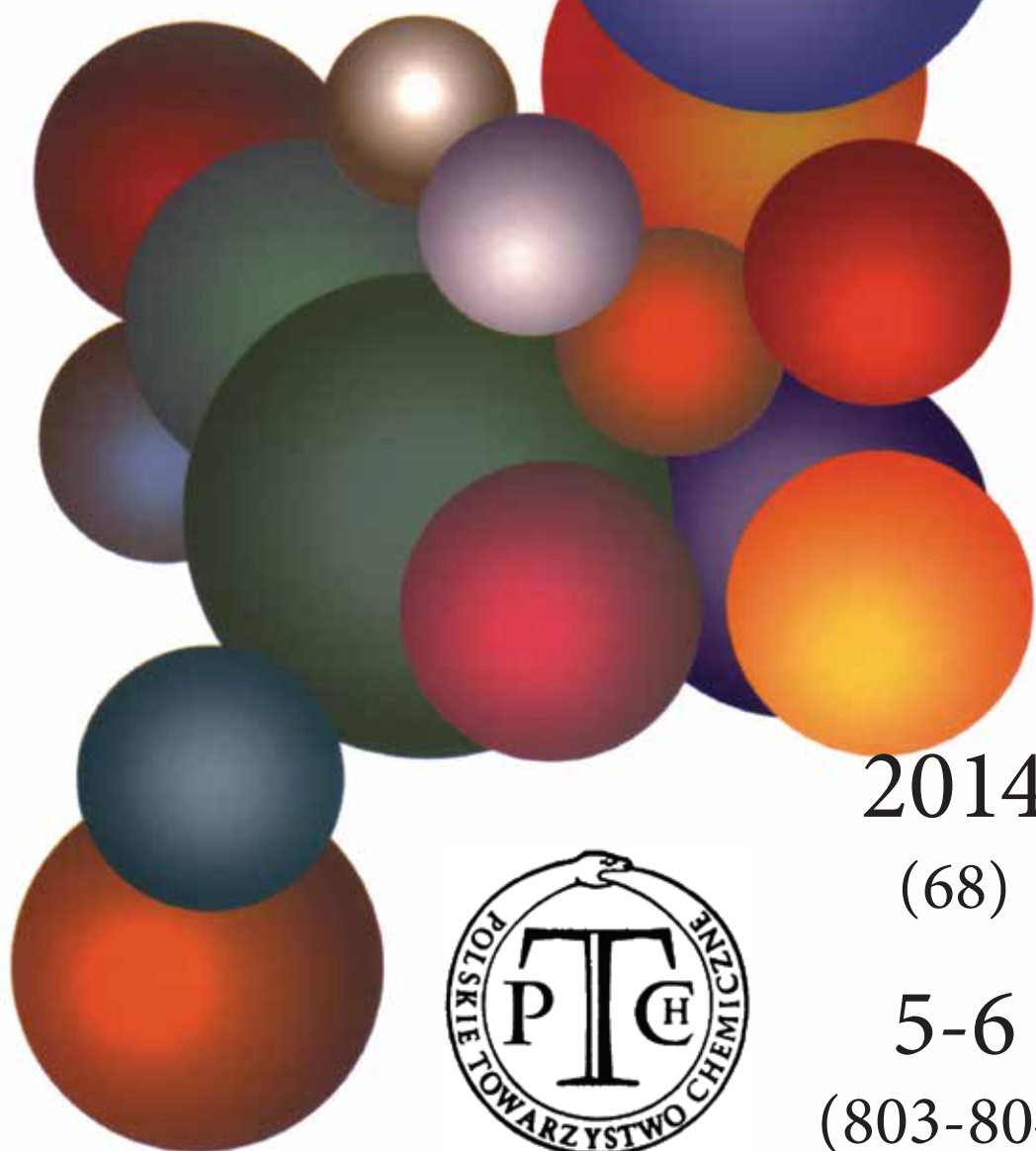


WIADOMOŚCI *chemiczne*



2014

(68)

5-6

(803-804)



CZASOPISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMICZNEGO

Publikacja dotowana przez MNiSW

RADA REDAKCYJNA

RYSZARD ADAMIAK, IRENA BARANOWSKA, ANDRZEJ BARAŃSKI,
JERZY BŁAŻEJOWSKI, ANATOL KOJŁO, TADEUSZ M. KRYGOWSKI, ANDRZEJ KUTNER,
PIOTR PANETH (PRZEWODNICZĄCY), K. MICHAŁ PIETRUSIEWICZ, DARIUSZ POGOCKI,
MAREK POTRZEBOWSKI, GRZEGORZ SCHROEDER, ANDRZEJ SOKALSKI,
ARTUR P. TERZYK

KOMITET REDAKCYJNY

JERZY P. HAWRANEK, ADAM JEZERSKI, LUDWIK KOMOROWSKI, MIROSŁAW SOROKA,
MARIA SUSZYŃSKA, SŁAWOMIR SZAFERT, ANDRZEJ TROCHIMCZUK

REDAKTOR NACZELNY

ZDZISŁAW LATAJKA

REDAKTORZY GOŚCINNI

MARIA GDANIEC

MACIEJ KUBICKI

SEKRETARZ REDAKCJI

BEATA ŚWIĄTEK-TRAN

BARBARA LATKO (FINANSE)

KAZIMIERA LUKJAN (KOLPORTAŻ)

Korespondencję należy kierować pod adresem:

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław

tel.: 71 375 73 89, tel./fax: 71 322 14 06

e-mail: wchem@wchuwr.pl

INTERNET

<http://www.wchuwr.pl/wiadchem.htm> (English abstracts)

<http://www.dbc.wroc.pl> (pełne teksty publikacji od roku 2006)

„Wiadomości Chemiczne” są wydawane w ramach serii *Acta Universitatis Wratislaviensis*

© Copyright by Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, Wrocław 2014

pISSN 0043-5104

eISSN 2300-0295

Maszynopis niniejszego numeru przekazano Wydawcy: maj 2014

Przygotowanie do druku i druk:

Firma Wydawnicza K2, al. Stanów Zjednoczonych 51, 04-026 Warszawa

tel. 22 517 78 12, fax 22 517 78 11, e-mail: k2@druk-k2.pl

Szanowni Państwo,

nie często zdarza się, by osiągnięcia z wybranych dziedzin chemii były doceniane na forum światowym. Dlatego też z największą satysfakcją przyjęliśmy wiadomość, iż ceniąc ogromny wkład krystalografii w rozwój wielu dziedzin nauki oraz przemysłu, Zgromadzenie Ogólne ONZ ogłosiło rok 2014 Międzynarodowym Rokiem Krystalografii.

Przyłączając się do tej ogólnoświatowej inicjatywy z przyjemnością oddajemy w Państwa ręce, specjalne wydanie *Wiadomości Chemicznych*. Mamy nadzieję, że prezentowany zeszyt przyczyni się do upowszechnienia najnowszych trendów i osiągnięć w dziedzinie krystalografii jak również uwypukli dorobek polskich naukowców, mających bardzo duży wkład w rozwój światowej krystalografii.

W imieniu własnym oraz Komitetu Redakcyjnego, dziękuję Autorom oraz redaktorom gościnnym prof. dr hab. Marii Gdaniec i dr hab. Maciejowi Kubickiemu, za trud redakcji tego wyjątkowego zeszytu.

prof. dr hab. Zdzisław Latajka
Redaktor Naczelny

WPROWADZENIE EDITORIAL

Zgromadzenie Ogólne ONZ ogłosiło rok 2014 Międzynarodowym Rokiem Krystalografii doceniając w ten sposób rolę krystalografii we współczesnym świecie. Obchody Roku Krystalografii przypadają w stulecie przełomowych odkryć, które zapoczątkowały burzliwy rozwój nauk przyrodniczych i doprowadziły do narodzin współczesnej krystalografii. W 1912 r. Max von Laue z współpracownikami odkrył zjawisko dyfrakcji promieni rentgenowskich na kryształach, a już w 1913 r. ojciec i syn Braggowie wykazali, że zjawisko to można wykorzystać do określenia struktury kryształów. Odkrycia, które pozwoliły „zajrzeć” do wnętrza kryształu i „zobaczyć” atomy zostały uhonorowane Nagrodami Nobla w latach 1914 i 1915.

Jednym z celów Roku Krystalografii jest upowszechnienie osiągnięć krystalografii i pokazanie jej interdyscyplinarnego charakteru, gdyż współczesna krystalografia bez wątpienia miała ogromny wpływ na rozwój tych wszystkich dziedzin nauki, u podstaw których leży poznanie i zrozumienie struktury materii. Jednakże na szczególne podkreślenie zasługują bliskie relacje krystalografii z chemią.

Trzymając Państwo w ręku specjalny – przygotowany z okazji Międzynarodowego Roku Krystalografii – numer czasopisma *Wiadomości Chemiczne*, w którym przedstawiony został szeroki wachlarz zagadnień współczesnej krystalografii i krystalochemii. Na nasze zaproszenie autorzy z różnych środowisk krystalograficznych w Polsce napisali w języku polskim artykuły przeglądowe, mając na uwadze także ich potencjalną funkcję dydaktyczną. Chcielibyśmy wszystkim autorom serdecznie podziękować, gdyż bez pozytywnego oddźwięku z ich strony ten zeszyt *Wiadomości Chemicznych* nigdy by nie powstał.

W tym numerze znajdują Państwo artykuł poświęcony dziejom krystalografii w Polsce wraz z prezentacją ośrodków krystalograficznych w naszym kraju napisany przez Nestorkę polskiej krystalografii, prof. dr hab. Zofię Kosturkiewicz. Artykuł prof. dr hab. Ilony Turowskiej-Tyrk i dr Julii Bąkowicz omawia zachowanie się cząsteczek w kryształach, w których zachodzą reakcje fotochemiczne. Kolejne trzy artykuły przygotowane przez dr hab. Macieja Kubickiego, dr hab. Paulinę Dominiak oraz dr hab. Marcina Palusiaka z współautorami dotyczą szczegółowych badań i analiz gęstości elektronowej w kryształach – od podstaw metody badań wysokorozdzielczych, przez analizę topologiczną wyników do zastosowań tej metody w badaniach makrocząsteczek. Prof. dr hab. Andrzej Katrusiak wraz ze swoim zespołem przedstawia tutaj badania dyfrakcyjne substancji krystalicznych w warunkach wysokich ciśnień oraz pokazuje ich liczne zastosowania. Z kolei prof. dr hab. Wiesław Łasocha i dr Katarzyna Luberd-Durnaś prezentują w swojej pracy rozwój i stan obecny dyfraktometrii proszkowej oraz jej zastosowania w chemicznych badaniach strukturalnych. Artykuł dr Agaty Białońskiej poświęcony jest roli rozpoznania cząsteczkowego w rozdziałach racemicznych metodą frakcyjnej krystalizacji soli distereomerycznych. Znaczenie badań strukturalnych w poznaniu patogenezы chorób związanych z ekspansją powtórzeń trinukleotydowych ilustruje

praca prof. dr hab. Wojciecha Rypniewskiego i dr Agnieszki Kiliszek. Zeszyt kończy artykuł dr Mirosława Gilskiego, który wprowadza nas w zagadnienia wysokorozdzielczej krystalografii makromolekuł.

Mamy nadzieję, że prezentowane artykuły docierając do bardzo szerokiego grona czytelników przyczynią się do wzrostu świadomości na temat znaczenia współczesnej krystalografii a w szczególności nieodłącznie związanej z nią metody, rentgenowskiej analizy strukturalnej.

Życzymy, w imieniu Komitetu Krystalografii PAN i Sekcji Krystalochemii PTChem, owocnej i przyjemnej lektury

dr hab. Maciej Kubicki
prof. dr hab. Maria Gdaniec

KRYSTALOGRAFIA W POLSCE
CRYSTALLOGRAPHY IN POLAND

Zofia Kosturkiewicz

Wydział Chemii UAM
ul. Umultowska 89b, 61-614 Poznań
e-mail: zkostur@amu.edu.pl

Abstract

Wprowadzenie

1. W I Rzeczypospolitej
2. Pod zaborami
3. W II Rzeczypospolitej
4. Lata powojenne 1945–2013
5. Ośrodki krystalograficzne
6. Krystalochemia
7. Krystalografia stosowana – polikryształy
8. Krystalografia fizyczna
9. Wzrost kryształów i ciekłe kryształy
10. Krystalografia białek
11. Polscy krystalografowie w Ameryce Północnej

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

Prof. zw. dr hab. Zofia Kosturkiewicz z domu Lipińska, urodziła się na Wołyniu. Okres drugiej wojny światowej spędziła w Kieleckiem, gdzie działała jako łączniczka Armii Krajowej, tam też w tajnym nauczaniu ukończyła trzy klasy gimnazjum. W roku 1947 zdała maturę w Liceum im. Generałowej Zamoyskiej w Poznaniu. W latach 1947–51 studiowała chemię na Uniwersytecie Poznańskim. Od roku 1951 pracowała jako asystent w Katedrze Chemii Organicznej Uniwersytetu Poznańskiego. Od roku 1961 pełniła funkcję kierownika Pracowni Krystalografii na Wydziale Mat.-Fiz.-Chem. Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu. W roku 1978 uzyskała tytuł profesora nadzwyczajnego, a w 1987 profesora zwyczajnego. Do czasu przejścia na emeryturę, tj. do roku 1998, pełniła funkcję kierownika Zakładu Krystalografii na Wydziale Chemii UAM.

ABSTRACT

The history and present state of crystallography in Poland have been presented. The beginnings of crystallography are connected with mineralogy. In 1953 crystallography was introduced as an obligatory subject in university chemistry curricula, producing new crystallography laboratories, and separating crystallography from mineralogy. In 1956 Wł. Trzebiatowski initiated at the Technical University of Wrocław the annual X-Ray Crystallographic Meetings, which became the “Crystallographic Meetings” of the Polish Academy of Sciences. In 2013 the 55th such Meeting took place. Committee of Crystallography PAS consists of five Sections: 1/ Structural Analysis (crystal chemistry), 2/ Applied Crystallography (polycrystalline materials), 3/ Crystal Physics 4/ Crystal Growth and 5/ Protein Crystallography. The present state of Polish crystallography is described in these five segments. A paragraph is dedicated to the role of Polish crystallographers in the North American science.

Keywords: mineralogy, history of crystallography, Polish crystallographic laboratories

Słowa kluczowe: mineralogia, historia krytalografii, polskie ośrodki krytalograficzne

WPROWADZENIE

Początki krystalografii związane są z mineralogią. Krystalografia służyła do klasyfikacji minerałów pod kątem ich symetrii. Pierwsza publikacja krystalograficzna niezwiązana z mineralogią, *De nive sexangula* [1] (*O śniegu sześciokątnym*), którą napisał w 1611 roku Johannes Kepler, prezentowała ideę najgęstszego wypełnienia przestrzeni kryształu przez kule styczne, co i dziś stosujemy do opisu struktury wielu metali. Praca nie miała kontynuatorów, gdyż ukazała się przedwcześnie – nie były wówczas jeszcze znane pojęcia atomów i cząsteczek. Dopiero ponad półtora wieku później publikacja René Justa Hauy'ego z 1784 roku *Essai d'une théorie sur la structure des cristaux, appliquée à plusieurs genres de substances cristallisées* dała impuls rozwoju krystalografii jako samodzielnej nauki na pograniczu matematyki, chemii i fizyki. Cały XIX wiek cechuje szybki rozwój nauk ścisłych i przyrodniczych. W połowie wieku Auguste Bravais opisał 14 typów sieci przestrzennych. W końcu tego wieku Schoenflies i Fiodorow wyprowadzili 230 grup przestrzennych symetrii kryształów. Powstał skończony system teorii struktury kryształów, ale nie było metod sprawdzenia go w doświadczeniu.

Polacy niestety nie uczestniczyli w tym etapie rozwoju krystalografii. Pod trzema zaborami, walcząc w powstaniach i ponosząc ich skutki nie mieli możliwości aktywnego uczestnictwa w rewolucji naukowej jaką przeżywała wówczas Europa i nie brali udziału w procesie emancypacji i samodzielnego rozwoju krystalografii. Wprawdzie rozbudzenie intelektualne w epoce stanisławowskiej spowodowało zwiększenie zainteresowania nauką w pierwszych dziesięcioleciach niewoli, jednak nie było to na rękę zaborcom i ich działania szły w kierunku odwrotnym. Na terenach polskich krystalografia istniała jako nauka pomocnicza mineralogii, użytecznej w poszukiwaniu surowców dla przemysłu i stanowiła przedmiot pewnego zainteresowania również w tym czasie.

Odkrycie dyfrakcji promieni rentgenowskich na kryształach przez Maxa von Lauego w 1912 roku dało krystalografom potężne narzędzie badawcze. Pozwoliło ono nie tylko potwierdzić poprawność teorii budowy i symetrii kryształów, ale umożliwiło badanie doświadczalne struktury obiektów tworzących kryształ – molekuł, jonów – i ich wzajemnych oddziaływań. Odkrycie to już w następnym roku zaowocowało rozwiązaniem pierwszej struktury kryształu chlorku sodu przez W.H. i W.L. Braggów. Nagroda Nobla z fizyki w 1914 roku za odkrycie dyfrakcji promieni rentgenowskich na kryształach zapoczątkowała długą listę tych nagród dla krystalografów.

Krystalografowie nie stanowią licznej populacji w świecie nauki. Z wyjątkiem dwóch krajów – Niemiec i Rosji – nie istnieją akademickie kierunki studiów krystalografii. Specjalizację osiągają chemicy, fizycy, inżynierowie materiałowi, matematycy, biotechnolodzy i biologowie na stażach w laboratoriach specjalistycznych, lub na studiach doktoranckich. Również nagrody Nobla dla krystalografów są przyporządkowane fizyce, chemii, a nawet fizjologii i medycynie. Jednak wpływ krystalografów na rozwój chemii, biologii i innych nauk a także techniki jest na tyle istotny, że Orga-

nizacja Narodów Zjednoczonych ogłosiła rok 2014 – w stulecie pierwszej nagrody Nobla z tej dziedziny – Międzynarodowym Rokiem Krystalografii.

1. W PIERWSZEJ RZECZPOSPOLITEJ

Pierwsze drukowane opisy minerałów na terenie ziem polskich znajdujemy w herbarzach opracowywanych przez lekarzy. Wśród najstarszych znajduje się herbarz wydany przez Stefana Falimierza [2] w 1534 roku. Zawiera on opis ziół leczniczych, a także opis pozyskiwania, identyfikacji i zastosowania w leczeniu kilkudziesięciu minerałów stosowanych przez ówczesną medycynę. Zwiąły opis wiedzy mineralogicznej, takiej jak ją rozumieli ludzie w XVII wieku, został opracowany w 1661 roku przez lekarza rodu Leszczyńskich, pochodzenia szkockiego, urodzonego w Szamotułach Johanna Jonstona pt *Notitia regni mineralis seu, subteraneorum catalogus*. Jonston podzielił ciała kopalne na 5 grup: ziemie, zestalone roztwory, żywice, kamienie i metale. Pierwszy opis minerałów w języku polskim znajdujemy w dziele Wojciecha Tylkowskiego z 1692 roku [3] pt. *Uczone rozmowy wszystką prawie w sobie zawierające filozofję*. Dzieli on minerały na ziemie, kamienie, metale i wody podziemne.

W 1721 roku Gabriel Rzączyński publikuje w Sandomierzu [2] książkę *Historia naturalis curiosa Regni Poloniae*. poświęconą minerałom. W 1781 r. Krzysztof Klug wydaje w Warszawie książkę popularno-naukową *Rzeczy kopalnych osobliwie zdatniejszych szukanie, poznanie i zażycie*. Wprowadził on do języka polskiego szereg nazw minerałów i pojęć, które używamy do dziś, choć zachował też wiele nazw międzynarodowych jak talk, agat, kwarc.

2. POD ZABORAMI

W pierwszych dziesięcioleciach XIX wieku najsilniejszym ośrodkiem nauk przyrodniczych i ścisłych był Uniwersytet Wileński. Wymienimy tu profesorów zajmujących się mineralogią: Roman Symonowicz – autor książki z 1806 roku *O stanie dzisiejszym mineralogji*, Feliks Drzewiński – autor pierwszego akademickiego podręcznika mineralogii w języku polskim *Początki mineralogji podług Wernera, ułożone dla słuchaczy akademickich*. Ostatnim znanym mineralogiem z Uniwersytetu Wileńskiego, przed jego zamknięciem, był Ignacy Jakowicki, autor wydanej w 1831 roku pracy *Obserwacje geognostyczne w guberniach zachodnich i południowych Państwa Rosyjskiego*. Likwidacja Uniwersytetu w 1831 roku stanowiła jedną z represji za powstanie listopadowe.

Należy tu również wspomnieć o wykształconym w Wilnie Ignacym Domeyce (1802–1889), który wyemigrował do Chile, gdzie zasłużył się badaniami mineralogicznymi i geologicznymi (w 1845 roku wydał podręcznik *Elementos de Mineralo-*

gia) i do dziś jest pamiętany w Chile i całej Ameryce Południowej jako naukowiec i człowiek.

W Warszawie rolę ośrodka naukowego pełniło Towarzystwo Przyjaciół Nauk założone w 1800 roku. Pod jego auspicjami Stanisław Staszic wydał w 1815 roku pracę *O ziemiórództwie Karpatów i innych gór i równin Polski*. Rok później Staszic zorganizował w Kielcach Szkołę Akademiczno-Górnica. Wykładowcą mianowano tam Jerzego Puscha (Niemca, który się spolonizował i przyjął nazwisko Koreński.) [3]. Pusch wydał (po niemiecku) *Geognostyczny opis Polski i innych krajów na północ od Karpat*. Powstanie listopadowe zakończyło działalność Szkoły.

W latach 1898–1915 pracował na rosyjskim Uniwersytecie Warszawskim znany krystalograf rosyjski G. Wulf, jednak jego dorobku nie możemy uznawać za polską myśl intelektualną.

Pod zaborem austriackim znalazły się Uniwersytety Lwowski i Jagielloński. Zaborcy zgermanizowali Uniwersytet Lwowski i poza lwowianinem Stanisławem Dunin-Borkowskim, który wyjechał na zachód Europy i tam prowadził badania mineralogiczne, a potem wrócił do Lwowa, nieznani są specjaliści polscy z tego środowiska w XIX wieku. Na początku XX wieku pracował w Katedrze Mineralogii w Technische Hochschule we Lwowie Zygmunt Weyberg, absolwent rosyjskiego Uniwersytetu Warszawskiego. Jest on autorem podręczników *Wiadomości początkowe z krystalografii* (1905) i *Podstawy krystalografii* (1916).

Jedyny polski Uniwersytet, który przetrwał zabory, to Uniwersytet Jagielloński. Dzięki specjalnej sytuacji Krakowa jako Wolnego Miasta, Uniwersytet zachował pewną autonomię do połowy XIX wieku, kiedy to został włączony w system wyższych szkół austriackich. Próby germanizacji w następnych latach okazały się niezbyt skuteczne. W latach 1829–1833 i 1848–1857 Katedrą Mineralogii i następnie Katedrą Fizjografii UJ kierował Ludwik Zeiszner, który wyposażył placówkę w zbiory modeli kryształów i minerałów. Znane są jego książki: *Systemat minerałów według zasad J.J. Berzeliusza* (1833) i *Początki mineralogii według układu Gustawa Rose* (1861). W latach 1862–1886 mineralogię na UJ wykładał Alojzy Alth, który w 1868 roku wydał *Zasady mineralogii*. Wykształcił on ucznia Feliksa Kreutza, który kierował Katedrą do roku 1903. Jego następcą został Józef Morozewicz (uczeń prof. A. Lagorio z warszawskiego Instytutu Politechnicznego), który pełnił tę funkcję do 1919 roku. Swe publikacje poświęcał minerałom znajdującym na terenie ziem polskich. Jednym z jego najbardziej znanych uczniów był Władysław Pawlica, [2] znawca minerałów Tatr i okolic Krakowa.

3. W DRUGIEJ RZECZPOSPOLITEJ

Po zakończeniu Pierwszej Wojny Światowej ośrodki uprawiające krystalografię w Polsce były nadal połączone z mineralogią z wyjątkiem Uniwersytetu Jana Kazimierza we Lwowie, gdzie istniała jedyna w kraju Katedra Krystalografii pod kierownictwem prof. Zygmunta Weyberga. Dokonamy krótkiego przeglądu tych placówek

UNIwersytet Jagielloński

W latach 1919–1939 kierownikiem Katedry Mineralogii i Krystalografii UJ był prof. Stefan Kreutz, syn Feliksa Kreutza, zwolennik związków krystalografii z chemią i fizyką. W 1924 roku ukazała się *Krystalografia – Podręcznik dla samouków* Stefana Kreutza i Stanisława Zaremby. Na str. 168 czytamy „W Polsce krystalografia posiada dotychczas tylko jedną katedrę i zakład krystalograficzny w Uniwersytecie Lwowskim. W innych uniwersytetach i politechnikach krystalografia wchodzi w zakres katedr mineralogii. Jest to wielka szkoda nie tylko z powodu zbyt dużego absorbowania wykładającego sprawami różnych działów nauki, ale przede wszystkim wskutek braku środków na sprawianie przyrządów naukowych i literatury oraz odpowiedniego pomieszczenia dla badań krystalograficznych. Ze sprawą tą wiąże się jeszcze zagadnienie wychowywania przyszłych krystalografów...”.

Prof. Kreutz wyposażył Katedrę w aparaturę rentgenowską i wypromował pięciu doktorów. Dwóch jego współpracowników uzyskało habilitacje – Ludwik Chrobak w 1929 r. i Antoni Swaryczewski w 1937 r. Pod kierunkiem prof. Kreutza ukazała się praca doktorska Stanisława Janika prezentująca strukturę kryształów chlorku dwuaminocynkowego. Stefan Kreutz zmarł w 1941 roku, jego współpracownicy – Antoni Gawęł, Stanisław Janik i Antoni Swaryczewski – byli aresztowani przez Gestapo; aparaturę wywieziono lub zniszczono.

UNIwersytet Jana Kazimierza we Lwowie i Politechnika Lwowska

W latach 1920–1936 Katedrą Krystalografii UJK kierował prof. Zygmunt Weyberg, który w 1925 roku wydał *Krystalografię opisową*. W 1938 r. nominację profesorską otrzymał tam Ludwik Chrobak i prowadził zajęcia z krystalografii z rentgenografią również na Państwowym Uniwersytecie Lwowskim po przejęciu Lwowa przez Związek Radziecki aż do 1941 roku. Krótki epizod pracy na Uniwersytecie Lwowskim zaliczył również Józef Chojnacki.

Kierownikiem Katedry Mineralogii i Petrografii Uniwersytetu i Politechniki Lwowskiej był prof. Julian Tokarski. Jego współpracownikami byli Kazimierz Smulikowski, Maria Turnau-Morawska i Marian Kamiński. Prowadzono tam badania skał krystalicznych.

W Katedrze Chemii Fizycznej Politechniki Lwowskiej samodzielnie zbudował aparaturę rentgenowską i w 1936 roku rozpoczął badania wieloskładnikowych materiałów metalicznych doc. Włodzimierz Trzebiatowski [4].

W 1936 roku na Uniwersytecie Jana Kazimierza biochemik, prof. Tadeusz Baranowski, wyhodował monokryształy białka – miogenu mięśniowego [4].

UNIwersytet Stefana Batorego w Wilnie

Katedrę Geologii zorganizował w 1920 roku prof. B. Rydzewski, który przeszedł tam z Politechniki Warszawskiej. Po nim przejął Katedrę w 1936 roku prof. Edward Passendorfer, a mineralogię wykładał prof. Stanisław Małkowski.

POLITECHNIKA WARSZAWSKA

Kierownikiem Zakładu Mineralogii na Wydziale Chemicznym został prof. Stanisław Thugutt, który zagospodarował spuściznę po rosyjskim Instytucie Technologicznym wyposażonym przez prof. A. Lagorio w książki, aparaturę i zbiór minerałów. Po nim kierownikiem Zakładu w 1920 roku został prof. Tadeusz Wojno, absolwent rosyjskiego Uniwersytetu Warszawskiego. W czasie II Wojny Światowej prof. Wojno prowadził zajęcia w Szkole Technicznej stanowiącej tajną kontynuację Politechniki, jednak cały sprzęt Zakładu uległ zniszczeniu w trakcie Powstania Warszawskiego.

W 1929 roku, na zaproszenie prezydenta RP Ignacego Mościckiego przybył z Frankfurtu nad Menem prof. Jan Czochrański, znany z prac nad otrzymywaniem monokryształów metali („metoda Czochrańskiego”) i ich własnościami. Objął Zakład Metalurgii i Metaloznawstwa oraz Instytut o tej samej nazwie, który wyposażył w nowoczesną aparaturę częściowo z własnych środków. Zajmował się pomiarami szybkości krystalizacji metali, ich właściwościami elastycznymi, anizotropią ich twardości, korozją metali i stopów w różnych atmosferach. Jego badania stały się podstawą współczesnej elektroniki. W czasie wojny Niemcy, którzy wysoko cenili wartość prac Jana Czochrańskiego dla techniki, umożliwili mu kontynuację badań, za co Polacy po wojnie odmówili mu tej możliwości – relegowali go z Politechniki – mimo, a może tym bardziej, że w czasie okupacji współpracował z Armią Krajową i pomagał rodakom represjonowanym przez okupanta.

UNIwersytet Warszawski

W Zakładzie Fizyki Doświadczalnej UW prof. Stefan Pieńkowski wprowadził w latach 20. ubiegłego stulecia rentgenograficzne badania materiałów metodą Lauego. Strukturę włókien celulozy, żywic i kauczuków badano metodami dyfrakcji elektronów. Aparaturę badawczą konstruowano na miejscu – w czasie wojny została wywieziona do Niemiec. W tajnym nauczaniu prof. Pieńkowski kształcił studentów fizyki w metodach dyfrakcyjnych, a w krystalografii – doc. A. Łaszkiwicz.

W Zakładzie Mineralogii UW pracował prof. Stanisław Thugutt, a od 1925 roku kolejne szczeble kariery naukowej przechodził Antoni Łaszkiwicz. W 1935 roku opublikował pracę *Krystalografia i struktura salicylanu sześciometylenoczteroaminy*.

W ostatnich latach przed wojną przeniósł się ze Lwowa do Warszawy prof. Zygmunt Weyberg, który pracował do roku 1939 na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii UW.

UNIwersytet POZNAŃSKI

Wykłady zlecone z mineralogii i krystalografii dla kierunku chemia prowadzili w pierwszych latach istnienia Uniwersytetu specjaliści z Krakowa, dr Ludwik Chrobak i doc. Stanisław Jaskólski. W 1930 roku ze Lwowa przybył doc. Kazimierz Smulikowski, który został kierownikiem Katedry Mineralogii na Wydziale Przyrodniczym UP i on prowadził zajęcia dla chemików. Był specjalistą w badaniach skał metodami optyki kryształów.

AKADEMIA GÓRNICZA W KRAKOWIE

Utworzona została w 1919 z udziałem prof. Józefa Morozewicza, ucznia prof. A. Lagorio z rosyjskiego Instytutu Technologicznego w Warszawie. Zajęcia z krystalografii i mineralogii prowadził mineralog prof. Zygmunt Rozen, uczeń Morozewicza.

PAŃSTWOWY INSTYTUT GEOLOGICZNY W WARSZAWIE

Od 1919 roku Instytutem kierował prof. Józef Morozewicz. Pracował tam również jego uczeń, prof. Stanisław Małkowski, który przeniósł się na Uniwersytet Wileński. Instytut zajmował się badaniem zasobów mineralnych Polski.

4. LATA POWOJENNE 1945–2013

W wyniku ustaleń Konferencji w Poczdamie w 1945 roku ludność polska z terenów wschodnich została przesiedlona na zachód w nowe granice Państwa Polskiego. Pracownicy uczelni lwowskich przenieśli się głównie do Wrocławia, a wileńskich – do Torunia i Gdańska. Duża grupa ze zburzonej Warszawy zamieszkała w Łodzi. Krystalografia w większości polskich uniwersytetów trwała w symbiozie z mineralogią do roku 1953, a czasem dłużej. W latach 1945–1961, według dokumentacji udostępnionej przez prof. K. Łukaszewicza, [4] opublikowano zaledwie 107 oryginalnych artykułów naukowych i listów do redakcji dotyczących krystalografii geometrycznej, optycznej i krystalochemii, rentgenografii i neutronografii, zastosowań metod dyfrakcyjnych. W językach kongresowych było 41 artykułów, reszta w języku polskim. Wszystkie badania prowadzono na kryształach nieorganicznych, metalach lub polimerach.

Rozwiązywanie struktury kryształu przed erą komputerów i dyfraktometrów to była praca katorżnicza. Pomiar dyfrakcji metodą fotograficzną wymagały nie tylko długotrwałych ekspozycji kryształu w wiązce rentgenowskiej celem zarejestrowania setek refleksów kolejnych warstw, ale również wizualnej oceny zaczerwień plamek dyfrakcyjnych przy pomocy wielostopniowej skali. Jeszcze większą

trudność stanowiły obliczenia, stosunkowo łatwe dla prostych soli i metali, gdzie atomy zajmują położenia w narożach i na środkach ścian komórki elementarnej. Udawało się odgadnąć położenia atomów w tych kryształach i skonfrontować je z obrazem dyfrakcyjnym. W ten sposób rozwiązano pierwszą strukturę kryształu – soli kamiennej. Zupełnie inaczej wygląda rozwiązanie struktury cząsteczek w kryształach, w których atomy nie zajmują „pozycji specjalnych”. Trzeba liczyć, krok po kroku, gęstość elektronową w komórce elementarnej przy pomocy szeregu Fouriera. Załóżmy dla uproszczenia, że asymetryczna część komórki elementarnej ma wymiary $10 \times 10 \times 10 \text{ \AA}$. Gęstość elektronową trzeba liczyć co $1/3 \text{ \AA}$, a więc w 27 tysiącach punktów. Jeśli zmierzono intensywności 1000 refleksów, obliczenia jednego cyklu wymagają 27 milionów sumowań. W bogatszych krajach taktyka była taka, jak ją opisuje znany krytalograf brytyjski J.M. Robertson [5]. Do obliczeń struktury kryształu steroidu zatrudnił na rok 100 emerytów.

Po wprowadzeniu komputerów problem obliczeniowy przestał odstraszać badaczy od krytalografii. Pierwszy w Polsce komputer służący krytalografom – Elliot 803 – znajdował się w latach 60. na Uniwersytecie Wrocławskim. Nie był zbyt wydajny, ale umożliwiał liczenie dwuwymiarowych map gęstości elektronowej. Z dwóch rzutów można było wyprowadzić strukturę trójwymiarową. Szybki postęp komputeryzacji, import wydajnych komputerów firmy IBM zadecydował o atrakcyjności badań krytalograficznych. Fotograficzna rejestracja refleksów dyfrakcyjnych nie była zbyt precyzyjna, nie pozwalała na zlokalizowanie atomów pierwiastka o najmniejszej liczbie porządkowej – wodoru. W latach 60. pojawiły się jednak dyfraktometry automatyczne, gwarantujące wysoką precyzję pomiaru, ale o „astronomicznej” cenie, w dodatku wymagające tzw. „dewiz”. W Pierwszej Szkole Rentgenografii Strukturalnej w 1967 roku prof. M.A. Poraj-Kozic tak zreferował nam rady, jakie otrzymał od szwajcarskiego kolegi. „Macie 3 możliwości: 1) kupić dyfraktometr, 2) zbudować dyfraktometr, 3) zamknąć laboratorium”.

Polacy wykorzystali pierwsze dwa warianty. W latach 70. zakupiono trzy zachodnie dyfraktometry dla Uniwersytetu Wrocławskiego, Poznańskiego i Jagiellońskiego. Nie udało się to jednemu z największych w Polsce zespołów krytalografów na Politechnice Łódzkiej i ten smutny fakt miał świetne zakończenie. Pod koniec lat 70. prof. Zdzisław Gałdecki z P.Ł. został koordynatorem „Problemu resortowego” i dysponując znaczną sumą funduszu „złotówkowego” sfinansował budowę polskiego dyfraktometru „KUMA”. Konstruktorzy to dwaj wrocławscy doktorzy wypromowani przez prof. K. Łukaszewicza – Damian Kucharczyk i Marek Malinowski. Udana konstrukcja nie tylko pozwoliła wyposażyć w dyfraktometry wszystkie placówki w kraju, ale odniosła sukces międzynarodowy i dziś, w ramach Agilent Technologies, podbija rynki światowe.

Technika nie stoi w miejscu i pojawiło się nowe, bardzo intensywne źródło promieni rentgenowskich – synchrotrony. Stacje dyfrakcyjne przy synchrotronach pozwalają niezwykle skrócić okres ekspozycji kryształu na promieniowanie, co jest szczególnie ważne w badaniach kryształów białkowych. W Unii Europejskiej istnieje szereg synchrotronów, do których dostęp mają polscy krytalografowie. Z Poznania

na przykład jest 2,5 godz. drogi samochodem do synchrotronu w Berlinie i w jeden dzień można wykonać pomiary wraz z podróżą w obie strony.

Istnieje jeszcze jeden wariant pomiarów. Można zza biurka we własnym laboratorium sterować komputerowo pomiarem w odległym ośrodku, np. w ESRF w Grenoble. Robot przenosi zamontowany w pętelce kryształ z ciekłego azotu na dyfraktometr, montuje go na stanowisku dyfrakcyjnym i rozpoczyna pomiary. Wyniki trafiają za pomocą Internetu na biurko krystalografa. Trzeba tylko dostarczyć pojemnik ze sprawdzonymi kryształami do synchrotronu w Grenoble.

Wróćmy jednak do pierwszych powojennych lat polskiej krystalografii.

- Ważnym krokiem uwalniającym krystalografię od związków z mineralogią i zbliżającym ją do chemii było wprowadzenie w 1953 roku obligatoryjnego programu krystalografii na kierunkach chemii uniwersyteckiej. Program stanowiący podstawę do zrozumienia krystalochemii i stanowiący niezbędny wstęp do rentgenografii został napisany przez prof. Ludwika Chrobaka. Tam, gdzie istniała chemia uniwersytecka, musiały powstać załączki współczesnej krystalografii, co stymulowało rozwój laboratoriów rentgenograficznych. Na Politechnikach i kierunkach fizyki uniwersyteckiej rozwój krystalografii zależał od miejscowych uwarunkowań.
- Drugim czynnikiem stymulującym rozwój współczesnej krystalografii było zapoczątkowanie przez prof. Wł. Trzebiatowskiego w 1956 roku na Politechnice Wrocławskiej „Konwersatoriów rentgenograficznych” przekształconych z czasem w „Konwersatoria krystalograficzne” organizowane tradycyjnie w Instytucie Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN. W pierwszym brało udział 4 uczestników, w 55. Konwersatorium w 2013 roku, 217 aktywnych uczestników. Konwersatoria te integrują polską krystalografię.
- Kolejnym czynnikiem, który wpłynął na intensywny rozwój krystalografii i rentgenografii były Międzynarodowe Szkoły Rentgenografii. W okresie 1967–1987 zorganizowano ich dziewięć. Pierwszą znów zorganizował prof. Wł. Trzebiatowski, ostatnią prof. J. Lipkowski. Szkoły umożliwiły młodzieży kontakty z wybitnymi krystalografami z Europy i USA, w tym z laureatami nagrody Nobla, jak prof. Dorothy Hodgkin i Jerome Karle. Były też efektywnym miejscem uzyskiwania staży naukowych w najlepszych laboratoriach świata. Po przemianach ustrojowych w 1989 roku kontakty zagraniczne stały się łatwe i zniknął jeden z impulsów do organizowania szkół.
- Należy również podkreślić dużą aktywność polskich autorów w opracowywaniu podręczników. Pierwszy polski podręcznik rentgenografii strukturalnej *Zarys rentgenograficznej analizy strukturalnej* – Wł. Trzebiatowski, Katowice 1950, *Krystalografia chemiczna i fizyczna* – J. Chojnacki, Warszawa 1961, *Zarys neutronografii kryształów* – J. Leciejewicz Warszawa 1980, *Krystalografia – podręcznik wspomagany komputerowo* – Z. Bojarski,

M. Gągla, M. Stróż, K. Surowiec, Warszawa 1996, to tylko niektóre z licznych podręczników, których nie sposób tu wymienić. W roku 1970 Z. Bojarski, A. Łaskiewicz i K. Łukaszewicz opracowali *Słownik terminów krystalograficznych*, który ma następne wydania.

Wymienione wyżej akcje prezentują głównie działalność największej grupy polskich krystalografów zajmującej się rentgenowską analizą strukturalną monokryształów. Równie bogatą działalność w zakresie organizacji szkół i kongresów naukowych mają w swym dorobku badacze w obszarze materiałów polikrystalicznych z prof. Z. Bojarskim i jego uczniami z Uniwersytetu Śląskiego oraz zespół prof. J. Żmiji z Wojskowej Akademii Technicznej w Warszawie w badaniach nad wzrostem kryształów i ciekłych kryształów.

W 1966 roku Polska została przyjęta do International Union of Crystallography, (IUCr) która wydaje czasopisma i Tablice krystalograficzne, oraz organizuje co 3 lata Światowe Kongresy Krystalografii, a także sponsoruje Międzynarodowe Szkoły Krystalografii w Erice na Sycylii. Nasz kraj jest tam reprezentowany przez Komitet Krystalografii PAN. Kolejni prezesi Komitetu to profesorowie Wł. Trzebiatowski, K. Łukaszewicz, A. Pietraszko i M. Gdaniec. Polska należy również do European Crystallographic Association (ECA), które organizuje konferencje krystalograficzne w latach niezajętych przez kongresy Unii. Nasz kraj jest tam reprezentowany przez Polskie Towarzystwo Krystalograficzne; kolejni jego prezesi to profesorowie St. Hodorowicz i J. Lipkowski.

Dużą rolę w popularyzacji krystalografii wśród chemików spełnia Sekcja Krystalochemii PTCh – aktualny przewodniczący Sekcji to prof. M. Kubicki.

5. OŚRODKI KRYSZTALOGRAFICZNE

Komitet Krystalografii PAN grupuje polskich krystalografów w pięciu Sekcjach. Są to Sekcje: 1) Analizy strukturalnej (krystalochemii), 2) Krystalografii stosowanej (materiałów polikrystalicznych), 3) Krystalografii fizycznej, 4) Wzrostu kryształów, 5) Krystalografii białek. W tej kolejności wymienimy ośrodki, poświęcając uwagę tym, które wypromowały wielu doktorów i/lub organizowały konferencje naukowe [4]. Ze względu na planowaną objętość artykułu nie jest możliwy opis wszystkich ośrodków – wymienimy tylko ich nazwy.

6. KRYSZTALOCHEMIA

Zakład Krystalochemii i Krystalofizyki Uniwersytetu Jagiellońskiego

W latach 1946–51 istniała Katedra Mineralogii kierowana przez prof. J. Tokarskiego i A. Gawła, która w roku 1951, decyzją władz centralnych, została przenie-

siona do Akademii Górniczo-Hutniczej. Na rok 1960 datujemy powstanie Zakładu o współczesnej nazwie. Zorganizował go przedwojenny uczeń prof. St. Kreutzta, doc. Józef Chojnacki, który przeszedł z Akademii Górniczo-Hutniczej. Kolejni kierownicy Zakładu to profesorowie B. Oleksyn, St. Hodorowicz, W. Łasocho, K. Stadnicka i K. Lewiński. Główne kierunki badań: kinetyka procesów krystalizacji, struktura związków nieorganicznych jak poliiomolibdeniany i związków organicznych, w tym aktywnych biologicznie, badanie struktury polikryształów, zależności struktura – aktywność optyczna, krystalografia białek. W 1979 roku prof. St. Hodorowicz zorganizował VI Szkołę Rentgenografii Strukturalnej, a w 2001 roku 20th European Crystallographic Meeting

Zespół Rentgenografii Strukturalnej i Krystalochemii na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej

Wykłady mineralogii i krystalografii prowadził w pierwszych latach po wojnie prof. Tadeusz Wojno. W Katedrze Chemii Nieorganicznej pod kierunkiem prof. E. Józefowicza rozpoczął pracę Z. Gałdecki, który w 1954 roku rozwiązał pierwszą strukturę kryształu nieorganicznego i po stażach u Wł. Trzebiatowskiego i M.A. Poraj-Koszica kierował Zespołem do roku 2000. Po nim kierownictwo przejął prof. M. Główka. Pozostali profesorowie: M. Bukowska-Strzyżewska, A. Korczyński, T. Bartzak, M. Wiczorek, J. Karolak-Wojciechowska, W. Wolf i R. Kruszyński. Główne kierunki badań: struktura związków nieorganicznych, fosforoorganicznych stanowiących specjalność chemii łódzkiej, związków koordynacyjnych metali przejściowych, leków i innych związków organicznych.

Z. Gałdecki zorganizował III Szkołę Rentgenografii Strukturalnej w 1972 roku, brał udział w organizacji kilku Konwersatoriów Krystalograficznych i sfinansował poprzez projekt resortowy budowę pierwszego polskiego dyfraktometru do monokryształów KUMA.

Zakład Krystalografii na Wydziale Chemii UAM w Poznaniu

Od roku 1945 do 1951 istniała pod kierownictwem prof. K. Smulikowskiego Katedra Mineralogii, która decyzją władz centralnych została przesiedlona na Wydział Geologiczny Uniwersytetu Warszawskiego. W 1953 roku utworzono załączek Pracowni Krystalografii. We wczesnych latach 60. po stażach u A.I. Kitajgorskiego Z. Kałuski, Z. Kosturkiewicz i T. Borowiak rozpoczęli badania struktury kryształów organicznych. Kierownicy Zakładu to Z. Kosturkiewicz i M. Gdaniec. Pozostali profesorowie: Z. Kałuski, T. Borowiak, U. Rychlewska, M. Jaskólski, A. Katrusiak, M. Kubicki. Główne kierunki badań, to struktura kryształów organicznych, agregatów supramolekularnych, wiązania wodorowe, gęstość elektronowa wiązań oraz wysokociśnieniowe badania wzrostu i struktury kryształów i krysta-

lografia białek. Na kilka lat został wyodrębniony Zakład Krystalochemii pod kierunkiem prof. Kałuskiego, jednak wkrótce nastąpił powrót do wspólnego Zakładu. W latach 1969–1998 przebywało w Zakładzie 32 stażystów spoza Poznania, w tym 6 Niemców. Z. Kosturkiewicz zorganizowała IV Szkołę Rentgenografii Strukturalnej w 1974 r. a Z. Kałuski, A. Katrusiak, U. Rychlewska i T. Borowiak zorganizowali w latach 1977–2002 11 Międzynarodowych Sympozjów Krystalochemii Organicznej. Niedawno „wypączkował” Zakład Chemii Materiałów, gdzie prof. A. Katrusiak kształci licznych doktorantów.

Zakład Krystalografii na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego

Od roku 1945 wykłady dla studentów chemii prowadził prof. Ludwik Chrobak. Od 1953 roku wykłady i ćwiczenia z krystalografii dla chemików prowadził asystent prof. Trzebiatowskiego z Politechniki Wrocławskiej mgr Kazimierz Łukaszewicz. W 1961 roku, po stażu u prof. M.A. Poraj-Koszica uczeń prof. B. Trzebiatowskiej – Tadeusz Głowiak rozpoczął organizację laboratorium rentgenograficznego i w 1970 roku został mianowany kierownikiem Zakładu. Kolejni kierownicy to profesorowie Tadeusz Lis i Zbigniew Ciunik. Tematyka badawcza: struktura związków kompleksowych metali przejściowych, oksokompleksów metali, adduktów aminokwasów z metalami przejściowymi, kwasów aminofosfonowych i innych związków organicznych. Do 2005 roku opisano [4] w ponad 600 publikacjach strukturę ponad 1000 kryształów. Prof. T. Głowiak utrzymywał bliską współpracę z Uniwersytetem Lwowskim i w 2002 roku został doktorem *honoris causa* tego Uniwersytetu. Prof. Głowiak był również organizatorem II Szkoły Rentgenografii Strukturalnej w 1970 roku i VII Szkoły w 1982 roku. W Zakładzie istnieją dwa Zespoły Badawcze pod kierunkiem prof. T. Lisa i prof. Z. Ciunika.

Poza strukturą tych Zakładów badania krystalograficzne uprawia kilku pracowników Wydziału Chemii.

Zakład Fizykochemii Kompleksów Molekularnych w Instytucie Chemii Fizycznej PAN w Warszawie

Jako pierwszego krystalografa pracującego w tym Instytucie należy wymienić dr W. Wolframa. Od 1978 roku kierownikiem Zakładu jest prof. Janusz Lipkowski. Drugi profesor: Kinga Suwińska. Tematyka badawcza: struktura heteromolekularnych kompleksów, w których cząsteczka „gospodarza” wiąże różne cząsteczki „gości” w sposób odwracalny. Chodzi między innymi o separację składników mieszanin. Badane są cząsteczki „gospodarzy” takie jak zeolity, cyklodekstryny i kaliksareny. Badane są przejścia fazowe w kryształach tych związków. Prof. Lipkowski pomaga krystalografom z Kiszyniowa poprzez udostępnianie aparatury i staże oraz współpracuje z rosyjskimi i ukraińskimi krystalografami. W 1987 roku organizo-

wał IX Szkołę Rentgenografii Strukturalnej, a niedawno Szkołę zaczynającą nową serię.

Pracownia Krystalografii na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

W latach 1946–1970 istniała Katedra Krystalografii, której kierownikami byli kolejno doc. Antoni Łaszkiewicz, dr Norbert Ramer i prof. Ludwik Chrobak. W sumie w tym czasie wypromowano 2 doktorów. W 1970 roku Katedrę przekształcono w Pracownię, i kierownikiem mianowano doc. Andrzeja Wiewiórę zajmującego się badaniem minerałów ilastych. W 1977 roku kierownikiem Pracowni został doc. Tadeusz Krygowski, który nadał Pracowni kierunek badań strukturalnych kryształów organicznych. Kolejnym kierownikiem Pracowni został jego uczeń prof. Krzysztof Woźniak. Tematyka badawcza: chemia strukturalna oparta o rentgenografię monokryształów organicznych, badanie materiałów optoelektronicznych, badania konsekwencji delokalizacji π -elektronowej, gęstość elektronowa wiązań, modelowanie struktury metodami chemii kwantowej.

Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej

W roku 1954 został zorganizowany przez prof. Wł. Trzebiatowskiego Zakład Chemii Ciała Stałego, w którym K. Łukaszewicz rozwiązał pierwszą we Wrocławiu strukturę kryształu. Zakład został przeniesiony do Polskiej Akademii Nauk. Po wielu latach przerwy w Instytucie Chemii Fizycznej i Teoretycznej badania rentgenograficzne podjęła prof. Ilona Turowska-Tyrk pochodząca z Uniwersytetu Warszawskiego. Tematyka badawcza: zmiany strukturalne w kryształach organicznych spowodowane promieniowaniem jonizującym oraz przejścia fazowe w kryształach. Prof. V. Videnova-Adrabińska bada strukturę kryształów inkluzyjnych i procesy rozpoznania cząsteczkowego. Na Politechnice Wrocławskiej prof. Wł. Trzebiatowski zapoczątkował Konwersatoria Krystalograficzne.

Niestety, ze względu na brak miejsca, wymienimy tylko nazwy pozostałych jednostek prowadzących badania strukturalne monokryształów [6]:

Zakład Chemii Strukturalnej i Krystalografii Uniwersytetu Łódzkiego

Zakład Krystalografii na Wydziale Chemii UMC-S w Lublinie

Zakład Krystalochemii i Biokrystalografii na UMK w Toruniu

Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej

Wydział Chemiczny Politechniki Gdańskiej, Laboratorium Krystalografii

Instytut Chemii Organicznej PAN w Warszawie

Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego

Instytut Chemii, Uniwersytet w Opolu

Instytut Chemii i Technologii Jądrowej w Warszawie

**Wydział Chemii Uniwersytetu Śląskiego
Instytut Chemii, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach
Wydział Farmacji Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu
Instytut Chemii Uniwersytetu w Białymstoku**

7. KRYSALOGRAFIA STOSOWANA – POLIKRYSZTAŁY

Instytut Fizyki i Chemii Metali / Instytut Nauki o Materiałach na Uniwersytecie Śląskim w Katowicach

W 1959 roku prof. Zbigniew Bojarski z Instytutu Metalurgii Żelaza w Gliwicach przeniósł się do Katowic, gdzie zorganizował Zakład Krystalografii i wykłady dla kierunku chemii. W 1974 roku powstał Instytut Fizyki i Chemii Metali na Wydziale Techniki UŚ. Do 1991 prof. Z. Bojarski był dyrektorem tego Instytutu. Kolejni dyrektorzy to prof. H. Morawiec i E. Łągiewka. W 2003 roku zmieniono nazwę na Instytut Nauki o Materiałach na Wydziale Informatyki i Nauki o Materiałach. Profesorowie Instytutu: E. Łągiewka, H. Morawiec, L. Pająk, K. Stróż, M. Stróż, M. Surowiec, K. Wokulska, Z. Wokulski i inni. Tematyka badawcza: rentgenografia materiałów polikrystalicznych, fluorescencyjna spektroskopia rentgenowska, wyznaczanie wielkości bloków mozaiki, rentgenografia wysokotemperaturowa, topografia rentgenowska, małokątowe rozpraszanie promieni rentgenowskich, metoda Rietvelda w udokładnianiu struktury polikryształów, otrzymywanie wiskerów, kwazikryształy. Od 1962 r. ośrodek organizuje konferencje „Rentgenowska analiza strukturalna w metalurgii i materiałoznawstwie” przekształcone w *Applied Crystallography* obejmujące metody dyfrakcji rentgenowskiej, elektronowej i neutronowej. Od roku 1990 organizowane są co 2 lata *Conferences of Applied Crystallography*. Prof. Z. Bojarski wraz ze współpracownikami jest autorem najpopularniejszych w Polsce podręczników krystalografii i podręczników nauki o materiałach, w tym *Krystalografia – podręcznik wspomagany komputerowo* z 1996 r.

Instytut Chemii Fizycznej PAN w Warszawie, Laboratorium Dyfraktometrii Proszkowej i Spektrometrii

W latach 70. ubiegłego wieku prof. Waława Palczewska prowadziła badania katalizatorów metodami dyfrakcji powolnych elektronów (LEED) przy pomocy „działa elektronowego” z użyciem wysokiej próżni. W roku 1971 zorganizowała w Jabłonnej Polsko-Francuską Szkołę Dyfrakcji Elektronów z udziałem francuskich wykładowców i słuchaczy z obu krajów. Jej następcą był prof. J. Pielaszek. Obecnie kierownikiem Laboratorium jest prof. Z. Kaszukur. Tematyka badawcza: rentgenograficzne badania struktury materiałów polikrystalicznych i kwazi-amorficznych

w szerokim zakresie temperatur, metody numeryczne w badaniach mikrokrystalicznych próbek metali przejściowych, struktura i dynamika w reakcjach chemicznych nanokrystalicznych cząstek metali i ich stopów.

Wymienimy tylko nazwy pozostałych ośrodków [6]:

Wydział Inżynierii Procesowej Politechniki Częstochowskiej

Instytut Metalurgii Żelaza w Gliwicach

Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej Politechniki Poznańskiej

Wydział Fizyki UAM w Poznaniu.

Zakład Dyfraktometrii Proszkowej, Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN, Wrocław

Zakład Fizyki i Informatyki Stosowanej, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie

Katedra Metaloznawstwa i Metalurgii Proszków AGH w Krakowie

Zakład Krystalografii w Instytucie Chemii UŚ w Katowicach

Katedra Nauki o Materiałach Politechniki Śląskiej w Katowicach

Instytut Fizyki PAN w Warszawie

Instytut Technologii Elektronowej w Warszawie

Instytut Technologii Materiałów Elektronicznych

Instytut Wysokich Ciśnień PAN w Warszawie

Centralne Laboratorium Kryminalistyczne KG Policji w Warszawie

Ponadto metody rentgenografii proszkowej są stosowane w wielu ośrodkach badawczych i przemysłowych ośrodkach kontroli technicznej.

8. KRYSTALOGRAFIA FIZYCZNA

Zakład Krystalografii, Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN we Wrocławiu

Zakład został utworzony w 1966 r. przez prof. Wł. Trzebiatowskiego, kolejni kierownicy to prof. K. Łukaszewicz i A. Pietraszko. Profesorem jest też M. Wołczyr. Kierunki badawcze: zależność od temperatury i ciśnienia przejść fazowych w ferroelektrykach i ferromagnetykach, nadprzewodniki i nadprzewodniki superjonowe, fazy modulowane, dyfuzyjne rozpraszanie promieni rentgenowskich, badanie struktury wieloskładnikowych tlenków metali metodami dyfrakcji elektronów, analiza defektów sieci. Skonstruowano dyfraktometrię Bonda, a dwaj doktorzy K. Łukaszewicza - D. Kucharczyk i M. Malinowski - skonstruowali automatyczny dyfraktometr do monokryształów, który nadal świetnie się sprzedaje na kilku kontynentach.

W Zakładzie kształcą się doktoranci polscy i z Ukrainy – z Uniwersytetu Lwowskiego. Prof. Trzebiatowski zapoczątkował Konwersatoria Krystalograficzne; których organizację kontynuują kolejno prof. K. Łukaszewicz i prof. A. Pietraszko; w 2013

roku odbyło się 55. Konwersatorium. Prof. Trzebiatowski zorganizował Pierwszą Szkołę Rentgenografii Strukturalnej w 1967 roku – trwała miesiąc i kończyła się egzaminem pisemnym. W 1976 r. prof. K. Łukaszewicz zorganizował V Szkołę Rentgenografii Strukturalnej, a w 1986 r. we Wrocławiu 10th European Crystallographic Meeting.

Zakład Badań Strukturalnych, Wydział Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego

Zakład został utworzony w latach 60. przez prof. St. Pieńkowskiego. Jego współpracownicy to prof. J. Auleytner i B. Buras. Kolejni kierownicy: prof. L. Sosnowski i prof. M. Lefeld-Sosnowska. Kierunki badawcze: defekty struktury monokryształów, rozpraszanie dyfuzyjne w kryształach arsenku galu w normalnej i niskiej temperaturze, zastosowanie promieniowania synchrotronowego do badania defektów w monokryształach, w tym w kryształach wykazujących własności optyki nieliniowej, generujące drugą i wyższe harmoniczne, badania przy użyciu dyfrakcji i rozpraszania nieelastycznego neutronów. Pomiary z użyciem spolaryzowanych neutronów na półprzewodnikach magnetycznych.

Zakład Fizyki Fazy Skondensowanej, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie

W 1963 r. w Instytucie Fizyki Jądrowej w Świerku powstał pod kierownictwem prof. Andrzeja Olesia Zakład Fizyki, który przekształcono w 1973 r w Zakład Fizyki Fazy Skondensowanej AG-H pod tym samym kierownictwem. Kolejny kierownik: prof. J. Wolny. Pozostali profesorowie: St. Kasprzyk, W. Sikora, K. Wierzbowski, St. Nizioł. Kierunki badań: skonstruowano dyfraktometr neutronów w Świerku. Prowadzono badania struktury krystalicznej, magnetycznej i przemian fazowych w kryształach, w tym uporządkowanie magnetycznych momentów atomowych, badania struktury elektronowej ciała stałego, teoriogrupową analizę symetryczną, analizę układów aperiodycznych, badania mechanizmów deformacji plastycznej, strukturę polimerów i kwazikryształów.

Zakład Fizyki Ciała Stałego, Wydział Fizyki UJ w Krakowie

Badania z zastosowaniem rozpraszania neutronów zapoczątkował prof. H. Niewodniczański. Kolejni kierownicy: prof. J. Janik i A. Szytuła. Tematyka badawcza: struktury krystaliczne i magnetyczne związków ziem rzadkich badane metodami rentgenografii i neutronografii, struktury magnetyczne od zgodnych ze strukturą do struktur modulowanych niewspółmiernie w najniższych temperaturach. Zbadano ponad 200 związków międzymetalicznych i opublikowano je w 2 książkach w 1994 i 1998 roku.

**Centralne Laboratorium Rentgenografii i Mikroskopii Elektronowej,
Instytut Fizyki PAN w Warszawie**

Utworzone w 1967 roku przez prof. J. Auleytnera. Kolejny kierownik prof. K. Ławniczak-Jabłońska. Tematyka badawcza: mechanizm uszkodzeń powierzchni ciał stałych przez promieniowanie laserowe, analiza fazowa za pomocą rentgenowskiej spektroskopii absorpcyjnej i emisyjnej z użyciem źródeł konwencjonalnych i synchrotronowych, badanie struktur nieuporządkowanych, Badania przy pomocy mikroskopu elektronowego półprzewodników, tlenków metali, nadprzewodników, nanostruktur. Zastosowanie metody EXAFS do badania struktur bliskiego zasięgu. W 1978 roku prof. J. Auletner zorganizował w Warszawie 11th Congress of the International Union of Crystallography.

Podamy tylko nazwy pozostałych jednostek [6].

**Zakład Struktury i Dynamiki Sieci, Wydział Fizyki U. Warszawskiego
Instytut Technologii Materiałów Elektronicznych w Warszawie
Zakład Fizyki Kryształów, Wydział Fizyki UŚ w Katowicach
Zakład Kinytyki Przejść Fazowych, Wydział Fizyki UJ w Krakowie
Instytut Fizyki Doświadczalnej, Uniwersytet w Bałymstoku
Laboratorium Rentgenowskie, Instytut Energii Atomowej, Świerk**

9. WZROST KRYSZTAŁÓW I CIEKŁE KRYSZTAŁY

**Zakład Fizyki i Technologii Kryształów,
Wojskowa Akademia Techniczna w Warszawie**

Jest to główne w Polsce i jedno z największych w Europie centrum hodowli monokryształów i badań nad ciekłymi kryształami. W 1958 roku prof. J. Żmija – kierownik Zakładu – rozpoczął badania nad krystalizacją metali i związków między-metalicznych, monokryształów i efektów dyfuzyjnych w kryształach [6]. Profesorowie: B. Ciszewski, M. Demianiuk, E. Igras, T. Łukasiewicz, H. Ziencik, E. Michalski, J. Frydrychowicz, K. Kulicki, A. Majchrowski, J. Sadowski, R. Swiłło, J. Weyherth (monokryształy) i K. Czupryński, R. Dąbrowski, Z. Raszewski, C. Rymarz, J. Baran, J. Kędziński, B. Kłosowicz, E. Michalski, E. Nowinkowski, T. Opara, J. Zieliński, M. Oliferczuk, P. Parkowski, W. Piecek, J. Rutkowska (ciekłe kryształy) [4]. W 1965 rozpoczęto poszukiwania nowych materiałów dla laserów i akustyki mikrofalowej. Dyfuzję domieszek badano przy pomocy małokątowego rozpraszania promieni rentgenowskich. Rozwinięto teorię dyfrakcji kryształów politypowych. Badano efekty epitaksji na GaAs – uruchomiono laser półprzewodnikowy. W 1974 roku rozpoczęto badania nad ciekłymi kryształami. Utworzono nowe mieszaniny i fazy przydatne w wyświetlaczach i innych elementach termo- i elektro-optycznych.

Rozwinięto nowe metody badań ciekłych kryształów. Opracowano warunki stosowania ciekłych kryształów w telewizji kolorowej. Odkryto efekt fotochromowy w kryształach BGeO Obecnie grupa przygotowuje monokryształy do konstrukcji laserów nowej linii. Monokryształy o większych efektach nieliniowych używane są do wytwarzania wyższych harmonicznych promieniowania laserowego. Są również prowadzone studia nad półprzewodnikami. Od 1972 roku WAT organizuje cykliczne konferencje na temat monokryształów i ciekłych kryształów. Od 1995 roku są to dwie międzynarodowe konferencje. W latach parzystych *International Conference on Solid State Crystals – Materials, Science and Applications*, w latach nieparzystych *International Conference of Liquid Crystals – Chemistry, Physics and Applications*.

Wymienimy tylko nazwy pozostałych jednostek [6].

Instytut Fizyki, Politechnika Łódzka

Instytut Technologii Materiałów Elektronicznych

Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN, Wrocław

Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej

Instytut Chemii UŚ w Katowicach

Katedra Nauki o Materiałach Politechniki Śląskiej w Katowicach

Instytut Fizyki PAN w Warszawie

Instytut Technologii Elektronowej w Warszawie

Wydział Inżynierii Materiałowej Politechniki Warszawskiej

W sierpniu 2013 roku zorganizowano w Warszawie Międzynarodową Konferencję Wzrostu Kryształów (ICCGE 17) – przewodniczący komitetu organizacyjnego: prof. Z. Zytkiewicz i J. Friedrich.

10. KRYSZTALOGRAFIA BIAŁEK

Centrum Badań Biokryystalograficznych, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu

Centrum prowadzące samodzielnie produkcję białek metodami inżynierii genetycznej, ich oczyszczanie i krystalizację oraz badania dyfrakcyjne zorganizował w 1994 roku prof. Mariusz Jaskólski, który wcześniej w National Cancer Institute (USA) wspólnie w prof. A. Włodawerem rozwiązał strukturę proteazy wirusa HIV. Wyposażenie laboratorium sfinansowała Fundacja na Rzecz Nauki Polskiej. Profesorowie w Centrum: G. Bujacz, W. Rypniewski i dr hab. M. Sikorski. Kierunki badań: struktura kryształów białek pochodzących z wirusów, bakterii, grzybów, roślin i zwierząt, a także kompleksów fragmentów DNA z białkami. Z reguły kryształy o sprawdzonej na miejscu zdolności dyfrakcyjnej poddaje się badaniom dyfrakcyjnym przy użyciu rentgenowskiego promieniowania synchrotronowego. Prowadzone są też badania metodologiczne w zakresie wysokorozdzielczej krystalografii.

lografii makromolekuł. Ostatnio [6] rozwiązano strukturę białka z ziela dziurawca – Hyp-1 z grupy białek PR-10, o rekordowej liczbie 28 cząsteczek w asymetrycznej części komórki elementarnej. W ten sposób zamknęła się pętla między publikacjami 16-wiecznych lekarzy wydających herbarze opisujące zioła i minerały lecznicze i współczesną pracą krystalografów białkowych. Centrum postawiło sobie następujące cele: badania strukturalne na światowym poziomie, kształcenie nowej generacji biokrystalografów i stworzenie ośrodka integrującego specjalistów w skali krajowej i regionalnej. Centrum kształci licznych adeptów na studiach doktoranckich i stażach podoktorskich. Oprócz Polaków przebywało już tu 12 obcokrajowców z Indii, Meksyku, Portugalii, Turcji., Wielkiej Brytanii, Niemiec, Litwy i Ukrainy. Prof. Jaskólski organizuje wiele seminariów i zjazdów naukowych; wymienimy tu jedynie 3. 10. i 14. *Heart of Europe Biocrystallography Meeting „HEC”* w latach 2000, 2007 i 2011. Prof. Jaskólski jest wybranym członkiem European Molecular Biology Organization (EMBO).

**Laboratorium Krystalografii Białek,
Instytut Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej**

Prof. Grzegorz Bujacz, po stażu u A. Włodawera w National Cancer Institute w USA zorganizował Laboratorium Krystalografii Białek, gdzie wraz z zespołem prowadzi badania struktury białek wirusowych, bakteryjnych i zwierzęcych, oraz kompleksów tych białek z inhibitorami. Słynie z świetnych umiejętności krystalizowania białek.

**Laboratory of Structural Biology, International Institute of Molecular
and Cell Biology (Max-Planck – PAN Joint Junior Research Group w Warszawie)**

Kierownik: prof. Matthias Bochtler- były student Roberta Hubera w Max-Planck Institute w Monachium. Wyposażenie sfinansowała strona niemiecka, polska i Unia Europejska. Grupa składa się głównie z Polaków. Badania to struktura nowych peptydaz, endonukleaz, fosforylaz nukleozydów i ich inhibitorów.

W tym Instytucie, poza Laboratorium prof. Bochtlera, badania struktury białek prowadzi również dwójka doktorów po stażach w USA.

**Zakład Krystalochemii i Krystalofizyki Uniwersytetu Jagiellońskiego,
Grupa Badawcza Krystalografii Białek, Kraków**

Kierownik: prof. Krzysztof Lewiński po stażu u prof. Łukasza Lebiody na Uniwersytecie Południowej Karoliny (USA), zorganizował laboratorium białkowe. Prace

obejmują badania krystalograficzne rybonukleazy A i jej wariantów pod wysokim ciśnieniem, arylsulfatazy A, laktoglobuliny i innych białek.

Na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ pracuje również w dziedzinie krystalografii białek dr Grzegorz Dubin.

Zakład Krystalochemii i Biokrystalografii, UMK w Toruniu

Pod kierunkiem prof. A. Wojtczaka obroniono dwie prace doktorskie prezentujące struktury transtyretyny ludzkiej i szczurzej.

Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi

Prof. Barbara Nawrot prowadzi badania ludzkiego białka triady histydynowej.

11. POLSCY KRYSALOGRAFOWIE W AMERYCE PÓŁNOCNEJ

Jak dziś znane jest nazwisko Ignacego Domeyki w Południowej Ameryce, tak zaczyna budzić uwagę praca Polaków w dziedzinie krystalografii białek w Ameryce Północnej. Wyjątkowo duża grupa polskich krystalografów kieruje laboratoriami krystalografii białek w USA i Kanadzie. Są to [7] w USA: A. Joachimiak (Argonne Natl. Lab.), E. Ciszak (NASA), A. Włodawer, Z. Dauter (NCI), Ł. Lebioda (U. of S. Caroline), Z. Otwinowski, D. Borek (U. of Texas), Z. Wawrzak (APS), Z. Derewenda, W. Minor, M. Sabat (U. of Virginia). W Kanadzie pracują: M. Cygler (NRC), P. Grochulski (U. of Saskatchewan). Należy podkreślić, że wielu z nich dysponuje stacjami dyfrakcyjnymi przy synchrotronach. Jako przykład wymienimy Andrzeja Joachimiaka, który jest dyrektorem Structural Biology Center z jego synchrotronową linią dyfrakcyjną w Advanced Photon Source w Argonne.

Z. Otwinowski i A. Minor są autorami programu komputerowego HKL 2000 przetwarzającego synchrotronowy obraz dyfrakcyjny w zbiór danych do obliczeń struktury białek. W środowisku krystalografowie białkowi nazywani są żartobliwie „polską mafią”, utrzymują bliskie kontakty ze „starym krajem” i przyjmują stamtąd młodych adeptów na staże. W listopadzie 2011 roku w Warszawie odbył się kongres zorganizowany przez prof. J. Bujnickiego „Multi-Pole Approach to Structural Biology”, gdzie spotkali się niemal w komplecie polscy i amerykańscy krystalografowie białek oraz bioinformatycy, którzy na podstawie znajomości sekwencji aminokwasów w białku i wiedzy o kształcie fragmentów już rozwiązanych struktur budują modele komputerowe cząsteczek białkowych. Ich prace traktujemy jako hipotezy wymagające weryfikacji doświadczalnej. W kongresie wzięli również udział przedstawiciele polskich władz naukowych i ambasady USA Radzono nad dalszym rozwojem polskiej nauki.

UWAGI KOŃCOWE

Z okazji stulecia nagrody Nobla za odkrycie dyfrakcji promieni rentgenowskich na kryształach, na gmachu III Liceum im. św. Jana Kantego w Poznaniu zostanie odsłonięta w kwietniu 2014 roku tablica upamiętniająca, że tu uczył się gimnazjalista Max Laue – przyszły laureat tej nagrody.

Również z okazji tej rocznicy w czerwcu 2014 roku odbędzie się we Wrocławiu Ogólnopolska Olimpiada Krystalograficzna dla studentów i uczniów szkół ponadgimnazjalnych z bardzo atrakcyjnymi nagrodami.

Krystalografia polska, która dołączyła do nauki międzynarodowej dopiero w drugiej połowie dwudziestego wieku, dzięki pracy wielu entuzjastów szybko osiągnęła poziom światowy i dziś mamy polskich redaktorów w międzynarodowych czasopismach krystalograficznych, polskich wykładowców w Międzynarodowych Szkołach Krystalografii w Erice, a nasi młodzi wychowankowie zyskują uznanie w ośrodkach zagranicznych z powodu wyższych niż przeciętne umiejętności i wiedzy teoretycznej oraz przyjeżdżają do nas na studia zagraniczni adeptci.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] J. Kepler, *Noworoczny podarek albo o sześciokątnych płatkach śniegu*, (tłumaczenie): Wyd. Uniw. Warszawskiego, 2006.
- [2] C.P. Schuh, *On the History of Mineralogy and Crystallography from Beginnings through 1919*, Tucson, Arizona, 2007, str. 315.
- [3] M. Iłowiecki, *Dzieje Nauki Polskiej*, Wyd. Interpress, Warszawa 1981.
- [4] *Dzieje krystalografii polskiej*, Wyd. Naukowe UAM, Poznań, 2005.
- [5] J.M. Robertson, [w:] *Fifty Years of X-Ray Diffraction*, International Union of Crystallography, Utrecht, 1962, str. 147.
- [6] 55. Konwersatorium Krystalograficzne, Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN, Wrocław 2013, Streszczenia komunikatów.
- [7] NEWSLETTER of the International Union of Crystallography, Vol. 15, No. 1, Buffalo, USA, 2007.

Praca wpłynęła do Redakcji 16 grudnia 2013

**TRANSFORMACJE STRUKTURALNE
W KRYSTAŁACH WYWOŁANE REAKCJAMI
FOTOCHEMICZNYMI**

**STRUCTURAL TRANSFORMATIONS IN CRYSTALS
INDUCED BY PHOTOCHEMICAL REACTIONS**

Ilona Turowska-Tyrk*, Julia Bąkowicz

*Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska
Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław
e-mail: ilona.turowska-tyrk@pwr.edu.pl

Abstract

Wprowadzenie

1. Czynniki determinujące reaktywność cząsteczek w kryształach
 - 1.1. Czynniki geometryczne
 - 1.2. Czynniki steryczne
 - 1.3. Temperatura i ciśnienie
 - 1.4. Długość fali
2. Zmiany geometryczne w centrum reakcji
 - 2.1. Reakcje wewnątrzcząsteczkowe
 - 2.2. Reakcje międzycząsteczkowe
3. Zmiana orientacji cząsteczek i ich fragmentów
4. Zmiana geometrii wiązań wodorowych
5. Zmiana parametrów komórki elementarnej
6. Szybkość reakcji

Podsumowanie

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane

Prof. dr hab. Ilona Turowska-Tyrk ukończyła Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, gdzie również obroniła pracę doktorską wykonaną pod kierunkiem Prof. dr hab. Tadeusza Marka Krygowskiego. Pracowała przez 3 lata na Uniwersytecie Notre Dame w USA w grupie Prof. W. Roberta Scheidta, a następnie na Uniwersytecie Wrocławskim w zespole Prof. Tadeusza Głowiaka. W 1997 r. rozpoczęła pracę na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej w zespole Prof. dr hab. inż. Tadeusza Lutego. W 2004 r. uzyskała stopień doktora habilitowanego, a w 2012 r. tytuł profesora nauk chemicznych. Od ponad 10 lat zajmuje się krystalograficznymi badaniami reakcji fotochemicznych.

Dr inż. Julia Bąkowicz ukończyła Wydział Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej. Pracę magisterską oraz doktorską wykonywała pod kierunkiem Prof. dr hab. Ilony Turowskiej-Tyrk. Od 2010 r. pracuje jako asystent na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej, gdzie prowadzi badania strukturalne reakcji fotochemicznych w kryształach znajdujących się w warunkach normalnych oraz wysokiego ciśnienia.

ABSTRACT

Structural changes induced in crystals by photochemical reactions were presented. The changes concern: a) the distances between neighbouring reactant molecules and their mutual orientation in the case of intermolecular reactions, b) the distances and angles between fragments of a molecule for intramolecular reactions, c) the position of molecules in crystals, d) geometry of hydrogen bonds, e) cell constants, and f) the content of product molecules in crystals. For most intramolecular reactions, the distances between reactive atoms are constant for a long time in phototransformation and decrease rapidly at its end (Figs. 3 and 5). In the case of intermolecular reactions, the distances between reactive atoms of reactant molecules decrease linearly along with the phototransformation of crystals (Fig. 7). Additionally, unreacted molecules become, to a certain degree, similar to product molecules in terms of their shape (Figs. 4 and 8). Reactant and product molecules do not assume a fixed place in crystals. Product molecules change their orientation towards that of which is observed in a pure product crystal and reactant molecules gradually move away from the position they took in pure reactant crystals. All this has an influence on the geometry of hydrogen bonds existing in crystals (Fig. 9). The above-mentioned structural transformations find their expression in values of cell constants (Fig. 10). The factors influencing the photoreactivity of molecules in crystals were also described. Knowledge of crystal and molecular structures of partly reacted crystals, determined thanks to X-ray structure analysis which is a branch of crystallography, reveals the behaviour of molecules in crystals in which photochemical reactions proceed and helps to understand a pathway of these reactions.

Keywords: photochemical reactions in crystals, crystal and molecular structures, structural changes, X-ray structure analysis, crystallography

Słowa kluczowe: reakcje fotochemiczne w kryształach, struktura kryształu i cząsteczki, zmiany strukturalne, rentgenowska analiza strukturalna, krystalografia

WPROWADZENIE

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie reakcjami fotochemicznymi zachodzącymi w kryształach oraz w ciele stałym. Fakt ten związany jest z rozwojem selektywnej syntezy organicznej i nowoczesnych technologii, jak również technik badawczych.

Rentgenowska analiza strukturalna, korzystająca w ostatnich latach z pomiarów wykonywanych przy użyciu szybkich, dwuwymiarowych detektorów, jest jedną z metod używanych w badaniach reakcji fotochemicznych w kryształach. Dostarcza ona m.in. informacji o geometrii cząsteczek znajdujących się w kryształach oraz o ich wzajemnym usytuowaniu.

Pierwsze rentgenowskie badania strukturalne reakcji fotochemicznych w kryształach ograniczały się do analizy struktury kryształu substratu i na tej podstawie do przewidywania, lub wyjaśniania, struktury cząsteczki produktu. Zostały one zapoczątkowane przez Schmidta i Cohena [1], którzy podkreślali istotność tzw. postulatu topochemicznego. Zgodnie z nim reakcje chemiczne w kryształach przebiegają przy jak najmniejszej zmianie położenia atomów i cząsteczek oraz minimalnej zmianie powierzchni wnęki reakcyjnej [2]. Warto dodać, że badania takie są prowadzone również w obecnych latach, a postulat topochemiczny jest nadal wykorzystywany w interpretacji reakcji fotochemicznych zachodzących w kryształach. Prowadzono także analizę porównawczą struktury kryształu czystego substratu ze strukturą kryształu czystego produktu, co umożliwiała analizę odległości pomiędzy analogicznymi atomami cząsteczek substratu i produktu [3–6]. Analiza taka nie ujawniała jednak szczegółów przebiegu transformacji wiodącej od kryształu substratu do kryształu produktu. W kilku przypadkach opublikowano struktury kryształów częściowo przereagowanych, tzn. zawierających zarówno cząsteczki substratu jak i produktu. Struktury takie zazwyczaj nie były szczegółowo analizowane przez autorów, lecz stanowiły dowód zajścia reakcji fotochemicznej w kryształach, bądź służyły do wyjaśnienia mechanizmu reakcji [7–16].

W latach osiemdziesiątych i dziewięćdziesiątych ubiegłego stulecia krystalograficzne badania przebiegu reakcji fotochemicznych dotyczyły jedynie monitorowania zmiany parametrów komórki elementarnej lub zmiany położenia grupy atomów wewnątrz cząsteczki [7, 17–27].

W kolejnych latach pojawiły się prace dotyczące monitorowania zmian zachodzących w strukturze całego kryształu w trakcie fototransformacji „monokryształ substratu $\xrightarrow{h\nu}$ monokryształ produktu”. Temu zagadnieniu zostanie poświęcony niniejszy artykuł.

Warunkiem monitorowania zmian strukturalnych w kryształach za pomocą metod krystalograficznych, konkretnie rentgenowskiej analizy strukturalnej, jest prowadzenie fototransformacji w sposób homogeniczny, zapobiegający niszczeniu i rozpadowi monokryształu (Schemat 1). W procesie wywoływania reakcji fotochemicznej w kryształach oraz prowadzenia jej w sposób homogeniczny bar-

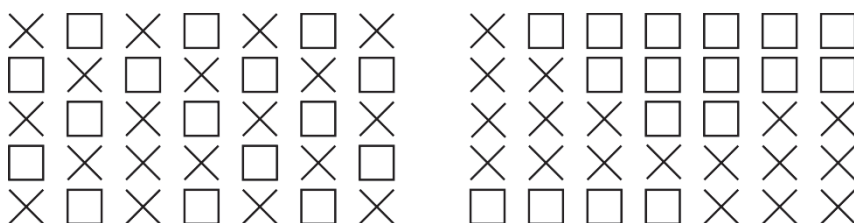
dzo pomocna jest znajomość czynników wpływających na reaktywność cząsteczek w kryształach.

1. CZYNNIKI DETERMINUJĄCE REAKTYWNOŚĆ CZĄSTECZEK W KRYSZTAŁACH

Istnieją różnice pomiędzy czynnikami wpływającymi na reakcje przebiegające w kryształach i w roztworze. Związek, który jest reaktywny w roztworze, w kryształach może nie ulegać reakcji. Ponadto, ten sam związek może zachowywać się w różny sposób w różnych odmianach polimorficznych kryształów.

1.1. CZYNNIKI GEOMETRYCZNE

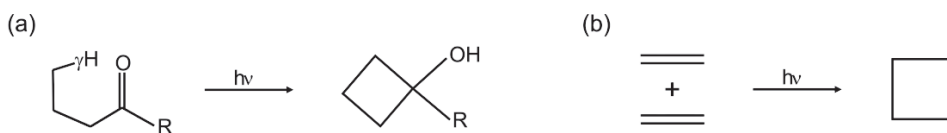
Do zasadniczych kryteriów, które muszą być spełnione, aby związki chemiczne w postaci krystalicznej ulegały reakcji fotochemicznej należą kryteria geometryczne. Zostały one sformułowane m.in. na podstawie analizy struktur krystalicznych wielu związków potencjalnie fotoreaktywnych.



Schemat 1. Schematyczne przedstawienie transformacji przebiegającej w sposób homogeniczny (na lewo) i heterogeniczny (na prawo)

Scheme 1. Schematic representation of homogeneous (left) and heterogeneous (right) transformation

Czynniki geometryczne były najintensywniej badane w przypadku reakcji Norrish-Yanga (Schemat 2a) oraz fotodimeryzacji [2+2] (Schemat 2b).



Schemat 2. Równania (a) reakcji Norrish-Yanga i (b) fotodimeryzacji [2+2]

Scheme 2. Equations of (a) a Norrish-Yang reaction and (b) [2+2] photodimerization

W przypadku reakcji Norrish-Yanga czynniki te są następujące [28, 29]:
 d – odległość (C)O... γ H między atomem tlenu grupy karbonylowej i atomem wodoru znajdującym się w pozycji gamma w stosunku do grupy karbonylowej,
 D – odległość (O)C... γ C między reagującymi atomami węgla,

ω – wychylenie atomu γH z płaszczyzny grupy karbonylowej,

Δ – kąt $\text{C}=\text{O}\cdots\gamma\text{H}$ oraz

Θ – kąt $\gamma\text{C}-\gamma\text{H}\cdots\text{O}$.

Wartości idealne, średnie oraz przedział wartości obserwowanych dla wymienionych powyżej parametrów geometrycznych w przypadku fotoreaktywnych związków zostały podane w Tabeli 1.

Tabela 1. Wartości wewnątrzcząsteczkowych parametrów geometrycznych dla reakcji Norrish-Yanga
Table 1. Values of intramolecular geometrical parameters for a Norrish-Yang reaction

	Wartość idealna	Wartość średnia [28, 29]	Zakres [30]
d (Å)	< 2,7	2,64(8)	2,39–2,95
D (Å)		3,00(9)	2,82–3,12
ω (°)	0	54(10)	50,8–85,5
Δ (°)	90–120	82(8)	52,0–88,0
Θ (°)	180	116(3)	112,0–131,6

Należy zaznaczyć, iż podane powyżej warunki geometryczne są konieczne do zajścia reakcji w kryształach, jednakże niewystarczające. Znane są przypadki związków chemicznych nieulegających reakcji Norrish-Yanga w kryształach, pomimo spełnienia wymagań geometrycznych [31, 32].

W przypadku fotodimeryzacji [2+2] wymagania geometryczne, dotyczące wzajemnego usytuowania dwóch sąsiednich cząsteczek monomeru, można przedstawić za pomocą następujących parametrów:

D – odległość pomiędzy bezpośrednio reagującymi atomami w cząsteczkach monomerów. Na podstawie danych eksperymentalnych powszechnie uważa się, iż odległość ta powinna być mniejsza niż 4,2 Å.

α – kąt $\text{C}=\text{C}\cdots\text{C}$ utworzony przez wiązania $\text{C}=\text{C}$ sąsiednich cząsteczek. Wartość idealna: 90°.

κ – kąt pomiędzy płaszczyzną $>\text{C}=\text{C}<$ jednej cząsteczki a płaszczyzną utworzoną przez cztery reagujące atomy C. Wartość idealna: 90°.

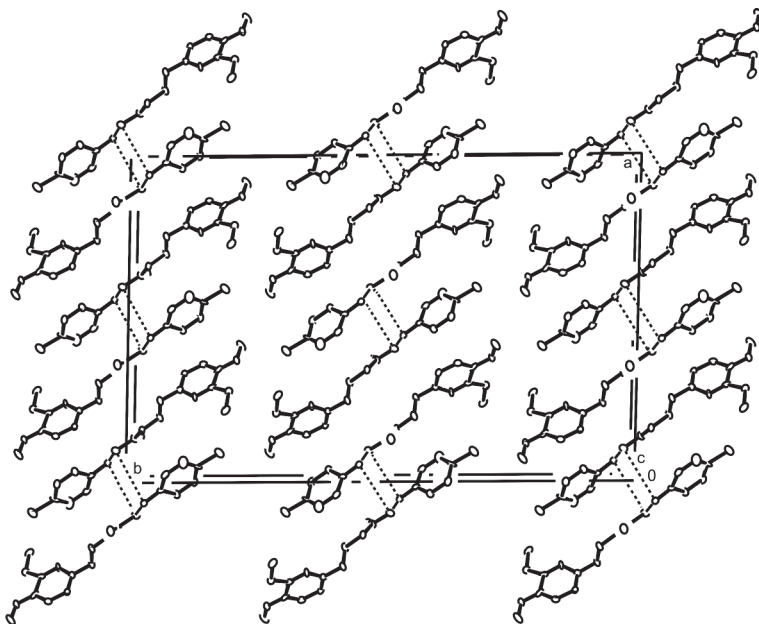
τ – kąt torsyjny $\text{C}=\text{C}\cdots\text{C}=\text{C}$ utworzony przez wiązania $\text{C}=\text{C}$ sąsiednich cząsteczek. Wartość idealna: 0°.

φ – kąt pomiędzy fragmentami $>\text{C}=\text{C}<$ sąsiednich cząsteczek. Wartość idealna: 0°.

W przypadku reakcji fotodimeryzacji [2+2] idealna orientacja sąsiednich cząsteczek monomeru ma miejsce wtedy, gdy reagujące wiązania podwójne są wzajemnie równoległe i usytuowane bezpośrednio nad sobą [33–35]. Usytuowanie umożliwiający zajście reakcji można czasem wymusić, na przykład poprzez zastosowanie układu gospodarz–gość, w którym cząsteczka reaktywna pełni rolę gościa [36], lub poprzez odpowiednią aranżację oddziaływań międzycząsteczkowych w innych kryształach dwuskładnikowych [37–39]. Znane są także związki, w przypadku których reakcja zachodzi dla orientacji dalekiej od idealnej [33, 40, 41]. Wymienione

powyżej parametry geometryczne znajdują zastosowanie również w analizie reakcji fotodimeryzacji [4+4] oraz [4+2] [42, 43].

Wzajemna orientacja sąsiednich cząsteczek monomeru w kryształach wpływa na rodzaj powstającego produktu: gdy cząsteczki są zorientowane głowa-do-ogona, powstaje produkt centrosymetryczny (Rys. 1) [44], natomiast usytuowanie głowa-do-głowy powoduje tworzenie się produktu symetrycznego względem płaszczyzny.



Rysunek 1. Wzajemne usytuowanie sąsiednich cząsteczek substratu ulegających fotodimeryzacji [2+2] w kryształach związku **1** (Schemat 3). Linie przerywane symbolizują wiązania tworzące się w wyniku fotoreakcji. Rysunek został przygotowany na podstawie danych zawartych w pracy [44]

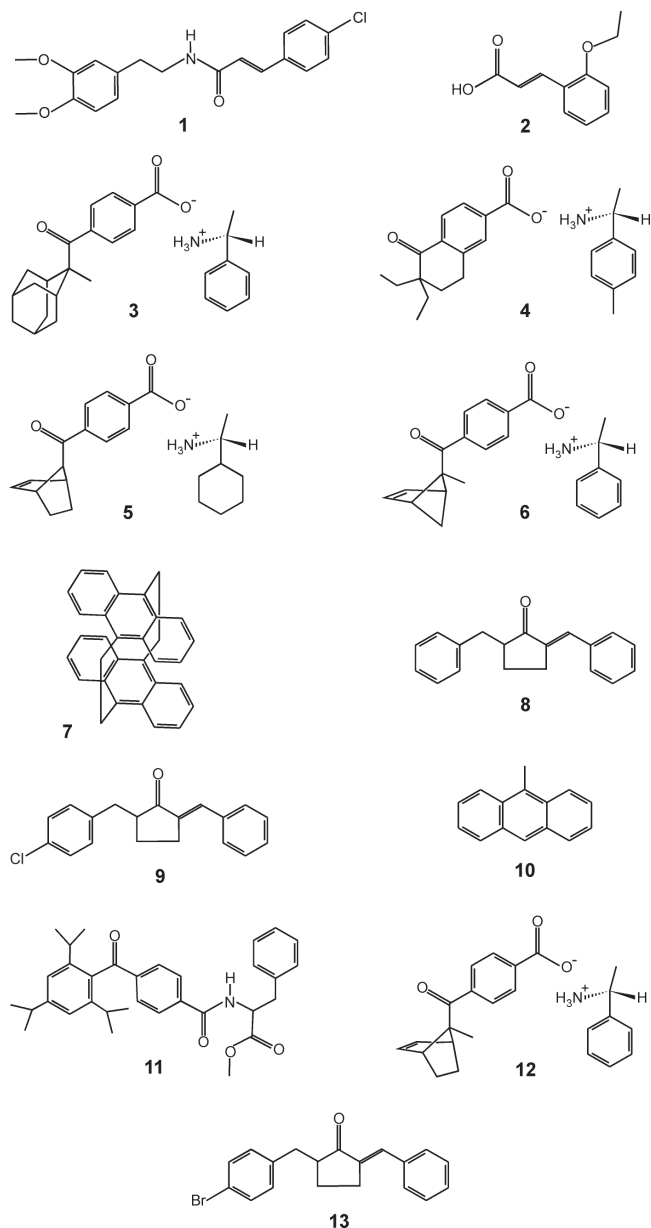
Figure 1. The mutual arrangement of adjacent reactant molecules undergoing [2+2] photodimerization in crystals of compound **1** (Scheme 3). The broken lines symbolize bonds being formed in the photoreaction. The figure was prepared on the basis of data from [44]

1.2. CZYNNIKI STERYCZNE

Czynniki steryczne stanowią różnego rodzaju przeszkody przestrzenne, decydujące o możliwości i łatwości ruchów cząsteczek i ich fragmentów w kryształach i w związku z tym, np. o zajęciu reakcji.

Występowanie w kryształach oddziaływań międzycząsteczkowych, takich jak m.in. wiązania wodorowe, oddziaływania $\pi \cdots \pi$, halogen \cdots halogen, utrudnia przemieszczanie się atomów mogących brać udział w reakcji. Dla kryształów związków łatwo ulegających reakcji Norrish-Yanga nie obserwuje się międzycząsteczkowych oddziaływań $\pi \cdots \pi$ [45, 46]. Znane są również przykłady związków, dla których przyczyną braku reakcji w kryształach jest obecność wiązań wodorowych [23, 35, 47, 48].

Wnęka reakcyjna o zbyt małej objętości, lub zbyt wąska, również uniemożliwia zajście reakcji w kryształach [31, 32, 49–51]. Ponadto, zbyt mała wnęka może powodować, że reakcja w kryształach będzie przebiegać w sposób nie homogeniczny, lecz heterogeniczny, prowadzący do rozpadu kryształu [52–54]. Rozmiar i kształt wnęki może również wpływać na rodzaj tworzącego się produktu [55].



Schemat 3. Wzory związków chemicznych dyskutowanych w artykule
 Scheme 3. Formulae of the chemical compounds discussed in the paper

1.3. TEMPERATURA I CIŚNIENIE

Wzrost temperatury, powodując nadmierne drgania atomów, może utrudniać utworzenie przez te atomy wiązania. Może także wywoływać odmienny efekt, gdy orientacja sąsiednich cząsteczek monomeru (lub ich fragmentów) nie jest wystarczająco korzystna. Wzrost temperatury może dodatnio wpływać na reaktywność cząsteczek również poprzez zwiększenie objętości wnęki reakcyjnej [46, 50]. Z kolei zbyt niska temperatura, przy nieoptymalnie usytuowanych sąsiednich cząsteczkach monomeru, może wykluczyć reakcję [56, 57].

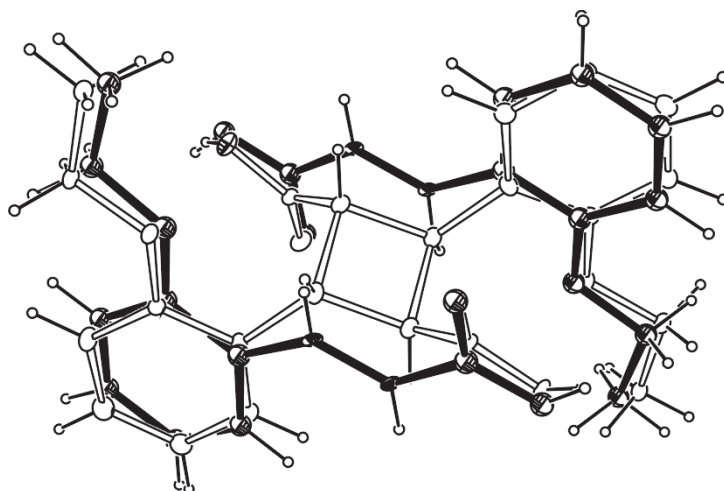
Ciśnienie jest kolejnym ważnym narzędziem, za pomocą którego można sterować reaktywnością cząsteczki. Wysokie ciśnienie, powodując zmniejszenie odległości pomiędzy sąsiednimi atomami i cząsteczkami, zmianę ich orientacji w kryształach, zmniejszenie objętości wnęki reakcyjnej, jak również spadek wartości atomowych parametrów przemieszczenia, może mieć wpływ na zajście i przebieg reakcji [58–60].

1.4. DŁUGOŚĆ FALI

Długość fali promieniowania użytego do wywoływania reakcji w kryształach może decydować o tym, czy reakcja w ogóle zajdzie oraz o tym, jaki uzyskamy produkt [56]. W literaturze naukowej można znaleźć informacje mówiące o wpływie zastosowanej długości fali na trwałość kryształu. Ta z niskoenergetycznego zakresu „ogona” absorpcji danego związku zmniejsza szanse rozpadu kryształu w trakcie reakcji fotochemicznej [14, 61, 62].

2. ZMIANY GEOMETRYCZNE W CENTRUM REAKCJI

Obraz cząsteczki otrzymany dzięki rentgenowskiej analizie strukturalnej jest uśredniony po objętości kryształu. W konsekwencji, w przypadku kryształów częściowo przereagowanych, tzn. zawierających zarówno cząsteczki substratu jak i cząsteczki produktu, obserwuje się obraz, w którym oba rodzaje cząsteczek są wzajemnie nałożone (Rys. 2).



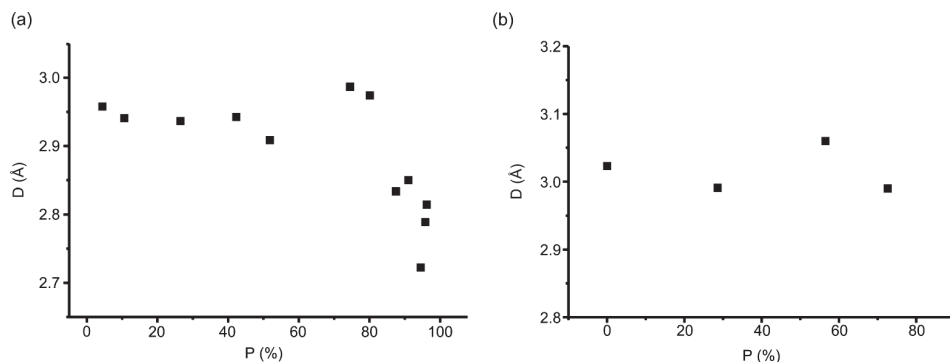
Rysunek 2. Obraz cząsteczek substratu związku 2 (Schemat 3) (pełne wiązania) i produktu (puste wiązania) w kryształach o 68% stopniu przereagowania. Rysunek został przygotowany na podstawie danych zawartych w pracy [63]

Figure 2. Image of reactant and product molecules (full and empty bonds, respectively) for compound 2 (Scheme 3) in a crystal at 68% reaction progress. The figure was prepared on the basis of data from [63]

Wraz z postępowaniem reakcji zmienia się stopniowo zawartość produktu i substratu w kryształach, co oznacza, że zmienia się stopniowo struktura kryształu. Analiza takich struktur dla wielu etapów transformacji, wiodącej od monokryształu substratu do monokryształu produktu, pozwala poznać drogę zmian strukturalnych w kryształach, w tym określić różnice i podobieństwa dla różnych związków ulegających danemu typowi reakcji oraz dla różnych typów reakcji.

2.1. REAKCJE WEWNĄTRZCZĄSTECZKOWE

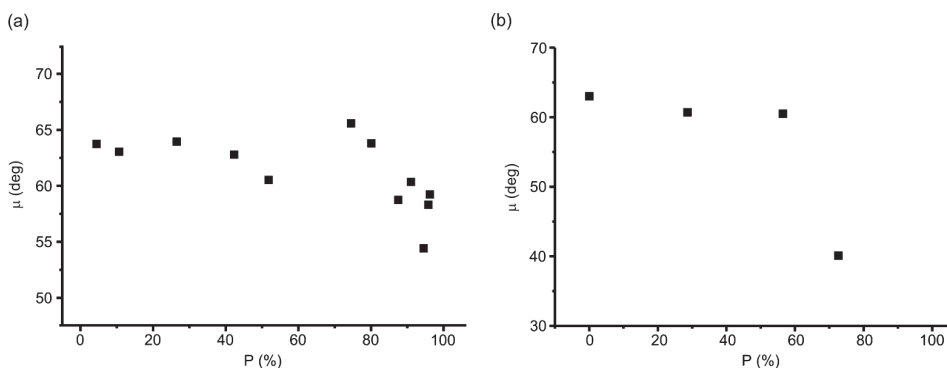
W przypadku wewnątrzcząsteczkowej reakcji Norrish-Yanga odległość między reaktywnymi atomami cząsteczki substratu, D , jest przez długi czas fototransformacji kryształu statystycznie stała i dopiero pod koniec procesu w przypadku niektórych związków ulega gwałtownemu zmniejszeniu (Rys. 3) [64, 65].



Rysunek 3. Zmiana odległości pomiędzy bezpośrednio reagującymi atomami wraz ze zmianą zawartości produktu w kryształach dla (a) związku 3 oraz (b) związku 4 (Schemat 3). Rysunek został przygotowany na podstawie danych zawartych w pracach [64] i [65]

Figure 3. Variations in distances between directly reacting atoms along with changes in the content of the product in a crystal for (a) compound 3 and (b) compound 4 (Scheme 3). The figure was prepared on the basis of data from [64] and [65]

Analogiczna sytuacja ma miejsce w przypadku parametrów kątowych, np. kąta torsyjnego zawierającego atomy cząsteczki substratu mające utworzyć w wyniku reakcji pierścień cyklobutanowy (Rys. 4). Mianowicie, przez długi czas fototransformacji kryształu wartość analizowanego kąta zmienia się nieznacznie i dopiero pod koniec procesu dąży w kierunku wartości obserwowanej dla pierścienia cyklobutanowego w cząsteczce produktu.



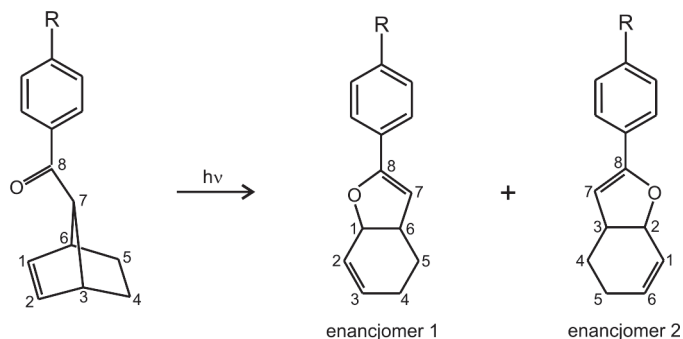
Rysunek 4. Zmiana kąta torsyjnego dla atomów, które utworzą pierścień cyklobutanowy wraz ze zmianą zawartości produktu w kryształach dla (a) związku 3 oraz (b) związku 4. Rysunek został przygotowany na podstawie danych zawartych w pracach [64] i [65]

Figure 4. Variations in the torsion angle for atoms which will form a cyclobutane ring along with changes in the content of the product in a crystal of (a) compound 3 and (b) compound 4. The figure was prepared on the basis of data from [64] and [65]

Taki przebieg zależności został wytłumaczony naciskiem wywieranym przez powstałe cząsteczki produktu na cząsteczki substratu. Przez długi czas fototransformacji kryształu cząsteczki produktu nie są w stanie wyrzucić odpowiedniego

nacisku na dosyć sztywne cząsteczki substratu i na centrum reakcji. Dopiero gdy w kryształach znajdzie się duża liczba cząsteczek produktu, ich wpływ jest wystarczająco silny aby zmienić geometrię cząsteczek substratu.

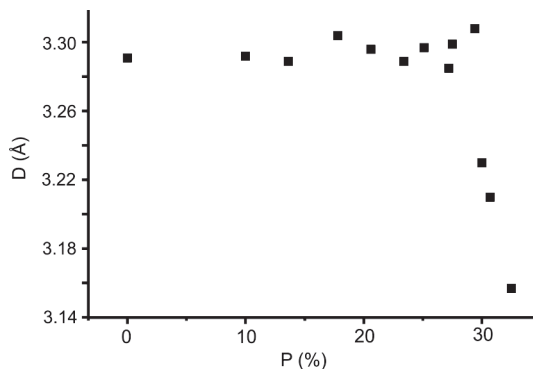
Analiza zmiany geometrii cząsteczek substratu, wraz ze zmianą stopnia przereagowania kryształu, pozwoliła zrozumieć dlaczego niektóre reakcje w kryształach, wbrew przewidywaniom opartym na analizie geometrii kryształu czystego substratu, nie są enancjoselektywne. Rozważania takie przeprowadzono w przypadku reakcji przegrupowania retro-Claisena (Schemat 4) w kryształach związku **5** (Schemat 3) oraz reakcji Norrish-Yanga (Schemat 2a) dla związku **6** (Schemat 3) [66, 67].



Schemat 4. Równanie reakcji przegrupowania retro-Claisena dla związku **5**

Scheme 4. Equation of retro-Claisen rearrangement for compound **5**

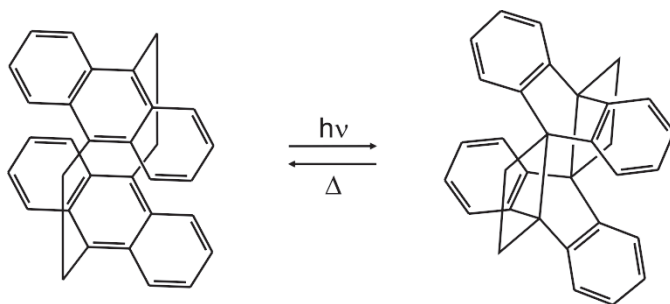
W pierwszej z wymienionych powyżej reakcji, w zależności od usytuowania grupy karbonylowej względem atomów węgla C1 i C2, mogą powstawać dwa enancjomery. Analiza odległości w kryształach czystego substratu, tzn. jeszcze przed reakcją, jednoznacznie wskazuje, że wiązanie O–C utworzy tylko atom C1. W rzeczywistości powstaje jednak mieszanina enancjomerów, z przewagą jednego z nich. Z wcześniejszych badań wynika, że tego typu reakcja nie zachodzi w kryształach w sytuacji gdy odległość między atomami O i C jest większa niż 3,20(5) Å [29]. W przypadku badanego związku odległość O...C2 przez długi czas wynosi ok. 3,3 Å, co wskazuje na bierność atomu. Jednakże, gdy w kryształach znajduje się ok. 30% cząsteczek produktu, odległość ta zaczyna maleć w kierunku wartości 3,1 Å, co umożliwia reakcję wiodącą do utworzenia drugiego enancjomeru (Rys. 5). W analogiczny sposób wytłumaczona została niska enancjoselektywność reakcji Norrish-Yanga prowadzonej w kryształach związku **6** [67].



Rysunek 5. Zmiana odległości między atomem tlenu i atomem węgla, biorącymi udział w reakcji wiodącej do powstania drugiego enancjomeru w kryształach związku 5, wraz ze wzrostem zawartości cząstek produktu. Rysunek został przygotowany na podstawie danych zawartych w pracy [66]

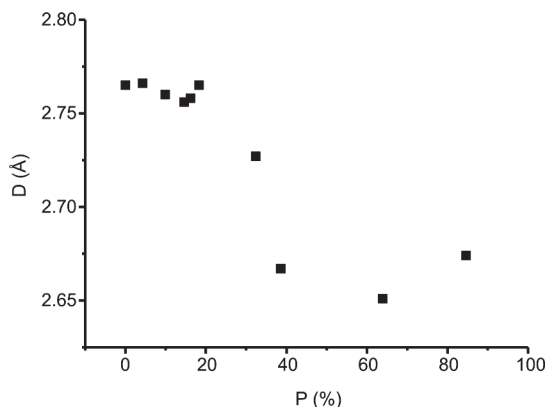
Figure 5. Variation in the distance between the oxygen and carbon atoms, taking part in the formation of the second enantiomer in crystals of compound 5, along with the increase of content of the product. The figure was prepared on the basis of data from [66]

Interesująca zależność została zaobserwowana w przypadku kryształów związku 7 (Schemat 3) ulegającego reakcji fotocykloaddycji [4+4] (Schemat 5, Rys. 6) [68]. W początkowych etapach fototransformacji odległość pomiędzy atomami węgla, mogącymi utworzyć wiązanie, praktycznie nie zmienia się, co jest konsekwencją sztywności cząsteczek substratu i nacisku niewielkiej liczby cząsteczek produktu. W późniejszych etapach, gdy cząsteczek produktu jest wystarczająco dużo i nacisk jest wystarczająco silny, następuje gwałtowne zmniejszenie owej odległości. W etapach końcowych ma miejsce pewna stabilizacja odległości, wynikająca z faktu, iż nawet duża liczba cząsteczek produktu nie jest w stanie pokonać sztywności cząsteczki substratu i ścisnąć ją w większym stopniu.



Schemat 5. Równanie fotodimeryzacji [4+4] dla związku 7

Scheme 5. Equation of [4+4] photodimerization of compound 7

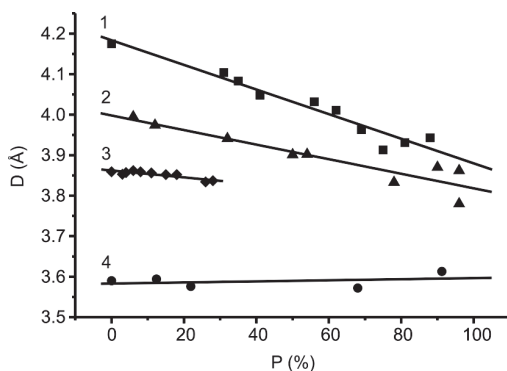


Rysunek 6. Zmiana odległości między atomami węgla tworzącymi nowe wiązanie w reakcji fotodimeryzacji [4+4] w kryształach związku 7 wraz ze wzrostem zawartości cząsteczek produktu. Rysunek został przygotowany na podstawie danych zawartych w pracy [68]

Figure 6. Variation in the distance between the carbon atoms forming the new bond in [4+4] photodimerization in crystals of compound 7 along with the increase of content of product molecules. The figure was prepared on the basis of data from [68]

2.2. REAKCJE MIĘDZYCZĄSTECZKOWE

W przypadku międzycząsteczkowych reakcji fotocykloaddycji, w przeciwieństwie do wewnątrzcząsteczkowych reakcji fotocyklizacji, odległość D pomiędzy reaktywnymi atomami, znajdującymi się w sąsiednich cząsteczkach substratu, maleje od samego początku fototransformacji (Rys. 7) [69–71].



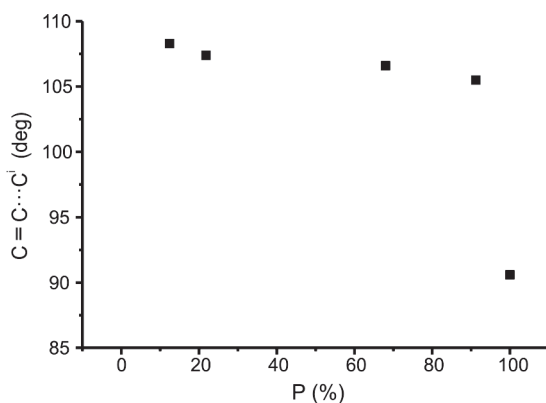
Rysunek 7. Zmiana odległości między atomami sąsiednich cząsteczek bezpośrednio biorącymi udział w reakcji fotodimeryzacji [2+2] wraz ze zmianą zawartości produktu w kryształach. Linie 1, 2, 3 i 4 dotyczą odpowiednio związków 8, 9, 10 i 2 (Schemat 3). Rysunek został przygotowany na podstawie danych zawartych w pracach [63, 69–71]

Figure 7. Changes in distances between atoms of neighbouring molecules taking direct part in the [2+2] photodimerization together with changes of product content in crystals. Lines 1, 2, 3 and 4 concern compounds 8, 9, 10 and 2, respectively (Scheme 3). The figure was prepared on the basis of data from [63, 69–71]

Obserwowane zmniejszenie odległości zostało wytłumaczone mniejszą objętością cząsteczki produktu w stosunku do pary cząsteczek substratu i w związku z tym naciskiem na cząsteczki substratu, powodującym wzajemne ich przybliżenie. Im więcej produktu w kryształach, tym efekt silniejszy. Również fakt, że odległość ta maleje od samego początku reakcji jest zrozumiałą, jako że odległości międzycząsteczkowe są łatwiej deformowalne niż wewnątrzcząsteczkowe. Nachylenie linii prostych przedstawionych na Rysunku 7 jest różne dla kryształów różnych związków i można je skorelować z odległością pomiędzy sąsiednimi cząsteczkami substratu: im większa odległość, tym większe nachylenie. Jest to zrozumiałe, jako że sieć charakteryzująca się większymi odległościami międzycząsteczkowymi powinna łatwiej ulegać deformacji.

Należy zwrócić uwagę, że w przypadku kryształów związku **2** [63] odległość między reaktywnymi atomami, znajdującymi się w sąsiednich cząsteczkach, jest w przybliżeniu stała i wynosi ok. 3,6 Å na całej drodze fototransformacji. Stałość ta nie jest zaskakująca, jeśli uwzględnimy fakt, że analizowana odległość jest bardzo bliska sumie promieni van der Waalsa [72].

Monitorowanie zmian geometrycznych w centrum reakcji prowadzono również dla parametrów kątowych, np. opisujących tworzenie się pierścienia cyklobutanowego w międzycząsteczkowej fotocykloaddycji [2+2]. W przypadku wymienionej reakcji międzycząsteczkowej sąsiednie cząsteczki substratu wraz z postępem fototransformacji zmieniają swoją wzajemną orientację na orientację coraz bardziej przypominającą cząsteczkę produktu. W kryształach związku **2** wartość kąta przedstawiającego wzajemną orientację cząsteczek substratu zmienia się w kierunku wartości kąta obserwowanego w utworzonym w wyniku reakcji pierścieniu cyklobutanowym, tzn. 90° (Rys. 8) [63].



Rysunek 8. Zmiana kąta C=C...C utworzonego przez sąsiednie cząsteczki substratu wraz z postępem fototransformacji dla związku **2**. Rysunek został przygotowany na podstawie danych zawartych w pracy [63]

Figure 8. Variation in the C=C...C angle formed by neighbouring reactant molecules along with photo-transformation progress for compound **2**. The figure was prepared on the basis of data from [63]

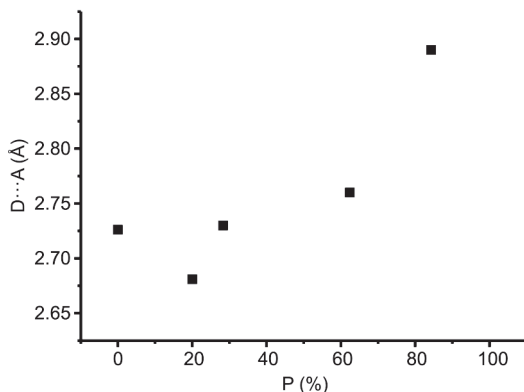
Zmiana wzajemnego usytuowania dwóch cząsteczek monomeru, wyrażona, np. za pomocą powyższego parametru kąтового, może mieć znaczący wpływ na szybkość reakcji [73].

3. ZMIANA ORIENTACJI CZĄSTECZEK I ICH FRAGMENTÓW

Z przeprowadzonych badań wynika, że cząsteczki substratu i produktu nie zajmują stałego miejsca w kryształach w trakcie fototransformacji. Zmiany zachodzące w kryształach powodują, że cząsteczki substratu stopniowo przemieszczają się z miejsca zajmowanego w kryształach czystego substratu. Analogiczna sytuacja występuje w przypadku cząsteczek produktu, które tworzą się w pewnym oddaleniu od miejsca zajmowanego w kryształach czystego produktu i następnie stopniowo przemieszczają się w kierunku tego miejsca. Ruch cząsteczek charakteryzuje się składową rotacyjną. Wraz z postępem reakcji swoje położenie w kryształach zmieniają również cząsteczki rozpuszczalnika oraz jony nie biorące bezpośredniego udziału w reakcji [64–67, 74, 75]. Zmiany orientacji cząsteczek wynoszą od kilku do ok. 20°, zarówno w przypadku reakcji wewnątrzcząsteczkowych, jak i międzycząsteczkowych. Nie są one duże, jednakże większe powodowałyby niszczenie kryształów, co uniemożliwiłoby przeprowadzenie rentgenowskiej analizy strukturalnej i badań monitorujących fotoindukowane zmiany strukturalne.

4. ZMIANA GEOMETRII WIĄZAŃ WODOROWYCH

Konsekwencją zmiany wzajemnego położenia cząsteczek w kryształach oraz ich kształtu wraz z postępem fototransformacji jest zmiana geometrii wiązań wodorowych, a nawet w niektórych przypadkach ich zerwanie [55, 65, 68, 76]. Na przykład w kryształach związków **4** i **6** dla jednego z wiązań wodorowych odległości N...O i H...O maleją o ok. 0,2 Å, przy czym wraz z ich spadkiem rośnie o ok. 10° wartość kąta N-H...O [65, 67] (Rys. 9). W przypadku związku **11** (Schemat 3) obserwujemy wzrost odległości N...O o ok. 0,1 Å, przy czym wartość kąta maleje o ok. 25° [76]. Ogólnie mówiąc, w kryształach różnych związków długości wiązań wodorowych mogą zarówno maleć, jak i rosnąć w wyniku fototransformacji cząsteczek i kryształu. Taka sytuacja może mieć miejsce także w przypadku różnych wiązań wodorowych w kryształach jednego związku.



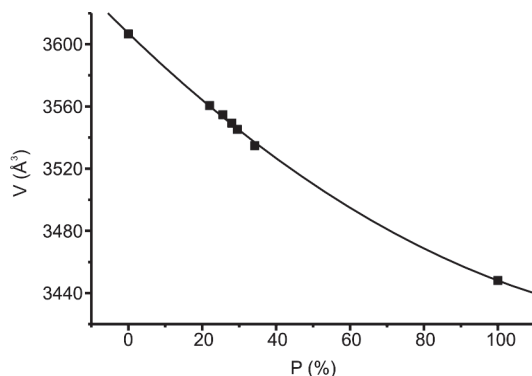
Rysunek 9. Zmiana odległości N...O dla wybranego wiązania wodorowego w kryształach związku **6** wraz z postępem fototransformacji kryształu. Rysunek został przygotowany na podstawie danych zawartych w pracy [67]

Figure 9. Change in the N...O distance for a given hydrogen bond in compound **6** along with the photo-transformation progress. The figure was prepared on the basis of data from [67]

5. ZMIANA PARAMETRÓW KOMÓRKI ELEMENTARNEJ

Opisane powyżej fotoindukowane zmiany strukturalne w kryształach, związane z reorganizacją atomów i cząsteczek, znajdują swoje odzwierciedlenie w zmianach parametrów komórki elementarnej i jej objętości.

W zależności od badanego związku chemicznego oraz typu reakcji fotochemicznej objętość komórki elementarnej zmienia się w różny sposób, jednakże maksymalne obserwowane zmiany wynoszą ok. 5–6%. W kryształach związku **6** [67], ulegającego reakcji Norrish-Yanga, objętość komórki elementarnej maleje w sposób nieliniowy od samego początku reakcji, z kolei dla związku **12** (Schemat 3) [77] objętość komórki elementarnej rośnie, zaś dla związku **3** [64] objętość rośnie do ok. 90% stopnia przereagowania kryształu, po czym maleje. Analogiczna różnorodność ma miejsce w przypadku międzycząsteczkowej reakcji fotocyklizacji [2+2], gdzie także mamy do czynienia z tworzeniem pierścienia cyklobutanowego. Na przykład, dla związku **8** objętość komórki elementarnej maleje, aczkolwiek po początkowym niewielkim wzroście [24], dla związku **1** oraz **9** maleje na całej drodze fototransformacji (Rys. 10) [44, 70], zaś dla związku **13** (Schemat 3) jest stała [7]. Analizowane były również zmiany parametrów komórki elementarnej dla reakcji fotodimeryzacji [4+2] [78, 79]. Różnorodność charakteru zmian objętości komórki elementarnej jest wynikiem zmiany liczby cząsteczek substratu i produktu w kryształach w trakcie fototransformacji i związanymi z tym zmianami objętości cząsteczek oraz upakowania, zachodzącymi w różny sposób dla różnych związków.



Rysunek 10. Zmiana objętości komórki elementarnej wraz ze zmianą zawartości produktu w kryształach związku **1**. Rysunek został przygotowany na podstawie danych zawartych w pracy [44]

Figure 10. Variation of the unit cell volume along with content of the product in crystals of compound **1**. The figure was prepared on the basis of data from [44]

Należy dodać, że wzrost objętości komórki elementarnej może być w pewnym stopniu rezultatem efektu innego niż reakcja fotochemiczna, to jest zaniku właściwości dyfrakcyjnych kryształu podczas działania promieniowania UV [76, 80, 81].

Zmiany objętości komórki elementarnej są wypadkową zmian poszczególnych parametrów komórki (a , b , c oraz α , β , γ). Na przykład, zmniejszanie się wartości danego parametru (a , b lub c) jest wynikiem tworzenia się w tym kierunku, lub kierunku mu bliskim, wiązań chemicznych w miejsce oddziaływań van der Waalsa i związanych z tym zmian upakowania cząsteczek w kryształach.

6. SZYBKOŚĆ REAKCJI

Zmiana zawartości cząsteczek produktu w kryształach, wraz z czasem działania promieniowania wywołującego reakcję, ma charakter eksponentylny. Taki przebieg reakcji wskazuje, iż jej szybkość zależy od koncentracji cząsteczek substratu w kryształach, tzn. im jest ich mniej, tym reakcja przebiega wolniej. Tego typu zależność była obserwowana zarówno w przypadku reakcji wewnątrzcząsteczkowych [65–67], jak i międzycząsteczkowych [63, 69, 70]. Eksponentylna zależność została podana również dla związków ulegających fotoizomeryzacji [75, 82–84]. Zawartość cząsteczek produktu w kryształach określana była w trakcie procesu wyznaczania struktury kryształu, na podstawie czynnika obsadzenia (SOF).

Niezwykle ciekawa wydaje się analiza szybkości reakcji w sytuacji, gdy w kryształach występują dwie niezależne krystalograficznie (symetrycznie) cząsteczki. Badania przeprowadzone dla związku **11** pokazały, iż występuje różnica pomiędzy szybkością reakcji obu cząsteczek. Przyczyna tego faktu jest dwójaka: wewnątrzcząsteczkowe parametry geometryczne, decydujące o zajściu reakcji, są nieco lepsze oraz wnęka reakcyjna jest nieco większa dla cząsteczki szybciej reagującej [76]. Podobne

przyczyny większej reaktywności jednej z cząsteczek były wymieniane również dla innych związków chemicznych [84 – 88]. W skrajnym przypadku tylko jedna z dwóch takich cząsteczek okazywała się reaktywna [53]. Warto dodać, że znany jest także przypadek jednakowej szybkości reakcji dwóch symetrycznie niezależnych cząsteczek [89].

PODSUMOWANIE

W artykule przedstawione zostały zmiany, jakie zachodzą w strukturze kryształów w wyniku reakcji fotochemicznych. Zmiany te dotyczyły:

- a) odległości pomiędzy sąsiednimi cząsteczkami substratu oraz wzajemnej orientacji cząsteczek w przypadku reakcji międzycząsteczkowych,
- b) odległości i kątów pomiędzy fragmentami cząsteczki w przypadku reakcji wewnątrzcząsteczkowych,
- c) położenia cząsteczek w komórce elementarnej,
- d) geometrii wiązań wodorowych,
- e) parametrów komórki elementarnej,
- f) zawartości cząsteczek produktu w kryształach.

W przypadku reakcji międzycząsteczkowych odległość między reaktywnymi atomami sąsiednich cząsteczek substratu maleje liniowo wraz ze wzrostem stopnia przereagowania kryształu. Dla większości reakcji wewnątrzcząsteczkowych odległość między bezpośrednio reagującymi atomami w cząsteczce substratu jest stała przez długi czas transformacji kryształu i dopiero pod jej koniec gwałtownie maleje. Przyczyną tego jest nacisk wywierany przez powstałe cząsteczki produktu oraz podatność cząsteczek substratu na ten nacisk.

W przypadku reakcji międzycząsteczkowych wraz z postępowaniem fototransformacji kryształu następuje zmiana wzajemnej orientacji dwóch sąsiednich cząsteczek substratu na orientację coraz bardziej przypominającą cząsteczkę produktu. Cząsteczki substratu znajdujące się w kryształach, w których zachodzą reakcje wewnątrzcząsteczkowe, upodabniają się częściowo pod względem kształtu do cząsteczek produktu.

Cząsteczki substratu (ich fragmenty) oraz powstałe cząsteczki produktu (ich fragmenty) nie zachowują stałego miejsca w kryształach. Cząsteczki substratu zmieniają swoją orientację w przestrzeni na coraz bardziej odległą od orientacji przed reakcją. Cząsteczki produktu zmieniają swoje usytuowanie aż do osiągnięcia orientacji zajmowanej w kryształach czystego produktu. Wielkość tych zmian jest podobna dla reakcji między- i wewnątrzcząsteczkowych i wynosi maksymalnie ok. 20°. Zmiany te występują nawet w przypadku istnienia silnych wiązań wodorowych, w których cząsteczki uczestniczą. Wraz z postępowaniem reakcji w kryształach zmienia się geometria międzycząsteczkowych wiązań wodorowych.

Wymienione powyżej transformacje strukturalne, zachodzące w wyniku reakcji fotochemicznych, znajdują swoje odzwierciedlenie w wartościach parametrów komórki elementarnej i jej objętości.

Znajomość struktur częściowo przereagowanych kryształów, wyznaczonych dzięki rentgenowskiej analizie strukturalnej, będącej działem krytalografii, pozwala poznać zachowanie się cząsteczek w kryształach, w których zachodzą reakcje fotochemiczne i zrozumieć przebieg tych reakcji w kryształach.

PODZIĘKOWANIA

Praca została przygotowana przy wsparciu finansowym Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach badań statutowych Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M.D. Cohen, G.M.J. Schmidt, *J. Chem. Soc.*, 1964, 1996.
- [2] M.D. Cohen, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1975, **14**, 386.
- [3] J.J. Stezowski, N.M. Peachey, P. Goebel, C.J. Eckhardt, *J. Am Chem. Soc.*, 1993, **115**, 6499.
- [4] T. Iwamoto, S. Kashino, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1993, **66**, 2190.
- [5] T.J. Brett, J.M. Alexander, J.J. Stezowski, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2000, 1105.
- [6] H. Hosomi, Y. Ito, S. Ohba, *Acta Cryst.*, 1998, **B54**, 907.
- [7] H. Nakanishi, W. Jones, J.M. Thomas, M.B. Hursthouse, J.M. Motevalli, *J. Phys. Chem.*, 1981, **85**, 3636.
- [8] C.E. Pfluger, R.L. Ostrander, *Photochem. Photobiol.*, 1989, **49**, 375.
- [9] S. Ohba, H. Hosomi, K. Tanaka, H. Miyamoto, F. Toda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 2000, **73**, 2075.
- [10] H. Hosomi, S. Ohba, K. Tanaka, F. Toda, *J. Am Chem. Soc.*, 2000, **122**, 1818.
- [11] M. Leibovitch, G. Olovsson, J.R. Scheffer, J. Trotter, *J. Am Chem. Soc.*, 1997, **119**, 1462.
- [12] S. Ohba, H. Hosomi, Y. Ito, *J. Am Chem. Soc.*, 2001, **123**, 6349.
- [13] V. Enkelmann, G. Wegner, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 10390.
- [14] K. Novak, V. Enkelmann, G. Wegner, K.B. Wagener, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1993, **32**, 1614.
- [15] J. Harada, H. Uekusa, Y. Ohashi, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 5809.
- [16] C. Yang, W.J. Xia, J.R. Scheffer, *Tetrahedron*, 2007, **63**, 6791.
- [17] Y. Ohashi, K. Yanagi, T. Kurihara, Y. Sasada, Y. Ohgo, *J. Am Chem. Soc.*, 1981, **103**, 5805.
- [18] Y. Sasada, Y. Ohashi, *J. Mol. Struct.*, 1985, **126**, 477.
- [19] Y. Ohashi, Y. Tomotake, A. Uchida, Y. Sasada, *J. Am Chem. Soc.*, 1986, **108**, 1196.
- [20] M. Danno, A. Uchida, Y. Ohashi, Y. Sasada, *Acta Cryst.*, 1987, **B43**, 266.
- [21] Y. Ohashi, *Acc. Chem. Res.*, 1988, **21**, 268
- [22] Y. Ohashi, Y. Sakai, A. Sekine, Y. Arai, Y. Ohgo, N. Kamiya, H. Iwasaki, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1995, **68**, 2517.
- [23] Y. Ohashi, A. Uchida, A. Sekine, *Reactivity in Molecular Crystals*, Y. Ohashi (Red.), VCH, Tokyo, 1993, str. 115.
- [24] H. Nakanishi, W. Jones, J.M. Thomas, M.B. Hursthouse, J.M. Motevalli, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1980, 611.

- [25] Y. Ohashi, *Acta Cryst.*, 1998, **A54**, 842.
- [26] Y. Ohashi, K. Yanagi, T. Kurihara, Y. Sasada, Y. Ohgo, *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, **104**, 6353.
- [27] A. Sekine, H. Tatsuki, Y. Ohashi, *J. Organomet. Chem.*, 1997, **536-537**, 389.
- [28] A. Natarajan, J.T. Mague, V. Ramamurthy, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 3568.
- [29] W. Xia, J.R. Scheffer, M. Botoshansky, M. Kaftory, *Org. Lett.* 2005, **7**, 1315.
- [30] J. Bąkiewicz, J. Olejarz, I. Turowska-Tyrk, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2014, **273**, 34.
- [31] J.N. Moorthy, P. Venkatakrishnan, G. Savitha, R.G. Weiss, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2006, **5**, 903.
- [32] I. Zouev, T. Lavy, M. Kaftory, *Eur. J. Org. Chem.* 2006, 4164.
- [33] K. Gnanaguru, N. Ramasubbu, K. Venkatesan, V. Ramamurthy, *J. Org. Chem.*, 1985, **50**, 2337.
- [34] S.K. Kearsley, *Studies in Organic Chemistry. Organic Solid State Chemistry*, G.R. Desiraju (Red.), Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo, 1987, str. 69.
- [35] I. Turowska-Tyrk, K. Grzeźniak, E. Trzop, T. Zych, *J. Solid State Chem.*, 2003, **174**, 459.
- [36] D.-K. Cao, T.V. Sreevidya, M. Botoshansky, G. Golden, J.B. Benedict, M. Kaftory, *CrystEngComm*, 2011, **13**, 3181.
- [37] M.V.S.N. Maddipatla, M. Pattabiraman, A. Natarajan, K. Srivastav, J.T. Mague, V. Ramamurthy, *Org. Biomol. Chem.*, 2012, **10**, 9219.
- [38] S. Dutta, D.-K. Bučar, E. Elacqua, L.R. MacGillivray, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 1064.
- [39] S. Bhattacharya, J. Stojaković, B.K. Saha, L.R. MacGillivray, *Org. Lett.*, 2013, **15**, 744.
- [40] K. Gnanaguru, N. Ramasubbu, K. Venkatesan, V. Ramamurthy, *J. Photochem.*, 1984, **27**, 355.
- [41] M.M. Bhadbhade, G.S. Murthy, K. Venkatesan, V. Ramamurthy, *Chem. Phys. Lett.*, 1984, **109**, 259.
- [42] I. Turowska-Tyrk, E. Trzop, *Acta Cryst.*, 2003, **B59**, 779.
- [43] I. Turowska-Tyrk, K. Grzeźniak, *Acta Cryst.*, 2004, **C60**, o146.
- [44] S. Ohba, Y. Ito, *Acta Cryst.*, 2003, **B59**, 149.
- [45] Y. Ito, H. Takahashi, J. Hasegawa, N.J. Turro, *Tetrahedron*, 2009, **65**, 677.
- [46] S. Fukushima, Y. Ito, H. Hosomi, S. Ohba, *Acta Cryst.*, 1998, **B54**, 895.
- [47] M.F. Mahon, P.R. Raithby, H.A. Sparkes, *CrystEngComm*, 2008, **10**, 573.
- [48] H. Ihmels, D. Leusser, M. Pfeiffer, D. Stalke, *Tetrahedron*, 2000, **56**, 6867.
- [49] H. Takahashi, Y. Ito, *Struct. Chem.*, 2012, **23**, 441.
- [50] Y. Ito, S. Yasui, J. Yamauchi, S. Ohba, G. Kano, *J. Phys. Chem. A*, 1998, **102**, 5415.
- [51] Y. Ito, G. Kano, N. Nakamura, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 5643.
- [52] T. Lavy, Y. Sheynin, M. Kaftory, *Eur. J. Org. Chem.*, 2004, 4802.
- [53] I. Zouev, T. Lavy, M. Kaftory, *Eur. J. Org. Chem.*, 2006, 4164.
- [54] I. Zouev, D.-K. Cao, T.V. Sreevidya, M. Telzhensky, M. Botoshansky, M. Kaftory, *CrystEngComm*, 2011, **13**, 4376.
- [55] T. Lavy, Y. Sheynin, H.A. Sparkes, J.A.K. Howard, M. Kaftory, *CrystEngComm*, 2008, **10**, 734.
- [56] K. Saigo, *Reactivity in Molecular Crystals*, Y. Ohashi (Red.), VCH, Tokyo, 1993, str. 203.
- [57] M.S.K. Dhurjati, J.A.R.P. Sarma, G.R. Desiraju, *J. Chem. Soc. Commun.*, 1991, 1702.
- [58] J. Bąkiewicz, I. Turowska-Tyrk, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2012, **232**, 41.
- [59] T. Salzillo, I. Bilotti, R.G. Della Valle, E. Venuti, A. Brillante, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, **134**, 17671.
- [60] T. Galica, J. Bąkiewicz, I. Turowska-Tyrk, *55th Polish Crystallographic Meeting*, Wrocław, 2013, *Materiały Konferencyjne*, str. 212.
- [61] V. Enkelmann, G. Wegner, K. Novak, K.B. Wagener, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 10390.
- [62] V. Buchholz, V. Enkelmann, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 2001, **356**, 315.
- [63] M.A. Fernandes, D.C. Levendis, *Acta Cryst.*, 2004, **B60**, 315.
- [64] I. Turowska-Tyrk, E. Trzop, J.R. Scheffer, S. Chen, *Acta Cryst.*, 2006, **B62**, 128.
- [65] I. Turowska-Tyrk, J. Bąkiewicz, J.R. Scheffer, *Acta Cryst.*, 2007, **B63**, 933.
- [66] I. Turowska-Tyrk, J. Bąkiewicz, J.R. Scheffer, W. Xia, *CrystEngComm*, 2006, **8**, 616.

- [67] I. Turowska-Tyrk, I. Łabęcka, J.R. Scheffer, W. Xia, *Pol. J. Chem.*, 2007, **81**, 813.
- [68] I. Turowska-Tyrk, E. Trzop, *Acta Cryst.*, 2008, **B64**, 375.
- [69] I. Turowska-Tyrk, *Chem. Eur. J.*, 2001, **7**, 3401.
- [70] I. Turowska-Tyrk, *Acta Cryst.*, 2003, **B59**, 670.
- [71] I. Turowska-Tyrk, E. Trzop, *Acta Cryst.*, 2003, **B59**, 779.
- [72] A. Bondi, *Phys. Chem.*, 1964, **68**, 441.
- [73] J.B. Benedict, P. Coppens, *J. Phys. Chem. A*, 2009, **113**, 3116.
- [74] L.G. Kuz'mina, A.I. Vedernikov, N.A. Lobova, A.V. Churakov, J.A.K. Howard, M.V. Alfimov, S.P. Gromov, *New J. Chem.*, 2007, **31**, 980.
- [75] S.-L. Zheng, M. Messerschmidt, P. Coppens, *Chem. Commun.*, 2007, 2735.
- [76] J. Bąkowicz, J. Skarzewski, I. Turowska-Tyrk, *CrystEngComm*, 2011, **13**, 4332.
- [77] B.O. Patrick, J.R. Scheffer, C. Scott, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2003, **42**, 3775.
- [78] J.H. Kim, S.M. Hubig, S.V. Lindeman, J.K. Kochi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 87.
- [79] J.H. Kim, S.V. Lindeman, J.K. Kochi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 4951.
- [80] I. Turowska-Tyrk, *Chem. Phys.*, 2003, **288**, 241.
- [81] C. Giacovazzo, H.L. Monaco, G. Artioli, D. Viterbo, G. Ferraris, G. Gilli, G. Zanotti, M. Catti, *Fundamentals of Crystallography*, C. Giacovazzo (Red.), Oxford University Press, Oxford, 2011.
- [82] S.-L. Zheng, M. Messerschmidt, P. Coppens, *Acta Cryst.*, 2007, **B63**, 644.
- [83] S.-L. Zheng, O. Pham, C.M.L. Vande Velde, M. Gemicky, P. Coppens, *Chem. Commun.*, 2008, 2538.
- [84] S.-L. Zheng, C.M.L. Vande Velde, M. Messerschmidt, A. Volkov, M. Gemicky, P. Coppens, *Chem. Eur. J.*, 2008, **14**, 706.
- [85] E. Cheung, T. Kang, M.R. Netherton, J.R. Scheffer, J. Trotter, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 11753.
- [86] A. Natarajan, K. Wang, V. Ramamurthy, J.R. Scheffer, B.O. Patrick, *Org. Lett.*, 2002, **4**, 1443.
- [87] A. Natarajan, J.T. Mague, V. Ramamurthy, *Cryst. Growth Des.*, 2005, **5**, 2348.
- [88] A. Natarajan, C.K. Tsai, S.I. Khan, P. McCarren, K.N. Houk, M.A. Garcia-Garibay, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 9846.
- [89] E. Cheung, K. Rademacher, J.R. Scheffer, J. Trotter, *Tetrahedron Lett.*, 1999, **40**, 8733.

Praca wpłynęła do Redakcji 26 lutego 2014

**BADANIA ROZKŁADU GĘSTOŚCI ELEKTRONOWEJ
W KRYSZTAŁACH, CZYLI JAK ZOBACZYĆ
SZCZEGÓŁY STRUKTURY ELEKTRONOWEJ
CZĄSTECZEK**

ELECTRON DENSITY DISTRIBUTION IN CRYSTALS
OR HOW TO SEE THE DETAILS
OF THE ELECTRONIC STRUCTURE OF MOLECULES

Maciej Kubicki

*Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
ul. Umultowska 89b, 61-614 Poznań
e-mail: mkubicki@amu.edu.pl*

Abstract

Wprowadzenie

1. Podstawy metody
2. Wymagania eksperymentalne
3. Wyniki
4. Procedura postępowania
5. Przykład: 1,2-dimetylo-4-nitro-5-morfolinoimidazol

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Prof. UAM dr hab. Maciej Kubicki jest zatrudniony w Zakładzie Krystalografii na Wydziale Chemii. Ukończył studia na Wydziale Fizyki UAM, a kolejne szczeble kariery naukowej osiągał na Wydziale Chemii: doktorat w 1991 (badania strukturalne orellaniny, trucizny wyizolowanej z grzybów, oraz jej pochodnych) i habilitację w 2004 roku, poświęconą hierarchii oddziaływań międzycząsteczkowych w kryształach molekularnych. Ponad dwa lata spędził na stażu podoktorskim w Kanadzie na University of Calgary, był też profesorem wizytującym na Uniwersytecie w Nancy. Jest autorem bądź współautorem

ponad 300 artykułów w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, przewodniczącym Sekcji Krystalochemii Polskiego Towarzystwa Chemicznego, członkiem zarządu Polskiego Towarzystwa Krystalograficznego. Zainteresowania naukowe prof. Kubickiego obejmują badania struktur kryształów związków organicznych i metaloorganicznych, mające na celu wyjaśnienie zależności między strukturą a właściwościami ciał stałych, co dalej może być pomocne w projektowaniu nowych materiałów czy też substancji aktywnych biologicznie. W szczególności zajmuje się wysokorozdzielczymi badaniami dyfrakcyjnymi, które umożliwiają określenie szczegółów rozkładu gęstości elektronowej w cząsteczkach i kryształach. Prof. Maciej Kubicki jest też redaktorem czasopisma *Acta Crystallographica (C)*, był współorganizatorem kilku krajowych i międzynarodowych konferencji naukowych. Wyniki swych badań prezentował m.in. podczas wykładów i na konferencjach międzynarodowych w Grecji, Hiszpanii, Niemczech, Francji. Od 2012 roku jest prodziekanem Wydziału Chemii UAM.

ABSTRACT

X-ray structural analysis might be regarded as a method of visualizing molecules as they appear in the crystals. The model, which is conventionally and universally used in this method, the Independent Atom Model (IAM) assumes that the electron density distribution, which scatters the X-rays is built of the spherically-symmetrical, neutral atoms. This model is responsible for the unprecedented success of X-ray structural analysis, which reflects in about one million crystal structures (i.e. the sets coordinates of the atoms constituting the molecules) deposited in the various databanks (cf. Fig. 1), and in the speed and accuracy which the method has reached. In principle, in few hours one can get the complete information about the crystal structure.

But this success is accompanied by negligence of the scientific virtue hidden beyond the IAM. In fact, it was known from the very beginning of the X-ray diffraction studies by von Laue and Braggs, that some fine details of the electron density distribution should be available. The technological advance (four-circle diffractometers, powerful X-ray sources, fast computers etc.) caused that in 1960's the time was ripe for the development of the experimental studies of details of electron density distribution in the crystals, beyond the IAM. The early experiments by Coppens and co-workers proved that this information – about the electron density transferred to the covalent bonds, lone pairs, even intermolecular interactions – can actually be obtained and analyzed (Fig. 2). The need for the model which could be used in the least-squares procedure led to the formulation of so-called pseudoatom models, including the most popular till now, Hansen-Coppens model (eq. 2) in which the aspherical part is described in terms of real spherical harmonics.

In this paper, the basics of the electron density studies is described in some detail, including the step-by-step description of a typical procedure from the experiment to the final steps of refinement. An example of the analysis of the high-resolution structure of 1,2-dimethyl-4-nitro-5-morpholine-imidazole hydrate is used to show an application of this method in studying the intermolecular interactions, including weak C-H...O and C-H...N hydrogen bonds. It is shown that the multipolar model is able to deliver more informations than the promolecular model with spherically symmetrical electron distributions.

Keywords: electron density distribution; multipolar model; intermolecular interactions; 4-nitroimidazole derivatives

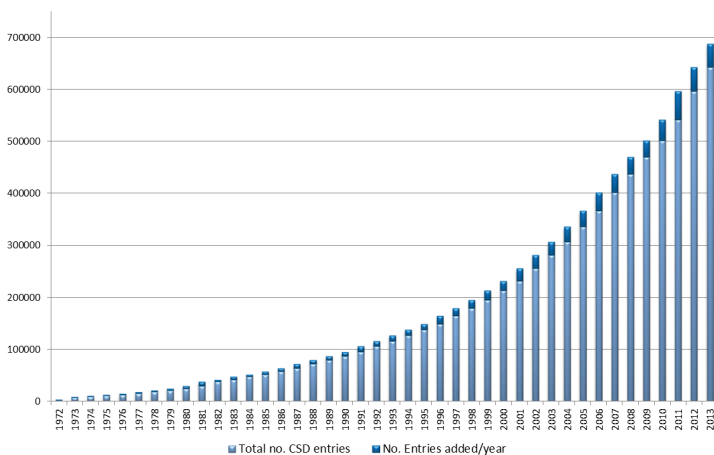
Słowa kluczowe: rozkład gęstości elektronowej; model multipolowy; oddziaływania międzycząsteczkowe; pochodne 4-nitroimidazolu

WPROWADZENIE

Rentgenowską analizę strukturalną można w pewnym sensie traktować jako metodę badawczą umożliwiającą oglądanie cząsteczek takimi, jakimi są w kryształach (np. [1]). „Narzędzia” tej metody: dyfrakcja promieni rentgenowskich, transformacja Fouriera, rozwiązywanie problemu fazowego, mogą być porównane do działania układów optycznych, dających obraz przedmiotu.

W rentgenowskiej analizie strukturalnej konieczne jest stosowanie jakiegoś modelu atomów, rozpraszających promieniowanie, a właściwie – ponieważ rozpraszanie promieni rentgenowskich przez nukleony jest zanedbywalnie małe (choć powoli zbliżamy się do tego, że ten udział będzie stawał się zauważalny eksperymentalnie, właściwie można się pokusić w subtelniejszych badaniach o jego uwzględnienie) – modelu rozkładu gęstości elektronowej dla atomów, które to gęstości atomowe po zsumowaniu odtworzą rozkład gęstości elektronowej w kryształach. Najczęściej stosowanym, w dużej mierze odpowiedzialnym za bezprecedensowy sukces rentgenowskiej analizy strukturalnej, jest model niezależnych atomów (ang. *independent atom model*, IAM), w którym promieniowanie rozpraszane jest przez sferycznie symetryczne rozkłady gęstości elektronowej, o środkach identyfikowanych z położeniami atomów. Model ten jest używany we wszystkich standardowo określonych strukturach kryształów, a więc niemal we wszystkich z 686,944 struktur kryształów organicznych i metaloorganicznych znajdujących się w Bazie Danych Strukturalnych z Cambridge (Cambridge Structural Database, dane z 10 stycznia 2014), 86109 struktur białek i kwasów nukleinowych, zdeponowanych w Bazie Danych Białkowych (Protein Data Bank, 28 stycznia 2014), czy ponad 161000 struktur związków nieorganicznych w Bazie Danych Struktur Związków Nieorganicznych (Inorganic Crystal Structure Database, połowa 2013).

Ten sukces – niemal milion zdeponowanych kompletów współrzędnych, pokazujących jak wygląda niemal milion cząsteczek – okazał się w pewnym sensie pułapką. Wskutek rozwoju aparatury badawczej (czterokołowe dyfraktometry, dwuwymiarowe detektory i laboratoryjne źródła promieniowania rentgenowskiego o znacznej intensywności) oraz możliwości obliczeniowych (coraz szybsze komputery, praktyczny brak ograniczenia dostępnej pamięci, nowe programy), możliwe jest dzisiaj – bez żadnych nadzwyczajnych urządzeń – zebranie danych, ich obróbka, rozwiązanie i ułożenie struktury w ciągu dosłownie kilku godzin. Wykres na Rysunek 1 pokazuje, jak szybko przybywa danych w CSD (a trzeba pamiętać, że są to tylko dane, które z jakichś względów zostały wysłane do bazy danych).



Rysunek 1. Wykres pokazujący ilość struktur zdeponowanych w bazie danych strukturalnych CSD w funkcji czasu. Ciemne fragmenty słupków reprezentują deponyty wykonane w danym roku [Dzięki uprzejmości Cambridge Crystallographic Data Centre]

Figure 1. A number of structures deposited in the Cambridge Structural Database as a function of time. Dark parts of the columns represent structures deposited in a given year (Courtesy of the Cambridge Crystallographic Data Centre)

1. PODSTAWY METODY

W związku z tą szybkością, łatwością i wiarygodnością uzyskiwanych wyników, rentgenowska analiza strukturalna jest coraz częściej traktowana jako jeszcze jedna metoda analityczna, stosowana dla próbek stałych o znikomym choćby stopniu krystaliczności. Skutkiem tego jest zaniedbywanie bogactwa informacji dostępnej w wynikach tych doświadczeń. A tymczasem od dawna, w zasadzie od początku stosowania metody dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego na kryształach do określania położenia atomów w komórce elementarnej kryształu, istniało przekonanie, że metoda ta może dostarczyć także informacji o szczegółach rozkładu gęstości elektronowej.

Już kilka lat po wiekopomnych pracach von Lauego i Braggów, Peter Debye pisał [2]: „Wydaje się, że więcej uwagi należy poświęcić badaniu promieniowania rozproszonego, w szczególności przez lżejsze atomy, bo w ten sposób powinno dać się określić rozkład elektronów w atomach” (tłum. MK).

Niedługo później, w roku 1921 W.H. Bragg dokonał pierwszej eksperymentalnej obserwacji wskazującej na niewystarczalność modelu niezależnych atomów [3]. Badając mianowicie dyfraktogram proszkowy diamentu stwierdził, że refleks (222), który powinien być wygaszony w strukturze diamentu (warunek specjalny dla pozycji Wyckoffa a o symetrii 43m, $h + k + l = 2n + 1$ lub $4n$), jest słaby ale obserwowalny. Analizując możliwe przyczyny tego faktu, Bragg napisał, iż „Struktura diamentu nie może być wyjaśniona w oparciu o założenie, że pole sił wokół atomu węgla jest takie

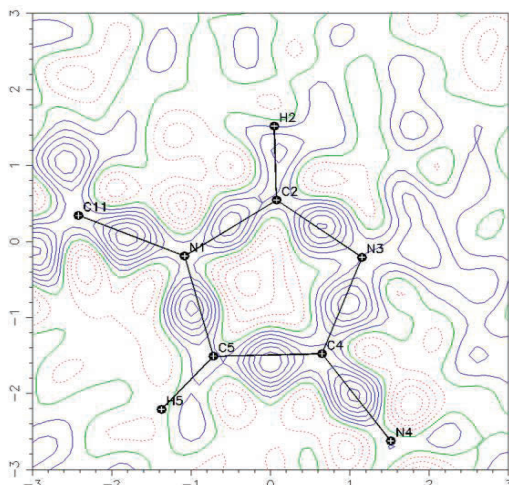
samo we wszystkich kierunkach.(...) Kolejne warstwy (111) nie mają dokładnie takiej samej natury, a więc można spodziewać się, że nie będą wzajemnie wygaszały całkowicie refleksów drugiego rzędu.” (tłum. MK).

Do bardziej wnikliwego badania odstępstw od IAM wrócono w zasadzie dopiero w latach 1960., kiedy rozwój technologiczny pozwolił na bardziej rutynowe uzyskiwanie wartościowych wyników. Pojawiało się coraz więcej informacji wskazujących, że model niezależnych atomów ma znaczne ograniczenia. Oprócz wspomnianej wyżej obserwacji mierzalnych intensywności zabronionych refleksów (222) w strukturach diamentu i krzemu, systematycznie powtarzały się rozbieżności między geometrycznymi parametrami struktur określonych na podstawie badań rentgenowskich i neutronograficznych. Przede wszystkim było to skrócenie wiązań pomiędzy lekkimi atomami, zwłaszcza wiązań, w których uczestniczy atom wodoru. Np. dla sacharozy wiązania C–H z danych rentgenowskich były średnio o $0,13(1)\text{\AA}$ (czyli o ponad 10%) krótsze niż dla danych neutronograficznych, dla wiązań O–H ta różnica wynosi aż $0,18(3)\text{\AA}$, czyli niemal o 20%! Wyjaśnienie tego faktu, oparte na rozkładzie ładunku, zostało podane przez Cochran [4] w 1956 roku. Różnice w geometrii dotyczą też atomów niewodorowych (tzw. *asphericity shifts*): dla atomów posiadających wolne pary elektronowe, centrum rozkładu ładunku przesunięte jest w kierunku tych wolnych par, co powoduje zmiany w geometrii, niewielkie ale systematyczne (po raz pierwszy dla kwasu szczawiowego opisali je Coppens i in. [5]).

Zauważono także, że model IAM zakłada, że atomy są elektrycznie obojętne, co jest sprzeczne z oczywistym faktem, że cząsteczki mogą mieć i często mają momenty dipolowe, kwadrupolowe itd.

Głównym impulsem powodującym rozwój metody doświadczalnego badania rozkładu gęstości elektronowej w kryształach była więc obserwacja, wynikająca po części z postępu technologicznego, iż dane dyfrakcyjne zawierają więcej informacji niż używają jej modele niezależnych, sferycznie symetrycznych atomów. Bez przesady można powiedzieć, że każdy dzisiejszy krystalograf, używający danych rentgenowskich do badania małych cząsteczek („małych” – a więc nie białek czy fragmentów kwasów nukleinowych) miał okazję wielokrotnie tę dodatkową informację zobaczyć. W standardowej procedurze oblicza się tak zwaną mapę różnicową lub resztkową (*residual map*), która jest transformatą Fouriera różnic pomiędzy obserwowanymi (eksperymentalnymi) i obliczonymi (z modelu) czynnikami struktury. Istotą tych obliczeń jest wizualizacja różnic pomiędzy modelem a eksperymentem, a więc wskazanie gdzie występują braki w modelu.

Dla typowego, dobrego pomiaru przeprowadzonego w standardowych warunkach, mapa ta może wyglądać np. tak jak na Rysunku 2. Spróbujmy ją przeanalizować.



Rysunek 2. Mapa resztkowej gęstości elektronowej po standardowym udokładnieniu niskotemperaturowej (100K) struktury 1-fenyl-4-nitroimidazolu (rzut na płaszczyznę imidazolu). Linie konturów poprowadzone są co $0,05e\cdot\text{\AA}^{-3}$

Figure 2. Residual electron density map after the standard refinement procedure of the low-temperature (100K) structure of 1-phenyl-4-nitroimidazole (projection on the imidazole ring plane). Contour lines at $0.05e\cdot\text{\AA}^{-3}$

Bardzo łatwo można stwierdzić, że największe różnice pomiędzy doświadczeniem a modelem są obserwowane na wiązaniach kowalencyjnych, przy czym polegają one na niedoborze gęstości elektronowej w modelu w porównaniu z danymi eksperymentalnymi. Dalej, analizując Rysunek 2 bardziej szczegółowo można zauważyć, że i w miejscu, gdzie spodziewamy się istnienia wolnej pary elektronowej model nie wprowadza takiej gęstości elektronowej, jaka wynika z danych doświadczalnych. Ogólnie – model IAM nie uwzględnia transferu gęstości elektronowej poza sferyczny atom, wynikającego np. z utworzenia wiązania kowalencyjnego.

Początkowo rozwój metody polegał na analizowaniu cech takich właśnie map różnicowych, ale w miarę upowszechniania stosowania metody najmniejszych kwadratów w udokładnianiu struktur kryształów, coraz bardziej potrzebny był model rozkładu gęstości elektronowej umożliwiający takie udokładnianie także niesferycznego rozkładu ładunku.

Dawson w swoich pracach [6–8] wprowadził asferyczne atomowe czynniki rozpraszania do opisu i interpretacji danych rentgenowskich i neutronograficznych m.in. dla diamentu, postulując, że niezbędne jest pełniejsze, ogólniejsze podjęcie tego problemu. Wkrótce potem Coppens [9] opisał wyniki badania różnic rozkładu gęstości elektronowej uzyskanej z danych rentgenowskich i obliczonych dla danych rentgenowskich przy założeniu neutronograficznych parametrów atomowych (metoda X-N, [10]) w kryształach s-triazyny:

$$\Delta\rho(\mathbf{r}) = \frac{1}{V} \sum [F_{obs,X}(\mathbf{H}) - F_{calc,X,N}(\mathbf{H})] \exp(-2\pi\mathbf{H}\cdot\mathbf{r}) \quad (1),$$

gdzie $F_{\text{obs},X}$ to czynniki struktury uzyskane z pomiaru rentgenowskiego, $F_{\text{calc},X,N}$ czynniki struktury obliczone dla neutronograficznych parametrów atomowych, \mathbf{r} – wektor w sieci rzeczywistej, a \mathbf{H} – wektor w sieci odwrotnej.

W streszczeniu autor napisał m.in. „Uzyskane wyniki wskazują, że gęstość elektronowa przeniosła się z atomów do wiązań i w obszar wolnych par elektronowych. Procedury udokładniania dla danych rentgenowskich, które nie biorą pod uwagę tych efektów, dają parametry zawierające niewielkie, ale mierzalne błędy” (tłum. MK).

Powstawała więc potrzeba opisu tych „efektów, dających niewielkie, ale mierzalne błędy”, znalezienia modelu, który mógłby zostać użyty w procedurze udokładniania najlepiej metodą najmniejszych kwadratów. Od początku lat 1970. w pracach Hirshfelda [11], Kurki-Suonio [12], Stewarta [13] i innych pojawił się koncept „pseudoatomów”, matematycznych konstruktów umieszczonych w położeniach atomowych i składających się z części sferycznie symetrycznej oraz pozbawionej takiej symetrii, które zsumowane dałyby rozkład gęstości elektronowej w kryształach.

Dzisiaj w doświadczalnych badaniach rozkładu ładunku najczęściej (niemal wyłącznie) używanym modelem rozkładu gęstości elektronowej jest tzw. model multipolowy Hansena-Coppensa [14]. Jest on stosowany w najpopularniejszych systemach programów, służących do udokładniania asferycznego rozkładu gęstości elektronowej: MoPro [15], XD2006 [16], czy JANA2006 [17]. W modelu tym gęstość elektronowa każdego pseudoatomu przedstawiona jest jako suma trzech składników: niedeformowalnego, sferycznie symetrycznego rozkładu gęstości dla elektronów rdzenia atomowego (elektronów niewalencyjnych), deformowalnej, ale dalej sferycznie symetrycznej gęstości elektronów walencyjnych, oraz pozbawionej symetrii sferycznej części gęstości elektronów walencyjnych, w tym modelu opisanej w bazie rzeczywistych harmonik sferycznych (multipoli). Zazwyczaj gęstość całkowitą w tym modelu przedstawia się następującym wzorem:

$$\rho_{\text{tot}}(r) = \rho_{\text{core}}(r) + P_{\text{val}}\kappa^3\rho_{\text{val}}(\kappa r) + \sum_{l=0}^{l_{\text{max}}} \kappa'^3 R_l(\kappa' r) \sum_{m=0}^{+l} P_{lm} d_{lm\pm}(\theta, \varphi) \quad (2),$$

w którym:

- P_{val} – populacja elektronów walencyjnych,
- P_{lm} – populacja multipola (l, m),
- κ, κ' – współczynniki kontrakcji/ekspansji dla odpowiednio sferycznej i asferycznej gęstości walencyjnej,

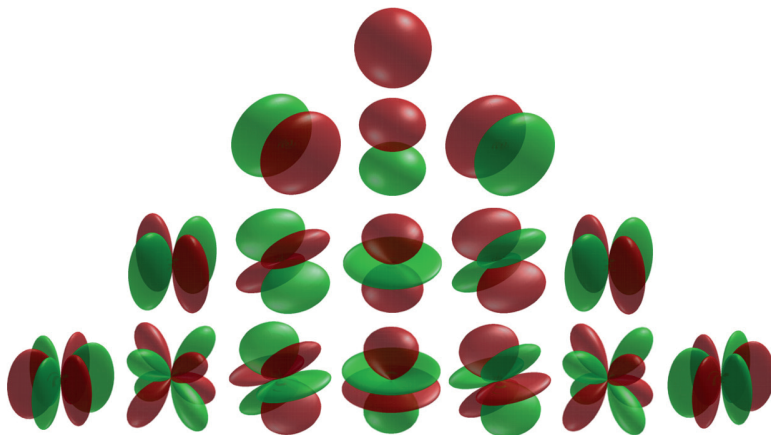
a R_l są funkcjami radialnymi typu Slater'a:

$$R_l(r) = \frac{\xi_l^{n_l+3}}{(n_l + 2)} r^{n_l} e^{-\xi_l r} \quad . \quad (3)$$

Pierwsze dwa człony równania są sferycznie uśrednionymi gęstościami elektronowymi rdzenia i elektronów walencyjnych atomu, trzeci człon natomiast odnosi się do niesferycznej gęstości walencyjnej, która w tym konkretnym modelu opisana jest za pomocą harmonik sferycznych (Rys. 3). Model ten wprowadza – oprócz stan-

dardowo udokładnianych współrzędnych atomów, czynników drgań termicznych, czynnika skali – dodatkowe, udokładniane parametry, P_{val} , P_{lm} , κ i κ' . Powoduje to zaostrzone wymagania eksperymentalne, o których niżej.

Jedną z najistotniejszych zalet formalizmu Hansena i Coppensa jest użycie lokalnego układu odniesienia dla każdego z pseudoatomów. Oznacza to, że dla każdego zbioru multipoli definiuje się osobny, specjalnie skonstruowany ortogonalny układ osi (całkowicie niezależny od układu krystalograficznego), który może i powinien brać pod uwagę symetrię, zarówno dokładną jak i przybliżoną, danego atomu. Pozwala to na znaczne ograniczenie liczby udokładnianych parametrów, przynajmniej w początkowych etapach konstruowania modelu. Ta cecha umożliwia transfer zbioru parametrów rozwinięcia multipolowego pomiędzy atomami z różnych struktur o podobnym otoczeniu – jest to bardzo dynamicznie rozwijająca się gałąź metody, pozwalająca na przykład na badanie szczegółów rozkładu ładunku w makrocząsteczkach biologicznych (por. artykuł P. Dominiak w tym numerze *Wiadomości Chemicznych*).



Rysunek 3. Przykładowe harmoniki sferyczne dla $l = 0..3$ oraz $m = -l..l$ (czyli od monopoli do oktopoli). Kolor czerwony obrazuje część dodatnią funkcji harmonik, a kolor zielony część ujemną (za [18])

Figure 3. Some spherical harmonics for $l = 0..3$ and $m = -l..l$ (from monopoles to octupoles). Red colour shows the positive parts of the functions, green – negative parts (after [18])

2. WYMAGANIA EKSPERYMENTALNE

Badania rozkładu ładunku wymagają dodatkowej pracy doświadczalnej. Wymagania te wynikają z dwóch podstawowych przyczyn.

Po pierwsze, jak wspomniano wyżej, model multipolowy wprowadza dodatkowe parametry, które są udokładniane w procedurze najmniejszych kwadratów. W standardowej krystalografii rentgenowskiej, w modelu niezależnych atomów, liczbę parametrów udokładnianych można wyliczyć jako $9N+4n+1$, gdzie N to liczba atomów niewodorowych (dla których drgania termiczne opisuje się anizo-

tropowo), n – liczba atomów wodoru (drgania izotropowe), dodatkowy parametr to czynnik skali. Możliwe jest udokładnianie jeszcze kilku parametrów (np. ekstynkcji, czynników obsadzenia w przypadku nieporządku itd.), ale nie zmienia one zasadniczo wyniku. W modelu Hansena – Coppensa maksymalna liczba udokładnianych parametrów przy standardowym rozwinięciu (atomy niewodorowe do oktupoli, $l = 3$, atomy wodoru – do dipoli, $l = 1$) wynosi już $27N + 10n + 1$. Prosty przykład: cząsteczka 1-fenylo-4-nitroimidazolu, $C_9H_7N_3O_2$, wymaga udokładnienia 155 parametrów w przybliżeniu IAM, ale w modelu multipolowym już 449 parametrów. Ponieważ przyjmuje się, że aby udokładnianie metodą najmniejszych kwadratów było statystycznie poprawne na każdy udokładniany parametr powinno przypadać co najmniej 5 obserwacji (a im więcej, tym lepiej), to wzrost liczby parametrów, które należy udokładniać wiąże się z potrzebą większej liczby obserwacji. We wspomnianym przykładzie, w standardowym zakresie wymaganym przez Międzynarodową Unię Krystalograficzną IUCr (a więc do rozdzielczości $0,83\text{\AA}$) można zmierzyć 1485 niezależnych symetrycznie refleksów, co daje liczbę obserwacji na udokładniany parametr równą 9,6 (a więc całkiem rozsądną) dla IAM, ale dla modelu multipolowego jest to tylko 3,3... Przy osiągniętej bez specjalnego kłopotu rozdzielczości $0,71\text{\AA}$ (co odpowiada maksymalnemu kątowi dyfrakcji 60° przy promieniowaniu MoK_α) dostępnych jest 2450 refleksów, co oznacza, że dla modelu multipolowego znajdujemy się na granicy możliwości stosowania metody (5,4 refleksu na udokładniany parametr). A trzeba jeszcze pamiętać, że analizowany przykład jest strukturą centrosymetryczną, gdzie z zasady wyliczony stosunek jest bardziej korzystny.

Drugim źródłem ponadstandardowych wymagań doświadczalnych jest konieczność określenia położenia atomów nieobarzonych systematycznym błędem związanym z deformacją chmury elektronowej. Metoda rentgenowska w ogólności określa położenia środka rozkładu gęstości elektronowej, które dla lekkich atomów, o łatwo deformowalnych powłokach elektronowych, mogą się znacznie różnić od położenia jąder atomowych. Ponieważ właśnie tę deformację chcemy opisać, należy robić to względem niezaburzonych położenia atomów, a więc niezbędna jest procedura określająca takie położenia. Najlepszą możliwością jest użycie dyfrakcji neutronów (np. [10]), które są rozpraszane przez jądra atomowe, i położenia jąder właśnie można precyzyjnie określić. Zastosowanie tej metody wymaga stosowania dużych monokryształów, o wymiarach liniowych wielokrotnie przewyższających wymiary kryształów używanych w metodzie rentgenowskiej, a to znacznie ogranicza jej stosowalność – otrzymanie dużych monokryształów jest trudne, pracochłonne, a czasami wręcz niemożliwe. Inną możliwością daje zauważony przez Hirshfelda [19] fakt, iż elektrony walencyjne są istotne w rozpraszaniu niskokątowym, ale dla dużych kątów dyfrakcji, dla rozdzielczości lepszej niż ok. $0,7\text{\AA}$, ich wkład jest zanedbywalny i za rozproszenie odpowiedzialne są niemal wyłącznie elektrony rdzenia. Wobec tego model udokładniany za pomocą danych wysokokątowych nie będzie odczuwał deformacji elektronów walencyjnych, a więc można takie udokładnianie traktować jako coś w rodzaju substytutu neutronografii (w zakresie, o którym mowa w tym akapicie).

Jak łatwo dostrzec, rozwiązanie obu opisanych trudności jest możliwe pod warunkiem zwiększenia rozdzielczości danych, co oznacza zwiększenie maksymalnego kąta dyfrakcji – im bardziej, tym lepiej, ale kąt rzędu 110° – 115° , co oznacza rozdzielczość ok. $0,43$ – $0,42\text{\AA}$, jest uważany za w pełni wystarczający (choć trzeba wspomnieć o nieuniknionym błędzie wynikającym z obciążenia rozwinięcia fourierowskiego). Np. w opisywanym wyżej przykładzie w tym zakresie można zmierzyć ok. 11800 refleksów, co nawet dla modelu multipolowego daje ponad 25 refleksów na udokładniany parametr.

Ceną, którą trzeba zapłacić za zwiększenie rozdzielczości, są właśnie bardzo wyśrubowane wymagania doświadczalne. Ponieważ atomowe czynniki rozpraszania szybko maleją ze wzrostem kąta dyfrakcji, refleksy są średnio coraz słabsze, a więc:

1. Kryształ musi być doskonałej jakości,
2. Warunkiem koniecznym jest niska temperatura pomiaru (im niższa, tym lepiej): redukuje to termiczne rozpraszanie dyfuzyjne (promieniowanie rozpraszane poza refleksami braggowskimi), zwiększa intensywność tychże refleksów, poza tym zmniejszają się drgania termiczne, ewentualne ślady nieporządku dynamicznego itd.
3. Wszelkie poprawki na systematyczne błędy (absorpcja, ekstynkcja, skalowanie międzyramkowe itd.) muszą być wprowadzane z najwyższą starannością.

Ponieważ znacznie wydłuża się czas eksperymentu, istotna jest stabilność wiązki promieniowania; z tego też względu należy używać źródeł promieniowania o jak największej intensywności. Należy jednak nadmienić, że zazwyczaj źródła synchrotronowe chociaż bardzo mocne dają promieniowanie rentgenowskie o słabej stabilności i wymaga to szczególnych poprawek, dlatego do celów gęstości elektronowej przez długie lata były one praktycznie nieprzydatne, z wyjątkiem tych stacji, które specjalnie oprogramowano aby uwzględnić małą stabilność wiązki.

Oczywiście różne rodzaje substancji w różnym stopniu nadają się do stosowania opisywanej metody badania. Łatwo można dojść do wniosku, że kluczową charakterystyką jest stosunek liczby elektronów walencyjnych do całkowitej liczby elektronów, czyli udział rozpraszania przez elektrony walencyjne w całkowitym rozpraszaniu promieni rentgenowskich. Stevens i Coppens [20] zaproponowali tzw. czynnik stosowalności (*suitability factor*), definiowany jako

$$S = \frac{V}{\sum n_{core}^2}$$

gdzie V to objętość komórki elementarnej, a n_{core} – liczba elektronów rdzenia. Czynnik ten jest rzędu kilku dla małych cząsteczek organicznych (np. dla formamidu 4,7, dla tetracyanoetyleny 3,7), staje się mniejszy od 1 dla cząsteczek metaloorganicznych (np. 0,56 dla $\text{Cr}(\text{CO})_3\text{C}_6\text{H}_6$), a dla substancji nieorganicznych jest bliski zera (np. 0,26 dla siarki rombowej, 0,17 dla glinu). Im ten czynnik większy, tym lepiej substancja nadaje się do badań deformacji rozkładu gęstości elektronowej, substan-

cje dla których S jest mniejsze od 1 wymagają szczególnego traktowania, co oczywiście nie oznacza, że uzyskanie wartościowych wyników jest dla nich niemożliwe.

3. WYNIKI

Wynikiem takiej analizy jest lepszy (bardziej zgodny z doświadczeniem) niż w przypadku standardowej rentgenowskiej analizy strukturalnej model rozkładu gęstości elektronowej. Ponieważ jest to podstawowa charakterystyka układu, możliwe jest uzyskanie wielu cennych informacji; niektóre z nich są wymienione poniżej:

Deformacja gęstości elektronowej, czyli różnica między modelem multipolowym a modelem niezależnych atomów. Ta charakterystyka dostarcza informacji na temat transferu elektronów z atomów np. do wiązań czy do wolnych par elektronowych. Może być przedstawiana jako tzw. dynamiczna deformacyjna mapa gęstości elektronowej (Rys. 3a), opisana wzorem:

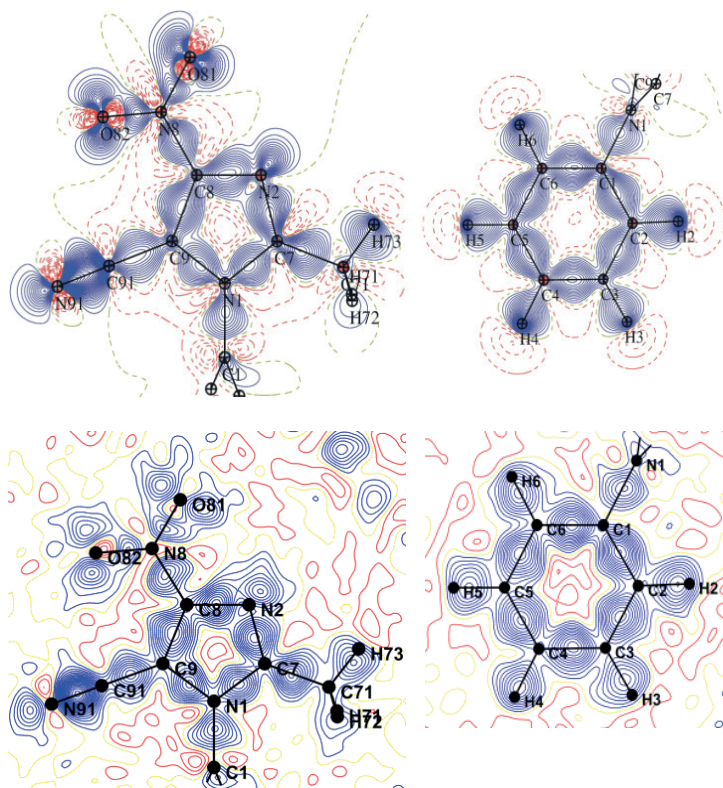
$$\Delta\rho^{dyn}(\vec{r}) = \frac{1}{V} \sum_H \left[|F_{mul}| e^{i\varphi_{mul}} - |F_{IAM}| e^{i\varphi_{IAM}} \right] e^{-2\pi i \vec{H} \cdot \vec{r}}$$

Taka mapa zawiera wpływ drgań termicznych. Można ten wpływ usunąć konstruując – wprost z modelu – statyczną mapę gęstości elektronowej (Rys. 3b):

$$\Delta\rho^{stat}(\mathbf{r}) = (P_{val} - N_{val}) \kappa^3 \rho_{val}(\kappa\mathbf{r}) + \sum_{l=0}^{l_{max}} \kappa'^3 R_l(\kappa'\mathbf{r}) \sum_{m=0}^{+l} P_{lm} d_{lm\pm}(\theta, \varphi),$$

W odróżnieniu od poprzedniej nie jest to mapa Fouriera, jest ona wprost obliczana z parametrów modelu.

Rysunek 4 pokazuje porównanie obu powyższych rodzajów map deformacyjnych dla struktury 1-fenyl-2-metylo-4-nitro-5-cyjanoimidazolu [21].



Rysunek 4. Dynamiczne (górną) i statyczne (dolną) mapy gęstości deformacyjnej dla części imidazolowej (lewa) i fenylowej (prawa) struktury 1-fenyl-2-metylo-4-nitro-5-cyanoimidazolu [21]

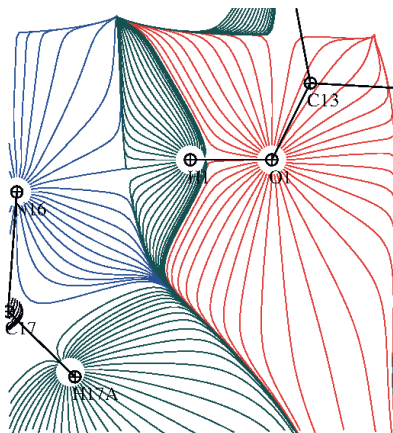
Figure 4. Dynamic (top) and static (bottom) deformation density maps for imidazole (left) and phenyl (right) parts of the structure of 1-phenyl-2-methyl-4-nitro-5-cyanoimidazole [21]

Topologia rozkładu gęstości elektronowej. Zgodnie z teorią atomów-w-cząsteczkach (ang. *Atoms-In-Molecules*, AIM), sformułowaną głównie przez Badera [22–24], analiza topologii rozkładu gęstości elektronowej może dostarczyć informacji o elementach struktury cząsteczki: atomach, wiązaniach, a także o elementach struktury kryształu np. o oddziaływaniach międzycząsteczkowych. Metoda ta stała się ulubionym narzędziem do analizy wyników wysokorozdzielczych badań dyfrakcyjnych; znakomity jej opis jest zawarty w pracy Palusiaka w tym numerze „Wiadomości Chemicznych” – odsyłam zainteresowanych do tego artykułu.

Tutaj tylko kilka podstawowych informacji o tej metodzie, które mogą być użyteczne przy dalszej lekturze: jest to w gruncie rzeczy badanie pola wektorowego gradientu rozkładu gęstości elektronowej

$$\nabla\rho(\mathbf{r}) = \frac{\partial\rho}{\partial x}\mathbf{e}_x + \frac{\partial\rho}{\partial y}\mathbf{e}_y + \frac{\partial\rho}{\partial z}\mathbf{e}_z$$

gdzie e_i oznacza wektor bazowy (w układzie kartezjańskim) w i -tym kierunku. Linie gradientu wyznaczają baseny atomowe, czyli obszary przestrzeni ograniczone tzw. powierzchniami zerowego przepływu, tzn. takimi, które zawierają punkty krytyczne wiązań i na których składowa gradientu prostopadła do powierzchni jest równa 0 (Rys. 3).



Rysunek 5. Mapa gradientu całkowitej statycznej gęstości elektronowej dla wiązania wodorowego w płaszczyźnie wyznaczonej przez atomy O1 N1 N16 cząsteczki imidazolidynodifenylometanolu [25]

Figure 5. Gradient of the total static electron density for the hydrogen bond, drawn in the plane defined by O1, N1 and N16 atoms of (4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)diphenylmethanol molecule

Wg teorii Badera, punkty krytyczne rozkładu $\rho(\mathbf{r})$, tzn. miejsca w, których gradient tej funkcji jest równy zero:

$$\nabla\rho(\mathbf{r}) = \frac{\partial\rho}{\partial x}e_x + \frac{\partial\rho}{\partial y}e_y + \frac{\partial\rho}{\partial z}e_z = 0$$

opisują charakterystyczne punkty cząsteczki. Klasyfikacja tych punktów oparta jest na ich charakterystyce, którą można otrzymać z macierzy Hesse'go:

$$H(\mathbf{r}) = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2\rho}{\partial x^2} & \frac{\partial^2\rho}{\partial x\partial y} & \frac{\partial^2\rho}{\partial x\partial z} \\ \frac{\partial^2\rho}{\partial x\partial y} & \frac{\partial^2\rho}{\partial y^2} & \frac{\partial^2\rho}{\partial y\partial z} \\ \frac{\partial^2\rho}{\partial x\partial z} & \frac{\partial^2\rho}{\partial y\partial z} & \frac{\partial^2\rho}{\partial z^2} \end{bmatrix}$$

Po diagonalizacji punkty krytyczne charakteryzowane są parą liczb (a , b), gdzie a jest liczbą niezerowych elementów diagonalnych takiej macierzy, a b – arytmetyczną sumą znaków wartości tych elementów. Każdej wartości takiej pary przypisuje się różne elementy struktury:

- (3, -3) punkt krytyczny charakterystyczny dla atraktorów (np. jądra atomowe); gęstość ładunku ma tutaj lokalne maksimum,
- (3, -1) punkt krytyczny charakterystyczny dla wiązania (**BCP**); gęstość ładunku ma lokalne maksimum w płaszczyźnie wyznaczonej przez dwa wektory własne macierzy Hessego prostopadłe do osi wiązania oraz maksimum wzdłuż kierunku wiązania,
- (3, +1) punkt krytyczny charakterystyczny dla pierścienia (**RCP**); gęstość ładunku ma lokalne minimum w płaszczyźnie wyznaczonej przez dwie osie położone w płaszczyźnie pierścienia oraz minimum wzdłuż kierunku prostopadłego do tej płaszczyzny,
- (3, +3) punkt krytyczny charakterystyczny dla klatki (**CCP**); gęstość ładunku ma lokalne minimum.

Dodatkową funkcją, charakteryzującą strukturę jest laplasjan gęstości elektronowej, wyrażony wzorem:

$$\nabla^2 \rho(\mathbf{r}) = \frac{\partial^2 \rho(\mathbf{r})}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \rho(\mathbf{r})}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 \rho(\mathbf{r})}{\partial z^2}$$

(śląd macierzy Hesse'go). Na podstawie wartości laplasjanu oraz gęstości elektronowej w **BCP** możemy wnioskować o naturze konkretnych oddziaływań. I tak np. dla wiązań o charakterze kowalencyjnym spodziewamy się dużej gęstości elektronowej i ujemnej wartości laplasjanu w odpowiednim punkcie krytycznym. Natomiast dodatnia wartość laplasjanu i niewielka gęstość elektronowa w punkcie krytycznym odpowiadającym danemu wiązaniu świadczy raczej o jego jonowej naturze.

Charakterystyki elektrostatyczne, np. rozkład potencjału elektrostatycznego (np. [26–28]), podstawowej z punktu widzenia chemika charakterystyki cząsteczki, a także momenty rozkładu: ładunki cząstkowe, momenty dipolowe, momenty kwadrupolowe itd. (np. [29–31]).

Energia oddziaływań międzycząsteczkowych (np. [32–34]).

4. PROCEDURA POSTĘPOWANIA

W badaniu wysokorozdzielczej dyfrakcji promieni rentgenowskiej wciąż trudno jest właściwie mówić o standardowej procedurze postępowania. Można wskazać zasadnicze etapy badań, oraz wskazać metody walidacji wyników na koniec każdego z tych etapów, ale zarówno doświadczenie jak i (zwłaszcza) obliczenia są żmudne, pracochłonne i wymagają uwagi w zasadzie na każdym etapie. Często konieczne jest cofnięcie się, powtórzenie danego kroku, albo wręcz sprawdzenie wielu alternatywnych możliwości aby wybrać najlepszą. Być może najtrudniejszym momentem jest stwierdzenie, czy już osiągnięto się rozwiązanie optymalne, a więc czy już wyniki nadają się do publikacji... To może tłumaczyć niedużą liczbę (co najwyżej kilkadziesiąt rocznie) opublikowanych wyników takich badań.

Wymagania doświadczalne opisano wyżej; można dodać, że w związku z tymi wymaganiami przeciętny czas zbierania danych wysokorozdzielczych jest wielokrotnie większy niż w standardowej procedurze: o ile ta ostatnia trwa dzisiaj kilka – kilkanaście godzin, to zebranie zbioru danych o jakości odpowiedniej dla badań rozkładu ładunku trwa średnio około tygodnia. Oczywiście ma na to wpływ także dążenie do uzyskania sporej nadmiarowości (ang. *redundancy*) danych – wielokrotne mierzenie intensywności tych samych refleksów, najlepiej w różnych ustawieniach kryształu, daje możliwość uzyskania statystycznie lepszych danych.

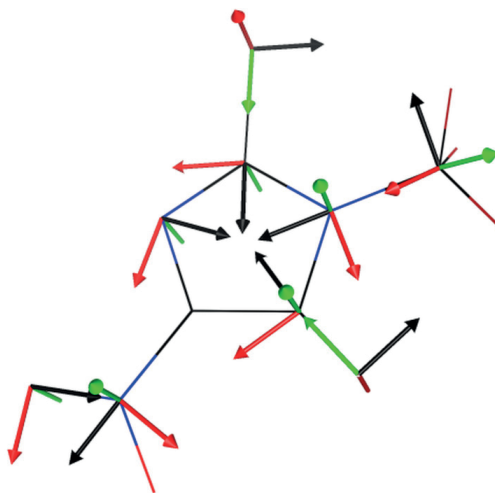
Procedura obróbki danych wymaga również więcej uwagi niż w pomiarze standardowym, wskazane jest wypróbowanie różnych opcji aby uzyskać zbiór możliwie najlepszy – to znaczy o jak najmniejszym (i jak najmniej zależnym od rozdzielczości) wewnętrznym wskaźniku zgodności R_{int} , który przy dużej nadmiarowości wiarygodnie pokazuje jakość danych.

Rozwiązania i udokładnianie struktury w modelu IAM wykonuje się standardowo; obliczona na koniec tego etapu mapa resztkowej gęstości elektronowej powinna wyglądać z grubsza jak Rysunek 2 – zdecydowanie największe wartości powinny odpowiadać wiązaniom kowalencyjnym i ewentualnie wolnym parom elektronowym.

Następnym etapem jest rozdzielenie (dekonwolucja) dwóch konkurujących efektów, w podobny sposób włączanych do modelu przez metodę najmniejszych kwadratów: drgań termicznych oraz deformacji gęstości elektronowej. Jak wspomniano wyżej, w przypadku (częstym) braku danych neutronograficznych można próbować je zastąpić udokładnianiem współrzędnych i czynników drgań termicznych dla atomów niewodorowych (dla atomów wodoru nie ma to sensu) tylko przy użyciu danych wysokokątowych (typowo o rozdzielczości poniżej $0,7\text{\AA}$). Sprawdzeniem istotności wyników na tym etapie może być tzw. test sztywnego wiązania (również pochodzący od Hirshfelda [19, 35]). Zakłada on, że w przypadku dobrze opisanych drgań termicznych, dla atomów związanych chemicznie wiązaniem kowalencyjnym składowe tensora tych drgań wzdłuż kierunku wiązania powinny być sobie równe. Udokładnianie wysokokątowe powinno prowadzić do istotnego poprawienia wyników tego testu. Mapa resztkowej gęstości elektronowej powinna być po tym udokładnianiu ostrzejsza niż obliczona poprzednio.

Pozostają atomy wodoru: posiadając tylko dane rentgenowskie można jedynie sztucznie przesunąć je do położeń typowych dla wyników neutronograficznych. Odbywa się to poprzez przesunięcie tych atomów na odpowiednią odległość wzdłuż wiązania X-H, argumentuje się bowiem, że kąty walencyjne są znacznie mniej zaburzone przez efekty deformacji rozkładu gęstości elektronowej niż długości wiązań. Ta teza, jakkolwiek ogólnie poprawna, została poddana krytyce w wyniku badań Woźniaka i in. [36], które wskazują, że i kąty walencyjne są systematycznie i znacząco zaburzone w modelu IAM. Drgania termiczne atomów wodoru mogą być albo pozostawione jako izotropowe, albo można obliczyć składowe tensora anizotropowych drgań za pomocą serwera SHADE [37], który analizując mody drgań układu aproksymuje elipsoidy drgań termicznych atomów wodoru.

Przed przystąpieniem do udokładniania modelu multipolowego niezbędne jest zdefiniowanie układu odniesienia dla każdego z atomów. Najbardziej popularne systemy programów wykonują to w zasadzie automatycznie, tak aby umożliwić przenoszenie wyników do baz danych lub do podobnych cząsteczek. Niemniej i tutaj możliwości ingerencji użytkownika istnieją i czasami mogą być potrzebne. Właściwy dobór układu odniesienia pozwala na uwzględnienie symetrii i w związku z tym – biorąc pod uwagę symetrię multipoli – na redukcję liczby udokładnianych parametrów. Poniższy rysunek pokazuje przykład wyboru układu odniesienia dla prostej pochodnej imidazolu. Widać, że np. dla atomów pierścienia imidazolowego, zakładając choćby przybliżoną symetrię C_s (w rzeczywistości w tym przypadku jest to symetria dokładna), można przyjąć, że obsadzenia multipole antysymetryczne względem znaku współrzędnej z muszą być równe zero.



Rysunek 6. Przykład wyboru układu odniesienia (wykonanego automatycznie przez program MoPro [15]) dla kilku atomów w cząsteczce 1-metylo-2-chloro-4-nitroimidazolu. Kolory: czarny oś x, czerwony – y, zielony – z

Figure 6. An example of the choice of coordinates system (automatically performed by MoPro software [15]) for some atoms in the molecule of 1-methyl-2-chloro-4-nitroimidazole. Black colour denotes x axis, red – y, green – z

Udokładnianie parametrów rozwinięcia multipolowego jest zadaniem delikatnym i pracochłonnym; systemy programów proponują co prawda pewne standardowe procedury, ale w zasadzie każde udokładnianie jest indywidualne. W zasadzie należy zacząć od udokładniania osobno parametrów P_{val} , κ i P_{mul} , dopiero po osiągnięciu stabilnego modelu można łączyć je w pary ($P_{val} + \kappa$, $P_{val} + P_{mul}$, $P_{mul} + \kappa$) i w końcu udokładniać wspólnie ($P_{val} + \kappa + P_{mul}$). Oczywiście, możliwe są też inne strategie, każdy krok wymaga szczegółowego sprawdzenia poprawności (racjonalności) wyników. Szczególnie wrażliwe są parametry κ' – często wprowadza się je dopiero na samym końcu do udokładniania. Dla atomów wodoru standardowo

udokładnia się jedynie obsadzenie P_{val} i dipol wzdłuż wiązania X-H; współczynniki kontrakcji/ekspansji κ i κ' ustalając na wartościach odpowiednio 1,16 i 1,2.

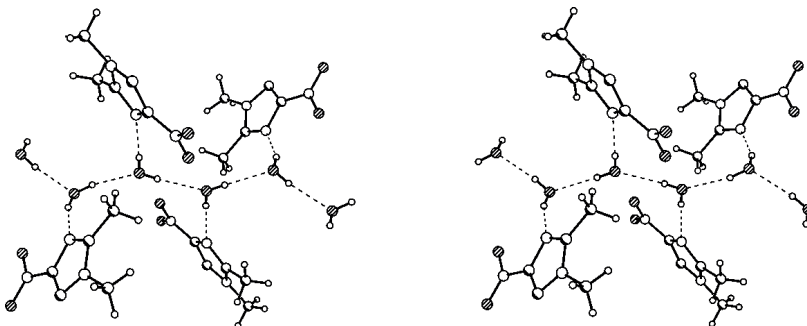
Na koniec można udokładnić ponownie współrzędne i czynniki drgań termicznych, włącznie z atomami wodoru. Ponieważ można założyć, że cała (a w każdym razie zdecydowana większość) deformacja gęstości elektronowej jest już zawarta w modelu, udokładnianie to nie powinno powodować np. skrócenia długości wiązań X-H!

Na różnych etapach udokładniania multipolowego możliwe jest stosowanie rozmaitych więzów, sztywnych i elastycznych. Zasadność wprowadzania więzów można ocenić wykorzystując od dawna stosowaną w badaniach strukturalnych białek metodę zbioru testowego R_{free} . Metoda ta, zaproponowana przez Blundella [38] w dużym skrócie, polega na obliczaniu wskaźnika rozbieżności ($R = \Sigma|F_{obs} - F_{calc}| / \Sigma F_{obs}$) dla losowo wybranej niewielkiej części refleksów, które nie są używane do udokładniania struktury. Pozwala to na zauważenie momentu w procesie udokładniania, gdy nadmiernie skomplikowany model (zbyt wiele parametrów) zaczyna zawierać również przypadkowe błędy – wtedy wskaźnik rozbieżności dla zbioru używanego do udokładniania nadal maleje, ale R_{free} się już nie poprawia. Użyteczność tej metody w badaniach rozkładu gęstości elektronowej została opisana przez Jelscha i innych [39, 40]; w zasadzie wyniki tych testów wskazują na to, że poprawne jest wprowadzanie więzów z małymi wagami. Stosowanie tej metody jest krytykowane, głównym argumentem jej przeciwników jest nadmierne (5%) ograniczenie zbioru danych. Pewnym sposobem na obejście tej kontrowersji jest stosowanie kilku – kilkunastu zbiorów testowych w odrębnych udokładnieniach i uśrednianie wyników. Niemniej krytyka nie jest pozbawiona podstaw.

5. PRZYKŁAD: 1,2-DIMETYLO-4-NITRO-5-MORFOLINOIMIDAZOL

Badania strukturalne 1,2-dimetylo-4-nitro-5-morfolinoimidazolu (**1**) pokazały interesujące problemy strukturalne. Związek ten w formie bezwodnej daje kryształy o kiepskiej jakości i krystalizuje w grupie przestrzennej $P2_1/m$, z cząsteczką w położeniu szczególnym (symetria C_s) [41]. W obecności nawet śladów wody krystalizuje jako hydrat dając piękne kryształy doskonałej jakości (krystalizują cztery cząsteczki **1** i cztery cząsteczki wody w trójskośnej komórce elementarnej). Niestety, również w tej formie napotyka się problem, a i to podstawowy: można ją opisać jako uporządkowaną w grupie niecentrosymetrycznej $P1$, bądź nieuporządkowaną, ale za to w grupie centrosymetrycznej $P-1$, przy czym nieporządek dotyczy dwóch(!) atomów wodoru, po jednym z dwóch symetrycznie niezależnych cząsteczek wody. Struktura wygląda więc tak, że mamy homodromowe (biegnące w jedną stronę) łańcuchy cząsteczek wody, połączone wiązaniami wodorowymi, na które „nanizane” są uporządkowane cząsteczki **1** (Rys. 4). Doświadczenie dyfrakcyjne, ze względu na swoją istotę uśrednia położenia atomów w kryształach zarówno w przestrzeni (po

komórkach elementarnych) jak i po czasie pomiaru, a więc obraz, który obserwujemy zawiera nieuporządkowane cząsteczki wody [39].



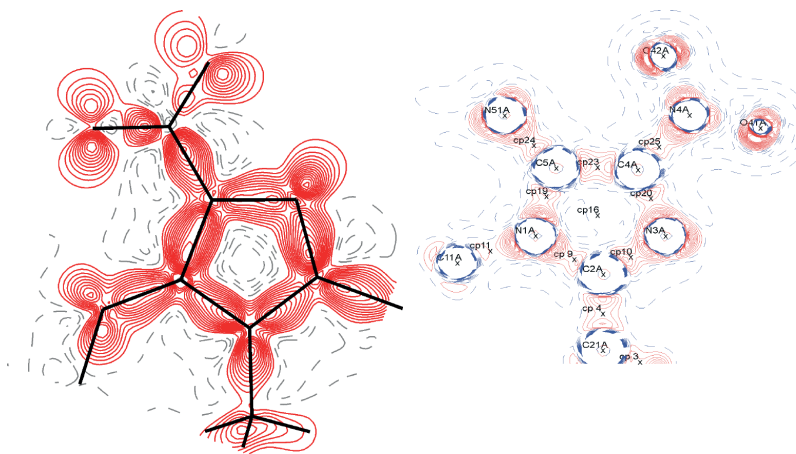
Rysunek 7. Dwa homodromowe łańcuchy cząsteczek wody z 'naniznymi' na nie cząsteczkami 1,2-dimetylo-4-nitro-5-morfolinoimidazolu; obraz dyfrakcyjny uśrednia oba te motywy i w efekcie daje nieuporządkowane położenia jednego z atomów wodoru cząsteczek wody (za [41])

Figure 7. Two homodromic chains of water molecule with molecules of 1,2-dimethyl-4-nitro-5-morpholine-imidazole; diffraction experiment averages these motifs and gives effectively disordered positions of one of the hydrogen atoms of water molecules (after [41])

Nieporządek jest poważnym problemem dla badań rozkładu gęstości, chociaż znane są przykłady, w których z powodzeniem ten problem dało się rozwiązać [42, 43]. Struktura **1** była szczególnie interesująca ze względu na bogactwo słabych oddziaływań typu C-H...O lub C-H...N, a oddziaływania te – a właściwie rola badań rozkładu gęstości elektronowej w ich opisie – były (a chyba wciąż są) przedmiotem wątpliwości i kontrowersji. W 1999 roku pojawił się artykuł M. Spackmana [44], w którym wykazano, że zależności między geometrycznymi a topologicznymi i energetycznymi charakterystykami kontaktów X-H...O, opisane dla modelu multipolowego przez Espinose i in. [45], są całkiem dobrze odtwarzane przez sferycznie symetryczne rozkłady ładunku, procząsteczkę. Argumentowano, że wpływ deformacji gęstości elektronowej w obszarze międzycząsteczkowym jest niewielki i doświadczalnie trudny do określenia. Późniejsza praca Gatti'ego i in. [46], opisująca strukturę kryształów 3,4-bis(dimetyloamino)-3-cyklobuten-1,2-dionu, uzyskaną w wyniku wyjątkowo starannego eksperymentu pokazała, że istnieją istotne różnice między wynikami modelu multipolowego a procząsteczką. Pomimo ogólnego podobieństwa, istniały oddziaływania, które w pierwszym z nich miały charakterystykę topologiczną odpowiadającą wiązaniu, a w drugim – nie. Kilka lat później Woźniak i in. [47, 48] opisali *continua* oddziaływań znalezionych w pochodnych DMAN-u (1,8-bis-dimetyloaminonaftalenu), poczynawszy od kowalencyjnych poprzez wodrowe do bardzo słabych.

Związek **1** był atrakcyjny z punktu widzenia takich właśnie badań, w jego strukturze można było znaleźć mnóstwo, dwadzieścia kilka, rozmaitych kontaktów typu C-H...O i C-H...N.

Dane zostały zebrane w temperaturze 110(1) K, przy pomocy czterołożowego dyfraktometru KUMA KM4CCD, używając promieniowania lampy z anodą Mo ($\lambda = 0,71073\text{\AA}$), w zakresie kątów 2Θ do 110° (co oznacza rozdzielczość $0,43\text{\AA}$). Zmierzono intensywności 98595 refleksów, z których 27826 było symetrycznie niezależnych przy $R_{\text{int}} = 2,7\%$. Procedura multipolowego udoładniania za pomocą programu MoPro doprowadziła do wskaźników rozbieżności $R(I) = 2,83\%$, $wR(F) = 1,43\%$, $S = 1,12$. Nieuporządkowane atomy wodoru z cząsteczek wody były potraktowane jako sferycznie symetryczne.



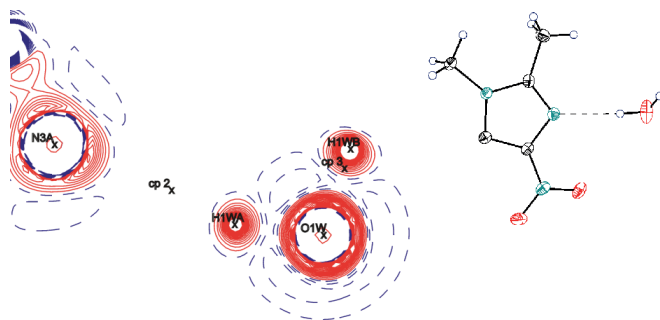
Rysunek 8. Statyczna mapa deformacji gęstości elektronowej (a) oraz mapa laplasjanu z kilkoma punktami krytycznymi (b) dla **1**

Figure 8. Static electron density deformation map (a) and Laplacian map with some critical points (b) for **1**

Mapy resztkowej gęstości elektronowej były w zasadzie pozbawione cech charakterystycznych, mapy statyczne deformacji gęstości elektronowej oraz laplasjanu wykazują oczekiwane cechy (Rys. 5).

Zidentyfikowano 24 kontakty typu C-H...O lub C-H...N, dla których można było znaleźć ścieżki oddziaływania i punkty krytyczne o charakterystyce (3,-1) – a więc, które można klasyfikować jako wiązanie wodorowe. Kilka charakterystycznych przykładów (po lewej stronie kolejnych rysunków – mapa laplasjanu z punktami krytycznymi, po prawej – odpowiedni fragment struktury):

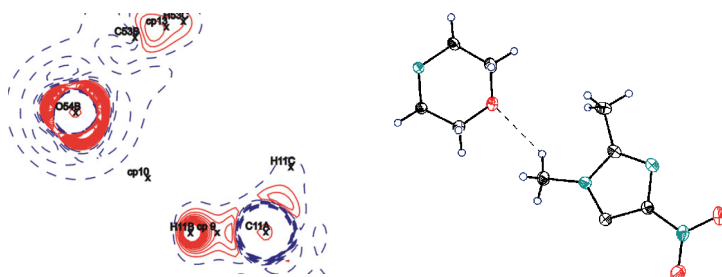
- silne wiązanie wodorowe O-H...N poprzez uporządkowany atom wodoru cząsteczki wody (Rys. 6):



Rysunek 6. Parametry punktu krytycznego cp2: H...N 2,187Å, O-H...N 162,8°, $\rho = 0,102e\text{-}\text{Å}^{-3}$

Figure 6. Parameters of the critical point cp2: H...N 2.187Å, O-H...N 162.8°, $\rho = 0.102e\text{-}\text{Å}^{-3}$

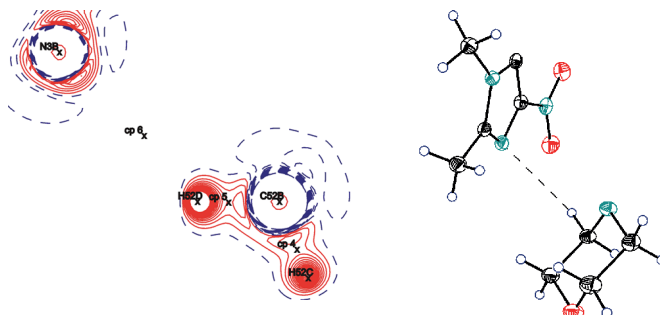
- b) względnie silne wiązanie C-H...O od grupy metylowej do atomu tlenu cząsteczki morfoliny (Rys. 7):



Rysunek 7. Parametry punktu krytycznego cp10: H...O 2,367Å, C-H...O 133,5°, $\rho = 0,082e\text{-}\text{Å}^{-3}$

Figure 7. Parameters of the critical point cp10: H...O 2.367Å, C-H...O 133.5°, $\rho = 0.082e\text{-}\text{Å}^{-3}$

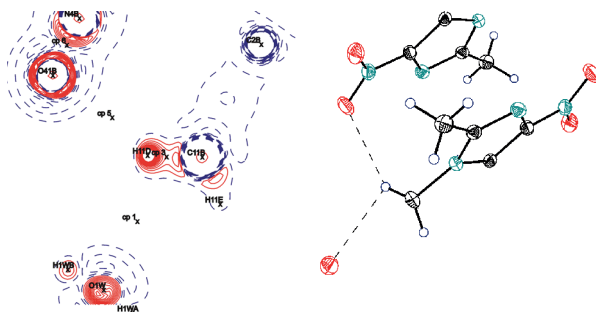
- c) słabsze wiązanie pomiędzy grupą CH₂ morfoliny a atomem azotu pierścienia imidazolowego (Rys. 8):



Rysunek 8. Parametry punktów krytycznych: cp10: H...O 2,367Å, C-H...O 133,5°, $\rho = 0,082e\text{-}\text{Å}^{-3}$; cp6: H...N 2,655Å, C-H...N 152,4°, $\rho = 0,051e\text{-}\text{Å}^{-3}$

Figure 8. Parameters of the critical points: cp10: H...O 2.367Å, C-H...O 133.5°, $\rho = 0.082e\text{-}\text{Å}^{-3}$; cp6: H...N 2.655Å, C-H...N 152.4°, $\rho = 0.051e\text{-}\text{Å}^{-3}$

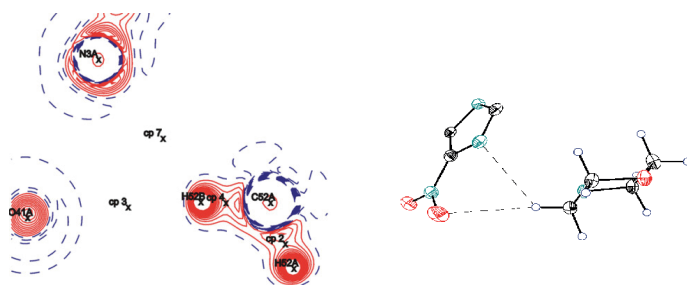
d) rozgałęzione wiązanie pomiędzy grupą CH_2 a dwoma atomami tlenu, z grupy nitrowej i cząsteczki wody (Rys. 9):



Rysunek 9. Parametry punktów krytycznych: cp1: $\text{H}\cdots\text{O1W}$ 2,788Å, $\text{C-H}\cdots\text{O1W}$ 106,2°, $\rho = 0,029\text{e}\cdot\text{Å}^{-3}$; cp5: $\text{H}\cdots\text{O41B}$ 2,449Å, $\text{C-H}\cdots\text{O41B}$ 141,6°, $\rho = 0,060\text{e}\cdot\text{Å}^{-3}$

Figure 9. Parameters of the critical points: cp1: $\text{H}\cdots\text{O1W}$ 2.788Å, $\text{C-H}\cdots\text{O1W}$ 106.2°, $\rho = 0.029\text{e}\cdot\text{Å}^{-3}$; cp5: $\text{H}\cdots\text{O41B}$ 2.449Å, $\text{C-H}\cdots\text{O41B}$ 141.6°, $\rho = 0.060\text{e}\cdot\text{Å}^{-3}$

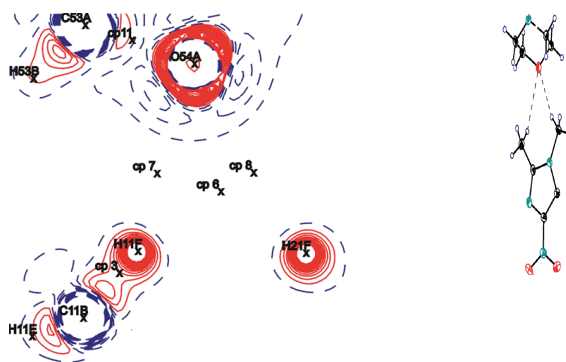
e) rozgałęzione wiązanie pomiędzy grupą CH_2 a atomami azotu z pierścienia imidazolowego i tlenu z grupy nitrowej z tej samej cząsteczki (Rys. 10):



Rysunek 10. Parametry punktów krytycznych: cp3: $\text{H}\cdots\text{O}$ 2,700Å, $\text{C-H}\cdots\text{O}$ 170,1°, $\rho = 0,033\text{e}\cdot\text{Å}^{-3}$; cp7: $\text{H}\cdots\text{N}$ 2,685Å, $\text{C-H}\cdots\text{N}$ 126,4°, $\rho = 0,048\text{e}\cdot\text{Å}^{-3}$

Figure 10. Parameters of the critical points: cp3: $\text{H}\cdots\text{O}$ 2.700Å, $\text{C-H}\cdots\text{O}$ 170.1°, $\rho = 0.033\text{e}\cdot\text{Å}^{-3}$; cp7: $\text{H}\cdots\text{N}$ 2.685Å, $\text{C-H}\cdots\text{N}$ 126.4°, $\rho = 0.048\text{e}\cdot\text{Å}^{-3}$

f) wiązania pomiędzy dwoma grupami metylowymi a atomem tlenu morfoliny (Rys. 11):



Rysunek 11. Parametry punktów krytycznych: cp7: H...O 2.381Å, C-H...O 154,0°, $\rho = 0,071 \text{ e}\cdot\text{Å}^{-3}$; cp8: H...O 2,674Å, C-H...O 129,1°, $\rho = 0,046 \text{ e}\cdot\text{Å}^{-3}$; cp6 jest punktem krytycznym związanym z pierścieniem, o charakterystyce 3,+1

Figure 11. Parameters of the critical points: cp7: H...O 2.381Å, C-H...O 154.0°, $\rho = 0.071 \text{ e}\cdot\text{Å}^{-3}$; cp8: H...O 2.674Å, C-H...O 129.1°, $\rho = 0.046 \text{ e}\cdot\text{Å}^{-3}$; cp6 is a ring critical point with 3,+1 characteristics

Porównanie otrzymanych charakterystyk dla wszystkich potencjalnych kontaktów potwierdziło wnioski Gatti'ego i in. Znalaziono takie kontakty, które nie miały ścieżki oddziaływania i punktu krytycznego dla prokryształu, a takie cechy były widoczne na mapie obliczonej dla modelu multipolowego.

PODSUMOWANIE

Doświadczalne badania szczegółów rozkładu gęstości elektronowej w kryształach za pomocą wysokorozdzielczej dyfrakcji promieni rentgenowskich stały się dojrzałą dziedziną wiedzy, chociaż ciągle – z korzyścią dla atrakcyjności – wymagającą sporej indywidualnej pracy przy każdym obiekcie. W pracy tej starałem się pokazać podstawowe pojęcia i metody związane z tymi badaniami (bardziej specjalistyczne zastosowania można znaleźć w innych artykułach tego numeru *Wiadomości Chemicznych*), a także zaprezentować procedury i pokazać na przykładzie uzyskiwane wyniki. Czytelnikom zainteresowanym pogłębieniem wiedzy na ten temat mogę polecić szereg książek oraz artykułów przeglądowych, które można znaleźć na końcu bibliografii (pozycje [48–55]). Mam nadzieję, że udało mi się przekazać wyjątkowość i bogactwo trudnej, ale obiecującej gałęzi krystalografii i zachęcić do włączenia się w ten nurt badań. Jeśli ktoś niebędący krystalografem znajdzie tu inspirację, będę zachwycony.

PODZIĘKOWANIA

Jestem bardzo wdzięczny za wprowadzenie w tematykę oraz ciekawe dyskusje profesorom Teresie Borowiak (UAM), Claude'owi Lecomte, Christianowi Jel-

schowi, Benoit Guillot (Univ. of Lorraine), Krzysztofowi Woźniakowi (UW), Cherriffowi Matcie (Mount Saint Vincent University), oraz moim współpracownikom: Agnieszce Paul-Poulain, Anicie M. Owczarzak i Grzegorzowi Dutkiewiczowi.

Szczególną wdzięczność winien jestem także recenzentom tej pracy; mam wrażenie, że dzięki Nim jest ona znacznie lepsza.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] J.P. Glusker, K.N. Trueblood, *Crystal structure analysis. A primer*, 3rd edition, Oxford University Press, 2010 (wyd. polskie: Glusker, Trueblood: *Zarys rentgenografii kryształów*, PWN, Warszawa, 1977)
- [2] P. Debye, *Ann. d. Phys.*, 1915, **351**, 809.
- [3] W.H. Bragg, *Proc. Roy. Soc. (London)*, 1921, **33**, 301.
- [4] W. Cochran, *Acta Cryst.* 1956, **9**, 924.
- [5] P. Coppens, T.M. Sabine, G. Delaplane, J.A. Ibers, *Acta Crystallogr.* 1969, **B25**, 2451.
- [6] B. Dawson, *Acta Crystallogr.*, 1964, **A17**, 990.
- [7] B. Dawson, *Acta Crystallogr.*, 1964, **A17**, 997.
- [8] B. Dawson, *Proc. Roy. Soc. A*, 1967, **298**, 225.
- [9] P. Coppens, *Science*, 1967, **158**, 1577.
- [10] P. Coppens, R. Boehme, P.F. Price, E.D. Stevens, *Acta Crystallogr.*, 1981, **A37**, 857.
- [11] F.L. Hirshfeld, *Acta Cryst.*, 1971, **B27**, 769.
- [12] K. Kurki-Suonio, *Acta Crystallogr.*, 1968, **A24**, 379.
- [13] R.F. Stewart, *J. Chem. Phys.*, 1969, **51**, 4569.
- [14] N. Hansen, P. Coppens. *Acta Crystallogr.*, 1978, **A34**, 909.
- [15] C. Jelsch, B. Guillot, A. Lagoutte, C. Lecomte, *J. Appl. Cryst.*, 2005, **38**, 38.
- [16] A. Volkov, P. Macchi, L.J. Farrugia, C. Gatti, P. Mallinson, T. Richter, T. Koritsanszky. XD2006 – a computer program for multipole refinement, topological analysis of charge densities and evaluation of intermolecular energies from experimental or theoretical structure factors. (2006).
- [17] V. Petříček, M. Dušek, L. Palatinus, *Jana 2006 – Program for structure analysis of crystals periodic in three or more dimensions from diffraction data*, 2006.
- [18] <http://pl.wikipedia.org/wiki/Plik:Harmoniki.png>
- [19] F.L. Hirshfeld, *Acta Crystallogr.*, 1976, **A32**, 239.
- [20] E.D. Stevens, P. Coppens, *Acta Crystallogr.*, 1976, **A32**, 915.
- [21] A. Paul, M. Kubicki, A. Kubas, C. Jelsch, K. Fink, C. Lecomte, *J. Phys. Chem.*, 2011, **A115**, 12941.
- [22] R.F.W. Bader, *Atoms in Molecules: A Quantum Theory*, Oxford University Press, 1994.
- [23] R.F.W. Bader, *Chem. Rev.*, 1991, **91**, 893.
- [24] R.J. Gillespie, P.L.A. Popelier, *Chemical Bonding and Molecular Geometry*, Oxford University Press, 2001.
- [25] A.M. Owczarzak, M. Kubicki, R. Kia, H. Kargar, *Proceedings of 5th International Interdisciplinary Technical Conference of Young Scientists*, Poznań, Poland, 16–18 May 2012, s. 91.
- [26] N.-E. Ghermani, N. Bouhmaida, C. Lecomte, *Acta Cryst.*, 1993, **A49**, 781.
- [27] N.-E. Ghermani, N. Bouhmaida, C. Lecomte, A. Talal, *Acta Cryst.*, 1997, **A53**, 556.
- [28] D. Kosov, P.L.A. Popelier, *J. Chem. Phys.*, 2000, **113**, 3969.
- [29] M.A. Spackman, *Chem. Rev.*, 1992, **92**, 1769.
- [30] B. Dittrich, D. Jayatilaka, *Reliable Measurements of Dipole Moments from Single-Crystal Diffraction Data and Assessment of an In-Crystal Enhancement [w:] Electron Density and Chemical Bonding II*, red. D. Stalke, *Structure and Bonding*, 2012, **147**, 27.

- [31] A. Poulain-Paul, A. Nassour, C. Jelsch, B. Guillot, M. Kubicki, C. Lecomte, *Acta Cryst.*, 2012, **A68**, 715.
- [32] M.A. Spackman, H.P. Weber, B.M. Craven, *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, **110**, 775.
- [33] Yu. A. Abramov, A. Volkov, G. Wu, P. Coppens, *J. Phys. Chem.*, 2000, **B104**, 2183.
- [34] P.M. Dominiak, E. Espinosa, J.G. Ángyán, *Intermolecular interaction energies from experimental charge density studies*, [w:] *Modern charge-density analysis*, C. Gatti, P. Macchi (Red.), Springer 2012, s. 387.
- [35] K.N. Trueblood, J.D. Dunitz, *Acta Cryst.*, 1983, **B39**, 120.
- [36] A.A. Hoser, P.M. Dominiak, K. Wozniak, *Acta Cryst.*, 2009, **A65**, 300.
- [37] A.Ø. Madsen, *J. Appl. Cryst.*, 2006, **39**, 757.
- [38] A.T. Brünger, *Nature*, 1992, **355**, 472.
- [39] S. Domagała, C. Jelsch, *J. Appl. Cryst.*, 2008, **41**, 1140.
- [40] A. Paul, M. Kubicki, C. Jelsch, P. Durrand, C. Lecomte, *Acta Cryst.*, 2011, **B67**, 365.
- [41] M. Kubicki, T. Borowiak, G. Dutkiewicz, S. Sobiak, I. Weidlich, *Acta Crystallogr.*, 2003, **B59**, 487.
- [42] J.M. Bak, P.M. Dominiak, C.C. Wilson, K. Wozniak, *Acta Cryst.*, 2009, **A65**, 490.
- [43] M. Kubicki, A. Poulain, C. Lecomte, *Acta Cryst.*, 2013, **A69**, s184.
- [44] M.A. Spackman, *Chem. Phys. Lett.*, 1999, **301**, 425.
- [45] E. Espinosa, E. Molins, C. Lecomte, *Chem. Phys. Lett.*, 1998, **285**, 170.
- [46] C. Gatti, E. May, R. Destro, F. Cargnoni, *J. Phys. Chem.*, 2002, **A106**, 2707.
- [47] P.R. Mallinson, G.T. Smith, C.C. Wilson, E. Grech, K. Wozniak, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 4259.
- [48] P.M. Dominiak, A. Makal, P.R. Mallinson, K. Trzcinska, J. Eilmes, E. Grech, M. Chruszcz, W. Minor, K. Wozniak, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 1941.
- [49] T. Steiner, *Angew.Chem.Int.Ed.* 2002, **41**, 48.
- [50] V.G. Tsirelson, R.P. Ozerov, *Electron density and bonding in crystals*, Institute of Physics Publishing, 1996.
- [51] P. Coppens, *Charge density and chemical bonding*, Oxford University Press, 1997.
- [52] G.A. Jeffrey, J.F. Piniella (red.), *The application of charge-density research to chemistry and drug design*, Plenum Publ.Corp. 1998.
- [53] C. Gatti, P. Macchi (red.), *Modern Charge density analysis*, Springer, 2012.
- [54] D. Stalke (red.), *Electron Density and Chemical Bonding I. Experimental charge density studies. Structure and bonding*, vol. 146, 2012.
- [55] D. Stalke (red.), *Electron Density and Chemical Bonding II. Theoretical charge density studies. Structure and bonding*, vol. 147, 2012.
- [56] T.S. Koritsanszky, P. Coppens, *Chem. Rev.*, 2001, **101**, 1583.
- [57] C. Lecomte, E. Aubert, V. Legrand, F. Porcher, S. Pillet, B. Guillot, C. Jelsch, *Z. Krist.*, 2005, **220**, 373.

Praca wpłynęła do Redakcji 11 lutego 2014

**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 informację o oddziaływaniach międzycząsteczkowych.

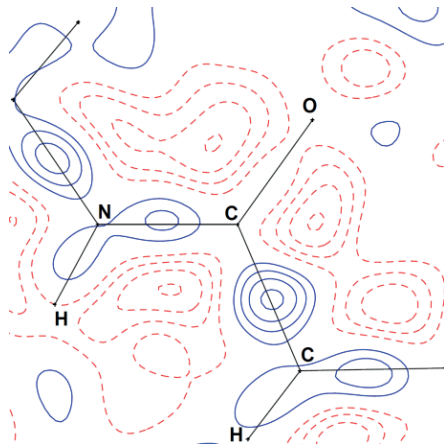
Promieniowanie rentgenowskie ulega dyfrakcji na gęstości elektronowej kryształu. Tym samym, poprawna analiza obrazu dyfrakcyjnego monokryształu może dostarczyć informacji o rozkładzie tej gęstości. O tym, jak dokładnie i precyzyjnie jesteśmy w stanie wyznaczyć rozkład gęstości elektronowej kryształu, 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 krysztalografii 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 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 ζ i n_l oraz z rzeczywistych harmonik sferycznych znormalizowanymi do gęstości $d_{lmp}(\theta, \phi)$ ($p = \pm$). Współrzędne r, θ, ϕ odnoszą się do lokalnego kartezjańskiego układu odniesienia scentrowanego w pozycji atomu. Populacje P_v i P_{lmp} oraz bezwymiarowe parametry ekspansji-kontrakcji κ i κ' 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

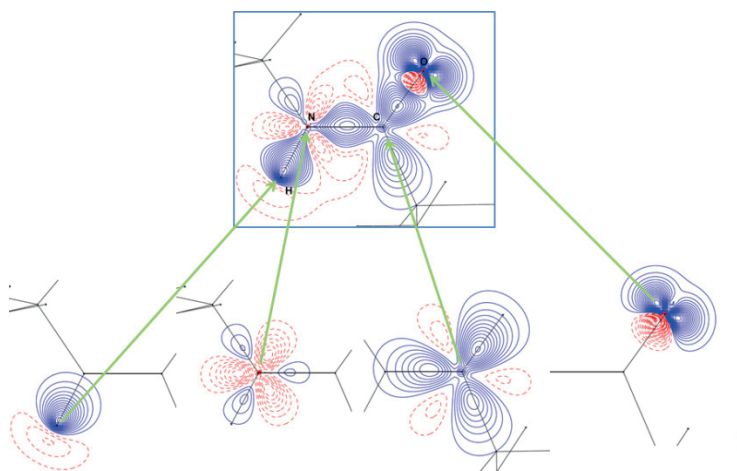
Wszystkie wymienione wyżej banki pseudoatomów są tworzone w oparciu o model Hansena-Coppensa [1]. Wartości parametrów tego modelu otrzymywane są wyniku specyficznej dla danego banku procedury. Każdy bank zawiera również zestaw specyficznych dla siebie typów atomów.

W UBDB i ELMAM2 każdy typ atomu powstaje w wyniku uśrednienia parametrów gęstości elektronowej (P_v , P_{imp} , κ i κ') 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 drugimi i trzecimi 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 obciążone są parametry gęstości elektronowej. W bazie GID z kolei decyzja czy brane są pod uwagę drugimi (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 $0,05 \text{ e}/\text{\AA}^3$

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 $0.05 \text{ e}/\text{\AA}^3$

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

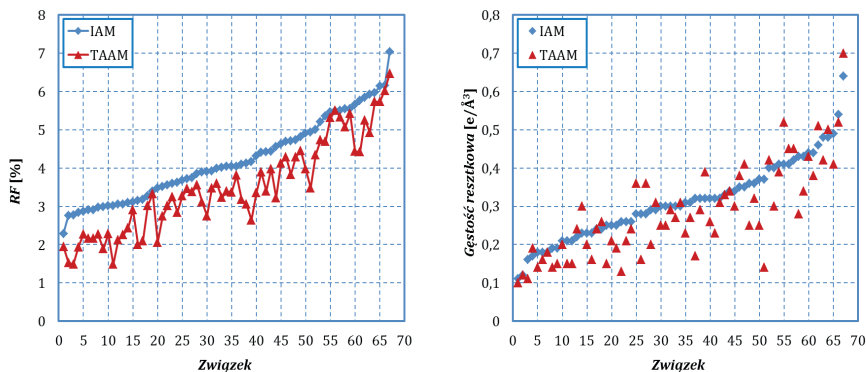
w oparciu o ich banki opisuje lepiej dane eksperymentalne o standardowej rozdzielczości i czy informacja strukturalna uzyskana przy jego użyciu jest istotnie lepsza od tej z udoładnienia IAM. Testowano także przydatność banków w procesie udoładnienia modelu multipolowego względem wysokorozdzielczych danych rentgenowskich. Porównane też zostały same banki między sobą, a dokładniej porównano wyniki ich zastosowań w udoładnianiu 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 udoładnianiu opartym na danych rentgenowskich o standardowej rozdzielczości, zarejestrowanych dla kryształów związków małowcząsteczkowych (około 100 testowych struktur), w porównaniu z IAM przynosi efekty jak poniżej:

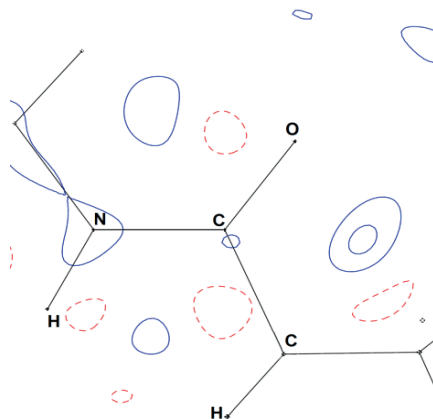
1. Poprawiają się wartości wskaźników statystycznych wyrażających dopasowanie modelu do danych eksperymentalnych. Wartości wskaźników rozbieżności (RF , wRF , wR^2F , wR^2F) obniżają się przeciętnie o około 1%, a wartości GooF zbliżają się znacząco do jedności [9, 13–17, 24–28, 30–32] (Rys. 3). Uzyskuje 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

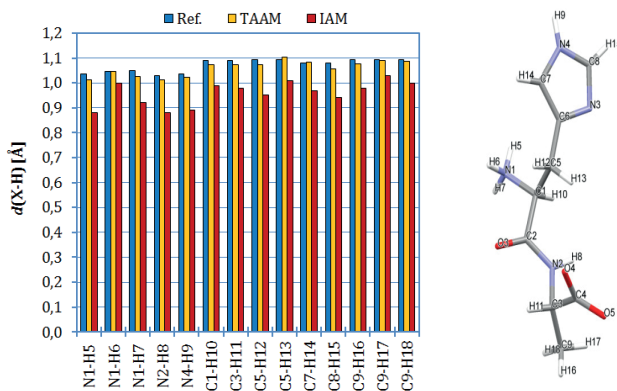
Figure 3. A comparison of the crystallographic RF factor [%] and maximal residual density $[e/\text{Å}^3]$ between exemplary IAM and TAAM refinements. TAAM built from GID. Prepared on the basis of the data from [15] and [17], resolution $0,6 \text{ Å} \leq d_{\min} \leq 0,9 \text{ Å}$. Compounds order, 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 ciągłe 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 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.

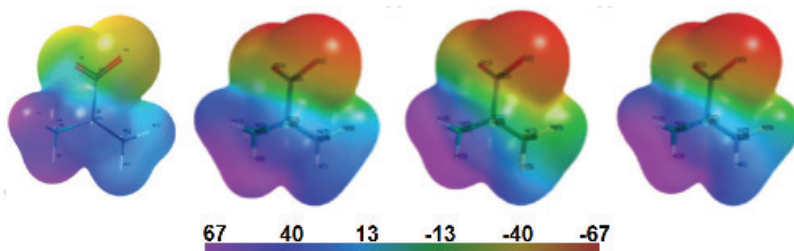
Reasumując, gęstość elektronowa zrekonstruowana przy użyciu banków jest wystarczająco dokładna, aby opisać większość informacji zawartej w dostępnych obecnie danych eksperymentalnych. Czy dokładność tej rekonstrukcji jest wystarczająco dobra, aby w sposób ilościowy móc szacować na podstawie gęstości 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 $0,05\text{--}0,2\text{ e}/\text{\AA}^3$ w okolicach wiązań kowalencyjnych oraz rzędu $0,2\text{--}0,3\text{ e}/\text{\AA}^3$ (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 $0,1\text{ e}/\text{\AA}^3$ [10, 26, 50]. Aczkolwiek niepokojące jest to, że różnica systematycznie obserwowana w wartościach $\rho(\text{BCP})$ dla TAAM i IAM jest również rzędu $0,1\text{ e}/\text{\AA}^3$ [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.



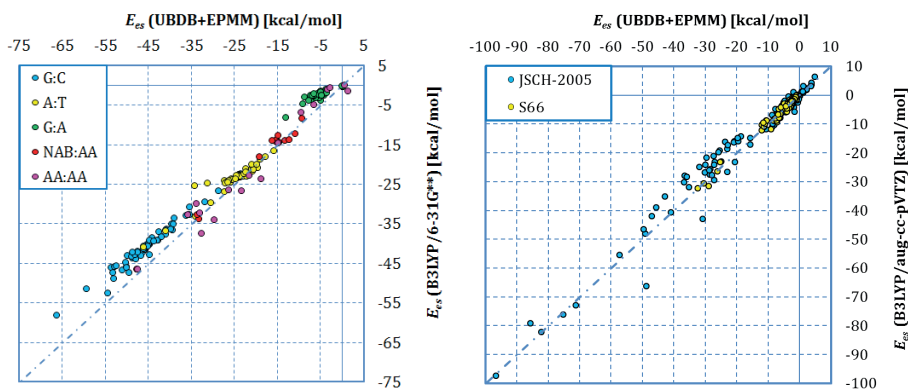
Rysunek 6. Przykładowy potencjał elektrostatyczny [kcal/mol-e] L-alaniny zmapowany na izopowierzchnię gęstości elektronowej ($\rho = 0,0135 \text{ e}/\text{\AA}^3$), od lewej: G03/MP2/aug-cc-pVDZ, ELMAM2, GID, UBDB

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].

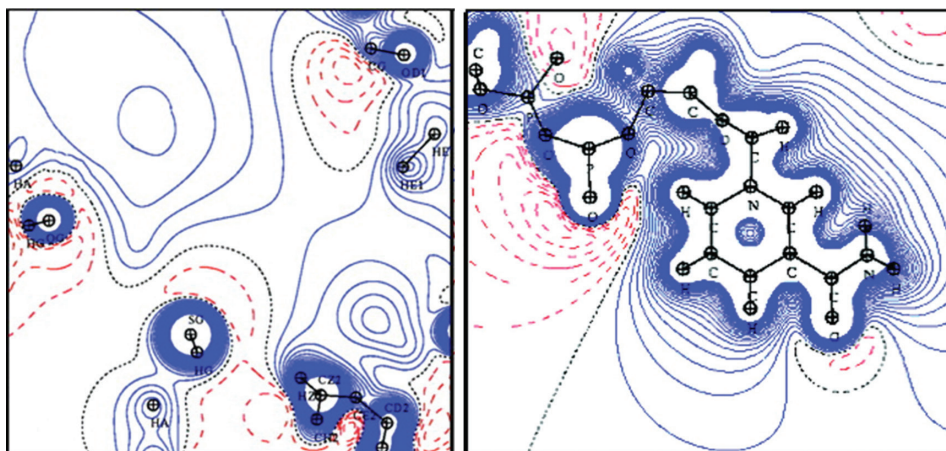
Badania łączące wykorzystanie udokładniania TAAM i analizę elektrostatycznych właściwości cząsteczek w kontekście ich aktywności biologicznej przeprowadzono, na przykład, dla beksarotenu i disila-beksarotenu, agonistów receptora retinoidowego typu X [66]; (Z)-4-[5-(2,6-difluorobenzyl)-1-(2-fluorobenzyl)-2-okso-1,2-dihidropirydyn-3-yl]-4-hydroksy-2-okso-N-(2-oksopirolidyn-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 α -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⁺ i inhibitorem [71], trypsyny [72], dimeru 9-metyloadeniny z 1-metylotyminą [73] oraz 9-difenylotiofosfinoantracenu [86].

W przypadku reduktazy aldozy, gęstość elektronowa homologu NADP⁺, NAD⁺, została wyznaczona eksperymentalnie i przeniesiona na współrzędne NADP⁺, 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⁺. Z lewej: białko bez NADP⁺, z prawej: samo NADP⁺. Linie niebieskie ciągłe przedstawiają izolinie potencjału elektrostatycznego o wartościach dodatnich, linie czerwone przerywane – o wartościach ujemnych oraz linie czarne kropkowane – wartość zero; interwał izolunii 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

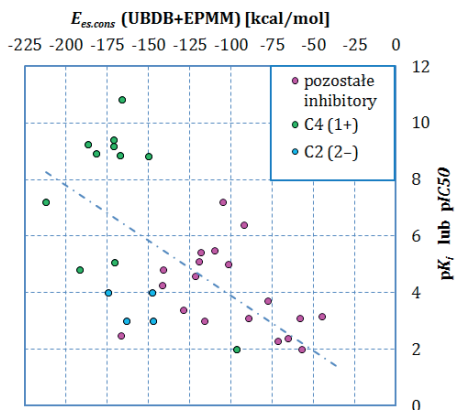
Figure 8. Electrostatic potential as generated by the aldose reductase in the active site computed from TAAM in the plane of the NADP⁺ nicotinamide ring. Left: protein without NADP⁺, right: NADP⁺ alone. The continuous blue lines represents isolines of electrostatic potential having a positive value, 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 α -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 α -helisie na przykładzie białek reduktazy aldozy, β -glukozydazy, CTS-M-9- β -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 neuraminidazy 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. Grint, 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

**ZASTOSOWANIE TOPOLOGICZNEJ ANALIZY
GĘSTOŚCI ELEKTRONOWEJ DO OPISU
ODDZIAŁYWAŃ NIEKOWALENCYJNYCH**

**THE USE OF TOPOLOGICAL ANALYSIS OF
ELECTRON DENSITY IN CHARACTERIZATION OF
NONCOVALENT INTERACTIONS**

**Barbara Bankiewicz^{1,2}, Agnieszka Rybarczyk-Pirek¹,
Magdalena Małecka¹, Małgorzata Domagała¹,
Marcin Palusiak^{1,*}**

¹ *Katedra Chemii Teoretycznej i Strukturalnej, Wydział Chemii, Uniwersytet Łódzki,
ul. Pomorska 163/165, 90-236 Łódź*

² *Zakład Chemii Teoretycznej, Instytut Chemii, Uniwersytet w Białymstoku,
ul. Hurtowa 1, 15-339 Białystok
e-mail: marcinp@uni.lodz.pl

Abstract

Słowo wstępne

1. Wprowadzenie do teorii

1.1. Parametry topologiczne wiązań chemicznych

1.2. Przybliżenie Abramova

1.3. Funkcja źródła

2. Parametry QTAIM vs energia oddziaływania

3. Zastosowanie deskryptorów opartych na QTAIM do analizy oddzia-
ływań międzycząsteczkowych w kryształach

4. Kontrowersje wokół oddziaływań typu H...H

5. Zależność obliczeń QTAIM od bazy i metody

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Mgr Barbara Bankiewicz pracuje jako asystent w Zakładzie Chemii Teoretycznej w Instytucie Chemii Uniwersytetu w Białymstoku. Zainteresowania naukowe B. Bankiewicz dotyczą oddziaływań międzycząsteczkowych. Szczególną uwagę poświęca badaniom wiązań wodorowych oraz wiązań halogenowych w oparciu o metody kwantowo-chemiczne, stanowiących tematykę pracy doktorskiej.



Dr Agnieszka Rybarczyk-Pirek jest absolwentem Wydziału Fizyki i Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. Obecnie zatrudniona na etacie adiunkta na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego jest współautorem 35 publikacji o zasięgu międzynarodowym. Jej główne zainteresowania naukowe dotyczą analizy oddziaływań międzycząsteczkowych w stanie krystalicznym. W swoich badaniach wykorzystuje eksperymentalne metody dyfrakcji rentgenowskiej oraz metody teoretyczne bazujące na analizie topologicznej rozkładu gęstości elektronowej.



Dr Małgorzata Domagała ukończyła studia na Wydziale Fizyki i Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. Swoją dotychczasową działalność naukową i zawodową związała z uczelnią macierzystą, w której w 2007 roku uzyskała stopień doktora nauk chemicznych. Obecnie pracuje jako adiunkt w Katedrze Chemii Teoretycznej i Strukturalnej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. Jej główne zainteresowania naukowe skupiają się wokół niekowalencyjnych oddziaływań międzycząsteczkowych w ciele stałym i fazie gazowej. Metodyka prowadzonych badań oparta jest na dyfrakcji rentgenowskiej i obliczeniach kwantowo-mechanicznych.



Dr Magdalena Małecka ukończyła studia na Wydziale Mat-Fiz-Chem Uniwersytetu Łódzkiego. Całe swoje życie zawodowe związała z krystalograficznym ośrodkiem Uniwersytetu Łódzkiego, w którym najpierw pracowała na stanowisku naukowo-technicznym, następnie jako asystent i od roku 1999 jako adiunkt. Odbiła staże naukowe w Philipps University w Marburgu (prof. W. Massa), University of Bayreuth (prof. S. van Smaalen) oraz w Uniwersytecie Adama Mickiewicza (prof. M. Jaskólski). Jej zainteresowania naukowe obejmują szeroki zakres badań strukturalnych, ze szczególnym uwzględnieniem analizy wewnątrzcząsteczkowych oddziaływań wodorowych. Badania strukturalne bardzo często wspomagane są metodami chemii kwantowej, a w ostatnich latach badaniami eksperymentalnej gęstości elektronowej w oparciu

o pomiary synchrotronowe. Jest autorką ponad 50 publikacji naukowych w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym i licznych wystąpieniach konferencyjnych w kraju i zagranicą.



Dr hab. Marcin Palusiak, prof. UŁ, w 2001 roku ukończył studia na Wydziale Fizyki i Chemii UŁ, w 2005 obronił pracę doktorską w dziedzinie chemii strukturalnej (promotor prof. Sławomir J. Grabowski), a w 2010 uzyskał stopień doktora habilitowanego (tematyka habilitacji w dziedzinie fizycznej chemii organicznej). Odbił szereg staży krajowych i zagranicznych, m.in. w Uniwersytecie Warszawskim (prof. Tadeusz M. Krygowski, fizyczna chemia organiczna), Uniwersytecie w Gironie (prof. Miquel Sola, chemia obliczeniowa), Wolnym Uniwersytecie w Amsterdamie (prof. F. Matthias Bickelhaupt, chemia teoretyczna), Uniwersytecie w Ratyźbonie (prof. Arno Pfitzner, krystalografia). W swoich badaniach porusza się na styku chemii eksperymentalnej i teoretycznej, koncentrując się na: badaniach nad naturą wiązania chemicznego, efektach π -elektronowych i miarach aromaticzności, oddziaływaniach niekowalencyjnych, astrochemii. Jest autorem lub współautorem 65 artykułów w pismach o zasięgu międzynarodowym.

ABSTRACT

All atomic and molecular properties are governed by an electron density distribution. Thus, the methods that deal with an analysis of the electron density distribution should have a particular appeal for chemists and help to understand the electron structure of molecules. The Quantum Theory of Atoms in Molecules gives the unique opportunity to have an insight into a region (e.g., an atom) of a given system (e.g. a molecule), delivering partitioning scheme which is defined explicitly within the rigorous quantum theory, from one side, and is applicable for experimentally available set of observables, from the other side. In that way QTAIM delivers a chemist a theoretical tool to study a small part of a molecule only, instead of dealing with the total energy of a whole system. In consequence, QTAIM has become one of the most powerful utilities of modern chemistry, forming a bridge between advanced theoretical and experimental techniques. In particular the properties of the electron density function in the so-called bond critical point (BCP, the (3, -1) saddle point on electron density curvature) seem to be valuable information for chemists, since it was proven in many papers that the chemical bonding can be characterized and classified on the basis of electron density characteristics measured in BCPs .

In this review we firstly give a brief introduction to the theory, explaining most basic terms and dependences. In the main part of the review we discuss application of QTAIM in the qualitative and quantitative analysis of several various noncovalent interactions, focusing readers attention on such aspects as classification of interactions and interaction energy assessment. Both theoretical and experimental approaches are taken into account. We also discuss extensions of QTAIM to the analysis of the so called *source function* – the method which additionally enlarge interpretative possibilities of its parent theory.

Finally, we give some examples which perhaps escape a rigorous QTAIM definition of chemical bonding. We acquaint the potential reader with arguments being *pro-* and *against* the QTAIM-based deterministic model of a chemical bond.

Keywords: Quantum Theory of Atoms in Molecules, electron density, topological analysis, chemical bonding, noncovalent bonding

Słowa kluczowe: teoria kwantowa Atomy w Cząsteczkach, gęstość elektronowa, analiza topologiczna, wiązanie chemiczne, oddziaływanie niekowalencyjne

WSTĘP

Zgodnie z definicją zawartą w Kompendium Terminologii Chemicznej IUPAC [1] z wiązaniem chemicznym mamy do czynienia wtedy, gdy siły działające między atomami, lub grupami atomów, prowadzą do utworzenia trwałego bytu cząsteczkowego. Zaletą tej definicji jest jej ogólność, wadą – brak precyzji. Warto zatem bliżej ją przeanalizować. W pierwszej kolejności zastanówmy się, o jakich siłach jest mowa? Niewątpliwie muszą to być siły wynikające z oddziaływań między jądrami atomowymi i elektronami (chmurą elektronową), czyli odpychanie typu jądro-jądro, odpychanie typu elektron-elektron oraz przyciąganie typu jądro-elektron. Mówiąc o wiązaniu chemicznym siłą rzeczy rozważamy oddziaływania międzyatomowe. W myśl zacytowanej definicji wiązanie chemiczne może powstać jedynie w przypadku, gdy wymienione powyżej siły związane z odpychaniem są kompensowane przez przyciąganie chmury elektronowej jednego atomu przez jądro sąsiada i *vice versa*.

Zgodnie ze sformułowanym w późnych latach trzydziestych ubiegłego wieku, twierdzeniem Hellmana-Feynmana, jeśli znany jest przestrzenny rozkład ładunku elektronowego (w oryginale jako wynik rozwiązania równania Schrödingera, gdyż metody eksperymentalne nie mogły być w tym czasie nawet brane pod uwagę), to wszystkie siły działające w układzie można wyznaczyć w oparciu o klasyczną elektrostatykę [2, 3]. Innymi słowy, siła działająca na jądro w cząsteczce jest siłą elektrostatyczną będącą wynikiem oddziaływania tego jądra z innymi jądrami oraz z chmurą elektronową (w geometrii równowagowej wszystkie siły równoważą się). Zatem twierdzenie Hellmana-Feynmana identyfikuje siły międzyatomowe wspomniane w cytowanej definicji wiązania chemicznego. Jeśli jednak, w myśl wspomnianego twierdzenia, siły odpowiadające za powstanie wiązań międzyatomowych są zawsze wynikiem tego samego rodzaju oddziaływań elektrostatycznych to jak odróżnić wiązanie np. kowalencyjne od jonowego? Sprawa komplikuje się jeszcze bardziej, gdy uświadomimy sobie, że te same siły odpowiadają również za powstawanie wiązań wodorowych czy oddziaływań powszechnie klasyfikowanych jako van der Waalsa [4]. Cytując Johna Slatera: „*The writer believes that there is no very fundamental distinction between the van der Waals binding and covalent binding. If we refer them back to the electronic charge distribution, which as we have seen is solely responsible for the interatomic forces, we have the same type of behavior in both cases*” [4]. W tym miejscu liczne grono chemików mogłoby poczuć dyskomfort. Wielu z nich nie zaklasyfikowałoby oddziaływania van der Waalsa jako wiązania chemicznego.

Wracając jednak do podanej na początku definicji wiązania chemicznego, pojawia się pytanie: co należy rozumieć pod pojęciem trwałego bytu cząsteczkowego? Nawet najtrwalsze cząsteczki chemiczne ulegają rozpadowi w sprzyjających warunkach. Z drugiej strony stabilizowana wiązaniami wodorowymi struktura lodu jest niewątpliwie trwała. O trwałości drugorzędowej struktury DNA też nikogo nie trzeba przekonywać. Każdy chemik intuicyjnie doskonale odróżnia wiązanie kowalencyjne od wiązania jonowego czy wodorowego, swobodnie posługując się tymi

terminami w codziennej pracy badacza. W tytule przedłożonego czytelnikowi opracowania użyto terminu „oddziaływanie niekowalencyjne” w kontekście relatywnie słabych, najczęściej (choć nie zawsze!) międzycząsteczkowych oddziaływań. Jednak podanie jednoznacznej definicji klasy wiązań niekowalencyjnych w oparciu o zjawiska fizyczne odpowiadające za ich powstanie byłoby równie trudne, co zdefiniowanie każdego innego typu wiązania chemicznego. Pamiętać należy, że w praktyce wszelkie klasyfikacje wiązań chemicznych bazują na umownych podziałach oraz modelach, mających zastosowanie jedynie do wąskiej grupy (klasy) wiązań chemicznych. Jednym z istotnych celów niniejszej pracy jest przedstawienie metodologii, która pozwala na kategoryzację całego spektrum wiązań chemicznych, w tym również wiązań niekowalencyjnych. Aby nieco przybliżyć zakres omawianych zagadnień, warto posłużyć się cytatem z pracy R.F.W. Badera: *There are two schools of thought in chemistry: one derived from the valence bond and molecular orbital models of bonding, the other appealing directly to the measurable electron density and the quantum mechanical theorems that determine its behavior* [5]. Podczas pracy nad przedłożonym czytelnikowi opracowaniem, autorom bliższe było drugie podejście.

1. WPROWADZENIE DO TEORII

Kwantowa teoria Atomów w Cząsteczkach (ang. *Quantum Theory of Atoms In Molecules*, QTAIM) jest pomostem łączącym zaawansowaną mechanikę kwantową z klasyczną chemią doświadczalną. Daje niepowtarzalną możliwość zbadania właściwości fizycznych poszczególnych atomów lub fragmentów cząsteczki, bez konieczności traktowania jej jako niepodzielnej całości, co odróżnia teorię QTAIM od metod kwantowo-chemicznych bazujących na opisie układu za pomocą funkcji falowej. Charakterystyczne cechy atomów, jak na przykład ich granice i właściwości, w większym lub mniejszym stopniu są zachowane, jeśli analizowane są w różnorodnych układach. Podział układu w ramach teorii QTAIM opiera się na jego fizycznych właściwościach, a konkretnie na rozkładzie gęstości elektronowej reprezentującej badany układ. Umożliwia tym samym analizę właściwości danego atomu lub fragmentu molekularnego wewnątrz cząsteczki bez konieczności stosowania arbitralnego niefizycznego podziału jej przestrzeni. Teoria QTAIM okazała się być doskonałym narzędziem do analizy różnorodnych oddziaływań występujących w cząsteczkach, jonach, kompleksach, różnej wielkości agregatach molekularnych czy nawet kryształach. Warto wspomnieć, że twórcą teorii QTAIM jest kanadyjski uczyony Richard F.W. Bader (1931–2012) z McMaster University [6].

Teoria QTAIM to usystematyzowana analiza rozkładu ładunku elektronowego. Opiera się na wyznaczeniu i analizie funkcji gęstości elektronowej, jej parametrów w tzw. punktach krytycznych (ang. *critical points*, CP) oraz topologicznej analizie pola gradientu. Gęstość elektronowa jest wielkością opisującą prawdopodobieństwo znalezienia elektronu w danym miejscu, którą można rozpatrywać jako funkcję trzech przestrzennych współrzędnych kartezjańskich x , y i z . Każdy elektron

w modelu wieloelektronowym cząsteczki opisany jest przez funkcję falową reprezentującą orbital molekularny Ψ_i oraz przez przestrzenne i spinowe współrzędne $q_i = (x_i, y_i, z_i, \sigma_i)$. Liczbę stanów wszystkich N elektronów cząsteczki skrótowo zapisujemy jako $Q = (q_1, q_2, \dots, q_N)$. Gęstość elektronową cząsteczki opisuje następujący wzór:

$$\rho(x, y, z) = N \int d\tau' \Psi^*(Q) \Psi(Q)$$

gdzie $\int d\tau'$ oznacza całkowanie po przestrzennych i spinowych współrzędnych wszystkich elektronów cząsteczki oprócz jednego [7].

Aby scharakteryzować daną funkcję należy wyznaczyć jej punkty stacjonarne przy pomocy gradientu. Gradient $\nabla\varphi$ jest wektorem zdefiniowanym na skalarnej funkcji $\varphi(x, y, z)$. Gradient zawsze zwrócony jest w kierunku największego wzrostu wartości funkcji φ .

$$\text{grad } \varphi(x, y, z) = \nabla \varphi(x, y, z) = \left[\frac{\partial \varphi(x, y, z)}{\partial x}, \frac{\partial \varphi(x, y, z)}{\partial y}, \frac{\partial \varphi(x, y, z)}{\partial z} \right] = \left[\frac{\partial \varphi}{\partial x}, \frac{\partial \varphi}{\partial y}, \frac{\partial \varphi}{\partial z} \right]$$

Wyróżniamy cztery typy punktów krytycznych, będących punktami stacjonarnymi funkcji gęstości elektronowej, w których gradient gęstości elektronowej $\nabla\rho$ jest równy zero.

$$\nabla\rho = \vec{i} \frac{\partial \rho}{\partial x} + \vec{j} \frac{\partial \rho}{\partial y} + \vec{k} \frac{\partial \rho}{\partial z} \rightarrow \begin{cases} = \vec{0} \text{ (w punkcie krytycznym i w } \infty) \\ \neq \vec{0} \text{ (w każdym innym punkcie)} \end{cases}$$

gdzie \vec{i} , \vec{j} i \vec{k} , to wersory osi układu współrzędnych kartezjańskich. Wektor zerowy oznacza, że każda składowa gradientu w danym punkcie jest równa zero.

Punkty krytyczne odpowiadają lokalnym maksimum, dwóm rodzajom punktów siodłowych oraz lokalnym minimum funkcji gęstości elektronowej. Aby odróżnić punkty stacjonarne i właściwie je scharakteryzować należy obliczyć hesjan, lub inaczej macierz Hessego, czyli macierz drugich pochodnych danej funkcji po wszystkich możliwych kombinacjach współrzędnych. W przypadku gęstości elektronowej macierz Hessego (od nazwiska niemieckiego matematyka, Ludwiga Otto Hessego, 1811–1874) jest macierzą złożoną z dziewięciu pochodnych.

$$\nabla\nabla\rho = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 \rho}{\partial x^2} & \frac{\partial^2 \rho}{\partial x \partial y} & \frac{\partial^2 \rho}{\partial x \partial z} \\ \frac{\partial^2 \rho}{\partial y \partial x} & \frac{\partial^2 \rho}{\partial y^2} & \frac{\partial^2 \rho}{\partial y \partial z} \\ \frac{\partial^2 \rho}{\partial z \partial x} & \frac{\partial^2 \rho}{\partial z \partial y} & \frac{\partial^2 \rho}{\partial z^2} \end{bmatrix}$$

Diagonalizacja macierzy prowadzi do uzyskania wartości własnych hesjanu (λ) gęstości elektronowej.

$$\nabla\nabla\rho = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2\rho}{\partial x'^2} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{\partial^2\rho}{\partial y'^2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{\partial^2\rho}{\partial z'^2} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 \end{bmatrix}$$

W każdym punkcie krytycznym wyznaczane są wartości własne hesjanu oraz wektory własne $\nabla\nabla\rho$. Równanie własne ma trzy rozwiązania:

$$\nabla\nabla(\rho)u_i = \lambda_i u_i (i = 1, 2, 3)$$

gdzie λ_i jest i -tą wartością własną hesjanu, zaś u_i jest kolumnowym wektorem trzech składowych reprezentujących wektor własny. Wzajemnie prostopadłe trzy wektory własne zbiegają się z tzw. głównymi osiami krzywizny, a odpowiadające im wartości własne określają gęstość elektronową wzdłuż tych osi.

Suma wartości własnych hesjanu określa laplasjan gęstości elektronowej ($\nabla^2\rho$), jeden z najważniejszych parametrów charakteryzujących wiązania chemiczne w ramach teorii QTAIM.

$$\nabla^2\rho(r) = \frac{\partial^2\rho(r)}{\partial x^2} + \frac{\partial^2\rho(r)}{\partial y^2} + \frac{\partial^2\rho(r)}{\partial z^2} = \lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3$$

Punkty krytyczne są charakteryzowane przy pomocy dwóch wartości liczbowych (ω, σ) [8]. Ranga ω (ang. *rank*) określa liczbę niezerowych wartości własnych. Stabilne energetycznie cząsteczki posiadają punkty krytyczne rangi trzeciej. Punkty o niższej randze ($\omega < 3$) posiadające co najmniej jedną zerową krzywiznę są topologicznie niestabilne. Wartość σ jest sumą znaków niezerowych wartości własnych hesjanu. Wyróżniamy cztery typy stabilnych punktów krytycznych posiadających trzy niezerowe wartości własne:

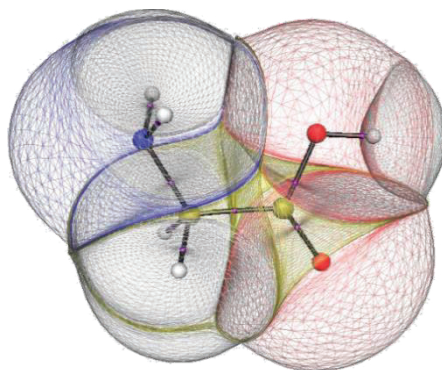
- (3,-3) – trzy ujemne krzywizny, lokalne maksimum gęstości elektronowej,
- (3,-1) – dwie ujemne krzywizny, gęstość elektronowa osiąga maksimum w płaszczyźnie zdefiniowanej przez wektory własne oraz minimum wzdłuż osi prostopadłej do tej płaszczyzny,
- (3,+1) – dwie dodatnie krzywizny, gęstość elektronowa osiąga minimum w płaszczyźnie zdefiniowanej przez wektory własne oraz maksimum wzdłuż osi prostopadłej do tej płaszczyzny,
- (3,+3) – trzy dodatnie krzywizny, lokalne minimum gęstości elektronowej.

Każdy z wyżej wymienionych punktów krytycznych, zestawionych w Tabeli 1, identyfikowany jest z elementem struktury chemicznej cząsteczek.

Tabela 1. Charakterystyka stabilnych topologicznie punktów krytycznych gęstości elektronowej
 Table 1. Characteristic of four types of stable critical points

Nazwa	Akronim	$\sigma(\lambda_1)$	$\sigma(\lambda_2)$	$\sigma(\lambda_3)$	(ω, σ)
atraktor (ang. <i>attractor, nuclear critical point</i>)	NCP	-	-	-	(3, -3)
punkt krytyczny wiązania (ang. <i>bond critical point</i>)	BCP	-	-	+	(3, -1)
punkt krytyczny pierścienia (ang. <i>ring critical point</i>)	RCP	-	+	+	(3, +1)
punkt krytyczny klatki (ang. <i>cage critical point</i>)	CCP	+	+	+	(3, +3)

Podział przestrzeni fizycznej zajmowanej przez cząsteczkę, oparty o topologiczne cechy skalarne pola gęstości elektronowej, pozwala wyróżnić rozłączne obszary definiujące atomy w danej cząsteczce (Rys. 1). Powierzchnia, na której składowa normalna gradientu gęstości elektronowej jest równa zero (tzw. powierzchnia zerowego przepływu, ang. *zero-flux surface*), ogranicza obszary o niezerowej wartości $\nabla\rho$ wyznaczając w ten sposób granice atomu. Każdy z tych obszarów zawiera jądro atomowe, stanowiące atraktor pola gradientu gęstości elektronowej, i nazywany jest basenem atrakcji danego atomu, lub krócej basenem atomowym.



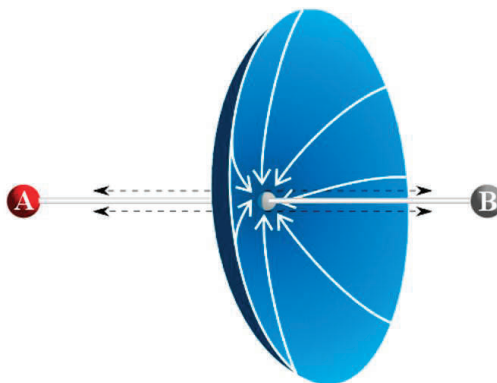
Rysunek 1. Topologia gęstości elektronowej cząsteczki glicyny. Na rysunku uwzględniono międzyatomowe powierzchnie graniczne w przestrzeni cząsteczki [4]. Rysunek wykonany przy pomocy programu MORPHY98

Figure 1. The electron density topology of the molecule of glycine. Interatomic surfaces are also shown. Graphic made with the MORPHY98 program

Teoria QTAIM pozwala stwierdzić czy dwa atomy są połączone wiązaniem chemicznym. Jeżeli dwa atomy leżą na jednej powierzchni międzyatomowej, na której znajduje się punkt siodłowy pierwszego rzędu funkcji gęstości elektronowej możemy przypuszczać, że są ze sobą związane lub ze sobą oddziałują. Para trajektorii gradientu wychodząca z punktu krytycznego kończąca się na dwóch jądrach atomowych określa linię interakcji (ang. *Atomic Interaction Line, AIL*). Linię interakcji nazywamy ścieżką wiązania (ang. *Bond Path, BP*), jeżeli wzdłuż tej linii gęstość elektronowa osiąga wartości maksymalne w stosunku do innych sąsiadujących linii interakcji łączących dane atomy. Ścieżka wiązania nie zawsze pokrywa się z prostą łączącą dwa atomy, ponieważ punkt krytyczny może znajdować się poza tą prostą.

Wielkość oddalenia punktu krytycznego od osi wiązania może być traktowana jako miara naprężenia wiązania.

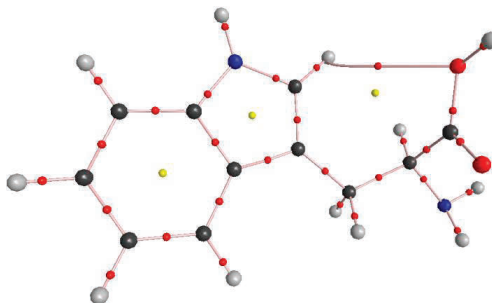
Występowanie punktu krytycznego wiązania na ścieżce wiązania między dwoma jądrami atomowymi jest topologicznym warunkiem koniecznym i wystarczającym potwierdzającym istnienie wiązania chemicznego między dwoma atomami (Rys. 2), warunek ten będzie dyskutowany w dalszej części niniejszego opracowania.



Rysunek 2. Schematyczne przedstawienie ścieżki wiązania między atomami A i B wraz z punktem krytycznym wiązania. Strzałki wskazują kierunek wzrostu gęstości elektronowej

Figure 2. Schematic representation of bond path linking atoms A and B together with the corresponding bond critical point. Arrows indicate direction of electron density increase

Ścieżki wiązań oraz punkty krytyczne gęstości elektronowej danej cząsteczki mogą być zobrazowane za pomocą grafu molekularnego. Na Rysunku 3 przedstawiono graf molekularny cząsteczki tryptofanu. Czarne, szare, niebieskie i czerwone duże sfery oznaczają atraktory odpowiadające odpowiednio atomom węgla, wodoru, azotu oraz tlenu. Małe czerwone sfery określają położenie punktów krytycznych wiązania (BCP). Żółte punkty to punkty krytyczne pierścienia (RCP). Linie reprezentują ścieżki wiązań.



Rysunek 3. Graf molekularny cząsteczki tryptofanu wykonany przy pomocy programu AIM2000

Figure 3. The molecular graph of tryptophan. Graphic made with the use of AIM2000 program

Warto też wspomnieć o tzw. eliptyczności wiązania. Eliptyczność wiązania, (ε), określa rozkład gęstości elektronowej w płaszczyźnie stycznej do powierzchni międzyatomowej w punkcie BCP (przekrój wiązania) i określona jest wzorem:

$$\varepsilon = \frac{\lambda_1}{\lambda_2} - 1$$

gdzie λ_1, λ_2 są wartościami własnymi hesjanu gęstości elektronowej.

Jak już wspomniano, w punkcie krytycznym wiązania zachodzi związek: $\lambda_1 \leq \lambda_2 \leq 0 \leq \lambda_3$. Eliptyczność jest wielkością bezwymiarową. Pozwala ona np. stwierdzić, czy dane wiązanie chemiczne ma przekrój cylindryczny czy eliptyczny. Wiązanie CC w cząsteczce etanu będzie (w przekroju) cylindryczne, ale wiązanie CC w etenie, z uwagą na udział wiązania π , będzie miało przekrój eliptyczny.

1.1. PARAMETRY TOPOLOGICZNE WIĄZAŃ CHEMICZNYCH

Na podstawie wartości gęstości elektronowej ρ_{BCP} oraz innych parametrów topologicznych mierzonych w punktach krytycznych wiązania (BCP) można wnioskować o właściwościach całego spektrum wiązań chemicznych. Istnieje bowiem szereg korelacji między parametrami geometrycznymi i energetycznymi charakteryzującymi wiązania, a wielkościami opisującymi punkt krytyczny oddziaływania, takimi jak laplasjan gęstości elektronowej ($\nabla^2 \rho_{\text{BCP}}$), całkowita gęstość energii elektronowej (H_{BCP}) oraz jej dwie składowe: gęstość energii potencjalnej (V_{BCP}) i gęstość energii kinetycznej (G_{BCP}).

W przypadku oddziaływań takich, jak wiązanie wodorowe czy halogenowe informacji dostarczają wielkości mierzone w punktach krytycznych odpowiednich kontaktów.

Ujemna wartość laplasjanu gęstości elektronowej w punkcie krytycznym, świadcząca o lokalnej koncentracji gęstości elektronowej w przestrzeni między oddziałującymi atomami, wskazuje na kowalencyjny charakter wiązania. Wartość dodatnią laplasjanu obserwujemy w przypadku lokalnego rozrzedzenia gęstości elektronowej w przestrzeni między oddziałującymi atomami typowego dla tzw. oddziaływań zamknięto-powłokowych takich, jak wiązania jonowe, oddziaływania van der Waalsa, wiązania wodorowe. Laplasjan gęstości elektronowej jest ściśle związany z elektronowymi parametrami energetycznymi lokalnym twierdzeniem wirialnym:

$$1/4 \nabla^2 \rho_{\text{BCP}} = 2G_{\text{BCP}} + V_{\text{BCP}}$$

a ponadto,

$$H_{\text{BCP}} = G_{\text{BCP}} + V_{\text{BCP}}$$

gdzie H_{BCP} to gęstość energii elektronów w punkcie krytycznym wiązania, a pozostałe dwa parametry to jej dwie składowe: kinetyczna i potencjalna. Gęstość energii kinetycznej elektronów (G_{BCP}) jest wielkością dodatnią z definicji, zaś gęstość energii potencjalnej elektronów (V_{BCP}) jest z definicji ujemna. Laplasjan gęstości elektronowej w punkcie krytycznym osiąga wartość ujemną, gdy wartość bezwzględna V_{BCP} będzie dwukrotnie większa od wartości G_{BCP} ($|V_{BCP}| > 2G_{BCP}$). Tego typu sytuacja obserwowana jest dla klasycznych wiązań kowalencyjnych, ale również dla bardzo silnych wiązań wodorowych (np. w jonie $[FHF]^-$) [10]. Gdy wartość bezwzględna V_{BCP} będzie w zakresie $2G_{BCP} > |V_{BCP}| > G_{BCP}$, wtedy laplasjan będzie miał wartość dodatnią, ale jednocześnie całkowita gęstość energii elektronowej (H_{BCP}) przyjmie ujemną wartość. Taka charakterystyka opisuje oddziaływania o częściowo kowalencyjnej naturze.

Na podstawie wartości laplasjanu gęstości elektronowej ($\nabla^2 \rho_{BCP}$) oraz gęstości całkowitej energii elektronów (H_{BCP}) można dokonać podziału wiązań wodorowych ze względu na moc (patrz rozdział 3) [11].

W oparciu o teorię QTAIM Koch i Popelier [12] zaproponowali osiem niezależnych kryteriów topologicznych dowodzących istnienia wiązania wodorowego. Oprócz występowania ścieżki wiązania, punktu krytycznego wiązania oraz płaszczyzny międzyatomowej, dodatkowe warunki są następujące:

- wartość gęstości elektronowej w punkcie krytycznym wiązania zawiera się w przedziale 0,002–0,034 a.u.,
- wartość laplasjanu gęstości elektronowej w punkcie krytycznym wiązania zawiera się w przedziale 0,024–0,139 a.u. (Kryterium to nie dotyczy ekstremalnie silnych wiązań wodorowych, które charakteryzuje ujemna wartość laplasjanu oraz gęstość elektronowa rzędu 0,1 a.u. typową dla wiązań kowalencyjnych),
- obserwowane jest wzajemne przenikanie się gęstości elektronowych atomu wodoru i atomu akceptora,
- następuje odpływ gęstości elektronowej od atomu wodoru,
- atom wodoru ulega energetycznej destabilizacji,
- dochodzi do zmniejszenia dwubiegunowej polaryzacji atomu wodoru,
- atom wodoru zmniejsza swoją objętość.

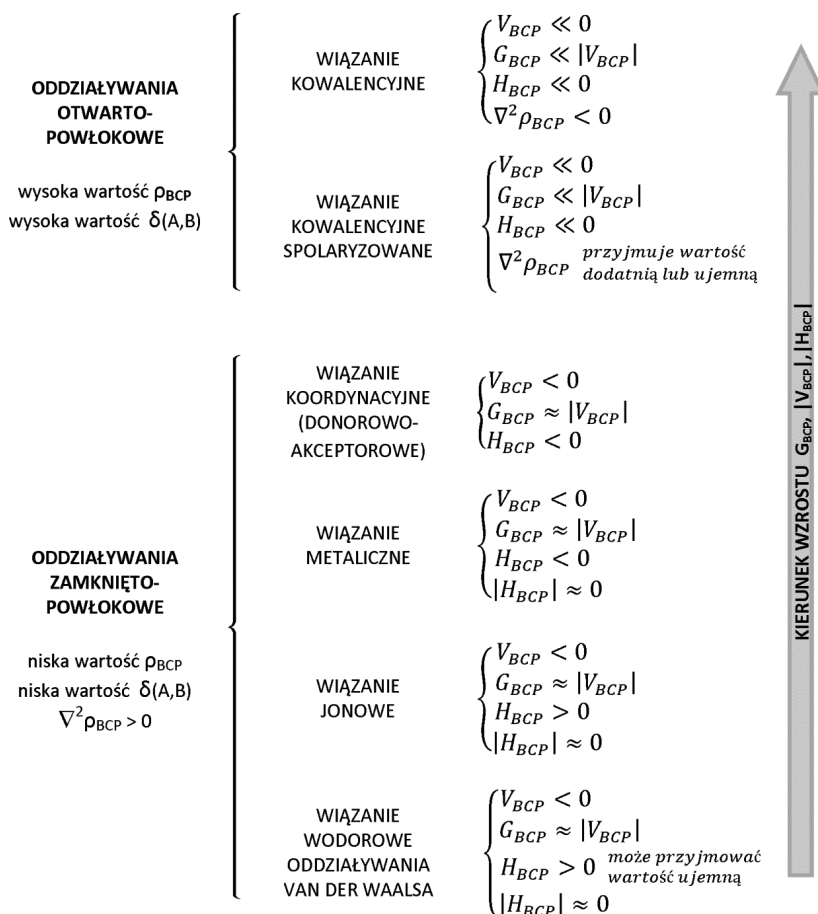
Kolejnymi parametrami, które mogą informować o charakterze wiązania są indeks lokalizacji $\lambda(A)$ oraz indeks delokalizacji $\delta(A,B)$ [10].

$$\lambda(A) = - \int_A (2\Gamma(r_1, r_1) - \rho(r_1)\rho(r_1)) dr_1 dr_2$$

$$\delta(A, B) = -2 \int_{A, B} (2\Gamma(r_1, r_1) - \rho(r_1)\rho(r_1)) dr_1 dr_2$$

gdzie $\rho(r)$ oraz $\Gamma(r_1, r_2)$ to odpowiednio gęstość jedno- i dwuelektronowa.

Indeks lokalizacji $\lambda(A)$ określa liczbę elektronów zlokalizowanych na jednym atomie, zaś indeks delokalizacji $\delta(A,B)$ określa liczbę elektronów uwspólnionych między dwoma atomami A i B. Indeks $\delta(A,B)$ może być traktowany jako miara kowalencyjności wiązania. W klasycznej chemii odpowiednikiem $\delta(A,B)$ jest rząd wiązania, z tą różnicą, że $\delta(A,B)$ może być wyznaczony dla dowolnej pary atomów w cząsteczce, również takiej, w której dwa atomy formalnie nie tworzą wiązania chemicznego.



Schemat 1. Podział wiązań chemicznych na podstawie parametrów QTAIM punktów krytycznych wiązań (BCP) [10]. Przedstawiona charakterystyka wiązań wodorowych dotyczy wiązań o średniej mocy

Scheme 1. Classification of chemical interactions based on the QTAIM parameters of bond critical points. The characteristic correspond to the medium strength hydrogen bonds

1.2. PRZYBLIŻENIE ABRAMOVA

Jak wspomniano w poprzednim rozdziale, ważne źródło dodatkowej informacji o charakterze oddziaływań międzyatomowych stanowią funkcje gęstości energii całkowitej $H(r)$ (ang. *total electron energy density*), kinetycznej $G(r)$ (ang. *kinetic electron energy density*) i potencjalnej $V(r)$ (ang. *potential electron energy density*) elektronów. Dwie ostatnie wielkości związane są z laplasjanem gęstości elektronowej $\nabla^2\rho(r)$ lokalnym twierdzeniem wirialnym dla stanu stacjonarnego (patrz Rozdział 1.1 tego opracowania).

Znajomość rozkładu jednoelektronowej funkcji gęstości jest niewystarczająca do wyznaczenia $G(r)$, $V(r)$ i $H(r)$. W praktyce wymagana jest znajomość funkcji falowej układu [13], co nie stanowi trudności przy zastosowaniu metod chemii teoretycznej. W warunkach eksperymentalnych wartości odpowiednich funkcji mogą zostać oszacowane na podstawie zaproponowanego w 1997 roku przez Abramova przybliżenia lokalnej gęstości energii kinetycznej elektronów [14]:

$$G(r) = \frac{3}{10} (3\pi^2)^{\frac{2}{3}} \rho(r)^{\frac{5}{3}} + \frac{1}{72} \frac{|\nabla\rho(r)|}{\rho(r)} + \frac{1}{6} \nabla^2\rho(r)$$

Powyższe równanie bardzo dobrze sprawdza się w przypadku analizy regionów związanych z oddziaływaniami międzyatomowymi tj. w średnich odległościach od jąder atomowych (rzędu 0,8–2,2 Å), natomiast zawodzi w pobliżu jąder [15]. Naturalną konsekwencją jest możliwość zastosowania odpowiednich funkcji w punktach krytycznych, gdzie gradient gęstości elektronowej $\nabla\rho(r)$ równy jest zero i równanie Abramova ulega uproszczeniu:

$$G(r)_{CP} = \frac{3}{10} (3\pi^2)^{\frac{2}{3}} \rho(r)_{CP}^{\frac{5}{3}} + \frac{1}{6} \nabla^2\rho(r)_{CP}$$

Powyższa zależność w kombinacji z równaniem wynikającym z twierdzenia wirialnego daje pełen wgląd w gęstość energii elektronów oraz jej dwie składowe (oczywiście w ramach przybliżenia Abramova bazującego na jednoelektronowej funkcji gęstości). Otrzymane tym sposobem wartości $G(r)$, $V(r)$ i $H(r)$ pozwalają na klasyfikację oddziaływań międzycząsteczkowych na zamknięto- bądź otwartopowłokowe wg Schematu 1, zaś w przypadku wiązań wodorowych umożliwiają klasyfikację wg schematu zaproponowanego przez Rozas (patrz Rozdział 2).

1.3. FUNKCJA ŹRÓDŁA

Według Badera i Gattiego każdy punkt przestrzeni \mathbf{r}' jest lokalnym źródłem gęstości elektronowej (ang. *local source of charge density*, LS) oddziałującym na dowolny punkt przestrzeni \mathbf{r} [16]. Zatem gęstość elektronowa $\rho(\mathbf{r})$ w punkcie \mathbf{r} będzie sumą udziałów pochodzących od wszystkich źródeł lokalnych:

$$\rho(r) = \int LS(\mathbf{r}, \mathbf{r}') \cdot d\mathbf{r}',$$

gdzie lokalne źródło gęstości elektronowej (LS) jest zdefiniowane jako :

$$LS(\mathbf{r}, \mathbf{r}') = -\frac{4\pi}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \cdot \nabla^2 \rho(\mathbf{r}')$$

Zgodnie z założeniami teorii QTAIM, całkowanie LS w obszarach definiujących atomy (basenach atomowych), doprowadza do wyrażenia gęstości elektronowej $\rho(\mathbf{r})$ jako sumy udziałów atomowych

$$\rho(r) = S(r, \Omega) + \sum_{\Omega' \neq \Omega} S(r, \Omega'), r \in \Omega,$$

gdzie każdy z powyższych składników nazwany jest funkcją źródła (ang. *source function*, SF) atomu Ω w odniesieniu do gęstości elektronowej $\rho(r)$.

Gęstość elektronowa $\rho(\mathbf{r})$ w dowolnym punkcie \mathbf{r} (punkcie referencyjnym) może być określona jako suma dwóch składników: własnej, wewnętrznej funkcji źródła $S(r, \Omega)$ i sumie funkcji źródła $\sum_{\Omega' \neq \Omega} S(r, \Omega')$ pochodzących od pozostałych atomów w cząsteczce. Przedstawiony model, będący ilościową miarą względnego znaczenia atomów, okazał się bardzo przydatnym narzędziem do analizy wiązań chemicznych, w tym również oddziaływań niekowalencyjnych [16–18].

Wartość atomowej funkcji źródła $S(r, \Omega)$ najczęściej wyrażana jest jako procentowy udział w gęstości elektronowej $\rho(\mathbf{r})$:

$$S\%(r, \Omega) = \left[\frac{S(r, \Omega)}{\rho(r)} \right] \cdot 100\%$$

Zazwyczaj punktem referencyjnym jest punkt krytyczny wiązania.

Badanie udziałów atomowych $S(\%)$ atomu donora (D), wodoru (H) i akceptora (A) w ρ_{BCP} wiązania wodorowego (D-H...A) jest wygodnym narzędziem służącym do opisu charakteru oddziaływania, szczególnie w odniesieniu do gęstości elektronowych pozyskanych na drodze eksperymentu. Analizę funkcji źródła w szerokim zakresie prowadził Gatti, który zastosował ją do klasyfikacji różnych typów wiązań i oddziaływań, między innymi wiązań wodorowych, wiązań wielocentrowych, wiązań metal-metal i metal-ligand w związkach metaloorganicznych [18–21]. Tabela 2 przedstawia procentowy udział atomów donora $S\%(D)$, wodoru $S\%(H)$ i akceptora $S\%(A)$ w gęstości elektronowej mierzonej w BCP wiązania wodorowego D-H...A dla różnych prototypowych wiązań wodorowych wspomaganych dodatkowymi efektami, tj.: ładunkiem – CAHB (ang. *charge assisted hydrogen bonds*), rezonansem – RAHB (ang. *resonance assisted hydrogen bonds*), polaryzacją – PAHB (ang. *polarization assisted hydrogen bonds*) oraz izolowanych, nie wspomaganych dodatkowymi efektami – IHB (ang. *isolated hydrogen bonds*) [22].

Tabela 2. Przykładowe procentowe udziały atomowe S% (atomów donora, wodoru, akceptora – D, H, A) w gęstości elektronowej punktu krytycznego wiązania wodorowego: – (CAHB) – dimer kwasu mrówkowego i anionu mrówczanowego; +(CAHB) – dimer jonu oksoniowego z wodą; RAHB – cząsteczka aldehydu malonowego; PAHB – trimer wody; IHB – dimer wody

Table 2. Atomic percentage contributions of the hydrogen S%(H), donor S%(D) and acceptor S%(A) atoms in BCP electron density of prototypical hydrogen-bonded complexes: +(CAHB) – oxonium ion – water molecule complex; – (CAHB) – formic acid-formate anion complex; RAHB – malonaldehyde; PAHB – cyclic homodromic water trimer; IHB – water dimer

typ wiązania	$d_{D...A}$ [Å]	$d_{H...A}/d_{D...H}$ [Å]	$\nabla^2_{\rho_{BCP}}$	S%(H)	S%(D)	S%(A)	S%(H+A)	S%(H+D+A)
– (CAHB)	2,409	1,204/1,204	–0,415	31,4	9,6	51,7	83,1	92,7
+(CAHB)	2,430	1,216/1,214	–0,392	32,1	8,3	49,9	82,0	90,3
RAHB*	2,370	1,209/1,209	–0,425	32,2	8,5	48,8	80,9	89,5
RAHB	2,538	1,639/1,008	0,148	2,1	34,7	34,0	36,1	70,8
PAHB	2,749	1,850/0,984	0,092	–14,4	53,1	31,0	16,6	69,7
IHB	3,020	2,077/0,943	0,067	–72,3	106,6	18,7	–53,7	53,0

* stan przejściowy związany z przeniesieniem protonu w cząsteczce aldehydu malonowego

Najsilniejsze wiązania wodorowe, a więc wspomagane ładunkiem \pm (CAHB) i rezonansem (RAHB) zawsze charakteryzują się dodatnimi udziałami atomu wodoru, przy czym dla tych ostatnich mają one niskie wartości. W konsekwencji suma udziałów wszystkich atomów S%(D+H+A) wynosi ponad 90% w przypadku \pm (CAHB) i około 30% dla RAHB. Natomiast słabsze wiązania wodorowe (PAHB i IHB) charakteryzują się ujemnymi udziałami od atomu wodoru S%(H), nawet –70% w przypadku IHB.

2. PARAMETRY QTAIM VS ENERGIA ODDZIAŁYWANIA

W swojej monografii Bader pisze [6], że obecność ścieżki wiązania i odpowiadającego jej BCP jest uniwersalnym kryterium istnienia wiązania chemicznego między dwoma centrami atomowymi połączonymi tą ścieżką, bez względu na rodzaj tego wiązania. Konsekwencją tego stwierdzenia jest kolejne, zgodnie z którym obecność ścieżki wiązania i odpowiedniego BCP jest warunkiem koniecznym i wystarczającym, jaki musi być spełniony, aby wystąpiło wiązanie chemiczne [23]. Należy tu zwrócić uwagę na pewną subtelność językową. W swojej późniejszej pracy z 2009 roku [24] Bader pisze, że ścieżka wiązania nie dowodzi istnienia wiązania chemicznego (ang. *chemical bond*), jest natomiast warunkiem wystarczającym na istnienie zjawiska fizycznego określanego mianem – cytując z języka angielskiego – *chemical bonding*. W dalszej części wspomnianego opracowania Bader dyskutuje różnicę w znaczeniu terminów *chemical bond* oraz *chemical bonding*. Przynajmniej w odczuciu piszących te słowa, różnica znaczeniowa między tymi dwoma terminami jest nader ulotna, co być może wynika bezpośrednio z różnic semantycznych języka polskiego i angielskiego. Jednak sięgając do bogatej literatury w tematyce

QTAIM można odnieść wrażenie, że nie tylko autorzy niniejszej pracy mają wątpliwości interpretacyjne związane z terminami *bond* oraz *bonding*. Najwyraźniej mają je także inni badacze wykorzystujący QTAIM (w tym także anglojęzyczni), niezależnie do strefy językowej czy geograficznej, z której pochodzą [24]. Konsekwencją jest swoista dyskusja na łamach szanujących się periodyków naukowych nad słusznością deterministycznego stwierdzenia Badera zacytowanego w pierwszych zdaniach tego rozdziału [25]. Część tej dyskusji, poświęcona jedynie kontaktom typu H...H, zostanie przybliżona w rozdziale czwartym niniejszego opracowania. Natomiast w dalszej części tego rozdziału przedyskutowana będzie relacja między parametrami QTAIM a mocą wiązań międzycząsteczkowych, której miarą fizyczną jest energia oddziaływania.

W ujęciu modelu wiązania chemicznego bazującego na koncepcji Linusa Paulinga [26], moc wiązania chemicznego (którego miarą fizyczną może być np. energia dysocjacji) jest w ścisłej relacji z rzędowością wiązania. Z kolei rząd wiązania związany jest z jego długością. W roku 1981 Bader i współpracownicy [27] przeanalizowali zależność między długością wiązania i jego rzędem, rozszerzając obszar analizy na właściwości funkcji gęstości elektronowej w punktach krytycznych wiązań między atomami węgla w grupie cząsteczek prostych węglowodorów. W ten sposób zaobserwowali bardzo wyraźny związek między wartością gęstości elektronowej w BCP, a długością odpowiedniego wiązania. W oparciu o tę zależność zaproponowali matematyczną relację (wyrażoną w j.a., regresja sporządzona dla 30 punktów) między odległością międzyatomową R_{CC} a wartością ρ_{BCP} :

$$\rho_{BCP} = -0,184R_{CC} + 0,777$$

Jak widać z powyższego zapisu, relacja ta jest funkcją liniową i sprawdza się doskonale w przedziale odległości międzyatomowych wiązań CC w węglowodorach aromatycznych. Idąc tym tropem, Boyd i Choi opublikowali w roku 1985 jako pierwsi [28] korelację między ρ_{BCP} i odległością H...N w mostku wodorowym typu F-H...N. Korelacja ta, wyrażona w j.a. dla ρ_{BCP} i Å dla odległości H...N, przedstawiona była jako funkcja liniowa (wartości podane zgodnie z oryginałem):

$$\rho_{BCP} = -0,02944 r(NH) + 0,1309, cc = 0,991$$

Co szczególnie istotne z punktu widzenia niniejszego opracowania, autorzy wspomnianej pracy, dysponując jawnie wyznaczoną energią badanych wiązań wodorowych, dodatkowo pokusili się o sporządzenie podobnej zależności dla ρ_{BCP} i teŹ energii. W rezultacie uzyskali relację przedstawioną funkcją liniową:

$$\rho_{BCP} = -0,0003904 E_{HB} + 0,008539, cc = 0,999$$

gdzie E_{HB} , to energia wiązania wodorowego wyrażona w kJ/mol. Warto dodać, że wyznaczone energie wiązania wodorowego były z przedziału 16,35–55,24 kJ/mol

(3,91–13,20 kcal/mol), czyli mieściły się w relatywnie dużym zakresie wartości. Powyższa relacja, to pierwsze doniesienie publikacyjne, w którym przedstawiono związek między energią wiązania wodorowego i gęstością elektronową w jego punkcie krytycznym. Dwa lata później [29] ci sami autorzy wykazali podobne zależności dla laplasjanu gęstości elektronowej.

W roku 1998 Espinosa i in. opublikowali jedną z ważniejszych prac traktujących o wykorzystaniu QTAIM w badaniach wiązań wodorowych [30]. W pracy tej przeanalizowano zależności między gęstością energii elektronów w BCP wiązań wodorowych i energią tych wiązań. W efekcie stwierdzono, że dwie składowe gęstości energii elektronów, tj. gęstość energii potencjalnej, V_{BCP} oraz gęstość energii kinetycznej, G_{BCP} mogą być wyrażone jako eksponencjalne funkcje odległości H...A w mostku wodorowym. W konsekwencji zależności między energią wiązania wodorowego i jego długością autorzy zaproponowali przybliżoną metodę wyznaczania energii wiązania wodorowego w oparciu o wartości gęstości energii potencjalnej elektronów w BCP wiązania wodorowego. Metoda bazuje na prostej relacji matematycznej między dwoma wspomnianymi parametrami energetycznymi i jest wyrażona wzorem:

$$E_{\text{HB}} = \frac{1}{2} V_{\text{BCP}}$$

gdzie V_{BCP} to gęstość energii potencjalnej elektronów w BCP wiązania wodorowego, wyrażona w kJ/mol. Należy podkreślić, że wspomniane badania przeprowadzono w oparciu o eksperymentalnie uzyskane gęstości elektronowe, a gęstości energii w odpowiednich BCP otrzymano w oparciu o przybliżenie Abramova (patrz rozdz. 1.2).

W kolejnych latach w wielu pracach potwierdzono wyraźną zależność między parametrami QTAIM i energią wiązania wodorowego [31–34]. Co istotne, we wszystkich zacytowanych pracach matematyczne relacje między parametrami QTAIM i energią wiązania wodorowego wyrażano za pomocą funkcji liniowej. Należy jednak podkreślić, że fizyczny sens lepiej odzwierciedla zależność nieliniowa (wykładnicza) [33, 35, 36]. Jedynie w małym zakresie zmienności zależność liniowa jest spełniona.

Jednak parametry QTAIM nie zawsze w sposób wiarygodny odzwierciedlają moc danego wiązania, czy to wodorowego, czy innego. Tu, jako ilustracją, można posłużyć się przypadkiem wiązania wodorowego wspomaganego ładunkiem [37–39], czyli takiego, w którym jeden bądź oba oddziałujące przez mostek wodorowy fragmenty cząsteczkowe są obdarzone formalnym ładunkiem (np. mostek solny typu $\text{H}_3\text{N}^+\text{H}\dots\text{Cl}^-$). Niedawno przeanalizowano serię międzycząsteczkowych wiązań wodorowych typu D-H...X (gdzie D = N, P, a X = Cl, Br) z różnie rozładowanym ładunkiem formalnym, poczynawszy od mostków wodorowych niewspomaganych ładunkiem, a skończywszy na mostkach solnych [40, 41]. Wykonano analizę topologiczną gęstości elektronowej w tych mostkach i przedstawiono war-

tości gęstości elektronowej w odpowiednich BCP jako funkcję odległości w mostku wodorowym. Okazało się, że dla wszystkich typów badanych oddziaływań zależność ta odpowiadała jednej funkcji wykładniczej. Co szczególnie ważne, zależności energii w funkcji odległości (D)H...X różniły się drastycznie dla różnych mostków wodorowych. Dowodzi to ewidentnie, że parametry funkcji gęstości elektronowej w danym BCP niekoniecznie związane są bezpośrednio z energią danego wiązania, ale przede wszystkim zależą od typu oddziaływających atomów oraz odległości między nimi. Innymi słowy, parametry gęstości elektronowej w BCP są charakterystyką ściśle lokalną, i nie zawsze wiążą się bezpośrednio z parametrami globalnymi, jak np. energią oddziaływania międzycząsteczkowego. W szczególności należy o tym pamiętać podczas analizy oddziaływań występujących w kryształach, gdzie geometria np. mostków wodorowych zależy również od efektów upakowania w kryształ.

Warto wspomnieć, że właściwości topologiczne punktów krytycznych oddziaływań atom wodoru – akceptor stanowią podstawę schematu klasyfikacji wiązań wodorowych według Rozas i współpracowników [11]. Podział zaproponowany w oparciu o wartości laplasjanu $\nabla^2\rho(r)$ i gęstości energii całkowitej elektronów $H(r)$ w punktach krytycznych wiązań wodorowych przedstawia Tabela 3.

Tabela 3. Podział wiązań wodorowych, bazujący na parametrach QTAIM
Table 3. H-bonds classification made on the basis of QTAIM characteristics

energia wiązania EHB	$\nabla^2\rho_{\text{BCP}}$	H_{BCP}	charakter wiązania wodorowego
poniżej 12 kcal/mol	$\nabla^2\rho_{\text{BCP}} > 0$	$H_{\text{BCP}} > 0$	słabe wiązania wodorowe
12–24 kcal/mol	$\nabla^2\rho_{\text{BCP}} > 0$	$H_{\text{BCP}} < 0$	wiązania wodorowe średniej mocy
powyżej 24 kcal/mol	$\nabla^2\rho_{\text{BCP}} < 0$	$H_{\text{BCP}} < 0$	silne wiązania wodorowe

3. ZASTOSOWANIE DESKRYPTORÓW OPARTYCH NA QTAIM DO ANALIZY ODDZIAŁYWAŃ MIĘDZYZĄSTECZKOWYCH W KRYSTAŁACH

Teoria Badera (QTAIM) stanowi użyteczne narzędzie służące do analizy rozkładu gęstości elektronowej otrzymanej na drodze obliczeń teoretycznych oraz badań eksperymentalnych, zarówno w obszarach wewnątrz- jak i międzycząsteczkowych. Metodą pozwalającą na otrzymanie eksperymentalnego rozkładu gęstości elektronowej jest wysokorozdzielcza dyfrakcja rentgenowska.

W celu wymodelowania eksperymentalnej gęstości elektronowej kryształu najczęściej stosowany jest model multipolowy wprowadzony w 1978 r. przez Hansena i Coppensa [42]. Warto wspomnieć, że istnieją jeszcze inne metody modelowania gęstości elektronowej takie jak: metoda maksymalnej entropii (MEM) [43], udoładnienie obsadzeń orbitali molekularnych [44, 45] oraz wyznaczenie funkcji falowych z zastosowaniem więzów eksperymentalnych [46–48].

Analizę topologiczną eksperymentalnej gęstości elektronowej przeprowadza się wykorzystując założenia QTAIM w oparciu o parametry dostępne dla multipolowego modelu cząsteczki takie jak: gęstość elektronowa $\rho(\mathbf{r})$, laplasjan gęstości elektronowej $\nabla^2\rho(\mathbf{r})$, funkcja gęstości energii całkowitej elektronów ($H(\mathbf{r})$) i jej składowe (w oparciu o przybliżenie Abramova) oraz funkcja źródła (SF). Te parametry są stosowane w jakościowej analizie różnorodnych oddziaływań międzycząsteczkowych występujących w strukturach krystalicznych.

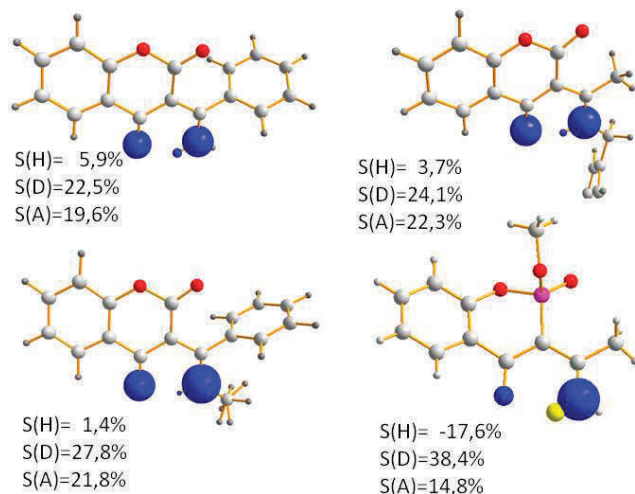
Wraz z podjęciem badań nad eksperymentalną gęstością elektronową pojawiły się prace opisujące inny niż wcześniej uważano, charakter wiązania wodorowego. Nawet do dziś dnia wielu badaczy postrzega wiązanie wodorowe jako oddziaływanie o charakterze elektrostatycznym. Tymczasem już w 1977 roku Stevens i in. zakwestionowali takie podejście [49], badając bardzo krótkie wiązanie wodorowe typu O-H...O, ($d_{\text{O...O}} = 2,45 \text{ \AA}$) występujące w strukturze krystalicznej kompleksu octanu sodu i kwasu octowego. Badania wykonane w oparciu o pomiary dyfrakcji rentgenowskiej i neutronowej pozwoliły na bardzo precyzyjną lokalizację atomu wodoru w mostku wodorowym i opis jego ruchów termicznych. Na mapach deformacyjnej gęstości elektronowej zaobserwowano akumulację gęstości elektronowej pomiędzy każdym z dwóch atomów tlenu a atomem wodoru, co według autorów miało świadczyć o kowalencyjnym charakterze badanych oddziaływań. W późniejszych pracach zastosowanie topologicznej analizy gęstości elektronowej potwierdziło kowalencyjny charakter krótkiego wiązania wodorowego O-H...O ($d(\text{O...O}) = 2,44 \text{ \AA}$) łączącego cząsteczki uwodornionego bursztynianu metyloamoniowego [50].

Nie zawsze jednak charakterystyka wiązania wodorowego jest tak jednoznaczna, stąd konieczność poszukiwania innych narzędzi przydatnych w opisie oddziaływań międzycząsteczkowych. Tego rodzaju deskryptorem stała się w ostatnich latach funkcja źródła [16]. Jako pierwsi, funkcję źródła, wykorzystali Overgaard i współpracownicy [51] analizując udziały atomów wodoru w ρ_{BCP} wiązań z niską barierą potencjału (ang. *low barrier hydrogen bond*, LBHB) oraz z pojedynczą studnią potencjału (ang. *single-well*). W swojej pracy wskazali oni na zależność między mocą wiązania wodorowego i procentowymi udziałami atomów wodoru i donora w gęstości elektronowej BCP.

Interesujące zastosowanie funkcji źródła przedstawia praca Sørensen i współpracowników [52]. Autorzy badali dwa krótkie wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe, które powinny być chemicznie równoważne. Analiza funkcji źródła wskazała na przewagę charakteru elektrostatycznego jednego z nich ($S\%(\text{H}) < 0$) oraz kowalencyjnego drugiego ($S\%(\text{H}) > 0$).

Analiza funkcji źródła została ostatnio wykorzystana w celu zaklasyfikowania wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych N-H...O, występujących w cząsteczkach pochodnych chromonu i oksafosfinianu [53–55], do jednego z typów zaproponowanych przez Gilliego [22]. Parametry geometryczne wewnątrzcząsteczkowych pierścieni powstających na skutek tworzenia wspomnianych wiązań N-H...O, wskazują, że oddziaływania te należałoby zakwalifikować jako wspomagane rezo-

nanssem (RAHB). Nieco inny obraz daje analiza funkcji źródła. Jedynie dla trzech pochodnych chromonu, niewielkie lecz dodatnie udziały atomowe $S\%(H)$ w ρ BCP wiązań wodorowych N-H...O, potwierdzają oczekiwany charakter oddziaływań (RAHB). Natomiast w pochodnej oksafosfinianu ujemny udział $S\%(H)$ klasyfikuje badane wiązanie jako izolowane (IHB) [19].



Rysunek 4. Procentowy udział atomów atomu wodoru $S\%(H)$, donora $S\%(D)$, i akceptora $S\%(A)$ w gęstości elektronowej punktu krytycznego wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego N-H...O. Udziały przedstawiono jako kule wielkości proporcjonalnej do wartości udziałów atomowych (udziały dodatnie – kolor niebieski, udziały ujemny – kolor żółty)

Figure 4. Percentage atomic source contributions in BCP electron density of the N-H...O. Contributions are displayed as spheres whose sizes are proportional to the percentage contribution from each atoms involved in the hydrogen bond. Blue color represents a positive contribution and yellow represents negative contribution of the source function

W badaniach zasad Schiffa [56] analiza funkcji źródła wskazała na wysoką sumę udziałów atomowych ($S\%(D+H+A)$ około 90%), pozwalając tym samym zaklasyfikować wiązanie O-H...O jako wspomagane ładunkiem (CAHB). Z kolei badane w tej samej pracy wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe N-H...O, ze względu na większy udział atomu donora niż akceptora w gęstości elektronowej punktu krytycznego wiązania, zostało opisane jako wspomagane polaryzacją (PAHB), a nie rezonanssem (RAHB). Podobne wyniki zaobserwowano dla wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych O-H...O występujących w kryształach 2,5-diacetylohydrochinonu [57]. Ujemny udział funkcji źródła atomu wodoru ($S\%(H) = -11,9\%$) w gęstości elektronowej punktu krytycznego klasyfikuje badane wiązania wodorowe jako wspomagane polaryzacją.

Znajomość rozkładu eksperymentalnej gęstości elektronowej umożliwia wyznaczenie jej laplasjanu, a zastosowanie równania Abramova i twierdzenia wirialnego pozwala wyznaczyć gęstość energii całkowitej elektronów $H(r)$ w punktach krytycznych wiązań [11]. Zastosowanie kryteriów Rozas we wspomnianych bada-

niach wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych N-H...O [53–55] potwierdziło, że w przypadku pochodnych chromonu wiązania te należą do oddziaływań zamknięto-powłokowych średniej mocy ($H(r) > 0$). Z kolei wiązanie N-H...O w cząsteczce oksafosfinianu zostało opisane jako bardzo słabe oddziaływanie o charakterze zamknięto-powłokowym. Wyniki te pozostają w dobrej zgodności z wnioskami płynącymi z analizy funkcji źródła.

Klasyfikacja Rozas jest często stosowana w badaniach wiązań wodorowych typu C-H...O. We wspomnianych pracach [53–55] otrzymane niskie wartości laplasjanu gęstości elektronowej (rzędu $0,7\text{--}2,6e/\text{\AA}^5$) oraz dodatnie wartości gęstości energii całkowitej elektronów ($H_{\text{BCP}} = 4,16\text{--}6,45$ kJ/mol) w punktach krytycznych oddziaływań C-H...O, jednoznacznie potwierdzają ich słaby i zamknięto-powłokowy charakter. Zastosowanie równania Espinosy [30] pozwala oszacować energię tych oddziaływań na około $4,5\text{--}9,8$ kJ/mol. W przypadku kryształów pochodnych izoindoli [58] analiza topologiczna punktów krytycznych wiązań pozwoliła na rozróżnienie oddziaływań wodorowych średniej mocy (O-H...O i O-H...N) i słabych (C-H...O). Charakter tych ostatnich określają dodatkowo wartości laplasjanu $\nabla^2\rho(r)$ i gęstości energii potencjalnej elektronów $H(r)$, przy energii oddziaływania rzędu $5\text{--}7$ kJ/mol.

Wykorzystanie deskryptorów opartych na teorii QTAIM, umożliwiło w tej samej pracy porównanie słabych wiązań wodorowych C-H...O oraz oddziaływań typu C-H... π , $\pi\cdots\pi$ i H...H. Pomimo zbliżonych wartości gęstości elektronowych w punktach krytycznych wiązań ($\rho(r)$) odpowiednie wartości pozostałych parametrów topologicznych charakteryzujących te ostatnie oddziaływania ($\nabla^2\rho(r)$, $H(r)$) są nieznacznie niższe od otrzymanych dla słabych wiązań wodorowych.

Tabela 4. Zestawienie parametrów topologicznych punktów krytycznych wiązań dla różnych rodzajów oddziaływań międzycząsteczkowych [58]

Table 4. Comparison of topological parameters characterizing various intermolecular interactions [58]

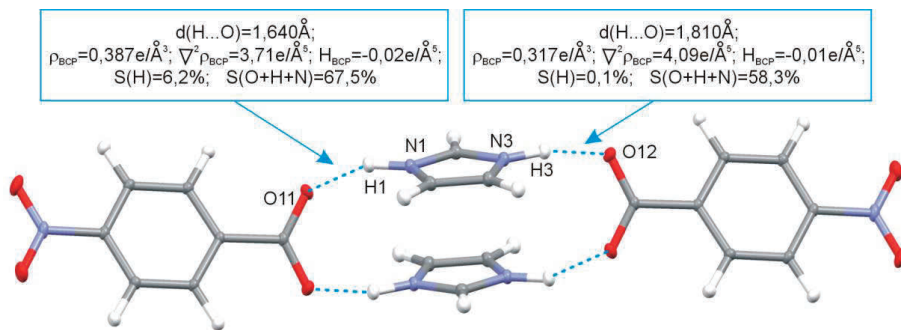
oddziaływanie	d [Å]	ρ_{BCP} [$e/\text{\AA}^3$]	$\nabla^2\rho_{\text{BCP}}$ [$e/\text{\AA}^3$]	H_{BCP} [kJ/mol]
O-H...O	$1,75 \div 1,79$	$0,206 \div 0,261$	$2,85 \div 3,02$	$-4,42 \div -5,88$
O-H...N	1,89	0,226	1,82	-9,72
C-H...O	$2,42 \div 2,51$	$0,029 \div 0,043$	$0,72 \div 0,95$	$4,65 \div 5,44$
C-H... π	$2,83 \div 3,01$	$0,032 \div 0,051$	$0,42 \div 0,48$	$2,50 \div 2,74$
$\pi\cdots\pi$	$3,40 \div 3,52$	$0,028 \div 0,051$	$0,36 \div 0,50$	$2,30 \div 2,50$
H...H	$2,16 \div 2,37$	$0,034 \div 0,041$	$0,40 \div 0,54$	$2,50 \div 3,53$

Wgląd w strukturę krystaliczną kompleksów molekularnych, soli lub kokryształów (ogólnie kryształów wieloskładnikowych) daje możliwość badania oddziaływań powstających między cząsteczkami różnych związków chemicznych. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania kryształami wieloskładnikowymi, głównie ze względu na ich zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, ale również w związku z rozwojem badań nad możliwościami projektowania sieci krystalicz-

nych opartych na wiązaniach niekowalencyjnych. W nurcie tych badań zawierają się ostatnie publikacje dotyczące analizy eksperymentalnego rozkładu gęstości elektronowej w solach i kokryształach [59–61]. W swoich pracach autorzy koncentrują się głównie na klasyfikacji oddziaływań międzycząsteczkowych na zamknięto- lub otwarto-powłokowe, na ich opisie za pomocą kryteriów Rozas oraz na oszacowaniu energii wiązań wodorowych z użyciem równania Espinosa.

Sz szczególnie interesująca jest praca dotycząca silnych wiązań wodorowych O...H...N w polimorficznych odmianach kompleksu kwasu szczawiowego i amidu kwasu izonikotynowego [62]. Tytułowe oddziaływania należą do silnych krótkich wiązań wodorowych (ang. *short strong hydrogen bond*, SSHB), które uważane są za modelowe układy odniesienia w badaniach nad procesem przeniesienia protonu. Wysokie wartości gęstości elektronowej ($0,77\text{--}0,97\text{ e}/\text{\AA}^3$) oraz ujemne wartości laplasjanu ($-3,31\text{ e}/\text{\AA}^5$, $-6,87\text{ e}/\text{\AA}^5$) w punktach krytycznych wiązań wskazują na ich kowalencyjny charakter, zaś analiza funkcji źródła ($S(\text{H}) = 26,2\text{--}30,8$; $S(\text{O}+\text{H}+\text{N}) = 77,7\text{--}82,3$) jednoznacznie klasyfikuje badane oddziaływania jako silne wiązania wodorowe o charakterze kowalencyjnym.

Podobne wiązania wodorowe, choć nie tak silne, występują w strukturze soli kwasu *p*-nitrobenzoesowego z imidazolem [63]. Dwa wiązania wodorowe N-H...O wiążące kationy z anionami w sposób istotny różnią się długością kontaktu międzycząsteczkowego ($1,64\text{\AA}$ i $1,81\text{\AA}$). Dodatkowo wartości laplasjanu i ujemne gęstości energii całkowitej elektronów klasyfikują je jako wiązania średniej mocy, zaś wyniki analizy funkcji źródła wskazywałyby, że jedynie krótsze z nich mogłoby być opisane jako wspomagane ładunkiem, a dłuższe jako wspomagane rezonansem.



Rysunek 5. Parametry geometryczne i topologiczne wiązań wodorowych N-H...O w krystalicznej strukturze kompleksu anion kwasu *p*-nitrobenzoesowego – kation imidazolu

Figure 5. Geometrical and topological parameters of N-H...O hydrogen bonds in the crystal structure of imidazole – *p*-nitrobenzoic acid salt

W opisanych przykładach zastosowanie deskryptorów opartych na QTAIM pozwala na szczegółową analizę i opis pełnego spektrum oddziaływań międzycząsteczkowych. W świetle ostatnich badań szczególnie użyteczna staje się analiza funkcji źródła. Warto jednak zwrócić uwagę na fakt, że we wszystkich cytowanych

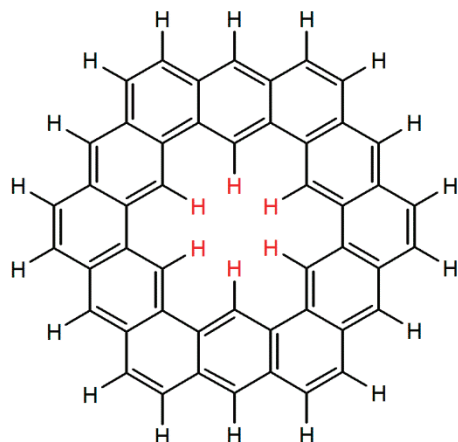
pracach standardowym podejściem jest analiza gęstości elektronowej w BCP oddziaływań. Tymczasem badania profili funkcji źródła wzdłuż ścieżek wiązań wodorowych N-H...O, prowadzą Gattiego i współpracowników do wniosku, że analiza punktów w obszarze basenu atomowego wodoru może dostarczyć więcej informacji o zmianach gęstości elektronowej będących skutkiem oddziaływań międzycząsteczkowych, niż analiza tylko punktu krytycznego wiązania [18]. Stwierdzenie Gattiego: "...*(it) raises doubts about the use of the BCP properties only when discussing intermolecular interactions in crystals*" stawia pytanie dotyczące poprawności wyboru punktów referencyjnych, a zarazem otwiera drogę do dalszych dyskusji i badań nad możliwościami aplikacyjnymi QTAIM.

4. KONTROWERSJE WOKÓŁ ODDZIAŁYWAŃ TYPU H...H

W związku z wątpliwościami dotyczącymi nie tylko przedmiotowej, ale i semantycznej interpretacji kryterium istnienia słabych oddziaływań, na przykład typu H...H, trudno pominąć dyskusję tego zagadnienia w niniejszej pracy. Zgodnie z teorią QTAIM topologicznym warunkiem koniecznym i wystarczającym, potwierdzającym istnienie wiązania chemicznego między dwoma atomami, jest występowanie punktu krytycznego wiązania na ścieżce wiązania między dwoma jądrami atomowymi [6]. Od początku lat dziewięćdziesiątych XX wieku pojawiło się wiele prac teoretycznych wskazujących, bez względu na poziom przeprowadzonych obliczeń [64], że ścieżki wiązań i odpowiadające im punkty krytyczne wiązania pojawiają się także pomiędzy atomami, które – przynajmniej formalnie – wiązaniem połączone nie są [64–75].

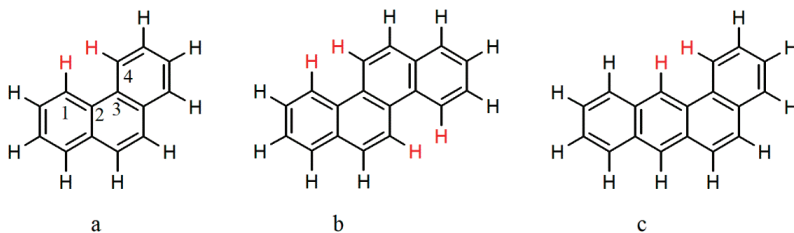
Pierwsze prace Cioslowskiego i in. [64–67] wykazały, że takie pojawiające się dodatkowe ścieżki wiązań charakteryzują się niskimi wartościami gęstości elektronowej w BCP i dodatnimi wartościami laplasjanu. Kontakty takie podzielić można na dwie kategorie [64]. Pierwsza, to wiązania wynikające z oddziaływania zdelokalizowanych elektronów, występujące najczęściej w kompleksach typu charge transfer lub organicznych parach jonowych. Wiązania takie mają zwykle dużą eliptyczność, z wektorem własnym wskazującym maksymalną (ujemną) krzywiznę, skierowanym prostopadle do płaszczyzny pierścienia. Przykładem takich oddziaływań są wiązania N...N powstające w parze jonowej $C(NH_2)_3^+$ i $C(CN)_3^-$ lub O...O w anionie $C(NO_2)_3^-$ [64]. Druga kategoria obejmuje wiązania powstające w wyniku oddziaływań sterycznych, najczęściej odpychających, mające małą eliptyczność z wektorem własnym wskazującym maksymalną (ujemną) krzywiznę, skierowanym równoległe do płaszczyzny pierścienia.

Typowym przykładem są kontakty H...H pojawiające się w cząsteczce kekulenu, wewnątrz której ułożenie sześciu atomów wodoru prowadzi do powstania mocno zakrzywionych ścieżek wiązań zamykających dodatkowy pierścień sześcioczłonowy [64].



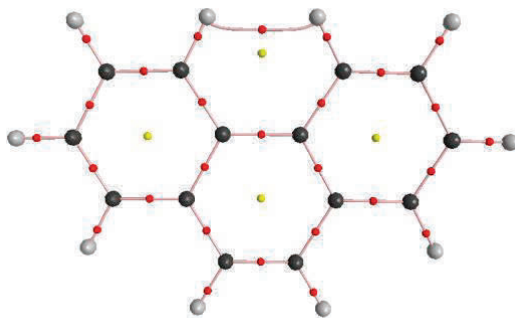
Rysunek 6. Schemat cząsteczki kekulenu. Kolorem czerwonym zaznaczono atomy wodoru tworzące dodatkowy, sześcioczłonowy pierścień
 Figure 6. Kekulene molecule. H atoms forming an extra 6-membered ring are marked with red

Podobna sytuacja ma miejsce w przypadku płaskich wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych zawierających fragment fenantrenowy. Dodatkowe ścieżki wiązań i odpowiadające im BCP tworzą się w cząsteczkach fenantrenu czy benzoantracenu, gdzie atomy wodoru w pozycjach 1 i 4 zamykają dodatkowy pierścień sześcioczłonowy a w przypadku chryzenu nawet dwa takie pierścienie [65, 66].



Rysunek 7. Schemat cząsteczki węglowodorów aromatycznych: a) fenantren, b) chryzen, c) benzoantracenu. Kolorem czerwonym zaznaczono sterycznie oddziałujące ze sobą atomy wodoru
 Rysunek 7. Molecules of selected aromatic hydrocarbons: a) phenanthrene, b) chrysene, c) benzoanthracene. The H atoms forming steric interactions are marked with red

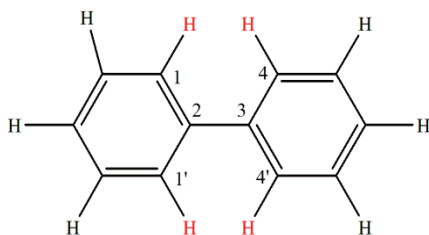
Analiza położenia punktów krytycznych wiązania i pierścienia oraz ścieżek wiązania w tych węglowodorach wykazała, że stopień zakrzywienia linii ścieżek wiązania H...H zależy od różnicy pomiędzy długością ścieżki tego kontaktu a odległością między atomami wodoru. Zasadniczo, zakrzywienie tych linii wzrasta wraz ze wzrostem odległości między atomami wodoru, podczas gdy odległość między BCP i RCP utworzonego dodatkowo pierścienia wykazuje tendencję odwrotną.



Rysunek 8. Graf molekularny cząsteczki fenantrenu wykonany w programie AIM2000

Figure 8. Molecular graph of phenanthrene. Graphics made with the use of AIM2000 program

W celu dalszego poznania natury takich dodatkowych wiązań H...H, występujących między atomami wodoru odseparowanymi trzema wiązaniami C-C Cioslowski i Mixon [66] przeprowadzili dodatkowe badania. Przeanalizowali topologiczne właściwości gęstości elektronowej w cząsteczce bifenylu dla różnych kątów torsyjnych pomiędzy pierścieniami fenyłowymi monitorując dokładnie BCP i odpowiadające im BP oraz RCP.



Rysunek 9. Schemat cząsteczki bifenylu

Figure 9. Biphenyl molecule

Analiza ta wykazała, że odległość między atomami wodoru R_{HH} jest zmienną, która nie tylko decyduje o tym czy pojawi się ścieżka wiązania H...H, ale także wpływa na własności gęstości elektronowej związanej z punktami krytycznymi tego wiązania. $R_{HH} = 2,178 \text{ \AA}$ to odległość przy której punkty krytyczne wiązania i pierścienia pokrywają się. Dla policyklicznych węglowodorów aromatycznych odległość między atomami wodoru jest mniejsza niż $2,18 \text{ \AA}$, dlatego w cząsteczkach kekulenu, fenantrenu, chryzenu i benzoantracenu pojawiają się ścieżki wiązań i odpowiadające im BCP między atomami wodoru. W cząsteczce bifenylu w geometrii równowagowej (dla kąta torsyjnego $45,5^\circ$) odległość między atomami wodoru jest większa, co zapobiega pojawieniu się takich ścieżek. Ścieżki wiązań pojawiają się natomiast w płaskiej cząsteczce bifenylu (konformacja płaska jest stanem przejściowym tego układu). Dla oddziaływań H...H odległość ta powinna być traktowana jako zetknięcie się powierzchni atomowych i może być porównywana z podwojeniem promienia van der Waalsa dla atomu wodoru – ok. $2,4 \text{ \AA}$. Wartości odległości międzyatom-

wych dla innych par atomów lub grup funkcyjnych zostały zdefiniowane w podobny sposób [65].

Tworzące się dodatkowe BP i BCP w cząsteczce bifenylu są wynikiem niewiążących odpychających oddziaływań podobnie jak we wspomnianych wcześniej cząsteczkach węglowodorów aromatycznych. Autorzy zaapelowali więc o interpretowanie obecności ścieżki wiązania pomiędzy parą atomów niepołączonych wiązaniem jako linii wskazującej na decydujące oddziaływania w badanym układzie cząsteczkowym, które mogą być zarówno wiążące lub niewiążące, przyciągające lub odpychające [65, 67].

Odpychający charakter oddziaływań H...H pomiędzy atomami wodoru w pozycji *orto*- w płaskiej cząsteczce bifenylu wykazali również Poater, Solà i Bickelhaupt [76, 77]. Autorzy, stosując model orbitali molekularnych Kohna-Shama połączony z dekompozycją energii (EDA), potwierdzili, że ścieżki wiązań i punkty krytyczne nie są wyznacznikami stabilizującego charakteru oddziaływań H...H. Prace te silnie skrytykował sam Bader [78], przedstawiając argumenty przeciwstawiające się arbitralnemu podziałowi energii oddziaływania. Krytyka zaprezentowana została w odniesieniu do sił Feynmana [3] i Ehrenfesta [79] oraz twierdzeń o wiriale w mechanice kwantowej jak również obserwowalnymi własnościami badanego układu.

Pojawienie się dodatkowych ścieżek wiązań dla słabych oddziaływań nie ogranicza się tylko do oddziaływań H...H. Topologiczna analiza rozkładu gęstości QTAIM wskazuje na istnienie wiązań pomiędzy atomami Ng...C i Ng...Ng (Ng = atom gazu szlachetnego) [68–72], O...O [64, 73], N...N [64], X...X i X...O (X = atom halogenu) [67, 74, 75, 80]. Jednak badania nad naturą tych oddziaływań bazujące często na analizie różnych schematów dekompozycji energii wykazują, że powstające między tymi atomami oddziaływania nie mają charakteru stabilizującego ale antywiążący [68–71] czy odpychający [72]. Ponadto za tworzenie się takich dodatkowych ścieżek wiązań i punktów krytycznych im odpowiadających może być również odpowiedzialna wysoka symetria badanego układu [71].

Należy jednak podkreślić, że Bader i jego współpracownicy w bardzo przekonujący sposób bronią koncepcji istnienia ścieżek wiązań i odpowiadających im punktów krytycznych jako ostrego kryterium potwierdzającego występowanie wiążącego oddziaływania między atomami [5, 24, 78, 81–84]. Zrozumiałym jest zatem podział środowiska badaczy w rozumieniu i interpretacji topologii rozkładu gęstości elektronowej oddziaływań między atomami, a konsensus w tej dyskusji, trwającej na łamach czasopism naukowych, nie został jeszcze osiągnięty.

5. ZALEŻNOŚĆ OBLICZEŃ QTAIM OD BAZY I METODY

Jest powszechnie wiadomym, że geometria pojedynczej cząsteczki, a tym bardziej układów stabilizowanych oddziaływaniami międzycząsteczkowymi, będzie zależna od zastosowanej metody obliczeniowej oraz bazy. Ponieważ praktycznie

wszystkie parametry QTAIM są ściśle zależne od geometrii badanego układu, to w tym kontekście również obliczenia QTAIM są w oczywisty sposób zależne od zastosowanego przybliżenia. Inaczej prezentuje się zależność obliczeń QTAIM od metody i bazy, gdy wyeliminować zmienność geometrii. Niedawno wykonano analizę parametrów topologicznych gęstości elektronowej w prostych kompleksach modelowych stabilizowanych słabym wiązaniem wodorowym typu C-H...N ($F_3CH\cdots NH_3$, $F_3CH\cdots NCH$ oraz $FCCH\cdots NH_3$) [35]. Dla wszystkich przypadków wykorzystano geometrię uzyskaną w procedurze optymalizacji na poziomie B3LYP/aug-cc-pVTZ, i dla tak uzyskanych stałych położenia jąder atomowych wygenerowano rozkład gęstości elektronowej, stosując 11 różnych zestawów baz funkcyjnych typu Pople'a i Dunninga (począwszy od 6-31++G(d,p), a skończywszy na aug-cc-pVQZ) oraz metodę HF i DFT-B3LYP. Przeanalizowano następujące parametry: ρ_{BCP} , $\nabla^2\rho_{BCP}$, H_{BCP} , G_{BCP} oraz V_{BCP} .

Okazało się, że jeśli wyeliminować czynnik związany z różną geometrią wynikającą z różnego przybliżenia zastosowanego w obliczeniach, to parametry QTAIM są w niewielkim tylko stopniu zależne od zastosowanej metody i bazy. Trzy z badanych parametrów okazały się praktycznie niezależne od przybliżenia (ρ_{BCP} , G_{BCP} oraz V_{BCP}). W przypadku laplasjanu można było zauważyć pewną zależność od zastosowanego przybliżenia, co nie powinno dziwić z uwagi na czułość tego parametru. Jednak nawet w tym przypadku jakościowo wyniki były zbieżne dla wszystkich zastosowanych przybliżeń. Dla dwóch baz wartość H_{BCP} zmieniła znak, co wiązało się z tym, że dla najsłabszych oddziaływań parametr ten jest bardzo bliski zeru i również w omawianym przypadku oscylował w okolicach tej wartości.

Na podstawie bliższej analizy uzyskanych danych stwierdzono, że jedynie relatywnie małe bazy cc-pVDZ i aug-cc-pVDZ dają nieco odmienne rezultaty w porównaniu z ich bardziej wiarygodnymi odpowiednikami. Z tego względu ich użycie w obliczeniach QTAIM nie jest rekomendowane. Warto zauważyć, że dosyć powszechnie używana baza typu 6-311++G(d,p) dała wyniki niezwykle bliskie tym, uzyskanym za pomocą najbardziej rozbudowanych baz typu Dunninga. Warto o tym pamiętać, szukając najodpowiedniejszej bazy do obliczeń dla układów modelowych z geometrią uzyskaną metodami rentgenografii strukturalnej.

Co ciekawe, w odróżnieniu od słabych wiązań wodorowych, znacznie większą czułość na metodę/bazę wykazują parametry QTAIM dla wiązań kowalencyjnych [36]. W szczególności parametry wiązań kowalencyjnych wielokrotnych oraz wiązań kowalencyjnych spolaryzowanych okazały się być relatywnie czułe na zmianę warunków obliczeń, nawet przy zachowanej geometrii. Nadal jednak zależność wyników obliczeń QTAIM od zastosowanej metody i bazy jest znacznie mniejsza, niż można by oczekiwać. Jest to dobry sygnał dla badaczy prowadzących obliczenia QTAIM dla układów posiadających geometrię uzyskaną na drodze badań eksperymentalnych.

PODSUMOWANIE

Kwantowa teoria Atomy w Cząsteczkach stanowi pomost między ideami mechaniki kwantowej a eksperymentem, w którym właściwości układu fizycznego reprezentowane są przez zbiór mierzalnych obserwabli. QTAIM pozwala na podział przestrzeni cząsteczki lub dowolnego większego układu (w tym periodycznego) na fragmenty (atomy), bez konieczności odwoływania się do arbitralnych założeń, a jedynie w oparciu o fizyczną, obserwowalną i mierzalną własność tego układu, mianowicie rozkład gęstości elektronowej. W ten sposób QTAIM jednoznacznie definiuje tak podstawowe pojęcia jak atom, wiązanie chemiczne, czy powierzchnia międzyatomowa. W konsekwencji daje ogromne możliwości interpretacyjne badaczowi, który dysponuje informacją o rozkładzie gęstości elektronowej otrzymanej na podstawie obliczeń kwantowo-chemicznych lub z pomiarów eksperymentalnych. W niniejszej pracy przedstawiono możliwości zastosowania QTAIM do opisu wiązań chemicznych, ze szczególnym uwzględnieniem oddziaływań niekowalencyjnych. Położono nacisk na kryteria występowania oddziaływań niekowalencyjnych, możliwość ich klasyfikacji oraz metody szacowania ich mocy. Nie pominięto przypadków dyskusyjnych, które niekoniecznie poddają się deterministycznej interpretacji zaproponowanej przez otoczenie R.F.W. Badera.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A.D. McNaught, A. Wilkinson, IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the „Gold Book”), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1997.
XML on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org> (2006-) created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. Last update: 2012-08-19; version: 2.3.2.
- [2] H. Hellmann, *Einführung in die Quantenchemie*, Franz Deuticke, Leipzig, Wiedeń 1937.
- [3] R.P. Feynman, Phys. Rev. 1939, **56**, 340.
- [4] J.C. Slater, J. Chem. Phys., 1972, **57**, 2389.
- [5] R.F.W. Bader, [w:] J. Phys. Chem. A, 2010, **114** (28), 7431.
- [6] R.F.W. Bader, *Atoms in Molecules. A Quantum Theory*, Clarendon Press, Oxford, 1994.
- [7] P. Popelier, *Atoms in Molecules. An Introduction*, Pearson Education Limited, Prentice Hall, Harlow, 2000.
- [8] C.F. Matta, R.J. Boyd, *The Quantum Theory of Atoms in Molecules. From Solid State to DNA and Drug Design., An Introduction to the Quantum Theory of Atoms in Molecules*, T. 1, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2007.
- [9] M. Rafat, P.L.A. Popelier, J. Comput. Chem., 2007, **28**, 2602 oraz Galeria witryny internetowej grupy badawczej P.L.A. Popelier’a: <http://www.chemistry.manchester.ac.uk/groups/popelier/index.htm>, stan z 01.12.2013 (za zgodą autorów).
- [10] S.J. Grabowski, Chem. Rev., 2011, **111**, 2597.
- [11] I. Rozas, I. Alkorta, J. Elguero, J. Am. Chem. Soc., 2000, **122**, 11154.
- [12] U. Koch, P. Popelier, J. Chem. Phys., 1995, **99**, 9747.

- [13] I. Mata, I. Alkorta, E. Espinosa, E. Molins, J. Elguero, Topological Properties of the Electron Distribution in Hydrogen-bonded Systems [w:] *The Quantum Theory of Atoms in Molecules from Solid State to DNA and Drug Design*, edytorzy: C.F. Mattai R.J. Boyd; Wiley-VCH, Weinheim, 2007.
- [14] Y.A. Abramov, *Acta Crystallogr.*, 1997, **A53**, 264.
- [15] O. Gavez, P.C. Gomez, L.F. Pacios, *Chem. Phys. Lett.*, 2001, **285**, 263.
- [16] R.F.W. Bader, C. Gatti, *Chem. Phys. Lett.*, 1998, **287**, 233.
- [17] C. Gatti, F. Cargnoni, L. Bertini, *J. Comput. Chem.*, 2003, **24**, 422.
- [18] C. Gatti, L. Bertini, *ActaCrystallogr.*, 2004, **A60**, 438.
- [19] C. Gatti, F. Cargnoni, L. Bertini, *J. Comput. Chem.* (2003), **24**, 422.
- [20] C. Gatti, D. Lasi, *Faraday Discuss.*, (2007), **135**, 55.
- [21] C. Gatti, *Struct. Bond.*, 2012, **147**, 193.
- [22] G. Gilli, P. Gilli, *J. Mol. Struct.*, 2000, **552**, 1.
- [23] R.F.W. Bader, *J. Phys. Chem. A*, 1998, **102**, 7314.
- [24] R.F.W. Bader, *J. Phys. Chem. A*, 2009, **113**, 10391.
- [25] M. Jabłoński, M. Palusiak, *Chem. Phys.*, 2013, **415**, 207.
- [26] Linus Pauling, *The Nature of the Chemical Bond and the Structure of Molecules and Crystals*, Cornell University Press, Ithaca, N. Y., pierwsze wydanie 1932.
- [27] R.F.W. Bader, T.-H. Tang, Y. Tal, F.W. Biegler-Konig, *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, **104**, 946.
- [28] R.J. Boyd, S. Cheng Choi, *Chem. Phys. Lett.*, 1985, **120**, 80.
- [29] R.J. Boyd, S. Cheng Choi, *Chem. Phys. Lett.*, 1986, **129**, 62.
- [30] E. Espinosa, E. Molins, C. Lecomte, *Chem. Phys. Lett.*, 1998, **285**, 170.
- [31] S.J. Grabowski, *J. Phys. Chem. A*, 2000, **104**, 5551.
- [32] S.J. Grabowski, *J. Phys. Chem. A*, 2001, **105**, 10739.
- [33] S.J. Grabowski, *J. Mol. Struct.*, 2001, **562**, 137.
- [34] M. Palusiak, S.J. Grabowski, *J. Mol. Struct.*, 2002, **642**, 97.
- [35] M. Jabłoński, M. Palusiak, *J. Phys. Chem. A*, 2010, **114**, 2240.
- [36] M. Jabłoński, M. Palusiak, *J. Phys. Chem. A*, 2010, **114**, 12498.
- [37] G. Gilli, P. Gilli *The Nature of Hydrogen, Bond* Oxford University Press, Oxford, 2010.
- [38] M. Palusiak, I. Janowska, S.J. Grabowski, *Acta Cryst.*, 2005, **C61**, m55.
- [39] A.J. Rybarczyk-Pirek, *Struct. Chem.*, 2012, **23**, 1739.
- [40] B. Bankiewicz, M. Palusiak, *Comp. Theor. Chem.*, 2011, **966**, 113.
- [41] B. Bankiewicz, P. Matczak, M. Palusiak, *J. Phys. Chem. A*, 2012, **116**, 452.
- [42] N.K. Hansen, P. Coppens, *Acta Cryst.*, 1978, **A34**, 909.
- [43] S. van Smaalen, J. Netzelt, *Phys. Scr.*, 2009, **79**, 048304.
- [44] D.E. Hibbs, S.T. Howard, J.P. Huke, M.P. Waller, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2005, **7**, 1772.
- [45] M.P. Waller, S.T. Howard, J.A. Platts, R.O. Piltz, D.J. Willock, D.E. Hibbs, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 7603.
- [46] D. Jayatilaka, *Phys. Rev. Lett.*, 1998, **80**, 798.
- [47] D. Jayatilaka, D.J. Grimwood, *Acta Cryst.* 2001, **A57**, 76.
- [48] L. Chęcińska, W. Morgenroth, C. Paulmann, D. Jayatilaka, B. Dittrich, *CrystEngComm*, 2013, **15**, 2084.
- [49] E.D. Stevens, M.S. Lehmann, P. Coppens, *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, **99**, 2829.
- [50] C. Flensburg, S. Larsen, R.F. Stewart, *J. Phys. Chem.*, 1995, **99**, 10130.
- [51] J. Overgaard, B. Schiøtt, F.K. Larsen, B. Iversen, *Chem. Eur. J.*, 2001, **7**, 3756.
- [52] J. Sørensen, H.F. Clausen, R.D. Poulsen, J. Overgaard, B. Schiøtt, *J. Phys. Chem. A.*, 2007, **111**, 345.
- [53] M. Małecka, L. Chęcińska, A. Rybarczyk-Pirek, W. Morgenroth, C. Paulmann, *Acta Cryst.*, 2010, **B66**, 687.
- [54] M. Małecka, *Struct. Chem.*, 2010, **21**, 175.

- [55] M. Małecka, S. Mondal, S. van Smaalen, C. Paulmann, *Acta Cryst.*, 2013, **B69**, 621.
- [56] A. Makal, W. Schilf, B. Kamiński, A. Szady-Chmielewska, E. Grech, K. Woźniak, *Dalton Trans.*, 2011, **40**, 421.
- [57] A. Rybarczyk-Pirek, L. Chęcińska, M. Małecka, C. Paulmann „2,5-Diacetylhydroquinon – experimental and theoretical charge density studies”, materiały konferencyjne 55. Konwersatorium Krystalograficzne, Wrocław, 27-29 czerwca 2013.
- [58] L. Chęcińska, S. Grabowsky, M. Małecka, A.J. Rybarczyk-Pirek, A. Józwiak, C. Paulmann, P. Luger, *Acta Cryst.*, 2011, **B67**, 569.
- [59] D.J. Wolstenholme, J.J. Weigand, E.M. Cameron, T.S. Cameron, *Cryst. Growth Des.*, 2009, **9**, 282.
- [60] V.R. Hathawar, R. Pal, T.N. Guru Row, *Cryst. Growth Des.*, 2010, **10**, 3306.
- [61] M. Gryl, A. Krawczuk-Pantula, K. Stadnicka, *Acta Cryst.*, 2011, **B67**, 144.
- [62] M. Schmidtman, L.J. Farrugia, D.S. Middlemiss, M.J. Gutmann, G. J. McIntyre, C.C. Wilson, *J. Phys. Chem. A.*, 2009, **113**, 13985.
- [63] A. Rybarczyk-Pirek, A. Poulain, M. Kubicki „Charge density study on *p*-nitrobenzoic – imidazole salt” materiały konferencyjne 55. Konwersatorium Krystalograficzne, Wrocław, 27-29 czerwca 2013.
- [64] J. Cioslowski, S.T. Mixon, W.D. Edwards, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**, 1083
- [65] J. Cioslowski, S.T. Mixon, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 4382.
- [66] J. Cioslowski, S.T. Mixon, *Can. J. Chem.*, 1992, **70**, 443.
- [67] J. Cioslowski, L. Edgington, B.B. Stefanov, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 10381.
- [68] A. Haaland, D.J. Shorokhov, N.V. Tverdova, *Chem. Eur. J.*, 2004, **10**, 4416.
- [69] T. Strenalyuk, A. Haaland, *Chem. Eur. J.*, 2008, **14**, 10223.
- [70] A. Krapp, G. Frenking, *Chem. Eur. J.*, 2007, **13**, 8256.
- [71] E. Cerpa, A. Krapp, A. Vela, G. Merino, *Chem. Eur. J.*, 2008, **14**, 10232.
- [72] E. Cerpa, A. Krapp, R. Flores-Moreno, K.J. Donald, G. Merino, *Chem. Eur. J.*, 2009, **15**, 1985.
- [73] A.H. Pakiari, K. Eskandari, *J. Mol. Struct. THEOCHEM*, 2007, **806**, 1.
- [74] A. Vila, R.A. Mosquera, *J. Mol. Struct. THEOCHEM*, 2001, **546**, 63.
- [75] C.F. Matta, N. Castillo, R.J. Boyd, *J. Phys. Chem. A*, 2005, **109**, 3669.
- [76] J. Poater, M. Solà, F.M. Bickelhaupt, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 2889.
- [77] J. Poater, M. Solà, F.M. Bickelhaupt, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 2902.
- [78] R.F.W. Bader, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 2896.
- [79] R.F.W. Bader, F. De-Cai, *J. Chem. Theory and Comp.*, 2005, **1**, 403.
- [80] M. Jabłoński, M. Palusiak, *Chem. Phys.*, 2013, **415**, 207.
- [81] J. Hernandez-Trujillo, F. Cortes-Guzman, D.-C. Fang, R.F. W. Bader, *Faraday Discuss.*, 2007, **135**, 79.
- [82] C.F. Matta, R.F.W. Bader, *J. Phys. Chem. A*, 2006, **110**, 6365.
- [83] R.F.W. Bader, J. Hernandez-Trujillo, F. Cortes-Guzman, *J. Comput. Chem.*, 2007, **28**, 4.
- [84] R.F.W. Bader, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 7769.

**KRYSTALOGRAFIA WYSOKICH CIŚNIEŃ,
CZYLI JAK ZOBACZYĆ STRUKTURĘ MATERII...
GŁĘBIEJ**

HIGH-PRESSURE CRYSTALLOGRAPHY:
HOW TO SEE THE STRUCTURE OF MATERIALS...
DEEPER

**Anna Olejniczak, Kamil Dziubek, Damian Paliwoda,
Witold Zieliński, Marcin Podsiadło, Andrzej Katrusiak***

*Wydział Chemii
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
ul. Umultowska 89b, 61-614 Poznań
e-mail: katran@amu.edu.pl

Abstract

Wprowadzenie

1. Komora diamentowa i kalibracja ciśnienia
2. Polimorfizm wysokociśnieniowy
3. Wysokociśnieniowe solваты
4. Polimorfizm pierwiastków chemicznych (alotropia)
5. Materiały supertwarde
6. Biopolimery w wysokim ciśnieniu
7. Materiały porowate i zeolity

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Prof. Andrzej Katrusiak jest kierownikiem Zakładu Chemii Materiałów na Wydziale Chemii UAM i wokół tematu chemii materiałów skupia swoje zainteresowania. Specjalizuje się w zagadnieniach termodynamiki chemicznej, przemianach fazowych, wpływie wysokiego ciśnienia na strukturę materiałów, zastosowań wysokiego ciśnienia w analizie kryształów, dyfraktometrii, polimorfizmu, wysokociśnieniowych reakcji i solwatacji, oddziaływań międzycząsteczkowych i jonowych w kryształach, zmianie właściwości elastycznych materiałów pod wpływem ciśnienia i temperatury. Interesują go szczególnie struktury z elementami bistabilnymi. Od lat intensywnie rozbudowuje laboratorium wysokociśnieniowe – powstaje tu oryginalny sprzęt i oprogramowanie komputerowe do prowadzenia wysokociśnieniowych pomiarów dyfraktometrycznych. A. Katrusiak opublikował około 400 prac naukowych i współredagował 2 książki; wypromował 11-stu doktorów i 46-ciu magistrów. Obecnie jest członkiem Advisory Board czasopisma CrystEngComm i został nominowany na przewodniczącego Komisji Wysokich Ciśnień przy Międzynarodowej Unii Krystalograficznej.

Dr Kamil Dziubek jest pracownikiem Wydziału Chemii UAM w Poznaniu. Interesuje się wysokociśnieniową syntezą oraz badaniami strukturalnymi i spektroskopowymi materiałów funkcjonalnych. Jest konsultantem Komisji Wysokiego Ciśnienia Międzynarodowej Unii Krystalograficznej i członkiem rady Europejskiego Zrzeszenia Krystalograficznego. W latach 2014-2017 jako laureat programu Mobilność Plus Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego będzie stażystą w Europejskim Laboratorium Spektroskopii Nieliniowej LENS we Florencji, gdzie zamierza zająć się syntezą wielofunkcyjnych nanokompozytów hybrydowych typu zeolit/polimer.

Dr Anna Olejniczak jest adiunktem na Wydziale Chemii UAM w Poznaniu. Pracę magisterską oraz doktorską wykonywała w Zakładzie Chemii Materiałów, gdzie obecnie kontynuuje swoje badania. Jej zainteresowania obejmują syntezę nowych materiałów w warunkach ekstremalnych, w szczególności badania ferroelektryków oraz relaksorów organicznych oraz ich potencjalne zastosowanie w praktyce.

Dr Marcin Podsiadło jest adiunktem na Wydziale Chemii UAM w Poznaniu w Zakładzie Chemii Materiałów. Jego praca naukowa dotyczy chemii materiałów, a główny obszar zainteresowań to wysokociśnieniowa krystalizacja i badania strukturalne związków organicznych, które w warunkach normalnych są cieczami i gazami.

Dr inż. Damian Paliwoda – chemik, biotechnolog, absolwent Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej (2009). Pracę doktorską wykonał w Zakładzie Chemii Materiałów Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. W pracy naukowej zajmuje się syntezą nowych materiałów oraz badaniami strukturalnymi w warunkach ekstremalnych pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja Katrusiaka.

Mgr Witold Ziełiński ukończył studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Od 2010 roku jest doktorantem programu TEAM FNP na Wydziale Chemii UAM pod kierownictwem prof. Andrzeja Katrusiaka. Jego zainteresowania naukowe obejmują krystalizację związków chemicznych w ekstremalnych warunkach wysokiego ciśnienia z wykorzystaniem komory diamentowej oraz metod dyfrakcyjnej analizy strukturalnej.

ABSTRACT

During recent decades the number of high-pressure crystallographic studies has rapidly increased. This has been possible owing to the diamond-anvil cell, a small, relatively cheap and save apparatus breaking all records of static pressure. The diamond-anvil cell is suitable for diffraction structural studies, optical and IR spectroscopy and many other types of physical measurements; it can be also applied as a microscopic chemical reaction chamber. High pressure is now often used for synthesizing super-hard materials, new polymorphs and solvates with unique properties required in high-tech applications as well as in food processing and pharmaceutical industry.

Słowa kluczowe: wysokie ciśnienie, badania dyfrakcyjne, komora diamentowa, polimorfizm

Keywords: high pressure, diffraction studies, diamond-anvil cell, polymorphism

WPROWADZENIE

W Roku Krystalografii 2014 dyfraktometryczne metody badania struktury kryształów są już rutynowym narzędziem pracowników wielu profesji, na przykład geologów, celników, budowlanców (szczególnie przy wytwarzaniu cementów) czy farmaceutów. Równocześnie dyfraktometria kryształów pozostaje jedną z najczęściej stosowanych metod analitycznych chemii, biologii i fizyki. Pozwala ona najdokładniej, z precyzją dochodzącą do $0,0001 \text{ \AA}$ (10^{-14} m), wyznaczyć średnie położenia atomów w komórce elementarnej kryształów. Z taką dokładnością można poznać budowę cząsteczek chemicznych. Dostępne są obecnie miniaturowe dyfraktometry rentgenowskie, na przykład przenośne proszkowe dyfraktometry dla geologów, pozwalające szybko identyfikować skały i minerały. Większe, stacjonarne dyfraktometry proszkowe i monokrystaliczne przeznaczone dla laboratoriów chemicznych, zazwyczaj automatycznie dokonują analizy ilościowej i jakościowej próbek, a dla monokryształów wyznaczają struktury, porównując je z zasobami baz danych, złożonymi obecnie z ponad miliona struktur kryształów.

Wkrótce po przeprowadzeniu pierwszych dyfraktometrycznych badań kryształów przez Maxa von Lauego w 1912 roku, a nieco później przez Williama Henry'ego i Williama Lawrence'a Braggów, podjęto badania dyfraktometryczne w zmiennej temperaturze. Natomiast badania wysokociśnieniowe okazały się znacznie trudniejsze i pierwsze próby wykonania dyfraktometrycznych badań proszkowych w Berkeley (USA) i monokrystalicznych w Moskwie (Rosja) nie były zachęcające ze względu na wysokie koszty i niską precyzję. W celu prowadzenia badań dyfraktometrycznych budowano różnego typu komory wysokociśnieniowe, ale ich grube ściany znacznie obniżały dokładność pomiarów. Nawet zastosowanie do konstrukcji komór słabo absorbującego promieniowanie rentgenowskie berylu (^4Be) nie dało dobrych wyników. Przeprowadzona w 1950 roku próba zastosowania cylindra diamentowego wykonanego z wydrążonego brylantu zakończyła się jego pęknięciem. Przełom nastąpił w roku 1958, kiedy po raz pierwszy zastosowano do badań dyfraktometrycznych komory diamentowe, w których próbkę ściskano pomiędzy dwoma zeszlifowanymi koletami¹ brylantów oraz w 1962 roku kiedy między kolety wstawiono płaską uszczelkę wykonaną z bardzo twardego metalu (Rys. 1). W otworze tej uszczelki, zamkniętym z obu stron koletami diamentów, umieszczano próbkę zanurzoną w cieczy. Ściskając tak powstałą komorę kowadłami diamentowymi można uzyskać w warunkach laboratoryjnych bardzo wysokie wartości ciśnienia, wynoszące obecnie ponad 500 GPa, czyli znacznie wyższe niż w centrum Ziemi (364 GPa)².

1 Kolet – ostry koniec brylantu, zeszlifowany w kowadłach komór ciśnieniowych do średnicy około 0,5 mm.

2 GPa = 10^9 Pa; Pa – skrót od paskala – jednostki ciśnienia w układzie jednostek SI, Pa = Nm^{-2} ; nazwę tej jednostki nadano na cześć jednego z pionierów badań ciśnieniowych, którym był Blaise Pascal (1623–1662); Pa = 10^{-5} bar = 760 mmHg (760 Torr); czyli ciśnienie atmosferyczne to około 0,1 MPa = 1000 hPa, (1 hPa = 100 Pa).

Powszechnie wiadomo, że warunki życia na powierzchni Ziemi są unikatowe w skali wszechświata. Panujące wokół nas ciśnienie około 0,1 MPa jest znacznie wyższe niż ciśnienie w przestrzeni kosmicznej, a znacznie niższe niż w głębi planet i gwiazd. Dlatego większość zjawisk i praw zostało poznanych i sformułowanych dla specyficznych warunków panujących na powierzchni Ziemi. Natomiast wiele znanych minerałów powstało w bardzo wysokiej temperaturze i ciśnieniu wnętrza Ziemi, lub wnętrz innych ciał niebieskich. Ogólnie znanym przykładem minerału powstającego w wysokim ciśnieniu jest diament, jedna z odmian alotropowych węgla do dziś pozostająca najtwardszą znaną substancją. Diament ilustruje niezwykle właściwości materiałów syntetyzowanych w wysokim ciśnieniu oraz potencjał naukowy i technologiczny drzemący w badaniach wysokociśnieniowych. Innym przykładem substancji powstających w wysokim ciśnieniu są hydraty metanu, zalegające w pokładach pod ziemią i na dnach oceanów, które stanowią największe zasoby węgla na naszej planecie. Można ogólnie stwierdzić, że chemia którą dobrze znamy, to chemia tzw. warunków normalnych, oscylujących wokół temperatury 0°C i ciśnienia 1013,25 hPa (1 atm). W Rowie Mariańskim, najgłębszym miejscu oceanów na Ziemi (10910 ± 40) m p.p.m., ciśnienie wynosi 0,12 GPa (1088 atm). W głębi naszej planety temperatura wzrasta do kilku tysięcy stopni Celsjusza a ciśnienie do 364 GPa. W centrach największych planet Układu Słonecznego ciśnienie wynosi około 2500 GPa w Saturnie i 4000 GPa w Jowiszu. Słońce, gwiazda Układu Słonecznego, jest rozpaloną kulą zjonizowanego wodoru (74%), helu (25%) i innych pierwiastków (1%). Ich postać w jądrze Słońca, gdzie temperatura sięga kilkunastu milionów °C i ciśnienie szacowane na 10^7 GPa, pozostaje nieznana. Ciśnienie to umożliwia przebieg reakcji termojądrowych, będących źródłem energii słonecznej. Obecnie uważa się, że ciśnienie wewnątrz Słońca jest zbyt niskie by umożliwić reakcje jądrowe prowadzące do powstania pierwiastków cięższych niż tlen.

Naturalnym powodem badań prowadzonych w komorze ciśnieniowej jest odtwarzanie w laboratorium warunków panujących we wnętrzu Ziemi lub innych planet i gwiazd. Badania te, oprócz aspektów czysto poznawczych, mają ogromne znaczenie praktyczne, gdyż wiele minerałów, w tym ropa naftowa i gaz ziemny, powstaje i znajduje się głęboko pod powierzchnią Ziemi pod wysokim ciśnieniem, gdzie ich właściwości są odmienne niż w ciśnieniu atmosferycznym. Wyniki eksperymentów wysokociśnieniowych mają zatem istotne znaczenie w geologii, sejsmologii czy astronomii.

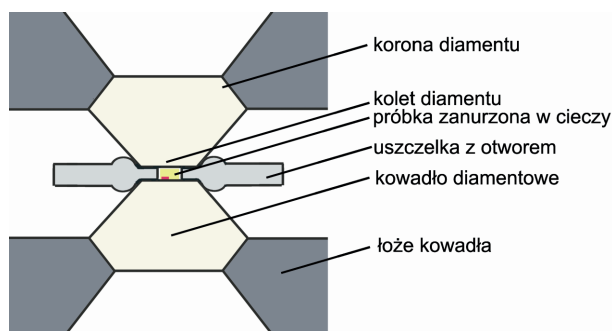
Z tych i innych względów badania wysokociśnieniowe kryształów i różnego typu materiałów i cieczy są intensywnie prowadzone w wielu ośrodkach naukowych na świecie [1, 2]. Jedną z podstawowych metod tych badań jest dyfraktometria rentgenowska i spektroskopia z użyciem komór diamentowych. Niniejszy artykuł ma w dużym skrócie przedstawić wysokociśnieniowe rentgenowskie badania dyfraktometryczne.

1. KOMORA DIAMENTOWA I KALIBRACJA CIŚNIENIA

Do końca XIX wieku badania ciśnieniowe wykonywano raczej sporadycznie, a osiągnięte ciśnienie nie przekraczało 1 GPa. W pierwszej połowie XX wieku Percy Williams Bridgman (ur. 21 kwietnia 1882, zm. 20 sierpnia 1961) projektował projektował komory bijące wtedy wszelkie rekordy ciśnienia. W komorze zbudowanej z węglika wolframu uzyskiwał ciśnienie rzędu kilku GPa. Za swoje dokonania w badaniach wysokociśnieniowych Bridgman otrzymał Nagrodę Nobla w 1946 roku. Do końca lat 50. XX wieku eksperymenty wysokociśnieniowe wykonywano przy użyciu wielkich i drogich pras, w których dostęp do badanej próbki był bardzo ograniczony. Urządzenia te modyfikowano i udoskonalano w kolejnych latach.

Milowym krokiem w badaniach wysokociśnieniowych było w 1950 roku zastosowanie do budowy komory najtwardszego znanego minerału, diamentu. Pod koniec lat 50. skonstruowano komorę diamentową (ang. *diamond-anvil cell*; stąd powszechnie używany skrót DAC; w języku polskim komora ta określana jest jako „kowadła diamentowe”, „szczęki diamentowe” lub „imadełko diamentowe”), w której umieszczono dwa naprzeciwległe kowadła diamentowe. Diament jest najtwardszym znanym materiałem (10 w skali twardości Mohsa), w skali twardości absolutnej (wyrażonej jednostkami ciśnienia) cztery razy twardszym od korundu, którego twardość w skali Mohsa wynosi 9. W DAC wykorzystano szereg innych niezwykle cennych zalet diamentu: jest on praktycznie nierozpuszczalny, słabo absorbuje krótkie promieniowanie rentgenowskie, ma znikomą absorpcję promieniowania UV, IR i widzialnego.

Zastosowanie w 1962 roku pomiędzy koletami diamentów w komorze wysokociśnieniowej uszczelki, blaszki metalowej z niewielkim otworem, umożliwiło uzyskanie warunków hydrostatycznych ciśnienia w cieczy otaczającej próbkę (Rys. 1).



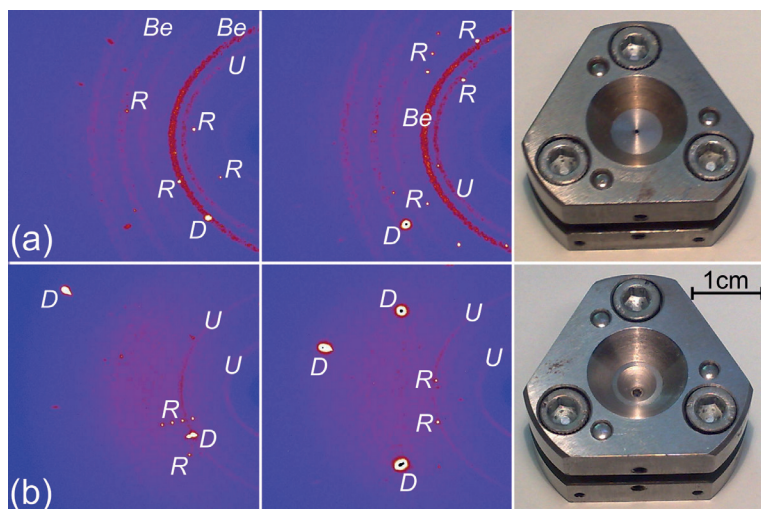
Rysunek 1. Schematyczny przekrój wysokociśnieniowej komory diamentowej: osadzone w stalowych podporach diamentowe kowadła ściskają metalową uszczelkę z otworem wypełnionym cieczą hydrostatyczną, w której zanurzony jest badany preparat i okrusz rubinu (zaznaczony kolorem czerwonym) do kalibracji ciśnienia metodą spektroskopową

Figure 1. Schematic cross-section of the diamond-anvil cell: the diamond anvils, mounted on the steel supporting plates, plastically deforming the metal gasket, and compressing the hydrostatic fluid filling inside the centrally located chamber (a hole in the gasket). The fluid transmits pressure to the sample and to a piece of ruby for spectroscopic pressure calibration

Kluczowym problemem w eksperymentach wysokociśnieniowych pierwszej połowy XX wieku był pomiar ciśnienia. Początkowo ciśnienie w komorze obliczano na podstawie siły działającej na jednostkę powierzchni lub odnoszono do ściśliwości znanego standardu np. kryształów NaCl. Przełom nastąpił w 1972 roku gdy zastosowano fluorescencję rubinu do kalibracji ciśnienia. Rubin, czyli kryształ korundu Al_2O_3 z domieszką około 5% jonów Cr^{3+} zastępujących jony Al^{3+} (stąd czerwony kolor rubinu), jest mało reaktywny chemicznie. Rubin wzbudzony promieniowaniem lasera emituje silne dwie wąskie linie fluorescencyjne linie fluorescencyjne R_1 i R_2 o długości fali 694,2 i 692,8 nm. Wysokie ciśnienie powoduje ich przesunięcie, co pozwala wyznaczyć ciśnienie w komorze [3]. Pomiar przesunięcia linii R_1 i R_2 można wykonać przy użyciu spektrometru w ciągu kilku sekund.

W 1974 roku Merrill i Bassett skonstruowali najpopularniejszą do dzisiaj miniaturową-komorę diamentową (Rys. 2) [4]. Głównymi elementami tej komory są przeciwległe kowadła diamentowe osadzone na stalowych dyskach, które z kolei zainstalowane są w trójkątnych obudowach dociskanych trzema śrubami. Wysokie ciśnienie w komorze jest wytwarzane poprzez przełożenie siły z dużej powierzchni styku stalowych podpór z koronami diamentów na małą powierzchnię kolektów. W zależności od potrzeb eksperymentu wysokociśnieniowego, możliwe jest wykonanie wielu modyfikacji komory diamentowej: powstały komory trójkątne z użyciem 3 śrub, okrągłe czterośrubowe, oraz dwuśrubowe. Do podtrzymania kowadeł dawniej używano głównie dysków wykonanych z berylu, które stanowią dobre podparcie kowadeł w temperaturze pokojowej. Beryl słabo absorbuje krótkofalowe promieniowanie rentgenowskie – jego liniowy współczynnik absorpcji $\mu(\text{Mo K}\alpha)$ wynosi zaledwie $0,048 \text{ mm}^{-1}$. Jednak jako metal polikrystaliczny wytwarza wysokie i nierównomierne tło spowodowane dyfrakcją i rozpraszaniem promieniowania. Ponadto beryl mięknie około 480 K, uniemożliwiając zastosowanie wysokiej temperatury w trakcie pomiarów. Dyski berylowe utrudniają też wgląd do komory, a tlenki berylu są toksyczne. Z tych powodów obecnie dyski berylowe są wypierane przez dyski stalowe, które charakteryzuje dużo większa wytrzymałość termiczna, brak pierścieni dyfrakcyjnych, szeroki kąt widzenia próbki oraz nietoksyczność. Wadą takich dysków jest mniejszy kąt otwarcia komory niż w dyskach berylowych (Rys. 2) oraz wyższy koszt specjalnie szlifowanych kowadeł.

Komory diamentowe są coraz powszechniej wykorzystywane. Istnieje ich wiele konstrukcji i te najcięższe i najstabilniejsze np. typu Mao-Bell, pozwalają uzyskać ciśnienie statyczne dochodzące do 500 GPa [2]. Jednak już uzyskiwanie ciśnienia powyżej kilkudziesięciu GPa jest „karkołomne” i często skutkuje uszkodzeniem kowadeł. W 2012 roku zaprezentowano komorę z wykorzystaniem diamentowej sfery o średnicy 12–20 μm zamkniętej we wnętrzu większej komory. Według autorów taki dwustopniowy układ pozwolił uzyskać ciśnienie 640 GPa [5].



Rysunek 2. Przykładowe obrazy dyfrakcyjne zarejestrowane na dyfraktometrze rentgenowskim za pomocą detektora typu CCD. Badany kryształ umieszczony jest w komorze Merrilla-Bassetta, zaopatrzonej w dyski berylowe podtrzymujące diamenty (a). W drugiej z pokazanych komór kowadła diamentowe podparte są dyskami stalowymi (b). Na obrazach dyfrakcyjnych oznaczono: *R* – refleksy pochodzące od badanego monokryształu, *D* – refleksy z kowadeł diamentowych (znacznie intensywniejsze od refleksów próbki), *Be* – pierścienie dyfrakcyjne, charakterystyczne dla próbek proszkowych, pochodzące od dysków berylowych oraz *U* – proszkowe pierścienie dyfrakcyjne pochodzące od stalowej uszczelki umiejscowionej pomiędzy kowadłami diamentowymi

Figure 2. Examples of diffraction images recorded on an X-ray diffractometer with a CCD detector. The sample crystal is mounted in a Merrill-Bassett diamond-anvil cell equipped with beryllium discs (a) and the steel discs with conical windows (b). Specific features of the diffraction images are marked with letters: *R* – the sample crystal reflections, *D* – the diamond reflections (much stronger than those from the sample), *Be* – beryllium powder rings, *U* – steel-gasket powder rings

Wysokie ciśnienie można uzyskać wywołując w badanej próbce w wyniku wybuchu lub uderzenia pocisku falę uderzeniową. Uzyskiwane w ten sposób rekordy ciśnienia sięgają 460 GPa, jednak takie dynamiczne ściśnięcie próbki wywołuje silny adiabatyczny wzrost temperatury i jest utrzymywane tylko przez kilka nanosekund.

2. POLIMORFIZM WYSOKOCIŚNIENIOWY

Polimorfizm dotyczy głównie molekularnych i molekularno-jonowych związków organicznych [6] i określa ich występowanie w różnych odmianach krystalicznych. Natomiast różne struktury związków nieorganicznych można często traktować jako ich izomery. Otrzymanie polimorfów często wymaga przekształcenia substancji, ale może nastąpić w wyniku przemiany fazowej wywołanej zmianą warunków ciśnienia lub temperatury. Podczas przemiany dochodzi do zmian położenia cząsteczek, jonów lub atomów, czemu w niektórych strukturach towarzyszy zrywanie wiązań międzycząsteczkowych i tworzenie innych, nowego typu. W polimorfach cząsteczki chemiczne mogą różnić się konformacją lub formami tauto-

merycznymi. Struktura kryształów może przekształcać się pod wpływem zmiany temperatury lub/i ciśnienia. Warunki tworzenia poszczególnych odmian przedstawia graficznie diagram fazowy. Diagram fazowy wody zawiera ponad 10 odmian polimorficznych lodu. Niektóre z nich istnieją tylko w niewielkim zakresie wysokiego ciśnienia i niskiej temperatury, a niektóre pozostają (meta)stabilne również w warunkach normalnych. Diagram fazowy żelaza przedstawiony jest w dalszej części tego artykułu.

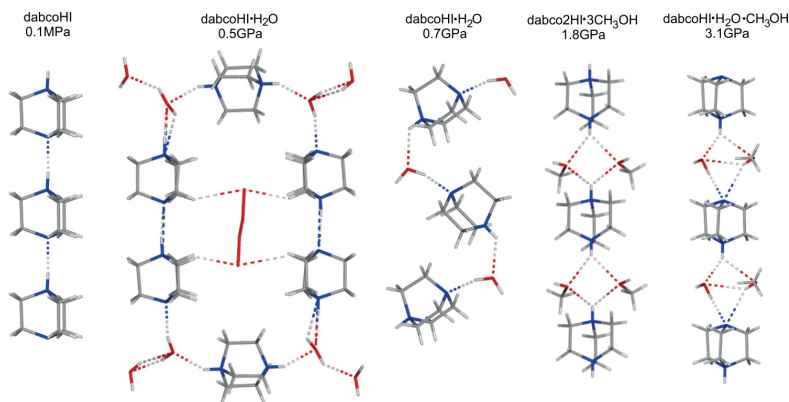
Odmiany polimorficzne często znacznie różnią się właściwościami chemicznymi (reaktywność, trwałość) i fizycznymi (temperatura topnienia, rozpuszczalność, przewodnictwo cieplne i elektryczne). Z tego względu otrzymywanie nowych form krystalicznych ma ogromne znaczenie praktyczne i dlatego tak ważne jest poznanie mechanizmów oraz zagadnień związanych ze zjawiskiem polimorfizmu, określenie warunków występowania poszczególnych faz, a w dalszej kolejności zbadanie ich właściwości.

Krystalizacja wysokociśnieniowa jest bardzo użyteczną metodą otrzymywania nowych form substancji. Niedawno w laboratorium Zakładu Chemii Materiałów UAM otrzymano nową odmianę sacharozy, czyli dobrze wszystkim znanego cukru, poddając go działaniu ciśnienia 4,8 GPa [7]. Dotychczas uważano, że cukier występuje tylko w jednej formie, a odkrycie nowej formy potwierdza znaczenie wysokiego ciśnienia. Kolejnym ciekawym przykładem są sole 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktanu (w skrócie DABCO), w których działanie stosunkowo niewielkiego ciśnienia powoduje szereg następujących po sobie przemian, prowadzących do powstawania licznych krystalicznych faz o podobnych lub znacząco różniących się strukturach [8, 9]. Badania soli DABCO są istotne ze względu na ich właściwości ferroelektryczne.

3. WYSOKOCIŚNIENIOWE SOLWATY

Coraz większe zainteresowanie budzi wykorzystanie ciśnienia do otrzymywania kryształów wieloskładnikowych. Niektóre substancje w warunkach normalnych występują jedynie w czystej postaci, natomiast wysokie ciśnienie może wymusić krystalizację z wbudowanymi cząsteczkami innego związku, na przykład rozpuszczalnika. Kryształy zawierające w swojej sieci krystalicznej cząsteczki rozpuszczalnika to solwaty, a jeśli tym rozpuszczalnikiem jest woda – są to hydraty. Cząsteczka wody jest mała i z tego względu łatwo wypełnia luki hydrofilowe w sieci krystalicznej. Cząsteczka wody może być zarówno donorem, jak i akceptorem w wiązaniu wodorowym w związkach, które również są w stanie utworzyć takie wiązanie. Jednymi z najpowszechniejszych hydratów na Ziemi są hydraty metanu [10–12]. Ich ogromne złoża zalegają na dnie oceanów, gdzie w wysokim ciśnieniu hydrostatycznym są stabilne. Również inne gazy pod wysokim ciśnieniem występują w postaci kokryształów, czyli kryształów wieloskładnikowych, które można wykorzystać do składowania tych gazowych substancji.

Podobnie jak przemiana kryształu do nowej formy, również wbudowanie się cząsteczek rozpuszczalnika w strukturę kryształu może radykalnie zmienić chemiczne i fizyczne właściwości substancji, takie jak reaktywność chemiczna w ciele stałym lub na jego powierzchni, temperatura topnienia, rozpuszczalność czy właściwości optyczne. Zmiany te mogą być pożądane dla przewidzianych zastosowań danego solwatu. Na przykład w rolnictwie ważny jest długi czas rozpuszczania się i działania preparatów. Z kolei w farmacji szybsza rozpuszczalność leku przyspiesza jego działanie, natomiast niekiedy korzystna jest mniejsza rozpuszczalność, wydłużająca działanie leku. Ważne jest zatem poznanie mechanizmów oraz warunków tworzenia solwatów i hydratów pozwalających w sposób kontrolowany otrzymywać formy krystaliczne o pożądanych właściwościach. Innym obszarem zainteresowań jest wytwarzanie bezpiecznych i efektywnych materiałów wybuchowych. Można to osiągnąć dzięki tworzeniu kokryształów, których przykładem jest materiał złożony z HNIW (należącego do grupy nitroamin) oraz TNT (trotylu). Oba związki są materiałami wybuchowymi, jednak ich kokryształ wykazuje korzystne cechy: jest bardziej odporny na wstrząsy i tarcie, oraz ma lepsze właściwości wybuchowe niż każdy ze składników osobno [13].



Rysunek 3. Fragmety struktur jodku 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktanu, który w zależności od warunków ciśnienia tworzy kryształ czystego związku, kokryształ z metanolem, kokryształ z wodą oraz kokryształ trójskładnikowy, zawierający zarówno cząsteczki wody, jak i metanolu.

Figure 3. Fragments of 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane hydroiodide crystal structures: the crystal of neat compound, two hydrates, a methanol solvate and a mixed solvate with methanol and water, depending on pressure and temperature conditions.

Podobnie jak przy otrzymywaniu nowych odmian polimorficznych, tak i w przypadku solwatów i innych kokryształów bardzo pomocne jest zastosowanie wysokiego ciśnienia. Ciekawym przykładem jest tiomocznik, wykorzystywany zarówno w przemyśle farmaceutycznym jak i przemyśle tworzyw sztucznych. Substancja ta w warunkach normalnych krystalizuje z wody w czystej postaci (anhydratu), natomiast w ciśnieniu 0,6 GPa tworzy monohydrat [14]. Dalsze podwyższenie ciśnienia prowadzi do otrzymania kolejnego hydratu, w którym na trzy

cząsteczki tiomocznika przypadają dwie cząsteczki wody. Pod ciśnieniem 1,2 GPa tiomocznik ponownie krystalizuje jako anhydrat. Kolejnym interesującym przykładem są sole DABCO. Wiele z nich podczas krystalizacji z różnych rozpuszczalników w warunkach atmosferycznych tworzy kryształy w czystej postaci, jednak już niewielki wzrost ciśnienia powoduje, że cząsteczki rozpuszczalnika wbudowują się w sieć krystaliczną soli (Rys. 3) [15, 16]. Niekiedy zastosowanie wysokiego ciśnienia oraz wysokiej temperatury doprowadza do utworzenia nowego związku, który może być stabilny w warunkach normalnych [15, 17].

4. POLIMORFIZM PIERWIĄSKÓW CHEMICZNYCH (ALOTROPIA)³

Klasycznym, podręcznikowym przykładem tego zjawiska jest polimorfizm węgla. Powszechnie znane są dwie odmiany węgla o zasadniczo odmiennych właściwościach fizycznych: grafit i diament. Już w 1772 roku Antoine Laurent Lavoisier stwierdził, że diament w wysokiej temperaturze spala się z utworzeniem dwutlenku węgla nie pozostawiając popiołu, a więc w jego skład wchodzi wyłącznie węgiel [19]. Według obecnego stanu wiedzy naturalne diamenty tworzą się w magmie, w płaszczu Ziemi na głębokości około 150–200 km, gdzie panuje temperatura sięgająca 1000 K oraz ciśnienie rzędu kilku GPa, po czym transportowane są z głębi na powierzchnię Ziemi kominami wulkanicznymi [20]. Diament jest zatem w warunkach normalnych metastabilny, jakkolwiek duża bariera energetyczna przemiany fazowej sprawia, iż jak często się mawia „diamenty są wieczne” – z punktu widzenia chemika, w warunkach normalnych nie ulegają samorzutnej transformacji do grafitu. Proces syntezy diamentu został odtworzony w warunkach laboratoryjnych po raz pierwszy w 1953 w laboratoriach ASEA przez A. Kampe i B. von Platena (którzy początkowo nie opublikowali swojego sukcesu) i w rok później w 1954 przez Howarda Tracy’ego Halla i współpracowników [21]. Od tej pory syntetyczne diamenty produkowane są na skalę przemysłową [20].

Trwałą w warunkach otoczenia, metastabilną odmianę tworzy także fosfor. Fosfor czarny, przypominający grafit i przewodzący prąd, został po raz pierwszy zsyntetyzowany przez Percy’ego Bridgmana w 1914 poprzez ogrzewanie białego fosforu w temperaturze 473 K pod ciśnieniem 1,2 GPa [22].

Nową krystaliczną fazę boru, powstającą powyżej 19 GPa, można także przechowywać w ciśnieniu atmosferycznym. Fascynuje ona swoją złożonością: tworzy częściowo jonową strukturę o budowie przypominającej NaCl, w której ikosaedry B_{12} i pary B_2 zajmują miejsce odpowiednio anionów i kationów [23].

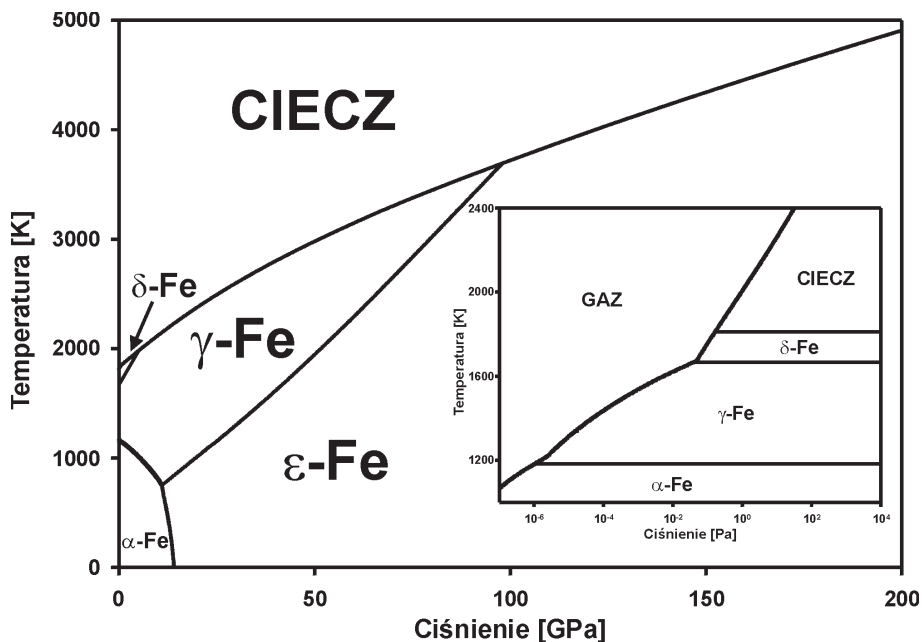
³ Termin alotropia, oznaczający zjawisko występowania odmian tego samego pierwiastka chemicznego różniących się właściwościami fizycznymi i chemicznymi, został wprowadzony przez Jönsa Jacoba Berzeliusa w 1841. Jakkolwiek wciąż stosowany w oficjalnych zaleceniach IUPAC, niektórzy uważają go za zbyt techniczny, mogący być zastąpiony określeniem „polimorfizm pierwiastków chemicznych” [18]

Wiele pierwiastków poddanych działaniu wysokiego ciśnienia wykazuje interesujące, zupełnie niespodziewane właściwości. Na przykład w jodzie pod ciśnieniem 21 GPa w temperaturze pokojowej zachodzi przemiana fazowa do struktury, w której zrównują się odległości wewnątrzcząsteczkowe i międzycząsteczkowe, a pierwiastek staje się metalem [24]. Tlen, znany powszechnie jako gazowy składnik powietrza, pod ciśnieniem powyżej 10 GPa staje się ciemnoczerwonym ciałem stałym zawierającym w swojej strukturze ośmioatomowe cząsteczki O_8 [25], a powyżej 96 GPa przekształca się w metal [26]. Sód, znany jako jeden z najaktywniejszych chemicznie metali, powyżej 200 GPa zamienia się w bezbarwny, przezroczysty izolator [27].

Zdarza się, że pod wysokim ciśnieniem odkrywano nowe fazy krystaliczne o zaskakująco skomplikowanej strukturze. Atomy większości metali w warunkach normalnych upakowują się w sposób, który realizuje zasadę najgęstszej upakowania kul w przestrzeni. W 1999 roku uczeni z Uniwersytetu w Edynburgu zarejestrowali obrazy dyfrakcyjne monokryształu dla nowo odkrytej fazy krystalicznej baru powstającej pod ciśnieniem przekraczającym 12,6 GPa [28]. Uwagę zwracały refleksy satelitarne, świadczące o modulacji struktury. Rzeczywiście, kryształ ten ma strukturę niewspółmiernie modulowaną przypominającą związek inkluzyjny, w której atomy pierwiastka tworzą zarówno sieć gospodarza, jak i gościa. Późniejsze badania dowiodły, że jest to zjawisko dość powszechne i podobne wysokociśnieniowe struktury modulowane odkryto dla strontu, skandiu, arsenu, antymonu i bizmutu [29].

Dzięki badaniom wysokociśnieniowym można wyznaczyć diagramy fazowe pierwiastków chemicznych (Rys. 4), pozwalające poznać ich właściwości fizykochemiczne i pomagające wyjaśnić zjawiska zachodzące w przyrodzie. Przeprowadzone niedawno pomiary doprowadziły do skorygowania dotychczasowych wartości temperatury na granicy pomiędzy wewnętrzną (stałą) a zewnętrzną (ciekłą) częścią jądra Ziemi [30].

Najintensywniej badany pod wysokim ciśnieniem jest pierwiastek najczęściej występujący we wszechświecie, czyli wodór. W 1935 roku Eugene P. Wigner wysunął hipotezę, że pod ciśnieniem 250000 atm dwuatomowe cząsteczki wodoru dysocjują a zestalony pierwiastek ulega przemianie w metal, o strukturze złożonej z sieci protonów i uwspólnionych elektronów [31]. Z biegiem lat szacunkowe wartości ciśnienia metalizacji wodoru rosły w miarę osiąganego ciśnienia w wykonywanych pomiarach. Udowodnienie hipotezy Wignera ma nie tylko znaczenie w planetologii (przewiduje się, że metaliczny wodór jest głównym składnikiem wnętrza Jowisza), ale może mieć także zastosowanie praktyczne. Gdyby wodór udało się utrzymać w postaci metalicznej w warunkach normalnych, to uzyskano by materiał będący nadprzewodnikiem w temperaturze pokojowej, metalem o najmniejszej gęstości, mogącym służyć także jako paliwo raketowe oraz w procesie fuzji termojądrowej [32]. Nic dziwnego, że metaliczny wodór, święty Graal wysokociśnieniowych badaczy, wzbudza ogromne emocje. Ostatnie sprzeczne doniesienia o otrzymaniu metalicznego wodoru [33, 34] stały się przedmiotem burzliwych sporów i zażartych dyskusji [35, 36].



Rysunek 4. Diagram fazowy żelaza. Literami greckimi oznaczono fazy krystaliczne; niewystępująca na wykresie faza β oznaczała niegdyś paramagnetyczną formę fazy α ; obecnie nie uważa się jej za odrębną fazę. Aby pokazać miejsce, w którym na wykresie występuje gazowe żelazo, ciśnienie odwzorowano w ramce w skali logarytmicznej.

Figure 4. The phase diagram of iron. The Greek letters stand for crystalline phases, phase β , which is absent on this diagram, regarded as a paramagnetic form of phase α , is not considered currently as a separate phase. To present the region of iron in the gas phase the logarithmic scale was used in the smaller diagram.

5. MATERIAŁY SUPERTWARDE

Przed opisem materiałów określanych jako *supertwarde* należałoby zastanowić się nad kwestiami o charakterze bardziej ogólnym. Czym jest właściwie twardość i jak można ją określić? Jakie są supertwarde materiały? Czym powinny się charakteryzować materiały supertwarde i jakie są metody ich syntezy oraz zastosowanie.

Definicja twardości jest dość ogólna i dla wielu raczej intuicyjna. Przez twardość rozumie się właściwość ciał stałych charakteryzującą ich odporność na działanie sił zewnętrznych. Efektem działania tych sił może być odkształcenie, zgniecenie lub zarysowanie powierzchni. Przez lata powstało wiele metod pomiarowych oraz skal twardości materiałów, a jedną z najbardziej znanych i rozpowszechnionych jest skala stworzona dla minerałów – skala Mohsa. Minerale są w niej ułożone według wzrastającej twardości zaczynając od miejsca pierwszego, na którym plasuje się talk (należący do grupy krzemianów warstwowych) do miejsca dziesiątego zajmowanego przez diament, najtwardszy znany materiał. Z kolei dla twardych metali jedną

z metod określania stopnia ich twardości jest metoda Vickersa [37]. W tej metodzie wykorzystuje się czworoboczny ostrosłup wykonany z diamentu, który jest wgniatany w powierzchnię badanego materiału. Wartość liczbowa twardości wyraża się w skali Vickersa, jako iloraz siły zastosowanej do wytworzenia odcisku i jego pola powierzchni. Zapis $300HV_{25/20}$ dla badanego materiału oznacza, że twardość wynosi 300 kilogramów-siły na milimetr kwadratowy (często przeliczana jest ona na MPa poprzez pomnożenie przez współczynnik 9,087), HV oznacza zastosowaną metodę pomiarową (twardość Vickersa), liczba 25 to zastosowana siła (wyrażona w kilogramach siły), natomiast ostatnia liczba oznacza czas wyrażony w sekundach przez jaki nacisk był wywierany na badaną próbkę. Innymi popularnymi skalami twardości są skala Rockwella, Brinella oraz Knoopa [38]. Zasady przeprowadzania testów twardości materiałów są znormalizowane, co ma na celu eliminację błędów wynikających z różnej metodyki przeprowadzania badania.

Materiał klasyfikowany jest jako supertwardy, jeśli jego twardość w skali Vickersa jest wyższa niż 40 GPa. Twardość diamentu wynosi średnio 115 GPa, a grafitu to zaledwie 0,07 GPa – możemy go ścierać pisząc ołówkiem po papierze. Przykład ten doskonale ilustruje jak istotny wpływ na właściwości mają oddziaływania atomów w strukturze. Istnieje możliwość zsyntetyzowania diamentu w warunkach laboratoryjnych [39]. Tak zwane „sztuczne diamenty” nie różnią się twardością od naturalnych i może być ona kontrolowana w zakresie od 70 GPa do 150 GPa poprzez „regulowanie” ich czystości oraz wprowadzanie do struktury na przykład atomów azotu. Mogłoby się zatem wydawać, iż diament jest idealnym supertwardym materiałem. Jednak jego zastosowanie na szerszą skalę w przemyśle oraz innych dziedzinach nauki i techniki ograniczają trudna dostępność, wysoka cena, spalanie (powyżej 900 °C), tworzenie węglików żelaza (co ogranicza jego wykorzystanie do urządzeń tnących w przemyśle stalowym). Drugim z najtwardszych materiałów, o twardości wynoszącej 76 GPa, jest heterodiament (c-BC₂N) [40], otrzymywany w warunkach wysokiej temperatury (grzanie laserowe, ok. 2100 K) oraz ciśnienia (około 10 GPa). Ma on strukturę krystaliczną zbliżoną do diamentu, lecz niektóre atomy węgla są zastąpione przez azot oraz bor. Jednak otrzymywanie na skalę przemysłową tego niedawno zsyntetyzowanego materiału nadal stanowi wyzwanie dla naukowców. Trzecim najtwardszym materiałem jest azotek boru należący do układu regularnego (c-BN) [41]; jego twardość wynosi 48 GPa. Został on otrzymany w 1957 roku, a ze względu na brak reaktywności z żelazem i innymi stopami metali znalazł szersze zastosowanie w przemyśle niż diament. Czysty azotek boru jest kryształem o lekko żółtawym zabarwieniu, a do jego syntezy również niezbędna jest wysoka temperatura i ciśnienie (powyżej 1300 K i 5 GPa). Naukowcy nadal poszukują nowych supertwardych materiałów, obecnie głównie wśród azotków węgla oraz boranów takich metali jak Os, Ru i Re. Wymienione przykłady są tylko skromną częścią zbadanych substancji.

Najtwardszym stopem metali jest martenzyt. Ta struktura krystaliczna powstająca w hartowanych stopach stali Fe-C posiada twardość około 9,8 GPa. Ze względu na kruchość martenzytu stosuje się tzw. odpuszczanie. Pożądane właściwości stali

uzyskuje się dodając pierwiastki stopowe, takie jak chrom, nikiel, mangan, wolfram, miedź, molibden czy tytan. Odpuszczanie i dodatki powodują zazwyczaj spadek twardości poniżej 2 GPa.

Supertwarde materiały oprócz nadzwyczaj dużej twardości, powinny charakteryzować się obojętnością chemiczną oraz odpornością na obciążenia mechaniczne i cieplne. Synteza nowoczesnych supertwardych materiałów [42] zmierza głównie do otrzymania struktur zbliżonych do tej występującej w diamentcie, lecz zmodyfikowanej o różne atomy pierwiastków, którymi najczęściej są bor oraz azot. Synteza supertwardych materiałów przebiega najczęściej z zastosowaniem wysokiej temperatury i ciśnienia, stąd też rozwój technologii pozwalających osiągać najwyższe wartości ciśnienia i temperatury coraz mniejszym kosztem oraz na coraz większą skalę jest niezwykle istotny.

6. BIOPOLIMERY POD WYSOKIM CIŚNIENIEM

Dokładnie sto lat temu Percy Bridgman zaobserwował, że w temperaturze pokojowej ciśnienie kilku tysięcy atmosfer powoduje przemianę białka jaja kurzego do postaci przypominającej ugotowanie go na twardo [43]. Od tego czasu przeprowadzono szereg wysokociśnieniowych badań biomakromolekuł – białek i kwasów nukleinowych, stosując różnorodne techniki analityczne, chociaż badań dyfrakcyjnych wykonano niewiele ze względu na niedopracowanie techniki laboratoryjnej. Pierwszy raz dyfrakcję na kryształach białka pod ciśnieniem (lizozym białka jaja kurzego w 100 MPa) zarejestrowano w roku 1986 umieszczając próbkę w komorze wykonanej z berylu, co ograniczyło zarówno zakres jak i rozdzielczość pomiaru [44, 45]. Kolejnym istotnym krokiem były pierwsze pomiary dyfrakcji białek pod wysokim ciśnieniem w komorze z kowadłami diamentowymi z użyciem promieniowania synchrotronowego [46]. Zebrane dane pozwoliły na wyznaczenie zmian parametrów sieci w funkcji ciśnienia. Pierwszego udokładnienia struktury dla kryształu białka w komorze diamentowej dokonano w roku 2001 dla pomiarów z użyciem promieniowania synchrotronowego [47]. Następnie zastąpiono dyski berylowe stalowymi podporami diamentów, udoskonalono procedurę ładowania komory, zwiększono liczbę rejestrowanych refleksów przechylając kryształ w komorze oraz umieszczając kilka kryształów w komorze jednocześnie [48]. Pozwoliło to zwiększyć kompletność i rozdzielczość danych oraz polepszyć stosunek sygnału do szumu.

Udoskonalona technika pomiarowa zwiększyła precyzję, umożliwiając badanie funkcji i struktury makromolekuł biologicznych pod wysokim ciśnieniem. Między innymi wyjaśniono mechanizm ciśnieniowej denaturacji mutantu L99A lizozymu T4. Białko to zawiera w swojej strukturze luki, ze wzrostem ciśnienia wypełniające się stopniowo wodą, która wnikając do wnętrza makromolekuły powoduje jej częściowe rozwijanie [49]. Sporym osiągnięciem było też śledzenie przemian strukturalnych zachodzących ze wzrostem ciśnienia w kompleksie makromolekularnym – kapsydie wirusa mozaiki wspanięgi chińskiej [50]. Kolejnym interesującym wyni-

kiem jest odkrycie zaskakującej trwałości nukleotydów, które pod wysokim ciśnieniem zachowują się jak sprężyny molekularne utrzymując komplementarne łączenie się w pary zasad Watsona-Cricka do 2 GPa [51]. Zdolność adaptacji kwasów nukleinowych do warunków ekstremalnych mogła odgrywać ważną rolę podczas początkowych etapów powstawania życia na Ziemi.

Warto dodać, że oprócz wysokociśnieniowych badań białek *in situ*, podczas których kryształ znajduje się w stanie równowagi termodynamicznej otoczony przez roztwór macierzysty, wysokie ciśnienia stosowane są również do przygotowywania kryształów do rutynowych dyfraktometrycznych badań białek. W metodzie ciśnieniowego chłodzenia kriogenicznego, kryształ poddawany jest ciśnieniu około 200 MPa gazowego helu i gwałtownie schładzany ciekłym azotem, a następnie w ciśnieniu atmosferycznym i w niskiej temperaturze przeprowadzany jest pomiar dyfraktometryczny [52–54]. Takie przygotowanie próbki pozytywnie wpływa na jakość monokryształów i ogranicza nieporządek w ich strukturze.

7. MATERIAŁY POROWATE I ZEOLITY

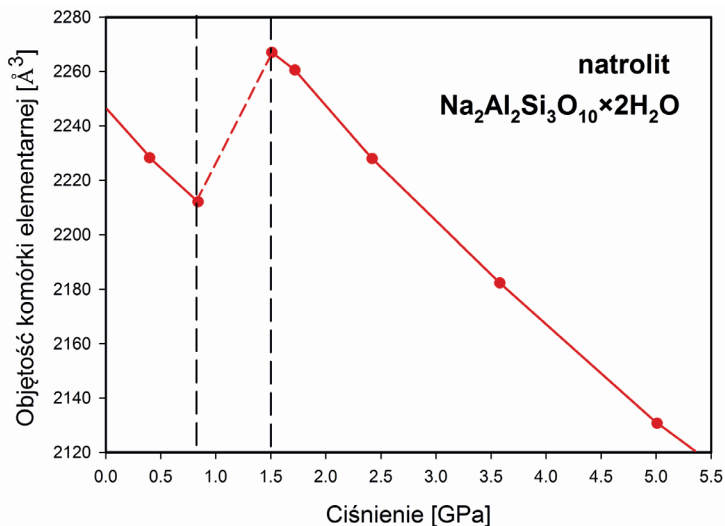
Cechą wyróżniającą materiały porowate jest obecność w ich strukturze wolnych przestrzeni i kanałów. W warunkach normalnych luki te wypełnione są zazwyczaj, zależnie od otoczenia, substancjami małowcząsteczkowymi.

Zeolity, czyli glinokrzemiany pochodzenia naturalnego lub syntetycznego, stanowią klasę materiałów mikroporowatych, w których średnica porów nie przekracza 20 Å. Materiały te zbudowane są z połączonych narożami tetraedrycznych podjednostek SiO_4 - AlO_4 - PO_4 , tworzących trójwymiarowe struktury przestrzenne zdolne do sorpcji cząsteczek wody wewnątrz porów [55]. Zeolity o wzorze ogólnym $(\text{Li}, \text{Na}, \text{K})_x(\text{Mg}, \text{Ca}, \text{Sr}, \text{Ba})_y[\text{Al}_{(x+2y)}\text{Si}_{n-(x+2y)}\text{O}_{2n}] \cdot m\text{H}_2\text{O}$ (gdzie m jest zazwyczaj mniejsze od n) posiadają zatem zdolność do tworzenia związków inkluzyjnych, co z kolei wykorzystywane jest na skalę przemysłową (katalizatory reakcji chemicznych, sita molekularne itp.).

Ścisłość materiałów porowatych, zeolitów pochodzenia naturalnego oraz syntetycznych trójwymiarowych sieci polimerów koordynacyjnych (ang. Metal Organic Framework: MOF), w wielu przypadkach różni się znacznie od ścisłości dotychczas zbadanych substancji krystalicznych, zarówno organicznych jak i nieorganicznych. Rentgenograficzne i neutronograficzne badania wysokociśnieniowe monokryształów i próbek polikrystalicznych zeolitów, umieszczonych wewnątrz komory wysokociśnieniowej DAC, dostarczają cennej informacji na temat właściwości fizykochemicznych tej klasy związków [56–60].

Ze względu na strukturę porowatą i tendencję do tworzenia związków inkluzyjnych z substancjami małowcząsteczkowymi, w strukturalnych badaniach wysokociśnieniowych istotny okazał się wybór medium hydrostatycznego przenoszącego ciśnienie wewnątrz komory DAC. Zauważono, że mieszaniny substancji małowcząsteczkowych, takich jak metanol, etanol i woda są zdolne do zajmowania wolnych

przestrzeni wewnątrz zeolitu. W wyniku wymuszonego ciśnieniem transportu cząsteczek cieczy, po zwiększeniu ciśnienia objętość materiału rośnie. Taką zależność zaobserwowano chociażby w natrolicie (Rys. 5), naturalnym glinokrzemianie sodu [55]. Wzrost objętości o 2,5% jest bezpośrednio związany z podwojeniem liczby cząsteczek wody w kanałach zeolitu przy zmianie ciśnienia od 0,8 do 1,5 GPa [56]. Przy zastosowaniu medium hydrostatycznego o cząsteczkach większych niż średnica porów zeolitu (oleje silikonowe, fluorinert), jego ściśliwość zależna jest od budowy struktury zeolitu.



Rysunek 5. Zmiana objętości komórki elementarnej natrolitu, $\text{Na}_2\text{Al}_2\text{Si}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, w funkcji ciśnienia. Wzrost objętości w zakresie od 0,84 do 1,51 GPa jest wynikiem wypełniania wolnych luk zeolitu cząsteczkami wody [55]

Figure 5. The volume change of natrolite, $\text{Na}_2\text{Al}_2\text{Si}_3\text{O}_{10}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, as a function of pressure. The volume increase in the range from 0,84 to 1,51 GPa is due to filling the voids in zeolite being filled with water molecules [55]

Ze względu na morfologię oraz powtarzające się motywy strukturalne i skład, wyróżnia się kilka grup glinokrzemianów pochodzenia naturalnego. Są to między innymi: zeolity włókniste (natrolit, skolecyt); płytkowe (heulandyt); oraz kostkowe (gismondyt, filipsyt). Mechanizm ściskania komórki elementarnej zeolitu, związany z deformacjami w obrębie podjednostek strukturalnych, jest zatem swoisty dla danej grupy zeolitów oraz nie zależy bezpośrednio od wielkości porów. Co więcej, w warunkach hydrostatycznych i przy zastosowaniu medium stałego (bromku potasu) niektóre materiały takie jak skolecyt czy mezolit ulegają częściowej amorfizacji, potwierdzonej zmianą intensywności refleksów w proszkowych badaniach rentgenograficznych oraz zanikiem pasm w widmie Ramana [56]. Obecnie badane są wysokociśnieniowe właściwości syntetycznych zeolitów organicznych i metalo-organicznych.

PODSUMOWANIE

Przedstawione przykłady stanowią niewielki tylko zakres możliwych zastosowań dyfraktometrycznych badań wysokociśnieniowych. Co roku wykonywanych jest coraz więcej takich badań. W Polsce pierwszą wysokociśnieniowo badaną strukturę kryształu określono na przełomie lat osiemdziesiątych i dziewięćdziesiątych XX wieku, a obecnie istnieje już kilka ośrodków badawczych wyposażonych w komory diamentowe. Wielu badaczy korzysta z aparatury wysokociśnieniowej dostępnej w ośrodkach badań synchrotronowych i neutronograficznych. Stale udoskonalana jest technika badań i wzrasta dokładność wyznaczania parametrów strukturalnych. Ciekawe, czy rozwój ten spowoduje, że w przyszłości badania wysokociśnieniowe będą podobnie powszechne jak badania w funkcji temperatury. Przecież ciśnienie jest podstawowym parametrem termodynamicznym najefektywniej zmieniającym strukturę substancji!

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Katrusiak, P.F. McMillan, *High-Pressure Crystallography*, Kluwer, Dordrecht, 2004.
- [2] A. Katrusiak, *Acta Crystallogr. A*, 2008, **64**, 135.
- [3] G.J. Piermarini, S. Block, J.D. Barnett, R.A. Forman, *J. Appl. Phys.*, 1975, **46**, 2774.
- [4] L. Merrill, W.A. Bassett, *Rev. Sci. Instrum.*, 1974, **45**, 290.
- [5] L. Dubrovinsky, N. Dubrovinskaia, V.B. Prakapenka, A.M. Abakumov, *Nature Communications*, 2012, **3**, art. no. 1163.
- [6] J. Bernstein, *Polymorphism of Organic Compounds*, Clarendon Press, Oxford, 2002.
- [7] E. Patyk, J. Skumiel, M. Podsiadło, A. Katrusiak, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, **51**, 2146.
- [8] A. Olejniczak, A. Katrusiak, M. Szafranski, *Cryst. Growth Des.*, 2010, **10**, 3537.
- [9] A. Olejniczak, M. Anioła, M. Szafranski, A. Budzianowski, A. Katrusiak, *Cryst. Growth Des.*, 2013, **13**, 2872.
- [10] Y.A. Dyadin, E.Ya. Aladko, E.G. Larinov, *Mendeleev Comm.*, 1997, **1**, 1.
- [11] I.-M. Chou, A. Sharma, R.C. Burruss, J. Shu, H. Mao, R.J. Hemley, A.F. Grocharov, L.A. Stern, S.H. Kirby, *PNAS*, 2000, **97**, 13484.
- [12] H. Hirai, T. Kondo, M. Hasegawa, T. Yagi, Y. Yamamoto, T. Komai, K. Nagashima, M. Sakashita, H. Fujihisa, K. Aoki, *J. Phys. Chem. B*, 2000, **104**, 1429.
- [13] Z. Yang, H. Li, H. Huang, X. Zhou, J. Li, F. Nie, *Propellants Explos. Pyrotech.*, 2013, **38**, 495.
- [14] H. Tomkowiak, A. Olejniczak, A. Katrusiak, *Cryst. Growth Des.*, 2013, **13**, 121.
- [15] A. Olejniczak, A. Katrusiak, *CrystEngComm*, 2010, **12**, 2528.
- [16] A. Olejniczak, A. Katrusiak, *Cryst. Growth Des.*, 2011, **11**, 2250.
- [17] A. Olejniczak, A. Katrusiak, *J. Phys. Chem. B*, 2008, **112**, 7183.
- [18] W. B. Jensen, *J. Chem. Educ.*, 2006, **83**, 838.
- [19] A.-L. Lavoisier, *Histoire de l'Académie Royale des Sciences*, 1772, pp. 564, 591.
- [20] R.M. Hazen, *The diamond makers*, Cambridge University Press, Cambridge 1999.
- [21] F.P. Bundy, H.T. Hall, H.M. Strong, R.H. Wentorf Jun., *Nature*, 1955, **176**, 51.
- [22] P.W. Bridgman, *J. Am. Chem. Soc.*, 1914, **36**, 1344.
- [23] A.R. Oganov, J. Chen, C. Gatti, Y. Ma, Y. Ma, C.W. Glass, Z. Liu, T. Yu, O.O. Kurakevych, V.L. Solozhenko, *Nature*, 2009, **457**, 863.
- [24] K. Takemura, S. Minomura, O. Shimomura, Y. Fujii, *Phys. Rev. Lett.*, 1980, **45**, 1881.

- [25] L.F. Lundegaard, G. Weck, M.I. McMahon, S. Desgreniers, P. Loubeyre, *Nature*, 2006, **443**, 201.
- [26] Y. Akahama, H. Kawamura, D. Häusermann, M. Hanfland, O. Shimomura, *Phys. Rev. Lett.*, 1995, **74**, 4690.
- [27] Y. Ma, M. Eremets, A.R. Oganov, Y. Xie, I. Trojan, S. Medvedev, A.O. Lyakhov, M. Valle, V. Prakapenka, *Nature*, 2009, **458**, 182.
- [28] R.J. Nelmes, D.R. Allan, M.I. McMahon, S.A. Belmonte, *Phys. Rev. Lett.*, 1999, **83**, 4081.
- [29] M.I. McMahon, R.J. Nelmes, *Chem. Soc. Rev.*, 2006, **35**, 943.
- [30] S. Anzellini, A. Dewaele, M. Mézouar, P. Loubeyre, G. Morard, *Science*, 2013, **340**, 464.
- [31] E. Wigner, H.B. Huntington, *J. Chem. Phys.*, 1935, **3**, 764.
- [32] W.J. Nellis, *Świat Nauki*, sierpień 2000, 24.
- [33] M.I. Eremets, I.A. Troyan, *Nature Mater.*, 2011, **10**, 927.
- [34] R.T. Howie, C.L. Guillaume, T. Scheler, A.F. Goncharov, E. Gregoryanz, *Phys. Rev. Lett.*, 2012, **108**, 125501.
- [35] A.J. Jephcoat, *Nature Mater.*, 2011, **10**, 904.
- [36] I. Amato, *Nature*, 2012, **486**, 175.
- [37] R.L. Smith, G.E. Sandland, *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers*, 1922, **I**, 623.
- [38] D. Tabor, *The Hardness of Metals*, Oxford University Press, 2000.
- [39] H. Liander, *ASEA Journal*, 1955, **28**, 97.
- [40] V.L. Solozhenko, D. Andreaut, D. Fiuet, M. Mezouar, D.C. Rubie, *Applied Physics Letters*, 2001, **78**, 1385.
- [41] L. Vel, G. Demazeau, J. Etourneau, *Materials Science and Engineering*, 1991, **B10**, 149.
- [42] V. Solozhenko, E. Gregoryanz, *Materials Today*, 2005, **8**, 44.
- [43] P.W. Bridgman, *J. Biol. Chem.*, 1914, **19**, 511.
- [44] C.E. Kundrot, F.M. Richards, *J. Appl. Cryst.*, 1986, **19**, 208.
- [45] C.E. Kundrot, F.M. Richards, *J. Mol. Biol.*, 1987, **193**, 157.
- [46] A. Katrusiak, Z. Dauter, *Acta Crystallogr. D*, 1996, **52**, 607.
- [47] R. Fourme, R. Kahn, M. Mézouar, E. Girard, C. Hoerentrup, T. Prangé, I. Ascone, *J. Synchrotron Rad.*, 2001, **8**, 1149.
- [48] E. Girard, A.-C. Dhaussy, B. Couzinet, J.-C. Chervin, M. Mézouar, R. Kahn, I. Ascone, R. Fourme, *J. Appl. Cryst.*, 2007, **40**, 912.
- [49] M.D. Collins, G. Hummer, M.L. Quillin, B.W. Matthews, S.M. Gruner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, **102**, 16668.
- [50] E. Girard, T. Prangé, A.-C. Dhaussy, E. Migianu-Griffoni, M. Lecouvey, J.-C. Chervin, M. Mézouar, R. Kahn, R. Fourme, *Nucl. Acids Res.*, 2007, **35**, 4800.
- [51] E. Girard, R. Kahn, M. Mézouar, A.-C. Dhaussy, T. Lin, J.E. Johnson, R. Fourme, *Biophys. J.*, 2005, **88**, 3562.
- [52] C.U. Kim, R. Kapfer, S.M. Gruner, *Acta Crystallogr. D*, 2005, **61**, 881.
- [53] B. Barstow, N. Ando, C.U. Kim, S.M. Gruner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008, **105**, 13362.
- [54] M.D. Collins, C.U. Kim, S.M. Gruner, *Annu. Rev. Biophys.*, 2011, **40**, 81.
- [55] Y. Lee, J.A. Hriljac, T. Vogt, J.B. Parise, G. Artioli, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 12732.
- [56] Y. Lee, T. Vogt, J.A. Hriljac, J.B. Parise, G. Artioli, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 5466.
- [57] Y. Lee, T. Vogt, J.A. Hriljac, J.B. Parise, J.C. Hanson, S.J. Kim, *Nature*, 2002, **420**, 485.
- [58] M. Colligan, P.M. Forster, A.K. Cheetham, Y. Lee, T. Vogt, J.A. Hriljac, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 12015.
- [59] M. Colligan, Y. Lee, T. Vogt, A.J. Celestian, J.B. Parise, W.G. Marshall, J.A. Hriljac, *J. Phys. Chem. B*, 2005, **109**, 18223.
- [60] G. D. Gatta, *Z. Kristallogr.*, 2008, **223**, 160.

NOWE METODY W BADANIACH STRUKTUR POLIKRYSTAŁÓW

NEW METHODS IN INVESTIGATIONS OF POLYCRYSTALLINE MATERIALS

Wiesław Łasocha^{1,2}, Katarzyna Luberda-Durnaś²

¹ Zakład Krystalochemii i Krystalofizyki, Wydział Chemii Uniwersytet Jagielloński
ul. Ingardena 3, 30-060 Kraków

² Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. J. Habera, Polska Akademia Nauk
ul. Niezapominajek 8, 30-239 Kraków
e-mail: lasocha@chemia.uj.edu.pl

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Geometria dyfrakcji promieni rentgenowskich na ciałach krystalicznych w ujęciu Ewalda. Relacja pomiędzy strukturą krystaliczną a obrazem dyfrakcyjnym
 2. Źródła promieni rentgenowskich
 - 2.1. Aparatura stosowana w badaniach polikrystałów
 3. Dyfraktometria proszkowa a badanie przejść fazowych i reakcji w ciałach stałych
 4. Analiza fazowa
 5. Wyznaczanie parametrów sieciowych
 6. Uściślanie struktur metodą Rietvelda
 7. Tworzenie modeli struktur krystalicznych – metody klasyczne
 - 7.1. Metody dedykowane do badań strukturalnych polikrystałów
 - 7.2. Metody eksperymentalne i obliczeniowe separacji intensywności
 - 7.3. Metody globalnej optymalizacji
 8. Opis oprogramowania i krystalograficznych baz danych
- Piśmiennictwo cytowane
-



Katarzyna Luberda-Durnaś w 2009 roku ukończyła studia na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej Akademii Górniczo Hutniczej, specjalność Fizyka Medyczna. Praca magisterska dotyczyła badania nanorurek węglowych. W tym samym roku rozpoczęła studia doktoranckie w Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera PAN, gdzie pod kierunkiem prof. Wiesława Łasochy zajmowała się badaniem organiczno- nieorganicznych związków hybrydowych. W 2013 obroniła pracę doktorską pt. „Hybrid organic-

inorganic layered materials, precursors of semiconducting nanostructures”. W kręgu jej głównych zainteresowań naukowych pozostaje badanie nanostuktur przy użyciu metod proszkowej dyfrakcji rentgenowskiej.



Prof. hab. Wiesław Łasocha w 1986 ukończył studia doktoranckie na Wydziale Chemii UJ, tytuł pracy doktorskiej: „Studia nad powstawaniem i budową wybranych isopolimolibdenianów”. W roku 1996, również na Wydziale Chemii UJ, uzyskał tytuł doktora habilitowanego. Praca habilitacyjna dotyczyła zastosowanie nowych metod rentgenowskiej dyfraktometrii proszkowej w badaniach włóknistych molibdenianów oraz wybranych halogenkowych połączeń metali. W roku 2007 został mianowany Profesorem Nadzwyczajnym.

W kręgu jego głównych zainteresowań naukowych znajdują się: badania strukturalne na bazie proszkowych danych dyfrakcyjnych, synteza nowych związków włóknistych i materiałów warstwowych, synteza nowych izopolizwiazków amin alifatycznych i aromatycznych oraz nowych związków z grupy peroksolimolibdenianów, peroksowolframnianów i peroksowanadanów.

ABSTRACT

In this chapter, information on good laboratory practice in the field of structural powder diffractometry has been collected. The authors attempt to describe how to plan a measurement, how to find the cell parameters, how to build a model of the structure, and how to refine and verify it. There are many methods and procedures which lead to solving a crystal structure. However, the experience of recent years shows that, in the case of many materials, an investigator has to attempt the problem of structure solution using many different methods. The software is easily available (from 'trial and error' or classic to sophisticated modern approaches), as is a lot of good equipment. On the other hand, the complexity of the structures studied using powder diffraction methods is continually increasing.

No description of any methods of research other than diffraction techniques is presented. We have also focused on polycrystalline materials. Amorphous substances and methods using the formalism of 'pair distribution functions' are beyond the scope of this paper.

New methods of structural studies (including algorithms from research described in the literature, even if their applicability has been relatively slight) were treated with particular attention.

In addition to the description of methods, we also collected some useful (in our opinion) information about available software and crystallographic databases.

Keywords: powder diffractometry, indexing of diffraction patterns, powder diffraction pattern decomposition, structure refinement using the Rietveld method, new methods of structural studies

Słowa kluczowe: dyfraktometria proszkowa, wskaźnikowanie obrazów dyfrakcyjnych, rozkład obrazu dyfrakcyjnego na intensywności, uściślanie struktur metodą Rietvelda, nowe metody badań strukturalnych

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

Nazwy programów pisane są przy użyciu dużych liter, np. TREOR, XRS-82

Wyznaczanie parametrów sieciowych:

- $a, b, c, \alpha, \beta, \gamma$ – parametry sieci rzeczywistej
 $a^*, b^*, c^*, \alpha^*, \beta^*, \gamma^*$ – parametry sieci odwrotnej określone są przez periody sieci rzeczywistej:

$$a^* = \frac{b \times c}{a \circ [b \times c]}, \quad b^* = \frac{c \times a}{a \circ [b \times c]}, \quad c^* = \frac{a \times b}{a \circ [b \times c]}, \quad \cos \alpha^* = \frac{\cos \beta \cos \gamma - \cos \alpha}{\sin \beta \sin \gamma},$$

$$\cos \beta^* = \frac{\cos \alpha \cos \gamma - \cos \beta}{\sin \alpha \sin \gamma}, \quad \cos \gamma^* = \frac{\cos \beta \cos \alpha - \cos \gamma}{\sin \beta \sin \alpha}, \quad V = a \circ [b \times c]$$

gdzie \circ – iloczyn skalarny, \times – iloczyn wektorowy

- d_{hkl} – odległość międzypłaszczyznowa dla rodziny płaszczyzn hkl
 λ – długość fali promieniowania
 F_N i M_N – ‘figure of merit’, czynniki jakości dopasowania parametrów sieciowych obliczone dla N początkowych linii

$$F_N = \frac{N}{\langle \Delta 2\theta \rangle N_{obs}}, \quad M_{20} = \frac{Q_{20}}{2 \langle Q \rangle}, \quad Q = 1/d^2, \quad \langle \Delta 2\theta \rangle \text{ i } \langle Q \rangle \text{ to średnie wielkości}$$

różnic kątów 2θ i wielkości Q , N_{obs} to liczba teoretycznie możliwych linii o $d \geq d_N$

Badania strukturalne:

- F_{hkl} – czynnik struktury, czasem oznaczany $F(h)$. Bez względu na wartość $|F|$ jest równa stosunkowi amplitudy promieniowania rozproszonego przez komórkę elementarną do amplitudy rozproszonego przez pojedynczy elektron. $F(h) = |F(h)| e^{i\varphi(H)}$
 $\phi(H), \phi_H$ – faza refleksu, wskaźniki Millera zapisane skrótowo, H oznacza (hkl)
 I_{hkl} – intensywność linii dyfrakcyjnej o wskaźnikach hkl

- $R_F = \frac{\sum_i \|F_i\| - |F_{c,i}|}{\sum_i F_i}$ – czynnik rozbieżności ‘amplitud struktury’, $F_i, F_{i,c}$ to obserwowane i obliczone wartości czynników struktury

- $R_p = \frac{\sum_i |y_i - y_{c,i}|}{\sum_i y_i}$ – czynnik rozbieżności obliczany dla wszystkich punktów obrazu dyfrakcyjnego (profilu dyfrakcyjnego), y_i i $y_{i,c}$ to obserwowana i obliczona liczba zliczeń
- $R_{wp} = \left(\frac{\sum_i w_i (y_i - y_{c,i})^2}{\sum_i w_i y_i^2} \right)^{1/2}$ – ważony czynnik rozbieżności profilu, w_i – to waga punktu pomiarowego; $w_i = 1/y_i$
- $\rho(xyz)$ – gęstość elektronowa w punkcie (x,y,z)
- Tryplet – trzy refleksy tworzą tzw. tryplet H,K,H+K gdy ich wskaźniki Millera spełniają relację $H(h_1, k_1, l_1)$, $K(h_2, k_2, l_2)$, $H+K(h_1+h_2, k_1+k_2, l_1+l_2)$. Odpowiadają one trzem wektorom w sieci odwrotnej tworzącym trójkąt. Przykłady trypletów to: (004)(30-4)(300); (204)(10-4)(300); – uwaga jeden refleks, np. (300) może brać udział w wielu relacjach trypletowych

Metoda Rietvelda:

- Wielkość minimalizowana: $S_y = \sum_i w_i (y_i - y_{c,i})^2$
- w_i – waga i -tego punktu pomiarowego, najczęściej $w_i = 1/\sigma = 1/\sqrt{y_i}$ lub $w_i = 1/y_i$
- $y_i, y_{c,i}$ – obserwowana i obliczona liczba w i -tym punkcie pomiarowym
- $y_{c,i}$ – $s \sum_k l_p m_k |F_k|^2 f(2\theta_i - 2\theta_k) T_k A + y_{b,i}$
- s – czynnik skali
- l_p – czynnik Lorentza-polaryzacyjny
- m_k – krotność refleksu k , dającego wkład do intensywności punktu i
- $|F_k|$ – czynnik struktury refleksu k ,

$$F(hkl) = \sum_{j=1}^N f_j \exp[2\pi i(hx_j + ky_j + lz_j)].$$
 Sumowanie prowadzimy po wszystkich N atomach w komórce elementarnej
- f_j – atomowy czynnik rozpraszania
- $f(2\theta_i - 2\theta_k)$ – funkcja opisująca profil danej linii dyfrakcyjnej, najczęściej krzywa Gaussa, Lorentza, spłot lub kombinacja liniowa obu tych funkcji, udział funkcji Gaussa: $(1-\eta)$,
- $2\theta_k$ – pozycja refleksu k , zależy ona od parametrów sieciowych oraz przesunięcia zera skali kątowej,

T_k	– funkcja opisująca zmianę intensywności linii k z powodu tekstury w próbce
A	– funkcja opisująca absorpcję promieni X w preparacie
$Y_{b,i}$	– natężenie tła (background) w i -tym punkcie pomiarowym
FWHM	– szerokość połówkowa linii dyfrakcyjnej (<i>full width at half maximum</i>)

WPROWADZENIE

Celem tego rozdziału będzie omówienie nowych metod badania struktur krystalicznych substancji polikrystalicznych z wykorzystaniem dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego. W pierwszym etapie przeanalizowana zostanie ogólna strategia postępowania związana z optymalizacją warunków pomiarowych. W kolejnym, dokładne przetestowanie czystości preparatu, co w dyfrakcji rentgenowskiej realizuje się poprzez użycie metod analizy fazowej. Następnie zostanie przedyskutowane poprawne wyznaczenie parametrów sieciowych, wybór właściwej grupy przestrzennej i metody znalezienia modelu struktury. Ostatecznie, omówiony zostanie sposób weryfikacji znalezionej struktury przy użyciu metody Rietvelda. Wszystkie wyżej wyszczególnione etapy badań są treścią kolejnych podrozdziałów. W tym miejscu, należy podkreślić, że głównym zamierzeniem autorów było przybliżenie czytelnikowi metod badań strukturalnych substancji polikrystalicznych.

Dyfrakcja proszkowa, jako technika badawcza, pojawia się zaledwie cztery lata po pierwszych eksperymentach potwierdzających dyfrakcję promieni X na monokryształach. Już w roku 1916 zostają opisane pierwsze badania z użyciem preparatów polikrystalicznych – dotyczyły one struktury krystalicznej LiH [1]. Tak oto rozpoczyna się niezwykła historia „brzydkiego kaczątka” krystalografii rentgenowskiej.

W większości materiałów występują bardzo drobne ziarna krystaliczne, często zbyt małe (~0,1–100 μm), aby ich kształt, oraz piękno, dostrzec gołym okiem. Ponadto, zazwyczaj są one pozlepiane, słabo wykształcone i chaotycznie zorientowane w przestrzeni, co dodatkowo utrudnia ich badania. Materiały takie określamy jako materiały polikrystaliczne, czasem mniej ściśle nazywamy je proszkami. Typowe materiały polikrystaliczne to: minerały, materiały budowlane, naturalne pigmenty, metale oraz produkty ich korozji, muszle, skorupy, kamień kotłowy i wiele innych.

Preparat polikrystaliczny umieszczony w wiązce monochromatycznego promieniowania rentgenowskiego tworzy proszkowy obraz dyfrakcyjny (dyfraktogram). Już dawno zauważono unikalny charakter dyfraktogramów proszkowych, dzięki czemu są one z powodzeniem stosowane w charakterze „odcisku palca” substancji. Zastosowania dotyczące analizy fazowej zostaną omówione szerzej w Rozdz. 4.

Eksperymenty dyfrakcyjne mogą być prowadzone dla różnych typów promieniowania, możemy zatem przeprowadzać i analizować ‘proszkowe obrazy dyfrakcyjne’ uzyskane przy użyciu rentgenowskiej, neutronowej czy elektronowej wiązki promieniowania. Jednakże w tym rozdziale będziemy zajmować się głównie rentgenowskimi obrazami dyfrakcyjnymi.

Już w latach 20. XX wieku opracowano podstawy wyznaczania parametrów sieciowych, na bazie proszkowych obrazów dyfrakcyjnych. Wraz z upowszechnieniem się dyfraktometrów ogniskujących, para-ogniskujących oraz kamer ogniskujących, dyfraktometria proszkowa bardzo często służyła jako metoda wyznaczania dokładnych parametrów sieciowych. W badaniach polikryształów parametry sieciowe to nie tylko etap wstępny do rozwiązania struktury. Mogą one zostać również wykorzystane do celów identyfikacyjnych, jako potwierdzenie zajścia reakcji chemicznej,

czy też mogą wskazywać na określony skład chemiczny. Wyznaczanie parametrów sieciowych jest tematem Rozdz. 5.

Ponieważ w badaniach proszkowych badamy tysiące krystalitów, nie istnieją obawy o pęknięcie czy odklejenie ‘badanego monokryształu’. Tym samym dyfraktometria proszkowa stała się techniką ‘wymarzoną’ do badań przemian fazowych, reakcji w ciele stałym, czy badań określanych jako prowadzone w warunkach ‘in operando’. Zagadnienia te zostaną krótko omówione w Rozdz. 3.

Pomimo olbrzymich sukcesów dyfraktometrii monokryształów odnotowanych do końca lat 60. XX wieku, proszkowe badania strukturalne były prowadzone sporadycznie, a prowadzący je badacze ‘proszkowe obrazy dyfrakcyjne’ traktowali identycznie jak obrazy monokryształów (mieli znacznie mniej linii dyfrakcyjnych niż w typowych badaniach monokryształów i byli tego świadomi). W końcu lat 60. pojawia się pomysł H.M. Rietvelda by w udokładnianiu struktur używać całych obrazów dyfrakcyjnych. W istocie, zerowa intensywność czy też wartość sumy nakładających się refleksów, też może być pomocna, przy braku lepszych informacji strukturalnych. Zachowamy chronologię historyczną i metodę Rietvelda, udokładniania struktur, omówimy w Rozdz. 6 przed metodami wyznaczania struktur z danych proszkowych. Znaczenie metody Rietvelda dla dyfraktometrii proszkowej, oraz częstość jej użycia wyłącznie dla celów analizy fazowej, uzasadnia to szczególne, nie chronologiczne, jej traktowanie.

Metoda Rietvelda otworzyła możliwości rozwoju, jednakże jeszcze długo można było powiedzieć, iż strukturalna dyfraktometria proszkowa jest na poziomie badań strukturalnych monokryształów z czasów przed pojawieniem się metod bezpośrednich i przed wprowadzeniem komputerów do badań strukturalnych.

Znaczący postęp w proszkowych badaniach strukturalnych obserwowany jest od końca lat 70. Końcówka XX wieku to znaczny, wprost lawinowy, wzrost liczby prac strukturalnych oraz metod badawczych. Wiele z nich miało charakter „małych kroków”, przyczynków w rozwoju metody, ale nie jest i prawdopodobnie nie będzie szerzej stosowana. Wspomnimy o nich gdyż w przyszłości mogą być inspiracją dla rozwoju nowych technik badawczych dla badań nowoczesnych, nietypowych materiałów (Rozdz. 7.1–7.2).

W chwili obecnej dobrej jakości ‘proszkowe badania strukturalne odpowiadają złożonością najczęściej badanym monokryształom. Złożoność określamy przez liczbę atomów w części asymetrycznej – jest to około 30 atomów niewodorowych. Największa struktura wyznaczona z danych proszkowych zawiera 117 atomów w części asymetrycznej [2]. Przy pomocy metod dyfrakcji proszkowej podejmowane są badania materiałów białkowych, opublikowano wyniki uściślenia metodą Rietvelda struktury o złożoności 1630 atomów (Rozdz. 6).

Obecnie pełny cykl badań strukturalnych może się zamknąć w ciągu kilku godzin. Niektórzy niecierpliwi badacze podejmują zatem proszkowe badania strukturalne czekając w kolejkach do badań monokryształów, lub oczekując na wyniki konkursów w ośrodkach synchrotronowych. Jest to uzasadnione tym bardziej, że wiele zeolitów, czy np. nadprzewodników wysokotemperaturowych to substancje

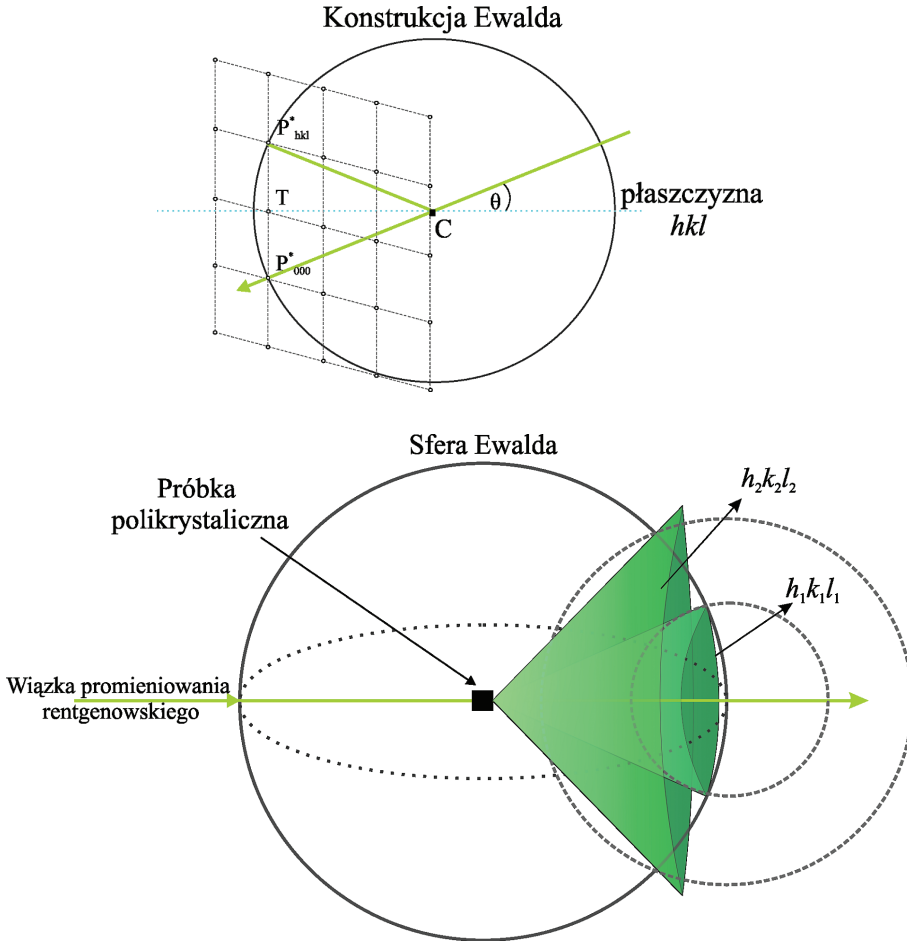
zawierające od kilku do kilkunastu atomów w jednostce asymetrycznej. Materiały te tworzą bardzo drobne kryształy często zupełnie nieodpowiednie do badań monokryształów, jednocześnie bardzo dobre do badań proszkowych. Ponadto programy do badań proszkowych stają się coraz bardziej zautomatyzowane i przyjazne dla użytkownika. Całość badań można zrealizować za pomocą jednego pakietu obliczeniowego, i choć nie polecamy takiego podejścia, nieomal 'automatycznie' bez oglądania obrazu dyfrakcyjnego!

Na zakończenie artykułu podamy przykłady kilku pakietów obliczeniowych oraz książek, które uważamy za godne polecenia (Rozdz. 8).

1. GEOMETRIA DYFRAKCJI PROMIENI RENTGENOWSKICH NA CIAŁACH KRYSTALICZNYCH W UJĘCIU EWALDA. RELACJA POMIĘDZY STRUKTURĄ KRYSTALICZNĄ A OBRAZEM DYFRAKCYJNYM

Na początku przypomnimy kilka wzorów i zależności wspólnych dla rentgenografii monokryształów i ciał polikrystalicznych. W tym miejscu zakładamy, iż czytelnik zna równania Laue'go oraz Braggów opisujące geometrię dyfrakcji promieni X [3]. Przedstawimy tu jedynie użyteczną do opisu eksperymentów dyfrakcyjnych konstrukcję Ewalda (Rys. 1a).

Dowód na jej równoważność z równaniem Bragga jest bardzo prosty i został on naszkicowany w opisie rysunku. Warunkiem powstania wiązki promieniowania ugiętego jest, aby węzeł sieci odwrotnej (hkl) znalazł się na sferze Ewalda. $CP'(hkl)$ jest kierunkiem powstałej wiązki. Eksperyment dyfrakcyjny jest prowadzony tak by wszystkie węzły sieci odwrotnej, dla których jest to możliwe, mogły wejść w kontakt ze sferą Ewalda. W trakcie pomiaru dokonujemy obrotów kryształu i licznika. Konstrukcję Ewalda dla dyfrakcji proszkowej przedstawia Rysunek 1b.



Rysunek 1. Konstrukcja Ewalda dla preparatu mono- (a), i polikrystalicznego (b). Ponieważ $r = 1/\lambda$, $|P^*(000)T| = 1/2d(hkl)$, $\sin(\theta)$ prowadzi do równania Bragga

Figure 1. Ewald construction for single-crystal (a) and polycrystalline sample (b). Since $r = 1/\lambda$, $|P^*(000)T| = 1/2d(hkl)$, $\sin(\theta)$ leads to the Bragg equation

Według kinematycznej teorii dyfrakcji promieni rentgenowskich na kryształach intensywność linii dyfrakcyjnej jest proporcjonalna do kwadratu czynnika struktury:

$$I \approx k|F(hkl)|^2 \approx kFF^* \quad (1.0)$$

Intensywność linii dyfrakcyjnej jest określona sumą fal rozproszonych przez wszystkie atomy w komórce elementarnej w danym kierunku. Uwzględniając występowanie różnych atomów w komórce elementarnej i wynikających z ich położenia różnic faz, możemy obliczyć czynnik struktury, który wyraża się wzorem:

$$F(hkl) = \sum_{j=1}^N f_j \exp[2\pi i(hx_j + ky_j + lz_j)] \quad (1.1.a)$$

gdzie x_j, y_j, z_j – to współrzędne atomu, f_j – to atomowy czynnik rozpraszania. Czynnik struktury możemy również określić na podstawie rozkładu gęstości elektronowej w komórce elementarnej:

$$F(hkl) = \int_V \rho(xyz) \exp(2\pi i(hx + ky + lz)) dV \quad (1.1.b)$$

Gęstość elektronowa, na której promienie X ulegają rozproszeniu, wyraża się wzorem:

$$\rho(xyz) = \frac{1}{V} \sum_{hkl} F(hkl) \exp[-2\pi i(hx + ky + lz)] \quad (1.2)$$

We wzorze na gęstość elektronową (1.2) występują, jako współczynniki rozwinięcia czynniki struktury, których nie mierzymy bezpośrednio w eksperymencie dyfrakcyjnym. W ogólnym przypadku $F(hkl)$ jest liczbą zespoloną, na bazie eksperymentu jesteśmy w stanie wyznaczyć jedynie jej moduł, faza pozostaje nieznana. Jest to poważny problem, zwany w krystalografii *problemem fazowym*.

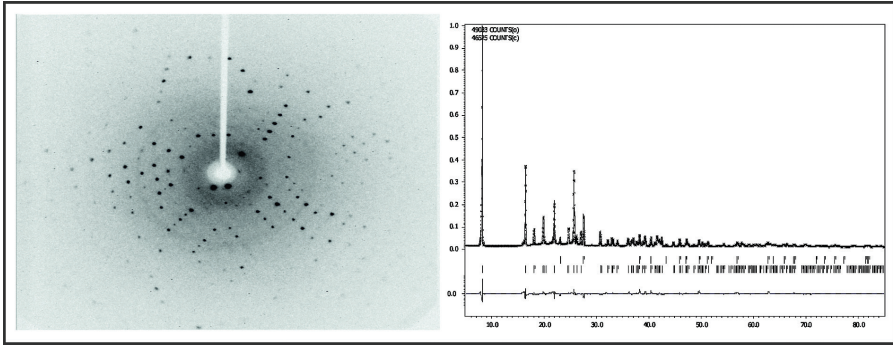
Dysponując tzw. fazami refleksów możemy łatwo obliczyć mapę gęstości elektronowej i dokonać jej interpretacji. Wzory (1.1.a i 1.1.b) i (1.2) przedstawiają relacje pomiędzy gęstością elektronową a czynnikami struktury. Są one przykładami funkcji będących wzajemnymi transformatami Fouriera.

Wnioski wynikające z analizy wzorów 1.1 i 1.2:

- i) Mapy gęstości elektronowej będą tym dokładniejsze i bardziej wyraziste im więcej czynników użyjemy w sumowaniu (1.2).
- ii) Błędy w wyznaczanych intensywnościach będą powodować trudności w interpretacji map gęstości elektronowej.

W badaniach strukturalnych porównuje się czynniki strukturalne F_c obliczone na podstawie modelu struktury (1.1) z wyznaczonymi eksperymentalnie F_o . Dobra zgodność pomiędzy F_c a F_o potwierdza poprawność postulowanego modelu struktury. W sposób ilościowy zgodność tę wyrażają tzw. czynniki rozbieżności np. $R_F = \sum_h ||F_c| - |F_o|| / \sum_h F_o$, (lub inne czynniki R, ich lista znajduje się w 'Wykazie stosowanych skrótów').

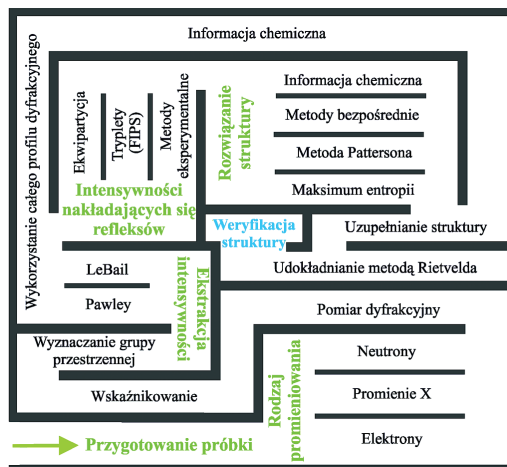
Warto zwrócić uwagę na obraz dyfrakcyjny monokryształu oraz proszkowy obraz dyfrakcyjny (Rys 2a i 2b). Obrazy te, nawet tworzone przez podobnych rozmiarów komórki elementarne, wyglądają zupełnie inaczej.



Rysunek 2. Przykładowy obraz dyfrakcyjny monokryształu rejestrowany przy użyciu dyfraktometru k -CCD (jedna 'klatka pomiarowa') (a); pełny proszkowy obraz dyfrakcyjny (b), pozycje maksimów dyfrakcyjnych zaznaczone są u góry rysunku (b)

Figure 2. The diffraction pattern of single crystal measured using a k -CCD diffractometer (one frame); the powder diffraction pattern with the positions of maxima marked at the top of the figure (b)

W obrazach dyfrakcyjnych monokryształów mamy setki, bądź nawet tysiące, rozseparowanych linii niosących informację strukturalną. W przypadku proszków obraz dyfrakcyjny jest zrzuwany na oś 2θ . Nakładanie się linii, zwłaszcza w zakresie wysokokątowym sprawia, iż w obrazie dyfrakcyjnym możemy wiarygodnie określić intensywności kilkudziesięciu linii. Tekstura i szybki zanik intensywności dodatkowo pogarszają sytuację. Nakładanie się refleksów jest decydującym czynnikiem kreującym specyfikę i historię rozwoju metod strukturalnej dyfraktometrii proszkowej. W strukturalnej dyfraktometrii proszkowej brak jest wypracowanych schematów czy niezawodnych metod. Sposób działania, to poruszanie się w labiryncie możliwości. Labirynt ten, przez wiele lat powiększany przez liczne grupy badaczy, przedstawiony jest na Rysunku 3 [2].



Rysunek 3. Schemat procesu rozwiązywania struktur z danych proszkowych
Figure 3. Diagram of the process of solving structures from powder data

Kolejne rozdziały będą objaśniać przedstawione powyżej etapy rozwiązywania struktur, jednakże właściwy schemat postępowania – przysłowiową „nić Ariadny” – każdy badacz musi sobie wypracować sam.

2. ŹRÓDŁA PROMIENI RENTGENOWSKICH ORAZ APARATURA STOSOWANA W BADANIACH STRUKTURALNYCH

Najważniejszymi źródłami promieni X do badań dyfrakcyjnych są lampy rentgenowskie oraz synchrotrony.

Lampy rentgenowskie

Głównymi elementami lamp rentgenowskich są tzw. działo elektronowe i anoda umieszczone w szklanej, lub ceramicznej obudowie, którą zatopiono po uzyskaniu w niej wysokiej próżni. Uzyskane w procesie termoemisji elektrony są przyspieszane w polu elektrycznym, wytwarzanym pomiędzy anodą a katodą i uderzają w anodę z odpowiednio dobranego metalu. Zderzając się z materiałem anody elektrony te są wyhamowywane, w wyniku czego emitują polichromatyczne promieniowanie hamowania oraz dużą ilość energii cieplnej. Gdy energia kinetyczna elektronów jest odpowiednio wysoka, mogą one wybijać elektrony z powłok wewnętrznych (np. K, L, ...) atomów materiału anody. Niezapełnione wewnętrzne powłoki elektronowe (K, L, ...) są natychmiast uzupełniane przez elektrony z wyższych powłok elektronowych. Przejścia takie zachodzą z emisją tzw. promieniowania charakterystycznego; powstają serie K, L itd. Natężenie promieniowania charakterystycznego jest dużo wyższe niż intensywność promieniowania hamowania, dlatego też w większości zastosowań wykorzystywane są najsilniejsze składowe promieniowania charakterystycznego tzw. składowa K_{α} . W dyfraktometrii proszkowej najczęściej stosowane są lampy z anodą wykonaną z miedzi (CuK_{α} , $\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$), rzadziej z żelaza (FeK_{α} , $\lambda = 1,93735 \text{ \AA}$) lub kobaltu (CoK_{α} , $\lambda = 1,79026 \text{ \AA}$). Wybór lampy często jest powodowany dążeniem do wyeliminowania efektu fluorescencji wzbudzonej przez promieniowanie danej lampy. Krótsze promieniowanie (lampy Mo, Ag), z uwagi na niską absorpcję, jest stosowane w przypadku kamer wysokociśnieniowych wyposażonych w 'masywne okna', lub dla zastosowań wykorzystujących formalizm PDF (pair distribution functions) nakierowanych na badania tzw. struktur lokalnych lub substancji amorficznych. W badaniach monokrystałów najczęściej stosowane są lampy z anodą molibdenową ($MoK_{\alpha} = 0,71073 \text{ \AA}$).

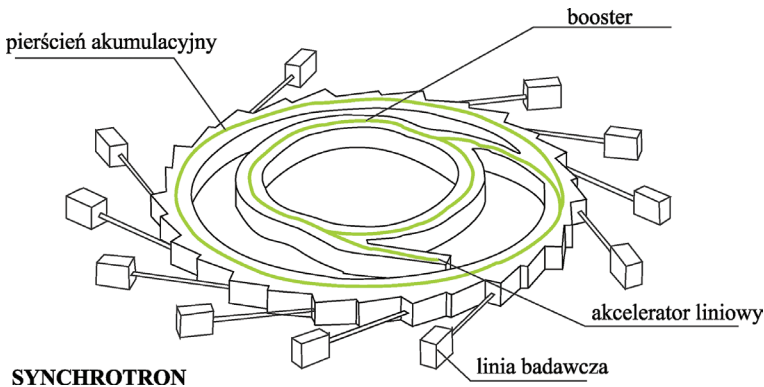
Największa moc promieniowania uzyskiwana jest w lampach z wirującą anodą, wykonaną w formie metalowego walca rotującego w trakcie pracy. Rotacja anody umożliwia odprowadzenie powstałego ciepła, zanim dany element ponownie stanie się celem wiązki rozprzeczonych elektronów.

Warto zapamiętać. Wiele elementów optyki rentgenowskiej jest fabrycznie optymalizowanych dla najbardziej typowego promieniowania, czyli lamp z anodą wykonaną z Cu. Warto sprawdzić czy potrzebne zwierciadło lub monochromator

będzie współpracować z rzadziej używanym promieniowaniem lamp Co, Fe lub Cr. Krótkie promieniowanie lamp Mo, przy podobnej optyce (filtry i szczeliny) będzie powodować zagęszczenie refleksów w zakresie niskokątowym, zwiększając nakładanie się refleksów.

Synchrotron

Schemat synchrotronu przedstawia Rysunek 4.



Rysunek 4. Schemat synchrotronu.
Figure 4. Schema of a synchrotron

Do toroidalnego pierścienia akumulacyjnego (tzw. *storage ring*), w którym wytworzono wysoką próżnię, wprowadzane są paczki cząstek elementarnych (elektronów lub pozytonów) rozpędzonych do prędkości zbliżonej do prędkości światła. W zakrzywionych fragmentach toru ruchu cząstek wytwarzane jest promieniowanie, które przez odpowiednie okna kierowane jest do stanowisk badawczych (beam lines). Najważniejszymi cechami promieniowania synchrotronowego są: wysoka jasność (ang. *brightness*) (dla synchrotronów III generacji przekraczająca nawet o 10 rzędów wielkości jasność lamp rentgenowskich), duży zakres długości fal (od promieniowania w dalekiej podczerwieni o długości fali rzędu 10^5 \AA do twardego promieniowania rentgenowskiego o długości fali $\sim 0,01 \text{ \AA}$) wysoka kolimacja wiązki ($0,116 \text{ mrad}$, $< 0,006^\circ$), polaryzacja oraz pulsujący charakter wiązki (impulsy: $\sim \text{ps}$, odstępy: $\sim \text{ns}$) [4]. Wartości wielu parametrów opisujących aktualny stan synchrotronu, dane techniczne całego obiektu, opisy realizowanych i zrealizowanych badań, itp., można znaleźć na stronach internetowych ośrodków synchrotronowych np. *European Synchrotron Radiation Facility* (ESRF), synchrotronu DIAMOND czy DESY. Prawdziwej rewolucji w zastosowaniu promieniowania synchrotronowego możemy się spodziewać w związku z wejściem do szerszego użycia nowego typu synchrotronów o olbrzymiej mocy promieniowania, tak zwanych synchrotronów IV generacji, typu laserów rentgenowskich na wolnych elektronach (XFEL).

Warto zapamiętać. W pomiarach synchrotronowych stosuje się często krótkie promieniowanie, które zapewnia penetrację całego preparatu. Możliwy jest odpowiedni dobór długości fali promieniowania do specjalnych celów badawczych, np. rozróżnienie obsadzenia pozycji przez pierwiastki sąsiadujące w układzie okresowym, a nawet przez ten sam pierwiastek na różnych stopniach utlenienia.

Monochromatyzacja

Wszystkie źródła promieniowania X wytwarzają rozbieżne wiązki promieniowania polichromatycznego. W większości technik badawczych wymagana jest monochromatyzacja promieniowania przy użyciu monochromatorów. Najprostszym sposobem monochromatyzacji promieniowania jest zastosowanie odpowiednich filtrów. Są one wykonane z cienkich blach metalowych, bazują na zmiennej absorpcji promieniowania i występujących dla każdego pierwiastka tzw. progów absorpcji.

Większą czystość spektralną zapewniają monochromatory krystaliczne. Ich działanie oparte jest na zastosowaniu prawa Bragga. Dla odpowiednio dobranego monokryształu oświetlonego wiązką promieniowania polichromatycznego pod kątem padania θ (do wybranej rodziny płaszczyzn), przy kącie odbicia θ , otrzymujemy wiązkę monochromatyczną o długości promieniowania spełniającą warunek Bragga. Dla uzyskania większych intensywności promieniowania stosowane są niekiedy monochromatory z odpowiednio 'wyciętych i wygiętych' monokryształów (np. monochromatory Johanssona).

2.1. APARATURA STOSOWANA W BADANIACH POLIKRYSTAŁÓW

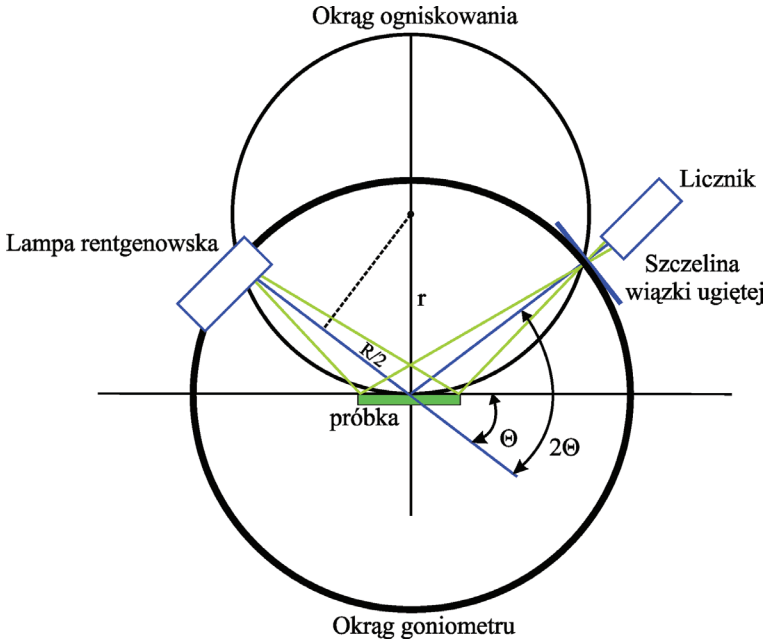
Omawiając aparaturę do badań strukturalnych, niezwykle użytecznym narzędziem jest wspomniana wcześniej konstrukcja Ewalda. Wiązki promieniowania ugiętego biegną w kierunkach węzłów sieci odwrotnej, które znajdują się na sferze Ewalda (Rys. 1b). W eksperymentach dyfrakcji proszkowej węzły sieci odwrotnej leżą na koncentrycznych sferach o grubości determinowanej jakością kryształitów. Jakość kryształitów i czystość spektralna wiązki decydują o szerokości linii dyfrakcyjnej.

Wśród aparatów do rentgenowskich badań polikryształów wymienić możemy kamery, w których rejestracji obrazu dyfrakcyjnego dokonywano przy użyciu kliszy fotograficznej oraz dyfraktometri z rejestracją promieniowania rozproszonego za pomocą liczników promieniowania.

Wśród kamer największe znaczenie miały kamery Debye'a-Scherrer-Hulla (DSH), oraz kamery ogniskujące Guinier'a czy Seemanna-Bowlina, których konstrukcja umożliwia zmniejszanie szerokości linii [5]. Pomimo, iż w chwili obecnej klasyczne kamery rentgenowskie, (z rejestracją obrazu na kliszy) nie są praktycznie używane, wspominamy o nich gdyż pewne zasady ich budowy są wykorzystywane

w produkcji nowych wielozadaniowych dyfraktometrów czy stanowisk w ośrodkach synchrotronowych (liniach pomiarowych).

Najbardziej popularnym typem dyfraktometru jest dyfraktometr pracujący w geometrii Bragg-Brentano (Rys. 5).



Rysunek 5. Schemat dyfraktometru proszkowego pracującego w geometrii Bragg-Brentano
Figure 5. Diffractometer working in Bragg-Brentano geometry

Próbka wypełniająca płaski uchwyt jest umieszczana stycznie do okręgu ogniskowania, na którym znajduje się anoda lampy i szczelina wejściowa licznika. Wszystkie krystaliny dające refleks od płaszczyzny d_1 utworzą wiązkę promieniowania ugiętego tworzącą z wiązką padającą kąt $2\theta_1$, zgodnie z równaniem Bragga. Ponieważ kąty wpisane w okrąg oparte są na tym samym łuku są równe, rozbieżna wiązka monochromatycznego promieniowania ugięta na preparacie od płaszczyzny d_1 ulegnie ogniskowaniu w jednym punkcie na okręgu ogniskowania, gdzie powinna znajdować się wtedy szczelina licznika. Poprawne ustawienie aparatu, tzw. „justowanie”, zapewnia prawidłową geometrię w trakcie całego pomiaru dla lampy, próbki i licznika. Ponieważ płaszczyzna próbki styczna do okręgu ogniskowania spełnia warunek ogniskowania tylko w jednym punkcie, geometrię dyfraktometru określamy jako para-ogniskującą.

Obok najpopularniejszych dyfraktometrów o geometrii Bragg-Brentano dostępne są dyfraktometry Seemanna-Bowlina, czy Guiniera o geometrii identycznej jak kamery o tej samej nazwie; zamiast kliszy rentgenowskiej są obecnie używane ich nowoczesne zamienniki, tzw. folie obrazujące (*imaging foil*).

W ostatnim okresie czasu producenci oferują tzw. wielozadaniowe dyfraktometry o zmiennej geometrii (np. geometria DSH, Bragg-Brentano), umożliwiające transmisyjny i refleksyjny tryb pomiaru, zmienne rozdzielczości, możliwość badań mikrodyfrakcyjnych, czy w wiązce zbieżnej.

Z uwagi na szybkość pomiaru rośnie znaczenie aparatów z licznikami PSD (position sensitive detector) do jednoczesnej rejestracji pozycji i liczby kwantów promieniowania X. Są to liczniki jednowymiarowe (paskowe, lub 'drutowe', zakres do 120°) lub dwuwymiarowe (zbudowane na zasadzie macierzy pikseli). Są one bardzo wygodne do szybkich pomiarów istotnych w badaniach reakcji czy przemian fazowych w ciele stałym. Mogą być też użyteczne do monitorowania tekstury.

Dyfraktometry mogą też być wyposażone w liczniki z dyspersją energii (liczniki mierzące liczbę i energię fotonów). Z uwagi na brak ruchomych części są one używane w badaniach wysokociśnieniowych.

Warto zapamiętać. Główne typy dyfraktometrów pracujących w geometrii Bragg-Brentano to aparaty o goniometrach typu θ/θ (stała płaszczyzna próbki) i $\theta/2\theta$ (stała pozycja lampy).

3. DYFRAKTOMETRIA PROSZKOWA A BADANIE PRZEJŚĆ FAZOWYCH I REAKCJI W CIAŁACH STAŁYCH

Problemem tego typu badań jest skala czasowa zmian na poziomie molekularnym, zachodzących w trakcie przemiany fazowej czy reakcji, która znacznie odbiega od czasu niezbędnego do rejestracji odpowiednio dużego fragmentu obrazu dyfrakcyjnego. Najszybsze pomiary, wykonywane przy użyciu sprzętu laboratoryjnego mogą być wykonane w czasie poniżej jednej minuty. O ile tego typu szybkie pomiary mogą być wystarczające do celów analizy fazowej, o tyle, nie gwarantują uzyskania wiarygodnych informacji strukturalnych. Tak więc, w badaniach 'in operando', badamy zazwyczaj stany przed i po przejściu fazowym. Używając liczników typu PSD można śledzić szybkie zmiany w preparacie w krótszym zakresie kątowym, np. ograniczając się w badaniach do jednego lub kilku maksimów dyfrakcyjnych, co w zasadzie może być wystarczające do detekcji przemiany lub monitorowania zmian parametrów sieciowych.

W chwili obecnej jest dostępny szereg przystawek umożliwiających pomiary dyfrakcyjne w szerokim spektrum parametrów (ciśnienie, temperatura, wilgotność, skład gazów otaczających próbkę).

Ponieważ obraz dyfrakcyjny monokryształu wymaga znanej (w trakcie eksperymentu) orientacji w wiązce promieniowania wybranego monokryształu, do badania przemian fazowych czy reakcji chemicznych bardziej odpowiedni jest proszkowy pomiar dyfrakcyjny. W tym też przypadku pękanie, zbliżnianie pojedynczych ziaren nie stanowi poważnego zagrożenia dla jakości pomiaru, dopóki nie dojdzie do znaczącej amorfizacji, lub znaczących zmian objętości próbki.

W monitorowaniu przejść fazowych czy reakcji chemicznych istotne znaczenie mogą mieć jakościowa i ilościowa analiza fazowa oraz wyznaczanie parametrów sieciowych. Oczywiście ważniejszymi wydają się być zmiany parametrów strukturalnych (x, y, z , atomowe czynniki przemieszczeń, czy parametry obsadzenia pozycji – co może odzwierciedlać rotację grup), wymagają one jednak głębszej analizy i lepszych danych dyfrakcyjnych.

Warto zapamiętać. Dla uzyskania wiarygodnych wyników badań strukturalnych niezbędna jest rejestracja prawidłowej intensywności linii dyfrakcyjnych jak również wielkość kryształitów, ich liczba i brak uprzywilejowanej orientacji. Wpływ dwóch ostatnich czynników można zmniejszać poprzez obrót próbki.

Z powodu tzw. anizotropii rozszerzalności cieplnej badania w funkcji temperatury mogą być również istotne w badaniach strukturalnych (Rozdz. 7.2).

4. ANALIZA FAZOWA

Proszkowy obraz dyfrakcyjny substancji (rejestrowany w typowym zakresie kątowym) w większości przypadków składa się z kilkadziesiątu (a nawet kilkuset) linii dyfrakcyjnych o różnej intensywności. Tak więc proszkowy obraz dyfrakcyjny, czy stabelaryzowany zbiór d_p, I_p , wydają się być dobrym kandydatem na wiarygodny 'odcisk palca' substancji krystalicznych.

Analiza jakościowa i ilościowa opiera się na następujących obserwacjach:

- Każda faza polikrystaliczna daje właściwy sobie obraz dyfrakcyjny (rentgenogram, dyfraktogram proszkowy) z charakterystycznym układem położeń i natężeń linii dyfrakcyjnych.
- Dyfraktogram proszkowy mieszaniny faz jest sumą dyfraktogramów faz składowych (intensywności linii poszczególnych faz zależą od składu mieszaniny, jednakże nie jest to zależność wprost proporcjonalna).
- Granica wykrywalności danej fazy w metodzie proszkowej zależy od składu chemicznego, symetrii, stopnia krystaliczności oraz faz współwystępujących. Najłatwiej wykrywane są związki nieorganiczne o wysokiej symetrii, zawierające pierwiastki ciężkie (np. HgS, PbS, itp.).

Zalety rentgenowskiej analizy fazowej to:

- szybkość analizy, łatwość przygotowania próbki, możliwość automatyzacji badań,
- określany jest skład fazowy, nie pierwiastkowy (ważne dla różnych odmian polimorficznych TiO_2 , SiO_2 , lodu itp.),
- nieniszczący charakter badań i wystarczająca, mała ilość badanego preparatu.

Dla celów analizy fazowej posługujemy się bazą danych opracowaną i dystrybuowaną przez International Centre for Diffraction Data (ICDD) z siedzibą w USA. Bazy PDF-2/4 (Powder Data File) są tworzone i uzupełniane od lat 30. XX wieku, zawierają w chwili obecnej dane eksperymentalne do identyfikacji dla około 70 tys.

związków. Poniżej podajemy kilka informacji dla przybliżenia zawartości bazy danych:

- Dla każdej zbadanej substancji baza **PDF-2/4** zawiera: d , I , hkl , parametry sieciowe, grupę przestrzenną, skład chemiczny, nazwę, kolor, gęstość, opis syntezy, dane literaturowe. Ostatnio, w bazie **PDF-4** deponowane są coraz częściej pełne obrazy dyfrakcyjne i dane strukturalne.
- Ze względu na historyczne dane dzielone są na podzbiory (np. metale, cementy, związki wybuchowe itp).
- Opracowano metody przeszukiwania bazy wg. szeregu cech substancji (gęstość, kolor, itp.), zbiory wyników poszukiwań mogą podlegać operacjom logicznym (and, not, or...).

W ostatnim okresie czasu, bazy danych **PDF**, **Inorganic Crystal Structure Database (ICSD)** oraz **Cambridge Structural Database (CSD)** zawarły porozumienie dotyczące współpracy i wzajemnego uzupełniania informacji w bazach danych. Baza **PDF-4**, do celów analizy fazowej, może zawierać obrazy dyfrakcyjne obliczane na podstawie struktur krystalicznych zdeponowanych w bazach **CSD** i **ICSD**.

Warto zapamiętać. Przed podjęciem badań strukturalnych warto sprawdzić zawartość dostępnych baz danych. Może to nam oszczędzić miesiące pracy, ponadto dobrze przygotowani łatwiej dostrzeżemy poprawne rozwiązanie (*Fortuna favet fortibus*).

5. WYZNACZANIE PARAMETRÓW SIECIOWYCH

Parametry sieciowe i położenie linii dyfrakcyjnych wiąże następujące równanie:

$$Q_{hkl} = 1/d_{hkl}^2 = h^2 a^{*2} + k^2 b^{*2} + l^2 c^{*2} + 2hka^* b^* \cos\gamma^* + 2hla^* c^* \cos\beta^* + 2klb^* c^* \cos\alpha^* \quad (5)$$

d_{hkl} to odległość międzypłaszczyznowa dla rodziny płaszczyzn (hkl), a^* , b^* , c^* , α^* , β^* , γ^* to periody sieci odwrotnej (Wykaz symboli i oznaczeń).

W pomiarze dyfrakcyjnym rejestrujemy m linii dyfrakcyjnych, możemy więc utworzyć $n \leq m$ równań, o liczbie zmiennych $k \leq 6$. Wyznaczanie parametrów sieciowych sprowadza się więc do pomiaru położenia linii w obrazie dyfrakcyjnym, przeliczeniu ich na odległości międzypłaszczyznowe, utworzeniu i rozwiązaniu odpowiedniego układu równań. Jednakże w równaniu (5) nieznane są również wielkości wskaźników Millera hkl . Źródłem dodatkowych trudności na etapie wyznaczania parametrów sieciowych są: błędy pomiarowe, obecność domieszek, nakładanie się linii, wygaszenia systematyczne oraz występowanie znacznych różnic w wielkościach parametrów sieciowych. Rozwiązanie problemu opiera się na założeniach, iż: hkl to liczby całkowite, oraz że dla czystej fazy istnieje rozwiązanie układu równań utworzonych na bazie równania (5).

Pierwsze sposoby wyznaczania parametrów sieciowych na podstawie pomiarów proszkowych zaproponowano już w latach 20. ubiegłego wieku. Dla układów

regularnego, heksagonalnego czy tetragonalnego, problem wskaźnikowania sprowadza się do wyznaczenia 1 lub 2 niewiadomych i może być rozwiązany za pomocą metod graficznych. Bardzo ważną metodą wyznaczania parametrów sieciowych jest metoda określana jako metoda Ito. W metodzie tej, w układzie równań (5) staramy się znaleźć linie Q_{h00}, Q_{0k0} a następnie wszystkie linie z grupy $Q_{nh,mk,0}$. Trafny wybór tych linii pozwala na znalezienie parametrów a^*, b^* i γ^* . W następnym etapie poszukujemy linii Q_{h00}, Q_{00l} i $Q_{nh,0,m'l}$, co jeśli się powiedzie, umożliwi wyznaczenie periodów a^*, c^* i β^* . Pozostaje jeszcze znalezienie linii pasa (0kl), czyli $Q_{0n^*km^*l}$ by wyznaczyć nieznaną wartość α^* . Znalezienie parametrów sieciowych są udokładniane, program sprawdza czy znalezione parametry są rzeczywiście najmniejszymi niezbędnymi do rozwiązania problemu, wykonywane są testy centrowania sieci. Cała procedura powtarzana jest kilkakrotnie z różnym zestawem startowych wartości Q_{h00}, Q_{00l} i Q_{0k0} . Metodę tę wykorzystał J. Visser tworząc jeden z najsprawniejszych programów do wskaźnikowania proszkowych obrazów dyfrakcyjnych [6].

W tym rozdziale krótko opisane zostaną podstawy działania stosunkowo prostych tzw. zupełnych metod wyznaczania parametrów sieciowych. Jednakże metody te wymagają komputerów o dużej mocy obliczeniowej, stąd też ich szersze zastosowanie i wzrost znaczenia jest związany z pojawieniem się szybkich komputerów, co nastąpiło w ostatnim okresie czasu (lata 90. XX wieku).

Sposoby wyznaczania parametrów sieciowych można z grubsza podzielić na dwie grupy:

- 1) operujące w przestrzeni parametrów sieciowych (przestrzeni rzeczywistej),
- 2) operujące w przestrzeni wskaźników Millera (przestrzeni odwrotnej).

Dodatkowo, działanie programu określić można, jako zupełne (testuje wszystkie możliwe rozwiązania, ang. *exhaustive*), lub dedukcyjne.

ad. 1) Startując z odpowiednio małych parametrów sieciowych i systematycznie je zwiększając powinniśmy znaleźć właściwe parametry sieciowe. Jest to idea pracy programu DICVOL (patrz lista programów, Rozdz. 8).

ad. 2) Dla odpowiednio dobranej liczby linii bazowych, podstawiając wszystkie możliwe wskaźniki hkl , następnie rozwiązując kolejno otrzymane układy równań powinniśmy znaleźć poprawne rozwiązanie. W podany sposób pracują programy TREOR czy POWDER (lista programów, Rozdz. 8).

Użytkownikowi pozostaje na ogół tylko wybór poprawnego rozwiązania, a sugerowane kryteria wyboru to:

- symetria układu krystalograficznego (im wyższa tym lepiej),
- wielkość komórki elementarnej (preferowane są krótsze periody i mała objętość komórki elementarnej),
- maksymalna liczba indeksowanych linii (najlepiej brak linii nie-indeksowanych),

Dodatkowo ważny jest sens krystalochemiczny rozwiązania:

- komórka elementarna powinna być podobna ($a, b, c, \alpha, \beta, \gamma, V$) do komórek związków pokrewnych, w komórce powinna być całkowita liczba molekuł (określana jako Z)
- prawidłowe rozwiązanie daje zazwyczaj możliwość znalezienia wygaszeń systematycznych (i zaproponowania grupy przestrzennej).

Znalezione rozwiązanie poddaje się procedurze uściślenia metodą najmniejszych kwadratów. W wyniku obliczeń uzyskujemy optymalne wielkości parametrów sieciowych oraz wielkości odchyłań standartowych parametrów.

Większość programów do uściślenia parametrów sieciowych dodatkowo oblicza czynniki jakości rozwiązań tzw. 'figure of merit: F_N i M_N ' („Wykaz stosowanych skrótów”). Czynniki te, będące odpowiednio przeskalowaną uśrednioną różnicą pomiędzy obserwowanymi a obliczonymi położeniami linii, są liczbową, obiektywną miarą poprawności parametrów sieciowych (miały być prawdopodobieństwem, iż uzyskana komórka elementarna jest prawidłowa).

Warto zapamiętać. Parametry sieciowe są wyznaczone na podstawie 20–30 niskokątowych linii. W przypadku, gdy jeden z periodów jest stosunkowo krótki ($\leq 5\text{\AA}$), może się zdarzyć, iż w grupie początkowych linii, wszystkie linie będą mieć wskaźnik Millera, odpowiadający temu periodowi, równy 0. Jest to tzw. efekt dominującego pasa płaszczyzn. Warto sprawdzić czy używany program wykonuje testy tego typu, lub rozszerzyć zbiór startowych linii o maksima dyfrakcyjne dostarczające niezbędnych do wskaźnikowania informacji. Niektóre programy wykonują testy na obecność linii domieszek, można też w tym celu manualnie dodawać lub usuwać wątpliwe linie.

Wyznaczanie parametrów sieciowych to w gruncie rzeczy rozwiązywanie układu równań, warto zadbać by w badanym układzie nie pojawiło się równanie z innego układu (linie domieszek)!

Wybór grupy przestrzennej. Wyboru grupy przestrzennej dokonujemy głównie na podstawie wygaszeń systematycznych. Analizę wygaszeń systematycznych wykonujemy 'manualnie', bazując na własnym doświadczeniu oraz z pomocą Tablic Międzynarodowych tom A. Dużą pomocą może też być program EXPO [7] dokonujący analizy znormalizowanych czynników struktury $E(hkl)$ i przygotowujący listę proponowanych grup przestrzennych wedle prawdopodobieństwa wystąpienia danej grupy. Przykładowo, wielkość $1 - \langle E(hkl)^2 \rangle$ dla refleksów $h + k + l = 2n + 1$ wskazuje na prawdopodobieństwo (w skali 0–1) centrowania typu I. Użytecznym może też być oprogramowanie wytworzone w grupie prof. W.I.F. Davida [8].

Drugim kryterium są rozważania krystalochemiczne: analiza zawartości i objętości komórki elementarnej oraz krotności i symetria dostępnych w danej grupie pozycji. Grupa przestrzenna powinna w prosty sposób umożliwić wypełnienie komórki elementarnej obserwowaną liczbą molekuł zgodnie z ich symetrią. Wskazówką mogą być statystyki intensywności oraz częstość występowania danej grupy

dla struktur w bazie danych CSD lub ICSD. Grupy często występujące, ze względów praktycznych, warto sprawdzić w pierwszej kolejności.

Czynniki F_N i M_N , wielkości odchylenia standardowych parametrów sieciowych, czy wielkości R_{wp} , obliczane dla różnych dopuszczalnych grup przestrzennych przez programy uściślające parametry sieciowe, bądź dokonujące rozkładu dyfrakcyjnego na intensywności, mogą być pomocne w wyborze prawidłowej grupy przestrzennej.

Warto zapamiętać. W wyniku wskaźnikowania uzyskujemy jedynie wielkości parametrów sieciowych (symetria metryczna), podczas gdy układ krystalograficzny i grupa przestrzenna związane są z symetrią, czego nie dostrzeżemy w prozkowym obrazie dyfrakcyjnym. Dopiero rozwiązanie struktury i jej udokładnienie może potwierdzić nasz wybór.

- Z uwagi na małą liczbę refleksów o dobrze określonych intensywnościach, kryteria statystyczne w dyfraktometrii prozkowej należy stosować z rozwagą i ostrożnością.
- Godne polecenia są testy wskazujące na brak środka symetrii czy obecność tzw. osi polarnych (np. efekt piezoelektryczny, piroelektryczny, nieliniowe własności optyczne). Użyteczne mogą być analizy mapy Pattersona i tzw. przekrojów Harkera. Jak zwykle, lepiej przygotowani szybciej dostrzeżemy prawidłową grupę przestrzenną.

6. UŚCIŚLANIE STRUKTUR METODĄ RIETVELDA

W metodzie Rietvelda [9] model struktury dopasowywany jest do całego rejestrowanego 'punkt po punkcie' obrazu dyfrakcyjnego. Matematycznie w metodzie Rietvelda minimalizowana jest wielkość:

$$S_y = \sum_i w_i (y_i - y_{ci})^2, \quad (6)$$

gdzie y_i i y_{ci} – obserwowana i obliczona liczba zliczeń w obrazie dyfrakcyjnym, dla i -tego punktu pomiarowego. Waga danego punktu w_i to $1/y_{oi}$, lub $1/\sqrt{y_{oi}}$, choć inne schematy ważenia też są możliwe. Wielkość S_y jest obliczana dla wszystkich punktów 'i' w obrazie dyfrakcyjnym. Mianem obrazu dyfrakcyjnego określamy tu jeden lub kilka dyfraktogramów prozkowych. Mogą być one wykonywane przy użyciu różnych źródeł promieniowania i różnych geometrii dyfraktometrów.

Dla stosowania metody Rietvelda niezbędne jest posiadanie wstępnego modelu struktury. Wstępny model struktury znajdujemy przy użyciu nowych bądź klasycznych metod prozkowych, znajdując w literaturze czy w bazach danych strukturę podobną. Z uwagi na złożony charakter funkcji określających y_{ci} , minimalizacja zależności (6) prowadzona jest nieliniową metodą najmniejszych kwadratów. Obliczenia prowadzone są iteracyjnie; w kolejnych cyklach obliczane są poprawki do udokładnianych parametrów: $x_{i,n} = x_{i,n-1} + \Delta x_{i,n}$, a stosunek obliczonej poprawki do szacowanego odchylenia standardowego jest miarą postępu procesu uściślenia.

Różne parametry w różny sposób wpływają na wielkość różnicy pomiędzy obserwowanym y_p , a obliczonym y_{ci} punktem w obrazie dyfrakcyjnym. Dla metody Rietvelda ważna jest strategia obliczeń, czyli kolejność uściślanych parametrów zgodnie z ich wpływem na obraz dyfrakcyjny. Zalecana kolejność dla grup uściślanych parametrów:

- 1) czynnik skali, współczynniki linii tła, pozycja zera skali, parametry sieciowe, podstawowe parametry kształtu linii (W, U, V, η),
- 2) współrzędne atomów ciężkich, następnie współrzędne wszystkich atomów,
- 3) atomowe czynniki przemieszczeń (atomy ciężkie, następnie lekkie, najpierw przybliżenie izotropowe, następnie w miarę możliwości anizotropowe dla najcięższych atomów),
- 4) współczynniki obsadzenia pozycji, tekstura, inne 'detale' kształtu linii (asymetria, anizotropowe poszerzenie),

W końcowych etapach obliczeń zwiększamy liczbę uściślanych parametrów, dążąc do jednoczesnego uściślenia wszystkich parametrów (tryb pełnomacierzowy).

Dla poprawy stabilności procesu uściślenia wiele programów rietveldowskich umożliwia narzucenie więzów geometrycznych na parametry strukturalne:

$$S_g = \sum_i w_i (P_i - P_{ci}(xyz))^2, \quad (6.1)$$

gdzie: P_i : oczekiwana długość wiązania, kąta, współrzędnej (oparta na obliczeniach teoretycznych, bazach danych, etc.), $P_{ci}(xyz)$ to wielkość obliczona na bazie aktualnego modelu. Możemy prowadzić łączną minimalizację wielkości $S = S_y + w_g S_g$, gdzie w_g – określa wagę więzów geometrycznych. Zmiany wag obserwacji dyfrakcyjnych i geometrycznych są jednym z elementów strategii i śledzenia poprawności obliczeń. Z doświadczeń autorów wynika, iż więzy są niezbędne dla struktur o liczbie atomów w części niezależnej ≥ 20 , w trakcie obliczeń sukcesywnie zmniejszamy wagę więzów geometrycznych (do $\leq 10\% S_y$).

Postęp i poprawność obliczeń przy użyciu metody Rietvelda można śledzić przy pomocy szeregu czynników rozbieżności np. R_F i R_{wp} jak i przy wykorzystaniu graficznej formy prezentacji wyników obliczeń. Krzywe y_p , y_{ci} i $y_i - y_{ci}$ pozwalają na łatwe dostrzeżenie błędów w dopasowaniu szerokości linii, parametrów sieciowych, poziomie tła i ułatwiają detekcję faz domieszek. Obliczenia prowadzimy do uzyskania krzywej różnicowej wykazującej jedynie niewielkie, przypadkowe fluktuacje, oraz gdy wielkości czynników R_{wp} i R_F są odpowiednio $\leq 15\%$ i 10% . Stosunek obliczanych poprawek udokładnianych parametrów do ich odchyłeń standardowych powinien być jak najmniejszy $\Delta x_{i,n} / \text{esd}(\Delta x_{i,n}) \leq 0,1$.

Najbardziej znane programy do obliczeń metodą Rietvelda to: JANA, GSAS, FULLPROF, RIETAN, XRS-82, DBWS (odnośniki literaturowe Rozdz. 8).

Na bazie metody Rietvelda powstały metody optymalnego rozkładu obrazu dyfrakcyjnego na część opisującą tło oraz część związaną z intensywnościami linii dyfrakcyjnych (ang. *pattern decomposition*). Intensywności linii (w pozycjach określonych wcześniej przez parametry sieciowe) mogą być traktowane jako zmienne

i wyznaczone są liniową metodą najmniejszych kwadratów. Jest to zasada tzw. metody Pawley'a [10].

Można też parametry sieciowe, współczynniki tła, profil linii, oraz 'arbitralne-startowe' intensywności linii, dopasowywać iteracyjnie tak jak 'fituje się' parametry w metodzie Rietvelda. Podejście to określane jest mianem rozkładu obrazu dyfrakcyjnego na intensywności metodą Le Baila [11]. Obie metody tworzą zbiory $|F(hkl)|$ niezbędne w dalszych etapach badań strukturalnych. Dla dobrze rozdzielonych linii dyfrakcyjnych wyniki obu metod są porównywalne. Metoda Le Baila jest uważana za bardziej stabilną i jest częściej stosowana. Poprzez odpowiedni dobór 'startowych' intensywności próbowano m.in. wprowadzać wstępną informację strukturalną do badań proszkowych już na etapie 'rozkładu intensywności. Można testować tę możliwość przy użyciu programu EXPO [7], jak dotąd brak przekonujących danych o jej użyteczności.

Warto zapamiętać. Metoda Rietvelda może być stosowana dla mieszaniny faz. Obok parametrów strukturalnych możemy wyznaczać udział procentowy faz. Można też stosować kilka różnych obrazów dyfrakcyjnych jednocześnie oraz więzy geometryczne dla zwiększenia liczby obserwacji w stosunku do liczby wyznaczanych parametrów. Przykładowo, uściślając strukturę T3R3 (kompleks insuliny z cynkiem) dla udokładnianych 1630 atomów zastosowano 7981 więzów geometrycznych [12].

7. TWORZENIE MODELI STRUKTUR KRystalicznych – METODY KLASYCZNE

Najczęściej stosowanymi sposobami rozwiązywania struktur monokryształów jest metoda Pattersona i metody bezpośrednie. Obie te metody są obszernie opisane w podręcznikach [2, 3]. Twórcy podstaw teoretycznych metod bezpośrednich zostali uhonorowani nagrodami Nobla. Już w latach 70–80. napisano sprawne, dobrze przetestowane i przyjazne dla użytkownika programy do tego typu obliczeń (SHELXS, DIRDIF, MULTAN, SIMPEL, SIR). W tym rozdziale przedstawimy tylko założenia obu metod, oraz główne obszary zastosowań. W następnym rozdziale nieco szerzej zostaną omówione niektóre metody rozwiązywania struktur dedykowane rozwiązywaniu struktur na podstawie danych z pomiarów polikrystalicznych.

Funkcja Pattersona – Wprowadzona do badań strukturalnych w roku 1934, jest funkcją autokorelacji gęstości elektronowej [3], co w przypadku jednowymiarowym możemy zapisać jako: $P(u) = \int \rho(x)\rho(x+u)dx$. Podstawiając za gęstość elektronową wielkość wynikającą ze wzoru 1.2, otrzymujemy $P(u) = (1/a^2)\sum_h |F_h|^2 \exp(2\pi i hu)$. W trzech wymiarach otrzymujemy następujące wyrażenie:

$$P(u,v,w) = 2/V^2 \sum_{hkl} |F_{hkl}|^2 \cos(2\pi(hu+kv+lw)) \quad (7)$$

Funkcję Pattersona możemy łatwo obliczyć, ponieważ współczynniki rozwińnięcia tj. $|F_{hkl}|^2$ są wielkościami mierzonymi eksperymentalnie. Ponieważ funkcja Pattersona jest funkcją autokorelacji gęstości elektronowej, maksima na mapie Pattersona odpowiadają wektorom międzyatomowym. Dla struktury o n atomach w komórce elementarnej powinniśmy znaleźć $n(n-1)$ maksimów na mapie Pattersona. Ponadto, maksima mają wysokości proporcjonalne do $\sim Z_i Z_j$, zatem wektory łączące atomy ciężkie będą dominować na mapie Pattersona. Stąd też, znając wektory łączące atomy ciężkie oraz grupę przestrzenną, możliwe jest wyznaczenie ich położenia w komórce elementarnej. Pozycje atomów ciężkich są często wystarczającym punktem startowym do obliczenia faz czynników struktury (wzór 1.1.a) dla dużej grupy refleksów, a następnie interpretowalnych map gęstości elektronowej (wzór 1.2), a w konsekwencji do pełnego rozwiązania struktury krystalicznej. Zarysowany schemat postępowania odpowiada tzw. metodzie ciężkiego atomu.

Zastosowanie funkcji Pattersona:

- znajdowanie pozycji atomów (szczególnie ciężkich),
- detekcja elementów symetrii (co może być użyteczne w ustalaniu grup przestrzennych),
- znajdowanie orientacji i lokalizacji sztywnych grup (np. pierścienie benzenowe).

Do lat 60. była to podstawowa metoda badań substancji krystalicznych.

Podstawy metod bezpośrednich:

U podstaw metod bezpośrednich leżą następujące obserwacje dotyczące gęstości elektronowej (wzór (1.2)):

- a) gęstość elektronowa jest zawsze dodatnia
- b) gęstość elektronowa jest bliska zeru poza obszarami gdzie występują atomy.

Matematyczna analiza tych założeń prowadzi do wniosku, iż w strukturach centro- i niecentrosymetrycznych występują ograniczenia możliwych kątów fazowych. Jedną z ważniejszych relacji wiążących fazy refleksów w strukturach centrosymetrycznych jest tzw. relacja Sigma 2 (podana przez Hauptmana i Karle). Wiąże ona wszystkie silne refleksy o znanej fazie tworzące tryplet (patrz: Wykaz stosowanych skrótów) z refleksem E(H):

$$s |E(H)| = \sum_H sE(H-K) sE(K) \quad (7.1)$$

gdzie E(H) oznaczają tzw. znormalizowane czynniki struktury, czyli F(H) przeskalowane tak, by odpowiadały strukturze złożonej z jednakowych atomów, nie uwzględniały drgań termicznych oraz zależności f_i od kąta θ . Litera s oznacza znak refleksu w przypadku struktury centrosymetrycznej.

Dla struktur niecentrosymetrycznych dla refleksów tworzących tryplet:

$$\phi_H \approx \langle \phi_{H-K} + \phi_K \rangle$$

fazę refleksu wyznacza się w oparciu o tzw. wzór tangensowy:

$$\operatorname{tg}\phi_H \approx \frac{\sum_H |E_K| |E_{H-K}| \sin(\phi_K - \phi_{H-K})}{\sum_H |E_K| |E_{H-K}| \cos(\phi_K - \phi_{H-K})} \quad (7.2)$$

znaki „ \approx ” oznaczają, iż wzory te są prawdopodobne, a prawdopodobieństwo ich słuszności można obliczyć. Dla wzoru (7.1) wyraża się ono zależnością $\frac{1}{2} + \frac{1}{2} \operatorname{tg}h |E_H E_K E_{H-K}| N^{-1/2}$ (N – ilość atomów w komórce elementarnej).

Stosowalność metod bezpośrednich:

- struktury o porównywalnych liczbach elektronów (najlepsze wyniki dla związków organicznych),
- struktury do około 100 atomów w części asymetrycznej.

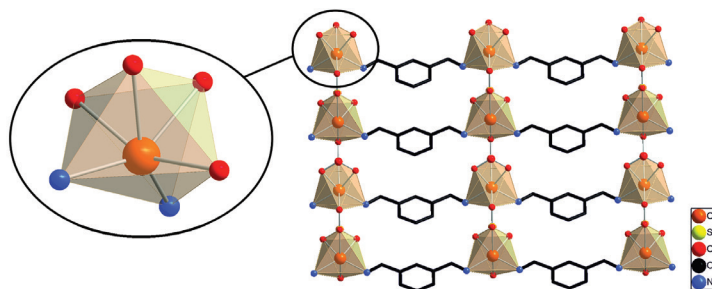
Dzięki rozwojowi podstaw teoretycznych oraz optymalizacji algorytmów programy do obliczeń przy użyciu metod bezpośrednich działają dla struktur większych niż sygnalizowane limity przy niemal dowolnym składzie chemicznym.

Mianem **klasycznych metod strukturalnych badań proszkowych** określamy metody bazujące na zastosowaniu metod i programów stosowanych w badaniach monokryształów. W metodach tych stosowane są intensywności pojedynczych linii, refleksy nakładające się są odrzucane lub przypisujemy im arbitralne intensywności (losowe, zakładając ekwipartycję, itp) i podejmujemy próbę rozwiązania struktury.

Z czasem, niektóre popularne programy modyfikowano pod kątem badań proszkowych, „uczulając” je na specyfikę danych proszkowych, dodając podprogramy ułatwiające przygotowanie zbiorów danych, interpretację wyników oraz końcowe przygotowywanie danych do publikacji.

W grupie prof. Giacobozzo opracowano szybki i bardzo rozbudowany pakiet programów do badań proszkowych o nazwie EXPO [7]. Program ten zajmuje się całością proszkowych badań strukturalnych począwszy od edycji maksimów dyfrakcyjnych. Przy jego pomocy można wskaźnikować obrazy dyfrakcyjne, program wspiera użytkownika w wyznaczaniu grupy przestrzennej, może też wykonać rozkład obrazu dyfrakcyjnego na intensywności (metodą Le Baila). Jednym z głównych elementów programu jest moduł tworzący zbiory refleksów o powiązanych ze sobą fazach (np. tryplety). Program przypisuje fazy refleksom, następnie na podstawie testów weryfikujących przedstawia do wglądu propozycje wstępnie zinterpretowanych map gęstości elektronowych. Po niezbędnej edycji i weryfikacji struktury za pomocą wewnętrznego graficznego edytora strukturę można poddać uściśleniu metodą Rietvela, za pomocą specjalnego modułu dołączonego do programu EXPO.

W laboratorium autorów, program EXPO jest wstępnym narzędziem do testowania nowego materiału. Poniższy rysunek (Rys. 6) przedstawia jedną z ciekawszych struktur zbadaną, niemal od początku, za pomocą tego programu. W trakcie badań okazało się, iż nasza początkowa wiedza zarówno o składzie chemicznym jak i postulowanej strukturze połączenia była błędna. Metody dyfrakcji proszkowej pomogły skorygować błędy i znaleźć prawidłowe rozwiązanie [13].



Rysunek 6. Struktura warstwowego siarczynu *m*-ksylenodiaminy(kadmium) [13]. W przypadku nowych bądź nieznanych związków musimy stosować metody strukturalne ‘*ab initio*’.

Figure 6. Structure of layered *m*-xylylenediamine(cadmium) sulphate [13]. In the case of new or unknown compounds, we have to use *ab initio* structural methods.

Do grupy **metod klasycznych** zaliczamy też **metody prób i błędów** (ang. ‘*trial and error*’), w chwili obecnej wzbogacone o zasoby baz danych ICSD i CSD (Rozdz. 8). W podejściu tym, na podstawie podobieństw obrazów dyfrakcyjnych, parametrów sieciowych itp, staramy się znaleźć model struktury próbnej, na tyle poprawnej, by można było ją uściślić i uzupełnić metodą Rietvelda.

Można się poważnie zastanawiać czy do tej grupy metod można również zaliczyć **metodę pseudo-atomów**. W metodzie tej, na etapie normalizacji, interpretacji map E i wczesnych etapów udokładniania rietveldowskiego, sztywne grupy atomów zastępujemy pseudo-atomami o takiej samej liczbie elektronów (np. pierścienie benzenowe zastępujemy atomami Mo o dużych wartościach atomowych czynników przemieszczeń (ang. *atomic displacement parameters* – dawniej określane jako czynniki temperaturowe). Po uściśleniu położenia pseudoatomów mapy Fouriera gęstości elektronowej odsłaniają brakujące elementy struktury [14]. Ponieważ model struktury tworzony jest tylko z użyciem pojedynczych linii jest to również metoda klasyczna.

Warto zapamiętać. Metoda Pattersona lub metody bezpośrednie bazują wyłącznie na zarejestrowanym obrazie dyfrakcyjnym oraz składzie chemicznym. Tego typu metody rozwiązywania struktur krystalicznych określamy mianem metod ‘*ab initio*’.

7.1. METODY DEDYKOWANE DO BADAŃ STRUKTURALNYCH POLIKRYSTAŁÓW

Specyfikę badań proszkowych określają trzy niekorzystne cechy (ograniczenia) związane ze zjawiskiem dyfrakcji na preparatach polikrystalicznych. Są to:

- nakładanie się refleksów,
- tekstura, czyli uprzywilejowane układanie się krystalitów,
- szybki zanik intensywności ze wzrostem kąta 2θ .

Na przestrzeni lat badacze nauczyli się radzić sobie z tymi ograniczeniami, a co więcej, jak to ma miejsce w przypadku tekstury, wykorzystywać je w procesie rozwiązywania struktur (Rozdz. 7.3). Zanik intensywności z rosnącym kątem 2θ ,

można kompensować dłuższym czasem pomiaru dla zakresu wysokokątowego. Ten typ pomiaru jest określany jako 'metoda zmiennego czasu pomiarowego (*variable counting time regime*)' [2, 4].

Biorąc pod uwagę nakładanie się refleksów, zaproponowano kilka rozwiązań tego problemu. Sposób eliminacji problemu nakładających się linii można wykorzystać w celu systematyki metod strukturalnej dyfraktometrii proszkowej. W ten sposób możemy wprowadzić trzy główne typy metod:

- a. Zmniejszanie nakładania się refleksów przez **optymalizację warunków pomiarowych**.
- b. Próby określenia intensywności nakładających się linii. Pojawiły się dwa typy rozwiązań tego problemu: **metody eksperymentalne** i **metody obliczeniowe**.
- c. Próby tworzenia modeli struktur w oparciu o **całe obrazy dyfrakcyjne bez separacji intensywności**.

Metody badań strukturalnych podejmujące problem badań strukturalnych w ujęciu szerszym niż czynią to metody klasyczne, wspierane przez optymalnie prowadzone pomiary dyfrakcyjne, określamy jako **nowe metody badań strukturalnych polikryształów**. Zostaną one szerzej omówione w Rozdziałach 7.2 i 7.3. Omówimy teraz niektóre zagadnienia związane z nakładaniem się linii dyfrakcyjnych.

Optymalizacja pomiaru i nakładanie się linii dyfrakcyjnych. Jeśli dwie, lub więcej linii znajduje się w odległościach mniejszych niż 0,1–0,5 FWHM, określamy je jako linie nakładające się (ang. *double*). Ich intensywności nie możemy dokładnie wyznaczyć z dyfraktogramu proszkowego nawet przy użyciu najlepszych procedur obliczeniowych. Błąd wyznaczanych intensywności rośnie wraz ze zmniejszaniem się odległości linii. Przez odpowiedni dobór warunków pomiaru możemy niekiedy zmniejszyć szerokości linii i co za tym idzie zwiększamy liczbę nienakładających się, pojedynczych linii (ang. *single*). Obecnie najlepszym wyjściem jest wykonanie pomiarów synchrotronowych, a dawniej stosowano w tym celu kamery ogniskujące. Warto wspomnieć, iż typowa szerokość połówkowa FWHM dla pomiarów rentgenowskich dla materiałów mikrokryształicznych to około 0,07–0,1°, podczas gdy dla promieniowania synchrotronowego możliwe są wartości $\leq 0,01^\circ$. Jednak, nawet najlepszy pomiar nie eliminuje nakładania się refleksów o dokładnie takiej samej odległości międzypłaszczyznowej, np. linii (500) i (340) w układzie regularnym czy tetragonalnym, czy innych przypadkach pseudosymetrii metrycznej. Nakładanie się linii rośnie ze wzrostem kąta 2θ , w typowych przypadkach w proszkowym obrazie dyfrakcyjnym obserwujemy ok. 15–45% pojedynczych linii dyfrakcyjnych.

Warto zapamiętać. Stosując wielozadaniowy dyfraktometr, szerokość linii możemy zmniejszać poprzez dobór szczelin Sollera, wielkości szczelin, zmniejszając średnicę kapilar, stosując optykę ogniskującą lub cienkie warstwy preparatu na uchwycie bezodbiwym.

7.2 METODY EKSPERYMENTALNE I OBLICZENIOWE SEPARACJI INTENSYWNOŚCI

Metody eksperymentalne

Jak się okazuje, metody eksperymentalne stosowane były już w latach 60. Badając strukturę β -Pu, Zachariasen posłużył się anizotropią rozszerzalności cieplnej. Jak wiemy, pozycja linii dyfrakcyjnej zależy od parametrów sieciowych. Można przypuszczać, iż anizotropia rozszerzalności cieplnej kryształu powinna mieć związek z anizotropią zmian periodów komórki elementarnej. Zachariasen wykorzystał fakt, iż linie nakładające się w temperaturze t_1 w skutek anizotropii rozszerzalności mogą się 'rozsunąć' w temp. t_2 [15]. Stosując to podejście, wyznaczył intensywności szeregu nakładających się linii. Następnie rozwiązał strukturę o 8 atomach w części asymetrycznej stosując metody bezpośrednie.

Kolejną cechą umożliwiającą separację intensywności może być tzw. anizotropowe poszerzenie linii. Nawet dokładnie nakładające się linie o różnym kształcie powinny dać się matematycznie rozseparować. Różny kształt linii może wynikać z defektów, naprężeń czy wielkości kryształitów, stąd też nawet nakładające się linie mogą różnić się profilem. Dla laboratoryjnych dyfraktometrów profil linii (w tym FWHM) jest zazwyczaj funkcją kąta 2θ . Kształt linii jest w tym przypadku określony głównie poprzez niedostateczną monochromatyzację i rozbieżność wiązki. W eksperymentach synchrotronowych efekt anizotropowego poszerzenia pochodzący od próbki jest obserwowany i można go wykorzystać w praktyce.

Trzecim eksperymentalnym separatorem intensywności może być tekstura. Tekstura zmienia intensywności linii, a zmiana zależy od kąta danej płaszczyzny z kierunkiem uprzywilejowanej orientacji. Możemy wykrywać tekstury i określać wielkość odpowiednich zmian intensywności. Nakładające się refleksy mogą być różnie modyfikowane przez teksturę. Dysponując kilkoma pomiarami o różnych znanych teksturach możemy obliczyć, jakie 'wyjściowe' zbiory intensywności, zmienione przez teksturę, mogą dać obserwowane obrazy dyfrakcyjne. Za pomocą szeregu uteksturowanych preparatów udało się rozwiązać najbardziej jak dotąd złożoną strukturę materiału zeolitowego o 117 atomach w części asymetrycznej [16].

Metody obliczeniowe – Pierwszymi próbami w tej dziedzinie były: pomijanie nakładających się linii, ekwipartycja bądź arbitralny (np. losowy) podział intensywności – wspomniane przy omawianiu metod klasycznych. Poważniejsze, obliczeniowe dokonania w tej grupie badań to program DOREES opracowany w grupie prof. Schenka oraz metoda FIPS opracowana w grupie McCusker i Baerlocher. Do tej grupy metod można zaliczyć również opisaną ostatnio proskową wersję programu do obliczeń przy użyciu metody 'charge flipping' pCF [22].

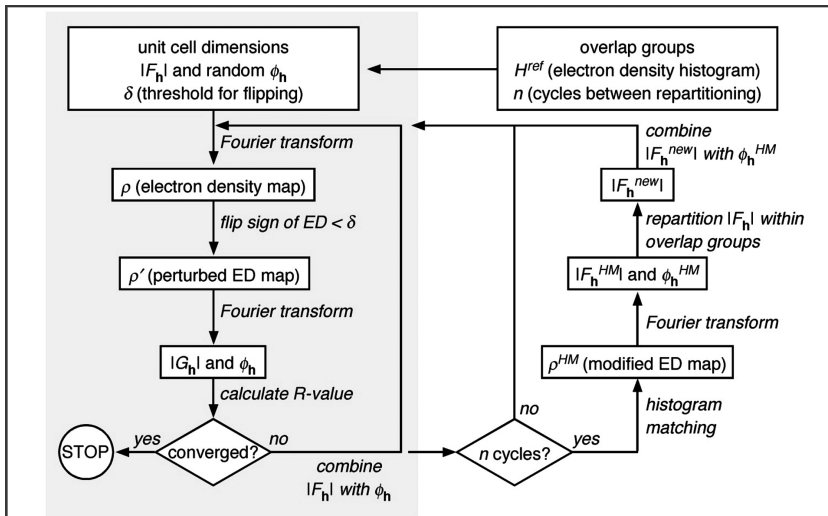
DOREES (double reflection estimation) jest metodą opartą na formalizmie metod bezpośrednich. Już w początkach rozwoju metod bezpośrednich wykazano, iż fazy silnych refleksów tworzących tryplety są ze sobą związane. Podobne rozumowanie sugeruje, iż refleks występujący w wielu relacjach trypletowych, w któ-

rych występują silne refleksy, również może być silny. Wskazówki odnośnie intensywności refleksów mogą być użyteczne w trakcie rozkładu obrazu dyfrakcyjnego na intensywności. Pomysł ten pozytywnie zweryfikowano stosując symulowane jak i rzeczywiste obrazy dyfrakcyjne [17, 18]. Oparty na tym podejściu program DOREES z powodzeniem zastosowano w badaniach nieznanymi struktur [19, 20].

FIPS (Fast iterative Patterson squaring) na bazie pojedynczych linii oblicza się mapę Pattersona, którą dalej poprawia się poddając ją nieliniowej modyfikacji (np. obliczając jej kwadrat). Dla takiej mapy oblicza się odwrotną transformatę Fouriera, której celem jest obliczanie wkładu, a co za tym idzie intensywności, refleksów z grup nakładających się linii. Metodę tę wykorzystywano w badaniach struktur zeolitów [21].

Metoda ‘charge flipping’ (odwrócenia ładunku)

Metoda ‘charge flipping’ pojawiła się w krystalografii przed kilku laty, a schemat jej działania przedstawia Rysunek 7.



Rysunek 7. Schemat metody ‘charge flipping’ uzupełnionej o procedurę ‘histogram matching’ [22]. Dla zwięzłości i zwięzłości opisu zastosowano oryginalne opisy w języku angielskim

Figure 7. The ‘charge flipping’ method supplemented by the ‘histogram matching’ procedure [22]. For the sake of brevity and compactness, the original descriptions in English were used.

Na bazie pomiaru wyznacza się wartości $|F_h|$, refleksom przypisywane są losowe fazy ϕ_h i obliczana jest mapa gęstości elektronowej. Na tak uzyskanej mapie wyszukiwane są obszary o gęstości elektronowej mniejszej od δ (ważny parametr sterujący) i w tych obszarach zmienia się znak gęstości elektronowej na przeciwny. Następnie, dla tak zmodyfikowanej mapy oblicza się odwrotną transformatę Fouriera wyznaczając nowe fazy refleksów i amplitudy $|G_h|$. Wartości $|F(h)|$ i nowe fazy są używane do obliczania kolejnej mapy gęstości elektronowej i procedura jest

powtarzana aż do uzyskania rozwiązania (interpretowalna mapa i niskie wartości R obliczane z użyciem $|F_h|$ i $|G_h|$).

Metoda ta nie wymaga informacji o składzie chemicznym czy o grupie przestrzennej i okazała się też bardzo skuteczna. Jej potencjał został dostrzeżony i zastosowany w procesie separacji intensywności nakładających się refleksów, prowadzonym równocześnie z procedurą rozwiązywania struktury. W trakcie pracy algorytmu 'powder charge flipping' każda n-ta iteracja przechodzi przez moduł separacji intensywności. Obliczana mapa gęstości elektronowej jest poddawana modyfikacji, tak by uzyskać lepszą zgodność z wzorcowym histogramem gęstości elektronowej. Zmodyfikowane mapy są poddawane transformacie Fouriera dla uzyskania informacji o intensywnościach nakładających się refleksów. Tak uzyskane intensywności są używane w kolejnych n-cykłach procedury 'charge flipping' [22].

W ostatnim okresie czasu, rozwój metod tego typu został nieco przyhamowany przez nowe metody budowy modeli struktur w oparciu o całe obrazy dyfrakcyjne, bez separacji intensywności.

7.3. METODY GLOBALNEJ OPTYMALIZACJI

W tej grupie metod rezygnujemy z prób rozwiązania struktury za pomocą metod 'ab initio'. Decydujemy się natomiast na pracę w przestrzeni rzeczywistej (ang. 'direct space methods'). Używamy całych molekuł lub ich fragmentów opisywanych dla wygody w tzw. współrzędnych wewnętrznych (odległości międzyatomowe i kąty). Taki zapis redukuje znacznie liczbę zmiennych w przypadku sztywnych molekuł. Bierzemy pod uwagę całe obrazy dyfrakcyjne i poszukujemy optymalnej zgodności całego modelu struktury (nie tylko atomów ciężkich) z całym obrazem dyfrakcyjnym. Procedurę taką określamy jako **metodę globalnej optymalizacji**. Jej kilka wariantów przedstawiamy poniżej.

Metoda systematycznego poszukiwania znanego fragmentu w przestrzeni rzeczywistej - 'grid search'

W przypadku znanej budowy molekuły, lub jej istotnego fragmentu struktury, możemy założyć, iż testując wszystkie położenia i kąty (próbkowane z określonymi przyrostami dla poszczególnych zmiennych) powinniśmy znaleźć prawidłowe rozwiązanie. Współrzędne molekuły w i-tym kroku pomiarowym wynoszą:

$$x_i = x_0 + n_x \Delta x; y_i = y_0 + n_y \Delta y; z_i = z_0 + n_z \Delta z \quad (7.3)$$

Dla każdej grupy współrzędnych x_i , y_i , z_i obliczamy $F_{\text{cal}}(hkl)$ i porównujemy z $F_{\text{obs}}(hkl)$. Porównywane mogą być też fragmenty obliczanego i rejestrowanego obrazu dyfrakcyjnego. Dla uproszczenia, we wzorze 7.3, pominięto współrzędne kątowe molekuły (orientację opisywana przez współrzędne $\theta_{1,i}$, $\theta_{2,i}$, $\theta_{3,i}$). W przy-

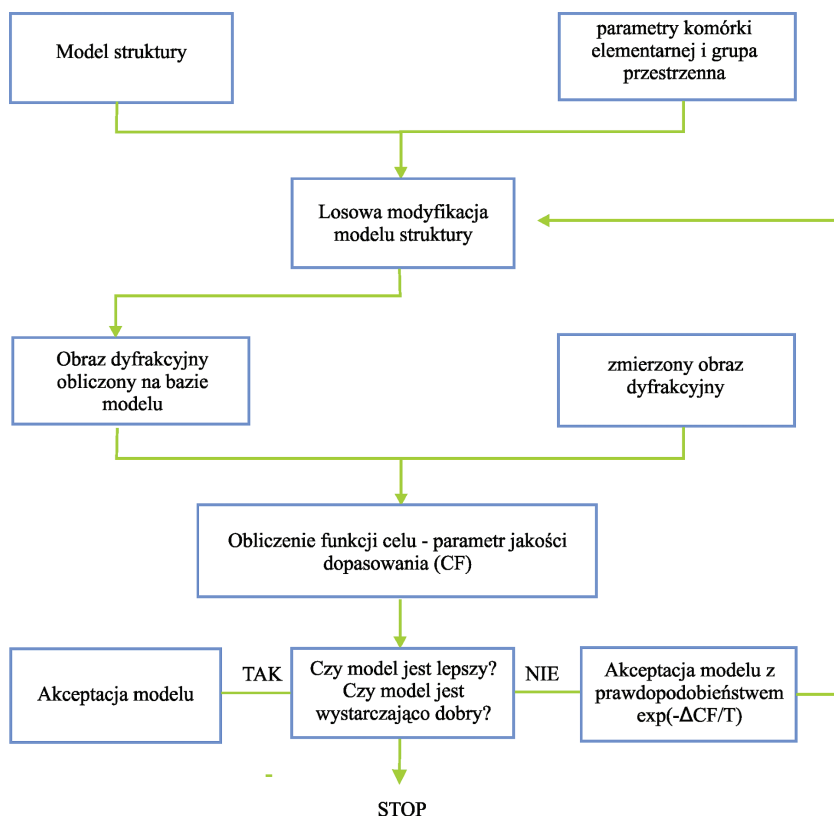
padku rozległych molekuł, które mogą się częściowo nakrywać, kryteria wyboru prawidłowego rozwiązania mogą nie być selektywne.

Metoda ta jest szczególnie użyteczna dla sztywnych molekuł organicznych o małej liczbie wewnętrznych stopni swobody. Dla 'giętkich molekuł' można wykonać wstępne obliczenia optymalizacyjne metodami chemii kwantowej, a następnie poszukiwać położenia kilku najbardziej prawdopodobnych 'konformacji' [23].

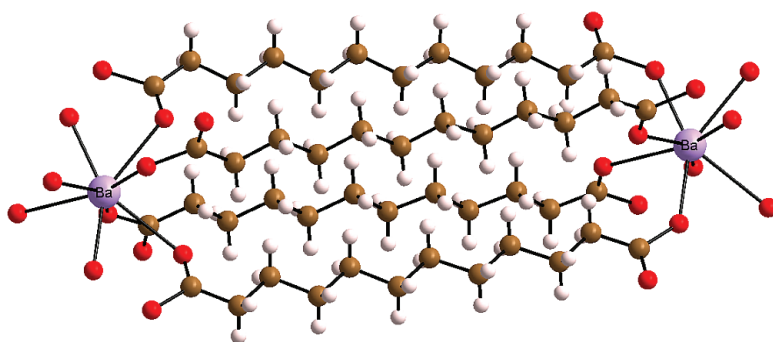
Podobnym podejściem charakteryzują się próby lokalizacji znanego fragmentu molekuly przy użyciu programu PATSEE [24], utworzonego pod kątem badań monokryształów. Poszukiwania orientacji i położenia znanego fragmentu są prowadzone na mapach Pattersona a wyniki weryfikowane są w przestrzeni rzeczywistej. Program dopuszcza dwa niezależne fragmenty, jeden kąt torsyjny, stosuje losowe generowanie testowanych pozycji i orientacji zamiast systematycznego skanowania przestrzeni. W badaniach proszkowych program PATSEE znalazł niewielkie zastosowanie ograniczające się do rozwiązania dwu nieznanych struktur [25].

Metody Monte-Carlo. Nowy model struktury otrzymywany jest z poprzedniego przez losową modyfikację współrzędnych. Nowe współrzędne są akceptowane jeśli uzyskane na ich podstawie wartości funkcji celu CF (ang. *cost function*, mogą to być czynniki rozbieżności R_p , R_{wp} , spełnienie więzów geometrycznych, etc.) są lepsze niż dla stanu poprzedzającego. Dla uniknięcia tzw. lokalnych minimów w pewnych etapach obliczeń akceptowane są stany z wyższymi wielkościami CF. Jeśli jednak czynniki R szybko nie zaczną maleć, program poszuka innej drogi wiodącej do globalnego minimum. Różnymi wariantami metod Monte-Carlo, opracowanymi celem przyspieszenia procesu znajdowania globalnego minimum, są metody symulowanego wyżarzania (ang. *simulated annealing*) używane przez program DASH [26], oraz '*parallel tempering*' – program FOX [27]. Rysunek 8 przedstawia schemat działania programu FOX.

W programie FOX zastosowano kilka równoległych procedur optymalizacyjnych z różnymi wartościami parametrów sterujących akceptacją/odrzućeniem kolejnych stanów i różnymi 'krokami skanowania hiperpowierzchni celu'. Ta cecha programu, obok jego dużych i stale rosnących możliwości, zadecydowała o jego olbrzymim powodzeniu w zakresie proszkowych badań strukturalnych. Przy użyciu tego programu udało się rozwiązać wiele różnych struktur o znacznej złożoności. Częstym przypadkiem jest łączenie wstępnych wyników uzyskanych przy użyciu metod 'ab initio' z uzupełnianiem modelu struktury przy użyciu metod globalnej optymalizacji. Ciekawą opcją we wstępnych badaniach strukturalnych jest poszukiwanie rozwiązania w oparciu o kilka różnego typu bloki budulcowe (wielościanny koordynacyjny + giętkie fragmenty organiczne + pojedyncze atomy w pozycjach szczególnych) [28].



Rysunek 8. Blokowy schemat programu FOX [27]
Figure 8. Block diagram of the FOX program [27]



Rysunek 9. Jedna z wielu struktur soli kwasów dikarboksylowych [28] badanych ostatnio w laboratorium autorów przy użyciu programu FOX
Figure 9. One of many structures of the dicarboxylic acid salts [28] investigated recently in our laboratory using the FOX program

Algorytm genetyczny. Generujemy N struktur próbnych, ich współrzędne ($xyz, \eta_1, \eta_2, \eta_3, \eta, \tau_1, \tau_2, \dots$ współrzędne kątowe oraz wewnętrzne kąty rotacji) to geny. Schemat metody opartej na koncepcji ewolucji gatunków przedstawiony jest w punktach:

- a) generujemy A, B, C, D, ... N struktur wyjściowych – **Rodzice**
- b) tworzymy $N(N-1)$ struktur pochodnych o współrzędnych mieszanych (50% A, 50%B). AB, AC, AD, .. BC, BD, ..BN, ...NM – **Potomstwo**
- c) z całej populacji wybieramy M najlepszych osobników (np. wedle kryterium R_{wp}) – jest to proces **Selekcji**
- d) pozwalamy na rozwój kilku pokoleń najlepiej dostosowanych osobników (wracamy do punktu c)
- e) wprowadzamy pewną liczbę losowych zmian współrzędnych i wracamy do punktu b) – proces **Mutacji**
- f) po zadanej liczbie cykli ewolucji lub osiągnięciu zadanego R_{wp} przerywamy rozwój.

Algorytm genetyczny szczególnie często jest stosowany w badaniach związków organicznych, w tym pigmentów i farmaceutyków [29].

Na zakończenie, dla podkreślenia wielości i różnorodności metod strukturalnej dyfraktometrii proszkowej wymienimy tzw. algorytm kooperatywny (*swarm algorithm*). Algorytm ten w swojej pracy naśladuje zachowanie się roju owadów (modele struktur) współpracującego w poszukiwaniu pokarmu (minimum hiperpowierzchni celu). Algorytm ten został również zastosowany do badania struktur preparatów proszkowych, jego zastosowania są jednak bardzo rzadkie [30].

Podsumowanie

Omawiając rozwój i stan obecny strukturalnej dyfraktometrii proszkowej można stwierdzić, iż dzięki dużemu zaangażowaniu licznych grup badawczych stała się ona silną i wiarygodną techniką badawczą. Opracowano wiele sprawnych programów i metod badań. Największe znaczenie w chwili obecnej mają:

- program EXPO w zakresie metod ‘*ab initio*’
- programy FOX i DASH w metodach globalnej optymalizacji.

Kierunek rozwoju dużych proszkowych pakietów obliczeniowych może wskazywać, iż w niedalekiej przyszłości w ramach rutynowych badań, obok analizy fazowej może być prowadzony pełny cykl badań strukturalnych z próbą utworzenia modelu struktury przy użyciu metody ‘*powder Charge Flipping*’.

Spory potencjał nadal drzemie w metodach eksperymentalnych oraz w łącznym wykorzystaniu dyfrakcji proszkowej i metod mikroskopii elektronowej.

8. OPIS OPROGRAMOWANIA I KRYSTALOGRAFICZNYCH BAZ DANYCH

Wiele programów służących do obliczeń z zakresu dyfraktometrii proszkowej można znaleźć na stronie internetowej Międzynarodowej Unii Krystalografii pod adresem www.iucr.org, oraz na stronie projektu CCP14 [31]. Użytecznym kompendium wiedzy może być strona internetowa Armela LeBail'a o adresie sdpd.univ-lemans.fr. Polecamy również niedawno wydane książki o tej tematyce [3, 4].

Poniżej przedstawiamy krótkie zestawienie wybranych programów wartych umieszczenia w 'podręcznej bibliotece oprogramowania'. Kolejność na liście jest w przybliżeniu zgodna z częstością ich stosowania w laboratorium autorów.

Wyznaczanie parametrów sieciowych (podany odnośnik lub zestawienia w [4, 31]):

PROSZKI [32], CRYSFIRE, WINPLOTR – Pakiety zawierające najbardziej znane programy:

ITO – metoda Ito, brak założeń o układzie krystalograficznym, liczba linii ≥ 20 [6].

TREOR¹ – przestrzeń wskaźników, 'trial and error', symetria stopniowo obniżana.

DICVOL – operuje na parametrach sieciowych, semi-zupełny (sukcesywna dychotomia).

MCMILE – metoda Monte Carlo, program umożliwia obliczenia w przypadku domieszek, jakość parametrów sieciowych szacowana jest przez wartość R_{wp} a nie tylko w oparciu o pozycje linii.

Budowa modelu struktury (metody typowe dla badań proszkowych) [4, 31]:

EXPO200N(0,9,11,13) – wyznaczanie struktur przy użyciu pomocy metod bezpośrednich (ab initio), ostatnio również metody przestrzeni rzeczywistej. Całość badań proszkowych.

FOX – wyznaczanie struktur metodą globalnej optymalizacji (*parallel tempering*) [27].

DASH – wyznaczanie struktur, przestrzeń rzeczywista (*simulated annealing*). Program komercyjny [26].

TOPAS – wyznaczanie struktur metodą globalnej optymalizacji, udokładnianie struktur metodą Rietvelda, indeksowanie. Program komercyjny.

POWDER CELL – obserwowanie wpływu 'manualnie wprowadzanych' zmian w jednostce asymetrycznej na obraz dyfrakcyjny.

¹ W pakiecie EXPO zastosowano nowszą wersję programu – TREOR90 [33] uzupełnioną o nowe kryteria wyboru komórki elementarnej (nowe F_N i M_N biorące pod uwagę intensywności linii).

Pakiety do obliczeń metodą Rietvelda (obok podstawowych opcji)² [4, 31]:

JANA – mono i polikryształy, mieszaniny faz, różne formaty danych, fazy niewspółmierne, łączniki do programów: Merkursy, Superflip [34]

GSAS – mono i polikryształy, mieszaniny faz, opcje graficzne, różne formaty danych, ostatnio optymalizowany pod kątem badań białkowych [35]

XRS-82 – jednofazowy preparat polikrystaliczny, rozbudowany system więzów³

DBWS – mieszaniny faz, różne kształty linii, skromne więzy geometryczne³

Wizualizacja struktur, rysunki do publikacji [4, 31]:

MERKURY [36], PLATON, ORTEP, DIAMOND [37], ISIS Draw i wiele innych:

Najbardziej użytecznymi w strukturalnej dyfraktometrii proszkowej bazami danych są:

- a) Powder Data File, PDF-2 i PDF-4 – obrazy dyfrakcyjne związków nieorganicznych i organicznych. Liczba obrazów 328 tys. (2013) – Liczba obrazów eksperymentalnych i obliczonych z użyciem danych strukturalnych (bazy CSD i ICSD). Dystrybucja ICDD.
- b) Inorganic Crystal Structure Database, ICSD – baza struktur związków nieorganicznych. Dystrybucja FIZ Karlsruhe, Liczba struktur 160 tys. (2 ed. 2013).
- c) Cambridge Structural Database, CSD – baza struktur związków organicznych i metaloorganicznych, CSD Cambridge, 650 tys. struktur (2012).

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] P. Debye, P. Scherrer, *Phys. Z.*, 1916, **17**, 277.
- [2] W.I.F. David, K. Shankland, L.B. McCusker, Ch. Baerlocher, *Structure Determination from Powder Diffraction Data*, IUCr Monographs on Crystallography, Oxford Univ. Press, 2002
- [3] M. Ladd, R. Palmer, *Structure Determination by X-ray Crystallography*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, 4th edition, 2003
- [4] R.E. Dinnebier, S.J.L. Billinge, *Powder Diffraction Theory and Practice*, RSC Publishing, 2008.
- [5] Z. Bojarski, E. Łągiewka, *Wstęp do analizy strukturalnej*, PWN, 1988.
- [6] J.W. Visser, *J. Appl. Cryst.*, 1969, **2**, 89
- [7] A. Altomare, R. Caliandro, M. Camalli, C. Coucci, C. Giacovazzo, A.G.G. Moliterni, R. Rizzi, *J. Appl. Cryst.*, 2004, **37**, 1025.
- [8] A.J. Markvardsen, W.I.F. David, J. Johnstone, K. Shankland, *Acta Cryst. A*, 2001, **57**, 47.
- [9] *The Rietveld Method*, R.A. Young, IUCr Monograph on Crystallography, Oxford Univ. Press, 1998

² Ostatnie wersje pakietu EXPO posiadają wbudowane moduły do obliczeń rietveldowskich, wyposażone w system więzów i ograniczeń (*constraints i restraints*).

³ W ostatnich latach znaczenie i częstość używania tych programów wyraźnie spada.

- [10] G.S. Pawley, *J. Appl. Cryst.*, 1981, **14**, 357.
- [11] A. Le Bail, H. Duroy, J.L. Fourquet, *Mater. Res. Bull.*, 1988, **23**, 447.
- [12] R. von Dreele, *Acta Cryst.*, 2000, **D56**, 1549.
- [13] K. Luberd-Durnaś, D. Mucha, Paula Sanz-Camacho, W. Łasocha, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 2013, **639**, 2195.
- [14] W. Łasocha, P. Milart, A. Rafalska-Łasocha, H. Schenk, *Z. Krist.*, 2001, **216**, 117.
- [15] W. Zachariasen, F.H. Ellinger, *Acta Cryst.*, 1963, 369.
- [16] T. Wessels, Ch. Baerlocher, L.B. McCusker, *Science*, 1999, **284**, 477.
- [17] J. Jansen, R. Peschar, H.J. Schenk, *Appl. Cryst.*, 1992, **25**, 231.
- [18] J. Jansen, R. Peschar, H.J. Schenk, *Z. Krist.*, 1993, **206**, 33.
- [19] W. Łasocha, J. Jansen, H. Schenk, *J. Solid. State Chem.*, 1995, **115**, 225.
- [20] W. Łasocha, J. Jansen, H. Schenk, *J. Solid. State Chem.*, 1995, **117**, 103.
- [21] M.A. Esterman, V. Gramlich, *J. Appl. Cryst.*, 1993, **26**, 396.
- [22] Ch. Baerlocher, L.B. McCusker, L. Palatinus, 2007, **222(2)**, 47.
- [23] V. Chernyshev, H. Schenk, *Z. Krist.*, 1998, **213**, 1.
- [24] E. Egert, K. Wagner, J. Hirsler, *Z. Krist.*, **216(11)**, 565.
- [25] W. Łasocha, E. Opozda, H. Schenk, *Z. Krist.*, 2000, **215**, 34, W. Łasocha, J. Czapkiewicz, P. Milart, H. Schenk, *Z. Krist.*, 2001, **216**, 291.
- [26] W.I.F. David, K. Shankland, N. Shankland, *Chem. Commun.*, 1998, 931.
- [27] V. Favre-Nicolin, R. Cerny, *J. Appl. Cryst.*, 2002, 734.
- [28] M. Grzesiak, W. Nitek, A. Rafalska-Łasocha, W. Łasocha, *Z. Krist.* 2013, 228, 590.
- [29] B.M. Kariuki, H. Serrano Gonazales, R.L. Johnston, K.D.M. Harris, *Chem. Phys. Lett.*, 1997, **280**, 189
- [30] T. Csoka, W.I.F. David, *Acta Cryst. Suppl.*, A.55.
- [31] <http://www.iucr.org/resources/other-directories/software>.
- [32] W. Łasocha, K. Lewinski, *J. Appl. Cryst.*, 1994, **27**, 437.
- [33] P.E. Werner, M. J. Westdahl, *Appl. Cryst.*, 1985, **18**, 367.
- [34] V. Petricek, M. Dusek, L. Palatinus, Jana 2000. The crystallographic computing system, 2000, Institute of Physics, Czech republic.
- [35] A.C. Larson, R.B. Von Dreele, General Structure Analysis System (GSAS), Los Alamos National Laboratory Report LAUR 86-748 (1994).
- [36] I.J. Bruno, J.C. Cole, P.R. Edgington, M.K. Kessler, C.F. Macrae, P. McCabe, *Acta Cryst. B2002*, **58**, 389.
- [37] K. Brandenburg, H. Putz, Diamond – Crystal and Molecular Structure Visualization Crystal Impact. GbR, Postfach 1251. D-53003 Bonn.

Praca wpłynęła do Redakcji 11 marca 2014

**OD ROZPOZNANIA MOLEKULARNEGO DO
ROZDZIAŁU RACEMICZNEGO METODĄ
FRAKCYJNEJ KRYSTALIZACJI SOLI
DIASTEREOMERYCZNYCH**

FROM MOLECULAR RECOGNITION TO RACEMIC
RESOLUTION BY FRACTIONAL CRYSTALLIZATION OF
DIASTEREOMERIC SALTS

Agata Białońska

*Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
e-mail: agata.bialonska@chem.uni.wroc.pl*

Abstract

Wprowadzenie

1. Charakterystyczne motywy strukturalne w kryształach soli czynników rozdzielających
 - 1.1. Sole pierwszorzędowych amin alifatycznych
 - 1.2. Sole drugorzędowych amin alifatycznych
 - 1.3. Sole trzeciorzędowych amin alifatycznych
 - 1.3.1. Sole chininy, cynchonidyny, chinidyny i cynchoniny
 - 1.3.2. Sole brucyny i strychniny
 2. Rozpoznanie molekularne
 3. Zróżnicowanie diastereomeryczne
 - 3.1. Sole 1-aryloetyloaminy
 - 3.2. Sole brucyny i strychniny
 4. Rozdział racemiczny
- Uwagi końcowe
Piśmiennictwo cytowane
-

Dr Agata Białońska w roku 2001 ukończyła studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Stopień doktora chemii uzyskała w 2005 r. Obecnie pracuje na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Jednym z obiektów jej badań jest rozdział racemiczny poprzez krystalizację frakcyjną soli diastereomerycznych brucyny i strychniny. Prowadzi również badania skupione na syntezie, właściwościach i zastosowaniu związków koordynacyjnych.

ABSTRACT

Synthesis and isolation of enantiopure compounds remains an important challenge in medicinal, pharmaceutical, alimentary as well as material chemistry. Amongst many methods leading to enantiopure compounds, formation and fractional crystallization of diastereomeric salts of an enantiopure resolving agent is the most popular one. Since its discovery many years went by, and yet it has been performed by the trial and error method.

Selection of the suitable resolving agent is crucial for racemic resolution efficiency. Hence, this review is concerned with common features of crystal structures of salts, in which resolving agents, frequently used for separation of racemic acids, are involved. Among them, there are crystal structures of salts of primary, secondary and tertiary chiral amines (1-arylethylamines, ephedrine, pseudoephedrine, deoxyephedrine, chinine, chinidine, cinchonine, cinchonidine, strychnine and brucine). In most of them, cations and anions are involved in characteristic systems of hydrogen bonds leading to formation of cationic-anionic self-assemblies. In this respect, brucine and strychnine appear as unique, because presence of anions usually does not affect formation of common cationic self-assemblies stabilized by weak hydrophobic interactions.

Comparison of the common structural motifs indicates different factors being crucial in molecular recognition and in diastereomeric diversification. Formation of common hydrogen bonded cationic-anionic self-assemblies plays a dominant role in molecular recognition of a given acid by most of the studied amines. In turn, formation of common cationic self-assemblies stabilized by hydrophobic interaction plays a crucial role in molecular recognition of a given acid by brucine or strychnine.

Diastereomeric diversification can be realized in various ways. In extreme cases, when molecular recognition in crystals of particular diastereomeric salts is similar, diastereomeric diversification is governed by different factors, depending on factors governing molecular recognition. Hydrophobic interactions play an important role in diastereomeric diversification when molecular recognition is governed by hydrogen bonds. In turn, when molecular recognition is governed by hydrophobic interactions, different hydrogen bond systems in crystals of particular salts are responsible for their diastereomeric diversification.

Keywords: racemic resolution, diastereomeric salts, resolving agent, diastereomeric diversification, molecular recognition

Słowa kluczowe: rozdział racemiczny, sole diastereomeryczne, czynnik rozdziający, zróżnicowanie diastereomeryczne, rozpoznanie molekularne

WPROWADZENIE

Chiralność zawsze fascynowała i interesowała naukowców, gdyż wiąże się ją z początkiem powstania układów ożywionych. Jest niemal paradoksem, że większość ważnych biocząsteczek, jak białka czy DNA, zbudowana jest z jednostek homochiralnych, podczas gdy jedynie niewielka liczba mieszanin racemicznych wykazuje tendencje do spontanicznego rozdziału. Ważną konsekwencją istnienia homochiralności w układach ożywionych jest zdolność do rozróżniania enancjomerów danego związku podczas rozpoznania molekularnego, co może prowadzić do różnych doznań zapachowych, smakowych lub też skutkować odmiennym działaniem farmakologicznym [1–4]. Zapotrzebowanie na związki w formie optycznie czystej jest ogromne biorąc pod uwagę różnorodność ich zastosowań w przemyśle farmaceutycznym, agrochemicznym czy spożywczym [5]. Niejednokrotnie konieczność ich stosowania uwarunkowana jest dyrektywami takich jednostek jak FDA (*U.S. Food and Drug Administration*) czy EMA (*European Medicines Agency*) [6, 7].

Zdarza się często, że synteza chemiczna enancjomerycznie czystego związku jest niemożliwa lub ekonomicznie nieopłacalna, dlatego konieczne jest rozwijanie metod chromatograficznych, biochemicznych i krystalizacyjnych służących do rozdziału mieszanin racemicznych. Jedną z najczęściej stosowanych metod rozdziału kwasów racemicznych lub racemicznych zasad jest metoda tworzenia i frakcyjnej krystalizacji soli diastereomerycznych. Metoda ta po raz pierwszy została zaproponowana przez Pasteura ponad 150 lat temu [8] i z biegiem czasu pojawiły się różne jej warianty, takie jak metoda Pope i Peachey'a [9], popularna metoda nazywana „Dutch resolution” odkryta przez holenderskiego naukowca Tona Vriessa [10] oraz metoda rozdziału kontrolowanego dielektrycznie (ang. *dielectrically controlled resolution*) [11, 12]. W metodach tych cząsteczki racemicznego kwasu (lub racemicznej zasady) reagują z cząsteczkami czynnika rozdzielającego, którym jest optycznie czysta zasada (lub optycznie czysty kwas). Powstałe w reakcji sole diastereomeryczne wykazują zazwyczaj odmienne właściwości fizyczne, a przede wszystkim różną rozpuszczalność, co umożliwia krystalizację frakcyjną i prowadzi do produktu z dużym nadmiarem enancjomerycznym. Pope i Peachey proponowali, aby w rozdziale racemicznym ilość użytego czynnika rozdzielającego była równa połowie (w stosunku molowym) ilości rozdzielanej substancji [9]. W metodzie „Dutch resolution” zamiast jednego czynnika rozdzielającego używa się kilku spokrewnionych czynników rozdzielających [10]. W rozdziale kontrolowanym dielektrycznie reakcję tworzenia soli diastereomerycznych prowadzi się w rozpuszczalnikach o różnej stałej dielektrycznej. Zmiana stałej dielektrycznej rozpuszczalnika może spowodować, że sól diastereomeryczna lepiej rozpuszczalna w jednym rozpuszczalniku staje się gorzej rozpuszczalna w innym [11, 12].

Jeżeli warunki rozdziału racemicznego (czynnik rozdzielający, rozpuszczalnik, stężenie, temperatura itd.) są odpowiednie, to najpierw krystalizuje sól trudniej rozpuszczalna, a następnie sól łatwiej rozpuszczalna. Jednak w niektórych przypadkach zdarza się, że sole diastereomeryczne współkrystalizują ze sobą, zamiast tworzyć

oddzielne fazy krystaliczne. W wyniku współkrystalizacji mogą powstać roztwory stałe lub sole podwójne. Roztwory stałe charakteryzują się zmiennym stosunkiem obu soli diastereomerycznych, gdyż wchodzące w ich skład rozdzielane enancjomery mogą zajmować w sposób statystyczny ekwiwalentne położenia w sieci krystalicznej. Natomiast w kryształach soli podwójnych stosunek stechiometryczny obu soli diastereomerycznych jest ściśle określony i rozdzielane enancjomery zajmują w kryształach niezależne położenia [13].

Warto tutaj wspomnieć, że oczyszczanie związków organicznych od zanieczyszczeń poprzez krystalizację opiera się na ograniczonej tendencji tych związków do współkrystalizacji. Niestety, sole diastereomeryczne zachowują się inaczej i zjawiska współkrystalizacji i tworzenia roztworów stałych są powszechnie obserwowane w próbach rozdzielania racemicznego metodą Pasteura [13–15]. Przyczyniają się one do braku efektywności tego typu rozdzielaczy, dlatego wybór odpowiedniego czynnika rozdzielającego jest w tym procesie kluczowy.

Każdego roku w literaturze naukowej pojawiają się doniesienia o efektywnych oraz nieefektywnych rozdzielaczach racemicznych, o modelowaniach wspomaganych komputerowo, o szczegółowych badaniach zależności strukturalnych pomiędzy solami diastereomerycznymi, o badaniach różnic energetycznych takich soli, a także doświadczalnych korelacji między nimi [13, 16–23]. Wszystkie te badania dostarczają coraz więcej informacji o rozpoznaniu molekularnym, enancjosepcyficzności oraz enancjoselektywności danego czynnika rozdzielającego i parametrach/czynnikach odpowiedzialnych za odmienne właściwości fizyczne, w tym różną trwałość i rozpuszczalność pary soli diastereomerycznych. Najbardziej fundamentalnym wymogiem dla efektywnego rozdzielacza jest to, aby różnica trwałości pomiędzy solami diastereomerycznymi była jak największa. Nadal nie jest jednak do końca jasne, w jaki sposób racjonalnie wybrać czy zaprojektować czynnik rozdzielający, aby taką różnicę osiągnąć [24].

Trwałość poszczególnych soli diastereomerycznych jest odzwierciedleniem struktury krystalicznej, dlatego analiza porównawcza oddziaływań międzycząsteczkowych w kryształach soli diastereomerycznych może dostarczyć cennych informacji, które mogą być pomocne w projektowaniu kolejnych rozdzielaczy racemicznych. Nieistotne czy czynnikiem rozdzielającym jest naturalnie występujący alkaloid czy inna alifatyczna amina pierwszo-, drugo- lub trzeciorzędowa – w wyniku reakcji z kwasem następuje protonacja aminy i deprotonacja kwasu. Zazwyczaj pomiędzy kationem aminy i anionem kwasu w kryształach obserwuje się silne jonowe wiązanie wodorowe $N-H^+ \cdots O^-$. Ponieważ silne wiązanie wodorowe zazwyczaj występuje w kryształach obu soli diastereomerycznych, tworzenie pary jonowej związanej takim oddziaływaniem nie tłumaczy ani enancjosepcyficzności, ani enancjoselektywności danego czynnika rozdzielającego. Sugeruje się, że pewne motywy wiązań wodorowych odgrywają ważną rolę w większej stabilizacji soli trudniej rozpuszczalnej. Wśród tych motywów są kolumny o symetrii względem osi dwukrotnej śrubowej [25–28], warstwy [29], czy pojedyncze [30] lub podwójne łańcuchy [31, 32].

W wielu przypadkach enancjoselektywność czy enancjospetyficzność przypisuje się zarówno silnym wiązaniom wodorowym, jak i słabszym oddziaływaniom międzycząsteczkowym. W kryształach soli diastereomerycznych upakowanie komponentów kryształu czy też tworzące się sieci wiązań wodorowych mogą być podobne lub całkiem różne. Zdarza się, że stereochemicznie podobne czynniki rozdzielające tworzą trudniej rozpuszczalne sole diastereomeryczne z różnymi enancjomerami rozdzielanej mieszaniny racemicznej [33, 34]. Rozdział racemiczny może przebiegać w odmienny sposób przy zmianie temperatury lub/i użytego rozpuszczalnika czy też mieszaniny rozpuszczalników. Zmiana temperatury krystalizacji czy też rozpuszczalnika może prowadzić do powstawania odmiennych form krystalicznych (polimorficznych) lub do krystalizacji różnie solwatowanych soli diastereomerycznych. Sól trudniej rozpuszczalna otrzymana w jednych warunkach może być solą łatwiej rozpuszczalną otrzymaną w innych warunkach.

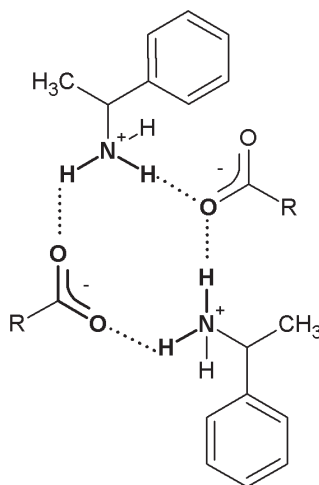
W metodzie rozdziału kwasu racemicznego poprzez krystalizację frakcyjną soli diastereomerycznych czynnikiem rozdzielającym może być dowolna optycznie czysta chiralna amina. Niemniej jednak niektóre chiralne aminy są częściej stosowane od innych, co między innymi wynika z ich dostępności i ceny. Często stosowanymi czynnikami rozdzielającymi racemiczne kwasy są alkaloidy izolowane z produktów naturalnych, takie jak brucyna, strychnina, cynchonina, chinina, chinidyna oraz cynchonidyna. Stosuje się również chiralne aminy pierwszo-, drugo- i trzeciorzędowe otrzymane na drodze syntezy chemicznej, które dostępne są w obu formach enancjomerycznych, co, zgodnie z zasadą Marckwalda [35], w zależności od użytego enancjomeru czynnika rozdzielającego pozwala na otrzymanie obu enancjomerów rozdzielanego kwasu z trudniej rozpuszczalnej soli diastereomerycznej. Wybór odpowiedniego czynnika rozdzielającego dokonywany jest zazwyczaj metodą prób i błędów. Przy wyborze czynnika rozdzielającego w sposób bardziej kontrolowany pomocne mogą być informacje o tendencjach związanych z rozpoznaniem molekularnym i zróżnicowaniem diastereomerycznym, które otrzymuje się z porównania struktur krystalicznych soli amin wykorzystanych w rozdziale kwasów racemicznych. Przedstawione poniżej porównanie nie uwzględnia wszystkich czynników rozdzielających, ale pokazuje różnice i podobieństwa strukturalne soli wybranych, często stosowanych amin pierwszo-, drugo- i trzeciorzędowych.

1. CHARAKTERYSTYCZNE MOTYWY STRUKTURALNE W KRYSTAŁACH SOLI CZYNNIKÓW ROZDZIELAJĄCYCH

1.1. SOLE PIERWSZORZĘDOWYCH AMIN ALIFATYCZNYCH

Wśród amin pierwszorzędowych stosowanych do rozdziału mieszanin racemicznych kwasów często stosuje się 1-aryloetyloaminy, a do najczęściej stosowanych należy 1-fenyletyloamina. W Strukturalnej Bazie Danych z Cambridge (CSD,

wersja 5.35) [36] zdeponowano współrzędne atomów dla 366 struktur krystalicznych soli kwasów karboksylowych z 1-aryloetyloaminą. Spośród nich, 324 struktury krystaliczne są chiralne. W większości z nich występują kolumny zawierające hydrofilowy rdzeń i hydrofobową powierzchnię zewnętrzną. Grupy aminowe kationów i karboksylanowe anionów są skierowane do wnętrza kolumny i tworzą charakterystyczną sieć wiązań wodorowych, którą można opisać symbolem grafu $R_4^3(10)$, gdzie R oznacza deskryptor sieci, w tym przypadku pierścień, liczba w indeksie górnym oznacza liczbę akceptorów wiązań wodorowych w tym pierścieniu, liczba w indeksie dolnym oznacza liczbę donorów wiązań wodorowych, a liczba w nawiasie oznacza całkowitą liczbę atomów tworzących pierścień [37–39]. W takim pierścieniowym układzie wiązań wodorowych uczestniczą dwie grupy aminowe i dwie grupy karboksylanowe (schemat 1). Spośród 366 struktur krystalicznych soli kwasów karboksylowych i 1-aryloetyloaminy, układ wiązań wodorowych opisany grafem $R_4^3(10)$ obecny jest w 252 strukturach, co stanowi 69% wszystkich analizowanych struktur. Jeśli rozpatrywać jedynie chiralne kryształy soli 1-aryloetyloaminy, taki układ wiązań wodorowych ma 72% struktur (235 z 324).



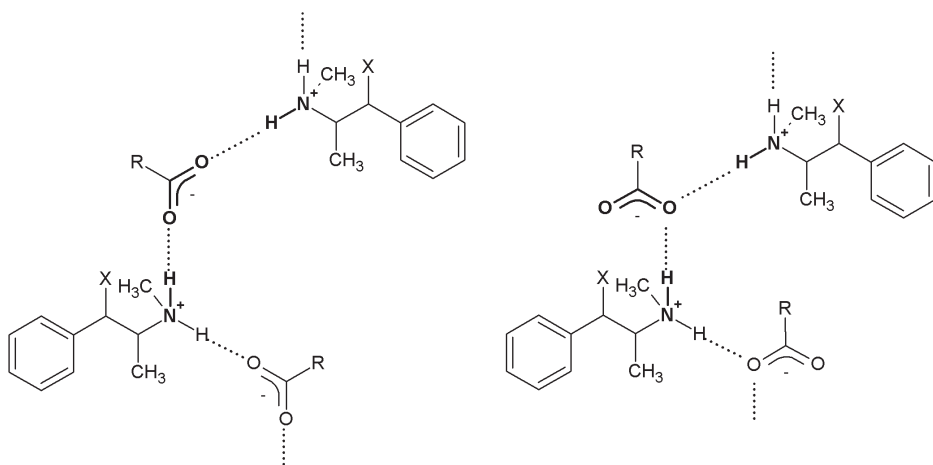
Schemat 1. Charakterystyczny układ wiązań wodorowych $R_4^3(10)$ w kryształach soli 1-aryloetyloamin z kwasami karboksylowymi

Scheme 1. The common $R_4^3(10)$ system of hydrogen bonds in crystals of 1-arylethylammonium salts with carboxylic acids

1.2. SOLE DRUGORZĘDOWYCH AMIN ALIFATYCZNYCH

Drugorzędowe chiralne aminy alifatyczne wykorzystywane w rozdziale racemicznych kwasów reprezentowane są przez takie związki jak efedryna, pseudoefedryna czy dezoksyefedryna. W CSD zdeponowano dane dla 46 struktur soli tych amin z kwasami karboksylowymi. Obserwowane w wielu kryształach soli upako-

wanie w postaci podwójnych warstw odzwierciedla amfilowy charakter amin. Polarne grupy funkcyjne, protonowana grupa aminowa dezoksyefedryny lub grupy hydroksylowa i protonowana aminowa efedryny lub pseudoefedryny, skierowane są do wnętrza warstwy, a części hydrofobowe na zewnątrz. W większości struktur soli (około 67% z 46), podwójna warstwa zbudowana jest z helikalnych lub zygzakowatych łańcuchów, które można opisać symbolami grafów $C_2^2(6)$ lub $C_2^1(4)$ i które utworzone są poprzez jonowe wiązania wodorowe $N-H^+ \cdots O^-$ (Schemat 2). W kryształach samych amin również obserwuje się ułożenie cząsteczek w podwójne warstwy. W solach amin, w związku z wbudowaniem anionu poprzez siły kulombowskie i wiązania wodorowe, w zależności od jego wielkości i charakteru hydrofilowego/amfilowego, podwójne warstwy aminy albo są rozciągnięte, albo przekształcone w mieszane podwójne warstwy lub w warstwy naprzemiennie [40]. W warstwach mieszanych, części hydrofobowe kationów i anionów umiejscowione są po obu stronach podwójnej warstwy. W warstwach naprzemiennych grupy hydrofobowe kationów i anionów zorientowane są w przeciwnych kierunkach w stosunku do wewnętrznego obszaru hydrofilowego warstwy.



Schemat 2. Charakterystyczne układy wiązań wodorowych $C_2^2(6)$ (z lewej) oraz $C_2^1(4)$ (z prawej) w kryształach soli efedryny (X = OH), pseudoefedryny (X = OH) lub dezoksyefedryny (X = H)

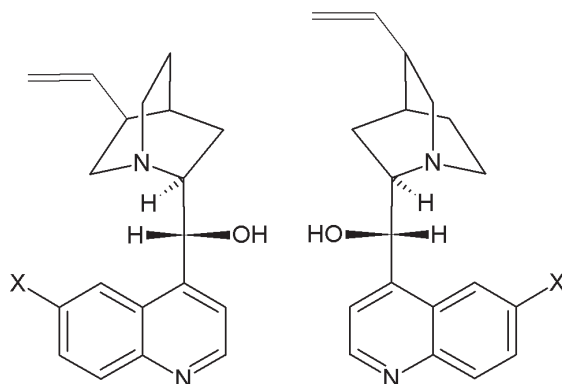
Scheme 2. The common $C_2^2(6)$ (left) and $C_2^1(4)$ (right) systems of hydrogen bonds in crystals of ephedrinium (X = OH), pseudoephedrinium (X = OH) or deoxyephedrinium (X = H) salts

1.3. SOLE TRZECIORZĘDOWYCH AMIN ALIFATYCZNYCH

W rozdziale mieszanin racemicznych kwasów chinina, cynchonidyna, chinidyna, cynchonina, brucyna i strychnina należą do najczęściej stosowanych trzeciorzędowych amin chiralnych.

1.3.1. Sole chininy, cynchonidyny, chinidyny i cynchoniny

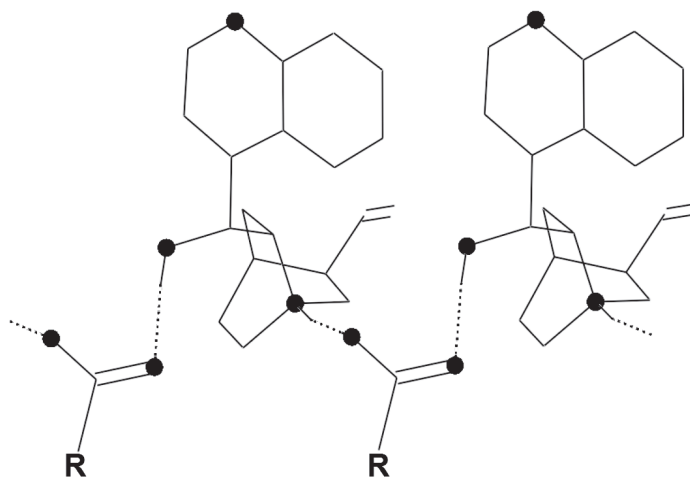
Woodward wraz z innymi zauważyli, że niektóre pary alkaloidów chinoliny-owych zachowują się jak kwazienancjomery [41]. Takimi parami kwazienancjome-rów są chinina i chinidyna, cynchonidyna i cynchonina, chinina i cynchonina, oraz cynchonidyna i chinidyna (Schemat 3) [24]. Istnienie kwazienancjomerycznej zależności daje możliwość wyizolowania obu enancjomerów danego kwasu z trud-niej rozpuszczalnej soli diastereomerycznej, w zależności od zastosowanego kwazie-nancjomerycznego czynnika rozdzielającego.



Schemat 3. Wzory strukturalne: (z lewej) chininy ($X = \text{OCH}_3$) i cynchonidyny ($X = \text{H}$), (z prawej) chinidyny ($X = \text{OCH}_3$) i cynchoniny ($X = \text{H}$)

Scheme 3. The chemical diagram of: (left) quinidine ($X = \text{OCH}_3$) and cinchonidine ($X = \text{H}$), (right) quinidine ($X = \text{OCH}_3$) and cinchonine ($X = \text{H}$)

Dla struktur krystalicznych soli chininy, chinidyny, cynchoniny czy cynchoni-dyny charakterystyczne są oddziaływania grupy karboksylanowej anionu z sąsied-nimi, związanymi symetrią translacyjną, kationami alkaloidu (schemat 4). Dono-rami w tych wiązaniach wodorowych są protonowany atom azotu jednego kationu i grupa hydroksylowa kolejnego kationu. W wyniku tych oddziaływań tworzą się łańcuchy opisane symbolem grafu $C_2^2(9)$, które obecne są w ponad 54% struktur soli zdeponowanych w CSD (66 struktur zawierających współrządne atomów). W więk-szości tych struktur grupy chinolinowe sąsiadnych łańcuchów ułożone są w jodełkę i tworzą wiązania wodorowe $\text{C-H}\cdots\pi$.

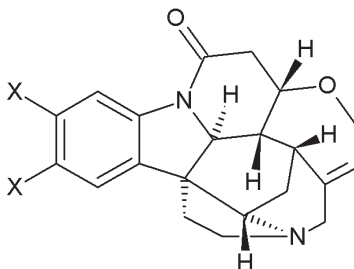


Schemat 4. Charakterystyczny układ wiązań wodorowych $C_2(9)$ w kryształach soli chininy, chinidyny, cynchoniny lub cynchonidyny

Scheme 4. The common $C_2(9)$ system of hydrogen bonds in crystals of quininium, quinidinium, cinchoninium or cinchonidinium salts

1.3.2. Sole brucyny i strychniny

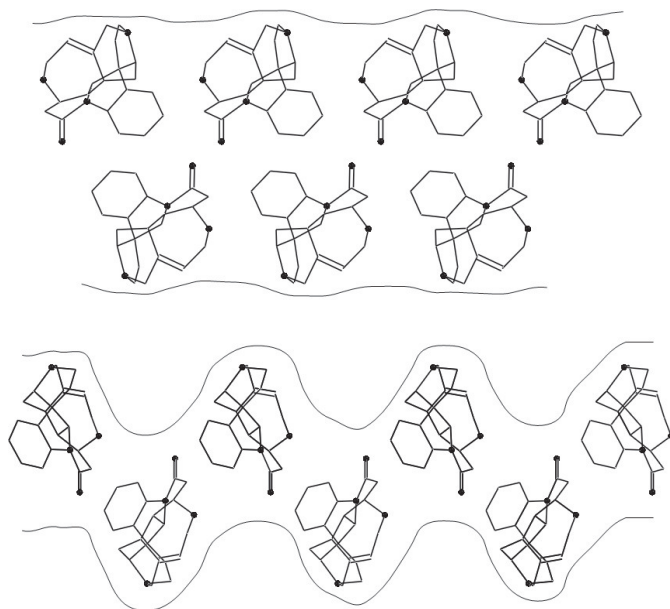
Brucyna i strychnina są alkaloidami o podobnej stereochemii, ale brucyna, w odróżnieniu od strychniny, posiada dwie grupy metoksyłowe związane z układem arenowym (Schemat 5). W odróżnieniu od wszystkich powyżej wspomnianych czynników rozdzielających, w kryształach soli brucyny lub strychniny nie da się wyróżnić sieci silnych wiązań wodorowych, która byłaby charakterystyczna dla większej grupy związków. Natomiast oba alkaloidy wykazują silną tendencję do tworzenia charakterystycznie zbudowanych warstw stabilizowanych jedynie słabymi oddziaływaniami $C-H \cdots O/\pi$ i oddziaływaniami van der Waalsa. Co ciekawe, charakterystyczne warstwy tworzone przez kationy strychniny mają zupełnie inną budowę niż warstwy tworzone przez kationy brucyny [33].



Schemat 5. Wzór strukturalny strychniny ($X = H$) i brucyny ($X = OCH_3$)

Scheme 5. The chemical diagram of strychnine ($X = H$) and brucine ($X = OCH_3$)

W ponad 79% struktur soli strychniny (27 z 34 struktur zdeponowanych w CSD), kationy związane symetrią translacyjną ułożone są w kolumny stabilizowane poprzez oddziaływania van der Waalsa oraz względnie krótkie wiązania wodorowe C-H... π [42]. W zależności od sposobu oddziaływania ze sobą sąsiednich kolumn można wyróżnić dwa dominujące motywy upakowania kationów strychniny: warstwę podwójną i warstwę pofałdowaną (Rys. 1). Pierwsza charakteryzuje się tym, że na jej prawie płaskiej powierzchni znajdują się grupy protonodonorowe. Natomiast w przypadku warstwy pofałdowanej protonowany trzeciorzędowy atom azotu umiejscowiony jest w części wypukłej, a atom tlenu grupy amidowej znajduje się w części wklęsłej pofałdowanej powierzchni warstwy.

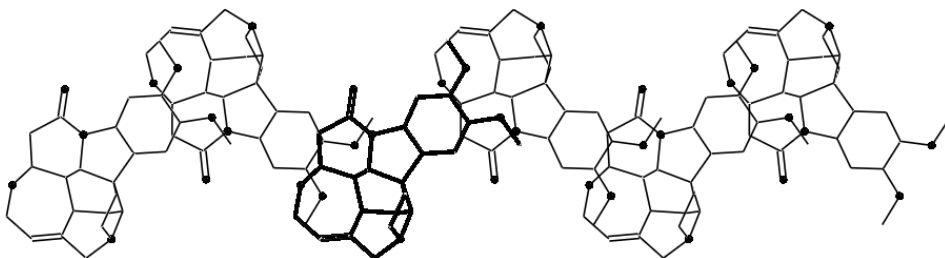


Rysunek 1. Charakterystyczna podwójna (góra) i pofałdowana (dół) warstwa kationów strychniny
 Figure 1. The common strychninium bilayer (up) and corrugated monolayer (down)

W 70% ze 102 struktur krystalicznych soli brucyny zdeponowanych w CSD kationy brucyny związane symetrią osi dwukrotnej śrubowej ułożone są we wstęgi. Wstęgi te stabilizowane są poprzez oddziaływania van der Waalsa i wiązania wodorowe C-H...O i C-H... π [43, 44]. W większości tych struktur (ponad 77%) wstęgi zorganizowane są w pofałdowane warstwy, w których, podobnie jak w pofałdowanych warstwach kationów strychniny, protonowany trzeciorzędowy atom azotu znajduje się w części wypukłej, a amidowy atom tlenu w części wklęsłej powierzchni warstwy (Rys. 2). Protonowany atom azotu brucyny i strychniny zazwyczaj uczestniczy w jonowym wiązaniu wodorowym N-H⁺...O⁻. Analiza statystyczna wykazała, że amidowy atom tlenu w pofałdowanej warstwie kationów strychniny wykazuje silną tendencję do tworzenia słabych oddziaływań C-H...O z anionem kwasu. Dla

odmiany, amidowy atom tlenu w pofałdowanej warstwie kationów brucyny chętnie tworzy silne wiązania wodorowe O-H...O z cząsteczkami rozpuszczalnika.

Fakt, że stereochemicznie podobne kationy brucyny i strychniny tworzą warstwy o odmiennych strukturach i systemie oddziaływań międzycząsteczkowych wskazuje na źródło różnic w ich enancjospicyficzności i enancjoselektywności. Taką różną enancjospicyficzność strychnina i brucyna wykazują w rozpoznaniu *N*-podstawionej alaniny: strychnina tworzy trudniej rozpuszczalną sól z *N*-benzoilo-L-alaniną, natomiast brucyna z *N*-benzoilo-D-alaniną [33]. Przykładu różnicy w enancjoselektywności może dostarczyć rozdział, lub próba rozdziału, *N*-(4-nitrobenzoilo)seryny i *N*-(3,5-dinitrobenzoilo)alaniny. Strychnina jest skutecznym czynnikiem rozdzielającym oba te kwasy [19, 42], natomiast brucyna tworzy roztwory stałe soli z *N*-(4-nitrobenzoilo)seryną [14] i sole podwójne z *N*-(3,5-dinitrobenzoilo)alaniną [45].



Rysunek 2. Charakterystyczna pofałdowana warstwa kationów brucyny
Figure 2. The common corrugated brucinium monolayer

2. ROZPOZNANIE MOLEKULARNE

Z powyższej analizy statystycznej wyłania się kluczowa różnica w rozpoznaniu rozdzielanych kwasów racemicznych przez poszczególne czynniki rozdzielające. Za wyjątkiem brucyny i strychniny, dominującą rolę w rozpoznaniu kwasu przez wszystkie wspomniane powyżej czynniki rozdzielające odgrywa utworzenie charakterystycznego układu silnych wiązań wodorowych pomiędzy kationami i anionami. Mechanizm takiego rozpoznania doskonale wyłania się zwłaszcza z analizy statystycznej dużej grupy struktur soli 1-aryloetyloaminy, gdzie w 72% struktur występuje podobna sieć wiązań wodorowych organizująca kationy i aniony w kolumny kationowo-anionowe. W przypadku soli amin drugorzędowych: efedryny, pseudoefedryny i dezoksyefedryny, a także w przypadku soli amin trzeciorzędowych: chininy, chinidyny, cynchoniny i cynchonidyny, kationy i aniony połączone wiązaniami wodorowymi tworzą łańcuchy kationowo-anionowe. Strychnina i brucyna są pod tym względem wyjątkiem, gdyż kationy tych alkaloidów układają się w charakterystyczne warstwy, za stabilizację których odpowiedzialne są jedynie słabe oddziaływania hydrofobowe. Oddziaływania te obserwowane są kolejno w 70 i 79%

struktur soli brucyny i strychniny. Należy dodać, że w większości przypadków ułożenie kationów tych amin w kryształ nie jest zdeterminowane oddziaływaniami z anionami kwasu.

Te dwie różne tendencje obserwowane w rozpoznaniu kwasów przez chiralne aminy, a więc tworzenie charakterystycznego układu silnych wiązań wodorowych przez aminowy czynnik rozdzielający z anionem karboksylanowym oraz przestrzenne dopasowanie anionów karboksylanowych do struktur warstwowych tworzonych przez kationy, znajdują swoje odzwierciedlenie w analizie statystycznej obejmującej cząsteczki rozpuszczalnika w strukturach analizowanych soli. Gdy dominującą rolę w strukturze soli odgrywają oddziaływania hydrofobowe, czynniki steryczne mogą zablokować możliwość utworzenia silnych wiązań wodorowych pomiędzy odpowiednimi grupami funkcyjnymi anionów i kationów. W takich przypadkach cząsteczki rozpuszczalnika zdolne do tworzenia wiązań wodorowych mogą przyjąć funkcję „mostka” łączącego poszczególne grupy funkcyjne. Taką rolę często pełnią cząsteczki wody, które wbudowują się w kryształ soli nawet wtedy, gdy związek nie był krystalizowany z roztworu wodnego. Z drugiej strony, gdy tworzenie wiązań wodorowych jest dominującym czynnikiem w rozpoznaniu kwas-amina, obecność mostkujących cząsteczek rozpuszczalnika jest mniej prawdopodobna. Z analizy statystycznej wynika, że obecność grupy karboksylanowej w kryształ zwiększa prawdopodobieństwo powstania hydratów [46]. Wśród wszystkich struktur zdeponowanych w bazie CSD 6,6% stanowią hydraty, jednakże dla soli kwasów karboksylowych udział hydratów rośnie do 35 %, a dla związków zawierających trzy grupy karboksylanowe sięga aż 72%. Tak więc zgodnie z tą statystyką około 35% soli brucyny i strychniny oraz 35% soli 1-aryloetyloaminy z kwasami karboksylowymi powinno zawierać cząsteczki wody. Tak jednak się nie dzieje, gdyż sole 1-aryloetyloaminy wykazują słabą tendencję do tworzenia solwatów i tylko 6% soli 1-aryloetyloaminy zawiera cząsteczki rozpuszczalnika. W przypadku brucyny 89% wszystkich jej soli z kwasami karboksylowymi tworzy solwaty.

3. ZRÓŻNICOWANIE DIASTEREOMERYCZNE

Ponieważ rozpoznanie molekularne dla różnych czynników rozdzielających może mieć odmienny charakter to czynniki determinujące zróżnicowanie diastereomeryczne też mogą być różne. Zróżnicowanie diastereomeryczne, które między innymi jest odpowiedzialne za to, która sól z pary soli diastereomerycznych jest trudniej a która łatwiej rozpuszczalna, może być realizowane na różne sposoby.

3.1. SOLE 1-ARYLOETYLOAMINY

Liczba czynników, które mogą wpływać na zróżnicowanie diastereomeryczne soli 1-aryloetyloaminy jest ograniczona, gdyż wykazują one silną tendencję do

tworzenia charakterystycznych układów wiązań wodorowych oraz praktycznie nie tworzą soli solwatowanych. Powoduje to, że sole te są przedmiotem licznych badań doświadczalnych oraz teoretycznych. W bazie danych CSD znajdują się dane strukturalne dla 27 par soli diastereomerycznych 1-aryloetyloaminy. W badaniach, w których otrzymano niektóre z tych soli diastereomerycznych 1-aryloetyloamina użyta została w postaci mieszaniny racemicznej i była substancją rozdzielaną. W innych badaniach użyty został jeden z jej enancjomerów i 1-aryloetyloamina posłużyła jako czynnik rozdzielający. Skuteczny rozdział mieszaniny racemicznej aminy przez jeden z enancjomerów kwasu nie oznacza, że mieszaninę racemiczną tego kwasu można rozdzielić stosując jeden z enancjomerów danej aminy i odwrotnie [47–49]. Wśród tych 27 par soli diastereomerycznych 1-aryloetyloaminy jest sześć par, dla których charakterystyczny układ wiązań wodorowych $R_4^3(10)$ występuje tylko w jednej soli. Obserwowane różnice wynikają np. z obecności wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego w strukturze jednej soli diastereomerycznej i międzycząsteczkowego wiązania wodorowego w drugiej [50]. W pozostałych 21 parach soli diastereomerycznych występuje charakterystyczny układ wiązań wodorowych $R_4^3(10)$. Różna trwałość soli diastereomerycznych w takich przypadkach wynika z dodatkowych wiązań wodorowych i/lub oddziaływania van der Waalsa, a także różnic konformacyjnych prowadzących do różnego upakowania kolumn w kryształach [51]. Zostało to również przewidziane jakościowo w oparciu o modelowanie struktur krystalicznych [49]. W swoich badaniach nad rozdziałem racemicznych 1-aryloetyloamin za pomocą kwasu migdałowego lub *p*-metoksymigdałowego Kinbara wraz ze współpracownikami zauważyli, że w kryształach soli trudniej rozpuszczalnych kolumny stabilizowane przez charakterystyczną sieć wiązań wodorowych ułożone są w warstwy o względnie płaskich powierzchniach, podczas gdy w kryształach soli łatwiej rozpuszczalnych warstwy albo nie mają płaskich powierzchni, albo układ wiązań wodorowych jest inny niż w kryształach soli trudniej rozpuszczalnych. Zasugerowali oni, że przy wyborze odpowiedniego czynnika rozdzielającego dla 1-aryloetyloaminy dużą rolę gra komplementarność geometryczna (porównywalna wielkość/długość) cząsteczek czynnika rozdzielającego i związku rozdzielanego [52]. Pokazali również, że zastosowanie zamiast kwasu migdałowego optycznie czystego kwasu 2-naftyloglikolowego do rozdziału *para*-podstawionych 1-fenyloetyloamin prowadzi do bardziej efektywnego rozdziału dzięki zachowaniu charakterystycznego układu wiązań wodorowych pomiędzy grupami amoniowymi i karboksylanowymi oraz dodatkowej obecności wiązań wodorowych C-H $\cdots\pi$ pomiędzy pierścieniem benzenowym kationów i grupą naftylową anionów [53].

Podobne zależności zróżnicowania diastereomerycznego obserwuje się wśród par soli diastereomerycznych efedryny, pseudoefedryny, dezoksyefedryny, chininy, cynchoniny czy cynchonidyny. Kryształy poszczególnych soli diastereomerycznych mogą wykazywać odmienną budowę, co odzwierciedlone jest w dużych różnicach ich rozpuszczalności [54, 55]. Mogą również wykazywać podobną budowę,

wtedy czynnikiem różnicującym obie sole diastereomeryczne jest, przykładowo, różna orientacja grup hydrofobowych [56], oddziaływanie C-H \cdots O [57] lub C-H $\cdots\pi$ obserwowane jedynie w kryształach trudniej rozpuszczalnej soli diastereomerycznej [58].

3.2. SOLE BRUCYNY I STRYCHNINY

W wyniku rozdziału racemicznego za pomocą brucyny lub strychniny mogą powstać kryształy trudniej i łatwiej rozpuszczalnej soli o kompletnie różnej budowie wewnętrznej. Jako przykład posłużyć może rozdział mieszaniny racemicznej *N*-ftaloilo-treo- β -hydroksyleucyny poprzez krystalizację frakcyjną soli brucyny [59]. Jedynymi wspólnymi elementami w budowie tych soli diastereomerycznych są jonowe wiązanie wodorowe N-H $^+$ \cdots O $^-$ oraz wewnątrzcząsteczkowe wiązanie O-H \cdots O. Natomiast orientacja anionu w stosunku do kationu, a także upakowanie anionów i kationów w tych kryształach są zupełnie różne. Struktury krystaliczne soli diastereomerycznych tych alkaloidów mogą jednak również wykazywać duże podobieństwo, jak np. w kryształach powstałych podczas rozdziału mieszanin racemicznych *N*-(4-nitrobenzoilo)aminokwasów (alanina, seryna, kwas asparaginowy) [19] czy *N*-(3,5-dinitrobenzoilo)asparaginy poprzez krystalizację frakcyjną soli diastereomerycznych strychniny [45]. W kryształach obu soli diastereomerycznych rozpoznanie hydrofobowej grupy 4-nitrobenzoilowej lub 3,5-dinitrobenzoilowej zachodzi w głębokich rowkach na pofałdowanej powierzchni charakterystycznej warstwy kationów strychniny. Czynnikiem różnicującym sole diastereomeryczne jest tutaj odmienna sieć wiązań wodorowych, w którą zaangażowane są różne liczby cząsteczek rozpuszczalnika.

Powyższe porównanie wskazuje na odmienne czynniki odpowiedzialne za zróżnicowanie diastereomeryczne w solach czynników rozdzielających. W skrajnych przypadkach, kiedy rozpoznanie molekularne obu enancjomerów rozdzielanego kwasu przez czynnik rozdzielający jest podobne, zróżnicowanie diastereomeryczne w kryształach soli 1-aryloetyloaminy związane jest głównie z odmiennymi oddziaływaniami hydrofobowymi. W przypadku soli brucyny lub soli strychniny, gdy hydrofobowe rozpoznanie enancjomerów rozdzielanego kwasu jest podobne, zróżnicowanie diastereomeryczne związane jest z odmiennymi sieciami wiązań wodorowych w kryształach soli diastereomerycznych.

4. ROZDZIAŁ RACEMICZNY

Niezależnie od zastosowanego czynnika rozdzielającego, rozdział racemiczny jest zazwyczaj tym bardziej skuteczny, im większe są różnice w budowie i trwałości poszczególnych soli diastereomerycznych.

Roztwory stałe mogą się tworzyć, jeżeli poszczególne sole diastereomeryczne wykazują duże podobieństwo strukturalne, ale mogą również powstawać, jeżeli takie kwaziizomorficzne relacje nie występują [14, 24, 60–63]. Sole diastereomeryczne, które tworzą między sobą roztwory stałe, nawet jeśli wykazują duże podobieństwo strukturalne, mogą znacząco różnić się trwałością. Mimo różnej trwałości, rozdział takich soli uwarunkowany jest czynnikami kinetycznymi, wpływającymi na szybkość krystalizacji [63, 64].

W kryształach diastereomerycznych soli podwójnych często obserwuje się obecność lokalnego środka symetrii pomiędzy nierozdzielonymi komponentami. Często sole podwójne wykazują podobne upakowanie i sieć wiązań wodorowych jak te obserwowane w kryształach poszczególnych soli diastereomerycznych lub w kryształach soli zawierającej jon czynnika rozdzielającego i achiralny przeciwjon [45, 65–69]. Jednak strukturalne korelacje pomiędzy poszczególnymi solami diastereomerycznymi i odpowiednią solą podwójną mogą być inne. Takim przypadkiem jest sól brucyny z *N*-(3,5-dinitrobenzoilo)seryną, gdzie kryształy poszczególnych soli mają odmienną budowę, a kryształy soli podwójnej jeszcze inną. Budowa soli podwójnej brucyny z *N*-(3,5-dinitrobenzoilo)seryną ma cechy obu soli diastereomerycznych oraz charakteryzuje się dodatkowymi oddziaływaniami pomiędzy jonami, które nie są obserwowane w kryształach poszczególnych soli a które dodatkowo stabilizują strukturę soli podwójnej [45].

UWAGI KOŃCOWE

W pracy przedstawiono najbardziej charakterystyczne motywy strukturalne soli amin, które często wykorzystywane są w rozdziale mieszanin racemicznych kwasów poprzez krystalizację frakcyjną soli diastereomerycznych. Porównanie tych charakterystycznych motywów strukturalnych ujawnia odmienne czynniki decydujące o rozpoznaniu molekularnym i zróżnicowaniu diastereomerycznym. Tworzenie charakterystycznych układów silnych wiązań wodorowych pomiędzy kationami i anionami odgrywa dominującą rolę w rozpoznaniu danego kwasu przez większość amin uwzględnionych w porównaniu: 1-aryloetyloaminę, efedrynę, pseudoefedrynę, dezoksyefedrynę, cynchoninę, cynchonidynę, chininę czy chinidynę. Natomiast w rozpoznaniu danego kwasu przez strychninę lub brucynę znaczącą rolę przypisuje się tworzeniu charakterystycznych warstw stabilizowanych jedynie słabymi oddziaływaniami C-H \cdots O/ π i van der Waalsa.

Porównanie skrajnych przypadków, kiedy rozpoznanie molekularne obu enancjomerów rozdzielanego kwasu przez czynnik rozdzielający jest podobne, wskazuje na odmienne czynniki odpowiedzialne za zróżnicowanie diastereomeryczne. W grupie związków, w których tworzenie silnych wiązań wodorowych odgrywa dominującą rolę w rozpoznaniu molekularnym, zróżnicowanie diastereomeryczne związane jest głównie z odmiennymi oddziaływaniami hydrofobowymi. W przypadku soli brucyny lub soli strychniny, dla których istotne jest tworzenie charak-

terystycznych warstw stabilizowanych oddziaływaniami hydrofobowymi, zróżnicowanie diastereomeryczne związane jest z odmiennymi sieciami wiązań wodorowych w kryształach obu soli diastereomerycznych.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] I. Wessbuch, L. Leiserowitz, M. Lahav, *Top. Curr. Chem.*, 2005, **259**, 123.
- [2] R. Noyori, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2002, **41**, 2008.
- [3] W.S. Knowles, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2002, **41**, 1999.
- [4] K.B. Sharpless, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2002, **41**, 2024.
- [5] A.M. Rouhi, *Chiral Business. Chem. Eng. News* 2003, **81**, 45.
- [6] Development of new stereoisomeric drugs. <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm122883.htm>
- [7] Investigation of chiral active substances. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002816.pdf.
- [8] L.M. Pasteur, *Comptes Rendus*, 1848, **26**, 535.
- [9] W.J. Pope, S.J. Peachey, *J. Chem. Soc. Trans.*, 1899, **75**, 1066.
- [10] T. Vries, H. Wynberg, E. van Echten, J. Koek, W. ten Hoeve, R.M. Kellogg, Q.B. Broxterman, A. Minnaard, B. Kaptein, S. van der Sluis, L. Hulshof, J. Kooistra, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 1998, **37**, 2349.
- [11] K. Sakai, R. Sakurai, H. Nohira, *Top. Curr. Chem.*, 2007, **269**, 199.
- [12] K. Sakai, R. Sakurai, H. Hirayama, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, **15**, 1073.
- [13] V.S. Sistla, J. von Langermann, H. Lorenz, S. Seidel-Morgenstern, *Cryst. Growth Des.* 2011, **11**, 3761.
- [14] A. Białońska, Z. Ciunik, *CrystEngComm*, 2010, **12**, 2781.
- [15] M. Balawejder, D. Kiwala, H. Lorenz, A. Seidel-Morgenstern, W. Piątkowski, D. Antos, *Cryst. Growth Des.*, 2012, **12**, 2557.
- [16] H. Xu, W. J. Saletra, P. Iavicoli, B. Van Averbeke, E. Ghijsens, K.S. Mali, A.P.H.J. Schenning, D. Beljonne, R. Lazzaroni, D.B. Amabilino, S. De Feyter, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2012, **51**, 11981.
- [17] F.C. Ferreira, N.F. Ghazali, U. Cocchini, A.G. Livingston, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2006, **17**, 1337.
- [18] G. Descamps, Y. Cartigny, M. Sanselme, M.-N. Petit, S. Petit, E. Aubin, G. Coquerel, *Cryst. Growth Des.*, 2009, **9**, 3910.
- [19] A. Białońska, Z. Ciunik, *Acta Crystallogr.*, 2006, **B62**, 1061.
- [20] A. Białońska, Z. Ciunik, *CrystEngComm*, 2011, **13**, 967.
- [21] H.S. Guo, J.-M. Kim, X.-H. Pham, S.-M. Chang, W.-S. Kim, *Cryst. Growth Des.*, 2011, **11**, 53.
- [22] P.G. Karamertzanis, S.L. Price, *J. Phys. Chem. B*, 2005, **109**, 17134.
- [23] M. Habgood, *Cryst. Growth Des.* 2013, **13**, 4549.
- [24] J. Jacques, A. Collet, S.H. Wilen, *Enantiomers, Racemates, and Resolutions*, Krieger Publishing: Malabar, FL, 1994.
- [25] J. Liao, X. Peng, J. Zhang, K. Yu, X. Cui, J. Zhu, J. Deng *Org. Biomol. Chem.*, 2003, **1**, 1080.
- [26] K. Saigo, Y. Kobayashi, *Chem. Rec.*, 2007, **7**, 47.
- [27] Y. Kobayashi, H. Handa, J. Maeda, K. Saigo, *Chirality*, 2008, **20**, 577.
- [28] N. Ribeiro, K. Saigo, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2009, **20**, 2704.
- [29] Y. Kobayashi, Y. Kokubo, T. Aisaka, K. Saigo, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 2536.
- [30] Q. He, S. Rohani, J. Zhu, H. Gomaa, *Chirality*, 2012, **24**, 119.

- [31] Y. Peng, Q. He, S. Rohani, H. Jenkins, *Chirality*, 2012, **24**, 349.
- [32] A. Ichikawa, H. Ono, T. Echigo, Y. Mikata, *CrystEngComm*, 2011, **13**, 4536.
- [33] R.O. Gould, M.D. Walkinshaw, *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, **106**, 7840.
- [34] A. Białońska, Z. Ciunik, *CrystEngComm.*, 2004, **6**, 276.
- [35] W. Marckwald, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 1896, **29**, 42.
- [36] F.H. Allen, *Acta Crystallogr.*, 2002, **B58**, 380.
- [37] M.C. Etter, *Acc. Chem. Res.*, 1990, **23**, 120.
- [38] M.C. Etter, J.C. MacDonald, J. Bernstein, *Acta Crystallogr.*, 1990, **B46**, 256.
- [39] J. Bernstein, R.E. Davis, L. Shimoni, N.-L. Chang, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1995, **34**, 1555.
- [40] E.A. Collier, R.J. Davey, S.N. Black, R.J. Roberts, *Acta Crystallogr.*, 2006, **B62**, 498.
- [41] R.B. Woodward, M.P. Cava, W.D. Ollis, A. Hunger, H.U. Daeniker, K. Schenker, *Tetrahedron*, 1963, **19**, 247.
- [42] A. Białońska, Z. Ciunik, *CrystEngComm.*, 2006, **8**, 640.
- [43] A. Białońska, Z. Ciunik, *CrystEngComm*, 2006, **8**, 66.
- [44] A. Białońska, Z. Ciunik, *CrystEngComm.*, 2007, **9**, 570.
- [45] A. Białońska, Z. Ciunik, *Cryst. Growth Des.*, 2013, **13**, 111.
- [46] L. Infantes, L. Fábíán, W.D.S. Motherwell, *CrystEngComm.*, 2007, **9**, 65.
- [47] D.E. Turkington, E.J. MacLean, A.J. Lough, G. Ferguson, C. Glidewell, *Acta Crystallogr.*, 2005, **B61**, 103.
- [48] P.R. Anandamanoharan, P.W. Cains, A.G. Jones, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2006, **17**, 1867.
- [49] P.G. Karamertzanis, P.R. Anandamanoharan, P. Fernandes, P.W. Cains, M. Vickers, D.A. Tocher, A.J. Florence, S.L.J. Price, *Phys. Chem. B*, 2007, **111**, 5326.
- [50] M. Czugler, I. Csöreghe, *J. Mol. Struct.*, 1989, **196**, 157.
- [51] N. Marchini, G. Bombieri, R. Artali, C. Bolchi, M. Pallavicini, E. Valoti, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2005, **16**, 2099.
- [52] K. Kinbara, K. Sakai, Y. Hashimoto, H. Nohira, K. Saigo, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1996, 2615.
- [53] K. Kinbara, Y. Harada, K. Saigo, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2000, 1339.
- [54] E.J. Valente, M.C. Moore, *Chirality*, 2000, **12**, 16.
- [55] S. Larsen, H.L. de Diego, D. Kozma, *Acta Crystallogr.*, 1993, **B49**, 310.
- [56] A. Gjerløv, S. Larsen, *Acta Crystallogr.*, 1997, **B53**, 708.
- [57] E. Fogassy, M. Ács, F. Faigl, K. Simon, J. Rohonczy, Z. Ecsery, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1986, 1881.
- [58] E.J. Valente, T.N. Smith, M. E. Harris, *Chirality*, 2001, **13**, 244.
- [59] S. Kuwata, J. Tanaka, N. Onda, T. Yamada, T. Miyazawa, M. Sugiura, Y. In, M. Doi, M. Inoue, T. Ishida, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1993, **66**, 1501.
- [60] A.I. Kitaigorodsky, *Mixed Crystals*, Springer-Verlag, Berlin, 1984.
- [61] N.B. Báthori, L.R. Nassimbeni, C.L. Oliver, *Chem. Commun.*, 2011, **47**, 2670.
- [62] S. Müller, M.C. Afraz, R. de Gelder, G.J.A. Ariaans, B. Kaptein, Q.B. Broxterman, A. Bruggink, *Eur. J. Org. Chem.*, 2005, 1082.
- [63] A. Białońska, Z. Ciunik, *CrystEngComm*, 2013, **15**, 5681.
- [64] P.R. Anandamanoharan, P.W. Cains, A.G. Jones, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2006, **17**, 1867.
- [65] S. Larsen, H.L. de Diego, *Acta Crystallogr.* 1993, **B49**, 303.
- [66] M.-C. Brianso, M. Leclercq, J. Jacques, *Acta Crystallogr.*, 1979, **B35**, 2751.
- [67] H.L. de Diego, *Acta Chem. Scand.*, 1994, **48**, 306.
- [68] K. Kinbara, Y. Hashimoto, M. Sukegava, H. Nohira, K. Saigo, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 3441.
- [69] O. Achmatowicz, I. Malinowska, B. Szechner, J.K. Maurin, *Tetrahedron*, 1997, **53**, 7917.

**STRUKTURA A PATOGENEZA CHORÓB
ZWIĄZANYCH Z EKSPANSJĄ POWTÓRZEŃ CNG**
STRUCTURE AND PATHOGENESIS OF DISORDERS
RELATED TO CNG REPEATS

Agnieszka Kiliszek, Wojciech Rypniewski*

*Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk
ul. Noskowskiego 12/14, 61-704 Poznań
e-mail: wojtekr@ibch.poznan.pl

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Struktura drugorzędowa RNA wydłużonych powtórzeń CNG
2. Powtórzenia CUG
 - 2.1. Struktury krystaliczne RNA powtórzeń CUG
3. Powtórzenia CGG
 - 3.1. Struktury krystaliczne RNA powtórzeń CGG
4. Powtórzenia CAG
 - 4.1. Struktury krystaliczne RNA powtórzeń CAG
5. Powtórzenia CCG
 - 5.1. Struktury krystaliczne RNA powtórzeń CCG
6. Implikacje badań krystalograficznych powtórzeń CNG
 - 6.1. Ogólna struktura powtórzeń CNG
 - 6.2. Oddziaływania par N-N i ich wpływ na strukturę RNA
 - 6.3. Oddziaływania z rozpuszczalnikiem
 - 6.4. Aspekt biologiczny

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

Dr Agnieszka Kiliszek jest absolwentką Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza (2006). Studia doktoranckie odbyła w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, pod kierunkiem prof. Wojciecha Rypniewskiego. W 2011 roku obroniła z wyróżnieniem rozprawę doktorską pt. „Badania strukturalne powtórzeń CNG w sekwencjach RNA o znaczeniu w patogenezie TREDs”. Rozprawa została nagrodzona przez Premiera RP. Obecnie kontynuuje pracę jako adiunkt w IChB PAN. Jej zainteresowania obejmują badania krystalograficzne patogennych cząsteczek RNA, ich kompleksów z białkami i potencjalnymi terapeutykami.

Prof. dr hab. Wojciech Rypniewski ukończył kierunek biofizyka na Uniwersytecie w York (1983), a następnie doktoryzował się z krystalografii białek na Uniwersytecie w Cambridge (1987). Habilitację (2001) i profesurę (2007) w dziedzinie chemia, specjalności biochemia uzyskał w Polsce. Pracował na uniwersytetach stanowych Arizony i Wisconsin oraz w European Molecular Biology Laboratory (EMBL). Od 2002 roku pracuje w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, gdzie kieruje Zespołem Struktury i Funkcji Biomolekuł. Jest autorem lub współautorem blisko siedemdziesięciu prac eksperymentalnych, opublikowanych w międzynarodowych czasopismach naukowych. Jego zainteresowania naukowe obejmują badania krystalograficzne zarówno białek jak i kwasów nukleinowych, w szczególności enzymów chitynolitycznych, glikolitycznych, proteolitycznych oraz patogennych cząsteczek RNA.

ABSTRACT

CNG repeats (N stands for one of the four natural nucleotides) are a special class of microsatellite sequences of the human genome. They are most often found in exons, in their coding parts as well as in the 5' or 3' untranslated regions. Characteristic frequencies of their occurrence within the different parts of the genes suggest that they play a functional role. The number of CNG repeats in a block is usually below 30 but it can undergo abnormal expansion leading to the development of one of approximately 20 neurological diseases known as TREDs (Triplet Repeat Expansion Disorders). One model of pathogenesis proposes that the toxic factor is mRNA containing an expanded run of CNG repeats. The anomaly results in aberrant alternative splicing and/or accumulation of the RNA in the cell nucleus, followed by a sequestration of important regulatory proteins and formation of RNA/protein aggregates known as nuclear foci. This is accompanied by a deregulation of vital cellular processes.

In this paper we have focused on crystallographic studies of RNA oligomers with embedded CNG repeats. We describe briefly diseases associated with each type of repeat and present the crystal structures. All the CNG repeats form stable "hairpins" consisting of a small apical loop and a long double-stranded stem, in which the non-canonical N-N pairs are flanked by the standard C-G and G-C pairs. All CNG repeats form duplexes of type A, characteristic of RNA, but with local deviations from the typical geometry (Fig. 1). The duplexes are stabilised by the strong C-G and G-C Watson-Crick interactions, while the N-N pairs are accommodated within the helical context, each in a characteristic way (Fig. 2). The U-U pairs tend to form just one hydrogen bond, instead of two observed in other contexts. The interactions within the C-C pairs are even weaker, via one very weak hydrogen bond or none. On the other hand, accommodation of the bulky A-A pairs involves pushing the purine rings towards the major groove while in the G-G pairs one of the guanosine residues flips to a syn conformation. The unrealised hydrogen-bonding potential of the N-N pairs is externalised into the major and the minor grooves and can be assessed through interactions with ordered water molecules and other small ligands. The N-N pairs are associated with local distortions of the A-helix (Fig. 1). All the CNG repeats show a characteristic striped pattern of surface electrostatic potential in the minor groove (Fig. 3). Assessment of the different CNG structures allows us to identify the characteristic and the common features (Tab. 1).

Keywords: RNA crystal structure, TREDs, CNG repeats

Słowa kluczowe: struktura krystalograficzna RNA, TREDs, powtórzenia CNG

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

A	– reszta adenozyiny
C	– reszta cytydyny
DM	– dystrofia miotoniczna (ang. <i>myotonic dystrophy</i>)
FRAXE	– bezsyndromowe opóźnienie umysłowe powiązane z chromosomem X (ang. <i>non-syndromic X-linked mental retardation</i>)
FXTAS	– zespół drżenia i ataksji związany z łamliwym chromosomem X (ang. <i>fragile X-associated tremor ataxia syndrome</i>)
FXS	– syndrom łamliwego chromosomu X
G	– reszta gwanozyny
HD	– choroba Huntingtona
HDL2	– choroba podobna do płasawicy Huntingtona (ang. <i>Huntington disease like 2</i>)
LNA	– reszty nukleozydowe o zamkniętej konformacji pierścienia cukrowego (ang. <i>locked nucleic acid</i>)
miRNA (mikroRNA)	– jednoniciowe cząsteczki RNA o długości ok. 21–23 nukleotydów, regulujące ekspresję innych genów
ORF	– otwarta ramka odczytu
PDB	– baza danych zawierająca współrzędne atomowe i czynniki struktury makrocząsteczek biologicznych (ang. <i>Protein Data Bank, www.rcsb.org</i>)
RNA	– kwas rybonukleinowy
SBMA	– rdzeniowo-opuszkowy zanik mięśni (choroba Kennedy'ego)
SCA	– ataksja rdzeniowo-mózdkowa
TNR	– powtórzenia trójnukleotydydowe
TREDS	– choroby związane z ekspansją trójnukleotydydowych powtórzeń (ang. <i>trinucleotide repeat expansion diseases</i>)
U	– reszta urydyny
UTR	– region nie ulegający translacji (ang. <i>untranslated region</i>)

WPROWADZENIE

Powtórzenia trinukleotydydowe (TNR) (ang. *trinucleotide repeats*) są specyficzną klasą sekwencji mikrosatelitarnych obejmującą około 32000 sekwencji repetytywnych ludzkiego genomu. Niektóre z nich występują w egzonach, zarówno w obrębie otwartych ramek odczytu, jak i w regionach niekodujących 5' i 3' (5', 3'UTR). Z puli wszystkich możliwych kombinacji powtórzeń trinukleotydydowych najczęściej w egzonach spotykane są powtórzenia typu CNG (gdzie N oznacza jeden z czterech nukleotydów) [1]. Ich nadreprezentacja w egzonach w stosunku do innych części genomu sugeruje, że lokalizacja ta nie jest przypadkowa [1]. Co więcej, wydaje się, że umiejscowienie danego typu powtórzenia w mRNA jest również określone. Powtórzenia CAG i CUG występują najczęściej w obrębie części kodującej (około 80%) natomiast CCG i CGG w regionach 5'UTR (powyżej 50%). Na tej podstawie postuluje się, że są one funkcjonalnymi elementami genetycznymi, których polimorfizm może manifestować się różnymi fenotypami [1, 2].

Powtórzenia CNG występują w wielu różnych genach. Liczba powtórzonych jednostek jest charakterystyczna dla danego genu, przy czym typowo jest mniej niż 30 powtórzeń [3]. Liczba powtórzeń może ulec patogennemu wydłużeniu (50–1000 i więcej powtórzeń), prowadząc do rozwoju nieuleczalnych chorób neurodegeneracyjnych zwanych zbiorowo TREDs (ang. *trinucleotide repeat expansion disorders*) [4]. U zdrowych osób ciągi CNG są krótkie, a ich długość nie ulega zmianie. Natomiast u osób dotkniętych TREDs, liczba powtórzeń jest dłuższa i niestabilna zarówno w komórkach somatycznych jak i rozrodczych [5]. Jak dotąd nie wiadomo co powoduje przejście ze stabilnej do niestabilnej liczby powtórzeń. Być może ma to związek z obecnością i utrzymaniem tzw. sekwencji przerywnikowych [6–9]. W tych przypadkach ciągi powtórzeń CNG są poprzedzielane inną trójką nukleotydów dzielącą je na krótsze bloki. Gdy liczba powtórzeń zostanie zwielokrotniona, ich wydłużanie może odbywać się podczas replikacji, naprawy DNA lub rekombinacji [5, 10]. Co ciekawe, podczas tych procesów możliwe jest również zjawisko kontrakcji czyli skrócenia liczby powtórzeń [10].

TREDs zostały odkryte około 20 lat temu [11–14]. Wówczas po raz pierwszy powiązano zwielokrotnioną liczbę powtórzeń mikrosatelitarnych z objawami chorobowymi. Są to nieuleczalne choroby neurodegeneracyjne, charakteryzujące się bardzo szerokim obrazem klinicznym, który jest specyficzny dla danej jednostki chorobowej. Początkowo objawy są ledwie zauważalne lecz stopniowo pogłębiają się prowadząc w rezultacie do śmierci. Pomimo podobnego defektu genetycznego rozwój choroby może następować w różny sposób. Wyróżnia się trzy główne mechanizmy: nabycie nowej funkcji białka (ang. *protein gain of function*), utrata funkcji genu zawierającego powtórzenia (ang. *gene loss of function*), nabycie nowej funkcji przez mRNA zawierające długie ciągi powtórzeń CNG (ang. *mRNA gain of function*) [4]. Klasyfikacja ta jest jednak bardzo ogólna i w wielu przypadkach nie wyklucza się współistnienia różnych patomechanizmów lub/oraz zaburzeń powstałych z innych przyczyn.

W niniejszym artykule przedstawimy wyniki badań krystalograficznych w odniesieniu do patogenezy poszczególnych chorób. Zaprezentowane będą głównie struktury krystaliczne cząsteczek RNA zawierających toksyczne powtórzenia CNG. Zostaną omówione ich charakterystyczne cechy strukturalne takie jak forma RNA, sposób oddziaływania niestandardowych par N-N, oddziaływania z ligandami czy rozkład powierzchni potencjału elektrostatycznego. Następnie zostanie przedstawione porównanie powyższych cech oraz przedyskutowane zostaną wnioski z tego implikacje biologiczne.

1. STRUKTURA DRUGORZĘDOWA RNA ZAWIERAJĄCYCH WYDŁUŻONE CIĄGI POWTÓRZEŃ CNG

W mechanizmie nabycia funkcji przez kwasy mRNA zawierające zwielokrotnione ciągi CNG postuluje się, że toksyczny jest RNA [15]. W związku z tym, że powtórzenia CNG są zlokalizowane w obrębie genów, ulegają one transkrypcji. Użycie takich narzędzi biochemicznych do mapowania struktur drugorzędowych jak trawienie nukleazami czy indukowanie cięć łańcucha RNA za pomocą jonów Pb^{2+} wykazało, że fragmenty mRNA zawierające zwielokrotnione ciągi są silnie ustrukturalizowane i niezależnie od typu powtórzenia tworzą strukturę typu spinki [16]. Zbudowana jest ona z długiego trzonu oraz niewielkiej pętli apikalnej. Trzon budują bloki par G-C oraz C-G, pomiędzy którymi znajdują się niestandardowe pary typu N-N (A-A, C-C, G-G lub U-U). Izolowane fragmenty składające się jedynie z ciągów powtórzeń tworzą współistniejące alternatywne spinki różniące się liczbą par w trzonie (tzw. „poślizgnięte” struktury). Dodanie na końcu klamry, czyli sekwencji tworzącej u podstawy trzonu region dwuniciowy, redukuje mikroheterogenność. Naturalne klamry istnieją również w transkryptach niektórych genów np. SCA6 i SCA1 [8, 17, 18].

2. POWTÓRZENIA CUG

Nadmiernie wydłużone trakty powtórzeń CUG są powiązane z trzema różnymi schorzeniami: chorobą podobną do płasawicy Huntingтона (HDL2), ataksją rdzeniowo-mózdkową typu 8 (SCA8) oraz dystrofią miotoniczną typu 1 (DM1) [15]. Patomechanizm został najlepiej poznany w przypadku DM1 i polega on na nabyciu funkcji przez mRNA.

Ekspansję powtórzeń CTG zlokalizowanych w regionie niekodującym 3' genu kinazy białkowej DMPK powiązano z dystrofią miotoniczną typu 1 w 1992 roku [19–21]. Jest to częsta choroba genetyczna występująca raz na 8000 urodzeń, ujawniająca się najczęściej w wieku dojrzałym. Obraz kliniczny jest bardzo szeroki, jednakże typowymi objawami jest miotonia oraz osłabienie wszystkich rodzajów mięśni.

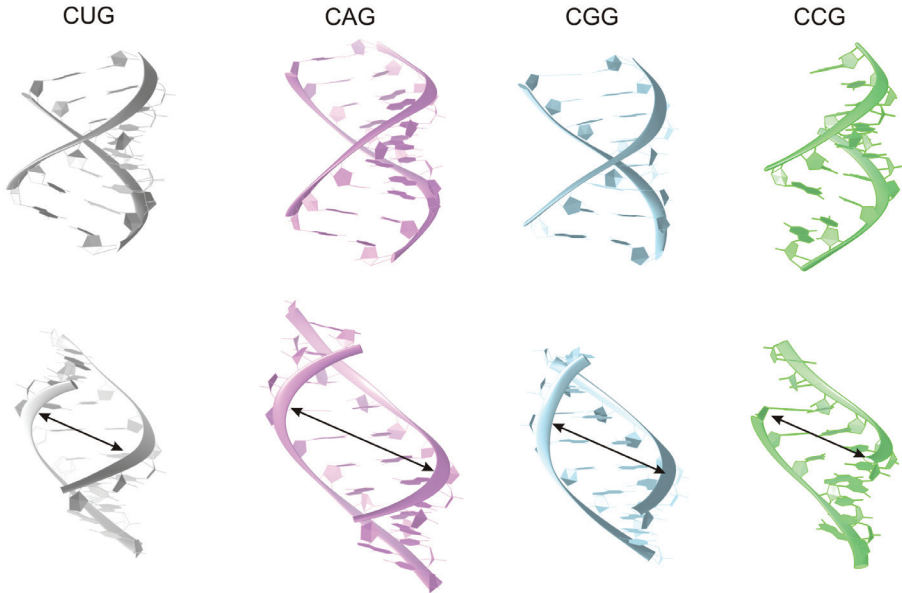
U zdrowych osób liczba powtórzeń CTG wynosi 5–37, natomiast forma patogeniczna zawiera 50–3000 trójek [20]. Ze względu na ich lokalizację w genie DMPK ulegają one transkrypcji i w mRNA pojawiają się powtórzenia CUG. Fragmenty mRNA zawierające ciągi powtórzeń CUG są toksyczne, gdyż nadmiernie wiążą białka istotne dla prawidłowego funkcjonowania komórki [22]. Wśród nich jest MBNL1 (ang. *muscleblind-like 1 protein*), regulator alternatywnego splicingu transkryptów związanych z rozwojem organizmu [23]. Obniżenie dostępności wolnego białka MBNL1 w komórce powoduje zmianę profilu alternatywnego składania pre-mRNA. Oznacza to, że u chorych powstają naturalne warianty mRNA, lecz nieodpowiednie dla danej tkanki i etapu rozwojowego [24]. Przykładowo, oporność insulinowa u chorych na DM jest wynikiem produkcji wariantu receptora insulinowego (IR) o obniżonej pojemności sygnałnej [15]. Jest to forma płodowa białka, która powstaje w wyniku alternatywnego składania z ominięciem 11 egzonu (ang. *exon skipping*). Insulina, która rozpoznawana jest przez IR, ułatwia wnikanie glukozy do komórki. Oznacza to, że jeżeli komórka posiada receptor formy płodowej to wnika do niej mniej glukozy. Tkanka mięśniowa ma bardzo duże zapotrzebowanie na glukozę, większe niż np. komórki wątroby, dlatego komórki mięśni posiadające nieodpowiedni wariant receptora IR, najbardziej odczuwają niedobór glukozy.

2.1. STRUKTURY KRYSTALICZNE RNA ZAWIERAJĄCEGO CIĄGI POWTÓRZEŃ CUG

Spośród wszystkich rodzajów powtórzeń, najwięcej informacji dostarczyły struktury krystaliczne RNA zawierającego powtórzenia CUG. Do tej pory opublikowano pięć prac dotyczących struktur krystalicznych RNA zawierających te powtórzenia.

Pierwszym doniesieniem o strukturze przestrzennej powtórzeń CNG była praca opublikowana przez Mooers i in. [25]. Autorzy określili strukturę dupleksu zawierającego sześć powtórzeń CUG z rozdzielczością 1,6 Å (kod PDB: 1ZEV). Oligomer o sekwencji (CUG)₆ tworzy dupleks, który przyjmuje formę A-RNA o typowych parametrach helikalnych. Helisa zawiera pary C-G i G-C oraz znajdujące się pomiędzy nimi niestandardowe pary U-U. Obecność niekanonicznych par wydaje się nie mieć wpływu na strukturę helisy, jednak opis szczegółów dotyczących oddziaływań w parze U-U czy obserwacja cząsteczek rozpuszczalnika jest utrudniona ze względu na nałożenie dwóch modeli w sieci krystalicznej.

Kolejną poznaną strukturą był dupleks oligomeru G(CUG)₂C (rozdzielczość 1,23 Å, kod PDB 3G1P) [26]. W modelu tym, dzięki jednoznacznej i wysokorozdzielczej mapie gęstości elektronowej, możliwa jest analiza oddziaływań wewnątrz dupleksu oraz precyzyjne zlokalizowanie cząsteczek rozpuszczalnika. W niezależnej części komórki elementarnej znajdują się trzy dupleksy. Wszystkie są podobne do siebie i przyjmują formę A-RNA, ze średnią wartością kąta skrętu helisy 32–34° (Rys. 1).

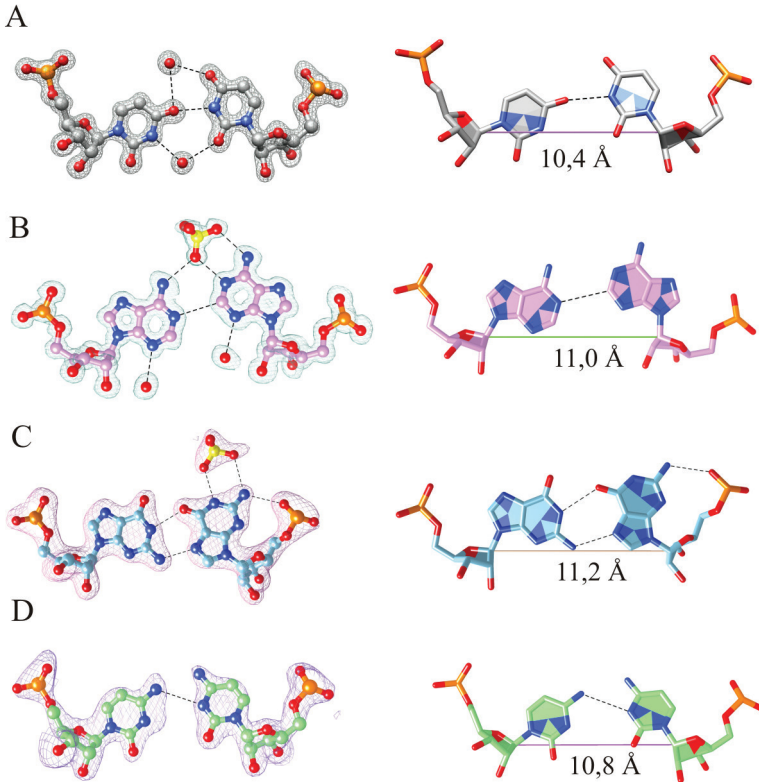


Rysunek 1. Helisy dupleksów każdego z powtórzeń CNG. W górnej części panelu zostały zaprezentowane bruzdy małe a w dolnej części bruzdy duże. Poszerzenie dużej bruzdy oraz rozplecenie helisy jest widoczne dla powtórzeń CAG i CGG

Figure 1. Double helices of each type of CNG repeat. The major grooves are shown in the upper part of the panel, the minor grooves in the lower part. Widening of the major groove and helix unwinding can be seen in CAG and CGG repeats

W parach C-G i G-C tworzą się typowe oddziaływania Watsona-Cricka, podczas gdy w parach U-U zasady oddziałują ze sobą w sposób, który wcześniej nie był obserwowany. W strukturze trójwymiarowej RNA symetria chemiczna niestandardowej pary zostaje złamana i w parze U-U tworzy się jedno wiązanie wodorowe. Jedna z reszt urydyny nachyla się w kierunku małej bruzdy i jej karbonylowy atom O4 łączy się z grupą aminową N3 drugiej reszty (Rys. 2).

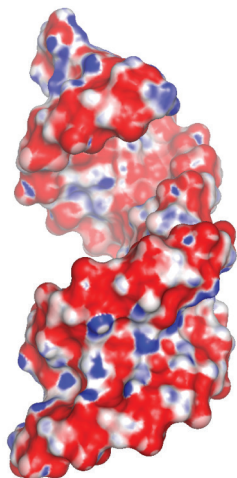
Takie oddziaływanie wygląda na „rozciągnięte” w porównaniu do typowej pary U-U, w której tworzą się dwa wiązania wodorowe [27]. Rozciągnięcie pary U-U odzwierciedlone jest w odległości pomiędzy atomami C1' reszt cukrowych urydyny. W powtórzeniach CUG wynosi ono 10,4 Å, natomiast dla typowej pary U-U odległość ta równa jest 8,6 Å. Dla porównania pomiędzy parami G-C w helisie A-RNA odległość C1'-C1' wynosi 10,6–10,7 Å. Struktura rozciągniętych par U-U jest dodatkowo stabilizowana przez oddziaływania z cząsteczkami wody. Jedna z nich znajduje się w małej bruzdzie, natomiast druga w dużej bruzdzie. Cząsteczki te mogą być traktowane jako część struktury RNA.



Rysunek 2. Niestandardowe pary N-N struktur krystalicznych dupleksów utworzonych przez powtórzenia CNG: U-U (A), A-A (B), G-G (C) oraz C-C (D). Przedstawiono mapy gęstości elektronowej 2Fo-Fc (kontur 1σ) dla każdej pary oraz oddziałujących z nimi cząsteczek wody lub jonów siarczanowych, na podstawie struktur o następujących kodach PDB: 3GLP, 3NJ6, 3R1C oraz 4E59. Odległość pomiędzy nimi RNA została wyznaczona jako dystans pomiędzy atomami C1' sparowanych reszt (prawa strona)

Figure 2. Non-canonical N-N pairs in crystal structures of duplexes formed by CNG repeats: U-U (A), A-A (B), G-G (C) and C-C (D). Electron density maps 2Fo-Fc (contoured at 1σ) are shown for each pair together with any associated water molecules or sulphate anions, based on structures indexed under the following PDB codes: 3GLP, 3NJ6, 3R1C and 4E59. The distance between the RNA strands is defined as the distance between the C1' atoms of the paired residues (right)

Dupleksy zawierające powtórzenia CUG mają charakterystyczny motyw rozkładu potencjału elektrostatycznego (Rys. 3).



Rysunek 3. Powierzchnia potencjału elektrostatycznego dwóch kolejnych dupleksów struktury powtórzeń CUG. Rozkład potencjału w bruzdzie małej jest wspólny i charakterystyczny dla wszystkich powtórzeń. Bruzda duża posiada głównie potencjał ujemny (czerwony) z obszarami o potencjale dodatnim (niebieski)

Figure 3. The electrostatic surface potential of two consecutive CUG repeats. The distribution of the potential in the minor groove is characteristic and common to all the repeats. The potential in the major groove is mainly negative (red) with positive patches (blue)

Na powierzchni małej bruzdy, wzdłuż osi helisy, przeplatają się pasy o potencjale dodatnim i ujemnym. Na powierzchni dużej bruzdy rozkład potencjału jest niejednorodny i przeważa potencjał ujemny. Dodatni potencjał generowany jest przez egzo-aminowe grupy reszt cytydyny oraz w mniejszym stopniu przez krawędzie Hoogsteena reszt urydyny.

Kolejną poznaną strukturą RNA zawierającą powtórzenia CUG był dupleks, którego pojedyncza nić zawierała trzy powtórzenia [28]. W tym przypadku oligomer użyty do krystalizacji, oprócz sekwencji repetytywnej posiadał dodatkowe reszty nukleotydowe (pięć reszt na końcu 5' oraz trzy reszty na końcu 3'). W efekcie na końcu 5' znajdowały się dwie niesparowane reszty urydyny (ang. *dangling ends*). Dla tego dupleksu otrzymano dwie formy krystaliczne różniące się upakowaniem cząsteczek w sieci krystalicznej (kod PDB 3SZX, 3SYW). W pierwszej z nich dwie reszty na końcu 5' utworzyły pary U-U z symetryczną cząsteczką RNA, natomiast w drugiej formie te reszty skierowane są do wnętrza helisy i umiejscowione w dużej bruzdzie. W każdej formie krystalicznej w cząsteczce RNA występują trzy niestandardowe pary U-U i środkowa para jest zawsze taka sama. Reszty urydyny ułożone są symetrycznie naprzeciw siebie, prawdopodobnie zbyt daleko, aby tworzyć wiązania wodorowe. W przypadku zewnętrznych par U-U, w dupleksie w którym końcowe niesparowane reszty urydyny są zawinięte do wnętrza helisy, ułożone są one w dużej bruzdzie w bliskim sąsiedztwie pary U-U. Szerokość dużej bruzdy w tym miejscu ulega powiększeniu, a odległość C1'-C1' jest na tyle mała (8,8 Å), że w parze U-U powstają dwa wiązania między zasadami. W dupleksie z drugiej formy

krystalicznej, jedna niestandardowa para U-U tworzy jedno wiązanie wodorowe, druga oddziałuje bardzo słabo (odległość 3,6Å).

Kolejne badania strukturalne dotyczyły dupleksu oligomeru $G(CUG)_6C$ [29]. W kryształach znajdują się dwa symetrycznie niezależne duplekisy, przy czym jeden z nich ma symetrię osi dwukrotnej, a więc symetrycznie niezależna jest jego pojedyncza nić (kod PDB 4E48). W modelu struktury $G(CUG)_6C$ znajduje się sumarycznie dziewięć niezależnych par U-U, co pozwala na obserwację rozkładu konformacyjnego pary niestandardowej. Dominuje konformacja rozciągniętej pary U-U (siedem przypadków), której towarzyszą dwie semi-konserwatywne cząsteczki wody (cząsteczki te nie są obserwowane dla wszystkich par U-U). W pozostałych dwóch przypadkach reszty przyjmują konformację opisaną przez autorów jako symetryczne nieoddziałujące parowanie U-U (ang. *symmetric H-nonbonded U-U pairing*).

Najnowsza praca o powtórzeniach CUG opisuje strukturę syntetycznej spinki RNA zawierającej pętlę GAAA w tandemie z jej receptorem. Elementy te tworzą wierzchołek i górną część spinki, zaś dolną część trzonu spinki stanowią dwa dwuniciowe powtórzenia CUG (PDB code 4FNJ)[30]. Kombinacja pętli apikalnej z sekwencją receptorową ułatwiła krystalizację, a to z kolei pozwoliło na opis doczepionych dwóch powtórzeń CUG. Część trzonu zbudowana z powtórzeń przyjmuje formę A-RNA. Jedna z niestandardowych par tworzy jedno wiązanie wodorowe, podczas gdy druga, znajdująca się bliżej podstawy trzonu, przyjmuje konformację typowej pary U-U z dwoma wiązaniami wodorowymi. Na tej podstawie autorzy postulują, że pary te są dynamiczne.

Uważana analiza map gęstości elektronowych oraz kontekst sekwencyjny muszą być brane pod uwagę podczas interpretacji uzyskanych danych strukturalnych. Dodanie „nienaturalnych” sekwencji z jednej strony ułatwia krystalizację, ale może mieć znaczny wpływ na strukturę przestrzenną RNA. Wówczas uzyskany rezultat może być obciążony błędem w wyniku obecności artefaktu.

W świetle wszystkich określonych struktur krystalicznych, powtórzenia CUG, pomimo obecności niestandardowych par, tworzą helisę A-RNA. Pary U-U otoczone kanonicznymi parami G-C i ZC-G zachowują odległość $C1'-C1'$ charakterystyczną dla formy A-RNA. Obserwuje się pewną dowolność w tworzeniu wiązań wodorowych, jednakże z tendencją do tworzenia jednego wiązania $N3-H\cdots O4$ w parze. W odniesieniu do struktur krystalicznych trudno jest jednoznacznie określić stopień dynamiczności danej pary zasad. Dlatego w przypadku niestandardowych par U-U można raczej stwierdzić, że wykazują one pewną dowolność do tworzenia wiązań wodorowych wynikającą z parametrów termodynamicznych danej konformacji niż, że ich oddziaływanie ma charakter dynamiczny.

3. POWTÓRZENIA CGG

Powtórzenia CGG występują w regionie niekodującym 5' genu FMR1 (ang. *fragile X mental retardation*) leżącym na chromosomie X. Ich występowanie związane jest z kilkoma różnymi jednostkami chorobowymi [31]. W zdrowej populacji, liczba powtórzeń trójek CGG w genie FMR1 wynosi 5–54 [31, 32], przy czym jej górny zakres 45–54 jest definiowany jako „szara strefa” (ang. *grey zone*). Istnieje wówczas większe prawdopodobieństwo dalszej ekspansji powtórzeń [31, 33]. Trakty CGG o długości 55–200 powtórzeń są premutacjami, których obecność u mężczyzn powoduje progresywną chorobę neurodegeneracyjną nazywaną zespołem drżenia i ataksji związanej z łamliwym chromosomem X (FXTAS) [34, 35]. U kobiet będących nosicielkami premutacji może dojść do rozwoju niewydolności jajników [36]. Obecność więcej niż 200 powtórzeń CGG jest określana jako pełna mutacja i stanowi przyczynę łamliwości chromosomu X (FXS) [37]. Jest to najczęstszy dziedziczny syndrom opóźnienia umysłowego u mężczyzn.

Pomimo faktu, że obie choroby dotyczą tych samych powtórzeń CGG genu FMR1, mają one inne podłoże molekularne oraz różny obraz kliniczny. Łamliwość chromosomu X spowodowana jest brakiem ekspresji białka FMRP, które normalnie syntetyzowane jest na wysokim poziomie w neuronach [38–40]. W przypadku FXTAS rozwój choroby następuje na poziomie RNA [35, 40–42]. Podobnie jak w przypadku dystrofii miotonicznej typu 1 u chorych pacjentów obserwowane są złogi jądrowe, w skład których, oprócz patogennego RNA, wchodzi ponad 20 różnych białek [43]. Jeden z proponowanych patomechanizmów FXTAS zakłada, że dochodzi do zaburzenia ogólnej równowagi i dostępności białek regulatorowych wiążących RNA. Natomiast inny opiera się na tym, że kluczowym momentem rozpoczęcia choroby jest związanie do ciągów CGG białka Sam68, które jest zaangażowane w proces alternatywnego składania pre-mRNA [44]. Dochodzi wówczas do zmiany profilu tego procesu. Niewykluczone, że białko Sam68 indukuje tworzenie rozległych złogów jądrowych także poprzez oddziaływanie z innymi białkami.

Trzeci, najnowszy, proponowany mechanizm FXTAS związany jest z sekwestracją przez wydłużone ciągi powtórzeń CGG białka DGCR8 oraz współdziałającej z nim RNazy DROSHA [45]. Białka te zaangażowane są w proces dojrzewania miRNA. Takie RNA transkrybowane są przez II polimerazę RNA jako początkowy pri-miRNA. W jądrze komórkowym transkrypty te przekształcane są przez kompleks enzymatyczny DROSHA i DGCR8 do pre-miRNA. Następnie pre-miRNA transportowane są do cytoplazmy, gdzie ostatecznie przekształcane są do formy dojrzałej (miRNA) przez enzym DICER. U chorych na FXTAS białko DGCR8, wiążące dwuniciowy RNA, rozpoznaje długi dwuniciowy trzon spinki powtórzeń CGG. Tworzy się kompleks DROSHA-DGCR8, który ulega sekwestracji. W efekcie zmniejsza się ilość niezwiązanego kompleksu a w konsekwencji również ilości dojrzałego miRNA. Ostatecznie prowadzi to do dysfunkcji i degeneracji komórek nerwowych.

3.1. STRUKTURY KRystaliczne RNA Zawierającego Powtórzenia CGG

Z dwóch prac na temat struktur krystalicznych RNA zawierającego powtórzenia CGG, pierwsza opisuje trzy struktury: natywny dupleks $(GCGGCGGC)_2$ oraz dwa dupleksy $[GC(8-BrG)GCGGC]_2$ i $[GC(8-BrG)GCGGCGGC]_2$ zawierające modyfikowaną resztę guanozyny 8-BrG, która w pozycji 8 puryny zamiast atomu wodoru ma atom bromu [46]. W części asymetrycznej komórki elementarnej natywnej struktury znajduje się aż 18 niezależnych cząsteczek. Są one uporządkowane w przestrzeni w taki sposób, że można je ułożyć w jedną pseudonieskończoną helisę. We wszystkich trzech strukturach powtórzenia CGG tworzą helisę A-RNA, która posiada pewne lokalne odkształcenia (Rys. 1). Pomiędzy kanonicznymi parami G-C i C-G znajdują się pary G-G, w których jedna guanozyna jest zawsze w konformacji *syn* natomiast druga w *anti* (Rys. 2). W przypadku modyfikowanej reszty 8-BrG wprowadzony atom bromu wymusza konformację *syn*. Powoduje to narzucenie danego ułożenia pary G-G oraz zmniejsza swobodę konformacyjną modyfikowanej reszty. We wszystkich parach G-G występują dwa wiązania wodorowe, jedno pomiędzy tlenem karbonylowym a N1 oraz drugie między atomem N7 a grupą *egzo*-aminową. Dodatkowo konformacja G(*syn*) stabilizowana jest przez wewnątrzcząsteczkowe oddziaływanie grupy *egzo*-aminowej z atomem tlenu grupy fosforanowej. Kąty torsyjne α (określa rotację wokół wiązania P-O5') i γ (określa rotację wokół wiązania C5'-C4') reszty G(*syn*) są nietypowe, co powoduje lokalne rozplecenie helisy, które jest kompensowane w innym miejscu dupleksu. Niekanoniczne pary G-G charakteryzują się specyficznym systemem solwatacji oraz zdolnością do przyciągania jonów, zwłaszcza przez eksponowaną do dużej bruzdy krawędź Watsona-Cricka. Jonami oddziałującymi bezpośrednio z resztami guanozyny są aniony siarczanowe oraz kationy wapnia, które były obecne w medium krystalizacyjnym. Prezentowane przez pary G-G ułożenie *syn-anti* wydaje się być optymalne dla uniknięcia kolizji grup funkcyjnych zlokalizowanych na krawędziach Watsona-Cricka oraz dla zachowania odległości C1'-C1' typowej dla helisy A-RNA, która jest nieco dłuższa (średnio 11,3 Å) niż dla par kanonicznych C-G i G-C.

Powierzchnia potencjału elektrostatycznego małej bruzdy jest podobna do powtórzeń CUG, z charakterystycznymi przeplatającymi się pasami o potencjale dodatnim i ujemnym. W dużej bruzdzie potencjał jest głównie ujemny z obszarem o potencjale dodatnim generowanym przez eksponowaną krawędź Watsona-Cricka reszty G(*syn*) oraz poprzedzającą ją grupę *egzo*-aminową reszty cytydyny.

Druga praca o strukturze traktów CGG opisuje dupleks zawierający trzy takie powtórzenia (kod PDB 3SJ2) [47]. Użyty oligomer, tak samo jak w przypadku powtórzeń CUG, zawiera dodatkowe sekwencje flankujące z niesparowanymi dwiema resztami urydyny na końcu 5'. Struktura ta jest bardzo podobna do tej opisanego przez Kiliszek i in. (2011). Obserwowane pary G(*syn*)-G(*anti*) są takie same i wykazują nietypową konformację szkieletu fosforanowo-cukrowego reszt G(*syn*) oraz rozplecenie lokalnej helisy. Autorzy nie zaobserwowali jednak żadnych jonów w pobliżu par G-G mimo, że zarówno aniony siarczanowe i kationy były obecne w roztworze krystalizacyjnym.

4. POWTÓRZENIA CAG

Największa liczba chorób TREDs związana jest z ekspansją powtórzeń CAG [4]. Należą do nich m.in. choroba Huntingtona (HD), różnego rodzaju ataksje rdzeniowo-mózdkowe (SCA) czy zależny od chromosomu X rdzeniowo-opuszkowy zanik rdzeniowy (choroba Kennedy'ego – SBMA). Ze względu na fakt, że powtórzenia CAG zlokalizowane są w części kodującej, ulegają one translacji na sekwencję aminokwasową białka. Kodon CAG odpowiada glutaminie, dlatego białko powstające ze zmutowanego genu posiada wydłużone trakty glutaminowe. Z tego powodu choroby związane z powtórzeniami CAG nazywane są poliglutaminowymi (ang. *poly-Q lub polyglutamine diseases*) [4, 48]. W chorobach tych główną przyczyną jest niepoprawnie sfałdowane białko. W ostatnich latach pojawiły się jednak doniesienia, iż w patogenezie tych chorób możliwy jest również udział zmutowanego mRNA, co przyczynia się do zwiększenia intensywności zaistniałych procesów degeneracyjnych [49]. Wykazano, że RNA zawierające wydłużone trakty CAG mają zdolność wiązania białek, w tym MBNL1 [50, 51]. W przypadku powtórzeń CAG nie zauważono zaburzeń w procesie składania pre-mRNA, jednakże wprowadzenie ich do regionu nieulegającego translacji genu SCA3 u transgenicznej muszki owocowej powodowało degenerację omatidów i dysfunkcje neuronalne [52]. Co ciekawe, zmutowane powtórzenia CAG tworzą złogi jądrowe, które kolokalizują z MBNL1, ale ich rozmiar jest mniejszy niż w dystrofii miotonicznej [50, 52, 53].

5.1. STRUKTURY KRystaliczne RNA ZAWIERAJĄCEGO POWTÓRZENIA CAG

Poznano strukturę dwóch form krystalicznych tego samego oligomeru o sekwencji GGCAGCAGCC [54]. Jedną z nich to wysokorozdzielcza struktura (0,95 Å), która mieści w części asymetrycznej komórki elementarnej jedną nić (kod PDB 3NJ6). Dupleks generowany jest przez oś dwukrotną, prostopadłą do helisy RNA. Druga struktura została określona z rozdzielczością 1,9 Å i zawiera trzy niezależne cząsteczki (kod PDB 3NJ7). Dupleksy obu struktur są bardzo podobne do siebie i przyjmują formę A-RNA (Rys. 1). Helisa ta, tak jak w przypadku powtórzeń CGG, ulega rozkręceniu. Obie reszty adenozynowe niekanonicznych par znajdują się naprzeciwko siebie i przyjmują konformację anti. Dwa duże pierścienie purynowe zasad mieszczą się jednak w przestrzeni wyznaczonej przez formę A-RNA (odległość C1'-C1' wynosi 11 Å), ponieważ reszty adenozynowe są wypchnięte w kierunku dużej bruzdy, przy czym jedna z nich jest wypchnięta bardziej (Rys. 2). Wystaje ona ponad inne reszty, przyjmując konformację „kciuk do góry” (ang. *thumbs up*). Pomiędzy tak ułożonymi resztami adenozyny tworzy się jedno słabe wiązanie wodorowe między atomem wodoru węgla C2 oraz atomem azotu N1 (C2-H2...N1). Taki rodzaj parowania nie został wcześniej opisany a wiązanie wodorowe tego typu rzadko są opisywane w przypadku biocząsteczek. Niewysycony potencjał reszt adenozynowych do tworzenia wiązań wodorowych realizowany jest w obszarze dużej

bruzdy w której para ta wiąże anion siarczanowy obecny w medium krystalizacyjnym. Rozkład potencjału elektrostatycznego dla bruzdy małej wygląda podobnie jak w cząsteczkach RNA zawierających powtórzenia CUG i CGG. Bruzda duża wykazuje większe zróżnicowanie w dystrybucji potencjałów. Obszary o potencjale dodatnim generowane są przez grupy egzo-aminowe reszt cytydyn oraz adenozyń.

Kolejną strukturą krystaliczną RNA zawierającego powtórzenia CAG jest oligomer zawierający trzy powtórzenia i identyczną, jak dla powtórzeń CGG i CUG, sekwencję flankującą (kod PDB 4J50) [55]. W środkowej parze A-A obie reszty przyjmują konformację anti. Ułożone są jednak względem siebie symetrycznie, a więc prawdopodobieństwo wystąpienia wiązania C2-H2...N1 jest znikome. Autorzy twierdzą, że w przypadku zewnętrznych niekanonicznych par jedna z reszt jest w konformacji syn a druga w anti. Jednak inspekcja map gęstości elektronowej nie potwierdza jednoznacznie tego opisu, gdyż dla par A-A jest ona stosunkowo niskiej jakości. Zewnętrzne reszty adenozyń, szczególnie te w konformacji syn, są raczej nieuporządkowane i dlatego taka interpretacja autorów wydaje się zbyt jednoznaczna i niepoprawna. Ponadto w dużej bruzdzie, przy środkowej parze A-A widoczny jest duży pozytywny pik gęstości elektronowej. Sugeruje to, że znajduje tam jon siarczanowy, który nie został uwzględniony w modelu struktury.

5. POWTÓRZENIA CCG

Powtórzenia CCG są nadreprezentowane w egzonach. Zlokalizowane są zarówno w regionach 5'UTR jak i w otwartych ramkach odczytu [1]. Ich rola w patogenezie chorób TREDs nie jest do końca poznana w porównaniu do pozostałych rodzajów powtórzeń. Powtórzenia CCG powiązано dotychczas z trzema chorobami: dystrofią miotoniczną typu 1 [56], chorobą Huntingtona [57] oraz bezsyndromowym opóźnieniem umysłowym powiązanym z chromosomem X (FRAXE) [58]. W przypadku ostatniego syndromu ujawnia się on, gdy osoba posiada więcej niż 200 powtórzeń CCG w genie FMR2, który znajduje się około 6000 par zasad od genu FMR1 [4, 59]. Jak dotąd nie stwierdzono fenotypu neurodegeneracyjnego charakterystycznego dla powtórzeń CCG o długości premutacyjnej (60–200), ale powtórzenia te wprowadzone do genomu muszki owocowej ujawniły właściwości toksyczne [60]. Zauważono także pewną korelację pomiędzy długością powtórzeń CCG a łagodnymi opóźnieniami umysłowymi czy chorobą Parkinsona lub przynajmniej niektórymi jej objawami [61, 62]. Z tego powodu nie wyklucza się istnienia, analogicznie do powtórzeń CGG, neurodegeneracyjnych właściwości powtórzeń CCG o długości premutacyjnej.

5.1. STRUKTURY KRystaliczne RNA Zawierającego Powtórzenia CCG

Dotychczas została opublikowana jedna praca dotycząca struktury krystalicznej powtórzeń CCG [63]. Dotyczy ona dwóch oligomerów tworzących dupleksy: $(GCCGCCGC)_2$ (kod PDB 4E59) oraz $(GCCGLCCGC)_2$ (kod PDB 4E58), gdzie reszta (GL) jest modyfikowaną resztą guanozyny typu LNA. Obydwa dupleksy przyjmują formę A-RNA (Rys. 1) lecz parowanie się nici jest zaskakujące. W strukturze niemodyfikowanej nici oligomeru są przesunięte („poślizgnięte”) względem siebie w kierunku 5'. Oznacza to, że końce 5' helisy mają wystające reszty. W strukturze modyfikowanej obserwowany jest odwrotny efekt: ślizg nici nastąpił w kierunku 3'. W obu przypadkach spowodowało to redukcję liczby spodziewanych niestandardowych par C-C z dwóch do jednej. Sumarycznie obserwowane są trzy niezależne niekanoniczne pary: jedna w strukturze natywnej i dwie w strukturze zawierającej modyfikacje. W dwóch parach C-C tworzą się wiązania wodorowe (Rys. 2), natomiast w trzeciej takiego wiązania brak. Niestandardowe pary C-C nie zwiększają stabilności dupleksu, co objawia się tym, że układ dąży do ich eliminowania przez ślizg nici. Rezultaty te są zgodne z wynikami termodynamicznymi potwierdzając stosunkowo niską stabilność powtórzeń CCG. Wprowadzenie modyfikacji LNA wydaje się nie mieć widocznego efektu na parametry helikalne w porównaniu do natywnej struktury jednakże obserwowane jest zwiększenie oddziaływań warstwowych.

6. IMPLIKACJE BADAŃ KRystalograficznych Powtórzeń CNG

Końcowym efektem określenia struktur przestrzennych powtórzeń CNG jest wskazanie ich wspólnych, jak i unikalnych cech oraz odniesienie do aspektu biologicznego i medycznego. Szczegółowe zestawienie podobieństw i różnic zostało przedstawione w Tabeli 1.

Tabela 1. Profil powtórzeń CNG – zestawienie cech strukturalnych
Table 1. Structural profile of CNG repeats – a collation of characteristic features

Rodzaj powtórzeń	CGG	CAG	CUG	CCG
Forma RNA	A	A	A	A
Kąt skrętu (°)	30–32	28,5 ± 5,7	33,6 ± 4,1	34–35 (rdzeń 29–34)
Szerokość bruzdy dużej (Å)	17,9 ± 0,9, 17,8 ± 2,5, 14,3 (trzy modele)	23,8 ± 0,2	12,7 ± 2,3	15 (niemodyfikowany), 15,8 (modyfikowany)
Szerokość bruzdy małej (Å)	15,8 ± 0,5, 15,4 ± 0,5, 16,1	15,3 ± 0,1	15,7 ± 0,4	15,7 oraz 14,3

Rodzaj powtórzenia	CGG	CAG	CUG	CCG
Średni dystans C1'-C1' pary N-N (i pozostałych par) (Å)	11,3 (10,7)	11,0 (10,7)	10,4 (10,5)	10,7-10,9 (10,6)
Wpływ par N-N na strukturę RNA	Lokalne rozkręcenie helisy kompensowane w innym miejscu dupleksu	Rozkręcenie helisy	Brak	Brak lub lokalne rozkręcenie helisy kompensowane w innym miejscu dupleksu
Oddziaływania par N-N	N1H...O6 i <i>exo</i> -N2H...N7 i wewnętrzznukleotydowe: <i>exo</i> -N2H...O2	C2-H2...N1	N3-H3...O4	Brak jednego wspólnego wzoru parowania się pary C-C
Sposób akomodacji par N-N (na podstawie wartości kąta λ)	Jedna reszta G ma konformację <i>syn</i> (nachylona w kierunku bruzdy małej)	Obie reszty przesunięte w kierunku bruzdy dużej	Jedna z reszt U nachylona jest w kierunku bruzdy małej	Brak lub skrócenie się płaszczyzn zasad względem siebie
Wpływ par N-N na konformację sąsiedniej pary N-N	Faworyzowana jest aranżacja symetryczna	Aranżacja asymetryczna	brak: każda z par U-U przyjmuje jedną z dwóch możliwych konformacji	Nie określono
Profil elektrostatyczny	Naprzemienne pasy o potencjale dodatnim i ujemnym	Naprzemienne pasy o potencjale dodatnim i ujemnym	Naprzemienne pasy o potencjale dodatnim i ujemnym	Naprzemienne pasy o potencjale dodatnim i ujemnym; w obrębie par C-C potencjał ujemny
Powinowactwo do cząsteczek ligandu	Jon siarczanowy lub wapniowy związane w bruzdzie dużej	Jon siarczanowy związany w bruzdzie dużej	Jon siarczanowy lub glicerol związany poprzez cząsteczkę wody UG	Jon siarczynowy związany w bruzdzie dużej lub małej
Ekspozowane grupy funkcyjne par N-N:				
- bruzda duża	G(<i>anti</i>) O6 karbonylowy G(<i>syn</i>) O6 karbonylowy, N1 aminowy, N2 <i>exo</i> -aminowy	Jedna reszta A: N6 aminowy; Druga reszta A: N1 iminowy, N6 aminowy	Jedna reszta U: karbonylowy atom O4	Brak lub jedna reszta C: karbonylowy atom N4
- bruzda mała	G(<i>anti</i>) N3 iminowy, N2 <i>exo</i> -aminowy	Jedna z reszt A: N3 iminowy; Druga reszta A: N3 iminowy	Jedna z reszt U: O2 karbonylowy; Druga reszta U: O2 karbonylowy, N3 aminowy	Brak lub jedna z reszt C: O2 karbonylowy; Druga reszta C: O2 karbonylowy, N3 aminowy

6.1. OGÓLNA STRUKTURA POWTÓRZEŃ CNG

Najbardziej charakterystyczną cechą wszystkich struktur utworzonych z powtórzeń trinukleotydowych jest tworzenie helisy A-RNA (Rys. 1). Stabilizowana jest ona przez kanoniczne pary C-G i G-C, które stanowią swego rodzaju rusztowanie. Z kolei niestandardowe pary N-N są elementem różnicującym poszczególne struktury. Każda para N-N wykazuje swój specyficzny sposób dopasowania w utworzonej strukturze, przy czym zakres tej akomodacji jest ograniczony do zachowania określonej odległości pomiędzy sparowanymi łańcuchami. W tym przypadku jest to odległość 10,5–10,8 Å pomiędzy atomami C1' par zasad sparowanych reszt nukleotydowych (Rys. 2). W efekcie na całej długości helisy utrzymana jest forma dwuniciowa niezależnie czy tworzą ją pary kanoniczne, czy niekanoniczne. Istotne jest również to, że nie obserwuje się wybrzuszeń ani znacznych deformacji łańcucha fosforanowo-cukrowego.

6.2. ODDZIAŁYWANIA PAR N-N I ICH WPŁYW NA STRUKTURĘ RNA

Specyfiką dopasowania par N-N w strukturze jest to, że w odróżnieniu od par kanonicznych, gdzie zasada purynowa tworzy parę z pirymidyną, zawiązują się pary typu puryna-puryna lub pirymidyna-pirymidyna (Rys. 2). Podczas parowania się dwóch zasad purynowych problemem jest ograniczona przestrzeń między niemi RNA. Na przykładzie par G-G oraz A-A obserwuje się dwa różne sposoby dostosowania do zaistniałych warunków. Z kolei pary pirymidynowe mają tej przestrzeni zbyt dużo. W powtórzeniach CUG reszty U-U znajdują się w odległości 10,4 Å. Jest to dystans zbyt duży, aby utworzyć wiązanie wodorowe. W większości obserwowanych przypadków dążą one jednak do tego, aby zmniejszyć tę odległość poprzez nachylenie się jednej z reszt urydyny w kierunku małej bruzdy. Akomodacja par C-C polega na unikaniu parowania się ze sobą reszt cytydyny. Gdy jednak znajdują się one naprzeciw siebie w łańcuchu RNA, mogą tworzyć słabe oddziaływania wodorowe. Niewykluczone, że reszty C-C mogą parować się tak jak reszty U-U. Byłoby to jednak związane z dużą barierą energetyczną bądź steryczną czy też zmianą konformacyjną łańcucha RNA, która jest jednak trudna do pokonania.

Pomimo liczebnej przewagi par G-C i C-G, które kształtują strukturę powtórzeń CNG, obecność pary N-N ma również na nią wpływ. Dla powtórzeń CGG oraz CAG jest on bardzo widoczny: helisy są „rozkręcone” a szerokości ich dużych bruzd są zauważalnie większe (Rys. 1). Związane jest to obecnością w każdej z helis reszty, w której nastąpiła rotacja wokół wiązania O5'-C5'. W efekcie znajduje się ona niemalże w tej samej płaszczyźnie co sąsiadująca z nią po stronie 5' reszta nukleotydowa, zmniejszając kąt skrętu helisy. Dla powtórzeń CGG jest to lokalny efekt, który kompensowany jest w innym miejscu w strukturze, natomiast w przypadku powtórzeń CAG jest to efekt bardziej globalny. Dodatkowo średnia wartość odległości C1'-C1' wyznaczona dla par C-G i G-C jest większa niż dla par U-U. Różnica

ta jest niewielka (wynosi jedynie 0,2 Å), lecz korelacja ta jest logiczna w kontekście wielkości par N-N. Pary A-A oraz G-G mają większe wymagania steryczne i bardziej wpływają na globalną strukturę RNA niż pary U-U.

Obecność par C-C może spowodować, że nici RNA łączą się inaczej niż by to wynikało z analizy sekwencji. Jeżeli jednak rozpatrywać wpływ par C-C na strukturę helisy, to w niemodyfikowanym duplesie nie powodują one znacznych zmian strukturalnych, podobnie jak w przypadku par U-U.

6.3. ODDZIAŁYWANIA Z ROZPUSZCZALNIKIEM

Możliwość obserwacji cząsteczek rozpuszczalnika w strukturach krystalicznych jest niezwykle ważnym atutem krystalografii. Umożliwia lokalizację ligandów i opis oddziaływania z biomolekułami. Na tej podstawie można badać m.in. mechanizmy reakcji, ale również projektować ligandy, które potencjalnie mogą wiązać się do cząsteczki, której struktura określona została metodami krystalograficznymi. To ostatnie podejście stosowane jest przy projektowaniu leków w oparciu o strukturę (ang. *structure-based drug design*).

W strukturach RNA zawierających powtórzenia CNG sposób parowania się par N-N nie wysycza ich potencjału do oddziaływań, dlatego mają one zdolność do przyłączania ligandów (Rys. 2). Największy potencjał wykazują grupy funkcyjne zlokalizowane na krawędzi Watsona-Cricka, czyli tej, która w kanonicznych parach zaangażowana jest w parowanie. Pary U-U mają eksponowane grupy funkcyjne zarówno w kierunku małej bruzdy (dwie grupy karbonylowe O2 oraz amidowa N3) jak i w kierunku dużej bruzdy (grupa O4). W efekcie z parą tą oddziałują dwie cząsteczki wody. Z kolei pary G-G w zależności od tego, co było obecne w roztworze krystalizacyjnym, tworzą wiązania wodorowe z hydratowanym kationem Ca^{2+} lub z jodem siarczanowym. W przypadku braku liganda miejsce wiązania zastępują cząsteczki wody. Anion siarczanowy oddziałuje z krawędzią Watsona-Cricka reszty G(*syn*) i wydaje się być idealnie dopasowany zarówno pod względem chemicznym jak i geometrycznym podobnie jest w przypadku par A-A. Ich grupy funkcyjne są inaczej eksponowane do bruzdy dużej, lecz pomimo tego pomiędzy krawędzie obu reszt wpasował się jon siarczanowy. Miejsca wiązania jonów, we wszystkich przypadkach, bardzo dobrze korelują z rozkładem potencjału elektrostatycznego struktur krystalicznych powtórzeń CNG.

Innym ważnym czynnikiem, który powinien być brany pod uwagę w ocenie zdolności par N-N do przyciągania ligandów, są oddziaływania warstwowe. W kwasach nukleinowych są one bardzo powszechne i, obok wiązań wodorowych, mają swój znaczny udział w tworzeniu struktury przestrzennej. Miarą tego oddziaływania jest wartość powierzchni nakrywania wyrażana w Å². Im większa jest jej wartość tym oddziaływania pomiędzy zasadami są silniejsze. Typowo w regionach helikalnych pierścienie zasad par kanonicznych znajdują się w znacznym stopniu nad sobą. W przypadku powtórzeń CNG reguła ta została potwierdzona, gdy asocjują ze

sobą pary G-C i C-G (powierzchnia nakrywania jest zazwyczaj większa niż 4 \AA^2). W przypadku niestandardowych par N-N oddziaływania warstwowe są znacznie ograniczone.

Wspólną cechą wszystkich par N-N są nieznaczne oddziaływania warstwowe oraz niewysyczone miejsca o wysokim potencjale do tworzenia wiązań. Specyficzność jest generowana przez indywidualny charakter chemiczny oraz przestrzenne ułożenie danej niekanonicznej pary, co decyduje o tym, jaki ligand jest wiązany.

6.4. ASPEKT BIOLOGICZNY

Powtórzenia CNG są unikalną grupą sekwencji mikrosatelitarnych obecnych w mRNA niektórych genów. Występowanie nadmiernej liczby powtórzeń stanowi przyczynę ponad dwudziestu chorób neurodegeneracyjnych. mRNA zmutowanych genów zawierają struktury typu spinki utworzone z powtórzeń CNG. Obserwowane struktury krystaliczne powtórzeń CAG, CGG, CUG i CCG prawdopodobnie odzwierciedlają struktury trzonów patogennych spinek. We wszystkich opisanych strukturach dupleksów, helisy układają się w sieci krystalicznej jedna nad drugą tworząc długie równoległe kolumny. Najdłuższą pseudohelisę zaobserwowano dla oligomeru GCGGCGGC. W części asymetrycznej tej struktury znajduje się aż 18 niezależnych dupleksów. Są one uporządkowane w przestrzeni w taki sposób, że mogą utworzyć jedną pseudonieskończoną helisę składającą się ze wszystkich 18 symetrycznie niezależnych cząsteczek. Pomiędzy sąsiednimi cząsteczkami istnieją oddziaływania warstwowe, dlatego nie obserwuje się efektu rozplatania końców helisy.

Białko MBNL1 jest istotnym czynnikiem w patogenezie dystrofii miotonicznej typu 1. Rozpoznaje zmutowane ciągi powtórzeń CUG, do których nadmiernie się wiąże powodując zmianę profilu alternatywnego składania szeregu pre-mRNA. MBNL1 może również oddziaływać z powtórzeniami CAG i CCG [50, 51, 64]. Pomimo, iż znana jest struktura krystaliczna domen białka MBNL1 oraz jedna z domen w kompleksie z oligomerem RNA, nie wiadomo jak białko to rozpoznaje wydłużone ciągi powtórzeń CNG. Na podstawie sporządzonego profilu strukturalnego można przypuszczać, że kluczowe dla rozpoznania są niestandardowe pary N-N. W przypadku powtórzeń CUG, CAG i CCG w niekanonicznych parach jest maksymalnie jedno wiązanie wodorowe. Białko MBNL1 prawdopodobnie wiąże jednoniciowe RNA. Ciągi CNG tworzą strukturę dwuniciową, którą to białko może rozpleść w przypadku CUG, CAG i CCG i przyłączyć pojedynczą nić. W powtórzeniach CGG, pomiędzy resztami guanozyn występują dwa wiązania wodorowe, zatem ich rozplecenie staje się znacznie trudniejsze. Niewykluczone też, że o wiązaniu RNA przez białko MBNL1 decydują inne cechy strukturalne, np. rozkład potencjału elektrostatycznego, który dla wszystkich powtórzeń CNG jest bardzo charakterystyczny i powtarzalny, czy też fakt, że pomimo obecności niestandardowych par N-N helisa przyjmuje formę A-RNA.

UWAGI KOŃCOWE

Badania krystalograficzne umożliwiły nie tylko poznanie struktury przestrzennej powtórzeń typu CNG, ale również określenie ich wspólnych oraz specyficznych właściwości fizyko-chemicznych takich jak: powinowactwo do ligandów, charakterystyka powierzchni, dystrybucja potencjału elektrostatycznego czy sieć wiązań wodorowych i hydratacja. Uzyskany profil 3D może być użyty dla racjonalizacji obserwacji biochemicznych i cytologicznych a także do racjonalnego projektowania ligandów (ang. *drug design*) wiążących się do powtórzeń CNG [65–67].

PODZIĘKOWANIA

Finansowanie: projekt badawczy Narodowego Centrum Nauki UMO-2011/01/B/NZ1/04429 oraz projekt MNiSz IUVENTUS PLUS 0450/IPI/2013/72.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] P. Kozłowski, M. de Mezer, W.J. Krzyżosiak, *Nucleic Acids Res.*, 2010, **38**, 4027.
- [2] A. Jasińska, G. Michlewski, M. de Mezer, K. Sobczak, P. Kozłowski, M. Napierała, W.J. Krzyżosiak, *Nucleic Acids Res.*, 2003, **31**, 5463.
- [3] G. Sicot, M. Gomes-Pereira, *Biochim. Biophys. Acta*, 2013, **1832**, 1390.
- [4] H.T. Orr, H.Y. Zoghbi, *Annu. Rev. Neurosci.*, 2007, **30**, 575.
- [5] C.E. Pearson, K. Nichol Edamura, J.D. Cleary, *Nat. Rev. Genet.*, 2005, **6**, 729.
- [6] A. Lopez Castel, J.D. Cleary, C.E. Pearson, *Nat. Rev. Cell Biol.*, 2010, **11**, 165.
- [7] M. Napierała, D. Michałowski, M. de Mezer, W.J. Krzyżosiak, *Nucleic Acids Res.*, 2005, **33**, 451.
- [8] K. Sobczak, W.J. Krzyżosiak, *J. Biol. Chem.*, 2004, **279**, 41563.
- [9] K. Sobczak, W.J. Krzyżosiak, *J. Biol. Chem.*, 2005, **280**, 3898.
- [10] S.M. Mirkin, *Nature*, 2007, **447**, 932.
- [11] M.V. Bell, M.C. Hirst, Y. Nakahori, R.N. MacKinnon, A. Roche, T.J. Flint, P.A. Jacobs, N. Tommerup, L. Tranebjaerg, U. Froster-Iskenius i in., *Cell*, 1991, **64**, 861.
- [12] I. Oberle, F. Rousseau, D. Heitz, C. Kretz, D. Devys, A. Hanauer, J. Boue, M.F. Bertheas, J.L. Mandel, *Science*, 1991, **252**, 1097.
- [13] A.J. Verkerk, M. Pieretti, J.S. Sutcliffe, Y.H. Fu, D.P. Kuhl, A. Pizzuti, O. Reiner, S. Richards, M.F. Victoria, F.P. Zhang i in., *Cell*, 1991, **65**, 905.
- [14] S. Yu, M. Pritchard, E. Kremer, M. Lynch, J. Nancarrow, E. Baker, K. Holman, J.C. Mulley, S.T. Warren, D. Schlessinger i in., *Science*, 1991, **252**, 1179.
- [15] L.P. Ranum, T.A. Cooper, *Annu. Rev. Neurosci.*, 2006, **29**, 259.
- [16] K. Sobczak, M. de Mezer, G. Michlewski, J. Król, W.J. Krzyżosiak, *Nucleic Acids Res.*, 2003, **31**, 5469.
- [17] W.J. Krzyżosiak, K. Sobczak, M. Napierała, R.D. Wells, T. Ashizawa, *Chapter 45 – Structural Characteristics of Trinucleotide Repeats in Transcripts*, Academic Press, Burlington, 2006.
- [18] G. Michlewski, W.J. Krzyżosiak, *J. Mol. Biol.*, 2004, **340**, 665.
- [19] C. Aslanidis, G. Jansen, C. Amemiya, G. Shutler, M. Mahadevan, C. Tsiflidis, C. Chen, J. Alleman, N.G. Wormskamp, M. Vooijs i in., *Nature*, 1992, **355**, 548.

- [20] J.D. Brook, M.E. McCurrach, H.G. Harley, A.J. Buckler, D. Church, H. Aburatani, K. Hunter, V.P. Stanton, J.P. Thirion, T. Hudson, *in in.*, *Cell*, 1992, **68**, 799.
- [21] H.G. Harley, J.D. Brook, S.A. Rundle, S. Crow, W. Reardon, A.J. Buckler, P.S. Harper, D.E. Housman, D.J. Shaw, *Nature*, 1992, **355**, 545.
- [22] J.W. Miller, C.R. Urbinati, P. Teng-Umnuay, M.G. Stenberg, B.J. Byrne, C.A. Thornton, M.S. Swanson, *EMBO J*, 2000, **19**, 4439.
- [23] T.H. Ho, B.N. Charlet, M.G. Poulos, G. Singh, M.S. Swanson, T.A. Cooper, *EMBO*, 2004, **23**, 3103.
- [24] R.J. Osborne, C.A. Thornton, *Hum. Mol. Genet.*, 2006, **15 Spec No 2**, R162.
- [25] B.H. Mooers, J.S. Logue, J.A. Berglund, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2005, **102**, 16626.
- [26] A. Kiliszek, R. Kierzek, W.J. Krzyżosiak, W. Rypniewski, *Nucleic Acids Res.*, 2009, **37**, 4149.
- [27] P. Auffinger, Y. Hashem, *Bioinformatics*, 2007, **23**, 1035.
- [28] A. Kumar, H. Park, P. Fang, R. Parkesh, M. Guo, K.W. Nettles, M.D. Disney, *Biochemistry*, 2011, **50**, 9928.
- [29] J. Tamjar, E. Katorcha, A. Popov, L. Malinina, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 2012, **30**, 505.
- [30] L.A. Coonrod, J.R. Lohman, J.A. Berglund, *Biochemistry*, 2012, **51**, 8330.
- [31] Y.H. Fu, D.P. Kuhl, A. Pizzuti, M. Pieretti, J.S. Sutcliffe, S. Richards, A.J. Verkerk, J.J. Holden, R.G. Fenwick, Jr., S.T. Warren *in in.*, *Cell*, 1991, **67**, 1047.
- [32] C. Dombrowski, S. Levesque, M.L. Morel, P. Rouillard, K. Morgan, F. Rousseau, *Hum. Mol. Genet.*, 2002, **11**, 371.
- [33] N. Zhong, W. Ju, J. Pietrofesa, D. Wang, C. Dobkin, W.T. Brown, *Am. J. Med. Genet.*, 1996, **64**, 261.
- [34] R.J. Hagerman, M. Leehey, W. Heinrichs, F. Tassone, R. Wilson, J. Hills, J. Grigsby, B. Gage, P.J. Hagerman, *Neurology*, 2001, **57**, 127.
- [35] S. Jacquemont, R.J. Hagerman, M. Leehey, J. Grigsby, L. Zhang, J.A. Brunberg, C. Greco, V. Des Portes, T. Jardini, R. Levine, E. Berry-Kravis, W.T. Brown, S. Schaeffer, J. Kissel, F. Tassone, P.J. Hagerman, *Am. J. Hum. Genet.*, 2003, **72**, 869.
- [36] S.L. Sherman, *Am. J. Med. Genet.*, 2000, **97**, 189.
- [37] I.A. Glass, *J. Med. Genet.*, 1991, **28**, 361.
- [38] L.S. Chen, F. Tassone, P. Sahota, P.J. Hagerman, *Hum. Mol. Genet.*, 2003, **12**, 3067.
- [39] B. Primerano, F. Tassone, R.J. Hagerman, P. Hagerman, F. Amaldi, C. Bagni, *RNA*, 2002, **8**, 1482.
- [40] F. Tassone, R.J. Hagerman, A.K. Taylor, L.W. Gane, T.E. Godfrey, P.J. Hagerman, *Am. J. Hum. Genet.*, 2000, **66**, 6.
- [41] R.J. Hagerman, P.J. Hagerman, *Mol. Genet. Metab.*, 2001, **74**, 89.
- [42] A. Kenneson, F. Zhang, C.H. Hagedorn, S.T. Warren, *Hum. Mol. Genet.*, 2001, **10**, 1449.
- [43] D. Garcia-Arocena, P.J. Hagerman, *Hum. Mol. Genet.*, 2010, **19**, R83.
- [44] C. Sellier, F. Rau, Y. Liu, F. Tassone, R.K. Hukema, R. Gattoni, A. Schneider, S. Richard, R. Willemssen, D.J. Elliott, P.J. Hagerman, N. Charlet-Berguerand, *EMBO*, 2010, **29**, 1248.
- [45] C. Sellier, F. Freyermuth, R. Tabet, T. Tran, F. He, F. Ruffenach, V. Alunni, H. Moine, C. Thibault, A. Page, F. Tassone, R. Willemssen, M.D. Disney, P.J. Hagerman, P.K. Todd, N. Charlet-Berguerand, *Cell Rep.*, 2013, **3**, 869.
- [46] A. Kiliszek, R. Kierzek, W.J. Krzyżosiak, W. Rypniewski, *Nucleic Acids Res.*, 2011, **39**, 7308.
- [47] A. Kumar, P. Fang, H. Park, M. Guo, K.W. Nettles, M.D. Disney, *Chembiochem.*, 2011, **12**, 2140.
- [48] A.R. La Spada, J.P. Taylor, *Nat. Rev. Genet.*, 2010, **11**, 247.
- [49] P. Gałka-Marciniak, M.O. Urbanek, W.J. Krzyżosiak, *Biol. Chem.*, 2012, **393**, 1299.
- [50] T.H. Ho, R.S. Savkur, M.G. Poulos, M.A. Mancini, M.S. Swanson, T.A. Cooper, *J. Cell Sci.*, 2005, **118**, 2923.
- [51] Y. Yuan, S.A. Compton, K. Sobczak, M.G. Stenberg, C.A. Thornton, J.D. Griffith, M.S. Swanson, *Nucleic Acids Res.*, 2007, **35**, 5474.
- [52] L.B. Li, Z. Yu, X. Teng, N.M. Bonini, *Nature*, 2008, **453**, 1107.

- [53] M. de Mezer, M. Wojciechowska, M. Napierała, K. Sobczak, W.J. Krzyżosiak, *Nucleic Acids Res.*, 2011, **39**, 3852.
- [54] A. Kiliszek, R. Kierzek, W.J. Krzyżosiak, W. Rypniewski, *Nucleic Acids Res.*, 2010, **38**, 8370.
- [55] I. Yildirim, H. Park, M.D. Disney, G.C. Schatz, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**, 3528.
- [56] C. Braidia, R.K. Stefanatos, B. Adam, N. Mahajan, H.J. Smeets, F. Niel, C. Goizet, B. Arveiler, M. Koenig, C. Lagier-Tourenne, J.L. Mandel, C.G. Faber, C.E. de Die-Smulders, F. Spaans, D.G. Monckton, *Hum. Mol. Genet.*, 2010, **19**, 1399.
- [57] B.R. Zhang, J. Tian, Y.P. Yan, X.Z. Yin, G.H. Zhao, Z.Y. Wu, W.H. Gu, K. Xia, B.S. Tang, *J. Neurol. Sci.*, 2012, **312**, 92.
- [58] Y. Gu, Y. Shen, R.A. Gibbs, D.L. Nelson, *Nat. Genet.*, 1996, **13**, 109.
- [59] J. Gecz, A.K. Gedeon, G.R. Sutherland, J.C. Mulley, *Nat. Genet.*, 1996, **13**, 105.
- [60] O.A. Sofola, P. Jin, J. Botas, D.L. Nelson, *Hum. Mol. Genet.*, 2007, **16**, 2326.
- [61] G. Annesi, G. Nicoletti, P. Tarantino, N. Cutuli, F. Annesi, E.V. Marco, M. Zappia, L. Morgante, G. Arabia, P. Pugliese, F. Condino, S. Carrideo, D. Civitelli, M. Caracciolo, N. Romeo, P. Spadafora, I.C. Candiano, A. Quattrone, *Neurosci. Lett.*, 2004, **368**, 21.
- [62] A. Costa, L. Gao, F. Carrillo, M.T. Caceres-Redondo, M. Carballo, J. Diaz-Martin, P. Gomez-Garre, F. Sobrino, M. Lucas, J. Lopez-Barneo, P. Mir, E. Pintado, *Parkinsonism Relat. Disord.*, 2011, **17**, 281.
- [63] A. Kiliszek, R. Kierzek, W.J. Krzyżosiak, W. Rypniewski, *Nucleic Acids Res.*, 2012, **40**, 8155.
- [64] Y. Kino, D. Mori, Y. Oma, Y. Takeshita, N. Sasagawa, S. Ishiura, *Hum. Mol. Genet.*, 2004, **13**, 495.
- [65] J.F. Arambula, S.R. Ramisetty, A.M. Baranger, S.C. Zimmerman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2009, **106**, 16068.
- [66] M.M. Lee, J.L. Childs-Disney, A. Pushechnikov, J.M. French, K. Sobczak, C.A. Thornton, M.D. Disney, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 17464.
- [67] A. Pushechnikov, M.M. Lee, J.L. Childs-Disney, K. Sobczak, J.M. French, C.A. Thornton, M.D. Disney, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 9767.

Praca wpłynęła do Redakcji 29 stycznia 2014

WYSOKOROZDZIELCZA KRYSTALOGRAFIA MAKROMOLEKUŁ

HIGH RESOLUTION CRYSTALLOGRAPHY OF MACROMOLECULES

Mirosław Gilski

*Zakład Krystalografii, Wydział Chemii UAM
ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań
Centrum Badań Biokrystalograficznych, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
ul. Noskowskiego 12/14, 61-704 Poznań
e-mail: mirek@amu.edu.pl*

Abstract

Wprowadzenie

1. Krystalizacja makromolekuł dla badań wysokorozdzielczych
2. Rejestracja i procesowanie danych dyfrakcyjnych
3. Rozwiązywanie struktur wysokorozdzielczych
 - 3.1. Metody bezpośrednie
4. Budowanie modelu struktury
5. Udokładnianie
 - 5.1. Modelowanie obszaru rozpuszczalnika
 - 5.2. Alternatywne konformacje
 - 5.3. Atomy wodoru w strukturach makromolekuł
 - 5.4. Standardowe parametry stereochemiczne
6. Deformacja gęstości elektronowej

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Dr Mirosław Gilski jest absolwentem fizyki na Uniwersytecie im. A. Mickiewicza w Poznaniu. Po studiach rozpoczął pracę w Zakładzie Krystalografii na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu, gdzie obecnie jest zatrudniony na stanowisku adiunkta. Oprócz tego pracuje, od momentu jego założenia, w Centrum Badań Biokrystalograficznych w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, które było pierwszym laboratorium krystalografii białek w Polsce. Jego zainteresowania naukowe koncentrują się na metodycznych aspektach wysokorozdzielczej krystalografii makromolekuł, metodach procesowania i automatycznej rejestracji synchrotronowych danych dyfrakcyjnych oraz strukturalnych badaniach białek i kwasów nukleinowych o ekstremalnie wysokiej rozdzielczości.

ABSTRACT

The recent developments and availability of modern third-generation synchrotron radiation facilities have a huge impact on macromolecular X-ray crystallography. In connection with a number of methodological improvements and new crystallographic software ranging from data processing to refinement, a unique opportunity has arisen to determine the macromolecular structures with unprecedented high resolution and quality, at a level traditionally reserved for small molecules.

At this resolution, individual atoms are clearly resolved and fine details of the structures become visible directly in the electron density maps.

The great importance of such structures is the possibility of having broader insights into macromolecule function. At very high resolution, hydrogen atoms can be seen in electron density maps and the detailed information about the protonation states of catalytically important residues can be studied, what often is critical for full understanding of enzymatic reactions.

Atomic resolution gives the opportunity for clear definition of multiple conformations, although the proportion of disordered residues is higher at higher resolution, and the disorder is seen as distinct alternative conformations.

Water in macromolecular crystal plays an important role in macromolecule's function and stabilization. Ultrahigh resolution data allows to refine water molecules with anisotropic displacement parameters and refine them with fractional occupancies. In this situation analyzing the subtle hydrogen bond network, involving precisely located water molecules, is possible.

Atomic resolution structures can be refined without or with only very weak stereochemical restraints. Macromolecular models refined at ultrahigh resolutions, for well ordered structures, can be used for validation and improvement of stereochemical restraint libraries, commonly used during refinement of macromolecular structures.

Keywords: macromolecular crystallography, atomic resolution structures, stereochemical restraints, charge density

Słowa kluczowe: krystalografia makromolekuł, struktury o rozdzielczości atomowej, więzy stereochemiczne, gęstość ładunku

WPROWADZENIE

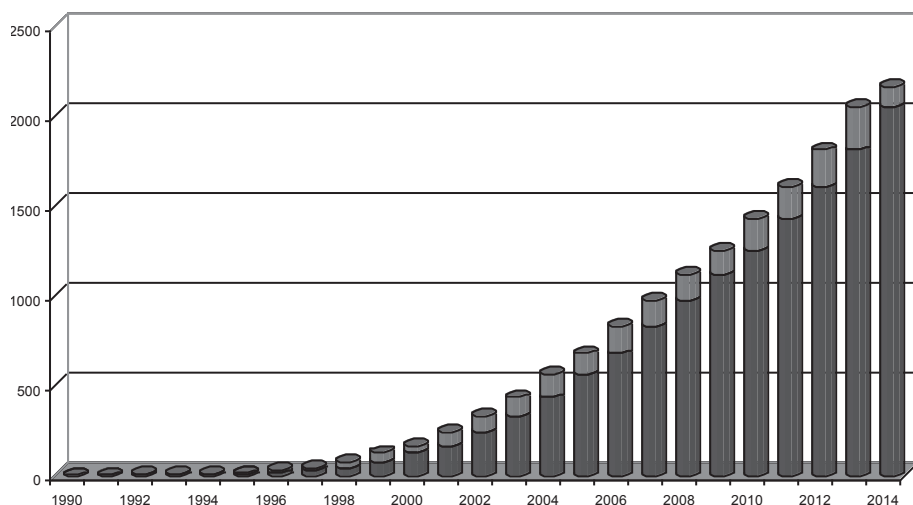
W krystalografii małych cząsteczek termin „rozdzielczość” jest używany dość rzadko. Najczęściej zakłada się, że dane dyfrakcyjne zostały zarejestrowane aż do maksymalnego kąta 2θ osiągalnego podczas pomiaru na dyfraktometrze z miedzianą lampą rentgenowską, co odpowiada rozdzielczości $\sim 0,8$ Å. Większość kryształów makromolekuł, takich jak białka czy kwasy nukleinowe, nie pozwala na uzyskanie tak dobrej dyfrakcji, głównie z powodu znacznie większych rozmiarów cząsteczek i wysokiej zawartości nieuporządkowanego rozpuszczalnika. W czasie ostatnich dwudziestu lat rozdzielczość i jakość krystalograficznych struktur makromolekularnych uległa znacznej poprawie, głównie z powodu różnych usprawnień technicznych, począwszy od lepszych technik ekspresji i krystalizacji, poprzez zastosowanie wysokowydajnych synchrotronowych źródeł promieniowania rentgenowskiego do pomiarów dyfrakcji a kończąc na znacznie ulepszonych metodach i algorytmach zaimplementowanych w programach komputerowych.

Stworzone zostały nowe możliwości określania struktur makrocząsteczek z niepotykaną dotąd wysoką rozdzielczością i precyzją, która tradycyjnie zarezerwowana jest dla krystalografii małych cząsteczek. Takie struktury są niezwykle wartościowe, ponieważ mogą się przyczynić do zrozumienia wielu subtelnych efektów strukturalnych i mogą zaofiarować nowe spojrzenie na chemię strukturalną makrocząsteczek.

Rok 2014 jest szczególnie dla krystalografów nie tylko z powodu ogłoszonego przez ONZ Międzynarodowego Roku Krystalografii. Również w tym roku liczba struktur zdeponowanych w bazie Protein Data Bank (PDB) [1] gromadzącej informacje o strukturach makromolekuł przekroczy 100 tysięcy.

Termin „wysoka rozdzielczość” w krystalografii makromolekuł nie jest do końca jednoznaczny a struktury, które jeszcze kilkanaście lat temu były nazywane wysokorozdzielczymi dzisiaj możemy zaliczyć do średniorozdzielczych. W pracy tej określenie „wysokorozdzielczy” używane jest w stosunku do rozdzielczości atomowej, zdefiniowanej przez Sheldrick'a [2] jako rozdzielczość lepsza niż $1,2$ Å. Przy takiej rozdzielczości możliwe jest rozdzielenie poszczególnych atomów niewodorowych na mapach gęstości elektronowej. Natomiast termin „rozdzielczość subatomowa” odnosi się do struktur, dla których zarejestrowano dane o rozdzielczości $0,8$ Å lub lepszej, pozwalającej badać znacznie bardziej subtelne efekty związane np. z lokalizacją położeń atomów wodoru lub deformacją rozkładu gęstości elektronowej.

Wśród struktur zdeponowanych w bazie PDB tylko około 2% może być zaliczone do struktur o rozdzielczości atomowej, mniej niż 0,6% do struktur o rozdzielczości $< 1,0$ Å i tylko $\sim 0,05\%$ (47 struktur) do struktur o rozdzielczości subatomowej (Rys. 1).



Rysunek 1. Wzrost liczby struktur o rozdzielczości atomowej ($< 1,2 \text{ \AA}$) zdeponowanych w bazie PDB od roku 1990. W tym czasie obserwujemy eksponencjalny wzrost liczby takich struktur. Jaśniejszym kolorem zaznaczono roczne przyrosty liczby struktur o rozdzielczości atomowej

Figure 1. Growth of the number of the structures with atomic resolution ($< 1.2 \text{ \AA}$) deposited in the PDB database since year 1990. Over that time the deposition rate has become exponential. The lighter color represents yearly growth of number of atomic resolution structures

Planując eksperyment mający na celu otrzymanie modelu struktury krystalicznej dowolnej cząsteczki chemicznej zawsze dążymy do uzyskania wyników o najwyższej jakości i precyzji. W przypadku struktur makromolekularnych precyzja ta może być w znacznym stopniu ograniczona poprzez samą naturę makromolekuł. Cechą charakterystyczną biologicznych kryształów makromolekularnych jest duża zawartość rozpuszczalnika (30–70%, głównie wody). Każda cząsteczka białka lub kwasu nukleinowego jest otoczona przez cząsteczki wody co w znacznym stopniu ogranicza możliwości bezpośrednich kontaktów pomiędzy poszczególnymi makromolekułami i zwiększa labilność całej struktury oraz powoduje znacznie gorszą jakość i rozdzielczość obrazów dyfrakcyjnych niż w przypadku struktur małych cząsteczek (które z reguły nie zawierają rozpuszczalnika).

1. KRYSALIZACJA

Do rozpoczęcia badania struktury białka/kwasu nukleinowego metodą krystalografii strukturalnej konieczne jest dysponowanie kryształem pozwalającym uzyskać zadowalające dane dyfrakcyjne o zadawalającej jakości, a gdy celem jest uzyskanie struktury o wysokiej rozdzielczości, wymagania co do jakości kryształu oraz danych są bardzo wysokie. Przeznaczone do krystalizacji białko lub kwas nukleinowy uzyskane z materiału naturalnego, wytworzone za pomocą inżynierii gene-

tycznej lub syntetycznie musi być bardzo dobrze oczyszczone. W następnym kroku należy znaleźć odpowiednie warunki krystalizacyjne, poprzez zoptymalizowanie bardzo wielu możliwych parametrów, takich jak stężenie białka, rodzaj i stężenie odczynnika strącającego, rodzaj i pH buforu, temperatura, itd. [3] (w większości przypadków stosuje się znane protokoły krystalizacji lub metodę prób i błędów). Obecnie, zamiast żmudnej ręcznej pracy w laboratorium biochemicznym, coraz częściej używa się odpowiednio zaprogramowanych robotów krystalizacyjnych, które są w stanie automatycznie przygotować dużą liczbę prób krystalizacyjnych różniących się wybranymi parametrami.

Kryształami najlepiej nadającymi się do wysokorozdzielczych eksperymentów są kryształy charakteryzujące się dużym stopniem uporządkowania, gęstym upakowaniem, co najczęściej się zdarza w kryształach z niewielką zawartością rozpuszczalnika (z reguły poniżej 40%) i o niewielkich rozmiarach komórki elementarnej. Bardzo dobrze rozpuszczalne, o zwartej budowie (np. związanej z występowaniem mostków dwusiarczkowych) i monomeryczne cząsteczki mają znacznie większe tendencje do tworzenia uporządkowanych struktur i formowania dużych interfejsów międzycząsteczkowych. Przykładem może być krambina, dla której kryształów zarejestrowano dyfrakcję o najwyższej do tej pory rozdzielczości 0,48 Å [4].

Jednakże warunki pozwalające na utworzenie wysoce uporządkowanych struktur nie są łatwe do ustalenia. W przypadku struktury reduktazy aldozowej [5], której kryształy rozpraszały do rozdzielczości 0,66 Å, większość wyżej wymienionych warunków nie jest spełniona – znacznie większa komórka elementarna, brak mostków dwusiarczkowych, większa ilość rozpuszczalnika, brak szczególnie bliskich kontaktów międzycząsteczkowych.

Po uzyskaniu pierwszych kryształów dających dyfrakcję o dobrej rozdzielczości możliwe jest poprawienie jakości kryształów poprzez optymalizację warunków krystalizacyjnych. Dobre rezultaty można otrzymać poprzez zmianę takich czynników jak objętość kropli, temperatura, pH oraz użycie zarodków krystalizacji lub ko-kryształizację z ligandami [5].

2. REJESTRACJA I PROCESOWANIE DANYCH DYFRAKCYJNYCH

Rejestracja obrazów dyfrakcyjnych, która ma na celu pomiar intensywności oraz położenia poszczególnych refleksów, jest ostatnim eksperymentalnym etapem w procesie wyznaczania struktury metodą rentgenografii strukturalnej. Dlatego też zawsze należy zaplanować ją i wykonać w sposób bardzo precyzyjny. Jest to szczególnie istotne w przypadku, gdy chcemy uzyskać wysoką rozdzielczość. Zdecydowaną większość pomiarów dyfrakcyjnych kryształów makromolekularnych wykonuje się przy użyciu promieniowania synchrotronowego udostępnianego na dedykowanych stacjach pomiarowych w dużych ośrodkach synchrotronowych [6]. Aby zapobiec zbyt szybkiemu uszkodzeniu radiacyjnemu kryształu, konieczne jest monitorowanie całkowitej dawki promieniowania, którym naświetlamy kryształ.

Można to zrobić np. z pomocą programu RADDOS [7], który służy do określenia dawki promieniowania rentgenowskiego zaabsorbowanego przez kryształ w czasie pomiaru. Przy wyborze właściwej strategii pomiaru bardzo pomocne mogą być również dedykowane programy takie jak BEST [8] lub odpowiednie moduły programów do procesowania danych dyfrakcyjnych takich jak HKL2000, MOSFLM [9, 10], pomocne przy ustalaniu optymalnych zakresów kątowych i kąta oscylacji kryształu użytych podczas pomiaru. Bardzo istotnym elementem pomiaru wysokorozdzielczego jest typ detektora zamontowanego na linii pomiarowej rejestrującego obrazy dyfrakcyjne. Dla detektorów z 16-bitowym przetwornikiem z reguły nie jest możliwe jednoczesne zarejestrowanie bardzo silnych refleksów niskorozdzielczych i bardzo słabych refleksów wysokorozdzielczych. Dlatego też pomiar wykonuje się w kilku etapach (od 2–4) rejestrując dyfrakcję w kilku zakresach rozdzielczości, zaczynając od najniższej rozdzielczych (np. ∞ –2,0; 2,4–1,0; 1,5–0,7 Å [11]). Najnowsze typy detektorów (np. typu PILATUS [12], które coraz częściej montowane są na synchrotronowych liniach pomiarowych) mają przetworniki 20-bitowe, co znacznie zwiększa zakres rejestrowanych intensywności, i umożliwia wykonanie całego pomiaru dyfrakcji wysokorozdzielczej w jednym przebiegu. Oprócz tego detektory te mogą pracować w trybie ciągłym, co oznacza, że w czasie potrzebnym do obrotu kryształu detektor jest w stanie zarejestrować i zapisać dane dyfrakcyjne. Najnowsze modele mogą zarejestrować od 25 nawet do kilkuset obrazów dyfrakcyjnych w czasie sekundy. Możliwe jest to dzięki zastosowaniu bardzo szybkiej i wydajnej elektroniki oraz niezwykle intensywnej i o dużej jasności wiązki promieniowania rentgenowskiego. Podczas pomiaru należy wybrać optymalny kąt oscylacji kryształu. Użycie kąta oscylacji $<1^\circ$ jest korzystniejsze w trakcie procesowania danych (metoda „*fine slicing*”, procesowanie 3D, [6, 13]), jednak pomimo istniejących technicznych możliwości kąt ten nie powinien być znacznie mniejszy niż mozaikowość kryształu.

Dane dyfrakcyjne o najwyższej rozdzielczości znajdują się w obszarach wysokich kątów rozpraszania i to właśnie one pozwalają na precyzyjne wyznaczenie położenia atomów w strukturze. Jednak w tych zewnętrznych rejonach przestrzeni dyfrakcyjnej intensywność dyfrakcji zanika bardzo szybko, zbliżając się do poziomu szumu pomiarowego i staje się statystycznie nieznacząca. Dlatego też musimy określić granicę rozdzielczości, powyżej której dodatkowe eksperymentalne dane dyfrakcyjne nie będą wносиły żadnej znaczącej informacji.

Niestety precyzyjne określenie tej granicy jest w praktyce bardzo trudne i nie zawsze zupełnie jednoznaczne [14]. Jednym z powszechnie stosowanych kryteriów w krysztalografii makromolekuł określających jakość danych jest parametr obrazujący średni stosunek sygnału do poziomu szumu $\langle I/\sigma(I) \rangle$ obliczany dla poszczególnych zakresów rozdzielczości [15]. Zakłada się, że wartość $\langle I/\sigma(I) \rangle$, w najwyższym zakresie rozdzielczości, powinna wynosić co najmniej 2,0. W praktyce oznacza to, że w ostatnim przedziale rozdzielczości, gdzie znajdują się najsłabsze, a zarazem najważniejsze refleksy z punktu widzenia precyzji struktury, statystycznie około połowa zmierzonych intensywności będzie spełniać warunek $I > 2\sigma(I)$. Dla więk-

szości strukturalnych badań makromolekuł powyższe kryterium wraz z kompletnością i parametrem R_{merge} określającym wewnętrzną spójność danych dyfrakcyjnych stanowią podstawę do ustalenia jakości danych dyfrakcyjnych.

Wraz ze wzrostem rozdzielczości nowych struktur takie podejście jest ostatnio coraz częściej uznawane za zbyt rygorystyczne, szczególnie w odniesieniu do struktur o najwyższej rozdzielczości. Należy pamiętać, że liczba danych dyfrakcyjnych (refleksów) jest proporcjonalna do trzeciej potęgi rozdzielczości, co oznacza, że przy rozdzielczości wynoszącej 1,0 Å liczba refleksów jest ośmiokrotnie większa niż dla rozdzielczości 2,0 Å.

Dla takich struktur znaczna część zarejestrowanych refleksów to refleksy wysokorozdzielcze o zmniejszającej się intensywności i obciążone zwiększającym się błędem. Jednak każdy refleks powinien być traktowany jako bardzo cenny, gdyż wnosi dodatkową informację o strukturze i zbyt rygorystyczne kryterium odrzucania danych eksperymentalnych może być powodem zaniżenia rozdzielczości oraz, jak wykazali Karplus i Diederichs [15], ostateczny model struktury nie będzie tak dobry jak mógłby być przy bardziej efektywnym wykorzystaniu informacji pochodzącej z eksperymentu. Pomimo powszechnego stosowania, wskaźnik R_{merge} , oparty na wewnętrznej spójności danych, nie jest najlepszym kryterium w takich przypadkach. Ponieważ błąd względny pomiaru intensywności rośnie wraz z rozdzielczością, parametr R_{merge} będzie dążył do nieskończoności. Dlatego też kryterium określania „rzeczywistej rozdzielczości” na podstawie wartości R_{merge} (lub pochodnych parametrów jak R_{meas} lub $R_{\text{p.i.m}}$ [16]) nie jest zawsze najlepszym rozwiązaniem, może jednak być bardzo użyteczne przy porównywaniu różnych zestawów danych. Lepszą i bardziej wiarygodną miarą wewnętrznej spójności danych dyfrakcyjnych wydaje się zaproponowany przez tych samych autorów [15] współczynnik korelacji $CC_{1/2}$ pomiędzy dwoma zestawami danych powstałymi poprzez losowy podział danych na dwie połowy. Najmniejsza akceptowalna wartość tego współczynnika może być rzędu 0,1–0,2 co odpowiada korelacji $CC_{\text{true}} \sim 0,5$ pomiędzy rzeczywistym zestawem danych a idealnym zestawem wolnym od błędów. Oszacowanie tej wartości, oznaczone jako CC^* , jest wyznaczane przez większość nowych wersji programów do procesowania danych dyfrakcyjnych [9, 17]. Procesowanie „surowych” danych dyfrakcyjnych należy przeprowadzić szczególnie starannie, zwracając uwagę na skalowanie poszczególnych podzbiorów danych, jakość i precyzję w poszczególnych zakresach rozdzielczości, wybierając najlepsze zakresy pozwalające uzyskać kompletny zestaw danych [6].

3. ROZWIĄZYWANIE STRUKTUR WYSOKOROZDZIELCZYCH

Wynikiem pomiaru dyfrakcji promieni rentgenowskich na kryształach i procesowania danych są intensywności poszczególnych refleksów wraz z ich wskaźnikami hkl , co niestety nie jest wystarczające do rozwiązania struktury kryształu ze względu na niedostępność faz tych refleksów. Jest to tzw. problem fazowy, który musi być

rozwiązany w celu uzyskania modelu struktury. We współczesnej kryształografii makromolekuł głównymi metodami rozwikłania problemu fazowego są podstawienie cząsteczkowe [18] (ang. *Molecular Replacement*) oraz metoda polegająca na wprowadzeniu do struktury atomów o specjalnych właściwościach dyfrakcyjnych. W uproszczeniu, podstawienie cząsteczkowe polega na użyciu, jako przybliżonego modelu, makrocząsteczki o podobnej strukturze do badanej, np. jej mutantu lub homologu, oraz porównania dyfrakcji obserwowanej eksperymentalnie z teoretycznie obliczoną [19]. Druga metoda polega na wprowadzeniu do kryształu (np. poprzez nasączenie, lub modyfikację niektórych aminokwasów), bez zaburzenia jego pozostałej struktury, atomu o dużej liczbie elektronów dającego silną dyfrakcję lub takiego, dla którego można zarejestrować dyfrakcję anomalną i na tej podstawie wyznaczyć wstępne fazy. Obecnie najczęściej używanym wariantem tej metody jest SAD (ang. *Single-wavelength Anomalous Diffraction*), w której dokonuje się bardzo precyzyjnych pomiarów dyfrakcji anomalnej tylko przy jednej długości fali, przy zastosowaniu promieniowania synchrotronowego z możliwością dostrojenia długości fali do wybranej krawędzi absorpcji, co nie jest możliwe przy klasycznych źródłach promieniowania rentgenowskiego.

Gdy rozdzielczość i jakość danych dyfrakcyjnych jest wysoka, możliwe jest również wykorzystanie słabych sygnałów anomalnych pochodzących np. od atomów siarki [20, 21] lub fosforu [22], które są typowymi pierwiastkami występującymi w strukturach białek i kwasów nukleinowych.

3.1. METODY BEZPOŚREDNIE

Dysponując danymi o rozdzielczości atomowej możliwe jest również rozwiązanie problemu fazowego za pomocą tzw. metod bezpośrednich, które są rutynowo stosowane w kryształografii małych cząsteczek zawierających nie więcej niż 100 atomów niewodorowych. Metody te używają zaawansowanej teorii prawdopodobieństwa i nie wymagają żadnych innych informacji oprócz danych o symetrii i składzie chemicznym oraz zestawu eksperymentalnie zmierzonych intensywności, które i tak są niezbędne podczas udokładniania struktury. Korzystając z faktu, że dane dyfrakcyjne o atomowej rozdzielczości zawierają znacznie więcej zmierzonych intensywności niż wynosi liczba parametrów koniecznych do opisanie modelu atomowego i założenia, że atomy są dobrze rozdzielone, możliwe jest oszacowanie faz refleksów bezpośrednio z intensywności zmierzonych refleksów [23].

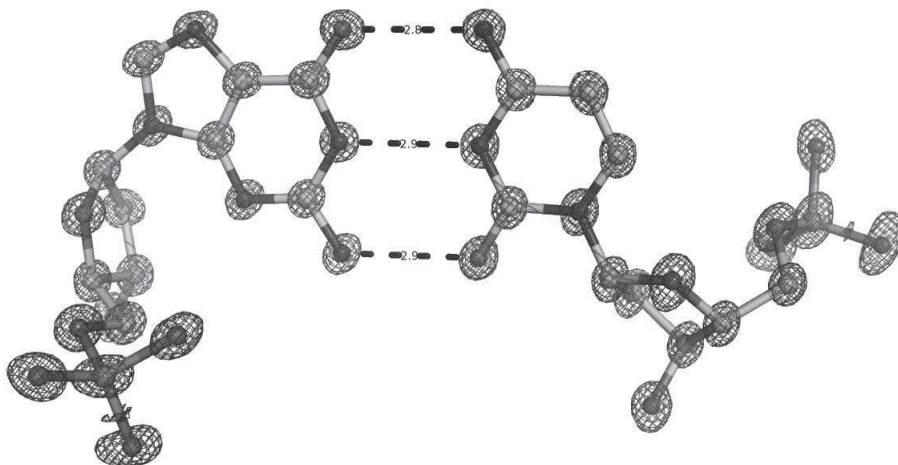
Ostatnio często do metod bezpośrednich zaliczane są też metody *ab initio*, które do rozwiązania problemu fazowego wykorzystują tylko natywne dane dyfrakcyjne bez używania informacji o wstępnych fazach uzyskanych na bazie pochodnych izomorficznych lub rozpraszania anomalnego. Jedną z metod *ab initio* w czystej formie jest metoda „odwracania ładunku” (ang. *charge-flipping*) [24], która odróżnia się od klasycznych metod bezpośrednich tym, że nie jest oparta na probabilistycznych zależnościach faz i do rozwiązania struktury nie wymaga żadnych innych infor-

macji oprócz danych zawierających intensywności i wskaźniki *hkl* refleksów. Algorytm *odwracania ładunku* należy do grupy iteracyjnych algorytmów operujących zarówno na przestrzeni odwrotnej jak i na rzeczywistej (ang. *dual-space algorithms*), polegających na iteracyjnym przemiennym udokładnianiu próbných faz w przestrzeni odwrotnej oraz modyfikacji map gęstości elektronowej w sieci rzeczywistej z więzami poprawiającymi fazy. Do grupy tej należą również takie programy jak: Shake-and-Bake [25], ShelxD [26], SIR2004 [27].

4. BUDOWANIE MODELU

Ostatecznym wynikiem rentgenowskiej analizy strukturalnej jest mapa gęstości elektronowej. Wstępne mapy, obliczone na podstawie faz wyznaczonych na etapie rozwiązania struktury i intensywności otrzymanych z eksperymentu (a co za tym idzie, proporcjonalnych do nich amplitud czynników struktury), są z reguły niedokładne, lecz umożliwiają zbudowanie wstępnego modelu struktury.

Taki model, często niekompletny, musi być uzupełniony poprzez dodanie wszystkich brakujących fragmentów. Budowanie kompletnego modelu możliwe jest, przy prawidłowo określonych wstępnych fazach, poprzez interpretację map gęstości elektronowej, głównie map różnicowych. W przypadku niewielkich struktur, jakie spotyka się w krystalografii małych cząsteczek, budowanie kompletnego modelu możliwe jest poprzez analizę listy najwyższych pików, która generowana jest poprzez automatyczną interpretację mapy gęstości elektronowej. W krystalografii makromolekularnej, z powodu wielkości badanych obiektów i z reguły nie najlepszej rozdzielczości, analiza w pełni automatyczna nie jest możliwa nawet dla map wysokorozdzielczych. Często stosuje się zaawansowane programy komputerowe takie jak Buccaneer [28], ArpWarp [29], Phenix.Autobuild [30], wspomagające budowanie i sprawdzanie poprawności modelu oraz jego wstępne dopasowanie do mapy gęstości elektronowej. Wyniki takich interpretacji zawsze wymagają sprawdzenia za pomocą programów wykorzystujących grafikę komputerową (takich jak Coot [31]), umożliwiających korektę niektórych fragmentów modelu. W przypadku struktur wysokorozdzielczych, mapy gęstości elektronowej są bardzo wysokiej jakości, pozwalającej rozróżnić poszczególne pojedyncze maksima reprezentujące atomy (Rys. 2).



Rysunek 2. Fragment mapy gęstości elektronowej struktury dupletu heksameru Z-DNA d(CGCGCG) o wyjątkowo wysokiej rozdzielczości [38]. Widoczna para zasad Cyt3-Gua10 z odpowiadającą mapą $2F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}$ przy konturze na poziomie $1,5\sigma$, rozdzielczość $0,53 \text{ \AA}$.

Figure 2. Fragment of electron density map of extremely high resolution structure of Z-DNA hexamer duplex d(CGCGCG) [38]. Cyt3-Gua10 base pair with the corresponding $2F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}$ map at 1.5σ contour level, resolution 0.53 \AA

Taka sytuacja znacznie ułatwia prawidłową interpretację mapy i często możliwe jest zbudowanie wstępnego modelu manualnie z użyciem programów do graficznej wizualizacji map gęstości elektronowej [31]. Jest to możliwe również dlatego, iż masa cząsteczkowa poznanych do tej pory makromolekuł, dla których określono struktury z najwyższą rozdzielczością, jest raczej niewielka. Dla większości struktur makromolekuł o rozdzielczości poniżej $1,0 \text{ \AA}$ masa cząsteczkowa jest mniejsza od 20 kD (średnia masa cząsteczkowa struktur zdeponowanych w ostatnich latach w bazie PDB zbliża się do 100 kD).

5. UDOKŁADNIANIE

Jednym z ostatnich kroków w procesie mającym na celu otrzymanie struktury rentgenograficznej makrocząsteczki jest udokładnienie modelu, prowadzone w celu maksymalizacji zgodności modelu z danymi eksperymentalnymi. W trakcie udokładniania optymalizowane są takie parametry jak współrzędne atomów, parametry przemieszczenia atomowego (ang. *Atomic Displacement Parameter*, ADP), czynniki obsadzenia i inne parametry opisujące bezpośrednio model.

Celem udokładniania jest znalezienie takiego zestawu parametrów modelu, dla którego obliczone na ich podstawie czynniki struktury $|F_{\text{calc}}|$ będą najbardziej zbliżone do amplitud zmierzonych eksperymentalnie $|F_{\text{obs}}|$. Ogólnie można powiedzieć, że udokładnianie struktur makromolekuł (jak również mniejszych struktur rentgenograficznych) jest optymalizacją funkcji zbioru obserwacji poprzez zmianę

parametrów modelu. W praktyce wykorzystywane są dwie funkcje: pierwsza oparta na zasadzie najmniejszych kwadratów (ang. *least squares*, LSQ), druga na największej wiarygodności (ang. *maximum likelihood*, ML). W metodzie najmniejszych kwadratów obserwacje mają ustalone wartości a parametry modelu zmieniane są tak, że obliczane na ich podstawie wartości zbliżają się w trakcie udokładniania do obserwacji tak blisko jak jest to możliwe. Natomiast główną ideą metody największej wiarygodności jest znalezienie takiego modelu, który będzie najbardziej zgodny z obserwacjami. Zgodność ta mierzona jest statystycznie i jeśli zmiana dokonana w modelu czyni obserwacje bardziej prawdopodobną to wiarygodność (ang. *likelihood*) rośnie, wskazując, że model jest lepszy. Metoda największej wiarygodności jest znacznie trudniejsza z punktu widzenia implementacji w programach komputerowych niż metoda najmniejszych kwadratów i autorzy programów muszą użyć wielu wstępnych założeń pozwalających zakończyć obliczenia w rozsądnym czasie.

Większość obecnie używanych programów do udokładniania struktur makrocząsteczek (np. REFMAC [32], Phenix.refine [33]) oparta jest na metodzie ML, głównie dlatego, że metoda ta daje znacznie lepsze wyniki dla struktur, w których wstępny model jest niekompletny, a fazy użyte do udokładniania nie są zbyt dokładne. Sytuacja taka jest typowa w badaniach strukturalnych makromolekuł, szczególnie tych bardzo dużych, dla których jakość danych i rozdzielczość jest niska. Programy te mogą być również z powodzeniem stosowane do udokładniania struktur wysokorozdzielczych, lecz należy je stosować z ostrożnością, zwracając szczególną uwagę na domyślne ustawienia parametrów udokładniania.

Warto zwrócić uwagę, że metoda najmniejszych kwadratów jest w zasadzie szczególnym przypadkiem bardziej ogólnej metody największej wiarygodności. W przypadku, gdy rozkład błędów obserwacji jest zgodny z rozkładem Gaussa można wykazać, że metoda największej wiarygodności daje bardzo podobne rezultaty jak metoda najmniejszych kwadratów.

Ponieważ wstępny model struktur o rozdzielczości atomowej uzyskany w wyniku rozwiązania problemu fazowego z reguły jest kompletny, a co za tym idzie wstępne fazy są dość precyzyjne, możliwe jest udokładnianie takiej struktury przy pomocy znacznie prostszego w implementacji algorytmu opartego na LSQ. Wśród programów wykorzystujących tę metodę jednym z najbardziej popularnych programów, szczególnie w krytalografii małych cząsteczek, jest SHELXL [34]. Pod koniec lat 90-tych program ten został dostosowany do udokładniania struktur białkowych i obecnie jest dominującym programem używanym do udokładniania struktur makromolekularnych o rozdzielczości $< 1,0 \text{ \AA}$.

Jedną z najbardziej wyróżniających cech programu SHELXL jest użycie konwencjonalnej metody obliczania czynników struktury, która jest bardziej precyzyjna niż metoda FFT (ang. *Fast Fourier Transform*). Taki sposób obliczeń poprawia zbieżność udokładniania, lecz program działa relatywnie wolniej. W ostatniej wersji programu zostało to w pewnym stopniu zrekompensowane poprzez efektywne użycie procesorów wielordzeniowych, powszechnie dostępnych we współczesnych

komputerach. Spośród innych zalet programu należy wymienić używanie podczas udokładniania kwadratów czynników struktury (F_{obs}^2 , proporcjonalnych do intensywności) zamiast ich amplitud $|F_{obs}|$ oraz możliwość oszacowania niepewności standardowych dla każdego parametru modelu poprzez inwersję macierzy najmniejszych kwadratów. Oprócz tego program oferuje bardzo elastyczny i wygodny sposób traktowania nieuporządkowania w strukturze.

W celu potwierdzenia poprawności nowych parametrów wprowadzanych do udokładniania powszechnie stosuje się kryterium R_{free} polegające na monitorowaniu wartości wskaźnika rozbieżności R_{free} , wyliczonego na podstawie modelu i losowo wybranego podzbioru około tysiąca refleksów, które nigdy nie były używane w udokładnianiu modelu. Jeśli zmiana dokonana w modelu była poprawna i zgodna z danymi eksperymentalnymi to wartości czynników R i R_{free} powinny się obniżyć. Należy jednak pamiętać, że różnica pomiędzy wartościami R i R_{free} nie powinna być większa niż 5–7%, gdyż w takim przypadku może to wskazywać na nadinterpretację lub inne poważne defekty modelu. Przykładem może być dodanie do struktury zbyt wielu cząsteczek wody, w położeniach niejednoznacznie potwierdzonych na mapie gęstości elektronowej, co spowoduje obniżenie wartości wskaźnika R , lecz nie R_{free} . Każda prawidłowa zmiana modelu skutkuje poprawą faz i na mapie gęstości elektronowej często ujawniają się nowe szczegóły modelu. Dlatego też, jak napisał Sheldrick [34], udokładniania wysokorozdzielczej struktury makromolekularnej nie można nigdy zakończyć, można je jedynie w pewnym momencie przerwać.

Przy rozdzielczościach rzędu 1,4 Å i wyższych w pełni uzasadnione jest wprowadzenie do udokładniania modelu z anizotropowymi atomowymi czynnikami temperaturowymi. Skutkuje to znaczącym poprawieniem zgodności modelu z danymi eksperymentalnymi, co wyraża się obniżeniem wskaźników rozbieżności R i R_{free} o 2–3% a przy rozdzielczościach rzędu 1,0 Å nawet o 5–6% [35].

5.1. MODELOWANIE OBSZARU ROZPUSZCZALNIKA

Jak już wspomniano, znaczącą część kryształu makromolekularnego zajmuje nieuporządkowany rozpuszczalnik i w większości są to cząsteczki wody. Dla kryształów białkowych średnia zawartość rozpuszczalnika wynosi ~50%, natomiast dla kwasów nukleinowych ~47% [36]. Zbudowanie precyzyjnego modelu tych fragmentów kryształu do tej pory jest dużym problemem krystalografii makromolekularnej. Wpływ nieuporządkowanego rozpuszczalnika na czynniki struktury jest znacznie większy w przypadku struktur o niskiej rozdzielczości, jednak również przy wysokich rozdzielczościach nie można go pominąć. Uporządkowane cząsteczki wody są integralnym składnikiem kryształów makromolekuł biologicznych i odgrywają kluczową rolę stabilizującą struktury wyższych rzędów, tworzone przez białka lub kwasy nukleinowe.

W zdecydowanej większości modeli struktur makromolekuł otrzymanych za pomocą dyfrakcji rentgenowskiej (o rozdzielczości lepszej niż 2,7 Å), na podstawie

interpretacji map gęstości elektronowej, możliwe jest zlokalizowanie pojedynczych cząsteczek rozpuszczalnika (głównie wody). Niestety w większości przypadków możliwe jest to tylko dla niektórych cząsteczek wody (10–20%), takich, które biorą udział w oddziaływaniach (głównie poprzez wiązania wodorowe) z makrocząsteczką lub innym związanym elementem struktury. Dzieje się tak dlatego, że krytalografia rentgenowska pozwala zaobserwować tylko obiekty, które powtarzają się w okresowy sposób w całej objętości kryształu. Pozostała część rozpuszczalnika znajduje się w nieuporządkowanych obszarach kryształu, dla których interpretacja mapy gęstości elektronowej nie jest możliwa. Ilość obserwowanych cząsteczek wody zależy również od rozdzielczości danych dyfrakcyjnych. W strukturach białek w prosty sposób można oszacować ile obserwowanych cząsteczek wody może znajdować się w strukturze: wystarczy pomnożyć liczbę aminokwasów przez liczbę $3-d$, gdzie d jest rozdzielczością [37]. Łatwo można zauważyć, że np. dla rozdzielczości $\sim 3,0$ Å praktycznie nie będziemy w stanie zidentyfikować cząsteczek wody na mapie gęstości elektronowej (rozdzielczość jest porównywalna z odległością donor-akceptor w wiązaniu wodorowym). Jednak w przypadku, gdy dysponujemy danymi wysokorozdzielczymi np. $\sim 1,0$ Å, liczba możliwych do zaobserwowania cząsteczek wody będzie około dwukrotnie większa niż liczba aminokwasów w badanym białku. W niektórych uporządkowanych strukturach krystalicznych kwasów nukleinowych o rozdzielczości subatomowej możliwa jest lokalizacja prawie wszystkich cząsteczek wody zawartych w kryształach. W takim przypadku modelowanie rozpraszania pochodzącego od nieuporządkowanego rozpuszczalnika nie prowadzi do znaczącej poprawy modelu struktury [38, 39]. W strukturach krystalicznych o rozdzielczości atomowej lub subatomowej duża ilość szczegółów możliwych do zinterpretowania na mapie gęstości elektronowej ma decydujący wpływ na wiarygodność modelu atomowego i zależy od ilości danych pomiarowych, czyli od ich rozdzielczości.

5.2. ALTERNATYWNE KONFORMACJE

Metoda dyfrakcji pozwala obserwować obiekty, które w okresowy sposób powtarzają się w badanym kryształach. Często jednak niektóre cząsteczki, lub ich fragmenty, występują w kryształach w kilku różnych konformacjach co może prowadzić do nieporządku w kryształach. W wyniku tego mapa gęstości elektronowej w takich miejscach jest mniej wyraźna i obciążona większym błędem. W strukturach o niskiej rozdzielczości w takim miejscu nieuporządkowania wprowadza się do modelu pojedynczą cząsteczkę z wyższymi czynnikami temperaturowymi w uśrednionym położeniu. Jednak w miarę zwiększającej się rozdzielczości możliwe jest rozszyfrowanie takiego nieporządku i wprowadzenie do modelu dwóch lub czasami nawet większej liczby alternatywnych konformacji, które są dobrze widoczne na mapie gęstości elektronowej (szczególnie przy bardzo wysokich rozdzielczościach). Ujawnienie wielokrotnych konformacji i precyzyjne określenie ich cząstkowych obsadzeń jest szczególnie ważne w okolicach miejsc aktywnych enzymów, ponie-

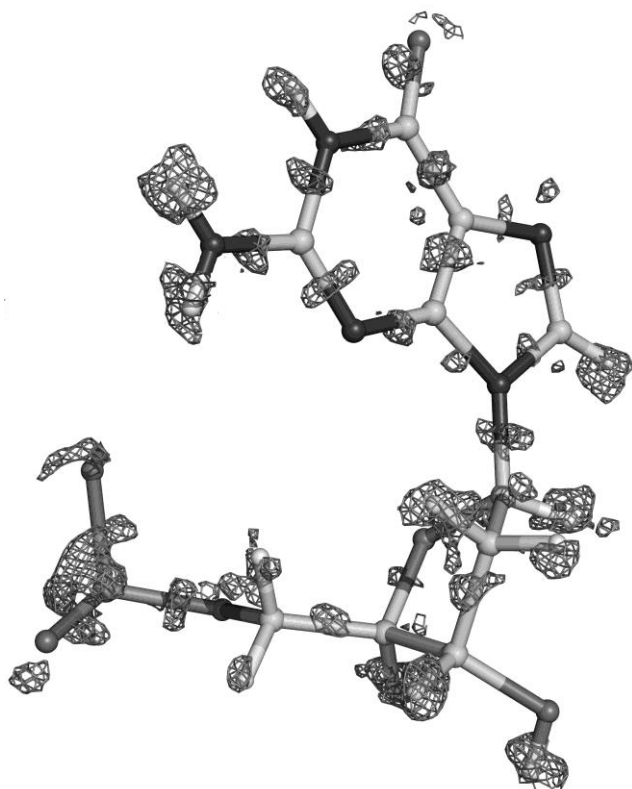
waż niektóre z tych konformacji mogą być ściśle powiązane z funkcją i aktywnością białka [40–42]. Średnia liczba reszt aminokwasowych, które zostały wprowadzone do modelu w wielokrotnych konformacjach (w większości podwójnych) w strukturach wysokorozdzielczych jest rzędu 20%, lecz niektóre interpretacje mapy gęstości elektronowej pozwoliły wyznaczyć znacznie więcej alternatywnych konformacji (np. 40% w krambinie [43], 25% w reduktazie aldozowej i synteninie [5, 44]).

5.3. ATOMY WODORU I WIĄZANIA WODOROWE

Powszechnie uważa się, że za pomocą dyfrakcji promieni rentgenowskich na kryształach makromolekularnych niemożliwa jest identyfikacja atomów wodoru, ponieważ pochodzący od nich sygnał jest zbyt słaby w porównaniu z dużym poziomem szumu pochodzącego np. od nieuporządkowanej części rozpuszczalnika.

W trakcie rejestrowania dyfrakcji promieniowanie rentgenowskie rozpraszane jest przez elektrony skupione wokół poszczególnych atomów a intensywność rozpraszania zależy bezpośrednio od ilości elektronów. Dlatego też nawet w strukturach małych cząsteczek, gęstość elektronowa dla elektronów obserwowana jest tylko w dobrze uporządkowanych fragmentach struktury. Należy zwrócić uwagę, że liczba atomów wodoru w makromolekułach jest znacząca, w białkach atomy te stanowią około 50% a w kwasach nukleinowych około 35% wszystkich atomów i odgrywają one kluczową rolę w mechanizmach reakcji enzymatycznych.

Większość struktur makromolekuł nie ma wystarczającej rozdzielczości aby określić położenie atomów wodoru, jednak fakt, że ich wkład do całkowitej mocy rozpraszania może być rzędu nawet 10%, nie pozwala na całkowite ich zignorowanie. Ponieważ stosunkowo łatwo można przewidzieć teoretyczną lokalizację atomów wodoru, w przypadku struktur średnio- i niskorozdzielczych atomy te dodawane są do modelu w procesie udokładniania jako jego uzupełnienie, jednak nie są deponowane w bazie danych PDB. Położenia atomów wodoru nie są udokładnianie a ich współrzędne są wyliczane na podstawie położenia atomu głównego (*angling model*), co nie powoduje zwiększenia liczby udokładnianych parametrów. Taki sposób postępowania poprawia zgodność obliczonych czynników struktury F_{calc} z danymi eksperymentalnymi co wyraża się lepszym parametrem zgodności R . Niestety położenia niektórych atomów wodoru bardzo trudno przewidzieć teoretycznie [np. atomy H w protonowanej grupie aminowej (NH_3^+), grupie metylowej (CH_3) lub grupie hydroksylowej OH] i atomy takie zawsze powinny być traktowane indywidualnie, a ich lokalizacja ustalona jest przeważnie na podstawie analizy sieci wiązań wodorowych oraz, jeśli rozdzielczość na to pozwala, mapy gęstości elektronowej (Rys. 3).



Rysunek 3. Fragment mapy gęstości elektronowej struktury duplexu heksameru Z-DNA d(CGCGCG) o wyjątkowo wysokiej rozdzielczości [38]. Widoczna mapa różnicowa $F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}$ z wyraźnymi pikami odpowiadającymi atomom wodoru oraz deformacyjna gęstość na środku wiązań pochodząca od elektronów wiążących. Kontur mapy (z pominiętymi atomami H) na poziomie $2,5\sigma$, rozdzielczość $0,53 \text{ \AA}$

Figure 3. Fragment of electron density map of extremely high resolution structure of Z-DNA hexamer duplex d(CGCGCG) [38]. Difference map $F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}$ with clearly visible peaks corresponding to hydrogen atoms and deformation density in the middle of bonds from lone pair electrons. Map (with omitted H atoms) was contoured at level of 2.5σ , resolution 0.53 \AA

W przypadku struktur wysokorozdzielczych ilość szczegółów możliwych do zaobserwowania na mapach gęstości elektronowej wzrasta wraz z rozdzielczością. Dla rozdzielczości atomowych można zlokalizować niektóre atomy wodoru, a dla bardzo wysokiej rozdzielczości $\sim 1,0 \text{ \AA}$ (porównywalnej z typową długością wiązania kowalencyjnego X–H), lub lepszej, możliwe jest zaobserwowanie dla większości atomów wodoru odpowiadających im pików na mapie gęstości elektronowej [38, 39]. Ponieważ stosunek liczby obserwacji do liczby udokładnianych parametrów przy takich rozdzielczościach jest wystarczająco duży, możliwe jest udokładnianie położenia niektórych atomów wodoru, szczególnie tych, których nie można jednoznacznie wyznaczyć geometrycznie. Przy najwyższych rozdzielczościach osiągniętych dla makromolekułów, które są rzędu $0,5 \text{ \AA}$, możliwe jest nawet włączenie do

udokładniania wszystkich atomów wodoru, jednak jak wykazał test przeprowadzony dla struktury Z-DNA o rozdzielczości 0,53 Å, poprawa zgodności modelu z danymi eksperymentalnymi była nieznacząca (parametr R obniżył się o kilka setnych procenta). Wobec tego, nawet przy najwyższych rozdzielczościach położenia większości atomów wodoru włączanych do modelu mogą być wyznaczone teoretycznie, a jedynie w niejednoznacznych przypadkach można zastosować pełne udokładnianie parametrów atomów wodoru z izotropowymi czynnikami ADP (ta grupa atomów wodoru zwykle ma kluczowe znaczenie dla struktury i funkcji makrocząsteczki).

Powyższe rozważania nie dotyczą z reguły atomów wodoru w cząsteczkach wody, która jest głównym składnikiem rozpuszczalnika. Ponieważ bardzo trudno przewidzieć położenie atomów wodoru w cząsteczce wody, atomy te dodawane są do modelu jedynie wtedy, gdy są wyraźnie widoczne na mapie gęstości elektronicznej, a ich położenie można potwierdzić udziałem w wiązaniach wodorowych.

5.4. STANDARDOWE PARAMETRY STEREOCHEMICZNE

W kryystalografii makromolekuł rozdzielczość mierzonych danych dyfrakcyjnych nie jest wysoka, szczególnie dla dużych białek lub kompleksów i nierzadko liczba zarejestrowanych refleksów jest porównywalna lub niewiele większa od liczby parametrów opisujących strukturę. Aby zwiększyć liczbę obserwacji przypadającą na jeden parametr korzysta się z informacji stereochemicznych o poszczególnych znanych elementach struktury, takich jak aminokwasy w białkach czy nukleotydy w kwasach nukleinowych [45, 46], traktując je jako dodatkowe obserwacje.

Znane wartości poszczególnych długości wiązań, kątów walencyjnych i niektórych innych parametrów (np. planarność pierścieni aromatycznych, chiralność niektórych atomów), dostarczają użytecznych więzów stosowanych w procesie udokładniania [46]. W przypadku, gdy dostępne są dane o wysokiej rozdzielczości, sytuacja zmienia się diametralnie. Liczba eksperymentalnych danych dyfrakcyjnych szybko zwiększa się wraz ze wzrostem rozdzielczości, co powoduje znaczną poprawę stosunku liczby refleksów przypadających na jeden parametr opisujący model. W takiej sytuacji możliwe jest udokładnianie bez użycia dodatkowych więzów lub z więzami bardzo rozluźnionymi.

Mimo nieustających dyskusji [47], większość struktur makrocząsteczek do tej pory jest udokładniania z więzami opracowanymi na początku lat 90. w oparciu o struktury małowcząsteczkowe [46]. Statystyczna analiza parametrów geometrycznych struktur wysokorozdzielczych powinna mieć olbrzymie znaczenie dla stworzenia biblioteki bardziej precyzyjnych więzów, które będą odzwierciedlały specyfikę makrocząsteczek. Takie więzy mogą być później wykorzystywane do udokładniania struktur o niskiej lub średniej rozdzielczości. Analiza danych geometrycznych [48] wykazała znaczące różnice pomiędzy obserwowanymi długościami wiązań i kątów pojedynczych aminokwasów a wartościami znajdującymi się w najczęściej używanej bibliotece [46]. Przykłady odstępstw od planarności wiązania peptydowego,

idealnych długości wiązania C-N i wartości kątów N-C α -C można znaleźć w wielu pracach, w których analizowane są parametry geometryczne struktur wysokorozdzielczych [49–51]. Analiza wybranych parametrów łańcucha głównego w uporządkowanych fragmentach struktur wysokorozdzielczych wykazała, że niektóre z obecnie używanych więzów geometrycznych powinny być uaktualnione lub stosowane z większą tolerancją. Szczególnie dotyczy to struktur o najwyższej rozdzielczości, gdzie dominującym członem powinny być dane dyfrakcyjne i w uporządkowanych obszarach struktury powinny być akceptowane większe odchylenia od idealnej geometrii. W pracy [47], która wywołała szeroką dyskusję [52–54], sugerowane jest wprowadzenie do programów służących do udokładniania zmiennych wag więzów, które zależne byłyby od czynników obsadzenia i temperaturowych poszczególnych atomów. Podobna metoda usprawnienia udokładniania struktur wysokorozdzielczych, polegająca na zastosowaniu biblioteki parametrów geometrycznych *CDL* (ang. *Conformation-Dependent backbone-geometry Library*) zależnych od konformacji, została zaproponowana przez Tronrunda i Karplusa [55].

6. ROZKŁAD GĘSTOŚCI ŁADUNKU I UDOKŁADNIANIE MULTIPÓLOWE

Przy rozdzielczościach $\sim 0,7$ Å lub lepszych możliwa jest bezpośrednia obserwacja deformacji gęstości elektronowej ukazującej odchylenia od powszechnie stosowanego podczas udokładniania modelu atomu sferycznego. Na mapach różnicowych można zaobserwować maksima dokładnie na środku niektórych wiązań oraz dodatkową gęstość, odpowiadającą wolnej parze elektronowej, w otoczeniu atomów tlenu (Rys. 3). Obecność takiej znaczącej gęstości elektronowej wskazuje, iż sferyczny model atomu, łącznie z anizotropowymi czynnikami temperaturowymi, daje zbyt zgrubne przybliżenie rzeczywistej gęstości elektronowej. Dlatego też coraz częściej stosuje się udokładnianie wykorzystujące niesferyczny model atomu. Podczas udokładniania multipolowego stosowany jest model, w którym elektrony atomu są podzielone na elektrony rdzenia, które można opisać modelem sferycznym oraz elektrony walencyjne, do których stosuje się funkcje multipolowe [56]. Udokładnianie multipolowe wymaga użycia znacznie większej liczby parametrów, multipolowy atom niewodorowy ma zwykle minimum 28 parametrów (18 multipolowych, 3 współrzędne, 6 parametrów temperaturowych oraz 1 czynnik obsadzenia). Udokładnianie multipolowe wymaga wyrafinowanego oprogramowania np. takiego jak program MoPro [57] i możliwe jest dla wybranej grupy przypadków z najwyższą rozdzielczością i jakością danych eksperymentalnych.

PODSUMOWANIE

Dynamiczny rozwój makromolekularnej krystalografii wysokorozdzielczej w ostatnich dwóch dekadach był możliwy głównie dzięki postępowi technologicz-

nemu i metodologicznemu. Należą do nich głównie powszechna dostępność niezwykle silnych i zogniskowanych źródeł promieniowania synchrotronowego, rutynowe kriogeniczne schładzanie kryształów w trakcie rejestracji danych dyfrakcyjnych oraz udoskonalone oprogramowanie krystalograficzne na wszystkich etapach od procesowania danych do udokładniania i sprawdzania poprawności struktury. Skutkuje to ciągłym wzrostem liczby struktur makrocząsteczek o rozdzielczości atomowej i subatomowej zdeponowanych w bazie PDB. Ilość szczegółów widocznych na mapach gęstości elektronowej takich struktur daje możliwość zupełnie nowego spojrzenia na funkcję białka i mechanizmy reakcji katalitycznych. Alternatywne konformacje łańcuchów bocznych jak również łańcuchów głównych oraz subtelne zmiany strukturalne mogą być często jednoznacznie zidentyfikowane, co jest szczególnie istotne w rejonach miejsc aktywnych makromolekuł. Model struktury krystalicznej charakteryzuje się dużą wiarygodnością a w przypadku najwyższych rozdzielczości w uporządkowanych rejonach można zlokalizować położenia atomów wodoru (nawet w niektórych cząsteczkach wody). Pozwala to na uzyskanie informacji o stanie protonacji katalitycznie istotnych reszt oraz sieci wiązań wodorowych. Ponieważ liczba zarejestrowanych refleksów jest znacznie większa od liczby parametrów opisujących strukturę, dobrze uporządkowane fragmenty struktury mogą być udokładniane bez więzów stereochemicznych. W takich przypadkach można zastosować pełnomacierzowe udokładnianie metodą najmniejszych kwadratów i oszacować standardowe niepewności parametrów geometrycznych. Niewiele kryształów makromolekularnych rozprasza promieniowanie rentgenowskie do rozdzielczości subatomowej (poza limit 0,8 Å), lecz są one szczególnie cenne z metodologicznego punktu widzenia, na przykład dla obiektywnego optymalizowania parametrów stereochemicznych, które są używane jako więzy przy udokładnianiu modeli przy niższych rozdzielczościach [11, 47]. Dysponując danymi o najwyższej rozdzielczości stają się możliwe badania deformacyjnej gęstości elektronowej oraz walencyjnych orbitali atomowych i molekularnych, które ukazują niezwykle wewnętrzny świat makrocząsteczek nie tylko na poziomie atomowym lecz również elektronowym.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] H.M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T.N. Bhat, H. Weissig, I.N. Shindyalov, P.E. Bourne, *Nucleic Acids Res.*, 2000, **28**, 235.
- [2] G.M. Sheldrick, *Acta Cryst.*, 1990, **A46**, 467.
- [3] A. McPherson, Cold Spring Harbor Laboratory NY, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999.
- [4] A. Schmidt, M. Teeter, E. Weckert, V.S. Lamzin, *Acta Cryst.*, 2011, **F67**, 424.
- [5] E.I. Howard, R. Sanishvili R, R.E. Cachau, A. Mitschler, B. Chevrier, P. Barth, V. Lamour, M. Van Zandt, E. Sibley, C. Bon, D. Moras, T.R. Schneider, A. Joachimiak, A. Podjarny, *Proteins*. 2004, **55**, 792.
- [6] M. Gilski, *Acta Phys. Polon.*, 2008, **A114**, 331.
- [7] K.S. Paithankar, R.L. Owen, E.F. Garman E.F., *J. Synch. Rad.*, 2009, **16**, 152.
- [8] A.N. Popov, G.P. Bourenkov, *Acta Crystallogr. D***59**, 2003, 1145.

- [9] Z. Otwinowski, W. Minor, *Methods Enzymol.*, 1997, **276**, 307.
- [10] A.G.W. Leslie, *Int CCP4/ESF-EACBM Newsl. Protein Crystallogr.*, 1992, **26**.
- [11] M. Jaskolski, *Advancing Methods for Biomolecular Crystallography*, R. Read, A.G. Urzhumtsev, V.Y. Lunin (Red.), Springer, 2013.
- [12] J. Aishima, R.L. Owen, D. Axford, E. Shepherd, G. Winter, K. Levik, P. Gibbons, et al., *Acta Cryst.*, 2010, **D66**, 1032.
- [13] M. Gilski, *Synchr. Radiat. Nat. Sci.*, 2007, **6**, 95.
- [14] P. Evans, *Science*, 2012, **336**, 986.
- [15] P.A. Karplus, K. Diederichs, *Science*, 2012, **336**, 1030.
- [16] M.S. Weiss, *J. Appl. Cryst.*, 2001, **34**, 130.
- [17] W. Kabsch, *Acta Cryst.*, 2010, **D66**, 125.
- [18] M.G. Rossmann & D.M. Blow, *Acta Cryst.*, 1962, **15**, 24.
- [19] Z. Dauter, M. Jaskolski, *Promieniowanie synchrotronowe w spektroskopii i badaniach strukturalnych. Wybrane zagadnienia*, B.J. Kowalski, W. Paszkowicz, E.A. Gorlich (Red.), Kraków, 2011, s. 301.
- [20] B.-C. Wang, *Methods Enzymol.*, 1985, **115**, 90.
- [21] Z. Dauter, M. Dauter, E. de La Fortelle, G. Bricogne, G.M. Sheldrick, *J. Mol. Biol.*, 1999, **289**, 83.
- [22] Z. Dauter, D.A. Adamiak, *Acta Cryst.*, 2001, **D57**, 990.
- [23] H. Hauptman, J. Karle, *Acta Cryst.*, 1955, **8**, 355.
- [24] C. Dumas, A. van der Lee, *Acta Cryst.*, **D64**, 2008, 864.
- [25] C.M. Weeks, G.T. DeTitta, H.A. Hauptman, P. Thuman, R. Miller, *Acta Cryst.*, 1994, **A50**, 210.
- [26] G.M. Sheldrick, R.O. Gould, *Acta Cryst.*, 1995, **B51**, 423.
- [27] M.C. Burla, R. Caliandro, M. Camalli, B. Carrozzini, G.L. Cascarano, L. De Caro, C. Giacovazzo, G. Polidori, G.R. Spagna, *J. Appl. Cryst.*, 2005, **38**, 381.
- [28] K. Cowtan, *Acta Cryst.*, 2006, **D62**, 1002.
- [29] G.G. Langer, S. Hazledine, T. Wiegels, C. Carolan, V.S. Lamzin, *Acta Cryst.*, 2013, **D69**, 635.
- [30] P.D. Adams, P.V. Afonine, G. Bunkoczi, V.B. Chen, I.W. Davis, N. Echols, J.J. Headd, L.W. Hung, G.J. Kapral, R.W. Grosse-Kunstleve, A.J. McCoy, N.W. Moriarty, R. Oeffner, R.J. Read, D.C. Richardson, J.S. Richardson, T.C. Terwilliger, P.H. Zwart, *Acta Cryst.*, 2010, **D66**, 213.
- [31] P. Emsley, B. Lohkamp, W.G. Scott, K. Cowtan, *Acta Cryst.*, 2010, **D66**, 486.
- [32] G.N. Murshudov, A.A. Vagin, E.J. Dodson, *Acta Cryst.*, 1997, **D53**, 240.
- [33] P.D. Adams, R.W. Grosse-Kunstleve, L.-W. Hung, T.R. Ioerger, A.J. McCoy, N.W. Moriarty, R.J. Read, J.C. Sacchettini, N.K. Sauter, T.C. Terwilliger, *Acta Cryst.*, 2002, **D58**, 1948.
- [34] G.M. Sheldrick, *Acta Cryst A64*, 2008, 112.
- [35] Z. Dauter, V.S. Lamzin, K.S. Wilson, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 1995, **5**, 784.
- [36] K.A. Kantardjieff, B. Rupp, *Protein Sci.*, 2003, **12**, 1865.
- [37] A. Wlodawer, W. Minor, Z. Dauter, M. Jaskolski, *FEBS J.*, 2008, **275**, 1.
- [38] K. Brzezinski, A. Brzuskiewicz, M. Dauter, M. Kubicki, M. Jaskolski, Z. Dauter, *Nucleic Acids Res.*, 2011, **39**, 6238.
- [39] P. Drodzdzal, M. Gilski, R. Kierzek, L. Lomozik, M. Jaskolski, *Acta Cryst.*, 2013, **D69**, 1180.
- [40] W.R. Rypniewski, P.R. Ostergaard, M. Nørregaard-Madsen, M. Dauter, K.S. Wilson, *Acta Cryst.* 2001, **D57**, 8.
- [41] I. Kursula, R.K. Wierenga, *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 9544.
- [42] M. Bejger, B. Imiolczyk, D. Clavel, M. Gilski, A. Pajak, F. Marsolais, M. Jaskolski, *Acta Cryst. D*, 2014, in press.
- [43] C. Jelsch, M.M. Teeter, V. Lamzin, V. Pichon-Pesme, R.H. Blessing, C. Lecomte, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, **97**, 3171.
- [44] B.S. Kang, Y. Devedjiev, U. Derewenda, Z.S. Derewenda, *J. Mol. Biol.*, 2004, **338**, 483.

-
- [45] J.H. Konnert, W.A. Hendrickson, *Acta Cryst.*, 1980, **A36**, 344.
[46] R.A. Engh, R. Huber, *Acta Cryst.*, 1991, **A47**, 392.
[47] M. Jaskolski, M. Gilski, Z. Dauter, A. Wlodawer, *Acta Cryst.*, 2007, **D63**, 611.
[48] J. Koepke, E.I. Scharff, C. Lucke, H. Ruterjans, G. Fritzsche, *Acta Cryst.*, 2003, **D59**, 1744.
[49] L. Esposito, L. Vitagliano, L. Mazzarella, *Protein Pept. Lett.* 2002, **9**, 95.
[50] A. Addlagatta, H. Czapinska, S. Krzywda, J. Otlewski, M. Jaskolski, *Acta Cryst.*, 2001, **D57**, 649.
[51] L. Esposito, L. Vitagliano, A. Zagari, L. Mazzarella, *Protein Eng.*, 2000, **13**, 825.
[52] B. Stec, *Acta Cryst.*, 2007, **D63**, 1113.
[53] I.J. Tickle, *Acta Cryst.*, 2007, **D63**, 1274.
[54] M. Jaskolski, M. Gilski, Z. Dauter, A. Wlodawer, *Acta Cryst.*, 2007, **D63**, 1282.
[55] D.E. Tronrud P.A. Karplus, *Acta Cryst.*, 2011, **D67**, 699.
[56] N.K. Hansen, P. Coppens, *Acta Cryst.*, 1978, **A34**, 909.
[57] C. Jelsch, B. Guillot, A. Lagoutte, C. Lecomte, *J. Appl. Cryst.*, 2005, **38**, 38.

Praca wpłynęła do Redakcji 16 maja 2014

INFORMACJE

INFORMACJE REDAKCJI „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”

CENY PRENUMERATY NA ROK 2014

Redakcja miesięcznika PTCh „Wiadomości Chemiczne” zawiadamia, że wysokość prenumeraty rocznej „Wiadomości Chemicznych” za 2014 r. będzie wynosiła **200 zł + 5% VAT** dla instytucji i niezrzeszonych prenumeratorów indywidualnych. Dla członków PTChem **20 zł**. Należność za prenumeratę prosimy przekazywać na konto:

Bank PEKAO SA
Oddział we Wrocławiu
pl. Powstańców Śl. 9, 50-950 Wrocław
Redakcja „Wiadomości Chemiczne”
NRB 48 1240 6670 1111 0000 5649 8781

Prenumerata „Wiadomości Chemicznych” dla członków PTCh, połączona z opłatą składek członkowskich, jest znacznie niższa i przedstawia się następująco:

- prenumerata „Wiadomości Chemicznych” na rok 2014 wraz ze składką członkowską, w ramach której dostarczany jest „Orbital”, wynosi **70 zł** (składka – 50 zł, prenumerata – 20 zł);
- emeryci, doktoranci oraz studenci płacą **35 zł** (składka – 15 zł, prenumerata – 20 zł); a nauczyciele szkół średnich i podstawowych płacą **40 zł** (składka – 20 zł, prenumerata – 20 zł).

Członkowie PTCh, którzy zechcą zaprenumerować „Wiadomości Chemiczne” na podanych tu warunkach, proszeni są o wnoszenie opłat na konto:

PTCh Warszawa, ul. Freta 16
Bank BGŻ
54 2030 0045 1110 0000 0261 6290

PODZIĘKOWANIA

Komitet Redakcyjny „Wiadomości Chemicznych” pragnie złożyć słowa podziękowania za okazaną pomoc i wsparcie finansowe w roku 2013:

- Panu prof. dr hab. Henrykowi Koroniakowi, Dziekanowi Wydziału Chemii Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu,
- Panu prof. dr hab. Andrzejowi Trochimczukowi, Dziekanowi Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej,
- Panu prof. dr hab. Andrzejowi Jeżowskiemu, Dyrektorowi Instytutu Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych im. Włodzimierza Trzebiatowskiego PAN we Wrocławiu,
- Pani prof. dr hab. Annie M. Trzeciak, Dziekan Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego,
- Firmie Farmaceutycznej Merck Sp. z o.o.

Kierujemy również bardzo serdeczne słowa podziękowania dla wszystkich Recenzentów i Autorów, którzy współpracowali z nami w roku 2013. To właśnie dzięki ich pracy możliwe było utrzymanie wysokiego poziomu naukowego czasopisma.

prof. dr hab. Zdzisław Latajka
Redaktor Naczelny

WYRÓŻNIONE PRACE DOKTORSKIE LUB HABILITACYJNE

Redakcja „Wiadomości Chemicznych” w porozumieniu z Radą Redakcyjną podjęła decyzję o utworzeniu nowego działu, zatytułowanego „Wyróżnione prace doktorskie i habilitacyjne”. Redakcja przyjmuje do publikacji artykuły oparte na pracach doktorskich lub habilitacyjnych, które zostały wyróżnione przez Rady Wydziałów, przed którymi toczyły się odpowiednie procesy.

Objętość prac nie powinna przekraczać piętnastu stron maszynopisu. Artykuły powinny zawierać: przedstawienie doniosłości podjętej tematyki badawczej, cel rozprawy doktorskiej lub habilitacyjnej oraz w miarę zwięzły opis uzyskanych wyników przedstawiony w możliwie przystępny sposób a także wnioski końcowe.

W notce biograficznej autora poza standardowymi informacjami powinny zostać zamieszczone następujące dane: termin obrony pracy doktorskiej lub kolokwium habilitacyjnego, Rada Wydziału, przed którą toczył się przewód, nazwisko promotora (dotyczy rozpraw doktorskich) oraz nazwiska recenzentów.

Serdecznie zapraszamy doktorów habilitowanych oraz doktorów, których prace zostały wyróżnione w ciągu ostatniego roku do nadsyłania swoich prac.



II Ogólnopolskie Forum Chemii Nieorganicznej Horyzonty Chemii

Wrocław, 7–10 września 2014

W dniach od 7 do 10 września 2014 roku, na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego odbędzie się:

II Ogólnopolskie Forum Chemii Nieorganicznej.

Głównym tematem Forum jest określenie wiodących i perspektywicznych obszarów szeroko pojętej chemii nieorganicznej. Podczas konferencji zostaną zaprezentowane najważniejsze osiągnięcia i aktualne wyniki badań naukowych, będzie także okazja do dyskusji i wymiany doświadczeń.

Oczekujemy, że spotkanie uczonych o znakomitym dorobku naukowym z doktorantami i młodymi pracownikami nauki przyczyni się do określenia wizji i perspektyw rozwoju chemii, a także pozwoli nawiązać ciekawą współpracę.

W trakcie Forum przedstawimy 60-letni dorobek chemii na Uniwersytecie Wrocławskim, restytuowanej w 1954 roku po wojennej przerwie.

Zapraszamy do udziału w Forum wszystkich zainteresowanych badaniami w zakresie współczesnej chemii nieorganicznej, a przede wszystkim młodych adeptów nauki, doktorantów i studentów oraz nauczycieli chemii wraz z uczniami.

Szczegółowe informacje zamieszczone są na stronie: <http://fchn.chem.uni.wroc.pl>

prof. Anna Trzeciak
przewodnicząca Komitetu Naukowego

Redakcja „Wiadomości Chemicznych” informuje, że są u nas do nabycia następujące pozycje „Biblioteki Wiadomości Chemicznych”:

Nomenklatura chemii nieorganicznej. Zalecenia 1990, red. Z. Stasicka, cena 25 zł
Podstawowa terminologia stereochemii oraz Słownik podstawowych terminów w nauce o polimerach. Zalecenia 1996, red. O. Achmatowicz, B. Szechner i P. Kubisa, cena 12 zł

Nomenklatura węglowodanów. Zalecenia 1996, tłum. i red. T. Sokołowska i A. Wiśniewski, cena 18 zł

I.Z. Siemion, *Bronisław Radziszewski i lwowska szkoła chemii organicznej*, cena 18 zł

K. Maruszewski, *Fizykochemia molekuł zamkniętych w zeolitach i zol-żelach*, cena 18 zł

Praca zbiorowa, *Uporządkowane materiały mezoporowate*, red. B. Burczyk, cena 18 zł

Skorygowana nomenklatura rodników, jonów, jonorodników i podobnych indywiduali chemicznych. Zalecenia 1993, red. T. Sokołowska i A. Wiśniewski, cena 15 zł

I.Z. Siemion, *Lutum sapientiae, czyli Notatek chaotycznych część pierwsza*, cena 18 zł

M. Zabłocka-Malicka, *Ruchliwość jonów w podwójnych układach stopionych soli*,
cena 8 zł.

Praca zbiorowa, *Nanomateriały*, red. D. Hreniak, W. Łojkowski, W. Stręć, M. Suszyńska, cena 25 zł.

Praca zbiorowa, *Ogniwa paliwowe – nowe kierunki rozwoju*, red. H. Drulis, J. Hanuza, D. Hreniak, M. Miller, G. Paściak, W. Stręć, cena 20 zł

Glosariusz nazw klas związków organicznych i reaktywnych produktów pośrednich oparty na strukturze (Zalecenia IUPAC 1994), red. i tłum. F. Kaźmierczak i J. Gawroński, cena 16 zł.

Od substacji prostych do życia. Świat RNA – początki życia na Ziemi, Zdzisław Chilmonczyk – NAKŁAD WYCZERPANY.

Profesor Bogusława Jeżowska-Trzebiatowska. 1908–1991 w setną rocznicę urodzin, cena 12,00 zł.

Chemia koordynacyjna w Polsce. Część I, cena 17,50 zł.

Chemia koordynacyjna w Polsce. Część II, cena 17,50 zł.

Chemosensory optyczne oraz materiały rozpoznawcze dla jonów metali w roztworach, Krzysztof Kledzik, cena 22,00 zł.

Obliczenia teoretyczne stałej ekranowania magnetycznego i stałych strzężeń spinowo-spinowych. Teobald Kupka cena 20,00 zł.

Książki wysyłamy na koszt zamawiającego. Zamówienia prosimy kierować pod adresem: Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław. Opłaty należy wносить na konto: Bank PEKAO SA O/Wrocław, Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, NRB 48 1240 6670 1111 0000 5649 8781.

REGULAMIN I INFORMACJE DLA AUTORÓW PUBLIKUJĄCYCH W CZASOPIŚMIE „WIADOMOŚCI CHEMICZNE”

1. Informacje ogólne

„Wiadomości Chemiczne” są recenzowanym czasopismem naukowym Polskiego Towarzystwa Chemicznego, które publikuje przede wszystkim artykuły przeglądowe. Ponadto publikowane są tutaj inne **wartościowe** materiały o charakterze edukacyjno-informacyjnym takie jak: artykuły oparte na pracach doktorskich lub habilitacyjnych, które zostały wyróżnione przez Rady Wydziałów, przed którymi toczyły się odpowiednie procesy; materiały informacyjne na temat uczonych oraz jednostek naukowych/firm chemicznych lub pokrewnych chemii; materiały o aktualnych osiągnięciach w szeroko pojętych naukach chemicznych.

Dodatkową ofertę Wydawnictwa stanowią dwie odrębne serie, „Biblioteka Wiadomości Chemicznych” oraz seria „Habilitacje”. W serii „Biblioteka Wiadomości Chemicznych” publikowane są dłuższe artykuły przeglądowe lub monografie poświęcone ważnym i aktualnym problemom współczesnej chemii, w ramach serii wydawniczej pod nazwą „Habilitacje” mogą być publikowane prace habilitacyjne z obszaru chemii. Zważywszy, że zgodnie z ustawą, dopuszczalne jest przedstawianie rozpraw habilitacyjnych albo w formie monografii, albo w formie pliku powiązanych publikacji, poprzedzonych omówieniem w języku polskim (tzw. autoreferatem), Redakcja przewiduje drukowanie obydwu tych wariantów. Autorzy, którzy chcieliby takie prace napisać, powinni wcześniej skontaktować się z Redakcją, a następnie przesłać wstępnie przygotowaną publikację (redagowaną na wzór artykułów w czasopiśmie „Wiadomości Chemicznych”) lub informację na temat przygotowywanej pracy – tytuł przygotowywanej publikacji, przybliżoną liczbę stron, tabel, rysunków. W chwili obecnej Redakcja nie posiada środków na finansowanie prac w serii „Biblioteka Wiadomości Chemicznych” oraz serii „Habilitacje”. W zależności od sytuacji finansowej Wydawnictwa, Redakcja zastrzega sobie prawo negocjacji kosztów druku z autorami lub Instytucjami zlecającymi druk.

„Wiadomości Chemiczne” znajdują się na liście czasopism punktowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Zawartość czasopisma dostępna jest zarówno w formie drukowanej jak i elektronicznej. Elektroniczny dostęp do pełnych tekstów prac jest możliwy poprzez stronę Dolnośląskiej Biblioteki Cyfrowej, <http://www.dbc.wroc.pl/>.

Anglojęzyczne streszczenia wszystkich opublikowanych prac są dostępne na stronie internetowej „Wiadomościach Chemicznych”, <http://old.pages.wchuwr.pl/wiadchem.html>.

Czasopismo od wielu lat jest indeksowane/abstraktowane w dwóch bazach danych (Chemical Abstracts oraz AGRO), a od roku 2012 zostały umieszczone w bazie Polskiej Bibliografii Naukowej, <https://pbn.nauka.gov.pl/journals/24384>.

2. Informacje dla autorów na temat wymagań i zasad publikowania prac

- Prace nie były wcześniej publikowane, ani nie są złożone w redakcji innego czasopisma.
- Autorzy prac stosują się do wymagań praw autorskich tzn. w przypadku zamieszczania rysunków, tabel itp., pochodzących z opracowań opublikowanych w innych czasopismach lub publikacjach zwartych, posiadają pisemną zgodę na ich przedruk.
- Opublikowana raz praca bez zgody Redakcji, nie może być wydawana gdzie indziej.
- Autorzy przysyłający prace po raz pierwszy powinni podać swój numer telefonu oraz adresy poczty tradycyjnej i elektronicznej. Jest to niezbędny warunek sprawnego przebiegu opracowania redakcyjnego tekstu.
- Autorzy zobowiązani są do wykonania korekty tekstu. W pracach przyjętych do druku Redakcja ma prawo dokonywania niezbędnej korekty.
- Jeżeli autorzy nie zastrzegą inaczej w momencie zgłoszenia pracy, wydawca nabywa ogólnych praw autorskich do wydrukowanych prac (w tym prawo wydawania na nośnikach elektronicznych oraz w Internecie). Tytułem powyższego wykorzystania utworów autorom nie są wypłacane honoraria.
- Wszystkie nadsyłane prace są poddawane wstępnej ocenie, która określa czy odpowiadają randze i profilowi „Wiadomości Chemicznych” oraz czy zostały przygotowane zgodnie z formalnymi wymogami MNiSW oraz Redakcji.
- Po uzyskaniu pozytywnej wstępnej oceny wszystkie prace są recenzowane przez co najmniej dwóch niezależnych recenzentów, zgodnie ze wskazówkami zawartymi w broszurze informacyjnej Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, http://www.nauka.gov.pl/fileadmin/user_upload/ministerstwo/Publikacje/201110216_MNISW_broszura_210x210.pdf.
- O przyjęciu pracy do druku decyduje Komitet Redakcyjny.
- Prace, które Komitet Redakcyjny na podstawie uzyskanych recenzji stwierdził, że nie należy przyjąć do druku w czasopiśmie, po uwzględnieniu sugestii recenzentów mogą być powtórnie przesłane do czaso-

pisma. W takim przypadku praca traktowana jest jako nowy tekst i ponownie przechodzi pełną procedurę recenzowania.

- Ponadto Komitet Redakcyjny informuje, że tzw. „ghostwiting” (ktoś wniósł znaczący wkład w powstanie publikacji, a nie został przedstawiony jako współautor lub też nie został wymieniony w podziękowaniu zamieszczonym w publikacji) lub „guest authorship” (udział autora jest znikomy lub też w ogóle nie miał miejsca, a mimo to jest współautorem publikacji) są przejawem nierzetelności naukowej. Wszelkie przejawy nierzetelności naukowej, łamanie i naruszanie zasad etyki obowiązującej w nauce będą ujawniane, włącznie z powiadomieniem jednostek zatrudniających autorów.
- Autorzy mają prawo do zaproponowania co najmniej trzech niezależnych recenzentów, jednak ostateczny wybór autorów anonimowych recenzentów dokonuje Redakcja.

3. Koszty

Autorzy czasami mogą ponosić częściowe koszty wydania swoich artykułów. Tak jest w przypadku tzw. **stron nadliczbowych** tj. powyżej 25 stron. Za każdą rozpoczętą nadliczbową stroną jest naliczana opłata w wysokości około 50 zł. Najczęściej kwota ta pokrywana jest z funduszy pozyskiwanych przez Autorów lub przez Wydziały które wspomagają wydawanie „Wiadomości Chemicznych”. Niezależnie od rodzaju pracy opłata pobierana jest również za **kolorowe rysunki i wykresy** (zgodnie z faktycznym kosztem druku).

Redakcja zastrzega sobie możliwość zmiany wysokości opłat, w zależności od wielkości dofinansowania z MNiSW oraz wypracowanych środków własnych. Faktura wystawiana jest po ukazaniu się pracy.

W przypadku prac w serii „Biblioteka Wiadomości Chemicznych” oraz „Habilitatione”, Redakcja nie posiada środków na finansowanie i zastrzega sobie prawo negocjacji kosztów druku z autorami lub Instytucjami zlecającymi druk.

4. Informacje szczegółowe dotyczące przygotowania maszynopisu do druku

4.1. Wymagania merytoryczne

Tekst należy napisać zwięźle, prostym stylem, według zasad pisowni polskiej, z zachowaniem poprawnego i obowiązującego nazewnictwa fachowego. Nie należy zamieszczać nadmiaru szczegółów odsyłając Czytelnika do piśmiennictwa oryginalnego, które to powinno uwzględniać najnowsze informacje, dotyczące napisanej pracy. Literaturę należy cytować ze źródeł oryginalnych.

4.2. Wymagania techniczne składu tekstu

- W przypadku prac współfinansowanych przez autorów, liczba stron oraz forma kolorystyczna manuskryptu nie jest ograniczona (wymagane jest wcześniejsze uzgodnienie z Redakcją).
- Maszynopisy prac autorów którzy nie chcą ponosić dodatkowych kosztów, nie powinny przekraczać 25 stron całej pracy (po wydruku w czasopiśmie) oraz drukowane będą w wersji czarno białej.
- Główny tekst nadsyłanych prac powinien być napisany w edytorze Word, czcionką Times New Roman, 12p z zachowaniem interlinii 1,5 oraz z 5 cm marginesem z prawej strony. Przy podziale tekstu należy stosować numerację cyfrową wielorzędową. Numerujemy tylko tytuły rozdziałów, **nie numerujemy działów**: Abstract, Wykaz stosowanych skrótów, Wprowadzenie, Uwagi końcowe, Podziękowanie, Piśmiennictwo cytowane. Jednolity sposób numeracji konsekwentnie stosuje się wewnątrz tekstu (w całym tekście tj. zarówno przy numerowaniu rozdziałów, przy przytaczaniu piśmiennictwa cytowanego oraz odwoływaniu się do tabel rysunków itp., **nie należy stosować odsyłaczy hipertekstowych**).
- Tekst powinien być napisany poprawnym językiem, wszystkie skróty muszą być wyjaśnione, oznaczenia i jednostki miar należy podawać według układu SI, pozycje cytowanej literatury należy oznaczać numerami umieszczonymi w nawiasach kwadratowych, w kolejności cytowania wg wzorów [1, 5, 7] (dla prac 1, 5 i 7) lub [1-5, 7] (dla prac od 1 do 5 oraz pracy 7).
- Jeśli w artykułach znajdują się przedruki rysunków, czy innych elementów prac cudzych, w opisach (polskich i angielskich) należy zamieścić stosowną informację.
- Zaleca się umieszczać w tekście pracy rysunki, tabele oraz podpisy (jeśli są przygotowane w edytorze Word), jednak w przypadku plików o bardzo dużych rozmiarach należy zaznaczyć miejsca na ich umieszczenie (zob. Pliki jakie należy przekazać do Redakcji).
- **Pierwsza strona pracy powinna zawierać kolejno:**
 - tytuł pracy w języku polskim (Times New Roman, 14 p, pogrubiony, WERSALIKI), i angielskim (Times New Roman, 14 p, WERSALIKI),
 - pełne imię i nazwisko autora (autorów) pracy (Times New Roman, 15p, pogrubione),
 - pełne nazwy ośrodków przypisane do autorów pracy (wraz z adresem ośrodka i adresem e-mail autora korespondującego (Times New Roman, 10,5, kursywa),
 - spis treści pracy z zastosowaniem następującego podziału:

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Tytuł rozdziału

1.1. Tytuł podrozdziału itp.

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

• **Kolejne strony pracy powinny zawierać:**

- **notki o autorach** pracy wraz z tytułami naukowymi (można dołączyć osobno pliki z fotografiami autorów (zob. **Pliki jakie należy przekazać do Redakcji**),
- **obszerne streszczenie pracy w języku angielskim** (od 1800 do 2700 znaków ze spacjami) z uwzględnieniem cytowanego piśmiennictwa oraz odsyłaczami do tabel, rysunków zamieszczonych w tekście (Rys. 1, Tab. 1-2, Schemat 1) oraz **słowa kluczowe** – nie więcej niż 6, uzyskane najlepiej z bazy haseł przedmiotowych podawane w języku angielskim i polskim,
- **wykaz stosowanych skrótów** – w przypadku niewielkiej liczby skrótów lub akronimów nie jest konieczne zamieszczanie tej pozycji, wówczas, skróty wyjaśniamy w tekście przy pierwszym użyciu. Angielskie skróty należy podać i wyjaśnić wg poniżej podanego wzoru lub w oparciu o inne prace zamieszczone w „Wiadomościach Chemicznych”. Przykład: dla skrótu SSRI – selektywne inhibitory zwrotnego wychwytu serotoniny (ang. *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor*),
- **dalszy tekst pracy zgodny z podawanym wcześniej spisem treści.**

• **Tabele, rysunki, fotografie**

Jeżeli tabele i rysunki zostały wykonane w edytorze Word, zaleca się, aby były zamieszczone w tekście artykułu, w innym przypadku wymagane jest dołączenie oryginalnych plików.

Tabele i rysunki powinny być przejrzyste, zawierać informacje niezbędne do zrozumienia treści, bez konieczności poszukiwania objaśnień w tekście pracy, należy je numerować cyframi arabskimi oraz podać tytuł (polski/angielski, nad tabelą, pod rysunkiem, Times New Roman, 10 p).

Wszystkie fotografie – należy przesłać w postaci plików zapisanych w formacie tif, jpg lub podobnym, każdą zapisać w oddzielnym pliku o rozdzielczości co najmniej 300 dpi.

• **Piśmiennictwo cytowane**

Piśmiennictwo należy zestawić numerycznie według kolejności cytowania w tekście, należy cytować wyłącznie pozycje istotne dla treści pracy w sposób precyzyjny.

W przypadku **artykułów z czasopism tradycyjnych**, opis powinien zawierać kolejno następujące elementy: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), skrót tytułu czasopisma zgodny z przyjętymi normami, rok wydania, **numer wolumenu zaznaczony pogrubioną czcionką**, numer pierwszej strony cytowanej pracy, np.

[1] J. Kowalski, Wiad.Chem., 2007, **61**, 473.

[2] W. Kowalski, A. Nowak, Przem. Spoż. 2010, **51**, 3.

W przypadku **książek** najprostszy opis powinien zawierać: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), tytuł książki, nazwę wydawcy, miejsce wydania, rok wydania, np.

[1] J. Malinowski, Tytuł książki, PWN, Warszawa, 2004.

[2] W. Kowalski, Tytuł książki, Volumed, Wrocław, 1999

W przypadku zasobów Internetowych najprostszy opis powinien zawierać: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), tytuł (artykułu) dokumentu online, [dostęp], wydawca, [data dostępu]. Warunki dostępu, np.

[7] J. Kowalski, Tytuł artykułu. [online], wydawca, [dostęp: 2010-05-20]. Dostępny w Internecie: <http://www.....>

4.3. Materiały jakie należy przygotować w celu przesłania pracy do Redakcji

Przed podjęciem decyzji o zakwalifikowaniu pracy do druku w celu oceny merytorycznej należy przesłać **jeden** plik kompletnej pracy zredagowany zgodnie z wymaganiami Redakcji.

Po uzyskaniu pozytywnej recenzji i po ustosunkowaniu się do uwag Recenzenta oraz Redakcji należy przesłać ostateczną wersję pracy w następującej postaci:

- 1 plik tekstu zredagowany zgodnie z wymaganiami Redakcji;
- 1 plik zawierający krótkie notki biograficzne o autorach nadesłanej pracy (każda notka do 150 wyrazów powinna zawierać: tytuł naukowy, miejsce pracy oraz inne ważne informacje o autorze);

- pliki zawierające zdjęcia portretowe autorów, w nazwie powinny wskazywać autora, którego zdjęcie dotyczy (dobrowolne, przesłanie plików jest jednoznaczne ze zgodą na jego opublikowanie);
- 1 plik zawierający: stronę tytułową, streszczenie (abstrakt), słowa kluczowe, podpisy pod rysunki, tabele, schematy (wszystko w obu wersjach językowych); jeśli zachodzi potrzeba to również oddzielne pliki z rysunkami, schematami, tabelami (zob. Tabele, rysunki, fotografie).

Prace nie odpowiadające wyżej wymienionym wymaganiom nie będą przyjmowane do druku. Redakcja zastrzega sobie prawo dokonywania poprawek stylistycznych i skrótów. Autorzy są zobowiązani do wykonania korekty artykułu i jego zwrotu do Redakcji w ciągu kilku dni od otrzymania.

Na etapie przygotowania szczytki, w przypadku przesyłania prac z kolorowymi stronami prosimy o zaznaczenie, stron które w formie druku mają być czarno-białe. Brak tej czynności może **skutkować wystawieniem faktury za wydruk kolorowych stron**. W przypadku zmian kolorowych rysunków na czarno białe prosimy również o zasygnalizowanie, że w postaci elektronicznej, życzą sobie Państwo wersję w kolorze.

Autor wskazany w liście przewodnim jako osoba kontaktowa otrzymuje drogą elektroniczną plik opublikowanej pracy w formacie pdf.

Prace prosimy przysyłać pocztą elektroniczną na adres: *beata.swiatek-tran@chem.uni.wroc.pl* lub *wchem@chem.uni.wroc.pl*, zaś dokumenty wymagające podpisów autorów (np. list intencyjny, oświadczenia autorów, kopie zgody na przedruk potwierdzone za zgodność z oryginałem) pocztą tradycyjną na adres Redakcji.

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

SPIS TREŚCI

Wprowadzenie	353
Zofia KOSTURKIEWICZ: Krystalografia w Polsce	357
Ilona TUROWSKA-TYRK, Julia BĄKOWICZ: Transformacje strukturalne w kryształach wywołane reakcjami fotochemicznymi	381
Maciej KUBICKI: Badania rozkładu gęstości elektronowej w kryształach, czyli jak zobaczyć szczegóły struktury elektronowej cząsteczek	403
Paulina Maria DOMINIAK: Znaczenie i przykłady zastosowania banków asferycznych pseudoatomów w krystalografii białek i małych cząsteczek	429
Barbara BANKIEWICZ, Agnieszka RYBARCZYK-PIREK, Magdalena MAŁECKA, Małgorzata DOMAGAŁA, Marcin PALUSIAK: Zastosowanie topologicznej analizy gęstości elektronowej do opisu oddziaływań niekowalencyjnych	457
Anna OLEJNICZAK, Kamil DZIUBEK, Damian PALIWODA, Witold ZIELIŃSKI, Marcin PODSIADŁO, Andrzej KATRUSIAK: Krystalografia wysokich ciśnień, czyli jak zobaczyć strukturę materii głębiej	487
Wiesław ŁASOCHA, Katarzyna LUBERDA-DURNAŚ: Nowe metody w badaniach struktur polikryształów	
Agata Białońska: Od rozpoznania molekularnego do rozdziału racemicznego metodą frakcyjnej krystalizacji soli diastereomerycznych	545
Agnieszka KILISZEK, WOJCIECH RYPNIEWSKI: Struktura a patogenezę powtórzeń CNG	563
Mirosław GILSKI: Wysokorozdzielcza krystalografia makromolekuł	587
Informacje	609

W NASTĘPNYM ZESZYCIE UKAŻĄ SIĘ:

Hanna PIŃKOWSKA, Adrianna ZŁOCIŃSKA: Pektyny – występowanie, budowa chemiczna i właściwości
Aleksander DARECKI, Henryk GÓRECKI: Selen w perspektywie fortyfikacji roślin o znaczeniu gospodarczym dla Polski