

**ZASTOSOWANIE METOD DYNAMIKI  
MOLEKULARNEJ W BADANIACH NAD UKŁADAMI  
Z WIĄZANIAM WODOROWYMI**

AN APPLICATION OF MOLECULAR DYNAMICS  
METHODS IN INVESTIGATIONS OF SYSTEMS WITH  
HYDROGEN BONDS

**Aneta Jezierska\*, Jarosław J. Panek**

*Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski  
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław  
e-mail: aneta.jezierska@chem.uni.wroc.pl*

---

*Praca dedykowana Profesorowi Lucjanowi Sobczykowi z okazji 90. rocznicy urodzin*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Metody dynamiki molekularnej
  - 1.1. Dynamika molekularna Cara-Parrinello
  - 1.2. Klasyczna dynamika molekularna
2. Zastosowanie metody CPMD do układów z wewnątrzcząsteczkowym wiązaniem wodorowym
3. Zastosowanie metody CPMD do układów z międzycząsteczkowym wiązaniem wodorowym
4. Zastosowanie klasycznej dynamiki molekularnej w badaniach nad Proteiną K i streptawidyną
5. Rozwój metody CPMD i jej dalsze perspektywy

Uwagi końcowe

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane

---

**Dr Aneta Jezierska** jest absolwentką Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, a od 2005 roku jest zatrudniona na stanowisku adiunkta. Jej zainteresowania naukowe w czasie studiów doktoranckich skupiały się wokół zagadnień związanych z zastosowaniem metod obliczeniowych do przewidywania aktywności biologicznej małych molekuł. Pracę doktorską pisaną pod kierunkiem prof. Aleksandra Kolla obroniła z wyróżnieniem. Jej zainteresowania naukowe skupiają się wokół badań zarówno nad małymi układami, jak i makroukładami o znaczeniu biologicznym. W swoich badaniach naukowych stosuje zaawansowane metody nowoczesnej chemii obliczeniowej, zwłaszcza metody dynamiki molekularnej.

**Dr Jarosław Jan Panek** ukończył w 1997 r. studia na kierunku Chemia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. W roku 2002 obronił z wyróżnieniem pracę doktorską pt. „Teoretyczne modelowanie oddziaływań cząsteczek CO<sub>2</sub>, CS<sub>2</sub> oraz NO<sub>2</sub> z metalami 13. grupy” przygotowaną pod kierunkiem prof. Zdzisława Latajki. Obecnie adiunkt w Zespole Teoretycznego Modelowania Procesów Chemicznych na Wydziale Chemii UWr. Jego zainteresowania naukowe skupiają się wokół badania oddziaływań międzycząsteczkowych oraz dynamiki molekularnej układów z wiązaniem wodorowym i makrocząsteczek biologicznych.

## ABSTRACT

Modern computational chemistry offers a wide variety of methods allowing us to investigate very complex systems. In the current study, we would like to focus on *ab initio* and classical molecular dynamics to show their applications in our research. Car-Parrinello molecular dynamics (CPMD) was carried out to study compounds possessing intra- and intermolecular hydrogen bonds. Our simulations were performed *in vacuum*, in solvent and in crystalline phase. It is well known that intramolecular hydrogen bonding stabilizes 3D structure of molecules. The strength of the bonding and its features are influenced by inductive and steric effects. Our short overview on CPMD application to systems with intramolecular HB we start from Schiff and Mannich bases -model compounds to investigate intramolecular hydrogen bonding. Other examples reported here derive from the class of *N*-oxide type compounds. Special attention was devoted to another representative structure in such investigations – picolinic acid *N*-oxide. In some examples listed above proton transfer phenomena occurred making these compounds interesting objects for future excited state studies. Aliphatic boronic acid was used as a model example to study intermolecular hydrogen bonds based on CPMD method. Further, classical molecular dynamics was applied to investigate proteins. Here, we would like to report our results for two biomolecules. The first one is proteinase K for which the impact of mercury(II) on its catalytic center was studied. The second one is streptavidin. For the latter one its complexes with biotinylated ligands were investigated. We close our review with a paragraph describing further development and perspectives related to CPMD method.

Keywords: CPMD, classical MD, intramolecular HB, intermolecular HB, Schiff base, Mannich base, *N*-oxides, proteins

Słowa kluczowe: CPMD, klasyczna dynamika molekularna, wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe, międzycząsteczkowe wiązanie wodorowe, zasada Schiffa, zasada Mannicha, *N*-tlenki, białka

---

---

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

CPMD	– dynamika molekularna Cara-Parrinello (ang. <i>Car-Parrinello Molecular Dynamics</i> )
3D	– trójwymiarowy (ang. <i>three-dimensional</i> )
HB	– wiązanie wodorowe (ang. <i>hydrogen bond</i> )
MD	– dynamika molekularna (ang. <i>molecular dynamics</i> )
BOMD	– dynamika molekularna Borna-Oppenheimera (ang. <i>Born-Oppenheimer Molecular Dynamics</i> )
PIMD	– ang. <i>Path Integral Molecular Dynamics</i>
RDF	– radialne funkcje rozkładu (ang. <i>Radial Distribution Functions</i> )
LBHB	– niskobarierowe wiązanie wodorowe (ang. <i>Low Barrier Hydrogen Bond</i> )
IR	– widmo podczerwieni (ang. <i>Infrared Spectrum</i> )
1D	– jednowymiarowy (ang. <i>one-dimensional</i> )
PES	– powierzchnia energii potencjalnej (ang. <i>Potential Energy Surface</i> )
DFT	– teoria funkcyjonału gęstości (ang. <i>Density Functional Theory</i> )
PANO	– N-tlenek kwasu pikolinowego (ang. <i>picolinic acid N-oxide</i> )

## WPROWADZENIE

Nowoczesna chemia obliczeniowa oferuje dużą różnorodność metod, pozwalając na badania bardzo złożonych układów. W obecnym artykule chcielibyśmy się skupić na metodach dynamiki *ab initio* i klasycznej, i pokazać ich zastosowanie w naszych badaniach. Dynamika molekularna Cara-Parrinello (CPMD) została wykorzystana do badań nad układami zawierającymi wewnątrz- i międzycząsteczkowe wiązania wodorowe. Symulacje zostały wykonane w fazie gazowej, rozpuszczalniku i w ciele stałym. Powszechnie wiadomo, że wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe stabilizują strukturę 3D molekuł. Siła wiązania wodorowego i jego własności są modulowane przez efekty indukcyjne i steryczne. Nasz krótki przegląd pokazujący zastosowanie CPMD do układów z wewnątrzcząsteczkowym wiązaniem wodorowym zaczniemy od zasad Schiffa i Mannicha – modelowych związków w tego typu badaniach. Inne przykłady pokazane w artykule pochodzą z grupy *N*-tlenków. Szczególna uwaga została poświęcona kolejnemu modelowemu związkowi – *N*-tlenkowi kwasu pikolinowego. W niektórych przykładach związków przytoczonych powyżej występuje zjawisko przeniesienia protonu sprawiając, że związki tego typu są bardzo interesujące w badaniach stanów wzbudzonych. Alifatyczny kwas butyloboronowy posłużył jako modelowy układ do badań metodą CPMD układów z międzycząsteczkowym wiązaniem wodorowym. Klasyczna dynamika molekularna została zastosowana do badań białek. Chcielibyśmy zreferować nasze rezultaty badań dla dwóch biomolekuł. Pierwsze białko to proteinaza K, gdzie był badany wpływ rtęci(II) na działanie centrum katalitycznego. Natomiast drugie białko to streptawidyna. Badane były kompleksy tego białka z ligandami, w skład których wchodziła biotyna modyfikowana chemicznie. Nasz artykuł zakończy podrozdział opisujący dalszy rozwój metody CPMD i jej perspektywy.

### 1. METODY DYNAMIKI MOLEKULARNEJ

Metody dynamiki molekularnej to, najogólniej rzecz ujmując, metody obliczeniowe, w których badamy zachowanie się układów w funkcji czasu, rozwiązując odpowiednie równania ruchu. Możemy badać, jak zmieniają się parametry metryczne (geometria układu), a także struktura elektronowa. Dynamika molekularna pozwala nam na badanie efektów entropowych, efektów związanych ze zmianą temperatury oraz również ciśnienia. Jednak musimy rozgraniczyć i odpowiednio podzielić metody dynamiki molekularnej, gdyż podział na dynamikę *ab initio* i klasyczną ma solidne podstawy merytoryczne. W dalszej części pracy skupimy się nad dynamiką Cara-Parrinello i dynamiką klasyczną, omówimy pokrótce te metody, a następnie pokażemy ich zastosowanie w badaniach różnorodnych układów.

### 1.1. DYNAMIKA MOLEKULARNA CARA-PARRINELLO

Za narodziny dynamiki Cara-Parrinello uznaje się rok 1985, kiedy to ukazała się praca w *Phys. Rev. Lett.* zatytułowana „*Unified Approach for Molecular Dynamics and Density-Functional Theory*”, gdzie zaprezentowano główne tezy nowej metody [1]. Została ona zaprojektowana jako ogólna metoda znalezienia postaci orbitali dla danego układu fizycznego, przy użyciu metody „*simulated annealing*”. Zatem nie musi być związana z ruchami atomowymi, choć właśnie w tym kontekście najczęściej jest używana. Dynamika ta oparta jest na polach siłowych „z pierwszych zasad”, nie wymaga więc parametryzacji pola siłowego *a priori*, co jest konieczne przy użyciu klasycznych pól siłowych. Dzięki temu, CPMD umożliwia opis reakcji chemicznych, zrywania się i tworzenia wiązań. CPMD polega na włączeniu współczynników rozwinięcia orbitali w funkcje bazy w proces dynamiczny (mogący dążyć do minimum przy danej konfiguracji atomów lub mogący podlegać klasycznym równaniom dynamiki molekularnej). Lagrangian Cara-Parrinello [1] prowadzi do równań ruchu, które nałożone są zarówno na położenia jonów, jak i na orbitale (dodatkową komplikacją jest konieczność zachowania ortogonalności i normalizacji orbitali). Dzięki temu unika się rozwiązywania pełnego układu równań Kohna-Shama teorii funkcjonału gęstości w każdym kroku czasowym (takie podejście, to dynamika molekularna Borna-Oppenheimera, BOMD). Orbitale, a dokładniej współczynniki rozwinięcia orbitali w funkcje bazy, są traktowane jak dynamiczne zmienne – mają przyporządkowane masy fikcyjne  $\mu$  i podążają za jonami. Dlatego też, krok czasowy dynamiki musi być mały (w praktyce okazuje się, że rząd wielkości krótszy w porównaniu z dynamiką klasyczną; nie 1–2 fs, ale  $\approx 0,1$  fs czyli 2–5 a.u., zależnie od mas atomów w układzie). Jest to konieczne, jeśli orbitale mają podążać za jonami (nie wprowadzać „opóźnień w dynamice jonów”, nie „wyskoczyć z orbit”, czyli zachować odpowiednią separację obu podukładów dynamicznych – orbitali i jonów). Bazą funkcyjną stosowaną w CPMD są fale płaskie kontrolowane poprzez wartość odcięcia energii kinetycznej,  $E_{\text{cut}}$  (ang. *kinetic energy cutoff*). Fale płaskie są stosowane przede wszystkim w układach periodycznych, np. kryształach, cieczech. Kolejnym nieodzownym elementem CPMD są pseudopotencjały. Są one konieczne w celu redukcji oscylacji zrębów atomowych (dzięki czemu potrzeba mniejszej energii odcięcia fal płaskich). W porównaniu z klasyczną dynamiką molekularną, jest to metoda o wiele wolniejsza, dostępny czas symulacji to ps lub ns. Bez zastosowania specjalnych, kosztownych technik (np. ang. *Path Integral Molecular Dynamics*, PIMD) opis jąder atomowych pozostaje klasyczny, zatem nie są widoczne wprost takie zjawiska jak tunelowanie.

### 1.2. KLASYCZNA DYNAMIKA MOLEKULARNA

Techniki klasycznej dynamiki molekularnej rozwinęły się, zanim dostępna moc obliczeniowa komputerów pozwalała na szybkie obliczenia kwantowo-chemiczne.

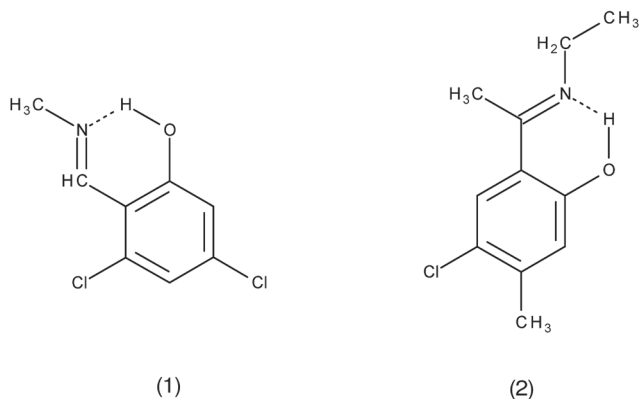
Uniknięto zatem takich obliczeń poprzez sparametryzowanie oddziaływań międzyatomowych, za pomocą przybliżeń klasycznych, np. założenia harmonicznego charakteru wiązań i kątów walencyjnych, czy opisu oddziaływań niekowalencyjnych, jako złożenia prostego oddziaływania kulombowskiego i członu niewiążącego np. Lennarda-Jonesa. Ogromny zysk na szybkości obliczenia energii układu okupiony jest koniecznością uprzedniego dokonania parametryzacji, czyli zdefiniowania pola siłowego, i utratą możliwości opisu zrywania / tworzenia wiązań. Klasyczna MD jest więc powszechnie stosowana do badań fazy ciekłej, gdzie odtworzenie nieuporządkowania jest konieczne do realistycznego opisu układu, oraz do badań nad konformacjami biocząsteczek – w obu tych przypadkach kombinacja rozmiaru układu i wymaganej skali czasowej symulacji ogranicza stosowalność kwantowych pól siłowych. Dzisiejsze pola siłowe najczęściej są rozdzielczości atomowej, czyli każdy atom, łącznie z atomami wodoru, jest jawnie uwzględniony w symulacji (ang. *all-atom force field*). W badaniach biomolekuł (białka, kwasy nukleinowe, lipidy) popularne są pola siłowe AMBER i CHARMM, mające ponad dwudziestoletnią historię [2, 3] i ciągle udoskonalane [4]. Przy symulacjach stanu ciekłego chętnie stosowane jest pole siłowe OPLS-AA [5], które zapożycza część parametrów z rodziny pól AMBER, ale reparametryzuje oddziaływania niewiązące tak, by możliwie dokładnie odtworzyć parametry wybranych cieczy organicznych. Specjalną uwagę poświęca się modelom wody – z jednej strony oddanie bogactwa strukturalnego ciekłej wody (np. radialnych funkcji rozkładu (RDF)) nie jest łatwe, a z drugiej – model musi być prosty, bo cząsteczki wody mogą stanowić większość w symulacji. Popularny jest model trójpunktowy TIP3P [6]; dla uproszczenia, standardowo nie dopuszcza się zmian parametrów geometrycznych cząsteczki wody (długości wiązania O-H i kąta H-O-H).

Pozostaje jeszcze kwestia istotna zarówno dla klasycznej MD, jak i CPMD: w jaki sposób generowana jest historia (trajektoria) układu? Klasyczne równania ruchu Newtona wymagają początkowych położeń, prędkości (losowanych tak, by oddawały wybraną makroskopową temperaturę) i sił działających na atomy (te zaś wyznacza pole siłowe – klasyczne lub kwantowe). Równania ruchu są numerycznie całkowane, przy czym wystarczające są proste algorytmy Verleta czy „żabiego skoku” (ang. *leapfrog integrator*). Ważne jest użycie odpowiednio krótkiego kroku czasowego tak, by zapewnić stabilność symulacji (zachowanie energii). Z uwagi na najszybsze ruchy występujące w układzie (np. drgania C-H, O-H) dla klasycznej MD zwykle używa się kroku czasowego rzędu 1–2 fs. Odpowiednie modyfikacje rozwiązywania równań ruchu pozwalają na odtworzenie zachowania różnych zespołów statystycznych, np. można termostatować układ (zespół NVT), czy dodatkowo nałożyć barostat (symulacja NPT). Popularne stają się metody przyspieszające przeszukiwanie przestrzeni fazowej, np. posługujące się replikami układu z możliwością wymiany konfiguracji między nimi (ang. *replica exchange MD*) – użyteczne w badaniach nad składaniem (zwijaniem) białek [7].

## 2. ZASTOSOWANIE METODY CPMD DO UKŁADÓW Z WEWNĄTRZCZĄSTECZKOWYM WIĄZANIEM WODOROWYM

Zacznijmy nasze rozważania od układów zawierających wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe. Omówimy głównie zastosowanie CPMD do badań nad związkami z grupy zasad Schiffa i Mannicha, a także *N*-tlenków.

Jak wiemy, wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe może być modulowane przez efekty indukcyjne i steryczne. Związkami, w których badano wpływ podstawnika na właściwości wiązania wodorowego, były dwie zasady Schiffa, przedstawione na Rysunku 1.



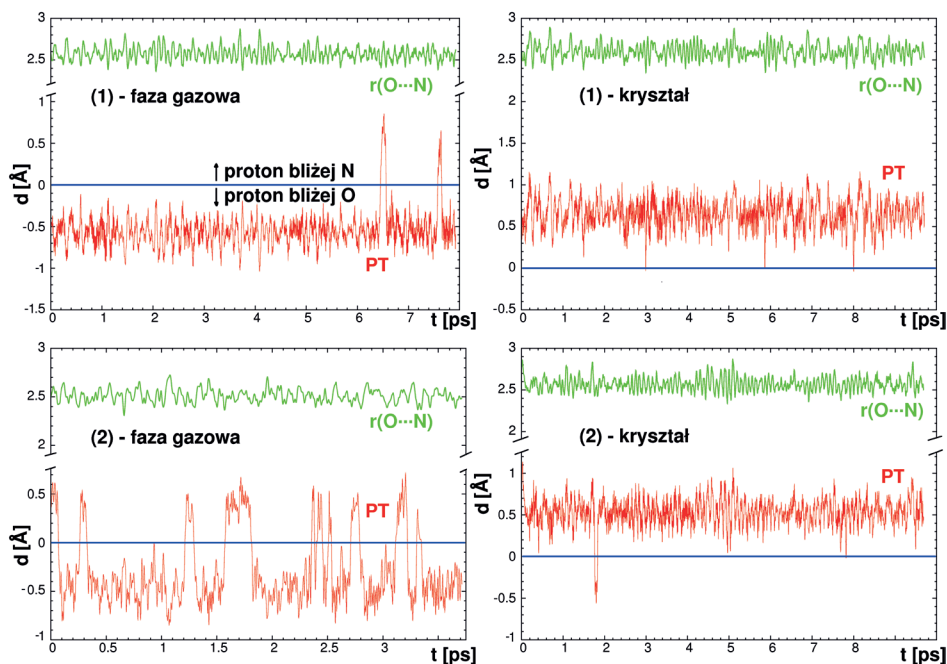
Rysunek 1. Struktury form enolowych zasad Schiffa analizowanych w pracy [8]. (1) – 2-(*N*-metyloiminometylo)-4,6-dichlorofenol, (2) – 2-(*N*-etylo- $\alpha$ -iminoetylo)-4-chloro-5-metylofenol

Figure 1. Structures of enol forms of Schiff bases investigated in [8]. (1) – 2-(*N*-methyliminomethyl)-4,6-dichlorophenol, (2) – 2-(*N*-ethyl- $\alpha$ -iminoethyl)-4-chloro-5-methylphenol

Symulacje były prowadzone w fazie gazowej, a także krystalicznej. Dane eksperymentalne, które posłużyły do budowy modeli, a także weryfikacji wyników CPMD, zostały zaczerpnięte z prac [9, 10]. Wiązania wodorowe w obu zasadach Schiffa są silne i można je zakwalifikować do grupy tzw. niskobarierynych wiązań wodorowych (ang. *Low Barrier Hydrogen Bond*, LBHB). Wpływ na siłę wiązania wodorowego ma zjawisko występowania form rezonansowych – enolowej i ketonowej, a przewaga jednej bądź drugiej zależy od podstawników (które to wprowadzają efekty indukcyjne), a także sprzężenia poprzez pierścień fenyłowy. Efekty indukcyjne (pochodzące od atomów chloru) są dominujące w przypadku (1), natomiast obecność grupy metylowej w (2), powoduje „geometryczne usztywnienie” wiązania wodorowego, a więc widoczny jest silny wpływ efektów sterycznych. Eksperymentalnie wyznaczone odległości między atomami O...N wynoszą odpowiednio 2,574 Å w (1) i 2,491 Å w (2) [9, 10]. Symulacje wykonane metodą CPMD w fazie gazowej pozwoliły na uzyskanie informacji o lokalizacji protonu w mostku wodorowym i dla obu związków zaobserwowano, że proton jest zlokalizowany po stronie donora, czyli że przeważa forma molekularna (enolowa). W związku (2) proton jest zlokali-



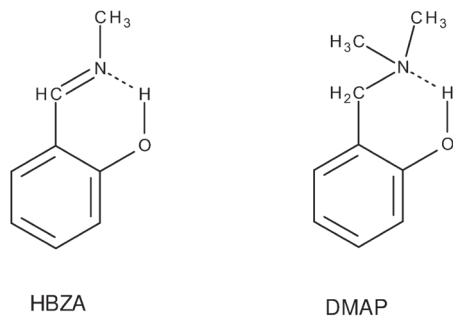
zowany bliżej środka mostka wodorowego. Symulacje CPMD w fazie krystalicznej (gdzie pod uwagę brane są sąsiednie molekuly, a także obecność pola krystalicznego) dały zupełnie inny obraz zachowania protonu w mostku wodorowym (Rys. 2). Stwierdzono, że w obu związkach proton jest zlokalizowany bliżej atomu akceptora (czyli azotu). Widoczny jest więc silny wpływ środowiska polarnego na wiązania wodorowe w obu badanych związkach.



Rysunek 2. Ewolucja w czasie długości mostka O...N oraz współrzędnej przeniesienia protonu (PT) zdefiniowanej jako  $d(\text{O-H})-d(\text{N-H})$  – wyniki symulacji CPMD dla związków (1) i (2) [8]

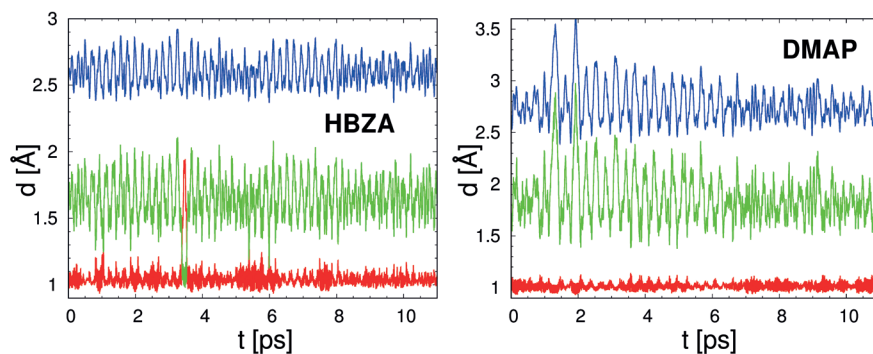
Figure 2. Time evolution of O...N bridge length and proton transfer (PT) coordinate defined as  $d(\text{O-H})-d(\text{N-H})$  – CPMD simulation results for compounds (1) and (2) [8]

Zasady Schiffa chętniej ulegają reakcjom przeniesienia protonu, niż zasady Mannicha, co wykazały prace eksperymentalne, a także symulacje wykonane metodą CPMD [8, 11–15]. Główna różnica w budowie molekularnej pomiędzy zasadą Schiffa i Mannicha polega na obecności wiązania podwójnego w grupie iminowej. Obecność podwójnego wiązania pozwala na sprzężenie pomiędzy wiązaniem wodorowym i elektronami  $\pi$  z pierścienia aromatycznego. W konsekwencji następuje skrócenie mostka wodorowego i otrzymujemy wiązania sklasyfikowane jako LBHB [9]. W celu pokazania tej różnicy w dynamice protonu mostkowego, zostały wykonane symulacje metodą CPMD w fazie gazowej dla zasad Schiffa i Mannicha [16, 17] pokazanych na Rysunku 3.



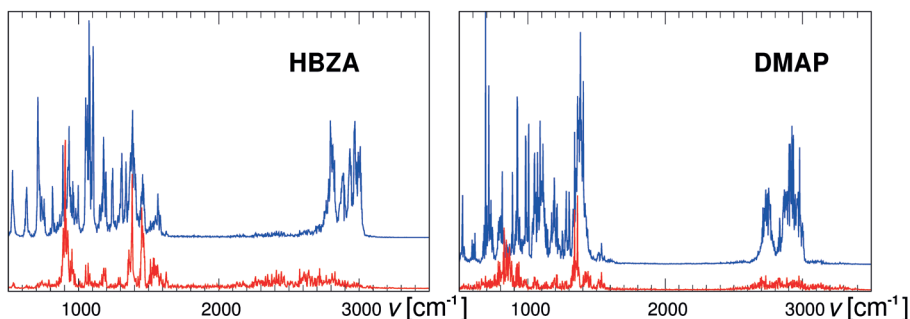
Rysunek 3. Struktury molekularne omawianych zasady Schiffa (*N*-metylo-2-hydroksybenzylidenoaminy (HBZA)) i zasady Mannicha (*o*-dimetyloaminometylofenolu (DMAP))  
 Figure 3. Molecular structures of discussed Schiff base (*N*-methyl-2-hydroxybenzylidene amine (HBZA)) and Mannich base (*o*-dimethylaminomethylphenol (DMAP))

Wybrane zostały związki bez podstawników w pierścieniu aromatycznym, a także posiadające dane eksperymentalne, zwłaszcza spektroskopowe [16, 17]. Symulacje CPMD tych związków [13] prowadzone były w warunkach zbliżonych do tych, w których mierzone były widma podczerwieni (IR) eksperymentalnie, co umożliwiło bezpośrednie porównania otrzymanych rezultatów. Oba związki wykazują silną anharmoniczność. Z uzyskanych trajektorii dla obu badanych związków została określona siła wiązania wodorowego i na podstawie analizy parametrów metrycznych (Rys. 4) określono, że wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe występujące w zasadzie Schiffa (HBZA) jest silniejsze, niż wiązanie w zasadzie Mannicha (DMAP). Dalsze analizy w funkcji czasu pokazały, że w zasadzie Schiffa proton w mostku wodorowym jest zdolny krótkotrwale przenieść się na stronę akceptora, po czym wraca do donora. W zasadzie Mannicha natomiast nie zaobserwowano zjawiska przeniesienia protonu. Obliczone i przedstawione na Rysunku 5 widma mocy z prędkości atomowych (odpowiadające położeniom, ale nie intensywnościom, pasm widma oscylacyjnego IR) wskazują dla zasady Schiffa szerokie pasmo drgań grupy O-H (a więc silną delokalizację protonu w mostku wodorowym) w zakresie 2000–3000  $\text{cm}^{-1}$ . Podobny zakres drgań uzyskano w eksperymencie [16]. Mniejszą delokalizację protonu w mostku wodorowym wykazała zasada Mannicha. Otrzymano węższy przedział absorpcji protonu (2550–3300  $\text{cm}^{-1}$ ). Dane eksperymentalne [17] wskazują obszar 2600–3450  $\text{cm}^{-1}$ . Obliczone widma podczerwone są przesunięte w stronę niższych częstości (ang. *red shift*), co wynika ze specyfiki metody CPMD, w tym z pola siłowego DFT i tzw. „drag effects”.



Rysunek 4. Ewolucja w czasie odległości międzyatomowych O-H (czerwona linia), N-H (zielona linia) i O-N (niebieska linia) w mostkach wodorowych związków HBZA i DMAP – wyniki symulacji CPMD w fazie gazowej

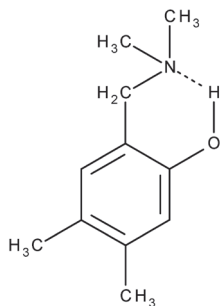
Figure 4. Time evolution of O-H (red line), N-H (green line) and O-N (blue line) interatomic distances in hydrogen bridges of compounds HBZA and DMAP – results of gas-phase CPMD simulations



Rysunek 5. Widma mocy prędkości atomowych – całkowite (linia niebieska) i wkład protonu mostka (linia czerwona). Wyniki symulacji CPMD dla związków HBZA i DMAP w fazie gazowej

Figure 5. Power spectra of atomic velocities – total (blue line) and bridge proton contribution (red line). Results of CPMD simulation for compounds HBZA and DMAP in the gas phase

Dla zasady Mannicha (4,5-dimetylo-2(*N,N*-dimetyloaminometylo)fenolu) [18] zostały wykonane symulacje CPMD w trzech stanach skupienia: gazowym, stałym i ciekłym, i w takiej kolejności zostaną omówione otrzymane wyniki badań. Struktura molekularna omawianej zasady Mannicha została przedstawiona na Rysunku 6.



Rysunek 6. Struktura molekularna zasady Mannicha (4,5-dimetylo-2(*N,N*-dimetyloaminometylo)fenolu)  
 Figure 6. Molecular structure of Mannich base (4,5-dimethyl-2(*N,N*-dimethylaminomethyl)phenol)

Związek ten posiada wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe średniej mocy, które jest silnie anharmoniczne. Analiza parametrów metrycznych wiązania wodorowego w fazie gazowej wykazała, że proton w czasie symulacji znajdował się wyłącznie po stronie donora. W fazie krystalicznej również nie zaobserwowano zjawiska przeniesienia protonu, natomiast pojawiło się zjawisko związane z dynamicznymi własnościami mostka wodorowego, a mianowicie: w kilku momentach symulacji proton znajdował się w środku mostka wodorowego, tzw. „*proton sharing event*”. Inna dynamika protonu w fazie krystalicznej spowodowana jest upakowaniem w kryształ, czyli obecnością innych molekuł, a także efektami elektrostatycznymi [14]. W fazie ciekłej (zastosowano dyskretny model rozpuszczalnikowy i  $\text{CCl}_4$  jako rozpuszczalnik) również nie zaobserwowano zjawiska przeniesienia protonu, a zaobserwowano, że podobnie jak w fazie gazowej, proton znajduje się wyłącznie po stronie donora [15]. Analiza spektralna w oparciu o symulacje CPMD (tzw. widma mocy) pokazała, że zakres drgań grupy O-H jest zależny od otoczenia chemicznego. Najbardziej widoczne różnice otrzymano dla symulacji w fazie krystalicznej. Porównanie danych eksperymentalnych i obliczonych zestawiono w Tabeli 1. W tym miejscu należy przypomnieć, że otrzymany opis spektralny jest opisem klasycznym, a nie kwantowym. Skwantowano więc drganie grupy O-H, stosując w tym celu metodę „snapshot-envelope” [19]. W metodzie tej z trajektorii układu są wybierane pojedyncze „próbki” (w odstępach czasu na tyle długich, by zgodnie z zasadami mechaniki statystycznej były jak najmniej skorelowane, w praktyce – co kilkanaście-kilkadziesiąt okresów drgań atomów ciężkich), które obrazują różnorodność „zachowań dynamicznych” molekuly w trakcie symulacji. Następnie dla każdej takiej próbki tworzona jest 1D-powierzchnia energii potencjalnej (PES) poprzez płynne przeniesienie protonu od donora do akceptora. Otrzymane 1D-funkcje potencjalne posłużyły do rozwiązania niezależnego od czasu oscylacyjnego równania Schrödingera dla drgań O-H cząsteczki. Otrzymaliśmy w ten sposób wartości liczb falowych przejścia  $0 \rightarrow 1$ . Następnie na każdej z tych liczb falowych centrowano funkcję Gaussa i sumowano. W ten sposób otrzymujemy obwiednię pasma O-H, gdzie wzięte zostały pod uwagę efekty kwantowe, a zwłaszcza ich wpływ na opis spektroskopowy drgania O-H [14].

Tabela 1. Zestawienie danych eksperymentalnych i obliczonych metodą CPMD dla drgania O-H w różnych stanach skupienia

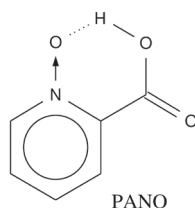
Table 1. Experimental and computed data on the basis of CPMD for the O-H stretch in various phases

Drganie O-H	Dane eksperymentalne [18]	Faza gazowa	Faza krystaliczna	Faza ciekła
	Drganie O-H („ <i>snapshot-envelope</i> ”)	2200–3400 cm <sup>-1</sup>	2500–3400 cm <sup>-1</sup>	1700–3100 cm <sup>-1</sup>
		1900–3200 cm <sup>-1</sup>	800–2900 cm <sup>-1</sup>	1600–3400 cm <sup>-1</sup>

Przyjrzyjmy się zatem, co inkluzja efektów kwantowych zmienia w opisie spektralnym omawianej zasady Mannicha w różnych stanach skupienia. Zakres eksperymentalny drgania O-H wynosi 2200–3400 cm<sup>-1</sup> [18], jak pokazano w Tabeli 1. W oparciu o metodę „*snapshot-envelope*”, w fazie krystalicznej otrzymaliśmy szerokie pasmo drgań O-H w zakresie 800–2900 cm<sup>-1</sup>. W fazie gazowej wprowadzenie efektów kwantowych, dało mniej spektakularne rezultaty, w porównaniu z fazą krystaliczną (Tab. 1). Pasma O-H przesunięte jest nie tylko w stronę wyższych częstości, ale także jest ono znacznie węższe. W fazie ciekłej obserwujemy wpływ rozpuszczalnika na szerokość pasma. Jest ono szersze, w porównaniu z fazą gazową, i obejmuje zakres 1600–3400 cm<sup>-1</sup> [15]. Nasze symulacje metodą CPMD dla omawianej zasady Mannicha wykazały, że wpływ na dynamikę protonu w mostku wodorowym ma przede wszystkim wpływ środowiska polarnego. Wpływ sił dyspersyjnych wydaje się być znikomym.

Związkiem wykazującym ciekawą, trudną do interpretacji charakterystykę spektroskopową, wynikającą z bardzo silnego, krótkiego wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego, jest *N*-tlenek kwasu pikolinowego (ang. *picolinic acid N-oxide*, PANO), którego strukturę przedstawia Rysunek 7. Wyznaczona rentgenograficznie odległość O...O wynosi 2,425 Å [20]. Odtworzenie jej w modelu obliczeniowym w fazie gazowej obarczone jest znacznym błędem – nasze obliczenia [21, 22] dają wyniki zawyżone o 0,1 Å, np. 2,513 Å na poziomie MP2/6-311+G(d,p) czy 2,519 Å na poziomie B3LYP/6-311+G(d,p). Jednak już użycie prostego modelu klastrowego albo obliczenia w cieple stałym, redukują znacznie tę odległość: 2,469 Å dla trimeru PANO na poziomie B3LYP/6-31+G(d,p) oraz 2,451 Å dla modelu periodycznego z funkcjonałem BLYP [22]. Zatem pole krystaliczne silnie moduluje właściwości mostka wodorowego w PANO. Dokładny, doświadczalny pomiar widm IR, Ramana i nieelastycznego rozpraszania neutronów [21] nie pozwolił na jednoznaczne ustalenie położenia pasma drgania rozciągającego O-H; jego obecność wskazuje szeroko kontinuum absorpcji sięgające od ok. 1800 cm<sup>-1</sup> do tak niskiej wartości jak ok. 300 cm<sup>-1</sup>. Obliczenia w modelu harmonicznym dają jakościowo błędny opis, tak w fazie gazowej ( $\nu_{OH} \approx 2900\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ ), jak i w kryształ (2158 cm<sup>-1</sup> [21]), natomiast rozwiązanie jednowymiarowego oscylacyjnego równania Schrödingera dla drgania O-H daje liczbę falową przejścia 0→1 równą 1407 cm<sup>-1</sup> [22]. Zastosowanie opisaną powyżej metody „*snapshot-envelope*” opartej na trajektorii CPMD dla kryształu PANO, obejmującej 14,5 ps (przeanalizowano 50 struktur znajdując

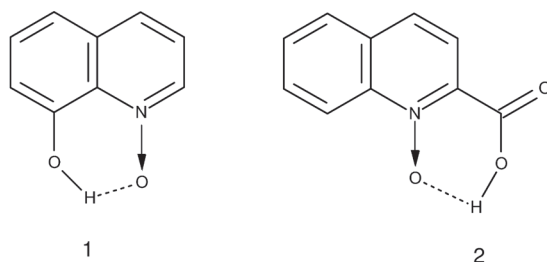
dla każdej z nich kształt krzywej energii potencjalnej dla przeniesienia protonu; użyto funkcjonału BLYP z bazą fal płaskich o energii odcięcia 120 Ry), pozwoliło na odtworzenie obwiedni drgania rozciągającego O-H, z uwzględnieniem modulacji przez inne drgania. Obwiednia ta rozciąga się od 2000 do 1000  $\text{cm}^{-1}$ , z maksimum przy 1400  $\text{cm}^{-1}$  [21]. Zgodność z danymi doświadczalnymi potwierdziła skuteczność analizy opartej na trajektorii uzyskanej za pomocą schematu Cara-Parrinello dla przedstawiciela *N*-tlenków z krótkim wewnątrzcząsteczkowym wiązaniem wodorowym.



Rysunek 7. Struktura *N*-tlenku kwasu pikolinowego (PANO) analizowanego w pracach [21, 22]

Figure 7. Structure of picolinic acid *N*-oxide (PANO) studied in [21, 22]

Kolejnymi *N*-tlenkami, które chcielibyśmy pokrótce omówić, są *N*-tlenki pochodnych chinoliny (Rys. 8) [23, 24]. Związki te zawierają krótkie i silne wiązania wodorowe, które są zdefiniowane jako tzw. „wspomagane rezonansowo” (ang. „*resonance assisted*”). Dynamiczna natura wiązań wodorowych w tego typu *N*-tlenkach nie była szeroko badana, a więc obliczenia CPMD były w stanie ubogacić dotychczasową wiedzę o wybranych *N*-tlenkach zawierających pierścień chinolinowy. Do symulacji CPMD wybrano dwa związki, które zawierają wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe dwóch różnych typów (Rys. 8).



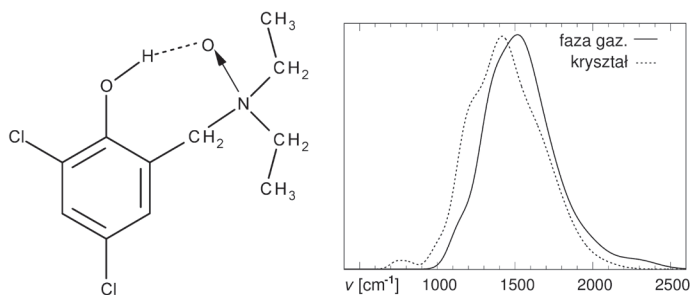
Rysunek 8. Struktury molekularne *N*-tlenku 8-hydroksychinoliny (1) i *N*-tlenek 2-karboksychinoliny (*N*-tlenku kwasu chinolinowego)

Figure 8. Molecular structures of 8-hydroxyquinoline *N*-oxide (1) and 2-carboxyquinoline *N*-oxide (quinolonic acid *N*-oxide)

Związek pierwszy wykazuje aktywność biologiczną i jest znanym prekursorem leków przeciwko malarii i nowotworom [25]. Drugi natomiast zawiera silne, krótkie wiązanie wodorowe o długości 2,435 Å. Ponadto Steiner i współpracownicy wykazali, że obecne w związku wiązanie wodorowe jest typu C-O-H...O-N [24].

Dynamika CPMD została wykonana w fazie gazowej i w fazie krystalicznej dla obu związków [26]. W czasie symulacji w fazie gazowej, proton jest zlokalizowany po stronie donora w obu związkach. Nie zaobserwowano zjawiska przeniesienia protonu, a jedynie w przypadku związku (1), proton częściej znajdował się bliżej środka w mostku wodorowym (tzw. „short contacts”). W obu związkach proton wykazywał silną mobilność. Wiązania wodorowe w obu związkach są sklasyfikowane jako krótkie i silne, z odległością pomiędzy atomami O...O wynoszącą odpowiednio 2,477 Å w (1) i 2,435 Å w (2). Można więc, na podstawie samej tylko analizy parametrów metrycznych, oczekiwać spontanicznego przeniesienia protonu. Dalsza analiza, chociażby w oparciu o teorię Lewisa, wskazuje, że trzeba odpowiednio zmodyfikować otoczenie akceptora (wprowadzenie dodatkowych efektów indukcyjnych), aby reakcja spontanicznego przeniesienia protonu miała miejsce. Przyjrzyjmy się teraz własnościom mostków wodorowych w fazie krystalicznej. Związek (2) wykazywał większą mobilność protonu w mostku wodorowym, co skutkowało częstą obecnością protonu w środku mostka wodorowego (tzw. „short contacts”). Natomiast w związku (1) obserwowaliśmy mniejszą elastyczność protonu, co w zasadzie jest w zgodzie z obserwowaną „sztywnością” wiązania wodorowego.

Na zakończenie naszych rozważań przyjrzyjmy się jeszcze bardzo ciekawemu związkowi, 2-(*N*-dietyloamino-*N*-oksymetylo)-4,6-dichlorofenolowi, którego struktura molekularna jest pokazana na Rysunku 9. Jest to silnie anharmoniczna zasada Mannicha. Ciekawostką jest, że związek ten posiada dwie nierównocenne molekuly w asymetrycznej części komórki krystalicznej, różniące się między sobą długością mostków wodorowych. Odległości O...O wynoszą odpowiednio 2,400 Å i 2,423 Å [27]. Eksperymentalne badania spektroskopowe wykazały [28], że związek ten posiada silne wiązanie wodorowe. Silna delokalizacja wodoru w mostku wodorowym zachęciła nas do podjęcia badań metodą CPMD.



Rysunek 9. Struktura molekularna 2-(*N*-dietyloamino-*N*-oksymetylo)-4,6-dichlorofenolu (lewy panel) oraz obwiednia pasma drgania rozciągającego O-H mostka wodorowego według metody *snapshot-envelope* w fazie gazowej i w kryształach (prawy panel)

Figure 9. Molecular structure of the 2-(*N*-diethylamino-*N*-oxymethyl)-4,6-dichlorophenol (left panel) and simulated hydrogen bridge O-H stretching envelope in the gas phase and in crystalline phase (right panel)

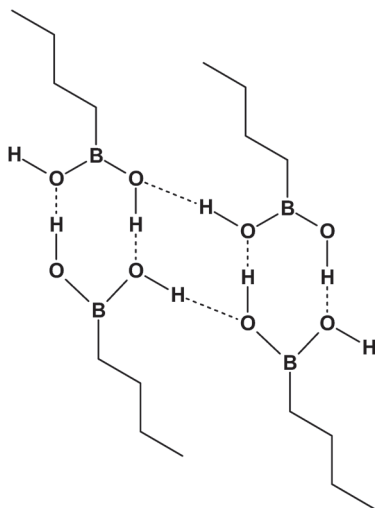


Symulacje CPMD zostały wykonane w fazie gazowej, a także w fazie krystalicznej. Średnia odległość między atomami O...O, otrzymana jako rezultat symulacji CPMD, w fazie gazowej wynosi 2,510 Å [29], a więc jest znacznie dłuższa, niż wartość otrzymana w badaniach neutronograficznych [27]. Średnie odległości obliczone O-H i H...O wynoszą odpowiednio 1,095 Å i 1,431 Å. Proton jest zlokalizowany po stronie donora, ale zaobserwowano w czasie trwania dynamiki, że proton często znajdował się w środku mostka wodorowego, a także na krótki czas przenosił się na stronę akceptora. Na widmie mocy obserwujemy szerokie pasmo drgań O-H...O w zakresie 1500–2700 cm<sup>-1</sup>. Szeroka absorpcja wskazuje, że drganie O-H jest silnie sprzężone z pozostałymi drganiami wewnątrzmolekularnymi, w tym z drganiami atomów ciężkich mostka wodorowego. W wyniku symulacji w fazie krystalicznej, otrzymano średnie odległości międzyatomowe O...O o wartościach 2,446 Å i 2,451 Å [29]. Otrzymane odległości są większe w porównaniu z danymi neutronograficznymi [27]. Różnice pomiędzy danymi obliczonymi a eksperymentalnymi są jednak na tyle małe, że można je przypisać ustawieniom zastosowanym w czasie symulacji CPMD (zastosowanie pseudopotencjałów, czy też funkcjonału). W czasie dynamiki w fazie krystalicznej obserwowano silną delokalizację protonu, a także jego stałe poruszanie się pomiędzy donorem a akceptorem. Z badań eksperymentalnych wynika, że atom wodoru w krótszym mostku wodorowym jest zlokalizowany po stronie donora, natomiast model dynamiczny wskazał, że jest on przesunięty w stronę akceptora. Obliczone widmo mocy, również w przypadku obliczeń w fazie krystalicznej, dało szeroką absorpcję drgań pasma O-H w zakresie 500–1800 cm<sup>-1</sup>, co jest w zgodzie z danymi eksperymentalnymi, gdzie otrzymano taki sam zakres drgań [28]. Widmo mocy wskazało, że w paśmie szerokiej absorpcji można wyróżnić dwa podzakresy drgań z maksymalnymi intensywnościami przy 1050 i 1700 cm<sup>-1</sup>. Dane eksperymentalne sugerują, że proton w mostku wodorowym jest zlokalizowany pośrodku mostka wodorowego (tzw. „*proton shared hydrogen bond*”). Otrzymane dane CPMD, zwłaszcza w fazie krystalicznej, sugerują również silną delokalizację protonu, w zasadzie nie jesteśmy w stanie dokładnie określić pozycji protonu. W celu polepszenia teoretycznego opisu spektroskopowego drgania O-H zastosowano metodę „*snapshot-envelope*”. Z otrzymanych danych widzimy, że zakres absorpcji O-H w fazie gazowej wynosi 1000–2500 cm<sup>-1</sup>, natomiast w fazie krystalicznej 650–2250 cm<sup>-1</sup>. Można więc powiedzieć, że otrzymane różnice wynikają z obecności otoczenia, a zwłaszcza z upakowania molekuł w kryształach. Przesunięcia maksimów w otrzymanych obwidniach pasma drgań O-H z 1520 cm<sup>-1</sup> w fazie gazowej do 1400 cm<sup>-1</sup> w ciele stałym, wskazują na silniejszą delokalizację protonu w kryształach. Jak pokazano powyżej, na Rysunku 9, w przypadku omawianego *N*-tlenku zasady Mannicha inkluzja efektów kwantowych miała duże znaczenie dla ilościowego opisu właściwości spektroskopowych cząsteczki w zakresie drgań grupy O-H.



### 3. ZASTOSOWANIE METODY CPMD DO UKŁADÓW Z MIĘDZYCZĄSTECZKOWYM WIĄZANIEM WODOROWYM

Metoda CPMD została również wykorzystana w badaniach nad międzycząsteczkowymi wiązaniami wodorowymi. Omówione zostaną rezultaty badań otrzymanych dla kwasu *n*-butyloboronowego przedstawionego na Rysunku 10. Kwas ten występuje w formie centrosymetrycznych dimerów, połączonych międzycząsteczkowymi wiązaniami wodorowymi, co zostało potwierdzone badaniami eksperymentalnymi [30]. Obok międzycząsteczkowych wiązań wodorowych dających strukturę dimeru, kwasy boronowe mają zdolność tworzenia dodatkowych międzycząsteczkowych wiązań wodorowych typu O-H...O, wiążących ze sobą sąsiadujące dimery [30]. Obecność międzycząsteczkowych wiązań wodorowych determinuje układ molekuł w komórce krystalicznej, ponadto siła wszystkich utworzonych wiązań wodorowych jest jakościowo bardzo podobna. Eksperymentalna odległość pomiędzy atomami O...O w podstawowym motywie dimeru wynosi 2,583 Å, a w pozostałych wiązańach odpowiednio 2,723 Å i 2,736 Å. Wykonane widma eksperymentalne IR potwierdzają istnienie międzycząsteczkowych wiązań wodorowych, nie tylko tworzących strukturę dimeru, ale także łączących dimery ze sobą.



Rysunek 10. Struktura molekularna i wiązania wodorowe w kryształach omawianego kwasu *n*-butyloboronowego  
Figure 10. Molecular structure and hydrogen bonds in the crystal of the discussed *n*-butylboronic acid

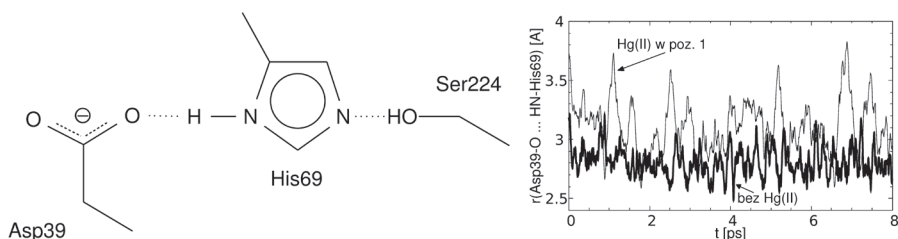
Symulacje metodą CPMD zostały wykonane w fazie krystalicznej w dwóch temperaturach: 100 K i 293 K. W analizie danych pod uwagę zostały wzięte tylko mostki wodorowe tworzące strukturę dimeru. Pozostałe międzycząsteczkowe wiązania wodorowe nie były brane pod uwagę. Badania krystalograficzne wykonane zostały w 100 K, natomiast obliczenia wykonane w 293 K pokazały dynamiczny charakter obu mostków wodorowych. W temperaturze 100 K (zgodnie z oczeki-

waniami) amplitudy oscylacji długości wiązań są mniejsze, w porównaniu z symulacjami w 293 K. W temperaturze pokojowej długości wiązań O-H, O...O i H...O fluktuują w następujących przedziałach: 0,9–1,1 Å, 2,5–3,2 Å i 1,5–2,3 Å. A zatem atom wodoru w mostkach wodorowych jest zlokalizowany po stronie donora. Analiza spektralna, zarówno eksperymentalna, jak również teoretyczna, wykazała, że badane wiązania wodorowe zaliczane są do wiązań o średniej sile. Obliczone widmo mocy dla drgań wodoru w mostku wodorowym wskazało dwa obszary absorpcji od 500–1400  $\text{cm}^{-1}$  i 3100–3500  $\text{cm}^{-1}$ . Ten drugi obszar odpowiada drganiom rozciągającym grupy O-H. Zasadnicza różnica pomiędzy obliczonymi widmami w dwóch różnych temperaturach sprowadza się do szerokości pasm absorpcji – w temperaturze 100 K otrzymujemy pasma węższe. Udział w widmie mocy dla protonu w mostku wodorowym tworzącym motyw dimeru oscyluje wokół liczb falowych 3060–3250  $\text{cm}^{-1}$ , natomiast dla protonu odpowiedzialnego za utworzenie międzycząsteczkowego wiązania pomiędzy dimerami oscyluje pomiędzy 3220–3370  $\text{cm}^{-1}$ . Obliczone dane spektralne porównano z danymi eksperymentalnymi. Uzyskano dobrą zgodność pomiędzy oboma źródłami danych, co świadczy o poprawnym odtworzeniu parametrów metrycznych i spektroskopowych przez metodę CPMD. Następnie wykonano obliczenia metodą „*snapshot-envelope*”, w celu sprawdzenia jak uwzględnienie efektów kwantowych wpłynie na położenie pasm absorpcji grupy O-H. W przypadku analizowanego kwasu *n*-butyloboronowego, inkluzja efektów kwantowych nie wpłynęła w sposób znaczący na opis drgań grupy O-H [30].

#### 4. ZASTOSOWANIE KLASYCZNEJ DYNAMIKI MOLEKULARNEJ W BADANIACH NAD PROTEINAZĄ K I STREPTAWIDYNĄ

Strukturotwórcza rola wiązań wodorowych szczególnie wyraźnie ujawnia się w układach biologicznych, w tym w enzymach. Nie tylko struktura drugo- i trzeciorzędowa białek, ale też mechanizm działania aktywnego centrum enzymu są zwykle nie do wyjaśnienia bez analizy wiązań wodorowych. Dobrym przykładem jest proteinaza K grzyba *Tritirachium album*, używana np. przy badaniach genetycznych do szybkiej deaktywacji nukleaz, co zapobiega degradacji DNA i RNA. Pomiar rentgenograficzny wysokiej rozdzielczości [31] pokazał, że dla działania enzymu kluczowe jest ułożenie triady katalitycznej – reszt Asp39, His69 i Ser224. Kontakt Asp39-His69 ma charakter krótkiego wiązania wodorowego o niskiej barierze, zwiększającego zasadowość reszty histydyliny i ułatwiającego deprotonację Ser224 (Rys. 11). Jony Hg(II) deaktywują enzym wiążąc się z resztą Cys73 położoną w pobliżu triady katalitycznej, pozostawiając jedynie resztkową aktywność enzymu [32]. Nasze zainteresowanie wzbudził mechanizm tej inhibicji, czyli wpływ jonu Hg(II) na dynamikę wiązań wodorowych w triadzie katalitycznej. Przeprowadzono zatem [33] obliczenia metodami klasycznej dynamiki molekularnej z polem siłowym Amber ff99SB (symulacja całego białka) oraz dynamiki molekularnej Born-Oppenheimer (BOMD) z polem siłowym DFT (funkcjonał PBE, symulacja modelu cen-

trum aktywnego). Obliczenia klasyczną MD pokazały, że obecność jonów Hg(II) nie narusza stabilności strukturalnej badanego białka w skali czasowej symulacji (30 ns). Mechanizm inhibicji nie polega zatem na denaturacji białka jako całości. Natomiast naruszona zostaje delikatna struktura triady katalitycznej, co jest widoczne w długości mostka Asp39–Oδ...Nδ–His69. Dla białka natywnego wynosi ona w symulacji MD  $2,879 \pm 0,167 \text{ \AA}$ , dla podstawienia Hg(II) w jednej z dwóch pozycji ustalonych krystalograficznie [32] aż  $7,411 \pm 0,466 \text{ \AA}$ , a gdy jon Hg(II) zajmuje drugą pozycję –  $2,942 \pm 0,219 \text{ \AA}$  (w nawiasach podano odchylenia standardowe badanego parametru w toku symulacji). Zatem obsadzenie jednej z pozycji przez Hg(II) całkowicie zrywa kontakt Asp39–His69, a drugiej – osłabia go nieznacznie. Te wyniki zweryfikowano także w krótszej skali czasowej (rzędu 10 ps) używając dynamiki BOMD z polem siłowym DFT, dokładniej oddającym właściwości wiązania wodorowego. Nawet w tej krótkiej skali czasowej, łatwo zauważyć (Rys. 11), że kontakt Asp39–His69 jest osłabiony przez obecność blisko położonego jonu Hg(II). Doświadczalnie ustalone położenia Hg(II) są równo obsadzone, a obliczenia pokazują, że jedno z nich całkowicie niszczy strukturę triady, podczas gdy drugie tylko ją modyfikuje, co może być wytłumaczeniem utrzymania resztkowej aktywności katalitycznej enzymu (< 15%) przy jego inhibicji jonami rtęci.



Rysunek 11. Schemat triady katalitycznej proteinazy K (lewy panel) i długość mostka wodorowego Asp39–O...N–His69 odtworzona symulacją BOMD z polem siłowym DFT (prawy panel) [33]

Figure 11. Scheme of catalytic triad of proteinase K (left panel) and Asp39–O...N–His69 hydrogen bridge length from BOMD simulation with DFT force field (right panel) [33]

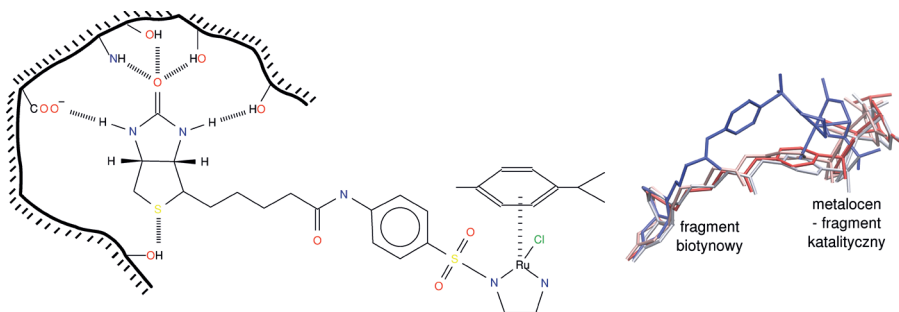
Podobne badania przeprowadzono dla kompleksów streptawidyny z biotyną i biotynylowanymi katalizatorami metaloorganicznymi [34]. Streptawidyna, białko z grupy awidyn, silnie wiąże biotynę, dzięki wiązaniom wodorowym między centrum wiążącym a fragmentem mocznikowym biotyny; dużą rolę odgrywa też hydrofobowa klatka tworzona przez aromatyczne reszty aminokwasowe. Silne wiązanie biotyny można wykorzystać np. biotynylując katalizator metaloorganiczny, przez co taki katalizator, unieruchomiony we wnętrzu białka, może zmienić swą aktywność i enancjoselektywność [35]. Klasa sztucznych metaloenzymów opartych na tym pomysśle ciągle rośnie [36], lecz racjonalne powiązanie zmian strukturalnych katalizatora lub białka (mutacje) ze zmianami parametrów katalitycznych okazało się trudne. Podjęte przez nas obliczenia klasyczną dynamiką molekularną (a także dynamiką Borna-Oppenheimera z polem siłowym DFT) pozwoliły częściowo zro-

zumieć ten stan rzeczy [34]. Klasyczna MD z polem siłowym Amber ff99SB pokazuje, że fragment biotyny pełniący rolę „kotwicy” jest dla liganda katalitycznego umiejscowiony w białku równie mocno, co sama biotyna (Tab. 2), zmiany odległości dla fragmentu mocznikowego biotyny są mniejsze od 0,07 Å, a nieco większe dla słabego wiązania O...S. Nie zachodzi zatem destabilizacja sieci wiązań wodorowych przy dołączeniu katalizatora. Większe różnice między wartościami doświadczalnymi a symulacją widoczne są dla przebiegu DFT BOMD, z uwagi na użycie jedynie małego modelu centrum wiążącego. Jednak analiza trajektorii MD udowadnia, że fragment katalityczny ma zwiększoną swobodę konformacyjną i nie zajmuje ustalonego położenia, co zaznaczono na Rysunku 12. Powoduje to, że z punktu widzenia centrum katalitycznego (atomu rutenu) jego otoczenie białkowe ciągle się zmienia, co prowadzi do niejasnego wpływu tego otoczenia na aktywność katalizatora.

Tabela 2. Średnie odległości i odchylenia standardowe (w Å) wybranych kontaktów biotyny ze streptawidyną (SAV) w symulacjach MD biotyny (btn) i biotynylowanego katalizatora (kat) [34], porównane z wartościami doświadczalnymi

Table 2. Average distances and standard deviations (in Å) of selected biotin-streptavidin (SAV) contacts from MD simulations of biotin (btn) and biotinylated catalyst (kat) [34], with experimental data for reference

Kontakt	MD, SAV-btn	MD, SAV-kat	DFT BOMD, SAV-btn	Eksp.: PDB 2IZF
Tyr43-OH...O	2,71(0,13)	2,74(0,14)	2,79(0,17)	2,77
Ser27-OH...O	2,70(0,14)	2,76(0,24)	2,98(0,13)	2,70
N1-H...O-Ser45	3,07(0,20)	3,14(0,22)	3,29(0,25)	3,06
N2-H...O-Asp128	2,94(0,16)	2,93(0,20)	2,81(0,12)	2,88
Thr90-OH...S	3,21(0,17)	3,41(0,29)	3,68(0,19)	3,32



Rysunek 12. Schemat wiązania przykładowego biotynylowanego katalizatora przez streptawidynę (lewy panel) oraz nałożenie kilku pozycji katalizatora w trakcie symulacji klasyczną MD [34] (prawy panel, pominięto cząsteczkę białka)

Figure 12. Binding of a typical biotinylated catalyst by streptavidin (left panel) and superposition of several positions of the catalyst during classical MD simulation [34] (right panel, the protein omitted for clarity)

## 5. ROZWÓJ METODY CPMD I JEJ DALSZY PERSPEKTYWY

Przedstawione powyżej zastosowania dynamiki Cara-Parrinello pokazują jej zdolność do pracy z układami, w których zachodzi reorganizacja sieci wiązań (np. przeniesienie protonu i związana z tym zmiana dominujących struktur Lewisa) oraz niezależność od wcześniejszej parametryzacji pola siłowego. CPMD pracuje też dobrze dla układów periodycznych. Jednak podstawowymi problemami CPMD są koszty obliczeniowe pojedynczego kroku, związane z koniecznością kwantowego opisu struktury elektronowej, oraz mała wartość dopuszczalnego kroku czasowego, wynikająca z wymogu separacji dynamicznych podukładów – „orbitali” i „jonów”. Obecnie próbuje się rozwiązać oba te problemy jednocześnie, proponując schemat łączący podejścia CPMD i BOMD. W dynamice BOMD konieczne jest bardzo dokładne, a zatem kosztowne obliczeniowo, rozwiązywanie równań Kohna-Shama, by zminimalizować błędy wyznaczenia gradientów (sił działających na atomy) i zapewnić zachowanie energii w trakcie symulacji. Kühne i współpracownicy [37] zaproponowali nowy schemat, w którym krok przewidywania postaci orbitali „w duchu CPMD” jest uzupełniony krokiem korekcyjnym, analogicznym do jednego cyklu pola samouzgodnionego. Takie podejście umożliwia użycie kroku czasowego rzędu 1 fs, czyli analogicznego do klasycznej dynamiki molekularnej. Dzięki temu, możliwe było przeprowadzenie symulacji ciekłej wody z użyciem 128 cząsteczek  $H_2O$ , a długość trajektorii (250 ps) umożliwiła dokładne wyznaczenie takich parametrów, jak lepkość dynamiczna, współczynnik samodyfuzji, widmo mocy ruchów atomowych czy radialne funkcje rozkładu [38].

Oprócz opisanego powyżej udoskonalenia obliczeń struktury elektronowej, rozwijane są też modyfikacje dynamiki położeń jądrowych. Na przykład, zastosowanie odpowiednio dobranego uogólnianego termostatu Langevina pozwala na efektywne uwzględnienie kwantowych efektów jądrowych, poprzez selektywne termostatowanie różnych drgań normalnych, co odtwarza rolę energii drgań zerowych [39]. W ten sposób można przyspieszyć zbieżność kosztownych obliczeniowo metod PIMD opartych na całkowaniu po trajektoriach. Grupa prof. Parrinello wykorzystała ten model do symulowania małych hydratów chlorowodoru [40] obserwując, zależnie od stopnia hydratacji, występowanie kationów Eigena, Zundela i stadiów pośrednich. Kolejną metodą przyspieszającą przeszukiwanie przestrzeni fazowych jest metadynamika, zaproponowana oryginalnie przez Laio i Parrinello w kontekście klasycznej MD [41], ale chętnie używana też w przypadku CPMD. Jej ideą jest dodawanie do energii potencjalnej pewnego członu zależnego od czasu i historii miejsc „odwiedzanych” uprzednio na PES. Dzięki temu, możliwa jest szybsza ucieczka z lokalnych minimów, a zatem szybsza zbieżność wyznaczonej powierzchni energii swobodnej. Metadynamika, jak i zresztą wszystkie opisane w tym rozdziale metody, jest daleka od statusu „czarnej skrzynki”, czyli schematu łatwego do użycia. Nie ma bowiem ogólnych reguł dotyczących wysokości lub liczby i częstości dodawania członów energetycznych „zasypujących dziury w PES” (zazwyczaj są to krzywe typu Gaussa).

W podsumowaniu tego rozdziału i całej pracy, chcemy podkreślić, że schemat Cara-Parrinello wykazał swą użyteczność w badaniach nad układami z wiązaniem wodorowym. Szczególnie cenna jest zdolność CPMD do opisu struktury elektronowej (na poziomie DFT), co uwalnia od konieczności wcześniejszej parametryzacji pola siłowego i umożliwia badanie procesów tworzenia i zrywania wiązań, w tym przeniesienia protonu. Nowe ścieżki rozwoju CPMD dają nadzieję na wydłużenie dostępnej skali czasowej tak, by możliwe było rutynowe badanie procesów w roztworach czy centrach aktywnych biocząsteczek.

## PODZIĘKOWANIA

Autorzy pracy pragną podziękować Narodowemu Centrum Nauki (NCN) za wsparcie finansowe badań w ramach grantu o numerze UMO-2015/17/B/ST4/03568. Autorzy pracy pragną również podziękować centrom obliczeniowym: Wrocławskiemu Centrum Sieciowo-Superkomputerowemu (WCSS), Poznańskiemu Centrum Superkomputerowo-Sieciowemu (PCSS), Akademickiemu Centrum Komputerowemu CYFRONET w Krakowie, Centrum Informatycznemu Trójmiejskiej Akademickiej Sieci Komputerowej (TASK) oraz Interdyscyplinarnemu Centrum Modelowania Matematycznego i Komputerowego (ICM) w Warszawie za godziny CPU, a także archiwizację danych i wszelką pomoc w trakcie wykonywanych obliczeń.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] R. Car, M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.*, 1985, **55**, 2471.
- [2] W.D. Cornell, P. Cieplak, C.I. Bayly, I.R. Gould, K.R. Merz Jr., D.M. Ferguson, D.C. Spellmeyer, T. Fox, J.W. Caldwell, P.A. Kollman, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 5179.
- [3] A.D. MacKerell, D. Bashford, M. Bellott, R.L. Dunbrack, J.D. Evanseck, M.J. Field, S. Fischer, J. Gao, H. Guo, S. Ha, D. Joseph-McCarthy, L. Kuchnir, K. Kuczera, F.T.K. Lau, C. Mattos, S. Michnick, T. Ngo, D.T. Nguyen, B. Prodhom, W.E. Reiher, B. Roux, M. Schlenkrich, J.C. Smith, R. Stote, J. Straub, M. Watanabe, J. Wiórkiewicz-Kuczera, D. Yin, M. Karplus, *J. Phys. Chem. B.*, 1998, **102**, 3586.
- [4] J.A. Maier, C. Martinez, K. Kasavajhala, L. Wickstrom, K.E. Hauser, C. Simmerling, *J. Chem. Theory Comput.*, 2015, **11**, 3696.
- [5] W.L. Jorgensen, D.S. Maxwell, J. Tirado-Rives, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 11225.
- [6] W.L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J.D. Madura, R.W. Impey, M.L. Klein, *J. Chem. Phys.*, 1983, **79**, 926.
- [7] Y. Sugitaa, Y. Okamoto, *Chem. Phys. Lett.*, 1999, **314**, 141.
- [8] A. Jeziarska-Mazzarello, J.J. Panek, R. Vuilleumier, A. Koll, G. Ciccotti, *J. Chem. Phys.*, 2011, **134**, 1.
- [9] A. Filarowski, A. Koll, T. Głowiak, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 2002, **2**, 835.
- [10] A. Filarowski, A. Koll, T. Głowiak, E. Majewski, T. Dziembowska, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 1998, **102**, 393.

- [11] A. Filarowski, *J. Phys. Org. Chem.*, 2005, **18**, 686.
- [12] A. Koll, P. Wolschann, *Monatsh. Chem.*, 1999, **130**, 983.
- [13] A. Jezierska, J.J. Panek, *J. Chem. Theory Comput.*, 2008, **4**, 375.
- [14] A. Jezierska, J.J. Panek, A. Koll, J. Mavri, *J. Chem. Phys.*, 2007, **126**, 205101.
- [15] A. Jezierska, J.J. Panek, U. Borštnik, J. Mavri, D. Janežič, *J. Phys. Chem. B*, 2007, **111**, 5243.
- [16] A. Filarowski, A. Koll, A. Karpfen, P. Wolschann, *Chem. Phys.*, 2004, **297**, 323.
- [17] A. Koll, S.M. Melikova, A. Karpfen, P. Wolschann, *J. Mol. Struct.*, 2001, **559**, 127.
- [18] A. Filarowski, A. Szemik-Hojniak, T. Głowiak, A. Koll, *J. Mol. Struct.* 1997, **404**, 67.
- [19] G.S. Denisov, J. Mavri, L. Sobczyk, [w:] *Hydrogen Bonding – New Insights (Challenges and Advances in Computational Chemistry and Physics)*, Vol. 3, S.J. Grabowski (Red.), Springer, Dordrecht 2006, s. 377.
- [20] T. Steiner, A.M.M. Schreurs, M. Lutz, J. Kroon, *Acta Cryst.*, 2000, **C56**, 577.
- [21] J. Stare, J. Panek, J. Eckert, J. Grdadolnik, J. Mavri, D. Hadži, *J. Phys. Chem. A*, 2008, **112**, 1576.
- [22] J. Panek, J. Stare, D. Hadži, *J. Phys. Chem. A.*, 2004, **108**, 7417.
- [23] R. Desiderato, J.C. Terry, G.R. Freeman, H.A. Levy, *Acta Cryst.*, 1971, **27**, 2443.
- [24] T. Steiner, A.M.M. Schreurs, M. Lutz, J. Kroon, *Acta Cryst. C*, 2000, **56**, 577.
- [25] S. Sakai, K. Minoda, G. Saito, S. Akagi, A. Ueno, F. Fukuoka, *Gann*, 1955, **46**, 605.
- [26] J.J. Panek, K. Błaziak, A. Jezierska, *Struct. Chem.*, 2016, **27**, 65.
- [27] H. Ptasiwicz-Bak, R. Tellgren, I. Olovsson, A. Koll, *Z. Kristallogr.*, 1997, **212**, 126.
- [28] M. Rospenk, A. Koll, T. Głowiak, L. Sobczyk, *J. Mol. Struct.*, 1989, **195**, 33.
- [29] A. Jezierska, J.J. Panek, A. Koll, *Chem. Phys. Chem.*, 2008, **9**, 839.
- [30] M.K. Cyrański, A. Jezierska, P. Klimentowska, J.J. Panek, G. Żukowska, A. Sporzyński, *J. Chem. Phys.*, 2008, **128**, 124512.
- [31] C. Betzel, S. Gourinath, P. Kumar, P. Kaur, M. Perbandt, S. Eschenburg, T.P. Singh, *Biochem.*, 2001, **40**, 3080.
- [32] A.K. Saxena, T.P. Singh, K. Peters, S. Fittkau, M. Visanji, K.S. Wilson, C. Betzel, *Proteins Struct. Funct. Genet.*, 1996, **25**, 195.
- [33] J.J. Panek, R. Mazzarello, M. Novič, A. Jezierska-Mazzarello, *Molec. Divers.*, 2011, **15**, 215.
- [34] J.J. Panek, T.R. Ward, A. Jezierska-Mazzarello, M. Novič, *J. Comput. Aided Mol. Des.*, 2010, **24**, 719.
- [35] C. Letondor, N. Humbert, T.R. Ward, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, **102**, 4683.
- [36] T. Heinisch, T.R. Ward, *Acc. Chem. Res.*, 2016, **49**, 1711.
- [37] T.D. Kühne, M. Krack, F.R. Mohamed, M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.*, 2007, **98**, 066401.
- [38] T.D. Kühne, M. Krack, M. Parrinello, *J. Chem. Theory Comput.*, 2009, **5**, 235.
- [39] M. Ceriotti, G. Bussi, M. Parrinello, *J. Chem. Theory Comput.*, 2010, **6**, 1170.
- [40] A.A. Hassanali, J. Cuny, M. Ceriotti, C.J. Pickard, M. Parrinello, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, **134**, 8557.
- [41] A. Laio, M. Parrinello, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, **99**, 12562.

