

**ZNACZENIE I PRZYKŁADY ZASTOSOWANIA  
BANKÓW PSEUDOATOMÓW ASFERYCZNYCH  
W KRYSTALOGRAFII MAŁYCH CZĄSTECZEK  
I ICH POTENCJALNE WYKORZYSTANIE  
W KRYSTALOGRAFII MAKROMOLEKUŁ**

THE IMPORTANCE AND EXAMPLES OF  
APPLICATION OF ASPHERICAL PSEUDOATOM  
DATABANKS IN SMALL-MOLECULE  
CRYSTALLOGRAPHY AND THEIR POTENTIAL USE  
IN MAKROMOLECULAR CRYSTALLOGRAPHY

**Paulina Maria Dominiak**

*Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski  
ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa  
e-mail: pdomin@chem.uw.edu.pl*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Modelowanie gęstości elektronowej w krytalografii
2. Procedury tworzenia banków pseudoatomów asferycznych
3. Obszary zastosowań banków
  - 3.1. Dane rentgenowskie o rozdzielczości standardowej
  - 3.2. Dane rentgenowskie o rozdzielczości subatomowej
  - 3.3. Rekonstrukcja rozkładu gęstości elektronowej
4. Przykłady zastosowań

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

**Dr hab. Paulina Maria Dominiak** urodziła się w 1976 r. w Rzeszowie. Jest absolwentką Międzywydziałowych Studiów Matematyczno-Przyrodniczych na Uniwersytecie Warszawskim. W 2000 zdobyła tytuł magistra biologii na Wydziale Biologii UW, a rok później magistra chemii na Wydziale Chemii UW. Pracę doktorską, realizowaną na Wydziale Chemii UW pod opieką prof. K. Woźniaka, obroniła w 2005 r. Następnie odbyła dwuletni staż podoktorski w grupie prof. P. Coppensa na Uniwersytecie w Buffalo w Stanach Zjednoczonych. Od 2007 r. jest adiunktem w Pracowni Krystalochemii na Wydziale Chemii UW. W 2013 r. uzyskała stopień doktora habilitowanego w zakresie chemii. Jej obecne zainteresowania naukowe obejmują: rozwój nowych metod analizy rentgenowskich danych dyfrakcyjnych; modelowanie gęstości elektronowej; szacowanie energii oddziaływań międzycząsteczkowych; rola oddziaływań międzycząsteczkowych w kompleksach białek i kwasów nukleinowych oraz w kryształach związków organicznych, związek oddziaływań międzycząsteczkowych z architekturą kryształów, strukturą makromolekuł i procesem rozpoznawania molekularnego w kontekście projektowania leków.

## ABSTRACT

X-rays are diffracted by the electron density of crystals. Thus, the correct analysis of a single crystal X-ray diffraction pattern can provide information about the distribution of the electron density. How precise and accurate the information could be is largely determined by the resolution of the data collected. The majority of X-ray diffraction data is collected at and below the standard resolution,  $d_{min} = 0.84 \text{ \AA}$ . Before the development of pseudoatom databases, such resolution permitted to carry out X-ray refinement only with the use of simple model of electron density called the Independent Atom Model (IAM). In the IAM, individual atoms are represented by the spherically averaged electron density distributions obtained by theoretical methods for isolated atoms in the ground state. The IAM does not take into account changes in the density distribution of individual atoms caused by such phenomena as chemical bond formation, charge transfer, lone electron pairs, etc. Only the geometrical information of the crystal structure is obtained from the IAM refinement.

A more physical model has been introduced in which an atom is represented as a finite spherical harmonic expansion of the electron density around each atomic center and is called a pseudoatom. Such definition allows the pseudoatom electron density to be individually adjusted (by changing values of pseudoatom parameters) to account for density departure from spherical and neutral model. However, to refine pseudoatom parameters with experimental data subatomic resolution is required.

It has been shown that the values of pseudoatom parameters are almost identical for atoms in similar chemical environments, i.e. atoms having similar local topology of connecting chemical bonds. Therefore it was possible to build a databank of different types of pseudoatoms and to use the bank to generate the Transferable Aspherical Atom Model (TAAM) for any organic molecule, including proteins and nucleic acids. There are three different pseudoatom databanks being developed: ELMAM2, GID and UBDB. They differ by the source of pseudoatom parameters and by the way how atom types are defined. Replacement of the IAM model by the TAAM in the refinement procedure of standard diffraction data leads to more accurate geometrical information and provide access to quantitative estimation of the electron density distribution and properties derived from it (dipole moment, electrostatic potential, etc.) for molecules in a crystalline environment.

The review summarizes the research on the verification and application of pseudoatom databases.

Keywords: aspherical atomic scattering factors, electron density, X-ray diffraction data, crystal structure

Słowa kluczowe: asferyczne atomowe czynniki rozpraszania, gęstość elektronowa, rentgenowskie dane dyfrakcyjne, struktura krystaliczna

---

---

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

ADPs	– parametry przemieszczenia atomów (ang. <i>Atomic Displacement Parameters</i> )
AM1-BCC	– austinowski model 1 – korekta ładunku związana z wiązaniem (ang. <i>Austin Model 1 – Bond Charge Correction</i> )
BCP	– punkt krytyczny wiązania (ang. <i>Bond Critical Point</i> )
ELMAM	– eksperymentalna biblioteka modeli atomów multipolowych (ang. <i>Experimental Library of Multipolar Atoms Model</i> )
EPMM	– dokładny potencjał, momenty multipolowe (ang. <i>Exact Potential, Multipole Moments</i> )
GID	– uogólniona baza danych inwariomów (ang. <i>Generalized Invariom Database</i> )
GooF	– wskaźnik dopasowania (ang. <i>Goodness of Fit</i> )
IAM	– model atomów niezależnych (ang. <i>Independent Atom Model</i> )
inwariom	– atom niezmienniczy (ang. <i>INVARIANT atOM</i> )
MEPS	– molekularna powierzchnia potencjału elektrostatycznego (ang. <i>Molecular Electrostatic Potential Surface</i> )
QM/MM	– mechanika kwantowa / mechanika molekularna (ang. <i>quantum-mechanics / molecular-mechanics</i> )
QTAIM	– kwantowa teoria atomów w cząsteczkach (ang. <i>Quantum Theory of Atoms In Molecules</i> )
RESP	– ograniczony [wiązami miękkimi], potencjał elektrostatyczny (ang. <i>Restrained, Electrostatic Potential</i> )
SAPT	– teoria rachunku zaburzeń o adaptowanej symetrii (ang. <i>Symmetry-Adapted Perturbation Theory</i> )
TAAM	– model transferowalnych atomów asferycznych (ang. <i>Transferable Aspherical Atom Model</i> )
UBDB	– bank danych Uniwersytetu w Buffalo (ang. <i>University at Buffalo DataBank</i> )

## WPROWADZENIE

Gęstość elektronowa cząsteczek jest podstawowym czynnikiem określającym ich właściwości. Znajomość rozkładu gęstości elektronowej pozwala na wyznaczenie trójwymiarowej struktury cząsteczki (długości wiązań chemicznych, kątów walencyjnych, konfiguracji absolutnej, itp.) oraz różnorodnych właściwości jednoelektronowych (momenty elektryczne, potencjał elektrostatyczny, energia oddziaływania elektrostatycznego, itp.). Dyfrakcja promieniowania rentgenowskiego na kryształach cząsteczek jest doskonałym narzędziem do zdobycia tego typu informacji. Ponadto, znajomość rozkładu gęstości elektronowej w kryształach daje informacje o oddziaływaniach międzycząsteczkowych.

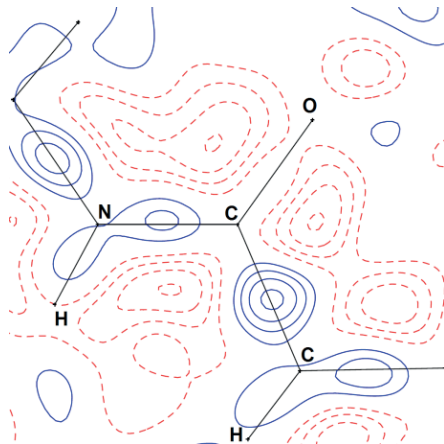
Promieniowanie rentgenowskie ulega dyfrakcji na gęstości elektronowej kryształu. Tym samym, poprawna analiza obrazu dyfrakcyjnego monokryształu może dostarczyć informacji o rozkładzie tej gęstości. O tym, jak dokładnie i precyzyjnie jesteśmy w stanie wyznaczyć rozkład gęstości elektronowej kryształu, decyduje w głównej mierze rozdzielczość zebranych danych dyfrakcyjnych. W przypadku kryształów związków małowymiarowych, większość danych dyfrakcyjnych zbieranych jest do standardowej rozdzielczości  $d_{min} = 0,84 \text{ \AA}$ . Kryształy białek i innych makromolekuł rozpraszają przeciętnie do  $d_{min} = 2,1 \text{ \AA}$ , choć liczba danych o rozdzielczości atomowej (tj. lepszej od ok.  $1,0 \text{ \AA}$ ) stale rośnie. Jedynie w przypadku promila kryształów, w przeważającej mierze kryształów związków małowymiarowych, ich jakość jest wystarczająco dobra aby można było zarejestrować dla nich dane dyfrakcyjne do rozdzielczości subatomowej, tj. około  $0,45 \text{ \AA}$ . Rozdzielczość subatomowa jest niezbędna aby wyznaczyć rozkład gęstości elektronowej w sposób ilościowy.

### 1. MODELOWANIE GĘSTOŚCI ELEKTRONOWEJ W RENTGENOGRAFII

W trakcie analizy danych dyfrakcyjnych konieczne jest stosowanie ustalonego wcześniej modelu rozkładu gęstości elektronowej, aby móc pozbyć się artefaktów wynikających z błędów eksperymentalnych, braku możliwości zmierzenia faz czynników struktury oraz ze skończonej liczby zmierzonych refleksów. Jedynie wybrane parametry modelu są udokładniane względem danych eksperymentalnych. W standardowej rentgenografii małych cząsteczek oraz w krystalografii białek, gęstość elektronowa kryształu jest modelowana poprzez sumę udziałów poszczególnych atomów, a atomy reprezentowane są poprzez uśrednione sferycznie rozkłady gęstości elektronowej uzyskane metodami chemii kwantowej dla izolowanych atomów w stanie podstawowym. Jest to tzw. model atomów niezależnych (IAM, ang. *Independent Atom Model*). Korzysta się tu z założenia, że gęstość elektronowa kryształu zdominowana jest przez gęstość skupioną wokół rdzeni atomów, a maksima gęstości elektronowej pokrywają się z pozycjami jąder atomów. Używając tego modelu, względem danych eksperymentalnych (a dokładniej, zmierzonych intensywności

refleksów) udokładnia się średnie pozycje atomów w komórce elementarnej (współrzędne  $x, y, z$ ) oraz parametry opisujące wychylenie tych atomów z ich pozycji średnich (tzw. parametry przemieszczenia atomów, ADPs (ang. *Atomic Displacement Parameters*). W przypadku białek i innych makromolekuł zazwyczaj rozdzielczość danych jest tak mała, że dodatkowo stosuje się więzy na wyżej wymienione parametry aby skompensować brak wystarczającej liczby danych. Model IAM nie pozwala na uwzględnienie zmian w rozkładzie gęstości poszczególnych atomów spowodowanych takimi zjawiskami jak tworzenie wiązań chemicznych, przepływ ładunku, wolne pary elektronowe, *etc.* Informacją uzyskaną w tego typu analizie jest więc tylko informacja geometryczna o strukturze kryształu. Przy czym, tak uzyskane parametry geometryczne są obarczone pewnymi systematycznymi błędami.

Najbardziej znanym artefaktem standardowych danych rentgenowskich jest znacząco zaniżona długość wiązań X-H (X – atom niewodorowy). Atomy wodoru nie posiadają elektronów rdzenia, a ich gęstość walencyjna jest silnie przesunięta w stronę centrum wiązania. Kolejnym systematycznym błędem możliwym do zaobserwowania jest zawyżenie wartości parametrów przemieszczenia atomów (ADPs). Niedostatki modelu IAM mogą również ujawnić się na mapach różnicowych (mapy otrzymane poprzez syntezę Fouriera różnic pomiędzy eksperymentalnymi czynnikami struktury a czynnikami struktury wyliczonymi na podstawie udokładnionego modelu) poprzez resztkową gęstość elektronową w pozycjach wiązań i par elektronowych, a nieopisaną przez model (Rys. 1).



Rysunek 1. Przykładowa mapa różnicowa  $F_o - F_c$  dla IAM udokładnionego względem danych rentgenowskich o rozdzielczości  $d_{min} = 0,84 \text{ \AA}$  ( $F_o$  – eksperymentalnie obserwowane czynniki struktury,  $F_c$  – czynniki struktury wyliczone z udokładnionego modelu). Linie niebieskie ciągłe przedstawiają izoliny gęstości resztkowej o wartościach dodatnich, linie czerwone przerywane – o wartościach ujemnych; interwał izolinii wynosi  $0,025 \text{ e/\AA}^3$

Figure. 1. An example of the Fourier difference map  $F_o - F_c$  for the IAM refined against X-ray diffraction data of resolution  $d_{min} = 0.84 \text{ \AA}$  ( $F_o$  – experimentally observed structure factors,  $F_c$  – structure factor computed from the refined model). The continuous blue lines represents isolines of residual density having a positive value, the dashed red lines – having a negative value; the contour interval is  $0.025 \text{ e/\AA}^3$

Z tego też względu, dla pomiarów o wystarczająco dobrej jakości, w których odchylenia standardowe intensywności refleksów zostały prawidłowo oszacowane, wskaźnik dopasowania modelu GooF (ang. *Goodness of Fit*) pozostaje nadal daleki od pożądanej wartości jeden (w przypadku zastosowania wag odwrotnie proporcjonalnych do odchylenia standardowego).

Postęp technik pomiarowych i obliczeniowych w rentgenografii sprawił, że większość rutynowych pomiarów dyfrakcyjnych na monokryształach związków małowartościowych, tj. pomiarów o rozdzielczości  $d_{\min} \leq 0,83 \text{ \AA}$  rekomendowanej przez Międzynarodowa Unię Krystalograficzną, jest wystarczająco dobrej jakości aby zaobserwować wszystkie wyżej wymienione błędy systematyczne IAM. Istnieje konieczność wprowadzenia nowego, bardziej realistycznego modelu gęstości elektronowej. Musiałby to być model uwzględniający asferyczność atomów w cząsteczce/kryształe i posiadający parametry pozwalające opisać zmiany rozkładu gęstości elektronowej atomu wywołane tworzeniem wiązań i innych oddziaływań z sąsiednimi atomami.

Niestety, dopiero przy rozdzielczości subatomowej liczba zebranych danych pozwala na udokładnianie większej liczby parametrów niż zakłada to IAM. Dysponując wysokorozdzielczymi danymi, w miejsce sferycznego IAM, stosuje się najczęściej model multipolowy gęstości elektronowej atomu. W modelu multipolowym atomy reprezentowane są poprzez rozwinięcie gęstości elektronowej wokół każdego centrum atomowego na skończony szereg harmonik sferycznych. Takie rozwinięcie nazywane jest pseudoatomem. W powszechnie stosowanym wariacie modelu multipolowego, w tzw. modelu Hansena-Coppensa [1], gęstość elektronowa pseudoatomu jest zdefiniowana jako:

$$\rho_i(\mathbf{r}) = \rho_{\text{core}}(r) + P_v \kappa^3 \rho_{\text{valence}}(\kappa r) + \sum_{l=1}^{l_{\max}} \kappa'^3 R_l(\kappa' \zeta r) \sum_{m=0}^{m=l} \sum_p P_{lmp} d_{lmp}(\theta, \phi)$$

$$R_l(\kappa' \zeta r) = (\kappa' \zeta)^3 \frac{(\kappa' \zeta r)^{n_l}}{[n_l + 2]!} \exp(-\kappa' \zeta r)$$

gdzie pierwsze dwa człony zbudowane są ze sferycznie uśrednionych gęstości elektronów rdzenia,  $\rho_{\text{core}}(r)$ , i walencyjnych,  $\rho_{\text{valence}}(r)$ , wolnego atomu, wyznaczonych metodami chemii kwantowej i znormalizowanych do jednego elektronu. Człon trzeci modelu opisuje deformację gęstości elektronowej atomu od sferycznego rozkładu i zbudowany jest z funkcji radialnych typu Slatera,  $R_l(\kappa' \zeta r)$ , z predefiniowanymi wartościami parametrów  $\zeta$  i  $n_l$  oraz z rzeczywistych harmonik sferycznych znormalizowanymi do gęstości  $d_{lmp}(\theta, \phi)$  ( $p = \pm$ ). Współrzędne  $r, \theta, \phi$  odnoszą się do lokalnego kartezjańskiego układu odniesienia scentrowanego w pozycji atomu. Populacje  $P_v$  i  $P_{lmp}$  oraz bezwymiarowe parametry ekspansji-kontrakcji  $\kappa$  i  $\kappa'$  są udokładniane

względem danych eksperymentalnych, obok wspomnianych wyżej współrzędnych  $x$ ,  $y$ ,  $z$  oraz ADPs. Tak zdefiniowany model po udokładnieniu dostarcza ilościowej informacji o rozkładzie gęstości elektronowej kryształu. W konsekwencji uzyskuje się dokładniej wyznaczone parametry pozycyjne atomów, a więc tym samym np. dokładniejsze długości wiązań. Staje się możliwe przeprowadzenie analizy topologicznej rozkładu gęstości (i innych funkcji pochodnych) w świetle teorii QTAIM Badera [2] (kwantowa teoria atomów w cząsteczkach, ang. *Quantum Theory of Atoms In Molecules*). Można pokusić się o wyliczenie takich właściwości atomowych i cząsteczkowych jak: ładunek, moment dipolowy oraz wyższe momenty elektryczne; potencjał elektrostatyczny cząsteczek; energia elektrostatycznego oddziaływania pomiędzy cząsteczkami budującymi kryształ, *etc.* Przy czym również stosując i ten model powinno się pamiętać o jego ograniczeniach [3, 4].

Należy w tym miejscu wspomnieć, że istnieją inne sposoby modelowania eksperymentalnej gęstości elektronowej niż model multipolowy, takie jak: wyznaczanie funkcji falowej przy zastosowaniu więzów eksperymentalnych [5], udokładnianie obsadzeń orbitali molekularnych [6] czy też sposoby wykorzystujące metody maksymalnej entropii [7].

Idealnie by było, aby wszystkie pomiary w rentgenografii strukturalnej były wysokorozdzielcze. W praktyce nie jest łatwo osiągnąć rozdzielczość subatomową. Nie wszystkie kryształy są wystarczająco dobrej jakości, a także nie wszystkie rozpraszają promieniowanie rentgenowskie z dostateczną intensywnością w zakresie wysokokątowym. Nie każdy dyfraktometr monokrystaliczny jest wystarczająco precyzyjny. Nie można też ignorować faktu, że wysokorozdzielcze pomiary są pracochłonne, czyli po prostu znacznie droższe od pomiarów standardowych.

Bardzo szybko zauważono jednak, że wartości parametrów gęstości elektronowej pseudoatomów są niemalże identyczne dla atomów znajdujących się w podobnym otoczeniu chemicznym [8], tj. mających podobną lokalną topologię wiązań chemicznych. W związku z tym powstała idea stworzenia banku gromadzącego różnego typu tzw. transferowalne atomy asferyczne (pseudoatomy) i zastosowania tych danych do utworzenia modelu gęstości elektronowej o nazwie TAAM (ang. *Transferable Aspherical Atom Model*) dla dowolnej cząsteczki organicznej, w tym dla białek i kwasów nukleinowych. Użycie TAAM zamiast IAM w procedurze udokładniania modelu względem standardowych danych dyfrakcyjnych winno prowadzić do uzyskania bardziej dokładnej informacji geometrycznej oraz otworzyć dostęp do ilościowego oszacowania rozkładu gęstości elektronowej i właściwości pochodnych (moment dipolowy, potencjał elektrostatyczny, *etc.*) cząsteczek budujących kryształ.

Pionierskie prace w kierunku budowy banku pseudoatomów na podstawie eksperymentalnie wyznaczonych gęstości elektronowych opublikowała w roku 1995 grupa C. Lecomte'a [9]. W 2002 roku T. Koritsanszky, A. Volkov i P. Coppens [10] zaproponowali stworzenie banku pseudoatomów asferycznych w oparciu o teoretycznie wyliczone czynniki struktury. Dwa lata później ukazała się pierwsza oficjalna wersja banku pseudoatomów teoretycznych stworzona w grupie P. Coppensa [11]. W tym samym czasie B. Dittrich z grupy P. Luger'a zaproponował alternatywny



bank pseudoatomów teoretycznych [12]. Do dnia dzisiejszego rozwijane są wszystkie trzy banki:

- ELMAM (eksperymentalna biblioteka modeli atomów multipolowych, ang. *Experimental Library of Multipolar Atoms Model*) [9, 13] w postaci uogólnionej i ulepszonej wersji o nazwie ELMAM2 [14];
- baza Inwariomów (inwariom – atom niezmienniczy, ang. *invariom: INVARIANT atOM*) [12, 15, 16] w postaci uogólnionej wersji o nazwie GID (uogólniona baza danych inwariomów, ang. *Generalized Invariom Database*) [17];
- UBDB (bank danych Uniwersytetu w Buffalo, ang. *University at Buffalo DataBank*) [10, 11, 18] w jego najnowszej wersji UBDB2011 [19].

Pojawiły się też propozycje skonstruowania bardziej wyspecjalizowanych banków fragmentów molekularnych (zbudowanych z wielu pseudoatomów), np. banku dedykowanego modelowaniu materiałów metaloorganicznych [20] lub banku syntonów supramolekularnych [21].

## 2. PROCEDURY TWORZENIA BANKÓW PSEUDOATOMÓW ASFERYCZNYCH

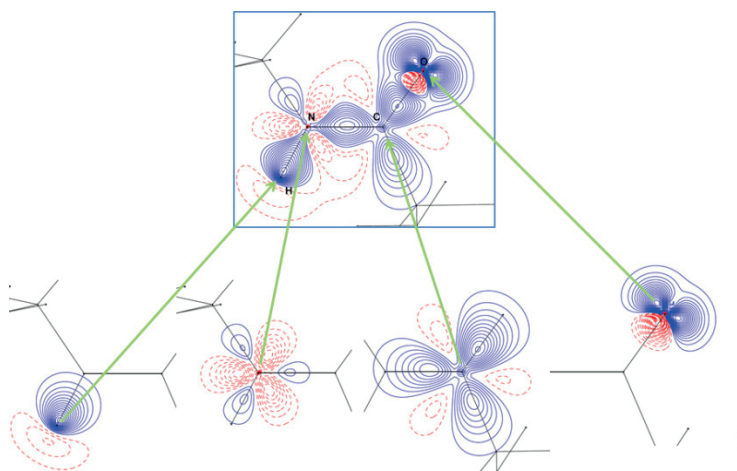
Wszystkie wymienione wyżej banki pseudoatomów są tworzone w oparciu o model Hansena-Coppensa [1]. Wartości parametrów tego modelu otrzymywane są wyniku specyficznej dla danego banku procedury. Każdy bank zawiera również zestaw specyficznych dla siebie typów atomów.

W UBDB i ELMAM2 każdy typ atomu powstaje w wyniku uśrednienia parametrów gęstości elektronowej ( $P_v$ ,  $P_{imp}$ ,  $\kappa$  i  $\kappa'$ ) dla całej rodziny pseudoatomów posiadających podobne otoczenie chemiczne, obecnych w wielu różnych modelowych cząsteczkach. W bazie GID parametry gęstości elektronowej danego typu atomu wywodzą się od jednej modelowej cząsteczki. Geometria cząsteczek modelowych pochodzi albo z danych eksperymentalnych dla monokryształów (ELMAM2, UBDB) albo z optymalizacji geometrii cząsteczki w próżni wykonanej metodami chemii kwantowej (GID). Wartości parametrów gęstości elektronowej uzyskiwane są poprzez dopasowanie w przestrzeni odwrotnej modelu multipolowego do modelowych gęstości molekularnych wyznaczonych eksperymentalnie (ELMAM2) lub metodami kwantowo-mechanicznymi (UBDB, GID). W przypadku każdego banku używany jest nieco inny protokół udokładniania parametrów modelowych gęstości.

Typy atomowe definiowane są na podstawie rodzaju pierwiastka chemicznego, do którego należy analizowany atom, oraz liczby i typów sąsiadów kowalencyjnie związanych z analizowanym atomem (tzw. pierwsi sąsiedzi). W przypadku poszczególnych banków różne dodatkowe informacje, takie jak lokalna symetria, przynależność do płaskiej grupy atomów lub płaskiego pierścienia, lub rzędowość wiązań chemicznych, brane są pod uwagę. W zależności od tego jak dokładnie scharakteryzowany jest typ pierwszych sąsiadów (bardziej ogólnie lub równie precyzyjnie co analizowany atom), w definicję poszczególnych typów atomów zaangażowani mogą

zostać również drugdzi i trzeci sąsiedzi. ELMAM2, na przykład, zawiera typy atomowe budowane w większości przypadków jedynie w oparciu o pierwszych sąsiadów ze względu na ograniczony dostęp do modelowych gęstości eksperymentalnych oraz na wielkość błędów, którymi obarczone są parametry gęstości elektronowej. W bazie GID z kolei decyzja czy brane są pod uwagę drugdzi (i dalsi) sąsiedzi opiera się na rzędowości wiązań, jakie tworzy analizowany atom z najbliższymi sąsiadami.

Dobrze zaprojektowany algorytm definiujący i rozpoznający typy atomowe w danej cząsteczce umożliwia zachowanie najwyższej możliwej transferowalności parametrów gęstości elektronowej pseudoatomów. To z kolei jest podstawą do poprawnego oszacowania rozkładu gęstości elektronowej analizowanej cząsteczki. Przykładowe gęstości deformacyjne (gęstość elektronowa pseudoatomu/cząsteczki minus gęstość elektronowa sferycznie uśrednionego izolowanego atomu/-ów) wybranych typów atomów z UBDB i zrekonstruowana z nich gęstość deformacyjna fragmentu cząsteczki przedstawiona jest na Rysunku 2.



Rysunek 2. Gęstość deformacyjna przykładowych typów atomowych w UBDB (dolna część rysunku) i zrekonstruowana z niej gęstość deformacyjna fragmentu cząsteczki (wiązanie peptydowe; górna część rysunku). Linie niebieskie ciągłe przedstawiają izoliny gęstości deformacyjnej o wartościach dodatnich, linie czerwone przerywane – o wartościach ujemnych; interwał izoliny wynosi  $0,05 \text{ e}/\text{Å}^3$

Figure 2. Deformation densities of the sample atom types in UBDB (bottom part of the figure) and deformation density of the reconstructed fragment of the molecule (peptide bond; upper part of the figure). The continuous blue lines represents isolines of deformation density having a positive value, the dashed red lines – having a negative value; the contour interval is  $0.05 \text{ e}/\text{Å}^3$

### 3. OBSZARY ZASTOSOWAŃ BANKÓW

Banki pseudoatomów powstały głównie z myślą o zastąpieniu uproszczonego IAM stosowanego w analizie rentgenowskich danych dyfrakcyjnych bardziej zaawansowanym TAAM. Autorzy każdego z wymienionych wyżej banków przeprowadzili szereg testów weryfikujących czy i do jakiego stopnia TAAM zbudowany

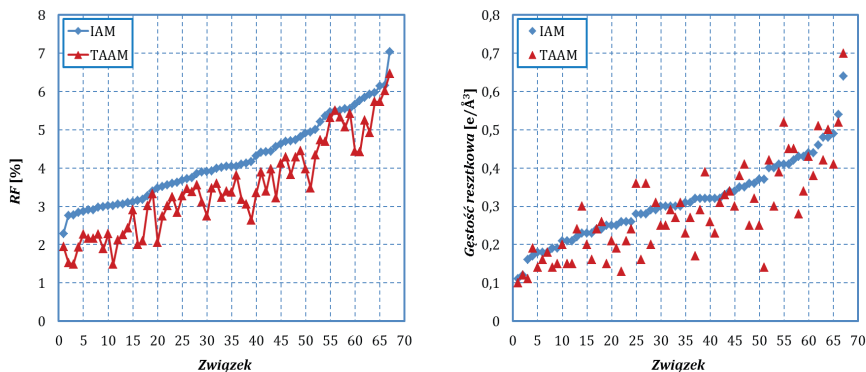
w oparciu o ich banki opisuje lepiej dane eksperymentalne o standardowej rozdzielczości i czy informacja strukturalna uzyskana przy jego użyciu jest istotnie lepsza od tej z udokładnienia IAM. Testowano także przydatność banków w procesie udokładnienia modelu multipolowego względem wysokorozdzielczych danych rentgenowskich. Porównane też zostały same banki między sobą, a dokładniej porównano wyniki ich zastosowań w udokładnianiu TAAM względem danych rentgenowskich oraz w szacowaniu właściwości elektrostatycznych cząsteczek [22–24] Podsumowanie wniosków z przeprowadzonych testów przedstawiają podrozdziały poniżej.

### 3.1. DANE RENTGENOWSKIE O ROZDZIELCZOŚCI STANDARDOWEJ

Przeprowadzone testy wykazały, że model TAAM zbudowany w oparciu o bank pseudoatomów pozwala na uzyskanie znacznie lepszego dopasowania do danych eksperymentalnych i uzyskanie istotnie lepszej geometrii w porównaniu z IAM. Nie ma praktycznego znaczenia, który z banków został użyty jako źródło asferycznych czynników rozpraszania. Wszystkie trzy banki prowadzą do uzyskania podobnej jakości danych strukturalnych i mają taką samą przewagę nad IAM.

Użycie TAAM w udokładnianiu opartym na danych rentgenowskich o standardowej rozdzielczości, zarejestrowanych dla kryształów związków małowcząsteczkowych (około 100 testowych struktur), w porównaniu z IAM przynosi efekty jak poniżej:

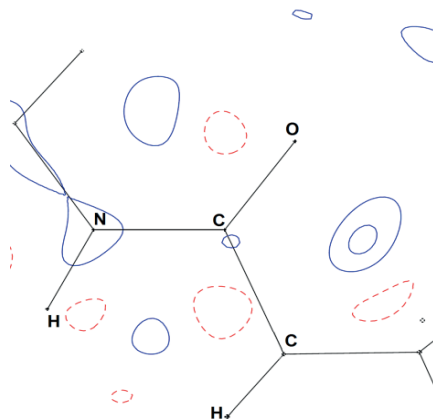
1. Poprawiają się wartości wskaźników statystycznych wyrażających dopasowanie modelu do danych eksperymentalnych. Wartości wskaźników rozbieżności ( $RF$ ,  $wRF$ ,  $wR^2F$ ,  $wR^2F$ ) obniżają się przeciętnie o około 1%, a wartości GooF zbliżają się znacząco do jedności [9, 13–17, 24–28, 30–32] (Rys. 3). Uzyskuje się również mniejszą różnicę pomiędzy wskaźnikami  $wR^2F_{free}$  i  $wR^2F_{work}$  [13, 14]. Efekt jest nieco mniej spektakularny dla struktur zawierających ciężkie atomy, w których udział elektronów walencyjnych w dyfrakcji jest niewielki oraz w przypadku pomiarów wykonanych w temperaturze pokojowej lub wyższej [15]. Brak wyraźnej poprawy statystyki dopasowania bywa często sygnałem wskazującym na obecność nieporządku w strukturze lub niską jakość pomiaru [15].
2. Odchylenia standardowe uzyskanych parametrów geometrycznych (np. długości wiązań) zmniejszają się proporcjonalnie do zmian obserwowanych dla wskaźników statystycznych dopasowania [15, 17].



Rysunek 3. Porównanie krystalograficznego wskaźnika rozbieżności  $RF$  [%] i maksymalnej gęstości resztkowej  $[e/\text{Å}^3]$  dla przykładowych udokładnień IAM i TAAM. TAAM zbudowany przy zastosowaniu GID. Opracowano na podstawie danych z [15] i [17]. Rozdzielczość pomiarów:  $0,6 \text{ Å} \leq d_{\min} \leq 0,9 \text{ Å}$ . Kolejność związków, inna dla każdego z wykresów, zgodna z rosnącą wartością ilustrowanego parametru uzyskaną dla udokładniania IAM

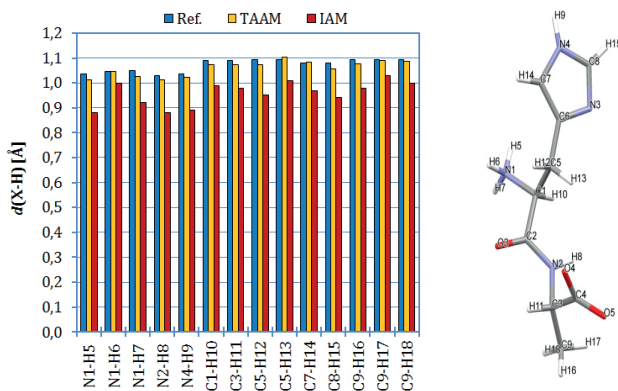
Figure 3. A comparison of the crystallographic  $RF$  factor [%] and maximal residual density  $[e/\text{Å}^3]$  between exemplary IAM and TAAM refinements. TAAM built from GID. Prepared on the basis of the data from [15] and [17], resolution  $0,6 \text{ Å} \leq d_{\min} \leq 0,9 \text{ Å}$ . Compounds order, different for each plot, according to the rising value of plotted parameter obtained for the IAM refinement

- Obniżają się wartości maksimum i minimum gęstości elektronicznej oraz zwiększa się losowość ich położenia na fourierowskich mapach różnicowych (Rys. 4). Przystają być widoczne maksima gęstości w pozycjach wiązań i par elektronowych [9, 13–17, 24–28, 30, 32]. W przypadku kryształów zawierających atomy ciężkie powyższy efekt może być niewidoczny lub wręcz odwrotny jeżeli zaistnieją problemy z przeprowadzeniem właściwej poprawki na absorpcję promieniowania rentgenowskiego [17, 33].
- Znacząco poprawiają się pozycje atomów wodoru (gdy udokładniane). Na przykład, otrzymane wiązania X-H są przeciętnie dłuższe o około  $0,1 \text{ Å}$  i różnią się jedynie średnio o  $0,02 \text{ Å}$  od struktur referencyjnych [13, 16, 24–28, 31, 32] (Rys. 5). Struktury referencyjne stanowiły struktury uzyskane w wyniku pomiarów dyfrakcji neutronów na monokryształach lub optymalizacji geometrii kryształu (układ periodyczny) przy użyciu metod chemii kwantowej.



Rysunek 4. Przykładowa mapa różnicowa  $F_o - F_c$  dla TAAM udokładnionego względem danych rentgenowskich o rozdzielczości  $d_{min} = 0,84 \text{ \AA}$  ( $F_o$  – eksperymentalnie obserwowane czynniki struktury,  $F_c$  – czynniki struktury wyliczone z modelu). Udokładnianie przeprowadzono przy użyciu tych samych danych co dla przypadku prezentowanego na Rysunku 2. Linie niebieskie ciągle przedstawiają izolinie gęstości resztkowej o wartościach dodatnich, linie czerwone przerywane – o wartościach ujemnych; interwał izolunii wynosi  $0,025 \text{ e/\AA}^3$

Figure 4. An example of the Fourier difference map  $F_o - F_c$  for the TAAM refined against X-ray diffraction data of resolution  $d_{min} = 0.84 \text{ \AA}$  ( $F_o$  – experimentally observed structure factors,  $F_c$  – structure factor computed from the model). Refinement was carried out with the same data as for the case presented in Figure 2. The continuous blue lines represents isolines of residual density having a positive value, the dashed red lines – having a negative value; the contour interval is  $0.025 \text{ e/\AA}^3$



Rysunek 5. Przykładowe długości wiązań X-H [Å] (X – atom niewodorowy) dla IAM (czerwony) lub TAAM (żółty) udokładnianych względem danych rentgenowskich o rozdzielczości  $d_{min} = 0,84 \text{ \AA}$  w porównaniu do długości referencyjnych (niebieski) otrzymanych z optymalizacji w układzie periodycznym (CRYSTAL06/B3LYP/DZP). Przygotowane na podstawie danych z [24]

Figure 5. Sample X-H bond lengths [Å] (X is non-H atom) from the IAM (red) or TAAM (yellow) refined against X-ray data of resolution  $d_{min} = 0.84 \text{ \AA}$  compared to the reference lengths (blue) obtained from optimization of the geometry of the periodic system (CRYSTAL06/B3LYP/DZP). Prepared on the basis of the data from [24]

5. Może poprawić się również położenie ciężkich atomów, szczególnie tych posiadających wolne pary elektronowe (zmiany rzędu 0,004 Å) [28].
6. Znacząco poprawiają się wartości anizotropowych parametrów przemieszczeń (ADPs) dla atomów niewodorowych. Na przykład, następuje przeciętnie od 5% do 15% redukcja w wielkości ADPs w stosunku do IAM, a uzyskane wartości parametrów różnią o około 3% od tych udokładnionych przy użyciu pełnego modelu multipolowego względem wysokorozdzielczych danych ( $d_{min} \leq 0,45$  Å) [9, 17, 24–26, 28]. Kształt elipsoid przemieszczenia staje się bardziej fizyczny, na co wskazują znacznie lepsze wyniki testu Hirschfeld'a [34] na sztywność wiązania [9, 13, 16, 17, 26–28, 30–33].
7. Wartości faz czynników struktury oraz ogólnego czynnika skali zbliżają się do tych z pełnego udokładnienia multipolowego względem danych wysokorozdzielczych [25].
8. Zwiększa się precyzja wyznaczenia struktury absolutnej co manifestuje się przez obniżenie (maksymalnie o jeden rząd wielkości) wartości błędu standardowego parametru Flacka [17, 27, 29, 33, 35, 36].

Podobne efekty, choć często na mniejszą skalę, zostały zaobserwowane w przypadku kilku zestawów danych rentgenowskich dla kryształów makromolekuł [13, 37, 38, 84, 88]. W strukturach makromolekuł, oprócz zbyt niskiej rozdzielczości, poważnym problemem jest obecność trudnego do wymodelowania nieporządku, w szczególności dotyczącego atomów rozpuszczalnika. Obecnie trwają prace nad przeprowadzeniem testów na znacznie większej puli danych, aby jednoznacznie odpowiedzieć na pytanie, czy udokładnienie TAAM będzie miało przewagę nad udokładnieniem IAM w przypadku makromolekuł.

O ważności zwiększenia dokładności wyznaczenia parametrów geometrycznych kryształów, a w szczególności pozycji atomów wodoru, świadczą następujące przykładowe badania. Dla serii kryształów pochodnych uracylu [39] zarejestrowano rentgenowskie dane dyfrakcyjne o standardowej rozdzielczości. Intencją badań było scharakteryzowanie właściwości cząsteczek, przeanalizowanie natury oddziaływań międzycząsteczkowych i znalezienie powiązania pomiędzy cząsteczką a architekturą kryształu – zagadnienia ważne z punktu widzenia m.in. inżynierii krystalicznej. W tym celu wykonano obliczenia kwantowo-mechaniczne (periodyczne oraz dla izolowanych dimerów) bazując na eksperymentalnie otrzymanej geometrii cząsteczek. Dla celów porównawczych wykonano również optymalizację geometrii kryształu. Okazało się, że energia kohezji kryształu wyliczona dla geometrii uzyskanej z udokładnień TAAM różniła się średnio jedynie o 0,5 kcal/mol od wyników dla geometrii zoptymalizowanej. W przypadku udokładniania IAM ta różnica wynosiła 3,6 kcal/mol, co stanowi około 15% wartości bezwzględnej analizowanych energii i nie pozwala na przeprowadzenie rzetelnej ilościowej analizy energii oddziaływań. Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowanie udokładniania TAAM do analizy polimorfów, w przypadku których różnice w energii kohezji są właśnie rzędu kilku kcal/mol, jest niezwykle cenne.

Efekty zastosowania TAAM okazały się tak zachęcające, że zaproponowano nawet procedurę udokładniania multipolowego w oparciu o dane doświadczalne o rozdzielczości standardowej, które miałyby doprowadzić do uzyskania eksperymentalnej gęstości elektronowej [40, 41]. Wiarygodność tak uzyskanej gęstości jest jednak dyskusyjna [24].

### 3.2. DANE RENTGENOWSKIE O ROZDZIELCZOŚCI SUBATOMOWEJ

Rozdzielczość subatomowa umożliwia przeprowadzenie pełnego udokładniania multipolowego. Powstaje pytanie, jak dobrze TAAM udokładniony względem danych subatomowych przybliży model multipolowy i czy w ogóle TAAM jest użyteczny w procesie analizy takich danych. Wyniki przeprowadzonych testów wskazują, że dopasowanie TAAM do subatomowych danych dyfrakcyjnych jest tylko w niewielkim stopniu gorsze od dopasowania, jakie można uzyskać z pełnym modelem multipolowym. Wskaźniki rozbieżności dla udokładniania TAAM są większe średnio o jedynie 0,2 % [14, 24, 25, 30, 42, 43, 85] w porównaniu z udokładnianiem multipolowym. Elektronowa gęstość resztkowa w przypadku części udokładnień TAAM jest tylko nieznacznie większa (o ok.  $0,03 \text{ e}/\text{\AA}^3$ ) od tej z udokładniania multipolowego [24, 43, 85]. W pozostałych przypadkach obserwuje się większe różnice (do ok.  $0,2 \text{ e}/\text{\AA}^3$ ) [14, 30, 42], które głównie dotyczą rejonów obejmujących atomy bezpośrednio zaangażowane w silne oddziaływania międzycząsteczkowe, lub okolic w bezpośrednim sąsiedztwie położenia jąder atomowych. Wyniki dotyczące anizotropowych przemieszczeń atomów (ADPs) uzyskane w udokładnianiu TAAM bardzo niewiele różnią się, lub wręcz są nierozróżnialne (w granicach błędów), od wyników uzyskanych z udokładniania multipolowego [24, 44]. Wielkość elipsoid przemieszczeń przeciętnie różni się o 3% [24]. Również i tu, w przypadku danych subatomowych, nie ma praktycznej różnicy w jakości dopasowania modelu TAAM w zależności od rodzaju banku użytego do jego zbudowania [24].

W udokładnianiu multipolowym jednym z kluczowych problemów jest prawidłowa dekompozycja opisu drgań termicznych atomu (modelowanego przez ADPs) od statycznej gęstości elektronowej (modelowanej przez parametry modelu multipolowego). Testy [24] wskazują, że udokładnianie TAAM dostarcza bardzo dobrego startowego modelu drgań atomów jak i modelu gęstości statycznej, ułatwiających przeprowadzenie udokładniania modelu multipolowego. Prawidłowy model startowy jest ważny dla osiągnięcia szybkiej zbieżności udokładniania oraz otrzymania prawidłowego finalnego modelu gęstości, szczególnie w przypadku kryształów białek [13, 45, 46]. Dodatkowo, parametry pseudoatomów przeniesione z banku mogą być podstawą do zbudowania więzów w udokładnianiu multipolowym, co jest przydatne szczególnie w przypadku makromolekuł. Dane dyfrakcyjne dla makromolekuł bywają zazwyczaj niewystarczająco dobre, aby przeprowadzić w pełni swobodne udokładnianie multipolowe.

Użyteczność TAAM w udokładnianiu multipolowym została również przetestowana w przypadku obecności nieporządku w kryształach [48]. Wymodelowanie gęstości elektronowej nieuporządkowanego fragmentu z zastosowaniem pseudoatomów z banku i przeprowadzenie udokładniania multipolowego dla reszty cząsteczki pozwoliło na uzyskanie wiarygodnego modelu rozkładu gęstości elektronowej w kryształach.

### 3.3. REKONSTRUKCJA ROZKŁADU GĘSTOŚCI ELEKTRONOWEJ

Na podstawie przedstawionych powyżej analiz jakości udokładniania TAAM można wnioskować, że statyczna gęstość elektronowa kryształu zrekonstruowana na podstawie pseudoatomów z banku jest tylko nieco mniej dokładna od tej eksperymentalnie wyznaczonej, tj. zbudowanej z modelu multipolowego udokładnionego względem danych wysokorozdzielczych.

Nie należy jednak zakładać, że gęstość elektronowa zbudowana na podstawie banków w pełni odzwierciedla gęstość elektronową kryształu. Dane zawarte w teoretycznych bankach pseudoatomów (UBDB, GID) z założenia mogą poprawnie odzwierciedlać jedynie rozkład gęstości izolowanej nieoddziałującej cząsteczki. Również w przypadku ELMAM2, sposób jego konstrukcji, tj. uśrednienie po wielu cząsteczkach i pominięcie oddziaływań międzycząsteczkowych w definicji typów atomów, nie pozwala na precyzyjne wymodelowanie wpływu tych oddziaływań na rozkład gęstości elektronowej. Dodatkowo, TAAM jest obciążony błędami związanymi z przybliżeniem zakładającym transferowalność parametrów pseudoatomów [17, 19, 48, 60].

Fakt, że pomimo powyższych ograniczeń, TAAM zbudowany na podstawie danych zawartych w bankach tylko nieco gorzej opisuje dane eksperymentalne niż udokładniony model multipolowy ma kilka przyczyn. Po pierwsze, w wielu przypadkach zmiany w rozkładzie gęstości elektronowej cząsteczek wywołane oddziaływaniami międzycząsteczkowymi pojawiającymi się w kryształach ograniczają się do małych fragmentów cząsteczki, bezpośrednio zaangażowanych w te oddziaływania [89, 90]. Po drugie, sam model Hansena-Coppensa ma swoje ograniczenia [3, 4]. Wielokrotnie pokazano, że jest on zbyt uproszczony i za mało giętki, aby wymodelować w sposób ilościowy szczegóły wszystkich rejonów rozkładu gęstości elektronowej w kryształach, aczkolwiek zmiany gęstości elektronowej w obszarze wiązań chemicznych są zazwyczaj poprawnie wymodelowane. Po trzecie, mimo ogromnego postępu w technikach eksperymentalnych, nadal jakość i rozdzielczość danych eksperymentalnych są na granicy wartości akceptowalnych i niezbędnych dla uzyskania oczekiwanej precyzji wyznaczenia statycznej gęstości elektronowej w kryształach. I po czwarte, powszechnie stosowany sposób modelowania drgań atomów (reprezentowany przez ADPs) jest najprawdopodobniej zbyt uproszczony, aby uzyskać statyczny model gęstości o pożądaną dokładność.



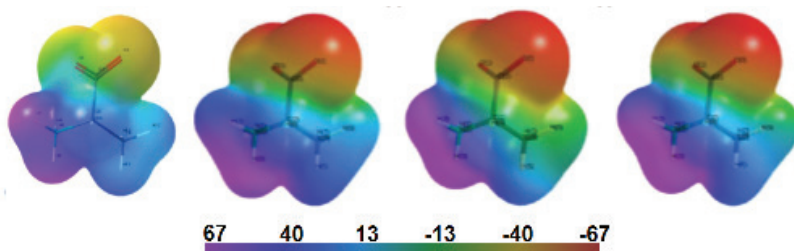
Reasumując, gęstość elektronowa zrekonstruowana przy użyciu banków jest wystarczająco dokładna, aby opisać większość informacji zawartej w dostępnych obecnie danych eksperymentalnych. Czy dokładność tej rekonstrukcji jest wystarczająco dobra, aby w sposób ilościowy móc szacować na podstawie gęstości elektronowej różnorodne własności cząsteczek, takie jak np. parametry topologiczne gęstości, momenty elektryczne cząsteczki, potencjał elektrostatyczny cząsteczki, energię elektrostatycznego oddziaływania pomiędzy cząsteczkami? Aby odpowiedzieć na to pytanie przeprowadzono szereg testów porównawczych, szczególnie w przypadku banku UBDB, względem wyników uzyskanych metodami chemii kwantowej. Wobec wcześniej wymienionych założeń budowy banków oraz ograniczeń modelu Hansena-Coppensa, najbardziej niezależne wyniki, zdaniem autorki, uzyskano gdy jako punkt odniesienia przyjęto wartości uzyskane bezpośrednio z gęstości elektronowej izolowanych cząsteczek (z pominięciem dopasowania modelu multipolowego do teoretycznej gęstości w przestrzeni odwrotnej). Dodatkowo, porównano powyższe wyniki z rezultatami uzyskanymi przy użyciu metod stosowanych w polach siłowych mechaniki molekularnej, aby w pełni poznać wszystkie wady i zalety banków pseudoatomów.

Gęstość deformacyjna molekuł wydaje się być stosunkowo dobrze odwziewiedlona przez banki pseudoatomów. Lokalizacja i wysokość pików gęstości jest reprodukowana z dokładnością rzędu  $0,05\text{--}0,2\text{ e}/\text{Å}^3$  w okolicach wiązań kowalencyjnych oraz rzędu  $0,2\text{--}0,3\text{ e}/\text{Å}^3$  (lub nieco mniejszą w przypadku ELMAM2) w okolicach wolnych par elektronowych [9, 10, 26, 49]. Znacznie większe różnice widoczne są w okolicach położenia jąder atomowych, co najprawdopodobniej jest konsekwencją przybliżenia zamrożonego rdzenia (ang. *frozen core*) stosowanego w modelu Hansena-Coppensa oraz skończoności syntezy Fouriera (rozdzielczości).

Topologiczne własności gęstości elektronowej cząsteczek również są zadowalająco dobrze szacowane przy użyciu banków pseudoatomów. Wartości gęstości elektronowej w punktach krytycznych wiązań kowalencyjnych ( $\rho(\text{BCP})$ , BCP – ang. *Bond Critical Point*) są oddane średnio z dokładnością  $0,1\text{ e}/\text{Å}^3$  [10, 26, 50]. Aczkolwiek niepokojące jest to, że różnica systematycznie obserwowana w wartościach  $\rho(\text{BCP})$  dla TAAM i IAM jest również rzędu  $0,1\text{ e}/\text{Å}^3$  [30]. Mniejszą dokładność uzyskuje się w przypadku wartości laplasjanu, co wynika głównie z ograniczeń samego modelu Hansena-Coppensa. Zintegrowany ładunek basenów atomowych reprodukowany jest z dokładnością zazwyczaj większą niż  $0,1\text{ e}$  [10, 26, 50].

Nieco gorzej sytuacja przedstawia się w przypadku elektrycznych momentów dipolowych cząsteczek oszacowanych przy użyciu banków. W przypadku UBDB wartości momentów dipolowych różnią się od wartości referencyjnych przeciętnie o  $0,6\text{ D}$ . Zostało to wykazane dla zestawu 37 cząsteczek różnorodnych pod względem polarności, a wartości referencyjne uzyskano metodą B3LYP/aug-cc-pVTZ [51]. Momenty dipolowe oszacowane przy użyciu pozostałych dwóch banków zostały również poddane weryfikacji, ale dla znacznie mniejszej puli cząsteczek [24, 27, 33, 52–54]. Studia porównujące wszystkie trzy banki [24] wykazały, że różnice pomię-

dzy momentami dipolowymi oszacowanymi przy użyciu różnych banków są rzędu 0,5–2 D. Nie udało się jednak jednoznacznie stwierdzić w tym badaniu, czy któryś z banków szacuje momenty dipolowe cząsteczek z większą dokładnością. W kolejnych badaniach porównawczych zestawiono wyniki uzyskane przy użyciu UBDB z tymi uzyskanymi przy użyciu metod mechaniki molekularnej. W mechanice molekularnej gęstość elektronową cząsteczek przybliży się najczęściej poprzez przypisanie każdemu atomowi punktowego ładunku elektrycznego. Dla celów porównawczych wybrano najpowszechniej stosowane metody otrzymywania ładunków atomowych, m.in.: metodę AM1-BCC (austinowski model 1 – korekta ładunku związana z wiązaniem, ang. *Austin Model 1 – Bond Charge Correction*) oraz metodę RESP (ograniczony [wiązami miękkimi] potencjał elektrostatyczny, ang. *Restrained, Electrostatic Potential*). Analiza wykazała, że wartości momentów dipolowych szacowane przy użyciu UBDB nie są znacząco dokładniejsze od tych uzyskanych przy użyciu testowanych metod mechaniki molekularnej. Dla przykładu, błąd oszacowania wartości momentu dipolowego wynosi 0,7 D dla metody AM1-BCC i 0,5 D dla RESP w odniesieniu do wartości referencyjnych uzyskanych metodą B3LYP/aug-cc-pVTZ [51]. Przy czym należy dodać, że z założenia pola siłowe nie były optymalizowane w kierunku dokładnego oszacowania właściwości elektrostatycznych izolowanych cząsteczek.



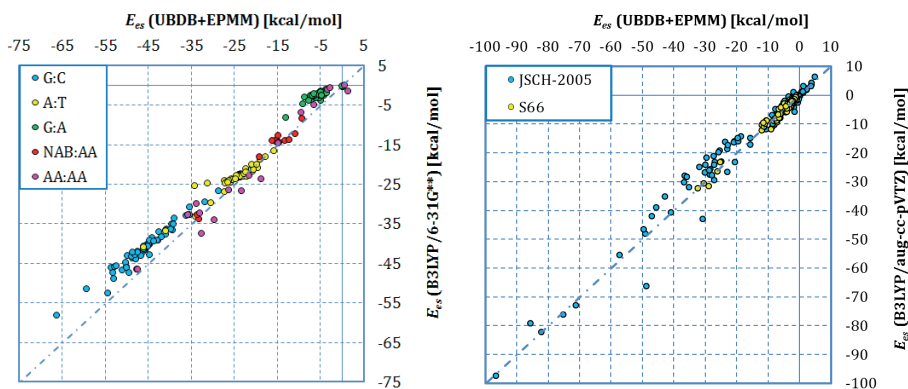
Rysunek 6. Przykładowy potencjał elektrostatyczny [kcal/mol-e] L-alaniny zmapowany na izopowierzchnię gęstości elektronowej ( $\rho = 0,0135 \text{ e}/\text{\AA}^3$ ), od lewej: G03/MP2/aug-cc-pVDZ, ELMAM2, GID, UBDB

Figure 6. Sample electrostatic potential [kcal/mol-e] of L-alanine mapped on isodensity surface ( $\rho = 0,0135 \text{ e}/\text{\AA}^3$ ), from the left: G03/MP2/aug-cc-pVDZ, ELMAM2, GID, UBDB

Kolejną, bardzo użyteczną własnością cząsteczki jest jej potencjał elektrostatyczny zmapowany na izopowierzchnię gęstości elektronowej lub, w uproszczonym podejściu, na izopowierzchnię van der Waalsa (ang. *Molecular Electrostatic Potential Surface*, MEPS). Wszystkie trzy banki prawidłowo odwzorowują znak potencjału we wszystkich rejonach cząsteczki (Rys. 6). Systematyczne studia badające ilościowo dokładność MEPS oszacowanego przy użyciu banków w porównaniu z MEPS wyznaczonego bezpośrednio z teoretycznej gęstości elektronowej izolowanej cząsteczki (z pominięciem projekcji na model Hansena-Coppensa) dostępne są jedynie dla UBDB [51]. Dla 37 cząsteczek, tych samych wspomnianych wyżej, średnia wartość dodatniego potencjału na powierzchni van der Waalsa, dla przykładu, odbiega

przeciętnie o 1,5 kcal/mol-e od wartości referencyjnych. W przypadku średniej wartości potencjału ujemnego jest to już błąd równy 3,8 kcal/mol-e, aczkolwiek średnia wartość potencjału całkowitego (bez rozróżnienia na dodatni i ujemny) wyznaczana jest z błędem 1,1 kcal/mol-e.

Finalnie, banki pseudoatomów mogą zostać użyte do szacowania energii oddziaływania elektrostatycznego pomiędzy cząsteczkami,  $E_{es}$ . Rekonstruując gęstość elektronową cząsteczek przy użyciu banku pseudoatomów oraz stosując metodę EPMM (dokładny potencjał, momenty multipolowe, *ang.*: Exact Potential, Multipole Moments) [55] do wyliczenia energii  $E_{es}$ , można w szybki sposób otrzymać wartości energii, która powinna odpowiadać energii  $E_{pol}^{(1)}$  w pierwszym rzędzie rachunku zaburzeń o adaptowanej symetrii (*ang.* *Symmetry-Adapted Perturbation Theory*, SAPT) [56].  $E_{es}$  odpowiada więc coulombowskiemu oddziaływananiu niezaburzonych rozkładów ładunków cząsteczki A i cząsteczki B tworzących kompleks A:B. Warto podkreślić, że tak policzona  $E_{es}$  z definicji zawiera już w sobie wkład penetracyjny pomijany przy zastosowaniu uproszczonego sposobu wyliczania  $E_{es}$  na podstawie tylko punktowych momentów elektrycznych, jak to się czyni w tradycyjnych polach siłowych [57].



Rysunek 7. Wartości energii  $E_{es}$  [kcal/mol] dla dimerów różnego typu cząsteczek wyliczone przy użyciu metody UBDB+EPMM w odniesieniu do wyników z obliczeń metodami chemii kwantowej. Wykresy przygotowano na podstawie danych w [19, 24, 51]

Figure 7. Values of  $E_{es}$  [kcal/mol] for dimer of molecules of different types calculated using the method UBDB+EPMM with reference to the results from the quantum chemistry methods. Plots prepared on the basis of the data from [19, 24, 51]

W przypadku UBDB testy dla dimerów cząsteczek typu aminokwasy, krótkie peptydy, zasady kwasów nukleinowych oraz małe cząsteczki organiczne (w sumie około 400 kompleksów) wykazały, że energia  $E_{es}$  wyznaczona jest ze średnim błędem w granicach od 2,7 do 3,6 kcal/mol w zależności od podzbioru cząsteczek i funkcji bazy zastosowanej w metodzie referencyjnej (B3LYP/aug-cc-pVTZ lub B3LYP/6-31G\*\*) [11, 19, 21, 22, 24, 51, 59] (Rys. 7). Odstępstwa od metody referencyjnej w przypadku oszacowań metodami opartymi o ładunki punktowe, takimi jak AM1-

-BCC i RESP [51] są zdecydowanie wyższe, (odpowiednio 6,5 kcal/mol i 5,9 kcal/mol). Porównanie wszystkich trzech banków wykonane w oparciu o znacznie mniejszą liczbę dimerów sugeruje, że UBDB jest nieco lepszy w szacowaniu  $E_{es}$  od pozostałych banków. Błędy w przypadku badanych układów dla UBDB mieszczą się w przedziale 2–3,5 kcal/mol, a dla pozostałych banków w przedziale 5–8 kcal/mol [24].

W przypadku GID wykazano również, że pomimo wielu ograniczeń stosowanych metod, gęstość elektronowa zrekonstruowana przy użyciu tego banku może posłużyć do jakościowego oszacowania rozkładu gęstości interakcji w kryształach. Gęstość interakcji zdefiniowana została jako różnica pomiędzy rozkładem gęstości elektronowej kryształu a sumą rozkładów gęstości elektronowych wyznaczonych dla izolowanych cząsteczek i rozmieszczonych w przestrzeni zgodnie z położeniem tych cząsteczek w kryształach. [53].

Podsumowując, banki pseudoatomów umożliwiają rekonstrukcję rozkładu gęstości elektronowej izolowanych cząsteczek. Przy czym mogą to być dowolne cząsteczki, nie tylko te, dla których dostępne są rentgenowskie dane dyfrakcyjne. Niezbędne są jedynie współrzędne położenia atomów, które mogą pochodzić z różnych źródeł (dyfrakcja neutronów, NMR, mechanika molekularna, etc.). Tym samym, obszar zastosowań banków pseudoatomów wykracza daleko poza rentgenografię.

#### 4. PRZYKŁADY ZASTOSOWAŃ

Choć metodologia związana z bankami pseudoatomów powstała stosunkowo niedawno i stale się rozwija, liczba badań z praktycznym zastosowaniem banków pseudoatomów systematycznie się powiększa.

Bank pseudoatomów został wykorzystany jako źródło asferycznych czynników rozpraszania w udokładnianiu TAAM względem danych rentgenowskich o standardowej rozdzielczości, na przykład do wyznaczenia struktury trichlorosilanu  $L^1SiCl_3$  ( $L^1 = PhC(N^tBu)_2$ ) [61], chinolonowego środka przeciwbakteryjnego [62], pochodnej 1,4-benzoksazyny [63], pochodnej 1,3,5-triazepan-2,6-dionu [64] oraz (2S,3S)-2-(N,N-dibenzylamino)-butano-1,3-diolu [65].

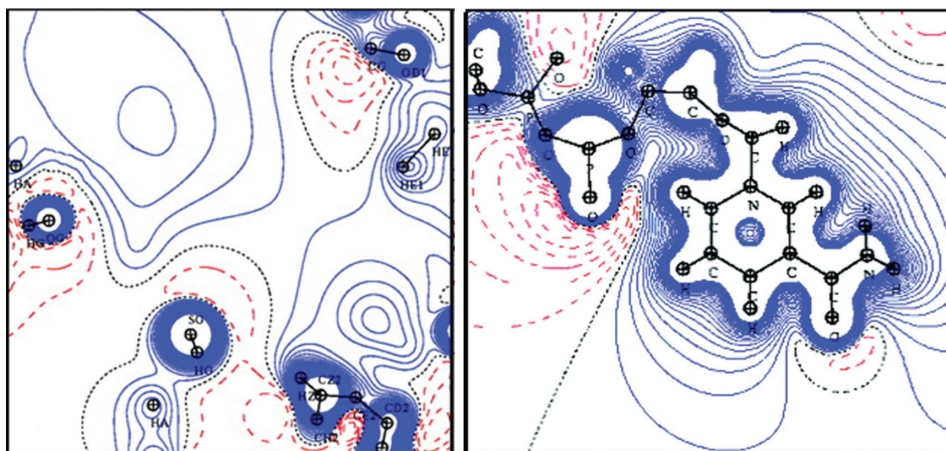
Badania łączące wykorzystanie udokładniania TAAM i analizę elektrostatycznych właściwości cząsteczek w kontekście ich aktywności biologicznej przeprowadzono, na przykład, dla beksarotenu i disila-beksarotenu, agonistów receptora retinoidowego typu X [66]; (Z)-4-[5-(2,6-difluorobenzyl)-1-(2-fluorobenzyl)-2-okso-1,2-dihidropirydyn-3-yl]-4-hydroksy-2-okso-N-(2-oksopirolidyn-1-yl)but-3-enamidu, inhibitora integrazy HIV [67]; bioaktywnych indoli i oksoidoli [68], donepezilu, leku przeciw chorobie Alzheimera [69] oraz bakteryjnego białka PfluDING [91].

Udokładnianie TAAM zostało również wykorzystane do analizy wielotemperaturowych danych dyfrakcyjnych o rozdzielczości subatomowej dla  $\alpha$ -glicyny [70]. Celem było zbadanie ruchów cząsteczek w kryształach i związanych z nimi funkcji termodynamicznych. W innych badaniach poświęconych nowej metodzie obli-

zeniowej pozwalającej na wyznaczenie wartości ADPs dla cząsteczek w kryształach, udokładnianie TAAM zostało wykorzystane dla uzyskania startowej geometrii oraz czynnika skali dla oszacowanych ADPs.

Model startowy do udokładniania multipolowego zbudowany w oparciu o udokładnianie TAAM został wykorzystany, oprócz cytowanych powyżej badań testowych, między innymi w przypadku holoenzymu reduktazy aldozy w kompleksie z NADP<sup>+</sup> i inhibitorem [71], trypsyny [72], dimeru 9-metyloadeniny z 1-metylotyminą [73] oraz 9-difenylotiofosfinoantracenu [86].

W przypadku reduktazy aldozy, gęstość elektronowa homologu NADP<sup>+</sup>, NAD<sup>+</sup>, została wyznaczona eksperymentalnie i przeniesiona na współrzędne NADP<sup>+</sup>, natomiast gęstość elektronowa białka została zrekonstruowana przy użyciu bazy ELMAM. Dodatkowo podjęto próbę udokładniania multipolowego atomów z łańcucha głównego polipeptydu. Pozwoliło to na zademonstrowanie, po raz pierwszy na podstawie eksperymentalnej gęstości elektronowej, elektrostatycznej komplementarności pomiędzy środowiskiem stworzonym przez białko i jego ligand [71] (Rys. 8).



Rysunek 8. Potencjał elektrostatyczny jaki jest generowany przez reduktazę aldozy w miejscu aktywnym wyliczony z TAAM w płaszczyźnie pierścienia kationu nikotynoamidowego NADP<sup>+</sup>. Z lewej: białko bez NADP<sup>+</sup>, z prawej: samo NADP<sup>+</sup>. Linie niebieskie ciągłe przedstawiają izoliny potencjału elektrostatycznego o wartościach dodatnich, linie czerwone przerywane – o wartościach ujemnych oraz linie czarne kropkowane – wartość zero; interwał izol linii wynosi 0,05 e/Å. Przedruk z Muzet N et al. PNAS 2003;100:8742-8747, Chem. Phys. Lett., Vol. 391, Pages 170-175, Copyright (2003) by National Academy of Sciences

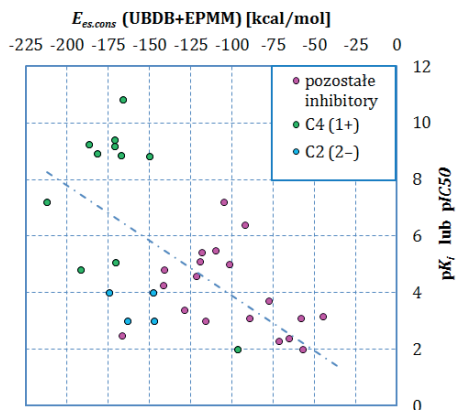
Figure 8. Electrostatic potential as generated by the aldose reductase in the active site computed from TAAM in the plane of the NADP<sup>+</sup> nicotinamide ring. Left: protein without NADP<sup>+</sup>, right: NADP<sup>+</sup> alone. The continuous blue lines represents isolines of electrostatic potential having a positive value, the dashed red lines – having a negative value and the dotted black lines – the zero value; the contour interval is 0.05 e/Å. Reprinted from Muzet N et al. PNAS 2003;100:8742-8747, Chem. Phys. Lett., Vol. 391, Pages 170-175, Copyright (2003) by National Academy of Sciences

W badaniach dotyczących ko-kryształu 9-metyloadeniny z 1-metylotyminą przeprowadzono dodatkowo udokładnianie TAAM dla kryształów monomerów tego dimeru, dla których udało się zebrać jedynie dane o standardowej rozdzielczości [73]. Uzyskanie dla monomerów geometrii o jakości porównywalnej z geometrią z udokładniania multipolowego umożliwiło rzetelne porównanie geometrycznych i energetycznych aspektów oddziaływań międzycząsteczkowych obecnych w omawianych strukturach krystalicznych. Z kolei badania 9-difenylotiofosfinoantracenu dotyczyły drgań anharmonicznych i oparte były na pomiarach w różnych temperaturach [86]. Oprócz zbudowania modelu startowego do udokładniania multipolowego względem niskotemperaturowych wysokorozdzielczych danych rentgenowskich, udokładnianie TAAM pozwoliło również włączyć do analizy dane z wysokotemperaturowego pomiaru o standardowej rozdzielczości, dla którego niemożliwe było przeprowadzenie udokładniania multipolowego.

Udokładnianie TAAM posłużyło również do zbudowania startowego modelu w procesie udokładniania  $\alpha$ -glicyny, D,L-seryny, L-alaniny i peptydu Ala-Tyr-Ala przy użyciu metody maksymalnej entropii [74]. W przypadku barwnika kumarynowego 314 wykorzystano TAAM jako punkt odniesienia dla w pełni udokładnionego modelu multipolowego [75].

TAAM okazał się być bardzo użyteczny w analizie struktur, dla których swobodne udokładnianie modelu multipolowego względem wysokorozdzielczych danych nie doprowadziło do fizycznie poprawnego modelu gęstości elektronowej, głównie z powodu obecności nieporządku. Wykryto, na przykład, nieporządek atomów wodoru w strukturze roksytromycyny, antybiotyku makrolidowego [76]. Przebadano również temperaturową zależność nieporządku rotacyjnego grupy metylowej w kryształach chlorowodoru 2-aminoizomałanu [78]. W przypadku kryształu 6-metylo-2-tiouracylu [79] zastosowano bank do wymodelowania gęstości deformacyjnej atomu siarki, aby przetestować wiele różnych hipotez mających tłumaczyć występowanie dodatkowych pików gęstości elektronowej wokół tego atomu.

Z możliwości zastosowania banków do analizy oddziaływań międzycząsteczkowych na poziomie gęstości elektronowej, nawet w sytuacji gdy struktur nie poddano udokładnianiu TAAM, skorzystano w przypadku badań m.in. nad: N-końcową domeną PriB z *Thermoanaerobacter tengcongensis* [80], ludzką reduktazą aldozy w kompleksie z fiderestatem [81], wiązaniami wodorowymi w  $\alpha$ -helisie na przykładzie białek reduktazy aldozy,  $\beta$ -glukozydazy, CTS-M-9- $\beta$ -laktamazy, ksylanazy, endopoligalakturonazy i konkawaliny A [82], kompleksami drugiej domeny PDZ synteniny [18] oraz neuraminidazą wirusa grypy [83].



Rysunek 9. Korelacja pomiędzy energią  $E_{es}$  [kcal/mol] oddziaływania konserwowanych reszt aminokwasowych z inhibitorami wyliczonymi przy użyciu metody UBDB+EPMM a eksperymentalnie wyznaczonymi wartościami stałych inhibicji,  $pK_i$  lub  $pIC_{50}$ . Wykres przygotowany na podstawie danych z [83]

Figure 9. The correlation between the  $E_{es}$  [kcal/mol] energy for conserved amino acid residues interacting with the inhibitors calculated using the UBDB+EPMM method and experimental values of the inhibition constant,  $pK_i$  or  $pIC_{50}$ . Plot repared on the basis of the data from [83]

Analiza energetycznych aspektów oddziaływania elektrostatycznego neuramidazy ze znanymi inhibitorami (ponad 70 kompleksów) [83] pokazała m.in., że istnieje pewna korelacja pomiędzy  $E_{es}$  oddziaływania siedemnastu konserwowanych reszt aminokwasowych budujących miejsce aktywne a eksperymentalnie wyznaczoną siłą inhibicji badanych cząsteczek (wartości  $pK_i$  lub  $pIC_{50}$ , Rys. 9). Wskazuje to na potencjalną możliwość zastosowania metody UBDB+EPMM do budowy funkcji oceniającej (ang. *scoring function*) w procedurze dokowania.

## UWAGI KOŃCOWE

Obecnie na świecie publikuje się rocznie około 40 000 nowych struktur kryształów organicznych wyznaczonych w oparciu o dane dyfrakcyjne o standardowej rozdzielczości. W przypadku białek i kwasów nukleinowych, z roku na rok rośnie liczba danych dyfrakcyjnych o rozdzielczości atomowej, obecnie przekracza ona 50 struktur na rok. Jakość danych geometrycznych większości tych struktur mogłaby być znacząco poprawiona dzięki zastosowaniu udokładniania TAAM.

Banki pseudoatomów pozwalają na szybką oraz ilościowo zadowalającą rekonstrukcję rozkładów gęstości elektronowej. W przypadku makromolekuł jest to trudne do osiągnięcia przy użyciu metod kwantowo-mechanicznych ze względu na rozmiar układu oraz niemożliwe do osiągnięcia dla obecnie stosowanych pól siłowych ze względu na zbytne ich uproszczenie. Również w przypadku małych cząsteczek organicznych, szybkość uzyskiwania informacji na temat właściwości

elektronowych cząsteczek może być atrakcyjna w wielkoskalowych badaniach przesiewowych cząsteczek o potencjalnej aktywności biologicznej.

Bardziej realistyczne atomowe czynniki rozpraszania i szybki dostęp do jednoelektronowych właściwości cząsteczek mogą przenieść standardową analizę strukturalną kryształów na wyższy poziom pod względem jakości i rodzaju informacji możliwej do uzyskania z rentgenografii.

W ogólności banki pseudoatomów mogą posłużyć szerokiemu gronu osób badających kryształy związków małowcząsteczkowych (projektowanie nowych materiałów, charakterystyka polimorfów w farmakologii) czy białka, kwasy nukleinowe oraz ich kompleksy (zrozumienie mechanizmów rozpoznawania ligandów, racjonalne projektowanie leków, etc.).

## PODZIĘKOWANIE

Duża część niniejszego opracowania pochodzi z autoreferatu przedstawionego w postępowaniu o nadanie autorce stopnia doktora habilitowanego.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] N. Hansen, P. Coppens, *Acta Cryst. A*, 1978, **34**, 909.
- [2] R.W.F. Bader, *Atoms in Molecules – A Quantum Theory*, University of Oxford Press, Oxford, 1990.
- [3] Y. Abramov, A. Volkov, P. Coppens, *Chem. Phys. Lett.*, 1999, **311**, 81; R. Bianchi, C. Gatti, V. Adovasio, M. Nardelli, *Acta Crystallogr. B*, 1996, **52**, 471; M. Spackman, P. Byrom, *Acta Crystal. B*/1996, **52**, 1023; S. Swaminathan, B.M. Craven, M.A. Spackman, R.F. Stewart, *Acta Cryst. B*, 1984, **40**, 398; A. Volkov, Coppens P., *Acta Cryst. A*, 2001, **57**, 395; A. Volkov, C. Gatti, Y.A. Abramov, P. Coppens, *Acta Cryst. A*, 2000, **56**, 252.
- [4] R.Y. de Vries, D. Feil, V.G. Tsirelson, *Acta Cryst. B*, 2000, **56**, 118; M.A. Spackman, P.G. Byrom, M. Alfredsson, K. Hermansson, *Acta Cryst. A*, 1999, **55**, 30.
- [5] D. Jayatilaka, *Phys. Rev. Lett.*, 1998, **80**, 798; D. Jayatilaka, D.J. Grimwood, *Acta Crystal. A*, 2001, **57**, 76; A. Genoni, *J. Phys. Chem. Lett.*, 2013, **4**, 1093.
- [6] D.E. Hibbs, S.T. Howard, J.P. Huke, M.P. Waller, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2005, **7**, 1772; M.P. Waller, S.T. Howard, J.A. Platts, R.O. Piltz, D.J. Willock, D.E. Hibbs, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 7603.
- [7] S. van Smaalen, J. Netzel, *Phys. Scr.*, 2009, **79**, 048304.
- [8] C. Brock, J. Dunitz, F. Hirshfeld, *Acta Cryst. B*, 1991, **47**, 789.
- [9] V. Pichon-Pesme, C. Lecomte, H. Lachekar, *J. Phys. Chem.*, 1995, **99**, 6242.
- [10] T. Koritsanszky, A. Volkov, P. Coppens, *Acta Cryst. A*, 2002, **58**, 464.
- [11] A. Volkov, X. Li, T. Koritsanszky, P. Coppens, *J. Phys. Chem. A*, 2004, **108**, 4283.
- [12] B. Dittrich, T. Koritsanszky, P. Luger, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2004, **43**, 2718.
- [13] B. Zarychta, V. Pichon-Pesme, B. Guillot, C. Lecomte, C. Jelsch, *Acta Crystallogr. A*, 2007, **63**, 108.
- [14] S. Domagała, B. Fournier, D. Liebschner, B. Guillot, C. Jelsch, *Acta Cryst.*, 2012, **A68**, 337.
- [15] B. Dittrich, C.B. Hübschle, P. Luger, M.A. Spackman, *Acta Cryst.*, 2006, **D62**, 1325.
- [16] B. Dittrich, C.B. Hübschle, M. Messerschmidt, R. Kalinowski, D. Girtt, P. Luger, *Acta Cryst. A*, 2005, **61**, 314.



- [17] B. Dittrich, C.B. Hübschle, K. Pröpper, F. Dietrich, T. Stolper, J.J. Holstein, *Acta Cryst. B*, 2013, **69**, 91.
- [18] P.M. Dominiak, A. Volkov, X. Li, M. Messerschmidt, P. Coppens, *J. Chem. Theory Comput.*, 2007, **3**, 232.
- [19] K.N. Jarzemska, P.M. Dominiak, *Acta Cryst. A*, 2012, **68**, 139.
- [20] A.S. Chimpri, P. Macchi, *Phys. Scr.*, 2013, **87**, 1.
- [21] V.R. Hathwar, T.S. Thakur, R. Dubey, M.S. Pavan, T.N. Guru Row, G.R. Desiraju, *J. Phys. Chem. A*, 2011, **115**, 12852; V.R. Hathwar, T.S. Thakur, T.N. Guru Row, G.R. Desiraju, *Cryst. Growth Des.*, 2011, **11**, 616.
- [22] V. Pichon-Pesme, C. Jelsch, B. Guillot and Lecomte C., *Acta Cryst. A*, 2004, **60**, 204.
- [23] T. Koritsánszky, A. Volkov, X. Li, P. Coppens, 2002, *Acta Cryst. A*, 2004, **60**, 638.
- [24] J.M. Bąk, S. Domagała, C. Hübschle, C. Jelsch, B. Dittrich, P.M. Dominiak, *Acta Cryst. A*, 2011, **67**, 141.
- [25] Volkov A., Messerschmidt M., Coppens P., 2007, *Acta Crystallogr.*, **D 63**, 160.
- [26] S. Domagała, P. Munshi, M. Ahmed, B. Guillot, C. Jelsch, *Acta Cryst. B*, 2011, **67**, 63.
- [27] B. Dittrich, P. Munshi M. A. Spackman, *Acta Cryst. C*, 2006, **68**, 633.
- [28] M. Ahmed, S. Noureen, P. C. Gros, B. Guillota, C. Jelsch, *Acta Cryst. C*, 2011, **67**, 329.
- [29] F.M. Talontsi, T.J. Nwemeguela Kenla, B. Dittrich, C. Douanla-Meli, H. Laatsch, *Planta Med.*, 2012, **78**, 1020.
- [30] R. Kalinowski, B. Dittrich, C. B. Hübschle, C. Paulmann, P. Luger, *Acta Cryst. B*, 2007, **63**, 753.
- [31] E. Bendeif, C. Jelsch, *Acta Cryst. C*, 2007, **63**, 361.
- [32] N. Dadda, A. Nassour, B. Guillot, N. Benali-Cherif and C. Jelsch, *Acta Cryst. A*, 2012, **68**, 452.
- [33] C.J. Schürmann, K. Pröpper, T. Wagner, B. Dittrich, *Acta Cryst. B*, 2012, **68**, 313.
- [34] F.L. Hirshfeld, *Acta Cryst. A*, 1976, **32**, 239.
- [35] H.D. Flack, *Acta Cryst. A*, 1983, **39**, 876.
- [36] B. Dittrich, M. Strumpel, M. Schäfer, M.A. Spackman, T. Koritsánszky, *Acta Cryst. A*, 2006, **62**, 217.
- [37] B. Dittrich, C.S. Bond, R. Kalinowski, M.A. Spackman, D. Jayatilaka, *CrystEngComm*, 2010, **12**, 2419.
- [38] D. Housset, F. Benabicha, V. Pichon-Pesme, C. Jelsch, A. Maierhofer, S. David, J.C. Fontecilla-Camps and Claude Lecomte, *Acta Cryst. D*, 2000, **56**, 151.
- [39] K.N. Jarzemska, M. Kubsik, R. Kamiński, K. Woźniak, P.M. Dominiak, *Cryst. Growth Des.*, 2012, **12**, 2508.
- [40] B. Dittrich, M. Weber, R. Kalinowski, S. Grabowski, C.B. Hübschle, P. Luger, *Acta Cryst.*, 2009, **B65**, 749.
- [41] B. Dittrich, C.B. Hübschle, J.J. Holstein, F.P.A. Fabbiani, *J. Appl. Cryst.*, 2009, **42**, 1110.
- [42] C.B. Hübschle, B. Dittrich, S. Grabowski, M. Messerschmidt, P. Luger, *Acta Cryst.*, 2008, **B64**, 363.
- [43] B. Dittrich, P. Munshi, M.A. Spackman, *Acta Cryst.*, 2007, **B63**, 505.
- [44] B. Dittrich, J.J. McKinnon, J.E. Warren, *Acta Cryst.*, 2008, **B64**, 750.
- [45] B. Guillot, C. Jelsch, A. Podjarny, C. Lecomte, *Acta Cryst.*, 2008, **D64**, 567.
- [46] C. Jelsch, M.M. Teeter, V. Lamzin, V. Pichon-Pesme, R.H. Blessing, C. Lecomte, *PNAS*, 2000, **97**, 3173, PNAS-2000-Jelsch-3171-6.
- [47] J.M. Bąk, P.M. Dominiak, C.C. Wilson, K. Woźniak, *Acta Cryst.* 2009, **A65**, 490.
- [48] E. Rödel, M. Messerschmidt, B. Dittrich, P. Luger, *Org. Biomol. Chem.*, 2006, **4**, 475.
- [49] M.V. Fernández-Serra, J. Junquera, C. Jelsch, C. Lecomte, E. Artacho, *Solid State Comm.*, 2000, **116**, 395.
- [50] S.K.J. Johnas, B. Dittrich, A. Meents, M. Messerschmidt, E.F. Weckert, 2009, **D65**, 284.

- [51] P. Kumar, S.A. Bojarowski, K.N. Jarzemska, S. Domagała, K. Vanommeslaeghe, A.D. MacKerell Jr., P.M. Dominiak, *J. Chem. Theory Comp.*, wysłane.
- [52] R. Kingsford-Adaboh, B. Dittrich, C.B. Hübschle, W.S.K. Gbewonyo, H. Okamoto, M. Kimura, H. Ishida, *Acta Cryst.*, 2006, **B62**, 843.
- [53] B. Dittrich, M.A. Spackman, *Acta Cryst.*, 2007, **A63**, 426.
- [54] J.J. Holstein, C.B. Hübschle, B. Dittrich, *Cryst. Eng. Comm.* 2012, **14**, 2520.
- [55] A. Volkov, T. Koritsanszky, P. Coppens, *Chem. Phys. Lett.*, 2004, **391**, 170.
- [56] G. Chalasinski, M. Gutowski, *Chem. Rev.*, 1988, **88**, 943.
- [57] P.M. Dominiak, E. Espinosa, J.G. Angyan, 2012, *Intermolecular interaction energies from experimental charge density studies*, [w:] *Modern Charge-Density Analysis*, C. Gatti, P. Macchi, (Red.), Springer London, str. 387.
- [58] Ż Czyżnikowska, R.W. Góra, R. Zaleśny, P. Lipkowski, K.N. Jarzemska, P.M. Dominiak, J. Leszczynski, *J. Phys. Chem. B*, 2010, **114**, 9629.
- [59] X. Li, A.V. Volkov, K. Szalewicz, P. Coppens, *Acta Cryst.*, 2006, **D62**, 639.
- [60] K.N. Jarzemska, D. Kamiński, A.A. Hoser, M. Malińska, B. Senczyna, K. Woźniak, M. Gagoś, *Cryst. Growth Des.* 2012, **12**, 2336.
- [61] R.S. Ghadwal, K. Pröpper, B. Dittrich, P.G. Jones, H.W. Roesky, *Inorg. Chem.*, 2011, **50**, 358.
- [62] F.P.A. Fabbiana, B. Dittrich, *Acta Cryst. E*, 2008, **64**, o2354.
- [63] K. Ejsmont, J.-P. Joly, E. Wenger, B. Guillot, C. Jelsch, *Acta Cryst. C*, 2009, **65**, o342.
- [64] K. Ejsmont, J. Boeglin, C. Didierjean, G. Guichard, C. Jelsch, *Acta Cryst. C*, 2010, **66**, o292.
- [65] K. Ejsmont, J.P. Joly, E. Wenger, C. Jelsch, *Acta Cryst. C*, 2008, **64**, 18.
- [66] P. Luger, M. Weber, C. Hübschle, R. Tacke, *Org. Biomol. Chem.*, 2013, **11**, 2348.
- [67] J. Bacsa, M. Okello, P. Singhb, V. Nair, *Acta Cryst.*, 2013, **C69**, 285, fn3128.
- [68] M. Weber, S. Grabowsky, A. Hazra, S. Naskar, S. Banerjee, N.B. Mondal, P. Luger, *Chem. Asian J.*, 2011, **6**, 1390.
- [69] P. Luger, M. Weber, B. Dittrich, *Future Med. Chem.*, 2012, **4**, 1399.
- [70] T. Aree, H.B. Bürgi, *J. Phys. Chem. A*, 2012, **116**, 8092, jp304858y.
- [71] N. Muzet, B. Guillot, C. Jelsch, C. Lecomte, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, **100**, 8742.
- [72] A. Schmidt, C. Jelsch, P. Ostergaard, W. Rypniewski, V.S. Lamzin, *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 43357.
- [73] K.N. Jarzemska, A.M. Goral, R. Gajda, P.M. Dominiak, *Cryst. Growth Des.*, 2013, **13**, 239.
- [74] S.J. Prathapa, S. Mondal, S. van Smaalen, *Acta Cryst.*, 2013, **B69**, 203.
- [75] P. Munshi, C. Jelsch, V.R. Hathwar, T.N. Guru Row, *Cryst. Growth Des.*, 2010, **10**, 1516.
- [76] J.J. Holstein, P. Luger, R. Kalinowski, S. Mebs, C. Paulman, B. Dittrich, *Acta Cryst.*, 2010, **B66**, 568, gw5005.
- [78] B. Dittrich, J.E. Warren, F.P.A. Fabbiani, W. Morgenrothd, B. Corry, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2009, **11**, 2601.
- [79] K.N. Jarzemska, R. Kaminski, E. Wenger, C. Lecomte, P.M. Dominiak, *J. Phys. Chem. C*, 2013, **117**, 7764.
- [80] D. Liebschner, K. Brzezinski, M. Dauter, Z. Dauter, J. Kur, M. Nowak, M. Olszewski, *Acta Cryst.*, 2012, **D68**, 1680.
- [81] B. Fournier, E. Bendeif, B. Guillot, A. Podjarny, C. Lecomte, C. Jelsch, *J. A.. Chem. Soc.* 2009, **131**, 10929.
- [82] D. Liebschner, C. Jelsch, E. Espinosa, C. Lecomte, E. Chabriere, B. Guillot, *J. Phys. Chem. A*, 2011, **115**, 12895.
- [83] P.M. Dominiak, A.V. Volkov, A.P. Dominiak, K.N. Jarzemska, P. Coppens, *Acta Cryst. D*, 2009, **65**, 485.
- [84] C. Jelsch, V. Pichon-Pesme, C. Lecomte, A. Aubry, *Acta Crystallogr. D*, 1998, **54**, 1306.

- [85] Y.B.M. Bisseyou, N. Bouhaida, B. Guillot, C. Lecomte, N. Lugan, N. Ghermanie, C. Jelsch, *Acta Cryst. B*, 2012, **68**, 646.
- [86] R. Herbst-Irmer, J. Henn, J.J. Holstein, C. B. Hübschle, B. Dittrich, D. Stern, D. Kratzert, D. Stalke, *J. Phys. Chem. A*, 2013, **117**, 633.
- [87] B. Dittrich, S. Pfitzenreuter and C. B. Hübschle, *Acta Cryst.*, 2012, **A68**, 110.
- [88] K. Pröpper, J.J. Holstein, C.B. Hübschle, C.S. Bond, B. Dittrich, *Acta Cryst. D*, 2013, **69**, 1530.
- [89] P. Coppens, A. Volkov, *Acta Cryst. A*, 2004, **60**, 357.
- [90] A. Volkov, Y. Abramov, P. Coppens and C. Gatti, *Acta Cryst. A*, 2000, **56**, 332.
- [91] D. Liebschner, M. Elias, S. Moniot, B. Fournier, K. Scott, C. Jelsch, B. Guillot, C. Lecomte, E. Chabrière, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 7879.

Praca wpłynęła do Redakcji 15 grudnia 2013

