

oder $d \approx 1.0 \text{ \AA}$) erreicht, sodass diese biologisch wichtige Substanzklasse weitgehend von Elektronendichitestudien ausgeschlossen ist. Auch für Ab-initio-Rechnungen sind diese Moleküle zu groß, sodass ihre genauen Elektronendichten bisher nicht erhältlich sind.

Bei einer konventionellen Röntgenstrukturanalyse bedient man sich zur Interpretation von Daten atomarer Auflösung des Modells unabhängiger Atome (Promolekülmodell), bei dem isolierte kugelsymmetrische atomare Dichten angenommen werden. Die damit zu erreichende Genauigkeit der Rekonstruktion des Beugungsmusters bleibt auf das Hauptmerkmal der Topologie der kristallinen Elektronendichteverteilung, nämlich das Auftreten von Maxima an den Kernorten, beschränkt.

Der Pseudoatom-Ansatz (Multipolexpansion)^[2] ermöglicht eine atomzentrierte Abbildung der Deformation der Elektronendichte. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass Pseudoatome chemische Transferierbarkeit ermöglichen, sofern die Dichteradialfunktionen lokalisiert sind.^[3] Dies impliziert aus kristallographischer Sicht, dass die in den Strukturfaktoren versteckte experimentelle Information reproduziert und durch eine Modellierung der Elektronendichte sichtbar gemacht werden kann.

Wir stellen hier ein Verfahren zur Modellierung der Elektronendichte beliebiger, auch großer molekularer Systeme vor, das auf der Näherung der nächsten Nachbarn (NNN)^[3] basiert. Die NNN wurde bereits als Arbeitshypothese bei der Modellierung großer molekularer Systeme genutzt.^[4-6]

Bei unserem Ansatz werden den einzelnen Atomen einer chemischen Struktur Invariome (=invariante Atome) zugeordnet. Für ein gegebenes Atom ist das zugehörige Invariom dadurch definiert, dass die nächsten Nachbaratome bezüglich Elementtyp und Bindungsordnung übereinstimmen. Nach dieser Definition sind, abhängig von der chemischen Umgebung eines Atoms, einem Element mehrere, aber endlich viele Invariome zugeordnet. Um die atomare Elektronendichte eines Invarioms zu bestimmen, werden Modellverbindungen, die die Invariome enthalten, zunächst mit quantenchemischen Näherungsverfahren geometrieeoptimiert^[7] (hier: B3LYP6-311+ + G(3df,3pd)). Bei einer solchen Modellverbindung werden dann übernächste Nachbarn durch Wasserstoffatome ersetzt. Für diese optimierten Geometrien werden theoretische Strukturfaktoren berechnet.^[8] Die Elektronendichten werden dann nach Verfeinerung mit der Methode der kleinsten Quadrate durch Multipolpopulationen^[9] abgebildet. In Abbildung 1 sind für die Atome eines Tri(L-valin)-Moleküls die zugehörigen Invariome und ihre Modellverbindungen dargestellt, zudem ist eine Benennung der Invariome aufgeführt.^[10] Durch Addition der Elektronendichten aller Invariome wird die Gesamtelektronendichte eines Moleküls generiert. In einigen Fällen von Mesomerie und bei delokalisierten Systemen werden für das betroffene Invariom Modellverbindungen mit übernächsten Nachbarn betrachtet.

Das methodische Vorgehen eines Transfers von experimentell bestimmten Multipolparametern, wie 1995 von Pichon-Pesme et al.^[11,12] mit Beschränkung auf Proteine vorgestellt, unterscheidet sich in wichtigen Punkten von unserem Vorgehen. Eine allgemeine Definition eines trans-

Elektronendichitestudien

Ein einfacher Zugang zu asphärischen Elektronendichten mithilfe von Invariomen**

Birger Dittrich, Tibor Koritsánszky und Peter Luger*

Die fundamentale Bedeutung der Elektronendichte $\rho(\mathbf{r})$ einer chemischen Struktur ergibt sich aus dem Hohenberg-Kohn-Theorem,^[1] wonach die Grundzustandsenergie eines nichtentarteten quantenchemischen Systems ein eindeutiges Funktional der Elektronendichte ist. Diese ist eine Observable und durch ein hochauflösendes Röntgenbeugungsexperiment bestimmbar. Obwohl sich die experimentellen Möglichkeiten durch breitere Verfügbarkeit von Flächendetektoren, Synchrotronstrahlung und tiefen Messtemperaturen deutlich verbessert haben, bleibt die experimentelle Durchführung solcher Studien schwierig, weil Daten bis zu hoher Auflösung ($d \leq 0.5 \text{ \AA}$ oder $\sin \theta \lambda^{-1} \geq 1.0 \text{ \AA}^{-1}$) gemessen werden müssen. Essenziell dabei ist, gute Kristalle mit hoher Streukraft zu untersuchen, was häufig, und vor allem bei Makromolekülen, nicht erfüllt ist. Nur in Ausnahmefällen wird bei Proteinen atomare Auflösung ($\sin \theta \lambda^{-1} \approx 0.5 \text{ \AA}^{-1}$

[*] Dr. B. Dittrich, Prof. Dr. P. Luger
Institut für Chemie/Kristallographie
Freie Universität Berlin
Takustraße 6, 14195 Berlin (Deutschland)
Fax: (+49) 30-838-53464
E-mail: birger@chemie.fu-berlin.de
Prof. Dr. T. Koritsánszky
Department of Chemistry
Middle Tennessee State University
P.O. Box 68, Murfreesboro, TN 37132 (USA)

[**] Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Förderung dieser Arbeit (AZ Lu222/27-1).

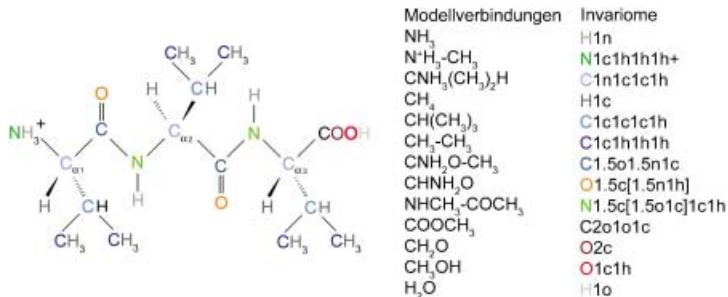


Abbildung 1. Schematische Darstellung des positiv geladenen Tri(L-valin)-Moleküls mit farbig markierten Invariomen, ihren Benennungen und den zugehörigen Modellverbindungen.

ferierbaren Atoms bestand dort nicht. Zur Berechnung der Invariome finden zudem bei unserem Ansatz keine experimentellen Daten Verwendung. Dadurch können experimentelle Fehler und Effekte der Faltung von Elektronendichte und Temperaturbewegung ausgeschlossen werden. Die Berechnung der Invariomdichten ermöglicht die Darstellung aller denkbaren Bindungssituationen auf beliebig hohem theoretischem Niveau.

Am Beispiel der kürzlich von uns aufgeklärten Struktur von Tri(L-valin) soll die Leistungsfähigkeit des Ansatzes demonstriert werden. Aus einem relativ gering aufgelösten Datensatz ($\sin \theta \lambda^{-1} = 0.72 \text{ \AA}^{-1}$ oder $d = 0.69 \text{ \AA}$) ergab sich, dass das Tripeptid mit zwei Molekülen in der asymmetrischen Einheit (einer zwitterionischen und einer positiv geladenen Form) zusammen mit einem Molekül Propanol und einem Molekül Trifluoracetat als Gegenion kristallisiert (Abbildung 2). Nach der Strukturlösung^[13] wurde das Molekül sphärisch (Parameter x, y, z, U_{ij}) verfeinert.^[14] Es wurde eine Fehlordnung des Propanol-Lösungsmittelmoleküls aufgelöst, wobei für die statistisch häufigere Position eine Population von ca. $7/8$ erhalten wurde. Die sphärische

Verfeinerung wurde dann mit dem Programm XDLSM^[9] mit einem Gewichtungsschema von $1/\sigma^2$ wiederholt. Nach dem Transfer der invariomalen Multipolparameter wurde die Elektroneutralität der Elementarzelle wiederhergestellt, die aber anfangs nur um 0.07 Elektronen davon abwich. Daraufhin wurden allein Skalierungsfaktor, Orts- und Auslenkungsparameter bis zur Konvergenz verfeinert.^[15] Um die Qualität der transferierten Multipolparameter deutlich zu machen, haben wir eine topologische Analyse durchgeführt (Tabelle 1) und die Deskriptoren mit mehreren hochaufgelösten experimentellen Elektronendichtestudien von Oligopeptiden^[16] verglichen. Sie stimmen meist im Rahmen des dreifachen statistischen Fehlers überein.

Tabelle 1: Topologische Analyse der kovalenten Bindungen an den bindungskritischen Punkten von Tri(L-valin).^[a]

Bindung	$\rho(r)_{\text{b kp}}$	$\nabla^2 \rho(r)_{\text{b kp}}$	d	ε
$C_{\text{pept}}-N_{\text{pept}}$	2.32	-28	0.8146	0.08
	2.39(8)	-23(2)		
$C_{\alpha}-N_{\text{pept}}$	2.07	-13	0.7598	0.13
	1.84(6)	-13(2)		
$C_{\alpha}-C_{\text{pept}}$	1.75	-13	0.7567	0.17
	1.77(4)	-14(1)		
$C_{\text{pept}}-O_{\text{pept}}$	2.92	-31	0.7358	0.13
	2.94(10)	-36(6)		
$C_{\alpha}-C_{\beta}$	1.79	-15	0.7416	0.09
	1.67(5)	-11(2)		
$C_{\alpha}-N_{\text{amino}}$	1.91	-8	0.7560	0.10
	1.80(6)	-13(2)		
$C_{\alpha}-C'$	1.65	-12	0.7679	0.17
	1.73(8)	-13(2)		
$C'-O_{\text{meso}}$	2.71	-29	0.7519	0.12
	2.72(9)	-32(5)		

[a] Mittelwert von beiden Tri(L-valin)-Molekülen. $\rho(r)_{\text{b kp}}$ und $\nabla^2 \rho(r)_{\text{b kp}}$ sind die Elektronendichte bzw. die Laplace-Funktion am bindungskritischen Punkt (b kp), d ist der Abstand des b kp vom erstgenannten Atom der Bindung, ε die Elliptizität. Einheiten sind e und Å. Vergleichswerte in den jeweils zweiten Zeilen sind aus Lit. [16] entnommen; dort wurden die Werte aus sechs experimentellen Ladungsdichtestudien an Oligopeptiden erhalten.

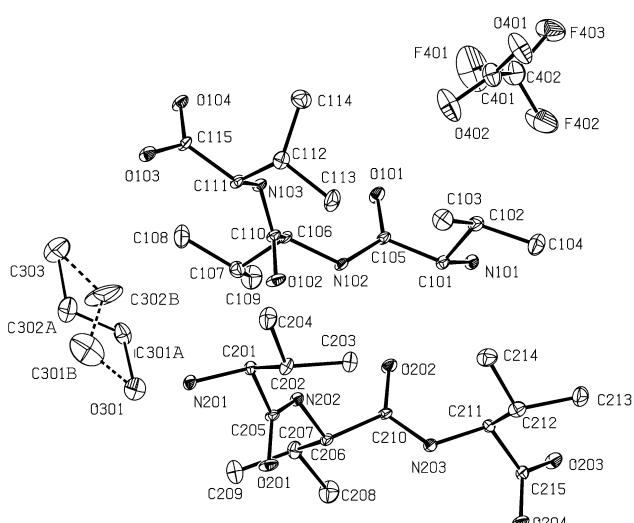


Abbildung 2. ORTEP-Darstellung^[20] der asymmetrischen Einheit des untersuchten Tripeptids (Ellipsoide mit 50% Aufenthaltswahrscheinlichkeit) mit Atombenennung; Wasserstoffatome wurden der Übersicht halber weggelassen.

Durch den Transfer der invariomalen Multipolparameter konnte bei dieser Struktur trotz der verhältnismäßig geringen Auflösung eine detaillierte asphärische Elektronendichte erhalten werden (Abbildung 3a). Dies wird besonders an der verringerten Restelektronendichte in Abbildung 3b und c deutlich. Von der asphärischen Elektronendichte konnten molekulare Eigenschaften abgeleitet werden, wie das Dipolmoment oder das elektrostatische Potential, wie es in Abbildung 4 (oben) für die zwitterionische Form von Tri(L-valin) gezeigt wird. Das Dipolmoment des positiv geladenen Moleküls 1 ist mit 6.5 D wie erwartet kleiner als das des zwitterionischen Moleküls 2 mit 17.9 D.

Noch deutlicher wird die Vereinfachung durch den hier vorgestellten Invariomtransfer bei der Anwendung auf den mehr als 50 Atome enthaltenden antithrombotischen Wirkstoff Terbogrel, dessen Elektronendichte wir vor einiger Zeit experimentell auf der Basis eines 100-K-Datensatzes von fast 220000 Reflexen und durch eine 85 Tage dauernde Ab-initio-Rechnung bestimmt hatten.^[17] Jetzt haben ein in wenigen

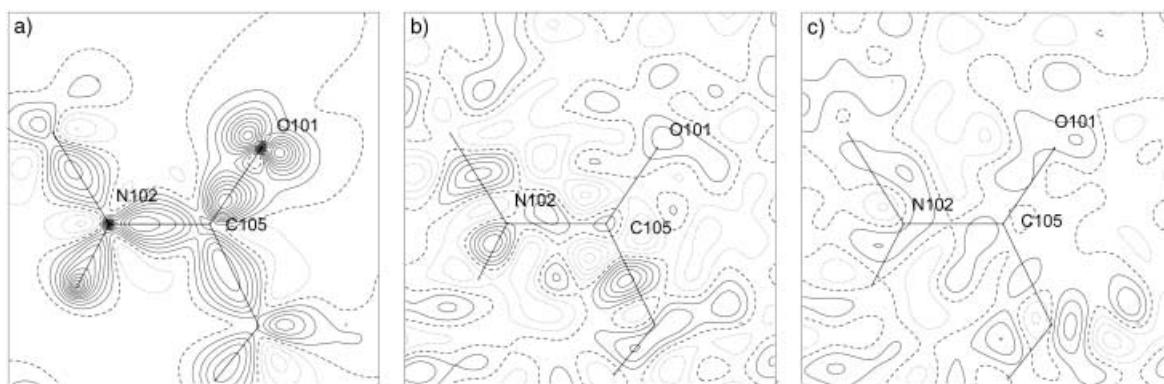


Abbildung 3. a) Deformationsdichte der Peptidbindung nach Transfer der Multipolpopulationen. Konturlinien mit $0.1 \text{ e}\text{\AA}^{-3}$. b) Restelektronendichte in dieser Ebene für das Modell unabhängiger Atome und c) für das Multipolmodell; Konturlinien mit $0.05 \text{ e}\text{\AA}^{-3}$. Man erkennt eine deutliche Reduzierung der Restelektronendichte beim Multipolmodell.

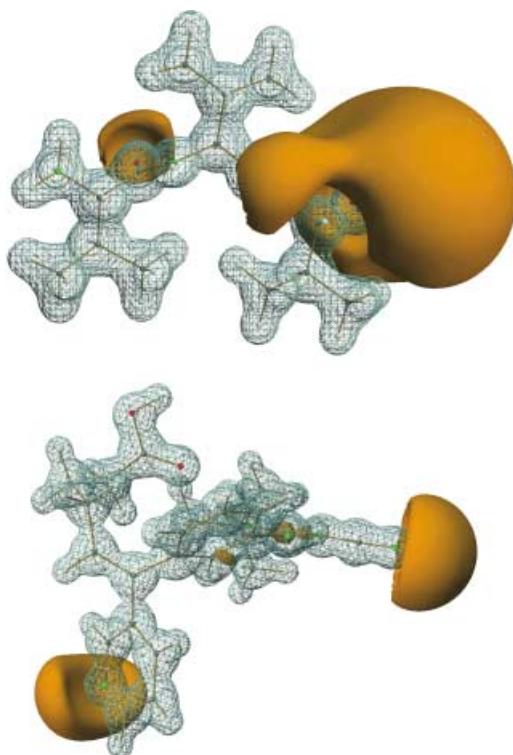


Abbildung 4. Elektrostatische Potentiale: oben das zwitterionische Tri(L-valin)-Moleköl aus der Struktur von $(\text{VVV}_2\text{-TFE-PrOH})$, unten Terbogrel; türkisfarbene Isooberflächen mit +1 (Terbogrel) und 0.5 (VVV), orangefarbene mit $-0.1 \text{ e}\text{\AA}^{-1}$.

Stunden gemessener Raumtemperaturdatensatz von weniger als 3000 Reflexen niedriger Auflösung ($d=1.1 \text{ \AA}$) und ein Invariomtransfer von einigen Minuten Rechenzeit ausgereicht, um Elektronendichten vergleichbarer Qualität zu reproduzieren, wie z.B. das elektrostatische Potential in Abbildung 4 (unten) belegt.

Wir präsentieren in dieser Arbeit ein neues Schema zur Übertragbarkeit von „individuellen“ asphärischen Atomen. Es hat gegenüber der in Lit. [11] vorgestellten Methode den Vorteil, dass keine experimentellen Fehler in den Invariom-

parametern enthalten sind und diese schnell für prinzipiell alle Elemente des Periodensystems berechnet und in eine Datenbank eingebbracht werden können. Mit diesem Ansatz können bei Kenntnis von x , y , z und U_{ij} genaue asphärische Elektronendichten und abgeleitete Eigenschaften von prinzipiell allen Strukturen, also auch von Biomakromolekülen, erhalten werden. Eine weitere Anwendung, die wir vorbereiten, ist die Verwendung der asphärischen Elektronendichte zur Berechnung von Hirshfeld-Oberflächen.^[18,19] Da die experimentelle „low order“-Datensammlung nur wenige Stunden dauert und die Anwendung des hier vorgestellten Invariomverfahrens weitgehend automatisierbar ist, sind Reihenuntersuchungen mit hohem Durchsatz möglich, sodass sie in das derzeit in der Wirkstoff-Forschung wichtige Hochdurchsatz-Screening einbezogen werden können.

Eingegangen am 22. Dezember 2003 [Z53596]

Stichwörter: Elektronendichte · Röntgenstrukturanalyse · Strukturaufklärung · Theoretische Chemie

- [1] P. Hohenberg, W. Kohn, *Phys. Rev. B* **1964**, *136*, 864.
- [2] N. K. Hansen, P. Coppens, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1978**, *34*, 909.
- [3] T. Koritsánszky, A. Volkov, P. Coppens, *Acta Crystallogr. Sect. A* **2002**, *58*, 464.
- [4] L. Huang, L. Massa, J. Karle, *IBM J. Res. Dev.* **2001**, *45*, 409.
- [5] C. F. Matta, *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 11088.
- [6] P. D. Walker, P. G. Mezey, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 12022.
- [7] Gaussian 98 (Revision A.7), M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, V. G. Zakrzewski, J. A. Montgomery, R. E. Stratmann, J. C. Burant, S. Dapprich, J. M. Millam, A. D. Daniels, K. N. Kudin, M. C. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S. Clifford, J. Ochterski, G. A. Petersson, P. Y. Ayala, Q. Cui, K. Morokuma, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. Cioslowski, J. V. Ortiz, A. G. Baboul, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, C. Gonzalez, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. G. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, J. L. Andres, M. Head-Gordon, E. S. Replogle, J. A. Pople, Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, **1998**.

- [8] G. S. Chandler, M. A. Spackman, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1978**, 34, 341.
- [9] T. Koritsánsky, T. Richter, P. Macchi, A. Volkov, C. Gatti, S. Howard, P. R. Mallinson, L. Farrugia, Z. Su, N. K. Hansen, *XD—A Computer Program Package for Multipole Refinement and Analysis of Electron Densities from Diffraction Data* (Handbuch), Freie Universität Berlin, **2003**.
- [10] Wir schlagen hier eine eindeutige Nomenklatur für Invariome vor: Das betrachtete Element steht mit seinem Elementsymbol in Großbuchstaben am Anfang des Namens, dann folgen die formale Bindungsordnung und das Elementsymbol des Bindungspartners in Kleinbuchstaben geordnet nach seiner Stellung im Periodensystem. An letzter Stelle kann ein + oder – gegebenenfalls die Ladung anzeigen. Im Falle von Mesomerie wird eine 1.5fache Bindungsordnung angegeben. Muss bei Mesomerie der übernächste Nachbar und dessen chemische Umgebung angegeben werden, geschieht das nach den gleichen Regeln in Klammern hinter dem jeweiligen Atom. Beispiele: Wasserstoff in Methan: H1c; Kohlenstoff in Methan: C1h1hh1h; Sauerstoff im Formiat-Ion: O1.5c[1.5oh–]. Bei Chiralitätszentren wird ein R oder S (CIP-Regeln), abgetrennt durch einen Bindestrich, dem Namen vorangestellt.
- [11] V. Pichon-Pesme, C. Lecomte, H. Lachekar, *J. Phys. Chem.* **1995**, 99, 6242.
- [12] C. Jelsch, V. Pichon-Pesme, C. Lecomte, A. Aubry, *Acta Crystallogr. Sect. D* **1998**, 54, 1306.
- [13] G. M. Sheldrick, SHELXS, Universität Göttingen, **1997**.
- [14] G. M. Sheldrick, SHELXL, Universität Göttingen, **1997**.
- [15] Kristallgröße $0.6 \times 0.21 \times 0.15 \text{ mm}^3$, monoklin, $P2_1$, $Z=2$, $a=9.705(1)$, $b=19.270(1)$, $c=11.820(1) \text{ \AA}$, $\beta=100.26^\circ$, $\rho=1.229 \text{ g cm}^{-3}$, $V=2175(1) \text{ \AA}^3$, $T=120 \text{ K}$, $F(000)=868 \text{ e}$, $\lambda=0.7107 \text{ \AA}$ (Mo_{Ka}), $\sin \theta \lambda_{\text{max}}^{-1}=0.72 \text{ \AA}^{-1}$, Routinemessung von <12 h Dauer mit Diffraktometer Bruker Smart1K. 35573 gemessene Reflexe, davon 6828 symmetrieeunabhängig und 6048 (mit $F_o > 2\sigma(F_o)$) in der Verfeinerung gegen F verwendet, Wasserstoffatome aus Differenz-Fourier-Synthese (außer denen des fehlgeordneten Propanols), 798 Parameter, nach sphärischer Verfeinerung $R_1=0.040$, $R_w=0.030$, nach Transfer der Invariom-Multipolpopulationen (nicht verfeinert) $R_1=0.035$, $R_w=0.025$. Struktur für eine hochaufgelöste Messung wegen Fehlordnung und Vorhandenseins der Lösungsmittelmoleküle wenig geeignet. CCDC-227052 enthält die ausführlichen kristallographischen Daten zu dieser Veröffentlichung. Die Daten sind kostenlos über www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html erhältlich (oder können bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ; Fax: (+44) 1223-336-033; oder deposit@ccdc.cam.ac.uk).
- [16] B. Dittrich, Dissertation, Freie Universität Berlin, **2002**.
- [17] R. Flaig, T. Koritsánsky, R. Soyka, L. Häming, P. Luger, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 368; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 355.
- [18] M. A. Spackman, P. G. Byrom, *Chem. Phys. Lett.* **1997**, 267, 215.
- [19] J. J. McKinnon, A. S. Mitchell, M. A. Spackman, *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 2136.
- [20] M. N. Burnett, C. K. Johnson, ORTEP-III, ORNL-Bericht 6895, Oak Ridge, Tennessee, **1996**.