





**Theoretische Untersuchungen zur  
Adsorption von Arzneistoffen  
an Mikrokristalliner Cellulose**

**Inaugural-Dissertation**

zur

Erlangung des Doktorgrades der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Nadine Sonnenberg

aus Iserlohn

Düsseldorf 2008

Aus dem Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie  
der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. H.-D. Höltje

Koreferent: Prof. Dr. P. Kleinebudde

Tag der mündlichen Prüfung: 16.05.2008

Die vorliegende Arbeit wurde von Juli 2004 bis April 2008 am Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. H.-D. Höltje angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. H.-D. Höltje für die Überlassung des interessanten Themas, die hilfreichen Diskussionen und Anregungen und die hervorragenden Arbeitsbedingungen am Institut.

Herrn Prof. Dr. P. Kleinebudde danke ich für die Anregung zu diesem Thema, für die Überlassung der experimentellen Daten und die gute Zusammenarbeit. Außerdem für die abschließende Anfertigung des Zweitgutachtens.

Schließlich danke ich allen Kolleginnen und Kollegen des Arbeitskreises und der WE Pharmazie für die freundschaftliche Atmosphäre und die konstruktive Zusammenarbeit.



**für meine Eltern  
für Frank**



<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	Native Cellulose .....	3
1.1.1	Vorkommen .....	3
1.1.2	Molekulare Struktur der Cellulose.....	3
1.1.2.1	Einführung .....	3
1.1.2.2	Molekularer Aufbau .....	4
1.1.2.3	Konformation der Glucoseringe.....	5
1.1.2.4	Orientierung der Hydroxymethylgruppe .....	5
1.1.2.5	Wasserstoffbrückenmuster.....	6
1.1.3	Kristallstrukturuntersuchungen an Cellulose I.....	7
1.1.3.1	Bisherige Modelle der Cellulose I .....	7
1.1.3.2	Polymorphie der Cellulose I $\alpha$ und $\beta$ .....	11
1.1.3.3	Kristallebenen und Miller Indices .....	14
1.1.4	Supermolekulare Struktur der Cellulose .....	16
1.1.4.1	Polymerisationsgrad .....	16
1.1.4.2	Fibrilläre Struktur .....	16
1.1.5	Molecular Modeling Untersuchungen an Cellulose.....	19
1.1.5.1	Notwendige Einschränkungen und Annahmen.....	19
1.1.5.2	Computergestützte Berechnungen von Cellulosemodellen .	19
1.2	Mikrokristalline Cellulose .....	20
1.2.1	Herstellung .....	20
1.2.2	Eigenschaften .....	21
1.2.3	Verwendung .....	21
<b>2</b>	<b>Problemstellung und Zielsetzung</b> .....	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>Methoden</b> .....	<b>27</b>
3.1	Computergestützte Simulation von Kohlenhydraten .....	29
3.1.1	Kraftfeldbasierte Methoden.....	29
3.1.2	Das OPLS-Kraftfeld .....	30
3.1.3	Minimierungen und Moleküldynamiksimulationen.....	31
3.1.3.1	Systemgröße und <i>periodic boundary conditions</i> .....	33

---

3.1.3.2	Äußere Randbedingungen .....	33
3.1.4	Wassermodell .....	34
3.2	Adsorption von Arzneistoffen .....	35
3.2.1	Das pcff-Kraftfeld .....	35
3.2.2	Monte-Carlo-Simulationen .....	36
3.2.3	Metropolis-Algorithmus .....	38
3.2.4	Configurational-bias-Algorithmus .....	40
3.2.5	Simulated Annealing .....	42
<b>4</b>	<b>Durchführung und Ergebnisse.....</b>	<b>47</b>
4.1	Vorgehensweise.....	49
4.2	Erstellen eines Modells für Mikrokristalline Cellulose .....	49
4.2.1	Koordinaten.....	49
4.2.2	Mikrofibrillenmodell .....	52
4.2.3	Reduziertes Modell .....	53
4.2.3.1	Bau von zwei Varianten (odd und even) .....	55
4.2.3.2	Vergleich der Modelle in MD-Simulationen mit Wasser .....	55
4.2.3.3	Fortsetzung der MDS für Modell odd .....	62
4.3	Modelle mit amorphem Teilbereich .....	66
4.4	Erstellen und Validieren des Isopropanol-Modells .....	68
4.4.1	Erstellen eines Isopropanol-Modells .....	68
4.4.2	Validierung des erstellten Modells.....	69
4.4.3	Wechselwirkungsmöglichkeiten von Isopropanol.....	72
4.5	Modelle Amorph 20 und Amorph 40.....	73
4.5.1	Simulationen in Wasser und Isopropanol.....	73
4.5.2	Vergleich der Modelle Amorph 20 und Amorph 40.....	74
4.5.2.1	Vergleich der Energie .....	76
4.5.2.2	Vergleich der RMSD-Werte.....	78
4.5.2.3	Untersuchung der Wasserstoffbrücken.....	80
4.5.2.4	Solvent Accessible Surface.....	81
4.5.2.5	Vergleich der Vertiefungen im amorphen Bereich.....	82
4.5.2.6	Berechnung von Wechselwirkungsfeldern .....	84

---

4.6	Adsorption von Arzneistoffen .....	88
4.6.1	Aufbereiten der Strukturen für Materials Studio .....	88
4.6.2	Vergleich Metropolis- und Configurational bias-Algorithmus .....	90
4.6.3	Validierung des Programms mit Wasser.....	93
4.6.4	Rechnungen mit Isopropanol.....	100
4.6.5	Simulated Annealing mit Procain-HCl.....	103
4.6.6	Simulated Annealing mit Ethacridin-Lactat .....	112
<b>5</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>121</b>
5.1	Koordinaten .....	123
5.2	Kraftfeld .....	126
5.3	Reduziertes Modell .....	128
5.4	Modelle mit amorphem Teilbereich .....	130
5.5	Adsorption von Arzneistoffen .....	131
5.6	Vergleich mit experimentellen Daten .....	133
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>139</b>
<b>7</b>	<b>Literatur .....</b>	<b>143</b>
<b>8</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>155</b>



# **1 EINLEITUNG**

---



## 1.1 Native Cellulose

### 1.1.1 Vorkommen

Native Cellulose ist das häufigste und am weitesten verbreitete natürliche Polymer der Erde und stellt die Gerüstsubstanz aller höheren Pflanzen dar. Zum größten Teil tritt Cellulose in Holz, zusammen mit Lignin und Hemicellulosen auf. Jeder Baum produziert etwa 13 – 14 Gramm jeden Tag [1]. Außerdem ist Cellulose auch in niederen Pflanzen wie Moosen, Flechten, Gräsern und Algen zu finden und wird von bestimmten Bakterienstämmen (z.B. *Acetobacter xyli- num*) extrazellulär produziert.

Die Cellulose wird aufgrund ihres Aufbaus aus Monosacchariden in die Gruppe der Polysaccharide eingeordnet. Neben Proteinen, Fetten und Ölen sind Saccharide und Polysaccharide - besonders Cellulose und Stärke – die wichtigste industriell genutzte Gruppe der nachwachsenden Rohstoffe. Allerdings werden nur ungefähr 3% dieser jährlich erneuerbaren Ressourcen genutzt. Dies zeigt das immense Potential dieser zur Verfügung stehenden Rohstoffquelle.

### 1.1.2 Molekulare Struktur der Cellulose

#### 1.1.2.1 Einführung

Native Cellulose ist eine faserige, zähe, wasserunlösliche Substanz, die hauptsächlich als Gerüstsubstanz in der Zellwand von Pflanzen vorkommt und das am intensivsten untersuchte Biopolymer darstellt.

In der Vergangenheit wurde native Cellulose im monoklinen Kristallgitter der Cellulose I beschrieben [2-4]. Die im Folgenden auftretenden Widersprüche bezüglich der Kristallstruktur und übermolekularen Struktur, die sich zwischen nativen Celluloseproben unterschiedlicher Herkunft ergaben, wurden durch die Entdeckung zweier unterschiedlicher Polymorphe I $\alpha$  und I $\beta$  weitgehend gelöst [5-7]. Danach besteht native Cellulose nicht aus einer einzigen homogenen Phase, sondern aus zwei unterschiedlichen Phasen I $\alpha$  und I $\beta$ , die je nach Herkunft und Art der Cellulose in unterschiedlichen Anteilen vorliegen. Daneben sind weitere Cellulosemodifikationen (Cellulose II – IV) bekannt (s. Kapitel 1.1.3.2).

Allen Polymorphen liegt die gleiche molekulare Struktur zugrunde. Unterschiede zwischen den einzelnen Formen ergeben sich bezüglich der Kettenanordnung in der Elementarzelle, dem Richtungssinn und der Polarität der Ketten, der Anordnung des Bindungssystems und des intra- und intermolekularen Wasserstoffbrückensystems.

### 1.1.2.2 Molekularer Aufbau

Cellulose ist ein unverzweigtes Homopolysaccharid, bestehend aus  $\beta$ -D-Glucopyranose-Einheiten, die über (1  $\rightarrow$  4) Glykosidbindungen miteinander verknüpft sind. Aufgrund der vorliegenden  $\beta$ -Verknüpfung ist jeder zweite Glucose ring entlang der Kette um  $180^\circ$  um die C1 - C4-Achse in Bezug zur ersten Glucose gedreht (*twofold-screw-axis*). Daher wird als kleinste auftretende Wiederholungseinheit (*repeating unit*) bei der Cellulose nicht die  $\beta$ -D-Glucose, sondern das Disaccharid, die  $\beta$ -Cellobiose, gewählt (s. Abbildung 1.1).

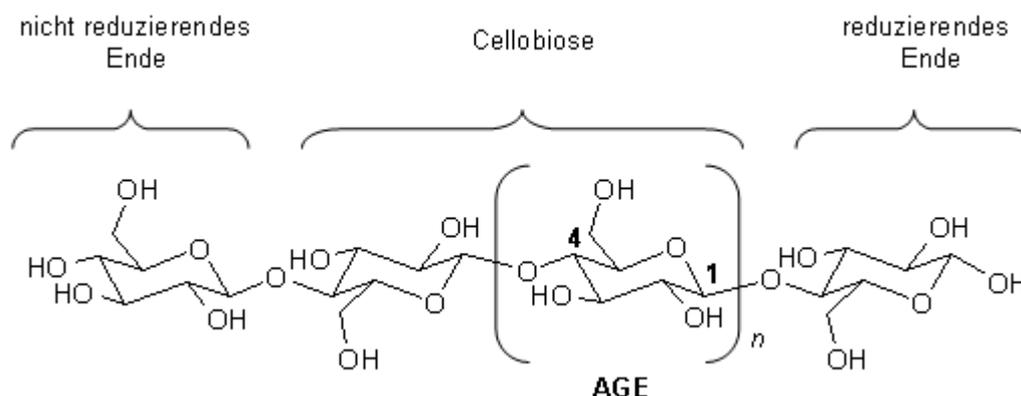


Abbildung 1.1: Molekulare Struktur der Cellulose.

AGE = Anhydroglucoseeinheiten,  $n$  = Polymerisationsgrad (DP)

Die beiden Kettenenden zeigen jeweils unterschiedliche Eigenschaften. Das Ende mit der Hydroxylgruppe an C1 liegt in Form eines Halbacetals vor und verfügt dementsprechend über reduzierende Eigenschaften, während die Endgruppe mit der alkoholischen Hydroxylgruppe an C4 keine reduzierenden Eigenschaften aufweist. Es gibt pro Glucosemolekül drei freie Hydroxylgruppen, eine Primäre am Kohlenstoffatom C6 und zwei Sekundäre an C2 und C3, die verethert oder verestert werden können. Der chemische Charakter des Cellulose-Moleküls wird durch die Hydrolyseempfindlichkeit der Glykosidbindung zwischen den Cellobiose-Einheiten und durch die Reaktivität der Hydroxylgruppen bestimmt [1]. Die Natur der Bindungen innerhalb der Glucosemoleküle und zwi-

schen den Glucosemolekülen innerhalb der Kette wurde 1932 von Haworth beschrieben [8].

### 1.1.2.3 Konformation der Glucoseringe

Aus Infrarot-Spektroskopie, Röntgenkristallographie und NMR- Untersuchungen ist bekannt, dass die  $\beta$ -D-Glucose eine stabile  ${}^4C_1$ -Sesselkonformation einnimmt, in der alle Hydroxylgruppen equatorial stehen [1]. Diese Anordnung ist stabiler und energetisch günstiger als eine alternative Anordnung, in der die Hydroxylgruppen axial alternierend über und unter der Ringebene angeordnet sind ( ${}^1C_4$ -Konformation). Der Unterschied zwischen der  ${}^4C_1$ -Konformation und der  ${}^1C_4$ -Konformation beträgt ca. 25 kJ/mol [9].

### 1.1.2.4 Orientierung der Hydroxymethylgruppe

Die Hydroxymethylgruppe hängt als Substituent an Position 5 des Pyranoseringes. Das Muster der ausgebildeten Wasserstoffbrücken hängt von der Konformation dieser Gruppe ab. Hier gibt es drei mögliche, energetisch günstige Orientierungen: trans-gauche (tg), gauche-trans (gt) und gauche-gauche (gg). Ihre Bezeichnung richtet sich nach der relativen Position des Atomes O6, in Relation zum Atom O5 beim Blick auf C5 (s. Abbildung 1.2).

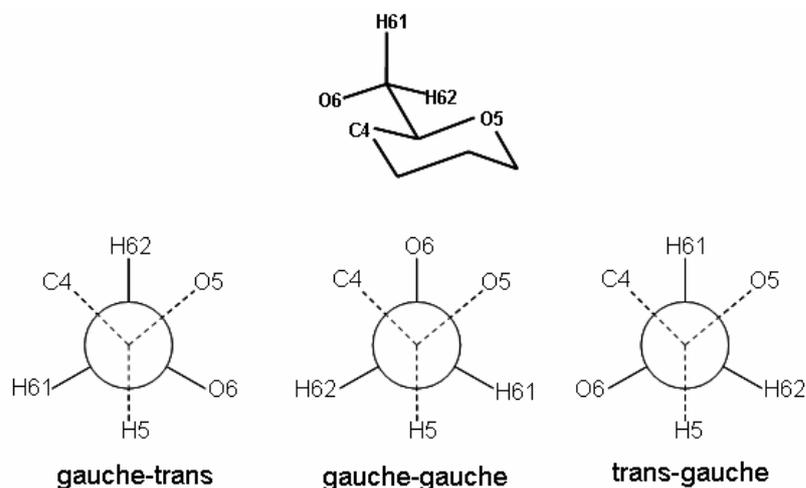


Abbildung 1.2: Die drei möglichen Orientierungen der Hydroxymethylgruppe bezogen auf die Position von O6 zu O5 [10].

Diese drei verschiedenen Orientierungen der Hydroxymethylgruppe sind unterschiedlich stabil. In Untersuchungen an Mono- und Disacchariden zeigt sich, dass die tg-Konformation einen höheren Energiegehalt aufweist als die beiden anderen Konformationen und aufgrund dessen nicht in Kristallen gefunden wur-

de. Von den beiden verbleibenden Konformationen scheint die *gt*-Konformation bevorzugt in Mono- und Disacchariden vorzukommen [11].

In späteren Röntgenstrukturanalysen am Cellulose-Polymer stellte sich heraus, dass im Gegensatz zu Mono- und Disacchariden hier die *tg*-Konformation bevorzugt auftreten kann, da so die Möglichkeit besteht, zusätzliche Wasserstoffbrücken auszubilden (O6/HO2) (s. Abbildung 1.3), die für erhöhte Stabilität sorgen [2] [10] [12].

### 1.1.2.5 Wasserstoffbrückenmuster

Für native Cellulose gibt es drei verschiedene Wasserstoffbrücken, die überwiegend ausgebildet werden, zwei intramolekulare zwischen O5/HO3 und O6/HO2 desselben Stranges und eine intermolekulare zwischen O3 und HO6 benachbarter Stränge innerhalb einer Schicht [2] [10] (s. Abbildung 1.3).

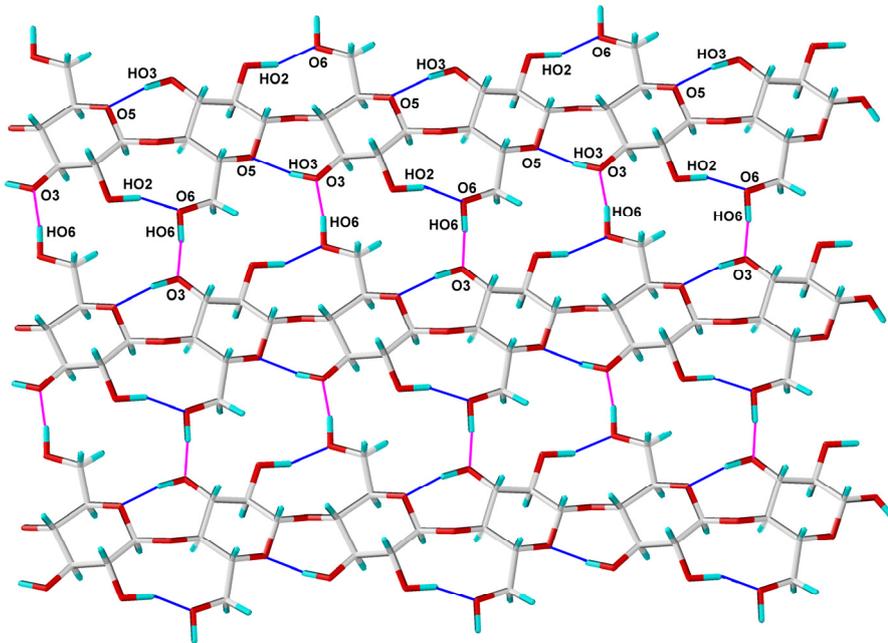


Abbildung 1.3: Wasserstoffbrückenmuster in nativer Cellulose. Intramolekulare Wasserstoffbrücken sind in blau dargestellt, intermolekulare Wasserstoffbrücken in magenta.

Intramolekulare Wasserstoffbrücken (*intrachain*) stabilisieren den Cellulosestrang und sorgen für die Festigkeit der Kette. Außerdem sind sie verantwortlich für die Länge der Cellobioseeinheit von 1,03 nm, die ohne den Zusammenhalt durch Wasserstoffbrücken 1,3 nm betragen würde [1], und fixieren zusätzlich die *two-fold screw axis* (s. Kapitel 1.1.2.2).

Intermolekulare Wasserstoffbrücken (*interchain* bzw. *intrasheet*) zwischen benachbarten Strängen fixieren die Stränge innerhalb einer Schicht und zwingen

benachbarte Stränge dadurch in eine geordnete Ausrichtung. Sie ermöglichen so die Bildung von fibrillären Strukturen, die dann für die Kristallinität und die Unlöslichkeit der Cellulose verantwortlich sind.

Eine dritte Möglichkeit der Wasserstoffbrückenbildung besteht in der Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen den einzelnen Schichten (*intersheet*), welche allerdings bei der bevorzugten tg-Konformation der Hydroxymethylgruppe nicht existieren und auch für den Kristall nicht beschrieben werden.

In der Literatur wird aber auch das Auftreten von intersheet-Wasserstoffbrücken während Moleküldynamiksimulationen zwischen einzelnen Celluloseschichten erwähnt, die allerdings deutlich seltener als die oben beschriebenen Arten vorkommen [13].

### **1.1.3 Kristallstrukturuntersuchungen an Cellulose I**

Seit der Entdeckung der Cellulose ist dieses Biopolymer aufgrund seiner komplexen Struktur Ziel kontinuierlicher Erforschung. Häufig gehört es zu den ersten Substanzen, die mit einer neu entwickelten Methode untersucht werden.

Trotz der Verwendung all dieser Untersuchungsmethoden gibt es bis heute keine absolute Klarheit über die Kristallstruktur von Cellulose, da es bisher nicht gelungen ist, aus dieser komplexen Struktur geeignete Kristalle zu erhalten. Versuche der Kristallstrukturanalyse stützen sich meist auf Pulverdaten, die eine zu geringe Anzahl verwertbarer Röntgeninterferenzen liefern, um eindeutige Aussagen in strukturellen Detailfragen zu liefern. Durch die Anwendung neuer weiterentwickelter Techniken werden auch immer wieder neue Informationen entdeckt und einzelne Parameter verfeinert. Die Historie der Bestimmung der Kristallstruktur nativer Cellulose mit Hilfe von Röntgenstrukturanalysen, bis zu den wichtigsten Arbeiten von Gardner [2] und Sarko [4] 1974, ist zusammenfassend z.B. bei O'Sullivan [10] beschrieben.

#### **1.1.3.1 Bisherige Modelle der Cellulose I**

1838 begann die Erforschung der Cellulose. Anselme Payen gelang es, eine Substanz aus grünen Pflanzen zu isolieren und ihre chemische Zusammensetzung zu ermitteln, die im Folgenden als native Cellulose bezeichnet wurde [14].

Den kristallinen Charakter der Cellulose erkannte Nägeli schon 1858 durch erste Untersuchungen mit einem Polarisationsmikroskop [15].

Die ersten beachtenswerten Analysen der Kristallstruktur der Cellulose I erfolgten in den 30er Jahren des letzten Jahrhunderts mittels röntgenkristallographischer Untersuchungen [3] [16]. Meyer und Mark entwickelten ein Modell, welches zum ersten Mal fast alle bis dahin gewonnenen Erkenntnisse in sich vereinen konnte.

Das Modell beschreibt eine monokline Elementarzelle (*unit cell*) mit zwei Cellulosesträngen pro Elementarzelle (Raumgruppe  $P2_1$ , Gitterkonstanten:  $a = 8,35 \text{ \AA}$ ,  $b = 10,3 \text{ \AA}$ ,  $c = 7,9 \text{ \AA}$ ,  $\beta = 96^\circ$ ) [3]. Eine Kette liegt in der Ecke der 002-Ebene, die andere Kette liegt mittig in der zentralen 002-Ebene. Die beiden Ketten sind bezüglich ihrer  $\beta$ -1,4-Verknüpfung entlang der Faserachse anti-parallel angeordnet. Die Ketten liegen außerdem um  $2,5 \text{ \AA}$  entlang der Faserachse zueinander versetzt und sind um  $180^\circ$  um die Faserachse gedreht (s. Abbildung 1.4).

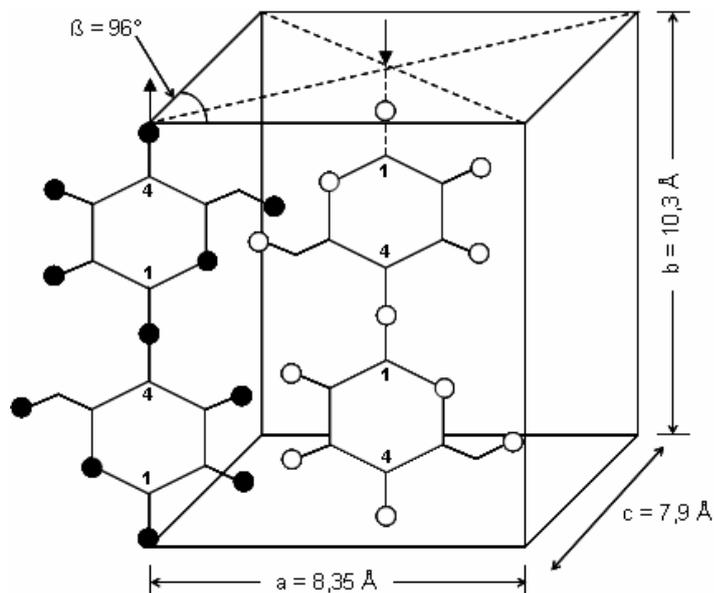


Abbildung 1.4: Schematische Darstellung der monoklinen Elementarzelle von Cellulose I (nach Meyer und Misch [3]).

Dieses Modell hatte lange Zeit Bestand, da die zur Strukturaufklärung benötigten Methoden nicht zur Verfügung standen. In den siebziger Jahren wurden dann detailliertere Strukturarbeiten veröffentlicht. Sie zeigten, dass das Modell von Meyer und Misch nur eine Näherung an das wahre Modell sein konnte.

1974 wurden neue Modelle sowohl von Gardner [2] als auch von Sarko [4] parallel veröffentlicht, die entgegen der Meinung von Meyer und Misch, eine parallele Anordnung der Celluloseketten innerhalb der Elementarzelle unabhängig voneinander bestätigten.

Bei der parallelen Anordnung der Ketten gibt es prinzipiell zwei verschiedene Möglichkeiten, die als parallel-up und parallel-down bezeichnet wurden. Unterschiede zwischen beiden Arbeitsgruppen ergaben sich durch die unterschiedliche Bezeichnung der intrasheet- und intersheet-Achse. Nach der heute allgemein verwendeten Definition von Gardner und Blackwell (a-Achse = intrasheet, b-Achse = intersheet) wird eine Anordnung als parallel-up bezeichnet, wenn alle Celluloseketten so angeordnet sind, dass die c-Koordinaten entlang der Strangachse für O5 größer als für C5 sind (s. Abbildung 1.5). Entsprechend entgegengesetzt ergibt sich die Definition für parallel-down.

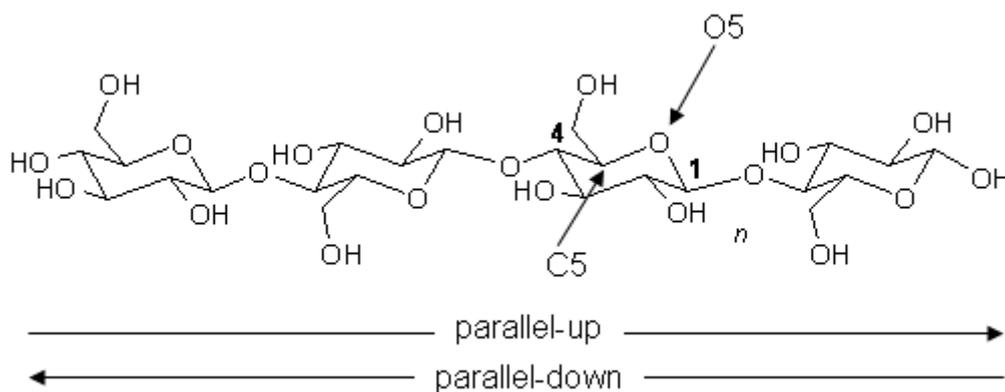


Abbildung 1.5: Schematische Darstellung der Definitionen von parallel-up und parallel-down innerhalb einer Elementarzelle nach [2]. Als parallel-up wird die Richtung des Stranges bezeichnet, in der die c-Koordinaten für O5 größer als für C5 sind.

Gardner und Blackwell untersuchten in Ihren Arbeiten Proben der Algen-Art *Valonia ventricosa*. Sie nahmen, wie auch Meyer und Misch als Raumgruppe eine  $P2_1$ -Symmetrie an, räumten aber gleichzeitig auch die Möglichkeit einer  $P1$ -Raumgruppe ein. Die Elementarzelle wird als monoklin angesehen. Begründet auf ihrer Definition erklärten sie ihr entwickeltes Modell für parallel-up. Die zweite Kette ist dabei um  $+c/4$  entlang der Faserachse in Relation zur ersten Kette verschoben. Die Position der Hydroxymethylgruppe ist nahe der  $tg$ -Konformation, so dass neben der intramolekularen Wasserstoffbrücke zwischen O5/HO3, eine weitere intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen O6/HO2

und eine intermolekulare Wasserstoffbrücke zwischen O3/HO6 benachbarter Stränge ausgebildet werden kann [2].

Sarko und Muggli untersuchten ebenfalls Material von *Valonia ventricosa* und fanden ebenfalls die besten Übereinstimmungen mit einem parallel-up Modell, allerdings im Vergleich zu Gardner und Blackwell mit vertauschten Achsen für a und b. Auch die Dimensionen der Gitterkonstanten sind sehr ähnlich und liegen innerhalb der Messunsicherheit, wenn man berücksichtigt, dass die Achsen vertauscht sind (s. Tabelle 1.1). Für die Hydroxymethylgruppe wurde ebenfalls die tg-Konformation angenommen, welches auch zum gleichen vorgeschlagenen Wasserstoffbrückenmuster führt, wie bei Gardner und Blackwell. Ein Unterschied besteht in der Annahme einer triklinen Anordnung der Ketten in der Elementarzelle.

Tabelle 1.1: Vergleich der Dimensionen für eine Elementarzelle zwischen den Modellen von Gardner/Blackwell [2] und Sarko/Muggli [4]. Die a-Achse und b-Achse sind in beiden Modellen jeweils vertauscht.

	<b>Modell von Gardner und Blackwell</b>	<b>Modell von Sarko und Muggli</b>
<b>a – Achse [Å]</b>	16,34 ± 0,06	15,76
<b>b – Achse [Å]</b>	15,72 ± 0,06	16,42
<b>c – Achse [Å]</b>	10,38 ± 0,06	10,34
<b>γ [°]</b>	97,0	96,6

Ein Vergleich der beiden Anordnungsmöglichkeiten der Ketten ergibt, dass die parallel-up Anordnung der Ketten gegenüber der parallel-down Anordnung bevorzugt ist, da sie energetisch günstiger ist und die Packung der Ketten dichter ist (Packungsenergie im Minimum, Packungsdichte im Kristall ist maximal) [17].

Die von beiden Arbeitsgruppen veröffentlichten Koordinaten zu den Modellen wurden häufig als Startkoordinaten für den Modellbau im Molecular Modeling-Bereich benutzt. Sie wurden im Laufe der Zeit mit verschiedenen Techniken immer weiter verfeinert, neuere Arbeiten klären Detailfragen dieser mittlerweile weitgehend akzeptierten Modelle.

### 1.1.3.2 Polymorphie der Cellulose I $\alpha$ und $\beta$

Mitte der 80er Jahre wurde der kristalline Dimorphismus der Cellulose I entdeckt. Bevor dieser aufgeklärt werden konnte, gab es nach 1974 zahlreiche Kontroversen über die Kristallstruktur. Die Literatur aus dieser Zeit ist überladen mit gegensätzlichen experimentellen Daten und Strukturmodellen. Erst 1984 konnte Cellulose I als Gemisch aus zwei unterschiedlichen Kristallmodifikationen, eingebettet in amorphe Bereiche, identifiziert werden [5] und dadurch die Widersprüche gelöst werden.

Anhand von Untersuchungen mittels solid-state  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie an nativer Cellulose konnten zwei verschiedene kristalline Formen innerhalb der Cellulose I entdeckt werden, die als Cellulose I $\alpha$  und Cellulose I $\beta$  bezeichnet wurden [5]. Der Gehalt an Cellulose I $\alpha$  in bakterieller Cellulose (*Acetobacter xylinum*) und in Algen (*Valonia ventricosa*) liegt bei 60-70%. Bei Baumwolle oder Bastfasern liegt er nur bei 30-40%, dafür enthalten diese Pflanzen umso mehr Cellulose I $\beta$  (60-70%) [5].

Generell lässt sich sagen, dass Cellulose I $\alpha$  vornehmlich in primitiven Organismen (z.B. Bakterien und Algen) vorkommt, während in höheren Pflanzen Cellulose I $\beta$  dominierend ist.

1991 konnten dann die Elementarzellen mittels Elektronenbeugungsuntersuchungen und Infrarot-Spektroskopie aufgeklärt werden [7] [6]. Untersucht wurden dafür Proben verschiedener Algen-arten, bakterieller Cellulose aus *Acetobacter xylinum* und Cellulose aus Meerestieren (*Salpa fusiformis* und *Halicynthia papillosa*) (*tunicin*).

Cellulose I $\alpha$  stellt eine meta-stabile Phase dar, mit einer triklinen Elementarzelle (Raumgruppe P1,  $a = 6,74 \text{ \AA}$ ,  $b = 5,93 \text{ \AA}$ ,  $c = 10,36 \text{ \AA}$ ,  $\alpha = 117^\circ$ ,  $\beta = 113^\circ$ ,  $\gamma = 81^\circ$ ; berechnete Dichte =  $1,582 \text{ g/cm}^3$ ), die nur eine Kette enthält.

Cellulose I $\beta$  besitzt zwei Stränge in einer monoklinen Elementarzelle (Raumgruppe P2 $_1$ ,  $a = 8,01 \text{ \AA}$ ,  $b = 8,17 \text{ \AA}$ ,  $c = 10,36 \text{ \AA}$ ,  $\gamma = 97,3^\circ$ , berechnete Dichte =  $1,599 \text{ g/cm}^3$ ). Beide Formen zeigen ein unterschiedliches Wasserstoffbrückenbindungsmuster. Für *Valonia ventricosa* wurde mittels  $^{13}\text{C}$ CP/MAS NMR Spektroskopie ein Gehalt an I $\alpha$ /I $\beta$  von 65%/35% gefunden.

In der Natur wurden keine Proben gefunden, die ausschließlich den I $\alpha$ -Form enthielten, es gibt aber einige Proben z.B. Ramie oder Tunicin, die nur I $\beta$  ent-

halten. Die meta-stabile  $\alpha$ -Form ist reaktiver als die  $\beta$ -Form und kann durch Erhitzen (z.B. in 0,1N Natriumhydroxid-Lösung bei 260°C) in die stabilere  $\beta$ -Form umgewandelt werden [7].

Tabelle 1.2: Zusammenfassung der wichtigsten Unterschiede zwischen den beiden Polymorphen der nativen Cellulose I

<u>Cellulose <math>\alpha</math></u>	<u>Cellulose <math>\beta</math></u>
Hauptbestandteil in primitiven Organismen, z.B. Bakterien	Hauptbestandteil in höheren Pflanzen, z.B. Ramie oder Baumwolle
metastabil, reaktiv	stabil, weniger reaktiv
triklin, 1 Kette pro Unit Cell	monoklin, 2 Ketten pro Unit Cell
kann zu $\beta$ konvertieren	

Es wird vermutet, dass die  $\alpha$ -Form während der Synthese neuer Fibrillen entsteht und sich dann nach und nach in die stabile  $\beta$ -Form umwandelt. Aus der Literatur ist bekannt, dass Mikrokristalline Cellulose hauptsächlich aus Cellulose  $\beta$  besteht [18] [19].

Neben Cellulose I gibt es weitere Cellulosemodifikationen (*Polymorphe*), die als Cellulose II, III (III<sub>1</sub>, III<sub>2</sub>) und IV (IV<sub>1</sub>, IV<sub>2</sub>) bezeichnet werden.

Bei nativer Cellulose, die in den Pflanzenzellen vorkommt, liegt sogenannte Cellulose I vor [5]. Bei der technischen Verarbeitung von natürlicher Cellulose erhält man dann, je nach Verarbeitungsart, unterschiedliche polymorphe Formen (s. Abbildung 1.6). Neben Cellulose I zählt Cellulose II zu den wichtigsten kristallinen Modifikationen.

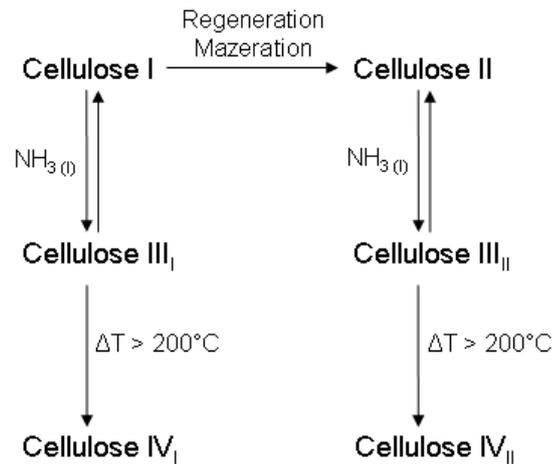


Abbildung 1.6: Zusammenhang zwischen den unterschiedlichen Cellulosemodifikationen (nach [10]).

Die Modifikationen Cellulose II, III und IV werden durch chemische oder thermische Behandlung von nativer Cellulose I hergestellt. Zur Gewinnung von Cellulose II kann Regeneration (Lösen von Cellulose I und anschließendes Ausfällen) oder Mazeration (Quellen nativer Cellulose in NaOH-Lösung, dann Auswaschen des Quellmittels) eingesetzt werden. Die Darstellung von Cellulose III erfolgt durch Zugabe von Ammoniaklösung oder Aminen bei Raumtemperatur. Anschließend wird das überschüssige Reagenz abgedampft oder ausgewaschen. Dieser Prozess ist reversibel. Je nach Ausgangsmaterial erhält man dabei Cellulose III<sub>I</sub> oder Cellulose III<sub>II</sub>. Durch Wärmebehandlung bilden sich die Modifikationen IV<sub>I</sub> und IV<sub>II</sub> [10].

Die molekulare Struktur ist bei allen Polymorphen gleich, Unterschiede gibt es allerdings in der Raumgruppe der Elementarzelle, der Anordnung der Ketten innerhalb der Elementarzelle, der Orientierung der Ketten zueinander (parallel oder antiparallel) und den daraus begründeten Unterschieden im Wasserstoffbrückenmuster.

Zusätzlich zu den Modifikationen der kristallinen Struktur enthalten alle Celluloseformen einen amorphen Anteil, der die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Cellulose ebenfalls beeinflusst. Die amorphen Bereiche werden durch verschiedene Reagenzien bevorzugt angegriffen und begünstigen so die Löslichkeit des Polymers. Durch Hydrolyse amorpher Bereiche mit Mineralsäure kann ein höherer Kristallinitätsgrad erreicht werden, welches zum Beispiel zur Darstellung von Mikrokristalliner Cellulose genutzt wird.

Generell herrscht in den amorphen Bereichen bei Polymeren, wie z.B. bei Cellulose, ein höherer Ordnungsgrad als bei vollkommen amorphen Stoffen, wo die Anordnung vollkommen zufällig ist. Deshalb werden diese Bereiche auch häufig als parakristallin bezeichnet. Röntgenstrukturuntersuchungen zeigen bei amorphen Polymeren nur wenige, völlig zufällig angeordnete Bereiche [20].

### 1.1.3.3 Kristallebenen und Miller Indices

Da in der Literatur die Indizierung der Achsen und Kristallebenen sehr uneinheitlich und unübersichtlich gehandhabt wird, soll kurz auf die Nomenklatur der Miller'schen Indizes eingegangen werden.

Die Kristallsysteme werden aufgrund der unterschiedlichen Winkel der Achsen und den Verhältnissen der Achsenlänge charakterisiert.

Beim triklinen Kristallsystem sind alle Achsen von unterschiedlicher Länge und ebenso sind alle Winkel ungleich zueinander. Beim monoklinen System sind alle Achsen von unterschiedlicher Länge, zwei der drei Achsenwinkel weisen aber einen rechten Winkel auf.

Während in der Arbeit von Meyer und Misch [3] die b-Achse als Faserachse dient ( $\beta < 90^\circ$ ), hat sich, seit der viel beachteten Arbeit von Gardner und Blackwell [2], in der Literatur die Wahl der c-Achse als Faserachse mehr oder weniger durchgesetzt. Dann wird der monokline Winkel  $\gamma > 90^\circ$ .

Um bestimmte Richtungen und Ebenen in einem Kristallgitter eindeutig bezeichnen zu können, werden die so genannten Miller Indices benutzt. Eine Ebene in einem Gitter wird durch drei ganze Zahlen indiziert. Auftauchende negative Zahlen werden durch einen Überstrich oder ein Minus dargestellt. Alle äquivalenten Ebenen bekommen die gleiche Indizierung. Es wird der Schnittpunkt der Ebene mit den Basisvektoren ermittelt und dann das erhaltene Zahlentripel reziprok dargestellt.

Die wichtigsten Ebenen im Cellulosekristalle, die für die Flächen einer Mikrofibrille relevant sind, werden in Abbildung 1.7 dargestellt.

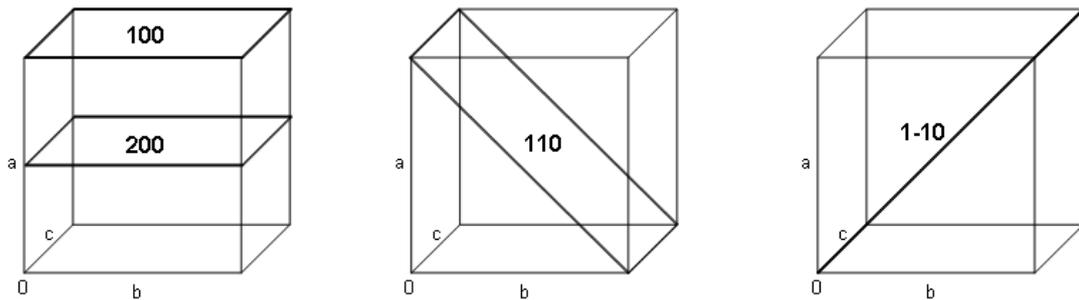


Abbildung 1.7: Schematische Darstellung der wichtigsten mit Miller Indices bezeichneten Ebenen im Cellulosekristall. Die Cellulosestränge setzen sich entlang der Achse c fort.

Die Orientierung der Celluloseketten in Relation zur Oberfläche der Mikrofibrillen und der Zellwand war lange Zeit Gegenstand der Diskussion.

Anhand von Röntgenstrukturuntersuchungen konnte geklärt werden, dass die Glucoseringe parallel zur 200-Ebene liegen. Die Ebene 110 bzw. 1-10 liegt parallel zur Plasmamembran der Zellwände und parallel zur Oberfläche der Mikrofibrillen, d.h. die hydrophilen Hydroxylgruppen der Stränge zeigen nach außen zur Oberfläche hin. Nach neueren Untersuchungen liegt die 1-10-Fläche parallel zur Plasmamembran [21]. Die Zwischenräume zwischen den Ketten der 110-Fläche betragen  $\sim 6,0 \text{ \AA}$ , die der 1-10-Fläche hingegen sind deutlich geringer mit  $\sim 5,4 \text{ \AA}$ , weshalb die 1-10-Flächen auch als die „engere“ Fläche bezeichnet wird [22]. Außerdem gibt es deutliche Unterschiede in der Anzahl der Hydroxylgruppen pro Fläche und damit auch in der Hydrophilie der verschiedenen Flächen (s. Tabelle 1.3).

Tabelle 1.3: Vergleich der hydrophilen Eigenschaften der verschiedenen Kristallebenen im Cellulosekristall [23].

Gitterebene	Fläche, die 1 OH-Gruppe enthält [ $\text{\AA}^2$ ]	Anzahl OH -Gruppen pro $10 \text{ \AA}^2$
200	14,3	0,70
1-10	10,3	0,97
110	9,3	1,08

## 1.1.4 Supermolekulare Struktur der Cellulose

### 1.1.4.1 Polymerisationsgrad

Die durchschnittliche Anzahl der Anhydroglucose-Einheiten (AGE)  $n$ , die über  $\beta$ -Glykosidbindungen in einer langen Cellulosekette miteinander verknüpft sind, wird als Polymerisationsgrad (*degree of polymerization* =  $DP$ ) bezeichnet (s. Abbildung 1.1). Dieser ist abhängig von der Herkunft und Vorbehandlung der Cellulose und gibt die Größe des gesamten Moleküls wieder. Bei der technischen Verarbeitung der Cellulosefasern wird die Kettenlänge meist drastisch verkürzt.

In nativen Cellulosen können mehr als 10.000 AGE miteinander verbunden sein, teilweise bis zu 15.000 AGE. Meist sind die genutzten Celluloseformen polydispers, d.h. es existiert eine Mischung aus verschiedenen Kettenlängen. Angegebene  $DP$ -Werte sollten dementsprechend nur als durchschnittliche Werte angesehen werden [1].

### 1.1.4.2 Fibrilläre Struktur

Die komplizierte übermolekulare Struktur der Cellulose in ihrer Vielzahl von Erscheinungsformen ist ein intensiv untersuchtes und bis heute ebenfalls kontrovers diskutiertes Forschungsgebiet. Für die Ausbildung einer übergeordneten Struktur sind Wasserstoffbrücken und zu einem großen Anteil auch van der Waals-Kräfte verantwortlich [24].

Die einzelnen Stränge zeigen aufgrund ihrer großen Möglichkeiten zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken über die drei freien Hydroxylgruppen eine hohe Tendenz, sich parallel aneinander zu lagern. Durch günstige van der Waals-Kräfte lagern sich die Celluloseschichten kohäsiv übereinander. So bilden sich dann die Basiselemente für eine supermolekulare Struktur aus, die je nach Modellvorstellung als Elementarfibrillen, Kristallite oder Mizellen bezeichnet werden.

Hochauflösende Untersuchungen mittels Elektronenmikroskopie führten zu Modellen, die die Existenz sog. Elementarfibrillen als Untereinheit der Mikrofibrille als einer elementaren Grundstruktureinheit der Cellulose annehmen [25] [26]. Die Polysaccharidketten lagern sich dabei zu Elementarfibrillen mit einem Durchmesser von 2 - 4 nm ( $\sim 36$  Celluloseketten [25] [27]) zusammen und einer

Länge von 100 nm [1]. Diese Elementarfibrillen aggregieren zu Mikrofibrillen, die in ungeordnete parakristalline Cellulose eingebettet sind [10] und bereits im Elektronenmikroskop erkennbar sind. Die Größenangaben differieren allerdings in der Literatur je nach Herkunft des Materials und der verwendeten Meßmethode (Mikrofibrillen Durchmesser 4 – 95nm) [28], weshalb die Existenz einer einheitlichen Elementarfibrille umstritten ist. Die Mikrofibrillen bilden dann Makrofibrillen (Durchmesser 60 – 400 nm [27]), die dann letztlich zur Bildung von Fasern führen.

Im Modell nach Kratky [29] gehen die Enden der Kristallite in aufgesplitterte amorphe Bereiche, die sog. Fransen, über. Aus diesen Vorstellungen entwickelte sich das über Jahre anerkannte Fransen-Fibrillenmodell [30] [31] (s. Abbildung 1.8). Hier formen die Celluloseketten kristalline Bereiche, die in amorphe parakristalline Bereiche eingebettet sind und in unregelmäßigen Abständen zueinander liegen. Aufgrund der Kettenlänge kann ein Strang auch durch mehrere kristalline Bereiche hindurch gehen, was den internen Zusammenhalt begründet (kristallin-amorphes Zweiphasen-Modell).

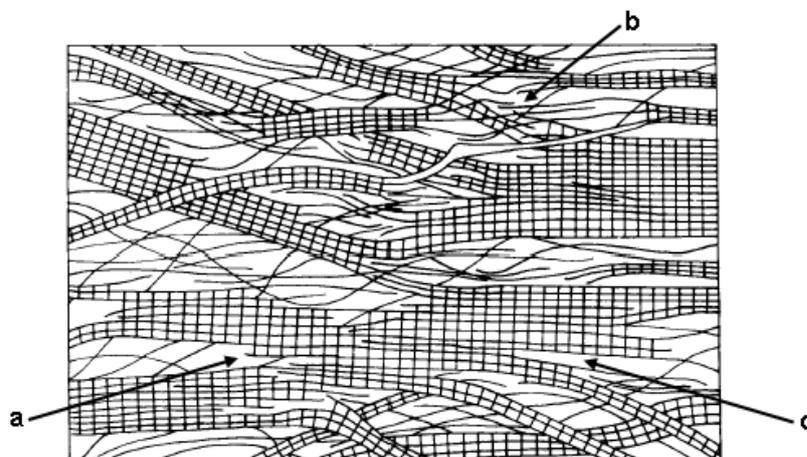


Abbildung 1.8: schematische Darstellung des Fransen-Fibrillen-Modell (nach [31]). Es gibt Stellen, wo neue kristalline Bereiche beginnen, da sich zwei Stränge so nahe kommen, dass sie kristallisieren können (a) und Stellen an denen kristalline Bereiche enden, da die Stränge alle auseinander laufen (b). Die Fibrillen können sich auch verzweigen (c).

Die Theorie des Strangmodells wurde zwischen 1940-1950 entwickelt und geht davon aus, dass eine Elementarfibrille durch die Assoziation mehrerer Cellulosestränge gebildet wird. In Anlehnung an diese Theorie wurde 1959 ein entsprechendes Modell veröffentlicht (s. Abbildung 1.9) [20]. Hierbei wechseln sich

kristalline und weniger geordnete Bereiche periodisch ab (*repeating lengths*). Die Bereiche sind jeweils in Querrichtung auf gleicher Höhe angeordnet [32]. Der Zusammenhalt der kristallinen Bereiche entsteht durch Stränge, die durch den ungeordneten Bereich hindurch in den nächsten kristallinen Bereich hineinragen.

Diese Art der Anordnung wird allerdings eher selten in natürlichen Fasern gefunden und tritt -wie man heute weiß- normalerweise bei synthetischen Polymeren [20] auf.

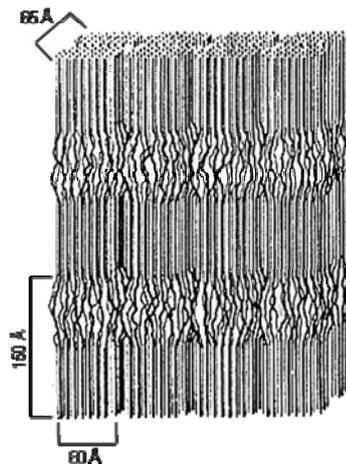


Abbildung 1.9: schematische Darstellung der Verteilung von kristallinen und amorphen Bereichen innerhalb der Elementarfibrille anhand des Strang-Modells (nach [32]).

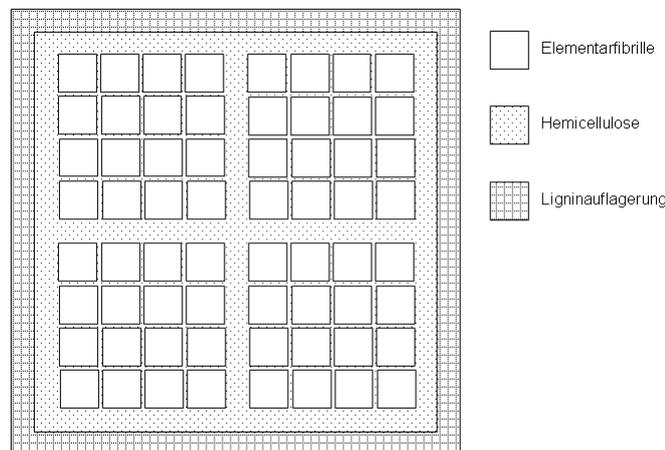


Abbildung 1.10: Querschnitt eines Modells der ultrastrukturellen Anordnung der Zellwandkomponenten (nach [33]). Eine Mikrofibrille bestehend aus 4 Fibrillen mit jeweils 16 Elementarfibrillen. Zwischen den Elementarfibrillen ist eine monomolekulare Schicht Hemicellulose eingelagert, zwischen den Fibrillen befinden sich dann mehrere Schichten Hemicellulose. Eine Ligninschicht umgibt das gesamte Mikrofibrillensystem.

Neuere Modelle gehen von separaten kristallinen und amorphen Bereichen aus, wobei ein kristalliner Kern, der aus Elementarfibrillen besteht, in einer amor-

phen oder parakristallinen Matrix aus Ketten liegt, die parallel in Richtung der Mikrofibrillenlänge liegen, ansonsten aber nicht geordnet sind. Hemicellulosen und andere Kittstoffe verbinden die amorphen und kristallinen Regionen [33] (s. Abbildung 1.10).

In der heutigen Zeit wird eindeutig dem Fransen-Fibrillen-Modell der Vorzug gegeben, da es die experimentellen Beobachtungen am besten wiedergibt.

### **1.1.5 Molecular Modeling Untersuchungen an Cellulose**

#### **1.1.5.1 Notwendige Einschränkungen und Annahmen**

Man kann verlässlich nur auf Röntgenstrukturanalysen von Einzelkristallen (Cellobiose) zugreifen, die als einzige Methode Bindungslängen, Bindungswinkel und charakteristische Geometrien liefert. Daher wurden in früheren Jahren zunächst nur kleinere Monosaccharide und Disaccharide, wie Glucose und Cellobiose berechnet und die Ringe festgehalten. Problematisch bei der Simulation sind häufig die hohe Flexibilität der Cellulose, die speziellen Torsionswinkel (der Hydroxymethylgruppe C4-C5-C6-O6 und O5-C5-C6-O6) und der Winkel der Glykosidbindung (O5-C1-O4-C4 und C1-O4-C4-C3), die geeignete Parameter des Kraftfeldes erfordern.

Mit steigender Computerkapazität wurden aus Cellobiose-Einheiten Celluloseketten konstruiert unter der Annahme, dass die strukturellen Voraussetzungen und die Geometrie (Glykosidbindungswinkel, Orientierung der Ketten, Konformation der Hydroxylgruppen, Parameter der Elementarzelle) von Monosacchariden die Gleiche ist, wie die von Polysacchariden. Die Verwendung von Glucose als Baustein für Cellulose erwies sich dabei als ungünstig, allgemein wird deshalb Cellobiose als Grundeinheit benutzt.

#### **1.1.5.2 Computergestützte Berechnungen von Cellulosemodellen**

Ein erster Versuch, die bis dahin gewonnenen Erkenntnisse über Cellulose in einem Computermodell umzusetzen, stammen aus dem Jahr 1968. Hier wurden kleine Cellulosemoleküle ( $\beta$ -D-Cellotetraose) am Computer gebaut [34].

1972 wurde der *linked-atom least-square* Ansatz, der zuvor schon für Polypeptide benutzt wurde, auf Polysaccharide übertragen [35]. Dabei werden Bindungslängen, Bindungswinkel und Torsionswinkel fixiert, kleinere Variationen sind aber erlaubt. Die Werte dafür sind abgeleitet aus Röntgenstrukturuntersu-

chungen. Die ersten Untersuchungen waren dann molekülmechanische Rechnungen kleiner Cellulosemoleküle.

Die ersten Untersuchungen mittels Molekül- und Brownschen Dynamikuntersuchungen von Cellulose wurden 1986 von Khalatur durchgeführt [36] an einer Cellulosekette mit acht Glucoseringen (168 Atome). Damit erreichte man einen größeren Freiheitsgrad der Modelle als bei Molekülmechaniksimulationen, allerdings war es trotzdem nötig, Bindungslängen und Bindungswinkel festzuhalten, um die Berechnungen möglich zu machen.

Von da an folgten weitere Berechnungen mit Cellulosemodellen in verschiedenen Kraftfeldern z.B. 1990 Methyl- $\beta$ -D-Glykoside in Wasser (GROMOS 87) [37], 1995 Modelle von Cellulose I $\alpha$  und I $\beta$  in Wasser (1512 bzw. 2016 Atome) (GROMOS 87) [13], 1995 Cellohexaose in Wasser (CHARMm) [38], 1995 16 Celluloseketten als Mikrofibrille (Dreiding-Kraftfeld) [39], 1996 18 Cellotetraosefragmente (GROMOS 87) [40], 2003 18 Cellotetraoseketten und amorphe Mikrostruktur mit 40 Glucoseresten (pcff-Kraftfeld) [41], 2005 Cellulose I $\beta$  mit 36 Ketten à 14 Glucoseeinheiten (CHARMm) [42].

Man kann gut erkennen, dass mit steigender Rechenleistung in den letzten Jahren auch die berechneten Modelle immer größer wurden.

## 1.2 Mikrokristalline Cellulose

### 1.2.1 Herstellung

Laut Monographie des Europäischen Arzneibuches ist Mikrokristalline Cellulose eine gereinigte, teilweise depolymerisierte Cellulose, die aus  $\alpha$ -Cellulose gewonnen wird. [43]. Zur Herstellung von  $\alpha$ -Cellulose wird mechanisch zerkleinertes Holz entweder in einem sauren Sulfit- oder in einem basischen Sulfidverfahren aufgeschlossen, um Lignin und Hemicellulosen zu entfernen. Dabei verlieren die Holzfasern ihren Zusammenhalt und es entsteht ein Brei aus Pflanzenfasern. Die anschließende Behandlung dieser aufgeschlossenen Rohcellulose mit 17,5%iger NaOH liefert den unlöslichen Anteil, die  $\alpha$ -Cellulose (DP > 2000), während die kürzerkettige  $\beta$ -Cellulose in Lösung geht.  $\beta$ -Cellulose kann anschließend durch Ansäuern wieder ausgefällt werden [27].

Die gemahlene  $\alpha$ -Cellulose entspricht der Monographie Cellulosepulver des Arzneibuches. Eine partielle saure Hydrolyse (15 min bei  $\sim 105^\circ\text{C}$  in 2,5M-HCl) liefert Mikrokristalline Cellulose. Dabei findet ein partieller Abbau der leichter angreifbaren amorphen Bereiche statt, wodurch ein relativ einheitlicher Polymerisationsgrad erreicht wird. Anschließend erfolgt noch eine mechanische Zerkleinerung und Sprühtrocknung.

### 1.2.2 Eigenschaften

Mikrokristalline Cellulose ist ein weißes, feines oder körniges Pulver, welches praktisch unlöslich in Wasser, organischen Lösungsmitteln und verdünnten Säuren oder NaOH-Lösungen ist [43]. Die Teilchengröße liegt zwischen 20 – 200  $\mu\text{m}$ . Im Gegensatz zu Cellulosepulver besitzt sie einen einheitlichen durchschnittlichen Polymerisationsgrad, einen höheren Kristallinitätsgrad (s. Tabelle 1.4) und zeichnet sich durch eine höhere Reinheit aus. Der Polymerisationsgrad darf laut Ph.Eur. höchstens bei 350 liegen.

Tabelle 1.4: Vergleich des durchschnittlichen Polymerisationsgrades und des Kristallinitätsindex von nativer Cellulose und Mikrokristalliner Cellulose [44]. Unter Kristallinitätsgrad versteht man den Quotienten aus kristallinem Anteil und der Summe von kristallinem und amorphem Anteil.

	<b>MCC</b>	<b>Cellulose</b>
<b>Durchschnittlicher Polymerisationsgrad</b>	160 - 300	600 - 1250
<b>Kristallinitätsindex</b>	$\sim 0,71$	0,23 – 0,36

Oral applizierte Mikrokristalline Cellulose wird bis zu einer Teilchengröße von 150  $\mu\text{m}$  resorbiert und kann im Blut nachgewiesen werden. Es ist aber gezeigt worden, dass keine Einflussnahme auf den Stoffwechsel stattfindet und daher keine toxischen Wirkungen zu erwarten sind [45].

### 1.2.3 Verwendung

Mikrokristalline Cellulose kommt in weiten Teilen der Pharmazeutischen Technologie zum Einsatz. Sie wird als Füllmittel für Tabletten und Kapseln, als Trockenbindemittel, als Zerfallsförderer und als Zusatz zu Dragiersuspensionen eingesetzt. Zusammen mit Carboxymethylcellulose dient sie als Suspensionsstabilisator.

Mikrokristalline Cellulose zeigt trotz ihres hohen kristallinen Anteils eine sehr gute Verpressbarkeit, so dass sie auch zur Direkttablettierung eingesetzt werden kann. Hierbei trägt die Mikrokristalline Cellulose vor allem durch ihre außergewöhnliche Plastizität zur Erzielung hoher Tablettenhärten bei [46]. Des Weiteren wird sie häufig als Hilfsstoff bei der Feuchtgranulation eingesetzt.

Je nach gewünschtem Einsatzgebiet sind verschiedene Produkte mit verschiedener Partikelgröße und verschiedenen Eigenschaften, z.B. mit verbesserter Fließfähigkeit (zur Direkttablettierung) oder vermindertem Wassergehalt (bei feuchtigkeitsempfindlichen Arzneistoffen), im Handel erhältlich [47].

Aufgrund ihrer hohen Wasserbindungskapazität kann sie pharmazeutisch auch als Laxans vom Typ der Quellstoffe eingesetzt werden. Häufig erfolgt auch die Gabe zusammen mit Methylcellulose als Quellstoff bei Reduktionsdiäten [44].

## **2    PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG**

---



Die Erforschung der Cellulose begann mit der ersten Isolierung und Identifizierung dieses Naturstoffes. Seitdem wird an Cellulose geforscht, mit dem Ziel die Struktur endgültig aufzuklären. Mit der Entwicklung immer neuer Analyseverfahren sind gerade auch in den letzten Jahrzehnten grundlegende neue Erkenntnisse gewonnen worden, so dass frühere Forschungsergebnisse nun neu betrachtet werden können.

Mit der Entwicklung von leistungsfähigen Computern kam eine neue Möglichkeit hinzu, die komplexen kristallographischen Daten zu analysieren. Die computergestützten Methoden, Programme und Kraftfelder wurden in den letzten drei Jahrzehnten enorm weiterentwickelt, so dass heute auch die Untersuchung an verschiedenen, immer größeren und sich an die realen Maße annähernden Modellen bezüglich energetischer Aspekte und physikalischer Eigenschaften möglich ist.

Mikrokristalline Cellulose wird weit verbreitet als Hilfsstoff zur Tablettierung und Feuchtgranulation in der Pharmazeutischen Technologie eingesetzt. Dabei kommt sie mit den verschiedenen eingesetzten Arzneistoffen, die in die Arzneiform eingearbeitet werden sollen, in Kontakt. Ziel dieser Arbeit ist es, das Verhalten der Mikrokristallinen Cellulose und die entstehenden Wechselwirkungen zu eingesetzten Wirkstoffen während der Feuchtgranulation und Pelletierung auf molekularer Ebene, mit Hilfe computergestützter Verfahren nachzuempfinden und zu untersuchen.

Zu diesem Zweck soll zunächst ein Modell der Mikrokristallinen Cellulose entwickelt werden, welches die verschiedenen vorkommenden Flächen bei Cellulose in einem einzigen Modell repräsentiert. Aufgrund der Komplexität und Größe der Cellulose stellt die Leistungsfähigkeit der Computer den limitierenden Faktor bei der Größe der Modelle dar. Im Laufe der Zeit stieg mit wachsender Rechenkapazität die berechenbare Größe der Systeme. Das zu erstellende Modell soll möglichst nahe an die Größe einer Elementarfibrille heranreichen.

Zusätzlich soll ein amorpher bzw. parakristalliner Teilbereich neben einem kristallinen Anteil modelliert werden, um Unterschiede zwischen beiden Teilen charakterisieren zu können. Mit Hilfe computergestützter Methoden soll dann das Verhalten von Mikrokristalliner Cellulose sowohl in wässriger Lösung, als

auch in organischen Lösungsmitteln untersucht werden. Dazu ist es ebenfalls nötig, ein Modell des zu verwendenden Lösungsmittels zu erstellen.

Im Anschluss daran soll das erstellte Modell der Mikrokristallinen Cellulose genutzt werden, um eine Simulation der Adsorption von Arzneistoffen an die unterschiedlichen Flächen im Modell durchzuführen. Dazu muss zunächst ein geeignetes Verfahren gefunden werden, um die Adsorption durchführen zu können. Danach sollen mögliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Arzneistoffen in den Wechselwirkungen mit der Mikrokristallinen Cellulose näher untersucht werden.

## **3   METHODEN**

---



## 3.1 Computergestützte Simulation von Kohlenhydraten

Molecular Modeling wird schon seit einiger Zeit benutzt, um Kohlenhydrate, darunter auch Cellulose, näher zu untersuchen. Die Anwendung von Computertechniken stellt eine gute Möglichkeit dar, kristallographische Daten zu verifizieren und die Verlässlichkeit der propagierten Modelle und ihre Eigenschaften zu überprüfen. Allerdings können Berechnungen nur mit Einschränkungen vorgenommen werden, da die Leistungsstärke der Computer und die Rechendauer/-kapazitäten beschränkt sind.

Polysaccharide sind große Polymere, die aus sehr vielen Atomen bestehen. Eine Elementarfibrille als relativ kleine Grundeinheit der Cellulose enthält schon viel mehr Atome, als zum jetzigen Zeitpunkt am Computer berechenbar sind. Dies bedeutet, dass nur kleine Abschnitte einer Elementarfibrille modelliert werden können.

### 3.1.1 Kraftfeldbasierte Methoden

Moleküldynamiksimulationen (MDS) mit Kraftfeldverfahren werden für Systeme aus einigen tausend Atomen eingesetzt. MDS dienen dazu, die Bewegung von Molekülen in einem System über die Zeit zu simulieren. Dabei werden zahlreiche Näherungen angewendet, die bei modernen Kraftfeldern einen guten Kompromiss zwischen Genauigkeit und Rechenaufwand darstellen. Allgemein bilden die Gesetze der klassischen Mechanik die Grundlage für die Energieberechnung in Kraftfeldern. Dabei müssen Terme geschaffen werden, die eine natürliche Bewegung der Atome über die Zeit produzieren können. Gleichgewichtswerte für Bindungslängen, Bindungswinkel und entsprechende Kraftkonstanten werden zur Berechnung der Potentialenergie benutzt und als Kraftfeldparameter bezeichnet. Jede Abweichung von den vorgegebenen Standardwerten resultiert in einer erhöhten Energie für das Molekül. Die produzierten Energiewerte lassen sich untereinander vergleichen, haben aber keinerlei physikalische Bedeutung.

Ziel für die Entwicklung eines Kraftfeldes ist es, möglichst viele verschiedene Klassen von Molekülen ausreichend gut zu beschreiben. Für eine detaillierte

Beschreibung der Kraftfeldtheorie wird auf weiterführende Literatur verwiesen [48] [49] [50].

### 3.1.2 Das OPLS-Kraftfeld

Kohlenhydrate sind besonders schwer zu modellieren bzw. in Kraftfeldern zu beschreiben aufgrund ihrer Größe, ihrer großen Dichte polarer Funktionen, ihrer hohen konformatorischen Flexibilität, den wenigen verfügbaren experimentellen Daten und dem Auftreten von unterschiedlichen elektrostatischen Effekten, die bei verschiedenen Konformationen auftreten, z.B. anomere, exo-anomere und gauche-Effekte [51]. In viele Kraftfelder, die zunächst hauptsächlich auf Proteine ausgelegt waren, wurden nach und nach Parameter speziell für Oligo- und Polysaccharide implementiert, um diese speziellen Eigenschaften von Kohlenhydraten ausreichend zu beschreiben (s. Kapitel 5.2).

Die durchgeführten Moleküldynamiksimulationen und Berechnungen in dieser Arbeit wurden größtenteils mit dem Software-Paket GROMACS in der Version 3.2.1 [52] [53], in Verbindung mit dem OPLS-Kraftfeld und einem darin eingebetteten Parameter-Set für Kohlenhydrate [54] [55] durchgeführt. Im Folgenden werden die Besonderheiten des Kraftfeldes kurz erläutert. Eine vollständige Liste der Kraftfeldterme findet sich im Anhang D.

Auf Grundlage des AMBER-Kraftfeldes [56] wurde zunächst ein OPLS-Parametersatz mit optimierten Potentialfunktionen für Proteine entwickelt [57]. Später entstand daraus ein eigenes all-atom Kraftfeld mit dem Hauptanliegen, thermodynamische Parameter von reinen organischen Lösungsmitteln exakter reproduzieren zu können (OPLS = *optimized potentials for liquid simulations*) [48]. Die Parameter für die Berechnung von Torsionsenergien wurden aus ab initio-Rechnungen gewonnen, die Parameter für elektrostatische und dispersive Wechselwirkungen stammen aus Monte Carlo Simulationen von 34 organischen Lösungsmitteln. Die Terme für die Berechnung von Energien für Bindungslängen und Bindungswinkel wurden aus dem AMBER-Kraftfeld entnommen [58].

Einer der wesentlichsten Unterschiede zum AMBER-Kraftfeld beruht auf der Übertragbarkeit der Ladungen für funktionelle Gruppen zwischen den Molekü-

len und der Benutzung von neutralen Untereinheiten. Damit ist es möglich, Ladungen auch für größere Moleküle ableiten zu können. Es werden auch Wechselwirkungen von nicht miteinander verbundenen Atomen berücksichtigt. Die Besonderheit in diesem Kraftfeld liegt darin, dass die elektrostatischen Wechselwirkungen skaliert werden müssen. Die 1,4-Interaktionen werden dabei um den Faktor 2 reduziert [59]. Für die Terme für Bindungslängen und Bindungswinkel wird ein harmonisches Potential angenommen, das Torsionspotential wird durch eine Fourier-Serie beschrieben, die in einem iterativen Prozess gewonnen wurde.

Dieses Kraftfeld wurde dann 1997 um einen Parametersatz für Kohlenhydrate erweitert [54]. Die Parameter wurden aus ab initio Berechnungen von Hexopyranosen gewonnen. Es sollten gerade die Torsionsparameter verbessert werden, die in vielen anderen Kraftfeldern von einfachen Alkoholen oder Ethern abgeleitet wurden und die Verhältnisse in Hexopyranosen nicht richtig widerspiegeln.

Eine weitere Verbesserung der Parameter wurde 2002 veröffentlicht [55]. Dabei wurde ein neuer Scaling-Faktor für 1,5- und für 1,6-Wechselwirkungen eingeführt (1,26 bzw. 1,22), was zur Verbesserung der Simulation von größeren Polysacchariden und der Simulation der Hydroxylgruppe führen sollte. Außerdem wurde das Parameterset für den Torsionswinkel O(Ether) – C – C – O(Ether) (O4-C4-C5-O5) modifiziert, da dieser Winkel bei Hexopyranosen oft problematisch ist.

### 3.1.3 Minimierungen und Moleküldynamiksimulationen

Zur Durchführung von Moleküldynamik (MD)- Simulationen benötigt man Strukturen mit niedriger Energie als Startgeometrien. Daher wird zunächst eine Strukturoptimierung durchgeführt, für die verschiedene Algorithmen zur Verfügung stehen. Sie sind von den gewählten Kraftfeldparametern abhängig und verbessern die Molekülgeometrien solange, bis die Energieänderung einen bestimmten Maximalwert nicht mehr überschreitet oder die zuvor festgelegte Schrittzahl erreicht ist. Verschiedene Algorithmen stehen zur Energieminimierung zur Verfügung, sie können eingeteilt werden in rein energiebasierte Methoden (z.B. Simplex Methode), Gradienten-basierte Methoden (z.B. Steepest-descent oder Conjugate gradient) und Methoden, die auch die zweite Ableitung

der Energiefunktion berechnen (z.B. Newton Raphson). Für eine detaillierte Beschreibung der verschiedenen Algorithmen wird auf weiterführende Literatur verwiesen [49] [50].

In der vorliegenden Arbeit wurden die Startstrukturen zunächst jeweils mit der *Steepest-descent* (SD)-Methode optimiert. Diese stellt eine einfache und effektive Methode zur initialen Optimierung von Strukturen mit hohem Energieinhalt dar und führt zu einer deutlichen Verbesserung von ungünstigen Konformationen. Hierbei bestimmt die erste Ableitung der Potentialenergie die Richtung für den nächsten Schritt. Die Atome werden dabei in die negative Richtung eines Energiegradienten bewegt, um ein nahes lokales Minimum zu finden. Jeder Schritt ist rechtwinklig zum Vorherigen. Dabei wird der Weg des größten Abfalls der potentiellen Energie gewählt. Durch die feste Schrittweite wird allerdings die endgültige Konvergenz gegen das Minimum verhindert.

Daher wurde im Anschluss die Conjugate Gradient (CG)-Methode verwendet, um eine weitere Optimierung durchzuführen. Hier erfolgen die Schritte nicht rechtwinklig zueinander und es werden auch die Informationen der vorhergehenden Suchrichtung berücksichtigt. Es ergibt sich eine bessere Konvergenz gegen das Minimum als bei der SD-Methode, welche den erhöhten Rechenaufwand rechtfertigt.

In MD-Simulationen können zeitabhängige Prozesse molekularer Systeme durch die numerische Lösung der Newtonschen Bewegungsgleichung beobachtet werden. Sie stellen eine leistungsfähige Methode zur detaillierten Betrachtung von biologischen Vorgängen auf atomarer Ebene [60] dar. Durch MD-Simulationen können Einblicke in die Stabilität und den energetischen konformationischen Freiraum des betrachteten Moleküls gewonnen werden. Man erhält u.a. eine Trajektorie, welche zeigt, wie sich die Positionen und Geschwindigkeiten der Atome im Verlauf der Simulation ändern [50]. Zur Integration der Bewegungsgleichung wurde der Leap-Frog-Algorithmus benutzt, bei dem jeweils abwechselnd die Geschwindigkeiten und Positionen der Atome berechnet werden [61].

### 3.1.3.1 Systemgröße und *periodic boundary conditions*

In einer Moleküldynamiksimulation ist nur eine begrenzte Anzahl von Atomen simulierbar, da sonst der Rechenaufwand zu groß wird. D.h. es sind nur kleine Ausschnitte einer „unendlich“ erscheinenden Elementarfibrille rechenbar.

Die Simulationsbox ist normalerweise von einem Vakuum umgeben und es treten so genannte Randeffekte auf, d.h. die Atome an den Rändern der Box verhalten sich anders als im Innern der Zelle. Das Modell müsste dementsprechend sehr groß sein, um die auftretenden Randeffekte minimieren und vernachlässigen zu können. Solch ein großes Cellulosemodell ist bisher nicht simulierbar.

Eine Alternative zur Verhinderung von Randeffekten stellt die Verwendung von *periodic boundary conditions* (PBC) dar. Dabei ist die Simulationsbox von allen Seiten mit Nachbildungen der eigentlichen Simulationszelle umgeben, so dass ein unendliches Gitter entsteht. Wenn ein Molekül die Box an einer Seite verlässt, wird es durch ein identisches Molekül an der anderen Seite der Box zur gleichen Zeit wieder ersetzt. Wechselwirkungen eines Moleküls mit seiner Umgebung werden sowohl in der Originalbox, als auch in den Nachbarzellen berechnet [50]. Alle Simulationen wurden unter *periodic boundary conditions* durchgeführt.

In der Literatur gibt es alternativ den Ansatz, eine Cellulosekette von unendlicher Länge zu simulieren und das Modell dabei möglichst klein zu halten [13] [62]. Dabei werden die Cellulose-Ketten der Originalbox kovalent mit den Ketten in den nachgebildeten Boxen unter *periodic boundary conditions* verknüpft.

### 3.1.3.2 Äußere Randbedingungen

Simulationen können mit unterschiedlichen Sets von Randbedingungen durchgeführt werden, welche letztendlich auch die Ergebnisse der Simulation beeinflussen können.

Normalerweise werden die Temperatur  $T$  und die Anzahl der Atome  $N$  konstant gehalten, während das Volumen  $V$  der Simulationsbox oder der externe Druck  $P$  wahlweise variiert oder konstant gehalten werden können. Dementsprechend werden die am häufigsten angewendeten Ensembles als  $NVT$  oder  $NPT$  bezeichnet [50].

Im klassischen *NVT*-Ensemble wird das Volumen der Elementarzelle konstant gehalten. Dadurch wird auch die Dichte im System konstant gehalten und kann nicht zur Überprüfung der Qualität des Kraftfeldes dienen. Fehler beim Kraftfeld und den Parametern könnten dadurch verschleiert werden. Aufgrund dessen wird das *NVT*-Ensemble häufig nur zu einer ersten Equilibrierung eines Systems eingesetzt.

Beim *NPT*-Ensemble wird der Druck  $P$  innerhalb der Box konstant gehalten. Um den Druck bei einem vordefinierten Wert zu halten, kann sich die Größe und Form der Simulationszelle entlang der Boxvektoren verändern. Die Box kann sich dabei ausdehnen und die Boxvektoren sind nicht fixiert, d.h. das System findet basierend auf dem Kraftfeld seine Größe selbst (Druckanpassung). Hierbei können dann strukturelle Parameter und die Dichte zur Validierung der Parameter des Kraftfeldes genutzt werden. Dieses Ensemble wird häufig in der Produktionsphase einer MD-Simulation eingesetzt. Normalerweise wird ein Druck von 1 bar als Referenzwert eingestellt.

Ein beispielhaftes Eingabe-File für eine MD-Simulation in GROMACS mit den verwendeten Parametern findet sich im Anhang F1.

### 3.1.4 Wassermodell

Die Simulationen des entwickelten Modells für Mikrokristalline Cellulose wurden in solvatisierter Umgebung durchgeführt. Es wurde außerdem ein Modell für Isopropanol erstellt, welches als organisches Lösungsmittel diente und in Kapitel 4.4 näher beschrieben wird.

Für die Berechnungen in wässriger Umgebung wurde das SPC-Wassermodell zur Beschreibung der Wassermoleküle benutzt. Bei Energieminimierungen wurde die Flexibilität des Wassers mit einbezogen.

Das *simple point charge* (SPC)-Wassermodell [63] ist eines der am häufigsten verwendeten Wassermodelle, gerade in Kombination mit dem GROMACS-Programmpaket. Es repräsentiert ein rigides Wassermolekül mit drei Wechselwirkungsseiten. Auf den Wasserstoffatomen liegen positive Ladungen ( $q = +0,41 e$ ) und das Sauerstoffatom bekommt eine negative Ladung ( $q = -0,82 e$ ). Die Bindungslängen werden bei einem Referenzwert festgehalten. Formal wird auch eine fiktive Bindung zwischen den beiden Wasserstoffatomen gesetzt, so

dass der Bindungswinkel H-O-H ebenfalls konstant gehalten wird. Für weiterführende Informationen s. [50] [64].

Der SETTLE-Algorithmus wird benutzt, um die Positionen und Geschwindigkeiten so zurück zu setzen, dass die von der Zeit unabhängigen (*holonomen*) Zwangsbedingungen eingehalten werden. Diese Einschränkung ist notwendig, um ein System mit einer großen Anzahl an Wassermolekülen berechnen zu können, da sonst die Berechnung der Wassermoleküle viel Zeit in Anspruch nehmen würde [64].

## 3.2 Adsorption von Arzneistoffen

Im zweiten Teil der Arbeit soll eine Adsorption von Arzneistoffen an verschiedenen Flächen des Modells durchgeführt und analysiert werden. Für die Monte-Carlo-Simulationen wurde das *Sorption*-Modul des Programmpaketes *Materials Studio* der Firma Accelrys in der Version 4.2.0.0, in Verbindung mit dem pcff30-Kraftfeld [65-67] verwendet. Hier ist auch die Programm-Routine *Locate Task* für die simulierte Abkühlung (*Simulated Annealing*) enthalten. Für die Analyse der Simulationen wurde das *Forcite*-Modul eingesetzt.

### 3.2.1 Das pcff-Kraftfeld

Das verwendete pcff30-Kraftfeld basiert auf dem CFF91-Kraftfeld (*consistent force field*) [68], welches im Programm Discover 2.9.7/95.0/3.0.0 (1995) [69] und Insight II 95.0 (1995) [70] der Firma Accelrys implementiert ist.

Das CFF91-Kraftfeld ist ein klassisches Valenzkraftfeld der zweiten Generation und wurde parametrisiert mit Hilfe einer großen Zahl experimenteller Daten für organische Verbindungen (H, C, N, O, S, P, Hal, Alkalimetalle, biologisch wichtige Kationen). Es zeichnet sich durch eine hohe Genauigkeit bei der Berechnung organischer Moleküle, durch Einbeziehung von Kreuztermen zur Kopplung interner Koordinaten in die Gleichung für die Berechnung der potentiellen Gesamtenergie, aus. Es werden folgende Kreuzterme verwendet für: Bindung – Bindung (Term 5), Winkel – Winkel (Term 6), Bindung – Winkel (Term 7), Bindung – Torsion (Term 8), Winkel – Torsion (Term 9) und Torsion – angrenzender Winkel (Term 10). Zum Beispiel wird bei der Berechnung von Schwin-

gungsspektren die Bindungslänge größer, wenn sich der Bindungswinkel verkleinert, um 1,3-Wechselwirkungen zu reduzieren.

Beim pcff-Kraftfeld (*polymer consistent force field*) wurden Parameter, auf Grundlage von quantenchemischen ab initio-Berechnungen zur Behandlung von Polymeren, Metallen und Zeolithen eingeführt. Validiert wurde es dann für Carbonate, Carbamate, Phosphazene, Urethane, Siloxane, Silane und Harnstoffderivate [65-67, 71]. Es gibt eine breite Anwendbarkeit dieses Kraftfeldes für Polycarbonate, Polysaccharide, Nukleinsäuren, Lipide, Zeolithe und Metalle, da es z.B. mittlerweile ca. 30 verschiedene Kraftfeldtypen für das Element Kohlenstoff enthält, je nach Bindungspartner, Hybridisierung oder speziellen Strukturelementen (aromatische und nichtaromatische Ringe, Acetale, Carboxylate und Aminosäuren). Eine vollständige Liste der Kraftfeldterme findet sich im Anhang E.

### 3.2.2 Monte-Carlo-Simulationen

Monte-Carlo-Methoden stellen eine Alternative zur Bestimmung struktureller und thermodynamischer Eigenschaften dar, wenn man nicht an den dynamischen Eigenschaften, d.h. an der Zeitabhängigkeit einer Variablen, interessiert ist, sondern nur an einer zeitlich gemittelten Größe. Dabei lassen sich exakte Temperaturen und Drücke besser simulieren als bei Moleküldynamiksimulationen.

Grundlage dieser Methode ist die Verwendung von „Zufallszahlen“ (daher auch der Name Monte Carlo). Das wesentliche Merkmal ist die Abtastung des Adsorptionsraumes durch Erzeugung einer großen Anzahl von Anordnungen der Moleküle (*sampling*) und die Berechnung der jeweiligen thermodynamischen Eigenschaften jeder Anordnung (z.B. der Potentialenergie). Dies geschieht durch die Berechnung multidimensionaler Integrale über die Freiheitsgrade, multipliziert mit der Anzahl der Partikel im System. Die thermodynamischen Eigenschaften der untersuchten Systeme ergeben sich dann durch Mittelwertbildung aus den gewählten Systemanordnungen.

Eine Anwendungsmöglichkeit der Monte-Carlo-Simulation ist die Studie von Adsorptionsprozessen bzw. der Transport von Gas- oder Flüssigkeitsgemischen durch poröse Feststoffe. Die Simulation kann über verschiedene Tem-

peratur- und Druckbereiche durchgeführt werden, so dass auch Adsorptionsisothermen berechnet werden können.

Im Gegensatz zu MD-Simulationen entfällt bei Monte-Carlo (MC)-Simulationen der Beitrag einer Bewegung. Die Potentialenergie jeder Konfiguration wird nur aufgrund der Position der Atome berechnet. Dies ist möglich, da für Monte-Carlo-Simulationen gezeigt werden kann, dass die Potentialenergiefunktion nur abhängig von der Atomposition und nicht von der Bewegung der Atome ist. Eine genaue Erläuterung der mathematischen Zusammenhänge findet sich in der weiterführenden Literatur [50] [72] [73].

Man benötigt im Unterschied zu MD-Simulationen keinen durchgehenden Konfigurationsraum, d.h. das System kann in einem Schritt direkt zu entfernt liegenden Regionen im Phasenraum springen. Der Vorteil besteht darin, dass bei der Einstellung des Gleichgewichtes eventuell vorhandene Energiebarrieren leichter überwunden und Energieminima gefunden werden können, die durch hohe Energiebarrieren voneinander getrennt sind.

Modelle, die groß genug für die Untersuchung von Phaseneigenschaften sind, besitzen sehr viele Freiheitsgrade und eine hohe Anzahl von Partikeln, d.h. es wäre theoretisch eine sehr große Anzahl an Positionen möglich. Würden nun die Molekülpositionen völlig zufällig erzeugt (*simple sampling*), würde man viele nicht-physikalische Anordnungen mit sehr hoher Energie erhalten. Man benötigt aber hauptsächlich die energetisch günstigen Positionen, die physikalisch in der flüssigen oder festen Phase tatsächlich vorkommen können.

Um dies zu erreichen, wird die *Importance Sampling*-Methode verwendet. Dabei werden die Positionen der Moleküle mit einer Wahrscheinlichkeit, proportional zum Boltzmann-Faktor erzeugt (Boltzmann-Verteilung). Es werden bei dieser Methode nur wichtige Bereiche des Adsorptionsraumes durchsucht und solche Positionen, die einen hohen Beitrag zum Integral liefern, effektiver erzeugt, als bei einer systematischen Methode [74]. Dieses Verfahren dient dazu, sich effektiver der Lösung zu nähern, indem vor allem energetisch günstige Anordnungen erzeugt werden. Das *Importance Sampling* ist das dem Metropolis-Algorithmus zugrunde liegende Prinzip [50].

### 3.2.3 Metropolis-Algorithmus

Der Metropolis-Algorithmus wurde 1953 entwickelt [75] und ist die weitverbreiteste Methode bei Monte-Carlo-Simulationen.

In jedem Schritt wird eine neue Anordnung im Sinne einer Markov-Kette erzeugt. Dabei ist Voraussetzung, dass die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer neuen Position nur von der Vorherigen abhängt, weiter zurückliegende Zustände spielen keine Rolle. Der Übergang von der alten Anordnung zur Neuen muss vom Algorithmus mit der gleichen Wahrscheinlichkeit erzeugt werden, wie der umgekehrte Übergang (*detailed balance = mikroskopische Reversibilität*). Die zugrunde liegende stochastische Matrix  $\alpha$ , welche die Wahrscheinlichkeit für die Auswahl von zwei Anordnungen, zwischen denen ein Übergang stattfindet, angibt [76], ist dann symmetrisch.

Die Auswahl des Schrittes und die Auswahl des Moleküls erfolgt dabei zufällig. Im Anschluss an den Schritt wird entschieden, ob dieser akzeptiert oder verworfen wird. (Kriterien dafür s. S. 39).

Im kanonischen NVT-Ensemble mit festgelegter Teilchenzahl, Volumen und Temperatur sind zur Erzeugung einer neuen Position bei rigiden Molekülen prinzipiell zunächst zwei verschiedene Schritte möglich: ein Molekül kann mit seinem Schwerpunkt verschoben werden oder um den Schwerpunkt rotiert werden.

Es ist auch möglich im großkanonischen Ensemble, Systeme mit unterschiedlicher Teilchenzahl zu erzeugen, z.B. bei der Berechnung von Adsorptionsisothermen. Dann kommt zu dem Rotations- oder Translationsschritt noch ein Einsetz- oder ein Entfernen-Schritt hinzu. Auch hier erfolgt die Auswahl zufällig. Im Gleichgewichtszustand muss dann die Zahl der Einsetz- und Entfernenschritte gleich groß sein (*detailed balance*). Bei sehr dicht besetzten Systemen versagt die Metropolis-Methode jedoch, da die Einsetz- und Entfernenschritte zu häufig abgelehnt werden. Es kommt beim Einfügen häufig zu einer Überlappung mit schon vorhandenen Molekülen, die energetisch ungünstig ist. Je größer das einzusetzende Molekül ist, desto unwahrscheinlicher ist es, eine „passende Lücke“ zu finden. Beim Entfernen gibt es in dichten Systemen meist sehr viele attraktive Wechselwirkungen mit benachbarten Molekülen, die überwunden

werden müssen. Eine Lösung bietet hier die Configurational-bias-Methode (s. Kapitel 3.2.4).

Die jeweilige Schrittgröße wird durch einen Wert  $\delta_{\max}$  (*maximum displacement*) begrenzt. Dieser Wert sollte größenordnungsmäßig so gewählt werden, dass 50% der Schritte akzeptiert werden und muss je nach System unterschiedlich gewählt werden, um den Adsorptionsraum möglichst effizient abtasten zu können. Ist dieser Wert zu klein, werden zwar viele Schritte akzeptiert, aber die Positionen sind sehr ähnlich und der Adsorptionsraum wird nur sehr langsam abgetastet. Ist die Schrittgröße zu groß, werden nur wenige neue Anordnungen akzeptiert, da sich die Atome oft überlappen.

Im Programm Materials Studio besteht die Möglichkeit,  $\delta_{\max}$  automatisch zu optimieren, welche in den durchgeführten Rechnungen auch verwendet wurde. Hierbei wird während der MC-Simulation die Akzeptanzrate berechnet. Diese ist definiert als Quotient der Anzahl der akzeptierten neuen Anordnungen und der Anzahl der erzeugten neuen Anordnungen. Ist die Akzeptanzrate hoch, muss  $\delta_{\max}$  langsam erhöht werden und andersherum. Die optimale Akzeptanzrate sollte gewährleisten, in möglichst wenigen Schritten viele statistisch unkorrelierte Positionen zu erhalten, die für das Ensemble repräsentativ sind und eine gute Abschätzung der Mittelwerte erlauben.

Der Metropolis-Algorithmus besteht aus mehreren Teilschritten und sei am Beispiel des Schrittes  $K(s) \rightarrow K(s+1)$  der Markovschen-Kette (Verfahren zur Erzeugung zufällig verteilter Anordnungen) erklärt:

- Aus einer Anordnung  $K(s)=K_k$  wird eine neue Anordnung  $K_l$  erzeugt, wobei der Übergang zu jedem der in dem betrachteten Schritt erreichbaren Endzustände die gleiche Wahrscheinlichkeit besitzt.
- Die Energieänderung  $\Delta E = E(K_l) - E(K_k)$ , die sich bei der Realisierung des in a) ausgewählten Überganges  $k \rightarrow l$  ergeben würde, wird berechnet.
- Eine Akzeptanzwahrscheinlichkeit  $P$  wird nach der Vorschrift

$$P = \min\{1, e^{-\Delta E / k_B T}\} \text{ bestimmt.}$$

$$(k_B = \text{Boltzmann-Faktor} = 1,381 \times 10^{-23} \text{ J x K}^{-1}).$$

- d) Eine Zahl  $R$  wird im Zufallsgenerator erzeugt, wobei die zufällige Größe im Intervall  $[0,1]$  gleichverteilt ist.
- e) Wenn  $R \leq P$  gilt, wird die neue Anordnung aus a) ( $K_i$ ) akzeptiert, andernfalls die alte Anordnung ( $K_k$ ) beibehalten.

Vereinfacht kann man also sagen, dass nur Anordnungen mit einer hohen Wahrscheinlichkeit des Auftretens entsprechend einer Boltzmann-Verteilung erzeugt werden und die erzeugten Anordnungen dann alle als gleich wahrscheinlich betrachtet werden. Eine Verschiebung zu immer energetisch günstigeren Positionen erfolgt allein durch Setzen eines Akzeptanzkriteriums  $P$ , welches energetisch günstigere Anordnungen immer akzeptiert, energetisch ungünstigere nur mit einer Wahrscheinlichkeit proportional zum Boltzmann-Faktor. Da die Boltzmann-gewichtete Energiedifferenz mit einer möglichst gleichverteilten Zufallszahl verglichen wird, werden auch vereinzelt Positionen hoher Energie akzeptiert. Daher erhält man ein Ensemble von Anordnungen mit einer Energieverteilung entsprechend einer Boltzmann-Verteilung.

Man beginnt zuerst mit einem leeren System, das zunächst beladen wird. Nach einer Equilibrierungsphase, in der das System einen Gleichgewichtszustand erreicht, folgt eine Produktionsphase, aus der die Anordnungen für die Bildung von Mittelwerten verwendet werden. Eine genauere Darstellung der mathematischen Terme finden sich in der weiterführenden Literatur [50] [72] [73] [77].

Die Anzahl, der bei einer Simulation erzeugten Anordnungen, ist im Vergleich zur Anzahl aller möglichen Systemzustände sehr klein. Es besteht daher immer das praktische Problem der Beurteilung, ob die generierten Anordnungen auch tatsächlich repräsentativ für das thermodynamische Verhalten des Systems sind und alle wesentlichen Bereiche des Adsorptionsraumes erfasst werden. Daher ist immer eine sorgfältige Überprüfung der Simulationsergebnisse nötig.

### 3.2.4 Configurational-bias-Algorithmus

Die Configurational-bias-Methode [78] stellt gerade bei flexiblen kettenförmigen Molekülen mit vielen internen Freiheitsgraden oder auch bei sehr dicht besetzten Systemen eine effizientere Möglichkeit der Simulation dar.

Neben den Rotations- und Translationsschritten sind hier auch Änderungen der Konformation möglich. Die zu berücksichtigenden Torsionswinkel müssen als frei drehbare Bindungen vor der Simulation festgelegt werden, alle anderen Bindungen und Winkel werden als rigide betrachtet. Das Molekül wird dann in Segmente unterteilt, so dass jede rotierbare Bindung zwei Segmente miteinander verknüpft. Eines dieser Segmente wird als „Kopf-Segment“ ausgewählt und dieses dann in einer vorgegebenen Anzahl an Versuchen um verschiedene Winkel rotiert, um neue Konformationen zu erzeugen.

Die wesentliche Beschleunigung beim Durchlaufen des Adsorptionsraumes besteht darin, dass generell nur Anordnungen betrachtet werden, die zum Integral einen nennenswerten Beitrag leisten. Dabei wird so vorgegangen, dass energetisch ungünstige Anordnungen/Konformationen durch ein Auswahlverfahren, das Rosenbluth-Verfahren [79], schon bei der Erzeugung der neuen Anordnungen vermieden werden, im Gegensatz zum Metropolis-Algorithmus, wo die Erzeugung der neuen Anordnungen nicht gerichtet ist und alle Anordnungen gleichwahrscheinlich sind. Beim Metropolis-Algorithmus wird eine Beeinflussung hin zu energetisch günstigeren Anordnungen allein durch das Akzeptanzkriterium erreicht.

Bei der Configurational-bias-Methode wird auch ein Molekül zufällig als Startpunkt ausgewählt und der durchzuführende Schritt wird ebenfalls zufällig ausgewählt. Dann wird eine bestimmte Anzahl an Vorschlägen für neue Anordnungen generiert, für die jeweils ein Wichtungsfaktor  $W$  berechnet wird. Die neue Anordnung wird dann entsprechend ihrer Wahrscheinlichkeit proportional zum Wichtungsfaktor erzeugt (keine Boltzmann-Verteilung).

Dies führt zu einer unsymmetrischen Matrix  $\alpha$  und die Übergangswahrscheinlichkeiten für die entstehenden Anordnungen werden so verändert, dass die detaillierte Bilanz (*detailed balance*) (s. Kapitel 3.2.3) nicht mehr gewährleistet ist. Für die Erhaltung der detaillierten Bilanz muss das Akzeptanzkriterium verändert werden. Durch die Verwendung des Rosenbluth-Faktors [79] lassen sich die korrekten Übergangswahrscheinlichkeiten  $W(K \rightarrow K')$  für die Erzeugung der neuen Anordnungen  $K'$  und in umgekehrter Richtung  $W(K' \rightarrow K)$  berechnen. Die Ermittlung der Akzeptierungswahrscheinlichkeit  $P_{K \rightarrow K'}$  beim Übergang  $K \rightarrow K'$  erfolgt gemäß

$P_{K \rightarrow K'} = \min \left[ 1, \frac{W_{K' \rightarrow K}}{W_{K \rightarrow K'}} e^{-(E' - E)/k_B T} \right]$ . Es wird eine Zufallszahl  $R$  erzeugt und die

neue Anordnung wird akzeptiert, wenn  $P_{K \rightarrow K'} \geq R$  ist.

Weitere Informationen zur Configurational bias-Methode und mathematischen Zusammenhängen finden sich in der weiterführenden Literatur [50, 72, 73].

### 3.2.5 Simulated Annealing

Die Grundidee des Simulated Annealing ist die Nachbildung eines Aufheiz- und anschließend kontrollierten Abkühlungsprozesses, der in der Metallurgie angewendet wird, um stabile und hochgeordnete Kristalle mit wenigen Defektstellen zu finden. Nach Erhitzen des Metalls sorgt die langsame stufenweise Abkühlung dafür, dass die Moleküle ausreichend Zeit haben, sich zu ordnen und stabile Kristalle zu bilden. Dadurch wird ein energieärmerer Zustand nahe dem Optimum erreicht. Der perfekte Kristall entspricht dem globalen Minimum der freien Energie.

Die Methode wurde unabhängig voneinander zuerst 1983 von Kirkpatrick [80] und dann 1985 von Černý [81] beschrieben. Es ist ein metaheuristisches Optimierungsverfahren, welches für viele Optimierungsprobleme eingesetzt werden kann (z.B. *Problem des Handlungsreisenden*= *Traveling Salesman Problem*), zur Findung einer guten Näherung an das Globale Minimum, besonders wenn die hohe Komplexität, das vollständige Ausprobieren aller Möglichkeiten und einfache mathematische Verfahren ausschließt [82]. In der vorliegenden Arbeit wird die Methode des *Simulated Annealing* eingesetzt, um die Adsorption von Arzneistoffen an die unterschiedlichen Cellulose-Oberflächen nachzuempfinden und möglichst günstige Adsorptionsstellen nahe dem Globalen Minimum zu finden.

Die Grundlage des Simulated Annealing ist der Metropolis-Algorithmus. Er liefert eine iterative Verbesserung der Energie, wobei auch kontrollierte „Bergaufschritte“ auf der Energiehyperfläche (s. Abbildung 3.1) zugelassen werden. In jedem Schritt wird eine neue Anordnung der Moleküle im System erzeugt, entsprechend der Schritttypen, die bei den beiden Algorithmen beschrieben sind (s. Kapitel 3.2.3 u. 3.2.4). Von jeder neuen Anordnung wird die Energie berechnet und entsprechend dem Akzeptanzkriterium entschieden, ob die neue Struktur angenommen oder verworfen wird. Damit wird sichergestellt, dass ein loka-

les Optimum auf der Suche nach einer besseren Lösung wieder verlassen werden kann.

Schritte, die zu einer energetisch günstigeren Anordnung führen, werden – wie oben beschrieben – immer akzeptiert, Energieverschlechterungen nur, wenn sie im Vergleich mit einer Zufallszahl akzeptiert werden. Der Vergleich mit einer Zufallszahl ist wichtig, um die Simulation in die richtige Richtung – hin zu energetisch günstigeren Strukturen - zu steuern. Ansonsten würde die Simulation zu lange in Regionen von geringer Bedeutung verbringen.

Außerdem wird gewährleistet, dass die Akzeptanzwahrscheinlichkeit

$P ( P = \min\{1, e^{-\Delta E/k_B T}\} )$  eines Schrittes, hin zu einer energetisch ungünstigeren Position, mit abnehmender Temperatur sinkt. D.h. bei hohen Temperaturen werden auch höhere ungünstige Energiedifferenzen akzeptiert, da der Faktor, der mit einer Zufallszahl verglichen wird, dann nahe 1 ist und die erzeugte Zufallszahl wahrscheinlich kleiner ist. Bei sinkender Temperatur werden nur noch immer kleiner werdende Energieverschlechterungen akzeptiert und es überwiegen dann „Abwärtsschritte“ auf der Energiehyperfläche. Prinzipiell treten also Veränderungen, die große Änderungen der Energie mit sich bringen, bei hohen Temperaturen auf, kleinere Änderungen treten bei niedrigeren Temperaturen auf, so dass die Anordnung bei sinkender Temperatur immer mehr verfeinert wird, was als eine adaptierte Form des *divide-and-conquer-Prinzips* bezeichnet wird. Dieses Prinzip steht für die Zerlegung eines Problems in kleinere Unterprobleme, die im Mittel leichter zu lösen sind.

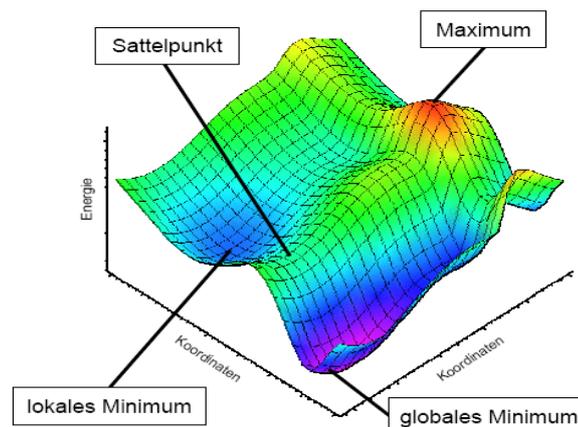


Abbildung 3.1: schematische Darstellung einer Energiehyperfläche. Sie gibt den gesamten Adsorptionsraum eines Systems wieder. Minima sind stabile Anordnungen, während Maxima instabile Zustände darstellen. Sattelpunkte sind Übergangszustände bzw. Energiebarrieren zwischen zwei Minima, die im Metropolis-Algorithmus überwunden werden können, um in ein noch besseres lokales Minimum zu gelangen.

Eine weitere wichtige Eigenschaft des Simulated Annealing ist das langsame stufenweise Abkühlen des Systems. Zunächst wird auf eine hohe Temperatur erhitzt, um eine zufällige Anordnung im System herzustellen. Hierbei ist es wichtig, die Aufheiztemperatur hoch genug zu wählen, um aus lokalen Minima herauszukommen (s. Abbildung 3.1). Während der hohen Temperaturen ist das System in der Lage, einen großen Bereich des Konfigurationsraumes unter Vernachlässigung kleinerer Energieminima zu durchlaufen. Beim Abkühlen schreitet das System dann immer weiter „bergab“ auf der Energiehyperfläche, hin zu immer enger werdenden energetisch günstigen Regionen. Zu schnelles Abkühlen hingegen führt zum „Steckenbleiben“ in einem lokalen Minimum und damit zu einem Einfrieren in einem metastabilen Zustand (Schockgefrieren). Die Abkühlrate muss so klein sein, dass das System bei jeder Temperatur ein thermodynamisches Gleichgewicht erreicht. Dafür stehen viele verschiedene Abkühlstrategien zur Verfügung, die je nach System unterschiedlich gut geeignet sein können (s. Abbildung 3.2).

Aufgrund dessen muss das Annealing-Protokoll vorsichtig gewählt werden und muss speziell für jedes System in einem *trial-and-error*-Verfahren ermittelt werden, da die Anforderungen sehr unterschiedlich und sehr komplex sein können („Applying the simulated annealing method is more an art than a science“) [82].

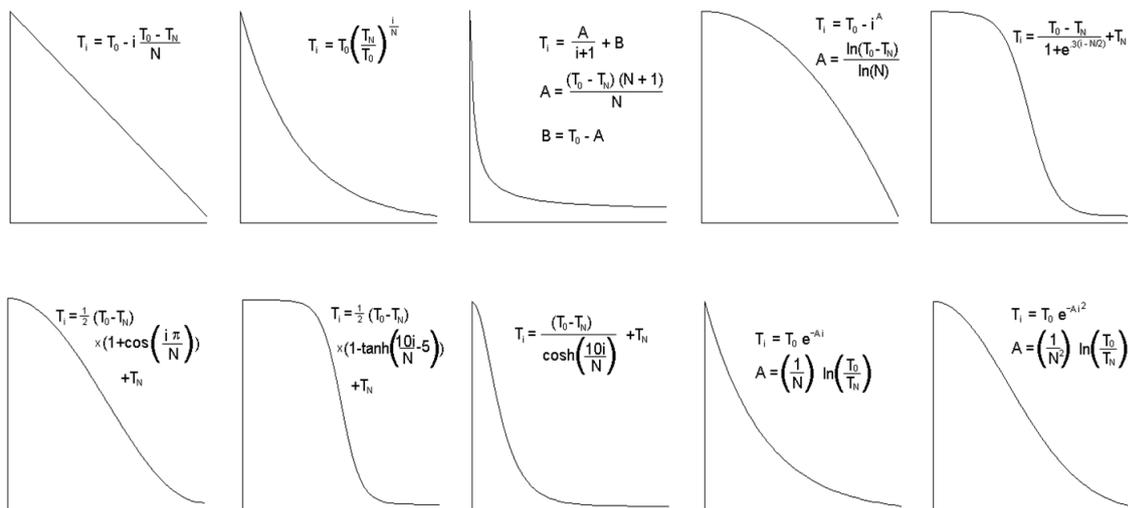


Abbildung 3.2: Zusammenstellung verschiedener Abkühlstrategien nach [83].

Um zu gewährleisten, dass das Globale Minimum gefunden wird, wäre theoretisch eine unendliche Zahl an Temperaturschritten und Zyklen notwendig, bei dem das System jedes Mal in einen equilibrierten Zustand gelangt, was vom erforderlichen Rechenaufwand her nicht möglich ist.

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass ein Annealing-Protokoll ein genügend hohes Aufheizen gewährleisten muss, so dass zu Beginn jedes Zyklus eine zufällige Anordnung hergestellt wird. Außerdem muss das Abkühlen langsam genug ablaufen, um nicht in einem metastabilen Zustand gefangen zu bleiben, und es müssen ausreichend viele Zyklen gerechnet werden, um statistisch möglichst nahe an ein globales Minimum heranzureichen. Begrenzt wird das ganze durch den möglichen Rechenaufwand. Je größer das System und je mehr zu adsorbierende Moleküle, desto aufwendiger wird die Rechnung.

Um die schwierige Wahl eines Annealing-Protokolls einfacher und effektiver zu gestalten, besteht im Programm Materials Studio die Möglichkeit, die Temperatur automatisch kontrollieren zu lassen. Dabei werden die Kontrollparameter für den Temperaturzyklus während der Aufheizphase (Kalibrierungsphase) automatisch angepasst, da je nach Energieniveau des letzten lokalen Minimums am Ende des vorhergehenden Temperaturzyklus unterschiedlich viel Energie zugeführt werden muss, um zu einer zufälligen Startposition zu gelangen.

Um die Erzeugung der neuen Anordnungen effektiver zu gestalten, kann alternativ auch der Configuration-bias-Algorithmus (s. 3.2.4), in Verbindung mit dem Simulated Annealing-Verfahren verwendet werden, was bei den Simulationen in der vorliegenden Arbeit auch geschehen ist. Eine Zusammenfassung des angewendeten Annealing-Protokolls und Erläuterungen zu einzelnen Funktionen des Programms finden sich im Anhang F2.



## **4 DURCHFÜHRUNG UND ERGEBNISSE**

---



## 4.1 Vorgehensweise

In der vorliegenden Arbeit sollten Untersuchungen zur Adsorption von Arzneistoffen an Mikrokristalliner Cellulose durchgeführt werden. Um die Adsorption simulieren zu können, wird ein dreidimensionales Computermodell benötigt. Da bisher keine Kristallstruktur für Cellulose zur Verfügung steht (s. Kapitel 1.1.3), kann man nur auf Kristallstrukturen für die kleinste Wiederholungseinheit  $\beta$ -Cellobiose zurückgreifen bzw. auf Koordinaten für den kleinsten möglichen Kristall (Elementarzelle), die sich im Laufe der Jahre aus verschiedenen Untersuchungsmethoden entwickelt haben. Zunächst wurde nach geeigneten Koordinaten gesucht für die Elementarzelle und im Anschluss daran wurde daraus ein Modell entwickelt, welches alle wichtigen Flächen einer Mikrofibrille repräsentieren sollte. Um näher an die wahren Verhältnisse in Mikrokristalliner Cellulose zu gelangen, sollte ein amorpher Teilbereich eingefügt und das Modell möglichst groß gestaltet werden.

Im nächsten Schritt sollte das Modell in eine Lösungsumgebung eingebettet werden, um die Verhältnisse bei der Pelletierung von Mikrokristalliner Cellulose nachzustellen und das Verhalten des Modells in dieser Umgebung untersuchen zu können. Da neben Wasser auch der Einfluss von Isopropanol untersucht werden sollte, wurde zusätzlich ein Lösungsmittelmodell für Isopropanol erstellt und validiert. Im Anschluss daran wurden die Wechselwirkungsmöglichkeiten der einzelnen Flächen des Cellulose-Modells näher betrachtet.

Am Ende wurden die Modelle aus der wässrigen Umgebung für eine Adsorption von Arzneistoffen herangezogen. Dabei musste zunächst eine geeignete Methode gefunden werden. Im Anschluss wurden die Ergebnisse aus diesen Simulationen näher beleuchtet und miteinander verglichen.

## 4.2 Erstellen eines Modells für Mikrokristalline Cellulose

### 4.2.1 Koordinaten

Wie zuvor erwähnt, existiert bis zum heutigen Zeitpunkt keine vollständig aufgeklärte Kristallstruktur von Cellulose, obwohl dieses Polymer schon seit langer Zeit erforscht wird. Ein weiteres Problem besteht darin, dass es aufgrund der

Polymorphie der Cellulose mehrere verschiedene Kristallmodifikationen gibt. Aus der Literatur ist bekannt, dass Mikrokristalline Cellulose aus Cellulose I $\beta$  besteht [18] [19], daher wurde nach geeigneten Koordinaten für Cellulose I $\beta$  gesucht.

Zunächst wurde die Cambridge Structural Database (CSD) [84] [85] mit dem Programm ConQuest 1.6 [86] [87] nach Kristallstrukturen von Cellobiose oder größeren Cellulose-Fragmenten durchsucht. Die CSD stellt eine umfassende Sammlung von Kristallstrukturdaten dar und umfasst 396 698 verschiedene Strukturen. Insgesamt beinhaltet sie dreidimensionale Koordinaten für 30 572 792 Atome (Stand: 01.01.2008).

Bei dieser Suche findet sich eine Kristallstruktur von  $\beta$ -D-Cellotetraose-Hemihydrat (CSD-Code: ZILTUJ [88]). Hierbei sind die Ketten allerdings antiparallel angeordnet und repräsentieren somit Cellulose II. Desweiteren findet sich eine Struktur für  $\beta$ -D-Cellobiose aus dem Jahr 1966 (CSD-Code CELLOB01 [89]). Diese stammt aus der Zeit vor der Entdeckung der beiden Polymorphe von Cellulose I [5] und hat außerdem die Hydroxymethylgruppe in gauche-trans-Konformation angeordnet, so dass sich die intrachenare OH<sub>2</sub>-O<sub>6</sub> Wasserstoffbrücke nicht ausbilden kann. Heutzutage wird aber von einer trans-gauche-Konformation ausgegangen, wo sich die Wasserstoffbrücke ausbilden kann. Daher wurden diese Koordinaten nicht verwendet. Ansonsten finden sich nur noch Cellulosefragmente in der CSD, die mit Enzymen im Komplex auskristallisiert wurden und ähnliche Probleme zeigen.

Nachfolgend wurde die Literatur nach Koordinaten für Cellulose durchsucht (s. Kapitel 1.1.3). Die zu Beginn der vorliegenden Arbeit neuesten Koordinaten stammen aus dem Jahr 2003 [90], die im Folgenden zur Erstellung eines Modell für Mikrokristalline Cellulose verwendet wurden. In der Arbeit von Sternberg wurden Kristallkoordinaten von Cellulose I $\beta$  [91] [2] mittels des COSMOS-Krauffeldes [92, 93] verfeinert. Als Zielfunktion dienen dabei chemische Verlagerungen (*chemical shifts*) bei der Festphasen <sup>13</sup>C CP MAS NMR Spektroskopie. Als experimentelle Daten für die Verfeinerung wurden <sup>13</sup>C CP MAS NMR-Untersuchungen von Erata genutzt [94].

Die monokline Elementarzelle hat die Ausmaße  $a = 8,12 \text{ \AA}$ ,  $b = 10,39 \text{ \AA}$ ,  $c = 8,02 \text{ \AA}$ ,  $\beta = 82,5^\circ$ . Die Faserachse ist hier die  $b$ -Achse. Die Hydroxymethylgruppen liegen in der  $tg$ -Konformation vor. Die Kette in der Mitte (*center chain*) ist um  $+\frac{1}{4}$  der Länge der  $b$ -Achse zur Kette in der Ecke der Elementarzelle (*corner chain*) verschoben. Die *corner chain* ist um einen Winkel  $\epsilon$  um die Faserachse gedreht, in Relation zur *center chain* (s. Abbildung 4.1).

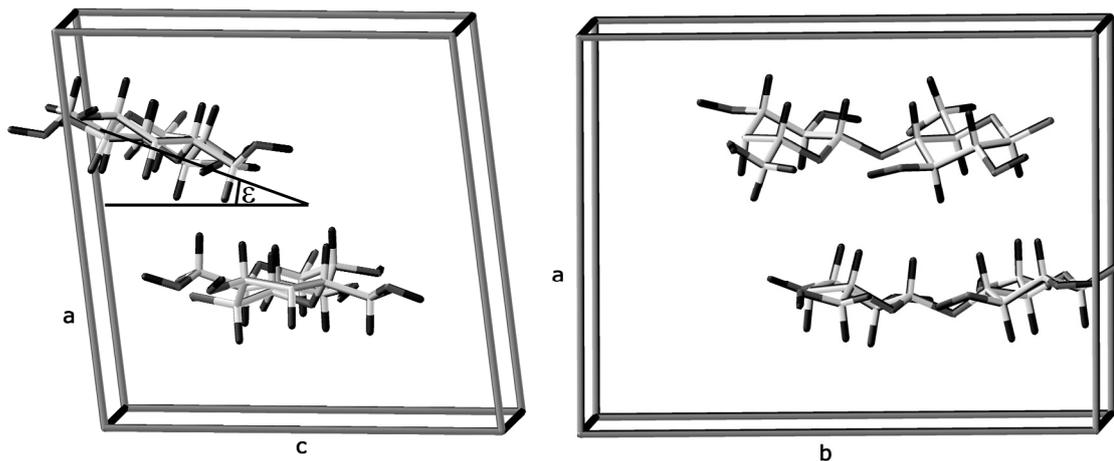


Abbildung 4.1: Darstellung einer Elementarzelle mit 2 Celluloseketten mit Blick auf die  $ac$ -Ebene (links) und die  $ab$ -Ebene (rechts). Die Cellulosestränge setzen sich entlang der  $b$ -Achse fort. Eine Kette liegt in der Mitte und wird als *center chain* bezeichnet. Eine zweite Kette in der oberen linken Ecke wird als *corner chain* bezeichnet. Die *corner chain* ist um den Winkel  $\epsilon$  in Relation zur *center chain* gedreht.

Die Konformation der beiden Ketten in der monoklinen Elementarzelle ist identisch, die Differenz liegt nur in der Orientierung der Glucoseringe der *corner* und der *center chain* entlang der Faserachsen. Dadurch entstehen Unterschiede zwischen den Schichten, die jeweils nur *corner* bzw. *center chains* enthalten [17]. Dies ist ein in der Literatur häufig berichtetes Phänomen [2, 4, 13, 17, 95]. Die prinzipiell auftretenden Wasserstoffbrücken sind zwar identisch, allerdings ist die Häufigkeit der einzelnen Wasserstoffbrücken unterschiedlich und sie sind in der *even*-Schicht erheblich stärker als in der *odd*-Schicht. Die *odd*-Schicht zeigt Ähnlichkeit mit dem Cellulose  $\alpha$ -Polymorph und hat einen höheren Energiegehalt als die *even*-Schicht ( $8,2 \text{ kJ/mol} \times \text{Cellobiose}$ ). Allerdings sind die *odd*-Schichten durch günstige interplanare Coulomb-Energien stabiler als die *even*-Schichten [13].

Aabloo und French, die das MM3-Kraftfeld zur Berechnung von Potential-Energien benutzten, fanden ebenfalls, dass die *even*-Schicht energetisch gün-

stiger ist als die odd-Schicht ist, der Energieunterschied beträgt hier aber in Abhängigkeit vom Kraftfeld nur 3,77 kJ/mol x Cellobiose [95]. Die Konformation der Hydroxymethylgruppe liegt in der even-Schicht streng in der tg-Konformation vor, während in der odd-Schicht auch Variationen nach gg und gt vorkommen, diese aber mit einer deutlich geringeren Wahrscheinlichkeit [13].

#### 4.2.2 Mikrofibrillenmodell

Aus den gewählten Koordinaten für den kleinsten möglichen Kristall sollte nun ein Cellulose-Modell erstellt werden, welches alle an einer Mikrofibrille vorkommenden Flächen (200, 110, 1-10 [96]) enthalten sollte, damit dort später eine Adsorption durchgeführt werden kann. Da Cellulose unlöslich in Wasser ist [43], muss das Modell groß genug sein, um Auflösungserscheinungen an den Enden, die bei zu geringer Kettenlänge auftreten, zurückzudrängen.

Zur Bezeichnung der Flächen werden die in der Literatur üblichen Miller Indices verwendet (s. Kapitel 1.1.3.3). Eine Mikrofibrille besitzt mit der 200-Fläche eine überwiegend hydrophobe Fläche, in der die Glucoseringe liegen. Hier sind die Stränge über Wasserstoffbrücken miteinander verbunden und bilden eine Schicht aus. Aus diesen Schichten ist das gesamte Modell aufgebaut.

Die schrägen Flächen werden je nach Richtung als 110 und 1-10-Fläche bezeichnet. Der Kettenabstand in der 110-Fläche beträgt 6,1 Å, in der 1-10-Fläche 5,4 Å [22]. Dementsprechend wird die 110-Fläche als „weit“, die 1-10-Fläche als „eng“ bezeichnet. Diese beiden Flächen werden auch als parallel zur Kristallfläche angesehen [23] [97], wobei nach neueren Untersuchungen, der 1-10-Fläche der Vorzug gegeben wird [21]. Als senkrechte Flächen gibt es zusätzlich noch die 010-Flächen.

Um all diese Flächen in einem Modell repräsentieren zu können, wurde das Modell, wie in Abbildung 4.2 zu sehen, durch Vervielfältigung der Elementarzelle mit dem Programm SYBYL [98] aufgebaut. Es besteht aus 69 Glucosesträngen mit einer Kettenlänge von 20 Glucoseeinheiten pro Strang. Die Länge von 20 Glucoseeinheiten war nötig, da sich bei einer Kettenlänge von 10 Glucoseeinheiten ein deutliches Auseinanderweichen der Glucosemoleküle an den Strangenden bei Moleküldynamiksimulationen in Wasser zeigte. Prinzipiell gilt,

je länger die Celluloseketten sind, desto weniger Auflösung zeigt sich an den Enden.

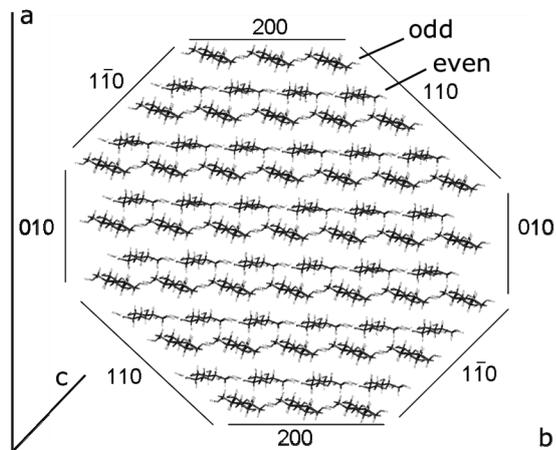


Abbildung 4.2: Bezeichnung der Flächen einer Mikrofibrille beruhend auf der Verwendung von Miller Indices. Die Bezeichnung der Flächen richtet sich nach der Ausrichtung des Modells im Koordinatensystem. Zur besseren Vergleichbarkeit der Modelle wurde das gebaute Modell entsprechend der Konvention mit der c-Achse als Faserachse ausgerichtet, da in den verwendeten Koordinaten zunächst die b-Achse als Faserachse diente. Die a-Achse ist die intersheet-Achse, die b-Achse ist die intrasheet-Achse.

Da in den verwendeten Startkoordinaten ein unterschiedlicher Winkel zwischen den Glucoseringen der corner und der center chain bestand, zeigen sich nun im, durch Vervielfältigung der unit cell erzeugten Modell, zwei alternierende Schichten, die im Folgenden als „odd“ und als „even“ bezeichnet werden.

### 4.2.3 Reduziertes Modell

Das erstellte Mikrofibrillenmodell zeigt zwar den Vorteil, dass alle Flächen in einem Modell repräsentiert werden können und nicht, wie bei anderen Gruppen, in verschiedene Modelle aufgeteilt werden mussten [42] [99]. Allerdings ist es, aufgrund der Kettenlänge von 20 Glucoseeinheiten pro Strang, zu groß, um Moleküldynamiksimulationen durchzuführen. Da zusätzlich zum Cellulosemodell noch Wassermoleküle in die Simulationsbox gegeben werden, übersteigt die Anzahl der Atome die Rechenkapazität. Aus diesem Grund sollte eine sinnvolle Verkleinerung für das Modell gefunden werden, so dass trotzdem alle Flächen enthalten sind.

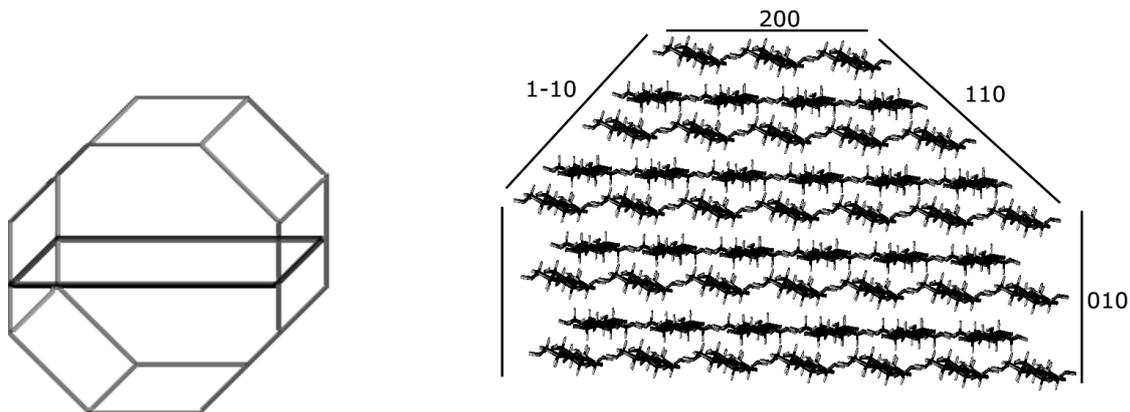


Abbildung 4.3: schematische Darstellung des Mikrofibrillenmodells (links). Eine Halbierung des Modells (schwarze Ebene) teilt das Modell in zwei identische Hälften. Im entstehenden reduzierten Modell sind alle wichtigen Flächen für eine spätere Adsorption vorhanden (rechts).

Die Idee bestand darin, dass Mikrofibrillen-Modell zu halbieren, da alle Flächen theoretisch doppelt vorkommen (s. Abbildung 4.3). Dies würde eine große Einsparung in der Atomzahl ergeben und gleichzeitig gewährleisten, dass alle notwendigen Flächen noch im Modell vorhanden sind. Untersuchungen der Wechselwirkungsmöglichkeiten mit dem Programm GRID [100] unter Verwendung einer Wasserprobe und einer Methylprobe wurden zur Überprüfung der Duplizität der Flächen durchgeführt (s. Abbildung 4.4). Die Untersuchung ergab, dass jeweils die gegenüberliegenden Flächen im Mikrofibrillen-Modell identisch sind und durch die Verkleinerung des Modells auf die obere Hälfte, keine Flächen und Wechselwirkungsmöglichkeiten verloren gehen. Dementsprechend wurde im Folgenden nur mit dem reduzierten Modell weitergearbeitet, welches aus 51 Strängen in 9 Schichten besteht, mit einer Stranglänge von jeweils 20 Glucose-Einheiten.

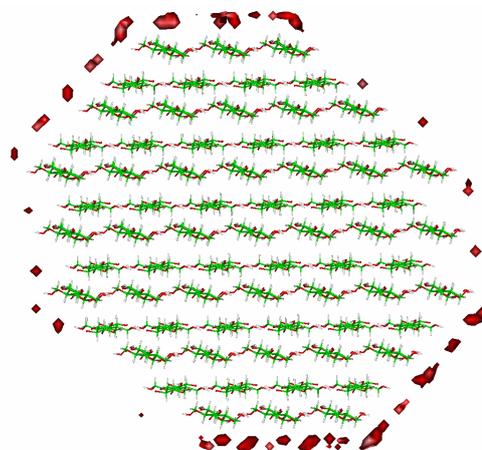


Abbildung 4.4: Darstellung des Mikrofibrillenmodells mit Wechselwirkungsfeldern berechnet mit dem Programm GRID [100]. Die dargestellten roten Felder zeigen eine günstige Wechselwirkungsenergie mit einer Methylprobe von -2,2 kcal/mol.

### 4.2.3.1 Bau von zwei Varianten (odd und even)

Das Modell sollte die Kettenanordnung und die Ausmaße der Darstellung in Abbildung 4.3 rechts haben. Da das System aus zwei alternierende Schichten aufgebaut ist, die energetisch unterschiedlich sind und auch in ihrem Wasserstoffbrückenmuster Unterschiede zeigen, musste zunächst geklärt werden, welche der beiden Schichten (odd oder even) die oberste Schicht bilden sollte. Dementsprechend wurden zwei verschiedene Modelle erstellt, einmal mit einer schrägen Schicht beginnend und einmal mit einer geraden Schicht beginnend (s. Abbildung 4.5).

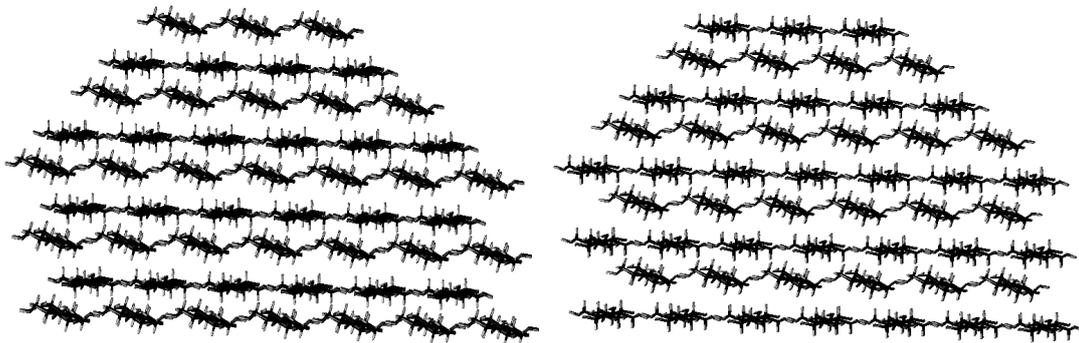


Abbildung 4.5: Vergleich der beiden erstellten Modelle. Links stellt die odd-Schicht die 200-Fläche im Modell dar (modell odd), rechts ist eine even-Schicht die oberste Schicht (modell even). Dann folgen jeweils alternierend weitere Schichten. Ansonsten bestehen beide Modelle aus einer identischen Kettenzahl und Kettenlänge.

### 4.2.3.2 Vergleich der Modelle in MD-Simulationen mit Wasser

In Moleküldynamiksimulationen in wässriger Umgebung sollte nun untersucht werden, welches der beiden Modelle energetisch günstiger und damit auch stabiler ist. Um die Dynamiksimulationen durchführen zu können, musste zunächst ein geeignetes Kraftfeld ausgewählt werden und das Modell für dieses Kraftfeld parametrisiert werden.

Als Kraftfeld wurde das OPLS-Kraftfeld mit einem speziellen Parametersatz für Kohlenhydrate [54, 55] ausgewählt (s. Kapitel 3.1.2), da sich das zuvor getestete ffgmx-Kraftfeld als ungeeignet erwies und Rechnungen nicht zu Ende geführt werden konnten. Für das OPLS-Kraftfeld wurden zunächst einzelne Glucose-Bausteine für das linke und das rechte Strangende sowie ein Baustein für die mittleren Glucosemoleküle parametrisiert, aus denen sich dann ein Strang mit einer Länge von 20 Glucosemolekülen zusammensetzen ließ. Es wurden alle Atome, auch die Wasserstoffatome, berücksichtigt (*all atom*). Die Bausteine

enthalten Angaben über zu verwendende Atomtypen des Kraftfeldes, Bindungen, Winkel, Ladungen und Ladungsgruppen. Danach wurde dieser zusammengesetzte Strang als kleinste Einheit definiert und daraus das gesamte Modell mit 51 Strängen aufgebaut. Die Koordinaten dafür wurden aus dem aus den Startkoordinaten erstellten Modell im Programm SYBYL übernommen.

Die Modelle wurden mit der Faserachse entlang der c-Achse in einer Simulationsbox ( $a= 45 \text{ \AA}$ ,  $b= 80 \text{ \AA}$ ,  $c= 108 \text{ \AA}$ ) so platziert, dass die unterste Schicht 9 bündig am Boden der Box liegt (s. Abbildung 4.6). Es besteht aber ausreichend Kontakt zu Wasser, da unterhalb der Schicht 9 das Wasser der nächsten Simulationsbox unter *periodic boundary conditions* (s. Kapitel 3.1.3) liegt. An den Seiten und oben beträgt der Abstand zur Boxwand jeweils  $16 \text{ \AA}$  bzw.  $12 \text{ \AA}$ . Am C1- und C4-Ende wurde der Abstand zur Boxwand möglichst gering gehalten, um das Eindringen von Wasser am C1- und C4-Ende einzuschränken. Durch eindringendes Wasser an den Faserenden werden Wasserstoffbrücken zwischen den Cellulosesträngen aufgelöst und die Stränge verlieren einen Teil ihres Zusammenhalts (Auflösung). Das Ziel ist in diesem Fall aber, einen möglichst hohen kristallinen Anteil zu behalten. Auf eine Verknüpfung der Stränge in die nächste Simulationsbox, um einen unendlichen Strang zu simulieren, wurde verzichtet.

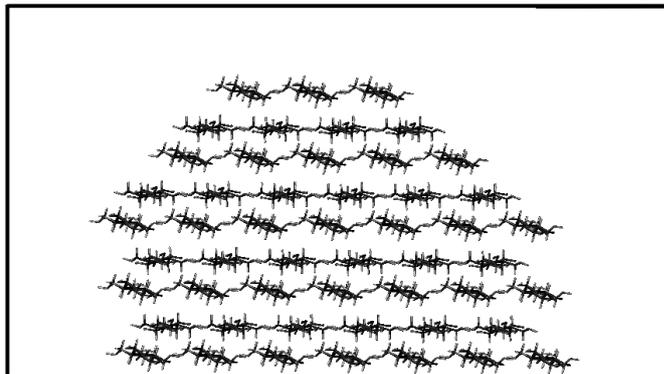


Abbildung 4.6: Platzierung der Modelle in der Simulationsbox am Beispiel des Modell odd. Die Stränge setzen sich nach hinten entlang der Achse c fort. Die Abstände zur Boxwand links und rechts betragen jeweils  $12 \text{ \AA}$ , der Abstand der obersten 200-Fläche zur Box beträgt  $16,5 \text{ \AA}$ . Mit dem Modell even wurde genauso verfahren.

Im nächsten Schritt wurde die Simulationsbox mit Wassermolekülen aufgefüllt. Dazu wurde das SPC-Wassermodell verwendet (s. Kapitel 3.1.4). Im Fall des Modells odd wurden 7058 Moleküle aufgefüllt, im Fall des Modells even wurden 7035 Moleküle verwendet. Im Anschluss wurde eine Energieminimierung

durchgeführt über maximal 2000 Schritte, zunächst mit der Steepest-descent-Methode, dann zur weiteren Verfeinerung mit dem Conjugate-Gradient-Algorithmus.

In einigen Simulationen ist es nötig, die Bewegungsfreiheit von Atomen zu reduzieren oder ganz auszusetzen. Dies kann man erreichen, indem bestimmte Atome mit *Restraints* belegt werden. Das sind Kraftkonstanten, die die *restrained* Atome möglichst wenig von einer Referenzstruktur abweichen lassen, indem Strafenergien für Abweichungen von der gewünschten Position im Koordinatensystem vergeben werden, die zur Gesamtenergie dazu addiert werden. Um die Rechenzeit zu verkürzen, werden Wechselwirkungen von fixierten Atomen untereinander nicht mehr berechnet. Daraus folgt, dass Energien aus Simulationen mit restrained Atomen nicht mit Energien aus Dynamiken ohne fixierte Atome verglichen werden können. Jeweils die unterste Schicht 9 wurde in beiden Modellen mit *position restraints* belegt, um das Modell am Boden fest zu halten und die Auflösung der Modelle in Grenzen zu halten.

Alle Berechnungen wurden mit dem Software-Paket GROMACS in der Version 3.2.1 [52] [53] durchgeführt. Die Moleküldynamiksimulationen wurden jeweils über 2 ns mit einem Zeitschritt von 1 fs durchgeführt bei einer Temperatur von 293 K unter PBC (*periodic boundary conditions*). Zur Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkungen wurde die PME-Methode (*particle mesh ewald*) [101, 102] verwendet mit einem Radius von 0,8 nm. Die Simulation wurde in einem NPT-Ensemble durchgeführt, die Kontrolle des Drucks erfolgte mit dem Berendsen-Thermostat mit einer Kopplungskonstante von 0,1 ps [103].

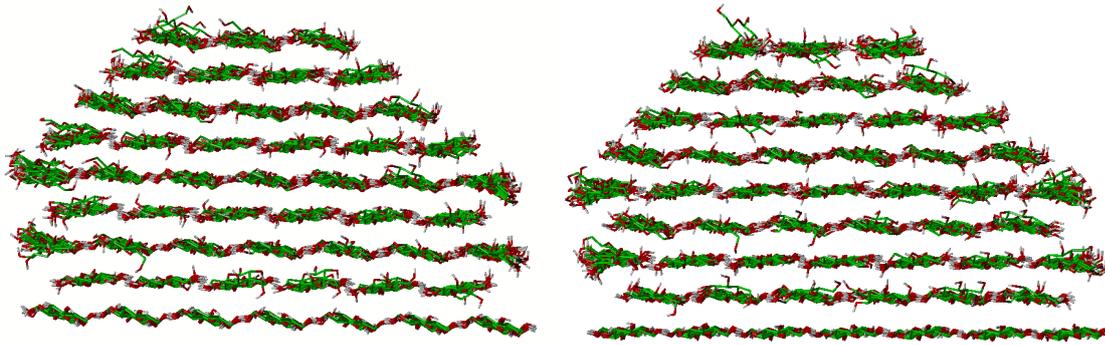


Abbildung 4.7: Vergleich der Strukturen nach 2 ns MDS in Wasser. Links das Modell odd, rechts das Modell even. Zur besseren Übersichtlichkeit wurden die apolaren Wasserstoffe an den Glucoseringen ausgeblendet. Zum Vergleich sind die Startstrukturen in Abbildung 4.5 dargestellt.

Im Anschluss an die Dynamiksimulation wurden die Endstrukturen beider Modelle herausgeschrieben und energieminiert. Rein optisch ist bei beiden Modellen zu erkennen, dass sich die Stränge an den Oberflächen, die in Kontakt mit Wasser sind, deutlich stärker bewegen als im Inneren des Modells (s. Abbildung 4.7). Es geht sogar soweit, dass der Unterschied zwischen odd- und even-Schichten an den Oberflächensträngen zum Großteil verloren zu gehen scheint, da sich die Orientierung der Glucose beim Kontakt mit Wasser und der Ausbildung neuer Wasserstoffbrücken mit Wasser ändert. Diese Beobachtung steht im Einklang mit Ergebnissen aus MD-Simulationen in der Literatur [104].

Den optischen Eindruck bestätigen auch Messungen der Winkel der Ebenen der Glucoseringe, die durchgeführt wurden. Dabei wurde jeweils das Startmodell mit dem energieminierten Modell nach 2 ns MD-Simulation verglichen, sowohl beim Modell odd als auch beim Modell even. Hierzu wurde jeweils die unterste Schicht 9 als Bezugsebene definiert, da sie sich bedingt durch position restraints nicht verändert. Da sich die Stränge im Innern am wenigsten bewegen, wurden hier die Messpunkte (C1, C3, O5) zum Aufspannen der Ebenen gesetzt (Abstand zum C1- bzw. C4-Ende jeweils 5 Glucosemoleküle). Dann wurde durch jeden Strang eine Ebene gelegt und der Winkel dieser Ebene zur Bezugsebene gemessen. In Abbildung 4.8 ist deutlich zu erkennen, dass die Winkel dieser ursprünglichen odd-Schicht deutlich abflachen und sich denen der even-Schicht nähern. Bei even-Schichten dagegen (hier nicht dargestellt) beobachtet man, dass die Winkel steiler werden und sich den odd-Schichten annähern.

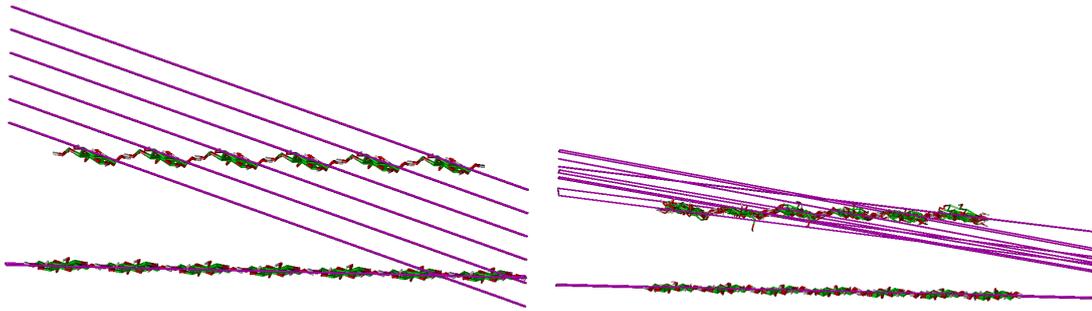


Abbildung 4.8: Darstellung der durchgeführten Messung der Winkel der Ebenen zueinander am Beispiel des Modells even mit der odd-Schicht 6. Links dargestellt das Startmodell mit den Ebenen 6 und 9. Die Bezugsebene liegt in Schicht 9. Dann wurde durch jeden Strang eine Ebene definiert und ihr Winkel zur Bezugsebene gemessen. Genauso links im Modell nach 2ns MDS in Wasser.

Tabelle 4.1: Vergleich der durchschnittlichen Winkel der Stränge einer Schicht zu einer Bezugsebene zwischen dem Startmodell und dem Modell even nach 2ns.

	<b>Startstruktur</b> Winkel in [°]	<b>Struktur nach 2 ns</b> Winkel in [°]
<b>Schicht 1 (even)</b>	1,51	7,42
<b>Schicht 2 (odd)</b>	18,27	7,62
<b>Schicht 3 (even)</b>	1,51	6,13
<b>Schicht 4 (odd)</b>	18,27	8,46
<b>Schicht 5 (even)</b>	1,51	5,99
<b>Schicht 6 (odd)</b>	18,27	7,77
<b>Schicht 7 (even)</b>	1,51	7,34
<b>Schicht 8 (odd)</b>	18,27	7,14

Tabelle 4.2: Vergleich der durchschnittlichen Winkel der Stränge einer Schicht zu einer Bezugsebene zwischen dem Startmodell und dem Modell odd nach 2ns.

	<b>Startstruktur</b> Winkel in [°]	<b>Struktur nach 2 ns</b> Winkel in [°]
<b>Schicht 1 (odd)</b>	18,14	5,91
<b>Schicht 2 (even)</b>	1,38	6,38
<b>Schicht 3 (odd)</b>	18,14	9,0
<b>Schicht 4 (even)</b>	1,38	4,52
<b>Schicht 5 (odd)</b>	18,13	8,58
<b>Schicht 6 (even)</b>	1,38	7,22
<b>Schicht 7 (odd)</b>	18,14	11,15
<b>Schicht 8 (even)</b>	1,39	7,69

Genauer lässt sich dies in Tabelle 4.1 und Tabelle 4.2 zeigen. Hier wurden zur besseren Übersichtlichkeit die einzelnen Messwerte für jeden Strang in Durchschnittswerte für die dazugehörige Ebene zusammengefasst.

Generell wird der Winkel im Modell even bei den odd-Schichten flacher, von ursprünglich  $\sim 18,3^\circ$  auf nun  $\sim 7,8^\circ$ , bei den flachen even-Schichten wird der Winkel steiler, von ursprünglich  $\sim 1,5^\circ$  auf  $\sim 6,7^\circ$ . Damit geht der Unterschied zwischen odd und even nahezu verloren.

Gleiches zeigt sich auch bei der Betrachtung der Werte für das Modell odd, wobei hier die Spanne der Werte etwas größer ist. Die Winkel der odd-Stränge flachen von  $\sim 18,1^\circ$  auf  $\sim 8,7^\circ$  ab und die Winkel der even-Stränge steigen von  $1,4^\circ$  auf  $6,5^\circ$  an.

Tabelle 4.3: Vergleich nur der Außenflächen, die Kontakt mit Wasser haben, bei beiden Modellen. Es wurden Durchschnittswerte berechnet jeweils für alle äußeren even- und alle äußeren odd-Stränge des jeweiligen Modells. In Klammern dahinter jeweils der Ausgangswert.

	<b>Modell even</b>	<b>Modell odd</b>
<b>even-Stränge</b>	7,85° (1,51°)	5,97° (1,39°)
<b>odd-Stränge</b>	7,62° (18,26°)	9,59° (18,14°)

Da für eine spätere Adsorption nur die Stränge der Oberflächen wichtig sind, wurden noch einmal für jedes Modell nur die Werte der äußeren Stränge aufgeschlüsselt nach odd- und even-Strängen als Durchschnitt berechnet (s. Tabelle 4.3). Auch hier zeigt sich, dass die even-Stränge in beiden Modellen ihren Winkel deutlich vergrößern und die odd-Stränge ihren Winkel deutlich verkleinern. Beim Modell even liegen beide schließlich auf fast identischem Niveau. Beim Modell odd besteht noch ein etwas größerer Unterschied, was ein Zeichen dafür sein könnte, dass das Modell insgesamt stabiler ist und weniger stark von Wasser angegriffen wird. Insgesamt zeigt sich, dass sich die Unterschiede zwischen den Schichten besonders auch an den Außensträngen aufheben und es völlig ausreichen würde, mit nur einem Modell weiter zu arbeiten.

Zur Abschätzung, welches der beiden Modelle das energetisch günstigere und stabilere Modell ist, wurden im Folgenden die Energien der Modelle näher betrachtet. Zunächst wurden die Wechselwirkungsenergien der Cellulosestränge in den jeweiligen Modellen untereinander berechnet (s. Abbildung 4.9). Beide

Kurven zeigen ab 1000 ps nur noch geringfügige Schwankungen. Der Vergleich zeigt, dass das Modell odd über die letzten 1000 ps der MDS durchschnittlich um -1581 kJ/mol günstiger ist als das Modell even. Somit scheint das Modell odd insgesamt stabiler und günstiger zu sein.

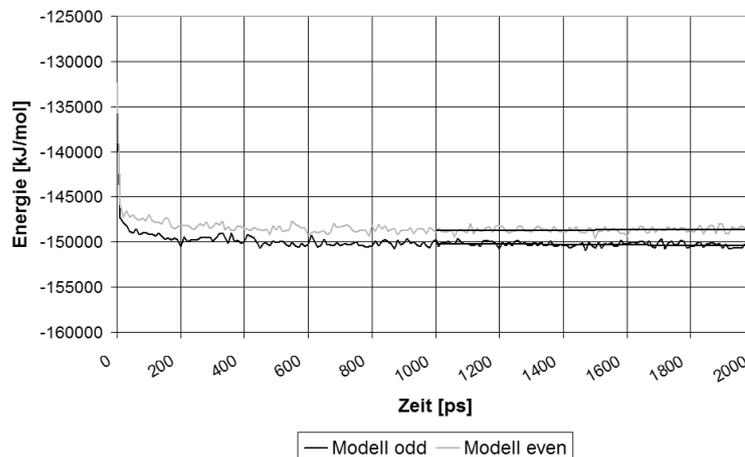


Abbildung 4.9: Vergleich der Wechselwirkungsenergie innerhalb der Cellulosestränge im Modell odd (schwarz) und im Modell even (grau) bei der MDS in Wasser. Im Durchschnitt zeigt das Modell odd über die letzten 1000 ps eine Wechselwirkungsenergie der Cellulosestränge untereinander von -150 245 kJ/mol, das Modell even -148 664 kJ/mol.

Der Vergleich der Wechselwirkungen der beiden Modelle mit Wasser (s. Abbildung 4.10) zeigt, dass das Modell even -739 kJ/mol mehr Wechselwirkungsenergie mit Wasser liefert, also mehr Wechselwirkungen mit Wasser zeigt und sich demnach eventuell auch stärker auflöst. Dies bestätigen die Ergebnisse aus den Messungen der Winkel, wo das Modell even mehr Bewegung und Veränderung der Außenstränge zeigte als das Modell odd.

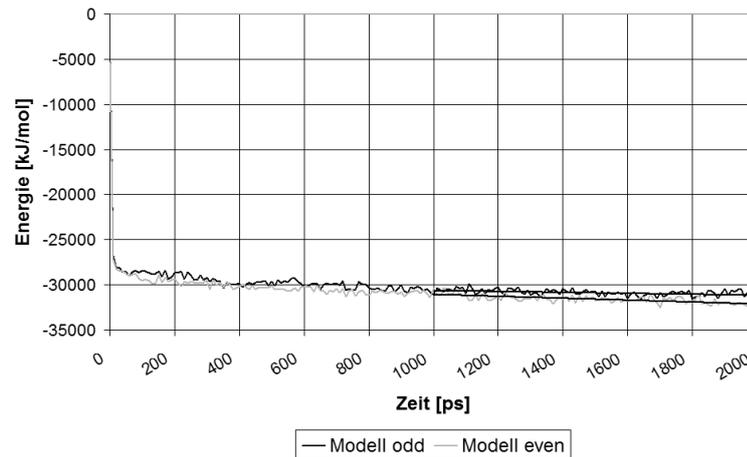


Abbildung 4.10: Vergleich der Wechselwirkungsenergie der Cellulosestränge mit Wasser zwischen dem Modell odd (schwarz) und dem Modell even (grau). Die Auswertung über die letzten 1000 ps zeigt eine Wechselwirkungsenergie beim Modell odd von durchschnittlich -30 842 kJ/mol, bei Modell even von -31 581 kJ/mol. Bei beiden Modellen zeigt sich über die letzten 1000 ps ein weiteres Absinken der Kurven. D.h. die Modelle sind bezüglich der Wechselwirkung mit Wasser noch nicht equilibriert und die Stränge weichen eventuell weiter auseinander durch Auflösung von Wasserstoffbrücken zwischen den Strängen zugunsten der Ausbildung von Wasserstoffbrücken mit Wasser.

Insgesamt geht durch den Kontakt der Modelle mit Wasser der Unterschied zwischen odd- und even-Strängen nahezu verloren. Somit ist es ausreichend, nur noch mit einem der beiden Modelle weiter zu arbeiten. Da das Modell odd energetisch günstiger ist und zudem stabiler gegenüber Wasser zu sein scheint, wird im Folgenden nur noch mit dieser Version weiter gearbeitet, d.h. die odd-Stränge bilden den oberen und unteren Abschluss des Modells aus.

#### 4.2.3.3 Fortsetzung der MDS für Modell odd

Da das Modell odd nach 2 ns noch nicht equilibriert war, wurde die Moleküldynamiksimulation unter gleichen Bedingungen über weitere 4 ns fortgesetzt, so dass das Modell odd insgesamt über 6 ns in wässriger Umgebung berechnet wurde. Über die gesamte Simulationsdauer von 6 ns wurden erneut Auswertungen vorgenommen.

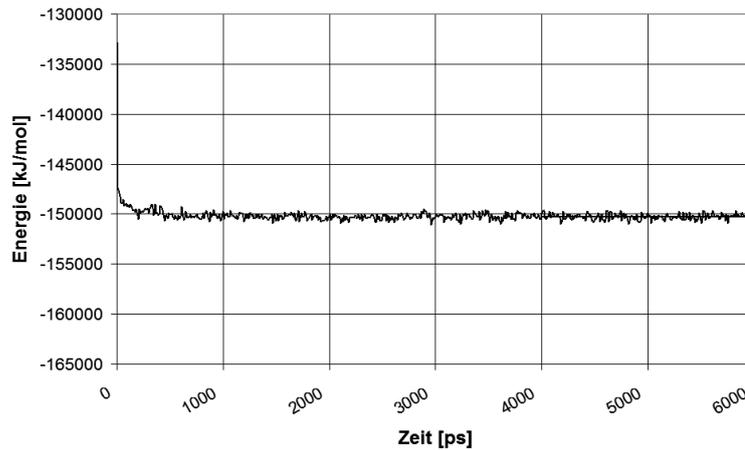


Abbildung 4.11: Wechselwirkungsenergie der Cellulosestränge untereinander im Modell odd über 6 ns. Ausgewertet wurden die letzten 2 ns. Das Modell ist gut equilibriert und die Werte schwanken nur in einem geringen Bereich. Die Wechselwirkungsenergie liegt über die letzten 2 ns bei durchschnittlich -150 261 kJ/mol.

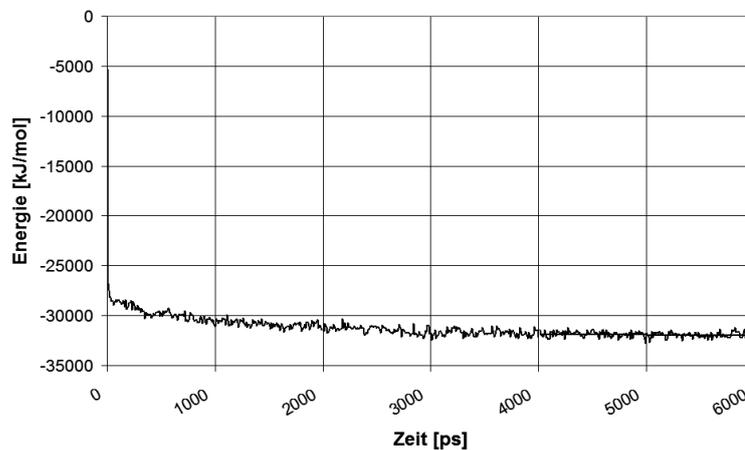


Abbildung 4.12: Wechselwirkungsenergie der Cellulosestränge des Modells mit Wasser über 6 ns. Nach 4 ns ist das Modell gut equilibriert. Die Wechselwirkungsenergie liegt über die letzten 2 ns bei durchschnittlich -31 879 kJ/mol.

An den Kurven für die Wechselwirkungsenergien lässt sich erkennen, dass das Modell nach 6 ns gut im Wasser equilibriert vorliegt. Die Energie der Cellulosestränge untereinander schwankt schon nach 2 ns nur noch geringfügig (s. Abbildung 4.11). Allerdings gibt es noch Veränderungen bei den Wechselwirkungen mit Wasser (s. Abbildung 4.12). Über die letzten 2 ns befindet sich aber auch hier das System in einem Gleichgewichtszustand. Damit kann gezeigt werden, dass die Auflösung des Zusammenhalts der Cellulosestränge vom C1- und C4-Ende her durch die getroffenen Maßnahmen (Box bündig am Boden und an C1/C4, position restraints an Schicht 9) zurückgedrängt werden kann und ein stabiles kristallines Modell erzeugt werden kann.

Um die Stärke der Bewegung im Modell näher untersuchen zu können, wurde der RMSD-Wert berechnet. Der *Root-mean-square-Wert* (RMSD) wird als Maß für die Übereinstimmung bzw. Abweichung der Position und Konformation einer Struktur während der Dynamik, im Vergleich zu einer Referenzstruktur genommen und ist somit auch ein Maß für die Stärke der Bewegung eines Modells. Er stellt nur einen Mittelwert über die betrachteten Atome dar, so dass beim Vergleich verschiedener Strukturen darauf geachtet werden sollte, die Auswahl immer einheitlich zu treffen.

Der Wert wurde für jede Schicht einzeln berechnet, als Referenz diente die jeweilige Schicht der Startstruktur (Abbildung 4.13). Die oberste Schicht 1 zeigt im Vergleich zu allen anderen Schichten die stärksten Bewegungen, wobei die Abweichung von der Startstruktur über die letzten 2 ns um  $\sim 0,08$  nm schwanken. Alle anderen Schichten zeigen deutlich weniger Beweglichkeit. Die Schicht 1 besteht aus drei Strängen und hat mit allen drei Strängen Kontakt zu Wasser, weshalb sie auch die größte Beweglichkeit zeigt. Die anderen Schichten bestehen aus jeweils vier, fünf, sechs oder sieben Strängen. Sie haben jeweils nur mit zwei Strängen davon Kontakt zu Wasser und zeigen eine deutlich geringere Beweglichkeit, da die Stränge im Kerninneren die Schicht stabilisieren. Insgesamt fällt die Bewegung sehr moderat aus und das Modell ist über die letzten 2 ns gut equilibriert. Insgesamt zeigt der RMSD-Wert den guten Zusammenhalt durch die vielen Wasserstoffbrücken und Dispersionskräfte im Modell und damit die Stabilität und Unlöslichkeit der Cellulose in Wasser.

Die RMSD-Werte wurden auch noch mal für die einzelnen Stränge an der Außenseite aufgeschlüsselt betrachtet. Besonders die Eckstränge der jeweiligen Flächen bzw. die überstehenden Stränge der 010-Flächen bewegen sich erwartungsgemäß am stärksten, wobei kein Wert 0,1 nm überschreitet. Stränge, die in der Fläche eingebettet liegen, zeigen weniger starke Bewegungen.

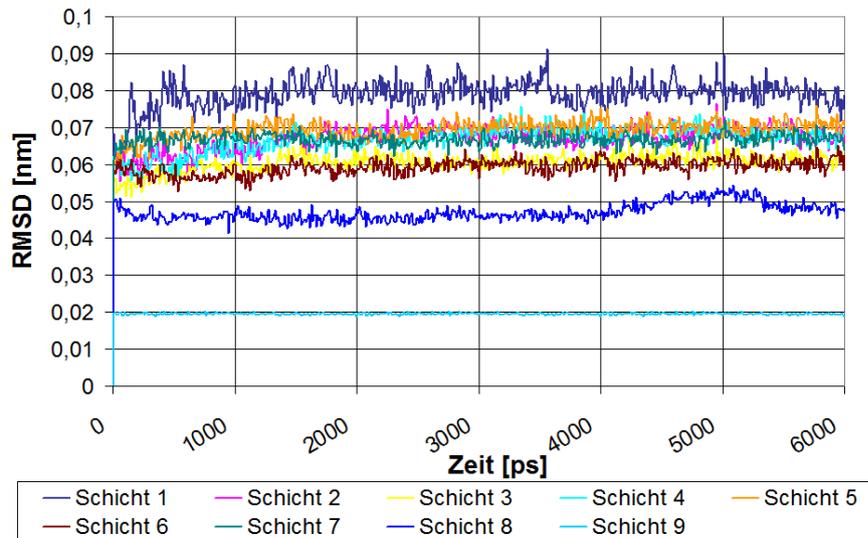


Abbildung 4.13: Vergleich der RMSD-Werte der einzelnen Schichten im Modell odd über 6 ns. Die Schicht 9 (hellblau) wurde mit Kräften festgehalten und bewegt sich demnach kaum. Auch die Schicht 8 (blau) wird davon noch beeinflusst. Die Schicht 1 (dunkelblau) zeigt die stärksten Bewegungen, da sie am besten solvatisiert ist. Alle anderen Schichten liegen auf gleichem Niveau.

In der Literatur wird über unterschiedliche Kettenabstände innerhalb der Flächen 110 und 1-10 berichtet. Eine Messung der Abstände der einzelnen Stränge innerhalb der schrägen 110- und 1-10-Flächen zeigt gute Übereinstimmung mit Werten aus der Literatur. Dafür wurden die Durchschnittswerte über die letzten 2 ns für die jeweiligen Flächen gesamt berechnet. Für die „weite“ 110-Fläche ergibt sich ein Wert von 0,599 nm (Literatur: 0,61 nm [22, 105]), für die „enge“ 1-10-Fläche beträgt der Abstand 0,525 nm (Literatur: 0,54 nm [22, 105]).

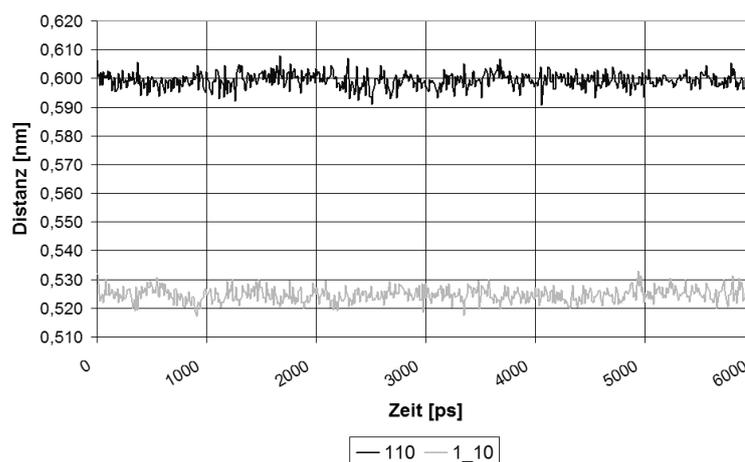


Abbildung 4.14: Vergleich der Abstände der einzelnen Stränge zueinander innerhalb der Flächen 110 und 1-10.

### 4.3 Modelle mit amorphem Teilbereich

Nach dem erfolgreichen Bau eines vollständig kristallinen Modells, welches die, für eine Mikrofibrille wichtigen Flächen 200, 110 und 1-10 repräsentierte, sollte nun ein amorpher Teilbereich im Modell hinzu kommen, da der Kristallinitätsgrad in Mikrokristalliner Cellulose zwar sehr hoch ist (KI  $\sim 0,7$  [44]), aber trotzdem auch amorphe Bereiche vorkommen. Der amorphe Bereich sollte bei einer späteren Adsorption mit berücksichtigt werden können.

Um einen amorphen Teilbereich realisieren zu können, sollte durch verstärkte Bewegung der Stränge in einem Teil des Modells während einer Dynamiksimulation ein Auseinanderweichen der Stränge herbeigeführt werden. Als „ausgefranstes“ Ende wurde das reduzierende C1-Ende ausgewählt, da es sich in vorhergehenden Dynamiken immer stärker bewegt hat und besseren Kontakt zu Wasser zeigt. Als Ausgangsstruktur diente das über 6 ns in Wasser gerechnete energieminierte Modell odd, da es wie zuvor gezeigt, gut in wässriger Lösung equilibriert ist. Zunächst wurden die Koordinaten des Modells so verändert, dass das Modell nicht mehr bündig am Boden der Box lag (bc-Ebene), sondern mittig entlang der a-Achse platziert ist, um Platz für die auseinanderweichenden Stränge zu schaffen. Dazu wurde die Box entlang der a-Achse auf 55 Å erweitert. Ebenso wurde die Simulationsbox in +c-Richtung (C1-Ende) vergrößert, das C4-Ende blieb bündig am Ursprung der c-Achse ( $a = 55$  Å,  $b = 80$  Å,  $c = 118$  Å). Nach der Platzierung des Modells in der Box wurde diese mit SPC-Wassermolekülen aufgefüllt (11 264 Moleküle) und das System minimiert.

Es sollten zwei Modelle mit unterschiedlichem Verhältnis kristallin/amorph erstellt werden. Ein Modell sollte einen 20%igen amorphen Anteil besitzen, das andere Modell einen 40%igen amorphen Anteil. Für das Modell mit 20% amorphem Anteil wurden von den 20 Glucosemolekülen pro Strang 80% der Glucosen (= 16 Glucoseeinheiten) mit Kräften festgehalten und 20% (= 4 Glucoseeinheiten) frei gelassen. Dieses Modell wird im Folgenden als Amorph 20 bezeichnet. Für das Modell mit 40% amorphem Anteil wurden 12 Glucosemoleküle mit Kräften belegt und 8 Glucoseeinheiten frei gelassen. Dieses Modell wird im Folgenden als Amorph 40 bezeichnet.

Im Anschluß wurden Moleküldynamiksimulationen mit beiden Modellen durchgeführt, zunächst bei 293 K über insgesamt 6 ns. Hierbei lösten sich nur vereinzelt Stränge am C1-Ende aus dem Verband, fanden aber im Laufe der Simulation oftmals wieder Kontakt und die Auflösung schritt nicht weiter fort. Es zeigt sich, dass der Zusammenhalt der Cellulosestränge untereinander sehr fest ist, und es entstand die Idee, mit Hilfe einer Temperaturerhöhung und damit auch erhöhter kinetischer Energie, den Zusammenhalt der Stränge zu überwinden. Es wurden dann jeweils Dynamiken über 2 ns bei 323 K, 373 K, 473 K und 573 K durchgeführt und immer wieder der Grad der Ablösung der Stränge am C1-Ende überprüft. Die festgehaltenen Stränge am restlichen Modell blieben stabil und unverändert. Insgesamt zeigte sich das gleiche Bild wie bei 293 K. Es lösten sich immer wieder einzelne Stränge ab, die dann letztendlich wieder Kontakt fanden. Es zeigte sich keine deutlich vergrößerte Unordnung. Auch eine schrittweise Erhöhung der Temperatur auf 573 K zeigte keinen Erfolg.

Um die günstigen intramolekularen Wechselwirkungen der Cellulosestränge überwinden zu können, war schließlich eine zugeführte Energie von 973 K nötig. Hier bewegten sich die Stränge stark und schnell genug, um den Kontakt zu verlieren. Es kam nicht zu einem erneuten Zusammenfinden der Stränge und das C1-Ende zeigte die gewünschte Veränderung. Die Simulation konnte nur über 200 ps durchgeführt werden, da die Moleküle in der Box bei dieser hohen Temperatur eine sehr hohe kinetische Energie zeigten und die Druckanpassung der Simulationsbox nicht über einen längeren Zeitraum standhielt. Es wurden jeweils Strukturen nach 100 ps extrahiert und energieminiert (s. Abbildung 4.15).

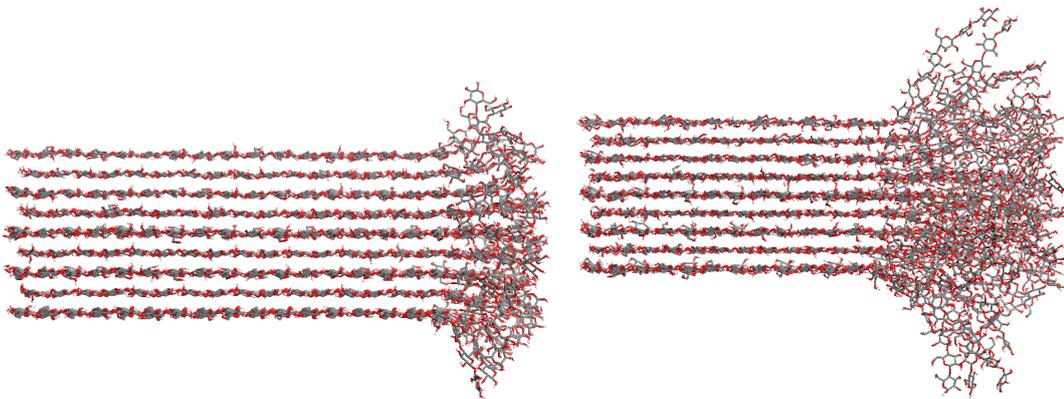


Abbildung 4.15: Darstellung der beiden Modelle mit amorphem Teilbereich. Links das Modell mit 20% amorphem Anteil, rechts das Modell mit 40% amorphem Anteil. Zur besseren Übersichtlichkeit sind die apolaren Wasserstoffatome ausgeblendet.

Die Modelle erfüllen nun die gestellten Anforderungen, repräsentieren alle notwendigen Flächen und enthalten gleichzeitig einen kristallinen und einen amorphen Anteil. Da bei der Erzeugung dieser Strukturen sehr hohe Energien zugeführt werden mussten, sind bei einigen Glucosemolekülen die Energiebarrieren des Kraftfeldes überschritten worden, die dazu dienen, die Konformation der Glucosemoleküle stabil zu halten. Aufgrund dessen finden sich im Modell Amorph 20 zwei Idosen (C5-Epimer der Glucose), im Amorph 40-Modell finden sich vier Idosen. Der Anteil in beiden Modellen beträgt jeweils 0,98% bezogen auf alle Glucosemoleküle im amorphen Bereich und kann somit vernachlässigt werden, auch unter dem Gesichtspunkt, dass eine spätere Adsorption von Arzneistoffmolekülen nicht stereoselektiv stattfindet. Im Folgenden wird mit den beiden erstellten Modellen weitergearbeitet.

#### **4.4 Erstellen und Validieren des Isopropanol-Modells**

Das Verhalten der Modelle mit amorphem Teilbereich sollte später in Moleküldynamiksimulationen in verschiedenen Lösungsmitteln untersucht werden. Neben Wasser sollte zusätzlich ein organisches Lösungsmittel untersucht werden. Hier wurde Isopropanol ausgewählt, da es deutlich lipophiler ist und die Moleküle größer als Wassermoleküle sind. Für das Wasser steht bereits ein Modell zur Verfügung, welches in vorhergehenden Simulationen schon benutzt wurde (SPC-Modell). Für Isopropanol ist bisher keine Kristallstruktur und auch kein Kraftfeld-Modell verfügbar. Dementsprechend musste ein Modell für Isopropanol erstellt werden und für das OPLS-Kraftfeld parametrisiert werden. Im Anschluss daran wurde das erstellte Modell anhand von Vergleichen mit experimentellen thermodynamischen Parametern überprüft.

##### **4.4.1 Erstellen eines Isopropanol-Modells**

Für die Startkoordinaten wurde eine equilibrierte Box mit 208 Dimethylsulfoxid-Molekülen (DMSO) herangezogen, die bei 300 K equilibriert worden war. Das Volumen der Box betrug  $24,178 \text{ nm}^3$ . Zunächst wurde berechnet, dass im Falle des Isopropanols mit einer experimentellen Dichte ( $25^\circ\text{C}$ ) von  $0,7813 \text{ g/cm}^3$  [106] für dieses Volumen 190 Isopropanol-Moleküle nötig sind. Durch Entfernen überzähliger DMSO-Moleküle wurde die richtige Anzahl eingestellt. Die DMSO-

Moleküle wurden nun im Programm SYBYL in Isopropanol umgewandelt, indem die Atomtypen entsprechend verändert wurden, und alle Wasserstoffe addiert. Parallel dazu wurde Isopropanol mit Atomtypen, Ladungen und Bindungswinkeln etc. für das OPLS-AA-Kraftfeld parametrisiert. Aus detaillierten Untersuchungen an 36 verschiedenen organischen Lösungsmitteln im OPLS-Kraftfeld von Jorgensen ist bekannt, dass einige Parameter im Kraftfeld für die Berechnung von Lösungsmitteln angepasst werden müssen, um die experimentellen Daten korrekt wieder geben zu können [48, 107]. Diese Anpassungen wurden aus der Literatur übernommen.

Als nächstes wurde die Isopropanol-Box nach vorhergehender Energieminimierung in einer Moleküldynamiksimulation über 500 ps bei 298 K in einem NVT-Ensemble equilibriert. Bei der Simulation ohne Druckanpassung (NVT) wird das Volumen der Box konstant gehalten und somit auch die eingestellte Dichte. Dies dient zur Equilibrierung des Systems und der Einstellung der richtigen Bindungslängen, Bindungswinkel und Verhältnisse in Isopropanol, da die ursprünglichen Startkoordinaten von DMSO stammen.

#### **4.4.2 Validierung des erstellten Modells**

Nach der Equilibrierung des Modells wurde nun eine Moleküldynamik mit Druckanpassung (NPT-Ensemble) der Simulationsbox über 2 ns bei 298 K unter periodischen Randbedingungen durchgeführt. Dabei kann sich das Volumen und somit auch die Dichte ändern, während der Druck konstant gehalten wird. Als ein möglicher Parameter zur Überprüfung der Güte des Modells kann neben anderen thermodynamischen Parametern die Dichte herangezogen werden.

Zur Überprüfung einer natürlichen Wiedergabe der Verhältnisse bei Isopropanol wurde zunächst die resultierende Struktur nach der MDS mit Druckanpassung gemittelt über alle Moleküle mit verfügbaren experimentellen Daten von Bindungslängen und Bindungswinkeln verglichen (s. Abbildung 4.16). Die gemessenen Werte sind jeweils in guter Übereinstimmung mit den experimentellen Daten bzw. den quantenchemischen Resultaten (s. Tabelle 4.4 und Tabelle 4.5), so dass die natürlichen Verhältnisse bezüglich Bindungslängen und Bindungswinkel vom OPLS-Kraftfeld mit den gewählten Parametern gut wiedergegeben werden können.

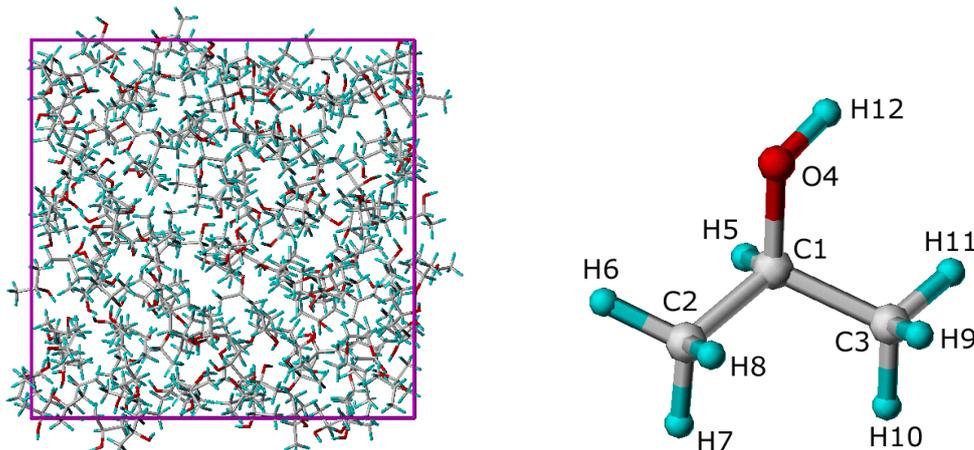


Abbildung 4.16: Darstellung der resultierenden Anordnung der Isopropanol-Moleküle nach der MDS in der Simulationsbox (magenta) (links). Rechts eine schematische Darstellung der Struktur mit Bezeichnung der Atomnamen.

Tabelle 4.4: Vergleich der gemessenen Atomabstände in Å nach der MDS gemittelt über alle Isopropanol-Moleküle mit Werten aus Elektronenbeugungsuntersuchungen und quantenchemischen Berechnungen.

	<b>Electron diffraction</b> <b>[108]</b>	<b>HF/6-31G**</b> <b>[109]</b>	<b>berechnete Werte</b> <b>nach 2 ns MDS</b>
<b>C1 – C2</b>	1,53	1,5242	1,53
<b>C1 – C3</b>	1,53	1,5190	1,53
<b>C1 – O4</b>	1,41	1,4089	1,41
<b>H5 – C1</b>	1,09	1,0907	1,09
<b>O4 – H12</b>	0,94	0,9428	0,96
<b>H<sub>x</sub> – C<sub>x</sub></b>	-	1,0856	1,09

Tabelle 4.5: Vergleich der gemessenen Bindungswinkel in [°] mit Werten aus Elektronenbeugungsuntersuchungen und quantenchemischen Berechnungen.

	<b>Electron diffracti-</b> <b>on [110]</b>	<b>HF/6-31G**</b> <b>[109]</b>	<b>berechnete Werte</b> <b>nach 2 ns MDS</b>
<b>C2 - C1 - C3</b>	109,28	112,432	110,40
<b>C1 - O4 - H12</b>	105.56	109,816	108,52
<b>H<sub>x</sub> – C<sub>x</sub> – H<sub>x</sub></b>	109,28	108,222	109,19
<b>O4 – C1 – H5</b>	-	109,429	109,01

Die Wechselwirkungsenergie der Isopropanol-Moleküle untereinander ist während der Dynamik gut equilibriert und schwankt nur minimal. Durchschnittlich liegt die Energie über die letzten 500 ps bei -11 511 kJ/mol. Je Isopropanol-Molekül entspricht dies einer Wechselwirkungsenergie von -60,58 kJ/mol.

Wie schon erwähnt ist die Dichte ein wichtiger Parameter zur Überprüfung des Modells und des Kraftfeldes. Neben der Dichte werden häufig die Verdampfungsenthalpie und der Diffusionskoeffizient zu einer Bewertung herangezogen. Um die Verdampfungsenthalpie berechnen zu können, muss zuvor noch eine MD-Simulation eines einzelnen Moleküls unter ansonsten gleichen Bedingungen im Vakuum durchgeführt werden, um die intramolekulare Energie in der Gasphase ( $E_{intra}(g)$ ) zu ermitteln. Ebenfalls fließen die intra- ( $E_{intra}(l)$ ) und die intermolekulare Energie ( $E_{inter}(l)$ ) aus der flüssigen Phase ein, die absolute Temperatur ( $T$ ) und die allgemeine Gaskonstante ( $R = 8,314472 \text{ J/mol} \times \text{K}$ ). Die Verdampfungsenthalpie wird dann nach (4.1) berechnet [107].

$$\Delta H_{vap} = E_{intra}(g) - [E_{intra}(l) + E_{inter}(l)] + RT \quad (4.1)$$

Die Tabelle 4.6 zeigt einen Vergleich mit verschiedenen experimentellen thermodynamischen Parametern. Die größte Abweichung zeigt sich bei der Berechnung der Verdampfungsenthalpie mit einer Differenz von 3,67% zum experimentellen Wert. Insgesamt ergibt sich daraus, eine gute Übereinstimmung der Werte aus dem Kraftfeld mit den experimentellen Werten. Damit kann gezeigt werden, dass das OPLS-Kraftfeld mit den gewählten Parametern in der Lage ist, die natürlichen Verhältnisse wiederzugeben, und dass das erstellte Modell für Isopropanol geeignet ist.

Tabelle 4.6: Vergleich von experimentellen thermodynamischen Parametern mit berechneten Werten aus der Dynamik. Es wurden jeweils die letzten 500 ps ausgewertet. Die Berechnung des Diffusionskoeffizienten erfolgt über die Berechnung des *lateral mean square displacement* (MSD) über die Zeit [111].

	experimentelle Werte	berechnete Werte
Volumen [ $\text{\AA}^3/\text{Molekül}$ ]	127,7 [48]	128,2
Dichte (25°C) [ $\text{g}/\text{cm}^3$ ]	0,7813 [106]	0,7780
Verdampfungsenthalpie (25°C) [ $\text{kJ}/\text{mol}$ ]	45,52 [106]	43,89
Diffusionskoeffizient (25°C) [ $10^{-5}\text{cm}^2/\text{s}$ ]	0,582 [112]	0,599

### 4.4.3 Wechselwirkungsmöglichkeiten von Isopropanol

Um die Wechselwirkungseigenschaften von Isopropanol näher zu untersuchen, wurden die Anordnung der Moleküle innerhalb der Box und ihre lipophilen und hydrophilen Eigenschaften näher untersucht.

Die *Radial distribution function* (RDF) kann benutzt werden, um die Struktur von Flüssigkeiten zu beschreiben oder den Ordnungsgrad im System zu ermitteln. Hierbei wird um ein ausgewähltes Atom oder eine Gruppe von Atomen eine Sphäre der Dicke  $\delta r$ , in einem Abstand  $r$  angenommen. Die *pair radial distribution function*  $g(r)$  gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der ein Atom in einem Abstand  $r$  zu finden ist, in Relation zu der Wahrscheinlichkeit, die es im idealen Gas hätte (Wahrscheinlichkeit im idealen Gas = 1).  $g(r)$  ist dimensionslos. Nähere Erläuterungen zum Verfahren finden sich in [50] [113].

Berechnet wurde der RDF-Wert für die Hydroxylgruppe des Isopropanols, hier zwischen den beiden Wasserstoffbrückenpartnern O und H. Die Kurve zeigt zwei Peaks an (s. Abbildung 4.17). Einen im Abstand von 1,8 Å zwischen dem Sauerstoff von Molekül A und dem Wasserstoff der Hydroxylgruppe des Moleküls B (Wasserstoffbrücke). Der zweite Peak bei 3,4 Å zeigt den Abstand des Wasserstoffs der Hydroxylgruppe von Molekül A und dem Sauerstoffatom von Molekül B an, welche nicht an einer Wasserstoffbrücke beteiligt sind (s. Abbildung 4.17 rechts).

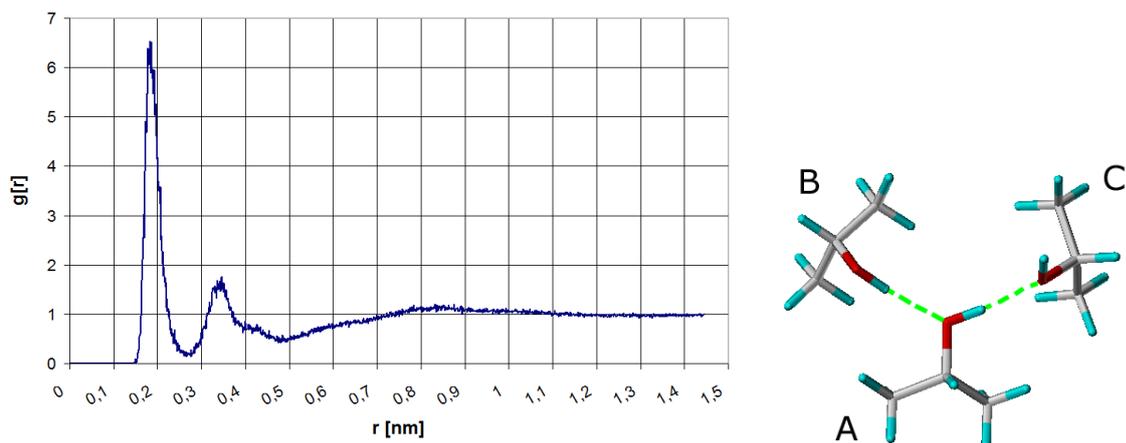


Abbildung 4.17: Links: RDF-Wert zwischen dem Sauerstoff und dem Wasserstoff der Hydroxylgruppe. Rechts: Anordnung der Isopropanol-Moleküle in der Lösungsmittelbox. Die ausgebildeten Wasserstoffbrücken sind in grün dargestellt.

Berechnungen des Integrals von 0 bis  $r$  ergeben am ersten Minimum der Kurve die Anzahl der H-Brücken pro Monomer. Daraus folgt, dass ein Isopropanol-Molekül rechnerisch 1,95 Wasserstoffbrücken pro Monomer ausbilden kann,

was bei Blick auf die Anordnung in der Box bestätigt werden kann (s. Abbildung 4.17 rechts). Drei Monomere ordnen sich mit ihren Hydroxylgruppen so zueinander an, dass zwei H-Brücken ausgebildet werden können. Die voluminösen hydrophoben Methylgruppen zeigen dabei nach außen. Diese können untereinander über hydrophobe Wechselwirkungen miteinander interagieren (s. Abbildung 4.18). Die hydrophoben Wechselwirkungen sind bei Isopropanol im Gegensatz zu den Verhältnissen bei Wasser gegenüber den elektrostatischen Wechselwirkungen dominierend.

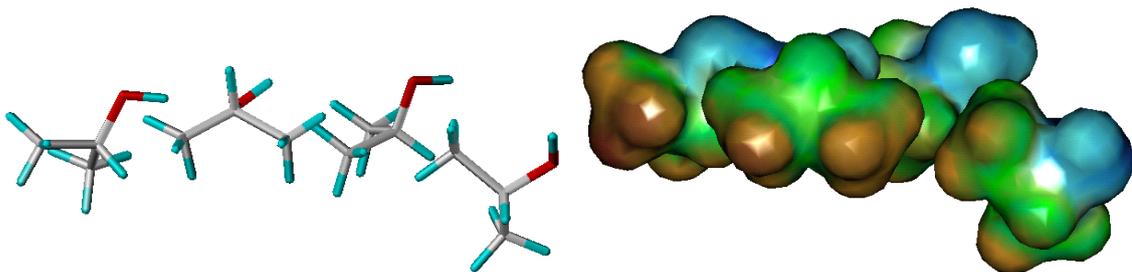


Abbildung 4.18: Links: Anordnung der Isopropanol-Moleküle aufgrund hydrophober Wechselwirkungen mit den Methylgruppen zueinander innerhalb der Simulation. Die hydrophilen Hydroxylgruppen zeigen in die entgegengesetzte Richtung. Rechts: Darstellung des Lipophilie-Potentials der gleichen Moleküle wie rechts auf einer Connolly-Oberfläche, berechnet mit dem Programm SYBYL. In braun dargestellt sind lipophile Wechselwirkungsbereiche, in blau dargestellt sind hydrophile Wechselwirkungsmöglichkeiten.

## 4.5 Modelle Amorph 20 und Amorph 40

Nach dem Bau zweier Modelle mit unterschiedlich großem amorphem Teilbereich (Amorph 20 und Amorph 40), sollten diese nun moleküldynamisch in wässriger und isopropanolischer Umgebung untersucht und miteinander verglichen werden.

### 4.5.1 Simulationen in Wasser und Isopropanol

Für die Simulation wurde jeweils als Startstruktur die herausgeschriebene und energieminierte Struktur aus der Dynamik bei 973 K nach 100 ps genommen (s. Kapitel 4.3). Die Simulationsbox wurde bei beiden Modellen am C1-Ende noch einmal vergrößert, um eine volle Bewegungsfreiheit des amorphen Endes zu gewährleisten ( $a = 90 \text{ \AA}$ ,  $b = 80 \text{ \AA}$ ,  $c = 115 \text{ \AA}$ ). Danach wurden jeweils Wassermoleküle oder Isopropanol-Moleküle aufgefüllt. Für das Wasser wurde das zuvor schon verwendete SPC-Wasser benutzt, für Isopropanol das zuvor parametrisierte Modell (s. Kapitel 4.4). Aufgrund der vergrößerten Simulationsbox

wurden erheblich mehr Lösungsmittelmoleküle aufgefüllt als in vorherigen Simulationen (Amorph 20: 21 492 Wasser/4297 Isopropanol, Amorph 40: 21 281 Wasser/4138 Isopropanol). Aufgrund des erheblichen Größenunterschiedes werden deutlich weniger Isopropanolmoleküle als Wassermoleküle benötigt, um das freie Volumen aufzufüllen. Somit entstanden vier verschiedene Modelle (Amorph 20 in Wasser, Amorph 20 in Isopropanol, Amorph 40 in Wasser und Amorph 40 in Isopropanol), die nun energieminiert und moleküldynamisch gerechnet wurden. Die Simulation erfolgte in einem NPT-Ensemble unter periodischen Randbedingungen bei 293 K über 2 ns mit einem Zeitschritt von 1 fs. Die Kontrolle des Drucks erfolgte mit dem Berendsen-Thermostat und einer Kopplungskonstante von 0,1 ps. Die Dynamik erfolgte völlig frei, ohne Benutzung von position restraints. Zur Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkungen wurde die PME-Methode (*particle mesh ewald*) mit einem Radius von 0,8 nm verwendet.

#### 4.5.2 Vergleich der Modelle Amorph 20 und Amorph 40

Im Anschluss an die Dynamiksimulationen wurden diese ausgewertet und die Modelle miteinander verglichen. Rein optisch sind bereits tendenzielle Unterschiede zu erkennen (s. Abbildung 4.19 und Abbildung 4.20).

Generell bewegen sich auch hier die Oberflächenstränge deutlich stärker als die Stränge im Kern. Außerdem scheinen sich die Stränge am C1-Ende bei den Modellen in Wasser noch stärker auseinander zu bewegen, während bei den Modellen in Isopropanol die Ausfransung gleich bleibt oder sogar abnimmt. Besonders deutlich ist das im Vergleich beim Modell Amorph 40 zu sehen. Eine mögliche Erklärung wäre, dass Wasser mehr Wechselwirkungen mit den Strängen eingehen kann und somit die Auflösung begünstigt, während Isopropanol nur schlechte Wechselwirkungen eingehen kann und wahrscheinlich aufgrund seiner Größe nicht zwischen die Stränge eindringen kann. Dadurch können die Stränge wieder Kontakt zueinander finden und die Auflösung schreitet nicht weiter fort. Diese Theorie gilt es im Folgenden zu überprüfen. Außerdem erkennbar ist eine Rechtsdrehung der Stränge im Verlauf der Dynamik, wie sie auch in der Literatur beschrieben wird, begründet durch die two-fold-screw-Anordnung innerhalb der Cellobiose [42, 114].

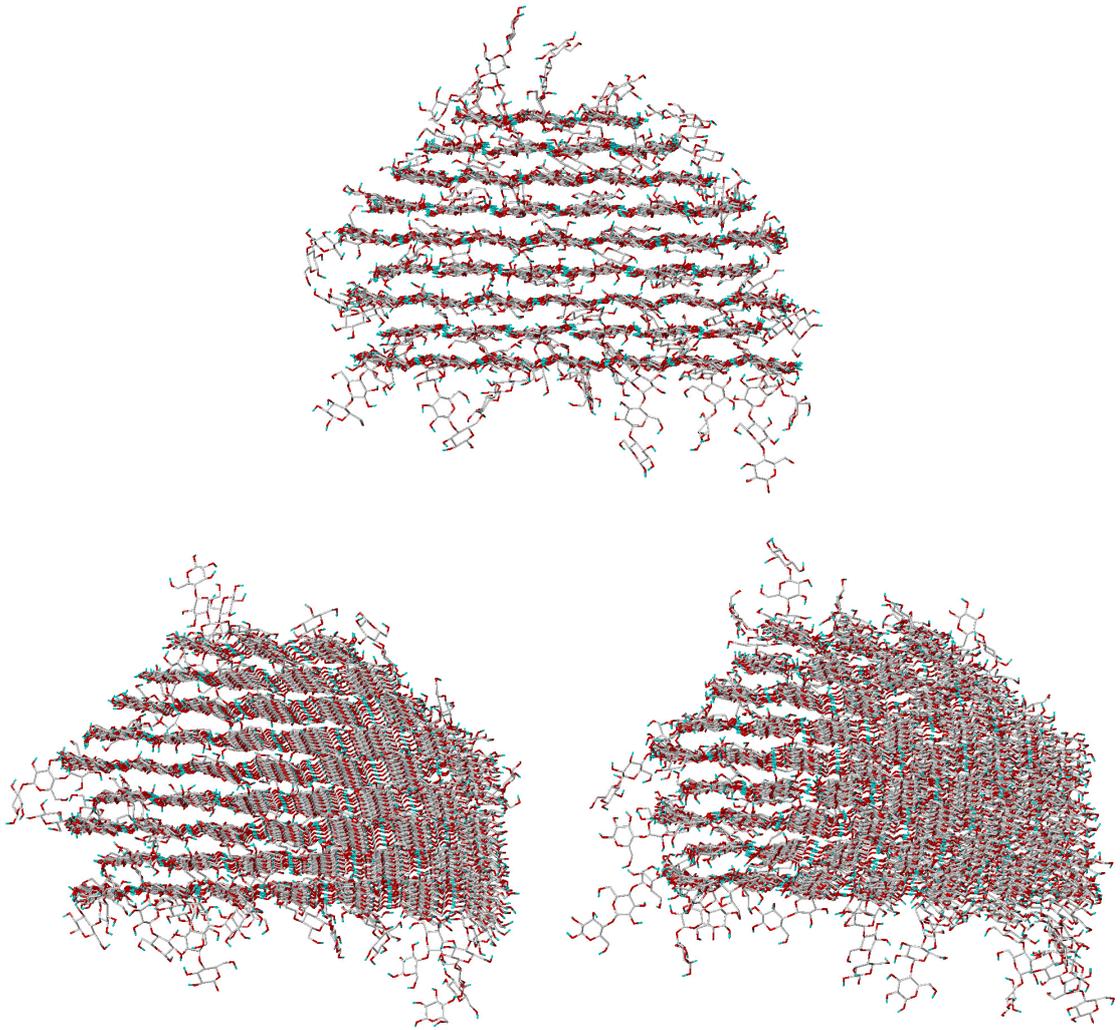


Abbildung 4.19: Vergleich der jeweiligen Endstruktur des Modell Amorph 20 in Isopropanol (links) und in Wasser (rechts) mit der Startstruktur vor der Dynamik (oben).

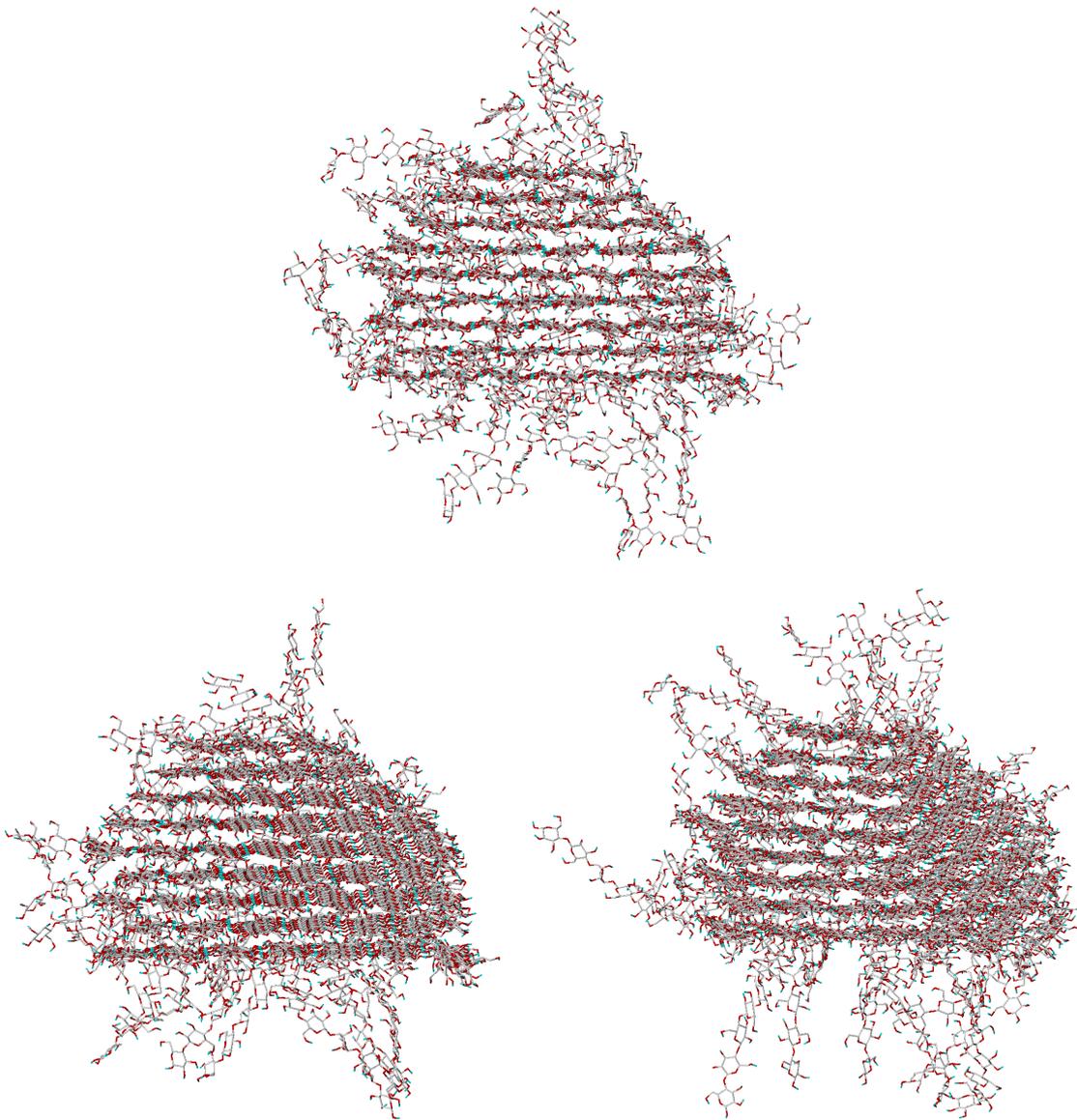


Abbildung 4.20: Vergleich der jeweiligen Endstruktur des Modell Amorph 40 in Isopropanol (links) und in Wasser (rechts) mit der Startstruktur vor der Dynamik (oben).

#### 4.5.2.1 Vergleich der Energie

Es wurde für alle vier Modelle die Wechselwirkungsenergie innerhalb der Cellulosestränge des Modells und vom jeweiligen Modell zum Lösungsmittel berechnet. Es wurde jeweils das gesamte Modell einbezogen. Generell werden die Modelle mehr Wechselwirkungsenergie innerhalb der Cellulose zeigen, die weniger stark ausgefranst sind, d.h. wo die Stränge im amorphen Teil mehr Kontakt zueinander haben.

Bei den Wechselwirkungsenergien innerhalb der Cellulosestränge (s. Abbildung 4.21) zeigt das Amorph 20-Modell in Isopropanol die günstigste Energie mit durchschnittlich  $-141\,939$  kJ/mol über die letzten 1000 ps, d.h. hier haben die

Stränge den meisten Kontakt. Die zweit meisten Wechselwirkungen innerhalb der Cellulose finden sich beim Amorph 40-Modell in Isopropanol mit durchschnittlich  $-138\,633$  kJ/mol. Die beiden Modelle, die in Wasser gerechnet wurden zeigen weniger Wechselwirkungen innerhalb des Modells (Amorph 20:  $-136\,016$  kJ/mol, Amorph 40:  $-127\,267$  kJ/mol), da ihr amorpher Bereich stärker aufgelöst ist.

Dementsprechend müssten die Modelle mit wenig Wechselwirkungen innerhalb des Modells mehr Interaktionen mit dem Lösungsmittel eingehen (s. Abbildung 4.22). Hier zeigt sich wie erwartet genau die umgekehrte Reihenfolge. Die Modelle in Wasser zeigen die größeren Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel, dabei liefert das Modell mit dem größeren amorphen Bereich (Amorph 40) mit Abstand die größten Interaktionen (Amorph 40:  $-61\,811$  kJ/mol, Amorph 20:  $-42\,921$  kJ/mol). Die Modelle in Isopropanol zeigen weniger Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel (Amorph 40:  $-32\,270$  kJ/mol, Amorph 20:  $-26\,797$  kJ/mol).

Bei den Wechselwirkungen mit Wasser überwiegen deutlich die elektrostatischen Energien (ca. 95% elektrostatisch, 5% LJ-Energien), bei den Wechselwirkungen mit Isopropanol entfällt auch ein großer Anteil auf LJ-Wechselwirkungen (ca. 60% elektrostatisch, 40% LJ-Energien).

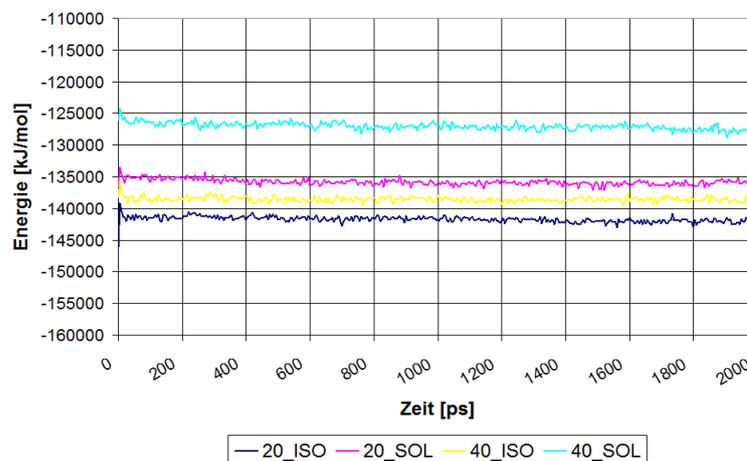


Abbildung 4.21: Vergleich der Wechselwirkungsenergie innerhalb der Cellulosestränge aller Modelle miteinander.

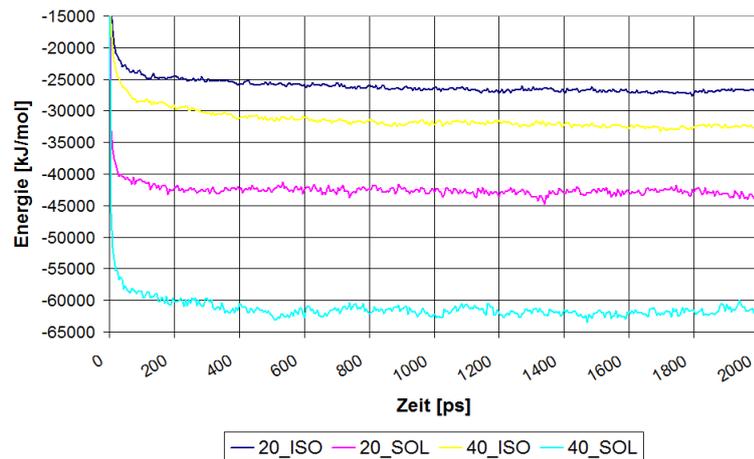


Abbildung 4.22: Vergleich der Wechselwirkungsenergie zwischen der Cellulosesträngen und dem jeweiligen Lösungsmittel.

#### 4.5.2.2 Vergleich der RMSD-Werte

Zur Überprüfung der Equilibrierung der Modelle wird der RMSD-Wert untersucht. Generell liegen die RMSD-Werte der 20%-Modelle niedriger als die 40%-Modelle, d.h. diese bewegen sich weniger stark (s. Abbildung 4.23). Außerdem bewegen sich die Modelle in Isopropanol weniger stark als in Wasser, was ebenfalls wieder darauf schließen lässt, dass es hier einen größeren Zusammenhalt im amorphen Teil gibt als bei den Modellen in Wasser.

Die Kurven schwanken größtenteils um einen Wert und sind relativ gut equilibriert, nur das 40%-Modell in Wasser zeigt ab 1400 ps noch mal einen größeren Sprung. Möglicherweise sind hier größere Richtungsänderungen von Strängen im amorphen Teil zu beobachten.

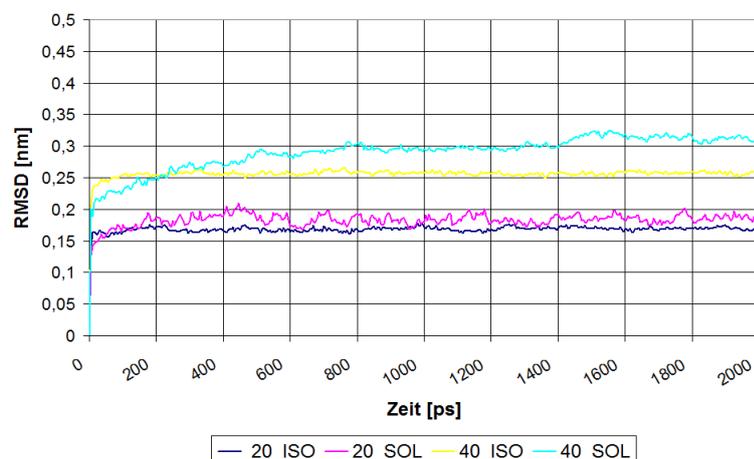


Abbildung 4.23: Vergleich der RMSD-Werte aller Modelle in Wasser und Isopropanol.

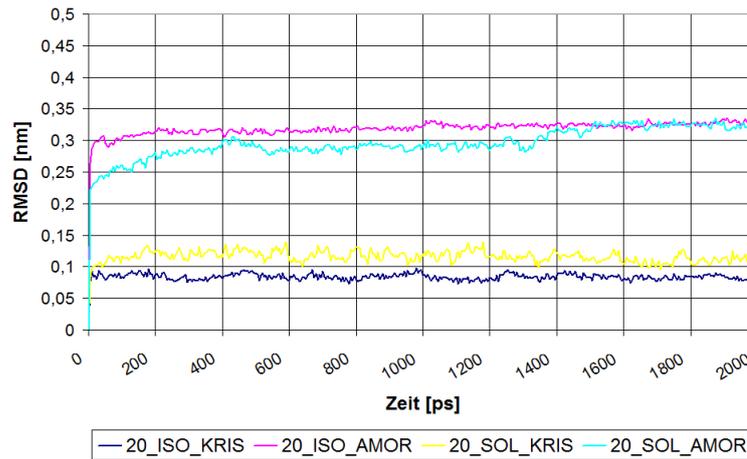


Abbildung 4.24: Vergleich der RMSD-Werte von Amorph 20 in Wasser und Isopropanol aufgeschlüsselt nach amorphem und kristallinem Anteil.

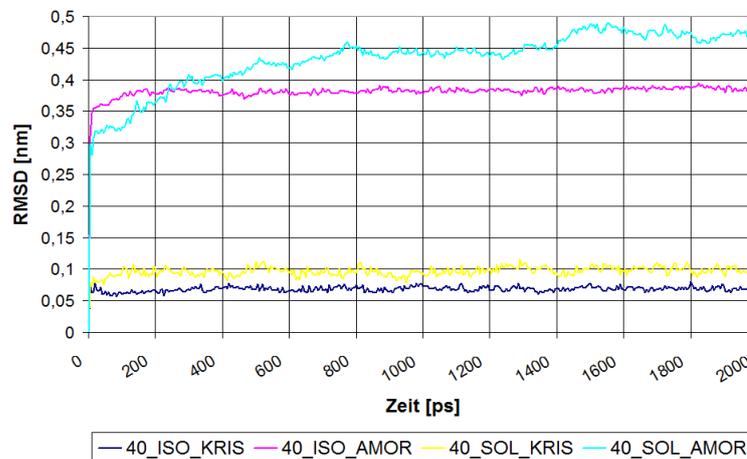


Abbildung 4.25: Vergleich der RMSD-Werte von Amorph 40 in Wasser und Isopropanol aufgeschlüsselt nach amorphem und kristallinem Anteil.

Im Anschluss wurden die RMSD-Werte noch einmal aufgeschlüsselt nach amorphem und kristallinem Anteil, jeweils für das 20%- und das 40%-Modell, betrachtet (s. Abbildung 4.24 und Abbildung 4.25). Die kristallinen Bereiche bewegen sich in allen Modellen und Lösungsmitteln deutlich weniger durch den Zusammenhalt der vielen Wasserstoffbrücken als die amorphen Bereiche. Dabei bewegt sich der kristalline Anteil in Wasser etwas stärker als in Isopropanol. Bei den amorphen Bereichen bewegt sich zu Beginn der Kurve jeweils der Teil in Isopropanol stärker. Diese Kurve schwankt aber jeweils konstant, d.h. der Zusammenhalt bleibt gleich. Das Amorph 20-Modell erreicht im Verlauf der Simulation das gleiche Niveau, bei Amorph 40 schwankt ab ca. 500 ps der amorphe Teil in Wasser deutlich stärker als in Isopropanol. Dies könnte ein weiteres Indiz dafür sein, dass Wasser im Verlauf der Simulation zwischen die Stränge

eindringt und Wasserstoffbrücken zwischen den Strängen auflöst, wodurch die Beweglichkeit ansteigt. Im amorphen Teil des Amorph 40-Modell in Wasser ist ebenfalls der sprunghafte Anstieg der Kurve ab 1400 ps zu sehen wie auch schon beim RMSD-Wert des gesamten Modells, während der kristalline Teil konstant bleibt. Dies bestätigt die Vermutung, dass es hier zu einer größeren Änderung im amorphen Bereich gekommen sein kann.

#### 4.5.2.3 Untersuchung der Wasserstoffbrücken

Zur Überprüfung der Theorie, dass Wasserstoffbrücken durch den Kontakt und das Eindringen von Wasser in den amorphen Bereich zwischen den Cellulosesträngen aufgelöst werden, und dass Isopropanol dies nicht vermag, wurden die Wasserstoffbrücken in den einzelnen Modellen ausgewertet und in Tabelle 4.7 zusammengefasst.

Tabelle 4.7: Vergleich der Wasserstoffbrücken in den jeweiligen Modellen zum Lösungsmittel (LM) und Vergleich der Wasserstoffbrücken innerhalb des amorphen und kristallinen Teils. Berechnet wurden die Wasserstoffbrücken jeweils über die gesamte Simulationsdauer von 2 ns. Da die einzelnen Bereiche unterschiedlich groß sind, wurde zur besseren Vergleichbarkeit auch die Anzahl der Wasserstoffbrücken pro Glucoseeinheit berechnet (Zahl in Klammern).

	Amorph 20 ISO		Amorph 20 SOL		Amorph 40 ISO		Amorph 40 SOL	
<b>Cellulose - LM</b>	635		1662		777		2375	
<b>amorph – LM</b>	235	(1,15)	731	(3,58)	453	(1,11)	1629	(3,99)
<b>kristallin – LM</b>	400	(0,93)	930	(2,16)	325	(0,97)	745	(2,22)
<b>amorph – amorph</b>	327	(1,60)	226	(1,11)	654	(1,60)	439	(1,08)
<b>kristallin - kristallin</b>	2129	(2,61)	2053	(2,52)	1572	(2,57)	1524	(2,49)

Zunächst ist gut zu erkennen, dass deutlich mehr Wasserstoffbrücken zum Wasser als zu Isopropanol ausgebildet werden. Dabei bildet das Modell mit dem größeren amorphen Anteil jeweils mehr Wasserstoffbrücken aus. Aufgeschlüsselt nach amorphem und kristallinen Anteil zeigt sich, dass pro Glucoseeinheit mehr Wasserstoffbrücken vom amorphen Teil ausgehen als vom kristallinen Teil, wobei der Unterschied bei Isopropanol geringer ausfällt (1,15/1,11 zu 0,93/0,97) als bei Wasser (3,58/3,99 zu 2,16/2,22). D.h. der Unterschied zwischen amorph und kristallin spielt bei Isopropanol eine kleinere Rolle, bei Wasser hingegen bietet der amorphe Teil deutlich mehr Wechselwirkungsmöglichkeiten, da hier durch die Öffnung der Stränge mehr Hydroxylgruppen für Inter-

aktionen zur Verfügung stehen. Rein optisch entstand der Eindruck, dass die Stränge in den Wassermodellen eher den Kontakt zueinander verlieren durch eindringendes Wasser als bei Isopropanol. Dies bestätigt sich bei Betrachtung der Wasserstoffbrücken innerhalb des kristallinen und des amorphen Teils. Bei den Modellen in Isopropanol gibt es einen deutlich größeren Zusammenhalt ( $\sim 1,60$  H-Brücken pro Glucosemolekül) als bei den Modellen in Wasser ( $\sim 1,10$  H-Brücken pro Glucosemolekül). Der kristalline Teil bleibt weitgehend unbeeinflusst vom Lösungsmittel und zeigt überall vergleichbare Zahlen von Wasserstoffbrücken pro Glucoseinheit.

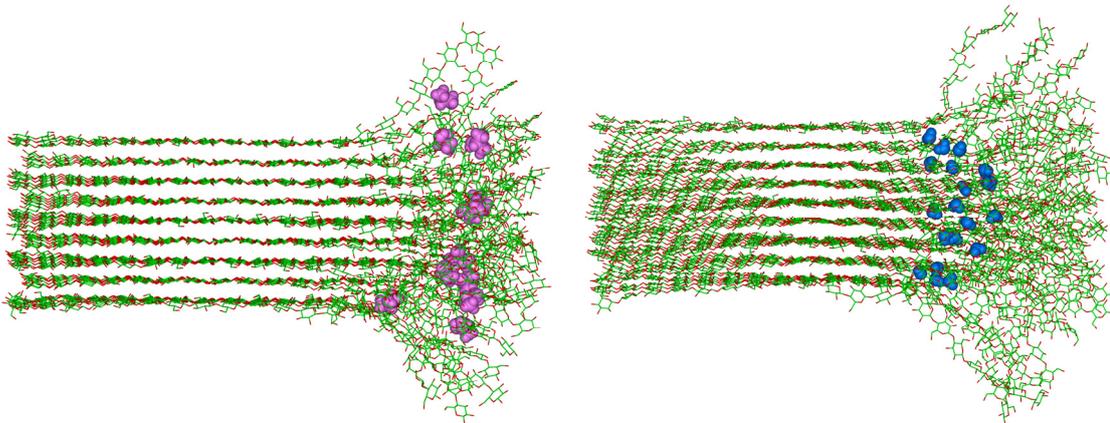


Abbildung 4.26: Vergleich der Eindringtiefe der Isopropanol-Moleküle (links, magenta) und der Wassermoleküle (rechts, blau) in den amorphen Bereich des 40%-Modells. Dargestellt sind die Moleküle, die optisch jeweils am weitesten zwischen die Stränge eingedrungen waren.

Gut zu sehen ist der Unterschied, wenn man die Eindringtiefe der Lösungsmittelmoleküle in den amorphen Teilbereich betrachtet (s. Abbildung 4.26). Die kleineren Wassermoleküle (blau) dringen bis an die tiefsten Stellen im amorphen Bereich zwischen die Stränge (bis zur 7. von 8 Glucoseeinheiten), während die großen Isopropanol-Moleküle (magenta) nicht so tief eindringen können (maximal bis zur 4. von 8 Glucoseeinheiten) und noch in den Anfangsbereichen des amorphen Teiles sitzen. Außerdem ist zu erkennen, dass sich bei dem Modell in Wasser das C4-Ende etwas stärker bewegt als dies bei Isopropanol der Fall ist. Hier ist der kristalline Teil immer noch überlagerbar.

#### 4.5.2.4 Solvent Accessible Surface

Die Solvent Accessible Surface (SAS) gibt die Fläche des Modells wieder, die vom Lösungsmittel erreicht werden kann. Dabei wird eine Wasserprobe über

das Modell „gerollt“ mit einer Probengröße von 0,17 nm und erzeugt so eine Connolly-Oberfläche. Das Zentrum der Lösungsmittelkugel bestimmt die Gestalt der molekularen Oberfläche. Anhand eines vorgegebenen Grenzwertes für die Partialladung kann eine Einteilung in hydrophobe und hydrophile Bereiche erfolgen.

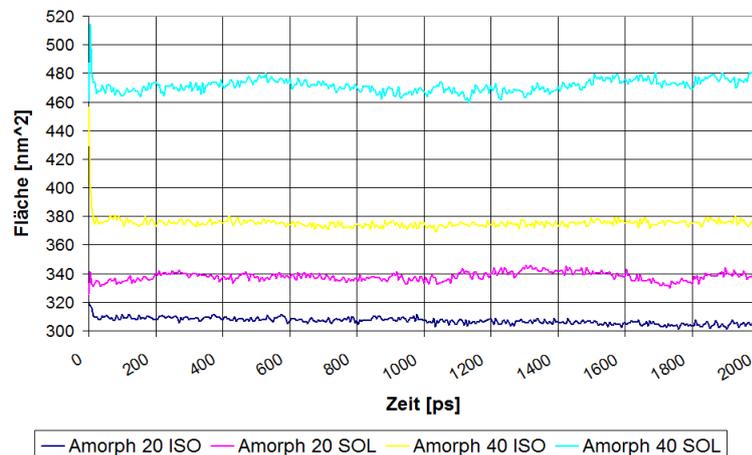


Abbildung 4.27: Vergleich der Modelle bezüglich der vom Lösungsmittel erreichbaren Fläche. Berechnet wurde jeweils das gesamte Modell über 2 ns.

Jeweils zwei Kurven beginnen an einem Punkt (Amorph 20:  $\sim 320 \text{ nm}^2$ , Amorph 40:  $460 \text{ nm}^2$ ), da sie vom selben Startmodell ausgehen. Bei den Modellen in Isopropanol sinkt die vom Lösungsmittel erreichbare Fläche direkt zu Beginn der Simulation ab und bleibt auch auf deutlich niedrigerem Niveau, während bei den Modellen in Wasser die SAS über den Wert des Startmodells ansteigt. Bei den Kurven in Wasser kommt es zu stärkeren Schwankungen als bei Isopropanol. Beim 20%-Modell in Isopropanol sinkt die SAS ab ca. 1000 ps noch einmal ab, d.h. hier scheinen wieder einige Stränge im amorphen Bereich Kontakt zu finden und verkleinern so den für das Lösungsmittel zugänglichen Bereich. So ergibt sich ein erheblicher Unterschied zwischen den beiden Amorph 40-Modellen in den unterschiedlichen Lösungsmitteln.

#### 4.5.2.5 Vergleich der Vertiefungen im amorphen Bereich

Zur optischen Verdeutlichung des zuvor gefundenen Unterschiedes in der Solvent Accessible Surface wurde eine Connolly-Oberfläche für die Modelle erzeugt und darauf die Tiefe der Höhlen berechnet mit dem Programm SYBYL. Es wurde dabei das Startmodell verwendet und die beiden energieminierten Endstrukturen in Isopropanol und Wasser von beiden Modellen am Ende der

Dynamiken. Beispielhaft ist dies für das Modell Amorph 40 Abbildung 4.28 dargestellt.

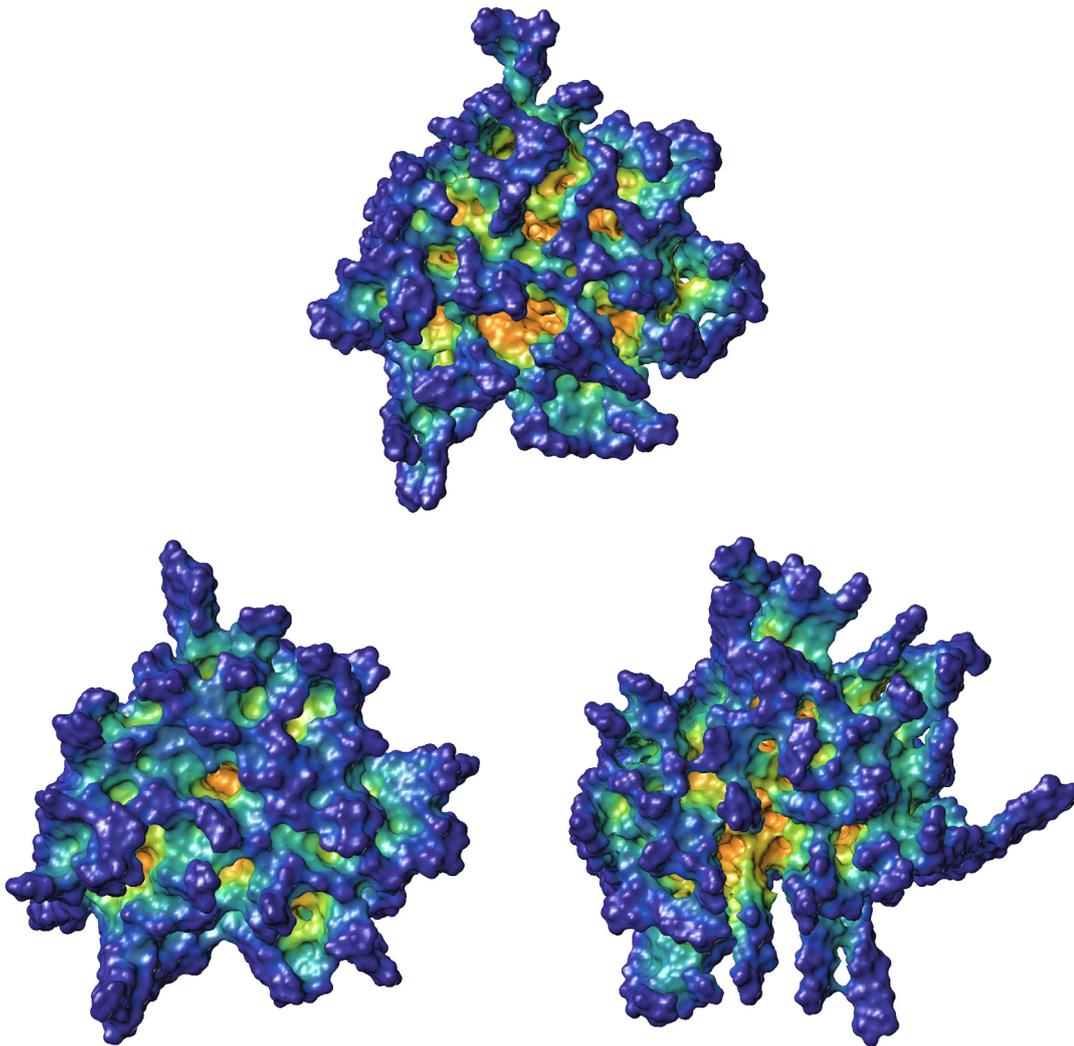


Abbildung 4.28: Vergleich der Oberflächen des amorphen Teiles beim Amorph 40-Modell. Nach vorne stehende Bereiche sind dunkelblau gefärbt. Tief liegende Höhlen sind über grün bis gelb gefärbt. Die am tiefsten liegenden Bereiche sind orange gefärbt. Oben dargestellt ist das Startmodell, links das Modell in Isopropanol und rechts das Modell in Wasser.

Im Startmodell gibt es bis zu 9 sehr tiefe Einschnitte zwischen den Cellulosesträngen im amorphen Bereich. Beim Modell in Isopropanol ist erkennbar, dass sich die Oberfläche verändert hat und sich die Umrise eher abgerundet haben, während das Modell in Wasser noch zerfurchter wirkt. Beim Modell in Wasser sind viele Stränge separiert. Beim Modell in Isopropanol schließen sich die tiefen Höhlen und die Stränge bilden eine stärker geschlossene Fläche (nur noch 4 tiefere Höhlen erkennbar).

#### 4.5.2.6 Berechnung von Wechselwirkungsfeldern

Eines der am häufigsten verwendeten Programme zur Untersuchung von günstigen Wechselwirkungsfeldern ist das Programm GRID [100, 115-117].

Dabei wird über das zu untersuchende Modell ein Netz aus regelmäßig verteilten Gitterpunkten gelegt. An jedem Gitterpunkt wird dann, mit einer vorher festgelegten GRID-Sonde, eine Wechselwirkungsenergie mit dem Modell berechnet. Die Wechselwirkungsenergien setzen sich zusammen aus einem elektrostatischen, einem van der Waals- und einem Wasserstoffbrücken-Energieterm. Bei den berechneten Interaktionsenergien lassen sich attraktive Wechselwirkungen mit einem negativen Energiewert von repulsiven Wechselwirkungen mit einem positiven Energiewert unterscheiden. Die Interaktionsenergien können als Isokonturflächen dargestellt werden, so dass sie in Form von Feldern analysiert werden können. Es stehen viele verschiedene GRID-Proben mit unterschiedlichen Eigenschaften (Hydrophobe Wechselwirkungen, aromatische Wechselwirkungen, protonierte funktionelle Gruppen, ...) zur Verfügung.

Zur Untersuchung von lipophilen Wechselwirkungsmöglichkeiten wurde eine Methylprobe verwendet, für die hydrophilen Interaktionsfelder eine Wasserprobe.

Der überwiegende Teil der günstigen Wechselwirkungsfelder findet sich bei beiden Proben im amorphen Bereich (s. Abbildung 4.29). Hierbei sind die lipophilen Felder ausgedehnter und zusammenhängender als die hydrophilen Felder. Die größeren zusammenhängenden lipophilen bzw. hydrophilen Felder, die am unteren Teil des kristallinen Bereiches zu sehen sind, liegen in größeren Rinnen zwischen den Strängen der 010-Fläche.

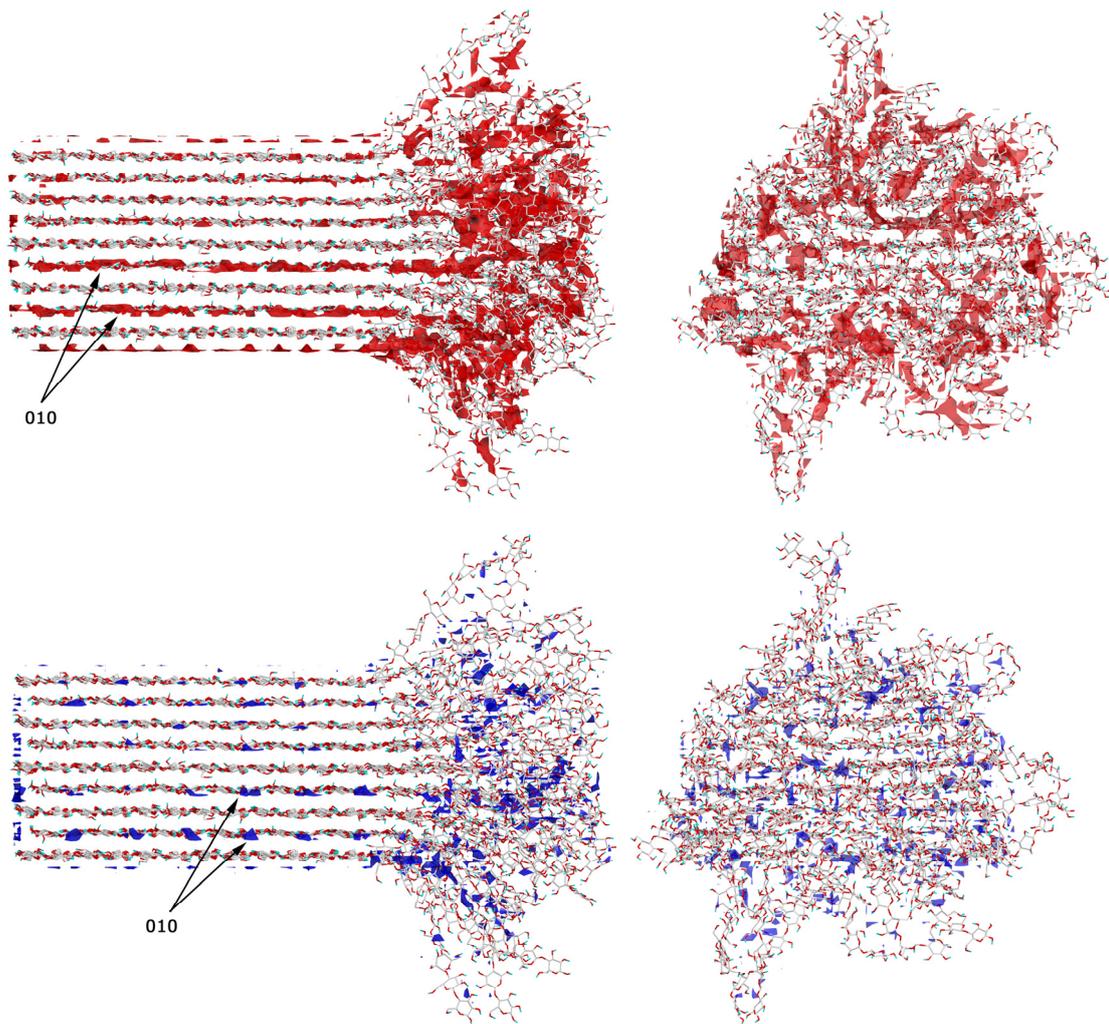


Abbildung 4.29: Darstellung von günstigen Interaktionsfeldern des Modells Amorph 40 mit einer Methylprobe (oben, rot) (Level -3,250 kcal/mol) und mit einer Wasserprobe (unten, blau) (Level -7,525 kcal/mol).

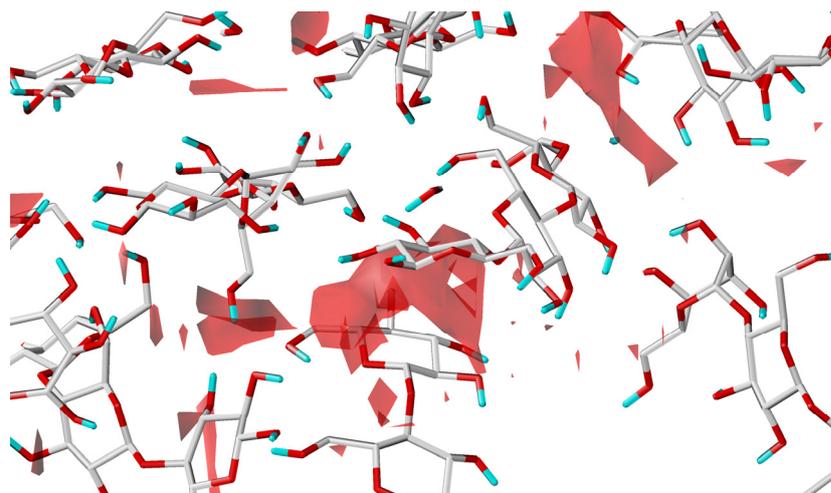


Abbildung 4.30: Detaillierte Darstellung von günstigen Interaktionsfeldern mit einer Methylprobe im amorphen Bereich.

Die lipophilen Felder im amorphen Bereich entstehen häufig zwischen zwei parallel zueinander liegenden Glucoseringen (s. Abbildung 4.30).

Beim Vergleich der Wechselwirkungsfelder der einzelnen Flächen miteinander zeigt die 200-Fläche überwiegend lipophile Eigenschaften mit großen ausgedehnten Feldern (s. Abbildung 4.31). Diese bilden sich hauptsächlich über den Kohlenstoff der Glucoseringe und ihren apolaren Wasserstoffen aus, sowie oberhalb des Ethersauerstoffes der Glykosidbindung. Mit der polaren Wassersonde finden fast gar keine Wechselwirkungen statt.

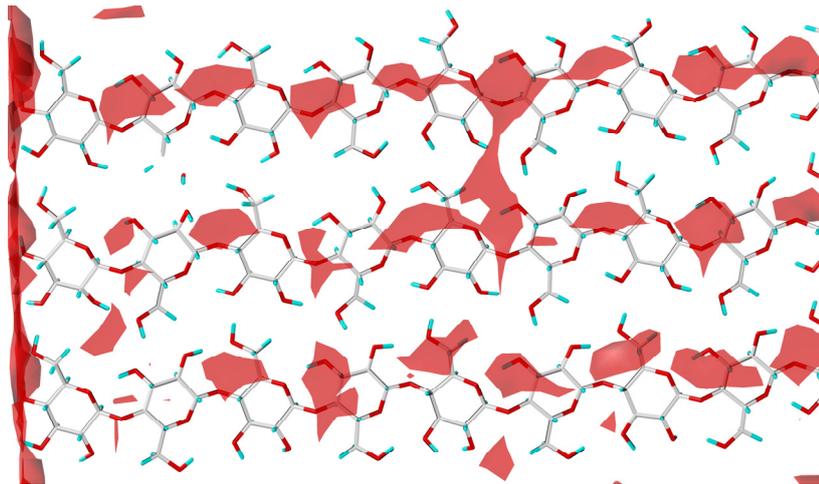


Abbildung 4.31: Darstellung von Wechselwirkungsfeldern mit einer Methylprobe. Die dargestellten Felder liefern eine Interaktionsenergie von  $-3,250$  kcal/mol.

Die schrägen Flächen 110 und 1-10, die parallel zur Kristallit-Oberfläche liegen, zeigen sowohl hydrophile als auch hydrophobe Interaktionsmöglichkeiten, die dicht beieinander liegen und sich oftmals auch überschneiden, so dass keine eindeutige Zuordnung in hydrophile und hydrophobe Bereiche möglich ist. Die hydrophilen Wechselwirkungen mit der Wassersonde finden sich erwartungsgemäß an den aus der Fläche herausstehenden Hydroxylgruppen. Lipophile Wechselwirkungen entstehen auch hier wieder an apolaren Kohlenstoffen und Wasserstoffen. Generell gibt es in der 110-Fläche mehr Platz zwischen den Strängen als in der 1-10-Fläche. Dies zeigt sich auch bei der Häufigkeit und Größe der Wechselwirkungsfelder. In der „weiten“ 110-Fläche sind die hydrophilen Wechselwirkungsfelder häufiger und größer als bei der „engen“ 1-10-Flächen (s. Abbildung 4.32, Abbildung 4.33). Bei den lipophilen Interaktionsmöglichkeiten ist der Raumbedarf noch wichtiger als beim kleinen Wassermolekül. Hier können sich in der „weiten“ 110-Flächen größere zusammenhängende hydrophobe Rinnen ausbilden, die in der 1-10-Fläche aufgrund des geringeren

Platzangebot nicht so gut möglich sind (s. Abbildung 4.34 und Abbildung 4.35).

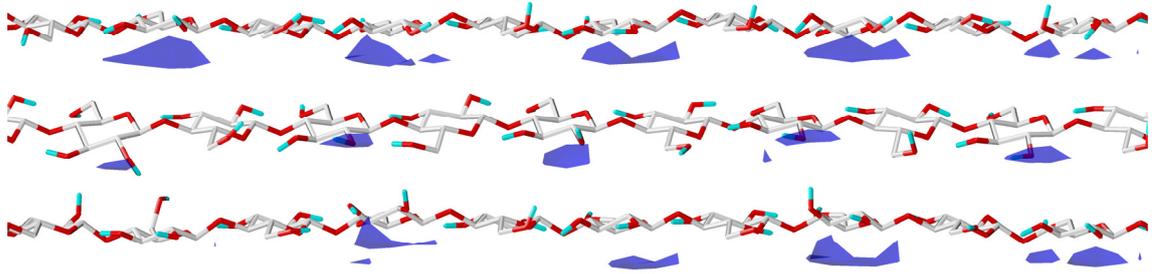


Abbildung 4.32: Darstellung von Wechselwirkungsfeldern einer Wasserprobe mit der 110-Fläche. Die Interaktionen liefern eine Energie von -7,525 kcal/mol.

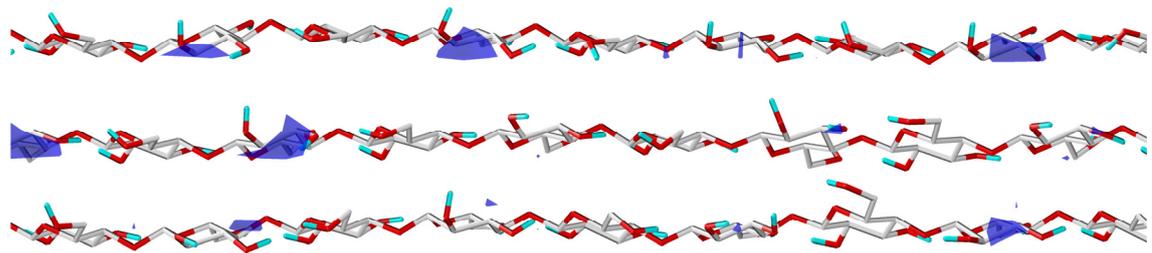


Abbildung 4.33: Darstellung von Wechselwirkungsfeldern einer Wasserprobe mit der 1-10-Fläche. Die Interaktionen liefern eine Energie von -7,525 kcal/mol.

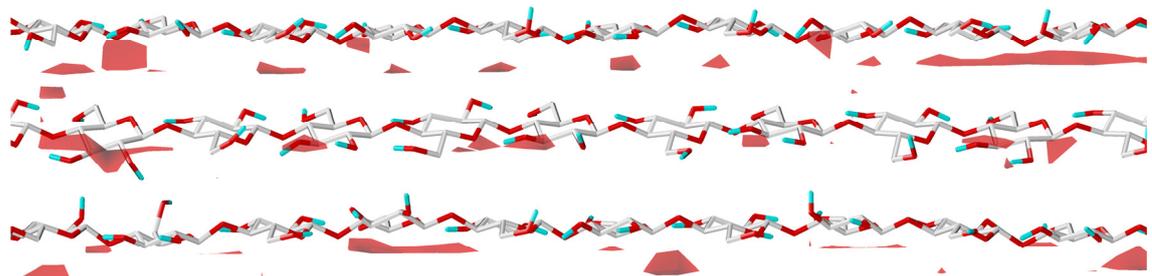


Abbildung 4.34: Darstellung von Wechselwirkungsfeldern einer Methylprobe mit der 110-Fläche. Die Interaktionen liefern eine Energie von -3,250 kcal/mol.

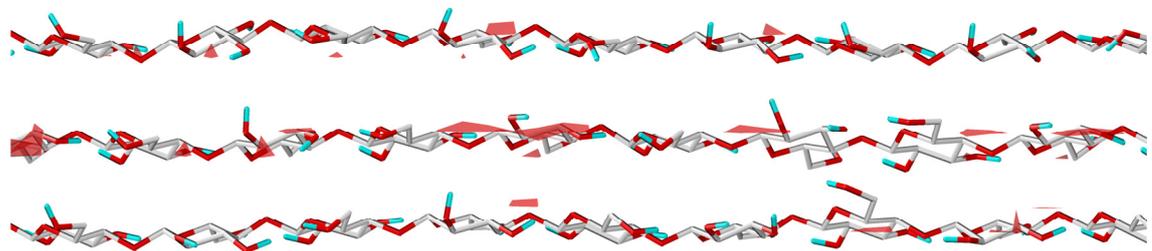


Abbildung 4.35: Darstellung von Wechselwirkungsfeldern einer Methylprobe mit der 1-10-Fläche. Die Interaktionen liefern eine Energie von -3,250 kcal/mol.

## 4.6 Adsorption von Arzneistoffen

Nach der erfolgreichen Erstellung zweier Modelle für Mikrokristalline Cellulose mit teilamorphem Bereich, sollte nun die Adsorption von Arzneistoffen auf molekularer Ebene untersucht werden. Das im Programm Materials Studio enthaltene Sorption-Modul ermöglicht die Simulation der Adsorption von reinen Stoffen oder Stoffgemischen. Die Cellulose wird dabei als dreidimensionaler Kristall betrachtet, der während der Simulation rigide gehalten wird.

Als Grundlage für das Cellulose-Modell wurden die zuvor entwickelten Modelle mit 20% bzw. 40% amorphem Anteil verwendet (s. Kapitel 4.5.2).

Sämtliche Berechnungen wurden mit dem Forcite- und dem Sorption-Modul des Programms Materials Studio [77] durchgeführt.

### 4.6.1 Aufbereiten der Strukturen für Materials Studio

Als Vorlage für den Cellulosekristall wurden jeweils das Modell mit 20%- und mit 40%-amorphem Anteil aus den Dynamiksimulationen in wässriger Umgebung benutzt. Dafür wurde für das 20%-Modell eine repräsentative Struktur aus der Dynamiksimulation mit Wasser ausgewählt, die im Anschluss mit dem Programm GROMACS minimiert wurde, wie in Kapitel 4.5.2 beschrieben. Beim Modell mit 40% amorphem Anteil wurde ebenso vorgegangen.

Da sich die Cellulose-Modelle während der Monte-Carlo-Simulation nicht mehr bewegen können, sondern als rigider Kristall betrachtet werden, ist es wichtig, dass zuvor equilibrierte Strukturen eingesetzt werden, wie sie in wässriger Umgebung vorkommen können. Dieses wird durch das oben beschriebene Auswahlverfahren einer repräsentativen Struktur gewährleistet.

Die ausgewählten Strukturen wurden in das Programm Materials Studio übertragen. Die als *Adsorbens* dienende Struktur (Festkörper, an dessen Oberfläche adsorbiert wird) muss als periodische Struktur mit einer P1-Symmetrie vorliegen. Daher wurde mit der Programm-Routine *Crystals* ein Kristall aus den Strukturen erstellt (Amorph 20:  $a = 55 \text{ \AA}$ ,  $b = 80 \text{ \AA}$ ,  $c = 120 \text{ \AA}$ ,  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$  / Amorph 40:  $a = 80 \text{ \AA}$ ,  $b = 80 \text{ \AA}$ ,  $c = 120 \text{ \AA}$ ,  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ ).

Bevor eine Adsorption simuliert werden kann, muss zunächst eine Geometrie-Optimierung durchgeführt werden, welches mit dem Modul Forcite möglich ist. Zunächst müssen dafür den Glucose-Molekülen entsprechende Kraftfeldtypen für jedes Atom zugeordnet werden. Da hier das OPLS-Kraftfeld, welches zuvor bei den Moleküldynamiksimulationen benutzt wurde, nicht zur Verfügung steht, wurden die Atomtypen aus dem pcff30-Kraftfeld ausgewählt, da es speziell unter anderem für die Berechnung von Polysacchariden parametrisiert worden ist (s. Kapitel 3.2.1). Die Geometrie-Optimierung wurde über 5000 Schritte mit dem Smart-Algorithmus (Abfolge aus Steepest descent und Newton-Raphson-Methoden s. Anhang F2) durchgeführt.

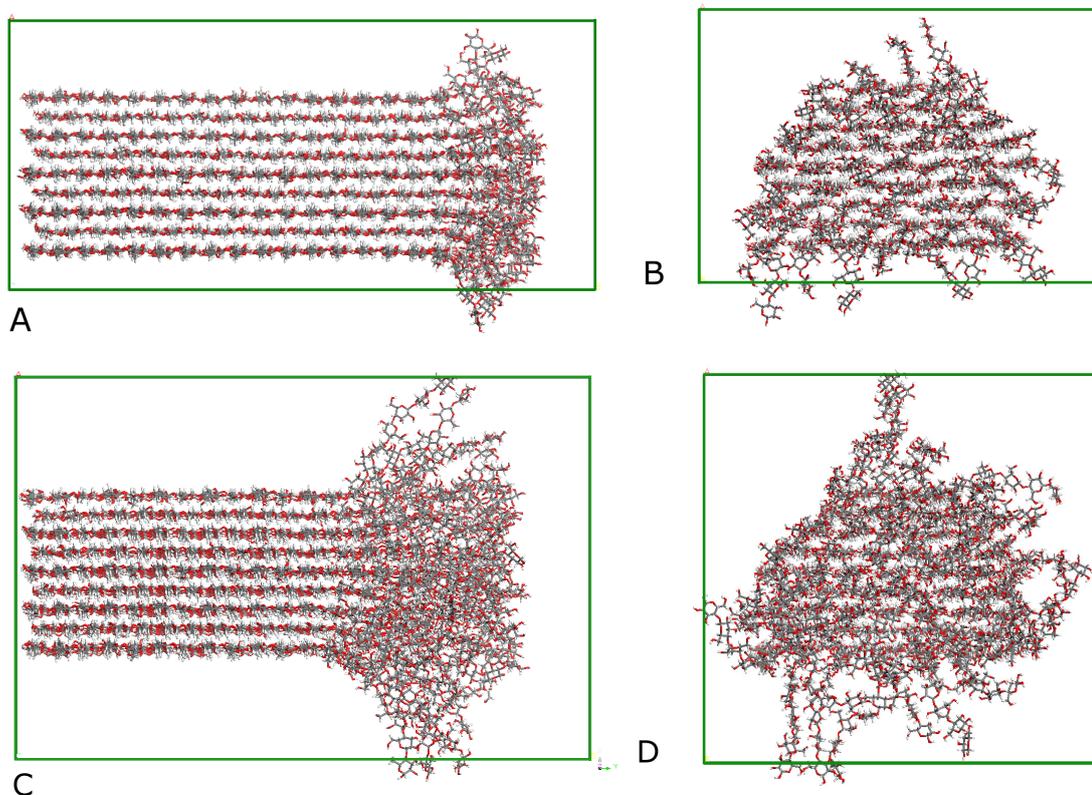


Abbildung 4.36: Größe des jeweiligen Kristalls (grüne Box) und die Platzierung der Modelle innerhalb des Kristalls. Die Modelle wurden mit den Strängen parallel zur bc-Ebene ausgerichtet, d.h. die Stränge setzen sich entlang der c-Achse fort. Die a-Achse gibt die Höhe und die b-Achse die Breite des Kristalls wieder. Die oberen Bilder zeigen das Modell mit 20% amorphem Anteil einmal in der seitlichen Ansicht (A) und mit Blick auf das kristalline C4-Ende (B). Die unteren Bilder zeigen das Modell mit 40% amorphem Anteil, auch einmal in der seitlichen Ansicht (C) und mit Blick auf das C4-Ende (D).

Die zu adsorbierenden Stoffe (*Adsorbate*) wurden mit der *Sketch*-Routine gebaut. Bei der Adsorption dürfen sie nicht als periodische Struktur vorliegen. Im Gegensatz zur Cellulose werden die Adsorbate nicht rigide betrachtet. Auch hier wurden die entsprechenden Atomtypen des pcff30-Kraftfeldes zugeordnet

und eine Geometrie-Optimierung über mindestens 5000 Schritte bzw. bis zum Erreichen des Konvergenzkriteriums mit dem Smart-Algorithmus durchgeführt, wobei bei einigen Stoffen, z.B. Wasser oder Isopropanol, das Konvergenzkriterium deutlich früher erreicht wurde.

Die Größe des Kristalls begrenzt gleichzeitig den zur Verfügung stehenden Adsorptionsraum. Je größer der zur Verfügung stehende Raum für die Platzierung neuer Moleküle ist, desto aufwendiger und rechenintensiver wird die Berechnung. Da die Adsorption der Arzneistoffe und Lösungsmittelmoleküle an Cellulose untersucht werden soll, wurde der Adsorptionsraum vom Nullpunkt in Richtung A um 20% eingeschränkt (d.h. unterhalb des Modells) (Sorption-Modul, *Constraint*-Routine), um Rechenzeit einsparen zu können. Eine Adsorption an der Unterseite der Modelle war trotzdem möglich. Von der untersten Schicht werden lediglich an 6 Strängen jeweils ~ 5 Glucoseeinheiten nicht berücksichtigt (entspricht ~ 5% der Glucoseeinheiten an der Oberfläche)

#### **4.6.2 Vergleich Metropolis- und Configurational bias-Algorithmus**

Im Sorption-Modul stehen für die Durchführung der Monte-Carlo-Simulationen prinzipiell zwei verschiedene Algorithmen zur Verfügung (s. Kapitel 3.2.3 und 3.2.4). Um herauszufinden, welcher dieser beiden für die vorliegende Problemstellung der geeignete Algorithmus ist, wurde jede Methode am Modell mit 20% amorphem Anteil mit Ethacridin als Adsorbat getestet.

Dafür wurde die Simulationemethode mit konstant gehaltenem Druck (*Fixed pressure*) im Sorption-Modul ausgewählt. Bei dieser Methode steht der Adsorptionsraum mit einem virtuellen Reservoir an Adsorbat-Molekülen in Kontakt bei einem festgelegten Druck. Die Adsorbat-Moleküle können in den Adsorptionsraum hinein und heraus diffundieren bis ein Druckausgleich erfolgt ist. Während der Simulation können die Moleküle außerdem zufällig rotiert und verschoben werden. Damit ist es möglich, die maximale Beladung der Cellulose-Modelle bei einem definierten Druck zu untersuchen. Adsorbate können hierbei nur als ungeladene Moleküle berechnet werden. Die Temperatur wird ebenfalls konstant gehalten bei 298K.

Es sollten beide Algorithmen bei einem Druck von 1,6 kPa getestet werden über eine Simulationsdauer von 100 000 Equilibrierungsschritten, die zur Einstellung

des Druckes dienen, und 1 000 000 Produktionsschritte, die zur Platzierung an günstigen Stellen dienen. Zur Auswertung wird jeweils nur die Produktionsphase herangezogen.

Bei der Verwendung des Metropolis-Algorithmus bricht die Simulation im ersten Drittel der Produktionsphase bei einer Beladung von ungefähr 415 Ethacridin-Molekülen ab. Das System ist dabei schon dicht besetzt, aber die Beladung ist noch nicht in einem equilibrierten Zustand, so dass auf jeden Fall noch weiter gerechnet werden müsste.

Bei der Verwendung der Configurational bias-Methode erfolgt die Erzeugung neuer Anordnungen effektiver und somit können gerade in dicht besetzten Systemen immer noch freie Position gefunden werden (s. Kapitel 3.2.3). Dies zeigt sich auch bei der durchgeführten Simulation. Im Gegensatz zum Metropolis-Algorithmus wird die Berechnung über die geforderte Schrittzahl zu Ende geführt. Die Beladung ist höher und liegt am Ende bei 475 Ethacridin-Molekülen. Die Kurve flacht gegen Ende ab und steigt nur noch minimal (um 9 Ethacridin-Moleküle in den letzten 200 000 Schritten) (s. Abbildung 4.37). Für eine vollständige Equilibrierung wäre es aber nötig, die Schrittzahl zu vergrößern. Zur Bewertung der beiden Algorithmen reicht diese Rechendauer aber aus.

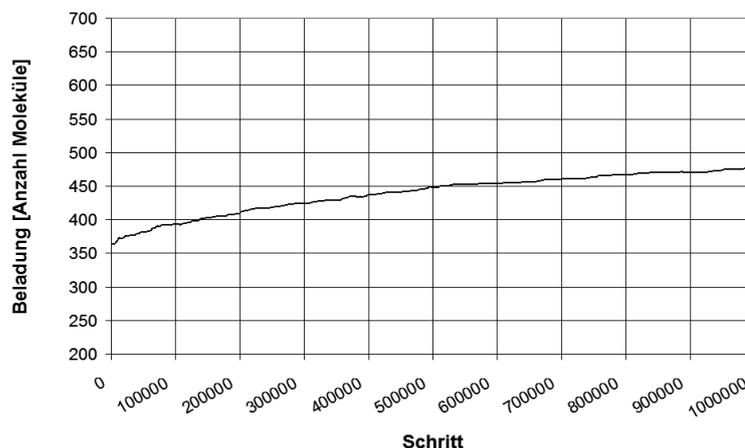


Abbildung 4.37: Verlauf der Beladung bei Verwendung der Configurational-bias-Methode. Verwendet wurde Ethacridin als Adsorbat und Cellulose mit 20% amorphem Anteil als Adsorbens. Ab einer Schrittzahl von 500 000 Schritten flacht die Kurve merklich ab und die Beladung steigt nur noch langsam um vereinzelte Moleküle.

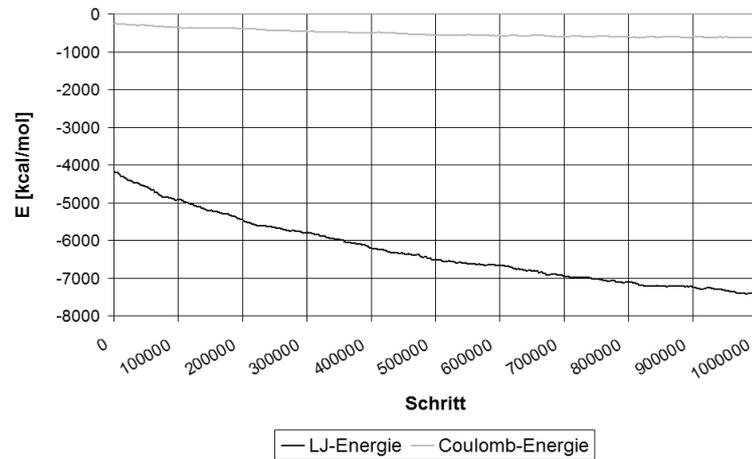


Abbildung 4.38: Verlauf der Wechselwirkungsenergie der nicht-gebundenen Atome bei Verwendung der Configurational-bias-Methode aufgeschlüsselt nach LJ-Energie und elektrostatischer Coulomb-Energie. Die starken Wechselwirkungen der Ethacridin-Moleküle beruhen hauptsächlich auf dispersiven Wechselwirkungen (schwarze Kurve), der Beitrag der elektrostatischen Wechselwirkungen (graue Kurve) ist gering.

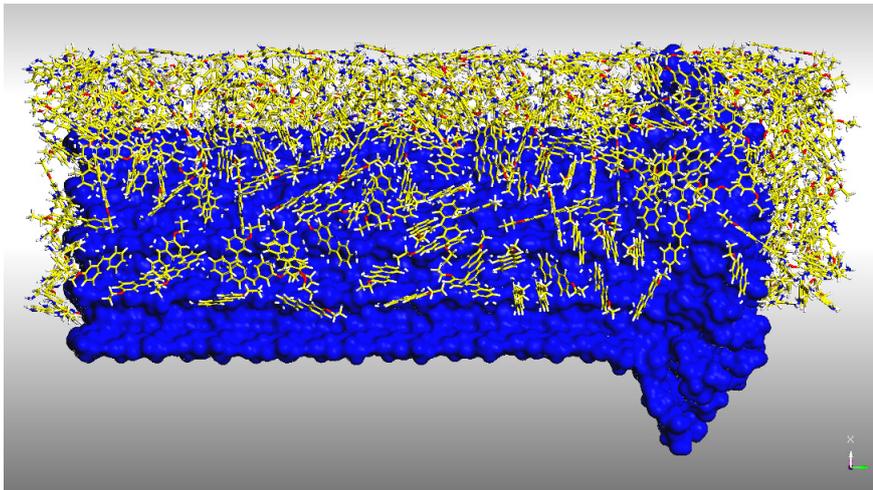


Abbildung 4.39: Beladung mit Ethacridin-Molekülen bei Verwendung der Configurational-bias-Methode. Das Cellulose-Modell mit 20% amorphem Anteil ist hier als Connolly-Oberfläche (blau) dargestellt. Der Adsorptionsraum ist dicht besetzt mit Ethacridin-Molekülen (gelb), wobei die meisten Moleküle nicht mit den Cellulose-Oberflächen wechselwirken, sondern eine Mehrschicht-Adsorption stattfindet und damit eine Wechselwirkung der Ethacridin-Moleküle untereinander. Die günstigen Wechselwirkungen der Ethacridin-Moleküle untereinander begründen sich sicherlich auf der rigiden und planaren Struktur der aromatischen Ringe. Dementsprechend überwiegen die dispersiven LJ-Energien (s. Abbildung 4.38). Außerdem liegen die Arzneistoff-Moleküle nach außen ungeladen vor, so dass es zu keiner Abstoßung durch positive Ladung kommt.

Innerhalb dieser beiden durchgeführten Simulationen mit den beiden verschiedenen Algorithmen hat sich gezeigt, dass der Configurational-bias-Algorithmus für die vorliegende Problemstellung geeigneter ist, da die Simulation über eine größere Schrittzahl problemlos möglich ist. Außerdem lässt er eine höhere Beladung des Adsorptionsraumes zu und das System gelangt schneller in einen

equilibrierten Beladungszustand. Auf Grundlage dieser Untersuchung wird der Configurational-bias-Algorithmus in allen weiteren Berechnungen verwendet.

### **4.6.3 Validierung des Programms mit Wasser**

Bevor das Programm Materials Studio für eine Adsorption von Arzneistoffen herangezogen werden konnte, sollte zunächst die Vorhersagekraft und Güte des Algorithmus getestet werden. Dazu sollte die Adsorption von Wasserdampf an Cellulose nachempfunden werden, da hier ausreichend experimentelle Daten zur Verfügung stehen.

Im Experiment werden sog. Sorptionsisothermen gemessen, die den Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt von Feststoffen und dem ihm entsprechenden Gleichgewichtsdampfdruck, ausgedrückt durch die relative Luftfeuchtigkeit im umgebenden Gasraum, für eine bestimmte Temperatur wiedergeben [46]. Der Vorgang der Dampfaufnahme wird Sorption genannt. Die Menge des sorbierten Wasserdampfs ist abhängig vom Partialdampfdruck im Gasraum. Es ergibt sich für Cellulose-Materialien ein sigmoider Kurvenverlauf (Typ II) (s. Abbildung 4.40), der bei nicht-porösen oder makroporösen Adsorbentien typisch ist [118] [119] [120]. Bei beginnender Sorption wird zunächst eine Monoschicht an der Oberfläche gebunden, die durch den ersten Wendepunkt repräsentiert wird. Nachfolgend werden bei steigendem Druck Multischichten gebildet [121].

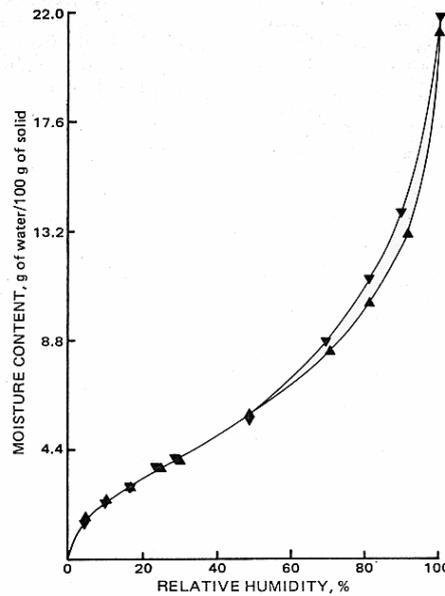


Abbildung 4.40: Sorptionsisotherme für Mikrokristalline Cellulose (Avicel pH 101, FMC Corp., Marcus Hook, Pa.) bei 25°C [118]. Der enthaltene Wassergehalt [g/100g Mikrokristalline Cellulose] ist gegen die Relative Luftfeuchtigkeit [%] aufgetragen. In höheren Druckbereichen weichen die Kurven der Adsorption (▲) und Desorption (▼) voneinander ab, was als Hysterese bezeichnet wird und typisch für Cellulose-Wasser-Systeme ist [118] [122].

Für die Simulation der Wassersorption wurde ebenfalls die Berechnungsmethode bei konstantem Druck gewählt (*Fixed pressure*). Es wurde jeweils eine Simulation mit dem 20%- und dem 40%-Modell durchgeführt. Ein angelegter Partialdruck von 1,6 kPa für Wasser bei 298K entspricht einer relativen Luftfeuchte (*RH*) von 50% im Experiment, errechnet aus dem Sättigungsdampfdruck für Wasser bei 25°C (3,168 kPa [123]). Über das Molekulargewicht wurde aus den experimentellen Daten [118] für das eingesetzte Cellulose-Modell die Beladung mit Wassermolekülen bei 50% RH errechnet. Es ergab sich ein Wert von ~ 554 Wassermolekülen.

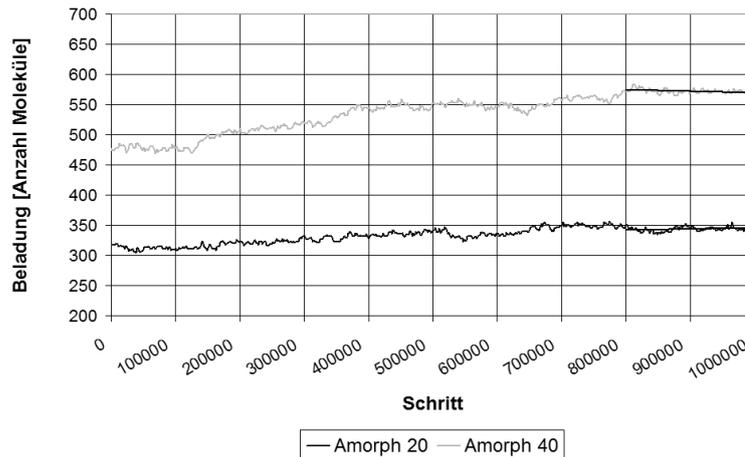


Abbildung 4.41: Vergleich der maximalen Beladung mit Wasser zwischen dem 20%- (schwarz) und 40%-Modell (grau). Die Beladung ist gegen Ende der Berechnung equilibriert und schwankt nur noch minimal (Steigung  $10^{-5}$ ). Ausgewertet wurden die letzten 200 000 Schritte.

Die Simulation wurde jeweils über 100 000 Equilibrierungsschritte zum Druckausgleich und im Anschluss über 1 000 000 Produktionsschritte, in denen die günstigsten Adsorptionsstellen besetzt werden, mit dem Configurational-bias-Algorithmus durchgeführt.

Insgesamt liegt die Beladung mit Wasser bei dem Modell mit 20% amorphem Bereich mit durchschnittlich 343 Molekülen deutlich unter dem experimentellen Wert von 554 Molekülen. An das Modell mit 40% amorphem Anteil wurden während der Simulation durchschnittlich 572 Wasser-Moleküle adsorbiert, was einer Abweichung vom experimentellen Wert von  $\sim 3\%$  entspricht. Diese Abweichung liegt in einem akzeptablen Rahmen für eine Kraftfeld-Simulation und spricht dafür, dass das Programm in der Lage ist, eine Adsorption an Cellulose einigermaßen realistisch wieder zu geben.

Außerdem entspricht das 40%-Modell eher den realen Verhältnissen innerhalb der Mikrokristallinen Cellulose und innerhalb des Experimentes, da die Anzahl der adsorbierten Wassermoleküle im 20%-Modell deutlich zu niedrig ausfällt. Dementsprechend wird im Folgenden nur noch mit dem Modell mit 40% amorphem Anteil weiter gearbeitet.

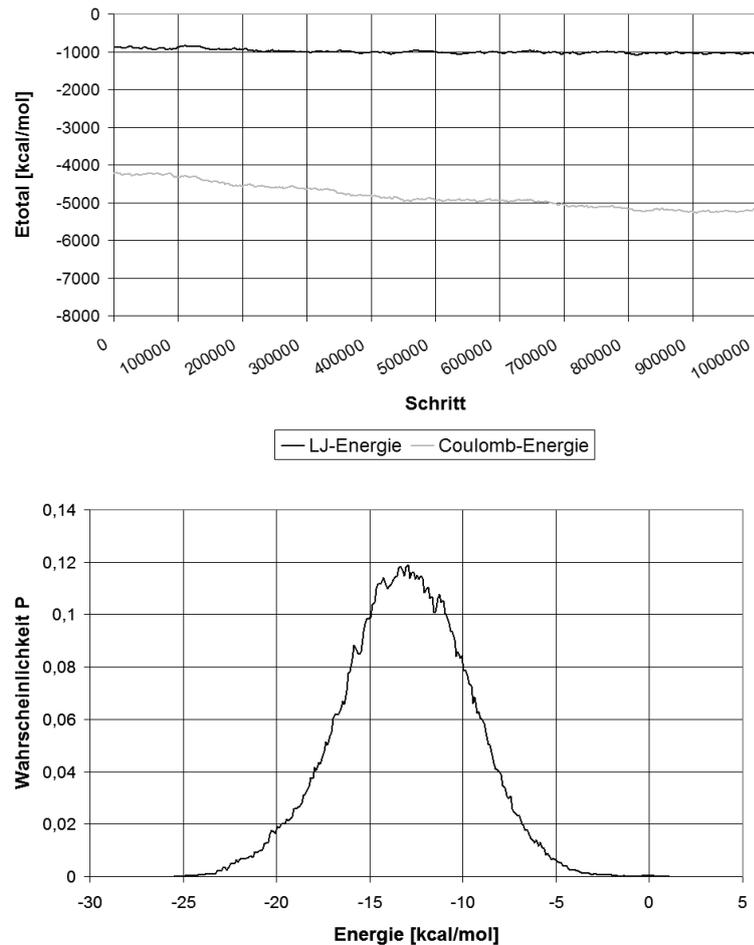


Abbildung 4.42: Verlauf der Wechselwirkungsenergie von Wasser mit dem 40%-Cellulose-Modell, aufgeschlüsselt nach dispersiven (schwarz) und elektrostatischen Energien (grau) (oben). Es überwiegen deutlich die elektrostatischen Coulomb-Energien. Die meisten Wassermoleküle lieferten eine Wechselwirkungsenergie von -12,95 kcal/mol (unten).

Im Vergleich der Wechselwirkungsenergie der nicht-gebundenen Atome, durchgeführt für das 40%-Modell (s. Abbildung 4.42), überwiegen deutlich die elektrostatischen Interaktionsenergien. Das Wasser ist dabei nicht gleichmäßig über das Modell verteilt, sondern die hauptsächliche Adsorption findet im amorphen Anteil statt (s. Abbildung 4.43).

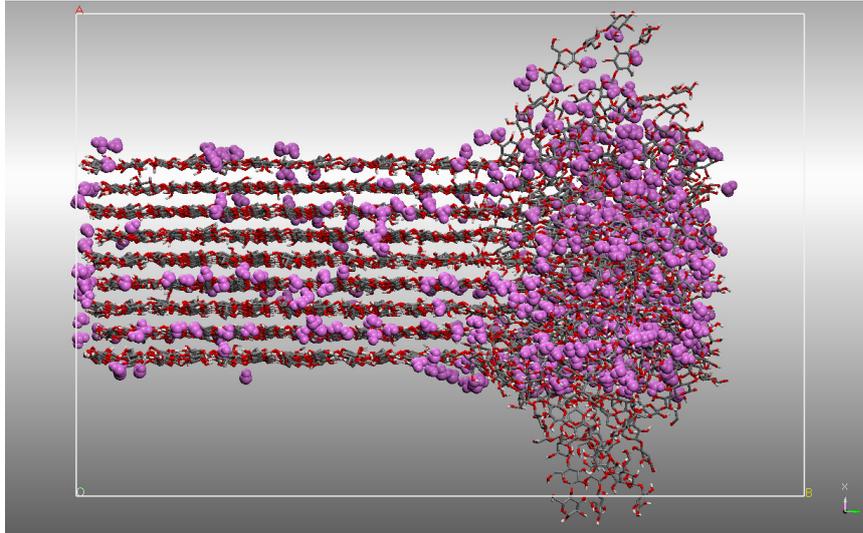


Abbildung 4.43: Verteilung der Wassermoleküle (rosa) über die verschiedenen Cellulose-Oberflächen beim 40%-Modell. Es erfolgt keine gleichmäßige Verteilung über die Flächen.

Das Wasser kann aufgrund seiner geringen Größe gut in die Höhlen zwischen den Strängen im amorphen Bereich eindringen (s. Abbildung 4.44), wie auch schon in den Moleküldynamiksimulationen mit Wasser und Isopropanol gezeigt werden konnte. Die Interaktionsmöglichkeiten sind in der aufgelösten Cellulosestruktur deutlich größer als im kristallinen Bereich und so kann die Anzahl der ausgebildeten Wasserstoffbrücken in diesem Bereich optimiert werden, weshalb eine bevorzugte Adsorption im amorphen Anteil stattfindet.

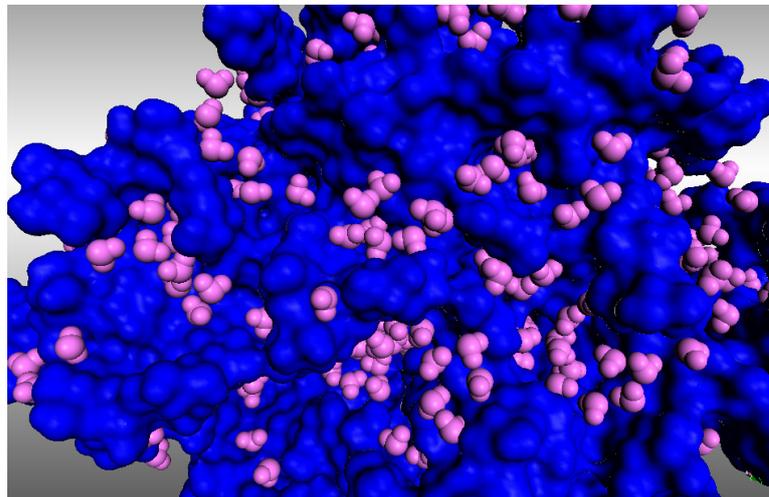


Abbildung 4.44: Verteilung der Wassermoleküle (rosa) im amorphen Teil des 40%-Modells. Die Darstellung der Cellulose erfolgt als Connolly-Oberfläche (blau) mit Blick auf das amorphe C1-Ende. Es ist zu erkennen, dass die Wassermoleküle gut in die entstandenen Zwischenräume zwischen den Cellulosesträngen eindringen können und auch sehr tief bis an das Ende des Zwischenraumes gelangen können.

Ein Vergleich der adsorbierten Wassermoleküle an den verschiedenen Bereichen des Amorph 40-Modells macht dies deutlich (s. Tabelle 4.8). Von den 572 Wasser-Molekülen befinden sich 368 am amorphen Teil (64%), während 204 Moleküle an allen anderen Flächen des kristallinen Teils sitzen. Im kristallinen Teil sitzen die meisten Moleküle an den beiden 010-Flächen (insgesamt 100 Moleküle), hier jeweils in den Vertiefungen der eingerückten Stränge. An den beiden schrägen Flächen finden sich insgesamt 53 Moleküle, hier wird die „weite“ 110-Fläche (30 Moleküle) gegenüber der „engen“ 1-10-Fläche (23 Moleküle) bevorzugt. An den hydrophoben Ober- und Unterseiten sitzen jeweils 16 Wasser, am kristallinen C4-Ende finden sich 19 Moleküle.

Tabelle 4.8: Vergleich der Anzahl der adsorbierten Wassermoleküle am Amorph 40-Modell aufgeschlüsselt nach amorphem und kristallinen Bereich. Der kristalline Bereich wurde ebenfalls noch mal unterteilt in die einzelnen Flächen. Die 010-Fläche kommt zweimal im Modell vor, ebenso die hydrophobe Ober- und Unterseite 200. Hier wurden die Anzahl der Wassermoleküle jeweils zusammengefasst.

Fläche	Anzahl der adsorbierten Wassermoleküle
<b>Gesamt:</b>	572
<b>Amorph</b>	368 = 64%
<b>Kristallin</b>	204
<b>2 x 010</b>	100
<b>110</b>	30
<b>1-10</b>	23
<b>2 x 200</b>	32
<b>C4-Ende</b>	19

Insgesamt passen die Ergebnisse gut zu den in der Literatur beschriebenen Verhältnissen, in denen davon ausgegangen wird, dass Wasser nicht in Schichten an Cellulose adsorbiert, sondern selektiv an günstigen Adsorptionsstellen [124, 125]. Untersucht wurde hier die Adsorption von Wasser mittels Konformationsanalyse, sowohl an kristalliner Cellulose I als auch an amorpher Cellulose. Beeinflusst auch durch die Umgebung (z.B. sterische Hinderung, Position anderer störender oder wasserstoffbrückenbildender Gruppen) haben nicht alle Stellen die gleiche Fähigkeit, Wassermoleküle zu binden. Zunächst werden die stärksten Bindungsstellen besetzt, dann nach und nach die etwas weniger gün-

stigen. Bei sehr starken Adsorptionsstellen kann es vorkommen, dass ein zweites Molekül an ein schon gebundenes bindet, bevor eine weitere freie Stelle an der Cellulose besetzt wird. Je stärker die Bindungsstelle, desto mehr Wasserschichten werden gebunden, allerdings werden nicht mehr als drei Wassermoleküle an einer Stelle gebunden, da dann die Wechselwirkungsenergie einer Wasser-Wasser-Wechselwirkung gleicht. Ebenfalls wird beschrieben, dass eine Adsorption am amorphen Bereich attraktiver ist als am kristallinen Bereich aufgrund der besseren Erreichbarkeit der Cellulose-Ketten und damit der Hydroxylgruppen. Dadurch liefert eine Bindung im amorphen Bereich mehr günstige Wechselwirkungsenergie als am kristallinen Bereich und die Adsorption erfolgt bevorzugt in diesem Teil, was sich auch im Ergebnis der Wassersorption mit dem Programm Materials Studio widerspiegelt (s. Abbildung 4.45).

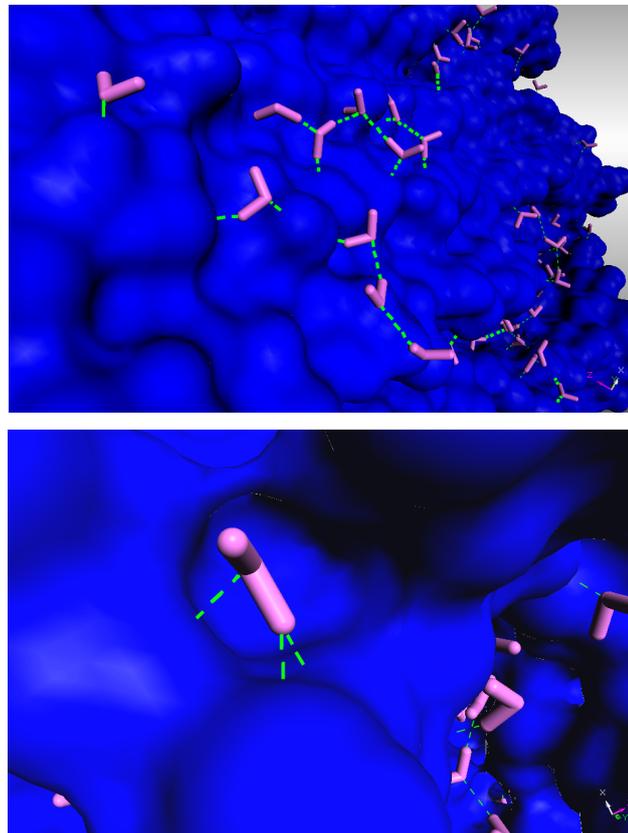


Abbildung 4.45: Vergleich der Wasserstoffbrückenbindungen (grün) im kristallinen Bereich (oben) und im amorphen Bereich (unten).

In der Simulation bestätigt sich generell die Annahme einer selektiven Adsorption an günstige Stellen, im Gegensatz zur Adsorption in Schichten (s. Abbildung 4.45). Erkennbar ist die Tendenz eine möglichst große Anzahl an Wasserstoffbrücken auszubilden, eher seltener wird nur eine ausgebildet. Häufig werden mindestens zwei ausgebildet, entweder beide zur Cellulose oder zu einem

zweiten Wassermolekül. Im oberen Bild bestätigt sich die Aussage aus der Literatur [124, 125], dass maximal drei Wasserschichten entstehen. Es wurde keine Position im Modell gefunden, wo mehr Wassermoleküle miteinander wechselwirkten. Im unteren Bild sind die größeren Wechselwirkungsmöglichkeiten im amorphen Bereich erkennbar. Durch die Aufweitung der Cellulosestränge ist es hier möglich, dass ein Wassermolekül, drei Wasserstoffbrücken ausbilden könnte, im kristallinen Teil konnte keine vergleichbare Position gefunden werden, hier gibt es maximal zwei Wasserstoffbrücken zur Cellulose.

#### 4.6.4 Rechnungen mit Isopropanol

Bei den durchgeführten MD-Simulationen mit den Cellulose-Modellen wurde neben Wasser auch Isopropanol als Lösungsmittel verwendet. Nachdem sich das Programm in einer Simulation der Wasseradsorption als geeignet erwies, sollte nun eine Adsorption von Isopropanol getestet werden.

Isopropanol wurde wie in Kapitel 4.6.1 beschrieben, zunächst in der *Sketch*-Routine gebaut, mit passenden Atomtypen versehen und dann minimiert. Die Simulation wurde unter den gleichen Bedingungen wie bei Wasser mit einem Partialdruck von 1,6 kPa bei 298 K durchgeführt, um die Ergebnisse mit der Adsorption von Wasser vergleichen zu können.

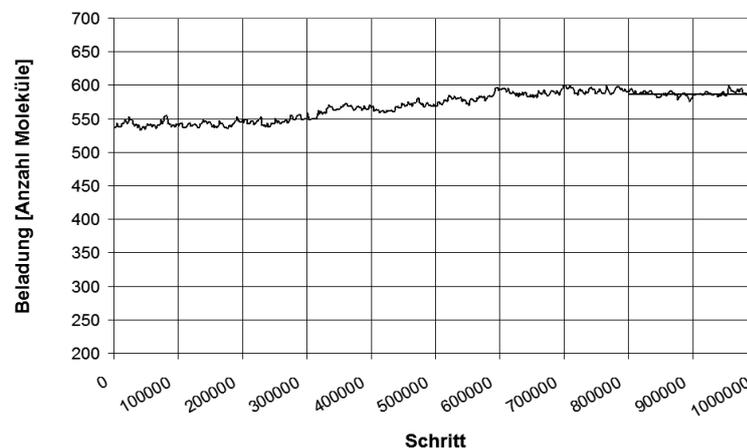


Abbildung 4.46: Verlauf der maximalen Beladung mit Isopropanol beim 40%-Modell. Die Beladung ist gegen Ende der Berechnung equilibriert und schwankt nur noch minimal (Steigung  $10^{-6}$ ). Ausgewertet wurden hier die letzten 200 000 Schritte.

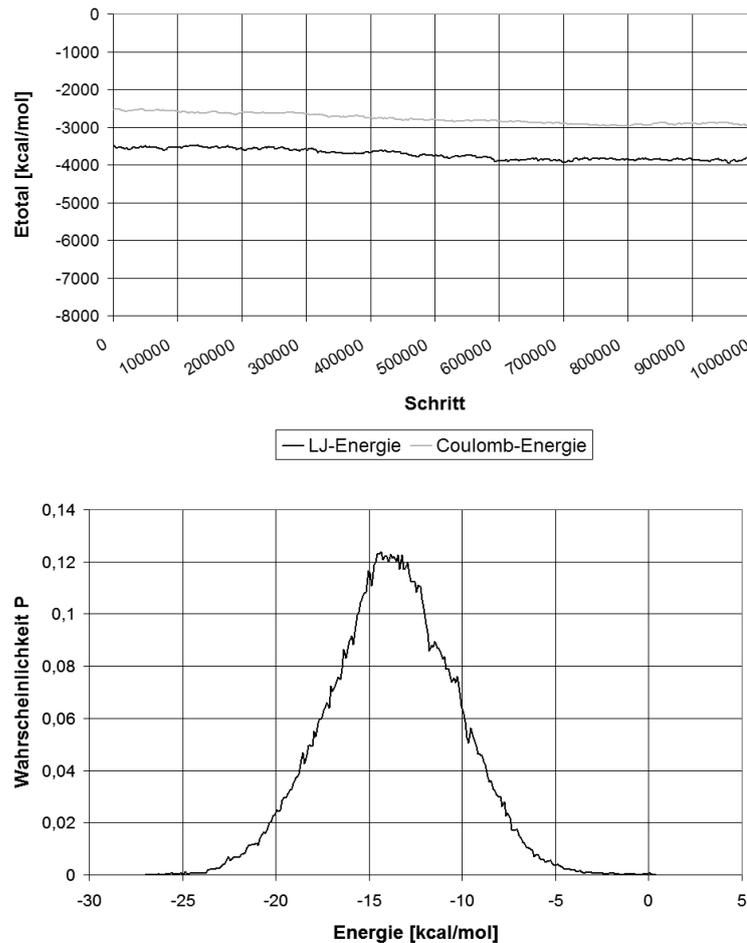


Abbildung 4.47: Verlauf der Wechselwirkungsenergie von Isopropanol mit dem 40%-Cellulose-Modell, aufgeschlüsselt nach dispersiven (schwarz) und elektrostatischen Energien (grau) (oben). Es überwiegt im Gegensatz zu Wasser die LJ-Energie, da die Methylgruppen des Isopropanol hier die dominierenden Wechselwirkungsmöglichkeiten darstellen. Aufgrund der Hydroxylgruppen im Isopropanol können aber auch gut elektrostatische Interaktionen eingegangen werden, so dass der Unterschied zwischen beiden Energien weniger deutlich ausfällt als bei Wasser. Die meisten Isopropanolmoleküle lieferten eine Wechselwirkungsenergie von -14,35 kcal/mol (unten).

Insgesamt liegt die durchschnittliche Beladung bei 587 Isopropanol-Molekülen über die letzten 200 000 Schritte. Damit liegt sie um 15 Moleküle höher als bei der Simulation mit Wasser. Dies ist dadurch erklärbar, dass auch die hydrophobe Ober- und Unterseite des Modells von Isopropanol-Molekülen besetzt werden, welche bei Wasser nur ganz geringfügig eine Rolle als Adsorptionsflächen spielen (s. Abbildung 4.48), da Wasser hauptsächlich elektrostatische Wechselwirkungen eingeht.

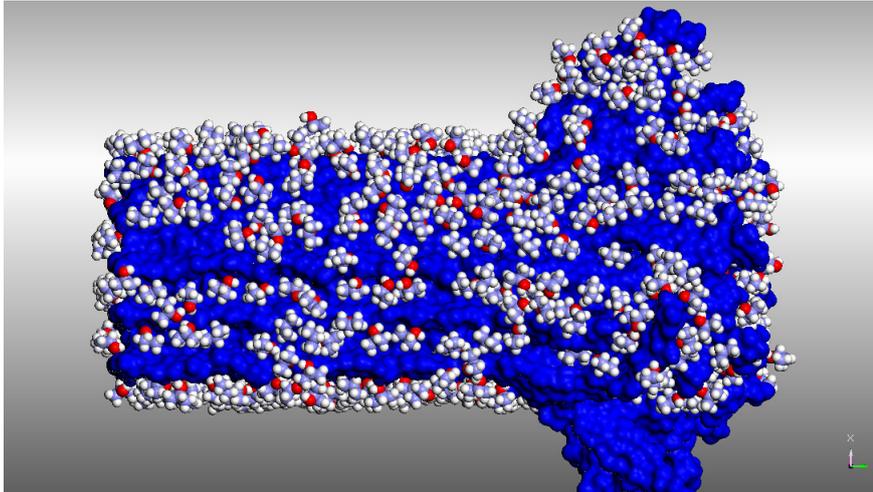


Abbildung 4.48: Verteilung der Isopropanol-Moleküle (Farbcodierung: Kohlenstoff hellblau, Sauerstoff rot, Wasserstoff weiß) auf der Oberfläche des Amorph 40-Modell (blau). Die Lösungsmittelmoleküle sind relativ gleichmäßig auf den kristallinen Flächen des Cellulose-Modells verteilt (010-Flächen insgesamt 102 Moleküle, Ober- und Unterseite insgesamt 144 Moleküle, 110-Fläche 70 Moleküle, 1-10-Fläche 71 Moleküle, C4-Ende 17 Moleküle). Im Gegensatz zu Wasser (s. Abbildung 4.43) wird hier nicht der amorphe Anteil bevorzugt (183 Moleküle), sondern überwiegend wird am kristallinen Teil adsorbiert (404 Moleküle= 69%). Es werden auch die hydrophoben Ober- und Unterseiten sehr stark besetzt, die beim Wasser zum Großteil ausgespart wurden.

Tabelle 4.9: Vergleich der Anzahl der adsorbierten Isopropanolmoleküle am Amorph 40-Modell aufgeschlüsselt nach amorphem und kristallinen Bereich. Der kristalline Bereich wurde ebenfalls noch mal unterteilt in die einzelnen Flächen. Die 010-Fläche kommt zweimal im Modell vor, ebenso die hydrophobe Ober- und Unterseite 200. Hier wurden die Anzahl der Wassermoleküle jeweils zusammengefasst.

Fläche	Anzahl der adsorbierten Isopropanolmoleküle
<b>Gesamt:</b>	587
<b>Amorph</b>	183
<b>Kristallin</b>	404 = 68%
<b>2 x 010</b>	102
<b>110</b>	70
<b>1-10</b>	71
<b>2 x 200</b>	144
<b>C4-Ende</b>	17

Es zeigt sich ein anderes Bild als bei der Adsorption von Wasser (s. Tabelle 4.9). Hier wird überwiegend der kristalline Anteil statt der amorphe Teil zur Adsorption genutzt (68% aller Moleküle), da Isopropanol aufgrund seiner Größe

(Volumen  $127,7 \text{ \AA}^3$  [48]) kaum in die Höhlen zwischen den aufgeweiteten Cellulosesträngen im amorphen Bereich eindringen kann, was bei Wasser aufgrund der geringen Größe sehr gut möglich war (Volumen  $14,6 \text{ \AA}^3$  [126]). Außerdem bieten sich an den kristallinen Flächen, besonders an Ober- und Unterseite (200-Fläche), hydrophobe Wechselwirkungsmöglichkeiten an, die gegenüber den elektrostatischen Interaktionen bei Isopropanol auch dominierend sind (s. Abbildung 4.47 oben). Hier werden deutlich mehr Moleküle platziert. Die Adsorption in den Vertiefungen der 010-Fläche ist annähernd gleich, da die Rinnen genug Platz auch für die Isopropanol-Moleküle bieten.

#### 4.6.5 Simulated Annealing mit Procain-HCl

Im Anschluss an die Simulation der Adsorption von reinen Lösungsmitteln, sollte nun eine „Arzneistofflösung“ an Mikrokristalliner Cellulose adsorbiert werden, d.h. der Arzneistoff sollte im Gemisch mit Wasser in das System gegeben werden. Als erster Arzneistoff wurde Procain-HCl ausgewählt.

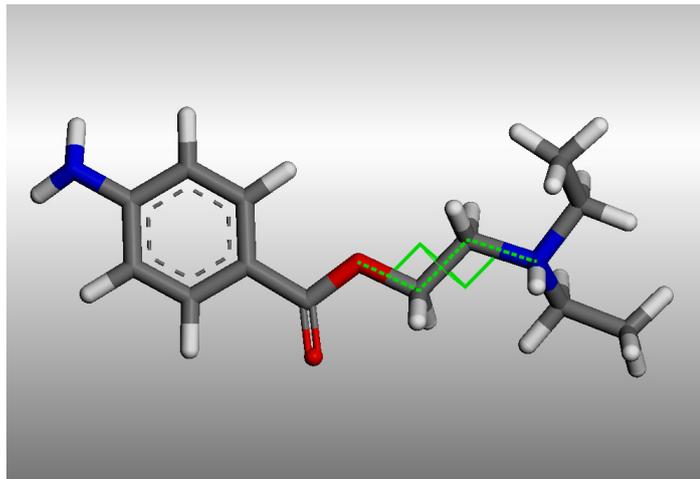


Abbildung 4.49: Darstellung des Arzneistoffes Procain (Farbcodierung: Kohlenstoffe grau, Stickstoffe blau, Sauerstoffe rot, Wasserstoffe weiß). Es ist ein Lokalanästhetikum von Typ der basischen 4-Aminobenzoesäureester. Die Diethylaminofunktion hat einen  $pK_s$ -Wert von 9 [127], so dass der Arzneistoff als Salz in einer wässrigen Lösung protoniert vorliegt. Ein Torsionswinkel (gepunktete Linie) wurde als freidrehbar definiert und hatte nach der Energieminimierung einen Wert von  $174,372^\circ$ .

Procain wurde mit der *Sketch*-Routine gebaut und der aliphatische Stickstoff protoniert. Es wurden die entsprechenden Atomtypen zugeordnet und im Anschluss eine Energieminimierung durchgeführt (s. Kapitel 4.6.1).

Als Rechenroutine wurde das Simulated Annealing ausgewählt (*Locate Task*) (s. Kap. 3.2.5), da hier im Gegensatz zu den anderen Simulationsmethoden im

Sorption-Modul die Möglichkeit besteht, die Adsorbate geladen zu berechnen, indem als Methode für die Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkungen die Ewald Summation verwendet wird. Die Berechnung geladener Moleküle ist wichtig, um die Bedingungen im Experiment, wo Procain in wässriger Lösung als Salz verwendet wird, nachempfinden zu können. Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass bei dieser Rechenmethode die Konzentration der Arzneistoff-Lösung über die Anzahl der jeweils verwendeten Moleküle genau eingestellt werden kann.

Da auch hier der Configurational-bias-Algorithmus verwendet wird, kann ein Torsionswinkel für das Procain als frei drehbar definiert werden (s. Abbildung 4.49). Dieser wird dann im Verlauf der Simulation zufällig variiert, wodurch eine gewisse Flexibilität in der Seitenkette der Moleküle gewährleistet wird.

Aus vorhergehenden Rechnungen ist bekannt, dass eine Beladung mit 1000 Wassermolekülen im System mit genügend hoher Rechengeschwindigkeit berechnet werden kann. Geht man darüber hinaus, gelangt man an die Grenze der Rechenkapazität. Deshalb wurden 1000 Wassermoleküle zugrunde gelegt und die Anzahl der Procain-Moleküle für eine 10%ige Arzneistofflösung berechnet. Dementsprechend wurden 7 Procain-Moleküle und 1000 Wassermoleküle als Beladung eingestellt.

Wie in Kapitel 3.2.5 dargestellt, muss das Annealing-Protokoll unter Beachtung einiger Vorgaben für jedes System in einem *trial-and-error*-Verfahren ermittelt werden. Daher wurden zunächst einige Tests bezüglich der Aufheiztemperatur, der Schrittzahl pro Zyklus und der Anzahl der Zyklen durchgeführt. Für die Aufheiztemperatur erwies sich die Verwendung der automatischen Temperaturkontrolle als geeignet, da sonst keine zufälligen Startpositionen zu Beginn eines neuen Zyklus gefunden wurden und die Moleküle in einem lokalen Minimum gefangen blieben. Die Anzahl der Schritte und Zyklen wird begrenzt durch den Rechenaufwand. Hier zeigte sich eine Simulation über insgesamt 2 000 000 Schritte, aufgeteilt in 10 Zyklen, als geeignet, so dass langsam genug abgekühlt wird und der Rechenaufwand akzeptabel ist. Näheres zum Annealing-Protokoll findet sich im Anhang F2.

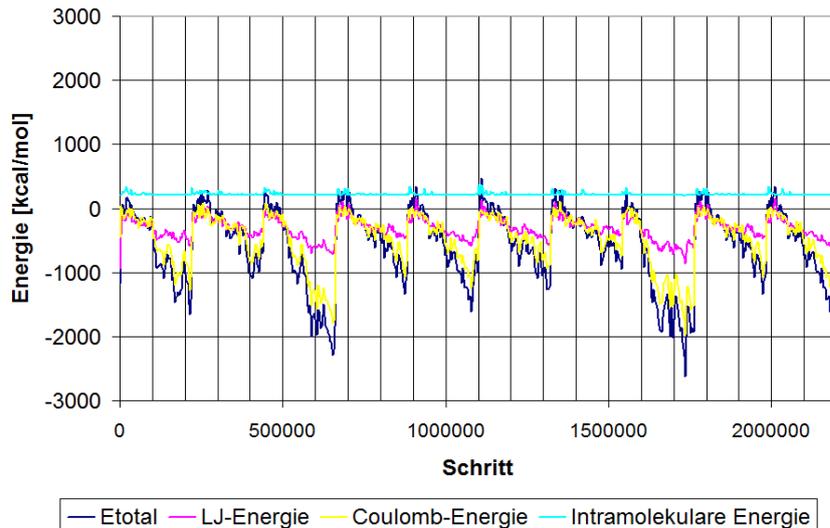


Abbildung 4.50: Vergleich der Energien in den einzelnen Zyklen beim Simulated Annealing mit Procain-HCl. Insgesamt wurden 10 Zyklen durchgeführt mit 200 000 Schritten pro Zyklus. Es ist gut zu erkennen, dass lokale Minima durch Verwendung der Configurational-bias-Methode immer wieder auf der Suche nach einem besseren Minimum überwunden werden können. Die intramolekulare Energie (türkis) schwankt geringfügig, da durch Veränderung des Torsionswinkels energetisch unterschiedliche Konformationen möglich sind. Im Zyklus 8 nimmt die Totale Energie (blau) den günstigsten Wert ein, die energetisch günstigste Struktur wird herausgeschrieben und automatisch minimiert. Bei Procain überwiegen die elektrostatischen Wechselwirkungen (gelb) gegenüber den dispersiven LJ-Energien (rot).

Von allen 10 Zyklen wird die insgesamt energetisch günstigste Struktur (hier aus Zyklus 8) herausgeschrieben und einer automatischen Minimierung über 10 000 Schritte mit dem Smart-Algorithmus unterworfen. Diese energetisch günstigste Struktur wird im Anschluss zu weiteren Auswertungen herangezogen. Die Totale Energie des Systems beträgt nach der Minimierung -10 540 kcal/mol. Um nun die Wechselwirkungsenergie der Procain-Moleküle mit dem Cellulose-Modell berechnen zu können, wurden zunächst alle Wassermoleküle aus dem System gelöscht, um den Einfluss des Wasser zu eliminieren, und die Totale Energie erneut ermittelt. Diese betrug nun -108,27 kcal/mol ( $E_{\text{Total}}$ ). Dann wurde die intramolekulare Energie der Procain-Moleküle berechnet, indem die Cellulose aus dem System gelöscht wurde. Diese betrug 169,56 kcal/mol ( $E_{\text{intra}}(\text{AS})$ ). Daraus lässt sich die durchschnittliche Wechselwirkungsenergie zwischen Cellulose und Procain ( $E_{\text{inter}}(\text{Cell}+\text{AS})$ ) nach Formel (4.1) berechnen. Dabei setzt sich die Totale Energie  $E_{\text{Total}}$  aus der intramolekularen Energie des Arzneistoffes  $E_{\text{intra}}(\text{AS})$ , der intramolekularen Energie der Cellulose  $E_{\text{intra}}(\text{Cell})$  und der Wechselwirkungsenergie zwischen Arzneistoff und Cellulose zusam-

men  $E_{\text{inter}}(\text{Cell}+\text{AS})$ . Die intramolekulare Energie der Cellulose ( $E_{\text{intra}}(\text{Cell})$ ) wird vom Programm automatisch auf 0 gesetzt.

$$\begin{aligned} E_{\text{total}} &= E_{\text{intra}}(\text{AS}) + E_{\text{intra}}(\text{Cell}) + E_{\text{inter}}(\text{Cell} + \text{AS}) \\ \Leftrightarrow E_{\text{inter}}(\text{Cell} + \text{AS}) &= E_{\text{total}} - E_{\text{intra}}(\text{AS}) - E_{\text{intra}}(\text{Cell}) \end{aligned} \quad (4.1)$$

$\text{AS} = \text{Arzneistoff}, \text{Cell} = \text{Cellulose}$

$$E_{\text{inter}}(\text{Cell} + \text{AS}) = -108,27 - 169,56 - 0 = -227,83 \text{ kcal/mol} \quad (4.2)$$

Insgesamt ergibt sich damit eine durchschnittliche Wechselwirkungsenergie für die 7 Procain-Moleküle von -227,83 kcal/mol, d.h. je Procain-Molekül  $\sim -39,69$  kcal/mol (s. Formel (4.2)). Zur genaueren Betrachtung wurde die Wechselwirkungsenergie aufgeschlüsselt für die einzelnen Moleküle berechnet (s. Tabelle 4.10). Die einzelnen Moleküle zeigen deutliche Unterschiede je nach Position an den Cellulose-Oberflächen, die Spanne reicht vom günstigsten Wert mit -80,17 kcal/mol bis zum ungünstigsten Wert mit -9,80 kcal/mol. Insgesamt überwiegen bei fast allen Molekülen (außer bei Procain 1) die elektrostatischen Wechselwirkungen.

Tabelle 4.10: Vergleich der Wechselwirkungsenergie zwischen Procain und dem Amorph 40-Modell aufgeschlüsselt für die einzelnen Procain-Moleküle und in LJ-Energie und Coulomb-Energie. Die mit Abstand größte Wechselwirkungsenergie liefert das Molekül Procain 3, die wenigste Interaktionsenergie entsteht mit dem Molekül Procain 5. Außer bei Procain 1 überwiegen bei allen anderen deutlich die elektrostatischen Wechselwirkungen.

	<b><math>E_{\text{inter}}(\text{Cell}+\text{Procain})</math> gesamt [kcal/mol]</b>	<b>LJ-Energie [kcal/mol]</b>	<b>Coulomb-Energie [kcal/mol]</b>
<b>Procain 1</b>	- 20,50	- 12,85	- 7,65
<b>Procain 2</b>	- 34,36	- 15,06	- 19,30
<b>Procain 3</b>	- 80,17	- 21,53	- 58,64
<b>Procain 4</b>	- 55,43	- 6,77	- 48,66
<b>Procain 5</b>	- 9,80	1,04	- 10,85
<b>Procain 6</b>	- 39,11	- 7,80	- 31,31
<b>Procain 7</b>	- 35,81	- 13,16	- 22,65

Procain-HCl bietet aufgrund seiner Struktur verschiedene Wechselwirkungsmöglichkeiten. Um diese näher zu untersuchen, wurden lipophile und elektrostatische Potentiale mit dem Programm SYBYL berechnet (s. Abbildung 4.51). Der aromatische Ring bekommt nur leicht lipophile Eigenschaften (hellbraune Farbgebung) zugeordnet bzw. ist sogar fast neutral (grüne Farbgebung) im Vergleich zum aromatischen System bei Ethacridin. Dies begründet sich darauf, dass die Carbonylgruppe in para-Position einen Elektronenzug auf das freie Elektronenpaar der aromatischen Aminogruppe ausübt und somit die Elektronen in den aromatischen Ring gezogen werden, erkennbar an der negativen Ladungsdichte (blaue Farbgebung) rund um den Aromaten und die Carbonylgruppe beim elektrostatischen Potential. Zusätzlich befinden sich die  $\pi$ -Elektronen ober- und unterhalb der Ringebene des Aromaten und können somit ebenfalls elektrostatische Wechselwirkungen eingehen.

Die dunkelblaue Färbung beim Lipophilie-Potential zeigt die Hydrophilie des protonierten Stickstoffes an, ebenso sind die Ethylseitenketten kaum lipophil (hellblaue Färbung). Im elektrostatischen Potential zeigt sich die lokalisierte positive Ladung am protonierten Stickstoff (rot). Die jeweils endständigen Methylgruppen der Ethylseitenketten tragen am Kohlenstoff eine negative Ladung (hellblau), die Wasserstoffe sind leicht positiv geladen, so dass auch hier elektrostatische Wechselwirkungen mit den Hydroxylgruppen der Celluloseketten eingegangen werden können.

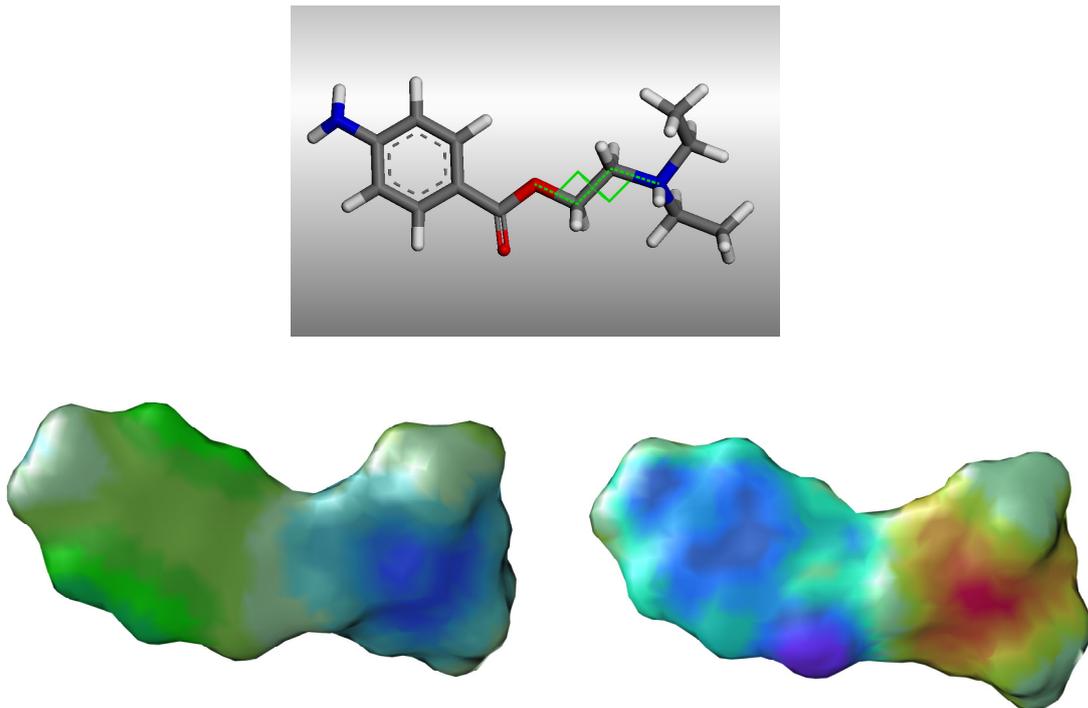


Abbildung 4.51: Darstellung des lipophilen Potentials (links) und des elektrostatischen Potentials (rechts) von protoniertem Procain auf einer Connolly-Oberfläche. Beide Potentiale wurden mit dem Programm SYBYL [98] berechnet. Für die Berechnung des elektrostatischen Potentials wurden Punktladungen zugrunde gelegt, die zuvor quantenchemisch mit dem Programm SPARTAN [128] mit dem Basissatz 6-31G\* berechnet wurden nach zuvor durchgeführter Geometrieoptimierung mit dem gleichen Basissatz. Farbcodierung links: dunkelblaue Bereiche = hydrophil, hellbraun = leicht lipophile Bereiche, grün = neutral, Farbcodierung rechts: blaue Bereiche = negativ geladen, rote bis gelbe Bereiche = positiv geladen, grüne Bereiche = neutral.

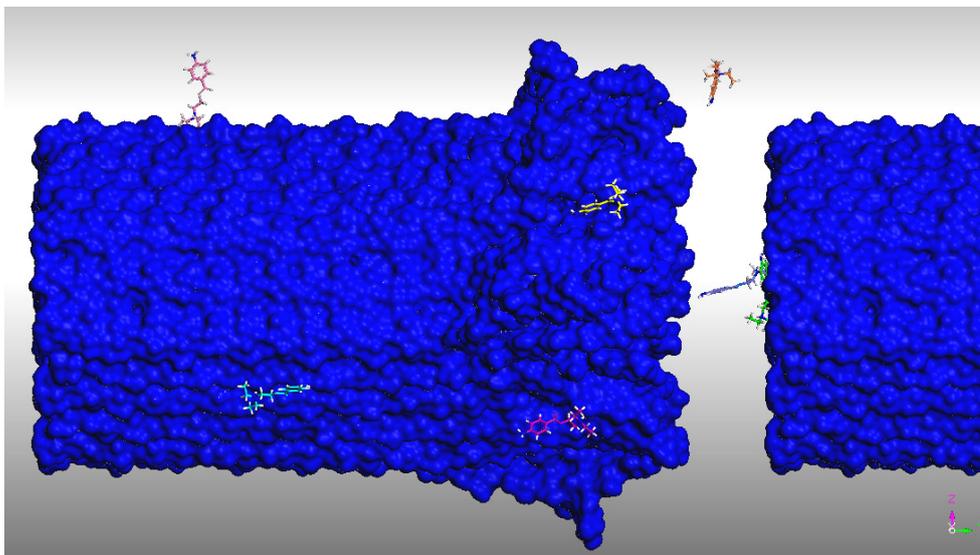


Abbildung 4.52: Überblick über die Positionen der Procain-Moleküle an den Cellulose-Oberflächen. Zur besseren Unterscheidung wurde jedes der 7 Procain-Moleküle in einer anderen Farbe dargestellt. Da das Cellulose-Modell als periodischer Kristall berechnet wird, beginnt das Modell am Ende der Simulationsbox auf jeder Achse erneut, so dass die Moleküle, die am kristallinen C4-Ende sitzen am rechten Modell dargestellt werden. Das Wasser wurde zur besseren Übersicht ausgeblendet.

Es fällt auf, dass die meisten Moleküle nicht am amorphen Teil sitzen, wo durch die Aufweitung der Stränge die Hydroxylgruppen in größerer Zahl frei zugänglich sind (s. Abbildung 4.52), sondern am regelmäßiger aufgebauten kristallinen Teil. Dies lässt sich dadurch erklären, dass die Procain-Moleküle aufgrund ihrer Größe nicht in die Höhlen im amorphen Teil eindringen können, wie dass auch schon bei den Isopropanol-Molekülen der Fall war. Allerdings sind die Procain-Moleküle noch einmal erheblich größer als Isopropanol. Dementsprechend kann sich der Arzneistoff nur von außen an den amorphen Teil legen und hier ist aufgrund der unregelmäßigen Oberfläche die Kontaktfläche deutlich kleiner als an den regelmäßig aufgebauten kristallinen Flächen. Außerdem passt sich Procain aufgrund seines Aufbaus mit zwei voluminösen Gruppen an den Enden (Aromat und Diethylaminogruppe) und dazwischen einer Kette, die den Abstand überbrückt, sehr gut in die Furchen an der kristallinen Fläche, besonders am C4-Ende, mit den alternierend herausstehenden Strängen (s. Abbildung 4.53). Das Procain-Molekül 3 (grün) zeigt mit  $-80,17$  kcal/mol die günstigste Wechselwirkungsenergie mit der Cellulose. Hier passt sich das Molekül sehr gut in die Vertiefungen zwischen den Strängen am C4-Ende ein. Die freien Elektronenpaare der beiden Sauerstoffatome in der Esterfunktion liegen günstig um Wechselwirkungen mit den Hydroxylgruppen an C4 einzugehen.

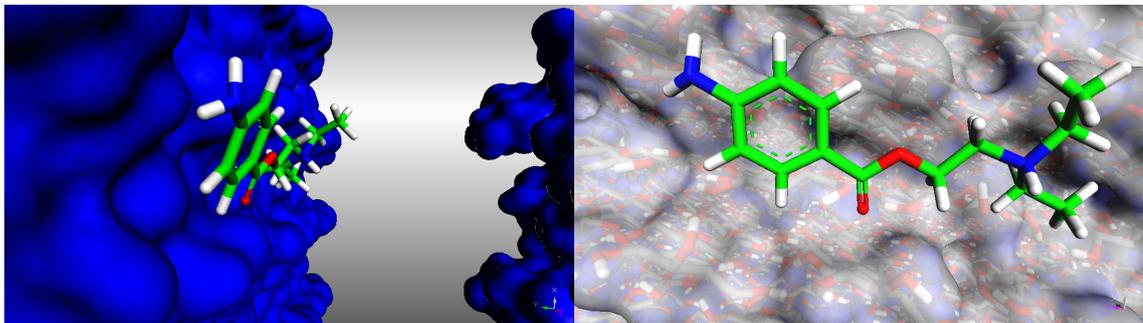


Abbildung 4.53: Position von Procain 3 am kristallinen C4-Ende, welches insgesamt die günstigste Wechselwirkungsenergie mit  $-80,17$  kcal/mol liefert. Einmal mit Blick von der Seite in den Zwischenraum (links) und einmal mit frontalem Blick auf das Molekül (rechts) dargestellt. Besonders in der Darstellung rechts ist zu erkennen, dass das Molekül mit den voluminösen Endgruppen in den Zwischenräumen vor den eingerückten Strängen liegt und die Seitenkette in der Furche zwischen den herausstehenden Strängen.

Ein Molekül (Procain 4) liegt genau im Zwischenraum zwischen dem amorphen Teil des eigentlichen Modells und dem kristallinen C4-Ende seines periodischen Abbildes (s. Abbildung 4.54). Die Wechselwirkungen finden hauptsächlich durch die Diethylaminoseitenkette mit dem kristallinen C4-Ende statt. Eine Messung

des Abstandes zum amorphen Ende ergibt einen Abstand von mindestens 8,8Å. Somit ist der Einfluss der funktionellen Gruppen des amorphen Endes des einen Modells vernachlässigbar und die günstige Wechselwirkungsenergie beruht auf der Interaktion mit dem C4-Ende. Wenn in dieser Position „doppelte“ Wechselwirkungen zu spüren wären, würden sich hier vermutlich mehrere Moleküle anordnen. Eine mögliche Interaktion der Carbonylfunktion dürfte nur sehr schwach ausfallen, da der Abstand zur Oberfläche des C4-Endes 6-7 Å beträgt.

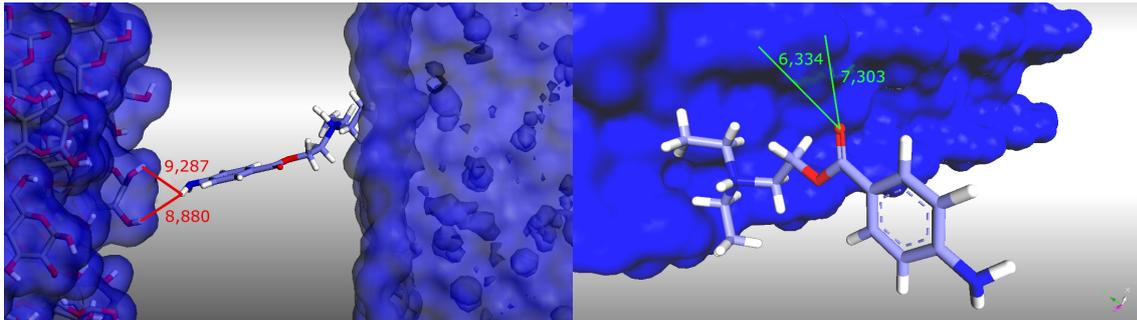


Abbildung 4.54: Position von Procain 4 (WW-Energie gesamt -55,43 kcal/mol, davon LJ-Energie -6,77 kcal/mol und Coulomb-Energie -48,66 kcal/mol), welches genau im Zwischenraum zwischen dem amorphen Ende des Modells in der eigentlichen Simulationsbox und dem C4-Ende des periodischen Abbildes sitzt. Links wurde der Abstand der aromatischen Aminogruppe zu den Wasserstoffatomen der Hydroxylgruppen am amorphen Ende gemessen (9,287 Å bzw. 8,880 Å). Rechts wurde der Abstand der Carbonylfunktion zur Oberfläche am C4-Ende gemessen (6,334 bzw. 7,303 Å), da optisch der Eindruck entsteht, es könnte eine Wechselwirkung stattfinden.

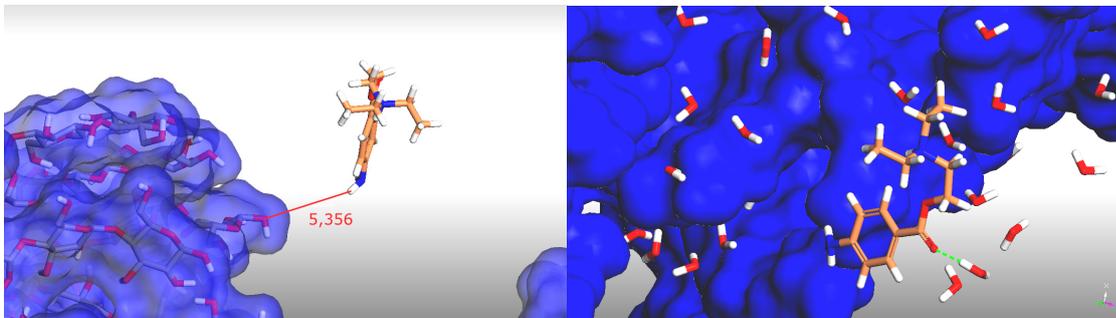


Abbildung 4.55: Position von Procain 5, welches mit einer Wechselwirkungsenergie von -9,80 kcal/mol die wenigste Wechselwirkungsenergie liefert. Das Molekül sitzt mit einem Abstand von 5,356 Å, gemessen vom Wasserstoff am aromatischen Amin zum Sauerstoff einer Hydroxylgruppe (links), am amorphen Teil des Cellulose-Modells. Rechts dargestellt ist das Arzneistoffmolekül in seiner wässrigen Umgebung. Es bildet eine Wasserstoffbrücke zu einem Wassermolekül aus und ist von mehreren Wassermolekülen umgeben. Dementsprechend finden hauptsächlich Wechselwirkungen zum Wasser und kaum zur Cellulose statt, bedingt durch den großen Abstand zur Cellulose.

Das Molekül, welches die wenigste Wechselwirkungsenergie liefert, ist Procain 5 (s. Abbildung 4.55). Es sitzt am amorphen Teil mit einem Abstand von 5,4 Å zur Cellulose-Oberfläche. Trotz dieses Abstandes liefert es noch eine elektro-

statische Energie von  $-10,85$  kcal/mol, woran die Stärke dieser Wechselwirkungen auch über diese Distanz zu erkennen ist. Die hydrophoben Wechselwirkungen sind sogar abstoßend, weshalb die Gesamtenergie nur  $-9,80$  kcal/mol beträgt.

Bei fast allen Molekülen überwiegen die elektrostatischen Interaktionen, nur bei Procain 1 besteht der größere Anteil aus LJ-Energie (s. Abbildung 4.56). Das Molekül sitzt in einer Vertiefung oben am amorphen Teil der Cellulose-Oberfläche. Die Hauptwechselwirkung geht vom aromatischen Ring aus, der in der Vertiefung zwischen zwei Cellulosesträngen eingebettet ist und mit den aliphatischen Wasserstoffen der Cellulose in Interaktion treten kann. Dementsprechend erklären sich die überwiegend hydrophoben Wechselwirkungen. Die Carbonylfunktion des Esters bildet eine Wasserstoffbrücke zu einem Wasserstoff einer Hydroxylgruppe der Cellulose aus und liefert damit wahrscheinlich den Hauptteil der elektrostatischen Energie. Die Diethylaminoseitenkette steht oberhalb der Cellulose-Oberfläche aus der Vertiefung heraus und ist nicht an der Wechselwirkung beteiligt. Erkennbar ist auch, dass die Höhle noch tiefer ist und das Molekül noch weiter hineinrutschen könnte, um seine Wechselwirkungsmöglichkeiten zu optimieren. Die sperrigen Seitenketten verhindern das allerdings. Dies unterstützt die zuvor aufgestellte Theorie, dass die Wechselwirkungen im amorphen Bereich nicht so attraktiv sind, dadurch dass es zu einem Größenausschluss kommt und die erhöhte Zahl der Interaktionsmöglichkeiten zwischen den Cellulosesträngen nicht ausgenutzt werden kann. Daher positionieren sich die meisten Procain-Moleküle eher an den kristallinen Bereichen.

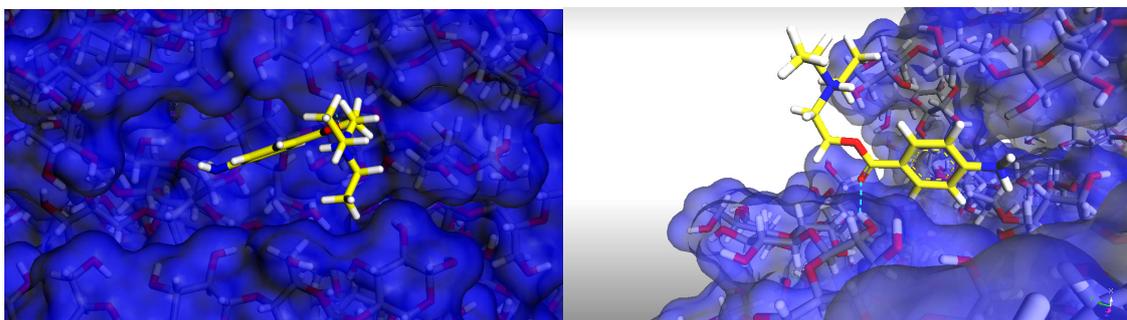


Abbildung 4.56: Position von Procain 1 an der Cellulose-Oberfläche. Die gesamte Wechselwirkungsenergie beträgt  $-20,50$  kcal/mol, der Anteil der LJ-Energie beträgt  $-12,85$  kcal/mol, der Anteil der Coulomb-Energie beträgt  $-7,65$  kcal/mol. Die gelieferte Energie ist niedriger als der Durchschnittswert und zeigt, dass eine Wechselwirkung mit dem aromatischen Ring weniger günstig als die Wechselwirkung über die Diethylaminokette mit dem protonierten Stickstoff ist, die z.B. bei Procain 5 die Hauptinteraktion darstellt und deutlich mehr Wechselwirkungsenergie liefert.

Ein weiteres Beispiel für die Interaktion an den kristallinen Flächen zeigt Procain 7, welches an der kristallinen 110-Fläche positioniert ist (s. Abbildung 4.57). Es legt sich mit der Diethylaminoseitenkette an die Oberfläche an, welches ebenfalls wieder die Hauptinteraktion bildet. Über den Wasserstoff des basischen Stickstoffs bildet sich eine Wasserstoffbrücke zum Sauerstoff einer Hydroxylgruppe der Cellulose mit einer Länge von 2,355 Å. Der aromatische Ring steht ungefähr in einem 45°-Winkel zur Seitenkette eher aufrecht auf der Cellulose-Oberfläche, so dass einerseits hydrophobe Wechselwirkungen über die Wasserstoffe denkbar sind, andererseits befinden sich die Hydroxylgruppen des oberen Cellulosestranges auf der Höhe der  $\pi$ -Elektronen des Aromaten in einem Abstand von 5-6 Å, so dass auch schwache elektrostatische Wechselwirkungen eine Rolle spielen.

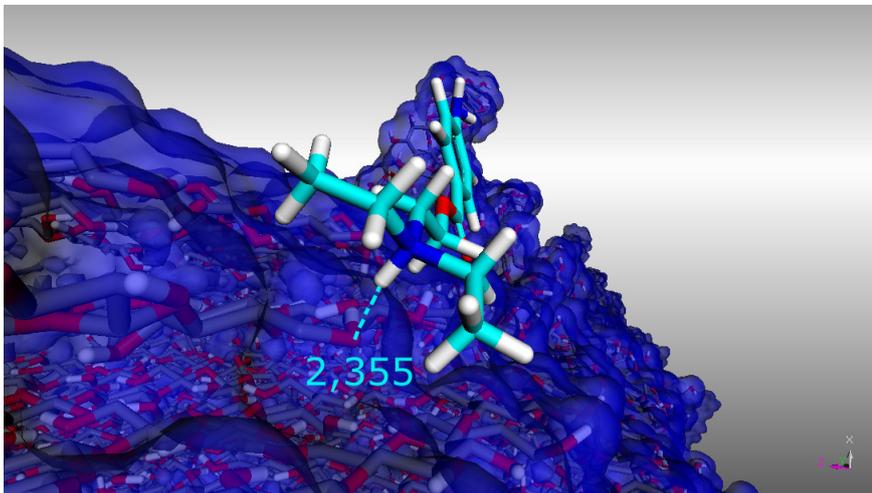


Abbildung 4.57: Position von Procain 7. Die gesamte Wechselwirkungsenergie beträgt -35,81 kcal/mol. Davon entfallen -13,16 kcal/mol auf disperse LJ-Energien und -22,65 kcal/mol auf elektrostatischen Coulomb-Energien. Über das Wasserstoffatom des protonierten Stickstoffes bildet sich eine Wasserstoffbrücke mit einem O6 der Cellulose aus mit einer Länge von 2,355 Å.

#### 4.6.6 Simulated Annealing mit Ethacridin-Lactat

Es sollte nun im Anschluss ein zweiter Arzneistoff adsorbiert werden und die Ergebnisse mit denen von Procain-HCl verglichen werden. Als zweiter Arzneistoff wurde Ethacridin-Lactat ausgewählt.

Ebenso wie Procain wurde Ethacridin mit der *Sketch*-Routine gebaut und der Pyridin-Stickstoff protoniert (s. Abbildung 4.58). Es wurden die entsprechenden Atomtypen zugeordnet und im Anschluss eine Energieminimierung durchgeführt (s. Kapitel 4.6.1).

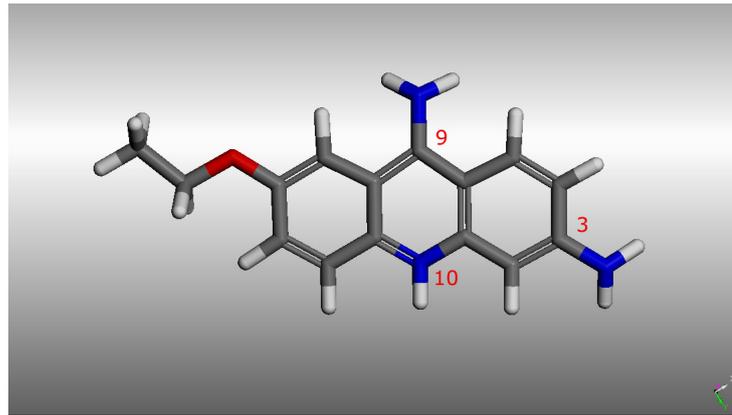


Abbildung 4.58: Darstellung des Arzneistoffes Ethacridin. Das Grundgerüst aus den drei aneinandergereihten Aromaten bzw. Heteroaromaten wird als Acridin oder Dibenzo[b,e]pyridin bezeichnet. Ethacridin ist ein Diaminoacridin und trägt an Position 3 und 9 jeweils eine Aminofunktion. Acridin hat einen  $pK_s$ -Wert von 5,6. Durch die Einführung der beiden Aminogruppen entstehen zwei phenyloge Amidin-Partialstrukturen, summarisch ergibt sich eine phenyloge Guanidin-Partialstruktur und die Basenstärke ist deutlich erhöht ( $pK_s = 11,04$ ) [127]. Dementsprechend liegt der Arzneistoff in wässriger Lösung protoniert vor und es entsteht ein über alle drei Stickstoffe mesomeriestabilisiertes Kation.

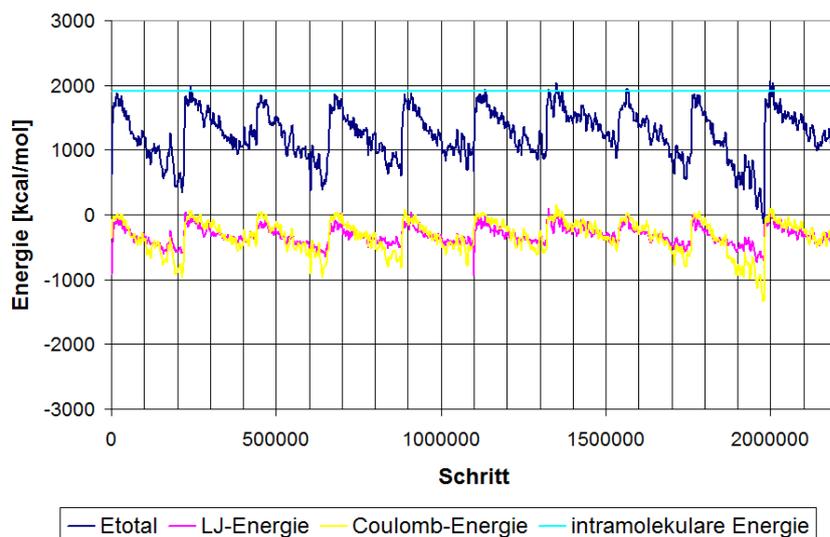


Abbildung 4.59: Vergleich der Energien der einzelnen Zyklen beim Simulated Annealing mit Ethacridin-Lactat. Insgesamt wurden 10 Zyklen durchgeführt, 200 000 Schritte pro Zyklus. Auch ist zu erkennen, dass das Prinzip des Algorithmus, immer wieder lokale Minima überwinden zu können, funktioniert. Die intramolekulare Energie (türkis) schwankt in diesem Fall nicht, da kein frei drehbarer Torsionswinkel definiert wurde. Die Totale Energie ist hier deutlich ungünstiger als bei Procain (s. Abbildung 4.50), da die intramolekulare Energie des Ethacridins sehr hoch ist. Außerdem liegen bei der Simulation von Ethacridin die LJ-Energien und die Coulomb-Energien auf sehr ähnlichem Niveau und die Wechselwirkungen beruhen sowohl auf hydrophoben als auch auf elektrostatischen Möglichkeiten.

Es wurde wie bei Procain auch ein Simulated Annealing durchgeführt (*Locate Task*) (s. Abbildung 4.59), mit den gleichen Einstellungen und dem gleichen Annealing-Protokoll (s. Anhang F2). Allerdings wurde aufgrund der Größe und

Rigidität des annellierten Ringsystems auf das Setzen eines frei drehbaren Torsionswinkels verzichtet, da so zusätzlich Rechenzeit eingespart werden konnte. Das System bestand wieder aus 1000 Wassermolekülen und zur besseren Vergleichbarkeit wurden auch hier wieder 7 Arzneistoffmoleküle verwendet.

Die energetisch günstigste Anordnung der Arzneistoffmoleküle findet sich in Zyklus 9 und wurde im Anschluss über 10 000 Schritte mit dem Smart-Algorithmus minimiert. Im Anschluss wurde diese Struktur zu weiteren Auswertungen herangezogen.

Die Totale Energie des Systems mit Wasser beträgt nach der Minimierung -8428 kcal/mol. Um den Einfluss des Wassers auszuschließen, werden alle Wassermoleküle aus dem System gelöscht und die Totale Energie neu berechnet ( $E_{\text{Total}} = 1744$  kcal/mol). Dann wurde die intramolekulare Energie der Ethacridin-Moleküle berechnet, indem die Cellulose aus dem System gelöscht wurde ( $E_{\text{intra}}(\text{AS}) = 1913$  kcal/mol). Die intramolekulare Energie der Cellulose ( $E_{\text{intraCell}}$ ) wird vom Programm automatisch auf 0 gesetzt. Daraus lässt sich die durchschnittliche Wechselwirkungsenergie entsprechend Formel (4.1) berechnen.

$$E_{\text{inter}}(\text{Cell} + \text{AS}) = 1744,94 - 1913,52 - 0 = -168,58 \text{ kcal/mol} \quad (4.3)$$

Insgesamt ergibt sich damit eine durchschnittliche Wechselwirkungsenergie für die 7 Ethacridin-Moleküle von -168,58 kcal/mol, d.h. je Ethacridin-Molekül  $\sim -24,08$  kcal/mol (Formel (4.3)). Damit zeigt Ethacridin durchschnittlich eine um 15,61 kcal/mol schlechtere Wechselwirkungsenergie pro Molekül als Procain.

Zur genaueren Betrachtung wurde die Wechselwirkungsenergie aufgeschlüsselt für die einzelnen Moleküle berechnet (s. Tabelle 4.11). Die einzelnen Moleküle zeigen je nach Position unterschiedlich gute Wechselwirkungen mit Cellulose, allerdings ist die Spanne deutlich geringer als bei Procain und reicht von -33,37 kcal/mol bis -10,75 kcal/mol im ungünstigsten Fall. Außerdem ist erkennbar, wenn man die Interaktionsenergie aufgeschlüsselt nach LJ-Term und Coulomb-Term betrachtet, dass hier deutlich die hydrophoben Wechselwirkungsenergien dominieren, was aufgrund des großen starren Ringsystems zu erwarten war. Die Höhe der elektrostatischen Energie variiert nur leicht, d.h. die Höhe der hy-

drophoben Wechselwirkungen bestimmt maßgeblich darüber, wie günstig eine Position ist.

Tabelle 4.11: Vergleich der Wechselwirkungsenergie zwischen Ethacridin und dem Amorph 40-Modell, aufgeschlüsselt für die einzelnen Ethacridin-Moleküle und in LJ-Energie und Coulomb-Energie. Die günstigsten Wechselwirkungen liefern die Moleküle 1 bis 3 mit recht ähnlichen Energiewerten. Ebenfalls noch auf ähnlichem Niveau liegt Ethacridin 4. Die wenigste Wechselwirkungsenergie liefert Ethacridin 6.

	$E_{\text{inter}}(\text{Cell}+\text{AS})$ gesamt [kcal/mol]	LJ-Energie [kcal/mol]	Coulomb-Energie [kcal/mol]
<b>Ethacridin 1</b>	- 28,11	- 27,11	- 1,00
<b>Ethacridin 2</b>	- 33,37	- 26,40	- 6,97
<b>Ethacridin 3</b>	- 29,48	- 26,62	- 2,87
<b>Ethacridin 4</b>	- 24,61	- 19,77	- 4,83
<b>Ethacridin 5</b>	- 17,61	- 12,95	- 4,65
<b>Ethacridin 6</b>	- 10,75	- 7,95	- 2,79
<b>Ethacridin 7</b>	- 18,56	- 14,63	- 3,93

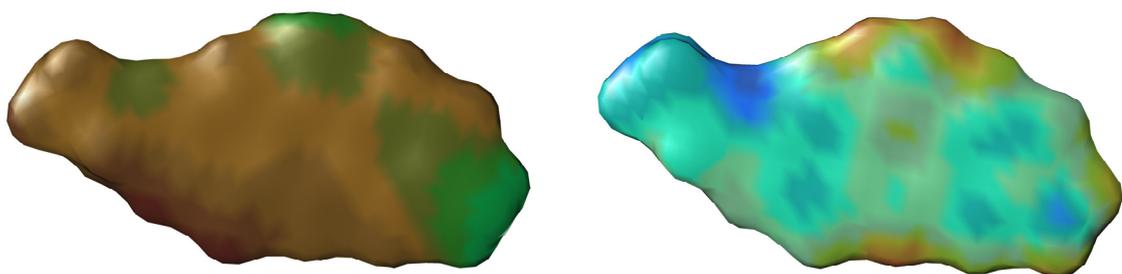
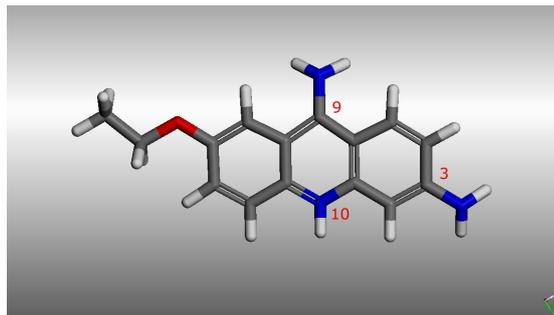


Abbildung 4.60: Darstellung des lipophilen Potential (links) und des elektrostatischen Potentials (rechts) von protoniertem Ethacridin auf einer Connolly-Oberfläche. Beide Potentiale wurden mit dem Programm SYBYL [98] berechnet. Für die Berechnung des elektrostatischen Potentials wurden Punktladungen zugrunde gelegt, die zuvor quantenchemisch mit dem Programm SPARTAN [128] mit dem Basissatz 6-31\* berechnet wurden, nach zuvor erfolgter Geometrieoptimierung mit dem gleichen Basissatz. Farbcodierung links: braun = lipophil, grün = neutral, Farbcodierung rechts = rote/gelbe Bereiche = positiv geladen, blaue Bereiche = negativ geladen, grüne Bereiche = neutral.

Ethacridin-Lactat bietet aufgrund seiner Struktur deutlich andere Interaktionsmöglichkeiten als Procain-HCl. Zur näheren Untersuchung wurden hier ebenfalls lipophile und elektrostatische Potentiale berechnet und auf einer Connolly-Oberfläche dargestellt, in Relation zum protonierten Procain-Molekül (s. Abbildung 4.60).

Es ist zu erkennen, dass das Ethacridin-Molekül deutlich lipophiler (braune Färbung) (links) ist, besonders an den aromatischen Ringen und an der Seitenkette mit der Ether-Funktion. Nur die beiden aromatischen Aminogruppen sind nicht lipophil (grüne Färbung). Da bei der Berechnung der lipophilen Eigenschaften keine Ladungen einbezogen werden, sondern alle funktionellen Gruppen nur lokal betrachtet werden, werden die beiden aromatischen Aminogruppen als gleichwertig betrachtet. Im Vergleich zum Procain finden sich hier keine hydrophilen Bereiche (blaue Färbung).

Bei der Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkungsmöglichkeiten (rechts) zeigt sich, dass die positive Ladung (rot bis gelb) nicht wie bei Procain lokalisiert am basischen Stickstoff sitzt, sondern zwischen allen drei Stickstoffen über die aromatischen Ringe verteilt sind. Negative Ladungen (blaue Bereiche) finden sich am Ethersauerstoff und am Stickstoff in Position 3. Hier zeigt sich, dass die beiden Aminogruppen nicht völlig gleiche Eigenschaften haben, da der Stickstoff an Position 9 deutlich weniger negativ geladen ist. Außerdem finden sich negative Ladungen dort, wo die  $\pi$ -Elektronen ober- und unterhalb der Ebene der Aromaten lokalisiert sind.

Auch beim Ethacridin sitzen mehr als die Hälfte der Moleküle an den kristallinen Oberflächen des Cellulose-Modells (s. Abbildung 4.61). Auch hier können die Arzneistoff-Moleküle aufgrund ihrer Größe nicht weit zwischen die aufgeweiteten Cellulosestränge eindringen. Außerdem ist die Kontaktfläche an den regelmäßigen kristallinen Flächen größer, wenn sich die planaren Ringe parallel zur Oberfläche legen, als an den unregelmäßigen Strukturen des amorphen Bereiches.

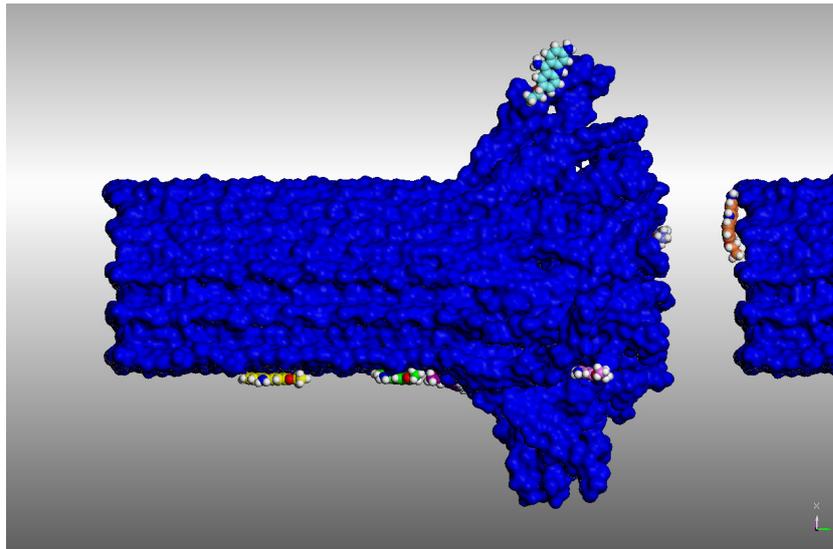


Abbildung 4.61: Überblick über die Positionen der Ethacridin-Moleküle an den Cellulose-Oberflächen. Das Wasser wurde zur besseren Übersicht ausgeblendet und die Moleküle zur besseren Unterscheidung in unterschiedlichen Farben eingefärbt. Vier Moleküle sitzen im kristallinen Bereich, drei davon an der hydrophoben Unterseite und eins am kristallinen C4-Ende. Die anderen drei befinden sich am amorphen Bereich.

Dementsprechend liegen drei Moleküle planar an der hydrophoben Unterseite des Cellulose-Modells, parallel zu den Glucoseringen der Cellulosestränge und gehen dort hydrophobe Wechselwirkungen mit den oberhalb der Glucoseringe liegenden aliphatischen Wasserstoffen ein. Dies sind auch die drei Moleküle, die die günstigsten Wechselwirkungsenergien liefern (s. Abbildung 4.62). Alle drei Moleküle zeigen fast den gleichen Anteil an hydrophober Interaktionsenergie, die Unterschiede beruhen fast gänzlich auf der Größe des elektrostatischen Energie-Terms. Dabei zeigt das lilafarbene Molekül den größten Anteil an elektrostatischer Wechselwirkungsenergie, da es nicht völlig planar liegt, sondern leicht schräg am beginnenden amorphen Teil. Der Abstand der Wasserstoffe an N-3 zum darunter liegenden Wasserstoff einer Hydroxylgruppe beträgt 2,3 Å. Die anderen beiden Moleküle zeigen fast identische Werte in der Gesamt-Wechselwirkungsenergie und haben auch sehr ähnliche Positionen, völlig planar zu der Ebene der Glucoseringe. Insgesamt sind beide Moleküle dabei etwas weiter von der Cellulose-Oberfläche entfernt als das lilafarbene Ethacridin 2, was mit einem entsprechenden Verlust an Wechselwirkungsenergie einhergeht. Ethacridin 3 (grün) hat einen Abstand von 3,4 Å von der Oberfläche (N-3 zu HO) und Ethacridin 1 (gelb) liegt 3,9 Å von der Oberfläche entfernt (N-3 zu HO).

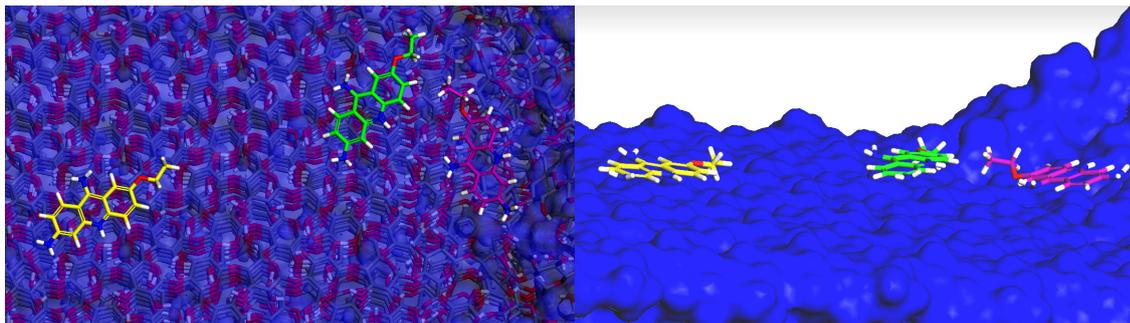


Abbildung 4.62: Position der drei günstigsten Adsorptionsstellen. Die größte Wechselwirkungsenergie liefert Ethacridin 2 (lila) (WW-Energie gesamt: -33,37 kcal/mol, LJ-Energie: -26,40 kcal/mol, Coulomb-Energie: -6,97 kcal/mol). Die zweitgünstigste Position nimmt Ethacridin 3 (grün) ein (WW-Energie gesamt: -29,48 kcal/mol, LJ-Energie: -26,62 kcal/mol, Coulomb-Energie: -2,87 kcal/mol). Die Position von Ethacridin 1 (gelb) ist fast gleichwertig (WW-Energie gesamt: -28,11 kcal/mol, LJ-Energie: 27,11 kcal/mol, Coulomb-Energie: -1,00 kcal/mol).

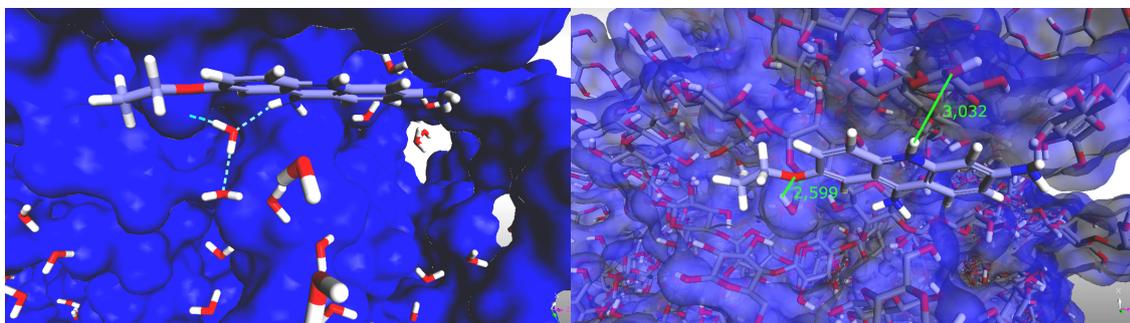


Abbildung 4.63: Position von Ethacridin 4 (blau). Die Gesamt-Wechselwirkungsenergie beträgt -24,61 kcal/mol und liegt noch nahe am Niveau der besten drei Positionen. Auch hier überwiegen die hydrophoben Interaktionen (LJ-Energie: -19,77 kcal/mol) deutlich die elektrostatischen Wechselwirkungen (Coulomb-Energie: -4,83 kcal/mol).

Das Molekül Ethacridin 4 (blau) sitzt in einer großen Öffnung am amorphen C1-Ende (s. Abbildung 4.63). Die Aminogruppe in Position 9 ist von der Cellulose-Oberfläche eigentlich relativ weit entfernt, bildet aber eine Wasserstoffbrücke mit einem in einer Vertiefung sitzenden Wassermolekül aus, welches eine zweite H-Brücke zur Cellulose ausbildet (links). Wechselwirkungen des Ethacridins direkt mit den Cellulosesträngen können aber auch stattfinden. Der Abstand des Ether-Sauerstoffs zu einem Wasserstoff einer Hydroxylgruppe HO beträgt 2,599 Å und vom protonierten N-10 zu einer weiteren OH-Gruppe 3,032 Å.

Ethacridin 5 (orange) zeigt noch mal 7 kcal/mol weniger Wechselwirkungsenergie als das zuvor gezeigte Ethacridin 4 (s. Abbildung 4.64). Es sitzt am kristallinen C4-Ende und kann sich aufgrund seiner starren Struktur nicht wie bei Procain an dieser Fläche gesehen, in die Rinnen dieser Oberfläche einbetten. Dementsprechend sitzt es planar vor den hervorstehenden Cellulosesträngen.

Die Ethylkette ragt leicht in die Vertiefung zwischen den Strängen hinein, so dass es hier zu günstigen hydrophoben Wechselwirkungen kommen kann. Zusätzlich gibt es hydrophobe Wechselwirkungen der aromatischen Ringe. Die beiden aromatischen Aminogruppen in Position 3 und 9 bilden über einen Wasserstoff jeweils eine Wasserstoffbrücke zu Hydroxylgruppen der herausstehenden Stränge aus. Dies liefert wahrscheinlich den Großteil der elektrostatischen Wechselwirkungsenergie von insgesamt  $-4,65$  kcal/mol.

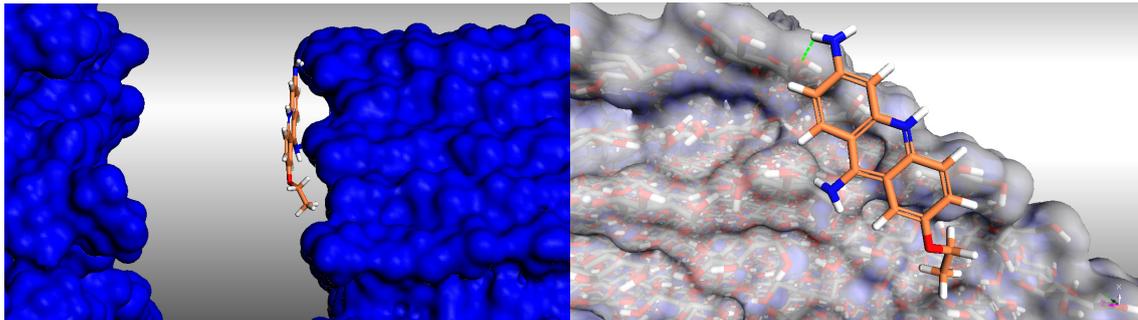


Abbildung 4.64: Position von Ethacridin 5 (orange). Die Gesamt-Wechselwirkungsenergie beträgt  $-17,61$  kcal/mol. Der LJ-Term ist mit  $-12,95$  kcal/mol nicht mal halb so groß wie bei den günstigsten Positionen. Der elektrostatische Anteil beträgt  $-4,65$  kcal/mol. Vom Ethacridin gehen zwei Wasserstoffbrücken zu Hydroxylgruppen der Cellulose aus (grün).

Das Molekül mit der geringsten Wechselwirkungsenergie ist Ethacridin 6 mit einer Gesamt-Wechselwirkungsenergie von  $-10,75$  kcal/mol (s. Abbildung 4.65). Es liegt mit den aromatischen Ringen voran in einem Zwischenraum seitlich im amorphen Bereich. Die Seitenkette zeigt aus der Vertiefung heraus und geht keine Wechselwirkungen ein. Die Aminogruppe an Position 3 liegt am weitesten zwischen den Strängen und bildet eine Wasserstoffbrücke über den Wasserstoff zu einer Hydroxylgruppe der Cellulose aus. Dies wird wahrscheinlich fast die gesamte elektrostatische Energie liefern ( $-2,79$  kcal/mol). Das Ringsystem besitzt nur sehr wenig Kontaktfläche mit der Cellulose, ober- und unterhalb der Ringebene sind große Freiräume, so dass hier kaum Wechselwirkungen zu erwarten sind. Einzig die Wasserstoffe der Ringe können hydrophobe Interaktionen mit der Cellulose eingehen. Hier ist gut zu erkennen, dass maßgeblich die hydrophoben Wechselwirkungen darüber entscheiden, wie günstig eine Adsorptionsstelle ist, da die elektrostatischen Energien bei Ethacridin nur eine untergeordnete Rolle spielen und nur in geringen Bereichen schwanken. Bei Ethacridin 6 gibt es aufgrund des großen Abstandes der Aromaten zur Cellulose nur

sehr geringe hydrophobe Wechselwirkungen, da sie nicht so weitreichend wie elektrostatische Wechselwirkungen sind und ab 4 Å kaum noch zu spüren sind.

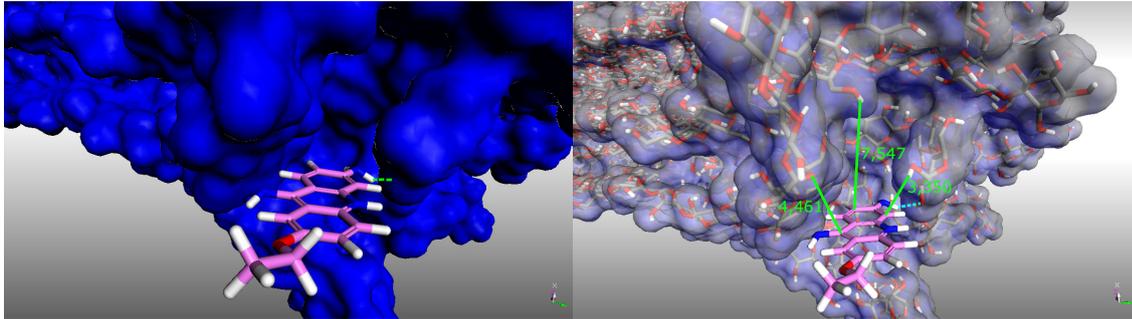


Abbildung 4.65: Position von Ethacridin 6. Die Gesamt-Wechselwirkungsenergie beträgt -10,75 kcal/mol (LJ-Energie: -7,95 kcal/mol, Coulomb-Energie: -2,79 kcal/mol). Diese Position, seitlich in einer Vertiefung des amorphen Teils, liefert die geringste Interaktionsenergie. Der Abstand zur Cellulose oberhalb der Ringebene beträgt 7,5 Å, unterhalb der Ringebene liegen keine Cellulosestränge. An den Seiten beträgt der Abstand 3 - 4,5 Å. Eine Wasserstoffbrücke (grün) wird von NH-3 zur OH-Gruppe von Cellulose ausgebildet.

## **5 DISKUSSION**

---



## 5.1 Koordinaten

Seit der Entdeckung der Cellulose 1838 [14] wird versucht, die komplexe Struktur dieses Biopolymers endgültig aufzuklären.

Trotz der Verwendung immer weiterentwickelter Untersuchungsmethoden, gibt es bis heute keine absolute Klarheit über die Kristallstruktur von Cellulose.

Dies stellt ein großes Problem bei der Anwendung computergestützter Methoden zur Untersuchung von Cellulose dar, da dreidimensionale Koordinaten benötigt werden, um ein Modell am Computer erstellen zu können. Je genauer die Strukturinformationen sind, desto verlässlichere Modelle können erstellt werden. Die ersten Unsicherheiten resultieren aus der Tatsache, dass man verlässlich nur auf Strukturinformationen der  $\beta$ -Cellobiose zurückgreifen kann und daraus Modelle für Cellulose aufbaut, unter der Annahme, dass die Verhältnisse im Cellulose-Polymer denen in der Cellobiose entsprechen.

Die wichtigsten Arbeiten bezüglich der Strukturaufklärung stammen aus den siebziger Jahren [2, 4] und wurden im Laufe der Zeit mit verschiedenen Techniken immer weiter verfeinert. Neuere Arbeiten klären meist nur noch Detailfragen dieser mittlerweile weitgehend akzeptierten Modelle. Daher ist davon auszugehen, dass alle wesentlichen Struktureigenschaften berücksichtigt sind, wenn Koordinaten zum Aufbau des Modells gewählt werden, die auf einer dieser beiden Arbeiten beruhen.

Die in dieser Arbeit verwendeten Koordinaten [90] stammen aus dem Jahr 2003 und gehören zu den neuesten Veröffentlichungen zu Beginn der vorliegenden Arbeit. Sie beruhen im Ursprung auf dem Modell von Gardner und Blackwell [2, 4], welche mittels  $^{13}\text{C}$  CP MAS NMR-Untersuchungen der chemical shifts im COSMOS-Kraftfeld verfeinert wurden.

Im Jahr 2002 waren zuvor Koordinaten für Cellulose I  $\beta$  erschienen [129], die sehr häufig in neueren Molecular-Modeling-Untersuchungen zum Aufbau eines Cellulose-Modells verwendet werden. Sie stammen aus Synchrotron- und Neutron-Beugungsuntersuchungen und haben eine Auflösung von 1 Å. Der Vorteil besteht darin, dass alle Positionen der wasserstoffbrückenbildenden Wasser-

stoffatome aufgeklärt werden konnten. Zur Aufklärung wurden Proben von Tunicin (*Halocynthia roretzi*) (Raumgruppe  $P2_1$ ,  $a = 7,784 \text{ \AA}$ ,  $b = 8,201 \text{ \AA}$ ,  $c = 10,38 \text{ \AA}$ ,  $\gamma = 96,5^\circ$ ) verwendet.

Die in dieser Arbeit verwendeten Koordinaten von Sternberg wurden mit den Koordinaten von Nishiyama verglichen. Beide enthalten jeweils zwei parallele Ketten pro Elementarzelle, deren Größe nur geringfügig unterschiedlich ist. Die Hydroxymethylgruppen liegen jeweils in *tg*-Konformation vor. Große Unterschiede zeigen sich beim Aufbau eines größeren Kristalls aus den Koordinaten, durchgeführt mit dem Programm SYBYL [98] (s. Abbildung 5.1).

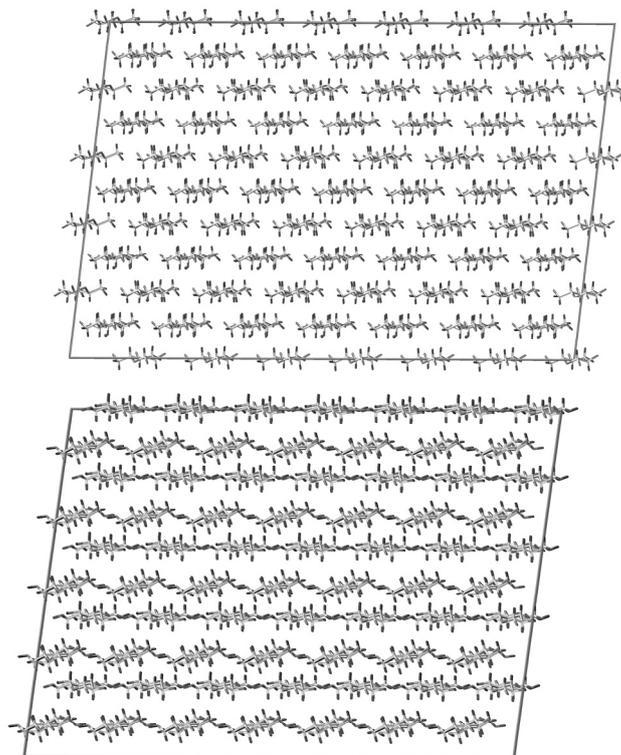


Abbildung 5.1: Vergleich der Koordinaten von Nishiyama [129] (oben) und Sternberg [90] (unten). Es wurde aus der Elementarzelle jeweils ein größerer Kristall mit vergleichbarer Größe aufgebaut.

Bei den Koordinaten von Nishiyama haben die Cellulosestränge innerhalb einer Schicht sehr große Abstände zueinander und es werden keine Wasserstoffbrücken zwischen den Strängen gefunden, während bei den Koordinaten von Sternberg die Stränge deutlich näher zusammen sind und sich Wasserstoffbrücken auch zwischen den Strängen ausbilden können.

Der wichtigste Unterschied liegt darin, dass bei den Koordinaten von Nishiyama die corner und die center chain die gleiche Orientierung entlang der Faserachse

haben, d.h. es gibt keine alternierende odd- und even-Schicht, sondern die Schichten sind gleich.

In der Literatur wird aber häufig über einen auftretenden Winkel zwischen beiden Schichten berichtet. Bei den ursprünglichen Koordinaten von Gardner und Blackwell gibt es einen Winkel von  $-3,5^\circ$  [2] [17], bei Sarko und Muggli von  $3^\circ$  [4]. In durchgeführten Molecular-Modeling-Untersuchungen anhand von MD-Simulationen wurde sogar ein Winkel von  $-11,5^\circ$  gefunden [13]. Auch ein so großer Winkel wäre noch im Einklang mit den Daten aus Röntgenstrukturanalysen [17]. Somit entsprechen die Koordinaten von Sternberg, die in dieser Arbeit benutzt wurden, eher den Beobachtungen in der Literatur bezüglich der Orientierung der Schichten und des Wasserstoffbrückenmusters.

Im Jahr 2006 erschien ein Artikel, in dem ebenfalls Computersimulationen an Mikrokristalliner Cellulose I $\beta$  durchgeführt wurden [42], beruhend auf den Startkoordinaten von Nishiyama [129]. Dabei werden die wichtigen Flächen 200, 110 und 1-10 auf zwei verschiedene Modelle aufgeteilt und zu Beginn der Simulation gibt es keinen Winkel zwischen den Strängen der Schichten (s. Abbildung 5.2). Nach erfolgter MD-Simulation im CHARMM-Kraftfeld in einer Box mit TIP3P-Wasser über insgesamt 1250 ps bei maximal 300 K zeigt sich in beiden Modellen dann ein Winkel zwischen den Strängen von  $14,8^\circ$  (s. Abbildung 5.3).

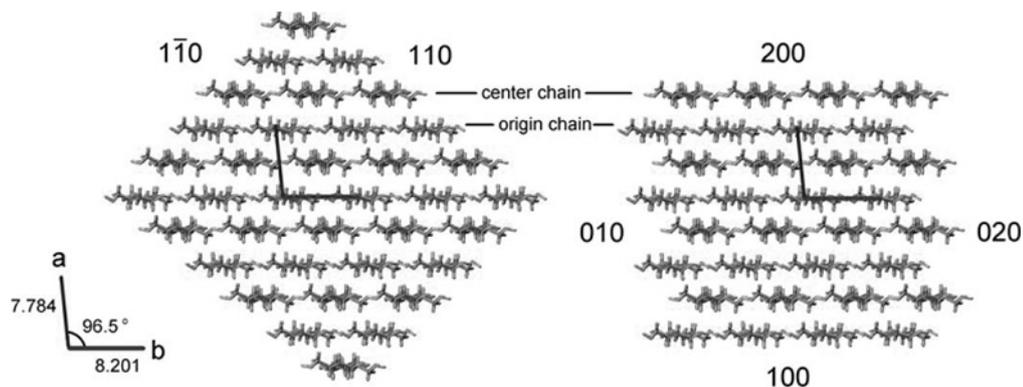


Abbildung 5.2: Aufbau des Modells nach [42] mit den Koordinaten von Nishiyama [129]. Alle relevanten Flächen werden auf zwei verschiedene Modelle aufgeteilt. Außerdem gibt es in den Startmodellen keinen Winkel zwischen center chain und corner chain.

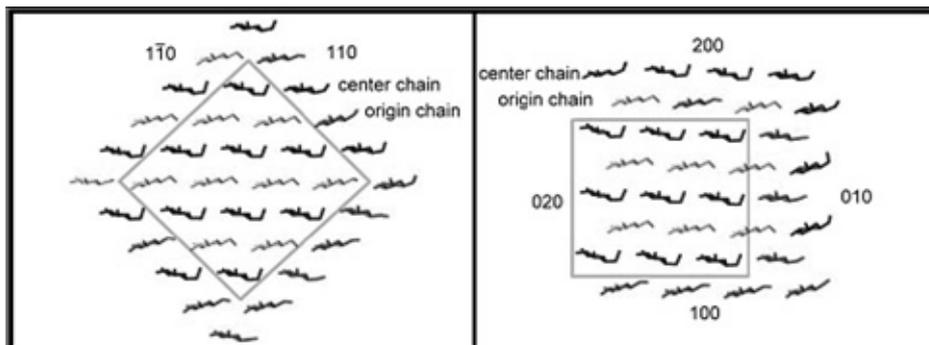


Abbildung 5.3: Aufbau des Modells nach [42] mit den Koordinaten von Nishiyama [129] nach der MD-Simulation über 1250 ps. Deutlich zu erkennen ist nun ein Unterschied zwischen center chain und corner chain.

Zum Vergleich wurden noch einmal die Winkel zwischen den Ebenen beim Modell odd über die letzten 2 ns der insgesamt 6 ns dauernden MD-Simulation in Wasser (s. Kapitel 4.2.3.3) ausgewertet. Hier zeigt sich ein durchschnittlicher Winkel von  $13,9^\circ$  für die odd-Stränge, im Vergleich zu den even-Strängen.

Damit scheint ein Winkel zwischen beiden alternierenden Schichten, wie er in den verwendeten Koordinaten vorliegt, energetisch günstig und sinnvoll zu sein, da er sich im Laufe einer MD-Simulation in Wasser auch bei ursprünglich geraden Schichten einstellt. Die Unterschiede zwischen den beiden Koordinatensätzen relativieren sich und die Koordinaten von Sternberg sind gut geeignet, da dieser Winkel von Beginn an berücksichtigt wird.

## 5.2 Kraftfeld

Nach der Frage der geeigneten Koordinaten musste noch ein geeignetes Kraftfeld gewählt werden. Es steht eine große Auswahl an Parametern und Kraftfeldern zur Verfügung, die auch alle schon für Rechnungen mit Kohlenhydraten benutzt worden sind [130]. Jedes von ihnen bietet unterschiedliche Vor- und Nachteile. Keines dieser Kraftfelder hat allgemeine Akzeptanz für die Anwendung auf Simulationen von Oligosacchariden und Polysacchariden gefunden und je nach Fragestellung werden, von den an Cellulose forschenden Arbeitsgruppen, unterschiedliche Kraftfelder benutzt.

An der Verbesserung dieser Parameter für die Berechnung von Mono- und Disacchariden sowie von Polysacchariden in verschiedenen Kraftfeldern wurde besonders in den 90er Jahren intensiv gearbeitet und verschiedene Lösungen gefunden.

Für das GROMOS-Kraftfeld [111, 131] gibt es spezielle Parameter für den Pyranosering, die Hydroxymethylgruppe [132] und für hexopyranosebasierte Kohlenhydrate [133].

Eine spezielle Version für Oligosaccharide wurde für das MM2- und MM3-Kraftfeld veröffentlicht [134, 135], das sogenannte MM2CARB-Kraftfeld [136]. Auch für das häufig genutzte CHARMM-Kraftfeld [137] gibt es eine Überarbeitung für Kohlenhydrate zunächst durch Ha [138] und später durch Reiling [139] und Kuttel [140].

Ebenfalls auf Basis des CHARMM-Kraftfeldes wurde von Kouwijzer und Groothuis das CHEAT-Kraftfeld (*Carbohydrate hydroxyl groups represented by extended atoms*) für Kohlenhydrate entwickelt. Hierbei wird ein Molekül in wässriger Lösung ohne explizite Einbeziehung von Wassermolekülen simuliert. Die Effekte von intra- und intermolekularen Wasserstoffbrücken, die in wässriger Lösung auftreten, wurden in die Potentialenergiefunktion neuer Atomtypen integriert [141].

Für das AMBER-Kraftfeld [56, 58] wurden von Homans zusätzliche Parameter entwickelt, um Konformationsanalysen an Oligosacchariden durchführen zu können [142]. 1994 veröffentlichte Glennon ein auf AMBER basierendes Paket, speziell für Monosaccharide und (1→4) verknüpfte Polysaccharide [143]. Eine der jüngsten Entwicklungen für das AMBER-Kraftfeld ist der GLYCAM\_93 Parametersatz für MD-Simulationen von Glycoproteinen und Oligosacchariden von Woods [144].

Auch das CFF-Kraftfeld [145] wurde für Kohlenhydrate erweitert [146]. Basierend auf dem CFF91-Kraftfeld wurde das PCFF-Kraftfeld entwickelt, welches für Polymere, Metalle, Zeolithe und auch Polysaccharide geeignet ist [65-67, 71].

Auf das OPLS-Kraftfeld wurde in Kapitel 3.1.2 näher eingegangen.

Jeder Parametersatz wurde entwickelt, vorgegebene Eigenschaften in einer bestimmten Umgebung für ein bestimmtes Set an Molekülen zu reproduzieren. Die Ergebnisse jeder Studie sind daher auch immer stark abhängig von den gewählten Parametern des Kraftfeldes. Je nach Fragestellung sollte das Kraftfeld vorsichtig ausgewählt werden. Einzelne Kraftfelder können unterschiedlich gut geeignet sein, wie eine Vergleichsstudie an den 20 meist benutzten Kraftfeldern für Kohlenhydrate ergab [51].

Das OPLS-Kraftfeld wurde für die Durchführung der Dynamiksimulationen ausgewählt, da es mehrere Vorteile bot. Einerseits ist es ein all-atom-Kraftfeld, d.h. auch die apolaren Wasserstoffatome werden in die Berechnungen mit einbezogen, andererseits ist es speziell für die exakte Reproduktion der thermodynamischen Parameter von Lösungsmitteln (*optimized potentials for liquid simulations*) ausgelegt. Dies erwies sich gerade bei der Parametrisierung von Isopropanol als vorteilhaft, wo zur Validierung spezielle thermodynamische Parameter berechnet wurden. Außerdem wurden die MD-Simulationen in Lösungsumgebung durchgeführt und Effekte sollten aufgrund des Kontaktes mit Lösungsmitteln untersucht werden, d.h. der Einfluss des Lösungsmittels spielte eine entscheidende Rolle.

Ein weiterer Vorteil bestand in der Skalierung der 1,4-Wechselwirkungen im OPLS-Kraftfeld, da gerade bei Cellulose sehr hohe Abstoßungsenergien und damit hohe Geschwindigkeiten zwischen den 1,4-Wechselwirkungspartnern entstehen, da sie sich im Pyranosering direkt gegenüber liegen. Dies wird auch von anderen Arbeitsgruppen berichtet [13]. Zusätzlich gibt es im OPLS-Kraftfeld einen Scaling-Faktor für 1,5- und 1,6-Wechselwirkungen.

Wie alle Methoden, die zur strukturellen Aufklärung der Cellulose benutzt werden, sind auch Ergebnisse aus Computertechniken nur Näherungen, da sie von der Qualität der benutzten Parameter und Algorithmen abhängen.

### 5.3 Reduziertes Modell

Das Ziel bei der Erstellung eines Cellulose-Modells war, in einem einzigen Modell alle, in der Literatur als wichtig für eine Mikrofibrille eingestuft Flächen, repräsentieren zu können (200, 110, 1-10). Zusätzlich ist eine gewisse Größe des Modells nötig, damit es in sich auch ohne Kräfte stabil bleibt und sich nicht auflöst, da Cellulose normalerweise in Wasser und anderen Lösungsmitteln unlöslich ist.

Viele Arbeitsgruppen erstellen zwei getrennte Modelle, um alle Flächen darzustellen [42] oder betrachten jeweils nur die entsprechende Oberflächenschicht, z.B. bei einer Adsorption, da die Modelle sonst sehr schnell zu groß werden

würden. Der Ansatz in dieser Arbeit mit dem Reduzierten Modell bietet eine sinnvolle Lösung des Problems, alle Flächen mit einer ausreichenden Stranglänge in einem Modell darzustellen und bleibt dabei innerhalb der berechenbaren Größe, ohne zu viele Einschränkungen machen zu müssen.

Die Größe einer Elementarfibrille (durchschnittlich 2-4 nm, ~ 36 Ketten) konnte mit dem vorliegenden Modell in etwa erreicht werden, allerdings war eine Stranglänge von 100 nm aufgrund der Rechenkapazität nicht zu realisieren. Es konnte eine Länge von ~ 10 nm gebaut werden.

Um eine unendliche Länge der Stränge zu simulieren, wird von vielen Arbeitsgruppen [13, 41] der Ansatz benutzt, die Stränge kovalent mit denen in der angrenzenden Simulationsbox zu verknüpfen. Dies wurde getestet und es zeigten sich sehr hohe artifizielle Energien und verzerrte Bindungen an den Strängen. Außerdem ließ sich dieses Vorgehen nicht mit dem Ziel vereinen, einen amorphen Teilbereich im Modell zu integrieren.

Um die Auflösungserscheinungen einschränken zu können, wurde zunächst versucht, das Modell so dicht wie möglich am Boden der Simulationsbox zu platzieren und mit position restraints zu belegen. Gleichzeitig wurde versucht, ein Eindringen von Wasser zu verhindern, indem der Platz zur Boxwand am C1- und C4-Ende entsprechend eingeschränkt wurde.

In späteren MD-Simulationen mit den teilamorphen Modellen in Wasser und Isopropanol zeigt sich aber, dass die Modelle auch ohne solche Einschränkungen soweit gegenüber einem Lösungsmittel stabil sind, dass es nicht zu einer weitergehenden Auflösung kommt. Die Stärke des Zusammenhalts innerhalb der Cellulose zeigt sich ebenfalls bei den enorm hohen Kräften und Energien, die angewendet werden mussten, um für den amorphen Teilbereich ein Auseinanderweichen der Stränge zu erzwingen.

In den durchgeführten MD-Simulationen mit den Modellen odd und even konnte gezeigt werden, dass sich zunächst erwartete Unterschiede durch den Kontakt mit Wasser an den Oberflächen relativieren. Da eine Adsorption später nur an der Oberfläche stattfinden würde, war es an dieser Stelle ausreichend, mit nur einem Modell – dem energetisch günstigeren Modell odd – weiterzumachen.

## 5.4 Modelle mit amorphem Teilbereich

Um der Realität in Bezug auf Mikrokristalline Cellulose näher kommen zu können, sollte zusätzlich ein amorpher Anteil in das Modell eingefügt werden, da der Kristallinitätsgrad in MCC zwar sehr hoch ist, aber nicht 100% beträgt. Der Kristallinitätsgrad variiert und liegt im Durchschnitt bei ca. 70%. Um diese Variation zu berücksichtigen, sollten zwei Modelle mit unterschiedlich großem amorphem Anteil erzeugt werden.

Bisher gibt es keine eindeutige Vorstellung darüber, wie der amorphe Teilbereich bei Cellulose aussieht. Es wird aber vermutet, dass es einen höheren Ordnungsgrad gegenüber anderen amorphen Stoffen gibt. Eine Theorie beruht darauf, dass sich Bereiche mit höherer Ordnung (kristallin) und Bereiche niedriger Ordnung (amorph) abwechseln. Eine Möglichkeit, diese Variationen in einer Struktur zu vereinbaren, ist das Fransen-Fibrillen-Modell (s. Kapitel 1.1.4.2), welches heute in der Literatur bevorzugt wird. Auf Basis dieser Modellvorstellung entstand der amorphe Teil in den Modellen.

Bei der Erzeugung der amorphen Teilbereiche wurden zunächst niedrigere Energien angewendet, die aber letztlich nicht ausreichten, den Zusammenhalt der Cellulosestränge zu überwinden. Schlussendlich mussten sehr hohe unphysikalische Energien, die so in der Realität nicht verwendbar wären, angewendet werden. Bei Modeling-Untersuchungen entsprechen diese Temperaturen aber nicht den realen Werten, sondern stehen nur für die notwendige Energie, die aufgewendet werden muss, um die Wechselwirkungsenergie der Stränge untereinander zu überschreiten und sie voneinander abzulösen.

Ein Nachteil bei der Anwendung dieser hohen Temperaturen ist, dass die Energiebarriere des Kraftfeldes, welche die Beibehaltung der Ringkonformation der Glucoseringe gewährleistet, überschritten werden kann. Das Auftreten von Epimeren der Glucose ist in diesem Fall aber zu vernachlässigen, da der Prozentsatz sehr gering ist und eine Adsorption der Arzneistoffe nicht stereoselektiv erfolgt.

Bei den durchgeführten MD-Simulationen in Wasser und Isopropanol bestätigen alle durchgeführten Auswertungen den ersten optischen Eindruck. Bei den Modellen in Wasser weichen die Cellulosestränge weiter auseinander und haben weniger Kontakt mit sich selbst, dafür werden mehr Wasserstoffbrücken zum Wasser ausgebildet. Isopropanol kann aufgrund seiner Größe nicht zwischen die Stränge eindringen und daher auch keine Wasserstoffbrücken zwischen den Strängen auflösen. Es zeigt sich kein weiteres Auseinanderweichen der Stränge.

Insgesamt zeigt sich, dass die Modelle auch in einer Lösungsumgebung sowohl im kristallinen als auch im amorphen Bereich stabil und equilibriert sind, auch ohne Rückhaltekräfte. Alle Auswertungen fallen beim Amorph 40-Modell eindeutiger aus, so dass vielleicht daraus geschlossen werden kann, dass dieses Modell repräsentativer ist.

Damit wurden Modelle erzeugt, die zum ersten Mal neben allen relevanten Flächen einer Mikrofibrille auch einen amorphen Anteil enthalten. In bisherigen Arbeiten wurde ein amorpher Anteil immer getrennt von den kristallinen Flächen, in einer getrennten Simulationsbox, untersucht [41, 99, 147].

## 5.5 Adsorption von Arzneistoffen

Bei der Suche nach einer geeigneten Methode zur Durchführung einer Adsorption von Arzneistoffen wurde das Programm Materials Studio ausgewählt, da es besonders für materialwissenschaftliche Zwecke entwickelt worden ist.

In einer 2004 veröffentlichten Arbeit zur Adsorption von aromatischen Substanzen an Cellulose wird ein anderer Ansatz zur Durchführung einer Adsorption benutzt [147]. Zu Beginn wird das Adsorbat-Molekül manuell mit einem Abstand von 8-10 Å zur ausgewählten separaten Cellulose-Oberfläche in einer Simulationsbox platziert. Es wird dann eine Moleküldynamik (MD)-Simulation über 50 ps bei 600 K durchgeführt, in der sich das Molekül im Falle einer Adsorption näher zur Oberfläche hin bewegt. Die energetisch günstigste Struktur wird herausgeschrieben und minimiert, bevor eine weitere MD-Simulation über 30 ps bei 500 K folgt. Jede Picosekunde wird eine Struktur gespeichert, dann alle 30

Konformationen minimiert und die Wechselwirkungsenergie zur Cellulose nach dem gleichen Prinzip wie in dieser Arbeit berechnet. Zur Auswertung wird ein Mittelwert der Wechselwirkungsenergie aus allen 30 Konformationen gebildet. Insgesamt wurden 18 verschiedene aromatische Moleküle an jeweils 4 verschiedenen, nicht miteinander in Kontakt stehenden Cellulose-Oberflächen (110, 100, 010, amorph) untersucht.

Dieses, von Perez angewendete moleküldynamische Verfahren, ähnelt prinzipiell der in der vorliegenden Arbeit angewendeten Simulated-Annealing-Methode auf Monte-Carlo (MC)-Basis, da ebenfalls versucht wird, bei erhöhten Temperaturen verschiedene Positionen und Konformationen zu erzeugen, nur auf moleküldynamischer Basis. Die erhöhten Temperaturen sind zur Überwindung lokaler Minima notwendig.

Im Vergleich scheint die in der vorliegenden Arbeit verwendete MC-Methode geeigneter als die MD-Methode für die Durchführung einer Adsorption zu sein. Der durchsuchte Adsorptionsraum ist größer als bei einer MD-Simulation, da Energiebarrieren besser überwunden werden können und größere Ortswechsel aufgrund der Zeitabhängigkeit der Bewegung bei einer MD-Simulation nicht durchgeführt werden können. Außerdem erfolgt die Auffindung günstiger Adsorptionsstellen effektiver, da die Erzeugung neuer Positionen gerichtet, hin zu energetisch günstigen Anordnungen, abläuft. Das Abkühlen verläuft über einen viel größeren Temperaturbereich auf erheblich tiefere Temperaturen, so dass sehr feine Bereiche des Minimums in der MC-Simulation gefunden werden können. Eine Temperatur von 500 K, wie in der MD-Simulation verwendet, ist zu hoch, um ein gutes Minimum finden zu können.

Hinzu kommt, dass der Prozess des Abkühlens und Minimierens im Programm Materials Studio kombiniert hintereinander in einer Routine abläuft und ein manuelles Auswerten der günstigen Position entfällt, was die Handhabung erleichtert. Ein Nachteil besteht allerdings darin, dass das Finden eines geeigneten Protokolls deutlich aufwendiger ist als für eine MD-Simulation. Die MC-Simulation ist langwieriger als die über 50 bzw. 30 ps durchgeführte MD-Simulation, da genügend Schritte gerechnet werden müssen, um statistisch möglichst nahe an das Globale Minimum heranzukommen. Die verwendete Si-

mulationsdauer bei Perez ist deutlich zu kurz, um verlässliche Aussagen machen zu können.

Ein großer Nachteil der Methode in der Literatur besteht außerdem darin, dass jeweils nur ein Molekül an jeweils einer ausgeschnittenen separaten Fläche adsorbiert wird und die Flächen nicht in einem Modell gleichzeitig angeboten werden.

Unter Betrachtung aller Gesichtspunkte scheint die in dieser Arbeit durchgeführte Methode zur Adsorption von Arzneistoffen gut geeignet zu sein, und liefert wahrscheinlich genauere Ergebnisse, die statistisch näher an den günstigsten Adsorptionsstellen liegen, als eine MD-Simulation. Somit wurde ein sinnvolles Verfahren gefunden, um eine Adsorption von Arzneistoffen an Mikrokristalliner Cellulose auf molekularer Ebene untersuchen zu können.

Im Folgenden könnten nun weitere Moleküle mit dieser Methode untersucht werden oder die gefundenen günstigen Adsorptionstellen könnten als Startstrukturen für weitere Untersuchungen moleküldynamischer Art dienen.

## **5.6 Vergleich mit experimentellen Daten**

Ziel dieser Arbeit war es, das Verhalten der Mikrokristallinen Cellulose und die entstehenden Wechselwirkungen mit eingesetzten Arzneistoffen während der Feuchtgranulation und Pelletierung auf molekularer Ebene nachzuempfinden und zu untersuchen. Die Basis für diese Fragestellung stellten beobachtete Effekte im Rahmen dieses Verarbeitungsschrittes in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. P. Kleinebudde (Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie, Universität Düsseldorf) dar. Hier wurden auch experimentelle Untersuchungen zur Adsorption von Arzneistoffen an MCC, unter anderem mit Ethacridin-Lactat und Procain-HCl, durchgeführt.

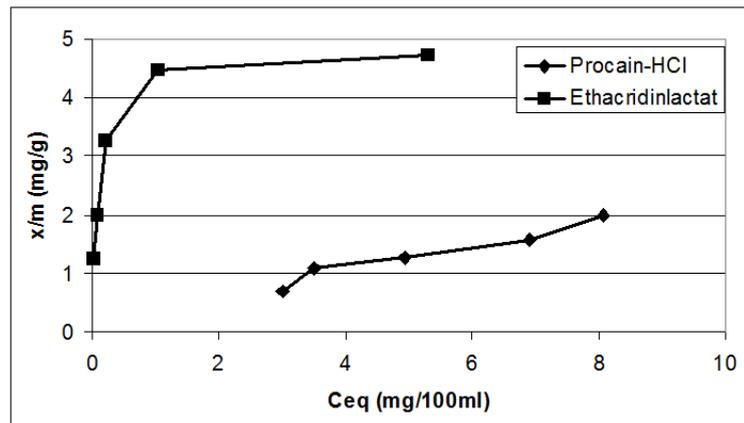


Abbildung 5.4: Adsorptionsisothermen von Procain-HCl und Ethacridinlactat. Aufgetragen wurde die Menge an gebundenem Arzneistoff in mg ( $x$ ) pro Gramm MCC ( $m$ ) gegen die Gleichgewichtskonzentration ( $C_{eq}$ ) bei verschiedenen Anteilen MCC [148].

Insgesamt zeigt Ethacridin-Lactat in den experimentellen Untersuchungen eine deutlich stärkere Adsorption an Mikrokristalliner Cellulose als Procain-HCl (s. Abbildung 5.4), während in den in dieser Arbeit durchgeführten Computersimulationen Procain-HCl eine um durchschnittlich 15,61 kcal/mol günstigere Wechselwirkungsenergie mit Cellulose zeigt als Ethacridin-Lactat.

Die in der Simulation gefundenen günstigeren Wechselwirkungen von Procain-HCl lassen sich einerseits durch die hydrophilere Struktur erklären (s. Abbildung 5.5), andererseits passt es aufgrund seiner schmalen Seitenkette, die den Abstand zwischen dem Aromaten und den Ethylseitenketten überbrückt, besser in die Vertiefungen zwischen den Cellulosesträngen. Das große starre Ringsystem von Ethacridin-Lactat kann hauptsächlich hydrophobe Wechselwirkungen eingehen (s. Abbildung 5.6). Bei Cellulose sind die meisten Flächen aber durch die vielen Hydroxylgruppen hauptsächlich hydrophil, außer die Ober- und Unterseite des Modells, wo die Glucoseringe exponiert sind. Insgesamt liefern die elektrostatischen Wechselwirkungen mehr Wechselwirkungsenergie, da sie erheblich stärker und weitreichender sind als hydrophobe Wechselwirkungen. Daher ist verständlich, dass Procain, welches hauptsächlich elektrostatische Wechselwirkungen eingeht, insgesamt mehr Wechselwirkungsenergie pro Molekül liefert als Ethacridin mit den hauptsächlich hydrophoben Wechselwirkungen.

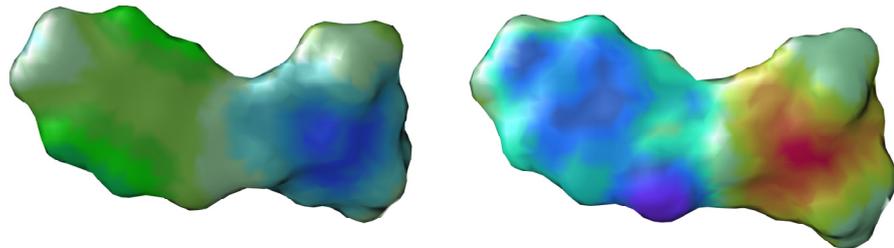
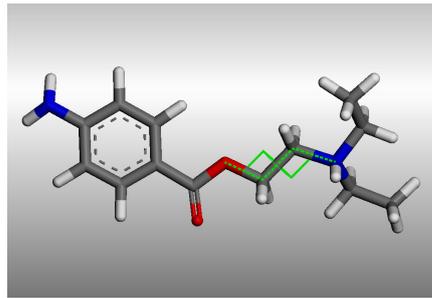


Abbildung 5.5: Darstellung der Struktur von protoniertem Procain (oben) und dem berechneten Lipophilie-Potential (links) und dem elektrostatischen Potential (rechts). (Lipophilie-Farbcodierung: braun= lipophil, grün = neutral, blau = hydrophil, Elektrostatik-Farbcodierung: rot/gelb =positiv geladen, grün = neutral, blau = negativ geladen).

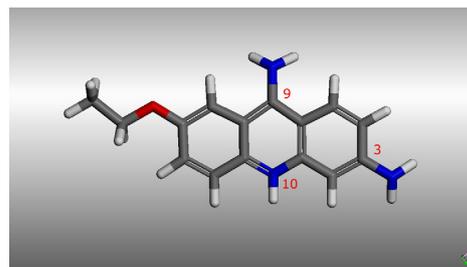
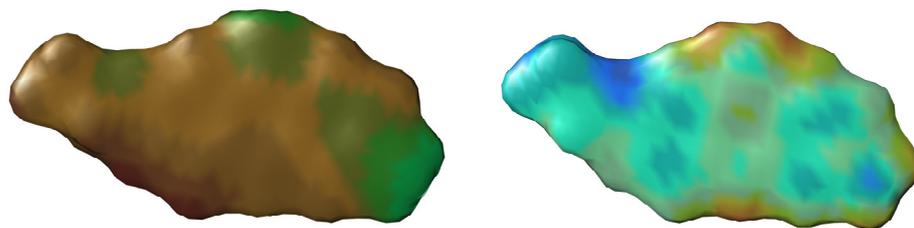


Abbildung 5.6: Darstellung der Struktur von protoniertem Ethacridin (oben) und dem berechneten Lipophilie-Potential (links) und dem elektrostatischen Potential (rechts). (Farbcodierungen s. Abbildung 5.5)

Außerdem hat sich gezeigt, dass der amorphe Bereich, wo sich durch die Aufweitung der Stränge viel mehr Interaktionsstellen anbieten, nicht gegenüber dem regelmäßig aufgebauten kristallinen Bereich bevorzugt wird. Aufgrund der Größe der eingesetzten Arzneistoffmoleküle können diese nicht zwischen die Stränge eindringen, wie das z.B. bei Wasser der Fall ist. Dementsprechend bietet der regelmäßige und planare Aufbau der kristallinen Flächen eine größere

Kontaktfläche mit mehr Interaktionsstellen. Wenn die Moleküle entsprechend klein sind (z.B. Wasser), zeigt sich durchaus die erwartete bevorzugte Adsorption im amorphen Teil des Cellulose-Modells (s. Kapitel 4.6.3).

Erstaunlicherweise liefern die experimentellen Untersuchungen genau die entgegengesetzte Tendenz als die Computersimulation. Der Unterschied beruht wahrscheinlich auf einer im Experiment stattfindenden Mehrschicht-Adsorption, die in der Simulation aufgrund der begrenzten Anzahl an Molekülen nicht stattfindet. Im Experiment kann nur die Menge an adsorbiertem Arzneistoff bestimmt werden. Es kann aber nicht zwischen einer monomolekularen und einer Mehrschicht-Adsorption unterschieden werden, so dass sich keine Aussagen über die reine Adsorption an Cellulose treffen lassen.

Ethacridin-Lactat ist mit den drei annelierten aromatischen Ringen sehr lipophil (s. Abbildung 5.6) und zeigt nur an den Aminogruppen neutrale Bereiche. Die positive Ladung ist zwischen den drei Stickstoffen über die aromatischen Ringe verteilt und diese sind dadurch polarisiert. Die negativ geladenen  $\pi$ -Elektronen verteilen sich ober- und unterhalb der Ringebene. Die Ethacridin-Moleküle können sich mit ihrer starren, planaren Struktur ggf. etwas versetzt übereinander stapeln [149] und einerseits durch ihre dominierenden lipophilen Eigenschaften, andererseits aufgrund ihrer Polarisierung gut mit sich selbst wechselwirken, was zu einer ausgeprägten Mehrschicht-Adsorption führt und den hohen, an Cellulose gebundenen Anteil im Experiment erklärt. Dieser beruht hauptsächlich auf Wechselwirkungen der Ethacridin-Moleküle untereinander und nicht mit Cellulose.

Im Vergleich dazu ist der Aromat bei Procain-HCl kaum lipophil, sondern eher neutral, während der aliphatische Stickstoff und die Ethylseitenketten deutlich hydrophil sind (s. Abbildung 5.5). Im elektrostatischen Potential ist der Aromat durch die  $\pi$ -Elektronen deutlich negativ geladen, während die positive Ladung des protonierten Stickstoffes lokalisiert am aliphatischen Stickstoff sitzt und nicht delokalisiert werden kann. Bei Procain ist ebenfalls eine Wechselwirkung der Moleküle untereinander möglich, indem zwei Moleküle jeweils entgegengesetzt (Aromat und  $\text{NH}^+$ ) miteinander Interaktionen eingehen. Allerdings wird diese Interaktion auf zwei Moleküle beschränkt, da sie dann zusammen nach außen ungeladen erscheinen und keine weiteren Wechselwirkungen eingehen. Außer-

dem liegt die Diethylaminokette nicht genau in der Ebene des aromatischen Ringes, sondern dazu versetzt, was zu einer sterischen Hinderung und zu einer Abschirmung der positiven Ladung führt. Dementsprechend fällt hier der adsorbierte Anteil, der auf eine Mehrschicht-Adsorption zurückzuführen ist, gering aus und erklärt, warum Procain-HCl im Experiment weniger adsorbiert wird als Ethacridin-Lactat und warum daraus nicht auf die Stärke der Wechselwirkung zur Cellulose geschlossen werden kann.



## **6 ZUSAMMENFASSUNG**

---



Mikrokristalline Cellulose (MCC) ist eine spezielle Verarbeitungsform der nativen Cellulose, bei der der amorphe Anteil hydrolytisch angegriffen wird und der Kristallinitätsgrad deutlich erhöht ist. MCC kommt in weiten Teilen der Pharmazeutischen Technologie zum Einsatz und wird unter anderem als Hilfsstoff bei der Feuchtgranulation eingesetzt, wo sie mit Arzneistoffen in Kontakt kommt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde mit Hilfe computergestützter Verfahren, die eine Quantifizierung von Wechselwirkungen ermöglichen, versucht, Wechselwirkungen von Arzneistoffen mit MCC auf molekularer Ebene zu untersuchen. Dazu musste zunächst aufgrund der fehlenden Kristallstruktur von Cellulose ein Modell basierend auf Koordinaten für den Cellulose I $\beta$ -Polymorph erstellt werden, welches die für eine Mikrofibrille wichtigen Flächen in einem Modell repräsentiert und gleichzeitig einen amorphen Teilbereich enthält. Das erstellte Modell diente als Basis für molekulardynamische Untersuchungen des Verhaltens von MCC in wässriger und isopropanolischer Umgebung. Wasser kann dabei zwischen die Cellulosestränge im amorphen Bereich eindringen und den Kontakt weiter auflösen, während Isopropanol aufgrund seiner Größe und Struktur hauptsächlich mit den hydrophoben 200-Flächen wechselwirkt.

Anhand der Arzneistoffe Procain-HCl und Ethacridin-Lactat zusammen mit Wasser wurde mittels Monte-Carlo-Simulation in Kombination mit einem Simulated-Annealing-Verfahren die Adsorption und Wechselwirkung an diesem Modell untersucht. Zur Überprüfung der Güte des Verfahrens wurde zuvor eine reine Wasseradsorption durchgeführt, deren Ergebnisse im Einklang mit experimentellen Werten standen. Procain zeigt beim Vergleich günstigere Wechselwirkungsenergien aufgrund der hydrophileren Struktur im Gegensatz zum starren, lipophilen Ringsystem von Ethacridin. Beide Moleküle bevorzugen aufgrund ihrer Größe den kristallinen Anteil.

Das in dieser Arbeit vorgestellte Modell bietet eine sinnvolle Lösung, alle relevanten Flächen zusätzlich zu einem amorphen Anteil in einem Modell untersuchen zu können. Das angewendete Verfahren zur Adsorption von Arzneistoffen stellt eine effiziente Möglichkeit dar, mit hoher Wahrscheinlichkeit die günstigsten Adsorptionsstellen aufzufinden.

Microcrystalline cellulose (MCC) is a purified form of native cellulose derived by acid hydrolysis with a high degree of crystallinity. MCC is widely used in pharmaceutical preparations e.g. as excipient in wet-granulation. During this process the active ingredient is dissolved in the granulating liquid and could be adsorbed by MCC.

In the framework of this thesis molecular modeling techniques were employed, which enable a quantification of interactions energies, in order to describe in detail the molecular interactions between drugs and MCC. Firstly, due to the lack of a solved crystal structure it was necessary to generate a model of cellulose based on coordinates of the cellulose I $\beta$ -polymorph. This model contains an amorphous part additionally to a crystalline part, which represents all important surfaces of a microfibril. It served for molecular dynamics simulations to investigate the behaviour of MCC in water and isopropanol. Water molecules, which can penetrate between the cellulose chains in the amorphous phase because of their small size, are able to break the contact of the chains while isopropanol molecules remain outside and mainly form hydrophobic contacts with the crystalline 200-surface.

Using the developed model the adsorption of procaine-HCl and ethacridin-lactate in aqueous environment was investigated applying a simulated annealing approach based on monte carlo techniques. Before, in order to validate the quality of the procedure the adsorption of pure water on MCC was studied. The results were in good agreement with experimental values.

In summary, a reasonable model is presented, which offers the opportunity to investigate simultaneously all important crystalline surfaces in addition to an amorphous phase. The employed method for the simulation of drug adsorption is an efficient procedure to detect favourable adsorption sites with high probability.

## **7 LITERATUR**

---



- [1] Krässig, H. A. *Polymer Monographs*. Gordon and Breach Science Publisher: Amsterdam, The Netherlands, 1996; Vol. 11, p 1-3.
- [2] Gardner, K. H.; Blackwell, J. The Structure of Native Cellulose. *Biopolymers* **1974**, 13, 1975 - 2001.
- [3] Meyer, K. H.; Misch, L. Positiones des atomes dans le nouveau modèle spatial de la cellulose. *Helvetica chimica acta* **1937**, 20, 232 - 245.
- [4] Sarko, A.; Muggli, R. Packing Analysis of Carbohydrates and Polysaccharides. III. Valonia Cellulose and Cellulose II. *Macromolecules* **1974**, 7, 486 - 494.
- [5] Atalla, R. H.; Vanderhart, D. L. Native Cellulose - a Composite of 2 Distinct Crystalline Forms. *Science* **1984**, 223, 283 - 285.
- [6] Sugiyama, J.; Persson, J.; Chanzy, H. Combined Infrared and Electron-Diffraction Study of the Polymorphism of Native Celluloses. *Macromolecules* **1991**, 24, 2461 - 2466.
- [7] Sugiyama, J.; Vuong, R.; Chanzy, H. Electron-Diffraction Study on the Two Crystalline Phases Occurring in Native Cellulose from an Algal Cell Wall. *Macromolecules* **1991**, 24, 4168 - 4175.
- [8] Haworth, W. N. Die Konstitution einiger Kohlenhydrate. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft (A)* **1932**, 65, 43.
- [9] Ehlers, E. *Chemie II, Kurzlehrbuch der Organischen Chemie*. 6. ed.; Deutscher Apotheker Verlag: Stuttgart, Germany, 1999; p 537.
- [10] O'Sullivan, A. C. Cellulose: The structure slowly unravels. *Cellulose* **1997**, 4, 173 - 207.
- [11] Sundaralingam, M. Some aspects of stereochemistry and hydrogen bonding of carbohydrates related to polysaccharide conformations. *Biopolymers* **1968**, 6, 189 - 213.
- [12] Woodcock, C.; Sarko, A. Packing Analysis of Carbohydrates and Polysaccharides. II. Molecular and crystal structure of Native Ramie Cellulose. *Macromolecules* **1980**, 13, 1183 - 1187.
- [13] Heiner, A. P.; Sugiyama, J.; Teleman, O. Crystalline cellulose I $\alpha$  and I $\beta$  studied bei molecular dynamics simulation. *Carbohydrate Research* **1995**, 273, 207 - 223.
- [14] Payen, A. Memoire sur la composition du tissu proper des plantes et du ligneux. *Comptes Rendues* **1838**, 1052 - 1056.
- [15] Nägeli, C. v. Die Stärkekörner, Pflanzenphysiologische Untersuchungen. *Die Stärkekörner* **1858**, 2.
- [16] Meyer, K. H.; Mark, H. Über den Bau des krystallisierten Anteiles der Cellulose. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft (B)* **1928**, 4, 593 - 614.
- [17] Finkenstadt, V. L.; Millane, R. P. Crystal structure of Valonia cellulose I  $\beta$ . *Macromolecules* **1998**, 31, 7776 - 7783.
- [18] Eichhorn, S. J.; Young, R. J. The Young's modulus of a microcrystalline cellulose. *Cellulose* **2001**, 8, 197 - 207.
- [19] Ilharco, L. M.; Garcia, A. R.; daSilva, J. L.; Ferreira, L. F. V. Infrared approach to the study of adsorption on cellulose: Influence of cellulose crystallinity on the adsorption of benzophenone. *Langmuir* **1997**, 13, 4126 - 4132.
- [20] Statton, W. O. Polymer Texture: The Arrangement of Crystallites. *Journal of Polymer Science* **1959**, 41, 143 - 155.

- [21] Bohn, A. Röntgenuntersuchungen zur Vorzugsrichtung und übermolekularen Struktur nativer und regenerierter Cellulose. Technische Universität, Berlin, 2001.
- [22] Baker, A. A.; Helbert, W.; Sugiyama, J.; Miles, M. J. Surface structure of native cellulose microcrystals by AFM. *Applied Physics A - Materials Science & Processing* **1998**, 66, S559 - S563.
- [23] Frey-Wyssling, A.; Mühlethaler, K. The Fine Structure of Cellulose. *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe* **1951**, 8, 1 - 27.
- [24] French, A. D. Comments on the paper 'The behavior of cellulose molecules in aqueous environments' by Tanaka and Fukui. *Cellulose* **2004**, 11, 39 - 42.
- [25] Frey-Wyssling, A. The Fine Structure of Cellulose Microfibrils. *Science* **1954**, 119, 80 - 82.
- [26] Mühlethaler, K. Fine Structure of Natural Polysaccharide Systems. *Journal of Polymer Science Part C - Polymer Symposium* **1969**, 28, 305.
- [27] Hänsel, R.; Sticher, O.; Ernst, S. *Pharmakognosie - Phytopharmazie*. 6. ed.; Springer-Verlag: Berlin; Heidelberg, Germany, 1999; p 341-343.
- [28] Fink, H. P.; Hofmann, D.; Purz, H. J. On the Fibrillar Structure of Native Cellulose. *Acta Polymerica* **1990**, 41, 131-137.
- [29] Kratky, O. *Kolloid Zeitschrift* **1935**, 70, 14.
- [30] Hearle, J. W. S. A Fringed Fibril Theory of Structure in Crystalline Polymers. *Journal of Polymer Science* **1958**, 28, 432 - 435.
- [31] Fink, H.-P.; Phiipp, B. Models of Cellulose Physical Structure from the Viewpoint of the Cellulose I to Cellulose II Transition. *Journal of Applied Polymer Science* **1985**, 30, 3779 - 3790.
- [32] Hess, K.; Mahl, H.; Gütter, E. Elektronenmikroskopische Darstellung großer Längsperioden in Zellulosefasern und ihr Vergleich mit den Perioden anderer Faserarten. *Kolloid Zeitschrift* **1957**, 155, 1 - 19.
- [33] Fengel, D. Ideas on the ultrastructural organization of the cell wall components. *Journal of Polymer Science: Part C* **1971**, 36, 383 - 392.
- [34] Poppleton, B. J.; Mathieson, A. M. Crystal Structure of  $\beta$ -D-Cellotetraose and Its Relationship to Cellulose. *Nature* **1968**, 219, 1046 - 1048.
- [35] Arnott, S.; Scott, W. E. Accurate X-Ray-Diffraction Analysis of Fibrous Polysaccharides Containing Pyranose Rings . Part 1. The Linked-Atom Approach. *Journal of the Chemical Society - Perkin Transactions 2* **1972**, 324 - 335.
- [36] Khalatur, P. G.; Marchenko, G. N.; Pletneva, S. G.; Khrapkovskii, G. M. Computer-Simulation of Cellulose by the Methods of Molecular and Brownian Dynamics. *Doklady Akademii Nauk SSSR* **1986**, 291, 157 - 162.
- [37] Kroon-Batenburg, L. M. J.; Kroon, J. Solvent Effect on the Conformation of the Hydroxymethyl Group Established by Molecular-Dynamics Simulations of Methyl- $\beta$ -D-Glucoside in Water. *Biopolymers* **1990**, 29, 1243-1248.
- [38] Reiling, S.; Brickmann, J. Theoretical Investigations on the Structure and Physical Properties of Cellulose. *Macromolecular Theory and Simulations* **1995**, 4, 725 - 743.
- [39] Baird, M. S.; O'Sullivan, A. C.; Banks, W. B. A native cellulose microfibril model. *Cellulose* **1998**, 5, 89 - 111.

- [40] Kroon-Batenburg, L. M. J.; Bouma, B.; Kroon, J. Stability of cellulose structures studied by MD simulations. Could mercerized cellulose II be parallel? *Macromolecules* **1996**, 29, 5695 - 5699.
- [41] Mazeau, K.; Heux, L. Molecular dynamics simulations of bulk native crystalline and amorphous structures of cellulose. *Journal of Physical Chemistry B* **2003**, 107, 2394 - 2403.
- [42] Matthews, J. F.; Skopec, C. E.; Mason, P. E.; Zuccato, P.; Torget, R. W.; Sugiyama, J.; Himmel, M. E.; Brady, J. W. Computer simulation studies of microcrystalline cellulose I  $\beta$ . *Carbohydrate Research* **2006**, 341, 138 - 152.
- [43] *Europäisches Arzneibuch*. 4. ed.; 2002.
- [44] Nürnberg, E. Mikrokristalline Cellulose: Kommentar zu Ph. Eur. 1997. **1998**, 1 - 4
- [45] Fiedler, H. P. *Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete*. 5. ed.; Editio-Cantor-Verlag: Aulendorf, 2002; p 320f.
- [46] Bauer, K. H.; Frömming, K.-H.; Führer, C. *Lehrbuch der pharmazeutischen Technologie*. 8. ed.; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mgH: Stuttgart, Germany, 2006.
- [47] Storz, E. I. Untersuchungen funktioneller Parameter pharmazeutischer Hilfsstoffe mittels Nahinfrarot-Spektroskopie (NIRS). Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät, Universität Bonn, 2003.
- [48] Jorgensen, W. L.; Maxwell, D. S.; Tirado-Rives, J. Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, 118, 11225 - 11236.
- [49] Höltje, H.-D.; Sippl, W.; Rognan, D.; Folkers, G. *Molecular Modeling Basic Principles and Applications*. 2. ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2003; p 15 - 17.
- [50] Leach, A. R. *Molecular Modelling - Principles and Applications*. 2. ed.; Prentice Hall: Harlow, England, 2001.
- [51] Perez, S.; Imberty, A.; Engelsens, S. B.; Gruza, J.; Mazeau, K.; Jimenez-Barbero, J.; Poveda, A.; Espinosa, J. F.; van Eyck, B. P.; Johnson, G.; French, A. D.; Kouwijzer, M. L. C. E.; Grootenuis, P. D. J.; Bernardi, A.; Raimondi, L.; Senderowitz, H.; Durier, V.; Vergoten, G.; Rasmussen, K. A comparison and chemometric analysis of several molecular mechanics force fields and parameter sets applied to carbohydrates. *Carbohydrate Research* **1998**, 314, 141 - 155.
- [52] Lindahl, E.; Hess, B.; van der Spoel, D. GROMACS 3.0: a package for molecular simulation and trajectory analysis. *Journal of Molecular Modeling* **2001**, 7, 306 - 317.
- [53] Van der Spoel, D.; Lindahl, E.; Hess, B.; Groenhof, G.; Mark, A. E.; Berendsen, H. J. C. GROMACS: Fast, flexible, and free. *Journal of Computational Chemistry* **2005**, 26, 1701 - 1718.
- [54] Damm, W.; Frontera, A.; Tirado-Rives, J.; Jorgensen, W. L. OPLS all-atom force field for carbohydrates. *Journal of Computational Chemistry* **1997**, 18, 1955 - 1970.
- [55] Kony, D.; Damm, W.; Stoll, S.; van Gunsteren, W. F. An improved OPLS-AA force field for carbohydrates. *Journal of Computational Chemistry* **2002**, 23, 1416 - 1429.

- [56] Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Case, D. A.; Singh, U. C.; Ghio, C.; Alagona, G.; Profeta, S.; Weiner, P. A New Force-Field for Molecular Mechanical Simulation of Nucleic-Acids and Proteins. *Journal of the American Chemical Society* **1984**, 106, 765 - 784.
- [57] Jorgensen, W. L.; Tirado-Rives, J. The OPLS Potential Functions for Proteins. Energy Minimizations for Crystals of Cyclic Peptides and Crambin. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, 110, 1657 - 1666.
- [58] Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Nguyen, D. T.; Case, D. A. An All Atom Force-Field for Simulations of Proteins and Nucleic-Acids. *Journal of Computational Chemistry* **1986**, 7, 230 - 252.
- [59] Kony, D.; Damm, W.; Stoll, S.; Hünenberger, P. H. Explicit-solvent Molecular Dynamics Simulations of the  $\beta(1 \rightarrow 3)$ - and  $\beta(1 \rightarrow 6)$ -linked Disaccharides  $\beta$ -Laminarabiose and  $\beta$ -Gentiobiose in Water. *Journal of Physical Chemistry B* **2004**, 108, 5815 - 5826.
- [60] Hensen, C. Kombinierte quanten- und molekularmechanische Untersuchungen zur Bindung von Inhibitoren der HIV-1 Protease. Dissertation, Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf, 2004.
- [61] Hockney, R. W. The Potential Calculation and Some Applications. *Methods in Computational Physics* **1970**, 9, 136 - 211.
- [62] Mazeau, K. Structural micro-heterogeneities of crystalline I beta-cellulose. *Cellulose* **2005**, 12, 339-349.
- [63] Berendsen, H. J. C.; Postma, J. P. M.; Gunsteren, W. F. v.; Hermans, J. Interaction Models for Water in Relation to Protein Hydration. In *Intermolecular Forces*, Pullman, B., Ed. Reidel: Dordrecht, 1981; pp 331 - 342.
- [64] Miyamoto, S.; Kollman, P. A. Settle - an Analytical Version of the Shake and Rattle Algorithm for Rigid Water Models. *Journal of Computational Chemistry* **1992**, 13, 952 - 962.
- [65] Sun, H. Force-Field for Computation of Conformational Energies, Structures, and Vibrational Frequencies of Aromatic Polyesters. *Journal of Computational Chemistry* **1994**, 15, 752 - 768.
- [66] Sun, H. Ab Initio Calculations and Force Field Development for Computer Simulation of Polysilanes. *Macromolecules* **1995**, 28, 701 - 712.
- [67] Sun, H.; Mumby, S. J.; Maple, J. R.; Hagler, A. T. An ab Initio CFF93 All-Atom Force-Field for Polycarbonates. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, 116, 2978 - 2987.
- [68] Maple, J. R.; Hwang, M. J.; Stockfisch, T. P.; Dinur, U.; Waldman, M.; Ewig, C. S.; Hagler, A. T. Derivation of Class-II Force-Fields .1. Methodology and Quantum Force-Field for the Alkyl Functional-Group and Alkane Molecules. *Journal of Computational Chemistry* **1994**, 15, 162 - 182.
- [69] *Discover 2.9.7 / 95.0 / 3.0.0 User Guide*, Biosym/MSI: San Diego, 1995.
- [70] *Insight II 95.0 User Guide*, Biosym/MSI: San Diego, 1995.
- [71] Sun, H.; Mumby, S. J.; Maple, J. R.; Hagler, A. T. Ab Initio Calculations on Small-Molecule Analogs of Polycarbonates. *Journal of Physical Chemistry* **1995**, 99, 5873 - 5882.
- [72] Hentschke, R.; Aydt, E. M.; Fodi, B.; Stöckelmann, E. *Molekulares Modellieren mit Kraftfeldern*. <http://constanze.materials.uni-wuppertal.de>, 2004.

- [73] Frenkel, D.; Smit, B. *Understanding Molecular Simulation, From Algorithms to Applications*. Academic Press: San Diego, 1996.
- [74] Binder, K. *Topics in Current Physics*. Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 1984.
- [75] Metropolis, N.; Rosenbluth, A. W.; Rosenbluth, M. N.; Teller, A. H.; Teller, E. Equation of State Calculations by Fast Computing Machines. *Journal of Chemical Physics* **1953**, 21, 1087 - 1092.
- [76] Kampen, N. G. v. *Stochastic Processes in Physics and Chemistry*. North-Holland: Amsterdam, 1981.
- [77] Accelrys. *Materials Studio Release Notes, Release 4.2*. Accelrys Software Inc.: San Diego, 2007.
- [78] Siepmann, J. I.; Frenkel, D. Configurational Bias Monte-Carlo - a New Sampling Scheme for Flexible Chains. *Molecular Physics* **1992**, 75, 59 - 70.
- [79] Rosenbluth, M. N.; Rosenbluth, A. W. Monte-Carlo Calculation of the Average Extension of Molecular Chains. *Journal of Chemical Physics* **1955**, 23, 356 - 359.
- [80] Kirkpatrick, S.; Gelatt, C. D.; Vecchi, M. P. Optimization by Simulated Annealing. *Science* **1983**, 220, 671 - 680.
- [81] Cerny, V. Thermodynamical Approach to the Traveling Salesman Problem - an Efficient Simulation Algorithm. *Journal of Optimization Theory and Applications* **1985**, 45, 41 - 51.
- [82] Simulierte Abkühlung/Simulated Annealing. In [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org).
- [83] Luke, B. T. Simulated Annealing Cooling Schedules. In *LearningFromTheWeb.net*, <http://members.aol.com/btluke/simanf1.htm>.
- [84] Cambridge Structural Database. In.
- [85] Allen, F. H. The Cambridge Structural Database: a quarter of a million crystal structures and rising. *Acta Crystallographica Section B* **2002**, 58, 380 - 388.
- [86] *ConQuest*, 1.6; Copyright CCDC: 2003.
- [87] Bruno, I. J.; Cole, C.; Edgington, P. R.; Kessler, M.; Macrae, C. F.; McCabe, P.; Pearson, J.; Taylor, R. New software for searching the Cambridge Structural Database and visualizing crystal structures. *Acta Crystallographica Section B* **2002**, 58, 389 - 397.
- [88] Gessler, K.; Krauss, N.; Steiner, T.; Betzel, C.; Sarko, A.; Saenger, W.  $\beta$ -D-Cellotetraose Hemihydrate as a Structural Model for Cellulose II. An X-ray Diffraction Study. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, 117, 11397 - 11406.
- [89] Brown, C. J. The Crystalline Structure of the Sugars Part VI. A three-dimensional Analysis of  $\beta$ -Cellobiose. *Journal of the Chemical Society A* **1966**, 927 - 932.
- [90] Sternberg, U.; Koch, F. T.; Priess, W.; Witter, R. Crystal structure refinements of cellulose polymorphs using solid state C-13 chemical shifts. *Cellulose* **2003**, 10, 189-199.
- [91] Marhofer, R. J.; Reiling, S.; Brickmann, J. Computer simulations of crystal structures and elastic properties of cellulose. *Berichte Der Bunsen-Gesellschaft-Physical Chemistry Chemical Physics* **1996**, 100, 1350 - 1354.

- [92] Möllhoff, M.; Sternberg, U. Molecular mechanics with fluctuating atomic charges - a new force field with a semi-empirical charge calculation. *Journal of Molecular Modeling* **2001**, *7*, 90 - 102.
- [93] Sternberg, U.; Koch, F. T.; Brauer, M.; Kunert, M.; Anders, E. Molecular mechanics for zinc complexes with fluctuating atomic charges. *Journal of Molecular Modeling* **2001**, *7*, 54-64.
- [94] Kono, H.; Yunoki, S.; Shikano, T.; Fujiwara, M.; Erata, T.; Takai, M. CP/MAS C-13 NMR study of cellulose and cellulose derivatives. 1. Complete assignment of the CP/MAS C-13 NMR spectrum of the native cellulose. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124*, 7506 - 7511.
- [95] Aabloo, A.; French, A. D.; Mikelsaar, R. H.; Pertsin, A. J. Studies of crystalline native celluloses using potential-energy calculations. *Cellulose* **1994**, *1*, 161 - 168.
- [96] Helbert, W.; Nishiyama, Y.; Okano, T.; Sugiyama, J. Molecular Imaging of *Halocynthia papillosa* Cellulose. *Journal of Structural Biology* **1998**, *124*, 42 - 50.
- [97] Tsekos, I.; Reiss, H. D.; Schnepf, E. Cell-Wall Structure and Supramolecular Organization of the Plasma-Membrane of Marine Red Algae Visualized by Freeze-Fracture. *Acta Botanica Neerlandica* **1993**, *42*, 119 - 132.
- [98] SYBYL, 7.2.3; Tripos Inc.: St. Louis, MO, USA, 2006.
- [99] Mazeau, K.; Vergelati, C. Atomistic modeling of the adsorption of benzophenone onto cellulosic surfaces. *Langmuir* **2002**, *18*, 1919-1927.
- [100] Goodford, P. J. A computational procedure for determining energetically favourable binding sites on biologically important macromolecules. *Journal of Medicinal Chemistry* **1985**, *28*, 849 - 857.
- [101] Darden, T.; York, D.; Pedersen, L. Particle Mesh Ewald - an N.Log(N) Method for Ewald Sums in Large Systems. *Journal of Chemical Physics* **1993**, *98*, 10089 - 10092.
- [102] Essmann, U.; Perera, L.; Berkowitz, M. L.; Darden, T.; Lee, H.; Pedersen, L. G. A Smooth Particle Mesh Ewald Method. *Journal of Chemical Physics* **1995**, *103*, 8577 - 8593.
- [103] Berendsen, H. J. C.; Postma, J. P. M.; Vangunsteren, W. F.; Dinola, A.; Haak, J. R. Molecular Dynamics with Coupling to an External Bath. *Journal of Chemical Physics* **1984**, *81*, 3684 - 3690.
- [104] Heiner, A. P.; Teleman, O. Interface between monoclinic crystalline cellulose and water: Breakdown of the odd/even duplicity. *Langmuir* **1997**, *13*, 511-518.
- [105] Biermann, O.; Hadicke, E.; Koltzenburg, S.; Muller-Plathe, F. Hydrophilicity and lipophilicity of cellulose crystal surfaces. *Angewandte Chemie - International Edition* **2001**, *40*, 3822 - 3825.
- [106] Riddick, J. A.; Bunger, W. B.; Sakano, T. K. *Techniques of Chemistry Vol. II: Organic Solvents Physical Properties and Methods of Purification*. 4. ed.; Wiley: New York, 1986.
- [107] Jorgensen, W. L. Optimized Intermolecular Potential Functions for Liquid Alcohols. *Journal of Physical Chemistry* **1986**, *90*, 1276 - 1284.
- [108] Aziz, N. E. A.; Rogowski, F. Strukturbestimmung Von N-Propylalkohol, Isopropylalkohol, Allylalkohol und Propargylalkohol im Dampfzustand mit Elektronenbeugung. *Zeitschrift für Naturforschung Part B* **1964**, *B 19*, 967 - 977.

- [109] NIST Chemistry WebBook. In.
- [110] Aziz, N. E. D.; Rogowski, F. Further Considerations About Molecular Structure of Iso-Propyle Alcohol by Electron Diffraction. *Zeitschrift für Naturforschung Part B* **1966**, B 21, 996.
- [111] Gunsteren, W. F. v.; Billeter, S. R.; Eising, A. A.; Hünenberger, P. H.; Krüger, P.; Mark, A. E.; Scott, W. R. P.; Tironi, I. G. *Biomolecular Simulation: The GROMOS96 Manual and User Guide*, Verlag der Fachvereine: Zürich, Switzerland, 1996.
- [112] Pratt, K. C.; Wakeham, W. A. Self-Diffusion in Water and Monohydric Alcohols. *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions II* **1977**, 73, 997 - 1002.
- [113] Spoel, D. v. d.; Lindahl, E.; Hess, B.; Buuren, A. R. v.; Apol, E.; Meulenhoff, P. J.; Tieleman, D. P.; Sijbers, A. L. T. M.; Feenstra, K. A.; Drunen, R. v.; Berendsen, H. J. C. *Gromacs User Manual version 3.2* **2004**, [www.gromacs.org](http://www.gromacs.org).
- [114] Hanley, S. J.; Revol, J.-F.; Godbout, L.; Gray, D. G. Atomic force microscopy and transmission electron microscopy of cellulose from *Micrasterias denticulata*; evidence for a chiral helical microfibril twist. *Cellulose* **1997**, 4, 209 - 220.
- [115] Boobbyer, D. N. A.; Goodford, P. J.; Mcwhinnie, P. M.; Wade, R. C. New Hydrogen-Bond Potentials for Use in Determining Energetically Favorable Binding-Sites on Molecules of Known Structure. *Journal of Medicinal Chemistry* **1989**, 32, 1083 - 1094.
- [116] Wade, R. C.; Clark, K. J.; Goodford, P. J. Further Development of Hydrogen-Bond Functions for Use in Determining Energetically Favorable Binding-Sites on Molecules of Known Structure .1. Ligand Probe Groups with the Ability to Form 2 Hydrogen-Bonds. *Journal of Medicinal Chemistry* **1993**, 36, 140 - 147.
- [117] Wade, R. C.; Goodford, P. J. Further Development of Hydrogen-Bond Functions for Use in Determining Energetically Favorable Binding-Sites on Molecules of Known Structure .2. Ligand Probe Groups with the Ability to Form More Than 2 Hydrogen-Bonds. *Journal of Medicinal Chemistry* **1993**, 36, 148 - 156.
- [118] Hollenbeck, R. G.; Peck, G. E.; Kildsig, D. O. Application of Immersional Calorimetry to Investigation of Solid-Liquid Interactions - Microcrystalline Cellulose-Water System. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1978**, 67, 1599 - 1606.
- [119] Sing, K. S. W. Adsorption methods for the characterization of porous materials. *Advances in Colloid and Interface Science* **1998**, 77, 3 - 11.
- [120] Airaksinen, S.; Karjalainen, M.; Shevchenko, A.; Westermarck, S.; Lepänen, E.; Rantanen, J.; Yliruusi, J. Role of water in the physical stability of solid dosage formulations. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2005**, 94, 2147 - 2165.
- [121] Leuenberger, H. *Martin Physikalische Pharmazie*. 4. ed.; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH: Stuttgart, 2002.
- [122] Morrison, J. L.; Dzieciuch, M. A. The Thermodynamic Properties of the System Cellulose-Water Vapor. *Canadian Journal of Chemistry* **1959**, 37, 1379 - 1390.
- [123] Wasser (Stoffdaten). In [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org).

- [124] Pizzi, A.; Bariska, M.; Eaton, N. J. Theoretical Water Sorption Energies by Conformational Analysis Part II: Amorphous Cellulose and the Sorption Isotherm. *Wood Science and Technology* **1987**, 21, 317 - 327.
- [125] Pizzi, A.; Eaton, N. J.; Bariska, M. Theoretical Water Sorption Energies by Conformational Analysis Part I: Crystalline Cellulose I. *Wood Science and Technology* **1987**, 21, 235 - 248.
- [126] water structure and science. In <http://www.lsbu.ac.uk/water/data.html>.
- [127] Eger; Troschütz; Roth. *Arzneistoffanalyse - Reaktivität, Stabilität, Analytik*. 4. ed.; Deutscher Apotheker Verlag: Stuttgart, 1999.
- [128] *Spartan*, 5.1.3\_62; Wavefunction, Inc.: Irvine, CA.
- [129] Nishiyama, Y.; Langan, P.; Chanzy, H. Crystal structure and hydrogen-bonding system in cellulose I $\beta$  from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, 124, 9074 - 9082.
- [130] Pérez, S.; Kouwijzer, M.; Mazeau, K.; Engelsen, S. B. Modeling polysaccharides: Present status and challenges. *Journal of Molecular Graphics* **1996**, 14, 307 - 321.
- [131] Gunsteren, W. F. v. *GROMOS: Groningen Molecular Simulation Program Package*, University of Groningen, Groningen, The Netherlands, 1987.
- [132] Spieser, S. A. H.; Kuik, J. A. v.; Kroon-Batenburg, M. J. L.; Kroon, J. Improved carbohydrate force field for GROMOS: ring and hydroxymethyl group conformations and exo-anomeric effect. *Carbohydrate Research* **1999**, 322, 264 - 273.
- [133] Lins, R. D.; Hünenberger, P. H. A new GROMOS force field for hexopyranose-based carbohydrates. *Journal of Computational Chemistry* **2005**, 26, 1400 - 1412.
- [134] Allinger, N. L. Conformational Analysis .130. MM2 - Hydrocarbon Force-Field Utilizing V1 and V2 Torsional Terms. *Journal of the American Chemical Society* **1977**, 99, 8127 - 8134.
- [135] Allinger, N. L.; Yuh, Y. H.; Lii, J. H. Molecular Mechanics - The MM3 Forcefield for Hydrocarbons .1. *Journal of the American Chemical Society* **1989**, 111, 8551 - 8566.
- [136] Tvaroska, I.; Pérez, S. Conformational-Energy Calculations for Oligosaccharides - a Comparison of Methods and a Strategy of Calculation. *Carbohydrate Research* **1986**, 149, 389 - 410.
- [137] Brooks, B. R.; Bruccoleri, R. E.; Olafson, B. D.; States, D. J.; Swaminathan, S.; Karplus, M. CHARMM - a Program for Macromolecular Energy, Minimization and Dynamics Calculations. *Journal of Computational Chemistry* **1983**, 4, 187 - 217.
- [138] Ha, S. N.; Giammona, A.; Field, M.; Brady, J. W. A revised potential-energy surface for molecular mechanics studies of carbohydrates. *Carbohydrate Research* **1988**, 180, 207 - 221.
- [139] Reiling, S.; Schlenkrich, M.; Brickmann, J. Force field parameters for carbohydrates. *Journal of Computational Chemistry* **1996**, 17, 450 - 468.
- [140] Kuttel, M.; Brady, J. W.; Naidoo, K. J. Carbohydrate solution simulations: Producing a force field with experimentally consistent primary alcohol rotational frequencies and populations. *Journal of Computational Chemistry* **2002**, 23, 1236 - 1243.

- [141] Kouwijzer, M. L. C. E.; Grootenhuys, P. D. J. Parametrization and Application of Cheat95, an Extended Atom Force-Field for Hydrated (Oligo)Saccharides. *Journal of Physical Chemistry* **1995**, 99, 13426 - 13436.
- [142] Homans, S. W. A Molecular Mechanical Force-Field for the Conformational-Analysis of Oligosaccharides - Comparison of Theoretical and Crystal-Structures of Man $\alpha$ 1-3Man $\beta$ 1-4GlcNAc. *Biochemistry* **1990**, 29, 9110 - 9118.
- [143] Glennon, T. M.; Zheng, Y. J.; Legrand, S. M.; Shutzberg, B. A.; Merz, K. M. A Force-Field for Monosaccharides and (1 $\rightarrow$ 4)-Linked Polysaccharides. *Journal of Computational Chemistry* **1994**, 15, 1019 - 1040.
- [144] Woods, R. J.; Dwek, R. A.; Edge, C. J.; Fraserreid, B. Molecular Mechanical and Molecular Dynamical Simulations of Glycoproteins and Oligosaccharides .1. Glycam\_93 Parameter Development. *Journal of Physical Chemistry* **1995**, 99, 3832 - 3846.
- [145] Lifson, S.; Warshel, A. Consistent Force Field for Calculations of Conformation, Vibrational Spectra and Enthalpies of Cycloalkane and N-Alkane Molecules. *Journal of Chemical Physics* **1968**, 49, 5116 - 5129.
- [146] Engelsen, S. B.; Rasmussen, K. Conformations of Disaccharides by Empirical Force-Field Calculations .5. Conformational Maps of  $\beta$ -Gentiobiose in an Optimized Consistent Force-Field. *International Journal of Biological Macromolecules* **1993**, 15, 56 - 62.
- [147] Perez, D. D. S.; Ruggiero, R.; Morais, L. C.; Machando, A. E. H.; Mazzeau, K. Theoretical and Experimental Studies on the Adsorption of Aromatic Compounds onto Cellulose. *Langmuir* **2004**, 20, 3151 - 3158.
- [148] Matilainen, V. Adsorption of some drugs on microcrystalline cellulose in aqueous solution. Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf, 2005.
- [149] Meyer, E. A.; Castellano, R. K.; Diederich, F. Wechselwirkungen mit aromatischen Ringen in chemischen und biologischen Erkennungsprozessen. *Angewandte Chemie* **2003**, 115, 1244 -1287.
- [150] Hvidt, A. Interactions of Water with Non-Polar Solutes. *Annual Review of Biophysics and Bioengineering* **1983**, 12, 1 - 20.







## A Abkürzungen und Einheiten

### Abkürzungen

bzw.	beziehungsweise
d.h.	das heißt
evtl.	eventuell
MC	Monte-Carlo
MD	Moleküldynamik
NMR	„ <i>nuclear magnetic resonance</i> “; Kernresonanzspektroskopie
$\text{pK}_s$	negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstante
RDF	<i>radial distribution function</i>
RH	<i>relative humidity</i> = relative Luftfeuchte
RMSD	<i>root mean square deviation</i>
s.	siehe
SAS	<i>Solvent accessible surface</i>
u.a.	unter anderem
vdW	van der Waals
z.B.	zum Beispiel

### Einheiten

Å	Ångström ( $1 \text{ Å} = 10^{-10} \text{ m}$ )
nm	Nanometer ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ )
$\mu\text{m}$	Mikrometer ( $1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m}$ )
K	Kelvin ( $0 \text{ K} = -273,15 \text{ °C}$ )
kcal	Kilokalorie ( $1 \text{ kcal} = 4,186 \text{ kJ}$ )
fs	Femtosekunde ( $1 \text{ fs} = 10^{-15} \text{ s}$ )
ps	Picosekunde ( $1 \text{ ps} = 10^{-12} \text{ s}$ )
ns	Nanosekunde ( $1 \text{ ns} = 10^{-9} \text{ s}$ )
$k_b$	Boltzmann-Konstante = $1,381 \times 10^{-23} \text{ (J x K}^{-1}\text{)}$
kJ	Kilojoule ( $1 \text{ Kalorie} = 4,1868 \text{ Joule}$ )
Pa	Pascal ( $1 \text{ bar} = 10^5 \text{ Pa}$ )

## B Hardware

### Silicon Graphics Workstations:

INDIGO<sup>2</sup> R10000  
O2 R12000

### Linux HPC- Cluster:

8 x NovaScale 3045 je Knoten:  
4 Dual-Core 1,6 GHz Intel Itanium2 Montecito Prozessoren (8 Cores) und  
59 x NovaScale R 440 je Knoten:  
2 Dual-Core 3 GHz Intel Xeon Woodcrest Prozessoren (4 Cores)

### Linux HPC-Cluster:

3 x Sun Fire V40z mit je 4 DualCore Prozessoren AMD Opteron Typ 875

### Linux Server:

2 x Transtec 2600L Workstations mit je 2 Intel Xeon 3,06 GHz

### Linux Workstation:

Intel PentiumIV 2,8 GHz

## C Software

<b>GROMACS</b>	Sehr umfangreiches Molecular-Modelling-Paket der Universität Harvard (Chemistry at Harvard Molecular Mechanics; <a href="http://yuri.harvard.edu/">http://yuri.harvard.edu/</a> )
<b>MATERIALS STUDIO</b>	Programmpaket zur Untersuchung materialwissenschaftlicher Fragestellungen der Firma Accelrys
<b>MS-OFFICE</b>	Microsoft Excel, Powerpoint und Word
<b>SYBYL</b>	Molecular-Modelling-Paket der Firma TRIPOS
<b>GRID</b>	Visualisierungsprogramm der Universität Illinois (Visual Molecular Dynamics; <a href="http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/">http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/</a> )

## D Energieterme des OPLS-Kraftfeldes

Die Potentialenergie  $E_{pot}$  eines Moleküls ergibt sich im OPLS-Kraftfeld aus den Standard-Energietermen:

$$E_{pot} = E_B + E_W + E_T + E_{Disp} + E_{Ele}$$

Dabei werden die einzelnen Terme wie folgt definiert:

<b>Bindungslängen-energie <math>E_B</math></b>	$E_B = \sum K_r (r - r_{eq})^2$	$K_r$ Bindungslängen-Kraftkonstante (kcal mol <sup>-1</sup> Å <sup>-2</sup> ) $d$ aktuelle Bindungslänge (Å) $r_{eq}$ Referenz-Bindungslänge (Å)
<b>Bindungswinkel-energie <math>E_W</math></b>	$E_W = \sum K_\theta (\theta - \theta_{eq})^2$	$K_\theta$ Bindungswinkel-Kraftkonstante (kcal mol <sup>-1</sup> rad <sup>-2</sup> ) $\theta$ aktueller Bindungswinkel (Grad) $\theta_{eq}$ Referenz-Bindungswinkel (Grad)
<b>Torsionswinkel-energie <math>E_T</math></b>	$E_T = \sum_i \frac{V_1^i}{2} [1 + \cos(\phi_i + f_i 1)] + \frac{V_2^i}{2} [1 - \cos(2\phi_i + f_i 2)] + \frac{V_3^i}{2} [1 + \cos(3\phi_i + f_i 3)]$	$\Phi$ aktueller Torsionswinkel (Grad) $V$ Koeffizienten der Fourier Serie (kcal/mol) $f$ Phasenwinkel, bestimmt wo der Torsionswinkel seinen Minimumwert passiert (alle 0 für dieses System)
<b>Dispersions-energie <math>E_{Disp}</math></b>	$E_{Disp} = \sum_{i < j} \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{C_{ij}}{r_{ij}^6}$	$A_{ij}$ Konstante im repulsiven Term (kcal mol <sup>-1</sup> Å <sup>12</sup> ) $C_{ij}$ Konstante im attraktiven Term (kcal mol <sup>-1</sup> Å <sup>6</sup> ) $r_{ij}$ Abstand zwischen den Atomen i und j (Å)
<b>Elektrostatische Energie <math>E_{Ele}</math></b> (Coulomb-Potential)	$E_{Ele} = \sum_{i < j} \frac{q_i q_j e^2}{r_{ij}}$	$q_i, q_j$ Ladungen der Atome i, j $r_{ij}$ Abstand zwischen den Atomen i und j (Å)

## E Energieterme des pcff-Kraftfeldes

Die Potentialenergie  $E_{pot}$  eines Moleküls setzt sich aus den Standardenergietermen und aus Kreuztermen für die Kopplung interner Koordinaten zusammen.

Insgesamt addieren sich folgende Terme für  $E_{pot}$  =

<b>Bindungslängenenergie</b>	$\sum_b \left[ K_2 (b - b_0)^2 + K_3 (b - b_0)^3 + K_4 (b - b_0)^4 \right]$	<p><math>K</math> Bindungslängen-Kraftkonstante (<math>\text{kcal mol}^{-1} \text{\AA}^{-2}</math>)</p> <p><math>b</math> aktuelle Bindungslänge (<math>\text{\AA}</math>)</p> <p><math>b_0</math> Referenz-Bindungslänge (<math>\text{\AA}</math>)</p>
<b>Bindungswinkelenergie</b>	$\sum_\theta \left[ H_2 (\theta - \theta_0)^2 + H_3 (\theta - \theta_0)^3 + H_4 (\theta - \theta_0)^4 \right]$	<p><math>H</math> Bindungswinkel-Kraftkonstante (<math>\text{kcal mol}^{-1} \text{rad}^{-2}</math>)</p> <p><math>\theta</math> aktueller Bindungswinkel (Grad)</p> <p><math>\theta_{0q}</math> Referenz-Bindungswinkel (Grad)</p>
<b>Torsionswinkelenergie</b>	$\sum_\phi V_1 \left[ 1 + \cos(\phi + \phi_1^0) \right] + V_2 \left[ 1 - \cos(\phi + \phi_2^0) \right] + V_3 \left[ 1 + \cos(\phi + \phi_3^0) \right]$	<p><math>V</math> Kraftkonstante der Torsion</p> <p><math>\Phi</math> (<math>\text{kcal}^\circ \text{mol}^{-1}</math>)</p> <p><math>\Phi_0</math> aktueller Torsionswinkel (Grad)</p> <p>Referenz-torsionswinkel</p>
<b>Elektrostatische und Dispersionsenergie</b>	$\sum_{i < j} \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} + \sum_{i < j} \frac{A_{ij}}{r_{ij}^9} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6}$	<p><math>q_i</math>, <math>q_j</math> Ladungen der Atome <math>i, j</math></p> <p><math>r_{ij}</math> Abstand zwischen den Atomen <math>i, j</math> (<math>\text{\AA}</math>)</p> <p><math>\epsilon</math> Dielektrizitätskonstante</p> <p><math>A_{ij}</math> Konstante im repulsiven Term (<math>\text{kcal mol}^{-1} \text{\AA}^{12}</math>)</p> <p><math>B_{ij}</math> Konstante im attraktiven Term (<math>\text{kcal mol}^{-1} \text{\AA}^6</math>)</p> <p><math>r_{ij}</math> Abstand zwischen den Atomen <math>i, j</math> (<math>\text{\AA}</math>)</p>

<b>Winkeldeformation außerhalb der Ebene</b>	$\sum_{\chi} K_{\chi} (\chi - \chi_0)^2$	$K_{\chi}$ Kraftkonstante der out-of-Plane Win- keldeformation $\chi$ Aktueller fiktiver Torsionswinkel $\chi_0$ Fiktiver Referenz- torsions- Winkel
<b>Kreuzterm für die Kopplung von Bindung/Bindung</b>	$\sum_b \sum_{b'} F_{bb'} (b - b_0)(b' - b'_0)$	
<b>Kreuzterm für die Kopplung von Winkel/Winkel</b>	$\sum_{\theta} \sum_{\theta'} F_{\theta\theta'} (\theta - \theta_0)(\theta' - \theta'_0)$	
<b>Kreuzterm für die Kopplung von Bindung/Winkel</b>	$\sum_b \sum_{\theta} F_{b\theta} (b - b_0)(\theta - \theta_0)$	
<b>Kreuzterm für die Kopplung von Bindung/Torsion</b>	$\sum_b \sum_{\phi} (b - b_0) [V_1 \cos \phi + V_2 \cos 2\phi + V_3 \cos 3\phi]$ $+ \sum_{b'} \sum_{\phi} (b' - b'_0) [V_1 \cos \phi + V_2 \cos 2\phi + V_3 \cos 3\phi]$	
<b>Kreuzterm für die Kopplung von Winkel/Torsion</b>	$\sum_{\theta} \sum_{\phi} (\theta - \theta_0) [V_1 \cos \phi + V_2 \cos 2\phi + V_3 \cos 3\phi]$	
<b>Kreuzterm für die Kopplung von Torsion/angrenzender Winkel</b>	$\sum_{\phi} \sum_{\theta} \sum_{\theta'} K_{\phi\theta\theta'} \cos \phi (\theta - \theta')(\theta' - \theta')$	

## F Eingabedateien

### F1 Beispiel eines Input Files für eine MD-Simulation in GROMACS

```
; VARIOUS PROCESSING OPTIONS
```

```
title = GSTR in water
```

Gibt den Titel der MD-Simulation an

```
cpp = /lib/cpp
```

```
include =
```

Gibt den Namen des Verzeichnisses an, welches in die Simulation einbezogen werden soll z.B. wenn benutzerdefinierte Parameter eingefügt werden sollen. In dieser Arbeit wurden die benutzerdefinierten Parameter direkt in die Kraftfeld-Dateien eingefügt

```
define = -DPOSRES
```

Gibt das Kommando *position restraints* in die Simulation einzubeziehen, z.B. während der Equilibrierung oder der Herstellung des amorphen Teilbereichs.

In dieser Arbeit wurden die *position restraints* direkt in die itp.files der einzelnen Gruppen eingefügt, da es auch innerhalb einer Gruppe Variationen der position restraints gab.

```
; RUN CONTROL PARAMETERS
```

```
Integrator = md
```

Ein leap-frog Algorithmus wird für die Integration vom Newtonschen Bewegungsgesetz benutzt.

```
tinit = 0
```

Startzeit der Simulation Normalerweise wird dieser Wert auf 0 ps gesetzt, es sei denn, es soll eine Simulation fortgesetzt werden. Dann wird hier eine andere Startzeit eingesetzt.

```
dt = 0,001
```

Zeitschritt, der während der Simulation verwendet wird. Hier auf 1 fs gesetzt. Wenn der Zeitschritt größer gewählt wird, muss durch einen Algorithmus (LINCS oder SHAKE) die Oszillation der Bindung zwischen Wasserstoff- und Schweratomen festgehalten werden, da es sonst zu Fehlern bei der Berechnung der Atompositionen und der Geschwindigkeiten kommt

```
nsteps = 100000
```

Gibt die Anzahl der zu berechnenden Schritte an, 100000 Schritte bei einem Zeitschritt von 1 fs ergibt eine Simulationsdauer von 100 ps.

```
comm-mode = linear
```

Gibt die Art des Aufhebens der Bewegung des Massenzentrums an. Hier ist linear angegeben, d.h. dass die Verschiebung des Massenzentrums periodisch aufgehoben wird. Damit wird vermieden, dass das gesamte System sich aus der Box heraus bewegt.

```
nstcomm = 1
```

Frequenz des Aufhebens der Bewegung des Massenzentrums. Hier wird es auf jeden Schritt gesetzt.

```
comm-groups =
```

Die Bewegung wird von allen hier genannten Gruppen zurückgesetzt. Wird hier nichts eingetragen wie in diesem Fall, wird die Verschiebung für das gesamte System zurückgesetzt.

#### OUTPUT CONTROL OPTIONS

```
nstxout = 10000
```

```
nstvout = 10000
```

```
nstfout = 10000
```

Frequenz mit der Systemkoordinaten (x), Geschwindigkeiten (v) und Kräfte (f) in das Trajektorienfile (\*.trr) geschrieben werden. \*.trr files sind notwendig, um eine Simulation fortsetzen zu können und sind größer als \*.xtc files, die keine Informationen über Kräfte und Geschwindigkeiten enthalten. Hier ist die Frequenz bei allen 10 ps.

```
nstlog = 10000
```

Frequenz, mit der die Systemenergie in das \*.log file geschrieben wird

```
nstenergy = 10000
```

Frequenz, mit der die Systemenergie in das \*.edr file geschrieben wird

```
nstxtout = 0
```

Frequenz, mit der Systemkoordinaten in das \*.xtc Trajektorienfile geschrieben werden. Das \*.xtc.file enthält keine Informationen über Atomgeschwindigkeiten. Es kann zwar zur Auswer-

tung benutzt werden, aber nicht um eine Simulation neu zu starten. Wenn hier 0 eingetragen ist, wird auf das Herausschreiben eines \*xtc.files verzichtet.

```
xtc_precision = 1000
```

Präzision, mit der in das \*xtc.file hineingeschrieben wird

```
xtc_grps =
```

Gruppen, die in die xtc-Trajektorie einbezogen werden sollen.

```
energygrps = GST1 GST2 GST3 GST4 GST5 GST6 GST7 GSTR GSTR SOL
```

Gruppen, die in das \*edr.file hineingeschrieben werden sollen.

```
; NEIGHBOURSEARCHING PARAMETERS
```

Der Bereich einer MD-Simulation, der die meiste Zeit benötigt, ist die Berechnung der Energien und Kräfte der nicht miteinander verbundenen Atome. Während die Anzahl der gebundenen Wechselwirkungen proportional zur Anzahl der Atome  $N$  ist, steigt die Anzahl der nicht-gebundenen Terme mit  $N^2$  [50]. Zur Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkungen wurde die PME-Methode verwendet. Für die dispersive Wechselwirkungen kann ein cutoff verwendet werden, da sie mit größerem Abstand schnell abnehmen. Damit nicht in jedem Integrationsschritt die Distanz zwischen allen Atomen berechnet werden muss, wird eine Liste mit allen nicht-gebundenen Nachbaratomen erzeugt, die in einem Abstand entsprechend des Cutoffs liegen. Dann werden in jedem Rechenschritt nur die Atome in der Neighbour List in die Berechnung mit einbezogen. Die Liste wird in regelmäßigen Intervallen auf den neusten Stand gebracht.

```
nstlist = 10
```

Frequenz, mit der die Neighbour List aktualisiert wird.

```
ns_type = grid
```

Wenn eine neue Neighbour List erstellt wird, wird die Simulationsbox in Grid-Zellen unterteilt. Nur Atome in benachbarten Grid-Zellen werden als potentielle Nachbarn für ein Atom in der zentralen Zelle in Betracht gezogen.

```
pbs = xyz
```

Periodische Randbedingungen (PBC) werden in alle Richtungen benutzt. Eine wichtige Voraussetzung ist, dass jedes Atom nur ein Abbild von einem anderen Atom „sieht“ und nicht mehrere.

```
rlist = 0,8
```

Zeigt die Distanz [nm] für die Berechnung der short-range Neighbour List für die van der Waals Wechselwirkungen. Dieser Cutoff muss kleiner sein als die Länge der Hälfte des kleinsten Boxvektors, damit verhindert wird, dass ein Atom sein eigenes Bild „sieht“.

```
; OPTIONS FOR ELECTROSTATICS AND VDW
```

Aufgrund der schnellen Abnahme des Lennard-Jones Potentials von van der Waals Wechselwirkungen mit zunehmender Distanz, ist es möglich, diese mit einem Cutoff zu berechnen. Elektrostatische Wechselwirkungen sind weitreichender und es wird vermieden einen Cutoff-Ansatz zu wählen. Hier wird die Particle-Mesh Ewald Methode gewählt.

```
coulombtype = PME
```

Die Partikel-Mesh-Ewald Methode wird zur Berechnung der long-range elektrostatischen Wechselwirkungen gewählt. Eine nähere Erläuterung der Methode s. [50]

```
fourierspacing = 0,12
```

Abstand der Grid-Punkte in nm für die Berechnung des FFT-Grid bei der PME-Berechnung

```
rcoulomb = 0,8
```

```
pme_order = 4
```

```
ewald_rtol = 1e-05
```

```
ewald_geometry = 3d
```

```
optimize_fft = yes
```

Vorgegebene Parameter für die Berechnung des FFT-Grid bei PME-Rechnungen

```
vdw_type = cut-off
```

Die van der Waals Wechselwirkungen werden mit der Cutoff-Methode berechnet.

```
rvdw = 0,8
```

Distanz für die Berechnung des Lennard-Jones Potentials [nm].

```
; OPTIONS FOR WEAK COUPLING ALGORITHMS
```

Hier werden die äußeren Randbedingungen der Rechnung vorgegeben. Wie in Kapitel 3.1.3.2 beschrieben, werden häufig das NVT- und das NPT-Ensemble benutzt. Das NVT-Ensemble wurde benutzt bei der Parametrisierung der Isopropanol-Umgebung. Für Simulationen des Cellulose-Modells in einer Wasser- oder Isopropanol-Umgebung wurde das NPT-Ensemble benutzt.

Die Einhaltung der vorgegebenen Temperatur wird durch die Kopplung an ein „Bad“ mit einer vorgegebenen Referenztemperatur `ref_t` [K] durch den Berendsen-Algorithmus erreicht.

```
tcoupl = Berendsen
```

```
tc_grps = GST1 GST2 GST3 GST4 GST5 GST6 GST7 GST8 GST9 SOL
```

Gruppen im System, die an das „Temperaturbad“ gekoppelt werden

```
Tau_t = 0.1 0.1 0.1 0.1 0.1 0.1 0.1 0.1 0.1 0.1
```

Zeit-Konstante für die Temperatur-Kopplung [ps]

```
Ref_t = 293 293 293 293 293 293 293 293 293 293
```

Referenz-Temperatur für die einzelnen Gruppen des Systems [K]

```
pcoupl = Berendsen
```

Methode, um den vorgegebenen Druck einzuhalten

```
pcoupltype = isotropic
```

Typ der angewendeten Druck-Kontrolle

```
tau_p = 1.0
```

Zeitkonstante für die Druck-Kontrolle [ps]

```
compressibility = 4.5e-5
```

Komprimierbarkeit des Systems [ $\text{bar}^{-1}$ ]. Der Wert bezieht sich auf Wasser bei 1 atm und 300 K.

Bei der Parametrisierung von Isopropanol wurde eine Komprimierbarkeit von  $9.63\text{e-}5$  eingesetzt [150].

```
ref_p = 1.0
```

Referenzwert des Druckes [bar]

```
; SIMULATED ANNEALING
```

Es wurde kein Simulated Annealing durchgeführt.

```
annealing = no no no no no no no no no no
```

```
annealing_npoints =
```

```
annealing_time =
```

```
annealing_temp =
```

```
; GENERATE VELOCITIES FOR STARTUP
```

Zu Beginn der Simulation werden die Geschwindigkeiten für alle Atome im System zufällig generiert bezogen auf die System-Temperatur [K].

```
gen_vel = yes
```

Gibt den Befehl Geschwindigkeiten zu erzeugen. Die Option „no“ wird nur benutzt, wenn eine MD-Simulation fortgesetzt werden soll und dann die Geschwindigkeiten aus dem \*.trr file gelesen werden sollen.

```
gen_temp = 293
```

System-Temperatur [K]

```
gen_seed = 173529
```

Ganze Zahl, die die zufällige Generation von zufälligen Geschwindigkeiten initialisiert.

```
; OPTIONS FOR BONDS
```

Je nach angewendetem Zeitschritt, müssen Constraints für die Bindungslängen gemacht werden. Der Zeitschritt hängt von der schnellsten Bewegung im System ab. Wenn ein Zeitschritt größer als 1 fs gewählt wird, müssen alle Bindungen zu Wasserstoff-Atomen festgehalten werden, da sie sonst nicht richtig wiedergegeben werden können. Dies erfolgt über den LINCS-

oder SHAKE-Algorithmus. In den durchgeführten Simulationen wurde jeweils ein Zeitschritt von 1 fs verwendet, so dass keiner der oben genannten Algorithmen angewendet wurde.

constraints = none
constraint_algorithm =
unconstrained_start =
lincs_order =
lincs_warnangle =

## F2 Einstellungen des Simulated Annealing Protokolls in Materials Studio

### SORPTION TOOL

Ermöglicht die Simulation der Adsorption eines reinen Stoffes oder eines Stoffgemisches an ein dreidimensionales Bezugssystem. Es können Informationen über Adsorptionsisothermen, Bindungsstellen, Bindungsenergien, Globale Minima, Dichte- und Energiefelder und Henry's Konstanten ermittelt werden, je nach verwendeter Simulationsmethode. Die Simulationen können unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt werden (z.B. festgelegtem Druck oder festgelegter Partikelzahl).

### SETUP

Task = Locate

Gibt die Aufforderung, ein Simulated Annealing durchzuführen. Dabei wird bei konstantem Druck das System jeweils aufgeheizt und eine Serie von Abkühlzyklen durchgeführt. Alternativ bestehen hier die Möglichkeiten Fixed Pressure, Fixed Loading, Henry Constant und Adsorption Isotherm, um andere Simulationsmethoden durchzuführen.

Method = Configurational bias

Legt fest, welcher Algorithmus für die Simulation verwendet wird. Alternativ besteht hier die Möglichkeit der Verwendung des Metropolis-Algorithmus. Bei der Verwendung der Configurational Bias Methode müssen zusätzlich zuvor relevante Torsionswinkel, die variabel sein sollen, definiert werden.

	Ratio	Probability	Amplitude
Regrowth	2	0,25	
Twist	1	0,13	5,0 °
Rotate	1	0,13	5,0 °
Translate	1	0,13	1,0 Å

Hier können die Wahrscheinlichkeiten für die Auswahl eines bestimmten Schrittypes verändert werden. In der Simulation wurden die hier aufgelisteten Standardeinstellungen verwendet.

Beim Schritt Regrowth wird eine Abfolge von neuen Positionen und Konformationen gewichtet erzeugt für ein Molekül und daraus eine ausgewählt. D.h. ein vorhandenes Molekül wird herausgenommen und an anderer Stelle in einer neuen Konformation wieder eingesetzt.

Beim Schritt Twist wird zufällig ein Torsionswinkel ausgewählt und dieser um einen definierten Wert (in °) verändert.

Beim Rotate-Schritt wird zufällig ein Molekül ausgewählt und um einen definierten Wert (in °) um sein geometrisches Zentrum rotiert.

Beim Translate-Schritt wird ein zufällig ausgewähltes Molekül um einen definierten Wert (in Å) verschoben.

Alle Werte können während der Simulation angepasst werden, um die Akzeptanzrate nahe 50% zu halten, wenn die Funktion der automatischen Anpassung der Schrittgröße aktiviert wurde. Am Ende erhält man dann eine Aufstellung der Durchschnittswerte für jede Schrittgröße.

Biased steps	Head	10 steps
	Torsion	10 steps
Chemical potential	Accuracy	1000 steps

Bei der Configurational Bias Methode wird das Molekül in Segmente unterteilt, so dass jede rotierbare Bindung zwei Segmente miteinander verbindet. Ein Segment wird dann als „Kopf“-Segment ausgewählt, welches die Indexnummer 1 bekommt. Nachfolgend werden die anderen Segmente dann nummeriert.

Um zu einer neuen Konformation zu gelangen, werden jeweils eine definierte Anzahl an gewichteten Vorschlägen für das Kopf-Segment und die Folge-Segmente erzeugt, woraus dann eine ausgewählt wird. Dabei wird im Anschluß an die Auswahl einer neuen Konformation in einer vorher definierten Schrittzahl das chemisches Potential berechnet.

Quality	= Customized	
	Maximum loading steps	= 100 000
	Production steps	= 2 000 000
	Temperature cycles	= 10

Hier werden die Parameter für die Simulation wie Anzahl der Beladungsschritte, Anzahl der Produktionsschritte und Anzahl der Zyklen festgelegt. Die Anzahl der Produktionsschritte pro Zyklus

errechnet sich als Quotient aus der Gesamtzahl der Produktionsschritte und der Anzahl an durchzuführenden Zyklen. Die ersten Produktionsschritte (ca. 10%) jedes Zyklus werden für das Aufheizen (sog. Kalibrierungsphase) benötigt, die restlichen Schritte dienen dann dem Abkühlen. Es gibt voreingestellte Standardwerte (Quality), es besteht aber auch die Möglichkeit, benutzerdefinierte Einstellungen zu verwenden.

Automated temperature control
Adjust step size

Bei Aktivierung der Automatischen Temperaturkontrolle werden während der Kalibrierungsphase (Aufheizphase) automatisch die Kontrollparameter für den Temperaturzyklus festgelegt. Dabei muss z.B. aus einem energetisch günstigeren Minimum heraus mehr Energie zugeführt werden, um die Wechselwirkungskräfte zu überwinden und zu einer zufälligen Startposition zu gelangen, als aus einem weniger günstigen Minimum heraus. Dies wird bei der Wahl der Aufheiztemperatur berücksichtigt. Ebenfalls automatisch wird die Abkühlrate festgelegt.

Bei der Aktivierung der Funktion für die Anpassung der Schrittgröße können automatisch die Einstellungen für jeden Schritttyp (s.o.) so verändert werden, dass die Akzeptanzrate jeweils bei ca. 50% liegt.

Optimize geometry	
Smart	
Quality	= Fine
Energy	= $10^{-4}$ kcal/mol
Force	= 0,005 kcal/mol/Å
Displacement	= $5 \times 10^{-5}$ Å
Max. iteration	= 10 000

Bei Aktivierung wird die energetisch günstigste Struktur am Ende der Simulation automatisch minimiert. Dabei kann zwischen verschiedenen Minimierungsmethoden gewählt werden. Bei der Auswahl Smart läuft eine Kaskade bestehend aus Steepest descent-, ABNR- und quasi-Newton-Methoden ab. Mit dem Steepest descent-Algorithmus nähert man sich effektiv dem Minimum, gerade wenn der Gradient sehr groß ist und die Struktur weit vom Minimum entfernt ist. In der Nähe des Minimums wird er aber ineffektiv und zeigt nur langsame Konvergenz zum Minimum,

daher wird dieser Algorithmus nur zur anfänglichen Minimierung (10-100 Schritte) eingesetzt. Zur weiteren Verfeinerung werden fortschrittlichere und effizientere Methoden angewendet. Die ABNR-Methode (Adjusted Basis set Newton-Raphson) und die quasi-Newton-Raphson-Methode (nur BFGS Variante = Fletcher-Powell-Algorithmus verwendet) sind rechenintensive Gradientenverfahren, bei denen neben der ersten Ableitung auch die zweite Ableitung der Energiefunktion berechnet wird [77] [50].

Die ausgewählte Qualität bestimmt die Konvergenzkriterien (s.o.) für die Minimierung. Die Anzahl der Minimierungsschritte, falls vorher keine Konvergenz erreicht wird, muss ebenfalls vorgegeben werden.

Keep motion groups rigid	= no
--------------------------	------

Während der Simulation werden die zu adsorbierenden Moleküle als rigide betrachtet, außer den zuvor definierten Torsionswinkeln beim Configurational bias-Algorithmus. Um eine Flexibilität dieser Moleküle während der Simulation einzubeziehen, muss diese Funktion deaktiviert werden.

Return lowest energy frames	= 10
-----------------------------	------

Bei Aktivierung wird eine definierte Anzahl an energetisch günstigsten Strukturen im Verlauf der Simulation herausgeschrieben. Diese werden mit Strukturen geordnet nach Energie aufgelistet.

Molecule	= Wasser_min.xsd	= 1000
	= Procain_protoniert_min.xsd	= 7

Gibt vor, welche Moleküle adsorbiert werden sollen. Hier ist die Adsorption eines reinen Stoffes oder eines Stoffgemisches möglich. Durch die Angabe der Anzahl der Moleküle jeder Sorte kann ein bestimmtes Konzentrationsverhältnis eingestellt werden. Während der Beladungsphase werden die Moleküle dann in das System eingesetzt, wobei beide Molekülsorten gleichzeitig betrachtet werden und die Reihenfolge der Auflistung keine Rolle spielt. Der erste Einsetzschrift erfolgt dabei an völlig zufälliger Position, im Anschluss wird das Akzeptanzkriterium für den neuen Schritt einbezogen.

## ENERGY

Forcefield = pcff30  
 Calculate forcefield types automatically

Es stehen verschiedene Kraftfelder zur Verfügung, neben dem pcff30-Kraftfeld als geeignetes Kraftfeld für Polysaccharide auch noch COMPASS, COMPASS26, Dreiding, Universal und cvff. Die Kraftfeldtypen können dann für die Moleküle automatisch zugeordnet werden.

Charge	Forcefield assigned		
Quality	Fine		
Non-Bond	Op-	Electrostatic	Ewald
tions			Accuracy 0,0001 kcal/mol
		vdW	Atom based
			Truncation Cubic spline
			Cutoff distance 15,5 Å
			Spline width 1

Es stehen verschiedene Möglichkeiten für die Berechnung der Wechselwirkungsenergien, der nicht miteinander verbundenen Atome, zur Verfügung. Sollen geladene Moleküle adsorbiert werden, muss für die Berechnung der elektrostatischen Energien die Ewald Summation Methode angewendet werden.

Für die Berechnung der van der Waals-Wechselwirkungen wird die Cutoff-Methode verwendet. Die Berechnung erfolgt bis zu einer Distanz von 15,5 Å, danach wird sie mit der kubischen Spline-Methode auf 0 skaliert. Der Bereich, in dem diese Skalierung erfolgt wird als Spline width in Å angegeben.

CONSTRAINTS
-------------

Add new sorbates in a box	= yes
Orientation	= A
	From 0,2 To 1,0

Um die Adsorption effektiver zu gestalten, kann der Bereich, in den die Moleküle eingesetzt werden durch eine Box beschränkt werden. Es muss dann die Richtung im dreidimensionalen Raum ausgewählt werden, in der die Adsorption beschränkt werden soll. Außerdem muss die Größe der Box, in die eingesetzt werden soll, entlang dieser Achse definiert werden.

JOB CONTROL
-------------

Gateway location	
Live Updates	Update structure
	Update graphs
	Update textual results
	Every 3600 seconds
Retain server files	

Wenn aktiviert, wird eine Sicherheitskopie der Ergebnisse auf dem Server behalten

Ich möchte mich bei all jenen bedanken, die mich während der Promotionszeit in Düsseldorf unterstützt und zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Ich danke allen Kolleginnen und Kollegen des Arbeitskreises und der WE Pharmazie für die freundschaftliche Atmosphäre und die konstruktive Zusammenarbeit. Ganz besonders danke ich:

Frau Höltje, durch deren Hilfe ich die ersten Schritte auf dem Gebiet des Molecular Modeling machen konnte und ohne deren Hilfe meine Modelle vielleicht nie rechenbar geworden wären.

Birte Schmitz, die meist die erste Adresse für vielerlei Fragen war und die immer bereitwillig über meine diversen Computer-Probleme mit mir diskutiert hat. In den Gesprächen entstanden immer wieder neue Ideen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Peter Sippel, der mich bei meinen zahlreichen Soft- und Hardwareproblemen unterstützt hat, auch wenn er dafür ein komplett neues System aufbauen und mein „Spezialprogramm“ dreimal installieren musste. Außerdem hat er sich als Rettung erwiesen, als mein Laptop während der Schreibphase auf unerklärliche Weise das Zeitliche segnete.

Jasmin Schrobang, mit der ich all die Jahre gemeinsam das Praktikum betreut habe und die schon während des Studiums meine Leidensgenossin war. Unser gutes Teamwork ließ uns immer alle auftretenden Probleme meistern und auch die Endphase der Promotion trotz Praktikum gut überstehen.

Es gibt bisher nur wenige Menschen, die jeden Satz meiner Arbeit kennen – Ute Hufeisen und ihre Familie gehören dazu. Sie waren mir eine große Hilfe dabei, mich im Dschungel der deutschen Kommasetzung zurecht zu finden.

Ein riesiges Dankeschön gilt meinen Eltern und Großeltern für ihre große Unterstützung und Anteilnahme während meiner Ausbildung und meiner Promotion. Ich konnte mir immer ihrer Unterstützung sicher sein und sie haben mir vieles in meinem bisherigen Leben ermöglicht.

Zum Schluss noch ein großes Dankeschön an Frank. Er hat mich immer wieder motiviert, wenn es mal nicht so lief. Mit seinem beruhigenden Einfluss hat er mich immer wieder auf den Boden der Tatsachen zurückgeholt und mir neues Vertrauen in mich selbst gegeben. Ich fühle mich sehr wohl, wenn ich mit ihm zusammen bin.

**Name** Nadine Sonnenberg  
geboren am 05.06.1979  
in Iserlohn

**Schulbildung**  
1985 – 1989 Grundschule Kalthof  
1989 – 1998 Märkisches Gymnasium Iserlohn

**Studium**  
04/1999 – 04/2003 Studium der Pharmazie an der Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf  
06/2004 Approbation als Apothekerin

**Praktisches Jahr**  
05/2003 – 10/2003 Burg-Apotheke, Iserlohn  
11/2003 – 04/2004 Allgemeines Krankenhaus Hagen

**Wissenschaftliche Tätigkeit**  
seit 07/2004 Beginn der vorliegenden Dissertation am Institut für Pharmazeutische Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. H.-D. Höltje