

Komplex rendszerek vizsgálata hibrid QM/MM molekuladinamikai szimulációkkal

Doktori értekezés tézisei

Mones Letif

Témavezetők:

Dr. Túri László, PhD, DSc

és

Dr. Fuxreiter Mónika, PhD

Elméleti és fizikai kémia, anyagszerkezet-kutatás program
Vezető: Dr. Surján Péter DSc., egyetemi tanár

Kémiai Doktori Iskola
Vezető: Dr. Inzelt György DSc., egyetemi tanár

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar

Fehérjeszerkezet Kutatócsoport
Vezető: Dr. Simon István DSc., egyetemi tanár

Enzimológiai Intézet
Vezető: Dr. Buday László DSc., egyetemi tanár

Magyar Tudományos Akadémia, Szegedi Biológiai Központ

Budapest

2011

I. Bevezetés

Doktori kutatásom során két olyan témával foglalkoztam, amelyek szoros összefüggésben állnak a hibrid kvantummechanika-molekulamechanikai (QM/MM) módszerekkel. Egyik munkám során negatívan töltött metanol molekulaklaszterek tulajdonságait vizsgáltam QM/MM molekuladinamikai szimulációkkal az általam kifejlesztett pszeudopotenciált alkalmazva. Másik munkámban egy metodológiai fejlesztést végeztem el és sikeresen alkalmaztam egy eredetileg klasszikus felszínen definiált általános reakciókoordinátát a klorid – metil-klorid vizes közegű reakciójának leírására, miközben a molekuladinamikai szimulációkat magasabb elméleti (QM/MM) szintű potenciálon hajtottam végre.

II. Negatívan töltött metanol klaszterek vizsgálata

II.1. Bevezetés és célkitűzések

A szolvatált elektron már jó ideje a tudományos kutatások középpontjában áll, mivel alapvetően fontos szerepet tölt be számos kémiai és biológiai folyamatban¹. Másrészt a szolvatált elektron mint a legegyszerűbb oldott részecske, elméleti szempontból is érdekes modellrendszer. A leginkább vizsgált hidratált elektronon kívül léteznek kísérleti adatok a metanolban szolvatált elektronnal kapcsolatban is². A metanolban, hasonlóan más poláros oldószerhez, a többletelektron egy oldószerüregben lokalizálódik, és az elektront megfelelően orientált metanol molekulák veszik körbe.

Napjainkban a kísérleti technikák gyors fejlődésének hatására a véges méretű szolvatált elektronos rendszerek felé fordult a tudományos érdeklődés. Az érdeklődés alapját az adja, hogy a negatívan töltött molekulaklaszterek átmenetet képeznek a gázfázisú anion valamint a tömbfázisban szolvatált elektron között. Mindazonáltal véges méretük és a kondenzált fázishoz képesti relatív egyszerűségük ellenére sincs a mai napig egyetértés a vízklaszter anionok legalapvetőbb szerkezeti tulajdonságait illetően³. A leginkább figyelemre méltó eddig tisztázatlan kísérleti eredmény a vertikális elektroneltávolítási energiák vizsgálata során megjelenő legalább három különböző vízklaszter típus (ún. izomer). Valamennyi tapasztalt izomer közel lineáris

növekedést mutat a klaszterméret inverz köbgyökének függvényében, ugyanakkor az illesztett egyenesek meredeksége és tengelymetszete jelentős mértékben különbözik. A felmerült problémákkal kapcsolatban egy lehetséges megoldás a vizsgálatok kiterjesztése más poláros oldószerre is. Újabban végzett fotoelektron-spektroszkópiás módszerek ugyanis a metanol klaszter anionok esetében is kimutattak két különböző izomert.

Munkám elsődleges célja az említett két izomer azonosítása és vizsgálata volt hibrid QM/MM molekuladinamikai szimulációk segítségével. A kutatás során kifejlesztettem egy új pszeudopotenciált, amely a többtelektron és a klasszikusan kezelt metanol molekulák közötti kölcsönhatást írja le. Szemben az irodalomban található korábbi potenciálokkal, az új pszeudopotenciál egy ún. all-atom modell, amely így részletesebb és megbízhatóbb atomi leírással rendelkezik. Az új potenciál megalkotása során egy másik szempont a paraméterek átvihetősége volt. A pszeudopotenciál egy általánosabb használata érdekében ugyanis kívánatos olyan paraméterek kifejlesztése, amelyek egyszerűen átvihetők más oldószer molekulákra is, megkönnyítvén az azokon történő számításokat.

II.2. Módszerek

A negatívan töltött metanol klaszterek tulajdonságainak vizsgálata érdekében QM/MM pontszámításokat és molekuladinamikai szimulációkat is végeztem. A többtelektron önmagában alkotta a kvantumzónát, míg az oldószer molekulák molekulamechanikai szinten voltak figyelembe véve. A többtelektron és a klasszikusan kezelt molekulák közötti kölcsönhatást az újonnan fejlesztett pszeudopotenciállal írtam le.

Az új elektron-metanol potenciál fejlesztése során a Túri-Borgis protokollt követtem, amelyet a szerzők eredetileg az elektron-víz rendszerre dolgoztak ki⁴. A módszer alapját a statikus kicserélődési (static exchange, SE) közelítés⁵ adja. Első lépésben az N -elektron probléma egy egy-elektron problémává történő átalakítását végeztem el a Phillips-Kleinman taszító operátor⁶ alkalmazásával. A Pauli elv következményeként a többtelektron hullámfüggvénye a magok közelében nagy oszcillációt mutat. Ennek az oszcillációnak az eliminálása érdekében második lépésként egy egzakt pseudo hullámfüggvényt állítottam elő a többtelektron hullámfüggvényének és a semleges metanol molekulapályáinak megfelelő lineáris

kombinációjából⁷. Harmadik lépésben a nemlokális operátorok lokális közelítését⁸ hajtottam végre.

A módszer során a polarizációért felelős hozzájárulást utólag mint additív tagot építettem be a potenciálba⁹. A polarizációs paramétereket tömbfázisú QM/MM molekuladinamikai szimulációk segítségével úgy állítottam be, hogy azok a metanolban szolvatált elektron legfontosabb tulajdonságait reprodukálják.

A kifejlesztett pszeudopotenciál segítségével különböző méretű metanol klaszter anionok vizsgálatát hajtottam végre. A statikus vizsgálat során a többletelektron semleges klaszterekhez történő kötődését vizsgáltam. A semleges klaszterkonfigurációkat klasszikus dinamika alkalmazásával állítottam elő. Az elektron kötődési energiája és a klaszterek számos tulajdonsága között korrelációs analízist végeztem el. Következő lépésben a rendszerek dinamikus vizsgálatát is végrehajtottam. Mind a felületi, mind a belső állapotok tanulmányozása érdekében molekuladinamikai szimulációkat futtattam különböző kezdeti feltételekből kiindulva.

II.3. Eredmények és konklúziók

II.3.1. Az új elektron-metanol pszeudopotenciál

Az SE közelítés⁵ keretei között a Phillips-Kleinman elmélet⁶ alkalmazását követően a többletelektron hullámfüggvényének magok közelében lévő nagy oszcillációit a többletelektron kinetikus energiájának minimalizálásával értem el⁷. Az így létrehozott egzakt pszeudo hullámfüggvény viszonylag sima a magrégióban és jó aszimptotikus viselkedést mutat.

Az effektív potenciál létrehozása érdekében a pszeudo Hamilton operátor nem-lokális operátorait lokális operátorokkal közelítettem. A Schnitker-Rossky taszító operátor (Schnitker-Rossky repulsion operator, SRR) alkalmazását követően a pszeudo hullámfüggvény megtartotta jó aszimptotikus viselkedését és a mag közeli régióban lévő mérsékelt fluktuációját. A kicserélődési operátor esetében négy lokális közelítést is megvizsgáltam, melyek közül a szemiklasszikus kicserélődési potenciál (semiclassical exchange potential, SCE) bizonyult a legjobbnak. Az így előállított SRR-SCE potenciál⁸ jól közelítette a többletelektron sajátenergiáját és sűrűségét.

A potenciál végső formája a molekuladinamikai szimulációban is könnyen alkalmazható hibafüggvényekből épül fel, melynek paramétereit numerikus illesztés során kaptam meg. Az oxigén és hidroxil-hidrogén atomok paramétereit a korábban kidolgozott elektron-víz potenciálból vettem és csak a szén valamint metil-hidrogén atomok paramétereit optimaltam. Ez a szelektív optimalás biztosította az új potenciál paramétereinek átvihetőségét.

Az indukált polarizációs hatást egy additív tagként utólag vezettem be. A paramétereket úgy állítottam be, hogy azokkal a tömbfázisú metanolban szolvatált elektron abszorpciós spektrumának várható maximumát eredményezze a molekuladinamikai szimuláció.

A tömbfázisú metanolban szolvatált elektron fizikai tulajdonságainak vizsgálata érdekében egyensúlyi molekuladinamikai szimulációkat hajtottam végre a kifejlesztett pszeudopotenciál felhasználásával. Az többletelektron számított kötési energiája szignifikánsan nagyobb értéket mutatott, mint a korábbi hárompontos modell¹⁰, ami arra enged következtetni, hogy a metil-hidrogének explicit kezelésének jelentős szerepe lehet. Habár az elektron stabilizációja metanolban kismértékben gyengébb a vízhez képest, az alapállapotú elektron szintén egy kváziszférikus (s-típusú) üregállapotot tölt be. Az alapállapotú elektron inerciasugara szintén összemérhető a vízben számítottal⁴. Az egyes elektron – atom radiális eloszlásfüggvények alapján kiderült, hogy az elektron közvetlen környezetében az OH kötések az elektron felé irányulnak. Az elektron – metil-hidrogén radiális eloszlásfüggvény egy széles csúccsal rendelkezik a metilcsoport rotációja révén. A csúcs kezdeti értéke alapján megállapítható, hogy kismértékben a metil-hidrogének is hozzájárulnak a többletelektron stabilizációjához. Az elektron – molekula tömegközéppont eloszlásfüggvényekből számított koordinációs szám jó egyezést mutat a kísérleti értékkel. A modell egyik fő előnye a korábbi potenciálhoz képes, hogy kitűnően reprodukálja az optikai spektrum maximumának helyét.

II.3.2. Az elektron-metanol klaszter rendszerek statikus vizsgálata

Első lépésként a többletelektron semleges metanol klasztereken való viselkedését vizsgáltam az 50-500 molekulát tartalmazó klaszterméret tartományban. Hasonlóan a vízhez, az elektron kötési erősségét és a lokalizáció mértékét elsősorban a semleges klaszterek eredő dipólusmomentuma határozza meg. Mivel a metanol klaszterek dipólusmomentumának nagysága

hasonló az azonos méretű vízklaszterekéhez, az elektron kötési energiája szintén hasonló mértékben növekedik a klaszter mérettel mindkét rendszerben. Az analízis alapján kiderült, hogy a többletelektron kizárólag a semleges metanol klaszterek felszínén lokalizálódott és diffúzabb állapotot vett fel, mint a vízklaszterek esetében. A metanol klaszterek felületi analízise kimutatta, hogy a felszínen elsősorban metil-hidrogének helyezkednek el és hidroxil-hidrogének gyakorlatilag nem, szemben a vízklaszterekkel, amelyek felszínének közel 20%-át a klaszter belsejéből a gázfázisba irányuló OH kötések adják. A lazán kötött, diffúz felületi állapotok oka, hogy a metil-hidrogének sokkal gyengébben képesek stabilizálni a többletelektront a hidroxil-hidrogénekhez képest. A lehetséges belső lokalizációs állapotok vizsgálatának érdekében megvizsgáltam a semleges egyensúlyi tömbfázisú metanolba kényszerített elektron tulajdonságait is. A kísérlet kimutatta, hogy az elektron még a tömbfázisban sem talált energetikailag kedvező üreget.

II.3.3. Az elektron-metanol klaszter rendszerek dinamikus vizsgálata

A kísérleti eredmények alapján a gyengén kötött felszíni állapot mellett egy további állapot is létezik, amelynek vertikális elektroneltávolítási energiája jóval nagyobb. Ennek alapján elképzelhető, hogy a kezdetben felszínhez kötődő elektron behatol a klaszter belsejébe és ott belső kötési állapotba kerül. Ennek a folyamatnak a feltárása érdekében hibrid QM/MM molekuladinamikai szimulációkat végeztem. A klaszterméret függvényében három különböző dinamikai viselkedés volt tapasztalható. A kisméretű klaszterek (50-85 molekula) esetében az elektron a felszínen maradt. Közepes méretű klaszterek (103-161 molekula) esetén az elektron képes volt ugyan behatolni a klaszter belső terébe, de az állandósult belső állapot létrejöttéhez a klaszterek mérete még nem volt elégséges. Egy bizonyos klaszterméret fölött (205 molekulától) az elektron képes volt permanens belső állapot kialakítására. Az elektron kötési energiája ezekben a belső állapotokban jelentősen nagyobb volt a felszíni állapotok energiájához képest és szintén növekedő tendenciát mutatott a klasztermérettel.

III. Általános reakciókoordináta kifejlesztése komplex rendszerekre magasabb elméleti szinten

III.1. Bevezetés és célkitűzések

Számos esetben, különösen komplex rendszerek kémiai reakcióinak vizsgálatakor, a QM/MM molekuladinamikai szimuláció időhossza nem elegendő a potenciális energiefelszín (potential energy surface, PES) kellő mértékű mintavételezéséhez. A hatékonyabb mintavétel érdekében ezért a dinamika során a rendszert arra kényszerítjük, hogy a PES olyan régióira is eljusson, amelyre amúgy a szimulációs időskálán belül nem lenne lehetősége. A dinamika irányításának beépítésére több különböző lehetőség található az irodalomban, amelyeket összefoglaló néven átlagerő potenciál (potential of mean force, PMF) módszereknek hívunk. A PMF technikák gyakorlati szempontból számos tulajdonságban különböznek, ami lehetőséget ad a problémához leginkább megfelelő módszer kiválasztásához. Mindazonáltal ezen módszerek önmagukban nem garantálják a kielégítő mintavételt, ugyanis valamennyi PMF technika egy vagy több ún. reakciókoordináta mentén kényszeríti a rendszert a mintavételre. Szemben azonban a mintavételezési módszerekhez, a reakciókoordináták megfelelő kiválasztása nem egyértelmű.

Viszonylag egyszerű beépíthetőségük és interpretálhatóságuk miatt a leggyakrabban alkalmazott reakciókoordináták az ún. geometriai koordináták, amelyek a rendszer csak néhány szabadsági fokának függvényei. Alkalmazhatóságuk komplex rendszerekben viszont kérdéses, ugyanis bizonyos nélkülözhetetlen szabadsági fokok hiánya a reakciókoordinátában a rendszer elégtelen mintavételezéséhez és nem kívánt hiszterézishez vezethet.

Természetes az igény ezek alapján egy olyan általános reakciókoordináta alkalmazására, amely használata során nem jelentkezik az említett problémák. A tapasztalat alapján erre a szerepre egy potenciális jelölt az Empirikus Vegyértékkötés (empirical valence bond, EVB) elmélet¹¹ keretei között definiált *Egap* koordináta, amely két klasszikus vegyértékállapot (pl. reaktáns és termék) közötti energiakülönbség. Mint a teljes rendszert jellemző energiaváltozó, az *Egap* a rendszer valamennyi fontos szabadsági fokától függ. Mindazonáltal az *Egap* klasszikus felszínen van definiálva, ezért magasabb elméleti szinten (pl. QM és QM/MM) való alkalmazása nem magától értetődő, mivel a molekulapálya elméleten alapuló kvantum módszerek nem értelmezik a vegyértékállapot fogalmát. Munkám során egy nem triviális megoldáson keresztül

megmutattam, hogyan lehet kémiai reakciók *Egap*-függő szabadenergia-profilját magasabb elméleti szintű potenciálfelületen végzett molekuladinamikai szimulációk során számítani.

Választott modellreakcióm egy nagyon egyszerű, szimmetrikus nukleofil szubsztitúció volt: klorid ion és metil-klorid reakciója gázfázisban és vizes oldatban. Az *Egap*-et mint reakciókoordinátát több szempontból összehasonlítottam az erre a reakcióra általánosan alkalmazott geometriai koordinátával, amely a támadó klorid – szén valamint távozó klór – szén távolságok közötti különbség (röviden *DD*).

III.2. Módszerek

Az elvégzett vizsgálatokhoz statisztikailag jól konvergált szabadenergia-profilokra volt szükség, amely relatíve hosszú dinamikák futtatását igényelte. Ennek érdekében a QM/MM számítások során a metil-klorid molekulát valamint a klorid iont a szemiempirikus PM3¹² módszerrel írtam le, míg a vízmolekulákat a klasszikus TIP3P modellel¹³ reprezentáltam. A kvantumzóna és klasszikus régió kölcsönhatását az alrendszer közötti teljes elektrosztatikus csatolással vettem figyelembe¹⁴.

Az *Egap* alkalmazása QM potenciális energiafelületen kétféleképpen is megvalósítható. Az „indirekt módszer” esetében első lépésként a reakció szimulációját egy klasszikus felszínen végeztem el az EVB módszer keretei között. Második lépésben kiszámítottam a klasszikus dinamika során gyűjtött konfigurációk QM energiáját. Végül – a számított energiák felhasználásával – a kvantum felszínhez tartozó szabadenergia-görbét a kapcsolt szabadenergia perturbációs / esernyő mintavételi (free energy perturbation / umbrella sampling, FEP/US) módszer alapján számoltam. Ezzel szemben a „direkt módszer” során a reakció *Egap*-függő átlagerő potenciál által irányított dinamikai szimulációját közvetlenül a QM felszínen hajtottam végre. Mivel az *Egap* értékének számítása az alkalmazott QM ill. QM/MM módszer keretein belül nem lehetséges, ezért ezt a dinamika mindegy egyes pontjában az aktuális magkonfigurációra egy külső, a kvantumcsomaghoz kapcsolt klasszikus program segítségével (XdynBP) végeztem el.

Az *Egap*- és *DD*-függő szabadenergia-profilok konvergenciájának vizsgálata érdekében modern PMF módszereket alkalmaztam (metadynamics, MTD¹⁵ és adaptive biasing force,

ABF¹⁶), amelyek a szabadenergia-görbéket a dinamika során közvetlenül számolják, lehetőséget adva azok időbeli fejlődésének vizsgálatára. Összehasonlítottam az egyes reakciókoordináták szabadenergia-profiljainak hiszterézisét és hatékonyságát. Mindkét mennyiség a dinamika során számolt görbék egy konvergált (a blue moon, BM¹⁷ módszer segítségével előállított) profilhoz viszonyított standard deviációjának számításán alapult.

Végül megvizsgáltam a két reakciókoordináta átmeneti állapot indikációjának jóságát az ún. committor analízis¹⁸ segítségével.

III.3. Eredmények és konklúziók

III.3.1. Az Egap beépítése a szabadenergia-számításokba

Az indirekt módszer ugyan viszonylag kis számításigénnyel rendelkezik (hiszen a dinamikát egy klasszikus felszínen hajtjuk végre), viszont a szabadenergia-profil szisztematikus hibájához vezetett, amikor a QM és klasszikus felszínek között az átlagos energiakülönbség nagyobb volt, mint 2-3 *RT*. Ezzel szemben a direkt módszer jól konvergált és megbízható görbét eredményezett. Megbízhatósága mellett a direkt módszer egy további előnye, hogy tetszőleges mintavételi technikával kombinálható. Ennek megfelelően munkám során közreműködtem két olyan ún. kiméra program előállításában, amelyek a direkt módszer ezen tulajdonságát használják ki. Egy adott kiméra program két programcsomag összekapcsolásának eredményeként képzelhető el: az egyik program szolgáltatja a QM vagy QM/MM potenciális energia felszínt és végzi a dinamikai számításokat, míg a másik egy alkalmasan megválasztott klasszikus program, amely az *Egap* valamint a mintavételi módszerekből származó kényszerek számításáért felelős. Munkám során az AMBER¹⁹ mint szemiepirikus felszíneket tartalmazó programcsomag valamint az Enzimológiai Intézetben kifejlesztett XdynBP mint klasszikus program egyesítéséből származó kiméra programot használtam.

III.3.2. Az *Egap* és *DD* reakciókoordináták szabadenergia-profiljainak összehasonlítása

Gázfázisban mindkét reakciókoordináta szabadenergia-görbéje szimmetrikus volt. Az aktiválási gátak közel azonosak voltak és jó egyezést mutattak a kísérleti értékkel. Oldatfázisban azonban lényeges különbségek mutatkoztak a két koordináta között. Az *Egap*-hez tartozó (BM technikával) számított szabadenergia-profil a vártnak megfelelően szintén szimmetrikus volt, míg a hasonló módszerrel számított *DD*-profil valamelyest aszimmetrikus viselkedést mutatott. Az aktiválási gátak kismértékben szintén különböztek és a kísérleti értéket az *Egap*-profilból számított közelítette meg jobban.

A szabadenergia-profilok MTD hiszterézisei oldatfázisban lényegesen nagyobbak voltak a *DD* esetében. A dinamikák során becsült szabadenergia-görbék mind az MTD, mind pedig az ABF módszerek esetében sokkal gyorsabban konvergáltak az *Egap* esetében. Az eredmények arra utalnak, hogy a *DD* esetében az oldószer szabadsági fokainak hiánya jelentős hibához vezet a szabadenergia-profilban.

III.3.3. Az átmeneti állapot indikációja magasabb elméleti szinten

Annak ellenére, hogy a vizsgált reakció leírására a *DD* széles körben alkalmazott reakciókoordináta, a committor analízis alapján kiderült, hogy még az átmeneti állapot korrekt geometriájának meghatározására is alkalmatlan. Ezzel szemben az *Egap* által jelzett átmeneti állapot helyzete helyesnek bizonyult, ami alapján az *Egap*-et alkalmasnak találtam a reakció jellemzésére az alkalmazott QM(PM3)/MM felszínen is.

IV. A témához kapcsolódó saját hivatkozások

- L. Mones, P. Kulhanek, I. Simon, A. Laio, M. Fuxreiter, *Egap* as a universal reaction coordinate for simulation of chemical reactions. *J Phys Chem B* **113**, 7867 (2009)
- L. Mones and L. Turi, A new electron-methanol molecule pseudopotential and its application for the solvated electron in methanol. *J Chem Phys* **132**, 154507 (2010)

- L. Mones, P. J. Rossky, L. Turi, Analysis of Localization sites for an excess electron in neutral methanol clusters using approximate pseudopotential quantum-mechanical calculations. *J Chem Phys* **133**, 144510 (2010)

V. Hivatkozások

¹ B. C. Garrett et al. *Chem. Rev.* **105**, 355 (2005)

² J. H. Baxendale and P. Wardman, *J. Chem. Soc.*, Faraday Trans. 1 **69**, 584 (1973); D. F. Feng and L. Kevan, *Chem. Rev.* **80**, 1 (1980); L. Kevan, *Radiat. Phys. Chem.* **17**, 413 (1981); *Chem. Phys. Lett.* **66**, 578 (1979); F. Y. Jou and G. R. Freeman, *Can. J. Chem.* **57**, 591 (1979); *J. Phys. Chem.* **81**, 909 (1977); X. Shi et al., *J. Phys. Chem.* **99**, 6917 (1995); P. K. Walhout et al., *Chem. Phys. Lett.* **232**, 135 (1995); C. M. Stuart et al., *J. Phys. Chem. A* **111**, 8390 (2007); A. Kammrath et al., *J. Chem. Phys.* **125**, 171102 (2006)

³ H. Haberland, H. G. Schindler, and D. R. Worsnop, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **88**, 270 (1984); J. V. Coe et al., *J. Chem. Phys.* **92**, 3980 (1990); P. Ayotte and M. A. Johnson, *J. Chem. Phys.* **106**, 811 (1997); D. H. Paik et al., *Science* **306**, 672 (2004); N. I. Hammer et al. *Science* **306**, 675 (2004); J. R. R. Verlet et al. *Science* **307**, 93 (2005); L. Ma et al., *J. Chem. Phys.* **131**, 144303 (2009)

⁴ L. Turi and D. Borgis, *J. Chem. Phys.* **117**, 6186 (2002); L. Turi et al., *J. Chem. Phys.* **114**, 7805 (2001)

⁵ M. A. Morrison and L. A. Collins, *Phys. Rev. A* **17**, 918 (1978)

⁶ J. C. Phillips and L. Kleinman, *Phys. Rev.* **116**, 287 (1959)

⁷ M. H. Cohen and V. Heine, *Phys. Rev.* **122**, 1821 (1961)

⁸ J. Schnitker and P. J. Rossky, *J. Chem. Phys.* **86**, 3462 (1987); M. E. Riley and D. G. Truhlar, *J. Chem. Phys.* **63**, 2182 (1975)

⁹ R. N. Barnett, U. Landman, C. L. Cleveland, and J. Jortner, *J. Chem. Phys.* **88**, 4421 (1988)

¹⁰ J. Zhu and R. I. Cukier, *J. Chem. Phys.* **98**, 5679 (1993)

¹¹ A. Warshel, R. M. J. Weiss, *Am. Chem. Soc.* **102**, 6218 (1980)

¹² J. J. P. Stewart, *J. Comput. Chem.* **10**, 209-220 (1989); *J. Comput. Chem.* **10**, 221-264 (1989)

¹³ W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. Madura, M. L. Klein, *J. Chem. Phys.* **79**, 926 (1983)

¹⁴ R. C. Walker, M. F. Crowley, D. A. Case, *J. Comput. Chem.* **29**, 1019 (2008)

¹⁵ A. Laio, M. Parrinello, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **99**, 12562 (2002)

¹⁶ E. Darve, A. Pohorille, *J. Chem. Phys.* **115**, 9169 (2001)

¹⁷ W. K. den Otter, W. J. Briels, *J. Chem. Phys.* **109** (11), 4139 (1998); M. Sprik, G. Ciccotti, *J. Chem. Phys.* **109** (18), 7737 (1998)

¹⁸ P. L. Geissler, C. Dellago, D. J. Chandler, *Phys. Chem. B* **103**, 3706 (1999)

¹⁹ D. A. Case et al. AMBER 9, 9th ed. (University of California, San Francisco, CA, 2006)