

Fogarasi Géza

■ ELTE Kémiai Intézet

Kémiai kutatás számítógéppel?

A 2013. évi kémiai Nobel-díj

Többszintű modellek kifejlesztése bonyolult kémiai rendszerek leírására (*development of multiscale models for complex chemical systems*) indoklással a 2013-as kémiai Nobel-díjat megosztva a következő három tudósra ítélték oda: *Martin Karplus* (Harvard University), *Michael Levitt* (Stanford University), *Arieh Warshel* (University of Southern California). Mindhárman amerikai állampolgárok, bár egyikük sem amerikai születésű.¹ A díjazottak a számítógépes modellezés területén értek el kimagasló eredményeket. Ezzel kerekén 15 évvel a kvantumkémikus Pople és Kohn Nobel-díja után újból az elméleti kémia kapott legmagasabb szintű elismerést.

De a kémia alapvetően kísérleti tudomány, ezért valószínűleg sokan még ma is „gyanakodva” tekintenek az elméleti kémikusok eredményeire. Ez különösen vonatkozik hazánkra, holott a magyar elméleti kémikusok nemzetközi elismertsége hagyományosan kiemelkedő. E kutatási terület alábbi felvázolása talán enyhíteni tudja a – sokszor nem is indokolatlan – fenntartásokat.

A kémiai gondolkodásmód alapja a kvantummechanika

A 20. század legnagyobb, egész világképünket gyökeresen átalakító tudományos eredménye a kvantummechanika. Jelentősége a kémia számára is felbecsülhetetlen: mai tudásunk szerint a kvantummechanika meg tudja magyarázni a kémiai kötést

¹ Karplus még kisgyermek korában szüleiivel hagyta el Ausztriát a hitleri megszállás elől. Warshel a mai Izrael területén (egy kibucban) született, Izraelben nőtt fel és tanult, ma is erősen kötődik a Weizmann Intézethez. Levitt Dél-Afrikában született, szüleiivel Angliába költözött, majd éveket töltött Izraelben, mielőtt végleg az Egyesült Államokban telepedett le. Levittnek és Warshelnek izraeli állampolgársága is van. A tudomány igazán nemzetközi, mégis szeretjük a neves embert nemzethez is kötni. Jelen esetben mindhárom tudósra leginkább Izrael lehet méltán büszke.



1 Martin Karplus
2 Michael Levitt
3 Arieh Warshel

és – legalábbis elvben – a kémiai történetek minden részletét. A köztudatba nem épült be eléggé, de határozottan állítom, hogy egész mai kémiai szemléletünk a kvantummechanika eredményein alapul, a periódusos rendszertől kezdve a rezonancia-szerkezeteken át egészen a reakciómechanizmusokig.

Állításom tisztázása végett egy pillanatra ugorjunk vissza a modern kémia kezdeteihez: a 18–19. század fordulóján, a rendszeressé váló egyszerű mérések eredményei (egész számokkal kifejezhető súlyviszonyok, illetve gázreakciókban térfogatviszonyok) sugallták azt, hogy az anyag egyedi részecskékből épül fel. A Dalton atomelméletében megfogalmazott atomi-molekuláris szemlélet alapján lett az *alkímiából* igazi *kémia*. De az egész 19. század folyamán talány maradt, hogy mi kapcsolja össze az atomokat a molekulákban. (Szinte teljesen elfelejtődött e kérdésben Avogadro szerepe; tanítjuk az Avogadro-törvényt, de a tankönyvek nemigen említik, hogy Avogadro azt is kifejtette: törvényét elfogadva a vegyülő gázok térfogatarányai csak akkor érthetőek, ha feltesszük, hogy az *elemi* gázok is több atomból áll(hat)nak. De mi tarthat össze két azonos atomot, például két hidrogént?! Ha semlegesek, nincs elektromos kölcsönhatás, ha töltöttek, akkor taszítják, nem vonzzák egy-

mást. Nem véletlen, hogy olyan nagyságok, mint Wilhelm Ostwald még a századfordulón is csak hasznos hipotézisnek, és nem reális, létező objektumoknak tartotta az atomokat és molekulákat.)

Ma már persze az iskolában megtanuljuk, hogy az atomoknak is van szerkezete, a pozitív töltésű mag körül negatív töltésű elektronok „keringenek”. Az elektronok mozgása azonban nem írható le a klasszikus fizika törvényei alapján; a keringés nem klasszikus értelemben vett, a makroszkopikus világból ismert, határozott pályákat jelent. Az elektronok mozgását a kvantummechanika a „hullámfüggvénnyel” írja le, ami matematikailag tökéletes leírás, de értelmezése hihetetlenül bizarr: az elektronoknak nincs klasszikus útvonala, csak „tartózkodási valószínűsége”. A szemléletet végletesen leegyszerűsítve, magam a következő képet szoktam használni az oktatásban: a magok közötti térben az elektronok alkotta negatív töltés mint egy felhő képzelhető el; ahol nagyobb a tartózkodási valószínűség, ott sűrűbb a felhő – nagyobb az elektronsűrűség. És a kémiai kötés szemléletesen: a molekulákban a pozitív magokat a köztük levő negatív *elektronfelhő* tartja össze. (De vigyázat a hasonlattal, ez egy furcsa „felhő”: belőle csak kvantumosan, *egész számú* elektronokat lehet kivenni – ez az ionizáció.)

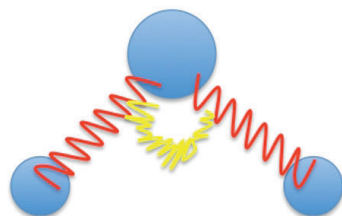


Molekulák számítógépes modellezése

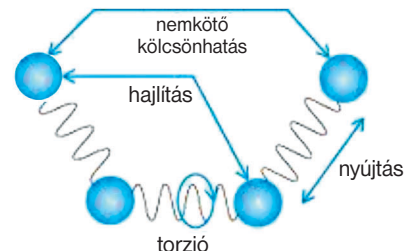
Molekulamechanika (MM)

Az előzők alapján azt gondolnánk, hogy a molekulák leírása csakis az elektronok explicit figyelembevételével képzelhető el. Valójában azonban egészen egyszerű, teljesen klasszikus, mechanikai modellek is meglepően jól alkalmazhatóak a molekulákra. Ezekhez a *molekulamechanikai* (MM) modellekhez a jól ismert fizikai, golyó-pálcika vagy a Dreiding-modellekből² indulhatunk ki. A modellt egészítsük ki azzal, hogy a kötések nem merevek, hanem különböző erősségű rugók; a kötésszögek is hajlíthatók, a torziós szögek is elcsavarodhatnak (**1. ábra**). Az atomok határa pedig nem teljesen éles, két nemkötő atom között van der Waals-kölcsönhatás van. Ezen túlmenően, az atomokon többnyire parciális töltéseket is definiálunk.

Ezt a modellt matematikailag nagyon könnyű kezelni: az energia egy olyan sokváltozós függvény lesz, melyben a felsorolt szerkezeti deformációkhoz „erőállandókat” rendelünk (ezek az energia második deriváltjai a koordináták szerint). Ezért a modellt ún. erőter (force field) módszerként is emlegetjük. Az erőállandókon keresztül – és figyelembe véve az elektrostatikus kölcsönhatásokat – az atomok egy adott pillanatnyi elrendeződéséhez (magkonfiguráció) az energia meghatározott értéke tartozik. Mindezt persze végső soron az elektronszerkezet szabja meg, de most a problémát teljesen empirikusan kezeljük: az energiafüggvény paramétereit (a változók egyensúlyi értékeit és az erőállandókat) kísérleti adatok alapján optimalizáljuk. Fontos megjegyezni, hogy a parciális töltés nem egy igazi, mérhető fizikai mennyiség, ezeket kvantumkémiai számításokból, különböző definíciók sze-



a



b

1. ábra. A molekulamechanikai (MM) modell elve. a) A vízmolekulában a kötésnyújtás és a hajlítás a koordináták, melyekhez „erőállandókat” rendelünk. b) Négy atom esetén már a torzió és a van der Waals-kölcsönhatás is bevezethető (Mini.physics.sunysb.edu)

rint határozzák meg. Az erők megítélésénél jó azt is tudni, hogy az eredmények ijesztően érzékenyek lehetnek az elektrostatikus paraméterek megválasztására.

Molekulamechanikai erőtereket az 1960-as évek óta használnak, az egyik legelső erőter *Lifson és Warshel CFF*-je volt [1]. (CFF – *Consistent Force Field*; a konzisztens csak annyit jelent, hogy összhangban van a kísérleti eredményekkel.) Ma az egyik legelterjedtebben használt erőter a Karplus nevével fémjelzett *CHARMM* (Chemistry at HARvard Molecular Mechanics), melyen az évtizedek során sokat alakítottak-finomítottak [2,3], s mára a legsokoldalúbb alkalmazásokra használható. Az MM területén természetesen számos más kutatócsoport is dolgozott, ezek közül legalább kettőt feltétlenül meg kell említenem: *Norman L. Allinger* [4], illetve *Harold A. Scheraga* csoportja³ [5] a díjazottakkal összevethető mértékű ismertséggel és eredményekkel büszkélkedhet.

Az MM módszer óriási előnye az, hogy számítástechnikailag gyakorlatilag semmi problémát nem jelent, akár több száz ezer atomból álló rendszer is kezelhető. De a pontosság-megbízhatóság mindig kérdéses, s természetesen eleve függ az erőter-től. A legmegbízhatóbb egy erőter nyilván abban az esetben, ha jól körülhatárolt esetekre dolgozták ki, egy-egy vegyületcsoportra, ilyenek nevezetesen a polipeptidek-fehérjék. De nem véletlen, hogy rengeteg különböző erőter ismert az irodalomban, s ezeket csak megfelelő körültekintéssel szabad használni. Az önálló elméleti munkák mellett az erőterek gyakorlatilag nélkülözhetetlenek fontos kísérleti adatok kiértékelésében. Talán nem is minden felhasználó tudja, hogy a kiterjedten alkalmazott NMR-spektroszkópiai konformációanalízist végző számítógépes programok „mélyén” mindig molekulamechanikai erőter „működik”: az MM-program keresi a konformációs minimumokat, s a vezér-

program értékeli, hogy ezek összeegyeztethetők-e a kísérleti (jellemzően ún. *NOE*) adatokkal. Hasonló a helyzet a fehérjekristallográfiában, ahol a diffrakciós adatokat szintén MM-mel kell kombinálni a hatékony és megbízható szerkezetoptimaláshoz. A kvantumkémikus is jól tudja használni az MM-erőtereket például a geometria *előoptimalására* – melyet kvantumkémiai optimalás követ.

Az MM-erők jól használhatók konformációvizsgálatra, ezért nagyon népszerűek a molekuláris biológiában, vagy például az anyagtudományban. Alapvető korlátjuk azonban, hogy nyilván nem tudják leírni a kötések felhasadásával járó folyamatokat (kémiai reakciók), vagy például az elektrongerjesztett állapotokat. Ezek a feladatok már elkerülhetetlenül kvantummechanikai leírást igényelnek.

Kvantumkémia (QC)

A számítógépes módszerek másik ágán az elektronszerkezetet explicite figyelembe vevő, igazi elméleti módszer, a *kvantumkémia* (QC) áll. A kvantumkémia nem más, mint a kvantummechanika (QM) alkalmazása kémiai rendszerekre, molekulákra. Ez a „szimpla” alkalmazás azonban óriási elméleti erőfeszítéseket kívánt és kíván ahhoz, hogy a kvantummechanika alap-egyenletét, a Schrödinger-egyenletet minél jobb közelítésben tudjuk megoldani. A közelítés szintje szerint a kvantumkémia nagyon különböző pontosságú (és számítógép-igényű) lehet. Ez vonatkozik az *ab initio* módszerekre is („ab initio” – a kezdetektől, vagyis a tisztán elméleti alapokból kiindulva). Tehát vigyázat: az „elegáns” jelző önmagában nem biztosítja a nagy pontosságot, nem szabad megtéveszse a felhasználót!

A legpontosabb *ab initio* számítások elérik a kísérleti módszerek pontosságát (sőt, helyenként azok korrigálására is vezettek),

² Úgy tűnik, e tankönyvekből ismert név tulajdonosa még él: az Universität Zürich honlapja még fotóval és la-káscimmel szerepelteti professor emeritusai között az 1919-ben született Dreidinget: <http://www.oci.uzh.ch/research/emmereti/dreiding.html>

³ Scheraga, 90. életévén túl, professor emeritus a Cornell Egyetemen, ahol egész pályáját töltötte. Számunkra érdekes, hogy magyar kapcsolata is voltak. Maga említte életrajzában, hogy tiszteletbeli tagja a Magyar Biofizikai Társaságnak. Fontos szerepet játszott mellette egy magyar származású kutató, Némethy György. Egyik leg-többet idézett cikkük: Némethy, G., Pottle, M. S., Scheraga, H. A.: J. Phys. Chem. (1983) 87, 1883–1887. (Némethy az 50-es évek elején, még gimnazistaként hagyta el szülőivel az országot. A Cornell Egyetemen doktorált, majd dolgozott, nagyon magas idézettségű kutatóként. Tudományos pályája mellett egyik vezető alakja volt a külföldi magyar cserkészmozgalomnak. 59 éves korában hunyt el, a 90-es évek elején.) A 70-es, 80-as években Scheragánál töltött hosszabb időt az MTA Enzimológiai Intézetéből Simon István.

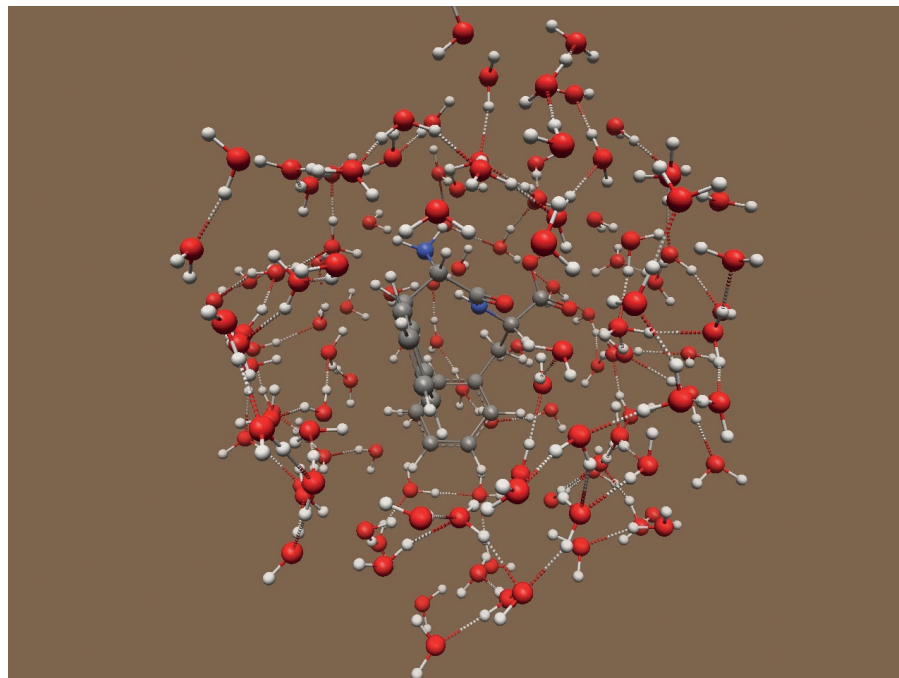


de csak kis molekulákra (manapság 10–20 atom) végezhető el. Kisebb igényű, de akár *ab initio* számítások (Hartree–Fock, MP2) viszont ma már sok száz, akár ezer atomból álló molekulákra is elvégezhetőek. Még tovább lehet lépni a *szemiempirikus* módszerekkel – de ezek egyre inkább háttérbe szorulnak, különösen a rendkívül népszerűvé vált sűrűségfunkcionál-elmélet (DFT) hatására.

Molekulamechanika és kvantummechanika együtt (QM/MM)

A Nobel-indoklásban a „*complex systems*” egyrészt nagy, másrészt szerkezeti bonyolult rendszerekre utal. Ezek csak a címbeli „*multiscale*” módszerekkel szimulálhatók, melyekben a probléma különböző részeit különböző szinten kezeljük. Ez elsősorban a fent vázolt két leírás kombinációját, a kvantummechanikai/molekulamechanikai (QM/MM) modellt jelenti. A gondolat régóta létezik, sok csoport dolgozott és dolgozik rajta; standard referenciának számít a Karplus-csoport publikációja [6], de úttörő munkát végzett például Peter Kollmann is [7]. (Bizonyos értelemben a QM/MM elv jelenik már meg Warshel és Karplus 1972-es cikkében [8], melyben konjugált kettős kötésű rendszerekre a CFF-erőteret használták a σ -váz leírásához, míg a π -kötésekhez értelemszerűen kvantumkémiai kellett használniuk – szemiempirikus formában.)

Az elv teljesen kézenfekvő: egy adott problémában próbáljuk szétválasztani azt a részt, amely aktív szerepet játszik a folyamatban, a rendszer többi része legyen a kevésbé fontos „környezet”; az aktív részt QM-szinten, a maradékot csak MM-szinten kezeljük. A dolog egyszerű, ha a két rész jól szétválasztható, például egy QM-molekula, melyet oldószer-molekulák vesznek körül, utóbbiak alkotva az MM-részt. A QM-leírás szempontjából, az elektronok csak az oldószer-molekulákon levő parciális töltésekkel vannak kölcsönhatásban, és az atommagok (QM és MM) kölcsönhatása – mely elektrosztatikus, kiegészítve empirikus van der Waals-kölcsönhatással – csak egy additív tagot ad az energiához. Egy ilyen QM/MM („dinamika”, l. alább) számításból vett pillanatképet láthatunk a 2. ábrán [9]: az aktív centrum a QM-mel le-



2. ábra. Fenilalanin-dipeptid egy vízcseppben (122 vízmolekula). Pillanatkép egy QM/MM dinamikai számításból. QM: RHF/6-31G*, MM: TIP3P [9]

írt fenilalanin-dipeptid, a „vízcsepp” az MM-környezet. Bonyolultabb a helyzet, ha az aktív rész és a maradék egyazon molekula különböző részei, melyek tehát kovalens kötésben vannak (például egy nagy enzim és azon belül az aktív centrum); a két rész kapcsolatának megbízható kezelése nem egyszerű, erre különböző módszerek léteznek.

Alkalmazás: molekulák egyensúlyi szerkezete, illetve molekuladinamika

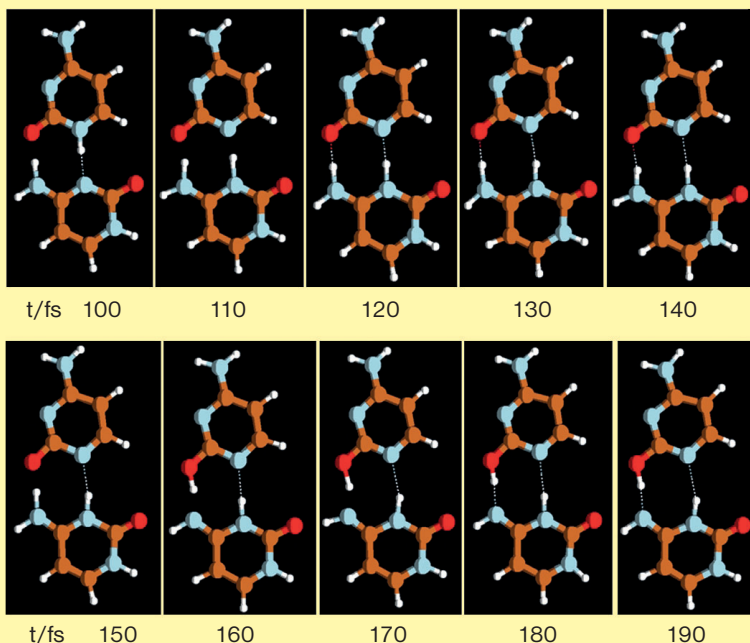
A számítógépes modellezés évtizedekig inkább a molekula egyensúlyi geometriájára és annak – az atomok rezgése folytán elért – közvetlen környékére terjedt ki. Az adott elméleti modellben egyensúlyi geometria a magok azon elrendeződése, melyben az energia minimális, ami matematikailag azt jelenti, hogy a magkoordináták szerinti első deriváltak zérussá válnak. A geometriaoptimalás ma is minden feladat első lépése. A második (és esetleg magasabb) deriváltak alapján a molekularezgések határozhatók meg. Magyar vonatkozás, hogy a terület nemzetközi úttörője Pulay Péter volt a 60-as évek végétől. Ma már minden kereskedelmi programban megvan a rezgési spektrum számításának lehetősége, és rutinnak számít a szerkezetkutatásban, hogy az infravörös és Raman-színképek kiértékeléséhez a *számított* spektrumokra is támaszkodnak. Egy *ad hoc* hazai példa: Tarczay és munkatársai nemrég egy ele-

gáns munkában az alanin lézerrel generált konformereit vizsgálták alacsony hőmérsékletű mátrixban [10], az azonosításhoz QC-spektrumokat számolva.

Az „igazi” kémiában az atomok jelentősen elmozdulnak, a „potenciálfelület” távoli régióit is bejárják; ezzel foglalkozik a *molekuladinamika*. Ebben a körben a *kémiai reakciók*, amikor is a kötések felhasadnak és az atomok kapcsolatai teljesen átrendeződnek, csakis QM-alapon írhatók le. Egyszerű a helyzet ugyanakkor a konformációváltozások során, melyek jó eséllyel kezelhetők MM módszerekkel.

Kisebb rendszerek dinamikai vizsgálatára akár tisztán QM-potenciálfelület is alkalmazható. Ilyenkor a trajektória minden pontján teljes QC-számítást végzünk, melyben nemcsak az energiát, hanem annak deriváltjait (negatív előjellel az atomokon ható erőket) is meghatározzuk, s ezek alapján az atomokat a klasszikus mechanika törvényei szerint léptetjük. Egy saját példát hozva: a citozinmolekula tautomerizációjának egyik lehetséges mechanizmusát tanulmányoztam [11]; ebből vett pillanatképeket mutat a 3. ábra. A dinamikával kapcsolatban feltétlenül megemlítendő a Car–Parrinello-módszer [12]. Ez szintén QM-felülettel dolgozik, de egy szellemes technikával a hullámfüggvényt nem számítja ki minden lépésben, hanem azt is dinamikai változónak tekintve „propagáltatja”. A rendkívül hatékony módszer jelentősége összehasonlítható a Nobel-díjasok eredményével.⁴

⁴ Roberto Car és Michele Parrinello olasz fizikusok, mindketten Triestben dolgoztak 1985-ben, amikor módszerüket megalkották. Módszerük jelentőségét az anyagtudományban szerkesztésű cikk méltatta: Nature Mater. (2010) 9, 687. Úgy gondolom, a jelenlegi Nobel-díj várományosai között ők is szerepelhettek.



3. ábra. A citozin tautomerizációjának egyik lehetősége: dimerizációs mechanizmus, melyben az 1:1 dimer 2b:3a-vá alakul. 1 – amino-oxo tautomer, 2b – amino-hidroxi, 3a – imino-keto. *Ab initio* Born–Oppenheimer-molekuladinamika, DFT(b3lyp)/6-31+G szinten

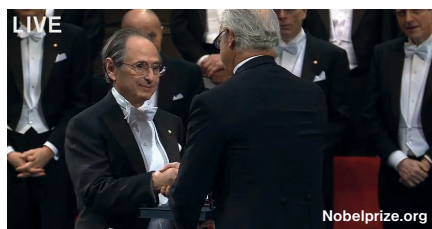
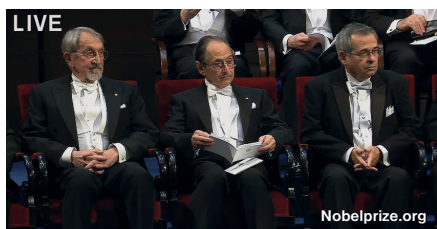
A QM/MM módszer különösen az ilyen dinamikai kutatásokban nagy jelentőségű. A dinamika során sok százezer vagy több millió pontban kell meghatározni az energiát (és deriváltjait), amit csak a mai hihetetlen teljesítményű számítógépek tesznek lehetővé. De emellett meghatározó a modell helyes megválasztása és a hatékony algoritmus. Legújabb példaként a Pulay-csoport javasolt egy modellt, mely bizonyos típusú vizsgálatokban a számításokat több nagyságrenddel (!) meggyorsíthatja [9].

Példák a díjazottak munkáiból

A számítógépes dinamikai szimulációk tehát atomi felbontásban követik a kémiai változásokat. [A szokásos időfelbontás néhány tized fs (10^{-15} s).] A leglátványosabb alkalmazások a biológiai folyamatok molekuláris követésének területén jelennek meg (enzimek működése, *protein folding* stb.). A díjazottak vezető szerepet játszottak ilyen kutatásokban, ami fontos szem-

pont lehetett kitüntetésükhöz. A következőkben egy-egy review-jellegű példát említek az elmúlt évtizedből. Karplus a *Molecular Dynamics Simulations of Biomolecules* című cikkében [13] például a következőkkel foglalkozik: oldószerek hatás a proteinek dinamikájában; protein-modulok dinamikus csatolása protein kinázokban; konformációs változások szerepe a funkció mechanizmusban; gerjesztett állapotok szerepe a biológiában stb. Ezzel egy időben Warshel review-ja *Molecular Dynamics Simulations of Biological Reactions* címmel [14] főleg a látás mechanizmusára koncentrált: tárgya a rodopszin fény hatására bekövetkező fotoizomerizációjának leírása. (Ez a téma régóta foglalkoztatja; már 1976-ban közölt egy modellt – „biciklipedál” – a retinál izomerizációjára [15]. Az akkori lehetőségeket tekintve ehhez a hályogkovács bátorsága kellett, de munkáját máig is idézik.) Warshel különösen sokat foglalkozott az elektrosztatikus kölcsönhatások szerepével is: *Electrostatic basis for enzyme catalysis* [16].

Stockholm, 2013. december 10. A Nobel-díjakat XVI. Károly Gusztáv svéd király adta át



Levitt vegyész körökben kevésbé ismert, legtöbbet idézett munkája egy Warshellel együtt írt cikk az enzimreakciókról [17]. Ő ma talán leginkább már a számítógépes molekuláris biológiát képviseli. Alapmunkája a proteinek konformációjának „szegmens-illesztés” modellezése (*Accurate modeling of protein conformation by automatic segment matching*) [18]; ennek finomított változata 10 évvel később készült [19], és már információelméletet is felhasznál.

Végül, Karplusszal kapcsolatban külön érdekességként említem meg, hogy neve jól ismert az NMR-spektroszkópusok körében is. A vicinális hidrogénatomok J csatolási állandójára 1960 (!) körül végzett nagyon leegyszerűsített QM-számítások alapján arra az eredményre jutott, hogy a J értékek jól fittelhetők a H–C–C–H torziós szög koszinuszából képzett másodfokú polinommal. Ez az egyszerű összefüggés, mely Karplus-egyenletként ismert, különösen hasznos a peptidek konformációinak NMR-meghatározásában.

Talán a fentiekből is kitűnik: az elméleti kémiai számítások mindig közelítések, modelleken alapulnak. Ezek akkor igazán hasznosak, ha figyelembe vesszük a módszerek határait, s nem visszaélünk, hanem értelmesen élünk velük. ●●●

IRODALOM

- [1] Lifson, S., Warshel, A.: J. Chem. Phys. (1968), 49, 5116–5129.
- [2] Brooks, B.R. et al.: J. Comput. Chem. (1983) 4, 187–217.
- [3] Brooks, B.R. et al.: J. Comput. Chem. (2009) 30, 1545–1614.
- [4] Allinger, N. L.: J. Comput. Aid. Mol. Des. (2011) 25, 295–316. A 80 év felett járó szerző a molekulamechanika filozófiáját foglalta össze.
- [5] Hammes, G. G., Skolnick, J.: J. Phys. Chem. B, (2012) 25, 6572–6572. A Scheraga tiszteletére megjelent lapszám szerkesztői írása.
- [6] Field, M. J., Bash, P. A., Karplus, M.: J. Comput. Chem. (1990) 11, 700–733.
- [7] Singh, U.C., Kollman, P.A.: J. Comput. Chem. (1986) 7, 718–730.
- [8] Warshel, A., Karplus, M.: J. Am. Chem. Soc. (1972) 94, 5612–5625.
- [9] Janowski, T., Wolinski, K., Pulay, P.: Chem. Phys. Lett. (2012) 530, 1–9. Az ábrát Tomasz Janowski készítette a kérésre.
- [10] Bazzo, G., Najbauer, E. E.; Magyarfalvi, G., Tarczay, G.: J. Phys. Chem. A, (2013) 117, 1952–1962.
- [11] Fogarasi, G. konferenciapozster: WATOC Congress, Santiago de Compostela, Spain, July 17–22, 2011.
- [12] Car, R., Parrinello, M.: Phys. Rev. Lett. (1985) 55, 2471–2474.
- [13] Karplus, M., McCammon, J. A.: Nature Struct. Biol. (2002) 9, 646–652.
- [14] Warshel, A.: Acc. Chem. Res. (2002) 35, 385–395.
- [15] Warshel, A.: Nature (1976) 260, 679–683.
- [16] Warshel, A., Sharma, P. K., Kato, M. et al.: Chem. Rev. (2006) 106, 3210–3235.
- [17] Warshel, A., Levitt, M.: J. Mol. Biol. (1976) 103, 227–249.
- [18] Levitt, M.: J. Mol. Biol. (1992) 226, 507–533.
- [19] Yona, G., Levitt, M.: J. Mol. Biol. (2002) 315, 1257–1275.
- [20] Karplus, M.: J. Chem. Phys. (1959) 30, 11–15.; J. Am. Chem. Soc. (1963) 85, 2870–2871.