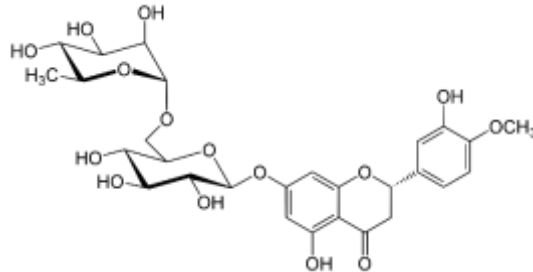
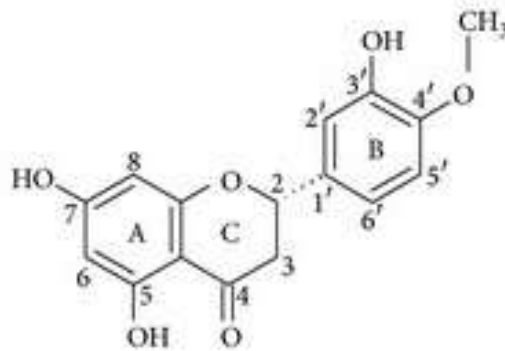


ΕΠΙΛΥΣΗ ΚΑΙ ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΗΣ ΔΟΜΗΣ
(ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ hesperetin)

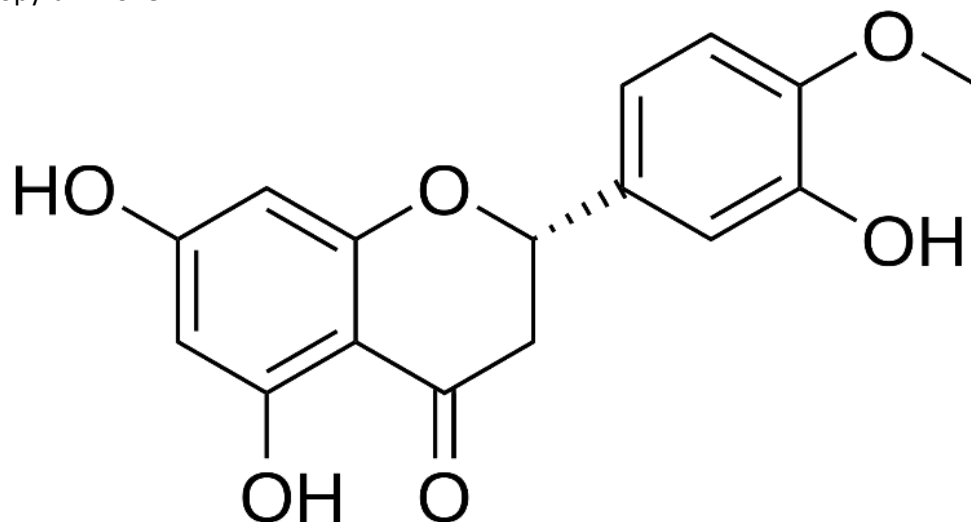
Hesperidin is a naturally occurring flavanon-glycoside, the main flavonoid in lemons and sweet oranges. Hesperidin is believed to play a role in plant defense.



Its aglycone form is called hesperetin. (An aglycone is the compound remaining after the glycosyl group on a glycoside is replaced by a hydrogen atom.) **Hesperetin** is unique in that it is, albeit faintly, sweet while most of the flavonoid compounds are known to be tasteless or bitter [1, 2].

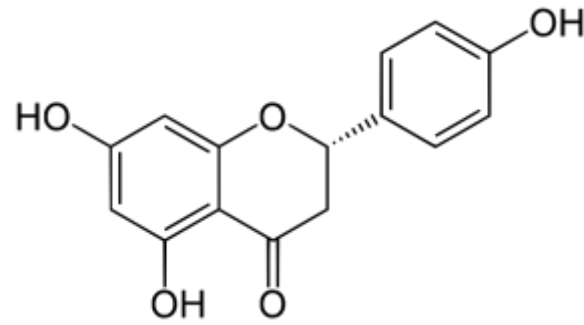


Hesperetin: (S)-2,3-Dihydro-5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-one



Hesperetin

Naringenin is a bitter, colourless flavanone, a type of flavonoid. It is the predominant flavanone in grapefruit, and is found in a variety of fruits and herbs.



Naringenin

References

1. Shin, W., Kim S., Chun, K., S., Structure of (R,S)-Hesperetin Monohydrate, Acta Cryst. (1987) C43, 1946-1949
2. <http://www.kindarco.com/Download/Hesperetin%20Introduction.pdf>

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Από το πείραμα περίθλασης ακτίνων-Χ στον μονοκρύσταλλο προκύπτουν τα αρχεία:

name.ins (**instructions** file)

π.χ.

TITL hesperetin in P-1

CELL 1.54178 6.8135 8.9657 12.1129 72.322 84.316 80.499

ZERR 2.00 0.0029 0.0016 0.0025 0.017 0.021 0.021

LATT 1

SFAC C H O

UNIT 32 32 14

TEMP 20.000

MERG 2

HKLF 4

END

KQI

name.hkl (reflections file, **hkl** ονομάζονται οι δείκτες Miller των ανακλάσεων)

π.χ.

| h | k | l | Intensity (I) | $\sigma(I)$ |
|-------|---|---|---------------|-------------|
| ===== | | | | |
| -2 | 0 | 0 | 23.10 | 1.60 |
| -2 | 0 | 0 | 21.20 | 1.60 |
| 2 | 0 | 0 | 23.80 | 1.40 |
| 2 | 0 | 0 | 20.30 | 1.50 |
| 2 | 0 | 0 | 23.70 | 1.30 |
| -3 | 0 | 0 | 361.36 | 16.50 |
| -3 | 0 | 0 | 333.87 | 16.70 |
| -3 | 0 | 0 | 350.56 | 16.50 |
| -3 | 0 | 0 | 326.47 | 16.50 |
| 3 | 0 | 0 | 357.26 | 16.30 |
| 3 | 0 | 0 | 351.06 | 16.60 |
| 3 | 0 | 0 | 362.06 | 16.50 |
| 3 | 0 | 0 | 338.67 | 16.40 |
| 3 | 0 | 0 | 322.27 | 16.50 |
| -4 | 0 | 0 | 749.62 | 34.70 |

...

ΕΠΙΛΥΣΗ ΔΟΜΗΣ

Με διάφορες μεθόδους (Άμεσες Μέθοδοι, Patterson, Molecular Replacement) παίρνουμε ένα αρχικό, ημιτελές μοντέλο της δομής. Οι συν/νες προστίθενται στο name.ins file αλλά εξάγεται και το name.res (results) file. Και τα δύο έχουν τη μορφή:

Name.res

=====

TITL hesperetin in P-1

CELL 1.54178 6.8135 8.9657 12.1129 72.322 84.316 80.499

ZERR 2.00 0.0029 0.0016 0.0025 0.017 0.021 0.021

LATT 1

SFAC C H O

UNIT 32 24 14

TEMP 20.000

LIST 6

L.S. 4

PLAN 20

WGHT 0.100000

FVAR 0.74386

| | | | | | | |
|-----|---|----------|----------|----------|----------|---------|
| O2 | 3 | 0.597869 | 0.273545 | 0.531430 | 11.00000 | 0.00439 |
| C2 | 1 | 0.241588 | 0.211873 | 0.211177 | 11.00000 | 0.01335 |
| C3 | 1 | 0.401773 | 0.281158 | 0.211759 | 11.00000 | 0.01776 |
| C4 | 1 | 0.443052 | 0.302913 | 0.334613 | 11.00000 | 0.04538 |
| C5 | 1 | 0.355356 | 0.214667 | 0.431998 | 11.00000 | 0.02574 |
| C6 | 1 | 0.400998 | 0.252446 | 0.532943 | 11.00000 | 0.01470 |
| C7 | 1 | 0.656246 | 0.277025 | 0.634054 | 11.00000 | 0.03685 |
| C8 | 1 | 0.823209 | 0.372430 | 0.622614 | 11.00000 | 0.05100 |
| C9 | 1 | 0.888935 | 0.371438 | 0.733521 | 11.00000 | 0.01843 |
| C11 | 1 | 0.544150 | 0.238736 | 0.742384 | 11.00000 | 0.02176 |
| C12 | 1 | 0.390671 | 0.135042 | 0.762005 | 11.00000 | 0.01612 |

HKLF 4

END

Συζητήστε τις παραμέτρους για κάθε άτομο.

ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΔΟΜΗΣ (Refinement) με το πρόγραμμα Shelxl στο γραφικό περιβάλλον του ShelXle

Shelx: <http://shelx.uni-goettingen.de/download.php> (user: shelx, password: l43212)

ShelXle: <https://www.shelxle.org/shelx/index.php> (μετά την εγκατάσταση, από μενού εντολών: SHELX -> Specify SHELXL runtime options, δώστε το path όπου βρίσκεται το shelxl.exe)

Διαδικασία οικοδόμησης (*model building*) και βελτιστοποίησης (*refinement*) του μοριακού μοντέλου αναγνωρίζοντας και ονομάζοντας τα άτομα που αντιστοιχούν στις θέσεις που προτείνονται από τα μέγιστα της ηλεκτρονιακής πυκνότητας, *Q peaks*, που έχουμε ζητήσει να σχεδιαστούν (by default 20).

ΑΝΟΙΞΤΕ ΤΟ **ShelXle** και

- File (Menu) --> Open (δώστε το name.res). Για το παράδειγμά μας: **hesperetin.res**

- Εξοικειωθείτε με το γραφικό περιβάλλον.
 - Δοκιμάστε τα κουμπιά: ADP, C1 label, cell
 - Κάντε κλικ πάνω σε ένα άτομο και παρατηρήστε τη θέση του κέρσορα στο δεξιό μέρος της οθόνης.
 - Κάντε κλικ πάνω στο όνομα ενός ατόμου στο δεξιό μέρος της οθόνης και μετά δεξί κλικ και "locate C2 in structure". Παρατηρήστε το επιλεγμένο άτομο στο αριστερό μέρος της οθόνης.

- Συζητήστε τις εντολές:

LIST 6

L.S. 4

PLAN 20

- SHELX (Menu) --> Copy current file to instruction file and run shelxl

ή το κουμπί **XL_{refine}**

Load refinement results

- Πατήστε το κουμπί "**F_o - F_c**". Συζητήστε. Ελέγξτε το κουμπί "**m_{aps}**". Παρατηρήστε τη μπάρα αριστερά με τα χρώματα και τις τιμές των Q-peaks.

- Με τη βοήθεια του σχήματος της πρώτης σελίδας, αποδώστε στα προφανή Q-peaks ατομικές θέσεις για τις οποίες είστε σίγουροι/ες. Αλλάξτε, όπου χρειάζεται τα atom names.

XL_{refine}

Load refinement results

Παρατηρήστε τον R-factor (κάτω δεξιό μέρος οθόνης).

- Επαναλάβετε, μέχρι να συμπληρώσετε όλες τις μη υδρογονικές ατομικές θέσεις. Χρησιμοποιείτε τον χάρτη ηλεκτρονιακής πυκνότητας (κουμπί "**F_o - F_c**") για να κάνετε σωστή επιλογή.

Αν έχετε κάνει λάθος επιλογή: Select atom, (right click) delete και επαναλάβετε.

Εντοπίστε τη θέση οξυγόνου του νερού (ονομάστε την π.χ. Ow1)

- Αν έχετε συμπληρώσει όλα τα μη υδρογονικά άτομα, επαναλάβετε το refinement.

Πριν αποδεχτείτε τα results (Load refinement results), προσέξτε στην κίτρινη οθόνη τα GooF και shift/esd, π.χ.

“GooF = S = 9.587; Restrained GooF = 9.587 for 0 restraints

Mean shift/esd = 0.203 Maximum = 0.739 for x O1”

Το GooF πρέπει να είναι κοντά στο 1 (θα μας απασχολήσει αργότερα). Το Maximum shift/esd πρέπει να είναι <0.005. Επαναλαμβάνουμε το refinement μέχρι πρακτικά να μηδενιστεί. Για συντομία μπορούμε να αλλάξουμε την εντολή “L.S. 4” π.χ. σε “L.S. 14”.

- Όταν το Maximum shift/esd έχει πρακτικά μηδενιστεί δεν παρατηρείται περαιτέρω βελτίωση του R-factor.

Πατήστε το κουμπί “**ANIS**(με κόκκινα γράμματα)**F_o - F_c”**

ή SHELX (Menu) --> Insert ANIS and run Shelxl

Επαναλάβετε μέχρι μηδενισμού του maximum shift/esd, παρατηρείστε τιμές GooF, R-factor.

Συζητείστε τις παραμέτρους για κάθε άτομο.

- SHELX (Menu) --> automatic H-Fix

XL_{refine}

Load refinement results

Συζητείστε τις παραμέτρους για τα υδρογόνα.

Συμπληρώστε υδρογόνα που λείπουν σε OH- . π.χ. αν λείπει το υδρογόνο στο O1,

HFIX 148 O1 ή HFIX 83 O1 πριν τη λίστα ατόμων

ή μετά τη γραμμή με τις παραμέτρους του O1 (μέσα στη λίστα)

AFIX 83

H11 2 (copy-paste the coordinates of the closest Q-peak) 11.00 -1.2

AFIX 0

Για το συγκεκριμένο παράδειγμα μπορείτε να συμπληρώσετε και τα υδρογόνα του νερού ως εξής. Επιλογή κατάλληλων Q-peaks, δεξί κλικ, change element to H ή Μετά το Ow1:

AFIX 6

Hw1 2 (copy-paste the coordinates of the possible Q-peak) 11.00 -1.2

Hw2 2 (copy-paste the coordinates of the possible Q-peak) 11.00 -1.2

AFIX 0

- Για τη βελτίωση του GooF: Copy WGHT values (βρίσκονται αμέσως μετά το END) and paste them in the beginning, right above FVAR

ή

SHELX (Menu) --> Update WGHT instruction

ή

SHELX (Menu) --> Try to refine until WGHT converges (max 10 runs)

ΤΕΛΙΚΑ ΒΗΜΑΤΑ – ΕΛΕΓΧΟΣ

Αφού έχουμε κάνει από μενού SHELX --> update unit instruction και έχουμε σιγουρευτεί για τη σύγκλιση της λύσης ($\text{maximum shift/esd} < 0.005$) Ακολουθούμε τα ακόλουθα βήματα για τον έλεγχο της δομής πριν την κατάθεσή της:

Στις αρχικές εντολές του name.ins (=res) file (π.χ. μετά το L.S.), προσθέτουμε τις εντολές:

- WPDB (για να πάρουμε ένα name.pdb file, χρήσιμο για προγράμματα παρουσίασης, ανάλυσης δομής, docking, molecular mechanics, molecular dynamics)
- ACTA
- CONF
- και αλλάζουμε το LIST 6 σε LIST 4 (Με LIST 4 δεν μπορούμε να βλέπουμε τους χάρτες ηλεκτρονιακής πυκνότητας αλλά είναι απαραίτητο για τη δημιουργία του κατάλληλου, προς έλεγχο name.cif)

Εκτελούμε Refine και Load refinement results, οπότε παίρνουμε ένα name.cif, κατάλληλο για έλεγχο.

Πηγαίνουμε στη σελίδα: <https://checkcif.iucr.org/> και ανεβάζουμε το name.cif.

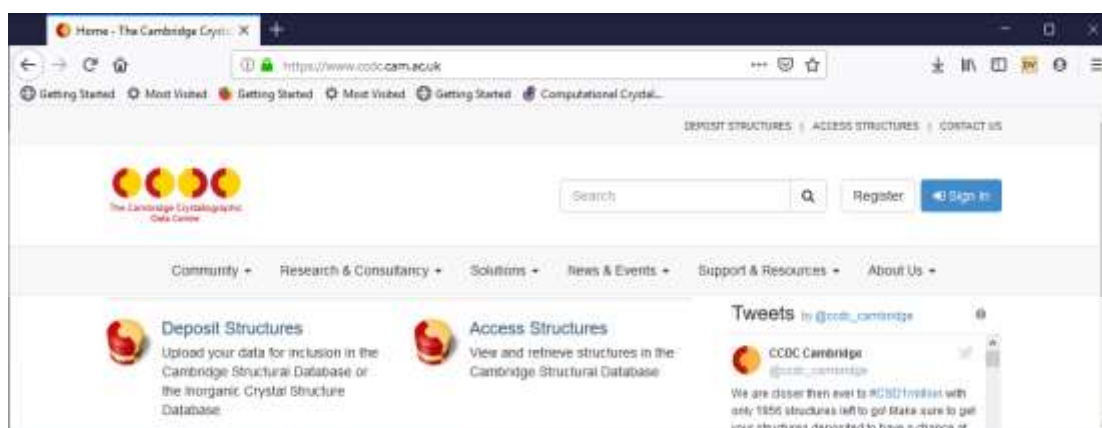
Ζητήστε:

PDF form στο “Select form of checkCIF report “

Full validation of CIF and structure factors στο “Select validation type”

None στο “Output Validation Response Form”

Εάν μπορούμε να δικαιολογήσουμε τα ALERTS (κυρίως τα A και B) που δίνει το checkcif report, πηγαίνουμε στην [Cambridge Structural Database \(CSD\)](https://www.ccdc.cam.ac.uk/), <https://www.ccdc.cam.ac.uk/> και καταθέτουμε τη δομή.



checkCIF/PLATON report

Structure factors have been supplied for datablock(s) hesperitin

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. CIF dictionary Interpreting this report

Datablock: hesperitin

Bond precision: C-C = 0.0030 A

Wavelength=1.54178

Cell: a=6.814(3) b=8.9657(16) c=12.113(3)
 alpha=72.322(17) beta=84.32(2) gamma=80.50(2)
Temperature: 293 K

| | Calculated | Reported |
|----------------|------------------|------------|
| Volume | 694.5(4) | 694.4(4) |
| Space group | P -1 | P -1 |
| Hall group | -P 1 | -P 1 |
| Moiety formula | C16 H14 O6, H2 O | ? |
| Sum formula | C16 H16 O7 | C16 H16 O7 |
| Mr | 320.29 | 320.29 |
| Dx, g cm-3 | 1.532 | 1.532 |
| Z | 2 | 2 |
| Mu (mm-1) | 1.030 | 1.030 |
| F000 | 336.0 | 336.0 |
| F000' | 337.23 | |
| h,k,lmax | 8,11,14 | 8,11,14 |
| Nref | 2760 | 2694 |
| Tmin,Tmax | | |
| Tmin' | | |

Correction method= Not given

Data completeness= 0.976

Theta(max)= 72.635

R(reflections)= 0.0506(2455)

wR2(reflections)= 0.1360(2694)

S = 1.062

Npar= 223

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format
test-name_ALERT_alert-type_alert-level.

Click on the hyperlinks for more details of the test.

Alert level A

EXPT005_ALERT_1_A _exptl_crystal_description is missing
Crystal habit description.
The following tests will not be performed.
CRYSR_01
DIFF003_ALERT_1_A _diffrn_measurement_device_type is missing
Diffractometer make and type. Replaces _diffrn_measurement_type.
PLAT183_ALERT_1_A Missing _cell_measurement_reflns_used Value Please Do !
PLAT184_ALERT_1_A Missing _cell_measurement_theta_min Value Please Do !
PLAT185_ALERT_1_A Missing _cell_measurement_theta_max Value Please Do !

Alert level B

PLAT097_ALERT_2_B Large Reported Max. (Positive) Residual Density 0.98 eA-3

Alert level C

DIFMX02_ALERT_1_C The maximum difference density is > 0.1*ZMAX*0.75
The relevant atom site should be identified.
PLAT052_ALERT_1_C Info on Absorption Correction Method Not Given Please Do !
PLAT053_ALERT_1_C Minimum Crystal Dimension Missing (or Error) ... Please Check
PLAT054_ALERT_1_C Medium Crystal Dimension Missing (or Error) ... Please Check
PLAT055_ALERT_1_C Maximum Crystal Dimension Missing (or Error) ... Please Check
PLAT094_ALERT_2_C Ratio of Maximum / Minimum Residual Density 3.44 Report
PLAT250_ALERT_2_C Large U3/U1 Ratio for Average U(i,j) Tensor 2.2 Note
PLAT906_ALERT_3_C Large K Value in the Analysis of Variance 2.428 Check
PLAT911_ALERT_3_C Missing FCF Refl Between Thmin & STh/L= 0.600 40 Report
PLAT913_ALERT_3_C Missing # of Very Strong Reflections in FCF 4 Note

Alert level G

PLAT199_ALERT_1_G Reported _cell_measurement_temperature (K) 293 Check
PLAT200_ALERT_1_G Reported _diffrn_ambient_temperature (K) 293 Check
PLAT720_ALERT_4_G Number of Unusual/Non-Standard Labels 1 Note
PLAT793_ALERT_4_G Model has Chirality at C6 (Centro SPGR) R Verify
PLAT883_ALERT_1_G No Info/Value for _atom_sites_solution_primary . Please Do !
PLAT912_ALERT_4_G Missing # of FCF Reflections Above STh/L= 0.600 26 Note
PLAT978_ALERT_2_G Number C-C Bonds with Positive Residual Density. 8 Info

5 ALERT level A = Most likely a serious problem - resolve or explain
1 ALERT level B = A potentially serious problem, consider carefully
10 ALERT level C = Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
7 ALERT level G = General information/check it is not something unexpected

13 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data
4 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient
3 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low
3 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion
0 ALERT type 5 Informative message, check

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Κατά τη διαδικασία αυτή θα πρέπει να λαμβάνουμε υπ' όψιν χαρακτηριστικά γεωμετρικά χαρακτηριστικά όπως αποστάσεις και γωνίες δεσμών:

Average Single Bond Lengths (Picometers)

| | H | C | N | O | F | Si | P | S | Cl | Br | I |
|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| H | 74 | 110 | 98 | 94 | 92 | 145 | 138 | 132 | 127 | 142 | 161 |
| C | | 154 | 147 | 143 | 141 | 194 | 187 | 181 | 176 | 191 | 210 |
| N | | | 140 | 136 | 134 | 187 | 180 | 174 | 169 | 184 | 203 |
| O | | | | 132 | 130 | 183 | 176 | 170 | 165 | 180 | 199 |
| F | | | | | 128 | 181 | 174 | 168 | 163 | 178 | 197 |
| Si | | | | | | 234 | 227 | 221 | 216 | 231 | 250 |
| P | | | | | | | 220 | 214 | 209 | 224 | 243 |
| S | | | | | | | | 208 | 203 | 218 | 237 |
| Cl | | | | | | | | | 200 | 213 | 232 |
| Br | | | | | | | | | | 228 | 247 |
| I | | | | | | | | | | | 266 |

Average Multiple Bond Lengths (Picometers)

| | | | |
|-------|-----|-------|-----|
| C = C | 134 | C ≡ C | 121 |
| C = N | 127 | C ≡ N | 115 |
| C = O | 122 | C ≡ O | 113 |
| N = O | 115 | N ≡ O | 108 |


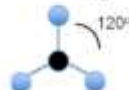
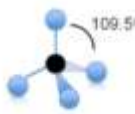


$$1 \text{ pm} = 1 \times 10^{-12} \text{ m}$$

THE ULTIMATE USEFUL SUMMARY SLIDE

| Number of Bonds | Number of Lone Pairs | Number of Charge Clouds | Molecular Geometry | Example |
|-----------------|----------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------|
| 2 | 0 | 2 | Linear | <chem>O=C=O</chem> |
| 3 | 0 | 3 | Trigonal planar | <chem>H2C=O</chem> |
| | 1 | | Bent | |
| 2 | 1 | One double bond | One of the S-O bonds is double | <chem>O=S=O</chem> |
| 4 | 0 | 4 | Tetrahedral | <chem>CH4</chem> |
| 3 | 1 | | Trigonal pyramidal | |
| 2 | 2 | | Bent | |
| | | All single bonds | | |



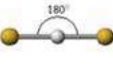



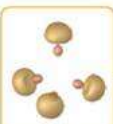





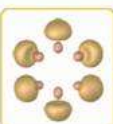

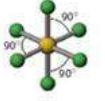
BOND ANGLE
ARRANGEMENT
SUBCLASS

Continued

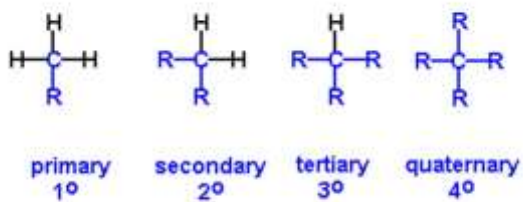
| | | |
|---|---|---|
| Three-Dimensional Molecular Shapes | Linear | Trigonal planar |
| |  |  |
| Tetrahedral | Pyramidal | Bent |
|  |  |  |

Hybrid Bonds

| Suffix | C bonds | Hybridization | Percent S:P | Bond Angle° | Bond Length (pm) | Bond Strength (kJ/mol) |
|--------|------------|-----------------|-------------|-------------|------------------|------------------------|
| -ane | C-C | sp ³ | 25:75 | 109.5 | 154 | 346 |
| -ene | C=C | sp ² | 33:66 | 120 | 134 | 612 |
| -yne | C≡C | sp | 50:50 | 180 | 120 | 835 |
| -yl | Side chain | | | | | |

| | Arrangement of Hybrid Orbitals | Geometric figure | Example |
|--|---|---|--|
| Two electron pairs <i>sp</i> |  |  Linear |  BeCl ₂ |
| Three electron pairs <i>sp²</i> |  |  Trigonal-planar |  BF ₃ |
| Four electron pairs <i>sp³</i> |  |  Tetrahedral |  CH ₄ |
| Five electron pairs <i>sp³d</i> |  |  Trigonal-bipyramidal |  PF ₅ |
| Six electron pairs <i>sp³d²</i> |  |  Octahedral |  SF ₆ |

Classification of Carbon Atoms



- Carbon atoms are classified as primary, secondary, tertiary, or quaternary based on the number of non-hydrogen groups attached to the sp^3 carbon.
- The hydrogen atoms attached to these carbon atoms are given the same designation.