

Die Gewinnung von Phaseninformation aus Intensitätsdaten (Nobel-Vortrag)**

Von Jerome Karle*

Ein Kristall ist ein Festkörper, in dem atomare oder molekulare Einheiten ein Gitter mit dreidimensionaler Periodizität bilden. Aufgrund der dreidimensionalen Periodizität kann man die Anordnung dieser Einheiten mit Fourier-Reihen beschreiben, die in der Kristallstrukturanalyse die Elektronendichteverteilung repräsentieren. Diese ist äquivalent zur Kristallstruktur, da die Atomlagen den Bereichen höchster Elektronendichte entsprechen.

Die experimentelle Methode, die man bei der Kristallstrukturanalyse anwendet, heißt Beugung. Im Beugungsexperiment wird die interessierende Substanz bestrahlt, und wenn gewisse geometrische Bedingungen erfüllt sind, werden die Strahlen so gebeugt, als ob sie an einer Vielzahl von Ebenen reflektiert würden, die den Kristall durchziehen. Die gesammelten Beugungsintensitäten (oft 5000–10000) nennt man Beugungsbild. Aus ihnen kann die Kristallstruktur abgeleitet werden. Am häufigsten werden Röntgenstrahlen verwendet, jedoch gibt es auch Anwendungsbereiche für Neutronen- oder Elektronenstrahlen.

Einen Einblick in Sinn und Charakter des Beugungsexperiments eröffnet ein Gedankenexperiment auf makroskopischer Ebene: Es soll die Form eines großen Objekts, das unseren Blicken verborgen ist, aufgeklärt werden, indem wir es mit Bällen bewerfen, deren Flugbahn wir genau kennen und die von der Oberfläche perfekt reflektiert werden. Weiterhin soll es möglich sein, den Einfluß der Gravitation auf die Bewegung der Bälle zu minimieren und zu korrigieren und die Flugbahnen der zurückkehrenden Bälle zu beobachten. Überstreicht man eine große Fläche senkrecht zur Wurfrichtung und beobachtet dabei immer, daß die Bälle aus der Richtung zurückkommen, in die sie geworfen wurden, so ist anzunehmen, daß das Objekt eine ebene Fläche hat, die zur Richtung der auftreffenden Bälle senkrecht ist. Es ist einsichtig, daß man die Gestalt eines willkürlich geformten Objekts ableiten kann, wenn man es langsam dreht und die zurückkommenden Bälle beobachtet. Im submikroskopischen Bereich ist die Lage etwas anders: Kristalle sind relativ durchlässig für Röntgenstrahlen, und die Wechselwirkungen zwischen den Strahlen und den Atomen des Kristalls unterscheiden sich von denen der Bälle mit der Oberfläche des Objekts, weil bestimmte geometrische Bedingungen erfüllt sein müssen, damit die Strahlen reflektiert werden. Die Wechselwirkung wird jedoch heute verstanden, und das Gedankenexperiment bleibt als Vergleich gültig. Die Röntgenstrahlen entsprechen den Bällen; ihre Wechselwirkung mit der Elektronendichteverteilung im Kristall erzeugt ein Beugungsmuster, das für jeden Kristall charakteristisch ist. Das Problem, vor dem der Analytiker steht, ist, aus dem Beugungsbild den

atomaren Aufbau des Kristalls abzuleiten, der nicht direkt zu beobachten ist.

Wenn man aus der Intensitätsinformation im Beugungsbild die Elektronendichteverteilung im Kristall mit Fourier-Reihen berechnen will, ergibt sich das Problem, daß die Koeffizienten der Fourier-Reihen im allgemeinen komplexe Zahlen sind, aus dem Beugungsbild jedoch nur ihre Beträge erhalten werden können. Die ebenfalls notwendigen zugehörigen Phasen sind in einem normalen Röntgenbeugungsexperiment anscheinend verlorengegangen. Deshalb wurde allgemein angenommen, daß es unmöglich sei, aus dem Beugungsmuster eines Kristalls direkt seine Struktur zu bestimmen. Dieses Problem wurde in mehreren Schritten gelöst. Zunächst erkannte man, daß die benötigte Phaseninformation durchaus in den experimentell bestimmten Intensitäten enthalten ist, dann wurden grundlegende mathematische Formeln entwickelt, die Beziehungen zwischen Phasen und Intensitäten, ja sogar zwischen Phasen alleine aufzeigen, und schließlich entstanden praktische Verfahren zur Strukturbestimmung, Strategien, die mehr oder weniger optimal die mathematischen Beziehungen mit den entsprechend aufbereiteten experimentellen Daten korrelieren.

Die Ergebnisse von Strukturuntersuchungen spielen für viele Gebiete der wissenschaftlichen Forschung eine wichtige Rolle: Viele Verbindungen bilden Kristalle, angefangen von Metallen und Mineralien bis hin zu Makromolekülen wie Viren; die Kenntnis der Struktur erlaubt es, Zusammenhänge zwischen Struktur und Funktion zu erkennen, d. h. physikalische, chemische oder biologische Eigenschaften und Aktivitäten zu verstehen, sie gibt dem Chemiker wichtige Informationen für Synthesen, Modifikationen oder zu Reaktionsmechanismen, hilft darüber hinaus bei der Identifizierung kleinster Mengen seltener Substanzen und liefert oft dem Theoretiker einen Ausgangspunkt für seine Rechnungen. Die Strukturforschung ist eine Basis für viele verwandte Disziplinen, und gerade diese Möglichkeit zu Kontakten mit einer Vielzahl von Gebieten hat die Strukturaufklärung für mich so besonders anziehend gemacht.

In diesem Vortrag werden viele der in der Einleitung angesprochenen Punkte ausgearbeitet, einige interessante Anwendungen gezeigt und kurz künftige Möglichkeiten und Forschungsschwerpunkte beschrieben werden.

Die Elektronendichteverteilung

Die Elektronendichteverteilung $\rho(\mathbf{r})$ wird durch eine dreidimensionale Fourier-Reihe ausgedrückt:

$$\rho(\mathbf{r}) = V^{-1} \sum_{\mathbf{h}} F_{\mathbf{h}} \exp(-2\pi i \mathbf{h} \cdot \mathbf{r}) \quad (1)$$

wobei V das Volumen der Elementarzelle ist, der grundlegenden Struktureinheit, aus der durch dreidimensional-un-

[*] Prof. Dr. J. Karle
Laboratory for the Structure of Matter, Naval Research Laboratory
Washington, DC 20375-5000 (USA)

[**] Copyright © The Nobel Foundation 1986. – Wir danken der Nobel-Stiftung, Stockholm, für die Genehmigung zum Druck dieser Übersetzung.

endliche Anordnung der Kristall aufgebaut ist. Die Koeffizienten

$$F_h = |F_h| \exp(i\phi_h) \quad (2)$$

sind die Kristallstrukturfaktoren zu den durch die Vektoren h bezeichneten Ebenen. Die h haben ganzzahlige Komponenten h, k, l , die sogenannten Miller-Indices, deren Werte umgekehrt proportional zu denen der Schnittpunkte der jeweiligen Ebene mit den Achsen x, y bzw. z sind. Der Winkel ϕ_h ist die mit F_h verknüpfte Phase, r bestimmt die Position eines jeden Punkts in der Elementarzelle. $F_h \cdot E$ ist die Amplitude der an der Ebene h gestreuten Welle, wobei E der elektrische Feldvektor des einfallenden Strahls ist. Die bei der Röntgenbeugung gemessenen Intensitäten sind proportional zu $|F_h|^2$. Erhielte man die Werte von ϕ_h auch aus dem Experiment, so könnten Strukturen direkt mit Gleichung (1) berechnet werden. Das scheinbare Fehlen dieser Information brachte das sogenannte „Phasenproblem“ auf.

Die Fourier-Inversion von Gleichung (1) und anschließendes Ersetzen des Integrals durch die Summe über die Beiträge von N diskreten Atomen in der Elementarzelle ergibt für den Fourier-Koeffizienten

$$|F_h| \exp(i\phi_h) = \sum_{j=1}^N f_{jh} \exp(2\pi i h \cdot r_j) \quad (3)$$

worin f_{jh} die Streuamplitude des j -ten Atoms in der Elementarzelle bedeutet und r_j seinen Ortsvektor.

Überbestimmtheit

Die Definition der Strukturfaktoren gemäß Gleichung (3) führt zu einem Gleichungssystem, da die Beugungsintensitäten für viele h gemessen werden. Die unbekannten Größen in Gleichung (3) sind die Phasen ϕ_h und die Atompositionen r_j . Die bekannten Größen sind die $|F_h|$ aus den gemessenen Intensitäten und die f_{jh} , die sich nur unwesentlich von den theoretisch berechneten atomaren Streufaktoren für freie Atome unterscheiden. Da jede Gleichung (3) komplexe Größen enthält, gibt es immer zwei Gleichungen, eine für den Real-, die andere für den Imaginärteil. Das Ausmaß der Überbestimmtheit erhält man durch Vergleich der Anzahl unbekannter Daten mit der Zahl der bestimmbar unabhängigen Größen. Bei Verwendung von $\text{CuK}\alpha$ -Strahlung kann die Überbestimmtheit für Kristalle mit Symmetriezentrum etwa fünfzigfach sein und etwa fünfundzwanzigfach für Kristalle ohne Symmetriezentrum. Üblicherweise werden weniger Daten gemessen, als theoretisch möglich wäre, trotzdem bleibt die Überbestimmtheit hoch.

Einige Versuche, einige Erfolge

Es gab schon vor unseren Arbeiten Versuche, Struktur- oder Phaseninformationen aus den Strukturfaktorgleichungen zu erhalten. *Ott*^[1] benutzte Gleichungen (3), um Beziehungen zwischen den Strukturfaktoren und den Atompositionen abzuleiten, und zeigte, daß in einigen einfachen Fällen die Atomkoordinaten direkt aus diesen Beziehungen erhalten werden konnten. *Banerjee*^[2] entwickelte eine

selbstkonsistente „Trial and error“-Methode basierend auf *Ott*s Ergebnissen zur Bestimmung der Phasen von zentrischen Strukturfaktoren, für die nur die Werte 0 und π in Frage kommen. Die Zahl der Versuche wuchs jedoch sehr schnell mit der Komplexität des Systems, was die Methode auf einfache Strukturen begrenzte. *Avrami*^[3] arbeitete mit Gleichungen, die Intensitäten mit interatomaren Vektoren [Gl. (4)] verknüpfen. Die Lösungen dieser Gleichungen waren Wurzeln eines Polynoms, dessen Ordnung schnell mit wachsender Komplexität des Kristalls stieg. All diese Ansätze konnten wegen des mit der Komplexität wachsenden Rechenaufwandes, ihrer Empfindlichkeit gegen experimentelle Fehler und systemimmanenter Zweideutigkeiten der Resultate nur auf die einfachsten Strukturen angewendet werden. Obwohl die computertechnischen Möglichkeiten heute um vieles größer sind, können diese Grenzen immer noch nicht vernünftig überwunden werden.

1934 gelang *A. L. Patterson* ein bedeutender Fortschritt beim Bemühen, aus Intensitätsdaten Strukturinformationen zu erhalten. Er entwickelte eine Fourier-Reihe, in der als Koeffizienten die Quadrate der Beträge der Strukturfaktoren enthalten sind anstelle der Strukturfaktoren selbst. Die Phasen können aus Gleichung (3) eliminiert werden, indem man mit der konjugiert komplexen Zahl multipliziert. Man erhält so

$$|F_h|^2 = \sum_{j=1}^N \sum_{k=1}^N f_{jh} f_{kh} \exp[2\pi i h \cdot (r_j - r_k)] \quad (4)$$

Die Fourier-Transformation von (4) ist bekannt als die Patterson-Funktion^[4,5]

$$P(r) = \sum_{-\infty}^{\infty} |F_h|^2 \exp(-2\pi i h \cdot r) \quad (5)$$

Die Maxima der Patterson-Funktion stellen die interatomaren Vektoren einer Struktur dar. Offensichtlich sind so die Koeffizienten direkt aus den gemessenen Beugungsintensitäten erhältlich. Aus dieser Funktion können die Positionen von Schweratomen in einer Struktur ermittelt werden, wenn es nicht zu viele sind, da die zugehörigen interatomaren Vektoren in einer Fourier-Synthese nach (5) dominieren und sich leicht in Ortsvektoren dieser Schweratome umrechnen lassen. Die so erhaltenen Atomkoordinaten können dann in Gleichung (3) eingesetzt werden, um einen Startsatz von Phasen zu erhalten. In Abhängigkeit von der Streukraft der Schweratome können solche Rechnungen für Strukturen mit bis zu einigen hundert Atomen eingesetzt werden. Es gibt zahlreiche Möglichkeiten, die gesamte Struktur aus den durch die Schweratomlagen gegebenen Startphasen abzuleiten. Die Patterson-Funktion wurde und wird bei der Bestimmung von Strukturen, die Schweratome enthalten, sehr häufig angewendet, und ist auch heute noch eine der wichtigsten Methoden zur Kristallstrukturanalyse.

Die Schwierigkeit, die Patterson-Funktion auf Strukturprobleme ohne schwere Atome anzuwenden, besteht in der geringen Auflösung und Ungenauigkeit für $N(N-1)$ interatomare Vektoren. Sie wird erst wieder in Verbindung mit bekannten Atomgruppierungen anwendbar^[6-8].

Daß mit der Patterson-Funktion einfache Strukturen ermittelt werden konnten, war ein wichtiger Schritt auf dem

Weg zur Lösung des Phasenproblems. War eine Struktur erst einmal gelöst, konnte man mit Gleichung (3) die Werte sämtlicher Phasen berechnen. Dies bedeutet aber nichts anderes als die Phasenbestimmung aus Intensitätsdaten. Bei Verwendung der Patterson-Funktion wird zuerst die Struktur bestimmt. Es war vorhersehbar, daß dieser Prozeß umgekehrt werden könnte, man also die Phaseninformation direkt aus den Intensitätsdaten ableiten und daraus die Struktur mit Hilfe von Gleichung (1) bestimmen könnte. Dies geschah in der Tat. Es hat sich, einige wenige Spezialfälle mit Schweratomen ausgenommen, herausgestellt, daß es einfacher ist, Phasenwerte direkt aus den gemessenen Intensitäten zu entnehmen und daraus die Struktur zu berechnen, als die Struktur aus den Intensitäten ohne Verwendung der Phasen zu lösen.

Beziehungen zwischen Phasen und Intensitäten, die spätere Entwicklungen vorwegnahmen, waren die Ungleichungen von *Harker und Kasper*^[9]. Mit den Schwarz-Cauchy-Ungleichungen leiteten sie für den Fall kristallographischer Symmetrie einige Ungleichungen aus den Strukturfaktorgleichungen (3) ab. Die Harker-Kasper-Ungleichungen erbrachten wertvolle Erkenntnisse. Diese einfachen Ausdrücke können sehr nützliche Phaseninformationen liefern, wie *Kasper, Lucht und Harker*^[10] am Beispiel der Lösung der Struktur von Decaboran zeigten. Zusätzlich ergab sich aus Arbeiten mit diesen Ungleichungen, daß sie Merkmale der Wahrscheinlichkeitsrechnung aufwiesen. *Gillis*^[11] zeigte beispielsweise, daß die Folgerungen aus einer solchen Ungleichung auch dann mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit korrekt sind, wenn die Beträge der Strukturfaktoren zu klein sind, um definitive Schlüsse zuzulassen. *Gillis* nahm an, daß die Strukturfaktoren durch thermische Effekte in ihrem Betrag reduziert würden, und verwendete eine geeignete Funktion, um die Beträge der Strukturfaktoren künstlich zu erhöhen, so daß die Ungleichungen anwendbar wurden. Die wahrscheinlichkeitstheoretische Interpretation der Ungleichungen, d. h. die Argumentation, auch wenn eine Ungleichung den Wert einer Phase nicht definitiv bestimme, sei er doch mit großer Wahrscheinlichkeit richtig, blieb aber eine mögliche Alternative. Dies könnte wichtig sein, weil es impliziert, daß die Ungleichungen eine wahrscheinlichkeitstheoretische Bedeutung haben, was ihren Anwendungsbereich vergrößern würde.

Nicht-Negativität und allgemeine Ungleichungen

Den ersten Anstoß, die Mathematik der Kristallstrukturanalyse zu untersuchen, gaben unsere Erfahrungen bei der Entwicklung eines analytischen Verfahrens, das mit Elektronenbeugungsexperimenten genaue radiale Verteilungsfunktionen für die Strukturbestimmung gasförmiger Moleküle liefern sollte. Hier trat das Problem auf, genaue Hintergrundintensitäten zu ermitteln, um die molekularen Wechselwirkungsintensitäten aus der Gesamtstreuung herauszufiltern. Die Fourier-Transformation der molekularen Intensität kann als Wahrscheinlichkeit gedeutet werden, interatomare Abstände in einem Molekül zu finden. Deshalb darf diese Transformation nicht negativ sein. Daraus folgte eine recht nützliche Beschränkung der Form der Hintergrundintensität^[12, 13]. Abbildung 1 zeigt eine radiale Verteilungsfunktion für H_2CCF_2 ^[14], die aus diesem Nicht-

Negativitäts-Zwang und den Abständen im Molekül abgeleitet ist. Die Genauigkeit des Ergebnisses gestattete nicht nur die Bestimmung interatomarer Gleichgewichtsabstände, sondern auch die Abschätzung von Schwingungsamplituden, die mit den interatomaren Abständen in Zusammenhang zu sehen sind.

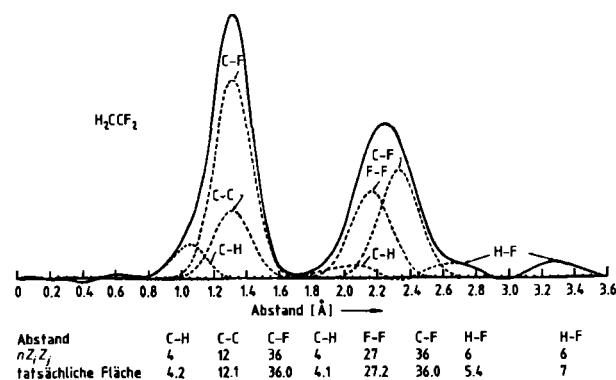


Abb. 1. Die im wesentlichen nicht-negative radiale Verteilungsfunktion (durchgezogene Linie) für H_2CCF_2 , berechnet aus den experimentellen molekularen Intensitätsdaten durch Abzug einer geeigneten Hintergrundkurve. Die durchgezogene Linie gibt die Wahrscheinlichkeit an, interatomare Abstände in bestimmten Bereichen auf der horizontalen Achse zu finden. Die gestrichelten Linien sind die Zerlegung der Summenwahrscheinlichkeit in ihre Komponenten für einzelne interatomare Abstände. Die „Signale“ haben eine bestimmte, mit den Molekülschwingungen zusammenhängende Breite. n ist das Produkt von $1/3$ (Normierungsfaktor) und der Zahl, die angibt, wie oft der betrachtete Abstand im Molekül vorkommt. nZ_jZ_j ist der theoretische Wert der jeweiligen Fläche.

Etwa zu der Zeit, als diese Arbeiten zur Elektronenbeugung an Gasen fortschritten, kam *Herbert Hauptman* zu unserer Gruppe am Naval Research Center. Den Erfolg mit dem Nicht-Negativitäts-Kriterium im Blick beschlossen wir zu untersuchen, inwieweit dieses Kriterium auf anderen Gebieten der Strukturaufklärung nützen könnte. Dies führte uns zur Untersuchung der Elektronendichteverteilung in der Umgebung freier Atome^[15], was durch die Bestimmung der Elektronendichte in der Umgebung von Argon-Atomen durch *Barell und Brockway*^[16] eine schöne Anwendung fand.

Wir interessierten uns auch für die Folgen der Anwendung des Nicht-Negativitäts-Prinzips auf die Kristallstrukturanalyse, da die in Gleichung (1) definierte Elektronendichteverteilung ebenfalls nicht negativ sein darf. Dies führte uns zu den Arbeiten von *Toeplitz*^[17] zu Beginn dieses Jahrhunderts über nicht-negative Fourier-Reihen und darauffolgende Entwicklungen anderer Autoren. Wir diskutierten die Theorie im dreidimensionalen Raum und brachten sie in eine Form, die eine besondere Bedeutung für kristallographische Daten haben sollte.

Das wesentliche Ergebnis war, daß die notwendige und hinreichende Bedingung für eine nicht-negative Elektronendichte im Kristall die ist, daß ein unendliches System von nicht-negativen Determinanten, aufgebaut aus den Strukturfaktoren, existiert. Eine typische Determinante ist^[18]

$$\begin{vmatrix} F_{000} & F_{-k_1} & F_{-k_2} & \dots & F_{-h} \\ F_{k_1} & F_{000} & F_{k_1-k_2} & \dots & F_{k_1-h} \\ F_{k_2} & F_{k_2-k_1} & F_{000} & \dots & F_{k_2-h} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ F_h & F_{h-k_1} & F_{h-k_2} & \dots & F_{000} \end{vmatrix} \geq 0 \quad (6)$$

Die Indices der ersten Spalte beginnen mit 0,0,0, sind aber sonst beliebig. Die Indices der ersten Reihe sind denen der ersten Spalte betragsmäßig gleich, haben aber umgekehrte Vorzeichen. Der Index des Elements in der i-ten Reihe und j-ten Spalte ist die Summe der Indices des ersten Elements der i-ten Reihe und des j-ten Elements der ersten Reihe. Die Ungleichung dritter Ordnung

$$\begin{vmatrix} F_{000} & F_{-k} & F_{-h} \\ F_k & F_{000} & F_{h-k} \\ F_h & F_{h-k} & F_{000} \end{vmatrix} \geq 0 \quad (7)$$

enthält eine Beziehung zwischen den Strukturfaktoren, die eine entscheidende Rolle bei der direkten Kristallstrukturbestimmung gespielt hat. Dies zeigt sich beim Umschreiben von (7) zu ^[18]

$$\left| F_h - \frac{F_k F_{h-k}}{F_{000}} \right| \leq \frac{\left| \frac{F_{000} F_{-k}}{F_k} \right|^{\frac{1}{2}} \left| \frac{F_{000} F_{-h+k}}{F_{h-k}} \right|^{\frac{1}{2}}}{F_{000}} \quad (8)$$

Für ungewöhnlich große Strukturfaktoren wird die rechte Seite von (8) klein, und es gilt

$$F_h \approx F_k F_{h-k} / F_{000} \quad (9)$$

Leicht ersichtlich folgt aus (9)

$$\phi_h \approx \phi_k + \phi_{h-k} \quad (10)$$

Dies besagt, daß bei großen Strukturfaktoren der Wert von ϕ_h durch die Werte zweier anderer Phasen ausgedrückt werden kann. Dies sieht man auch an der auf (8) beruhenden Konstruktion in Abbildung 2, in der δ für $F_k F_{h-k} / F_{000}$ und r für die rechte Seite von (8) steht, d.h. (8) geschrieben ist als

$$|F_h - \delta| \leq r \quad (11)$$

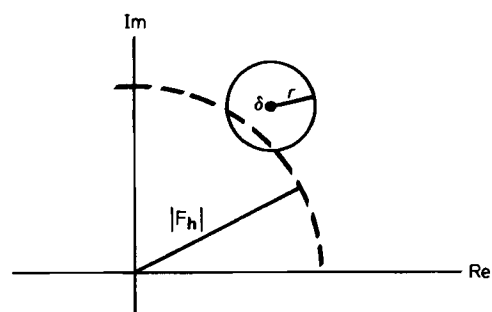


Abb. 2. Die Determinanten-Ungleichungen können in der allgemeinen Form $|F_h - \delta| \leq r$ geschrieben werden. Dies bedeutet, daß F_h durch einen Kreis in der Ebene der komplexen Zahlen mit dem Mittelpunkt δ und dem Radius r begrenzt ist. Bei bekanntem Betrag $|F_h|$ ist F_h auf eine Linie innerhalb des Kreises beschränkt.

Es läßt sich leicht zeigen^[18], daß alle Determinanten von (6) in Form der Ungleichung (11) geschrieben werden können. Mit steigender Ordnung der Determinanten zeigt r die Tendenz kleiner zu werden, wodurch die Bestimmung von ϕ_h genauer wird. Formel (10) wird über den Anwendungsbereich der Ungleichung (8) hinaus eingesetzt. Dies liegt an den wahrscheinlichkeitstheoretischen Merkmalen

der Ungleichungen^[19], die besagen, daß der wahrscheinlichste Wert für ϕ_h der von $(\phi_k + \phi_{h-k})$ ist, und die Wahrscheinlichkeit abnimmt, je weiter der Wert für ϕ_h von dem für $(\phi_k + \phi_{h-k})$ abweicht. Daher ist auch bei einem großen Radius r des begrenzenden Kreises der wahrscheinlichste Wert für ϕ_h der von $(\phi_k + \phi_{h-k})$.

Die Strukturfaktoren in Ungleichung (6) können durch nuasi-normalisierte Strukturfaktoren \mathcal{F} ersetzt werden, die punktförmige Atome (nur näherungsweise bei Atomen ungleicher Ordnungszahl) repräsentieren, anstatt Atome mit Elektronenverteilungen.

$$\mathcal{F}_h = F_h / \left(\sum_{j=1}^N f_{jh}^2 \right)^{\frac{1}{2}} \quad (12)$$

Strukturfaktoren, die punktförmige Atome repräsentieren, sind die normalerweise bei Phasenbestimmungen verwendeten Größen. Formel (9) wird zu

$$\mathcal{F}_h \approx \mathcal{F}_k \mathcal{F}_{h-k} / \mathcal{F}_{000} \quad (13)$$

Für zentrosymmetrische Kristalle gilt

$$s \mathcal{F}_h \approx s \mathcal{F}_k \mathcal{F}_{h-k} \quad (14)$$

wobei s „Vorzeichen von“ bedeutet: Ein Plus entspricht einer Phase von 0, ein Minus einer von π . Aus (13) folgt auch eine eintermige Tangensformel

$$\tan \phi_h = \frac{|\mathcal{F}_k \mathcal{F}_{h-k}| \sin(\phi_k + \phi_{h-k})}{|\mathcal{F}_k \mathcal{F}_{h-k}| \cos(\phi_k + \phi_{h-k})} \quad (15)$$

Die Tangens-Formel mit der Summe über k Terme in Zähler und Nenner ist eine weitere Formel, die eine entscheidende Rolle bei der Umsetzung der Theorie zur Strukturbestimmung in die Praxis spielte.

Nachdem ein Satz von Ungleichungen (6) auf der Basis der nicht-negativen Elektronendichteverteilung in einem Kristall erhalten worden war, erschien es interessant, deren Beziehungen zu den von Harker et al.^[9] mit den Schwarz-Cauchy-Ungleichungen abgeleiteten Ungleichungen zu klären. Es konnte gezeigt werden^[18], daß sie erhalten werden, wenn man durch gewisse Beziehungen unter den Strukturfaktoren eine geeignete Symmetrie in die Determinantenungleichung dritter Ordnung einführt. Diese Untersuchungen zeigten wie erwartet, daß für die Gültigkeit der Harker-Kasper-Ungleichungen die Nicht-Negativität der Elektronendichteverteilung eine notwendige Voraussetzung ist.

Die Vielzahl der Formeln zur Phasenbestimmung, die in den Ungleichungen (6) enthalten sind, hat ihr Gegenstück in der Wahrscheinlichkeitstheorie, d.h. ähnliche Formeln können aus der Wahrscheinlichkeitsrechnung erhalten werden. Ihr Vorzug ist, daß ihnen Zuverlässigkeitskriterien zugeordnet werden können. Der sinnvolle Einsatz dieser Kriterien half bei der Überbrückung des Grabens zwischen der mathematischen Theorie und ihrer praktischen Anwendung.

Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß den Determinanten wahrscheinlichkeitstheoretische Merkmale inhärent sind^[19], die in der Tat direkt aus Ungleichung (11) ablesbar sind. So wurden allerdings die ersten wahrschein-

keitstheoretischen Formeln nicht abgeleitet. Die Jagd nach solchen Formeln wurde durch die Erwartung motiviert, daß die Nützlichkeit der aus den Ungleichungen abgeleiteten Formeln aufgrund der großen Überbestimmtheit des Strukturproblems gesteigert werden könnte und daß nicht alle Punkte innerhalb des Kreises um δ mit Radius r (Abb. 2) gleich wahrscheinlich wären, und durch die Erfahrung von Gillis^[11] mit Strukturfaktoren, deren Beträge zu klein waren, um Schlüsse aus den Ungleichungen zu ziehen, die aber künstlich vergrößert zu richtigen Schlüssen führten.

Um die wahrscheinlichkeitstheoretischen Aspekte dieses Themas zu charakterisieren, entschlossen wir uns zunächst, eine Methode des „random walk“ zu entwickeln^[20], gingen sodann aber zu verknüpften Wahrscheinlichkeitsverteilungen über^[21, 22], die ihren Höhepunkt in einer Monographie hatten^[23], die zum ersten Mal einen Satz von wahrscheinlichkeitstheoretischen Formeln und Methoden zur Lösung des Phasenproblems enthielt, aber begrenzt war auf zentrosymmetrische Kristalle. In dieser Monographie^[23] wurde zudem die Theorie der Invarianten und Semiinvarianten eingeführt, mit denen das Problem gelöst werden sollte, Anzahl, Art und erlaubte Werte der Phasen zu bestimmen, die zur Ursprungsfixierung innerhalb eines Kristalls nötig sind. Die praktischen Aspekte zur Analyse von Kristallstrukturen ohne Symmetriezentrum wurden später entwickelt, und erst 1964 konnte die erste Struktur ohne Symmetriezentrum^[24] durch die „direkten Methoden“ gelöst werden, die Phaseninformation direkt aus den Beugungsintensitäten entnehmen. Interessant ist, daß neuere Entwicklungen in der Mathematik des „random walk“ diese Technik ziemlich zuverlässig gemacht haben; dadurch wurde das Interesse an ihrer Anwendung auf die wahrscheinlichkeitstheoretischen Aspekte der Formeln zur Phasenbestimmung erneut geweckt^[25].

Formeln zur Phasenbestimmung

Im folgenden werden die wichtigsten Formeln zur Phasenbestimmung angegeben. Sie sollten ausreichen, um das Prinzip zu erklären. Daneben existieren zahlreiche weitere nützliche Formeln, die in der angegebenen Literatur gefunden werden können.

Zentrosymmetrische Kristalle

Die Σ_2 -Formel^[23] lautet

$$s E_h \approx s \sum_{k_r} E_k E_{h-k} \quad (16)$$

s steht für „Vorzeichen von“ und k , für die k -Werte, für die $|E_k|$ und $|E_{h-k}|$ groß sind. Ein positives Vorzeichen bedeutet eine Phase von 0, ein negatives eine von π ; dies sind im zentrosymmetrischen Fall die einzig möglichen Werte, wenn der Ursprung richtig gewählt wurde. Die Größen E sind normalisierte Strukturfaktoren, die der Wahrscheinlichkeitstheorie entstammen; sie sind identisch mit den quasi-normalisierten \mathcal{E} abgesehen von einer Umgewichtung^[26] gewisser Teilmengen von E . Die Ableitung der normalisierten Strukturfaktoren aus Intensitätsdaten^[27] geht auf Arbeiten von Wilson zurück^[28, 29], die die früheste Anwendung der Wahrscheinlichkeitstheorie bei der Lö-

sung von Kristallstrukturen sind. Gleichung (16) ist das wahrscheinlichkeitstheoretische Äquivalent des Satzes von Ungleichungen (8), wenn k über alle k , läuft. Die Wahrscheinlichkeitsfunktion $P_+(h)$, die die Wahrscheinlichkeit für ein positives Vorzeichen von E angibt, wurde in^[23] vorgestellt. Gewöhnlich wendet man sie in der Form an, die mit dem „central limit“-Theorem von Woolfson^[30] sowie Cochran und Woolfson^[31] abgeleitet wurde,

$$P_+(h) \approx \frac{1}{2} + \frac{1}{2} \tanh \sigma_3 \sigma_2^{-\frac{1}{2}} |E_h| \sum_k E_k E_{h-k} \quad (17)$$

wobei

$$\sigma_n = \sum_{j=1}^N Z_j^n \quad (18)$$

und Z_j die Ordnungszahl des j -ten Atoms in der Elementarzelle aus N Atomen ist.

Nicht-zentrosymmetrische Kristalle

Hier gilt für die Winkelsumme

$$\phi_h \approx \langle \phi_k + \phi_{h-k} \rangle_k \quad (19)$$

und die Tangensformel lautet

$$\tan \phi_h \approx \frac{\sum_k |E_k E_{h-k}| \sin(\phi_k + \phi_{h-k})}{\sum_k |E_k E_{h-k}| \cos(\phi_k + \phi_{h-k})} \quad (20)$$

Die Ausdrücke (19) und (20) sind vergleichbar mit den Beziehungen (10) bzw. (15) und resultieren aus der Kombination einer Anzahl Terme, wenn k über irgendeinen definierten Satz variiert wird. Ein geeignetes Maß für die Zuverlässigkeit von (19) und (20) ist die Varianz V ^[32]

$$V = \frac{\pi^2}{3} + [I_0(\alpha)]^{-1} \sum_{n=1}^{\infty} (I_{2n}(\alpha)/n^2) - 4[I_0(\alpha)]^{-1} \sum_{n=0}^{\infty} [I_{2n+1}(\alpha)/(2n+1)^2] \quad (21)$$

I_n ist eine Bessel-Funktion mit imaginärem Argument $i\alpha$ ^[33], und für α gilt

$$\alpha = \left\{ \left[\sum_{k_r} \kappa(h, k) \cos(\phi_k + \phi_{h-k}) \right]^2 + \left[\sum_{k_r} \kappa(h, k) \sin(\phi_k + \phi_{h-k}) \right]^2 \right\}^{\frac{1}{2}} \quad (22)$$

$$\kappa(h, k) = 2\sigma_3 \sigma_2^{-\frac{1}{2}} |E_h E_k E_{h-k}| \quad (23)$$

Ausdruck (21) gibt die Varianz von ϕ_h an, wie sie aus einem gegebenen Satz von $(\phi_k + \phi_{h-k})$ erhalten wird. Diese Varianzformel hat ihren Ursprung in einer Wahrscheinlichkeitsverteilung (in etwas anderer Notation) von Cochran^[34] für ϕ_h , wenn ein bestimmtes $(\phi_k + \phi_{h-k})$ und die zugehörigen $|E|$ -Werte gegeben sind. Die Tangensformel (20) kann auf viele Arten abgeleitet werden. Sie wurde z. B. bei theoretischen Untersuchungen zu nicht-zentrosymmetrischen Raumgruppen unter Anwendung der gekoppelten

Wahrscheinlichkeitsverteilung^[35] und bei der Verallgemeinerung der Cochran-Formel^[34] von nur einem bestimmten ϕ_h auf einen Satz von $(\phi_k + \phi_{h-k})$ erhalten^[32,34]. Der Mittelwert in (19) muß im Zusammenhang mit dem Prinzip des „maximum clustering“ gesehen werden, d.h. der Forderung nach minimaler Abweichung der Beiträge individueller Summen $(\phi_k + \phi_{h-k})$ vom Mittelwert. Alle ϕ erhalten Werte im Bereich von $-\pi < 0 \leq \pi$, und „maximum clustering“ bedeutet Addition von 0, 2π oder -2π zu jedem Paar $(\phi_k + \phi_{h-k})$. Wie dies in der Praxis durchgeführt werden kann, wurde in ^[32] beschrieben.

Phasenbestimmung in der Praxis

In diesem Teil werden praktische Aspekte der Phasenbestimmung an der symbolischen Addition^[24,32,36,37], der ersten Methode mit breiter Anwendung auf zentrosymmetrische und nicht-zentrosymmetrische Kristalle, aufgezeigt. Es waren vor allem die Bemühungen meiner Frau, Dr. *Isabella Karle*, die die Lücke zwischen der Mathematik der Phasenbestimmung und der Welt der experimentellen Daten und der praktischen Anwendung schlossen. Ungefähr 1956 kauften wir ein Gerät zur Röntgen-Strukturanalyse, und *Isabella Karle* lernte autodidaktisch aus einem Buch von *Martin Buerger*, wie sie die Daten zu sammeln und die Beugungsaufnahmen zu interpretieren hatte. Damals arbeitete man völlig anders als heute, es gab praktisch keine computerunterstützte Datensammlung, und die Computer waren, verglichen mit heute, sehr primitiv. Die Intensitäten Tausender von Punkten wurden visuell mit einem kalibrierten Vergleichsstreifen bestimmt. Heute werden die Daten mit automatischen Diffraktometern gesammelt, wobei nur zu Beginn der Mensch etwas eingreifen muß, und die Computer haben um Größenordnungen höhere Geschwindigkeiten und Speicherkapazitäten als vor 30 Jahren. Technische Fortschritte der letzten Zeit, wie etwa Synchrotron-Röntgenstrahlenquellen und Flächendetektoren, lassen erwarten, daß künftig die Daten noch schneller und einfacher gesammelt werden können. So ergeben sich experimentelle Möglichkeiten, an die man bisher nicht zu denken wagte.

Nach der Datensammlung werden die Intensitäten in normalisierte Strukturfaktoren umgerechnet gemäß

$$|E_h| = |F_h| / \left(\epsilon \sum_{j=1}^N f_{hj}^2 \right)^{\frac{1}{2}} \quad (24)$$

wobei mit dem Faktor ϵ gewisse Untersätze von Daten neu gewichtet werden können^[26]. Eine mögliche Vorgehensweise ist in ^[38] angegeben.

Aus den Gleichungen (16), (19) und (20) geht hervor, daß man die Werte einiger Phasen kennen muß, bevor man weitere daraus ableiten kann. Hierzu gibt es mehrere Quellen, angefangen mit gewissen Phasenspezifikationen durch die Festlegung des Ursprungs der Zelle^[38], über die Zuordnung von später auszuwertenden Symbolen zu einigen Phasen, bis zur gelegentlichen Anwendung von Hilfsformeln wie Σ_1 und Σ_3 , die einzelne Phasen allein durch Beiträge der Strukturfaktoren definieren^[38]. Anzahl und Art der ursprungsbestimmenden Phasen werden mit der eigens zu diesem Zweck entwickelten Theorie der Invarianten

und Semiinvarianten bestimmt. In Abhängigkeit von der Raumgruppe können dies null bis drei Phasen sein. Geeignete Tabellen^[38] stehen zur Verfügung.

Die Phasen werden schrittweise bestimmt, wobei man anfangs nur wenige Beiträge zu (16) oder (19) kennt. Verwendet man zu Beginn die mit den größtmöglichen Beiträgen für die normalisierten Strukturfaktoren E verknüpften Phasen, so garantiert dies, daß die Wahrscheinlichkeitsmaße (17) und (21) so gut wie möglich sein werden. Die hohe Überbestimmtheit des Problems hilft zudem, daß aus den anfänglichen Wahrscheinlichkeiten durch das schrittweise Vorgehen letztlich ein verlässlicher Satz von Phasen zur Bestimmung der Struktur resultiert. Da die Natur der Phasenbestimmung (viele wechselseitig abhängige Schritte) inhärent wahrscheinlichkeitstheoretisch und zufällig ist, war die Entwicklung optimaler, auf experimentellen Daten basierender Verfahren alles andere als einfach.

Unter den im Laufe einer Phasenbestimmung möglichen Wegen sind solche mit Fallen, die beispielsweise auf einen Weg führen, auf dem sich die Zusammenhänge zwischen den Phasen etwas auf Kosten der Wahrscheinlichkeitskriterien entwickeln. Daraus folgen leicht Schritte in die falsche Richtung und zu sich aufsummierenden Fehlern, was eher einen Mißerfolg bei der Strukturlösung zur Folge hat, als wenn nur Wege benutzt werden, die auf den höchsten Wahrscheinlichkeiten basieren.

Auch die Methoden zur Phasenbestimmung sind mehrdeutig, doch läßt sich diese Mehrdeutigkeit durch die Verwendung von Symbolen kontrollieren, da die Symbole mehr als einen Wert annehmen können: Bei zentrosymmetrischen Kristallen kann die Phase nur 0 oder π sein; bei nicht-zentrosymmetrischen hat die Erfahrung gezeigt, daß vier Werte, die sich um $\pi/2$ unterscheiden, ausreichen, obwohl die Phasen jeden Wert zwischen π und $-\pi$ haben können. Ein Vorteil der Symbole ist, daß Beziehungen zwischen ihnen, die sich während der Phasenbestimmung ergeben, die Anzahl der zuzuordnenden Werte reduzieren. Hier muß man wiederum Vorsicht walten lassen, um zuverlässige Beziehungen von nicht verlässlichen zu unterscheiden. Im zentrosymmetrischen Fall führt man zunächst die gesamte Phasenbestimmung durch, bevor man den verbleibenden Symbolen einander ausschließende Werte zuweist und testet, welcher Satz eine Fourier-Reihe ergibt, die eine chemisch sinnvolle Struktur liefert und die gemessenen Intensitäten gut reproduziert. Im nicht-zentrosymmetrischen Fall verwendet die symbolische Addition zunächst nur Gleichung (19). Sind ca. 100 Phasen bestimmt, ordnet man den verbleibenden Symbolen alternative numerische Werte zu und wendet Gleichung (20) zur Erweiterung des Phasensatzes an. Auch hier ist wieder der richtige Satz der, dessen Fourier-Reihe ein chemisch sinnvolles Ergebnis liefert und mit den Meßdaten gut übereinstimmt. Erhält man kein befriedigendes Ergebnis, so wählt man am besten einen anderen Weg für die Phasenbestimmung.

Die meisten nicht-zentrosymmetrischen Kristalle bedürfen einer zusätzlichen Spezifikation, deren Charakter sich ebenfalls aus der Theorie der Invarianten und Semiinvarianten ableitet. Durch diese Spezifikation wählt man ein Enantiomorph oder eine Achsenrichtung oder beides. Eine gute Methode, diese Spezifikation in der symbolischen Addition zu erreichen, ist es, die symbolische Darstellung einer Phase zu finden, die mit großer Wahrscheinlichkeit

deutlich von 0 oder π verschieden ist. Die Spezifikation erfolgt dann durch die willkürliche Zuordnung eines $+$ - oder $-$ -Zeichens zu diesem Phasenwert. Die enantiomorphe Mehrdeutigkeit bei nicht-zentrosymmetrischen Kristallen folgt daraus, daß ein solcher Kristall in Abwesenheit von meßbarer anomaler Dispersion das gleiche Beugungsbild wie sein Spiegelbild ergibt.

Im Laufe der Phasenbestimmung kann es insbesondere im nicht-zentrosymmetrischen Fall vorkommen, daß in der Fourier-Synthese nur ein Teil des gesuchten Moleküls auftaucht. Dies geschieht, wenn bei der Phasenbestimmung etwas, aber nicht alles schiefgegangen ist. Die Teilstruktur kann als möglicherweise richtig anerkannt werden, wenn sie chemisch vernünftig ist, d. h. wenn das Fragment sinnvolle Verknüpfungen und akzeptable Abstände und Winkel aufweist. Es wurde eine Methode entwickelt, mit der man die gesamte Struktur aus einem Fragment ableiten kann^[39]. Sie beruht auf der Tangensformel (20) und wurde viel angewendet. Möglicherweise liegt eine solche Teilstruktur bezüglich des Ursprungs nicht richtig. Dann kann eine Transformationsformel^[40–43] helfen, das Fragment an die richtige Stelle zu bringen.

Die symbolische Addition^[24, 32, 36, 37] wurde aus den Erfahrungen mit der Methode zur Phasenbestimmung in zentrosymmetrischen Fällen entwickelt, die in der Monographie^[23] von 1953 beschrieben ist. Zur Vorzeichenbestimmung wurden damals Hilfsformeln wie Σ_1 und Σ_3 empfohlen^[23]. Die Verwendung vorläufiger Phaseninformation aus diesen Formeln zusammen mit Wahrscheinlichkeitskriterien, die mit einzelnen Merkmalen der phasenbestimmenden Formeln verknüpft sind, erleichterten die Anwendung der Σ_2 -Beziehung (16). Die Kombination von Hilfsformeln mit der Wahrscheinlichkeitstheorie reduzierte die Mehrdeutigkeit, die bei der alleinigen Verwendung der Σ_2 -Formel zusammen mit manchmal recht unempfindlichen und so fehlleitenden Kriterien wie innerer Konsistenz erhalten würde, auf ein erträgliches Maß.

Durch das Arbeiten mit den in ^[23] vorgestellten Methoden ergaben sich zwei wichtige Eigenschaften, die letztlich eine wichtige Rolle bei der symbolischen Addition spielten: Wenn die Wahrscheinlichkeitskriterien auf jeder Stufe der Phasenbestimmung sorgfältig angewendet werden, kann man mit einem kleinen Anfangssatz von Phasen auskommen. Es zeigte sich auch, daß die Verwendung von Symbolen die Effizienz der Methode erhöhen konnte, indem mit ihren einander ausschließenden Werten die nicht leicht behebbare Rest-Zweideutigkeit abgedeckt wird. Gewöhnlich entwickelte sich im Laufe der Phasenbestimmung eine ausreichende Zahl verlässlicher Beziehungen zwischen den Symbolen, die die verschiedenen möglichen Phasensätze auf nur einige wenige reduzierten. Eine weitere Vereinfachung kann, wenn erwünscht, mit Hilfsformeln für die Wertezuweisung zu den am Ende der Phasenbestimmung verbleibenden Symbolen erreicht werden. War die Bestimmung falsch, was manchmal bei Verwendung der Hilfsformeln vorkommt, so ist kein großes Unheil geschehen. Die alternativen Werte können ausprobiert werden, ohne daß die Phasen neu bestimmt werden müssen. Die symbolische Addition ist für zentrosymmetrische Kristalle also das in ^[23] beschriebene Verfahren, vereinfacht durch den Gebrauch von Symbolen und Hilfsformeln am Ende statt am Anfang der Phasenbestimmung.

Die symbolische Addition ähnelt für zentrosymmetrische Kristalle der Methode von Zachariasen^[44] in einigen Punkten. Der Hauptunterschied ist die Verwendung von Wahrscheinlichkeitskriterien, die jeden Schritt begleiten, besonders zu Beginn, der konsequente Gebrauch von nur wenigen Symbolen und die daraus resultierende Minimierung der Mehrdeutigkeit der Bestimmung und Optimierung der Verlässlichkeit des Ergebnisses. Andere Versuche in den fünfziger Jahren, z. B. von Rumanova^[45] sowie Cochran und Douglas^[46], waren ebenfalls teilweise erfolgreich. Rumanova entwickelte eine systematische Methode, um Symmetriebeziehungen in den zentrosymmetrischen Raumgruppen zusammen mit Gleichung (16) zu nutzen. Sie verwendete sie in Verbindung mit der Methode von Zachariasen^[44]. Cochran und Douglas benutzten eine Variante von (16), die auf einer Formel von Sayre^[47] basierte, in einem Verfahren, das eine große Menge von Vorzeichensätzen erzeugte, aus denen der richtige unter äußerst zweideutigen Umständen herausgesucht werden mußte.

Die Vorgehensweise bei der symbolischen Addition für zentrosymmetrische Fälle wurden hauptsächlich von Isabella Karle unter Verwendung der Gleichungen (19)–(21) auf nicht-zentrosymmetrische Fälle ausgedehnt^[24]. Es traten dabei mehrere Probleme auf: die Zuordnung und Handhabung der Symbole, die Anwendung des Wahrscheinlichkeitskriteriums (21), die Anzahl von möglichen Werten, die den Symbolen für Phasen, deren Werte kontinuierlich von π bis $-\pi$ variieren, zugeordnet werden können, die Kombination von (19) und (20) zur Phasenbestimmung, der richtige Gebrauch der Tangensformel zur Phasenverfeinerung und -erweiterung, die Entwicklung von Techniken zur Spezifizierung eines Enantiomorphs, von Achsen oder von beidem, und weitere Überlegungen, wie das Verhindern lästiger Tripletphasen-Invarianten, die ein- oder zweidimensionale zentrische Reflexe enthalten. Diese Aspekte der symbolischen Addition sind nachzulesen in ^[32] und ^[38] und in den Veröffentlichungen zu den im folgenden beschriebenen Anwendungen.

Ein schöner Vorzug der symbolischen Addition ist, daß wegen ihrer Effizienz ein Großteil der Phasenbestimmung „per Hand“ ausgeführt werden kann, was wir in unserem Laboratorium jahrelang in zentrosymmetrischen Fällen getan haben. In nicht-zentrosymmetrischen Fällen bestimmten wir zunächst mit Gleichung (19) etwa 100 Phasen per Hand, bis sich nützliche Beziehungen zwischen den Symbolen ergaben. Erst wenn wir ausgewählte numerische Werte den wenigen verbleibenden Symbolen zugeordnet hatten, wurde die Tangensformel (20) computerunterstützt angewendet. Diese Effizienz ermöglichte es auch Forschern mit nur kleiner Rechnerkapazität, Strukturbestimmungen durchzuführen, eröffnete die Möglichkeit, den Fortgang der Phasenbestimmung zu beeinflussen, und ist von didaktischem Wert für Anfänger.

Als die Anwendung der direkten Phasenbestimmung in den sechziger Jahren häufiger und die Strukturbestimmung mehr und mehr Teil der Forschung wurde, wurden Ende der sechziger Jahre „Programmpakete“ entwickelt, d. h. Software zur Strukturbestimmung aus Röntgen-Beugungsdaten. Unter den viel verwendeten gibt es solche, die in nicht-zentrosymmetrischen Fällen sich ausschließende numerische Werte anstelle von Symbolen benutzen, andere behielten die Symbole bei. Programme, die die numeri-

schen Startsätze verwenden, müssen mit der Tangensformel (20) viele solche Startsätze erzeugen. Die Wahl der wahrscheinlichsten Lösungen erfordert dann einen ausgefeilten Satz von Wahrscheinlichkeitsformeln, Hilfsformeln und Akzeptanzkriterien. Weitere Rechentechniken entstanden: Beispielsweise werden Zufallssätze von Phasen als Startwerte genommen und dann mit der Tangensformel (20) verfeinert. Betrachtet man viele alternative Startsätze, so erhält man fast sicher die richtige Lösung, obwohl damit viel Computerarbeit verbunden ist. Es gibt auch Spezialprogramme für Sonderfälle wie die Erweiterung eines Fragments zur richtigen Struktur.

Die vorhandenen Computerprogramme sind bei zentrosymmetrischen Kristallen ziemlich erfolgreich und arbeiten auch bei nicht-zentrosymmetrischen Kristallen mit bis zu 100 unabhängigen Nichtwasserstoffatomen in der Elementarzelle recht gut. Manchmal erhält man mit den Programmpaketen keine Antwort. Dann kann der Kristallograph das Problem mit Sachverstand und Scharfsinn und mit besonderen Techniken angehen, die zu speziell und daher in üblichen Programmpaketen nicht enthalten sind.

Einige Namen, die mit der Entwicklung und Verbreitung von Programmen zur direkten Strukturbestimmung verbunden sind, seien hier genannt: *Ahmed, Andrianov, Beurskens, Germain, Gilmore, Hall, Main, Schenk, Sheldrick, Stewart, Viterbo und Woolfson*. Unter ihren Programmen sind einige mehr, andere weniger populär. Einblicke in die Inhalte und die „Philosophie“ der Programme kann man aus einigen Publikationen der Commission on Crystallographic Computing der International Union of Crystallography gewinnen^[48-52].

Anwendungen

In diesem Abschnitt soll das weite Anwendungsgebiet der direkten Methoden gezeigt werden. Die Beispiele stammen hauptsächlich von unserer Arbeitsgruppe, sind aber repräsentativ für die vielen tausend Strukturen, die pro Jahr gelöst werden.

Nach der Publikation der Monographie^[23] wurden als erstes in Zusammenarbeit mit Kollegen vom US Geological Survey Colemanit^[53] und Meyerhofferit^[54] untersucht. Diesen folgten Arbeiten von *Isabella Karle* z. B. an *p,p'*-Dimethoxybenzophenon^[55] und *N*-Benzyl-1,4-dihydronicotinamid^[56], die schließlich zur Methode der symbolischen Addition führten.

Frühe Anwendungen der symbolischen Addition

Cyclohexaglycyl war die erste Substanz, bei der die symbolische Addition angewendet wurde. Es ist ein synthetisches Polypeptid, in dem sechs Glycin-Reste einen 18gliedrigen Ring bilden. Das Polypeptid kristallisiert als Halbhydrat in der triklinen Raumgruppe $P\bar{1}$ mit acht Molekülen in der Elementarzelle^[36] (Abb. 3). Interessant an dieser Struktur ist, daß der 18gliedrige Ring in der Elementarzelle vier verschiedene Konformationen hat und daß alle Wasserstoffatome, die zur Brückenbindung befähigt sind, dies auch tun.

Nicht-zentrosymmetrische Kristalle sind bei Substanzen von biochemischem Interesse recht häufig. Die Kristall-

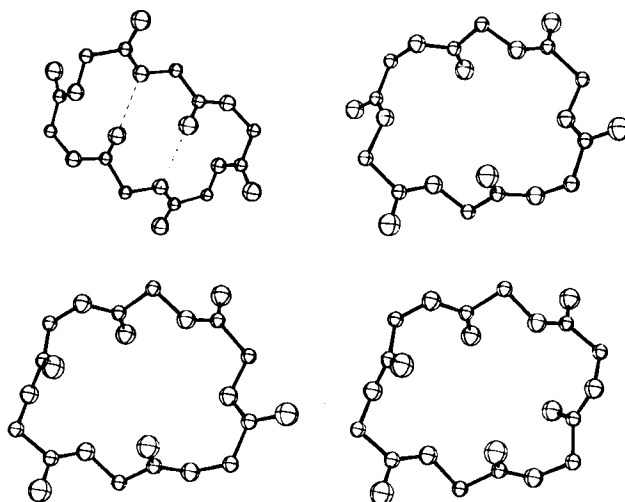


Abb. 3. Die vier co-kristallisierenden Konformere von Cyclohexaglycyl. Das Konformer oben links kommt in der Elementarzelle viermal vor, das unten links zweimal und die anderen beiden je einmal.

struktur des Dihydrats der Aminosäure L-Arginin^[24], das in der Raumgruppe $P2_12_1$ kristallisiert, ist die erste nicht-zentrosymmetrische Struktur, die mit den direkten Methoden gelöst wurde. Wie in Abbildung 4 gezeigt ist, besteht ein ausgedehntes System von Wasserstoffbrücken (gestrichelte Linien). Als Folge davon bilden die Arginin-Moleküle eine unendliche Kette. Auch die Wasser-Moleküle bilden über Wasserstoffbrücken unendliche Ketten senkrecht zur Abbildungsebene.

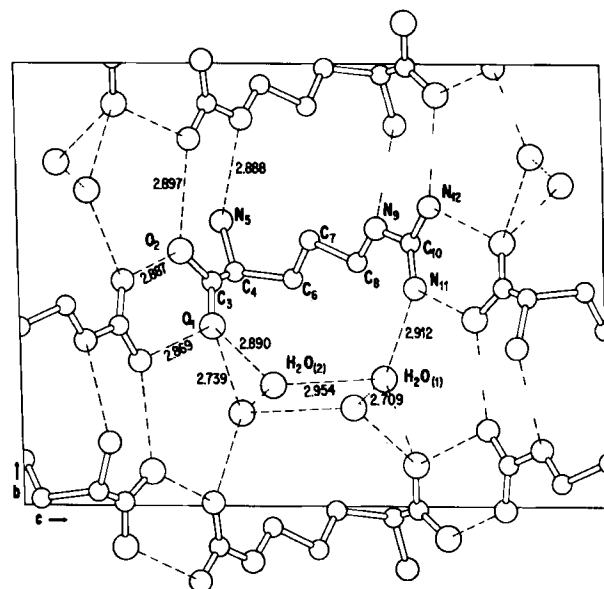


Abb. 4. Die Struktur von L-Arginin-Dihydrat im Kristall, projiziert entlang der *a*-Achse. Wasserstoffbrücken sind durch gestrichelte Linien angedeutet.

Die Stereochemie von Reserpin, einem Medikament gegen Hypertonie und nervöse Störungen, war durch chemische Methoden aufgeklärt worden. Dennoch war es von Interesse, die räumliche Anordnung der Atome im Molekül aufzuklären. Reserpin kristallisiert in der nicht-zentrosymmetrischen Raumgruppe $P2_1$ ^[57]. Die symbolische Addition lieferte nur eine Teilstruktur, aus der die gesamte

Struktur durch mehrmalige Anwendung der Tangensformel^[39] abgeleitet werden konnte. Abbildung 5 zeigt eine Elektronendichtekarte, die die Elektronendichte in Ebenen senkrecht zur *b*-Achse wiedergibt. Die Trimethoxybenzoat-Gruppe am unteren Ende ist nahezu senkrecht zum Rest des Moleküls angeordnet: Die Indol-Gruppe oben im Bild ist planar, und der Dieder-Winkel zwischen den besten Ebenen der Indol- und der Benzoat-Gruppe beträgt 82°.

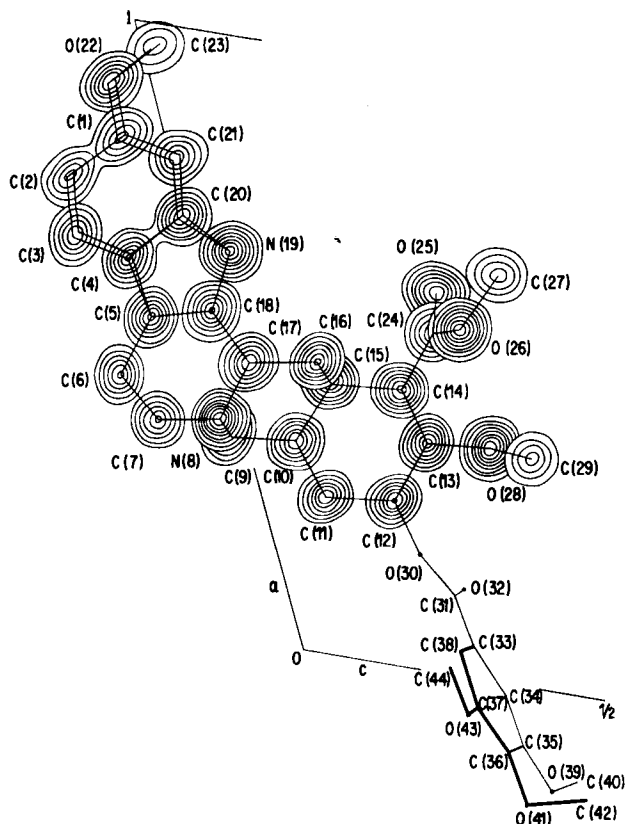


Abb. 5. Elektronendichtekarte des Alkaloids Reserpin für Ebenen senkrecht zur *b*-Achse. Die Elektronendichtelinien haben einen Abstand von 1e^{-3} ; die erste Linie entspricht 1e^{-3} .

Identifizierung von Substanzen und Aufklärung der Stereokonfiguration

Die Probleme bei der Bestimmung der Molekülformel und der Stereokonfiguration können besonders groß werden, wenn man nur wenig Substanz hat, die chemischen Bindungen neuartig oder ungewöhnlich sind oder es viele asymmetrische Zentren gibt. In solchen Fällen kann die Kristallstrukturanalyse nicht nur hilfreich, sondern sogar unbedingt notwendig sein. Ein Beispiel dafür ist Batrachotoxin, ein sehr wirksames Neurotoxin, das aus der Haut des im tropischen Amerika lebenden Frosches *Phylllobates aurotaenia* extrahiert werden kann. Indianer benutzen es als Pfeilgift bei der Jagd. Gereinigte, in der Natur vorkommende Derivate dieses Stoffes konnten durch Ethanol-extraktion aus 8000 Froschhäuten erhalten werden. Die Mengen waren zu klein, um die Strukturformel mit Standardmethoden zu bestimmen. Einige wenige, sehr kleine Kristalle des *O*-(*p*-Brombenzoat)-Derivates von Batrachotoxin A, einer der isolierten Verbindungen, wurden gezüchtet, und einer davon wurde für die Strukturanalyse ausgewählt. Die Substanz kristallisiert in der Raumgruppe

$P2_12_12_1$. Die besondere Lage des Bromatoms ($1/5, 0, 0$) und die beschränkte Datenmenge begrenzten die allein aus der Lage des Bromatoms erhältlichen Informationen über die Struktur. Die Tangensformel ermöglichte es, aus Teilstrukturen die gesamte Struktur abzuleiten. Es zeigte sich, daß Batrachotoxin A ein Steroid-Alkaloid mit mehreren neuartigen Strukturelementen war^[58] (Abb. 6). Darüber hinaus wurden die absoluten Konfigurationen der neun asymmetrischen Zentren, die Konformationen der sechs Ringe, einschließlich des Siebenrings mit dem Stickstoffatom, Bindungslängen und -winkel, Torsionswinkel, die Lage intermolekularer Wasserstoffbrücken und die Packung der Moleküle in der Elementarzelle erhalten. Die absolute Konfiguration wurde durch Messen der anomalen Streuung des Bromatoms bestimmt^[59]. Mit der aus der Kristallstrukturanalyse gewonnenen Information konnten die Struktur und absolute Konfiguration von Batrachotoxin und vielen verwandten Verbindungen einfach abgeleitet werden^[60].

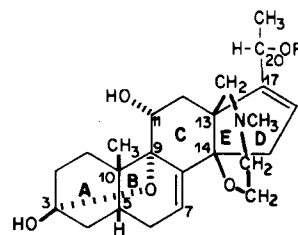


Abb. 6. Die Molekülformel und absolute Konfiguration von Batrachotoxin A ($R=H$); die fett gezeichneten Linien liegen oberhalb der Papierebene, die gestrichelten unterhalb.

Ein anderer kleiner Frosch, *Dendrobates aurotaenia*, der in Kolumbien und Ecuador vorkommt, sondert aus seiner Haut ein Abwehrsekret aus, das zwei toxische Alkaloide als Hauptkomponenten enthält, Histronicotoxin und Dihydroisohistronicotoxin. Diese Alkaloide sind mit ihrem Spiropiperidin-System und ihren Acetylen- und Allen-Einheiten recht einzigartig (Abb. 7). Die Molekülstrukturen, Stereokonfigurationen und absolute Konfigurationen wurden durch Kristallstrukturanalyse eines Hydrochlorids und eines Hydrobromids von Histronicotoxin und eines Hydrochlorids der Dihydroiso-Verbindung aufgeklärt^[61,62]. Die Verbindungen kristallisieren in den Raumgruppen $C2$ bzw. $P2_12_12_1$. Sie waren die ersten Beispiele für das Auftreten von Acetylen- und Allen-Einheiten im Tierreich. Später zeigte sich durch Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie, daß sich Derivate, die in kleineren Mengen vorkommen, nur im Sättigungsgrad der beiden Seitenketten unterscheiden^[63]. Die Spiroringssysteme mit der intramolekularen $NH \cdots O$ -Wasserstoffbrücke waren unverändert.

Ein weiteres Beispiel für die Bestimmung der Strukturformel und Stereokonfiguration einer unbekannten Substanz durch Röntgen-Strukturanalyse ist die Untersuchung des Ormosia-Alkaloids Jamin. Es kristallisiert in der Raumgruppe $P\bar{1}$ ^[64] und hat die in Abbildung 8 gezeigte Konfiguration. Man findet sechs sechsgliedrige Ringe, von denen fünf in der Sessel- und einer in der Wannenkonfiguration vorliegen. Die Stereokonfiguration an jedem der sechs asymmetrischen Kohlenstoffatome ergab sich ein-

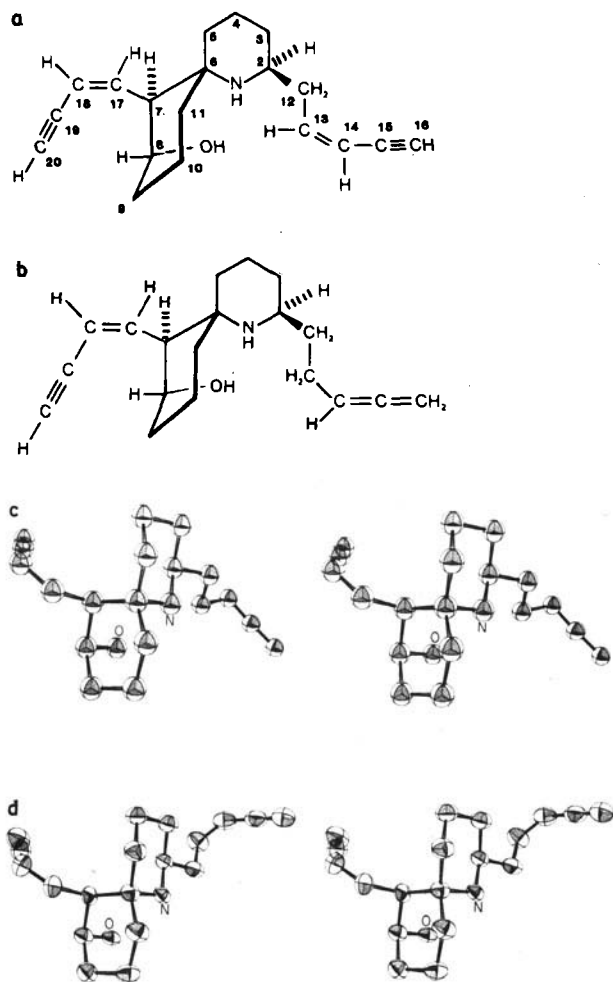


Abb. 7. Histronicotoxin: a) Strukturformel; d) Stereobild. Dihydroisohistronicotoxin: b) Strukturformel; c) Stereobild.

fach. Die Stickstoffatome waren ebenfalls leicht zu identifizieren.

Brassinolid^[65-67] ist ein sehr wirksames Pflanzenwachstumsmittel. Es ist in geringsten Mengen aktiv, etwa 1-10 ng pro Pflanze. Brassinolid bewirkt eine Zellvergrößerung und regt die Zellteilung bei vielen Futterpflanzen und in ariden Gebieten wachsenden Pflanzen an, die Öl und andere energiereiche Materialien produzieren. Die Ausbeute der Extraktion aus Pflanzenpollen ist sehr niedrig, und

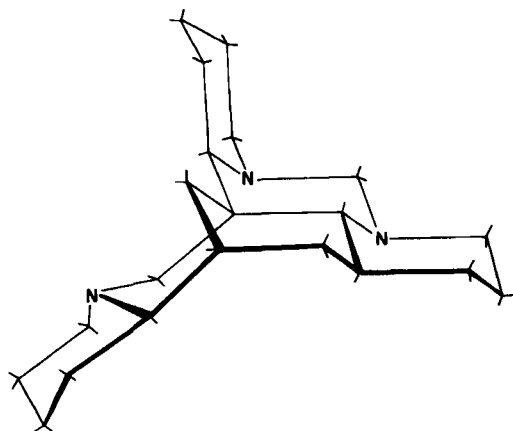


Abb. 8. Die Stereokonfiguration von Jamin.

deshalb wartete man für breit angelegte Versuche auf die chemische Synthese. Offensichtlich würden Strukturinformationen die chemische Synthese vereinfachen. Einige wenige Kristalle von Brassinolid standen zur Kristallstrukturuntersuchung zur Verfügung. Die Substanz kristallisiert in der Raumgruppe $P2_1$; die Analyse^[66] erbrachte, daß der Steroidkern des Moleküls ein siebengliedriges Lacton als B-Ring enthielt, ein bisher nie dagewesenes Strukturelement in einem natürlichen Steroid (Abb. 9). Das Lacton scheint für die Pflanzenwachstumsförderung verantwortlich zu sein. Die nachfolgende Synthese zeigte, daß dem Brassinolid verwandte Substanzen leichter in größeren Mengen synthetisiert werden können und daß sie das Pflanzenwachstum entsprechend fördern. Feldversuche mit diesen Regulatoren werden zur Zeit unternommen.

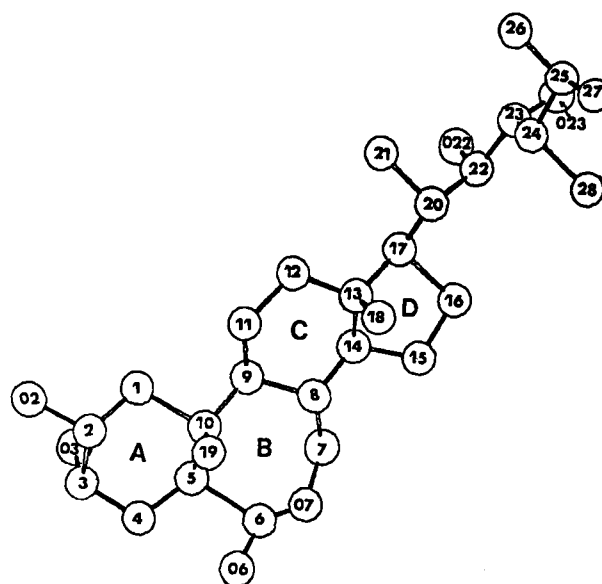


Abb. 9. Molekülformel (nur C- und O-Atome) und Stereokonfiguration von Brassinolid; der B-Ring ist ein siebengliedriger Lacton-Ring.

Es gibt noch zahlreiche Beispiele, die in diesem Kapitel behandelt werden könnten. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß die Ergebnisse einer Kristallstrukturanalyse häufig weit über die eigentliche Struktur hinaus ausgedehnt werden können. Ein hervorragendes Beispiel sind die Strukturuntersuchungen an einigen Frosch-Toxinen, mit deren Informationen die Molekülformeln und Stereokonfigurationen von weit über 200 verwandten Frosch-Toxinen abgeleitet werden konnten^[68,69].

Umlagerungen

Bei Umlagerungsreaktionen kann die Kristallstrukturanalyse wiederum besonders nützlich sein, da oft Produkte entstehen, die aus großen und unvorhersagbaren Veränderungen im Ausgangsmaterial resultieren.

Abbildung 10 zeigt eine Photoreaktion mit massiver Umlagerung. Die Kristallstrukturuntersuchung eines einzigen optisch aktiven Kristalls, der aus einem racemischen Konglomerat isoliert wurde, klärte die Strukturformel und Konfiguration des Photoprodukts auf^[70,71]. Die Substanz kristallisiert in der Raumgruppe $P2_12_1$. Die Gerüstana-

lyse ergab für das Photoprodukt ein Gerüst aus zwei viergliedrigen und zwei fünfgliedrigen Ringen.

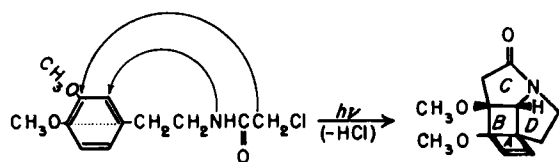


Abb. 10. Die photoinduzierte Umlagerung von *N*-(3,4-Dimethoxyphenyl)chloroacetamid in ein kondensiertes System aus zwei viergliedrigen und zwei fünfgliedrigen Ringen.

Die UV-Bestrahlung von *N*-Chloracetyltyramin, das im Gegensatz zum vorherigen Beispiel eine Hydroxygruppe statt zweier Methoxygruppen am Benzolring trägt, führt zu völlig anderen Umlagerungsprodukten: Es wird HCl eliminiert, und zwei ungewöhnliche Photodimere entstehen, die in Abbildung 11 gezeigt sind. Ihre Molekülformeln und Stereoanordnungen sind durch Kristallstrukturanalyse aufgeklärt worden^[72]. Interessanterweise ist Dimer II stabiler als Dimer I, da es aus I durch weitere Bestrahlung entsteht. Dimer I kristallisiert in der Raumgruppe $P2_1/c$ und Dimer II in $Pbca$. I hat einen zentralen Käfig, begrenzt durch vier sechsgliedrige und zwei viergliedrige Ringe. Jeder viergliedrige Ring ist verbogen, die Torsionswinkel an den Ringbindungen betragen etwa 20° . Die

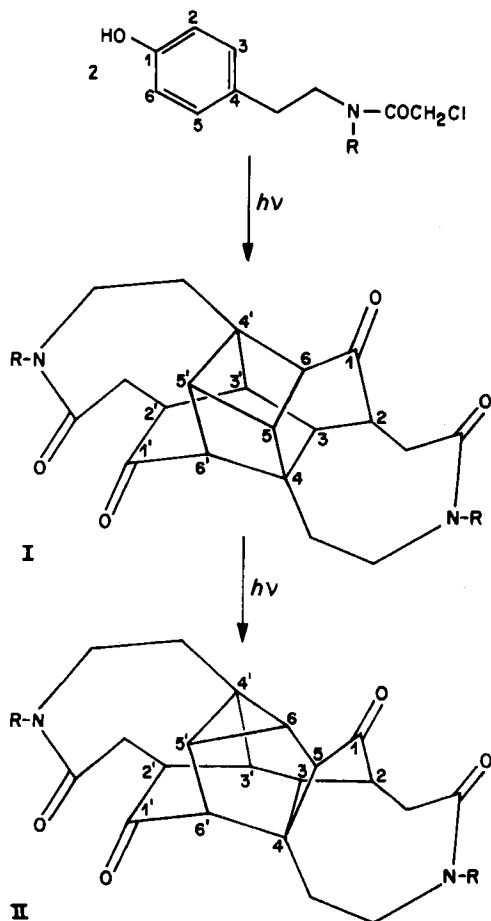


Abb. 11. Die Konfigurationen der beiden bei der Photoisomerisierung von *N*-Chloracetyltyramin entstehenden Dimere. Dimer II bildet sich aus Dimer I bei weiterer UV-Bestrahlung. ($R = H, CH_3$)

sechsgliedrigen Ringe haben verzerrte Wannenkonformationen. II hat einen komplexeren, teilweise offenen Käfig, der durch einen drei-, zwei fünf-, zwei sechs- und einen siebengliedrigen Ring begrenzt wird. Die sechsgliedrigen Ringe liegen wiederum in einer verzerrten Wannenkonformation vor. Sind die Strukturen der Photoprodukte einmal bekannt, kann man einen Reaktionsmechanismus postulieren, der die Veränderungen während der Umlagerung von den Ausgangsverbindungen zu den Produkten beschreibt. Mögliche Mechanismen für die Bildung der Dimere I und II wurden vorgestellt^[73].

UV-Bestrahlung einer Lösung von 5-Methyl-1,2-diaza-4,6-cyclohexadien-3-on III und 2-Propen-1-ol führt zu einem Cyclobutan-Additionsprodukt IV, das bei weiterer Bestrahlung in das Molekül V mit drei Ringen übergeht (Abb. 12). Die Kristallstrukturanalyse^[74] von V, das in der Raumgruppe $P\bar{1}$ kristallisiert, zeigt, daß das Endprodukt ein kondensiertes Ringsystem aus einem Dreiring und zwei Fünfringen enthält.

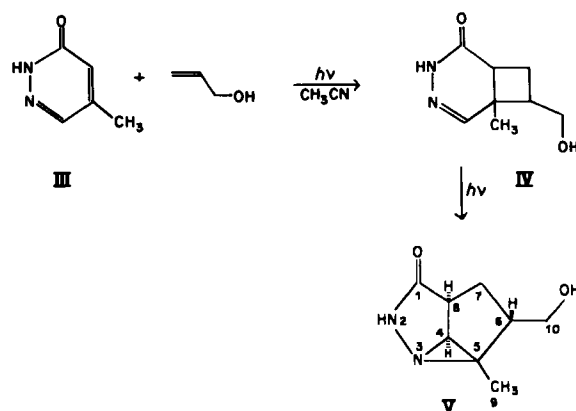


Abb. 12. UV-Bestrahlung einer Lösung von 5-Methyl-1,2-diaza-4,6-cyclohexadien-3-on III und 2-Propen-1-ol führt zum Cyclobutan-Additionsprodukt IV. Bei weiterer Bestrahlung lagert sich IV in das tricyclische Produkt V um.

Konformation

Die Konformation von Molekülen kann wesentlich sein für ihr chemisches und physiologisches Verhalten. Kristallstrukturuntersuchungen können bei der Beschaffung von Informationen über die Konformation nützlich sein. Man könnte zu Recht einwenden, daß biologisch aktive Substanzen im kristallinen Zustand andere Konformationen annehmen als in Lösung. Aber es gibt zahlreiche Untersuchungen, die zeigen, daß die Ergebnisse einer Kristallstrukturuntersuchung sehr wirklichkeitsnah oder nahezu richtig sind. Die folgenden Fälle seien Beispiele dazu.

Eine Möglichkeit, im kristallinen Zustand die Gegebenheiten in der Lösung nachzuahmen, ist die Cokristallisation mit relativ großen Lösungsmittelmengen. Solch ein Kristall ist aus *N,N*-Dimethylformamid (DMF)/Wasser kristallisiertes $[Leu^5]$ Enkephalin(Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu). Endogenes Enkephalin ist ein lineares Pentapeptid, das im Gehirn als $[Leu^5]$ Enkephalin und $[Met^5]$ Enkephalin vorkommt, wobei deren Verhältnis von der jeweiligen Spezies abhängt^[75]. Beide sind recht flexibel. Daher wurde die Strukturaufklärung von $[Leu^5]$ Enkephalin in der Hoffnung unternommen, daraus auf wahrscheinliche Konformatio-

nen schließen zu können. Die Substanz kristallisiert in der Raumgruppe $P2_1$ mit vier Peptid-Molekülen in der asymmetrischen Einheit, jedes mit einer anderen Konformation^[76] (Abb. 13). Die große Menge der die Moleküle umgebenden Lösungsmittel-Moleküle legt nahe, daß die Verhältnisse denen in Lösung ähnlich sind. Die vier Konformere mit ausgeprägter Skelettstruktur bilden unendliche antiparallele β -Faltblätter. Diejenigen, die durch eine zweizählige Schraubenachse miteinander verbunden sind, sind 12 Å voneinander entfernt. Seitengruppen treten unter und über den β -Faltblättern hervor und sind völlig in eine dicke Schicht von Lösungsmittel-Molekülen eingebettet, die den Raum zwischen den β -Faltblättern ausfüllen. Der Kristall ist nur im Kontakt mit der Mutterlauge stabil und besteht aus recht starren Schichten von Peptid-Molekülen, getrennt durch mit Lösungsmittel gefüllte Zwischenräume. Viele der Lösungsmittel-Moleküle sind kristallographisch völlig fehlgeordnet. Eine asymmetrische Einheit enthält vier Enkephalin-Moleküle, acht Wasser-Moleküle, acht DMF-Moleküle und eine unbestimmte Anzahl festgeordneter Lösungsmittel-Moleküle.

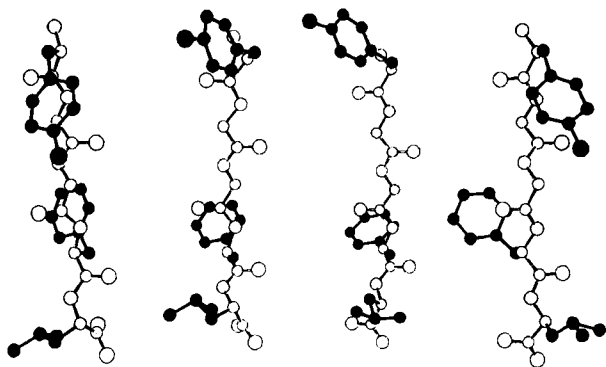


Abb. 13. Vier Konformationen von [Leu⁵]Enkephalin, die in DMF/Wasser auftreten. Man beachte die Ähnlichkeiten in den Skelettkonformationen und die Unterschiede in den schwarz gezeichneten Seitenketten.

Ein Kristall von Enkephalin enthält in der Elementarzelle mehr als 210 unabhängige Kohlenstoff-, Stickstoff- und Sauerstoffatome und liegt damit zwischen den normalerweise als kleine Strukturen bezeichneten (bis zu 100 Nicht-Wasserstoffatomen etwa) und den Protein-Kristallen (etwa 500 Nicht-Wasserstoffatome und mehr).

Die Seh-Chromophore 11-*cis*-Retinal und all-*trans*-Retinal sind sowohl in den Stäbchen als auch in den Zäpfchen der Wirbeltier-Retina und in den entsprechenden Organen von Insekten und Krustentieren^[77] enthalten. Die photochemische Isomerisierung des 11-*cis*-Isomers in das all-*trans*-Isomer ist ein wichtiger Schritt im Sehprozeß, wobei das 11-*cis*-Isomer der photochemische Sensor ist. Im Dunklen ist 11-*cis*-Retinal kovalent an in der Retina vorkommende Proteine, bekannt als Opsine, gebunden. Sie sind in verschiedenen Spezies unterschiedlich und können sich auch in verschiedenen Zellen der Retina unterscheiden. Die Einzelheiten der Geometrie der Retinale waren noch nicht bestimmt, und wegen ihrer bedeutenden biologischen Funktion wurde an 11-*cis*- und an all-*trans*-Retinal eine Kristallstrukturanalyse vorgenommen. Besondere Vorsichtsmaßnahmen waren bei 11-*cis*-Retinal nötig. Es ist instabil gegenüber Licht, Sauerstoff und höheren Tempe-

raturen. Bei 20°C in Lösung geht das *cis*-Isomer leicht in das *trans*-Isomer über. Glücklicherweise ist das *cis*-Isomer kristallin stabiler als in Lösung. Die Messung am *cis*-Isomer wurde in einem lichtundurchlässigen Behälter durchgeführt, der ständig mit trockenem Stickstoff gespült wurde und auf 16–17°C temperiert war. Die Kristallstrukturanalysen der 11-*cis*- und der all-*trans*-Form^[78, 79] ergaben die detaillierten Geometrien beider (Abb. 14). Auch über eine unabhängig durchgeführte Kristallstrukturanalyse von all-*trans*-Retinal wurde berichtet^[80]. Von besonderem

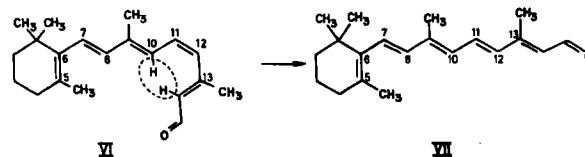


Abb. 14. Zwei Isomere von Retinal, die 11-*cis*- VI und die all-*trans*-Form VII.

Interesse war die Konformation der *cis*-Form, denn darüber gab es zahlreiche Spekulationen und theoretische Vorhersagen. Das 11-*cis*-Retinal kristallisiert in der Raumgruppe $P2_1/c$, das *trans*-Isomer in $P2_1/n$. Die all-*trans*-Retinal-Kette ist planar, die Ebene des sechsgliedrigen Rings schließt mit der der Kette einen Winkel ein. Die Neigung der beiden Ebenen wird durch den Torsionswinkel des 5-6-7-8-Segments beschrieben, der 59° beträgt. Der Torsionswinkel der planaren *trans*-Konformation beträgt 180°, der der planaren *cis*-Konformation 0°. Die Konformation des all-*trans*-Isomers ist typisch für Carotinoide. Beim Übergang in das 11-*cis*-Retinal findet nicht nur eine 180°-Drehung um die C11=C12-Bindung statt, sondern auch eine unerwartete Drehung um 141° um die C12–C13-Bindung. Diese zusätzliche Rotation löst das Problem eines zu engen Kontakts zwischen dem Wasserstoffatom an C10 und den Wasserstoffatomen der Methylgruppe an C13, der ohne weitere Rotation aufträte (siehe dazu Darstellung in Abb. 15). Als das Manuskript über die Kristallstrukturuntersuchung von 11-*cis*-Retinal gerade vorbereitet wurde, veröffentlichten Honig und Karplus^[81] eine Berechnung, in der für 11-*cis*-Retinal eine Grundzustandskonformation angegeben wurde, die mit der röntgenographisch gefundenen in Einklang steht.

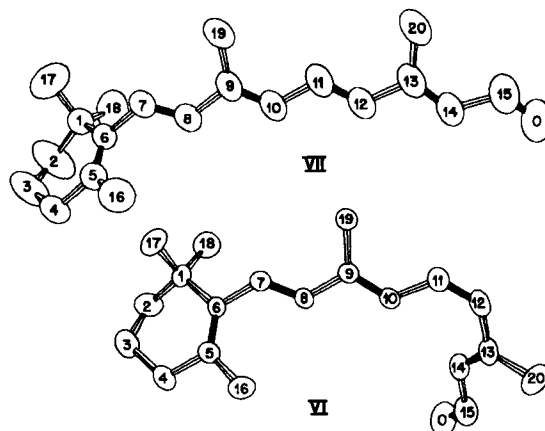


Abb. 15. Konformationen von 11-*cis*- VI und all-*trans*-Retinal VII.

Das cyclische Decapeptid Antamanid ist ein Gegengift gegen Phalloidin, das in den tödlich wirkenden Knollenblätterpilzen *Amanita phalloides* enthalten ist. Antamanid kann aus den gleichen Pilzen extrahiert werden, kommt aber in sehr viel geringerem Anteil vor. Das synthetische Analogon zu Antamanid, in dem alle vier Phenylalanyl- zu Cyclohexylalanyl-Resten (Cha) hydriert sind, das cyclische (ValProProAlaChaChaProProChaCha), ist nicht antitoxisch, obwohl es wie Antamanid Ionenkomplexe bilden kann. Eine Kristallstrukturanalyse zur Konformationsbestimmung wurde an hydriertem Antamanid als Li-Perhydroantamanid durchgeführt. Die Substanz kristallisiert in der Raumgruppe $P2_12_12_1$ ^[82] (Abb. 16). Das Gerüst umschließt ein Li-Ion in fast der gleichen Weise wie im Li-Antamanid. Im Li-Antamanid sind allerdings die vier Phenylgruppen in Richtung des Gerüsts gefaltet, wodurch der Komplex eine hydrophobe Oberfläche erhält, wohingegen im Li-Perhydroantamanid die vier Cyclohexyl-Einheiten vom gefalteten Gerüst weggebogen sind, so daß ein Großteil dieses polaren Gerüsts der Umgebung ausgesetzt ist. Als Folge davon bilden einige Teile des Skeletts, die sonst abgeschirmt sind, Wasserstoffbrücken und Liganden, die im Li-Antamanid-Komplex nicht auftreten können. Es scheint, als wäre die große Änderung der Hydrophobie im Perhydroantamanid mit dem Verlust der biologischen Aktivität verknüpft.

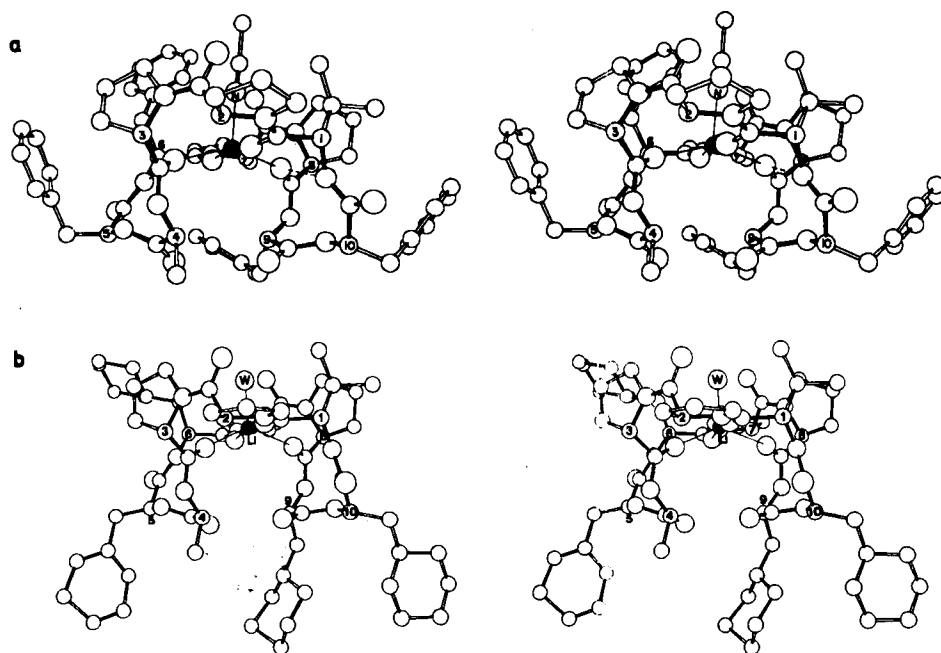


Abb. 16. a) Die Phenylringe im biologisch aktiven Li- oder Na-Komplex von Antamanid sind um das Skelett gefaltet, wodurch eine lipophile Oberfläche entsteht. b) Im inaktiven Analogon Li-Perhydroantamanid sind die Cyclohexylgruppen weggeklappt, wodurch das Peptidskelett der Umgebung ausgesetzt wird.

Diese wenigen Beispiele zeigen nur einen sehr kleinen Teil des großen Gebietes der Kristallstrukturanalyse, wie es durch Tausende von Strukturanalysen jedes Jahr belegt wird. Sie zeigen aber dennoch, wie die Kristallstrukturbestimmung eine wichtige und oftmals nicht zu ersetzende Rolle in der Forschung spielen kann.

Analyse einer makromolekularen Struktur: gegenwärtige Interessen

Die Strukturanalyse von Makromolekülen, das heißt Molekülen mit 500 Nicht-Wasserstoffatomen und mehr, wird durch die Verwendung von speziellen Schweratom-

methoden erleichtert, die unter den Namen „anomale Dispersion“ und „isomorpher Ersatz“ bekannt sind. Schweratome können oft in Makromoleküle eingelagert werden, ohne die Struktur allzusehr zu stören. Daher bewährten sich die Techniken der anomalen Dispersion und des isomorphen Ersatzes bei der Strukturbestimmung an natürlichen (unsubstituierten) Makromolekülen.

Die Effekte der anomalen Dispersion beruhen darauf, daß die atomaren Streufaktoren f , die in Gleichung (3) eingesetzt werden, im allgemeinen komplexe Zahlen sind, definiert durch

$$f = f' + f'' + if''' \quad (25)$$

worin f' und f'' der Real- bzw. Imaginärteil der Korrektur von f^0 sind und als Beitrag der anomalen Dispersion gedeutet werden. Den Streufaktor f^0 erhält man aus Rechnungen, in denen angenommen wird, daß die Frequenz der Strahlung viel größer ist als die Absorptionsfrequenzen der streuenden Atome. Ein signifikanter imaginärer Anteil in Streufaktoren, wie er gewöhnlich bei schwereren Atomen und den gebräuchlichen Wellenlängen auftritt, führt dazu, daß die Intensität eines azentrischen Reflexes h im allgemeinen verschieden ist von der des Reflexes $-h$. Die Tatsache, daß $I_h \neq I_{-h}$ ist, ist die Grundlage für eine in der Strukturanalyse weit verbreitete Technik^[83].

Kristalle, die gleiche Zellgeometrie bei unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung haben, nennt man isomorph. Da es oft möglich ist, in Makromoleküle ohne große Veränderung der Struktur schwere Atome einzubauen, können solche Moleküle in guter Näherung als isomorph angesehen werden. Die Methode der Phasenbestimmung, die auf einer isomorphen Struktur basiert, nennt man „Single Isomorphous Replacement“-Methode (SIR); sind mehrere isomorphe Strukturen zugänglich, so spricht man von der „Multiple Isomorphous Replacement“-Methode (MIR). Sind zwei isomorphe Strukturen zentrosymmetrisch, so können die Vorzeichen der Strukturfaktoren für beide Kristalle bestimmt werden. In der

Praxis bleiben einige Vorzeichen wegen experimenteller Fehler und des Auftretens kleiner Strukturfaktoren unbestimmt. Bilden zwei nicht-zentrosymmetrische Kristalle ein isomorphes Paar, so ergibt die Analyse eine Doppeldeutigkeit während der Phasenbestimmung. Es kann jedoch einfach gezeigt werden, daß bei nicht-zentrosymmetrischen Kristallen viele Phasen eindeutig bestimmt werden können, wenn Teilstrukturen bekannt sind^[84]. Solche Phasen liegen entweder nahe am Wert für die ersetzten Atome oder um π verschoben. Es gibt einige Methoden, der isomorphen Substitution die Zweideutigkeit zu nehmen, z. B. die Zuhilfenahme einer zweiten isomorphen Substitution oder die zusätzliche Anwendung der anomalen Dispersion.

MIR, manchmal zusammen mit der anomalen Dispersion, ist die Technik, die in den vergangenen 25 Jahren zu einem enormen Fortschritt in der Strukturaufklärung von biologisch interessanten Makromolekülen geführt hat. Frühe theoretische Abhandlungen, die diese Entwicklung förderten, stammen von *Patterson*^[4,5] und *Bijvoet*^[85]. Mit den Schweratomen, die normalerweise in die makromolekularen Strukturen eingebaut werden, kann es zu ausgeprägter anomaler Dispersion kommen, so daß die Datensammlungen für die anomale Dispersion und den isomorphen Ersatz kombiniert werden können.

Mein Interesse an den Techniken der anomalen Dispersion und des isomorphen Ersatzes wurde durch eine Entwicklung in unserer Gruppe neu geweckt, die die Aussagekraft der Technik der anomalen Dispersion in der Strukturaufklärung erneut demonstrierte. Die Struktur des Proteins Crambin lösten *Hendrickson* und *Teeter*^[86] mit Hilfe der anomalen Dispersion von sechs Schwefelatomen in drei Disulfid-Brücken. Das Experiment wurde als Einwellenlängenuntersuchung mit $\text{Cu}_{K\alpha}$ -Strahlung ausgeführt, deren Wellenlänge weit von der Absorptionskante von Schwefel bei 5.02 Å entfernt ist. Dieser Erfolg mit der nur schwachen anomalen Streuung der Schwefelatome, verbunden mit dem großen Abstand zwischen der Absorptionswellenlänge und der Wellenlänge der $\text{Cu}_{K\alpha}$ -Strahlung, regte mich an, ein Programm zur Erforschung theoretischer Aspekte sowohl der Einfach- und Mehrfachwellenlängentechnik bei der anomalen Dispersion als auch gleichzeitig des isomorphen Ersatzes ins Leben zu rufen.

Eine Untersuchung befaßte sich mit der exakten algebraischen Analyse der Einfach- und Mehrfachwellenlängentechnik^[87] unter Verwendung der Strukturfaktorgleichungen (3), in denen die atomaren Streufaktoren gemäß Gleichung (25) komplex sind. Die geeigneten Strukturfaktorgleichungen werden als Gleichungssystem behandelt, und der Schlüssel zur endgültigen Form der Gleichungen war die Separierung der Beiträge der normalen atomaren Streufaktoren f^n von denen der realen und imaginären Korrekturglieder zu f^n , also von f' und f'' . Ein einfaches Ergebnis der algebraischen Analyse für eine Struktur aus Atomen mit normaler Streuung und einer Atomsorte mit anomaler Streuung ist

$$|F_{\lambda h}|^2 = |F_{1,h}^n|^2 + \{1 + (f_{\lambda 2,h}^a/f_{2,h}^n)[(f_{\lambda 2,h}^a/f_{2,h}^n) + 2 \cos \delta_{\lambda 2,h}]\} |F_{2,h}^n|^2 + 2[1 + (f_{\lambda 2,h}^a/f_{2,h}^n) \cos \delta_{\lambda 2,h}] |F_{1,h}^n| |F_{2,h}^n| \cos(\phi_{1,h}^n - \phi_{2,h}^n) + 2(f_{\lambda 2,h}^a/f_{2,h}^n) \sin \delta_{\lambda 2,h} |F_{1,h}^n| |F_{2,h}^n| \sin(\phi_{1,h}^n - \phi_{2,h}^n) \quad (26)$$

$|F_{\lambda h}|^2$ ist das Quadrat der gemessenen Größe des Strukturfaktors bei der Wellenlänge λ , $|F_{1,h}^n|^2$ das Quadrat des Strukturfaktors der normal streuenden Atome und $|F_{2,h}^n|^2$ das Quadrat des Strukturfaktors der anomal streuenden Atome, die aber als normal streuende Atome behandelt werden. Die gemessenen $|F_{\lambda h}|^2$ sind für Schwingungseffekte korrigiert, die auch in $|F_{1,h}^n|^2$ und $|F_{2,h}^n|^2$ fehlen. Die Größen $f_{\lambda j,h}^a$ und $\delta_{\lambda j,h}$ sind für ein bestimmtes λ definiert als

$$f_{\lambda j,h}^a = [(f_{\lambda j,h}^a)^2 + (f_{\lambda j,h}^a)^2]^{\frac{1}{2}} \quad (27)$$

und

$$\delta_{\lambda j,h} = \tan^{-1}(f_{\lambda j,h}^a/f_{\lambda j,h}^n) \quad (28)$$

Die f' und f'' sind tabelliert^[88]. Die Phasenwinkel $\phi_{1,h}^n$ und $\phi_{2,h}^n$ sind die zu $|F_{1,h}^n|$ bzw. $|F_{2,h}^n|$ gehörenden Winkel.

Aus (26) können vier Gleichungen abgeleitet werden, wenn man die anomale Dispersion bei zwei verschiedenen Wellenlängen untersucht und die Intensitäten der Reflexe zu h und $-h$ mißt. Die Gleichungen sind linear, wenn die vier Größen $|F_{1,h}^n|^2$, $|F_{2,h}^n|^2$, $|F_{1,h}^n| |F_{2,h}^n| \cos(\phi_{1,h}^n - \phi_{2,h}^n)$ und $|F_{1,h}^n| |F_{2,h}^n| \sin(\phi_{1,h}^n - \phi_{2,h}^n)$ als Unbekannte gewählt werden. Es empfiehlt sich, die quadratische Beziehung ($\sin^2 \phi + \cos^2 \phi = 1$) zu addieren und die Gleichungen mit „least squares“-Verfahren zu lösen.

Es wurde auch eine allgemeine Analyse für eine beliebige Anzahl und Art anomaler Streuer durchgeführt^[87]. Diese allgemeine Formulierung hat einige Vorteile, wie an dem einfachen Satz simultaner Gleichungen zu sehen ist, der aus Gleichung (26) mit mehreren Wellenlängen und Messung der jeweiligen Intensitäten bei h und $-h$ gebildet wird. Die unbekannten Größen sind Streuintensitäten und Phasendifferenzen, die alle mit der normalen Streuung verknüpft sind. Die Intensitäten sind die, die man von den einzelnen Atomtypen erhalten würde, wenn sie jeweils von allen anderen isoliert wären. Aus den Intensitäten für eine Atomart kann die Teilstruktur dieser Atomart bestimmt und daraus leicht die gesamte Struktur abgeleitet werden. Die Beiträge der anomalen Streuung gehen in die simultanen Gleichungen in Form tabellierter, bekannter Größen ein. Mit geeigneter Definition der unbekannten Größen sind die simultanen Gleichungen linear. Es ist sinnvoll, auch die quadratischen Beziehungen zwischen den unbekannten Phasendifferenzen einzuführen. Das System simultaner Gleichungen enthält keine Näherungen und bleibt für jedwede Anzahl und Art anomaler Streuer gültig.

Eine weitere Eigenschaft der Gleichungen (26) ist, daß bei der normalen Analyse mit nur einer Wellenlänge die anomale Streuung zu dem Schluß führt, daß eine Doppeldeutigkeit bei der Bestimmung gewisser Phasendifferenzen besteht. Kürzlich wurde gezeigt^[89], daß Informationen, die in den gemessenen Intensitäten $|F_{\lambda h}|^2$ und $|F_{\lambda \bar{h}}|^2$ enthalten sind und aus denen ungefähre Informationen über $|F_{1,h}^n|^2$ und $|F_{2,h}^n|^2$ abgeleitet werden können, mit Gleichung (26) für h und $-h$ benutzt werden können, um eindeutige oder nahezu eindeutige Werte für die Phasendifferenzen, die in (26) auftreten, mit guter Genauigkeit zu bestimmen. Dieses

wurde im besonderen für Einwellenlängenexperimente gezeigt, wenn nur eine Art oder zumindest eine einzige überwiegende Art anomaler Streuer in der Verbindung vorhanden ist. Es sollte allgemeiner gültig sein. Hauptman^[90] zeigte schon früher die Eindeutigkeit eines Einwellenlängenexperiments zur anomalen Streuung an den eindeutigen Werten von Tripletphasen-Invarianten.

Eine zweite Eigenschaft der Gleichungen (26) und ihrer Verallgemeinerung auf viele Arten anomaler Streuer hängt damit zusammen, daß anomale Streuer in Form von Schweratomen oft in Substanzen eingefügt werden, die selbst normal streuen. In diesem Fall entsprechen die Intensitätsdaten für das ursprüngliche Material den $|F_{\mathbf{h}}^0|^2$ in Gleichung (26), wodurch die Zahl der unbekannten Größen verringert wird.

Eine andere theoretische Studie, die die Bedeutung der anomalen Dispersion und des isomorphen Ersatzes bei der Phasenbestimmung klären sollte, betrifft die Entwicklung von Formeln zur Bestimmung der Tripletphasen-Invarianten. Das sind die Summen dreier Phasen, deren Indices sich zu Null addieren, z. B. $\phi_{\mathbf{h}} + \phi_{\mathbf{k}} + \phi_{-\mathbf{h}-\mathbf{k}}$. Im allgemeinen wird für die Summe der Indices das Vorzeichen der jeweils zugehörigen Phase verwendet, d. h. $\phi_{\mathbf{h}} + \phi_{\mathbf{k}} - \phi_{\mathbf{h}+\mathbf{k}}$ ist ebenfalls eine Invariante. Man bemerke, daß in den Gleichungen (10) und (19), den Winkelsummengleichungen, Tripletphasen-Invarianten vorkommen.

Auf zwei Wegen wurde kürzlich versucht, Tripletphasen-Invarianten aus den Daten mit isomorphem Ersatz und anomaler Dispersion zu erhalten. Einer basiert auf der Mathematik der vereinigten Wahrscheinlichkeitsverteilung von Hauptman für isomorphen Ersatz^[91] und für anomale Dispersion^[90], einer ähnlichen Theorie für anomale Dispersion von Giacovazzo^[92] und einer Theorie für beide Methoden von Pontenagel, Krabbendam, Peerdeman und Kroon^[93]. Eine neue Untersuchung von Fortier, Moore und Fraser^[94] zur Bestimmung von Tripletphasen-Invarianten bei isomorphem Ersatz, wenn die Schweratomstruktur bekannt ist, zeigt die Leistungsfähigkeit dieser Methode.

Ein zweiter Weg zur Bestimmung von Tripletphasen-Invarianten aus dem isomorphen Ersatz und der anomalen Dispersion interessiert mich seit in paar Jahren. Am Anfang stand die Entwicklung von Formeln unter Verwendung von näherungsweise, aber einfachen algebraischen Manipulationen, die auf gewissen mathematischen und physikalischen Charakteristika der beiden Techniken^[95, 96] beruhten. Darauf folgte die algebraische Analyse^[84, 97, 98], die hohe Genauigkeit mit vielen der vorgeschlagenen Formeln erwarten ließ.

Zur Entwicklung optimaler Strategien mit den Tripletphasen-Invarianten sind noch praktische Erfahrungen notwendig. Ist die Teilstruktur der Schweratome (anomale Streuer) bekannt, können auf mehrere Arten Werte von individuellen Phasen bestimmt werden^[84, 87, 89]. In diesem Fall würden die Tripletphasen-Invarianten wohl hauptsächlich zur Phasenerweiterung und -verfeinerung angewendet. Ist dagegen die Schweratomteilstruktur nicht bekannt und nicht aufzuklären, könnten die Tripletphasen-Invarianten eine entscheidende Rolle bei der Strukturlösung spielen, da sie ohne Kenntnis der Substruktur erhalten werden können.

Die wachsende Möglichkeit zu Mehrwellenlängenexperimenten zur anomalen Dispersion mit hochintensiven und

durchstimmbaren Röntgenstrahlquellen (Synchrotronen) sollte die Umsetzung der neuen theoretischen Formeln in die Praxis erleichtern. Verbunden mit den großen Fortschritten der Computertechnik sollten die neuen Theorien die Lösung makromolekularer Strukturen erleichtern können.

Eingegangen am 30. Januar 1986 [A 582]
Übersetzt von Dr. Eleonore Raabe, Mülheim an der Ruhr

- [1] H. Ott, *Z. Kristallogr. Kristallgeom. Kristallphys. Kristallchem.* 66 (1928) 136.
- [2] K. Banerjee, *Proc. R. Soc. London Ser. A* 141 (1933) 188.
- [3] M. Avrami, *Phys. Rev.* 54 (1938) 300.
- [4] A. L. Patterson, *Phys. Rev.* 46 (1934) 372.
- [5] A. L. Patterson, *Z. Kristallogr. Kristallgeom. Kristallphys. Kristallchem.* 90 (1935) 517.
- [6] W. Hoppe, *Z. Elektrochem.* 61 (1957) 1076.
- [7] C. E. Nordman, K. Nakatsu, *J. Am. Chem. Soc.* 85 (1963) 353.
- [8] R. Huber, W. Hoppe, *Chem. Ber.* 98 (1965) 2403.
- [9] D. Harker, J. S. Kasper, *Acta Crystallogr.* 1 (1948) 70.
- [10] J. S. Kasper, C. M. Lucht, D. Harker, *Acta Crystallogr.* 3 (1950) 436.
- [11] J. Gillis, *Acta Crystallogr.* 1 (1948) 174.
- [12] I. L. Karle, J. Karle, *J. Chem. Phys.* 17 (1949) 1052.
- [13] J. Karle, I. L. Karle, *J. Chem. Phys.* 18 (1950) 957.
- [14] I. L. Karle, J. Karle, *J. Chem. Phys.* 18 (1950) 963.
- [15] H. Hauptman, J. Karle, *Phys. Rev.* 77 (1950) 491.
- [16] L. S. Bartell, L. O. Brockway, *Phys. Rev.* 90 (1953) 833.
- [17] O. Toeplitz, *Rend. Circ. Mat. Palermo* 1911, 191.
- [18] J. Karle, H. Hauptman, *Acta Crystallogr.* 3 (1950) 181.
- [19] J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. B* 27 (1971) 2063.
- [20] H. Hauptman, J. Karle, *Acta Crystallogr.* 5 (1952) 48.
- [21] J. Karle, H. Hauptman, *Acta Crystallogr.* 6 (1953) 131.
- [22] H. Hauptman, J. Karle, *Acta Crystallogr.* 6 (1953) 136.
- [23] H. Hauptman, J. Karle, *Solution of the Phase Problem I. The Centrosymmetric Crystal (Am. Crystallogr. Assoc. Monogr. 3)* (1953).
- [24] I. L. Karle, J. Karle, *Acta Crystallogr.* 17 (1964) 835.
- [25] U. Shmueli, G. H. Weiss, J. E. Kiefer, A. J. C. Wilson, *Acta Crystallogr. Sect. A* 40 (1984) 651.
- [26] J. M. Stewart, J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. A* 32 (1976) 1005.
- [27] J. Karle, H. Hauptman, C. L. Christ, *Acta Crystallogr.* 11 (1958) 757.
- [28] A. J. C. Wilson, *Nature (London)* 150 (1942) 151.
- [29] A. J. C. Wilson, *Acta Crystallogr.* 2 (1949) 318.
- [30] M. M. Woolfson, *Acta Crystallogr.* 7 (1954) 61.
- [31] W. Cochran, M. M. Woolfson, *Acta Crystallogr.* 8 (1955) 1.
- [32] J. Karle, I. L. Karle, *Acta Crystallogr.* 21 (1966) 849.
- [33] G. N. Watson: *Theory of Bessel Functions*, Cambridge University Press, Cambridge 1945.
- [34] W. Cochran, *Acta Crystallogr.* 8 (1955) 473.
- [35] J. Karle, H. Hauptman, *Acta Crystallogr.* 9 (1956) 635.
- [36] I. L. Karle, J. Karle, *Acta Crystallogr.* 16 (1963) 969.
- [37] I. L. Karle, K. S. Dragonette, S. A. Brenner, *Acta Crystallogr.* 19 (1965) 713.
- [38] J. Karle in J. A. Ibers, W. Hamilton (Hrsg.): *International Tables for X-ray Crystallography, Vol. IV*, The Kynoch Press, Birmingham 1974, S. 337–358.
- [39] J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. B* 24 (1968) 182.
- [40] P. Tollin, *Acta Crystallogr.* 21 (1966) 613.
- [41] R. A. Crowther, D. M. Blow, *Acta Crystallogr.* 23 (1967) 544.
- [42] J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. B* 28 (1972) 820.
- [43] D. A. Langs, *Acta Crystallogr. Sect. A* 41 (1985) 578.
- [44] W. H. Zachariasen, *Acta Crystallogr.* 5 (1952) 68.
- [45] I. M. Rumanova, *Dokl. Akad. Nauk SSSR* 98 (1954) 399.
- [46] W. Cochran, A. S. Douglas, *Proc. R. Soc. London Ser. A* 227 (1955) 486.
- [47] D. Sayre, *Acta Crystallogr.* 5 (1952) 60.
- [48] F. R. Ahmed, S. R. Hall, C. P. Huber (Eds.): *Crystallographic Computing*, Munksgaard, Copenhagen 1970.
- [49] F. R. Ahmed, K. Huml, B. Sedlacek (Eds.): *Crystallographic Computing Techniques*, Munksgaard, Copenhagen 1976.
- [50] R. Diamond, S. Ramaseshan, K. Venkatesan (Eds.): *Computing in Crystallography*, Indian Academy of Sciences, Bangalore 1980.
- [51] D. Sayre (Ed.): *Computational Crystallography*, Clarendon Press, Oxford 1982.
- [52] S. R. Hall, T. Ashida (Eds.): *Methods and Applications in Crystallographic Computing*, Clarendon Press, Oxford 1984.
- [53] C. L. Christ, J. R. Clark, H. T. Evans Jr., *Acta Crystallogr.* 7 (1954) 453.

- [54] C. L. Christ, J. R. Clark, *Acta Crystallogr.* 9 (1956) 830.
- [55] I. L. Karle, H. Hauptman, J. Karle, A. B. Wing, *Acta Crystallogr.* 11 (1958) 257.
- [56] I. L. Karle, *Acta Crystallogr.* 14 (1961) 497.
- [57] I. L. Karle, J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. B* 24 (1968) 81.
- [58] I. L. Karle, J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. B* 25 (1969) 428.
- [59] R. D. Gilardi, *Acta Crystallogr. Sect. B* 26 (1970) 440.
- [60] T. Tokuyama, J. Daly, B. Witkop, *J. Am. Chem. Soc.* 91 (1969) 3931.
- [61] J. W. Daly, I. Karle, C. W. Myers, T. Tokuyama, J. A. Waters, B. Witkop, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 68 (1971) 1870.
- [62] I. L. Karle, *J. Am. Chem. Soc.* 95 (1973) 4036.
- [63] T. Tokuyama, K. Uenoyama, G. Brown, J. W. Daly, B. Witkop, *Heb. Chim. Acta* 57 (1974) 2597, and references cited therein.
- [64] I. L. Karle, J. Karle, *Acta Crystallogr.* 17 (1964) 1356.
- [65] J. W. Mitchell, N. Mandava, J. F. Worley, J. R. Plimmer, N. V. Smith, *Nature (London)* 225 (1970) 1065.
- [66] N. Mandava, M. Kozempel, J. F. Worley, D. Matthews, J. D. Warthen, Jr., N. Jacobson, G. L. Steffens, H. Kenny, M. D. Grove, *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* 17 (1978) 351.
- [67] M. D. Grove, G. F. Spencer, W. K. Rohwedder, N. Mandava, J. F. Worley, J. D. Warthen, Jr., G. L. Steffens, J. L. Flippen-Anderson, J. C. Cook, Jr., *Nature (London)* 281 (1979) 216.
- [68] B. Witkop, E. Gössinger in A. Brossi (Ed.): *The Alkaloids, Vol. XXI*, Academic Press, New York 1983, p. 139-254.
- [69] J. W. Daly in W. Herz, H. Grisebach, G. W. Kirby: *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, Vol. 41*, Springer, New York 1982, S. 206-340.
- [70] O. Yonemitsu, Y. Okuno, Y. Kanaoka, I. L. Karle, B. Witkop, *J. Am. Chem. Soc.* 90 (1968) 6522.
- [71] I. L. Karle, J. W. Gibson, J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. B* 25 (1969) 2034.
- [72] D. S. Jones, I. L. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. B* 30 (1974) 617.
- [73] T. Iwakuma, H. Nakai, O. Yonemitsu, D. S. Jones, I. L. Karle, B. Witkop, *J. Am. Chem. Soc.* 94 (1972) 5136.
- [74] I. L. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. B* 38 (1982) 1022.
- [75] J. Hughes, T. W. Smith, H. W. Kosterlitz, L. A. Fothergill, B. A. Morgan, H. R. Morris, *Nature (London)* 258 (1975) 577.
- [76] I. L. Karle, J. Karle, D. Mastropaolo, A. Camerman, N. Camerman, *Acta Crystallogr. Sect. B* 39 (1983) 625.
- [77] G. Wald, *Nature (London)* 219 (1968) 800.
- [78] R. Gilardi, W. Sperling, I. L. Karle, J. Karle, *Nature (London)* 232 (1971) 187.
- [79] R. D. Gilardi, I. L. Karle, J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. B* 28 (1972) 2605.
- [80] T. Hamanaka, T. Mitsui, T. Ashida, M. Kakudo, *Acta Crystallogr. Sect. B* 28 (1972) 214.
- [81] B. Honig, M. Karplus, *Nature (London)* 229 (1971) 558.
- [82] I. L. Karle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82 (1985) 7155.
- [83] S. Ramaseshan, S. C. Abrahams (Eds.): *Anomalous Scattering*, Munksgaard, Copenhagen 1975.
- [84] J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. A* 42 (1986) 246.
- [85] J. M. Bijvoet, *Nature (London)* 173 (1954) 888.
- [86] W. A. Hendrickson, M. Teeter, *Nature (London)* 290 (1981) 107.
- [87] J. Karle, *Int. J. Quantum Chem. Quantum Biol. Symp.* 7 (1980) 357.
- [88] D. T. Cromer in J. A. Ibers, W. Hamilton (Eds.): *International Tables for X-ray Crystallography, Vol. IV*, The Kynoch Press, Birmingham 1974, S. 148-151.
- [89] J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. A* 41 (1985) 387.
- [90] H. Hauptman, *Acta Crystallogr. Sect. A* 38 (1982) 632.
- [91] H. Hauptman, *Acta Crystallogr. Sect. A* 38 (1982) 289.
- [92] C. Giacovazzo, *Acta Crystallogr. Sect. A* 39 (1983) 585.
- [93] W. M. G. F. Pontenagel, H. Krabbendam, A. F. Peerdeman, J. Kroon, *Eighth Eur. Crystallogr. Meet. August 8-12, 1983 Abstract 4.01P*, p. 257.
- [94] S. Fortier, N. J. Moore, M. E. Fraser, *Acta Crystallogr. Sect. A* 41 (1985) 571.
- [95] J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. A* 39 (1983) 800.
- [96] J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. A* 40 (1984) 374.
- [97] J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. A* 40 (1984) 526.
- [98] J. Karle, *Acta Crystallogr. Sect. A* 41 (1985) 182.