	Charakterisierung der Fe ^{IV} -Oxo-Spezies (Cpd I)	DFT	CHARMM	Opt		[457]
Cytochrom P450	Charakterisierung der Fe ^{IV} -Oxo-Spezies (Cpd I)	DFT	CHARMM	Opt	Einfluss von Mutationen	[457, 460]
	Bildung der Fe ^{IV} -Oxo-Spezies (Cpd I)		CHARMM			[443]
	H-Abstraktion		CHARMM, OPLS-AA			[442]
			CHARMM			
	Strukturvorbereitung	DFT	CHARMM	Opt	Substratselektivität	[385]
Cytochrom P450 3A4	Charakterisierung der Fe ^{IV} -Oxo-Spezies (Cpd I)	DFT	CHARMM	Opt	Propionat-Spindichte	[478]
Ascorbatperoxidase	Charakterisierung der Fe ^{IV} -Oxo-Spezies (Cpd I)	DFT	CHARMM	Opt	Effekt der elektronischen Konfiguration	[444]
Meerrettich-Peroxidase	Charakterisierung der Fe-OH-Spezies (Cpd II)	DFT	CHARMM	Opt		[445]
	Bildung der Fe ^{IV} -Oxo-Spezies (Cpd I)				Hydratationsverfahren,	[386]
	Bildung der Fe-OOH-Spezies (Cpd 0)				Protonierungszustände	
NO-Synthase	Bildung der Fe ^{IV} -Oxo-Spezies (Cpd I)					[454]
						[457]
						[462]
						[461]
						[479]
					Mößbauer-Parameter	[459]

Tabelle 2: (Fortsetzung)

Biomolekül	Untersuchter Prozess	QM-Niveau	MM-Niveau	Art der Rechnung ^[a]	Kommentare	Lit.
Katalase	Struktur des aktiven Zentrums	DFT	AMBER	Opt	starres Protein	[458]
	Struktur des aktiven Zentrums, elektronische Konfigurationen			Opt, CP-MD		[480]
Katalase-Peroxidase (KatG)	Charakterisierung der Fe ^{IV} -Oxo- (Cpd I) und Fe-OH-Spezies (Cpd II)	DFT	AMBER	Opt, CP-MD		[481]
<i>Andere Hämproteine</i>						
Trunkiertes Hämoglobin (PcHb)	O ₂ -Bindung	DFT	AMBER	Opt	Effekt der Proteinkonformationen	[482]
Diverse Hämproteine Myoglobin	O ₂ -Bindung	DFT	AMBER	Opt		[483]
	Schwingungsanalyse mit gebundenem CO	DFT	AMBER	Opt		[484]
Leghämoglobin	Schwingungsspektrum von dissoziertem CO		CHARMM			[485]
	CO-Dissoziation		OPLS-AA		Veränderungen der Proteinstruktur	[486]
	O ₂ -Bindung		CHARMM		Mutanten	[487]
	Charakterisierung der Fe-OOH-Spezies		AMBER		[488]	
Leghämoglobin	O ₂ -Bindung	DFT	AMBER	Opt	Mutanten	[489]
					Effekt der Proteinkonformationen	[482]
<i>Andere Fe-abhängige Oxidoreduktasen</i>						
„Fe only“-Hydrogenase	Struktur des aktiven Zentrums	DFT	AMBER	Opt, QM/MM-FEP	IR, EPR-Parameter	[490]
Lösliche Methanmonoxygenase (MMO)	H ₂ -Bildung			Opt		[491]
	O ₂ -Aktivierung	DFT	OPLS-AA	Opt		[492]
<i>V- und Cu-abhängige Oxidoreduktasen</i>						
V-Haloperoxidasen	Protonierungszustand des aktiven Zentrums, Bildung des OOH-Intermediats	DFT	AMBER	CP-MD, Metadynamiken		[352]
V-Chloroperoxidase	Protonierungszustand des aktiven Zentrums, ⁵¹ V-NMR	DFT	CHARMM	Opt		[379]
Dopamin-β-Monoxygenase	H-Abstraktion	DFT	AMBER	Opt		[493]
Peptidylglycin-α-hydroxylierende Monoxygenase	O ₂ -Bindung, O ₂ -Aktivierung	DFT	AMBER	Opt		[494]
Partikuläre Methanmonoxygenase (pMMO)	CH ₄ → CH ₃ OH-Umwandlung	DFT	AMBER	Opt	Cu- und Cu ₂ -Zentren berücksichtigt	[495]
Cu-Nitritreduktase	Nitritreduktion	DFT	AMBER	Opt	Vergleich mit Modellverbindungen	[496]
<i>Andere Metalloproteine</i>						
Rubredoxin	Struktur und Redoxpotential des aktiven Zentrums	DFT	AMBER	Opt	Einfluss von Mutationen	[497]
Blaue Kupferproteine (Azurin, Plastocyanin, Stellacyanin) Azurin	Struktur und Redoxpotential des aktiven Zentrums	DFT	AMBER	Opt		[498]
	Elektronische Anregungen	DFT, TDDFT	AMBER	CP-MD		[499]
<i>Andere Oxidoreduktasen</i>						
Glutathion-Peroxidase DsbA	H ₂ O ₂ -Reduktion Cys pK _s	DFT PM3, DFT	AMBER AMBER	Opt Opt	Vergleich mit Thioredoxin	[500]
Quinoprotein-Methanol-Dehydrogenase	Dehydrierung	SCC-DFTB	CHARMM	Opt		[501]

Tabelle 2: (Fortsetzung)

Biomolekül	Untersuchter Prozess	QM-Niveau	MM-Niveau	Art der Rechnung ^[a]	Kommentare	Lit.
Luciferase	Struktur und Fluoreszenzenergien von gebundenem, angeregtem Oxyluciferin	SAC/SAC-Cl	AMBER	Opt		[503]
<i>Andere Redoxproteine</i>						
Thioredoxin	Disulfidreduktion	HF, DFT, MP2	UFF	Opt		[504]
	Cys pK _s	PM3, DFT	AMBER	Opt	Vergleich mit DsbA	[501]
Transferasen (EC 2)						
Glutathion-S-Transferase	Thiolataddition	AM1	CHARMM	US(MD)	Mutanten	[505]
Catechol-O-Methyltransferase	Methyltransfer	AM1 DFT	CHARMM AMBER	Opt, US(MD) QM/MM FEP	Korrekturen zum PMF Vergleich von Solvationsmodellen	[506] [507]
		AM1, DFT	OPLS	Opt, US(MD)	2D-Interpolation zu höherer QM	[425]
Histon-Lys-Methyltransferase SET7/9	Methyltransfer	DFT, MP2	AMBER	Opt, QM/MM FEP		[508]
		SCC-DFTB	CHARMM	US(MD)		[509]
		HF	AMBER	US(MD)		[510]
		SCC-DFTB	CHARMM	Opt		[511]
		SCC-DFTB, MP2	CHARMM	Opt		[512]
Virale Histon-Lys-Methyltransferase (vSET)	Methyltransfer	AM1	OPLS	Opt, US(MD)		[513]
Gly-N-Methyltransferase	Methyltransfer	SCC-DFTB	CHARMM	Opt		[514]
DNA-C5-Cytosin-Methyltransferase M.Hhal	Methylierung	DFT	CHARMM	Opt		
Rubisco-„Large subunit“-Methyltransferase (LSMT)	Methyltransfer	SCC-DFTB, MP2	CHARMM	Opt		[515]
Pyrimidin-Nucleosidphosphorylase	Struktur des aktiven Zentrums	DFT	CHARMM	Opt		[516]
cAMP-abhängige Proteinkinase (cAPK)	Ser-Phosphorylierung	DFT	AMBER	Opt	Effekt der Enzymphosphorylierung	[517]
				Opt, NEB, QM/MM FEP		[518]
Cyclin-abhängige Kinase 2 (CDK2)	Inhibitorbindung	AM1	OPLS-AA	MD		[519]
reverse HIV-1-Transkriptase	Phosphoryltransfer Struktur des aktiven Zentrum	DFT AM1, PM3	AMBER CHARMM	CP-MD Opt	Protonierungszustände	[520] [521]
HIV-1-Integrase	Inhibitorbindung	AM1	OPLS-AA	MD	unterschiedliche Inhibitoren	[522]
		AM1, DFT PM3 HF, DFT, MP2	CHARMM CHARMM	Opt, MD Opt		[523] [524] [525]
DNA-Polymerase β	Phosphoryltransfer	DFT	AMBER	Opt, QM/MM FEP		[526]
Polymerase IV (Dpo4)	Nukleotidyltransfer	AM1, HF, DFT	OPLS-AA	Opt, US(MD)	Vergleich mit HGXPRTase	[527]
Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase (HGPTase)	Phosphoribosyltransfer	AM1, HF, DFT	OPLS-AA	Opt, US(MD)	Vergleich mit HGPTase	[527]
Hypoxanthin-Guanin-Xanthin-Phosphoribosyltransferase (HGXPRTase)	Phosphoribosyltransfer	DFT	AMBER	Opt, US(MD)		
Farnesyltransferase	Struktur des aktiven Zentrums mit gebundenem Produkt	DFT	UFF	Einzelpunktrechnungen		[528]
Golgi-Glycosyltransferase (N-Acetylglucosaminyltransferase)	Glycosyltransfer	DFT	AMBER	Opt		[529]
Östrogen-Sulfotransferase	Sulfuryltransfer	HF, DFT	AMBER	Opt		[530]
Thymidylatsynthase	Folat-abhängige Methylierung	AM1, DFT	OPLS-AA	Opt, US(MD), KIE		[531]

Tabelle 2: (Fortsetzung)

Biomolekül	Untersuchter Prozess	QM-Niveau	MM-Niveau	Art der Rechnung ^[a]	Kommentare	Lit.
Hydrolasen (EC 3)						
<i>Peptidasen und andere Amidasen</i>						
Subtilisin	Struktur des tetraedrischen Intermediats	PM3	AMBER	Einzelpunktrechnung		[532]
Thermolysin	Peptidhydrolyse	DFT	AMBER	TI(CP-MD)		[533]
Trypsin	H ⁺ -Transfer	HF	AMBER	Opt, QM/MM FEP, NMR-Parameter		[534]
Kumamolisin-As (Sedolisin, Ser-Carboxyl-Peptidase)	Peptidhydrolyse	SCC-DFTB	CHARMM	US(MD)		[535, 536]
Hepatitis-C-Virus-Protease NS3	Acylierungsschritt	DFT	EFP(AMBER)	Opt		[537]
	Peptidhydrolyse	SCC-DFTB	CHARMM	US(MD)		[538]
		AM1	CHARMM	Opt, MD		[539]
HIV-1 Asp-Protease	Bildung des tetraedrischen Intermediats			Opt, US(MD)	Vergleich von Grenzschemata	[242]
	Struktur des aktiven Zentrums mit gebundenem Substrat	DFT	AMBER	CP-MD	Strukturen der H-Brücken	[540]
	Inhibitor-Bindung	DFT:PM3	UFF	Einzelpunktrechnungen	3-Schichten-ONIOM; Effekt von Mutationen	[541]
Histondeacetylase-artiges Protein	Amidhydrolyse	DFT	AMBER	Opt		[542]
Cathepsin K	Peptidhydrolyse	AM1	CHARMM	2D-US(MD), EA-VTST		[543]
Cathepsin B	Thiolatangriff am dreigliedrigen Ring des Inhibitors	DFT	CHARMM	Opt		[544]
Klasse-A-β-Lactamase	Deacylierung	AM1, DFT	CHARMM	Opt		[545]
Klasse-B2-Metalloc-β-Lactamase	Hydrolyse	SCC-DFTB, DFT	CHARMM	US(MD)		[546]
Metallo-β-Lactamase IMP-1	Inhibitor-Bindung	SCC-DFTB	CHARMM	MD		[547]
Dizink-L1-β-Lactamase	Bildung des tetraedrischen Intermediats	SCC-DFTB, DFT	CHARMM	Opt, US(MD)		[548]
Gelatinase A (MMP-2)	Substratbindung	SCC-DFTB	MD			[549]
	Struktur des aktiven Zentrums	DFT	OPLS-AA	Opt		[550]
Peptiddeformylase	Deformylierung	DFT	AMBER	Opt		[551]
<i>Esterasen</i>						
Acetylcholinesterase	1,3-dipolare Cycloaddition	DFT	AMBER	Opt	In-situ-Inhibitorsynthese	[552]
Butyrylcholinesterase	Inhibitor-Acylierung	HF	AMBER	Opt, QM/MM FEP	Mutanten	[553]
	Kokainhydrolyse			Opt		[554]
<i>Glycosylasen</i>						
Bacillus-1,3-1,4-β-Glucanase	Struktur des gebundenen Substrats	DFT	CHARMM	CP-MD		[555]
<i>Phosphatasen, Phosphoesterasen</i>						
PcrA-Helicase	ATP-Hydrolyse	DFT	AMBER			[556]
Phosphotriesterase	Phosphotriesterhydrolyse	AM1(DFT, MP2)	CHARMM	US(MD)	2-schichtiges QM-Verfahren	[557]
Cyclische Nucleotidphosphodiesterasen PDE4, PDE5	Struktur des aktiven Zentrums	DFT	AMBER	Opt	Identität der Metalle, Liganden	[558]
<i>Andere Hydrolasen</i>						
4-Chlorobenzoyl-CoA-Dehalogenase	S _N Ar-Substitution	PM3	CHARMM	US(MD)		[559]
Hefe-Cytosindeaminase	Zn-O(Uracil)-Spaltung	PM3:DFT	AMBER	US(MD)	ONIOM mit 2 QM-Schichten + MM-MD	[560]
	OH ⁻ -Angriff zur Bildung von TS-Analoga	SCC-DFTB	CHARMM	Opt, US(MD)		[561]
Guanideaminase bGD	Deaminierung	PM3:DFT	AMBER	Opt	ONIOM mit 2 QM-Schichten	[562]

Tabelle 2: (Fortsetzung)

Biomolekül	Untersuchter Prozess	QM-Niveau	MM-Niveau	Art der Rechnung ^[a]	Kommentare	Lit.
Lösliche Epoxidhydrolase (sEH)	Phosphoryltransfer	DFT	AMBER	TI(CP-MD)		[563]
Lyasen (EC 4)						
Orotidin-5'-monophosphatdecarboxylase	Direkte Decarboxylierung	DFT	CHARMM	Metadynamik		[353]
Carboanhydrase II	H ⁺ -Transport pK _s	SCC-DFTB	CHARMM	US(MD) MD	Vergleich von GSBP und PBC	[564] [180]
Dioldehydratase	H-Abstraktion, OH-Transfer	DFT	AMBER	Opt	Einfluss von Mutationen	[565]
Citratsynthase	H ⁺ -Transfer/Enolisierung	AM1 AM1, HF, MP2	CHARMM	Opt, US(MD) Opt		[566] [567]
Isomerasen (EC 5)						
4-Oxalocrotonattautomerase	H ⁺ -Transfer	HF, DFT AM1, DFT DFT	AMBER CHARMM	Reaktionspfad-Opt, QM/MM FEP Opt	Verschiedene Substrate	[568]
Glu-Racemase	H ⁺ -Transfer	AM1	CHARMM	Opt, MD	Einfluss von Mutationen	[569] [570]
Ala-Racemase	H ⁺ -Transfer	AM1	CHARMM	US(MD) US(MD), KIE		[571] [572]
Triosephosphatisomerase	Pro-Faltung im aktiven Zentrum	DFT	GROMOS, OPLS-AA	Opt	VTST mit Tunneln, Pfad-integrale	[573]
Chorismatmutase	Claisen-Umlagerung	HF AM1, DFT	AMBER OPLS-AA	Opt	Vergleich mit FMO-QM für ganzes System	[429]
Methylmalonyl-CoA-Mutase	H-Transfer	AM1, HF	CHARMM	MD	2D-Interpolation auf höheres QM-Niveau	[425]
Chalconisomerase	Michael-Addition	AM1 AM1, MP2	CHARMM OPLS-AA	US(MD), KIE Opt, US(MD)	DTSS-Analyse VTST mit Tunneln	[418] [575] [576]
					Äquilibrierung vor Reaktion	[577]
Photoaktive Proteine						
Bakterielles Reaktionszentrum	EPR-Parameter von reduziertem Ubiquinon	DFT	UFF	Opt		[578]
Rinder-Rhodopsin	Struktur des aktiven Zentrums	DFT	AMBER	Opt	Übersicht	[378]
	Elektronische Anregungen	SCC-DFTB, CASSCF, CASPT2 DFT, CASSCF, MCQDPT2 DFT, SAC- CI	CHARMM	MD Opt	Verschiedene Retinalde- ivate	[579]
Bacteriorhodopsin	H ⁺ -Transfer	SCC-DFTB HF	CHARMM AMBER	Opt	Übersicht Mechanische Einbet-tung	[582] [583]
	Elektronische Anregungen	SCC-DFTB, MRCI (OM2, SORCI) DFT, SAC- CI	CHARMM	Opt, MD Opt		[376] [581]
Sensorisches Rhodopsin II	Elektronische Anregungen	SCC-DFTB, MRCI (OM2, SORCI) DFT, SAC- CI	CHARMM AMBER	Opt, MD Opt		[376] [581]

Tabelle 2: (Fortsetzung)

Biomolekül	Untersuchter Prozess	QM-Niveau	MM-Niveau	Art der Rechnung ^[a]	Kommentare	Lit.
Humanes blaues Pigment	Elektronische Anregungen	DFT, SAC-Cl HF	AMBER Dreiding	Opt Einzelpunktrechnungen		[584]
Humane Opsine	Elektronische Anregungen	DFT, TDDFT	UFF	Opt	Relative Spektrumsverschiebung Mutanten	[585]
Grün fluoreszierendes Protein	Elektronische Anregungen	DFT, HF, (TD)DFT, CASSCF	AMBER EFP(AMBER)	QM/MM-FEP Opt		[586]
Photoaktives gelbes Protein „Kindling“ fluoreszierendes Protein asFP595	H ⁺ -Transfer Elektronische Anregungen	DFT HF, (TD)DFT	AMBER EFP(AMBER)	QM/MM-FEP Opt		[587] [588]
Photosystem II	Strukturen von O ₂ -bildenden Komplexen	DFT	AMBER	Opt		[589]
α-C-Phycocyanin	Raman-Parameter von gebundenem Phycocyanobilin	DFT	CHARMM	Opt		[590, 591] [592]
Andere Proteine und Protein-Ligand-Komplexe						
Hsc70-ATPase	ATP-Hydrolyse	DFT	AMBER	CP-MD, Metadynamik		[593]
Hefe-Metallochaperon Atx1	Struktur der Cu-Bindungsstelle	DFT	AMBER	Opt	EXAFS-Parameter	[594]
G-Aktin	Bindung von Latrunculinen	MNDO/H	CHARMM	Opt	Synthetische Analoga	[595]
Myosin	ATP-Hydrolyse	HF, DFT	CHARMM	Opt		[596]
Ras-p21	GTP-Hydrolyse	HF	EFP(AMBER)	Opt	Teilmodell	[597]
Ras–RasGAP	GTP-Hydrolyse	DFT	CHARMM	Opt, CP-MD		[598]
KcsA-K ⁺ -Kanal	Elektronische Struktur	DFT	AMBER	CP-MD		[599]
NR ₄ ⁺ -Transporter AmtB	Protonierungszustände					[600]
	Struktur der Bindungssche	HF	AMBER	Opt		[601]
	NH ₄ ⁺ -Deprotonierung	DFT	CHARMM	Opt, MD		[602]
Humanes Serumalbumin (HSA)	Bilirubin-Bindung	PM3	GROMOS	Opt		[603]
γD-Crystallin	Trp-Fluoreszenz	INDO/S-CIS	CHARMM	MD		[604]
Verschiedene Proteine	Trp-Fluoreszenz	INDO/S-CIS	CHARMM	MD		[605]
Oligonucleotide und Addukte						
DNA	Struktur	DFT PM3, DFT DFT	AMBER UFF AMBER	Opt	Bindungsanalyse Einfluss von Mg ²⁺ , Ca ²⁺ Einfluss von Phosphatmodifikationen	[607] [608] [609]
	Deaktivierung von ange- regtem CG-Paar	CASSCF		MD		[384]
	Ladungstransport	DFT		MD	SIC-DFT	[610]
	Elektronische Anregungen in C	EOM-CCSD(T)		Einzelpunktrechnungen	Momentaufnahmen aus MM-MD	[611]
	Elektronische Anregungen in G	DFT, TD-DFT, EOM-CCSD(T)		Opt		[612]
DNA–Cisplatin	Struktur	DFT	AMBER	Opt	Bindungsanalyse	[613]
DNA–Pt ₂ -Komplex	Struktur	DFT	AMBER	CP-MD		[614]
DNA–Duocarmycin	S _N 2-Angriff	DFT	AMBER	CP-MD		[615]
DNA–Anthramycin	Struktur	DFT	AMBER	CP-MD		[616]
DNA–Dynemicin A	Bergman-Cyclisierung	DFT	CHARMM	Opt		[617]

[a] CP-MD: Car-Parrinello-MD; EA-VTST: Ensemble-gemittelte variationelle Übergangszustandstheorie (ensemble-averaged variational transition-state theory); EFP: effektives Fragmentpotential (effective fragment potential); FEP: Freie-Energie-Perturbationsmethode (free-energy perturbation); Opt: Optimierung; TI: thermodynamische Integration; US: Umbrella-Sampling.

- [1] A. Warshel, M. Levitt, *J. Mol. Biol.* **1976**, *103*, 227–249.
- [2] M. J. Field, P. A. Bash, M. Karplus, *J. Comput. Chem.* **1990**, *11*, 700–733.
- [3] J. Gao, *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 298–305.
- [4] J. Gao in *Reviews in Computational Chemistry*, Vol. 7 (Hrsg.: K. B. Lipkowitz, D. B. Boyd), VCH, New York, **1996**, S. 119–185.
- [5] M. A. Cunningham, P. A. Bash, *Biochimie* **1997**, *79*, 687–689.
- [6] *Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Methods (ACS Symp. Ser., Vol. 712)* (Hrsg.: J. Gao, M. A. Thompson), American Chemical Society, Washington, **1998**.
- [7] K. M. Merz, Jr. in *Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Methods (ACS Symp. Ser., Vol. 712)* (Hrsg.: J. Gao, M. A. Thompson), American Chemical Society, Washington, **1998**, S. 2–15.
- [8] J. Gao in *Encyclopedia of Computational Chemistry*, Vol. 2 (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 1257–1263.
- [9] P. Amara, M. J. Field in *Encyclopedia of Computational Chemistry*, Vol. 1 (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 431–437.
- [10] M. F. Ruiz-López, J.-L. Rivail in *Encyclopedia of Computational Chemistry*, Vol. 1 (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 437–448.
- [11] K. M. Merz, Jr., R. V. Stanton in *Encyclopedia of Computational Chemistry*, Vol. 4 (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 2330–2343.
- [12] R. A. Friesner, M. D. Beachy, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1998**, *8*, 257–262.
- [13] B. Beck, T. Clark, *Perspect. Drug Discovery Des.* **1998**, *9–11*, 131–159.
- [14] T. Mordasini, W. Thiel, *Chimia* **1998**, *52*, 288–291.
- [15] G. Monard, K. M. Merz, Jr., *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 904–911.
- [16] I. H. Hillier, *THEOCHEM* **1999**, *463*, 45–52.
- [17] P. Amara, M. J. Field in *Computational Molecular Biology*, Vol. 8 (Hrsg.: J. Leszczynski), Elsevier, Amsterdam, **1999**.
- [18] T. C. Bruice, K. Kahn, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 540–544.
- [19] P. Sherwood in *Modern Methods and Algorithms of Quantum Chemistry (NIC Ser., Vol. 1)* (Hrsg.: J. Grotendorst), John von Neumann Institute of Computing, Jülich, **2000**, S. 257–277.
- [20] P. D. Lyne, O. A. Walsh in *Computational Biochemistry and Biophysics* (Hrsg.: O. M. Becker, M. Watanabe), Dekker, New York, **2001**, S. 221–236.
- [21] A. J. Mulholland in *Theoretical Biochemistry: Processes and Properties of Biological Systems (Theor. Comput. Chem., Vol. 9)* (Hrsg.: L. A. Eriksson), Elsevier, Amsterdam, **2001**, S. 597–653.
- [22] M. J. Field, *J. Comput. Chem.* **2002**, *23*, 48–58.
- [23] V. Gogonea, *Internet Electron. J. Mol. Des.* **2002**, *1*, 173–184.
- [24] R. Castillo, M. Oliva, S. Martí, V. Moliner, I. Tuñón, J. Andrés, *Recent Res. Dev. Quantum Chem.* **2002**, *3*, 51–74.
- [25] J. L. Gao, D. G. Truhlar, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2002**, *53*, 467–505.
- [26] G. Monard, X. Prat-Resina, A. González-Lafont, J. M. Lluch, *Int. J. Quantum Chem.* **2003**, *93*, 229–244.
- [27] L. Ridder, A. J. Mulholland, *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 1241–1256.
- [28] G. Náray-Szabó, I. Berente, *THEOCHEM* **2003**, *666–667*, 637–644.
- [29] U. Ryde, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2003**, *7*, 136–142.
- [30] M. Peräkylä in *Quantum Medicinal Chemistry (Methods Princ. Med. Chem., Vol. 17)* (Hrsg.: P. Carloni, F. Alber), Wiley-VCH, Weinheim, **2003**, S. 157–176.
- [31] F. Perruccio, L. Ridder, A. J. Mulholland in *Quantum Medicinal Chemistry (Methods Princ. Med. Chem., Vol. 17)* (Hrsg.: P. Carloni, F. Alber), Wiley-VCH, Weinheim, **2003**, S. 177–198.
- [32] J.-L. Rivail in *Computational Medicinal Chemistry for Drug Discovery* (Hrsg.: P. Bultinck, H. De Winter, L. Wilfried, J. P. Tollenaere), Dekker, New York, **2004**, S. 119–131.
- [33] R. A. Friesner, *Drug Discovery Today Technol.* **2004**, *1*, 253–260.
- [34] A. J. Mulholland, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 1393–1402.
- [35] R. A. Friesner, V. Guallar, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2005**, *56*, 389–427.
- [36] H. Lin, D. G. Truhlar, *Theor. Chem. Acc.* **2007**, *117*, 185–199.
- [37] H. M. Senn, W. Thiel, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2007**, *11*, 182–187.
- [38] H. M. Senn, W. Thiel in *Atomistic Approaches in Modern Biology (Top. Curr. Chem., Vol. 268)* (Hrsg.: M. Reiher), Springer, Berlin, **2007**, S. 173–290.
- [39] H. Hu, W. Yang, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2008**, *59*, 573–601.
- [40] M. Garcia-Viloca, J. Gao, M. Karplus, D. G. Truhlar, *Science* **2004**, *303*, 186–195.
- [41] J. Pu, J. Gao, D. G. Truhlar, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3140–3169.
- [42] J. Gao, S. Ma, D. T. Major, K. Nam, J. Pu, D. G. Truhlar, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3188–3209.
- [43] F. Maseras in *Organometallic Bonding and Reactivity: Fundamental Studies (Top. Organomet. Chem., Vol. 4)* (Hrsg.: J. M. Brown, P. Hofmann), Springer, Berlin, **1999**, S. 165–191.
- [44] I. B. Bersuker in *Computational Chemistry: Reviews of Current Trends*, Vol. 6 (Hrsg.: J. Leszczynski), World Scientific, Singapore, **2001**, S. 69–135.
- [45] F. Maseras, K. Morokuma, *J. Comput. Chem.* **1995**, *16*, 1170–1179.
- [46] T. Matsubara, F. Maseras, N. Koga, K. Morokuma, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 2573–2580.
- [47] F. Maseras, *Chem. Commun.* **2000**, 1821–1827.
- [48] D. Balcells, G. Drudis-Solé, M. Besora, N. Dölker, G. Ujaque, F. Maseras, A. Lledós, *Faraday Discuss.* **2003**, *124*, 429–441.
- [49] T. K. Woo, P. M. Margl, P. E. Blöchl, T. Ziegler, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 7877–7880.
- [50] T. K. Woo, L. Cavallo, T. Ziegler, *Theor. Chem. Acc.* **1998**, *100*, 307–313.
- [51] T. K. Woo, P. M. Margl, L. Deng, L. Cavallo, T. Ziegler, *Catal. Today* **1999**, *50*, 479–500.
- [52] S.-Y. Yang, T. Ziegler, *Organometallics* **2006**, *25*, 887–900.
- [53] L. Guidoni, P. Maurer, S. Piana, U. Rothlisberger, *Quant. Struct.-Act. Relat.* **2002**, *21*, 119–127.
- [54] A. Magistrato, A. Togni, U. Rothlisberger, T. K. Woo in *Computational Modeling of Homogeneous Catalysis (Catalysis by Metal Complexes, Vol. 25)* (Hrsg.: F. Maseras, A. Lledós), Springer, Dordrecht, **2002**, S. 213–252.
- [55] A. Magistrato, A. Togni, U. Rothlisberger, *Organometallics* **2006**, *25*, 1151–1157.
- [56] B. M. Rode, C. F. Schwenk, T. S. Hofer, B. R. Randolph, *Coord. Chem. Rev.* **2005**, *249*, 2993–3006.
- [57] M. Bühl, S. Grigoleit, H. Kabrede, F. T. Mauschick, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 477–488.
- [58] S. Tsushima, U. Wahlgren, I. Grenthe, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 9175–9182.
- [59] S. L. Chatwin, M. G. Davidson, C. Doherty, S. M. Donald, R. F. R. Jazzaar, S. A. Macgregor, G. J. McIntyre, M. F. Mahon, M. K. Whittlesey, *Organometallics* **2006**, *25*, 99–110.
- [60] A. Genest, A. Woiterski, S. Krüger, A. M. Shor, N. Rösch, *J. Chem. Theory Comput.* **2006**, *2*, 47–58.
- [61] M. Sierka, J. Sauer in *Handbook of Materials Modeling*, Vol. A (Hrsg.: S. Yip), Springer, Dordrecht, **2005**, S. 241–258.
- [62] U. Eichler, C. M. Kölmel, J. Sauer, *J. Comput. Chem.* **1997**, *18*, 463–477.
- [63] J. Sauer, M. Sierka, *J. Comput. Chem.* **2000**, *21*, 1470–1493.

- [64] P. Sherwood, A. H. de Vries, S. J. Collins, S. P. Greatbanks, N. A. Burton, M. A. Vincent, I. H. Hillier, *Faraday Discuss.* **1997**, *106*, 79–92.
- [65] S. A. French, A. A. Sokol, S. T. Bromley, C. R. A. Catlow, P. Sherwood, *Top. Catal.* **2003**, *24*, 161–172.
- [66] C. R. A. Catlow, S. A. French, A. A. Sokol, J. M. Thomas, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. A* **2005**, *363*, 913–936.
- [67] J. To, P. Sherwood, A. A. Sokol, I. J. Bush, C. R. A. Catlow, H. J. J. van Dam, S. A. French, M. F. Guest, *J. Mater. Chem.* **2006**, *16*, 1919–1926.
- [68] Y. Shiota, K. Suzuki, K. Yoshizawa, *Organometallics* **2006**, *25*, 3118–3123.
- [69] A. Cembran, J. Gao, *Mol. Phys.* **2006**, *104*, 943–955.
- [70] A. Tongraar, T. Kerdcharoen, S. Hannongbua, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 4924–4929.
- [71] I. Tubert-Brohman, O. Acevedo, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16904–16913.
- [72] O. Acevedo, W. L. Jorgensen, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4896–4902.
- [73] O. Acevedo, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6141–6146.
- [74] O. Acevedo, W. L. Jorgensen, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 1412–1419.
- [75] O. Acevedo, W. L. Jorgensen, J. D. Evanseck, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 132–138.
- [76] A. N. Alexandrova, W. L. Jorgensen, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 720–730.
- [77] H. Gunaydin, O. Acevedo, W. L. Jorgensen, K. N. Houk, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 1028–1035.
- [78] A. Heyden, H. Lin, D. G. Truhlar, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 2231–2241.
- [79] M. Elstner, D. Porezag, G. Jungnickel, J. Elsner, M. Haugk, T. Frauenheim, S. Suhai, G. Seifert, *Phys. Rev. B* **1998**, *58*, 7260–7268.
- [80] Q. Cui, M. Elstner, E. Kaxiras, T. Frauenheim, M. Karplus, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 569–585.
- [81] M. Elstner, T. Frauenheim, S. Suhai, *THEOCHEM* **2003**, *632*, 29–41.
- [82] P. H. König, M. Hoffmann, T. Frauenheim, Q. Cui, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 9082–9095.
- [83] N. Otte, M. Scholten, W. Thiel, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 5751–5755.
- [84] M. Schütz, G. Hetzer, H.-J. Werner, *J. Chem. Phys.* **1999**, *111*, 5691–5705.
- [85] M. Schütz, H.-J. Werner, *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *318*, 370–378.
- [86] M. Schütz, *J. Chem. Phys.* **2000**, *113*, 9986–10001.
- [87] M. Schütz, H.-J. Werner, *J. Chem. Phys.* **2001**, *114*, 661–681.
- [88] M. Schütz, *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 8772–8785.
- [89] M. Schütz, F. R. Manby, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, *5*, 3349–3358.
- [90] H.-J. Werner, F. R. Manby, P. J. Knowles, *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 8149–8160.
- [91] H.-J. Werner, F. R. Manby, *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 054114.
- [92] F. Claeysens, J. N. Harvey, F. R. Manby, R. A. Mata, A. J. Mulholland, K. E. Ranaghan, M. Schütz, S. Thiel, W. Thiel, H.-J. Werner, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 7010–7013; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6856–6859.
- [93] A. J. Mulholland, *Chem. Cent. J.* **2007**, *1*(19), 1–5.
- [94] R. A. Mata, H.-J. Werner, S. Thiel, W. Thiel, *J. Chem. Phys.* **2008**, *128*, 025104.
- [95] A. Warshel, *Computer Modeling of Chemical Reactions in Enzymes and Solutions*, Wiley, New York, **1991**.
- [96] J. Åqvist, A. Warshel, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2523–2544.
- [97] A. Shurki, A. Warshel in *Protein Simulations (Adv. Protein Chem., Vol. 66)* (Hrsg.: V. Daggett), Academic Press, San Diego, **2003**, S. 249–313.
- [98] A. Warshel, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2003**, *32*, 425–443.
- [99] W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5179–5197.
- [100] P. Kollman, J. W. Caldwell, W. S. Ross, D. A. Pearlman, D. A. Case, S. DeBolt, T. E. Cheatham III, D. Ferguson, G. Seibel in *Encyclopedia of Computational Chemistry, Vol. 1* (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 11–13.
- [101] J. Wang, P. Cieplak, P. A. Kollman, *J. Comput. Chem.* **2000**, *21*, 1049–1074.
- [102] Y. Duan, C. Wu, S. Chowdhury, M. C. Lee, G. Xiong, W. Zhang, R. Yang, P. Cieplak, R. Luo, T. Lee, J. Caldwell, J. Wang, P. Kollman, *J. Comput. Chem.* **2003**, *24*, 1999–2012.
- [103] A. D. MacKerell, Jr. et al., *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 3586–3616.
- [104] A. D. MacKerell, Jr., B. Brooks, C. L. Brooks III, L. Nilsson, B. Roux, Y. Won, M. Karplus in *Encyclopedia of Computational Chemistry, Vol. 1* (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 271–277.
- [105] N. Foloppe, A. D. MacKerell, Jr., *J. Comput. Chem.* **2000**, *21*, 86–104.
- [106] A. D. MacKerell, Jr., N. K. Banavali, *J. Comput. Chem.* **2000**, *21*, 105–120.
- [107] A. D. MacKerell, Jr. in *Computational Biochemistry and Biophysics* (Hrsg.: O. M. Becker, A. D. MacKerell, Jr., B. Roux, M. Watanabe), Dekker, New York, **2001**, S. 7–38.
- [108] W. F. van Gunsteren, X. Daura, A. E. Mark in *Encyclopedia of Computational Chemistry, Vol. 2* (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 1211–1216.
- [109] W. R. P. Scott, P. H. Hünenberger, I. G. Tirion, A. E. Mark, S. R. Billeter, J. Fennen, A. E. Torda, T. Huber, P. Krüger, W. F. van Gunsteren, *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 3596–3607.
- [110] W. L. Jorgensen, D. S. Maxwell, J. Tirado-Rives, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11225–11236.
- [111] W. L. Jorgensen in *Encyclopedia of Computational Chemistry, Vol. 3* (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 1986–1989.
- [112] G. A. Kaminski, R. A. Friesner, J. Tirado-Rives, W. L. Jorgensen, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 6474–6487.
- [113] A. D. MacKerell, Jr. in *Encyclopedia of Computational Chemistry, Vol. 3* (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 2191–2200.
- [114] A. D. MacKerell, Jr. in *Annual Reports in Computational Chemistry, Vol. 1* (Hrsg.: D. C. Spellmeyer), Elsevier, Amsterdam, **2005**, S. 91–102.
- [115] P. Cieplak in *Encyclopedia of Computational Chemistry, Vol. 3* (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 1922–1930.
- [116] T. E. Cheatham III in *Annual Reports in Computational Chemistry, Vol. 1* (Hrsg.: D. C. Spellmeyer), Elsevier, Amsterdam, **2005**, S. 75–89.
- [117] R. J. Woods in *Encyclopedia of Computational Chemistry, Vol. 1* (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 220–233.
- [118] J. W. Ponder, D. A. Case in *Protein Simulations (Adv. Protein Chem., Vol. 66)* (Hrsg.: V. Daggett), Academic Press, San Diego, **2003**, S. 27–85.
- [119] A. D. MacKerell, Jr., *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1584–1604.
- [120] T. Liljefors, K. Gundertofte, P.-O. Norrby, I. Pettersson in *Computational Medicinal Chemistry for Drug Discovery* (Hrsg.: P. Bultinek, H. De Winter, L. Wilfried, J. P. Tollenaere), Dekker, New York, **2004**, S. 1–28.
- [121] J. R. Maple in *Encyclopedia of Computational Chemistry, Vol. 2* (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 1015–1024.

- [122] S. H umbel, S. Sieber, K. Morokuma, *J. Chem. Phys.* **1996**, *105*, 1959–1967.
- [123] M. Svensson, S. H umbel, R. D. J. Froese, T. Matsubara, S. Sieber, K. Morokuma, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 19357–19363.
- [124] R. D. J. Froese, K. Morokuma in *Encyclopedia of Computational Chemistry*, Vol. 2 (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 1244–1257.
- [125] S. Dapprich, I. Komáromi, K. S. Byun, K. Morokuma, M. J. Frisch, *THEOCHEM* **1999**, 461–462, 1–21.
- [126] I. Komáromi, L. Muszbek in *Frontiers of Multifunctional Nanosystems (NATO Sci. Ser. II, Vol. 57)* (Hrsg.: E. V. Buzaneva, P. Scharff), Kluwer, Dordrecht, **2002**, S. 17–28.
- [127] T. Vreven, K. Morokuma, *Theor. Chem. Acc.* **2003**, *109*, 125–132.
- [128] T. Vreven, K. S. Byun, I. Komáromi, S. Dapprich, J. A. Montgomery, Jr., K. Morokuma, M. J. Frisch, *J. Chem. Theory Comput.* **2006**, *2*, 815–826.
- [129] U. Ryde, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1996**, *10*, 153–164.
- [130] T. H. Rod, U. Ryde, *J. Chem. Theory Comput.* **2005**, *1*, 1240–1251.
- [131] D. Bakowies, W. Thiel, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 10580–10594.
- [132] I. Antes, W. Thiel in *Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Methods (ACS Symp. Ser., Vol. 712)* (Hrsg.: J. Gao, M. A. Thompson), American Chemical Society, Washington, **1998**, S. 50–65.
- [133] A. Warshel, S. T. Russell, *Q. Rev. Biophys.* **1984**, *17*, 283–422.
- [134] F. S. Lee, Z. T. Chu, A. Warshel, *J. Comput. Chem.* **1993**, *14*, 161–185.
- [135] S. W. Rick, S. J. Stuart in *Reviews in Computational Chemistry*, Vol. 18 (Hrsg.: K. B. Lipkowitz, D. B. Boyd), Wiley-VCH, Hoboken, **2002**, S. 89–146.
- [136] H. Yu, W. F. van Gunsteren, *Comput. Phys. Commun.* **2005**, *172*, 69–85.
- [137] *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 1877–2145.
- [138] A. Warshel, M. Kato, A. V. Pisliakov, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 2034–2045.
- [139] T. P. Straatsma, J. A. McCammon, *Mol. Simul.* **1990**, *5*, 181–192.
- [140] S. W. Rick, S. J. Stuart, B. J. Berne, *J. Chem. Phys.* **1994**, *101*, 6141–6156.
- [141] J. W. Caldwell, P. A. Kollman, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 6208–6219.
- [142] H. Yu, T. Hansson, W. F. van Gunsteren, *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 221–234.
- [143] S. Patel, C. L. Brooks III, *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1–16.
- [144] S. Patel, A. D. MacKerell, Jr., C. L. Brooks III, *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1504–1514.
- [145] I. V. Vorobyov, V. M. Anisimov, A. D. MacKerell, Jr., *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 18988–18999.
- [146] V. M. Anisimov, G. Lamoureux, I. V. Vorobyov, N. Huang, B. Roux, A. D. MacKerell, Jr., *J. Chem. Theory Comput.* **2005**, *1*, 153–168.
- [147] P. Cieplak, J. Caldwell, P. Kollman, *J. Comput. Chem.* **2001**, *22*, 1048–1057.
- [148] Z.-X. Wang, W. Zhang, C. Wu, H. Lei, P. Cieplak, Y. Duan, *J. Comput. Chem.* **2006**, *27*, 781–790.
- [149] J. L. Banks, G. A. Kaminski, R. Zhou, D. T. Mainz, B. J. Berne, R. A. Friesner, *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 741–754.
- [150] H. A. Stern, G. A. Kaminski, J. L. Banks, R. Zhou, B. J. Berne, R. A. Friesner, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 4730–4737.
- [151] G. A. Kaminski, H. A. Stern, B. J. Berne, R. A. Friesner, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 621–627.
- [152] G. A. Kaminski, H. A. Stern, B. J. Berne, R. A. Friesner, Y. X. Cao, R. B. Murphy, R. Zhou, T. A. Halgren, *J. Comput. Chem.* **2002**, *23*, 1515–1531.
- [153] P. Ren, J. W. Ponder, *J. Comput. Chem.* **2002**, *23*, 1497–1506.
- [154] W. Xie, J. Gao, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 1890–1900.
- [155] U. C. Singh, P. A. Kollman, *J. Comput. Chem.* **1986**, *7*, 718–730.
- [156] M. A. Thompson, G. K. Schenter, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 6374–6386.
- [157] M. A. Thompson, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 14492–14507.
- [158] J. Gao, *J. Comput. Chem.* **1997**, *18*, 1061–1071.
- [159] J. L. Gao, K. Byun, *Theor. Chem. Acc.* **1997**, *96*, 151–156.
- [160] J. L. Gao, C. Alhambra, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2962–2963.
- [161] Y.-L. Lin, J. Gao, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 1484–1493.
- [162] R. A. Bryce, M. A. Vincent, N. O. J. Malcolm, I. H. Hillier, N. A. Burton, *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 3077–3085.
- [163] L. Jensen, P. T. van Duijnen, J. G. Snijders, *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 514–521.
- [164] D. P. Geerke, S. Thiel, W. Thiel, W. F. van Gunsteren, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 1499–1509.
- [165] D. P. Geerke, S. Thiel, W. Thiel, W. F. van Gunsteren, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*, 297–302.
- [166] C. J. R. Illingworth, S. R. Gooding, P. J. Winn, G. A. Jones, G. G. Ferenczy, C. A. Reynolds, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 6487–6497.
- [167] Y. Zhang, H. Lin, D. G. Truhlar, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 1378–1398.
- [168] Y. Zhang, H. Lin, *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, *4*, 414–425.
- [169] P. Schaefer, D. Riccardi, Q. Cui, *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 014905.
- [170] D. Riccardi, P. Schaefer, Q. Cui, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 17715–17733.
- [171] K. Nam, J. Gao, D. M. York, *J. Chem. Theory Comput.* **2005**, *1*, 2–13.
- [172] A. R. Dinner, X. Lopez, M. Karplus, *Theor. Chem. Acc.* **2003**, *109*, 118–124.
- [173] B. A. GregerSEN, D. M. York, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 536–556.
- [174] B. A. GregerSEN, D. M. York, *J. Comput. Chem.* **2006**, *27*, 103–115.
- [175] M. Berkowitz, J. A. McCammon, *Chem. Phys. Lett.* **1982**, *90*, 215–217.
- [176] C. L. Brooks III, A. Brünger, M. Karplus, *Biopolymers* **1985**, *24*, 843–865.
- [177] C. L. Brooks III, M. Karplus, *J. Mol. Biol.* **1989**, *208*, 159–181.
- [178] A. Brünger, C. L. Brooks III, M. Karplus, *Chem. Phys. Lett.* **1984**, *105*, 495–500.
- [179] W. Im, S. Bernèche, B. Roux, *J. Chem. Phys.* **2001**, *114*, 2924–2937.
- [180] D. Riccardi, Q. Cui, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 5703–5711.
- [181] T. Benighaus, W. Thiel, *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, *4*, 1600–1609.
- [182] R. B. Murphy, D. M. Philipp, R. A. Friesner, *J. Comput. Chem.* **2000**, *21*, 1442–1457.
- [183] M. Freindorf, Y. Shao, T. R. Furlani, J. Kong, *J. Comput. Chem.* **2005**, *26*, 1270–1278.
- [184] D. Riccardi, G. Li, Q. Cui, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 6467–6478.
- [185] K. P. Eurenus, D. C. Chatfield, B. R. Brooks, M. Hodosek, *Int. J. Quantum Chem.* **1996**, *60*, 1189–1200.
- [186] M. Eichinger, P. Tavan, J. Hutter, M. Parrinello, *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 10452–10467.
- [187] P. D. Lyne, M. Hodosek, M. Karplus, *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 3462–3471.
- [188] A. H. de Vries, P. Sherwood, S. J. Collins, A. M. Rigby, M. Rigutto, G. J. Kramer, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 6133–6141.
- [189] M. J. Field, M. Albe, C. Bret, F. Proust-De Martin, A. Thomas, *J. Comput. Chem.* **2000**, *21*, 1088–1100.
- [190] M. Swart, *Int. J. Quantum Chem.* **2003**, *91*, 177–183.
- [191] D. Das, K. P. Eurenus, E. M. Billings, P. Sherwood, D. C. Chatfield, M. Hodošek, B. R. Brooks, *J. Chem. Phys.* **2002**, *117*, 10534–10547.

- [192] N. Reuter, A. Dejaegere, B. Maigret, M. Karplus, *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 1720–1735.
- [193] N. Ferré, M. Olivucci, *THEOCHEM* **2003**, *632*, 71–82.
- [194] B. Waszkowycz, I. H. Hillier, N. Gensmantel, D. W. Payling, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1990**, 1259–1268.
- [195] B. Waszkowycz, I. H. Hillier, N. Gensmantel, D. W. Payling, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1991**, 225–231.
- [196] B. Waszkowycz, I. H. Hillier, N. Gensmantel, D. W. Payling, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1991**, 1819–1832.
- [197] V. V. Vasilyev, *THEOCHEM* **1994**, *110*, 129–141.
- [198] H. Lin, D. G. Truhlar, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 3991–4004.
- [199] P. Sherwood, et al., *THEOCHEM* **2003**, *632*, 1–28.
- [200] P. Amara, M. J. Field, *Theor. Chem. Acc.* **2003**, *109*, 43–52.
- [201] I. Antes, W. Thiel, *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 9290–9295.
- [202] Y. Zhang, T.-S. Lee, W. Yang, *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 46–54.
- [203] Y. Zhang, *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 024114.
- [204] Y. Zhang, *Theor. Chem. Acc.* **2006**, *116*, 43–50.
- [205] A. Laio, J. VandeVondele, U. Rothlisberger, *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 6941–6947.
- [206] G. A. DiLabio, M. M. Hurley, P. A. Christiansen, *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 9578–9584.
- [207] G. A. DiLabio, R. A. Wolkow, E. R. Johnson, *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 044708.
- [208] K. Yasuda, D. Yamaki, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 3964–3972.
- [209] O. A. von Lilienfeld, I. Tavernelli, U. Rothlisberger, D. Sebastiani, *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 014113.
- [210] P. Slavíček, T. J. Martínez, *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 084107.
- [211] Y. Shao, J. Kong, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 3661–3671.
- [212] C. Xiao, Y. Zhang, *J. Chem. Phys.* **2007**, *127*, 124102.
- [213] V. Théry, D. Rinaldi, J. L. Rivail, B. Maigret, G. G. Ferenczy, *J. Comput. Chem.* **1994**, *15*, 269–282.
- [214] G. Monard, M. Loos, V. Théry, K. Baka, J. L. Rivail, *Int. J. Quantum Chem.* **1996**, *58*, 153–159.
- [215] X. Assfeld, J. L. Rivail, *Chem. Phys. Lett.* **1996**, *263*, 100–106.
- [216] X. Assfeld, N. Ferré, J.-L. Rivail in *Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Methods (ACS Symp. Ser., Vol. 712)* (Hrsg.: J. Gao, M. A. Thompson), American Chemical Society, Washington, **1998**, S. 234–249.
- [217] N. Ferré, X. Assfeld, J. L. Rivail, *J. Comput. Chem.* **2002**, *23*, 610–624.
- [218] A. Fornili, Y. Moreau, M. Sironi, X. Assfeld, *J. Comput. Chem.* **2006**, *27*, 515–523.
- [219] A. Fornili, M. Sironi, M. Raimondi, *THEOCHEM* **2003**, *632*, 157–172.
- [220] M. Sironi, A. Genoni, M. Civera, S. Pieraccini, M. Ghitti, *Theor. Chem. Acc.* **2007**, *117*, 685–698.
- [221] A. Fornili, P.-F. Loos, M. Sironi, X. Assfeld, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *427*, 236–240.
- [222] P.-F. Loos, X. Assfeld, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 1047–1053.
- [223] D. M. Philipp, R. A. Friesner, *J. Comput. Chem.* **1999**, *20*, 1468–1494.
- [224] R. B. Murphy, D. M. Philipp, R. A. Friesner, *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *321*, 113–120.
- [225] J. Gao, P. Amara, C. Alhambra, M. J. Field, *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 4714–4721.
- [226] P. Amara, M. J. Field, C. Alhambra, J. Gao, *Theor. Chem. Acc.* **2000**, *104*, 336–343.
- [227] M. Garcia-Viloca, J. Gao, *Theor. Chem. Acc.* **2004**, *111*, 280–286.
- [228] J. Pu, J. Gao, D. G. Truhlar, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 5454–5463.
- [229] J. Pu, J. Gao, D. G. Truhlar, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 632–650.
- [230] J. Pu, J. Gao, D. G. Truhlar, *ChemPhysChem* **2005**, *6*, 1853–1865.
- [231] J. Jung, C. H. Choi, Y. Sugita, S. Ten-no, *J. Chem. Phys.* **2007**, *127*, 204102.
- [232] J. H. Jensen, P. N. Day, M. S. Gordon, H. Basch, D. Cohen, D. R. Garmer, M. Krauss, W. J. Stevens in *Modeling the Hydrogen Bond (ACS Symp. Ser., Vol. 569)* (Hrsg.: D. A. Smith), American Chemical Society, Washington, **1994**, S. 139–151.
- [233] P. N. Day, J. H. Jensen, M. S. Gordon, S. P. Webb, W. J. Stevens, M. Krauss, D. Garmer, H. Basch, D. Cohen, *J. Chem. Phys.* **1996**, *105*, 1968–1986.
- [234] V. Kairys, J. H. Jensen, *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 6656–6665.
- [235] M. S. Gordon, M. A. Freitag, P. Bandyopadhyay, J. H. Jensen, V. Kairys, W. J. Stevens, *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 293–307.
- [236] A. V. Nemukhin, B. L. Grigorenko, A. V. Bochenkova, I. A. Topol, S. K. Burt, *THEOCHEM* **2002**, *581*, 167–175.
- [237] B. L. Grigorenko, A. V. Nemukhin, I. A. Topol, S. K. Burt, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 10663–10672.
- [238] A. V. Nemukhin, B. L. Grigorenko, I. A. Topol, S. K. Burt, *Comput. Chem.* **2003**, *24*, 1410–1420.
- [239] R. J. Hall, S. A. Hindle, N. A. Burton, I. H. Hillier, *J. Comput. Chem.* **2000**, *21*, 1433–1441.
- [240] R. M. Nicoll, S. A. Hindle, G. MacKenzie, I. H. Hillier, N. A. Burton, *Theor. Chem. Acc.* **2001**, *106*, 105–112.
- [241] C. Lennartz, A. Schäfer, F. Terstegen, W. Thiel, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 1758–1767.
- [242] A. Rodríguez, C. Oliva, M. González, M. van der Kamp, A. J. Mulholland, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 12909–12915.
- [243] M. Klähn, S. Braun-Sand, E. Rosta, A. Warshel, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 15645–15650.
- [244] Y. Zhang, J. Kua, J. A. McCammon, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 4459–4463.
- [245] H. B. Schlegel in *Modern Electronic Structure Theory (Adv. Ser. Phys. Chem., Vol. 2/I)* (Hrsg.: D. R. Yarkony), World Scientific, Singapore, **1995**, S. 459–500.
- [246] H. B. Schlegel in *Encyclopedia of Computational Chemistry, Vol. 2* (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 1136–1142.
- [247] T. Schlick in *Encyclopedia of Computational Chemistry, Vol. 2* (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 1142–1157.
- [248] F. Jensen in *Encyclopedia of Computational Chemistry, Vol. 5* (Hrsg.: P. v. R. Schleyer), Wiley, Chichester, **1998**, S. 3114–3123.
- [249] H. B. Schlegel, *J. Comput. Chem.* **2003**, *24*, 1514–1527.
- [250] Ö. Farkas, H. B. Schlegel, *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 7100–7104.
- [251] Ö. Farkas, H. B. Schlegel, *J. Chem. Phys.* **1999**, *111*, 10806–10814.
- [252] Ö. Farkas, H. B. Schlegel, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, *4*, 11–15.
- [253] Ö. Farkas, H. B. Schlegel, *THEOCHEM* **2003**, *666*, 31–39.
- [254] B. Paizs, G. Fogarasi, P. Pulay, *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 6571–6576.
- [255] B. Paizs, J. Baker, S. Suhai, P. Pulay, *J. Chem. Phys.* **2000**, *113*, 6566–6572.
- [256] J. Baker, D. Kinghorn, P. Pulay, *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 4986–4991.
- [257] K. Németh, O. Coulaud, G. Monard, J. G. Ángyán, *J. Chem. Phys.* **2000**, *113*, 5598–5603.
- [258] K. Németh, O. Coulaud, G. Monard, J. G. Ángyán, *J. Chem. Phys.* **2001**, *114*, 9747–9753.
- [259] X. Prat-Resina, M. Garcia-Viloca, G. Monard, A. González-Lafont, J. M. LLuch, J. M. Bofill, J. M. Anglada, *Theor. Chem. Acc.* **2002**, *107*, 147–153.
- [260] S. R. Billeter, A. J. Turner, W. Thiel, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, *2*, 2177–2186.
- [261] V. Moliner, A. J. Turner, I. H. Williams, *Chem. Commun.* **1997**, 1271–1272.

- [262] A. J. Turner, V. Moliner, I. H. Williams, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, *1*, 1323–1331.
- [263] T. Vreven, K. Morokuma, Ö. Farkas, H. B. Schlegel, M. J. Frisch, *J. Comput. Chem.* **2003**, *24*, 760–769.
- [264] T. Vreven, M. J. Frisch, K. N. Kudin, H. B. Schlegel, K. Morokuma, *Mol. Phys.* **2006**, *104*, 701–714.
- [265] S. Hayashi, I. Ohmine, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 10678–10691.
- [266] Y. Zhang, H. Liu, W. Yang, *J. Chem. Phys.* **2000**, *112*, 3483–3492.
- [267] X. Prat-Resina, J. M. Bofill, À. González-Lafont, J. M. Lluch, *Int. J. Quantum Chem.* **2004**, *98*, 367–377.
- [268] J. Kästner, S. Thiel, H. M. Senn, P. Sherwood, W. Thiel, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 1064–1072.
- [269] S. Martí, V. Moliner, I. Tuñón, I. H. Williams, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 3707–3710.
- [270] S. Martí, V. Moliner, I. Tuñón, *J. Chem. Theory Comput.* **2005**, *1*, 1008–1016.
- [271] S. Martí, V. Moliner, I. Tuñón, *J. Chem. Theory Comput.* **2006**, *2*, 216.
- [272] L. Xie, H. Liu, W. Yang, *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 8039–8052.
- [273] H. Liu, Z. Lu, G. A. Cisneros, W. Yang, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 697–706.
- [274] G. A. Cisneros, H. Liu, Z. Lu, W. Yang, *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 114502.
- [275] P. Y. Ayala, H. B. Schlegel, *J. Chem. Phys.* **1997**, *107*, 375–384.
- [276] P. A. Bash, M. J. Field, M. Karplus, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 8092–8094.
- [277] J. Gao, X. Xia, *Science* **1992**, *258*, 631–635.
- [278] J. Gao, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 537–540.
- [279] R. V. Stanton, D. S. Hartsough, K. M. Merz, Jr., *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 11868–11870.
- [280] D. S. Hartsough, K. M. Merz, Jr., *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 11266–11275.
- [281] R. V. Stanton, L. R. Little, K. M. Merz, Jr., *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 17344–17348.
- [282] R. V. Stanton, D. S. Hartsough, K. M. Merz, Jr., *J. Comput. Chem.* **1995**, *16*, 113–128.
- [283] H. M. Senn, S. Thiel, W. Thiel, *J. Chem. Theory Comput.* **2005**, *1*, 494–505.
- [284] R. Car, M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.* **1985**, *55*, 2471–2474.
- [285] D. Marx, J. Hutter in *Modern Methods and Algorithms of Quantum Chemistry (NIC Ser., Vol. 1)* (Hrsg.: J. Grotendorst), John von Neumann Institute of Computing, Jülich, **2000**, S. 301–449.
- [286] T. K. Woo, P. M. Margl, L. Deng, T. Ziegler in *Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Methods (ACS Symp. Ser., Vol. 712)* (Hrsg.: J. Gao, M. A. Thompson), American Chemical Society, Washington, **1998**, S. 128–147.
- [287] T. K. Woo, P. E. Blöchl, T. Ziegler, *THEOCHEM* **2000**, *506*, 313–334.
- [288] M. C. Colombo et al., *Chimia* **2002**, *56*, 13–19.
- [289] A. Laio, J. VandeVondele, U. Rothlisberger, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 7300–7307.
- [290] D. Sebastiani, U. Röthlisberger in *Quantum Medicinal Chemistry (Methods Princ. Med. Chem., Vol. 17)* (Hrsg.: P. Carloni, F. Alber), Wiley-VCH, Weinheim, **2003**, S. 5–39.
- [291] A. Laio, F. L. Gervasio, J. VandeVondele, M. Sulpizi, U. Rothlisberger, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 7963–7968.
- [292] M. C. Colombo, C. Gossens, I. Tavernelli, U. Rothlisberger in *Modelling Molecular Structure and Reactivity in Biological Systems* (Hrsg.: K. J. Naidoo, J. Brady, M. J. Field, J. Gao, M. Hann), Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2006**, S. 85–100.
- [293] U. Rothlisberger, P. Carloni in *Computer Simulations in Condensed Matter Systems: From Materials to Chemical Biology*, Vol. 2 (Hrsg.: M. Ferrario, G. Ciccotti, K. Binder), Springer, Berlin, **2006**, S. 449–479.
- [294] K. Spiegel, A. Magistrato, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2507–2517.
- [295] T. H. Rod, U. Ryde, *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *94*, 138302.
- [296] M. Valiev, B. C. Garrett, M.-K. Tsai, K. Kowalski, S. M. Kathmann, G. K. Schenter, M. Dupuis, *J. Chem. Phys.* **2007**, *127*, 051102.
- [297] M. Valiev, E. J. Bylaska, M. Dupuis, P. G. Tratnyek, *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 2713–2720.
- [298] J. Chandrasekhar, S. F. Smith, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3049–3050.
- [299] J. Chandrasekhar, S. F. Smith, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 154–163.
- [300] Y. J. Zheng, K. M. Merz, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10498–10507.
- [301] R. V. Stanton, M. Peräkylä, D. Bakowies, P. A. Kollman, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 3448–3457.
- [302] J. Kästner, H. M. Senn, S. Thiel, N. Otte, W. Thiel, *J. Chem. Theory Comput.* **2006**, *2*, 452–461.
- [303] J. Bentzien, R. P. Muller, J. Florián, A. Warshel, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 2293–2301.
- [304] J. Bentzien, J. Florián, T. M. Glennon, A. Warshel in *Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Methods (ACS Symp. Ser., Vol. 712)* (Hrsg.: J. Gao, M. A. Thompson), American Chemical Society, Washington, **1998**, S. 16–34.
- [305] M. Štrajbl, G. Hong, A. Warshel, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 13333–13343.
- [306] E. Rosta, M. Klähn, A. Warshel, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 2934–2941.
- [307] G. Li, X. Zhang, Q. Cui, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 8643–8653.
- [308] G. Li, Q. Cui, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 14521–14528.
- [309] W. Yang, R. Bitetti-Putzer, M. Karplus, *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 9450–9453.
- [310] H. Hu, W. Yang, *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 041102.
- [311] H. Li, M. Fajer, W. Yang, *J. Chem. Phys.* **2007**, *126*, 024106.
- [312] C. Jarzynski, *Phys. Rev. Lett.* **1997**, *78*, 2690–2693.
- [313] C. Jarzynski, *Phys. Rev. E* **1997**, *56*, 5018–5035.
- [314] G. E. Crooks, *J. Stat. Phys.* **1998**, *90*, 1481–1487.
- [315] G. E. Crooks, *Phys. Rev. E* **1999**, *60*, 2721–2726.
- [316] S. Park, K. Schulten, *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 5946–5961.
- [317] M. A. Cuendet, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, *96*, 120602.
- [318] W. Lechner, H. Oberhofer, C. Dellago, P. L. Geissler, *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 044113.
- [319] D. A. Hendrix, C. Jarzynski, *J. Chem. Phys.* **2001**, *114*, 5974–5981.
- [320] M. Ø. Jensen, S. Park, E. Tajkhorshid, K. Schulten, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 6731–6736.
- [321] S. Park, F. Khalili-Araghi, E. Tajkhorshid, K. Schulten, *J. Chem. Phys.* **2003**, *119*, 3559–3566.
- [322] S. Raugei, M. Cascella, P. Carloni, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15730–15737.
- [323] A. Crespo, M. A. Martí, D. A. Estrin, A. E. Roitberg, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6940–6941.
- [324] D. Chandler in *Classical and Quantum Dynamics in Condensed Phase Simulations* (Hrsg.: B. J. Berne, G. Ciccotti, D. F. Coker), World Scientific, Singapore, **1998**, S. 51–66.
- [325] C. Dellago, P. G. Bolhuis, F. S. Csajka, D. Chandler, *J. Chem. Phys.* **1998**, *108*, 1964–1977.
- [326] C. Dellago, P. G. Bolhuis, D. Chandler, *J. Chem. Phys.* **1998**, *108*, 9236–9245.
- [327] P. G. Bolhuis, C. Dellago, D. Chandler, *Faraday Discuss.* **1998**, *110*, 421–436.
- [328] F. S. Csajka, D. Chandler, *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 1125–1133.
- [329] C. Dellago, P. G. Bolhuis, D. Chandler, *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 6617–6625.

- [330] P. G. Bolhuis, C. Dellago, P. L. Geissler, D. Chandler, *J. Phys. Condens. Matter* **2000**, *12*, 147–152.
- [331] P. L. Geissler, C. Dellago, D. Chandler, J. Hutter, M. Parrinello, *Science* **2001**, *291*, 2121–2124.
- [332] P. G. Bolhuis, D. Chandler, C. Dellago, P. L. Geissler, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2002**, *53*, 291–318.
- [333] C. Dellago, P. G. Bolhuis, P. L. Geissler, *Adv. Chem. Phys.* **2002**, *123*, 1–78.
- [334] D. Zahn, *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 044104.
- [335] J. E. Basner, S. D. Schwartz, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13822–13831.
- [336] A. Laio, M. Parrinello, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 12562–12566.
- [337] M. Iannuzzi, A. Laio, M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *90*, 238302.
- [338] C. Micheletti, A. Laio, M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *92*, 170601.
- [339] Y. Wu, J. D. Schmitt, R. Car, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 1193–1200.
- [340] A. Laio, A. Rodriguez-Fortea, F. L. Gervasio, M. Ceccarelli, M. Parrinello, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 6714–6721.
- [341] B. Ensing, A. Laio, M. Parrinello, M. L. Klein, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 6676–6687.
- [342] P. Raiteri, A. Laio, F. L. Gervasio, C. Micheletti, M. Parrinello, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 3533–3539.
- [343] G. Bussi, A. Laio, M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, *96*, 090601.
- [344] B. Ensing, M. De Vivo, Z. W. Liu, P. Moore, M. L. Klein, *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 73–81.
- [345] D. Min, Y. Liu, I. Carbone, W. Yang, *J. Chem. Phys.* **2007**, *126*, 194104.
- [346] T. Huber, A. E. Torda, W. F. van Gunsteren, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1994**, *8*, 695–708.
- [347] H. Grubmüller, *Phys. Rev. E* **1995**, *52*, 2893–2906.
- [348] E. M. Müller, A. de Meijere, H. Grubmüller, *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 897–905.
- [349] F. Wang, D. P. Landau, *Phys. Rev. Lett.* **2001**, *86*, 2050–2053.
- [350] F. Wang, D. P. Landau, *Phys. Rev. E* **2001**, *64*, 056101.
- [351] D. P. Landau, F. Wang, *Comput. Phys. Commun.* **2002**, *147*, 674–677.
- [352] S. Raugei, P. Carloni, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 3747–3758.
- [353] C. L. Stanton, I.-F. W. Kuo, C. J. Mundy, T. Laino, K. N. Houk, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 12573–12581.
- [354] L. Rosso, P. Mináry, Z. Zhu, M. E. Tuckerman, *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 4389–4402.
- [355] L. Rosso, M. E. Tuckerman, *Mol. Simul.* **2002**, *28*, 91–112.
- [356] J. VandeVondele, U. Röthlisberger, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 203–208.
- [357] S. Piana, D. Bucher, P. Carloni, U. Röthlisberger, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 11139–11149.
- [358] Z. Lu, W. Yang, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 89–100.
- [359] W. H. Miller, N. C. Handy, J. E. Adams, *J. Chem. Phys.* **1980**, *72*, 99–112.
- [360] H. Hu, Z. Lu, W. Yang, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 390–406.
- [361] ChemShell, a Computational Chemistry Shell, <http://www.chemshell.org/>.
- [362] U. Ryde, L. Olsen, K. Nilsson, *J. Comput. Chem.* **2002**, *23*, 1058–1070.
- [363] U. Ryde, K. Nilsson, *THEOCHEM* **2003**, *632*, 259–275.
- [364] U. Ryde, K. Nilsson, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14232–14233.
- [365] K. Nilsson, U. Ryde, *J. Inorg. Biochem.* **2004**, *98*, 1539–1546.
- [366] K. Nilsson, H. P. Hersleth, T. H. Rod, K. K. Andersson, U. Ryde, *Biophys. J.* **2004**, *87*, 3437–3447.
- [367] N. Källrot, K. Nilsson, T. Rasmussen, U. Ryde, *Int. J. Quantum Chem.* **2005**, *102*, 520–541.
- [368] L. Rulíšek, U. Ryde, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 11511–11518.
- [369] P. Söderhjelm, U. Ryde, *THEOCHEM* **2006**, *770*, 199–219.
- [370] H. P. Hersleth, U. Ryde, P. Rydberg, C. H. Gorbitz, K. K. Andersson, *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 460–476.
- [371] Y.-W. Hsiao, T. Drakenberg, U. Ryde, *J. Biomol. NMR* **2005**, *31*, 97–114.
- [372] Y.-W. Hsiao, Y. Tao, J. E. Shokes, R. A. Scott, U. Ryde, *Phys. Rev. B* **2006**, *74*, 214101.
- [373] Y.-W. Hsiao, U. Ryde, *Inorg. Chim. Acta* **2006**, *359*, 1081–1092.
- [374] U. Ryde, Y.-W. Hsiao, L. Rulíšek, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 726–727.
- [375] N. Yu, S. A. Hayik, B. Wang, N. Liao, C. H. Reynolds, K. M. Merz, Jr., *J. Chem. Theory Comput.* **2006**, *2*, 1057–1069.
- [376] M. Hoffmann, M. Wanko, P. Strodel, P. H. König, T. Frauenheim, K. Schulten, W. Thiel, E. Tajkhorshid, M. Elstner, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10808–10818.
- [377] J. A. Gascón, E. M. Sproviero, V. S. Batista, *J. Chem. Theory Comput.* **2005**, *1*, 674–685.
- [378] J. A. Gascón, E. M. Sproviero, V. S. Batista, *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 184–193.
- [379] M. P. Waller, M. Bühl, K. R. Geethalakshmi, D. Wang, W. Thiel, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 4723–4732.
- [380] J. C. Schöneboom, F. Neese, W. Thiel, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5840–5853.
- [381] S. Sinnecker, F. Neese, *J. Comput. Chem.* **2006**, *27*, 1463–1475.
- [382] S. Sinnecker, N. Svensen, E. W. Barr, S. Ye, J. M. Bollinger, Jr., F. Neese, C. Krebs, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6168–6179.
- [383] G. Groenhof, M. Bouxin-Cademarty, B. Hess, S. P. de Visser, H. J. C. Berendsen, M. Olivucci, A. E. Mark, M. A. Robb, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4228–4233.
- [384] G. Groenhof, L. V. Schäfer, M. Boggio-Pasqua, M. Goette, H. Grubmüller, M. A. Robb, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6812–6819.
- [385] A. Altun, S. Shaik, W. Thiel, *J. Comput. Chem.* **2006**, *27*, 1324–1337.
- [386] J. Zheng, A. Altun, W. Thiel, *J. Comput. Chem.* **2007**, *28*, 2147–2158.
- [387] B. Entsch, W. J. H. van Berkel, *FASEB J.* **1995**, *9*, 476–483.
- [388] A. P. Jadan, M. J. H. Moonen, S. Boeren, L. A. Golovleva, I. M. C. M. Rietjens, W. J. H. van Berkel, *Adv. Synth. Catal.* **2004**, *346*, 367–375.
- [389] W. J. H. van Berkel, N. M. Kamerbeek, M. W. Fraaije, *J. Biotechnol.* **2006**, *124*, 670–689.
- [390] J. Vervoort, I. M. C. M. Rietjens, W. J. H. van Berkel, C. Veeger, *Eur. J. Biochem.* **1992**, *206*, 479–484.
- [391] L. Ridder, A. J. Mulholland, J. Vervoort, I. M. C. M. Rietjens, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7641–7642.
- [392] L. Ridder, A. J. Mulholland, I. M. Rietjens, J. Vervoort, *J. Mol. Graphics Modell.* **1999**, *17*, 163–175, 214.
- [393] L. Ridder, B. A. Palfey, J. Vervoort, I. M. C. M. Rietjens, *FEBS Lett.* **2000**, *478*, 197–201.
- [394] L. Ridder, J. N. Harvey, I. M. C. M. Rietjens, J. Vervoort, A. J. Mulholland, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 2118–2126.
- [395] S. R. Billeter, C. F. W. Hanser, T. Z. Mordasini, M. Scholten, W. Thiel, W. F. van Gunsteren, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, *3*, 688–695.
- [396] J. Kästner, W. Thiel, *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 144104.
- [397] P. D. Lyne, A. J. Mulholland, W. G. Richards, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 11345–11350.
- [398] S. Martí, J. Andrés, V. Moliner, E. Silla, I. Tuñón, J. Bertrán, *Theor. Chem. Acc.* **2001**, *105*, 207–212.
- [399] Y. S. Lee, S. E. Worthington, M. Krauss, B. R. Brooks, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 12059–12065.
- [400] S. Martí, J. Andrés, V. Moliner, E. Silla, I. Tuñón, J. Bertrán, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 11308–11315.
- [401] S. Martí, J. Andrés, V. Moliner, E. Silla, I. Tuñón, J. Bertrán, M. J. Field, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1709–1712.

- [402] H. Guo, Q. Cui, W. N. Lipscomb, M. Karplus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 9032–9037.
- [403] C. R. W. Guimarães, M. P. Repasky, J. Chandrasekhar, J. Tirado-Rives, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6892–6899.
- [404] S. Hur, T. C. Bruice, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 1472–1473.
- [405] S. Hur, T. C. Bruice, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5964–5972.
- [406] S. Hur, T. C. Bruice, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10540–10542.
- [407] S. Hur, T. C. Bruice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 12015–12020.
- [408] M. Štrajbl, A. Shurki, M. Kato, A. Warshel, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10228–10237.
- [409] S. Martí, J. Andrés, V. Moliner, E. Silla, I. Tuñón, J. Bertrán, *THEOCHEM* **2003**, *632*, 197–206.
- [410] S. Martí, J. Andrés, V. Moliner, E. Silla, I. Tuñón, J. Bertrán, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 984–991.
- [411] S. Martí, J. Andrés, V. Moliner, E. Silla, I. Tuñón, J. Bertrán, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 311–319.
- [412] K. E. Ranaghan, A. J. Mulholland, *Chem. Commun.* **2004**, 1238–1239.
- [413] F. Claeysens, K. E. Ranaghan, F. R. Manby, J. N. Harvey, A. J. Mulholland, *Chem. Commun.* **2005**, 5068–5070.
- [414] X. Zhang, X. Zhang, T. C. Bruice, *Biochemistry* **2005**, *44*, 10443–10448.
- [415] K. E. Ranaghan, L. Ridder, B. Szefczyk, W. A. Sokalski, J. C. Hermann, A. J. Mulholland, *Mol. Phys.* **2003**, *101*, 2695–2714.
- [416] K. E. Ranaghan, L. Ridder, B. Szefczyk, W. A. Sokalski, J. C. Hermann, A. J. Mulholland, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 968–980.
- [417] B. Szefczyk, A. J. Mulholland, K. E. Ranaghan, W. A. Sokalski, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16148–16159.
- [418] B. Szefczyk, F. Claeysens, A. J. Mulholland, W. A. Sokalski, *Int. J. Quantum Chem.* **2007**, *107*, 2274–2285.
- [419] J. Giraldo, D. Roche, X. Rovira, J. Serra, *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 2170–2177.
- [420] H. Guo, Q. Cui, W. N. Lipscomb, M. Karplus, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 1546–1549; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1508–1511.
- [421] C. R. W. Guimarães, M. Udier-Blagović, I. Tubert-Brohman, W. L. Jorgensen, *J. Chem. Theory Comput.* **2005**, *1*, 617–625.
- [422] S. Martí, V. Moliner, I. Tuñón, I. H. Williams, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 483–487.
- [423] H. L. Woodcock, M. Hodošek, P. Sherwood, Y. S. Lee, H. F. Schaefer III, B. R. Brooks, *Theor. Chem. Acc.* **2003**, *109*, 140–148.
- [424] J. J. Ruiz-Pernía, E. Silla, I. Tuñón, S. Martí, V. Moliner, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 8427–8433.
- [425] J. J. Ruiz-Pernía, E. Silla, I. Tuñón, S. Martí, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 17663–17670.
- [426] A. Crespo, D. A. Scherlis, M. A. Martí, P. Ordejón, A. E. Roitberg, D. A. Estrin, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 13728–13736.
- [427] H. L. Woodcock, M. Hodošek, B. R. Brooks, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 5720–5728.
- [428] H. L. Woodcock III, M. Hodošek, A. T. B. Gilbert, P. M. W. Gill, H. F. Schaefer III, B. R. Brooks, *J. Comput. Chem.* **2007**, *28*, 1485–1502.
- [429] T. Ishida, D. G. Fedorov, K. Kitaura, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 1457–1463.
- [430] *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry* (Hrsg.: P. R. Ortiz de Montellano), 2. Aufl., Plenum, New York, **1995**.
- [431] *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry* (Hrsg.: P. R. Ortiz de Montellano), 3. Aufl., Kluwer/Plenum, New York, **2005**.
- [432] I. G. Denisov, T. M. Makris, S. G. Sligar, I. Schlichting, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2253–2277.
- [433] S. Shaik, D. Kumar, S. P. de Visser, A. Altun, W. Thiel, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2279–2328.
- [434] J. C. Schöneboom, H. Lin, N. Reuter, W. Thiel, S. Cohen, F. Ogliaro, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8142–8151.
- [435] V. Guallar, M. H. Baik, S. J. Lippard, R. A. Friesner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 6998–7002.
- [436] J. C. Schöneboom, S. Cohen, H. Lin, S. Shaik, W. Thiel, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4017–4034.
- [437] V. Guallar, R. A. Friesner, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8501–8508.
- [438] J. C. Schöneboom, W. Thiel, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 7468–7478.
- [439] H. Lin, J. C. Schöneboom, S. Cohen, S. Shaik, W. Thiel, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 10083–10088.
- [440] A. Altun, W. Thiel, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 1268–1280.
- [441] M. Swart, A. R. Groenhof, A. W. Ehlers, K. Lammertsma, *Chem. Phys. Lett.* **2005**, *403*, 35–41.
- [442] A. Altun, V. Guallar, R. A. Friesner, S. Shaik, W. Thiel, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 3924–3925.
- [443] J. Zheng, D. Wang, W. Thiel, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13204–13215.
- [444] J. Zurek, N. Foloppe, J. N. Harvey, A. J. Mulholland, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 3931–3937.
- [445] A. Altun, S. Shaik, W. Thiel, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8978–8987.
- [446] M. Freindorf, Y. Shao, J. Kong, T. R. Furlani, *J. Inorg. Biochem.* **2008**, *102*, 427–432.
- [447] D. Wang, J. Zheng, S. Shaik, W. Thiel, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 5126–5138.
- [448] A. Altun, D. Kumar, F. Neese, W. Thiel, *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 12904–12910.
- [449] D. Wang, W. Thiel, *THEOCHEM* **2009**, DOI: 10.1016/j.theochem.2008.06.011.
- [450] S. H. Kim, R. Perera, L. P. Hager, J. H. Dawson, B. M. Hoffman, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5598–5599.
- [451] D. Kumar, H. Hirao, S. P. de Visser, J. Zheng, D. Wang, W. Thiel, S. Shaik, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 19946–19951.
- [452] H. Hirao, D. Kumar, W. Thiel, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13007–13018.
- [453] C. M. Bathelt, J. Zurek, A. J. Mulholland, J. N. Harvey, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12900–12908.
- [454] D. Fishelovitch, C. Hazan, H. Hirao, H. J. Wolfson, R. Nussinov, S. Shaik, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 13822–13832.
- [455] E. Derat, S. Cohen, S. Shaik, A. Altun, W. Thiel, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13611–13621.
- [456] C. M. Bathelt, A. J. Mulholland, J. N. Harvey, *Dalton Trans.* **2005**, 3470–3476.
- [457] J. N. Harvey, C. M. Bathelt, A. J. Mulholland, *J. Comput. Chem.* **2006**, *27*, 1352–1362.
- [458] C. Rovira, M. Alfonso-Prieto, X. Biarnés, X. Carpena, I. Fita, P. C. Loewen, *Chem. Phys.* **2006**, *323*, 129–137.
- [459] K.-B. Cho, E. Derat, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3182–3188.
- [460] S. Cohen, D. Kumar, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2649–2653.
- [461] E. Derat, S. Shaik, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 10526–10533.
- [462] E. Derat, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8185–8198.
- [463] T. Kamachi, K. Yoshizawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10686–10692.
- [464] P. R. Callis, T. Liu, *Chem. Phys.* **2006**, *326*, 230–239.
- [465] S. Bhattacharyya, M. T. Stankovich, D. G. Truhlar, J. Gao, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 5729–5742.
- [466] R. C. Walker, I. P. Mercer, I. R. Gould, D. R. Klug, *J. Comput. Chem.* **2007**, *28*, 478–490.
- [467] T. Wymore, D. W. Deerfield II, J. Hempel, *Biochemistry* **2007**, *46*, 9495–9506.

- [468] J. E. Gready, I. Rostov, P. L. Cummins in *Modelling Molecular Structure and Reactivity in Biological Systems* (Hrsg.: K. J. Naidoo, J. Brady, M. J. Field, J. Gao, M. Hann), Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2006, S. 101–118.
- [469] J. Pang, J. Pu, J. Gao, D. G. Truhlar, R. K. Allemann, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8015–8023.
- [470] P. L. Cummins, I. V. Rostov, J. E. Gready, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 1203–1211.
- [471] K. E. Ranaghan, L. Masgrau, N. S. Scrutton, M. J. Sutcliffe, A. J. Mulholland, *ChemPhysChem* **2007**, *8*, 1816–1835.
- [472] L. Masgrau, A. Roujeinikova, L. O. Johannissen, P. Hothi, J. Basran, K. E. Ranaghan, A. J. Mulholland, M. J. Sutcliffe, N. S. Scrutton, D. Leys, *Science* **2006**, *312*, 237–241.
- [473] L. Masgrau, *Science* **2006**, *312*, 1600.
- [474] L. Masgrau, K. E. Ranaghan, N. S. Scrutton, A. J. Mulholland, M. J. Sutcliffe, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 3032–3047.
- [475] A. V. Nemukhin, B. L. Grigorenko, I. A. Topol, S. K. Burt, *Int. J. Quantum Chem.* **2006**, *106*, 2184–2190.
- [476] M. Lundberg, K. Morokuma, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 9380–9389.
- [477] I. Tejero, Á. González-Lafont, J. M. Lluch, *J. Comput. Chem.* **2007**, *28*, 997–1005.
- [478] S. Cohen, S. Kozuch, C. Hazan, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11028–11029.
- [479] E. Derat, S. Shaik, C. Rovira, P. Vidossich, M. Alfonso-Prieto, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6346–6347.
- [480] M. Alfonso-Prieto, A. Borovik, X. Carpene, G. Murshudov, W. Melik-Adamyan, I. Fita, C. Rovira, P. C. Loewen, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4193–4205.
- [481] P. Vidossich, M. Alfonso-Prieto, X. Carpene, P. C. Loewen, I. Fita, C. Rovira, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13436–13446.
- [482] M. A. Martí, L. Capece, D. E. Bikiel, B. Falcone, D. A. Estrin, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2007**, *68*, 480–487.
- [483] M. A. Martí, A. Crespo, L. Capece, L. Boechi, D. E. Bikiel, D. A. Scherlis, D. A. Estrin, *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 761–770.
- [484] M. Freindorf, Y. Shao, S. T. Brown, J. Kong, T. R. Furlani, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *419*, 563–566.
- [485] M. Meuwly, *ChemPhysChem* **2006**, *7*, 2061–2063.
- [486] V. Guallar, A. A. Jarzecki, R. A. Friesner, T. G. Spiro, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5427–5435.
- [487] N. Strickland, A. J. Mulholland, J. N. Harvey, *Biophys. J.* **2005**, *90*, L27–L29.
- [488] L. Capece, M. A. Martí, A. Crespo, F. Doctorovich, D. A. Estrin, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 12455–12461.
- [489] M. Unno, H. Chen, S. Kusama, S. Shaik, M. Ikeda-Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13394–13395.
- [490] C. Greco, M. Bruschi, J. Heimdal, P. Fantucci, L. De Gioia, U. Ryde, *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 7256–7258.
- [491] C. Greco, M. Bruschi, L. De Gioia, U. Ryde, *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 5911–5921.
- [492] D. Rinaldo, D. M. Philipp, S. J. Lippard, R. A. Friesner, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3135–3147.
- [493] K. Yoshizawa, N. Kihara, T. Kamachi, Y. Shiota, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 3034–3041.
- [494] A. Crespo, M. A. Martí, A. E. Roitberg, L. M. Amzel, D. A. Estrin, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 12817–12828.
- [495] K. Yoshizawa, Y. Shiota, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 9873–9881.
- [496] M. Sundararajan, I. H. Hillier, N. A. Burton, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 5511–5517.
- [497] M. Sundararajan, I. H. Hillier, N. A. Burton, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 785–790.
- [498] K. Paraskevopoulos, M. Sundararajan, R. Surendran, M. A. Hough, R. R. Eady, I. H. Hillier, S. S. Hasnain, *Dalton Trans.* **2006**, 3067–3076.
- [499] M. Cascella, M. A. Cuendet, I. Tavernelli, U. Rothlisberger, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 10248–10252.
- [500] R. Prabhakar, T. Vreven, M. J. Frisch, K. Morokuma, D. G. Musaev, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 13608–13613.
- [501] A. T. P. Carvalho, P. A. Fernandes, M. J. Ramos, *J. Comput. Chem.* **2006**, *27*, 966–975.
- [502] X. Zhang, S. Y. Reddy, T. C. Bruice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 745–749.
- [503] N. Nakatani, J.-Y. Hasegawa, H. Nakatsuji, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8756–8765.
- [504] J. Bergès, G. Rickards, A. Rauk, C. Houée-Levin, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *421*, 63–67.
- [505] A. L. Bowman, L. Ridder, I. M. C. M. Rietjens, J. Vervoort, A. J. Mulholland, *Biochemistry* **2007**, *46*, 6353–6363.
- [506] M. Roca, V. Moliner, J. J. Ruiz-Pernía, E. Silla, I. Tuñón, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 503–509.
- [507] T. H. Rod, P. Rydberg, U. Ryde, *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 174503.
- [508] P. Hu, Y. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1272–1278.
- [509] H.-B. Guo, H. Guo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 8797–8802.
- [510] S. Wang, P. Hu, Y. Zhang, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 3758–3764.
- [511] X. Zhang, T. C. Bruice, *Biochemistry* **2007**, *46*, 14838–14844.
- [512] X. Zhang, T. C. Bruice, *Biochemistry* **2007**, *46*, 9743–9751.
- [513] A. Soriano, R. Castillo, C. Christov, J. Andrés, V. Moliner, I. Tuñón, *Biochemistry* **2006**, *45*, 14917–14925.
- [514] X. Zhang, T. C. Bruice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 6148–6153.
- [515] X. Zhang, T. C. Bruice, *Biochemistry* **2007**, *46*, 5505–5514.
- [516] X.-F. Gao, X.-R. Huang, C.-C. Sun, *J. Struct. Biol.* **2006**, *154*, 20–26.
- [517] Y. Cheng, Y. Zhang, J. A. McCammon, *Protein Sci.* **2006**, *15*, 672–683.
- [518] M. Valiev, J. Yang, J. A. Adams, S. S. Taylor, J. H. Weare, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 13455–13464.
- [519] J. H. Alzate-Morales, R. Contreras, A. Soriano, I. Tuñón, E. Silla, *Biophys. J.* **2006**, *92*, 430–439.
- [520] M. De Vivo, A. Cavalli, P. Carloni, M. Recanatini, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 8437–8444.
- [521] T. Rungrotmongkol, A. J. Mulholland, S. Hannongbua, *J. Mol. Graphics Modell.* **2007**, *26*, 1–13.
- [522] C. N. Alves, S. Martí, R. Castillo, J. Andrés, V. Moliner, I. Tuñón, E. Silla, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 7715–7724.
- [523] C. N. Alves, S. Martí, R. Castillo, J. Andrés, V. Moliner, I. Tuñón, E. Silla, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 3818–3824.
- [524] N. Nunthaboot, S. Pianwanit, V. Parasuk, J. O. Ebalunode, J. M. Briggs, S. Kokpol, *Biophys. J.* **2007**, *93*, 3613–3626.
- [525] I. L. Alberts, Y. Wang, T. Schlick, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11100–11110.
- [526] L. Wang, X. Yu, P. Hu, S. Broyde, Y. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4731–4737.
- [527] A. Thomas, M. J. Field, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10096–10102.
- [528] S. F. Sousa, P. A. Fernandes, M. J. Ramos, *J. Comput. Chem.* **2007**, *28*, 1160–1168.
- [529] S. Kozmon, I. Tvaroška, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16921–16927.
- [530] P. Lin, W. Yang, L. C. Pedersen, M. Negishi, L. G. Pedersen, *Int. J. Quantum Chem.* **2006**, *106*, 2981–2998.
- [531] N. Kanaan, S. Martí, V. Moliner, A. Kohen, *Biochemistry* **2007**, *46*, 3704–3713.
- [532] S. Pieraccini, M. Sironi, G. Colombo, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *418*, 373–376.
- [533] J. Blumberger, G. Lamoureux, M. L. Klein, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 1837–1850.
- [534] T. Ishida, *Biochemistry* **2006**, *45*, 5413–5420.

- [535] Q. Xu, H. Guo, A. Wlodawer, H. Guo, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5994–5995.
- [536] H. Guo, A. Wlodawer, T. Nakayama, Q. Xu, H. Guo, *Biochemistry* **2006**, *45*, 9129–9137.
- [537] K. Bravaya, A. Bochenkova, B. Grigorenko, I. Topol, S. Burt, A. Nemukhin, *J. Chem. Theory Comput.* **2006**, *2*, 1168–1175.
- [538] Q. Xu, H.-B. Guo, A. Wlodawer, T. Nakayama, H. Guo, *Biochemistry* **2007**, *46*, 3784–3792.
- [539] C. Oliva, A. Rodríguez, M. González, W. Yang, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2007**, *66*, 444–455.
- [540] P. Vidossich, P. Carloni, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 1437–1442.
- [541] S. Saen-oon, O. Aruksakunwong, K. Wittayanarakul, P. Sompornpisut, S. Hannongbua, *J. Mol. Graphics Modell.* **2007**, *26*, 720–727.
- [542] C. Corminboeuf, P. Hu, M. E. Tuckerman, Y. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4530–4531.
- [543] S. Ma, L. S. Devi-Kesavan, J. Gao, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13633–13645.
- [544] M. Mladenovic, T. Schirmeister, S. Thiel, W. Thiel, B. Engels, *ChemMedChem* **2007**, *2*, 120–128.
- [545] J. C. Hermann, L. Ridder, H.-D. Höltje, A. J. Mulholland, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 206–210.
- [546] D. Xu, D. Xie, H. Guo, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 8740–8747.
- [547] C. Wang, H. Guo, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 9986–9992.
- [548] D. Xu, H. Guo, Q. Cui, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 10814–10822.
- [549] D. Xu, H. Guo, Q. Cui, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 5630–5636.
- [550] N. Díaz, D. Suárez, T. L. Sordo, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 24222–24230.
- [551] C. Xiao, Y. Zhang, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 6229–6235.
- [552] S. Senapati, Y. Cheng, J. A. McCammon, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6222–6230.
- [553] Y. Cheng, X. Cheng, Z. Radić, J. A. McCammon, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6562–6570.
- [554] D. Gao, C.-G. Zhan, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2006**, *62*, 99–110.
- [555] X. Biarnés, J. Nieto, A. Planas, C. Rovira, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 1432–1441.
- [556] M. Dittrich, K. Schulten, *Structure* **2006**, *14*, 1345–1353.
- [557] K.-Y. Wong, J. Gao, *Biochemistry* **2007**, *46*, 13352–13369.
- [558] Y. Xiong, H.-T. Lu, Y. Li, G.-F. Yang, C.-G. Zhan, *Biophys. J.* **2006**, *91*, 1858–1867.
- [559] J. Wu, D. Xu, X. Lu, C. Wang, H. Guo, D. Dunaway-Mariano, *Biochemistry* **2006**, *45*, 102–112.
- [560] L. Yao, H. Yan, R. I. Cukier, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 26320–26326.
- [561] Q. Xu, H. Guo, A. Gorin, H. Guo, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 6501–6506.
- [562] L. Yao, R. I. Cukier, H. Yan, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 4200–4210.
- [563] M. De Vivo, B. Ensing, M. Dal Peraro, G. A. Gomez, D. W. Christianson, M. L. Klein, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 387–394.
- [564] D. Riccardi, P. König, X. Prat-Resina, H. Yu, M. Elstner, T. Frauenheim, Q. Cui, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16302–16311.
- [565] T. Kamachi, T. Toraya, K. Yoshizawa, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 7864–7873.
- [566] M. W. van der Kamp, F. Perruccio, A. J. Mulholland, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2007**, *69*, 521–535.
- [567] M. W. van der Kamp, F. Perruccio, A. J. Mulholland, *J. Mol. Graphics Modell.* **2007**, *26*, 676–690.
- [568] G. A. Cisneros, M. Wang, P. Silinski, M. C. Fitzgerald, W. Yang, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 700–708.
- [569] T. Tuttle, E. Keinan, W. Thiel, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 19685–19695.
- [570] T. Tuttle, W. Thiel, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 7665–7674.
- [571] E. Puig, M. Garcia-Viloca, À. González-Lafont, J. M. Lluch, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 717–725.
- [572] D. T. Major, K. Nam, J. Gao, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8114–8115.
- [573] D. T. Major, J. Gao, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16345–16357.
- [574] S. Donnini, G. Groenhof, R. K. Wierenga, A. H. Juffer, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2006**, *64*, 700–710.
- [575] A. Dybala-Defratyka, P. Paneth, R. Banerjee, D. G. Truhlar, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 10774–10779.
- [576] J. J. Ruiz-Pernía, E. Silla, I. Tuñón, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 20686–20692.
- [577] J. J. Ruiz-Pernía, E. Silla, I. Tuñón, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 9117–9124.
- [578] S. Sinnecker, M. Flores, W. Lubitz, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8*, 5659–5670.
- [579] M. Sugihara, J. Hufen, V. Buss, *Biochemistry* **2006**, *45*, 801–810.
- [580] K. Bravaya, A. Bochenkova, A. Granovsky, A. Nemukhin, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13035–13042.
- [581] K. Fujimoto, S. Hayashi, J.-y. Hasegawa, H. Nakatsuji, *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 605–618.
- [582] A.-N. Bondar, J. C. Smith, S. Fischer, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2006**, *5*, 547–552.
- [583] Y. Sato, M. Hata, S. Neya, T. Hoshino, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 22804–22812.
- [584] K. Fujimoto, J.-y. Hasegawa, S. Hayashi, H. Nakatsuji, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *432*, 252–256.
- [585] R. J. Trabanino, N. Vaidehi, W. A. Goddard III, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 17230–17239.
- [586] S. S. Patnaik, S. Trohalaki, R. R. Naik, M. O. Stone, R. Pachter, *Biopolymers* **2007**, *85*, 253–263.
- [587] M. Kamiya, S. Saito, I. Ohmine, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 2948–2956.
- [588] B. Grigorenko, A. Savitsky, I. Topol, S. Burt, A. Nemukhin, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 18635–18640.
- [589] B. Grigorenko, A. Savitsky, I. Topol, S. Burt, A. Nemukhin, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *424*, 184–188.
- [590] E. M. Sproviero, J. A. Gascón, J. P. McEvoy, G. W. Brudvig, V. S. Batista, *J. Chem. Theory Comput.* **2006**, *2*, 1119–1134.
- [591] E. M. Sproviero, J. A. Gascón, J. P. McEvoy, G. W. Brudvig, V. S. Batista, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2007**, *17*, 173–180.
- [592] M. A. Mroginski, F. Mark, W. Thiel, P. Hildebrandt, *Biophys. J.* **2007**, *93*, 1885–1894.
- [593] M. Boero, T. Ikeda, E. Ito, K. Terakura, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16798–16807.
- [594] S. D. Dalosto, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 2932–2940.
- [595] A. Fürstner, D. Kirk, M. B. Fenster, C. Aïssa, D. De Souza, C. Nevado, T. Tuttle, W. Thiel, O. Müller, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 135–149.
- [596] S. M. Schwarzl, J. C. Smith, S. Fischer, *Biochemistry* **2006**, *45*, 5830–5847.
- [597] B. L. Grigorenko, A. V. Rogov, I. A. Topol, S. K. Burt, H. M. Martinez, A. V. Nemukhin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 7057–7061.
- [598] B. L. Grigorenko, A. V. Nemukhin, M. S. Shadrina, I. A. Topol, S. K. Burt, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2007**, *66*, 456–466.
- [599] H. te Heesen, K. Gerwert, J. Schlitter, *FEBS Lett.* **2007**, *581*, 5677–5684.
- [600] D. Bucher, S. Raugei, L. Guidoni, M. Dal Peraro, U. Rothlisberger, P. Carloni, M. L. Klein, *Biophys. Chem.* **2006**, *124*, 292–301.
- [601] D. Bucher, L. Guidoni, U. Rothlisberger, *Biophys. J.* **2007**, *93*, 2315–2324.
- [602] Y. Liu, X. Hu, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 1375–1381.
- [603] Z. Cao, Y. Mo, W. Thiel, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 6935–6939; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6811–6815.

- [604] Z. Moosavi-Movahedi, H. Bahrami, M. Zahedi, K. Mahnam, J. Chamani, S. Safarian, A. A. Saboury, A. A. Moosavi-Movahedi, *Biophys. Chem.* **2007**, *125*, 375–387.
- [605] J. Chen, S. L. Flaugh, P. R. Callis, J. King, *Biochemistry* **2006**, *45*, 11552–11563.
- [606] P. R. Callis, A. Petrenko, P. L. Muiño, J. R. Tusell, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 10335–10339.
- [607] A. Robertazzi, J. A. Platts, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 3992–4000.
- [608] N. Sundaresan, C. K. S. Pillai, C. H. Suresh, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 8826–8831.
- [609] M. V. Rogacheva, A. V. Bochenkova, S. A. Kuznetsova, M. K. Saparbaev, A. V. Nemukhin, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 432–438.
- [610] Y. A. Mantz, F. L. Gervasio, T. Laino, M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.* **2007**, *99*, 058104.
- [611] M. Valiev, K. Kowalski, *J. Chem. Phys.* **2006**, *125*, 211101.
- [612] K. Kowalski, M. Valiev, *Res. Lett. Phys. Chem.* **2007**, 85978.
- [613] A. Robertazzi, J. A. Platts, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 5747–5756.
- [614] A. Magistrato, P. Ruggerone, K. Spiegel, P. Carloni, J. Reedijk, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 3604–3613.
- [615] K. Spiegel, U. Rothlisberger, P. Carloni, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 3647–3660.
- [616] A. V. Vargiu, P. Ruggerone, A. Magistrato, P. Carloni, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 24687–24695.
- [617] T. Tuttle, E. Kraka, W. Thiel, D. Cremer, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 8321–8328.
- [618] J. Villà, A. Warshel, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 7887–7907.
- [619] P. A. Kollman, B. Kuhn, M. Peräkylä, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 1537–1542.
- [620] S. Martí, M. Roca, J. Andrés, V. Moliner, E. Silla, I. Tuñón, J. Bertrán, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 98–107.
- [621] A. Warshel, P. K. Sharma, M. Kato, Y. Xiang, H. Liu, M. H. M. Olsson, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3210–3235.
- [622] T. C. Bruice, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3119–3139.
- [623] M. H. M. Olsson, J. Mavri, A. Warshel, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* **2006**, *361*, 1417–1432.
- [624] M. H. M. Olsson, W. W. Parson, A. Warshel, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 1737–1756.
- [625] D. Antoniou, J. Basner, S. Núñez, S. D. Schwartz, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3170–3187.
- [626] L. Pauling, *Chem. Eng. News* **1946**, *24*, 1375–1377.