



Università
Ca' Foscari
Venezia

Corso di Laurea magistrale
in Chimica e Tecnologie Sostenibili

Tesi di Laurea

—
Ca' Foscari
Dorsoduro 3246
30123 Venezia

Analisi vibrazionale e simulazioni computazionali dell'L-Asparagina

Relatore

Ch. Prof. Paolo Stoppa

Correlatore

Dr. Nicola Tasinato

Laureanda

Giulia Nascimbeni
Matricola 849595

Anno Accademico

2014 / 2015

Indice

1	Introduzione	1
1.1	Amminoacidi e proteine	1
1.2	Spettroscopia vibrazionale dei sistemi biologici	5
1.3	Simulazioni <i>ab initio</i> dei sistemi biologici	5
1.3.1	Dinamica molecolare <i>ab initio</i> dei sistemi biologici	6
1.4	L-Asparagina	6
2	Scopo della tesi	9
3	Spettroscopia vibrazionale	11
3.1	Trattazione classica	11
3.1.1	Vibrazione di una particella	11
3.1.2	Vibrazione di due particelle: molecola biatomica	12
3.1.3	Energia potenziale di un legame chimico	13
3.2	Soluzione quantistica dell'oscillatore armonico	14
3.3	Contributo anarmonico	14
3.4	Vibrazioni in una molecola poliatomiche	15
3.4.1	Tipi di bande	17
3.5	Spettroscopia infrarossa	17
3.5.1	Regole di selezione	19
3.6	Spettroscopia Raman	20
3.6.1	Regole di selezione	20
4	Metodi computazionali	23
4.1	Metodi <i>ab initio</i>	24
4.1.1	Approssimazione di Born - Oppenheimer	26
4.1.2	Metodo di Hartree - Fock	26
4.1.3	Spin elettronico e funzione d'onda determinatale	28
4.2	Basis set	30
4.3	Metodi DFT	32

4.3.1	Funzionali di correlazione e scambio	34
4.3.2	DFT-D	35
4.4	Dinamica molecolare	39
4.4.1	Dinamica molecolare di Born - Oppenheimer	40
4.5	Spettroscopia vibrazionale	42
4.5.1	Contributo di anarmonicità	44
4.5.2	Spettri vibrazionali da simulazioni AIMD	44
4.6	Modelli di solvatazione	45
5	L-Asparagina in soluzione acquosa	49
5.1	Caratterizzazione sperimentale	49
5.2	Caratterizzazione computazionale	49
5.2.1	Calcoli statici	50
5.2.2	Simulazioni di dinamica molecolare <i>ab initio</i>	51
5.3	Parametri strutturali	52
5.4	Analisi vibrazionale	62
5.4.1	Calcoli statici	65
5.4.2	Spettro sperimentale	68
5.4.3	Dinamica molecolare	78
6	L-Asparagina allo stato solido	89
6.1	Caratterizzazione sperimentale	89
6.2	Caratterizzazione computazionale	89
6.2.1	Calcoli statici	89
6.2.2	Simulazioni di dinamica molecolare <i>ab initio</i>	90
6.3	Parametri strutturali	91
6.4	Analisi vibrazionale	91
6.4.1	Calcoli statici	94
6.4.2	Spettro sperimentale	96
6.4.3	Dinamica molecolare	104
7	Conclusioni	107
A	Principali unità atomiche	109
B	Strutture dell'L-Asparagina·nH₂O ($n = 1 - 4$) ottenute per il modello di solvatazione esplicito	111

Elenco delle figure

3.1	Energia potenziale di un legame chimico.	13
3.2	Livelli vibrazionali in un oscillatore anarmonico.	15
3.3	Vibrazioni nelle molecole poliatomiche.	16
3.4	Interferometro di Michelson.	19
5.1	Spettrometro utilizzato per la registrazione dello spettro Raman. . . .	50
5.2	Struttura sperimentale dell'L-Asparagina in forma cristallina riportata in letteratura e relativa numerazione degli atomi.	53
5.3	Struttura dell'L-Asparagina ottimizzata a livello HF/6-311++G**. . .	53
5.4	Struttura dell'L-Asparagina ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD con inclusione implicita del solvente.	53
5.5	Struttura dell'L-Asparagina·4H ₂ O ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD e PCM. I legami tratteggiati indicano i legami a idrogeno tra l'L- Asparagina e le molecole di solvente.	55
5.6	Struttura dell'L-Asparagina·28H ₂ O realizzata partendo dal modello per l'H ₂ O liquida.	58
5.7	Struttura dell'L-Asparagina·28H ₂ O dopo l'ottimizzazione con CP2K. . .	58
5.8	Confronto tra gli spettri Raman dell'L-Asparagina in soluzione acquosa calcolati con i 4 modelli di solvatazione statici.	66
5.9	Spettro Raman sperimentale dell'L-Asparagina in soluzione acquosa (0.07 M) nella regione tra 1800 e 900 cm ⁻¹	70
5.10	Spettro Raman sperimentale dell'L-Asparagina in soluzione acquosa (0.07 M) nella regione tra 1200 e 400 cm ⁻¹	71
5.11	Confronto tra gli spettri Raman simulati e sperimentale (0.07 M) dell'L- Asparagina in soluzione acquosa nella regione tra 1800 e 900 cm ⁻¹ . . .	72
5.12	Confronto tra gli spettri Raman simulati e sperimentale (0.07 M) dell'L- Asparagina in soluzione acquosa nella regione tra 1200 e i 400 cm ⁻¹ . .	73

5.13	Spettri Raman tra 4000 e 400 cm^{-1} ottenuti dalla simulazione di dinamica molecolare <i>ab initio</i> . Lo spettro L-Asparagina \cdot 28H ₂ O è quello riferito all'intero sistema solvatato. Lo spettro della sola L-Asparagina considera invece solo il contributo della molecola.	80
5.14	Confronto tra lo spettro Raman sperimentale e quello simulato tramite dinamica molecolare per il sistema L-Asparagina \cdot 28H ₂ O nella regione tra 1800 e 900 cm^{-1}	81
5.15	Confronto tra lo spettro Raman sperimentale e quello simulato tramite dinamica molecolare per il sistema L-Asparagina \cdot 28H ₂ O nella regione tra i 1200 e i 400 cm^{-1}	82
5.16	Esempio dello spostamento del picco corrispondente al modo normale di vibrazione ν_{32} in seguito alla dinamica molecolare e all'interazione con il solvente.	83
5.17	Spettro Raman dell'L-Asparagina \cdot 28H ₂ O tra 1300 e 500 cm^{-1} simulato mediante AIMD. La banda a 929 cm^{-1} è data dalla somma delle code dei modi ν_{26} e ν_{27}	86
5.18	Spettro Raman dell'L-Asparagina \cdot 28H ₂ O tra 1000 e 500 cm^{-1} simulato mediante AIMD. La banda a 700 cm^{-1} è data dalla somma delle code dei modi ν_{31} , ν_{32} e ν_{33}	87
5.19	Spettro Raman dell'L-Asparagina \cdot 28H ₂ O tra 900 e 300 cm^{-1} simulato mediante AIMD. La banda a 624 cm^{-1} è data dalla somma delle code dei modi ν_{33} e ν_{34}	87
6.1	Struttura cristallina dell'L-Asparagina ottenuta dai Raggi X [28]. . .	92
6.2	Struttura cristallina ottimizzata a livello B3LYP-D2. I legami tratteggiati indicano i legami a idrogeno intermolecolari.	92
6.3	Spettro infrarosso dell'L-Asparagina cristallina tra 400 e 4000 cm^{-1} a: 0.5 mg di L-Asparagina in 200 mg di KBr; b: 1.0 mg di L-Asparagina in 200 mg di KBr; c: 1.5 mg di L-Asparagina in 200 mg di KBr.	99
6.4	Spettro infrarosso dell'L-Asparagina cristallina (1.5 mg) tra 4000 e 2000 cm^{-1}	100
6.5	Spettro infrarosso dell'L-Asparagina cristallina (1.5 mg) tra 1800 e 1000 cm^{-1}	100
6.6	Spettro infrarosso dell'L-Asparagina cristallina (1.5 mg) tra 1000 e 400 cm^{-1}	101

6.7	Spettro infrarosso dell'L-Asparagina cristallina tra 200 e 400 cm^{-1} . È stato riportato anche il background (in unità arbitrarie) per permettere l'individuazione degli assorbimenti relativi all'L-Asparagina.	101
6.8	Confronto tra lo spettro infrarosso sperimentale e quello simulato a livello B3LYP-D2 con approccio periodico dell'L-Asparagina tra 4000 e 400 cm^{-1} . Per facilitare il confronto, lo spettro simulato è stato traslato verso il basso.	103
6.9	Confronto tra lo spettro sperimentale e quelli simulati, a livello B3LYP-D2 con approccio periodico e a livello BLYP-D3 con la dinamica molecolare, dell'L-Asparagina solida tra 400 e 200 cm^{-1} . Per facilitare il confronto, gli spettri simulati sono stati traslati verso il basso.	104
6.10	Confronto tra lo spettro sperimentale e quello simulato con la dinamica molecolare dell'L-Asparagina solida tra 4000 e 4000 cm^{-1} . Per facilitare il confronto, lo spettro simulato è stato traslato verso il basso.	105
B.2	Struttura dell'L-Asparagina-2H ₂ O ottimizzata a livello PBE0/SNSD.	111
B.1	Struttura dell'L-Asparagina-H ₂ O ottimizzata a livello PBE0/SNSD. .	112
B.3	Struttura dell'L-Asparagina-3H ₂ O ottimizzata a livello PBE0/SNSD.	112
B.4	Struttura dell'L-Asparagina-4H ₂ O ottimizzata a livello PBE0/SNSD.	112
B.5	Struttura dell'L-Asparagina-4H ₂ O ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD.	113

Elenco delle tabelle

1.1	Formule di struttura dei 20 L-amminoacidi codificanti.	2
5.1	Parametri strutturali dell'L-Asparagina. Confronto tra molecola in fase gas e modello di solvatazione implicito.	54
5.2	Parametri strutturali dell'L-Asparagina. Confronto tra molecola in fase gas e modelli di solvatazione statici.	56
5.3	Parametri strutturali dell'L-Asparagina in soluzione acquosa. Confronto tra i modelli di solvatazione statici e dinamica molecolare.	60
5.4	Parametri strutturali dell'L-Asparagina. Confronto tra struttura sperimentale e modelli di solvatazione considerati.	61
5.5	Le 51 coordinate interne dell'L-Asparagina utilizzate nel calcolo della TED.	62
5.6	Modi normali di vibrazione dell'L-Asparagina	63
5.7	Distribuzione di energia totale per l'L-Asparagina	64
5.8	Frequenze di vibrazione dell'L-Asparagina in soluzione acquosa calcolate con i metodi statici.	67
5.9	Bande sperimentali e intensità relative osservate nello spettro Raman sperimentale dell'L-Asparagina in soluzione acquosa.	69
5.10	Confronto tra gli assorbimenti individuati in questo lavoro e quelli presenti in letteratura [34]	69
5.11	Confronto tra le frequenze di vibrazione sperimentali e quelle ottenute con il modello di solvatazione implicito per l'L-Asparagina in soluzione acquosa.	74
5.12	Confronto tra le frequenze di vibrazione sperimentali e quelle ottenute con il modello esplicito per l'L-Asparagina in soluzione acquosa.	75
5.13	Confronto tra le frequenze sperimentali e quelle ottenute con il modello esplicito con dispersion corrections per l'L-Asparagina in soluzione acquosa.	76
5.14	Confronto tra le frequenze di vibrazione sperimentali e quelle ottenute con il modello misto per l'L-Asparagina in soluzione acquosa.	77

5.15	Frequenze di vibrazione sperimentali e calcolate mediante dinamica molecolare per l'L-Asparagina in soluzione acquosa.	79
5.16	Frequenze calcolate mediante dinamica molecolare e posizione dei massimi di assorbimento dei modi normali considerati singolarmente, nello spettro della sola L-Asparagina e nello spettro globale.	84
5.17	Confronto tra i dati sperimentali e quelli ottenuti dalla dinamica molecolare delle vibrazioni fondamentali dell'L-Asparagina in soluzione acquosa.	85
6.1	Parametri strutturali dell'L-Asparagina cristallina. Confronto tra i dati sperimentali e quelli calcolati.	93
6.2	Frequenze e intensità IR armoniche dell'L-Asparagina cristallina calcolate a livello B3LYP-D2 secondo l'approccio periodico.	95
6.3	Confronto tra i numeri d'onda calcolati per l'L-Asparagina in fase gas e in fase cristallina.	97
6.4	Numeri d'onda e intensità relative delle bande individuate nello spettro infrarosso.	98
6.5	Confronto tra le frequenze di vibrazione dell'L-Asparagina cristallina calcolate per il sistema periodico e quelle sperimentali.	102
6.6	Frequenze vibrazionali dell'L-Asparagina solida misurate sullo spettro infrarosso sperimentale e su quello simulato tramite dinamica molecolare.	106

Capitolo 1

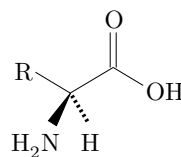
Introduzione

1.1 Amminoacidi e proteine

Le proteine sono le macromolecole biologiche più importanti presenti nelle cellule e svolgono molteplici ruoli indispensabili sia per la struttura sia per la funzionalità degli organismi viventi. Esistono migliaia di tipi di proteine, che differiscono nelle dimensioni e nelle funzioni. Negli organismi viventi le proteine partecipano alla trasmissione e all'espressione dell'informazione genetica e alla sintesi di materiali strutturali, come muscoli, membrane, organelli e altre strutture cellulari, e di molecole biologicamente attive, come ormoni, enzimi, anticorpi, veleni e antibiotici. Sono inoltre i costituenti di strutture animali come corna e zanne, esoscheletri degli insetti, seta e capelli.

Le proteine sono dei biopolimeri le cui proprietà fisiche e chimiche sono determinate dai monomeri relativamente semplici che le costituiscono, gli amminoacidi. Come deducibile dal nome, gli amminoacidi sono molecole caratterizzate dalla presenza di una funzionalità carbossilica e una amminica. In natura è stata scoperta l'esistenza di più di 700 amminoacidi, ma solo 20 di essi, riportati in tabella 1.1, sono coinvolti nella sintesi delle proteine e sono pertanto definiti codificanti. Il primo amminoacido codificante scoperto è l'L-Asparagina, isolata nel 1806, l'ultimo l'L-treonina, isolata nel 1938.

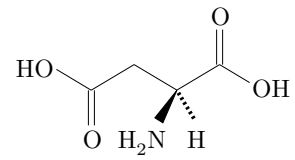
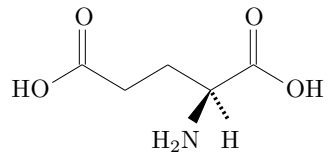
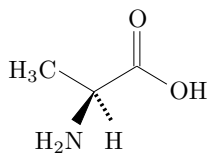
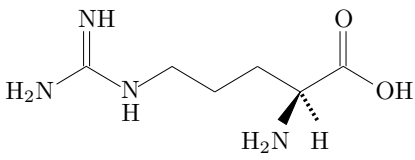
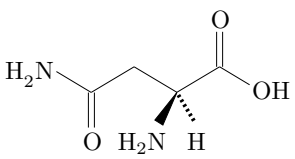
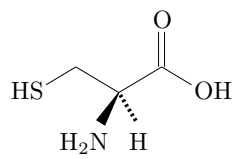
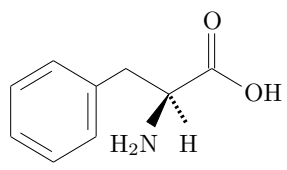
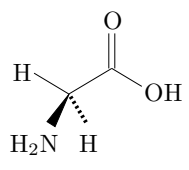
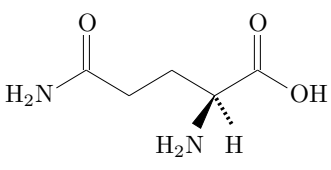
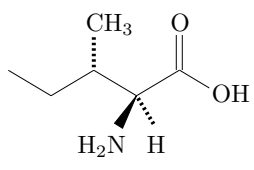
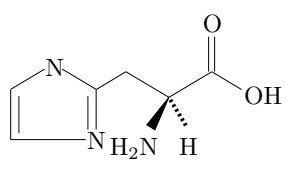
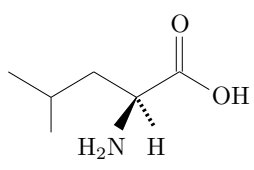
Tutti i 20 amminoacidi codificanti sono α -amminoacidi: il gruppo carbossilico e il gruppo amminico sono legati allo stesso atomo di carbonio (figura 1-1).



1-1

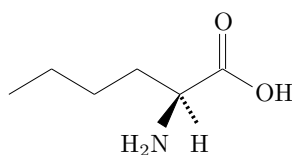
Struttura di un generico amminoacido.

Tabella 1.1: Formule di struttura dei 20 L-amminoacidi codificanti.

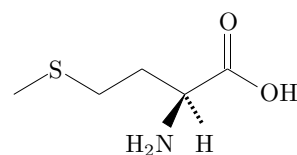
	
Acido L-Aspartico	Acido L-Glutammico
	
L-Alanina	L-Arginina
	
L-Asparagina	L-Cisteina
	
L-Fenilalanina	L-Glicina
	
L-Glutamina	L-Isoleucina
	
L-Istidina	L-Leucina

Continua nella prossima pagina

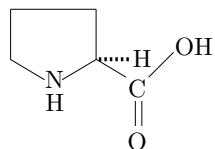
Continua dalla pagina precedente



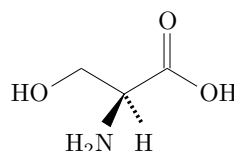
L-Lisina



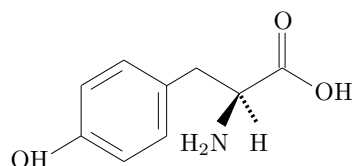
L-Metionina



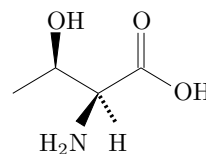
L-Prolina



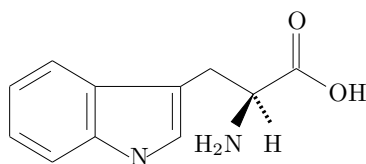
L-Serina



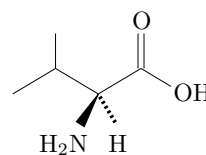
L-Tirosina



L-Treonina



L-Triptofano



L-Valina

Si conclude dalla pagina precedente

Come riportato in figura 1-1, al carbonio α sono legati un gruppo $-\text{COOH}$, un gruppo $-\text{NH}_2$, un atomo di idrogeno e un gruppo definito residuo e indicato con R, la cui natura determina dimensione, struttura, proprietà elettriche e solubilità degli amminoacidi in acqua. Nella glicina il gruppo R è un altro atomo di idrogeno. Negli altri 19 amminoacidi codificanti il carbonio α è invece uno stereocentro. Per quasi tutti i composti biologici chirali in natura è sintetizzato un solo stereoisomero. Per gli amminoacidi codificanti è sintetizzato solo l'enantiomero L, mentre la presenza di enantiomeri D è molto rara. Alcuni D-amminoacidi sono presenti in alcuni peptidi e antibiotici prodotti dagli animali non mammiferi, D-serina e D-aspartato sono presenti nei tessuti cerebrali, D-alanina e D-glutammato fanno parte delle membrane cellulari

dei batteri Gram positivi.

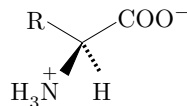
Nonostante gli amminoacidi siano comunemente rappresentati in forma neutra, con i gruppi carbossilico e amminico intatti, la loro struttura allo stato solido e in soluzione acquosa risulta zwitterionica: il gruppo carbossilico perde un protone e il gruppo amminico viene protonato (figura 1-2).

La natura dipolare degli amminoacidi è responsabile delle loro particolari proprietà:

- punti di fusione particolarmente elevati, generalmente superiori ai 200 °C;
- solubilità molto maggiore in acqua rispetto ai comuni solventi organici;
- momenti di dipolo molto maggiori rispetto alle ammine o agli acidi semplici
- minor acidità rispetto agli acidi carbossilici e minor basicità rispetto alle ammine.

. Gli organismi animali sono in grado di sintetizzare solo 10 dei 20 amminoacidi codificanti. I rimanenti 10 devono essere quindi assunti tramite la dieta e sono detti amminoacidi essenziali: leucina, valina, isoleucina, lisina, metionina, treonina, fenilalanina, istidina e triptofano.

Oltre ad essere impiegati nella sintesi delle proteine, gli amminoacidi sono indispensabili anche per la sintesi di diverse piccole molecole biologiche, tra le quali alcaloidi, purine e pirimidine, porfirine, creatina, urea, ormoni e neurotrasmettitori. Anche i derivati degli amminoacidi svolgono importanti funzioni biologiche. La decarbossilazione enzimatica produce per esempio ammine biologiche, come l'acido γ -amminobutirrico (GABA), dalla decarbossilazione del glutammato, e l'istamina, dalla decarbossilazione dell'istidina.



1-2

Struttura di un generico amminoacido in forma zwitterionica.

1.2 Spettroscopia vibrazionale dei sistemi biologici

La comprensione dei processi alla base delle funzioni biologiche si basa su tecniche che permettano un'indagine a livello molecolare. A tal proposito, la spettroscopia vibrazionale infrarossa e Raman è largamente utilizzata per ottenere informazioni sia strutturali sia conformazionali sulle molecole di interesse biologico [1] - [9].

Gli amminoacidi sono tra le biomolecole più semplici e pertanto lo studio e la comprensione dettagliati delle loro proprietà e interazioni sono essenziali per capire il comportamento sia degli amminoacidi in quanto tali sia di biomolecole di dimensioni maggiori. Una tale indagine può fornire informazioni approfondite di grande valore anche per la comprensione delle caratteristiche e della reattività di queste molecole in relazione ai diversi intorni chimici in cui avvengono i processi biologici. La conoscenza degli spettri vibrazionali degli amminoacidi si è dimostrata infatti uno strumento molto utile nello studio di un gran numero di reazioni biochimiche in cui sono coinvolti proteine ed enzimi [10].

La natura fortemente polare degli amminoacidi ha determinato il crescente interesse verso lo studio di tali molecole in fase condensata, che ne influenza in maniera sostanziale la dinamica vibrazionale e le proprietà strutturali. Dal punto di vista sperimentale, benché le reazioni fisiologiche avvengano in fase acquosa e le interazioni con essa non possano essere ignorate, gli studi sono spesso effettuati su molecole allo stato solido [11] e non forniscono perciò informazioni inerenti alle interazioni con l'ambiente circostante. Gli studi vibrazionali in fase acquosa non sono però semplici da effettuare, poiché gli assorbimenti dovuti all'acqua si presentano in genere molto intensi e coprono quelli relativi al soluto.

1.3 Simulazioni *ab initio* dei sistemi biologici

Per l'indagine dei fenomeni biologici a livello molecolare è indispensabile la conoscenza della struttura elettronica dei sistemi. A tal fine numerosi gruppi di ricerca hanno riportato studi di tipo teorico-computazionale inerenti agli amminoacidi in fase gas, in fase liquida e in fase solida [12] - [15]. Dal punto di vista computazionale, uno degli aspetti che necessitano di maggior attenzione è la simulazione della fase acquosa. Le molecole di solvente possono essere comprese nelle simulazioni esplicitamente, con il vantaggio di indagare le interazioni specifiche soluto - solvente. Tale metodo presenta però l'inconveniente di richiedere significative risorse computazionali ed è spesso sostituito da un approccio alternativo, che prevede un trattamento implicito del solvente.

1.3.1 Dinamica molecolare *ab initio* dei sistemi biologici

Una delle maggiori applicazioni dei metodi di dinamica molecolare *ab initio* è la simulazione di reazioni biologiche. A titolo di esempio, le reazioni enzimatiche prevedono rottura e formazione di legami e per il loro trattamento non si può perciò prescindere da un approccio di tipo quanto-meccanico [16].

I primi studi di dinamica molecolare *ab initio* applicata a sistemi biologici risalgono ai primi anni '90, quando Car, Parrinello e i loro collaboratori hanno descritto le proprietà strutturali, elettroniche e dinamiche dell'acqua e di altri sistemi coinvolgenti legami a idrogeno [17]. Alla simulazione dello spettro IR dell'acqua liquida del 1997 [18] e del ghiaccio ad alte pressioni del 1998 [19] è seguita quella dello spettro Raman del ghiaccio del 2002 [20].

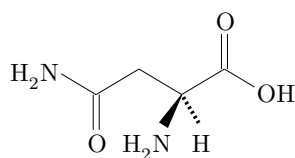
In seguito l'utilizzo della dinamica molecolare *ab initio* per l'analisi di sistemi biologici si è notevolmente diffuso [21], e molto importanti sono stati gli studi finalizzati al confronto dei dati spettroscopici vibrazionali sperimentali con quelli teorici [18] [20].

1.4 L-Asparagina

L'oggetto della presente tesi è lo studio vibrazionale e computazionale dell'L-Asparagina, sia in soluzione acquosa sia, anidra, allo stato di solido cristallino.

L'L-Asparagina (figura 1-3) è un amminoacido codificante non essenziale isolato per la prima volta nel 1806 dal succo degli asparagi [26] e ha formula molecolare $C_4H_8N_2O_3$. Il suo ruolo è metabolicamente essenziale poiché è coinvolta nel controllo delle funzioni cellulari nei tessuti cerebrale e nervoso e nell'interconversione degli amminoacidi nel fegato. Rappresenta inoltre un'importante riserva di azoto ed è coinvolta nella biosintesi delle glicoproteine [27].

Il composto ha massa molare pari a $132.12 \text{ g mol}^{-1}$ e punto di fusione di $235 \text{ }^\circ\text{C}$. Si presenta come una polvere bianca ed è solubile in acqua e in soluzioni acquose acide e basiche.



1-3

Formula di struttura dell'amminoacido L-Asparagina.

In letteratura sono presenti diversi studi inerenti all’L-Asparagina, sia allo stato solido sia in soluzione acquosa. L’L-Asparagina anidra è stata caratterizzata attraverso misure di diffrazione tramite raggi X a cristallo singolo [28], che confermano che allo stato solido l’amminoacido è in forma zwitterionica. Per quanto riguarda l’analisi spettroscopica, in uno studio recente [29] sono riportati i dati ottenuti da misure di spettroscopia infrarossa e Raman sul composto allo stato solido, confrontati con dati teorici ottenuti con metodi *ab initio* applicati allo stato solido. L’L-Asparagina allo stato solido è stata indagata per mezzo della spettroscopia vibrazionale infrarossa e Raman anche in uno studio precedente [30], che riporta il confronto tra L-Asparagina e ND_3^+ , ND_2 -L-Asparagina. L’L-Asparagina e il suo derivato pentadeuterato sono stati caratterizzati anche con metodi semiempirici [31, 32]. Nel lavoro di Pawlukojć et al. la simulazione vibrazionale effettuata sull’L-Asparagina è stata confrontata con gli spettri infrarosso e Raman registrati sull’L-Asparagina monoidrata [31]. Del composto è stato registrato anche lo spettro infrarosso con la tecnica FT-IR “matrix isolation” [33]. Lo spettro Raman è stato registrato anche per il composto in soluzione acquosa: in uno studio del 1997 [34] sono state analizzate soluzioni in H_2O e D_2O di L-Asparagina e di ND_3^+ , ND_2 -L-Asparagina e i risultati sperimentali sono stati confrontati con quelli teorici ottenuti con metodi *ab initio* a livello HF/6-311+G* e inclusione implicita del solvente. Diversi studi inoltre riportano dati vibrazionali ottenuti solo a livello teorico. Metodi *ab initio* sono stati applicati all’L-Asparagina isolata [35] e sono stati utilizzati per il confronto tra L-Asparagina isolata e solvatata, con trattamento implicito del solvente [36].

Per la stesura di questo capitolo sono stati consultati anche i riferimenti [37] - [40].

Capitolo 2

Scopo della tesi

Lo scopo della presente tesi è la caratterizzazione vibrazionale del l’L-Asparagina anidra, a livello sperimentale e a livello teorico. La molecola è stata analizzata sia in fase solida sia in soluzione acquosa.

Per il composto solido è stato registrato lo spettro infrarosso e sono state assegnate le bande principali. L’assegnazione è stata supportata da simulazioni teoriche condotte con metodi statici *ab initio* e metodi di dinamica molecolare *ab initio*.

Per il composto in soluzione acquosa è stato registrato lo spettro Raman e sono state assegnate le bande principali. L’assegnazione è stata effettuata con l’ausilio di calcoli effettuati con metodi statici *ab initio*, con calcolo anarmonico delle frequenze, e metodi di dinamica molecolare *ab initio*. Per quanto riguarda i calcoli statici il solvente è stato trattato sia a livello esplicito, sia a livello implicito, sia con approccio misto. A livello di dinamica molecolare il solvente è stato esplicitamente incluso nelle simulazioni e sono state adottate le condizioni periodiche al contorno.

Considerando lo stato dell’arte per quanto riguarda la caratterizzazione vibrazionale dell’L-Asparagina anidra, un ulteriore approfondimento era auspicabile per diverse ragioni.

Per quanto riguarda il composto solido, l’assegnazione delle bande dello spettro infrarosso riportata nel riferimento [29] è stata effettuata con il supporto di calcoli eseguiti a livello armonico con metodi *ab initio* applicati allo stato solido. Gli studi [31] e [32] riportano un’assegnazione supportata da calcoli semiempirici condotti a livello armonico e introducono correzioni anarmoniche per mezzo di “scaling factor”. Inoltre, l’assegnazione riportata in [31] è stata effettuata confrontando i valori sperimentali dell’L-Asparagina monoidrata con i valori calcolati per l’L-Asparagina anidra. L’assegnazione effettuata nella presente tesi è stata invece supportata da calcoli eseguiti sia con metodi statici *ab initio* applicati allo stato solido sia con metodi di dinamica molecolare *ab initio* con condizioni periodiche al contorno per la simula-

zione del sistema cristallino. Per i calcoli statici sono stati inoltre adottati un livello di teoria più raffinato e l'approccio anarmonico. Per questi motivi la caratterizzazione del composto allo stato solido risulta decisamente più accurata.

Per il composto in soluzione acquosa, l'assegnazione delle bande dello spettro Raman riportato nel riferimento [34] è stata supportata da calcoli *ab initio* con trattamento implicito del solvente nell'ambito dell'approssimazione armonica [34, 36]. Il contributo di anarmonicità è stato incluso per mezzo di scaling factor. Per quanto riguarda i metodi statici *ab initio* utilizzati nella presente tesi, sono stati utilizzati livelli di teoria più raffinati e nei calcoli è stata inclusa l'anarmonicità. In più, a differenza degli studi riportati in letteratura, sono stati indagati anche gli effetti della simulazione esplicita del solvente e di un approccio misto per modellare la solvatazione. Gli effetti della solvatazione sono stati inoltre analizzati anche tramite metodi di dinamica molecolare *ab initio*. Anche per la molecola in soluzione sono quindi stati applicati dei metodi che portano a risultati sicuramente più accurati.

Oltre all'utilizzo di livelli di teoria più raffinati e all'inclusione dell'anarmonicità, nei calcoli statici sono state utilizzate anche le "dispersion corrections", per la modellazione delle interazioni non covalenti. Poiché comprendono anche i legami a idrogeno, le interazioni non covalenti hanno particolare importanza sia per l'L-Asparagina allo stato solido sia per la molecola in soluzione.

Per la prima volta sono stati applicati allo studio dell'L-Asparagina metodi di dinamica molecolare *ab initio*. Il confronto tra spettri vibrazionali teorici e sperimentali darà delle informazioni utili sulla qualità, anche in riferimento ai metodi statici, dei risultati forniti da tale tecnica nella simulazione sia di sistemi solidi sia di soluzioni acquose.

Capitolo 3

Spettroscopia vibrazionale

La spettroscopia vibrazionale è una tecnica di indagine strutturale che si basa sulla variazione del momento di dipolo, nel caso della spettroscopia infrarossa, o della polarizzabilità, nel caso della spettroscopia Raman, delle molecole, in seguito alla loro interazione con la radiazione elettromagnetica. Per la spettroscopia infrarossa la frequenza della radiazione utilizzata è compresa tra 100 e $12\,500\text{ cm}^{-1}$, mentre per la spettroscopia Raman sono utilizzate sorgenti che emettono radiazioni nelle regioni dell'UV-visibile e del vicino infrarosso. Si ha interazione poiché gli atomi che compongono le molecole vibrano alle frequenze corrispondenti a tale regione spettrale.

3.1 Trattazione classica

3.1.1 Vibrazione di una particella

Si consideri un sistema costituito da una particella sferica di massa m e una molla caratterizzata da una certa costante di forza k , che ne misura l'elasticità. All'equilibrio, la sfera occupa la posizione $x = 0$. Se la particella subisce uno spostamento rispetto alla posizione di equilibrio, risente di una forza f proporzionale e opposta allo spostamento:

$$f = -kx \quad (3.1)$$

dove x è lo spostamento e la costante di proporzionalità è la costante di forza k . La 3.1 è nota come legge di Hooke. L'energia potenziale del sistema è data da

$$U(x) = \frac{1}{2}kx^2. \quad (3.2)$$

$U(x)$ ha quindi un andamento parabolico. Sostituendo la 3.1 nell'equazione del moto di Newton $f = m\ddot{x}$ si ha

$$-kx = m\ddot{x}. \quad (3.3)$$

La soluzione dell'equazione differenziale 3.3 ha la forma di una funzione periodica

$$x = A \cos(2\pi\nu t + \varphi) \quad (3.4)$$

dove A è l'ampiezza, ν è la frequenza e φ è la fase. Sostituendo la 3.4 nella 3.3 si ottiene che

$$k = 4\pi^2\nu^2 m \quad (3.5)$$

da cui segue che

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}}. \quad (3.6)$$

Una particella di massa m legata ad una molla con costante di forza k vibra quindi con una frequenza ν .

3.1.2 Vibrazione di due particelle: molecola biatomica

Una molecola biatomica può essere approssimata con due particelle sferiche di massa m_1 e m_2 connesse da una molla di costante di forza k . Indicando con x_1 e x_2 gli spostamenti dalla posizione di equilibrio delle masse m_1 e m_2 rispettivamente, l'energia potenziale è data da

$$U(x) = \frac{1}{2}k(x_2 - x_1)^2. \quad (3.7)$$

Applicando l'equazione del moto di Newton si ottiene il seguente sistema di equazioni differenziali:

$$\begin{cases} m_1\ddot{x}_1 - k(x_2 - x_1) = 0 \\ m_2\ddot{x}_2 + k(x_2 - x_1) = 0 \end{cases} \quad (3.8)$$

la cui soluzione è

$$\begin{cases} x_1 = A_1 \cos(2\pi\nu t + \varphi) \\ x_2 = A_2 \cos(2\pi\nu t + \varphi). \end{cases} \quad (3.9)$$

Si ricavano i seguenti due valori per ν :

$$\nu_1 = 0, \quad \nu_2 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}. \quad (3.10)$$

μ è la massa ridotta del sistema ed è definita come

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}. \quad (3.11)$$

In una molecola biatomica può esserci solo una vibrazione: la soluzione $\nu = 0$ corrisponde allo spostamento delle due particelle della stessa distanza nella stessa direzione ed è quindi una traslazione.

Un sistema in cui l'andamento di $U(x)$ è trattato come una parabola è definito oscillatore armonico.

3.1.3 Energia potenziale di un legame chimico

Nella figura 3.1 è riportata l'energia potenziale di legame di una molecola biatomica in funzione della distanza tra i due atomi. Un'espressione matematica per descrivere la forma della funzione è stata definita da Morse:

$$U(q) = D_e(1 - e^{-\beta q})^2 \quad (3.12)$$

dove q indica la variazione della lunghezza del legame rispetto alla sua distanza di equilibrio ($q_{eq} = 0$), D_e è l'energia di dissociazione e β è una costante legata alla curvatura della funzione. Poiché in generale le vibrazioni di una molecola si possono considerare (piccoli) spostamenti degli atomi rispetto alle posizioni di equilibrio, la 3.12 può essere espansa in serie di Maclaurin:

$$U(q) = U(q_{eq}) + \left(\frac{dU}{dq}\right)_{q=q_{eq}} q + \frac{1}{2} \left(\frac{d^2U}{dq^2}\right)_{q=q_{eq}} q^2 + \dots \quad (3.13)$$

Definendo $U(q_{eq}) = 0$ ed essendo $U(q_{eq})$ un punto di minimo, troncando la 3.13 al secondo ordine si ha

$$U(q) = \frac{1}{2} \left(\frac{d^2U}{dq^2}\right)_{q=q_{eq}} q^2 \quad (3.14)$$

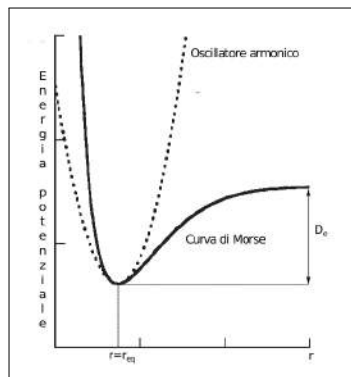


Figura 3.1: Energia potenziale di un legame chimico.

Ponendo $(d^2U/dq^2) = k$, la 3.14 è identica alla 3.2, ottenuta per il modello dell'oscillatore armonico.

Come si evince dalla figura 3.1 la curva dell'energia potenziale può essere ben approssimata con una parabola solo vicino al punto di minimo.

3.2 Soluzione quantistica dell'oscillatore armonico

L'equazione di Schrödinger per una molecola biatomica di massa ridotta μ soggetta a un potenziale armonico $U(q) = \frac{1}{2}kq^2$ è

$$-\frac{\hbar^2}{2\mu} \frac{d^2\psi}{dq^2} + \left(\frac{1}{2}kq^2\right)\psi = \varepsilon\psi. \quad (3.15)$$

Gli autovalori e le autofunzioni soluzione sono caratterizzati da un numero intero $v = 0, 1, 2, \dots$, detto numero quantico vibrazionale. Le energie permesse sono così definite:

$$\varepsilon_v = \left(v + \frac{1}{2}\right) \hbar \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (3.16)$$

$v = 0$ corrisponde allo stato vibrazionale fondamentale. La 3.16 può essere scritta anche come

$$\varepsilon_v = \left(v + \frac{1}{2}\right) h\omega \quad (3.17)$$

con $\omega = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$.

In spettroscopia esistono delle restrizioni alle possibili transizioni delle molecole tra stati a diversa energia dette regole di selezione. Per la spettroscopia vibrazionale si ha che una transizione è permessa se $\Delta v = \pm 1$. Si ha quindi che tra i vari livelli vibrazionali esiste una differenza energetica $\Delta\varepsilon$ pari a

$$\Delta\varepsilon = \varepsilon_{v+1} - \varepsilon_v = \hbar \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (3.18)$$

3.3 Contributo anarmonico

L'approssimazione armonica non è però accurata, sia perché non include l'energia di dissociazione e non descrive quindi la rottura dei legami, sia perché prevede che la distanza tra due atomi possa diminuire fino alla loro compenetrazione. Una migliore

approssimazione può essere ottenuta troncando la serie di Taylor-Maclaurin della 3.13 al quarto ordine:

$$U = \frac{1}{2!} \left(\frac{d^2U}{dq^2} \right)_{q=0} q^2 + \frac{1}{3!} \left(\frac{d^3U}{dq^3} \right)_{q=0} q^3 + \frac{1}{4!} \left(\frac{d^4U}{dq^4} \right)_{q=0} q^4. \quad (3.19)$$

Un sistema descritto con tale approssimazione è definito oscillatore anarmonico. Sostituendo l'espressione del potenziale della 3.19 nell'equazione di Schrödinger si ottiene la seguente espressione per l'energia:

$$\varepsilon_v = \tilde{\nu}_e \left(v + \frac{1}{2} \right) - \tilde{\nu}_e x_e \left(v - \frac{1}{2} \right)^2. \quad (3.20)$$

$\tilde{\nu}$ è il simbolo del numero d'onda e indica una frequenza misurata in cm^{-1} . $\tilde{\nu}_e$ è definita come $\tilde{\nu}_e = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$ ed esprime la frequenza armonica in cm^{-1} . Il termine $\tilde{\nu}_e x_e$ è noto come costante di anarmonicità.

I livelli vibrazionali previsti secondo l'approssimazione anarmonica sono riportati nella figura 3.2, dalla quale si evince come la differenza energetica tra i livelli v e $v+1$ diminuisca all'aumentare di v , mentre secondo l'approssimazione armonica i veri livelli vibrazionali sono previsti equamente distanziati. Inoltre, sperimentalmente si osservano anche deboli transizioni che violano la regola di selezione $\Delta v = \pm 1$.

3.4 Vibrazioni in una molecola poliatomica

In una molecola poliatomica ogni atomo possiede tre gradi di libertà, corrispondenti alle tre direzioni dello spazio. Una molecola formata da N atomi possiede quindi $3N$

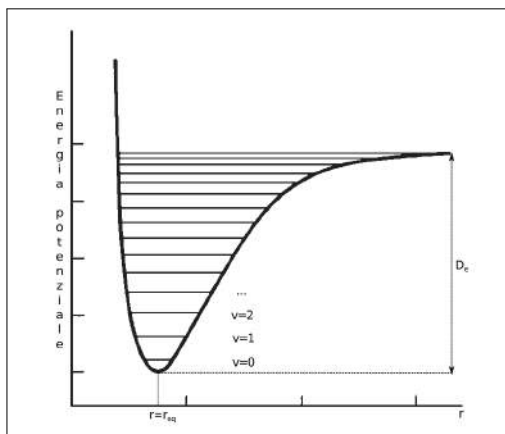


Figura 3.2: Livelli vibrazionali in un oscillatore anarmonico.

gradi di libertà. Di questi, 3 sono gradi di libertà traslazionali e 3 rotazionali. I gradi di libertà vibrazionali sono i rimanenti $3N - 6$. Nelle molecole lineari, poiché sono possibili solo due rotazioni nello spazio, i gradi di libertà vibrazionali sono $3N - 5$.

Le vibrazioni di una molecola poliatomiche piuttosto che tramite coordinate cartesiane sono più convenientemente descritte attraverso un sistema di coordinate interne, corrispondenti a parametri strutturali quali distanze di legame, angoli piani e angoli diedri. Dalla combinazione lineare delle coordinate interne si ottengono $3N - 6$ (o $3N - 5$ per le molecole lineari) modi normali di vibrazione, definiti come vibrazioni di tutti i nuclei attorno alle loro posizioni di equilibrio alla stessa frequenza. I nuclei vibrano in fase ma l'ampiezza della vibrazione è diversa per ogni nucleo. Variazioni delle distanze di legame sono indicate col termine stretching e il simbolo ν . Variazioni degli angoli di legame si indicano generalmente con il termine bending. Si distinguono bending nel piano, indicati col simbolo δ , e bending fuori dal piano, contrassegnati con il simbolo γ . Le vibrazioni di bending possono essere ulteriormente suddivise in rocking, wagging, twisting e scissoring (vedi figura 3.3).

In generale, un modo normale coinvolge il movimento di tutti gli atomi di una molecola. Vibrazioni che coinvolgono forti accoppiamenti tra movimenti di stretching o bending sono note come vibrazioni di scheletro. Ci sono però dei casi in cui il movimento è circoscritto a una sola parte della molecola. Per esempio, nel caso di uno stretching tra un atomo pesante e un atomo leggero di un gruppo terminale, la vibrazione corrispondente non è influenzata dal resto della molecola. Tali vibrazioni indipendenti dall'intorno molecolare sono associate ai gruppi funzionali e il numero d'onda corrispondente è definito numero d'onda di gruppo o frequenza di gruppo. Le frequenze di gruppo cadono nella regione compresa tra i 3700 e i 1500 cm^{-1} circa, detta anche regione dei gruppi funzionali. Le vibrazioni di scheletro cadono invece nella regione compresa tra i 1300 e i 400 cm^{-1} . Poiché le vibrazioni di scheletro sono caratteristiche per ogni molecola, la regione in cui cadono è detta "fingerprinting region".

Tralasciando il contributo dell'anarmonicità, l'energia vibrazionale di una molecola poliatomiche E_v è data dalla somma delle energie dei $3N - 6$ o $3N - 5$ oscillatori

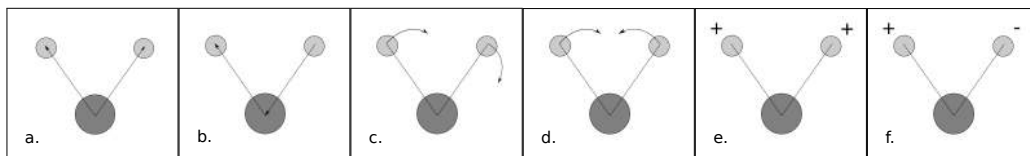


Figura 3.3: Vibrazioni nelle molecole poliatomiche. a.: stretching simmetrico; b.: stretching asimmetrico; c.: rocking; d.: scissoring; e.: wagging; f.: twisting.

armonici, uno per ogni modo normale:

$$E_v = \sum_{i=1}^{3N-6} \left(v_i + \frac{1}{2} \right) h\nu_i \quad (3.21)$$

dove ν_i è la frequenza dell' i -esimo modo normale e v_i è il corrispondente numero quantico vibrazionale.

3.4.1 Tipi di bande

Gli spettri vibrazionali presentano bande di diverso tipo, che possono essere brevemente classificate come segue.

Bande fondamentali: sono dovute all'eccitazione di un modo normale ν_i dallo stato fondamentale $v_i = 0$ al primo stato eccitato $v_i = 1$. Sono le bande più intense.

Sovratoni: sono bande dovute all'eccitazione di un modo normale ν_i dallo stato fondamentale $v_i = 0$ a uno stato eccitato superiore al primo. Per esempio, la transizione $v_i = 2 \leftarrow v_i = 0$ corrisponde al primo sovratono e la transizione $v_i = 3 \leftarrow v_i = 0$ al secondo. Sono bande più deboli rispetto alle fondamentali e sono una conseguenza dell'anarmonicità del sistema.

Bande di combinazione: sono dovute all'eccitazione simultanea di più di un modo normale.

Bande calde: sono dovute a transizioni tra stati eccitati. Sono generalmente molto deboli e sono definite bande calde poiché la loro intensità aumenta all'aumentare della temperatura.

Risonanze: sono date dal mescolamento delle autofunzioni di stati di uguale simmetria e di energia simile. Quando l'interazione si ha tra una banda fondamentale e un sovratono o tra una banda fondamentale e una banda di combinazione si parla di Risonanza di Fermi. Il risultato è lo spostamento a frequenze minori della banda a minore energia e lo spostamento a frequenze maggiori della banda a energia più elevata. L'intensità risultante delle bande dipende dal grado di mescolamento delle autofunzioni.

3.5 Spettroscopia infrarossa

La spettroscopia infrarossa (IR) si basa sulla misura dell'assorbimento o emissione netti della radiazione incidente da parte del campione. L'energia del fotone assorbito e la frequenza della radiazione sono date dalla condizione della frequenza di Bohr:

$$h\nu = E_2 - E_1 \quad (3.22)$$

dove E_2 e E_1 sono rispettivamente gli stati a energia superiore e inferiore.

Gli spettrometri moderni si basano sulle tecniche a trasformata di Fourier (FT-IR) e sfruttano un interferometro del tipo di Michelson per trasformare un segnale nel dominio del tempo in un segnale nel dominio delle frequenze. Una sorgente policromatica emette una radiazione (a nella figura 3.4) che colpisce un “beam splitter” e viene deviata per metà verso uno specchio fisso (b) e per metà verso uno specchio mobile (c), che viene fatto muovere a velocità nota e costante. La differenza tra i percorsi dei due raggi è detta ritardo ottico ed è indicata con δ . Se lo specchio mobile subisce uno spostamento d , allora si ha che $\delta = 2d$. Il ritardo ottico è legato anche alla massima risoluzione attendibile $\Delta\tilde{\nu}$. Si ha infatti che

$$\Delta\tilde{\nu} = \frac{1}{\delta_{max}} \quad (3.23)$$

dove δ_{max} è il massimo valore che può essere assunto da δ . I due raggi vengono riflessi dagli specchi (d, e), si ricongiungono in corrispondenza del beam splitter e il raggio risultante viene inviato verso il campione (f). Il raggio finale che colpisce il campione è dato dall’interferenza, costruttiva o distruttiva, dei raggi provenienti dai due specchi (figura 3.4). Si ha interferenza totalmente costruttiva quando il ritardo ottico è pari a un multiplo intero della lunghezza d’onda λ della radiazione incidente. Si ha invece interferenza completamente distruttiva quando δ è pari a un multiplo semi-intero di λ .

Se la radiazione emessa dalla sorgente fosse monocromatica, l’intensità I del raggio che colpisce il campione sarebbe data da

$$I = \frac{1}{2}B \left[1 + \cos\left(\frac{2\pi\delta}{\lambda}\right) \right] = \frac{1}{2}B[1 + \cos(2\pi\delta\tilde{\nu})] \quad (3.24)$$

dove B è l’intensità che il raggio avrebbe se si avesse interferenza completamente costruttiva [41].

Poiché la radiazione emessa dalla sorgente è invece policromatica, per ottenere l’intensità I bisogna integrare su tutti i numeri d’onda $\tilde{\nu}$ e definire B come funzione di $\tilde{\nu}$:

$$\begin{aligned} I(\delta) &= \frac{1}{2} \int_0^\infty B(\tilde{\nu})[1 + \cos(2\pi\delta\tilde{\nu})]d\tilde{\nu} \\ &= \frac{1}{2} \int_0^\infty B(\tilde{\nu})d\tilde{\nu} + \frac{1}{2} \int_0^\infty B(\tilde{\nu})\cos(2\pi\delta\tilde{\nu})d\tilde{\nu}. \end{aligned} \quad (3.25)$$

A secondo membro della 3.25 il primo termine è costante mentre il secondo ha un andamento cosinusoidale. Ai fini delle misure spettroscopiche è significativo solo quest’ultimo, noto come interferogramma.

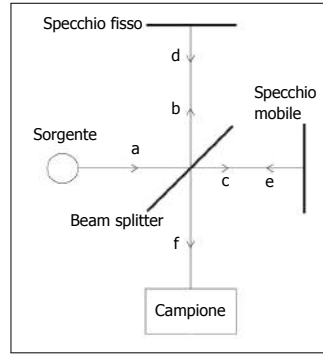


Figura 3.4: Interferometro di Michelson. Il raggio inviato dalla sorgente al beam splitter (a) viene per metà deviato verso lo specchio fisso (b) e per metà a quello mobile (c). I due raggi riflessi (d ed e) si ricongiungono e il raggio risultante (f) è inviato al campione.

Per passare dall'interferogramma $F(\delta)$ a $B(\tilde{\nu})$, che corrisponde alla variazione di intensità in funzione del numero d'onda ed è quindi lo spettro IR, si sfrutta la trasformata di Fourier, da cui prende il nome la tecnica FT-IR.

3.5.1 Regole di selezione

Una vibrazione risulta attiva all'infrarosso se durante il movimento degli atomi gli uni rispetto agli altri varia il momento dipolare elettrico $\boldsymbol{\mu}$ della molecola. Le molecole biatomiche omonucleari sono quindi inattive all'IR. Per una molecola poliatomiche il momento dipolare di transizione \mathbf{R}_v tra uno stato ad energia maggiore e uno a energia minore, caratterizzati rispettivamente dalle funzioni ψ'_v e ψ''_v , è dato da

$$\mathbf{R}_v = \int \psi'_v{}^* \hat{\boldsymbol{\mu}} \psi''_v d\boldsymbol{\tau}_v \quad (3.26)$$

dove $\boldsymbol{\tau}_v$ è il vettore delle coordinate nucleari e $\hat{\boldsymbol{\mu}}$ è l'operatore momento di dipolo elettrico.

\mathbf{R}_v è un vettore le cui componenti sono

$$\begin{aligned} R_{v,x} &= \int \psi'_v{}^* \mu_x \psi''_v d\boldsymbol{\tau}_v \\ R_{v,y} &= \int \psi'_v{}^* \mu_y \psi''_v d\boldsymbol{\tau}_v \\ R_{v,z} &= \int \psi'_v{}^* \mu_z \psi''_v d\boldsymbol{\tau}_v \end{aligned} \quad (3.27)$$

La transizione è permessa se $R_{v,x}$, $R_{v,y}$ o $R_{v,z}$ sono diversi da 0. Tale condizione si verifica solo se $\Delta v = \pm 1$, che costituisce la già citata regola di selezione vibrazionale nell'ambito dell'approssimazione armonica.

Le regole di selezione permettono di prevedere se una determinata vibrazione è attiva o no all'infrarosso ma non danno informazioni sull'intensità delle bande, che è proporzionale al quadrato del momento dipolare di transizione $|\mathbf{R}_v|^2$.

3.6 Spettroscopia Raman

Nella spettroscopia Raman (RS) viene analizzata la radiazione diffusa dal campione in esame. Il principio su cui si basa è che un fotone che collide con una molecola in un certo stato energetico può essere assorbito, cambiando lo stato energetico della molecola, o diffuso, fenomeno solitamente definito con il termine "scattering". Mentre la maggior parte dei fotoni diffusi subisce un cambiamento di traiettoria ma non di energia, processo noto come scattering di Rayleigh, una piccola frazione di fotoni scambia energia durante la collisione con la molecola. L'effetto risultante è la variazione dell'energia e quindi della frequenza dei fotoni, noto come effetto Raman. I fotoni che dopo la diffusione hanno frequenza più bassa costituiscono la radiazione di Stokes, quelli che invece hanno frequenza più elevata costituiscono la radiazione anti-Stokes.

Definendo ν_0 e ν_1 le frequenze del fotone e E_0 e E_1 le energie della molecola rispettivamente prima e dopo lo scattering, si ha che la differenza di energia ΔE è data da

$$\Delta E \equiv E_1 - E_0 = h(\nu_0 - \nu_1) \equiv h\Delta\nu. \quad (3.28)$$

La misura dello spostamento Raman $\Delta\nu$ fornisce quindi la differenza tra i due stati energetici della molecola.

In un esperimento RS il campione viene esposto a una radiazione monocromatica. A differenza della spettroscopia di assorbimento, la frequenza della radiazione incidente non è legata alle differenze tra i livelli energetici delle molecole e generalmente cade nella regione del visibile o del vicino UV. Dei fotoni che colpiscono il campione solo lo 0.001% viene diffuso e solo l'1% della radiazione diffusa subisce effetto Raman. Inoltre, gli spostamenti di frequenza della radiazione diffusa rispetto a quella incidente sono molto piccoli. Per questi motivi come sorgente vengono utilizzati dei laser, che garantiscono una radiazione altamente monocromatica e intensa.

3.6.1 Regole di selezione

Una vibrazione risulta attiva nella spettroscopia Raman se durante il movimento vibrazionale varia la polarizzabilità della molecola. La polarizzabilità α è una misura

di quanto può variare la posizione degli elettroni in una molecola rispetto ai nuclei. In generale α è anisotropa ed è quindi una proprietà tensoriale, rappresentabile come una matrice:

$$\alpha = \begin{pmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{pmatrix} \quad (3.29)$$

dove gli elementi lungo la diagonale corrispondono ai valori di α lungo gli assi x , y e z . Poiché la matrice è simmetrica, in generale α ha 6 componenti distinte: α_{xx} , α_{yy} , α_{zz} , $\alpha_{xy} = \alpha_{yx}$, $\alpha_{xz} = \alpha_{zx}$ e $\alpha_{yz} = \alpha_{zy}$. Quando una radiazione monocromatica colpisce il campione, il campo elettrico \mathbf{E} della radiazione induce nelle molecole un momento di dipolo elettrico $\boldsymbol{\mu}$, proporzionale a \mathbf{E} secondo α : $\boldsymbol{\mu} = \alpha\mathbf{E}$. Anche le molecole biatomiche omonucleari, inattive nell'IR, sono attive in Raman.

L'ampiezza del momento di dipolo indotto $\boldsymbol{\mu}^0$ è data da $\boldsymbol{\mu}^0 = \alpha\mathbf{E}^0$, dove \mathbf{E}^0 è l'ampiezza del campo elettrico. \mathbf{R}_v è così definito:

$$\mathbf{R}_v = \int \psi_v'^* \hat{\boldsymbol{\mu}}^0 \psi_v''^* d\tau_v. \quad (3.30)$$

Per \mathbf{R}_v bisogna ora considerare 9 componenti:

$$\begin{aligned} R_{v,xx} &= E_x^0 \int \psi_v'^* \alpha_{xx} \psi_v''^* d\tau_v & R_{v,xy} &= E_y^0 \int \psi_v'^* \alpha_{xy} \psi_v''^* d\tau_v & R_{v,yx} &= E_x^0 \int \psi_v'^* \alpha_{yx} \psi_v''^* d\tau_v \\ R_{v,yy} &= E_y^0 \int \psi_v'^* \alpha_{yy} \psi_v''^* d\tau_v & R_{v,xz} &= E_z^0 \int \psi_v'^* \alpha_{xz} \psi_v''^* d\tau_v & R_{v,zx} &= E_x^0 \int \psi_v'^* \alpha_{zx} \psi_v''^* d\tau_v \\ R_{v,zz} &= E_z^0 \int \psi_v'^* \alpha_{zz} \psi_v''^* d\tau_v & R_{v,yz} &= E_z^0 \int \psi_v'^* \alpha_{yz} \psi_v''^* d\tau_v & R_{v,zy} &= E_y^0 \int \psi_v'^* \alpha_{zy} \psi_v''^* d\tau_v. \end{aligned} \quad (3.31)$$

La transizione è permessa se almeno una delle componenti di \mathbf{R}_v è diversa da zero. Tale condizione coincide con la regola di selezione armonica $\Delta v = \pm 1$. Anche nella spettroscopia Raman l'intensità delle transizioni è proporzionale a $|\mathbf{R}_v|^2$.

Sia per la spettroscopia IR sia per la spettroscopia Raman i campioni possono essere solidi, liquidi o gassosi. Poiché le regole di selezione della RS sono diverse da quelle della spettroscopia IR le due tecniche possono risultare complementari. Uno dei vantaggi della RS rispetto all'IR è dovuto al fatto che l'acqua presenta deboli effetti di diffusione nella regione tra i 300 e i 3000 cm^{-1} , mentre nella stessa regione assorbe intensamente dando origine a bande IR molto larghe che coprono il segnale dei soluti. Le bande non fondamentali sono solitamente troppo deboli per essere osservate nella spettroscopia Raman.

Per la stesura di questo capitolo sono stati consultati anche i riferimenti [42] - [47].

Capitolo 4

Metodi computazionali

La chimica computazionale si prefigge di simulare strutture, proprietà chimico-fisiche e reazioni chimiche basandosi su opportune leggi fisiche e modelli matematici, attraverso l'utilizzo di calcolatori elettronici. I metodi computazionali sono utilizzati per l'indagine sia di strutture stabili sia di intermedi instabili e stati di transizione e permettono così di avere informazioni anche su molecole e reazioni che sarebbero impossibili da caratterizzare sperimentalmente. La disponibilità di potenze di calcolo sempre maggiori, unita allo sviluppo di software e modelli teorici in grado di fornire risultati sempre più accurati e vicini ai sistemi reali, ha fatto sì che l'approccio computazionale sia ormai un indispensabile complemento alle attività pratica e sperimentale, sia nel campo della ricerca sia in quello dell'industria.

Dalle simulazioni computazionali si possono ottenere molteplici informazioni sui sistemi in esame, tra cui:

- geometrie e parametri strutturali;
- energie;
- frequenze di vibrazione e proprietà spettroscopiche in generale (NMR, UV-vis, ...);
- grandezze termodinamiche;
- costanti cinetiche.

A tal fine sono stati sviluppati diversi metodi, che in generale possono essere classificati in “molecular mechanics models” (MM) e “*ab initio*”, o “quantum mechanics models” (QM). L'approccio MM si basa sulle leggi della fisica classica e descrive gli atomi come sfere e i legami come molle. I metodi MM non richiedono tempi e potenza di calcolo particolarmente rilevanti, per contro in genere non forniscono risultati

molto accurati e la loro implementazione necessita di parametri empirici o calcolati tramite metodi *ab initio*. Inoltre, poiché i sistemi trattati sono descritti come un insieme di sfere e molle, non si ottengono risultati relativi alle proprietà elettroniche e non è quindi possibile descrivere, per esempio, le reazioni di formazione e rottura dei legami. Tali metodi trovano impiego nella simulazione di sistemi estesi in termini di numero di atomi.

L'approccio *ab initio* invece si basa sulle leggi della fisica quantistica e tratta i sistemi come un insieme di nuclei ed elettroni. I metodi *ab initio* sono computazionalmente molto più dispendiosi ma permettono di descrivere in modo più rigoroso i sistemi in esame e in generale forniscono risultati più accurati. Il costo computazionale li rende adatti alla simulazione di sistemi di dimensioni più ridotte.

4.1 Metodi *ab initio*

Come già accennato, l'approccio *ab initio*, locuzione latina che significa “dai primi principi”, non prevede l'utilizzo di parametri sperimentali: i calcoli sono basati sulle leggi della meccanica quantistica e sui valori di alcune costanti fisiche, quali velocità della luce, costante di Planck h e masse e cariche di elettroni e nuclei. L'approccio quantistico prevede che un sistema sia completamente descritto da una funzione d'onda $\Psi = \Psi(\mathbf{r}, t)$, dipendente dalle coordinate delle particelle \mathbf{r} e dal tempo t , e che le proprietà di tale sistema si possano ricavare attraverso l'applicazione di appropriati operatori a Ψ .

In meccanica quantistica a ogni osservabile¹ corrisponde un operatore hermitiano. Gli operatori quantomeccanici prevedono solitamente operazioni di differenziazione rispetto a \mathbf{r} , moltiplicazione per \mathbf{r} , moltiplicazione per funzioni dipendenti da \mathbf{r} . Ogni operatore ha un set di autofunzioni e di autovalori, esiste cioè un insieme di funzioni ψ_n tale per cui

$$\hat{A}\psi_n = a_n\psi_n \quad (4.1)$$

dove \hat{A} è un generico operatore, le ψ_n sono definite autofunzioni e gli scalari a_n autovalori. Le equazioni come la 4.1, in cui un operatore agisce su una funzione e dà come risultato la funzione stessa moltiplicata per un valore scalare, sono definite equazioni agli autovalori. Gli autovalori corrispondenti agli operatori quantomeccanici hermitiani sono sempre numeri reali.

¹Il termine “osservabile” indica qualsiasi quantità che può essere misurata, come energia, momento o posizione.

L'equazione fondamentale della meccanica quantistica è l'equazione di Schrödinger:

$$\hat{H}\Psi(\{\mathbf{r}_i\}, \{\mathbf{R}_I\}; t) = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \Psi(\{\mathbf{r}_i\}, \{\mathbf{R}_I\}; t) \quad (4.2)$$

dove $\{\mathbf{r}_i\}$ e $\{\mathbf{R}_I\}$ sono le coordinate degli elettroni e dei nuclei rispettivamente, \hbar è la costante di Planck diviso 2π e \hat{H} è l'operatore Hamiltoniano:

$$\begin{aligned} \hat{H} = & - \sum_I \frac{\hbar^2}{2M_I} \nabla_I^2 - \sum_i \frac{\hbar^2}{2m_e} \nabla_i^2 \\ & + \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum_{i<j} \frac{e^2}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} - \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum_{I,i} \frac{e^2 Z_I}{|\mathbf{R}_I - \mathbf{r}_i|} + \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum_{I<J} \frac{e^2 Z_I Z_J}{|\mathbf{R}_I - \mathbf{R}_J|} \end{aligned} \quad (4.3a)$$

$$= - \sum_I \frac{\hbar^2}{2M_I} \nabla_I^2 - \sum_i \frac{\hbar^2}{2m_e} \nabla_i^2 + U(\{\mathbf{r}_i\}, \{\mathbf{R}_I\}) \quad (4.3b)$$

In tale equazione M_I e Z_I sono la massa e il numero atomico dell' I -esimo nucleo, m_e ed e sono la massa e la carica dell'elettrone e ϵ_0 è la costante dielettrica del vuoto. Il termine $U(\{\mathbf{r}_i\}, \{\mathbf{R}_I\})$ è il contributo dell'energia potenziale, che nel più semplice dei casi considera le interazioni coulombiane elettrone-elettrone, nucleo-elettrone e nucleo-nucleo.

Quando $U(\{\mathbf{r}_i\}, \{\mathbf{R}_I\})$ non è funzione del tempo, le soluzioni dell'equazione di Schrödinger sono del tipo $\Psi(\mathbf{r}; t) = \psi(\mathbf{r})f(t)$: Ψ può essere vista come il prodotto di due funzioni, ψ , dipendente dalle coordinate spaziali delle particelle, ed f , dipendente dal tempo. Si può quindi scrivere

$$\hat{H}\psi(\{\mathbf{r}_i\}, \{\mathbf{R}_I\}) = E\psi(\{\mathbf{r}_i\}, \{\mathbf{R}_I\}) \quad (4.4)$$

L'equazione 4.4 è l'equazione di Schrödinger indipendente dal tempo e descrive gli stati stazionari del sistema considerato.² Applicando a ψ l'operatore Hamiltoniano \hat{H} si ottiene l'autovalore associato E , pari all'energia del sistema.

In generale, la 4.2 prevede l'esistenza di più autofunzioni accettabili per un dato sistema, ognuna associata a un autovalore, esiste cioè un insieme di funzioni Ψ_i , con relativi autovalori E_i . Assumendo che le Ψ_i siano ortonormali³ e che l'insieme delle Ψ_i sia completo, Ψ può essere descritta come una combinazione lineare delle Ψ_i :

$$\Psi = \sum_i c_i \Psi_i \quad (4.5)$$

²Uno stato è definito stazionario quando il valore degli osservabili non varia nel tempo.

³Due funzioni Ψ_i e Ψ_j sono ortonormali se $\int \Psi_i^* \Psi_j d\mathbf{r} = \delta_{ij}$, dove δ_{ij} è il cosiddetto delta di Kronecker, definito come

$$\delta_{ij} = \begin{cases} 1 & \text{se } i = j \\ 0 & \text{se } i \neq j \end{cases}$$

Purtroppo non esiste un'equazione che permetta di ottenere tali funzioni, ma un aiuto deriva dal principio variazionale: l'energia associata a qualsiasi funzione d'onda arbitraria è sempre maggiore dell'energia reale del sistema. Si ha quindi che una funzione d'onda descrive tanto meglio un sistema quanto minore è l'autovalore dell'energia ad essa associato.

I termini relativi all'energia potenziale presenti nell'Hamiltoniano indicano che il moto di ciascuna particella è dipendente dal moto di tutte le altre. L'interdipendenza dei moti delle particelle, indicata con il termine "correlazione", comporta che l'equazione di Schrödinger non sia risolvibile esattamente se non per sistemi idrogenoidi, cioè monoelettronici. Per estendere l'applicabilità dell'equazione di Schrödinger anche a sistemi pluri-elettronici è quindi necessario introdurre delle approssimazioni.

4.1.1 Approssimazione di Born - Oppenheimer

L'approssimazione di Born-Oppernheimer si basa sul fatto che la massa dei protoni e dei neutroni è 1836 volte maggiore rispetto a quella degli elettroni. Questo comporta che i nuclei possano essere considerati fermi rispetto al moto elettronico e che quindi i due moti possano essere disaccoppiati. L'idea è calcolare le energie considerando fisse le posizioni nucleari: il termine relativo all'energia cinetica nucleare risulta così indipendente dagli elettroni, non si ha più la correlazione nel termine attrattivo dell'energia potenziale nucleo - elettrone e l'energia potenziale repulsiva tra i nuclei diventa un termine costante. Si può quindi scrivere l'equazione di Schrödinger elettronica nel seguente modo:

$$(\hat{H}_{el} + U_N)\Psi_{el}(\mathbf{r}_i; \mathbf{R}_I) = E_{el}\Psi_{el}(\mathbf{r}_i; \mathbf{R}_I) \quad (4.6)$$

dove \hat{H}_{el} è l'Hamiltoniano elettronico, che include il secondo, il terzo e il quarto termine della 4.3a e U_N è il termine repulsivo dell'energia potenziale nucleo-nucleo. Poiché il termine U_N è costante per un dato insieme di coordinate nucleari fissate, essendo le funzioni d'onda invarianti rispetto alla presenza di termini costanti nell'Hamiltoniano, quasi sempre si procede risolvendo la 4.6 senza includere il termine U_N , ottenendo quella che è definita "energia elettronica pura". Introducendo poi il termine U_N si ottiene E_{el} .

4.1.2 Metodo di Hartree - Fock

Sebbene semplificata rispetto alla 4.2, la 4.6 risulta ancora non risolvibile per sistemi multielettronici, a causa del termine di correlazione tra gli elettroni. Il punto

di partenza per un'ulteriore semplificazione è considerare che se il sistema fosse monoelettronico la funzione d'onda dipenderebbe solo dalle coordinate fisse dei nuclei e dalle coordinate spaziali di un solo elettrone. Le funzioni d'onda relative a sistemi monoelettronici si indicano convenzionalmente con ψ_i , dove il pedice indica che la funzione d'onda descrive l' i -esimo orbitale molecolare monoelettronico.

Per ovviare al problema della correlazione elettronica la semplificazione più immediata, nota come approssimazione di Hartree - Fock, è considerare il moto di ogni elettrone indipendente da quello degli altri elettroni. Alla luce di tale considerazione l'Hamiltoniano può essere scritto come

$$\hat{H} = \sum_{i=1}^N \hat{h}_i \quad (4.7)$$

dove N è il numero totale degli elettroni. \hat{h}_i è l'Hamiltoniano monoelettronico (in unità atomiche)⁴:

$$\hat{h}_i = -\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_{k=1}^M \frac{Z_k}{r_{ik}} \quad (4.8)$$

dove M è il numero totale dei nuclei.

Le autofunzioni dell'Hamiltoniano monoelettronico definito nella 4.8 devono soddisfare alla corrispondente equazione di Schrödinger:

$$\hat{h}_i\psi_i = \varepsilon_i\psi_i \quad (4.9)$$

Le ψ_i sono le funzioni d'onda monoelettroniche e gli autovalori ε_i sono le energie degli elettroni nell' i -esimo orbitale molecolare. Poiché l'Hamiltoniano definito nella 4.7 è separabile, le funzioni d'onda multielettroniche possono essere definite come prodotto delle funzioni d'onda monoelettroniche e l'autovalore relativo all'autofunzione prodotto risulta quindi pari alla somma degli autovalori ε_i .

L'Hamiltoniano definito dalle 4.7 e 4.8 non comprende però il contributo delle repulsioni interelettroniche, che sono difficili da calcolare in quanto dipendono da tutte le possibili interazioni simultanee e puntuali di tutte le coppie di elettroni. Applicando il calcolo variazionale si può dimostrare che ogni ψ_i è autofunzione di un operatore \hat{h}_i definito Hamiltoniano di Hartree:

$$\hat{h}_i = -\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_{k=1}^M \frac{Z_k}{r_{ik}} + U_i\{j\} \quad (4.10)$$

⁴Per la definizione delle principali unità atomiche vedere appendice A.

dove $U_i\{j\}$ è il potenziale di interazione con tutti gli altri elettroni occupanti gli orbitali $\{j\}$ ed è definito

$$U_i\{j\} = \sum_{j \neq i} \int \frac{|\Psi_j|^2}{r_{ij}} d\mathbf{r} \quad (4.11)$$

Dalle 4.10 e 4.11 risulta evidente che si applica a ψ_i un operatore che dipende da ψ_i stessa.

Nel 1928 Hartree propose un metodo iterativo noto come “Self Consistent Field” (SCF). All’inizio della procedura vengono definite delle funzioni arbitrarie per ogni orbitale molecolare occupato. Applicando a tali funzioni l’equazione 4.11 si determina il potenziale medio di repulsione di cui risente l’elettrone i -esimo. Attraverso la 4.10 si ottengono gli operatori \hat{h}_i , la cui applicazione al set di funzioni di partenza (equazione 4.9) consente di ottenere un nuovo set di funzioni, presumibilmente diverse da quelle di partenza. Le nuove funzioni sono usate per ottenere un nuovo $U_i\{j\}$ e nuovi operatori \hat{h}_i , tramite i quali si ottiene un nuovo set di funzioni. Ad un certo punto della procedura si ha che l’ultimo set di funzioni ottenuto non si discosta molto dal set precedente: la procedura è arrivata a convergenza. Il criterio per stabilire la convergenza può essere per esempio la differenza tra le energie elettroniche associate ai diversi set, che deve essere minore di una certa soglia.

L’Hamiltoniano definito nella 4.10 non è però una buona approssimazione dell’Hamiltoniano vero, in quanto descrive un sistema di elettroni che non interagiscono in modo puntuale: ogni elettrone risente solo del potenziale medio dovuto agli altri elettroni, per questo l’approssimazione di Hartree - Fock è detta anche “approssimazione del campo medio”. Inoltre, in ogni \hat{h}_i è inclusa la repulsione tra l’ i -esimo elettrone e il campo medio generato dagli altri elettroni. Poiché la repulsione tra l’ i -esimo elettrone e il j -esimo elettrone è inclusa sia in \hat{h}_i sia in \hat{h}_j , l’energia totale del sistema è data da

$$E = \sum_i \varepsilon_i - \frac{1}{2} \sum_{i \neq j} \int \int \frac{|\psi_i|^2 |\psi_j|^2}{r_{ij}} d\mathbf{r}_i d\mathbf{r}_j \quad (4.12)$$

dove gli indici i e j si riferiscono agli elettroni. Il doppio integrale della 4.12 è definito integrale coulombiano ed è indicato con J_{ij} .

4.1.3 Spin elettronico e funzione d’onda determinentale

Ogni elettrone è caratterizzato da un numero quantico di spin. Le funzioni di spin elettronico sono autofunzioni dell’operatore di spin S_z . Le autofunzioni σ_i sono ortonormali, hanno solo due autovalori ($\frac{1}{2}$ e $-\frac{1}{2}$) e vengono indicate con α e β . L’esistenza

di un numero quantico di spin è un conseguenza della meccanica quantistica relativistica, da cui deriva anche l'antisimmetria della funzione d'onda elettronica rispetto allo scambio delle coordinate di due elettroni. Da quest'ultima considerazione discende il noto principio di esclusione di Pauli, secondo il quale due elettroni non possono avere tutti i numeri quantici uguali.

A differenza degli altri numeri quantici, il numero quantico di spin non è specificato dalle ψ_i . Tenendo in considerazione lo spin dell'elettrone, la funzione d'onda Ψ_{el} è definita come

$$\Psi_{el} = \chi_1 \chi_2 \dots \chi_N \quad (4.13)$$

dove le funzioni χ_i , dette spin - orbitali, sono date dal prodotto tra la parte spaziale ψ_i e la parte di spin σ_i , con $\sigma_i = \alpha$ o β . Per assicurare che la funzione totale sia antisimmetrica rispetto allo scambio delle coordinate di 2 elettroni, Ψ_{el} viene formulata come un determinante:

$$\Psi_{el} = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_1(1) & \chi_2(1) & \dots & \chi_n(1) \\ \chi_1(2) & \chi_2(2) & \dots & \chi_n(2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_1(N) & \chi_2(N) & \dots & \chi_n(N) \end{vmatrix} \quad (4.14)$$

Il termine $\frac{1}{\sqrt{N!}}$ è un fattore di normalizzazione. Il determinante espresso dalla 4.14 è detto determinante di Slater e la Ψ_{el} è definita funzione d'onda determinentale. A ogni riga del determinante corrisponde un elettrone: scambiare le coordinate di due elettroni corrisponde a scambiare due righe, con conseguente cambiamento di segno del determinante come richiesto dall'antisimmetria della funzione d'onda. Il fatto che ci siano due soli valori di spin implica che un determinato orbitale molecolare possa essere occupato al massimo da due elettroni: se ci fosse un terzo elettrone, due righe sarebbero uguali e quindi il determinante sarebbe nullo.

Il primo a estendere la procedura SCF di Hartree alle funzioni d'onda determinentali fu Fock: le ψ_i sono ora autofunzioni di un operatore definito operatore di Fock \hat{f}_i , in cui nelle interazioni di ogni elettrone con il potenziale medio generato da tutti gli altri elettroni sono inclusi gli effetti di scambio sulla repulsione coulombiana. \hat{f}_i è definito come

$$\hat{f}_i = -\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_k^{\text{nuclei}} \frac{Z_k}{r_{ik}} + U_i^{HF}\{j\}. \quad (4.15)$$

U^{HF} è il potenziale di Hartree - Fock, dato da $2\hat{J}_i - \hat{K}_i$. L'operatore \hat{J}_i è l'operatore Coulombiano, definito calcolando l'integrale coulombiano descritto in precedenza (si veda l'equazione 4.12). L'operatore \hat{K}_i è l'operatore di scambio, che permette di

includere il cosiddetto scambio quantomeccanico: la repulsione tra due elettroni aventi spin uguale è inferiore rispetto a quella esistente tra due elettroni aventi spin diverso. Analogamente alla procedura proposta da Hartree, anche il metodo Hartree - Fock prevede un approccio iterativo.

4.2 Basis set

Ogni orbitale molecolare ψ_i nella teoria Hartree - Fock è definito come una combinazione lineare di funzioni di base φ_μ , definite “basis functions”:

$$\psi_i = \sum_{\mu} c_{\mu i} \varphi_{\mu}. \quad (4.16)$$

Ai fini delle simulazioni computazionali l’insieme delle basis functions costituisce il cosiddetto basis set. In genere le basis function sono scelte in modo da riprodurre gli orbitali atomici e tale approccio è noto come “Linear Combination of Atomic Orbitals”(LCAO). Le prime funzioni ad essere utilizzate come basis functions sono note come Slater-type Orbitals (STOs) e sono proporzionali a e^{-r} , dove r è la distanza dell’elettrone dal nucleo. Tali funzioni approssimano bene gli orbitali atomici idrogenoidi ma il loro utilizzo porta a integrali non risolvibili analiticamente. Come alternativa, nel 1950 Boys [48] propose l’utilizzo di funzioni gaussiane, proporzionali a $e^{-\alpha r^2}$, con α costante che determina l’estensione della funzione, chiamate Gaussian-type Orbitals (GTOs), più convenienti dal punto di vista computazionale. Funzioni del tipo GTO hanno però il difetto di non approssimare bene gli orbitali atomici, in particolare mancano della cuspidè all’origine.

Per ovviare a tale inconveniente, pur mantenendo le caratteristiche di efficienza computazionale dei GTOs, per le basis functions è stato introdotto l’utilizzo di combinazioni lineari di GTOs ϕ_a che riproducessero gli orbitali atomici φ :

$$\varphi = \sum_{a=1}^M c_a \phi_a. \quad (4.17)$$

dove M è il numero di Gaussiane utilizzate, mentre i coefficienti c_a sono scelti in modo tale che la combinazione lineare si avvicini il più possibile a una funzione del tipo STO. Una basis function definita come combinazione lineare di Gaussiane è detta contratta e le Gaussiane sono dette primitive. A titolo di esempio, la sigla STO-3G si riferisce a un basis set in cui una funzione Slater-type è approssimata con 3 gaussiane.

Basis set multiple zeta

Il basis set STO-3G citato in precedenza è un basis set single zeta, o basis set minimale, in quanto ogni orbitale di core e di valenza è descritto da una sola funzione di base. I basis set minimali risultano però inadatti. Un modo per aumentare la flessibilità di un basis set è usare due funzioni di base per ogni orbitale. I basis set in cui per ogni orbitale atomico sono utilizzate due funzioni di base sono definiti “double zeta”. Utilizzando tre funzioni di base per ogni orbitale atomico si ottiene un basis set di tipo “triple zeta”. Analogamente è possibile ottenere ulteriori basis set “multiple zeta”, aumentando il numero di funzioni di base usate per descrivere ogni orbitale atomico.

Basis set split valence

Rispetto agli orbitali di core, gli orbitali di valenza richiedono una descrizione più flessibile, poiché si trovano a maggiore distanza dal nucleo, sono più facilmente distortibili e sono coinvolti nella formazione dei legami chimici. Un approccio conveniente consiste nel descrivere gli orbitali di valenza con più funzioni di base e rappresentare invece quelli di core con una singola funzione di base. Basis set di questo tipo sono definiti “split valence” o “valence multiple zeta”. Un esempio di basis set split valence è il 6-31G: il primo numero indica quante primitive sono utilizzate per le funzioni che descrivono gli orbitali di core, i numeri seguenti indicano invece che per gli orbitali di valenza sono utilizzate due funzioni di base, una data dalla contrazione di 3 primitive e l'altra costituita da una sola primitiva.

Funzioni polarizzanti

Un altro inconveniente dei basis set minimali è dovuto al fatto che le funzioni di base sono centrate sugli atomi piuttosto che tra gli atomi e non sono perciò particolarmente adatte a descrivere i legami. A questo problema si può ovviare introducendo funzioni che descrivano orbitali di tipo d per gli elementi i cui orbitali di valenza sono di tipo p e orbitali di tipo p per l'idrogeno. L'introduzione di tali funzioni, definite polarizzanti, permette lo spostamento della densità elettronica rispetto alla posizione nucleare. Un esempio di “polarization basis set” è il 6-31G*: al basis set 6-31G è stato aggiunto un insieme di funzioni polarizzanti di tipo d per ogni atomo diverso da H. Nel caso del basis set 6-31G** è stato aggiunto anche un insieme di funzioni polarizzanti di tipo p per l'atomo di H.

Funzioni diffuse

Nel caso di sistemi contenenti anioni e molecole in stati eccitati spesso i basis set non sono sufficientemente flessibili per descrivere un elettrone debolmente legato a uno specifico atomo o a una specifica coppia di atomi. In questi casi è bene espandere i basis set con l'utilizzo delle cosiddette funzioni diffuse. Le funzioni diffuse sono funzioni di tipo s e di tipo p più ampie rispetto alle funzioni standard e descrivono così orbitali occupanti una regione di spazio più estesa.

A titolo di esempio, il basis set 6-31+G prevede l'aggiunta di funzioni di tipo s e di tipo p per gli atomi diversi da H. Il basis set 6-31++G prevede anche l'aggiunta di un set di funzioni diffuse di tipo s per l'atomo di H.

4.3 Metodi DFT

Il limite principale della teoria Hartree - Fock è il trattamento del moto degli elettroni come se essi fossero indipendenti l'uno dall'altro: le interazioni tra gli elettroni sono sostituite da interazioni tra un particolare elettrone e un campo medio generato da tutti gli altri. Questo porta a una sovrastima della repulsione interelettronica e quindi a una sovrastima dell'energia totale. La differenza tra l'energia ottenuta con il metodo Hartree - Fock e l'energia reale del sistema è definita energia di correlazione.

Dal punto di vista computazionale, i tempi di calcolo del metodo Hartree - Fock sono dell'ordine di N^4 , dove N indica il numero di funzioni di base.

Al fine di considerare anche il contributo dato dalla correlazione elettronica sono stati sviluppati diversi approcci, tra i quali la teoria del funzionale di densità ("Density Functional Theory", DFT). A differenza dei metodi HF, che si basano sull'ottimizzazione della funzione d'onda, i metodi DFT si basano sull'ottimizzazione della densità elettronica.

I metodi DFT si basano sulla considerazione che l'operatore Hamiltoniano dipende dalle posizioni e dai numeri atomici dei nuclei e dal numero totale degli elettroni. Il numero totale di elettroni N è naturalmente correlato alla densità elettronica ρ :

$$N = \int \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r}. \quad (4.18)$$

Inoltre, poiché i nuclei sono considerati cariche puntiformi, le loro posizioni corrispondono a massimi locali della densità elettronica. Infine, è possibile dimostrare che anche i numeri atomici possono essere descritti come funzioni della densità elettronica. Nota ρ , risulta quindi possibile scrivere un Hamiltoniano, risolvere l'equazione di Schrödinger e determinare autofunzioni e autovalori.

Il primo approccio DFT, sviluppato nel 1927 da Thomas e Fermi [49, 50], si basava sulla disponibilità di una soluzione esatta per un problema multielettronico idealizzato: un gas di elettroni di densità uniforme. L'energia totale di un sistema è data dalla somma di energia cinetica E_T ed energia potenziale U : $E(\rho) = E_T(\rho) + U(\rho)$. I termini dell'equazione dipendono da ρ , che a sua volta è funzione della posizione degli elettroni: una funzione il cui argomento è esso stesso una funzione è definita funzionale. L'energia risulta quindi un funzionale della densità elettronica. U è data dalla somma $U_{ne} + U_{ee} + U_{xc}$, dove U_{ne} è l'energia potenziale nucleo-densità elettronica, U_{ee} è il potenziale repulsivo classico e U_{xc} è il potenziale di correlazione e scambio. Questo primo approccio prevedeva l'introduzione di un contributo di scambio significativamente maggiore rispetto al contributo di correlazione, che risultava perciò trascurabile. Poiché Bloch e Dirac avevano trovato una formulazione simile per il contributo di scambio [51], tale approccio è noto come modello di Thomas - Fermi - Dirac.

Questo primo modello DFT si rivelò però poco accurato e il suo utilizzo fu molto limitato. Un approccio più rigoroso si deve a Hohenberg e Kohn, che nel 1964 dimostrarono i seguenti due teoremi.

1. Il potenziale esterno, e quindi l'energia totale del sistema, è unicamente determinato dalla corrispondente densità elettronica dello stato fondamentale, a meno di una costante additiva.
2. L'energia dello stato fondamentale può essere ottenuta secondo il principio variazionale: la densità che minimizza l'energia totale è la densità esatta dello stato fondamentale.

Il primo teorema è noto come teorema di esistenza, il secondo come teorema variazionale. Alla luce dei due teoremi, Kohn e Sham proposero una procedura tipo SCF, che prevede di prendere come riferimento un sistema fittizio di elettroni non interagenti, la cui densità allo stato fondamentale sia uguale a quella del sistema reale in cui gli elettroni invece interagiscono. L'energia può essere espressa come

$$E[\rho(\mathbf{r})] = E_T[\rho(\mathbf{r})] + U_{ne}[\rho(\mathbf{r})] + U_{ee}[\rho(\mathbf{r})] + \Delta E_T[\rho(\mathbf{r})] + \Delta U_{ee}[\rho(\mathbf{r})] \quad (4.19)$$

dove il termine relativo all'energia di correlazione e scambio è dato da $\Delta E_T[\rho(\mathbf{r})] + \Delta U_{ee}[\rho(\mathbf{r})]$. $\Delta E_T[\rho(\mathbf{r})]$ è la correzione all'energia cinetica dovuta alla natura interagente degli elettroni. Il termine $\Delta U_{ee}[\rho(\mathbf{r})]$ rappresenta invece tutte le correzioni non classiche al potenziale repulsivo. Gli orbitali χ_i che minimizzano l'energia nell'ultima equazione soddisfano la seguente equazione agli autovalori:

$$\hat{h}_i^{KS} \chi_i = \varepsilon_i \chi_i \quad (4.20)$$

dove \hat{h}_i^{KS} è l'operatore monoelettronico di Kohn-Sham, definito come

$$\hat{h}_i^{KS} = -\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_k^{\text{nuclei}} \frac{Z_k}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_k|} + \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}' + U_{XC} \quad (4.21)$$

con

$$U_{XC} = \frac{\delta E_{XC}}{\delta \rho}. \quad (4.22)$$

Per risolvere l'equazione è necessario conoscere E_{XC} . Purtroppo Hohenberg e Kohn hanno dimostrato l'esistenza di un funzionale della densità elettronica, ma la forma di tale funzionale non è nota: i diversi metodi DFT sviluppati si differenziano proprio per l'espressione di E_{XC} , trattato quasi sempre come somma dei due contributi di correlazione e scambio.

4.3.1 Funzionali di correlazione e scambio

Come già riportato, il termine E_{XC} tiene conto sia delle correzioni non classiche al termine repulsivo sia della differenza di energia cinetica tra il sistema di elettroni non interagenti e il sistema reale. Molti funzionali moderni non prevedono il calcolo esplicito di quest'ultimo contributo.

Local Density Approximation

Con il termine "Local Density Approximation", LDA, sono indicati i metodi DFT in cui il termine E_{XC} dipende solo dal valore di ρ nel punto \mathbf{r} , ossia dal valore "locale" di ρ . Per i sistemi di tipo "open shell", in cui sono presenti elettroni spaiati, deve essere considerata anche la polarizzazione di spin. Tale approccio è definito "Local Spin Density Approximation", LSDA.

General Gradient Approximation

Poiché in un sistema molecolare la densità elettronica non è quasi mai uniforme, l'approccio LDA non è sufficiente per una descrizione accurata. Sono stati quindi sviluppati dei metodi in cui E_{XC} non dipende solo dal valore locale di ρ , ma anche dal suo gradiente. Questa correzione è nota come "Generalized Gradient Approximation", GGA. Il primo funzionale di scambio GGA fu sviluppato da Becke [52] ed è indicato con B. Per quanto riguarda i funzionali di correlazione, un noto funzionale GGA è quello sviluppato da Lee, Yang e Parr e noto come LYP [53]. Solitamente, per indicare il tipo di metodo DFT gli acronimi riferiti ai funzionali di scambio e correlazione sono riportati in sequenza: ad esempio, il metodo BLYP combina il funzionale di scambio di Becke con il funzionale di correlazione di Lee, Yang e Parr.

Funzionali ibridi

I funzionali ibridi combinano le energie di scambio calcolate in maniera esatta secondo il metodo Hartree - Fock con quelle di scambio e correlazione ottenute con l'approccio DFT:

$$E_{XC} = aE_X^{HF} + (1 - a)E_{XC}^{DFT} \quad (4.23)$$

dove a è un parametro che deve essere opportunamente ottimizzato.

Considerando che l'introduzione di ulteriori parametri avrebbe potuto migliorare il metodo, per primo Becke sviluppò un'espressione per E_{XC} con tre parametri [54]:

$$E_{XC}^{B3PW91} = (1 - a)E_X^{LSDA} + aE_X^{HF} + b\Delta E_X^B + E_C^{LSDA} + c\Delta E_C^{PW91}. \quad (4.24)$$

Questa prima formulazione prevedeva i contributi di energia di scambio e correlazione secondo la LSDA (E_X^{LSDA} e E_C^{LSDA}), il contributo dell'energia di scambio calcolata con il metodo di Hartree - Fock (E_X^{HF}) e i contributi di energia di scambio e correlazione ricavati rispettivamente utilizzando il funzionale di scambio B (ΔE_X^B) e il funzionale di correlazione PW91 [55] (ΔE_C^{PW91}). I valori ottimizzati di a , b e c sono rispettivamente 0.20, 0.72 e 0.81.

In seguito, Stephens et al. [56] hanno introdotto l'utilizzo del funzionale di correlazione LYP al posto del PW91:

$$E_{XC}^{B3LYP} = (1 - a)E_X^{LSDA} + aE_X^{HF} + b\Delta E_X^B + (1 - c)E_C^{LSDA} + c\Delta E_C^{PW91} \quad (4.25)$$

dove a , b e c hanno gli stessi valori indicati per il B3PW91.

Il funzionale ibrido B3LYP è ad oggi il funzionale più diffuso e utilizzato. Un altro funzionale ibrido molto utilizzato è il PBE0 [57], che fa parte della famiglia di funzionali ibridi a un parametro. In tali funzionali viene ottimizzato solo il parametro a . b è posto pari a $1 - a$ e c pari a 1. Il PBE0 deriva il suo nome dal fatto che a non è stato ottimizzato empiricamente ma scelto in base alla teoria delle perturbazioni e il metodo ha quindi zero parametri "aggiustabili".

4.3.2 DFT-D

Ad oggi per la maggior parte delle simulazioni quanto-meccaniche è utilizzato l'approccio DFT [58, 59]. I metodi DFT possono essere applicati a molti sistemi e in generale forniscono risultati migliori rispetto agli altri metodi *ab initio* in termini di rapporto costo/prestazioni: usando N funzioni di base, i metodi DFT hanno un costo computazionale dell'ordine di $N^3 - N^4$. Per contro, la scelta del metodo DFT adatto

a un particolare caso richiede un'approfondita conoscenza delle caratteristiche del metodo: metodi che per esempio simulano molto bene sistemi organici potrebbero non essere adatti per sistemi metallici. A tal proposito, il funzionale B3LYP, associato al basis set 6-31G*, si è dimostrato essere un metodo di uso piuttosto generale.

Oltre al favorevole rapporto prestazioni/costi computazionali, la teoria DFT fornisce risultati sufficientemente accurati per un gran numero di molecole ed è applicabile sia a molecole isolate sia a sistemi in fase condensata. Tuttavia, i metodi DFT presentano una notevole limitazione: non descrivono le interazioni elettroniche a lungo raggio, responsabili delle forze di Van der Waals, dette anche forze di dispersione [60, 61]. Le forze di Van der Waals svolgono un ruolo importante in molti sistemi chimici e sono responsabili di significative interazioni, come i legami a idrogeno. Sono bilanciate dalle interazioni elettrostatiche e dalle interazioni di repulsione e scambio.

Il contributo di dispersione è totalmente legato alla correlazione elettronica [62] ed è stato suggerito che il modo più semplice per includerlo nella formulazione dell'energia totale del sistema sia l'aggiunta di un potenziale empirico della forma $C_6 R^{-6}$, dove R è la distanza interatomica e C_6 è il coefficiente di dispersione [63] - [65]. Tale metodo è stato sviluppato da Grimme ed è noto come DFT-D. Il contributo di dispersione è trattato come un termine additivo che tiene conto delle interazioni tra tutte le coppie di atomi e l'energia risultante è sommata a quella ottenuta con l'approccio DFT. La correzione non richiede costi computazionali significativamente maggiori rispetto a calcoli DFT standard [66].

La prima espressione dell'energia totale corretta è stata formulata nel 2004 [67] ed è nota come approccio DFT-D1:

$$E_{DFT-D} = E_{DFT} + E_D \quad (4.26)$$

dove E_{DFT-D} è l'energia totale, E_{DFT} è l'energia elettronica ottenuta con le simulazioni DFT "standard" e E_D è il contributo all'energia dovuto alle forze di dispersione. E_D è una correzione empirica definita come

$$E_D = -s_6 \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \frac{C_6^{ij}}{R_{ij}^6} f_{dmp}(R_{ij}) \quad (4.27)$$

dove N è il numero di atomi nel sistema, C_6^{ij} è il coefficiente di dispersione per la coppia di atomi i e j , s_6 è uno scaling factor che dipende dal tipo di funzionale e R_{ij} è la distanza interatomica. $f_{dmp}(R)$ è una "damping function" (funzione di smorzamento), ossia una funzione necessaria a impedire che per valori piccoli di R il termine E_D tenda a valori non finiti:

$$f_{dmp}(R) = \frac{1}{1 + e^{-\gamma(R/R_0-1)}} \quad (4.28)$$

dove R_0 è la somma dei raggi atomici di Van der Waals. Il valore di γ determina la pendenza della funzione ed è stato posto pari a 23 [64, 67]. Per i coefficienti C_6^{ij} è stata proposta la seguente espressione [67]:

$$C_6^{ij} = 2 \frac{C_6^i C_6^j}{C_6^i + C_6^j} \quad (4.29)$$

I coefficienti atomici sono stati ricavati dalla letteratura [64] ma sono stati mediati su tutti i possibili stati di ibridazione degli atomi. I metodi DFT-D1 sono stati applicati a diversi sistemi [68] - [71] e hanno fornito risultati più accurati rispetto ai funzionali privi di correzioni per le forze di dispersione.

Nel 2006, Grimme ha proposto delle nuove correzioni [72], note come metodo DFT-D2, poiché i coefficienti C_6 erano disponibili solo per l'idrogeno e per gli elementi dal C al Ne, i calcoli eseguiti con la versione DFT-D1 su elementi del terzo periodo portavano a errori sistematici e la somma del termine E_D a E_{DFT} forniva risultati inconsistenti. Al termine α della damping function è stato assegnato il valore 20 per garantire correzioni maggiori a distanza intermedie. Inoltre, è stata fornita un'espressione alternativa per i coefficienti C_6^{ij} :

$$C_6^{ij} = \sqrt{C_6^i C_6^j} \quad (4.30)$$

Questa nuova espressione ha portato a una ridefinizione anche dei fattori s_6 . I coefficienti atomici C_6 sono stati calcolati sulla base della formula di London per le forze di dispersione. Per l'atomo a si ha che

$$C_6^a = 0.05 N I_P^a \alpha^a \quad (4.31)$$

dove C_6^a è dato in $\text{Jnm}^6\text{mol}^{-1}$, I_P è il potenziale di ionizzazione in unità atomiche e α è la polarizzabilità in unità atomiche. N può assumere i valori 2, 10, 18, 36 e 54 per gli atomi dei primi 5 periodi. La costante di proporzionalità che appare nella 4.31 è stata determinata in modo tale che il valore dei nuovi C_6 sia vicino a quello dei coefficienti precedentemente utilizzati per l'idrogeno e per gli elementi da C a Ne e permetta di calcolare accuratamente energie e distanze di legame di dimeri di gas rari e di complessi di elementi del terzo periodo. I metodi DFT-D2 risultano meno empirici rispetto ai DFT-D1 e presentano un minor numero di parametri da raffinare per la loro implementazione.

Nel 2010 Grimme ha formulato una terza espressione per le interazioni di dispersione, nota come DFT-D3 [73], proponendola come strumento generale in tutti i calcoli

di energie di dispersione, sia in fase gassosa sia in fase condensata. Il termine E_D è ora espresso come

$$E_D = E^{(2)} + E^{(3)} \quad (4.32)$$

dove il termine principale è $E^{(2)}$, relativo alle interazioni tra coppie di atomi. $E^{(3)}$ è un termine riferito alle interazioni tra tre atomi. Il suo contributo è minore del 5 – 10% del valore totale di E_D e in prima approssimazione può essere trascurato. $E^{(2)}$ è definito come

$$E^{(2)} = \sum_{AB} \sum_{n=6,8,10,\dots} s_n \frac{C_n^{AB}}{r_{AB}^n} f_{dmp,n}(r_{AB}) \quad (4.33)$$

La prima sommatoria considera tutte le possibili coppie di atomi, l'indice della seconda sommatoria si riferisce all'ordine n -esimo dei coefficienti di dispersione. I termini con $n > 6$ permettono di adattare la correzione alle interazioni a medio raggio. In realtà si è visto che risultati soddisfacenti si possono ottenere troncando la 4.33 a $n = 8$.

Il nuovo approccio DFT-D3 risulta meno empirico, poiché i parametri più importanti sono calcolati *ab initio* con metodi DFT standard, fornisce risultati asintoticamente corretti, sia per sistemi finiti sia per sistemi non metallici infiniti, e permette di descrivere gli elementi 1 - 94 della tavola periodica. Inoltre, i coefficienti C_n^{ij} e i raggi atomici sono esplicitamente calcolati ed è prevista l'introduzione di coefficienti di dispersione dipendenti dalla geometria del sistema. Infine, rispetto ai metodi precedenti, il metodo DFT-D3 fornisce informazioni ugualmente o maggiormente accurate per molecole di dimensioni ridotte e informazioni decisamente più accurate per sistemi metallici e composti da atomi pesanti.

La damping function della 4.33 è espressa secondo quanto proposto da Chai e Head-Gordon [74]:

$$f_{dmp,n}(r_{AB}) = \frac{1}{1 + 6(r_{AB}/(s_{r,n}R_0^{AB}))^{\alpha_n}} \quad (4.34)$$

dove $s_{r,n}$ è uno scaling factor n -dipendente, la cui introduzione ha lo scopo di adattare la correzione a anche a distanze medio-corte, e R_0^{AB} è un raggio di cut-off che determina la distanza interatomica a cui il valore assoluto dell'energia di dispersione diminuisce e si azzera.

La damping function è stata giudicata un punto debole dell'approccio DFT-D [75], poiché è stato ipotizzato che la scelta della forma della funzione influenzasse considerevolmente il risultato. In realtà si è visto che la forma della funzione influisce in maniera trascurabile sui risultati delle simulazioni [76] - [78].

La funzione riportata nella 4.34 tende a 0 per $R_{AB} \rightarrow 0$ ed è pertanto definita “Zero damping” [79]. Becke e Johnson [80] - [82] hanno invece proposto una damping function $f(R_{AB}^0)$ razionale (“BJ - damping”) che tende a un valore finito per $R_{AB} \rightarrow 0$:

$$f(R_{AB}^0) = a_1 R_{AB}^0 + a_2 \quad (4.35)$$

con

$$R_{AB}^0 = \frac{C_8^{AB}}{C_6^{AB}}. \quad (4.36)$$

Troncando la 4.33 a $n = 8$ e usando la BJ - damping si ha:

$$E^{(2)} = -\frac{1}{2} \sum_{A \neq B} \frac{C_6^{AB}}{R_{AB}^6 + [f(R_{AB}^0)]^6} + s_8 \frac{C_8^{AB}}{R_{AB} + [f(R_{AB}^0)]^8}. \quad (4.37)$$

L’approccio DFT-D3 con la BJ - damping richiede l’ottimizzazione di tre soli parametri (a_1 , a_2 e s_8), che sono stati determinati per più di 45 funzionali [83].

Il vantaggio della BJ - damping è che non è richiesto il valore del raggio di cut-off e non sono presenti forze interatomiche repulsive artificiali per piccole distanze [79]. L’utilizzo della BJ - damping comporta un contributo costante all’energia di correlazione per ogni coppia di atomi vicini, ma nonostante ciò per molti sistemi non è stata riscontrata una significativa “sovracorrelazione” [79]. Nel caso di tipiche interazioni non covalenti l’introduzione della funzione BJ - damping ha fornito risultati mediamente migliori rispetto alla zero - damping per 12 funzionali standard [79].

4.4 Dinamica molecolare

Con dinamica molecolare (MD) si fa riferimento a un insieme di tecniche computazionali che simulano l’evoluzione temporale di un sistema di atomi interagenti integrandone le equazioni del moto. È così possibile ottenere informazioni sia sul moto di molte molecole, come in un fluido, sia sul moto di singole molecole di grandi dimensioni, come una proteina.

La dinamica molecolare è una tecnica deterministica: date le posizioni e le velocità iniziali l’evoluzione temporale, è completamente determinata. Per un sistema di N particelle è calcolata una traiettoria in uno spazio delle fasi $6N$ -dimensionale ($3N$ posizioni e $3N$ quantità di moto). La traiettoria fornisce un insieme di configurazioni e le quantità fisiche sono calcolate come media su tutte le configurazioni.

Per rendere più realistici i sistemi simulati, le tecniche di MD prevedono l’utilizzo delle cosiddette condizioni periodiche al contorno (“periodic boundary conditions” PBC): le particelle del sistema vengono incluse in una scatola di simulazione

che viene replicata infinitamente nelle tre direzioni dello spazio. In tal modo ogni particella non interagisce solamente con le altre particelle presenti nella scatola ma anche con quelle che si trovano nelle scatole attigue, eliminando così gli effetti di bordo e superficie.

La MD risulta particolarmente adatta e utilizzata per la simulazione di sistemi biologici, in quanto la loro struttura e le loro funzionalità sono il risultato di interazioni che evolvono nel tempo. Le maggiori applicazioni riguardano proteine, per studiarne stabilità e folding, acidi nucleici e loro complessi, reazioni enzimatiche, processi di trasporto e modellazione di molecole biologicamente attive (“drug design”).

Le prime simulazioni basate sulla dinamica molecolare risalgono alla metà del secolo scorso e, grazie all’aumento della potenza di calcolo e al miglioramento degli algoritmi a disposizione, negli ultimi 40 anni i metodi MD sono stati ampiamente usati in molti campi della chimica e della fisica computazionale.

Nell’ambito dei metodi MD esistono due approcci principali. Il primo è noto come dinamica molecolare classica: gli atomi sono trattati come sfere e i legami come molle e la dinamica del sistema è definita dalle leggi della meccanica classica. Il secondo è noto come dinamica molecolare quantistica o *ab initio* (AIMD), che considera esplicitamente la natura quantistica del legame chimico.

Uno dei maggiori vantaggi delle simulazioni AIMD è la capacità di simulare processi complessi. I metodi *ab initio* statici prevedono la determinazione di punti di minimo (possibili posizioni di equilibrio) e punti di sella (possibili stati di transizione) sulle superfici di energia potenziale. Tale approccio si rivela però inadatto per situazioni in cui sono importanti gli effetti entropici e diventa necessario indagare le superfici di energia libera [84].

L’AIMD si basa sull’equazione di Schrödinger dipendente dal tempo, riportata nell’equazione 4.2.

4.4.1 Dinamica molecolare di Born - Oppenheimer

Supponendo di conoscere la soluzione esatta dell’equazione di Schrödinger elettronica indipendente dal tempo (equazione 4.4), nel 1951 Born formulò la seguente *ansatz*⁵ per la funzione d’onda totale [85, 86]:

$$\Psi(\{\mathbf{r}_i\}, \{\mathbf{R}_I\}; t) = \sum_{l=0}^{\infty} \Psi_l(\{\mathbf{r}_i\}, \{\mathbf{R}_I\}) \zeta_l(\{\mathbf{R}_I\}; t) \quad (4.38)$$

dove le funzioni d’onda ζ_l possono essere considerate come i coefficienti per derivare l’espansione temporale di Ψ .

⁵Il termine *ansatz* indica un’ipotesi la cui validità sarà verificata successivamente.

L'introduzione dell'ansatz 4.38 nella 4.4 porta a un set di equazioni differenziali che accoppiano il moto elettronico con quello nucleare. L'applicazione dell'approssimazione adiabatica e dell'approssimazione di Born - Oppenheimer permette di ottenere l'equazione finale semplificata per il k-esimo stato elettronico:

$$\left[-\sum_I \frac{\hbar^2}{2M_I} \nabla_I^2 + E_k(\{\mathbf{R}_I\}) \right] \zeta_k = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \zeta_k \quad (4.39)$$

Il passo successivo è descrivere i nuclei come particelle puntiformi classiche e applicare le leggi del moto di Newton:

$$M_I \ddot{\mathbf{R}}_I(t) = -\nabla_I U_k^{BO}(\{\mathbf{R}_I(t)\}) \quad (4.40)$$

M_I è la massa dell'I-esimo nucleo e U_k^{BO} è il potenziale di Born - Oppenheimer. Secondo la 4.40 i nuclei si muovono secondo le leggi della meccanica classica in un potenziale effettivo dato dalla superficie di energia potenziale E_k di Born-Oppenheimer ottenuta risolvendo l'equazione di Schrödinger dipendente dal tempo per il k-esimo stato elettronico e la configurazione nucleare $\{\mathbf{R}_I(t)\}$. Per questo motivo, questo approccio è noto come Born-Oppenheimer Molecular Dynamics (BOMD).

La 4.40 per lo stato elettronico fondamentale può essere scritta come

$$M_I \ddot{\mathbf{R}}_I = -\nabla_I \min_{\Psi_0} \{E_0\} \quad (4.41)$$

con

$$\hat{H}\Psi_0 = E_0\Psi_0 \quad (4.42)$$

Dalle equazioni precedenti si evince che la BOMD prevede che la funzione d'onda sia ottimizzata ad ogni step di dinamica molecolare.

Nell'ambito della teoria DFT, il termine \hat{H} della 4.42 è sostituito dall'operatore di Kohn-Sham \hat{H}^{KS} . Negli anni '80 e '90 del secolo scorso i metodi DFT associati alla BOMD hanno avuto un notevole successo per le simulazioni AIMD di sistemi condensati. I funzionali più usati sono i GGA, mentre per quanto riguarda i metodi ibridi il loro utilizzo è più raro a causa del costo computazionalmente elevato.

4.5 Spettroscopia vibrazionale

Sfruttando l'approssimazione di Born - Oppenheimer, data una superficie di energia potenziale (PES)⁶ è possibile formulare e risolvere l'equazione di Schrödinger per il moto nucleare:

$$\left[-\sum_i^N \frac{1}{2m_i} \nabla_i^2 - U(\mathbf{q}) \right] \Xi(\mathbf{q}) = E \Xi(\mathbf{q}) \quad (4.43)$$

dove N è il numero di atomi, m_i è la massa atomica dell'atomo i -esimo, U l'energia potenziale, \mathbf{q} il vettore delle $3N$ coordinate nucleari e Ξ la funzione d'onda nucleare.

L'esempio più semplice è rappresentato da una molecola biatomica. In questo caso c'è un'unica coordinata nucleare ($\mathbf{q} = r$) e l'energia potenziale del sistema ha un minimo quando la distanza interatomica r è pari alla distanza di equilibrio r_{eq} . Il valore di $U(r)$ in un punto arbitrario può essere espresso tramite un'espansione di Taylor:

$$\begin{aligned} U(r) = & U(r_{eq}) + \left. \frac{dU}{dr} \right|_{r=r_{eq}} (r - r_{eq}) + \frac{1}{2!} \left. \frac{d^2U}{dr^2} \right|_{r=r_{eq}} (r - r_{eq})^2 \\ & + \frac{1}{3!} \left. \frac{d^3U}{dr^3} \right|_{r=r_{eq}} (r - r_{eq})^3 + \dots \end{aligned} \quad (4.44)$$

Considerando che a secondo membro della 4.44 è possibile porre pari a zero il termine $U(r_{eq})$ e che il termine di primo ordine vale zero in corrispondenza della geometria di equilibrio, troncando l'espansione al secondo ordine si ottiene il seguente potenziale armonico:

$$U(r) = \frac{1}{2} k (r - r_{eq})^2 \quad (4.45)$$

dove il valore assunto dalla derivata seconda è stato identificato con la costante di forza k . Il risultato è naturalmente identico a quello della 3.2, con $r - r_{eq} = x$. Sostituendo tale espressione nella 4.43 si ottiene

$$\left[-\frac{1}{2\mu} \frac{\partial^2}{\partial r^2} + \frac{1}{2} k (r - r_{eq})^2 \right] \Xi(r) = E \Xi(r) \quad (4.46)$$

Risolvendo la 4.46 si ottengono i corrispondenti autovalori e autofunzioni per una molecola biatomica.

Considerando il caso di una molecola poliatomiche, sempre nell'ambito dell'approssimazione armonica, l'espansione di Taylor multidimensionale porta all'equazione

$$\left[-\sum_i^{3N} \frac{1}{2m_i} \frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{1}{2} (\mathbf{x} - \mathbf{x}_{eq})^\dagger \mathbf{H} (\mathbf{x} - \mathbf{x}_{eq}) \right] \Xi(\mathbf{x}) = E \Xi(\mathbf{x}) \quad (4.47)$$

⁶Una superficie di energia potenziale è un'ipersuperficie che descrive l'energia del sistema in funzione delle posizioni atomiche, che rappresentano le variabili.

dove \mathbf{x} è il vettore delle coordinate atomiche, \mathbf{x}_{eq} definisce il vettore della struttura di equilibrio e \mathbf{H} è la matrice delle derivate seconde, detta matrice hessiana, definita come

$$H_{ij}^{(k)} = \left. \frac{\partial^2 U}{\partial x_i \partial x_j} \right|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}^{(k)}} \quad (4.48)$$

dove $\mathbf{x}^{(k)}$ è il vettore delle coordinate atomiche nel k -esimo punto della PES.

La 4.47 può essere semplificata trasformando le coordinate \mathbf{x} in un set di coordinate spaziali \mathbf{q} dipendenti dalla massa, rendendo possibile la separazione di un'equazione di Schrödinger $3N$ -dimensionale in $3N$ equazioni di Schrödinger monodimensionali. Queste ultime si presentano come la 4.46, ma le costanti di forza e le masse ridotte sono definite dalla trasformazione delle coordinate originarie nel set di coordinate \mathbf{q} . Poiché il primo termine dell'espansione di Taylor è posto pari a zero e il secondo si annulla solo quando l'espansione è fatta attorno a un punto critico sulla PES, a rigore la 4.47 è valida solo se il livello di teoria utilizzato nel calcolo della matrice hessiana è uguale a quello usato per l'ottimizzazione geometrica, in quanto due livelli di teoria diversi possono comportare strutture di minimo diverse. Sempre considerando l'annullamento dei primi due termini in corrispondenza di un punto critico, la 4.47 è valida per tutti i punti stazionari, non solo per quelli di minimo. Nel caso i punti critici non siano di minimo, una o più costanti di forza sono negative e le frequenze immaginarie. Frequenze tutte reali sono quindi indicative di uno stato di minimo. La presenza di una frequenza immaginaria indica che la struttura è uno stato di transizione mentre due o più frequenze immaginarie indicano strutture con diverse costanti di forza negative, utili talvolta nella determinazione di uno stato di transizione ma prive di significato chimico.

L'intensità delle bande degli spettri IR simulati può essere calcolata dalle derivate seconde dell'energia rispetto ai moti della struttura e a un campo elettrico esterno, ottenendo così le variazioni del momento di dipolo rispetto alle vibrazioni. Per quanto riguarda la spettroscopia Raman, le intensità sono più difficili da calcolare, poiché sono coinvolte le derivate terze della PES, per stimare i cambiamenti nella polarizzabilità della molecola.

La matrice hessiana include anche i 3 gradi di libertà traslazionali e i 3 (2 per le molecole lineari) rotazionali. Gli autovalori ad essi associati sono solitamente nulli o molto prossimi allo 0.

4.5.1 Contributo di anarmonicità

Il contributo dovuto all'anarmonicità può essere incluso nel calcolo delle frequenze di vibrazione mediante metodi statici con la teoria delle perturbazioni vibrazionali, nota anche come "Vibrational Perturbation Theory" (VPT2). Il 2 nell'acronimo si riferisce al fatto che la VPT2 è un esempio di applicazione della teoria delle perturbazioni del secondo ordine. Tale metodo è uno dei più utilizzati e diffusi ed è implementato in diversi software di chimica quantistica.

La teoria delle perturbazioni è applicabile a problemi per i quali l'Hamiltoniano del sistema può essere definito come

$$\hat{H} = \hat{H}_0 + \hat{H}_I \quad (4.49)$$

dove \hat{H}_0 è un Hamiltoniano per il quale sono noti autofunzioni e autovalori e \hat{H}_I è un termine perturbativo, il cui contributo è molto piccolo rispetto al termine noto.

La teoria VPT2 tratta il contributo di anarmonicità come un termine perturbativo e l'Hamiltoniano vibrazionale \hat{H}_{VPT2} è definito come

$$\hat{H}_{VPT2} = \hat{H}_{Harm} + \hat{H}_{Anharm}. \quad (4.50)$$

\hat{H}_{Harm} è l'Hamiltoniano noto dell'approssimazione armonica, mentre il termine di perturbazione \hat{H}_{Anharm} include i termini di terzo e di quarto ordine della 4.44.

Dal punto di vista computazionale, l'approccio anarmonico comporta tempi molto maggiori rispetto a quello armonico, poiché è richiesto il calcolo delle derivate cubiche e quartiche della PES, che viene ottenuto per via numerica.

4.5.2 Spettri vibrazionali da simulazioni AIMD

La simulazione degli spettri vibrazionali tramite AIMD è basata sulla trasformata di Fourier di determinate funzioni di autocorrelazione. Gli spettri IR sono calcolati a partire dalla funzione di autocorrelazione del momento di dipolo elettrico e gli spettri Raman dalla funzione di autocorrelazione della polarizzabilità.

Poiché tutti i modi normali vengono eccitati contemporaneamente, le oscillazioni nel tempo del momento di dipolo e della polarizzabilità contengono allo stesso tempo i contributi di tutti i modi normali. Ognuno dei modi normali oscilla a una determinata frequenza e lo spettro può quindi essere ottenuto tramite la trasformata di Fourier della funzione di autocorrelazione. Anche le intensità vengono ricavate dalle funzioni di autocorrelazione e corrispondono all'ampiezza delle oscillazioni nella funzione, così variazioni importanti del momento di dipolo o della polarizzabilità comportano picchi intensi, mentre variazioni contenute si traducono in picchi deboli.

I momenti di dipolo di sistemi con condizioni periodiche al contorno possono essere ottenuti con due metodi. Il primo prevede di trattare la polarizzazione tramite un approccio basato sulla fase di Berry [87, 88] ed è adatto per singole molecole. Il secondo si basa invece sulle funzioni di Wannier [89] - [92] ed è più conveniente per sistemi composti da più molecole, poiché permette l'estrapolazione del contributo individuale di ogni molecola al momento di dipolo totale. Le funzioni di Wannier sono l'equivalente nella materia condensata degli orbitali molecolari localizzati. Un modo per ricavare la polarizzabilità è riportato in [93] e sfrutta la variazione del momento dipolare elettrico causata dall'applicazione di un campo elettrico esterno.

A differenza dell'approccio statico, nella MD non viene effettuata alcuna approssimazione per l'andamento dell'energia potenziale. Questo comporta la possibilità di ricavare dalle funzioni di autocorrelazione spettri in cui sono inclusi i contributi di anarmonicità e l'allargamento di bande.

4.6 Modelli di solvatazione

Con i metodi statici fino ad ora citati le molecole sono considerate isolate e in fase gas. Poiché molto spesso le simulazioni sono utilizzate per interpretare risultati sperimentali ottenuti su sistemi in fase liquida o solida, negli ultimi 20 anni sono stati sviluppati diversi modelli per la descrizione dei sistemi condensati.

Per quanto riguarda le fasi liquide sono possibili due approcci. Il primo, detto approccio esplicito, prevede di introdurre esplicitamente nel sistema le molecole di solvente. Tale modello presenta però alcuni limiti, tra cui la difficoltà nello stabilire quante molecole di solvente siano necessarie per descrivere in maniera sufficientemente accurata il sistema solvatato. Naturalmente, maggiore è il numero di molecole considerate esplicitamente e più accurata è la descrizione, a fronte però di costi computazionali significativamente più elevati. Inoltre l'interpretazione degli spettri vibrazionali simulati può in alcuni casi essere complicata dall'accoppiamento dei modi normali del soluto con quelli del solvente. Alla luce di queste considerazioni, sono stati sviluppati dei modelli, definiti modelli impliciti, che prevedono di sostituire alle molecole del solvente un mezzo continuo le cui proprietà siano uguali a quelle del solvente. Per questo motivo, i modelli impliciti sono detti anche "continuum solvation models". La quantità fondamentale che descrive l'interazione di un soluto A con il solvente è l'energia libera di solvatazione

$$\Delta G_S^0(A) = \lim_{[A]_{sol} \rightarrow 0} \left\{ -RT \ln \left. \frac{[A]_{sol}}{[A]_{gas}} \right|_{eq} \right\}. \quad (4.51)$$

dove il rapporto $[A]_{sol}/[A]_{gas}$ indica la ripartizione del soluto tra la fase condensata e la fase gas.

Al processo di solvatazione contribuiscono diversi effetti fisici. Tra i più importanti vi sono le interazioni elettrostatiche e la cavitazione. Le interazioni elettrostatiche sono sempre non positive: considerando un soluto dotato di momento di dipolo che passa dalla fase gassosa in un solvente a sua volta dotato di momento di dipolo, il momento del solvente si oppone a quello del soluto. Se il solvente è un fluido isotropico, prima dell'introduzione del soluto il campo elettrico medio in ogni punto è pari a zero. La presenza del soluto, provocando l'orientazione dei momenti di dipolo, introduce invece un campo netto, definito "reaction field". Questo implica che nell'operatore Hamiltoniano del soluto debba essere introdotto un termine che consideri le interazioni delle cariche elettriche (ivi inclusi momenti di dipolo, momenti di quadrupolo, ...) con il campo elettrico. L'effetto è un aumento della polarità del soluto proporzionalmente alla sua polarizzabilità e alla forza del campo. In seguito a tale aumento, il solvente si polarizza a sua volta e l'entità del suo momento di dipolo, che si oppone al momento di dipolo del soluto, aumenta. La polarizzazione delle specie e l'orientazione dei loro momenti di dipolo presenta un costo in termini di energia libera: il processo prosegue finché il guadagno energetico associato alla polarizzazione del sistema soluto/solvente bilancia la spesa energetica necessaria per tale polarizzazione. La solvatazione non comporta soltanto l'aumento dei momenti di dipolo, bensì anche la variazione di qualsiasi proprietà legata alla struttura elettronica. L'entità della variazione dipende dalla forza delle interazioni soluto - solvente.

Un altro effetto fisico associato alla solvatazione è la cavitazione. Il passaggio del soluto in fase condensata può essere immaginato come la creazione all'interno del solvente di una cavità in cui il soluto sarà alloggiato. La creazione della cavità comporta un costo energetico definito energia di cavitazione. L'occupazione del soluto di una cavità di forma e dimensioni adatte comporta forze di dispersione favorevoli tra il soluto e il solvente che lo circonda, che si traducono in un guadagno in termini di energia libera. Anche la cavitazione quindi è un processo associato a variazioni nell'energia libera del sistema.

In un continuum model la rappresentazione esplicita della distribuzione di carica del solvente è sostituita da un campo elettrico continuo, il reaction field, nelle regioni di spazio occupate dal soluto. In un dato punto dello spazio il campo elettrico è definito dal gradiente del potenziale elettrostatico η in quel punto e il lavoro richiesto per creare la distribuzione di carica è determinato dall'interazione tra la densità di

carica del soluto ρ e η

$$G = -\frac{1}{2} \int \rho(\mathbf{r})\eta(\mathbf{r})d(\mathbf{r}). \quad (4.52)$$

In tutti i modelli η è funzione della densità di carica ρ e della costante dielettrica del mezzo ε secondo l'equazione di Poisson

$$\nabla^2\eta(\mathbf{r}) = -\frac{4\pi\rho(\mathbf{r})}{\varepsilon}. \quad (4.53)$$

Poiché un continuum model tratta il soluto in modo esplicito e il solvente in modo implicito, la distribuzione di carica del soluto si trova all'interno di una cavità che sostituisce un mezzo altrimenti omogeneo.

Un aspetto importante in questi modelli è la forma delle cavità. In un caso idealizzato, uno ione monoatomico può essere approssimato da una sfera di materiale conduttore di carica q . La densità di carica su ogni punto della superficie è espressa come

$$\rho(\mathbf{s}) = \frac{q}{4\pi a^2} \quad (4.54)$$

dove \mathbf{s} è un punto sulla superficie e a è il raggio della sfera. Il potenziale elettrostatico è dato da

$$\eta(\mathbf{r}) = -\frac{q}{\varepsilon|\mathbf{r}|}. \quad (4.55)$$

Prendendo $|\mathbf{r}| = a$ la 4.52 diventa

$$G = -\frac{1}{2} \int \left(\frac{q}{4\pi a^2} \right) \left(-\frac{q}{\varepsilon a} \right) ds = \frac{q^2}{2\varepsilon a}. \quad (4.56)$$

La differenza tra il lavoro richiesto per creare una distribuzione di carica in fase gas e quello richiesto in soluzione è definito energia di polarizzazione G_P ed è pari a

$$G_P = -\frac{1}{2} \left(1 - \frac{1}{\varepsilon} \right) \frac{q^2}{a} \quad (4.57)$$

che è l'equazione di Born per l'energia di polarizzazione di uno ione monoatomico in unità atomiche. Se la sfera invece di essere uniformemente carica presentasse un momento di dipolo μ , si avrebbe che

$$G_P = -\frac{1}{2} \left[\frac{2(\varepsilon - 1)}{2\varepsilon + 1} \right] \frac{\mu^2}{a^3} \quad (4.58)$$

che è l'equazione di Kirkwood-Onsager in unità atomiche. A differenza della 4.57, che dipende da q , la 4.58 dipende da μ^2 , che può variare a seconda dell'ambiente

circostante. Trattando G_P come un operatore, l'equazione di Schrödinger in soluzione ha la forma

$$\{\hat{H} + \hat{G}_P\}\Psi = E\Psi \quad (4.59)$$

dove \hat{H} è l'operatore Hamiltoniano della fase gas. La 4.59 può essere risolta in modo iterativo e il procedimento è noto come "Self Consistent Reaction Field" (SCRF).

Probabilmente una delle implementazioni più diffuse dell'equazione di Poisson nel procedimento SCRF è quella formalizzata nel 1981 da Miertus, Scrocco e Tomasi [94], che definirono il loro modello "polarized continuum model" (PCM).

Anche per quanto riguarda le simulazioni di AIMD esiste la possibilità di trattare i sistemi solvatati tramite approccio implicito o esplicito. Il trattamento implicito prevede anche in questo caso l'utilizzo della costante dielettrica per descrivere le proprietà del mezzo continuo che simula il solvente. L'approccio esplicito è invece molto più diffuso rispetto al caso dei metodi statici, in particolare per le soluzioni acquose, e accanto all'inclusione diretta delle molecole di solvente nel sistema prevede l'utilizzo delle PBC per la simulazione del bulk.

Per la stesura di questo capitolo sono stati consultati anche i riferimenti [42], e [95] - [99].

Capitolo 5

L-Asparagina in soluzione acquosa

5.1 Caratterizzazione sperimentale

Lo spettro Raman dell'L-Asparagina in soluzione acquosa è stato registrato presso il Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie dell'Università di Bologna, nel laboratorio della Professoressa Paola Taddei. Per la registrazione dello spettro è stata preparata una soluzione 0.07 molare di L-Asparagina anidra in acqua distillata. Lo spettro è stato registrato in condizioni di back-scattering con uno spettrometro micro-Raman Jasco NRS-2000C con un obiettivo a ingrandimento $100\times$ (figura 5.1). Come sorgente eccitatrice è stato utilizzato un laser pompato a diodi (Green DPSS Laser Dirver, RgBLase LLC, USA) con emissione a 532 nm. La potenza laser sul campione era di circa $55\ \mu\text{W}$. Come rivelatore è stato utilizzato un dispositivo ad accoppiamento di carica (Spec-10: 100B, Roper Scientific Inc.) raffreddato a 160 K. Lo spettro è stato registrato nella regione spettrale compresa tra 1800 e $400\ \text{cm}^{-1}$ con una risoluzione di $4\ \text{cm}^{-1}$.

5.2 Caratterizzazione computazionale

Per quanto riguarda l'approccio statico le simulazioni sono state effettuate utilizzando il software Gaussian 09 [100], mentre le simulazioni di dinamica molecolare sono state effettuate tramite il software CP2K [101, 102], che implementa la dinamica molecolare di Born - Oppenheimer. I calcoli sono stati eseguiti con il cluster Galileo del Consorzio Interuniversitario CINECA, con il cluster linux Supermicro Superserver presente nel centro di calcolo dell'Università degli Studi di Udine, con la workstation HP Z-400 del laboratorio di spettroscopia e chimica computazionale di questo Dipartimento e su alcuni pc disponibili nello stesso laboratorio.

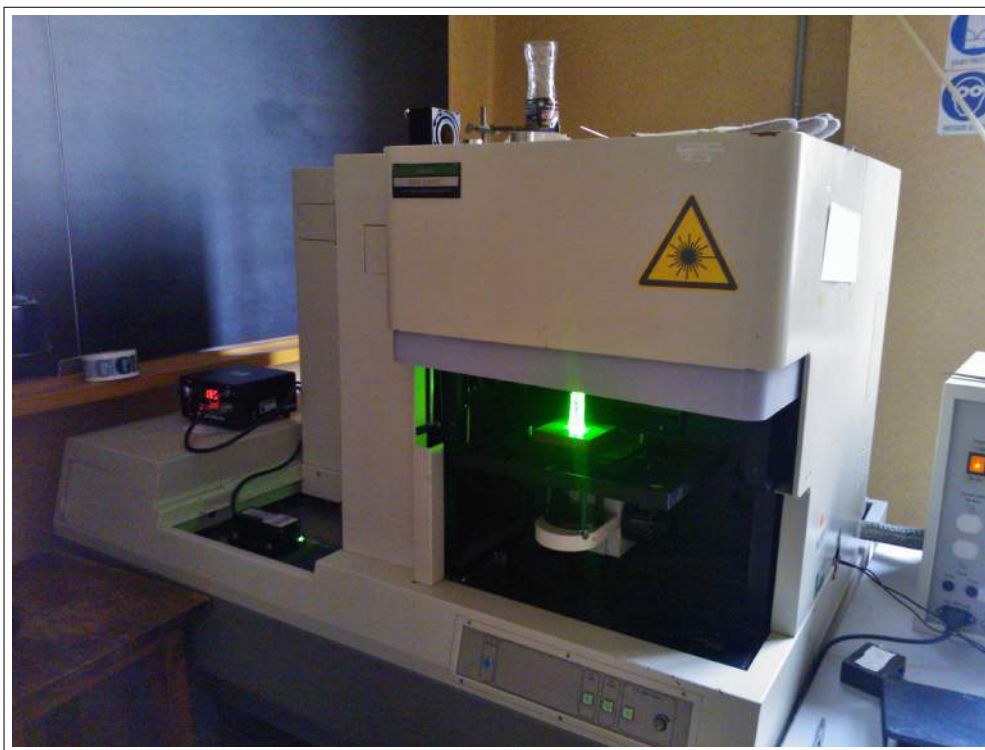


Figura 5.1: Spettrometro utilizzato per la registrazione dello spettro Raman.

5.2.1 Calcoli statici

Per la simulazione della soluzione acquosa sono stati adottati tre diversi approcci:

- utilizzo di un modello di solvatazione implicito;
- inclusione esplicita delle molecole di acqua;
- approccio misto, con simulazione esplicita del solvente e contestuale utilizzo di un modello di solvatazione implicito.

Per il modello di solvatazione implicito i calcoli sono stati eseguiti a livello DFT-D3 SCRF, utilizzando il funzionale ibrido PBE0 e il basis set di tipo double zeta SNSD [103]. Come struttura di input è stata utilizzata la struttura dell'L-Asparagina anidra cristallina ottenuta tramite diffrazione ai raggi X presente in letteratura [28]. È stata eseguita l'ottimizzazione geometrica e sulla struttura ottimizzata è stato effettuato il calcolo anarmonico delle frequenze e delle intensità Raman.

Per la simulazione esplicita del solvente si è deciso di includere 4 molecole di acqua. Tale scelta è stata dettata dalla necessità di giungere a un compromesso tra i costi computazionalmente elevati dovuti all'inclusione esplicita del solvente e

l'adeguata riproduzione di una sfera di solvatazione. Come struttura di partenza è stata utilizzata quella dell'L-Asparagina monoidrata cristallina ottenuta tramite diffrazione ai raggi X presente in letteratura [104]. Tale struttura è stata ottimizzata a livello PBE0/SNSD. Le successive tre molecole di solvente sono state aggiunte una alla volta per step successivi e a ogni step è stata effettuata l'ottimizzazione geometrica del sistema. Le molecole d'acqua di volta in volta aggiunte al sistema sono state posizionate in modo tale da favorire la formazione del massimo numero di legami a idrogeno tra L-Asparagina e acqua. Per il sistema con 4 molecole di solvente sono state infine calcolate le frequenze anarmoniche e le intensità Raman anarmoniche. I calcoli sono stati condotti a livello PBE0/SNSD, sia con un approccio di tipo DFT standard sia con l'inclusione delle dispersion corrections.

Per quanto riguarda l'approccio misto, sul sistema L-Asparagina·4H₂O sono stati eseguiti i calcoli a livello DFT-D3 con inclusione del modello di solvatazione implicito. È stata eseguita l'ottimizzazione geometrica e sono state calcolate le frequenze armoniche. Per il calcolo delle frequenze anarmoniche è stato utilizzato il metodo della dimensionalità ridotta [105]. Tale approccio comporta la riduzione dei tempi di calcolo in quanto prevede di includere solo determinati modi normali nel calcolo anarmonico delle frequenze. Il calcolo anarmonico delle frequenze e delle intensità Raman è stato quindi impostato cercando di includere solo i modi normali associabili all'L-Asparagina ed escludendo quelli relativi alle molecole di H₂O. Tuttavia, a causa dell'accoppiamento tra i modi normali di soluto e solvente, dall'insieme di modi normali selezionati dal software per il calcolo degli effetti di anarmonicità in dimensionalità ridotta non sono state incluse due vibrazioni, la ν_{45} e la ν_{10} , dovute invece ai moti dell'L-Asparagina, per le quali sono stati conseguentemente considerati i valori armonici.

Inoltre, allo scopo di individuare le principali variazioni strutturali causate nella molecola dalla solvatazione, geometria e frequenze di vibrazione anarmoniche sono state calcolate anche per la molecola libera in fase gas a livello HF/6-311++G**. L'ottimizzazione della struttura dell'L-Asparagina isolata senza utilizzo di modelli di solvatazione è stata effettuata a livello HF poiché l'utilizzo di metodi DFT sulla struttura zwitterionica ripristina la forma senza separazione di carica.

5.2.2 Simulazioni di dinamica molecolare *ab initio*

Per le simulazioni di AIMD il solvente è stato trattato esplicitamente, con l'inclusione di 28 molecole di H₂O. Per la creazione della struttura di partenza è stato utilizzato uno dei modelli ottimizzati per la simulazione dell'acqua liquida disponibile sul si-

to del software CP2K [102]. È stato utilizzato il modello con 32 molecole di H₂O, sostituendo 4 delle molecole di solvente centrali con una molecola di L-Asparagina, per simularne la solvatazione. Le simulazioni sono state condotte a livello DFT-D3 utilizzando il modulo Quickstep [106] e il funzionale BLYP. A tutti gli atomi sono stati applicati il basis set di tipo double zeta MOLOPT-DZ-SR-GTH [107] e i corrispondenti pseudopotenziali di Goedecker-Teter-Hutter (GTH) [108] - [110]. La temperatura è stata fissata a 300 K utilizzando il termostato di Nosé - Hoover [111] - [113]. Sul sistema L-Asparagina·28H₂O è stata prima eseguita l’ottimizzazione geometrica e poi la simulazione di dinamica molecolare. Per l’equilibratura del sistema è stata effettuata una simulazione di 3 ps con time-step di 1 fs. Sulla struttura ottenuta dall’equilibratura è stata poi eseguita una simulazione di 30 ps con time-step di 0.5 fs. Come dimensione della scatola di simulazione è stata mantenuta quella del modello per l’acqua liquida, pari a 986.5 pm. Lo spettro Raman calcolato è stato ricavato analizzando i dati ottenuti dalla simulazione tramite il software TRAVIS [114, 115]. Per l’analisi sono stati mantenuti i parametri di default suggeriti dalle linee guida del software.

5.3 Parametri strutturali

In figura 5.2 è riportata la struttura sperimentale dell’L-Asparagina anidra solida riportata nel riferimento [28] con la numerazione di riferimento degli atomi. La geometria è stata ottenuta a partire dalle coordinate cartesiane degli atomi riportate in letteratura. Nelle figure 5.3 e 5.4 sono riportate rispettivamente le strutture dell’L-Asparagina ottimizzata a livello HF/6-311++G** e dell’L-Asparagina ottimizzata a livello PBE0/SNSD con trattamento implicito del solvente (PCM) e l’utilizzo delle dispersion corrections.

In tabella 5.1 sono riportati distanze di legame, angoli piani e angoli diedri delle due strutture ottimizzate. I parametri considerati sono quelli delle 51 coordinate interne utilizzate in seguito per la definizione dei modi normali di vibrazione e poi della distribuzione dell’energia totale (“Total Energy Distribution”, TED).

Passando dalla struttura ottimizzata a livello HF/6-311++G** a quella ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD SCRF si notano un evidente aumento della lunghezza dei legami N-H e C=O e un aumento, anche se meno importante, delle lunghezze dei legami C-H. Le lunghezze dei legami C-N diminuiscono leggermente mentre quelle dei legami C-C restano sostanzialmente invariate. Per quanto riguarda angoli piani e angoli diedri, non si hanno significative variazioni tra i due modelli. La variazione

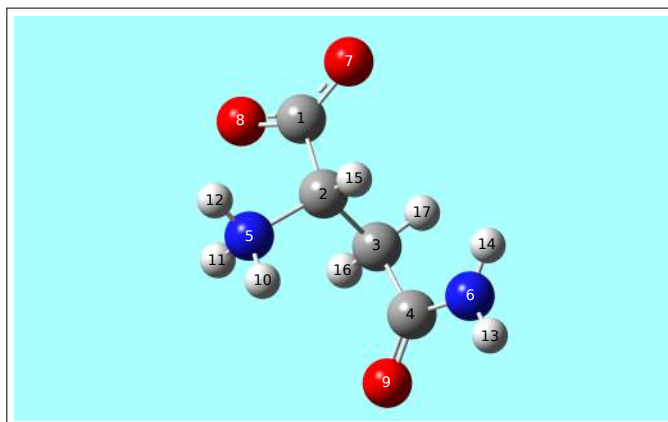


Figura 5.2: Struttura sperimentale dell'L-Asparagina in forma cristallina riportata in letteratura e relativa numerazione degli atomi.

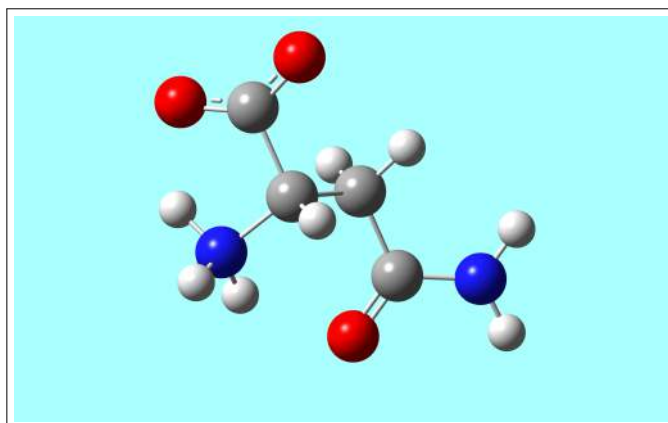


Figura 5.3: Struttura dell'L-Asparagina ottimizzata a livello HF/6-311++G**.

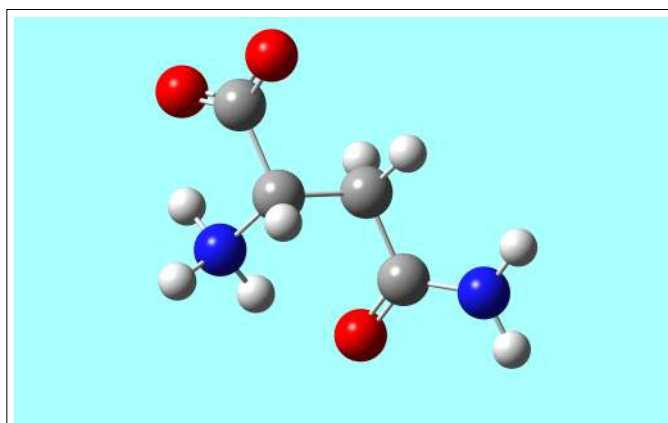


Figura 5.4: Struttura dell'L-Asparagina ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD con inclusione implicita del solvente.

Tabella 5.1: Parametri strutturali dell’L-Asparagina. Confronto tra molecola in fase gas e modello di solvatazione implicito.

	HF ^a	M. impl. ^b		HF ^a	M. impl. ^b
Distanze di legame (Å)					
r ₁₋₂	1.565 ₈	1.551 ₇	r ₃₋₁₇	1.078 ₇	1.091 ₉
r ₁₋₇	1.206 ₀	1.242 ₈	r ₄₋₆	1.336 ₇	1.335 ₆
r ₁₋₈	1.231 ₅	1.256 ₇	r ₄₋₉	1.204 ₉	1.239 ₇
r ₂₋₃	1.524 ₅	1.528 ₅	r ₅₋₁₀	1.007 ₅	1.040 ₆
r ₂₋₅	1.497 ₇	1.488 ₄	r ₅₋₁₁	1.026 ₀	1.037 ₈
r ₂₋₁₅	1.078 ₃	1.092 ₁	r ₅₋₁₂	1.001 ₇	1.018 ₅
r ₃₋₄	1.513 ₈	1.512 ₉	r ₆₋₁₃	0.992 ₁	1.010 ₁
r ₃₋₁₆	1.085 ₈	1.098 ₄	r ₆₋₁₄	0.989 ₂	1.007 ₇
Angoli piani (deg)					
β ₁₋₂₋₃	109.5 ₃	109.5 ₈	β ₃₋₄₋₉	121.0 ₃	121.5 ₀
β ₁₋₂₋₅	106.0 ₄	107.4 ₀	β ₄₋₃₋₁₆	106.7 ₈	106.6 ₆
β ₁₋₂₋₁₅	110.6 ₁	110.4 ₄	β ₄₋₃₋₁₇	112.3 ₇	112.1 ₂
β ₂₋₁₋₇	114.4 ₁	116.0 ₀	β ₄₋₆₋₁₃	118.9 ₀	119.5 ₂
β ₂₋₁₋₈	112.7 ₆	115.5 ₉	β ₄₋₆₋₁₄	121.9 ₁	121.8 ₆
β ₂₋₃₋₄	113.7 ₇	113.0 ₅	β ₅₋₂₋₁₅	108.5 ₅	108.7 ₆
β ₂₋₃₋₁₆	109.6 ₈	109.4 ₇	β ₆₋₄₋₉	122.1 ₈	122.3 ₀
β ₂₋₃₋₁₇	106.9 ₂	107.9 ₅	β ₇₋₁₋₈	132.7 ₉	129.3 ₇
β ₂₋₅₋₁₀	111.7 ₅	109.1 ₂	β ₁₀₋₅₋₁₁	115.8 ₇	114.6 ₆
β ₂₋₅₋₁₁	101.9 ₅	104.0 ₀	β ₁₀₋₅₋₁₂	108.7 ₉	109.3 ₀
β ₂₋₅₋₁₂	111.0 ₇	111.9 ₀	β ₁₁₋₅₋₁₂	107.2 ₁	107.8 ₂
β ₃₋₂₋₅	111.2 ₅	110.0 ₉	β ₁₃₋₆₋₁₄	119.1 ₇	118.6 ₁
β ₃₋₂₋₁₅	110.7 ₅	110.5 ₂	β ₁₆₋₃₋₁₇	107.1 ₃	107.4 ₄
β ₃₋₄₋₆	116.7 ₈	117.1 ₉			
Angoli diedri (deg)					
θ ₂₋₃₋₄₋₆	137.5 ₄	131.7 ₉	θ ₄₋₃₋₂₋₅	58.3 ₆	54.1 ₀
θ ₃₋₂₋₁₋₈	109.4 ₉	104.9 ₄	θ ₄₋₁₃₋₆₋₁₄	178.7 ₅	178.6 ₃
θ ₃₋₂₋₅₋₁₁	99.2 ₈	96.8 ₄	θ ₆₋₃₋₄₋₉	178.6 ₀	178.9 ₄
θ ₃₋₄₋₆₋₁₃	176.9 ₃	177.4 ₆	θ ₇₋₁₋₂₋₈	178.2 ₂	178.2 ₀

^a: struttura ottimizzata a livello HF/6-311++G**.

^b: modello di solvatazione implicito. L-Asparagina ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD e inclusione implicita del solvente.

delle lunghezze tra le due strutture è coerente con il passaggio dalla struttura in fase gas a quella solvatata.

Nell'appendice B sono riportate le strutture ottimizzate a livello PBE0/SNSD dell'L-Asparagina con una, due, tre e quattro molecole di H_2O . Quest'ultima struttura è stata utilizzata come modello per la solvatazione esplicita ed è stata ottimizzata anche a livello PBE0-D3 (la struttura è riportata nell'appendice B).

Per il modello di solvatazione misto l'L-Asparagina·4 H_2O è stata ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD SCRF (figura 5.5).

Nella tabella 5.2 sono confrontati i parametri strutturali dell'L-Asparagina anidra e della molecola trattata con i vari modelli di solvatazione.

Passando dall'L-Asparagina isolata all'L-Asparagina·4 H_2O , aumentano le lunghezze dei legami N-H, C=O e, in misura minore, C-H. Le lunghezze dei legami C-N diminuiscono leggermente e quelle dei legami C-C restano sostanzialmente invariate. A differenza del modello di solvatazione implicito, in questo caso si notano significative variazioni sia per quanto riguarda gli angoli piani sia per quanto riguarda gli angoli diedri. In particolare variano gli angoli piani β_{1-2-3} , β_{1-2-15} , β_{4-3-16} , β_{4-3-17} , β_{7-1-8} , $\beta_{10-5-11}$ e $\beta_{10-5-12}$ e presentano notevoli differenze gli angoli diedri $\theta_{2-3-4-6}$, $\theta_{3-2-1-8}$ e $\theta_{3-2-5-1}$. Confrontando le figure delle due strutture si vede come tali variazioni siano dovute alla formazione di legami a idrogeno tra l'L-Asparagina e le molecole di solvente.

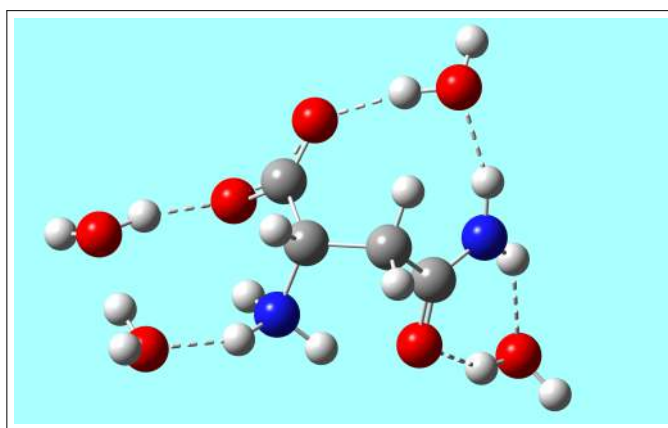


Figura 5.5: Struttura dell'L-Asparagina·4 H_2O ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD e PCM. I legami tratteggiati indicano i legami a idrogeno tra l'L-Asparagina e le molecole di solvente.

Tabella 5.2: Parametri strutturali dell’L-Asparagina. Confronto tra molecola in fase gas e modelli di solvatazione statici.

	HF ^a	M. impl. ^b	M. espl. ^c	M. espl.-D3 ^d	M. misto ^e
Distanze di Legame (Å)					
r ₁₋₂	1.565 ₈	1.551 ₇	1.562 ₂	1.560 ₂	1.550 ₇
r ₁₋₇	1.206 ₀	1.242 ₈	1.235 ₆	1.235 ₅	1.244 ₄
r ₁₋₈	1.231 ₅	1.256 ₇	1.261 ₅	1.261 ₅	1.259 ₂
r ₂₋₃	1.524 ₅	1.528 ₅	1.526 ₅	1.525 ₃	1.525 ₇
r ₂₋₅	1.497 ₇	1.488 ₄	1.490 ₆	1.489 ₅	1.488 ₈
r ₂₋₁₅	1.078 ₃	1.092 ₁	1.095 ₅	1.095 ₄	1.095 ₂
r ₃₋₄	1.513 ₈	1.512 ₉	1.513 ₀	1.511 ₈	1.509 ₉
r ₃₋₁₆	1.085 ₈	1.098 ₄	1.091 ₅	1.091 ₁	1.090 ₃
r ₃₋₁₇	1.078 ₇	1.091 ₉	1.097 ₁	1.096 ₇	1.095 ₇
r ₄₋₆	1.336 ₇	1.335 ₆	1.326 ₀	1.324 ₉	1.327 ₁
r ₄₋₉	1.204 ₉	1.239 ₇	1.251 ₇	1.252 ₂	1.250 ₈
r ₅₋₁₀	1.007 ₅	1.040 ₆	1.038 ₁	1.038 ₅	1.033 ₅
r ₅₋₁₁	1.026 ₀	1.037 ₈	1.045 ₂	1.044 ₅	1.032 ₆
r ₅₋₁₂	1.001 ₇	1.018 ₅	1.036 ₃	1.036 ₅	1.041 ₅
r ₆₋₁₃	0.992 ₁	1.010 ₁	1.018 ₃	1.018 ₄	1.015 ₇
r ₆₋₁₄	0.989 ₂	1.007 ₇	1.025 ₃	1.025 ₈	1.023 ₉
Angoli piani (deg)					
β_{1-2-3}	109.5 ₃	109.5 ₈	115.0 ₆	114.9 ₇	115.3 ₉
β_{1-2-5}	106.0 ₄	107.4 ₀	106.6 ₄	106.6 ₉	108.0 ₄
β_{1-2-15}	110.6 ₁	110.4 ₄	105.8 ₅	105.9 ₂	105.7 ₂
β_{2-1-7}	114.4 ₁	116.0 ₀	117.3 ₃	117.4 ₀	117.5 ₉
β_{2-1-8}	112.7 ₆	115.5 ₉	113.7 ₂	113.7 ₄	115.1 ₁
β_{2-3-4}	113.7 ₇	113.0 ₅	112.0 ₄	111.5 ₈	112.1 ₇
β_{2-3-16}	109.6 ₈	109.4 ₇	108.2 ₇	108.4 ₃	108.5 ₇
β_{2-3-17}	106.9 ₂	107.9 ₅	109.8 ₀	109.8 ₁	109.1 ₆
β_{2-5-10}	111.7 ₅	109.1 ₂	109.1 ₀	108.9 ₆	109.7 ₀
β_{2-5-11}	101.9 ₅	104.0 ₀	101.4 ₈	101.5 ₉	104.8 ₈
β_{2-5-12}	111.0 ₇	111.9 ₀	112.9 ₈	112.6 ₅	112.0 ₆
β_{3-2-5}	111.2 ₅	110.0 ₉	112.1 ₁	111.9 ₅	111.5 ₈
β_{3-2-15}	110.7 ₅	110.5 ₂	108.9 ₅	109.1 ₂	108.2 ₁
β_{3-4-6}	116.7 ₈	117.1 ₉	118.0 ₆	118.0 ₉	117.9 ₅
β_{3-4-9}	121.0 ₃	121.5 ₀	118.4 ₀	118.3 ₃	118.8 ₁
β_{4-3-16}	106.7 ₈	106.6 ₆	112.0 ₇	112.1 ₁	112.0 ₀
β_{4-3-17}	112.3 ₇	112.1 ₂	106.4 ₉	106.6 ₅	106.9 ₄
β_{4-6-13}	118.9 ₀	119.5 ₂	117.4 ₉	117.4 ₇	118.1 ₅
β_{4-6-14}	121.9 ₁	121.8 ₆	120.0 ₂	119.9 ₃	119.3 ₁
β_{5-2-15}	108.5 ₅	108.7 ₆	107.8 ₃	107.8 ₁	107.4 ₈
β_{6-4-9}	122.1 ₈	122.3 ₀	123.5 ₄	123.5 ₈	123.2 ₅
β_{7-1-8}	132.7 ₉	129.3 ₇	128.9 ₁	128.8 ₁	127.2 ₄
$\beta_{10-5-11}$	115.8 ₇	114.6 ₆	110.6 ₉	110.5 ₅	109.1 ₇
$\beta_{10-5-12}$	108.7 ₉	109.3 ₀	114.5 ₇	114.7 ₅	113.4 ₇
$\beta_{11-5-12}$	107.2 ₁	107.8 ₂	107.2 ₃	107.5 ₃	107.1 ₄
$\beta_{13-6-14}$	119.1 ₇	118.6 ₁	121.4 ₀	121.5 ₇	120.7 ₆
$\beta_{16-3-17}$	107.1 ₃	107.4 ₄	108.0 ₈	108.1 ₉	107.8 ₈
Angoli diedri (deg)					
$\theta_{2-3-4-6}$	137.5 ₄	131.7 ₉	118.1 ₈	117.4 ₂	117.4 ₁
$\theta_{3-2-1-8}$	109.4 ₉	104.9 ₄	141.4 ₁	141.5 ₃	144.0 ₆
$\theta_{3-2-5-11}$	99.2 ₈	96.8 ₄	130.6 ₆	131.2 ₁	131.6 ₅
$\theta_{3-4-6-13}$	176.9 ₃	177.4 ₆	178.2 ₃	177.7 ₈	178.1 ₁
$\theta_{4-3-2-5}$	58.3 ₆	54.1 ₀	48.9 ₉	49.7 ₉	52.8 ₀
$\theta_{4-13-6-14}$	178.7 ₅	178.6 ₃	168.0 ₈	168.3 ₈	169.8 ₈
$\theta_{6-3-4-9}$	178.6 ₀	178.9 ₄	179.8 ₈	179.7 ₈	179.9 ₃
$\theta_{7-1-2-8}$	178.2 ₂	178.2 ₀	177.7 ₉	177.7 ₃	177.4 ₁

^a : struttura ottimizzata a livello HF/6-311++G**.

^b : modello di solvatazione implicito. L-Asparagina ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD e inclusione implicita del solvente.

^c : modello di solvatazione esplicito. L-Asparagina-4H₂O ottimizzata a livello PBE0/SNSD.

^d : modello di solvatazione esplicito con dispersion corrections. L-Asparagina-4H₂O ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD.

^e : modello di solvatazione misto. L-Asparagina-4H₂O ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD e inclusione implicita del solvente.

Per quanto riguarda il confronto il modello di solvatazione implicito e quello esplicito, le distanze di legame non subiscono particolari variazioni. Le differenze maggiori si hanno per i legami C=O e N-H, le cui variazioni, assieme a quelle degli angoli piani β_{1-2-3} , β_{1-2-15} , β_{4-3-16} , β_{4-3-17} , $\beta_{10-5-11}$ e $\beta_{10-5-12}$ e diedri $\theta_{2-3-4-6}$, $\theta_{3-2-1-8}$ e $\theta_{3-2-5-1}$, sono la conseguenza del cambiamento conformazionale della molecola in seguito alla formazione dei legami a idrogeno con le molecole di H₂O, come si evince dalle figure delle due strutture.

L'inclusione delle dispersion corrections nella trattazione esplicita del solvente non comporta significative differenze nei parametri strutturali considerati. Analogamente, non emergono variazioni sostanziali neanche tra il modello di solvatazione esplicito e quello misto. Ciò è probabilmente dovuto al fatto che la correzione D3 è applicata come un termine correttivo aggiunto a posteriori all'energia elettronica e non influisce quindi sui parametri geometrici ottenuti in corrispondenza di un minimo della PES.

Confrontando il modello di solvatazione implicito con quelli espliciti e quello misto si nota che le lunghezze dei legami non presentano significative variazioni. Piccole differenze si hanno solo per i legami N-H. Per quanto riguarda gli angoli piani, leggere variazioni si notano per gli angoli β_{1-2-3} , β_{1-2-15} , β_{4-3-16} , β_{4-3-17} , $\beta_{10-5-11}$ e $\beta_{10-5-12}$, mentre considerando gli angoli diedri si hanno notevoli differenze per gli angoli $\theta_{2-3-4-6}$, $\theta_{3-2-1-8}$ e $\theta_{3-2-5-1}$. Tali differenze sono imputabili alla presenza esplicita delle molecole di solvente. Infatti, poiché il modello di solvatazione implicito non considera le interazioni tra molecole di soluto e molecole di solvente non è in grado di simulare i cambiamenti di conformazione conseguenti alla formazione dei legami a idrogeno.

Nella figura 5.6 è riportata la struttura dell'L-Asparagina con 28 molecole di H₂O realizzata a partire dal modello per l'acqua liquida reperibile sul sito del software CP2K. La struttura ottimizzata tramite dinamica molecolare è riportata nella figura 5.7.

I parametri strutturali dell'L-Asparagina·28H₂O sono stati ottenuti mediando le 60000 strutture ottenute dalla simulazione di dinamica molecolare mediante un programma scritto allo scopo dal Dr. Nicola Tasinato. Nella tabella 5.3 è riportato il confronto tra i risultati ottenuti con i modelli di solvatazione statici e i risultati ottenuti dalla dinamica molecolare. Le incertezze sui parametri strutturali ricavati dalla simulazione di dinamica molecolare corrispondono a tre volte la deviazione standard calcolata sui 60000 punti campionati. A tal proposito sono opportune due considerazioni. Innanzitutto, l'incertezza sui parametri calcolati dovrebbe essere a rigore calcolata mediante l'approccio della media a blocchi [116] poiché i 60000 punti campionati nello spazio delle fasi non sono tutti tra loro statisticamente indipendenti. In

secondo luogo, alcuni angoli diedri mostrano incertezze piuttosto elevate: ciò è dovuto al fatto che la molecola subisce un'incessante mutazione conformazionale durante i 30 ps della simulazione e gli angoli sperimentano pertanto variazioni significative.

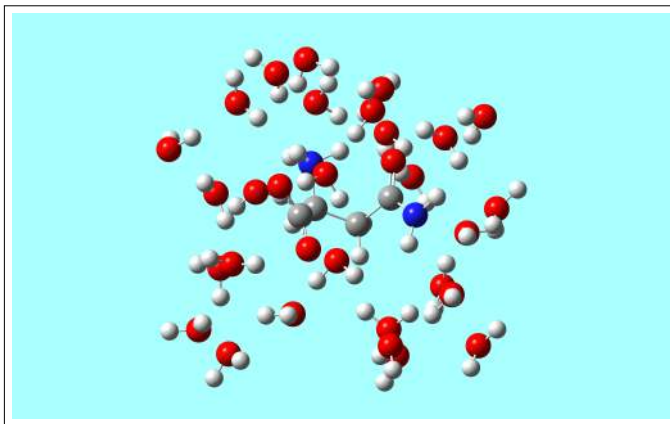


Figura 5.6: Struttura dell'L-Asparagina·28H₂O realizzata partendo dal modello per l'H₂O liquida.

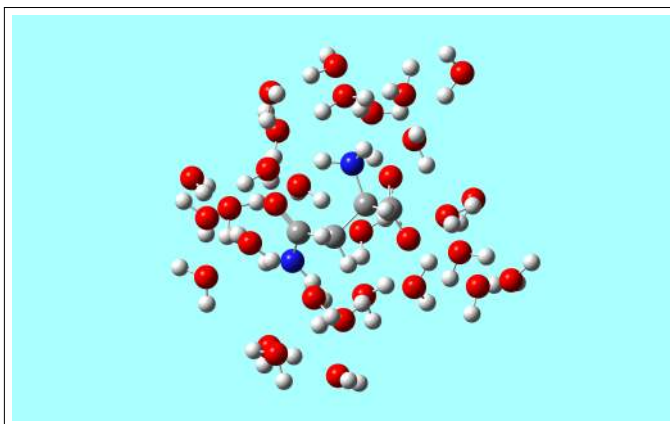


Figura 5.7: Struttura dell'L-Asparagina·28H₂O dopo l'ottimizzazione con CP2K.

Dai dati si nota che le lunghezze dei legami nel modello con 28 molecole di H₂O sono maggiori rispetto alle strutture ottenute dai calcoli statici. Per quanto riguarda gli angoli piani, rispetto ai modelli di solvatazione statici esplicito e misto non si hanno particolari variazioni. Rispetto al modello di solvatazione statico implicito invece le interazioni dell'L-Asparagina con le molecole del solvente comportano le differenze che si rilevano per gli angoli β_{1-2-3} , β_{1-2-5} , β_{1-2-15} e β_{2-5-11} . Considerando gli angoli diedri, si notano differenze significative per gli angoli $\theta_{2-3-4-6}$, $\theta_{3-2-1-8}$, $\theta_{3-2-5-11}$ e $\theta_{3-4-6-13}$, in genere più marcate nel confronto col modello di solvatazione implicito: il passaggio da 4 a 28 molecole di solvente evidenzia la tendenza a formare il maggior numero possibile di legami a idrogeno.

Dal confronto effettuato emerge come la geometria ottenuta dalla simulazione di dinamica molecolare sia in maggiore accordo con quella ottenuta includendo esplicitamente le molecole di solvente nella simulazione statica. Ciò è in linea con quanto atteso, poiché il modello di solvatazione implicito non riesce a descrivere le interazioni puntuali (come ad esempio i legami a idrogeno) che si hanno tra soluto e solvente nel caso di solventi polari protici.

Nella tabella riassuntiva 5.4 sono riportati i parametri strutturali di tutti i modelli considerati e dell'L-Asparagina anidra solida.

Tabella 5.3: Parametri strutturali dell’L-Asparagina in soluzione acquosa. Confronto tra i modelli di solvatazione statici e dinamica molecolare.

	M. impl. ^a	M. espl. ^b	M. espl.-D3 ^c	M. misto ^d	MD ^e
Distanze di Legame (Å)					
r ₁₋₂	1.551 ₇	1.562 ₂	1.560 ₂	1.550 ₇	1.6 ± 0.1
r ₁₋₇	1.242 ₈	1.235 ₆	1.235 ₅	1.244 ₄	1.3 ± 0.1
r ₁₋₈	1.256 ₇	1.261 ₅	1.261 ₅	1.259 ₂	1.3 ± 0.1
r ₂₋₃	1.528 ₅	1.526 ₅	1.525 ₃	1.525 ₇	1.5 ± 0.1
r ₂₋₅	1.488 ₄	1.490 ₆	1.489 ₅	1.488 ₈	1.5 ± 0.1
r ₂₋₁₅	1.092 ₁	1.095 ₅	1.095 ₄	1.095 ₂	1.1 ± 0.1
r ₃₋₄	1.512 ₉	1.513 ₀	1.511 ₈	1.509 ₉	1.5 ± 0.1
r ₃₋₁₆	1.098 ₄	1.091 ₅	1.091 ₁	1.090 ₃	1.1 ± 0.1
r ₃₋₁₇	1.091 ₉	1.097 ₁	1.096 ₇	1.095 ₇	1.1 ± 0.1
r ₄₋₆	1.335 ₆	1.326 ₀	1.324 ₉	1.327 ₁	1.4 ± 0.1
r ₄₋₉	1.239 ₇	1.251 ₇	1.252 ₂	1.250 ₈	1.3 ± 0.1
r ₅₋₁₀	1.040 ₆	1.038 ₁	1.038 ₅	1.033 ₅	1.0 ± 0.1
r ₅₋₁₁	1.037 ₈	1.045 ₂	1.044 ₅	1.032 ₆	1.0 ± 0.1
r ₅₋₁₂	1.018 ₅	1.036 ₃	1.036 ₅	1.041 ₅	1.1 ± 0.1
r ₆₋₁₃	1.010 ₁	1.018 ₃	1.018 ₄	1.015 ₇	1.0 ± 0.1
r ₆₋₁₄	1.007 ₇	1.025 ₃	1.025 ₈	1.023 ₉	1.0 ± 0.1
Angoli piani (deg)					
β_{1-2-3}	109.5 ₈	115.0 ₆	114.9 ₇	115.3 ₉	114 ± 10
β_{1-2-5}	107.4 ₀	106.6 ₄	106.6 ₉	108.0 ₄	111 ± 10
β_{1-2-15}	110.4 ₄	105.8 ₅	105.9 ₂	105.7 ₂	106 ± 13
β_{2-1-7}	116.0 ₀	117.3 ₃	117.4 ₀	117.5 ₉	115 ± 10
β_{2-1-8}	115.5 ₉	113.7 ₂	113.7 ₄	115.1 ₁	118 ± 9
β_{2-3-4}	113.0 ₅	112.0 ₄	111.5 ₈	112.1 ₇	114 ± 10
β_{2-3-16}	109.4 ₇	108.2 ₇	108.4 ₃	108.5 ₇	108 ± 12
β_{2-3-17}	107.9 ₅	109.8 ₀	109.8 ₁	109.1 ₆	110 ± 12
β_{2-5-10}	109.1 ₂	109.1 ₀	108.9 ₆	109.7 ₀	111 ± 14
β_{2-5-11}	104.0 ₀	101.4 ₈	101.5 ₉	104.8 ₈	111 ± 14
β_{2-5-12}	111.9 ₀	112.9 ₈	112.6 ₅	112.0 ₆	110 ± 13
β_{3-2-5}	110.0 ₉	112.1 ₁	111.9 ₅	111.5 ₈	111 ± 10
β_{3-2-15}	110.5 ₂	108.9 ₅	109.1 ₂	108.2 ₁	108 ± 12
β_{3-4-6}	117.1 ₉	118.0 ₆	118.0 ₉	117.9 ₅	116 ± 9
β_{3-4-9}	121.5 ₀	118.4 ₀	118.3 ₃	118.8 ₁	121 ± 9
β_{4-3-16}	106.6 ₆	112.0 ₇	112.1 ₁	112.0 ₀	109 ± 13
β_{4-3-17}	112.1 ₂	106.4 ₉	106.6 ₅	106.9 ₄	109 ± 13
β_{4-6-13}	119.5 ₂	117.4 ₉	117.4 ₇	118.1 ₅	119 ± 13
β_{4-6-14}	121.8 ₆	120.0 ₂	119.9 ₃	119.3 ₁	120 ± 13
β_{5-2-15}	108.7 ₆	107.8 ₃	107.8 ₁	107.4 ₈	106 ± 11
β_{6-4-9}	122.3 ₀	123.5 ₄	123.5 ₈	123.2 ₅	123 ± 9
β_{7-1-8}	129.3 ₇	128.9 ₁	128.8 ₁	127.2 ₄	126 ± 9
$\beta_{10-5-11}$	114.6 ₆	110.6 ₉	110.5 ₅	109.1 ₇	108 ± 15
$\beta_{10-5-12}$	109.3 ₀	114.5 ₇	114.7 ₅	113.4 ₇	108 ± 15
$\beta_{11-5-12}$	107.8 ₂	107.2 ₃	107.5 ₃	107.1 ₄	107 ± 14
$\beta_{13-6-14}$	118.6 ₁	121.4 ₀	121.5 ₇	120.7 ₆	117 ± 14
$\beta_{16-3-17}$	107.4 ₄	108.0 ₈	108.1 ₉	107.8 ₈	106 ± 13
Angoli diedri (deg)					
$\theta_{2-3-4-6}$	131.7 ₉	118.1 ₈	117.4 ₂	117.4 ₁	156 ± 70
$\theta_{3-2-1-8}$	104.9 ₄	141.4 ₁	141.5 ₃	144.0 ₆	135 ± 43
$\theta_{3-2-5-11}$	96.8 ₄	130.6 ₆	131.2 ₁	131.6 ₅	140 ± 111
$\theta_{3-4-6-13}$	177.4 ₆	178.2 ₃	177.7 ₈	178.1 ₁	170 ± 22
$\theta_{4-3-2-5}$	54.1 ₀	48.9 ₉	49.7 ₉	52.8 ₀	63 ± 31
$\theta_{4-13-6-14}$	178.6 ₃	168.0 ₈	168.3 ₈	169.8 ₈	164 ± 34
$\theta_{6-3-4-9}$	178.9 ₄	179.8 ₈	179.7 ₈	179.9 ₃	175 ± 11
$\theta_{7-1-2-8}$	178.2 ₀	177.7 ₉	177.7 ₃	177.4 ₁	175 ± 11

^a: modello di solvatazione implicito. L-Asparagina ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD e inclusione implicita del solvente.

^b: modello di solvatazione esplicito. L-Asparagina·4H₂O ottimizzata a livello PBE0/SNSD.

^c: modello di solvatazione esplicito con dispersion corrections. L-Asparagina·4H₂O ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD.

^d: modello di solvatazione misto. L-Asparagina·4H₂O ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD e inclusione implicita del solvente.

^e: dinamica molecolare. L-Asparagina·28H₂O.

Tabella 5.4: Parametri strutturali dell'L-Asparagina. Confronto tra struttura sperimentale e modelli di solvatazione considerati.

	Sper. ^a	HF ^b	M. impl. ^c	M. espl. ^d	M. espl.-D3 ^e	M. misto ^f	MD ^g
Distanze di Legame (Å)							
r ₁₋₂	1.520 ₆	1.565 ₈	1.551 ₇	1.562 ₂	1.560 ₂	1.550 ₇	1.6 ± 0.1
r ₁₋₇	1.261 ₄	1.206 ₀	1.242 ₈	1.235 ₆	1.235 ₅	1.244 ₄	1.3 ± 0.1
r ₁₋₈	1.259 ₃	1.231 ₅	1.256 ₇	1.261 ₅	1.261 ₅	1.259 ₂	1.3 ± 0.1
r ₂₋₃	1.528 ₈	1.524 ₅	1.528 ₅	1.526 ₅	1.525 ₃	1.525 ₇	1.5 ± 0.1
r ₂₋₅	1.488 ₇	1.497 ₇	1.488 ₄	1.490 ₆	1.489 ₅	1.488 ₈	1.5 ± 0.1
r ₂₋₁₅	1.013 ₁	1.078 ₃	1.092 ₁	1.095 ₅	1.095 ₄	1.095 ₂	1.1 ± 0.1
r ₃₋₄	1.508 ₉	1.513 ₈	1.512 ₉	1.513 ₀	1.511 ₈	1.509 ₉	1.5 ± 0.1
r ₃₋₁₆	1.040 ₀	1.085 ₈	1.098 ₄	1.091 ₅	1.091 ₁	1.090 ₃	1.1 ± 0.1
r ₃₋₁₇	1.006 ₈	1.078 ₇	1.091 ₉	1.097 ₁	1.096 ₇	1.095 ₇	1.1 ± 0.1
r ₄₋₆	1.353 ₃	1.336 ₇	1.335 ₆	1.326 ₀	1.324 ₉	1.327 ₁	1.4 ± 0.1
r ₄₋₉	1.229 ₃	1.204 ₉	1.239 ₇	1.251 ₇	1.252 ₂	1.250 ₈	1.3 ± 0.1
r ₅₋₁₀	1.004 ₅	1.007 ₅	1.040 ₆	1.038 ₁	1.038 ₅	1.033 ₅	1.0 ± 0.1
r ₅₋₁₁	1.013 ₂	1.026 ₀	1.037 ₈	1.045 ₂	1.044 ₅	1.032 ₆	1.0 ± 0.1
r ₅₋₁₂	0.915 ₈	1.001 ₇	1.018 ₅	1.036 ₃	1.036 ₅	1.041 ₅	1.1 ± 0.1
r ₆₋₁₃	0.934 ₄	0.992 ₁	1.010 ₁	1.018 ₃	1.018 ₄	1.015 ₇	1.0 ± 0.1
r ₆₋₁₄	0.905 ₁	0.989 ₂	1.007 ₇	1.025 ₃	1.025 ₈	1.023 ₉	1.0 ± 0.1
Angoli piani (deg)							
β ₁₋₂₋₃	109.4 ₀	109.5 ₃	109.5 ₈	115.0 ₆	114.9 ₇	115.3 ₉	114 ± 10
β ₁₋₂₋₅	108.8 ₃	106.0 ₄	107.4 ₀	106.6 ₄	106.6 ₉	108.0 ₄	111 ± 10
β ₁₋₂₋₁₅	110.5 ₂	110.6 ₁	110.4 ₄	105.8 ₅	105.9 ₂	105.7 ₂	106 ± 13
β ₂₋₁₋₇	113.4 ₇	114.4 ₁	116.0 ₀	117.3 ₃	117.4 ₀	117.5 ₉	115 ± 10
β ₂₋₁₋₈	118.5 ₁	112.7 ₆	115.5 ₉	113.7 ₂	113.7 ₄	115.1 ₁	118 ± 9
β ₂₋₃₋₄	111.2 ₇	113.7 ₇	113.0 ₅	112.0 ₄	111.5 ₈	112.1 ₇	114 ± 10
β ₂₋₃₋₁₆	110.4 ₆	109.6 ₈	109.4 ₇	108.2 ₇	108.4 ₃	108.5 ₇	108 ± 12
β ₂₋₃₋₁₇	108.0 ₉	106.9 ₂	107.9 ₅	109.8 ₀	109.8 ₁	109.1 ₆	110 ± 12
β ₂₋₅₋₁₀	109.8 ₀	111.7 ₅	109.1 ₂	109.1 ₀	108.9 ₆	109.7 ₀	111 ± 14
β ₂₋₅₋₁₁	114.9 ₂	101.9 ₅	104.0 ₀	101.4 ₈	101.5 ₉	104.8 ₈	111 ± 14
β ₂₋₅₋₁₂	109.2 ₅	111.0 ₇	111.9 ₀	112.9 ₈	112.6 ₅	112.0 ₆	110 ± 13
β ₃₋₂₋₅	111.4 ₈	111.2 ₅	110.0 ₉	112.1 ₁	111.9 ₅	111.5 ₈	111 ± 10
β ₃₋₂₋₁₅	108.3 ₂	110.7 ₅	110.5 ₂	108.9 ₅	109.1 ₂	108.2 ₁	108 ± 12
β ₃₋₄₋₆	116.8 ₂	116.7 ₈	117.1 ₉	118.0 ₆	118.0 ₉	117.9 ₅	116 ± 9
β ₃₋₄₋₉	120.3 ₉	121.0 ₃	121.5 ₀	118.4 ₀	118.3 ₃	118.8 ₁	121 ± 9
β ₄₋₃₋₁₆	108.3 ₆	106.7 ₈	106.6 ₆	112.0 ₇	112.1 ₁	112.0 ₀	109 ± 13
β ₄₋₃₋₁₇	108.3 ₅	112.3 ₇	112.1 ₂	106.4 ₉	106.6 ₅	106.9 ₄	109 ± 13
β ₄₋₆₋₁₃	119.4 ₇	118.9 ₀	119.5 ₂	117.4 ₉	117.4 ₇	118.1 ₅	119 ± 13
β ₄₋₆₋₁₄	120.6 ₀	121.9 ₁	121.8 ₆	120.0 ₂	119.9 ₃	119.3 ₁	120 ± 13
β ₅₋₂₋₁₅	108.2 ₈	108.5 ₅	108.7 ₆	107.8 ₃	107.8 ₁	107.4 ₈	106 ± 11
β ₆₋₄₋₉	122.7 ₉	122.1 ₈	122.3 ₀	123.5 ₄	123.5 ₈	123.2 ₅	123 ± 9
β ₇₋₁₋₈	127.9 ₈	132.7 ₉	129.3 ₇	128.9 ₁	128.8 ₁	127.2 ₄	126 ± 9
β ₁₀₋₅₋₁₁	106.6 ₂	115.8 ₇	114.6 ₆	110.6 ₉	110.5 ₅	109.1 ₇	108 ± 15
β ₁₀₋₅₋₁₂	111.1 ₇	108.7 ₉	109.3 ₀	114.5 ₇	114.7 ₅	113.4 ₇	108 ± 15
β ₁₁₋₅₋₁₂	104.9 ₉	107.2 ₁	107.8 ₂	107.2 ₃	107.5 ₃	107.1 ₄	107 ± 14
β ₁₃₋₆₋₁₄	119.8 ₈	119.1 ₇	118.6 ₁	121.4 ₀	121.5 ₇	120.7 ₆	117 ± 14
β ₁₆₋₃₋₁₇	110.3 ₀	107.1 ₃	107.4 ₄	108.0 ₈	108.1 ₉	107.8 ₈	106 ± 13
Angoli diedri (deg)							
θ ₂₋₃₋₄₋₆	72.4 ₅	137.5 ₄	131.7 ₉	118.1 ₈	117.4 ₂	117.4 ₁	156 ± 70
θ ₃₋₂₋₁₋₈	86.2 ₈	109.4 ₉	104.9 ₄	141.4 ₁	141.5 ₃	144.0 ₆	135 ± 43
θ ₃₋₂₋₅₋₁₁	52.5 ₅	99.2 ₈	96.8 ₄	130.6 ₆	131.2 ₁	131.6 ₅	140 ± 111
θ ₃₋₄₋₆₋₁₃	174.7 ₃	176.9 ₃	177.4 ₆	178.2 ₃	177.7 ₈	178.1 ₁	170 ± 22
θ ₄₋₃₋₂₋₅	69.0 ₅	58.3 ₆	54.1 ₀	48.9 ₉	49.7 ₉	52.8 ₀	63 ± 31
θ ₄₋₁₃₋₆₋₁₄	177.2 ₈	178.7 ₅	178.6 ₃	168.0 ₈	168.3 ₈	169.8 ₈	164 ± 34
θ ₆₋₃₋₄₋₉	179.6 ₀	178.6 ₀	178.9 ₄	179.8 ₈	179.7 ₈	179.9 ₃	175 ± 11
θ ₇₋₁₋₂₋₈	177.9 ₄	178.2 ₂	178.2 ₀	177.7 ₉	177.7 ₃	177.4 ₁	175 ± 11

^a: struttura sperimentale da raggi X [28].

^b: struttura ottimizzata a livello HF/6-311++G**.

^c: modello di solvatazione implicito. L-Asparagina ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD e inclusione implicita del solvente.

^d: modello di solvatazione esplicito. L-Asparagina·4H₂O ottimizzata a livello PBE0/SNSD.

^e: modello di solvatazione esplicito con dispersion corrections. L-Asparagina·4H₂O ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD.

^f: modello di solvatazione misto. L-Asparagina·4H₂O ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD e inclusione implicita del solvente.

^g: dinamica molecolare. L-Asparagina·28H₂O.

5.4 Analisi vibrazionale

La molecola dell'L-Asparagina ha 17 atomi e possiede quindi 45 modi normali di vibrazione, tutti attivi sia in infrarosso sia in Raman. Per l'analisi vibrazionale sono state individuate 51 coordinate interne, riportate in tabella 5.5, dalla cui combinazione lineare sono stati ricavati i 45 modi normali di vibrazione definiti nella tabella 5.6. Dalle costanti di forza della molecola isolata ottimizzata a livello HF/6-311++G** è stata calcolata la TED riportata in tabella 5.7. Per il calcolo è stato utilizzato il programma INTDER95, sviluppato da Wesley e collaboratori [117].

Tabella 5.5: Le 51 coordinate interne dell'L-Asparagina utilizzate nel calcolo della TED.

Num. ^a	Coord. ^b	Num. ^a	Coord. ^b	Num. ^a	Coord. ^b
1	r_{1-2}	18	β_{1-2-5}	35	β_{4-6-14}
2	r_{1-7}	19	β_{1-2-15}	36	β_{5-2-15}
3	r_{1-8}	20	β_{2-1-7}	37	β_{6-4-9}
4	r_{2-3}	21	β_{2-1-8}	38	β_{7-1-8}
5	r_{2-5}	22	β_{2-3-4}	39	$\beta_{10-5-11}$
6	r_{2-15}	23	β_{2-3-16}	40	$\beta_{10-5-12}$
7	r_{3-4}	24	β_{2-3-17}	41	$\beta_{11-5-12}$
8	r_{3-16}	25	β_{2-5-10}	42	$\beta_{13-6-14}$
9	r_{3-17}	26	β_{2-5-11}	43	$\beta_{16-3-17}$
10	r_{4-6}	27	β_{2-5-12}	44	τ_{1-2}
11	r_{4-9}	28	β_{3-2-5}	45	τ_{2-3}
12	r_{5-10}	29	β_{3-2-15}	46	τ_{2-5}
13	r_{5-11}	30	β_{3-4-6}	47	τ_{3-4}
14	r_{5-12}	31	β_{3-4-9}	48	τ_{4-6}
15	r_{6-13}	32	β_{4-3-16}	49	ϕ_1
16	r_{6-14}	33	β_{4-3-17}	50	ϕ_4
17	β_{1-2-3}	34	β_{4-6-13}	51	ϕ_6

^a : numerazione arbitraria.

^b : coordinate interne. r_{i-j} : variazione del legame tra gli atomi i e j ; β_{i-j-k} : variazione dell'angolo piano individuato dagli atomi i , j e k ; τ_{i-j} : torsione attorno al legame tra gli atomi i e j ; ϕ_i : bending fuori dal piano dell'atomo i . Per la numerazione degli atomi si veda la figura 5.2.

Tabella 5.6: Modi normali di vibrazione dell'L-Asparagina

Num. ^a	Coordinata	Simbolo ^b	Descrizione ^b
1	r_{1-2}	$\nu(\text{C}^1\text{C}^2)$	Stretching C^1C^2
2	r_{2-3}	$\nu(\text{C}^2\text{C}^3)$	Stretching C^2C^3
3	r_{3-4}	$\nu(\text{C}^3\text{C}^4)$	Stretching C^3C^4
4	$1/\sqrt{2}(r_{3-16} + r_{3-17})$	$\nu_s(\text{CH}_2)$	Stretching simmetrico CH_2
5	$1/\sqrt{2}(r_{3-16} - r_{3-17})$	$\nu_a(\text{CH}_2)$	Stretching asimmetrico CH_2
6	r_{4-9}	$\nu(\text{CO})$	Stretching $\text{C}=\text{O}$
7	r_{4-6}	$\nu(\text{C}-\text{NH}_2)$	Stretching $\text{C}-\text{NH}_2$
8	r_{2-15}	$\nu(\text{CH})$	Stretching CH
9	r_{2-5}	$\nu(\text{C}-\text{NH}_3^+)$	Stretching $\text{C}-\text{NH}_3^+$
10	$1/\sqrt{2}(r_{1-7} + r_{1-8})$	$\nu_s(\text{CO}_2^-)$	Stretching simmetrico CO_2^-
11	$1/\sqrt{2}(r_{1-7} - r_{1-8})$	$\nu_a(\text{CO}_2^-)$	Stretching asimmetrico CO_2^-
12	r_{5-10}	$\nu(\text{NH}^{10})$	Stretching $\text{H}_2\text{N}^+-\text{H}^{10}$
13	r_{5-11}	$\nu(\text{NH}^{11})$	Stretching $\text{H}_2\text{N}^+-\text{H}^{11}$
14	r_{5-12}	$\nu(\text{NH}^{12})$	Stretching $\text{H}_2\text{N}^+-\text{H}^{12}$
15	$1/\sqrt{2}(r_{6-13} + r_{6-14})$	$\nu_s(\text{NH}_2)$	Stretching simmetrico NH_2
16	$1/\sqrt{2}(r_{6-13} - r_{6-14})$	$\nu_a(\text{NH}_2)$	Stretching asimmetrico NH_2
17	$1/\sqrt{26}(5\beta_{4-3-17} + \beta_{2-3-4})$	$\delta(\text{C}^2\text{C}^3\text{C}^4)$	Bending $\text{C}^2\text{C}^3\text{C}^4$
18	$1/\sqrt{26}(5\beta_{2-3-4} + \beta_{16-3-17})$	$\delta(\text{CH}_2)$	Bending CH_2
19	$1/2(\beta_{4-3-17} - \beta_{4-3-16} + \beta_{2-3-17} - \beta_{2-3-16})$	$r(\text{CH}_2)$	Rocking CH_2
20	$1/2(\beta_{4-3-17} + \beta_{4-3-16} - \beta_{2-3-17} - \beta_{2-3-16})$	$\omega(\text{CH}_2)$	Wagging CH_2
21	$1/2(\beta_{4-3-17} - \beta_{4-3-16} - \beta_{2-3-17} + \beta_{2-3-16})$	$t(\text{CH}_2)$	Twisting CH_2
22	$1/\sqrt{6}(2\beta_{7-1-8} - \beta_{2-1-7} - \beta_{2-1-8})$	$\delta(\text{CO}_2^-)$	Bending CO_2^- nel piano
23	$1/\sqrt{2}(\beta_{2-1-7} - \beta_{2-1-8})$	$\delta(\text{CO}_2^-)$	Bending CO_2^- nel piano
24	ϕ_1	$\gamma(\text{CO}_2^-)$	Bending CO_2^- fuori dal piano
25	$1/\sqrt{6}(\beta_{11-5-12} + \beta_{10-5-11} + \beta_{10-5-12} - \beta_{2-5-10} - \beta_{2-5-11} - \beta_{2-5-12})$	$\delta_s(\text{NH}_3^+)$	Bending simmetrico NH_3^+
26	$1/\sqrt{6}(2\beta_{11-5-12} - \beta_{10-5-11} - \beta_{10-5-12})$	$\delta_a(\text{NH}_3^+)$	Bending asimmetrico NH_3^+
27	$1/\sqrt{2}(\beta_{10-5-11} - \beta_{10-5-12})$	$\delta_a(\text{NH}_3^+)$	Bending asimmetrico NH_3^+
28	$1/\sqrt{6}(2\beta_{2-5-10} - \beta_{2-5-11} - \beta_{2-5-12})$	$r(\text{NH}_3^+)$	Rocking NH_3^+
29	$1/\sqrt{2}(\beta_{2-5-11} - \beta_{2-5-12})$	$r(\text{NH}_3^+)$	Rocking NH_3^+
30	$1/\sqrt{6}(2\beta_{1-2-15} - \beta_{5-2-15} - \beta_{3-2-15})$	$\delta(\text{CH})$	Bending CH
31	$1/\sqrt{2}(\beta_{5-2-15} - \beta_{3-2-15})$	$\delta(\text{CH})$	Bending CH
32	$1/\sqrt{18}(4\beta_{1-2-5} + \beta_{1-2-3} + \beta_{3-2-5})$	$\delta(\text{C}^1\text{C}^2\text{N})$	Bending $\text{C}^1\text{C}^2\text{N}$
33	$1/\sqrt{18}(4\beta_{3-2-5} + \beta_{1-2-3} + \beta_{1-2-5})$	$\delta(\text{C}^3\text{C}^2\text{N})$	Bending $\text{C}^3\text{C}^2\text{N}$
34	$1/\sqrt{18}(4\beta_{1-2-3} + \beta_{1-2-5} + \beta_{3-2-5})$	$\delta(\text{C}^1\text{C}^2\text{C}^3)$	Bending $\text{C}^1\text{C}^2\text{C}^3$
35	$1/\sqrt{6}(2\beta_{13-6-14} - \beta_{4-6-13} - \beta_{4-6-14})$	$\delta(\text{NH}_2)$	Bending NH_2
36	$1/\sqrt{2}\beta_{4-6-13} - \beta_{4-6-14})$	$r(\text{NH}_2)$	Rocking NH_2
37	ϕ_6	$\gamma(\text{NH}_2)$	Bending NH_2 fuori dal piano
38	$1/\sqrt{6}(2\beta_{3-4-9} - \beta_{6-4-9} - \beta_{3-4-6})$	$\delta(\text{H}_2\text{NCO})$	Bending H_2NCO nel piano
39	$1/\sqrt{2}(\beta_{6-4-9} - \beta_{3-4-6})$	$\delta(\text{H}_2\text{NCO})$	Bending H_2NCO nel piano
40	ϕ_4	$\gamma(\text{NH}_2)$	Bending NCO fuori dal piano
41	τ_{4-6}	$\tau(\text{C}-\text{NH}_2)$	Torsione rispetto al legame $\text{C}-\text{NH}_2$
42	τ_{1-2}	$\tau(\text{C}-\text{CO}_2^-)$	Torsione rispetto al legame $\text{C}-\text{CO}_2^-$
43	τ_{2-5}	$\tau(\text{C}-\text{NH}_3^+)$	Torsione rispetto al legame $\text{C}-\text{NH}_3^+$
44	τ_{2-3}	$\tau(\text{C}^2\text{C}^3)$	Torsione rispetto al legame C^2-C^3
45	τ_{3-4}	$\tau(\text{C}^3\text{C}^4)$	Torsione rispetto al legame C^3-C^4

^a : numerazione arbitraria.

^b : ad apice sono riportati i numeri degli atomi solo nei casi di non univocità. Per la numerazione degli atomi si veda la figura 5.2.

Tabella 5.7: Distribuzione di energia totale per l'L-Asparagina

Vibrazione ^a	TED% (sono riportati solo i valori > 10%) ^b
ν_1	$\nu_a(\text{NH}_2)$ (98.2)
ν_2	$\nu_s(\text{NH}_2)$ (98.0)
ν_3	$\nu(\text{NH}^{12})$ (93.3)
ν_4	$\nu(\text{NH}^{10})$ (92.1)
ν_5	$\nu(\text{NH}^{11})$ (96.4)
ν_6	$\nu_a(\text{CH}_2)$ (67.3) + $\nu_s(\text{CH}_2)$ (21.0) + $\nu(\text{CH})$ (11.6)
ν_7	$\nu(\text{CH})$ (87.1)
ν_8	$\nu_s(\text{CH}_2)$ (73.2) + $\nu_a(\text{CH}_2)$ (26.2)
ν_9	$\nu_a(\text{CO}_2)$ (90.2)
ν_{10}	$\nu(\text{CO})$ (73.5)
ν_{11}	$\delta_a(\text{NH}_3^+)$ (80.5)
ν_{12}	$\delta(\text{NH}_2)$ (84.8)
ν_{13}	$\delta_a(\text{NH}_3^+)$ (76.1) + $\delta_s(\text{NH}_3^+)$ (19)
ν_{14}	$\delta(\text{C}^2\text{C}^3\text{C}^4)$ (145.2) + $\omega(\text{CH}_2)$ (45.7)
ν_{15}	$\omega(\text{CH}_2)$ (81.4) + $\delta(\text{C}^2\text{C}^3\text{C}^4)$ (52.0) + $\nu(\text{C-NH}_2)$ (16.1) + $t(\text{CH}_2)$ (13.5)
ν_{16}	$\delta_s(\text{NH}_3^+)$ (48.6) + $\delta(\text{CH})$ (23.1)
ν_{17}	$\delta(\text{CH})$ (40.1) + $\nu_s(\text{CO}_2^-)$ (27.9)
ν_{18}	$\nu_s(\text{CO}_2^-)$ (40.6) + $\delta_s(\text{NH}_3^+)$ (18.5)
ν_{19}	$\delta(\text{CH})$ (26.9) + $\omega(\text{CH}_2)$ (18.6) + $\nu(\text{C-NH}_2)$ (12.9)
ν_{20}	$t(\text{CH}_2)$ (43.6) + $r(\text{NH}_3^+)$ (12.2)
ν_{21}	$\delta(\text{CH})$ (29.5) + $\omega(\text{CH}_2)$ (28.9) + $r(\text{NH}_3^+)$ (13.5)
ν_{22}	$r(\text{NH}_3^+)$ (19.6) + $t(\text{CH}_2)$ (14.3) + $r(\text{NH}_2)$ (11.9)
ν_{23}	$r(\text{NH}_2)$ (33.2) + $\nu(\text{C-NH}_2)$ (10.1)
ν_{24}	$r(\text{NH}_3^+)$ (37.5) + $\delta(\text{CH})$ (14.4)
ν_{25}	$\nu(\text{C}^2\text{C}^3)$ (25.5) + $\nu(\text{C-NH}_3^+)$ (22.2) + $r(\text{NH}_3^+)$ (15.0)
ν_{26}	$r(\text{CH}_2)$ (31.0) + $r(\text{NH}_3^+)$ (22.5)
ν_{27}	$\nu(\text{C}^3\text{C}^4)$ (21.9) + $\nu(\text{C}^1\text{C}^2)$ (14.1) + $\nu(\text{C}^2\text{C}^3)$ (10.7)
ν_{28}	$\nu(\text{C}^1\text{C}^2)$ (23.4) + $\delta(\text{CO}_2^-)$ (23.3) + $\nu(\text{C}^3\text{C}^4)$ (21.8)
ν_{29}	$\nu(\text{C-NH}_3^+)$ (43.3) + $r(\text{CH}_2)$ (14.5)
ν_{30}	$\gamma(\text{CO}_2^-)$ (45.2) + $\gamma(\text{NH}_2)$ (17.1)
ν_{31}	$\delta(\text{CO}_2^-)$ (25.8) + $\gamma(\text{NH}_2)$ (23.3)
ν_{32}	$\gamma(\text{NH}_2)$ (22.2) + $\tau(\text{C-CO}_2^-)$ (21.2) + $\delta(\text{CO}_2^-)$ (13.2)
ν_{33}	$\tau(\text{C-NH}_2)$ (44.2) + $\delta(\text{H}_2\text{NCO})$ (35.4)
ν_{34}	$\tau(\text{C-NH}_2)$ (34.5) + $\delta(\text{H}_2\text{NCO})$ (28.3)
ν_{35}	$\delta(\text{CO}_2^-)$ (24.7) + $\tau(\text{C-NH}_2)$ (12.8) + $\nu(\text{C}^1\text{C}^2)$ (10.8) + $\nu(\text{C-NH}_3^+)$ (10.5)
ν_{36}	$\delta(\text{H}_2\text{NCO})$ (45.1) + $\delta(\text{C}^3\text{C}^2\text{N})$ (17.0)
ν_{37}	$\delta(\text{C}^1\text{C}^2\text{N})$ (40.7) + $\delta(\text{CO}_2^-)$ (14.3) + $\tau(\text{C-NH}_3^+)$ (11.7) + $\delta(\text{C}^3\text{C}^2\text{N})$ (10.2)
ν_{38}	$\delta(\text{C}^2\text{C}^3\text{N})$ (56.3) + $\delta(\text{CO}_2^-)$ (21.4)
ν_{39}	$\gamma(\text{NH}_2)$ (115.4) + $\tau(\text{C-NH}_2)$ (15.8)
ν_{40}	$\delta(\text{CH}_2)$ (47.6) + $\delta(\text{C}^1\text{C}^2\text{C}^3)$ (10.9)
ν_{41}	$\tau(\text{C-NH}_3^+)$ (63.5)
ν_{42}	$\delta(\text{C}^1\text{C}^2\text{C}^3)$ (57.1) + $\delta(\text{CH}_2)$ (18.5)
ν_{43}	$\tau(\text{C}^2\text{C}^3)$ (55.8) + $\tau(\text{C-CO}_2^-)$ (28.7) + $\tau(\text{C}^3\text{C}^4)$ (12.7)
ν_{44}	$\tau(\text{C-CO}_2^-)$ (53.3) + $\tau(\text{C}^2\text{C}^3)$ (29.8)
ν_{45}	$\tau(\text{C}^3\text{C}^4)$ (81.2) + $\tau(\text{C-CO}_2^-)$ (20.3)

^a : numerazione arbitraria.

^b : ad apice sono riportati i numeri degli atomi solo nei casi di non univocità. Per la numerazione degli atomi si veda la figura 5.2.

5.4.1 Calcoli statici

Nella figura 5.8 sono riportati gli spettri Raman simulati dei 4 modelli di solvatazione statici considerati. I valori delle frequenze anarmoniche, assieme a quelli calcolati per l'L-Asparagina isolata, sono riportati nella tabella 5.8.

I modelli di solvatazione espliciti e misto prevedono un sistema composto dai 17 atomi dell'L-Asparagina e dai 12 atomi delle 4 molecole di H₂O. I modi normali risultano quindi 81. Queste 81 frequenze calcolate sono state analizzate in relazione ai corrispondenti movimenti degli atomi: sono state utilizzate per l'assegnazione solo le frequenze che coinvolgono principalmente i movimenti degli atomi dell'L-Asparagina, mentre quelle relative alle molecole di H₂O non sono state considerate.

Confrontando i dati dell'L-Asparagina isolata trattata a livello HF con quelli della molecola solvatata trattata a livello DFT si nota un generale red shift fino a circa 800 cm⁻¹. La diminuzione più marcata interessa le frequenze ν_1 - ν_5 e ν_9 - ν_{13} , che corrispondono agli stretching N-H, agli stretching C=O e ai bending N-H. Dalla vibrazione ν_{31} l'andamento generale risulta invertito, con variazioni di entità molto minore rispetto a quelle che si registrano nella parte alta dello spettro. I modi normali interessanti sono torsioni di scheletro e bending nel piano e fuori dal piano dei gruppi funzionali.

Considerando il confronto tra il modello di solvatazione implicito e quello esplicito si nota una diminuzione delle frequenze degli stretching N-H e CH₂, mentre aumentano le frequenze di stretching C=O e C-H. Per quanto riguarda i bending, si ha una diminuzione delle frequenze di $\delta(\text{NH}_3^+)$ e un leggero aumento di quelle di $\delta(\text{NH}_2)$. Dalla ν_{14} in poi si ha un generale aumento delle frequenze dei modi normali che non prevedono interazioni significative con le molecole del solvente. Le frequenze relative a δCO_2^- (ν_{21}), rocking NH₃⁺ (ν_{22}), stretching C-NH₃⁺ (ν_{29}), e torsioni attorno ai legami C-C e C-CO₂⁻ (ν_{43} e ν_{44}), registrano invece una diminuzione.

Confrontando i modelli espliciti DFT·4H₂O e DFT-D3·4H₂O non si notano sostanziali variazioni. Per quanto riguarda la parte alta dello spettro, la differenza più significativa è la diminuzione delle frequenze di stretching simmetrico e asimmetrico NH₂ (ν_1 e ν_2) di 11 e 30 cm⁻¹ rispettivamente. Un'altra piccola variazione interessa lo stretching simmetrico CH₂, la cui frequenza aumenta leggermente (6 cm⁻¹). Nella parte bassa dello spettro variano solo tre frequenze, ν_{42} , ν_{43} e ν_{45} , che coinvolgono vibrazioni di scheletro, ma le differenze sono contenute. Tali differenze sono in parte dovute al fatto che i modi normali a bassa energia sono quelli che risentono maggiormente dell'accoppiamento con le molecole di H₂O.

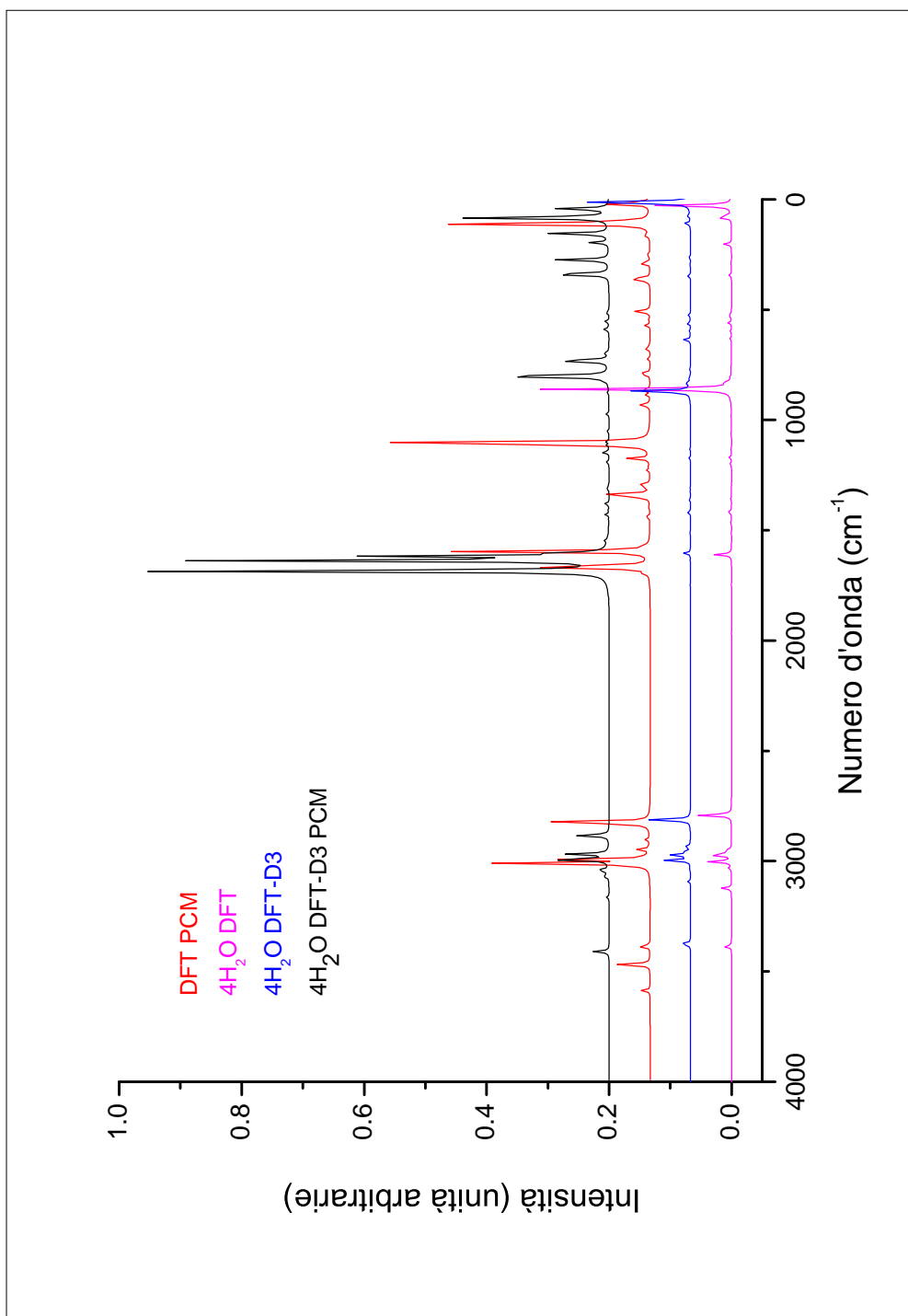


Figura 5.8: Confronto tra gli spettri Raman dell'L-Asparagina in soluzione acquosa calcolati con i 4 modelli di solvatazione statici.

Tabella 5.8: Frequenze di vibrazione dell'L-Asparagina in soluzione acquosa calcolate con i metodi statici.

Modo normale ^a	HF ^b	M. impl. ^c	M. espl. ^d	M. espl.-D3 ^e	M. misto ^f
ν_1	3783	3586	3386	3375	3410
ν_2	3670	3468	3123	3093	3163
ν_3	3602	3386	3032	3035	3069
ν_4	3511	3011	3002	2996	3057
ν_5	3159	2993	2972	2973	3041
ν_6	3143	2946	2958	2959	2994
ν_7	3057	2902	2948	2935	2968
ν_8	2876	2824	2791	2813	2884
ν_9	1895	1696	1746	1746	1685
ν_{10}^g	1858	1678	1698	1704	1637
ν_{11}	1761	1666	1636	1636	1618
ν_{12}	1735	1596	1610	1604	1602
ν_{13}	1697	1571	1515	1511	1546
ν_{14}	1556	1439	1465	1462	1449
ν_{15}	1517	1395	1418	1421	1428
ν_{16}	1476	1350	1416	1417	1409
ν_{17}	1475	1339	1358	1361	1381
ν_{18}	1409	1304	1328	1327	1317
ν_{19}	1400	1292	1307	1307	1307
ν_{20}	1351	1226	1289	1290	1297
ν_{21}	1317	1210	1200	1201	1192
ν_{22}	1222	1174	1171	1173	1147
ν_{23}	1181	1121	1141	1143	1113
ν_{24}	1152	1111	1131	1130	1097
ν_{25}	1101	1102	1062	1064	1052
ν_{26}	1023	942	983	983	972
ν_{27}	984	930	933	933	940
ν_{28}	920	886	860	870	878
ν_{29}	891	864	830	833	824
ν_{30}	838	791	807	813	803
ν_{31}	791	722	803	807	802
ν_{32}	705	678	761	771	732
ν_{33}	638	666	725	731	697
ν_{34}	572	570	631	636	590
ν_{35}	546	547	597	598	585
ν_{36}	466	510	560	562	555
ν_{37}	417	506	532	534	515
ν_{38}	367	367	522	523	506
ν_{39}	356	359	414	416	340
ν_{40}	264	289	345	347	337
ν_{41}	211	251	291	295	273
ν_{42}	174	162	203	263	196
ν_{43}	106	110	83	109	155
ν_{44}	83	98	74	74	83
ν_{45}^g	48	19	28	14	43

^a: numerazione arbitraria.

^b: struttura ottimizzata a livello HF/6-311++G**.

^c: modello di solvatazione implicito. L-Asparagina ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD.

^d: modello di solvatazione esplicito. L-Asparagina-4H₂O ottimizzata a livello PBE0/SNSD.

^e: modello di solvatazione esplicito con dispersion corrections. L-Asparagina-4H₂O ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD.

^f: modello di solvatazione misto. L-Asparagina-4H₂O ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD e inclusione implicita del solvente.

^g: per il modello misto il valore è quello armonico.

Confrontando i modelli di solvatazione espliciti con il modello misto si nota che per quanto riguarda la parte alta dello spettro, fino a 1600 cm^{-1} circa, le frequenze registrano un generale aumento, ad eccezione di ν_{10} e ν_{11} . Tra i 1600 cm^{-1} e i 1200 cm^{-1} non si notano significative variazioni. Nella parte più bassa dello spettro si ha una generale diminuzione delle frequenze, ad eccezione delle ultime tre, corrispondenti a torsioni di scheletro.

Confrontando il modello implicito con quello misto, nella parte alta dello spettro si nota la significativa diminuzione delle frequenze di stretching simmetrico e asimmetrico NH_2 (ν_1 e ν_2), mentre i valori delle frequenze di stretching NH_3 (ν_3 , ν_4 e ν_5) nel modello misto sono tra loro più uniformi, con variazioni entro i 30 cm^{-1} . I valori di stretching C–H invece aumentano. La ν_9 , stretching asimmetrico CO_2^- , diminuisce di circa 10 cm^{-1} , mentre la ν_{10} , stretching C=O, diminuisce di 40 cm^{-1} . In realtà, poichè il valore di ν_{10} per il modello misto è quello armonico, facendo il confronto col valore armonico per lo stesso modo normale, pari a 1718 cm^{-1} , si evince che la diminuzione è ancora più accentuata (81 cm^{-1}). I valori per gli stretching C–H e CH_2 , sia simmetrico sia asimmetrico, registrano un aumento. I bending $\delta(\text{NH}_2)$ non variano in maniera sostanziale, mentre diminuiscono i $\delta(\text{NH}_3^+)$. Sotto i 1500 cm^{-1} è difficile stabilire un andamento generale. Fino a 1000 cm^{-1} non emergono variazioni significative, mentre nella zona più bassa dello spettro i valori hanno un andamento leggermente crescente.

Da queste considerazioni si può concludere che l'effetto principale dell'utilizzo dei modelli di solvatazione comporta l'abbassamento delle frequenze associate a vibrazioni che coinvolgono gruppi funzionali in grado di interagire con il solvente via legami a idrogeno. Nei modelli espliciti e misto la variazione è più marcata, come prevedibile data la presenza di interazioni puntuali con le molecole di solvente.

5.4.2 Spettro sperimentale

Nelle figure 5.9 e 5.10 sono riportate rispettivamente le regioni tra 1800 e 1000 cm^{-1} e tra 1200 e 400 cm^{-1} dello spettro Raman sperimentale. Le bande individuate e la loro intensità relativa sono riportate nella tabella 5.9. Le frequenze misurate sono in linea con quelle riportate da Navarrete et al. [34], come illustrato nella tabella 5.10.

Le principali differenze interessano le bande a 1634 , 1490 e 1262 cm^{-1} , che nel lavoro di letteratura sono state individuate rispettivamente a 1611 , 1450 e 1314 cm^{-1} . È da notare inoltre che rispetto ai dati pubblicati sono stati identificati sette nuovi assorbimenti (nello specifico, le bande a 1515 , 1072 , 719 , 645 , 617 , 540 e 484 cm^{-1}).

Tabella 5.9: Bande sperimentali e intensità relative osservate nello spettro Raman sperimentale dell’L-Asparagina in soluzione acquosa.

$\tilde{\nu}^a$ (cm ⁻¹)	Int. ^b	$\tilde{\nu}^a$ (cm ⁻¹)	Int. ^b	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹)	Int. ^b
1634	vs	1234	w	770	m
1540	w	1151	w	719	m
1515	w	1120	m	645	w
1490	w	1072	vw	617	w
1424	m	987	vw	591	w
1406	m	925	w	540	w
1359	m	868	m	514	w
1330	m	829	m	484	m
1262	vw	802	m		

^a: numero d’onda sperimentale.

^b: intensità relativa. vs: very strong; m: medium; w: weak; vw: very weak.

Tabella 5.10: Confronto tra gli assorbimenti individuati in questo lavoro e quelli presenti in letteratura [34]

Presente tesi	Letteratura	Presente tesi	Letteratura	Presente tesi	Letteratura
1634	1611	1234	1227	770	765
1540	1538	1151	1151	719	
1515		1120	1120	645	
1490	1450	1072		617	
1424	1421	987	983	591	605
1406	1404	925	926	540	
1359	1356	868	864	514	520
1330	1329	829	827	484	
1262	1314	802	800		

Lo spettro sperimentale è stato confrontato con tutti i modelli di solvatazione considerati e l’assegnazione delle bande è stata effettuata considerando sia le frequenze sia le intensità. Nelle figure 5.11 e 5.12 sono confrontati gli spettri simulati e quello sperimentale. Nelle tabelle 5.11, 5.12, 5.13 e 5.14 sono confrontati i dati di frequenze e intensità calcolate e sperimentali.

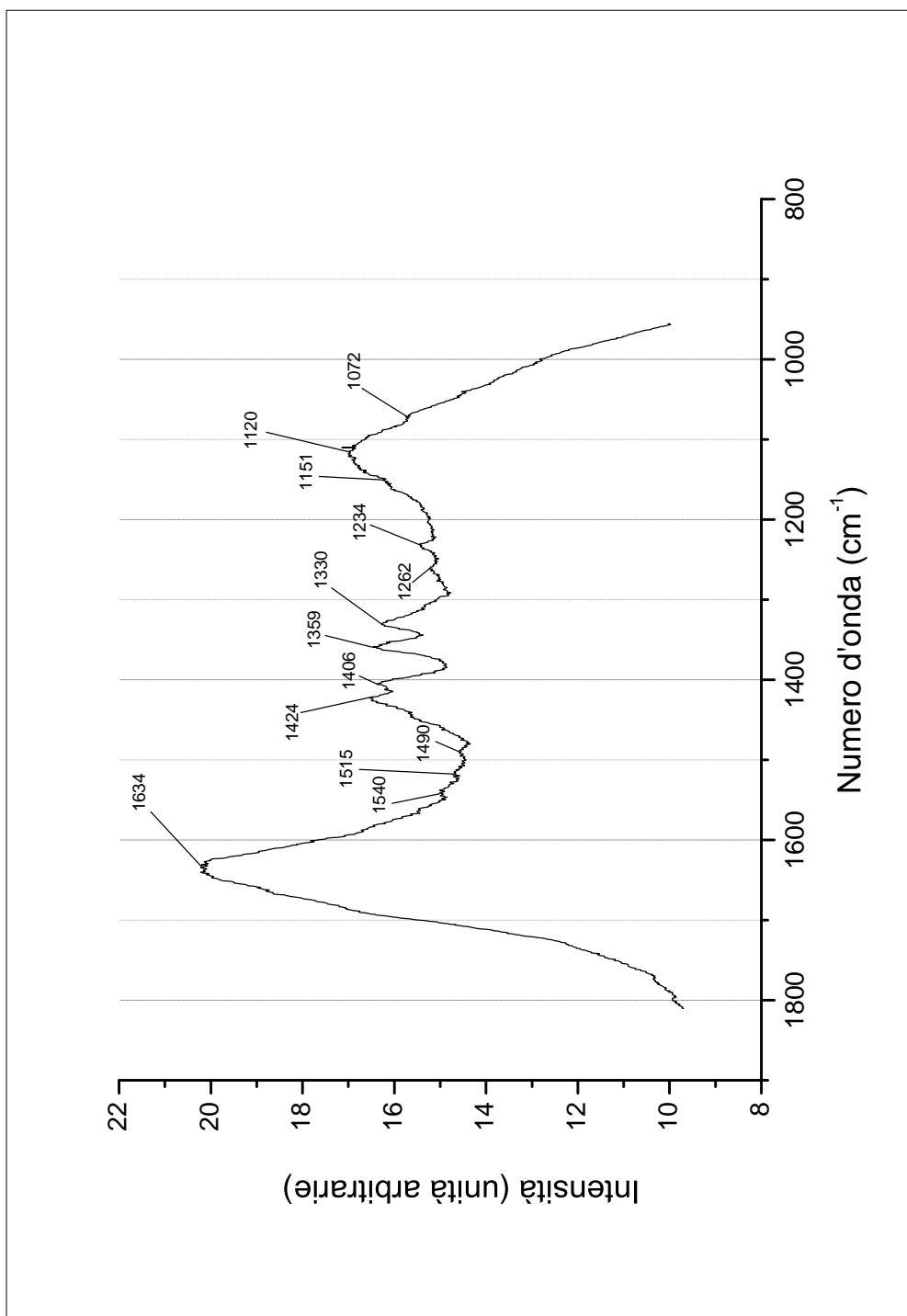


Figura 5.9: Spettro Raman sperimentale dell'L-Asparagina in soluzione acquosa (0.07 M) nella regione tra 1800 e 900 cm^{-1} .

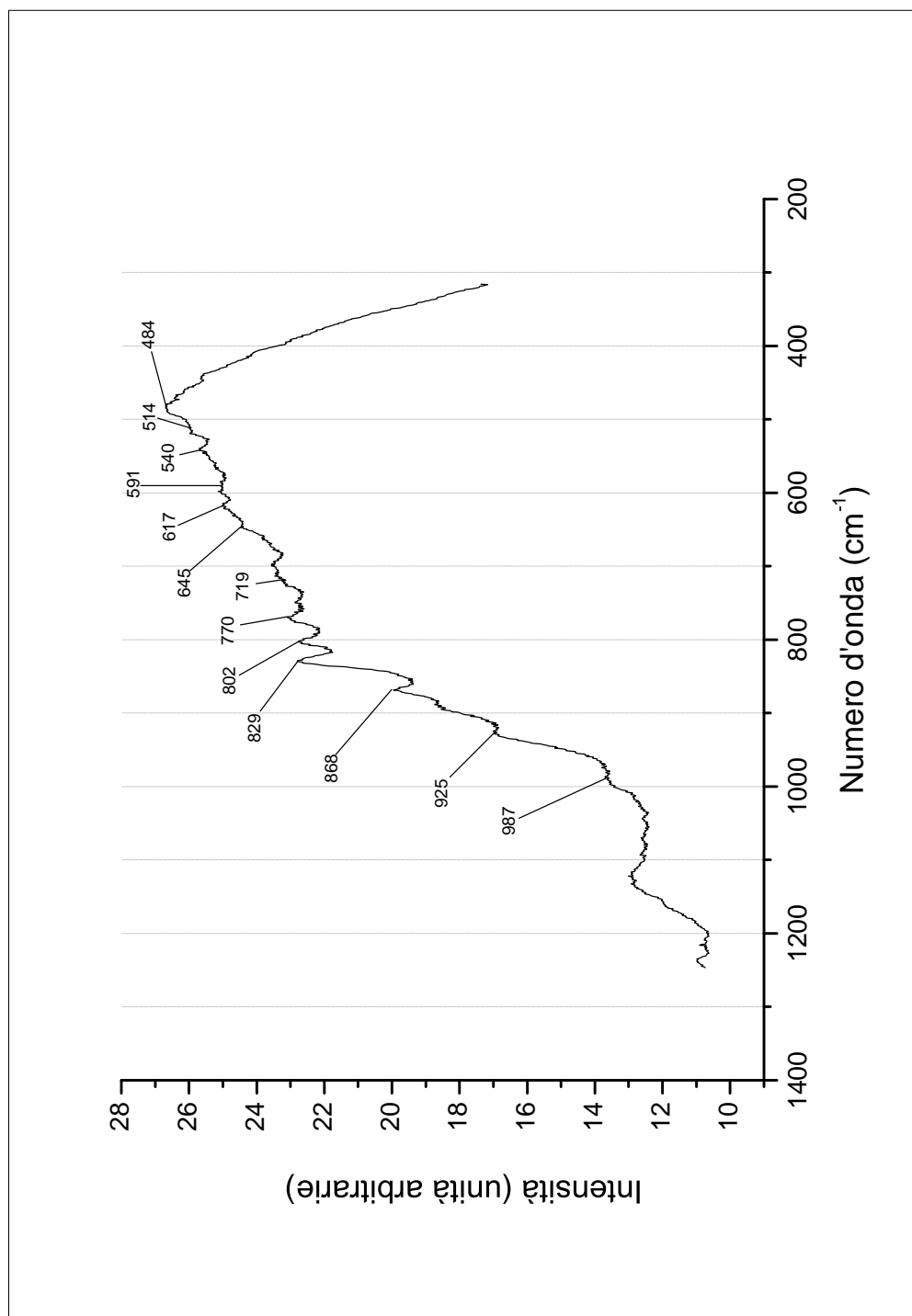


Figura 5.10: Spettro Raman sperimentale dell'L-Asparagina in soluzione acquosa (0.07 M) nella regione tra 1200 e 400 cm^{-1} .

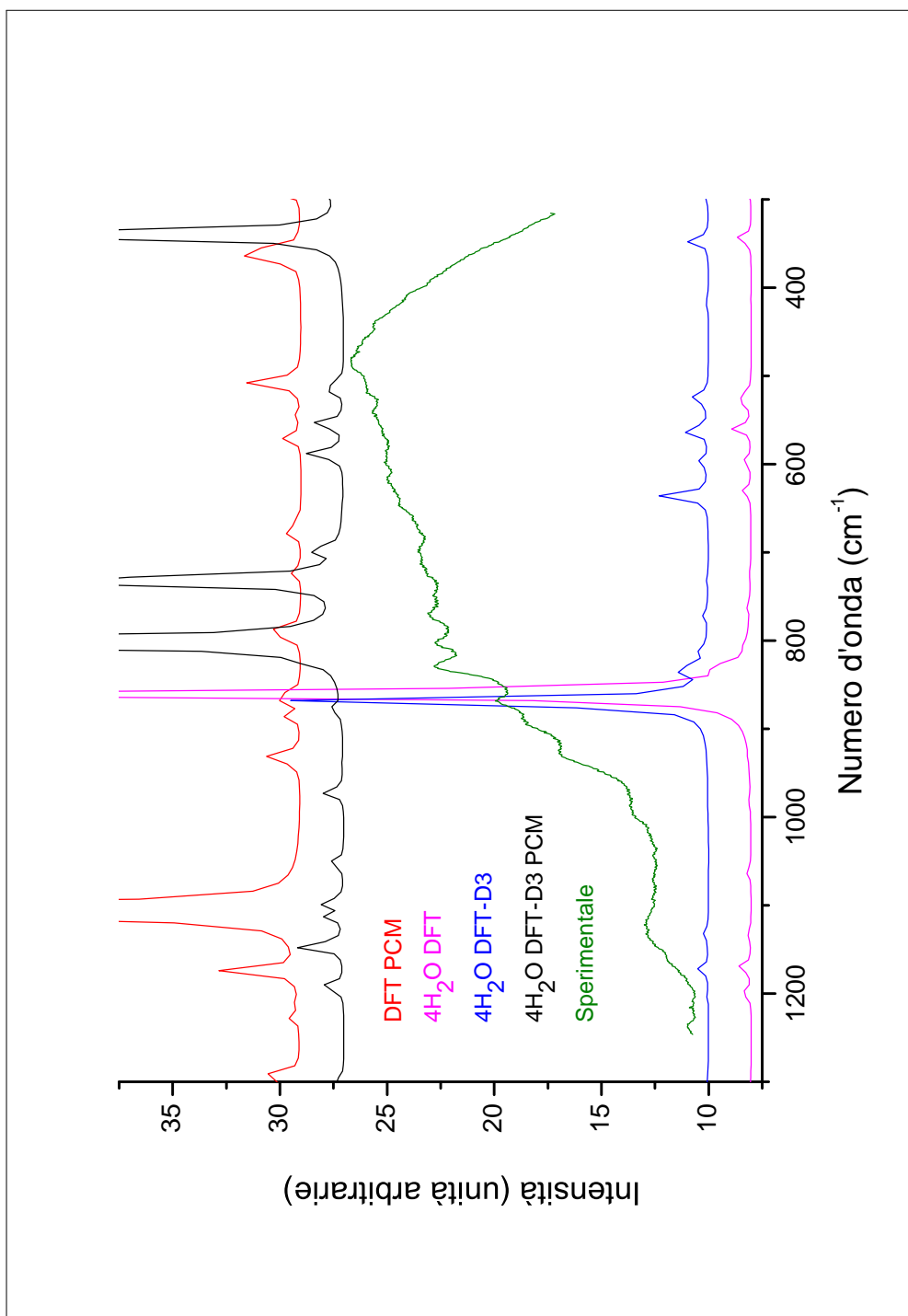


Figura 5.11: Confronto tra gli spettri Raman simulati e sperimentale (0.07 M) dell'L-Asparagina in soluzione acquosa nella regione tra 1800 e 900 cm^{-1} .

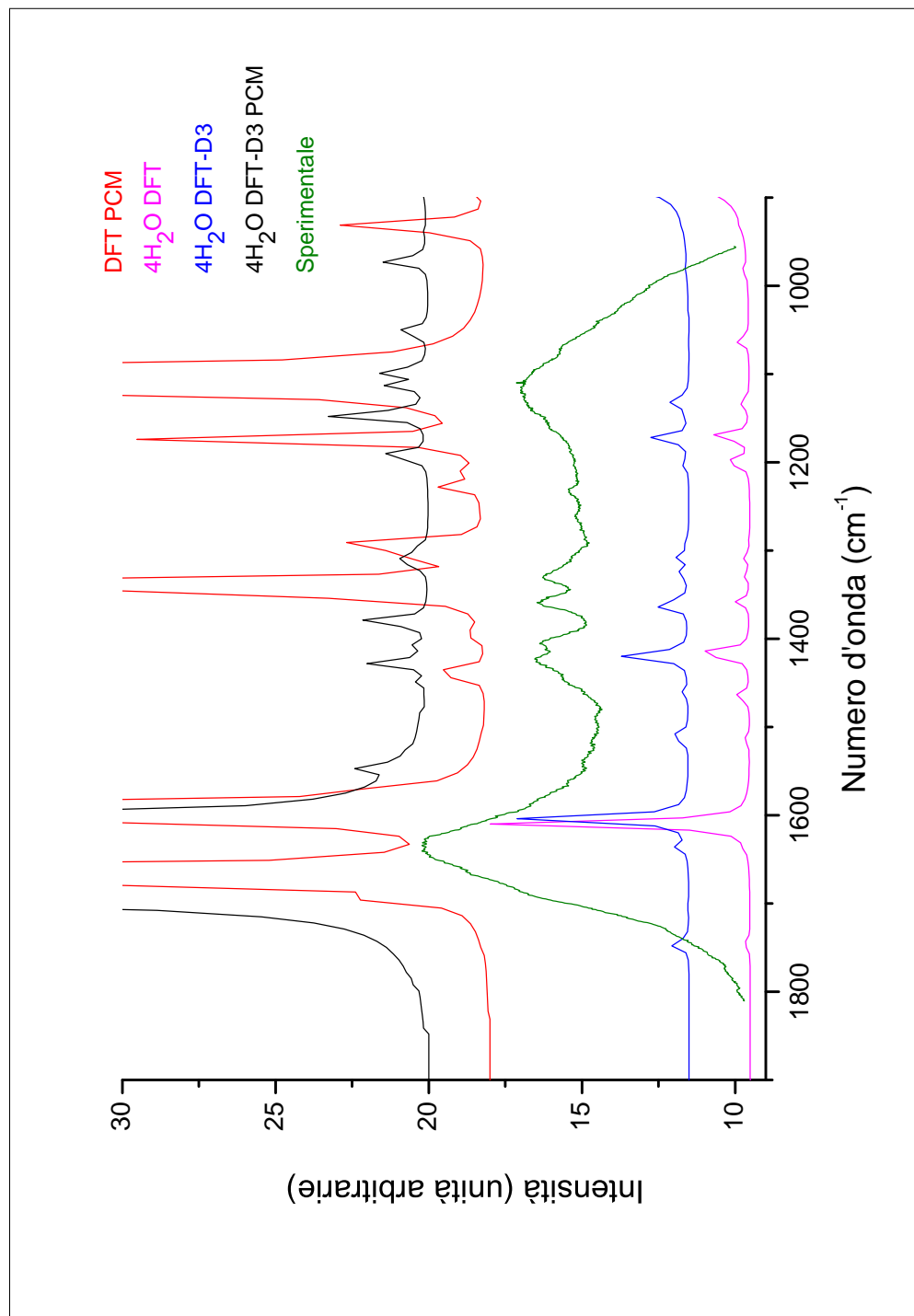


Figura 5.12: Confronto tra gli spettri Raman simulati e sperimentale (0.07 M) dell'L-Asparagina in soluzione acquosa nella regione tra 1200 e i 400 cm^{-1} .

Tabella 5.11: Confronto tra le frequenze di vibrazione sperimentali e quelle ottenute con il modello di solvatazione implicito per l’L-Asparagina in soluzione acquosa.

Modo normale	Calc. ^a (cm ⁻¹)	Int. calc. ^b (km mol ⁻¹)	Sper. ^c (cm ⁻¹)	Sper.-Calc. ^d (cm ⁻¹)
ν_1	3586	0.431		
ν_2	3468	1.579		
ν_3	3386	0.573		
ν_4	3011	6.941		
ν_5	2993	3.673		
ν_6	2946	0.488		
ν_7	2902	0.173		
ν_8	2824	6.177		
ν_9	1696	0.140		
ν_{10}	1678	0.286		
ν_{11}	1666	5.590		
ν_{12}	1596	6.296	1634	38
ν_{13}	1571	0.100		
ν_{14}	1439	0.165	1424	-15
ν_{15}	1395	0.049	1406	11
ν_{16}	1350	0.361	1359	9
ν_{17}	1339	1.809	1330	-9
ν_{18}	1304	0.244	1262	-42
ν_{19}	1292	0.234	1234	-58
ν_{20}	1226	0.091		
ν_{21}	1210	0.025		
ν_{22}	1174	0.592	1151	-23
ν_{23}	1121	0.321		
ν_{24}	1111	2.202	1120	9
ν_{25}	1102	6.370	1072	-30
ν_{26}	942	0.076	987	45
ν_{27}	930	0.258	925	-5
ν_{28}	886	0.110	868	-18
ν_{29}	864	0.290	829	-35
ν_{30}	791	0.377	802	11
ν_{31}	722	0.081	770	48
ν_{32}	678	0.094	719	41
ν_{33}	666	0.078	645	-21
ν_{34}	570	0.130	617	47
ν_{35}	547	0.044	540	-7
ν_{36}	510	0.169	514	4
ν_{37}	506	0.288	484	-22
ν_{38}	367	0.339		
ν_{39}	359	0.393		
ν_{40}	289	0.287		
ν_{41}	251	0.091		
ν_{42}	162	0.141		
ν_{43}	110	4.838		
ν_{44}	98	0.557		
ν_{45}	19	1.296		

^a : frequenza calcolata a livello PBE0/SNSD PCM.

^b : intensità calcolata a livello PBE0/SNSD PCM.

^c : frequenza sperimentale.

^d : differenza tra il valore sperimentale e quello calcolato.

Tabella 5.12: Confronto tra le frequenze di vibrazione sperimentali e quelle ottenute con il modello esplicito per l'L-Asparagina in soluzione acquosa.

Modo normale	Calc. ^a (cm ⁻¹)	Int. calc. ^b (km mol ⁻¹)	Sper. ^c (cm ⁻¹)	Sper.-Calc. ^d (cm ⁻¹)
ν_1	3386	0.358		
ν_2	3123	0.442		
ν_3	3032	0.122		
ν_4	3002	0.983		
ν_5	2972	1.004		
ν_6	2958	0.236		
ν_7	2948	0.135		
ν_8	2791	1.490		
ν_9	1746	0.015		
ν_{10}	1698	0.005		
ν_{11}	1636	0.005		
ν_{12}	1610	0.507	1634	24
ν_{13}	1515	0.012		
ν_{14}	1465	0.031		
ν_{15}	1418	0.040	1424	6
ν_{16}	1416	0.085	1406	-10
ν_{17}	1358	0.027	1359	1
ν_{18}	1328	0.012	1330	2
ν_{19}	1307	0.012		
ν_{20}	1289	0.002	1262	-27
ν_{21}	1200	0.053	1234	34
ν_{22}	1171	0.073	1151	-20
ν_{23}	1141	0.003		
ν_{24}	1131	0.018	1120	-11
ν_{25}	1062	0.026	1072	10
ν_{26}	983	0.010	987	4
ν_{27}	933	0.004	925	-8
ν_{28}	860	4.865	868	8
ν_{29}	830	0.150	829	-1
ν_{30}	807	0.005	802	-5
ν_{31}	803	0.008	770	-33
ν_{32}	761	0.015	719	-42
ν_{33}	725	0.006	645	-80
ν_{34}	631	0.044	617	-14
ν_{35}	597	0.037	591	-6
ν_{36}	560	0.085	540	-20
ν_{37}	532	0.028	514	-18
ν_{38}	522	0.054	484	-38
ν_{39}	414	0.001		
ν_{40}	345	0.071		
ν_{41}	291	0.014		
ν_{42}	203	0.167		
ν_{43}	83	0.219		
ν_{44}	74	0.139		
ν_{45}	28	1.572		

^a: frequenza calcolata a livello PBE0/SNSD.

^b: intensità calcolata a livello PBE0/SNSD.

^c: frequenza sperimentale.

^d: differenza tra il valore sperimentale e quello calcolato.

Tabella 5.13: Confronto tra le frequenze sperimentali e quelle ottenute con il modello esplicito con dispersion corrections per l'L-Asparagina in soluzione acquosa.

Modo normale	Calc. ^a (cm ⁻¹)	Int. calc. ^b (km mol ⁻¹)	Sper. ^c (cm ⁻¹)	Sper.-Calc. ^d (cm ⁻¹)
ν_1	3375	0.564		
ν_2	3093	0.108		
ν_3	3035	0.032		
ν_4	2996	1.058		
ν_5	2973	0.846		
ν_6	2959	0.338		
ν_7	2935	0.256		
ν_8	2813	1.712		
ν_9	1746	0.025		
ν_{10}	1704	0.002		
ν_{11}	1636	0.014		
ν_{12}	1604	0.201	1634	30
ν_{13}	1511	0.027		
ν_{14}	1462	0.008		
ν_{15}	1421	0.061	1424	3
ν_{16}	1417	0.026	1406	-11
ν_{17}	1361	0.047	1359	-2
ν_{18}	1327	0.013	1330	3
ν_{19}	1307	0.015		
ν_{20}	1290	0.004	1262	-28
ν_{21}	1201	0.008	1234	33
ν_{22}	1173	0.044	1151	-22
ν_{23}	1143	0.007		
ν_{24}	1130	0.023	1120	-10
ν_{25}	1064	0.001	1072	8
ν_{26}	983	0.003	987	4
ν_{27}	933	0.001	925	-8
ν_{28}	870	1.686	868	-2
ν_{29}	833	0.139	829	-4
ν_{30}	813	0.022	802	-11
ν_{31}	807	0.007	770	-37
ν_{32}	771	0.019	719	-52
ν_{33}	731	0.006	645	-86
ν_{34}	636	0.166	617	-19
ν_{35}	598	0.038	591	-7
ν_{36}	562	0.093	540	-22
ν_{37}	534	0.017	514	-20
ν_{38}	523	0.054	484	-39
ν_{39}	416	0.011		
ν_{40}	347	0.067		
ν_{41}	295	0.018		
ν_{42}	263	0.041		
ν_{43}	109	0.130		
ν_{44}	74	0.073		
ν_{45}	14	2.579		

^a: frequenza calcolata a livello PBE0-D3/SNSD.

^b: intensità calcolata a livello PBE0-D3/SNSD.

^c: frequenza sperimentale.

^d: differenza tra il valore sperimentale e quello calcolato.

Tabella 5.14: Confronto tra le frequenze di vibrazione sperimentali e quelle ottenute con il modello misto per l'L-Asparagina in soluzione acquosa.

Modo normale	Calc. ^a (cm ⁻¹)	Int. calc. ^b (km mol ⁻¹)	Sper. ^c (cm ⁻¹)	Sper.-Calc. ^d (cm ⁻¹)
ν_1	3410	0.747		
ν_2	3163	0.118		
ν_3	3069	0.276		
ν_4	3057	0.089		
ν_5	3041	0.553		
ν_6	2994	2.766		
ν_7	2968	1.712		
ν_8	2884	1.298		
ν_9	1685	15.861		
ν_{10}^e	1637	0.161		
ν_{11}	1618	7.212	1634	16
ν_{12}	1602	1.308	1540	-62
ν_{13}	1546	0.079	1515	-31
ν_{14}	1449	0.019	1490	41
ν_{15}	1428	0.113	1424	-4
ν_{16}	1409	0.026	1406	-3
ν_{17}	1381	0.138	1359	-22
ν_{18}	1317	0.032	1330	13
ν_{19}	1307	0.053		
ν_{20}	1297	0.019	1262	-35
ν_{21}	1192	0.099	1234	42
ν_{22}	1147	0.197	1151	4
ν_{23}	1113	0.068		
ν_{24}	1097	0.091	1120	23
ν_{25}	1052	0.060	1072	20
ν_{26}	972	0.082	987	15
ν_{27}	940	0.005	925	-15
ν_{28}	878	0.046	868	-10
ν_{29}	824	0.070	829	5
ν_{30}	803	0.011	802	-1
ν_{31}	802	3.640	770	-32
ν_{32}	732	1.513	719	-13
ν_{33}	697	0.121	645	-52
ν_{34}	590	0.111	617	27
ν_{35}	585	0.043	591	6
ν_{36}	555	0.117	540	-15
ν_{37}	515	0.073	515	0
ν_{38}	506	0.018	484	-22
ν_{39}	340	1.567		
ν_{40}	337	0.050		
ν_{41}	273	1.169		
ν_{42}	196	0.412		
ν_{43}	155	1.394		
ν_{44}	83	3.129		
ν_{45}^e	43	6.522		

^a: frequenza calcolata.

^b: intensità calcolata.

^c: frequenza sperimentale.

^d: differenza tra il valore sperimentale e quello calcolato.

^e: valori armonici.

Dai dati delle tabelle e dagli spettri si evince che il modello che approssima meglio il sistema reale è quello che considera esplicitamente le molecole di solvente. L'utilizzo delle dispersion corrections non comporta particolari differenze per quello che riguarda le proprietà vibrazionali della molecola. Tuttavia, poiché diversi studi presenti in letteratura hanno dimostrato che le correzioni DFT-D3 apportano un significativo miglioramento rispetto ai metodi DFT non corretti relativamente alle proprietà termodinamiche (si vedano ad esempio i riferimenti [66, 67, 72, 73, 76, 79]), ci si può attendere che tale livello di teoria sia quello che meglio si presta a descrivere le proprietà strutturali, energetiche e spettroscopiche della molecola solvatata.

Come prevedibile, i modelli espliciti e quello misto sono indubbiamente più adeguati per la descrizione del sistema: un modello implicito di fatto sopprime ogni tipo di interazione tra le molecole del solvente e quelle del soluto. Un approccio di questo tipo per un sistema come quello considerato, in cui le interazioni soluto - solvente sono fondamentali dati i gruppi funzionali e la polarità del soluto, si rivela per certi aspetti lacunoso. Interazioni come i legami a idrogeno comportano l'indebolimento del legame tra l'idrogeno e l'atomo a cui è legato. In prima approssimazione ciò comporta a una riduzione della costante di forza del legame e quindi a una diminuzione della frequenza di vibrazione. Ignorando totalmente i legami a idrogeno, il modello implicito non è in grado di prevedere tale spostamento delle frequenze e non fornisce quindi in ultima analisi un'adeguata descrizione del sistema.

In conclusione, per un sistema come quello considerato un modello di solvatazione esplicito, che consideri almeno alcune molecole di acqua, si rivela indispensabile per una corretta simulazione dello spettro vibrazionale Raman.

5.4.3 Dinamica molecolare

I dati della simulazione di dinamica molecolare sono stati analizzati con il software TRAVIS.

Lo spettro Raman è stato simulato attraverso l'utilizzo dei centri di Wannier, calcolati con il software CP2K per ogni step della simulazione. TRAVIS permette di simulare sia lo spettro dell'intero sistema L-Asparagina·28H₂O sia lo spettro che riporta solo le bande dovute alla L-Asparagina (figura 5.13). Il confronto tra lo spettro del sistema L-Asparagina·28H₂O e quello sperimentale è riportato nelle figure 5.14 e 5.15, per quanto riguarda le regioni tra 1800 e 900 cm⁻¹ e tra 1200 e 400 cm⁻¹ rispettivamente. Le frequenze teoriche sono state calcolate applicando la funzione "normal coordinate analysis" al file contenente le posizioni degli atomi a ogni step della simulazione generato da CP2K. Nella tabella 5.15 sono riportate le frequenze

dei 45 modi vibrazionali della molecola e in base a tali valori è effettuata una prima assegnazione delle bande sperimentali.

Tabella 5.15: Frequenze di vibrazione sperimentali e calcolate mediante dinamica molecolare per l’L-Asparagina in soluzione acquosa.

Modo normale	Calc. ^a (cm ⁻¹)	Sper. ^b (cm ⁻¹)	Sper.–Calc. ^c (cm ⁻¹)
ν_1	3491		
ν_2	3337		
ν_3	3176		
ν_4	3067		
ν_5	3038		
ν_6	3019		
ν_7	2486		
ν_8	2329		
ν_9	1654		
ν_{10}	1645		
ν_{11}	1633	1634	1
ν_{12}	1588	1540	-48
ν_{13}	1552	1515	-37
ν_{14}	1517	1490	-27
ν_{15}	1428	1424	-4
ν_{16}	1389	1406	17
ν_{17}	1355	1359	4
ν_{18}	1327	1330	3
ν_{19}	1295		
ν_{20}	1272	1262	-10
ν_{21}	1215	1234	19
ν_{22}	1143	1151	8
ν_{23}	1098	1120	23
ν_{24}	1089	1072	-17
ν_{25}	1019		
ν_{26}	968	987	19
ν_{27}	878	868	-10
ν_{28}	853	829	-24
ν_{29}	786	802	16
ν_{30}	773	770	-3
ν_{31}	729	719	-10
ν_{32}	665	645	-20
ν_{33}	659	617	-42
ν_{34}	586	591	5
ν_{35}	545	540	-5
ν_{36}	534	514	-20
ν_{37}	504	484	-20
ν_{38}	492		
ν_{39}	377		
ν_{40}	350		
ν_{41}	284		
ν_{42}	212		
ν_{43}	127		
ν_{44}	109		
ν_{45}	84		

^a : frequenza calcolata.

^b : frequenza sperimentale.

^c : differenza tra il valore sperimentale e quello calcolato.

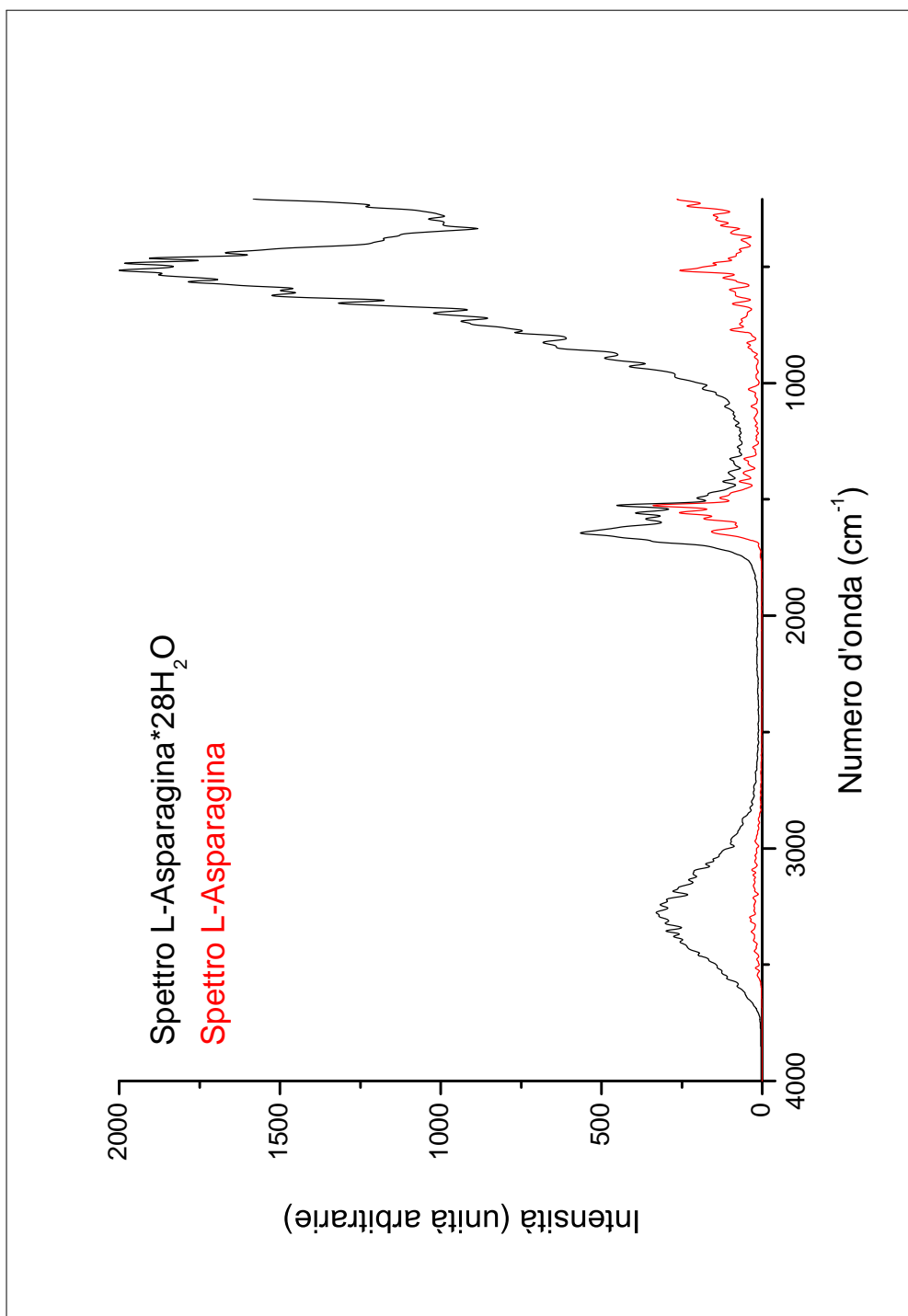


Figura 5.13: Spettri Raman tra 4000 e 400 cm⁻¹ ottenuti dalla simulazione di dinamica molecolare *ab initio*. Lo spettro L-Asparagina-28H₂O è quello riferito all'intero sistema solvatato. Lo spettro della sola L-Asparagina considera invece solo il contributo della molecola.

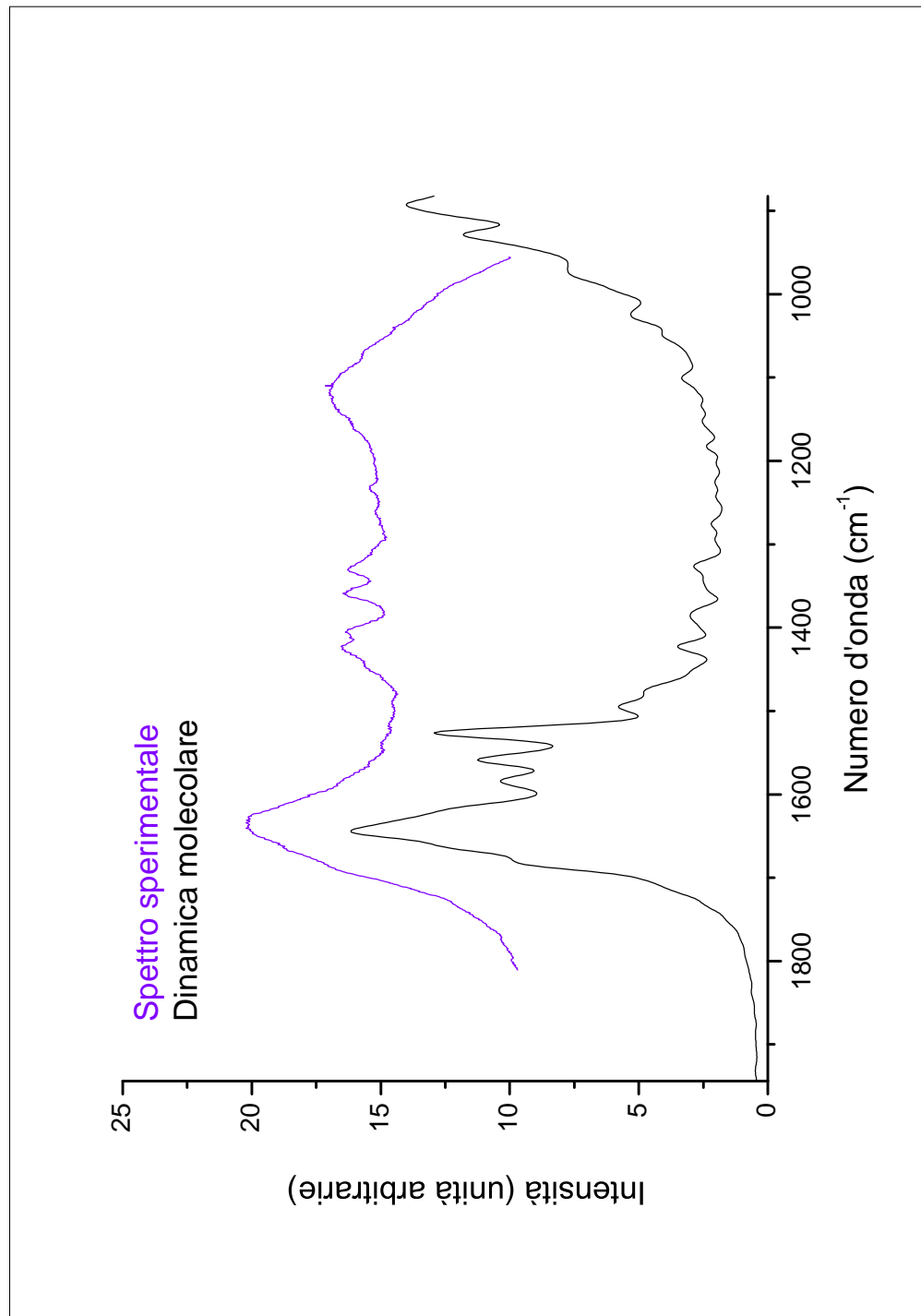


Figura 5.14: Confronto tra lo spettro Raman sperimentale e quello simulato tramite dinamica molecolare per il sistema L-Asparagina·28H₂O nella regione tra 1800 e 900 cm⁻¹.

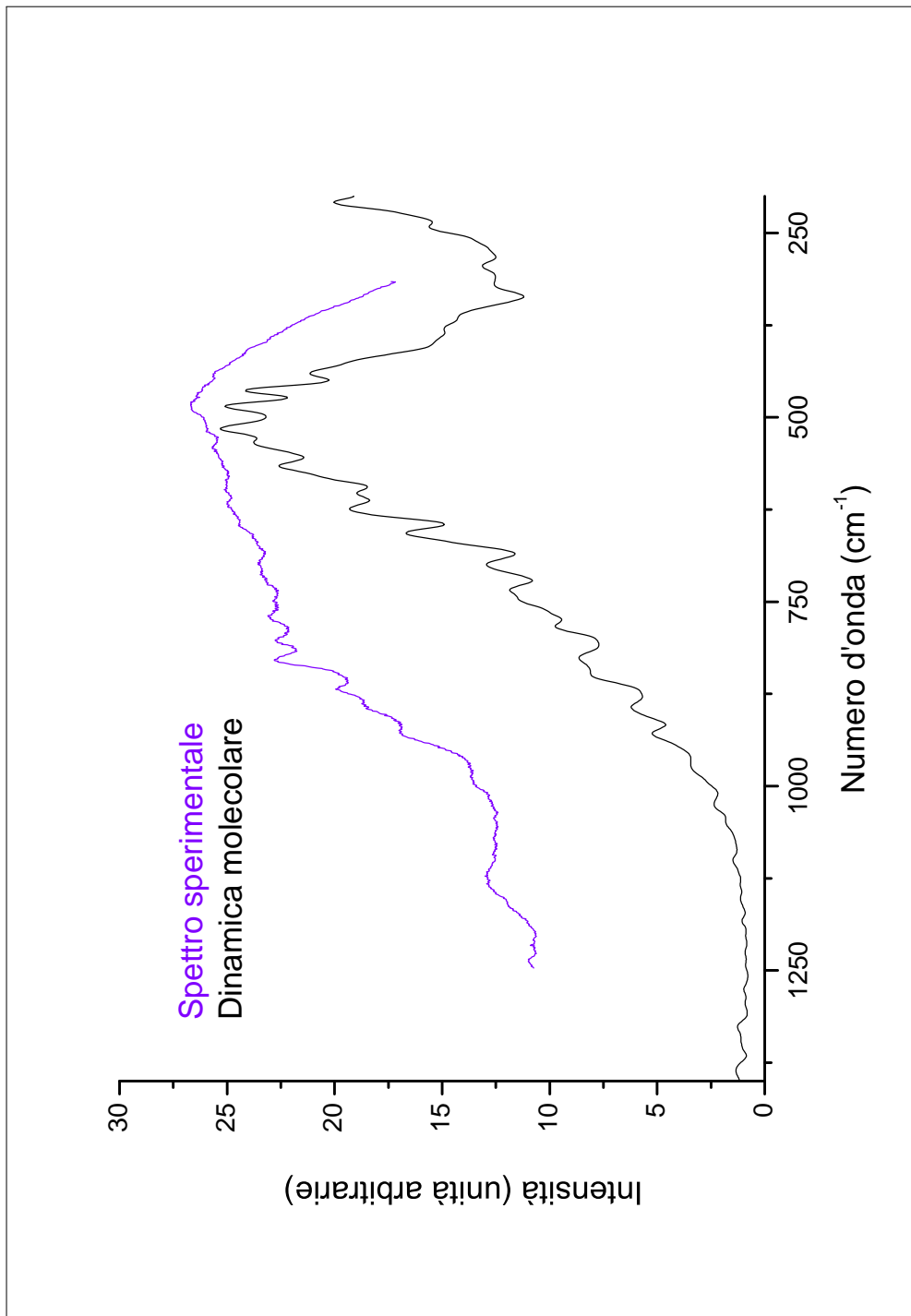


Figura 5.15: Confronto tra lo spettro Raman sperimentale e quello simulato tramite dinamica molecolare per il sistema L-Asparagina-28H₂O nella regione tra i 1200 e i 400 cm⁻¹.

La funzione normal coordinate analysis permette anche di estrapolare singolarmente ogni modo normale, per visualizzarne il contributo allo spettro finale, in termini di forma, posizione e intensità. Il vantaggio più significativo è che non vengono semplicemente generate bande centrate sui valori calcolati, ma viene visualizzato l'effetto della “dinamica conformazionale”, e quindi degli spostamenti degli atomi, sulle caratteristiche finali della banda. Un esempio è dato dalla figura 5.16, dove è riportato il modo normale ν_{32} . Il centro di banda ottenuto dall'analisi dei modi normali effettuata da TRAVIS è 665 cm^{-1} , tuttavia il massimo di assorbimento della banda presa in modo isolato si trova a 660 cm^{-1} . Il corrispondente picco nello spettro dell'L-Asparagina \cdot 28H $_2$ O è individuabile a 656 cm^{-1} , in ottimo accordo con la banda misurata sperimentalmente a 645 cm^{-1} .

In modo analogo, confrontando gli spettri di ogni singolo modo normale prima con lo spettro della sola L-Asparagina e poi con quello del sistema L-Asparagina \cdot 28H $_2$ O è stato possibile ricavare la posizione finale dei massimi di assorbimento. Le corrispondenze sono riportate nella tabella 5.16. Non sono elencati tutti i modi normali perché i modi a frequenze più elevate ($\nu_1 - \nu_8$) e quelli a frequenze più basse ($\nu_{43} - \nu_{45}$) producono un involuppo di bande nel quale è difficile distinguere il contributo di ogni singolo modo. Sulla base di questi dati è stato possibile effettuare l'assegnazione riportata nella tabella 5.17, in cui sono confrontati i massimi di assorbimento misurati sperimentalmente e quelli estratti dallo spettro simulato mediante AIMD.

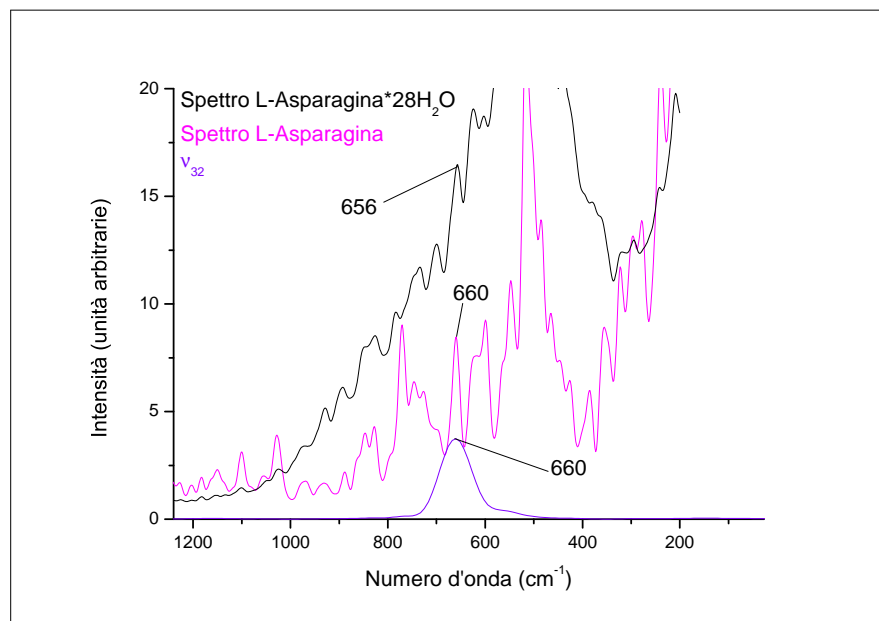


Figura 5.16: Esempio dello spostamento del picco corrispondente al modo normale di vibrazione ν_{32} in seguito alla dinamica molecolare e all'interazione con il solvente.

Tabella 5.16: Frequenze calcolate mediante dinamica molecolare e posizione dei massimi di assorbimento dei modi normali considerati singolarmente, nello spettro della sola L-Asparagina e nello spettro globale.

Modo normale	Calc. ^a (cm ⁻¹)	Modo singolo (cm ⁻¹)	Spettro L-Asp. (cm ⁻¹)	Spettro L-Asp.·28H ₂ O (cm ⁻¹)
ν_1	3491	3518		
ν_2	3337	3363		
ν_3	3176	3306		
ν_4	3067	3070		
ν_5	3038	3038		
ν_6	3019	3021		
ν_7	2486	2997		
ν_8	2329	1645		
ν_9	1654	1637	}1638	}1643
ν_{10}	1645	1637		
ν_{11}	1633	1621	1638 e 1608	
ν_{12}	1588	1588	1583	1585
ν_{13}	1552	1547	1557	1559
ν_{14}	1517	1515	1526 e 1495	1526
ν_{15}	1428	1425	1422	1422
ν_{16}	1389	1393	1386	1386
ν_{17}	1355	1360	1345, 1386 e 1326	1342
ν_{18}	1327	1327	1326	1326
ν_{19}	1295	1295	1293	1295
ν_{20}	1272	1270	1277	1275
ν_{21}	1215	1213	1244, 1228 e 1204	1202, 1225 e 1243
ν_{22}	1143	1140	1150	1153 e 1133
ν_{23}	1098	1100	1101	1101
ν_{24}	1089	1075	1055	1047
ν_{25}	1019	1018	1028	1024
ν_{26}	968	969	969	971
ν_{27}	878	880	888 e 862	893
ν_{28}	853	855	847 e 827	845 e 826
ν_{29}	786	790	}770	783
ν_{30}	773	774		
ν_{31}	729	733	746 e 726	735
ν_{32}	665	660	660	656
ν_{33}	659	586	599	603
ν_{34}	586	570	- ^b	- ^b
ν_{35}	545	546	547	565
ν_{36}	534	505	516	515
ν_{37}	504	489	516 e 485	485
ν_{38}	492	415	427	380
ν_{39}	377	383	386	- ^b
ν_{40}	350	350	355	319
ν_{41}	284	285	296 e 278	295
ν_{42}	212	220	239	241
ν_{43}	127	114		
ν_{44}	109	98		
ν_{45}	84	73		

^a : frequenza calcolata.

^b : picco non visibile.

Tabella 5.17: Confronto tra i dati sperimentali e quelli ottenuti dalla dinamica molecolare delle vibrazioni fondamentali dell'L-Asparagina in soluzione acquosa.

Modo normale	Spettro globale (cm ⁻¹)	Sper. ^a (cm ⁻¹)	Sper.–Calc. ^b (cm ⁻¹)
ν_1			
ν_2			
ν_3			
ν_4			
ν_5			
ν_6			
ν_7			
ν_8			
ν_9	} 1643	1634	-9
ν_{10}			
ν_{11}			
ν_{12}	1585	1540	-45
ν_{13}	1559	1515	-44
ν_{14}	1526	1490	-36
ν_{15}	1422	1424	2
ν_{16}	1386	1406	20
ν_{17}	1342	1359	17
ν_{18}	1326	1330	4
ν_{19}	1295		
ν_{20}	1275	1262	-13
ν_{21}	1202, 1225 e 1243	1234	12 ^c
ν_{22}	1153 e 1113	1151	-2 ^d
ν_{23}	1101	1120	19
ν_{24}	1047	1072	25
ν_{25}	1024		
ν_{26}	971	987	16
ν_{27}	893	868	-25
ν_{28}	845 e 826	829	3 ^d
ν_{29}	} 783	802	19
ν_{30}		770	-13
ν_{31}	735	719	-16
ν_{32}	656	645	-11
ν_{33}	603	591	-12
ν_{34}	-		
ν_{35}	565	540	-25
ν_{36}	515	514	-1
ν_{37}	485	484	-1
ν_{38}	380		
ν_{39}	-		
ν_{40}	319		
ν_{41}	295		
ν_{42}	241		
ν_{43}			
ν_{44}			
ν_{45}			

^a : frequenza sperimentale.

^b : differenza tra il valore sperimentale e quello calcolato.

^c : la differenza è stata calcolata considerando il valore medio tra i tre simulati, poiché i tre picchi hanno intensità confrontabili.

^d : la differenza è stata calcolata considerando il valore del picco simulato più intenso.

I dati ottenuti dalla dinamica molecolare hanno portato a una revisione rispetto all'analisi basata sui risultati ottenuti mediante metodi statici. Si è potuto infatti constatare che il picco a 925 cm^{-1} , l'involuppo approssimativamente centrato a 699 cm^{-1} e il picco a 617 cm^{-1} non sono ascrivibili a bande fondamentali. Nello specifico, il segnale a 925 cm^{-1} nello spettro sperimentale corrisponde quello a 929 cm^{-1} nello spettro simulato del sistema globale. Sulla base dell'analisi dei modi normali tale assorbimento non è generato da una vibrazione fondamentale, ma risulta dovuto alla somma delle code delle bande ν_{26} e ν_{27} , come illustrato in figura 5.17. Analogamente, il picco sperimentale a 699 cm^{-1} (700 cm^{-1} simulato) è dato dalla somma delle code delle bande ν_{31} , ν_{32} e ν_{33} (figura 5.18), mentre quello a 617 cm^{-1} (624 cm^{-1} simulato) è dovuto all'interferenza della struttura spettrale dei modi ν_{33} e ν_{34} , come riportato in figura 5.19.

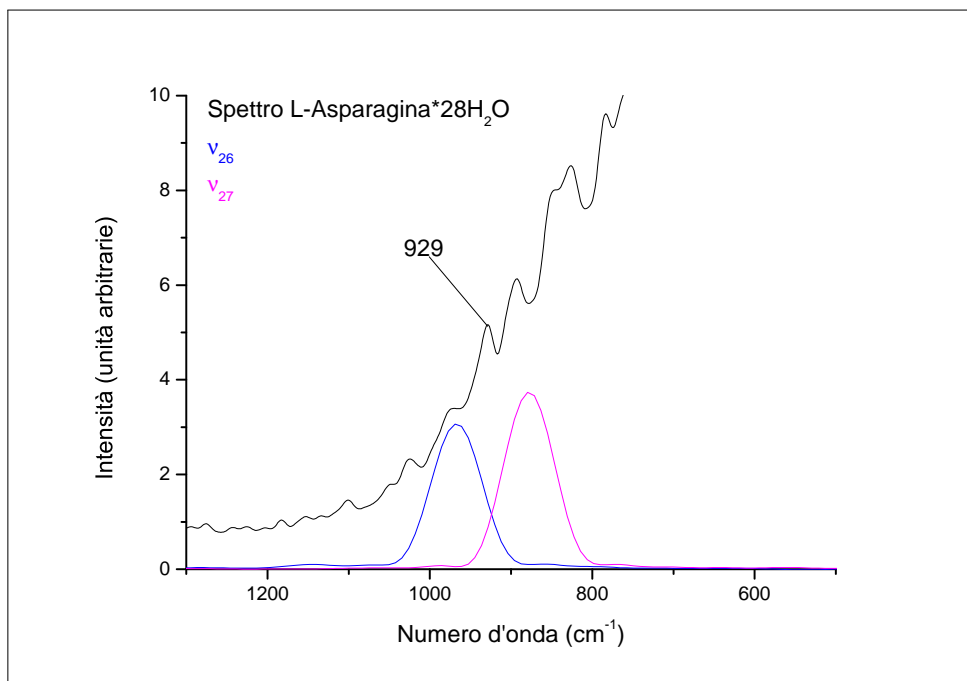


Figura 5.17: Spettro Raman dell'L-Asparagina·28H₂O tra 1300 e 500 cm^{-1} simulato mediante AIMD. La banda a 929 cm^{-1} è data dalla somma delle code dei modi ν_{26} e ν_{27} .

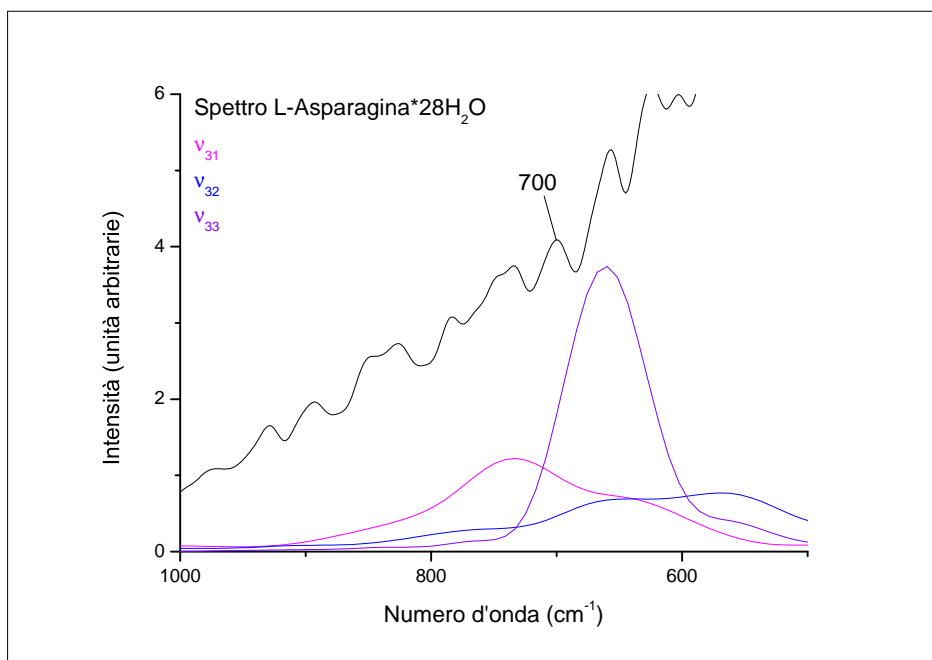


Figura 5.18: Spettro Raman dell'L-Asparagina·28H₂O tra 1000 e 500 cm⁻¹ simulato mediante AIMD. La banda a 700 cm⁻¹ è data dalla somma delle code dei modi ν_{31} , ν_{32} e ν_{33} .

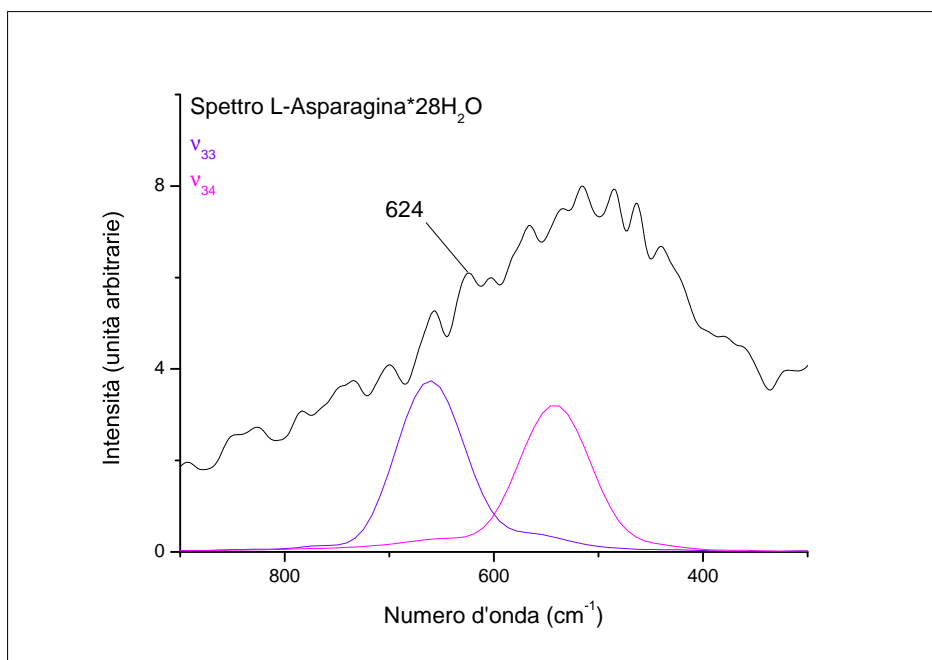


Figura 5.19: Spettro Raman dell'L-Asparagina·28H₂O tra 900 e 300 cm⁻¹ simulato mediante AIMD. La banda a 624 cm⁻¹ è data dalla somma delle code dei modi ν_{33} e ν_{34} .

Dal confronto tra l'assegnazione finale effettuata nella presente tesi e quella condotta in letteratura [34] emerge che vi è corrispondenza solo per i modi normali ν_{21} - ν_{23} , ν_{27} - ν_{30} e ν_{35} . Ciò è spiegabile considerando che i calcoli che hanno supportato l'assegnazione effettuata in letteratura (HF/6-31+G* SCRF) sono meno raffinati di quelli utilizzati per questo lavoro e che è stato utilizzato solamente un approccio di tipo statico. Infatti, nel lavoro di letteratura il picco a 926 cm^{-1} (925 cm^{-1} nella presente tesi) è assegnato a una vibrazione fondamentale, mentre invece, come già illustrato, secondo la simulazione di dinamica molecolare non lo è.

Le considerazioni fatte portano a concludere che l'approccio dinamico è indubbiamente più accurato, sia per la struttura spettrale ottenuta sia in termini di frequenze calcolate. Lo spettro simulato è in buon accordo con quello sperimentale e la dinamica molecolare *ab initio* si dimostra quindi un'ottima tecnica computazionale per la simulazione del sistema solvatato.

I vantaggi dell'approccio dinamico rispetto a quello statico sono molteplici. Innanzitutto forma e posizione delle bande riproducono in maniera più realistica quelle sperimentali. Con l'approccio statico invece ogni banda può al più essere visualizzata come una funzione simmetrica (in genere una gaussiana) centrata alla frequenza calcolata e non sono considerati gli effetti di allargamento dovuti al moto degli atomi e ai cambiamenti di conformazione delle molecole. Anche per quanto riguarda l'intensità relativa, quella calcolata a livello di dinamica molecolare risulta più realistica di quella calcolata staticamente. In più la possibilità di analizzare singolarmente i contributi di tutti i modi normali in seguito alla dinamica è uno strumento di indubbia utilità per un'analisi approfondita dello spettro sperimentale. Nel caso specifico i picchi misurati sperimentalmente a 925 , 699 e 617 cm^{-1} ne sono un esempio.

La maggior adeguatezza della dinamica molecolare deriva dal fatto che, a differenza dei metodi statici, nella simulazione sono considerati i moti traslazionali e rotazionali delle molecole e la temperatura, che nel caso di una soluzione acquosa a temperatura ambiente non possono essere trascurati. Infine poiché nella simulazione è effettuato un campionamento dello spazio delle fasi in un intorno della geometria di minimo, sono inclusi taluni effetti di anarmonicità che contribuiscono a rendere lo spettro simulato più realistico. È interessante anche sottolineare il fatto che la simulazione di dinamica molecolare è stata effettuata utilizzando il funzionale BLYP, mentre i calcoli statici sono stati condotti con il funzionale PBE0, dal quale ci si sarebbero attesi risultati più accurati relativamente a frequenze e intensità di transizione.

In ultima analisi, per la simulazione di un sistema biologico come un amminoacido in soluzione l'approccio statico si rivela poco adatto, mentre un trattamento di tipo dinamico porta a risultati ben più soddisfacenti.

Capitolo 6

L-Asparagina allo stato solido

6.1 Caratterizzazione sperimentale

Lo spettro infrarosso dell'L-Asparagina allo stato solido è stato registrato nelle regioni del medio infrarosso (MIR), tra 400 e 4000 cm^{-1} , e del lontano infrarosso (FIR), tra 200 e 400 cm^{-1} presso il Dipartimento di Scienze Molecolari e Nanosistemi dell'Università Ca' Foscari di Venezia.

Nel MIR lo spettro è stato registrato in pastiglia di KBr. L'L-Asparagina è stata utilizzata nelle seguenti quantità: 0.5, 1.0 e 1.5 mg, in circa 200 mg di KBr.

Nel FIR lo spettro è stato registrato in Nujol con l'utilizzo di finestre in polietilene. 2 mg di L-Asparagina sono stati macinati e poi dispersi in circa 0.1 mL di Nujol e circa 0.05 mL della dispersione sono stati depositati tra due finestre di polietilene.

È stato utilizzato uno spettrofotometro Bruker Vertex 70 FT-IR e sono stati acquisiti 128 interferogrammi. Lo spettro è stato registrato con una risoluzione di 4 cm^{-1} .

6.2 Caratterizzazione computazionale

Per i calcoli statici sono stati utilizzati i software Gaussian 09 e Crystal 14 [118]. Per le simulazioni di dinamica molecolare è stato impiegato il software CP2K. I calcoli sono stati eseguiti con la workstation HP Z-400 e alcuni dei pc presenti nel laboratorio di spettroscopia e chimica computazionale di questo Dipartimento.

6.2.1 Calcoli statici

Per quanto riguarda l'approccio statico sono state confrontate la simulazione della molecola isolata e quella della molecola in fase cristallina. La molecola isolata è stata

trattata a livello HF/6-311++G** con Gaussian 09, come riportato nel capitolo precedente. Con Crystal 14 è stato invece simulato la struttura cristallina della molecola adottando un approccio periodico.

Come input per geometria della molecola e parametri di cella è stata utilizzata la struttura ottenuta ai raggi X riportata in letteratura [28]. L'L-Asparagina anidra solida è un cristallo monoclinico appartenente al gruppo spaziale P2₁ e avente i seguenti parametri di cella: $a = 5.0622 \pm 0.0004 \text{ \AA}$, $b = 6.7001 \pm 0.0005 \text{ \AA}$, $c = 8.0543 \pm 0.0005 \text{ \AA}$, $\alpha = \gamma = 90^\circ$, $\beta = 91.706 \pm 0.005^\circ$ e $Z = 2$. Poiché per la definizione della cella elementare nel gruppo spaziale P2₁ sono necessarie due molecole, come struttura di input sono stati considerati 34 atomi. Tale struttura è stata generata con il software Crystal 14, impostando i parametri di cella, i 17 atomi dell'unità asimmetrica e il gruppo spaziale secondo la struttura sperimentale. L'ottimizzazione geometrica è stata condotta solo sulle coordinate degli atomi. Per l'ottimizzazione dei parametri di cella è stato effettuato un tentativo ma il calcolo è risultato troppo dispendioso in termini di risorse computazionali.

I calcoli sono stati effettuati a livello B3LYP-D2 con i seguenti basis set: 6-21G* [120] per gli atomi di C e N, 6-31d1 [121] per gli atomi di O e 5-11G* [122] per gli atomi di H. Le frequenze sono state calcolate a livello armonico e sono poi state corrette utilizzando le differenze tra i valori armonici e anarmonici calcolati a livello HF/6-311++G** per la molecola isolata.

6.2.2 Simulazioni di dinamica molecolare *ab initio*

Per i calcoli di dinamica molecolare la struttura di input è stata ottenuta con il software GaussView 5.0 [119], applicando le Periodic Boundary Conditions implementate nel software alla cella elementare ottenuta con Crystal 14. Le simulazioni sono state condotte a livello DFT-D3 utilizzando il modulo Quickstep e il funzionale BLYP. A tutti gli atomi sono stati applicati il basis set di tipo double- ζ MOLOPT-DZ-SR-GTH e i corrispondenti pseudopotenziali di Goedecker-Teter-Hutter (GTH). La temperatura è stata fissata a 350 K utilizzando il termostato di Nosé - Hoover. Sul sistema è stata prima eseguita l'ottimizzazione geometrica e poi la simulazione di dinamica molecolare. Per l'equilibratura del sistema è stata effettuata una simulazione di 3 ps con time-step di 1 fs. Sulla struttura ottenuta dall'equilibratura è stata poi eseguita una simulazione di 15 ps con time-step di 1 fs. Per le dimensioni della scatola di simulazione sono stati utilizzati i seguenti parametri di cella: $a = 4.8030 \text{ \AA}$, $b = 6.8667 \text{ \AA}$, $c = 7.8803 \text{ \AA}$, $\alpha = \gamma = 90.0^\circ$ e $\beta = 90.8^\circ$. Per la simulazione sono state imposte le condizioni periodiche al contorno nelle tre dimensioni dello spazio. Lo spettro IR

calcolato è stato generato analizzando i dati ottenuti dalla simulazione tramite il software TRAVIS. Per l'analisi sono stati mantenuti i parametri di default suggeriti dalle linee guida del software.

6.3 Parametri strutturali

La struttura di input per l'L-Asparagina isolata e la numerazione di riferimento degli atomi è riportata in figura 5.2. In figura 5.3 è riportata la struttura ottimizzata a livello HF/6-311++G**. In tabella 6.1 sono confrontati i parametri strutturali. Come per l'L-Asparagina in soluzione, i parametri considerati sono quelli delle 51 coordinate interne della tabella 5.5 utilizzate per la definizione dei modi normali di vibrazione (tabella 5.6) e poi della TED (tabella 5.7).

Dalla tabella 6.1, confrontando i dati sperimentali con quelli calcolati per la molecola in fase gas, emerge che le distanze di legame C=O e C-NH₂ sono sottostimate, mentre le lunghezze dei legami N-H, C-H e C¹-C² sono superiori a quelle sperimentali. La lunghezza calcolata del legame C²-C³ è leggermente inferiore a quella sperimentale mentre i legami C³-C⁴ e C-NH₃⁺ risultano di poco superiori. Per quanto riguarda gli angoli, si hanno variazioni significative solo per gli angoli piani β_{2-1-8} , β_{2-5-11} e $\beta_{10-5-11}$ e per gli angoli diedri $\theta_{2-3-4-6}$, $\theta_{3-2-1-8}$ e $\theta_{3-2-5-11}$. Dalla figura 6.1, nella quale è riportata la struttura cristallina ottenuta dai raggi X, si deduce che tali variazioni sono dovute alla formazione dei legami a idrogeno intermolecolari. Infatti, i parametri geometrici ottenuti simulando la struttura cristallina mediante i metodi quanto-meccanici periodici a livello B3LYP-D2 risultano in migliore accordo con i dati sperimentali: le massime differenze sono di 0.127Å, 5.4° e 33.3° rispettivamente per lunghezze di legame, angoli e angoli diedri. La struttura ottimizzata a livello B3LYP-D2 è riportata nella figura 6.2.

6.4 Analisi vibrazionale

La cella elementare dell'L-Asparagina allo stato cristallino (gruppo spaziale P2₁) è costituita da 34 atomi, dando così origine a 102 modi normali, di cui 99 acustici e 3 ottici. I modi ottici corrispondono alle traslazioni nello spazio e non sono quindi visibili all'IR. Dei 99 modi acustici, 3 sono modi corrispondenti a piccole traslazioni di una molecola rispetto all'altra, e 6 sono modi rotazionali, corrispondenti a piccole rotazioni di una molecola rispetto all'altra. I rimanenti 90 modi normali sono i modi normali di vibrazione. La cella elementare dell'L-Asparagina solida appartiene al

gruppo di simmetria C_2 e tutti modi acustici risultano attivi in infrarosso, ma i 3 traslazionali e i 6 rotazionali cadono a frequenze molto basse ($< 150 \text{ cm}^{-1}$).

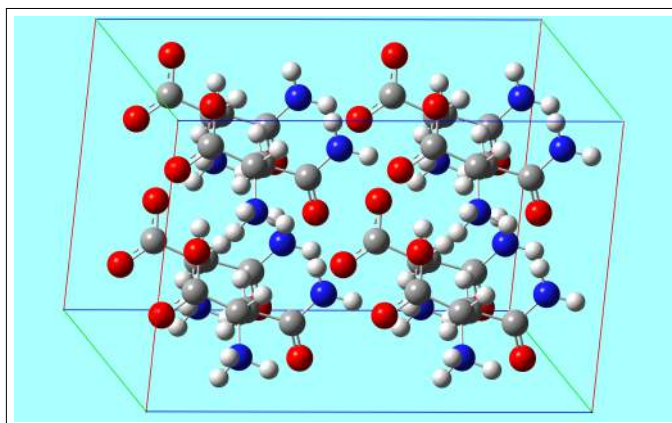


Figura 6.1: Struttura cristallina dell'L-Asparagina ottenuta dai Raggi X [28].

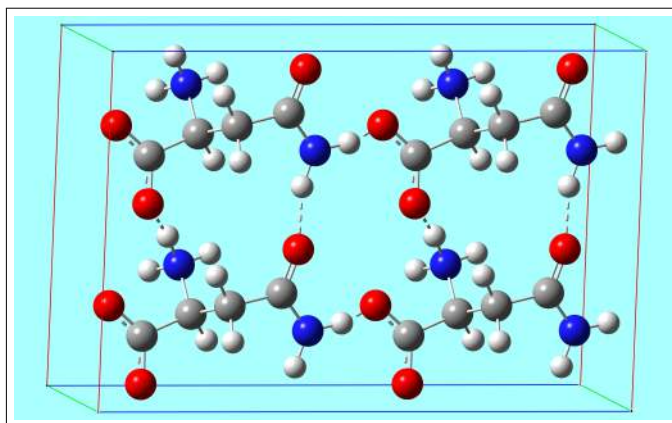


Figura 6.2: Struttura cristallina ottimizzata a livello B3LYP-D2. I legami tratteggiati indicano i legami a idrogeno intermolecolari.

Tabella 6.1: Parametri strutturali dell’L-Asparagina cristallina. Confronto tra i dati sperimentali e quelli calcolati.

	Sper. ^a	HF ^b	DFT-D2 ^c
Distanze di legame (Å)			
r ₁₋₂	1.520 ₆	1.565 ₈	1.565 ₈
r ₁₋₇	1.261 ₄	1.206 ₀	1.268 ₁
r ₁₋₈	1.259 ₃	1.231 ₅	1.272 ₁
r ₂₋₃	1.528 ₈	1.524 ₅	1.535 ₀
r ₂₋₅	1.488 ₇	1.497 ₇	1.508 ₀
r ₂₋₁₅	1.013 ₁	1.078 ₃	1.096 ₀
r ₃₋₄	1.508 ₉	1.513 ₈	1.509 ₈
r ₃₋₁₆	1.040 ₀	1.085 ₈	1.109 ₈
r ₃₋₁₇	1.006 ₈	1.078 ₇	1.091 ₇
r ₄₋₆	1.353 ₃	1.336 ₇	1.356 ₀
r ₄₋₉	1.229 ₃	1.204 ₉	1.244 ₄
r ₅₋₁₀	1.004 ₅	1.007 ₅	1.033 ₇
r ₅₋₁₁	1.013 ₂	1.026 ₀	1.051 ₁
r ₅₋₁₂	0.915 ₈	1.001 ₇	1.042 ₃
r ₆₋₁₃	0.934 ₄	0.992 ₁	1.031 ₃
r ₆₋₁₄	0.905 ₁	0.989 ₂	1.011 ₁
Angoli piani (deg)			
β_{1-2-3}	109.4 ₀	109.5 ₃	109.4 ₄
β_{1-2-5}	108.8 ₃	106.0 ₄	108.7 ₂
β_{1-2-15}	110.5 ₂	110.6 ₁	109.4 ₄
β_{2-1-7}	113.4 ₇	114.4 ₁	113.4 ₆
β_{2-1-8}	118.5 ₁	112.7 ₆	118.8 ₇
β_{2-3-4}	111.2 ₇	113.7 ₇	111.1 ₇
β_{2-3-16}	110.4 ₆	109.6 ₈	109.8 ₃
β_{2-3-17}	108.0 ₉	106.9 ₂	108.2 ₄
β_{2-5-10}	109.8 ₀	111.7 ₅	109.4 ₅
β_{2-5-11}	114.9 ₂	101.9 ₅	111.5 ₄
β_{2-5-12}	109.2 ₅	111.0 ₇	109.3 ₇
β_{3-2-5}	111.4 ₈	111.2 ₅	111.7 ₈
β_{3-2-15}	108.3 ₂	110.7 ₅	109.8 ₆
β_{3-4-6}	116.8 ₂	116.7 ₈	117.3 ₃
β_{3-4-9}	120.3 ₉	121.0 ₃	119.9 ₁
β_{4-3-16}	108.3 ₆	106.7 ₈	110.3 ₀
β_{4-3-17}	108.3 ₅	112.3 ₇	108.3 ₆
β_{4-6-13}	119.4 ₇	118.9 ₀	120.5 ₉
β_{4-6-14}	120.6 ₀	121.9 ₁	121.3 ₅
β_{5-2-15}	108.2 ₈	108.5 ₅	107.5 ₆
β_{6-4-9}	122.7 ₉	122.1 ₈	122.7 ₆
β_{7-1-8}	127.9 ₈	132.7 ₉	127.6 ₀
$\beta_{10-5-11}$	106.6 ₂	115.8 ₇	111.4 ₈
$\beta_{10-5-12}$	111.1 ₇	108.7 ₉	105.7 ₈
$\beta_{11-5-12}$	104.9 ₉	107.2 ₁	109.0 ₄
$\beta_{13-6-14}$	119.8 ₈	119.1 ₇	118.0 ₆
$\beta_{16-3-17}$	110.3 ₀	107.1 ₃	108.8 ₇
Angoli diedri (deg)			
$\theta_{2-3-4-6}$	72.4 ₅	137.5 ₄	71.7 ₇
$\theta_{3-2-1-8}$	86.2 ₈	109.4 ₉	91.2 ₉
$\theta_{3-2-5-11}$	52.5 ₅	99.2 ₈	85.8 ₉
$\theta_{3-4-6-13}$	174.7 ₃	176.9 ₃	174.0 ₀
$\theta_{4-3-2-5}$	69.0 ₅	58.3 ₆	69.2 ₀
$\theta_{4-13-6-14}$	177.2 ₈	178.7 ₅	179.9 ₆
$\theta_{6-3-4-9}$	179.6 ₀	178.6 ₀	179.1 ₄
$\theta_{7-1-2-8}$	177.9 ₄	178.2 ₂	177.1 ₉

^a : struttura sperimentale da raggi X [28].

^b : struttura ottimizzata a livello HF/6-311++G**.

^c : struttura ottimizzata a livello B3LYP-D2 con approccio periodico.

I 90 modi vibrazionali della cella elementare dell'L-Asparagina si possono raggruppare a due a due, considerando che ogni coppia di frequenze descrive il medesimo movimento per le due molecole, in fase e in antifase. Ci si aspetta di ottenere quindi frequenze a due a due simili. Per l'analisi dei modi normali di vibrazione bisognerebbe quindi calcolare una TED che tenga conto dei 34 atomi che compongono la cella elementare, ma per le considerazioni appena fatte si può fare riferimento alla TED calcolata per una sola molecola di L-Asparagina (tabella 5.7). Ad ogni modo normale della tabella 5.7 corrispondono ora due frequenze di vibrazione.

6.4.1 Calcoli statici

Nella tabella 6.2 sono riportate le frequenze armoniche calcolate a livello B3LYP-D2 secondo l'approccio periodico per il sistema cristallino e le relative intensità IR.

La presenza della frequenza negativa ν_{102} potrebbe essere data dal fatto che l'ottimizzazione è stata effettuata solo sulle coordinate degli atomi mantenendo i parametri di cella costanti al valore sperimentale. Probabilmente si tratta di uno dei modi traslazionali o rotazionali e quindi non è rilevante ai fini dell'analisi vibrazionale. Le tre frequenze pari a 0 sono i modi ottici sopra citati, corrispondenti alle traslazioni nello spazio dell'intero sistema cristallino e quindi inattivi all'IR.

Le frequenze dalla ν_1 alla ν_{90} corrispondono ai modi normali di vibrazione. In generale le frequenze sono a due a due simili e per ogni coppia si ha una frequenza intensa e una significativamente più debole. Questo andamento è dovuto probabilmente al fatto che uno dei due movimenti non causa una significativa variazione del momento di dipolo nella cella elementare. Per ogni coppia di frequenze è quindi atteso un unico picco. Fanno eccezione le coppie $\nu_9-\nu_{10}$, $\nu_{37}-\nu_{38}$, $\nu_{39}-\nu_{40}$, $\nu_{49}-\nu_{50}$, $\nu_{59}-\nu_{60}$, $\nu_{63}-\nu_{64}$, $\nu_{83}-\nu_{84}$, $\nu_{85}-\nu_{86}$, $\nu_{87}-\nu_{88}$ e $\nu_{89}-\nu_{90}$. Per tali coppie le frequenze sono significativamente diverse e la loro intensità è comparabile e sono quindi attese due bande di assorbimento.

Il software Crystal 14 non permette di eseguire il calcolo delle frequenze a livello anarmonico. Gli effetti di anarmonicità sono stati quindi inclusi sottraendo ai valori delle frequenze armoniche le differenze tra i valori armonici e quelli anarmonici delle frequenze calcolate a livello HF/6-311++G**. Dal calcolo HF sono naturalmente state ottenute solo 45 frequenze, corrispondenti ai modi normali di vibrazione di una sola molecola di L-Asparagina. La correzione è stata quindi effettuata associando ad ognuna delle 45 frequenze della molecola isolata una coppia di frequenze della cella elementare e correggendo ogni frequenza della coppia dello stesso valore.

Tabella 6.2: Frequenze e intensità IR armoniche dell'L-Asparagina cristallina calcolate a livello B3LYP-D2 secondo l'approccio periodico.

Modo normale ^a	Freq. (cm ⁻¹)	Int. (km mol ⁻¹)	Modo normale ^a	Freq. (cm ⁻¹)	Int. (km mol ⁻¹)
ν_1	3477	0.37	ν_{52}	1014	0.60
ν_2	3472	1533.71	ν_{53}	972	7.49
ν_3	3212	12.25	ν_{54}	966	14.54
ν_4	3203	1857.66	ν_{55}	943	31.72
ν_5	3187	1949.47	ν_{56}	937	21.10
ν_6	3178	590.53	ν_{57}	916	4.33
ν_7	3157	60.33	ν_{58}	915	48.17
ν_8	3151	2.03	ν_{59}	899	15.77
ν_9	3124	7.71	ν_{60}	892	9.29
ν_{10}	3120	6.62	ν_{61}	801	4.35
ν_{11}	3091	15.92	ν_{62}	796	13.9
ν_{12}	3073	0.44	ν_{63}	780	50.73
ν_{13}	3050	2681.95	ν_{64}	777	58.88
ν_{14}	3027	36.15	ν_{65}	744	52.64
ν_{15}	2983	1064.95	ν_{66}	717	134.41
ν_{16}	2962	1771.12	ν_{67}	674	115.17
ν_{17}	1725	477.23	ν_{68}	637	264.71
ν_{18}	1721	1.76	ν_{69}	604	9.32
ν_{19}	1716	1012.85	ν_{70}	600	100.22
ν_{20}	1715	135.32	ν_{71}	570	5.83
ν_{21}	1709	962.40	ν_{72}	569	14.69
ν_{22}	1708	8.57	ν_{73}	552	86.22
ν_{23}	1694	303.02	ν_{74}	551	0.40
ν_{24}	1684	3.53	ν_{75}	468	103.53
ν_{25}	1652	1097.76	ν_{76}	462	9.72
ν_{26}	1636	0.23	ν_{77}	437	65.93
ν_{27}	1555	1311.46	ν_{78}	389	12.03
ν_{28}	1552	9.33	ν_{79}	351	176.52
ν_{29}	1502	4.82	ν_{80}	350	60.34
ν_{30}	1496	61.56	ν_{81}	289	35.45
ν_{31}	1482	296.69	ν_{82}	282	112.61
ν_{32}	1467	0.45	ν_{83}	260	92.81
ν_{33}	1457	1.74	ν_{84}	229	129.29
ν_{34}	1447	863.74	ν_{85}	221	35.13
ν_{35}	1399	458.99	ν_{86}	209	24.95
ν_{36}	1395	8.64	ν_{87}	187	2.72
ν_{37}	1391	111.25	ν_{88}	180	4.16
ν_{38}	1387	107.51	ν_{89}	158	7.21
ν_{39}	1326	6.61	ν_{90}	155	4.69
ν_{40}	1318	10.46	ν_{91}	149	50.08
ν_{41}	1293	221.69	ν_{92}	140	29.34
ν_{42}	1289	34.88	ν_{93}	134	18.73
ν_{43}	1217	100.85	ν_{94}	121	7.84
ν_{44}	1205	1.18	ν_{95}	111	1.79
ν_{45}	1203	0.41	ν_{96}	103	0.13
ν_{46}	1202	114.31	ν_{97}	89	3.96
ν_{47}	1159	5.71	ν_{98}	76	2.35
ν_{48}	1158	17.83	ν_{99}	0	0.05
ν_{49}	1088	15.72	ν_{100}	0	0.37
ν_{50}	1082	33.31	ν_{101}	0	29.36
ν_{51}	1020	31.74	ν_{102}	-201	0.17

^a : numerazione arbitraria.

Nella tabella 6.3 è riportato il confronto tra le frequenze calcolate per la molecola in fase gas a livello HF/6-311++G** e quelle calcolate per il sistema cristallino corrette per includere gli effetti anarmonici. Considerando le frequenze più elevate (ν_{1-8}), corrispondenti agli stretching N–H e C–H, quelle calcolate per il sistema periodico risultano molto inferiori, principalmente a causa dei legami a idrogeno inter e intra-molecolari presenti nella struttura cristallina. Anche le frequenze dalla ν_9 alla ν_{26} , relative agli stretching C=O e ai bending NH, presentano una significativa diminuzione, sempre dovuta alla presenza delle interazioni a idrogeno presenti nel sistema periodico. Anche le frequenze dalla ν_{26} alla ν_{54} presentano un red shift, anche se meno marcato poiché corrispondono a moti della molecola che risentono meno della presenza dei legami a idrogeno. Le frequenze dalla ν_{55} alla ν_{90} risultano invece maggiori nella simulazione del sistema periodico, poiché i movimenti interessano torsioni dello scheletro molecolare e bending fuori dal piano di gruppi funzionali, che in una struttura cristallina avvengono con più difficoltà rispetto alla fase gas. Effettuando quindi un parallelismo con la fisica classica, è come se gli atomi coinvolti risentissero di una costante di forza maggiore.

6.4.2 Spettro sperimentale

Lo spettro infrarosso sperimentale nel MIR è riportato in figura 6.3. Nelle figure 6.4, 6.5 e 6.6 sono invece riportate con maggiore dettaglio le regioni $4000 - 2000 \text{ cm}^{-1}$, $1800 - 1000 \text{ cm}^{-1}$ e $1000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ rispettivamente, con l'indicazione delle bande osservate.

Lo spettro registrato nel FIR è riportato in figura 6.7, dove è contestualmente effettuato il confronto con il background al fine di distinguere gli assorbimenti dovuti all'L-Asparagina. I massimi individuati e la loro intensità relativa sono riportati nella tabella 6.4.

Il confronto tra lo spettro simulato e quello sperimentale dell'L-Asparagina cristallina è riportato nelle figure 6.8 e 6.9, per quello che riguarda rispettivamente le regioni del MIR e del FIR. Nella figura 6.9 è riportata anche la simulazione ottenuta con la dinamica molecolare (vedi 6.4.3). Nella tabella 6.5 le frequenze delle bande assegnate sperimentalmente sono confrontate con quelle determinate a livello B3LYP-D2 mediante l'approccio periodico e corrette per considerare gli effetti di anarmonicità. Il picco a 2086 cm^{-1} non è riportato nel confronto poiché è stato attribuito alla banda di combinazione tra la ν_{27} (1499 cm^{-1}) e la ν_{70} (583 cm^{-1}).

Tabella 6.3: Confronto tra i numeri d'onda calcolati per l'L-Asparagina in fase gas e in fase cristallina.

Modo normale ^a	HF ^b (cm ⁻¹)	DFT-D2 ^c (cm ⁻¹)	Modo normale ^a	HF ^b (cm ⁻¹)	DFT-D2 ^c (cm ⁻¹)
ν_1	3783	3307	ν_{47}	1152	1133
ν_2		3302	ν_{48}		1132
ν_3	3670	3067	ν_{49}	1101	1062
ν_4		3058	ν_{50}		1056
ν_5	3602	3036	ν_{51}	1023	1005
ν_6		3036	ν_{52}		999
ν_7	3511	3030	ν_{53}	984	955
ν_8		3028	ν_{54}		949
ν_9	2876	2979	ν_{55}	920	926
ν_{10}		2961	ν_{56}		920
ν_{11}	3159	2939	ν_{57}	891	896
ν_{12}		2915	ν_{58}		895
ν_{13}	3143	2865	ν_{59}	838	888
ν_{14}		2844	ν_{60}		881
ν_{15}	3057	2644	ν_{61}	791	789
ν_{16}		2640	ν_{62}		784
ν_{17}	1895	1704	ν_{63}	705	764
ν_{18}		1699	ν_{64}		760
ν_{19}	1858	1693	ν_{65}	638	728
ν_{20}		1692	ν_{66}		701
ν_{21}	1761	1658	ν_{67}	572	662
ν_{22}		1657	ν_{68}		625
ν_{23}	1735	1651	ν_{69}	546	594
ν_{24}		1641	ν_{70}		590
ν_{25}	1697	1586	ν_{71}	466	569
ν_{26}		1570	ν_{72}		568
ν_{27}	1556	1514	ν_{73}	367	539
ν_{28}		1511	ν_{74}		538
ν_{29}	1517	1464	ν_{75}	356	500
ν_{30}		1459	ν_{76}		467
ν_{31}	1475	1424	ν_{77}	417	462
ν_{32}		1418	ν_{78}		452
ν_{33}	1476	1414	ν_{79}	264	343
ν_{34}		1403	ν_{80}		342
ν_{35}	1409	1351	ν_{81}	211	256
ν_{36}		1347	ν_{82}		249
ν_{37}	1400	1344	ν_{83}	174	241
ν_{38}		1340	ν_{84}		226
ν_{39}	1351	1301	ν_{85}	106	219
ν_{40}		1293	ν_{86}		207
ν_{41}	1317	1266	ν_{87}	83	183
ν_{42}		1262	ν_{88}		175
ν_{43}	1222	1193	ν_{89}	48	158
ν_{44}		1181	ν_{90}		155
ν_{45}	1181	1179			
ν_{46}		1178			

^a : numerazione arbitraria.

^b : struttura ottimizzata a livello HF/6-311++G**.

^c : struttura ottimizzata a livello B3LYP-D2 con basis set di tipo double- ζ e approccio periodico. Frequenze armoniche corrette sulla base delle correzioni anarmoniche ottenute per la molecola in fase gas.

Tabella 6.4: Numeri d'onda e intensità relative delle bande individuate nello spettro infrarosso.

Sper. ^a (cm ⁻¹)	Int. ^b	Sper. ^a (cm ⁻¹)	Int. ^b	Sper. ^a (cm ⁻¹)	Int. ^b
3360	s	1424	m	848	m
3064	s	1399	s	776	w
2941	s	1356	s	764	m
2840	s	1336	s	753	m
2709	s	1262	w	717	w
2655	s	1248	s	682	m
2603	s	1168	m	658	m
2558	s	1151	m	633	m
2479	m	1113	w	583	m
2086	m	1072	w	539	m
1676	s	984	m	452	m
1647	s	943	w	413	m
1612	s	896	w	335	vw
1581	m	878	m	227	vw
1499	s				

^a : numerazione arbitraria.

^b : intensità relativa. s: strong; m: medium; w: weak; vw: very weak.

L'assegnazione delle bande è stata effettuata sulla base sia delle frequenze sia delle intensità. I dati ottenuti dal calcolo, benché le intensità siano state calcolate a livello armonico, sono in buono accordo con quelli sperimentali. In particolare, considerando le coppie di modi normali $\nu_{11}-\nu_{12}$, $\nu_{13}-\nu_{14}$, $\nu_{59}-\nu_{60}$, $\nu_{63}-\nu_{64}$ e $\nu_{67}-\nu_{68}$, per le quali le intensità di entrambe le transizioni sono significative, si ha che sono visibili due picchi anche nello spettro sperimentale. Invece, le coppie $\nu_{35}-\nu_{36}$, $\nu_{39}-\nu_{40}$ e $\nu_{49}-\nu_{50}$, che in base alle intensità teoriche dovrebbero dare due assorbimenti di intensità paragonabile, nello spettro sperimentale danno un'unica banda. Poiché le due frequenze cadono molto vicine non si ha la possibilità di risolvere i due assorbimenti. La coppia $\nu_{55}-\nu_{56}$, che in base alle intensità calcolate dovrebbe dare due picchi, non è visibile nello spettro sperimentale, probabilmente perché coperta dalla banda a 943 cm^{-1} . La coppia di vibrazioni fondamentali $\nu_{15}-\nu_{16}$, a cui corrisponde un'intensità calcolata molto bassa, si presenta invece nello spettro sperimentale come una banda di intensità media. Quest'incongruenza potrebbe essere dovuta al fatto che per le intensità sono stati considerati i valori armonici e che i calcoli non simulano eventuali effetti di risonanza. Il motivo potrebbe inoltre essere dovuto al basis set adottato: nella simulazione delle intensità vibrazionali, risulta vantaggiosa l'inclusione dei funzioni diffuse e polarizzanti, che consentono una maggiore distorsione delle nuvole elettroniche. Purtroppo nel contesto dell'approccio periodico tali funzioni rischiano di compromettere la convergenza della procedura SCF.

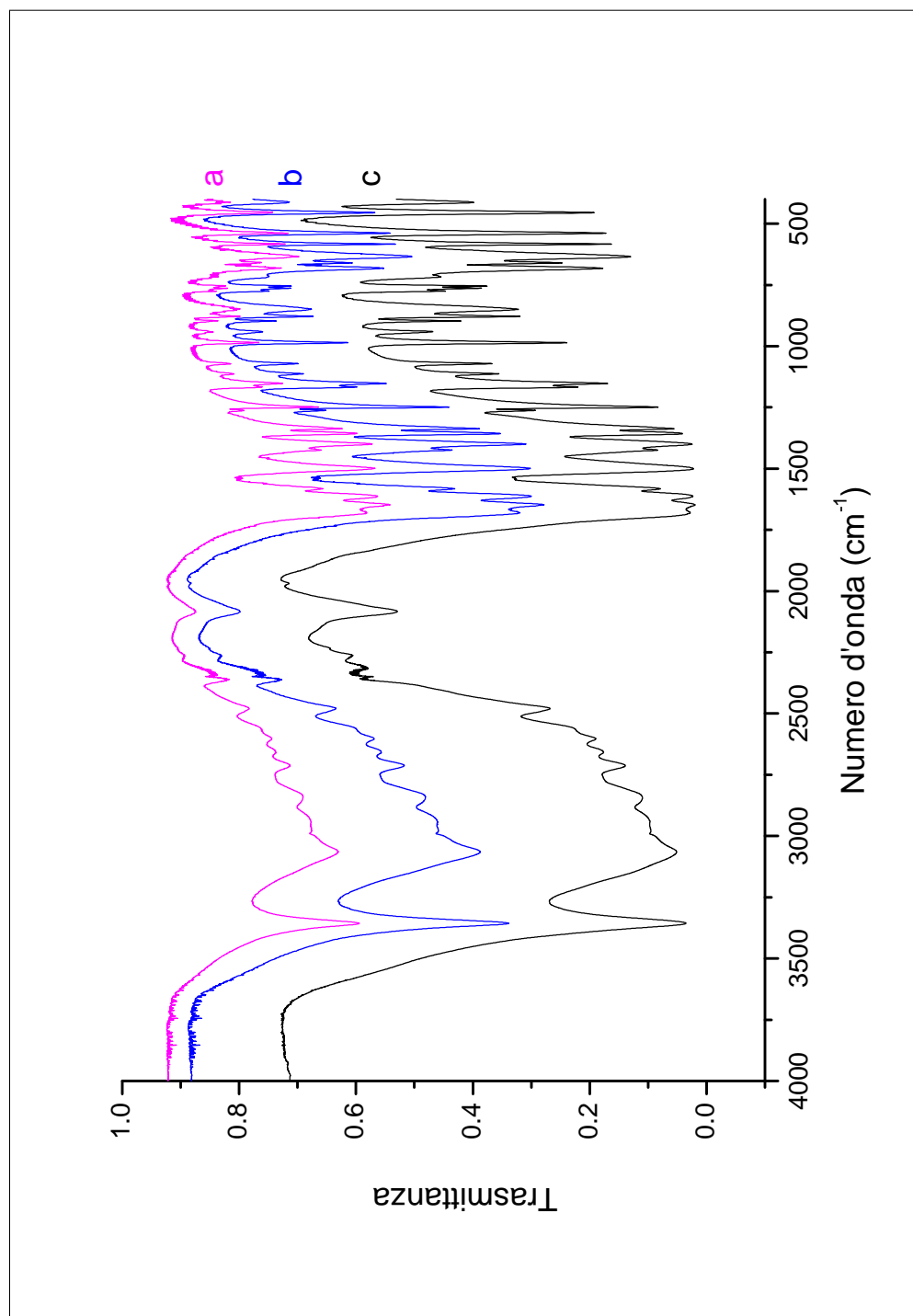


Figura 6.3: Spettro infrarosso dell'L-Asparagina cristallina tra 400 e 4000 cm^{-1} a: 0.5 mg di L-Asparagina in 200 mg di KBr; b: 1.0 mg di L-Asparagina in 200 mg di KBr; c: 1.5 mg di L-Asparagina in 200 mg di KBr.

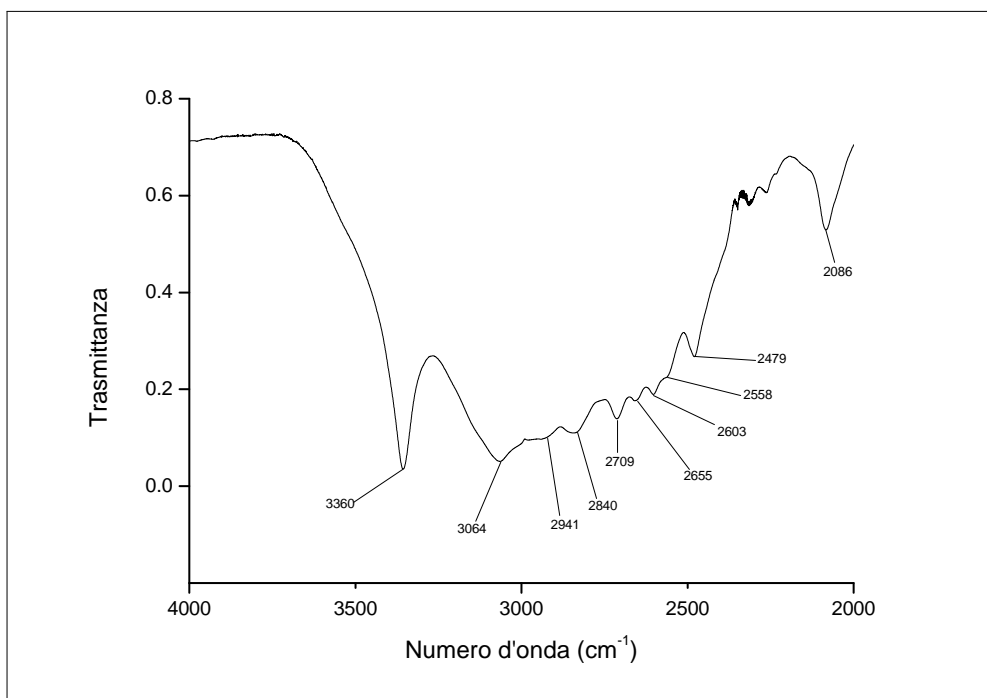


Figura 6.4: Spettro infrarosso dell'L-Asparagina cristallina (1.5 mg) tra 4000 e 2000 cm^{-1} .

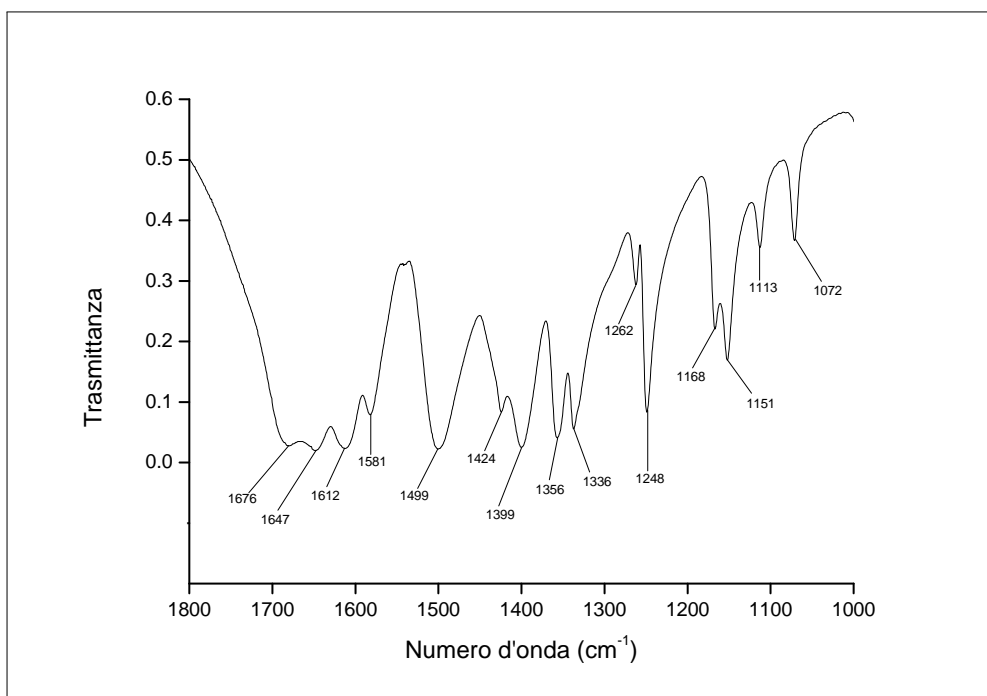


Figura 6.5: Spettro infrarosso dell'L-Asparagina cristallina (1.5 mg) tra 1800 e 1000 cm^{-1} .

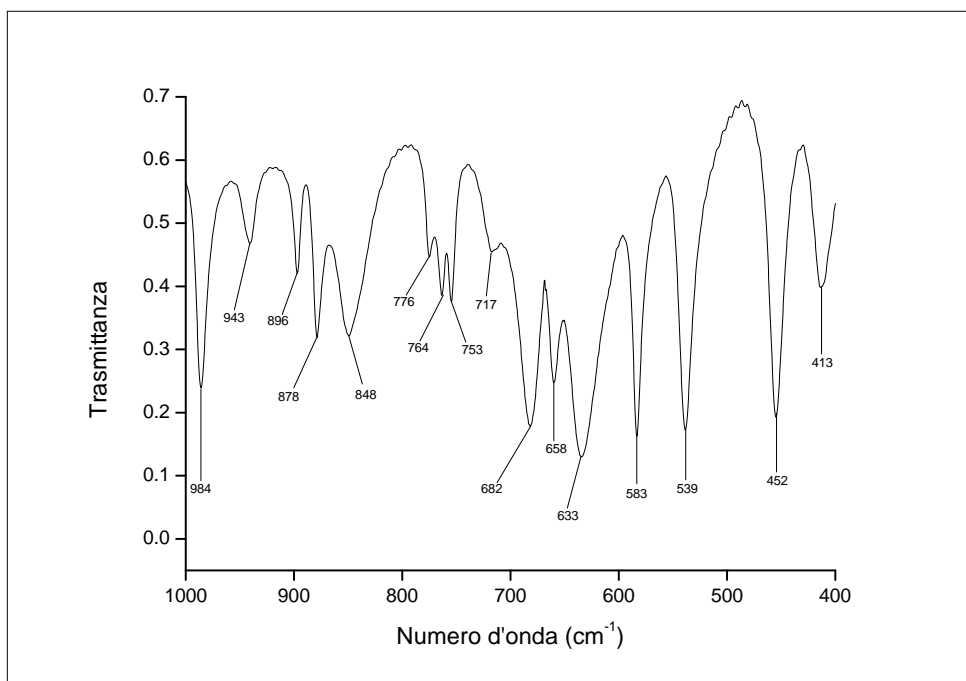


Figura 6.6: Spettro infrarosso dell'L-Asparagina cristallina (1.5 mg) tra 1000 e 400 cm^{-1} .

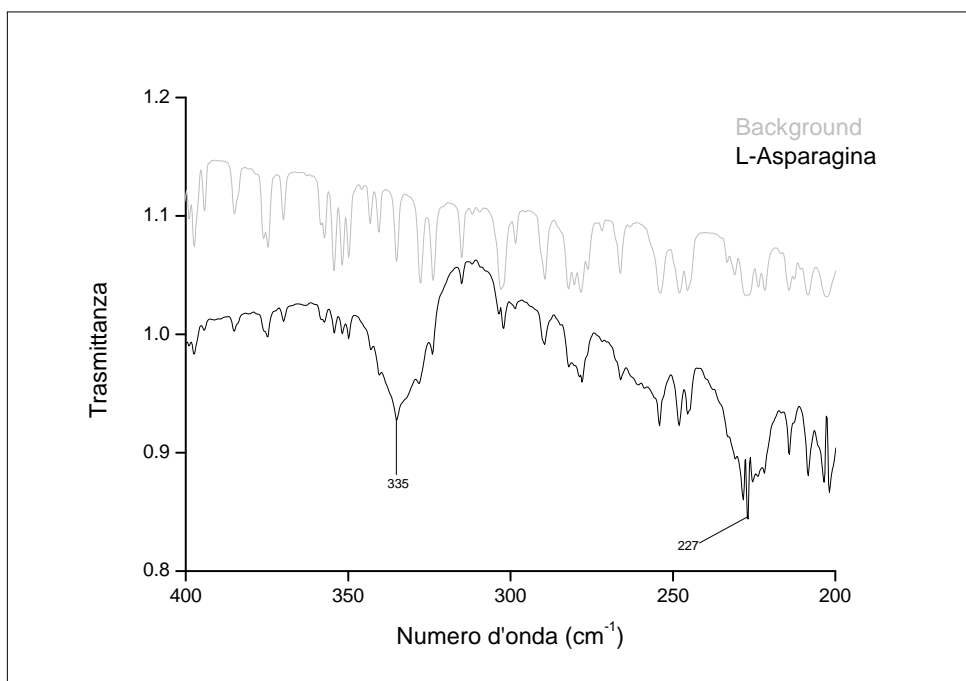


Figura 6.7: Spettro infrarosso dell'L-Asparagina cristallina tra 200 e 400 cm^{-1} . È stato riportato anche il background (in unità arbitrarie) per permettere l'individuazione degli assorbimenti relativi all'L-Asparagina.

Relativamente alle frequenze di transizione è possibile notare un soddisfacente accordo tra i valori calcolati e quelli sperimentali, in particolare per quanto riguarda la regione spettrale al di sotto dei 1800 cm^{-1} , per la quale si hanno deviazioni intorno a 17 cm^{-1} e al massimo pari a 46 cm^{-1} . Per contro, scostamenti significativi (fino a 286 cm^{-1}) si osservano per le vibrazioni fondamentali $\nu_5 - \nu_{16}$. Queste differenze potrebbero essere dovute al fatto che i modi normali implicati coinvolgono moti di stretching e di bending N-H e C-H, alcuni dei quali sono coinvolti nella formazione dei legami a idrogeno intermolecolari. Tali moti presentano in generale notevoli effetti di anarmonicità, difficili da simulare quantitativamente a livello DFT, e il fatto che le frequenze calcolate siano significativamente maggiori di quelle sperimentali è in accordo con tale ipotesi.

Tabella 6.5: Confronto tra le frequenze di vibrazione dell’L-Asparagina cristallina calcolate per il sistema periodico e quelle sperimentali.

M. n. ^a	Calc. ^b (cm^{-1})	Sper. ^c (cm^{-1})	Sper.-Calc. ^d (cm^{-1})	M. n. ^a	Calc. ^b (cm^{-1})	Sper. ^c (cm^{-1})	Sper.-Calc. ^d (cm^{-1})
ν_1	3307	3360	53	ν_{46}	1178	1151	-27
ν_2	3302	3360	58	ν_{47}	1133	1113	-20
ν_3	3067	3064	-3	ν_{48}	1132	1113	-19
ν_4	3058	3064	6	ν_{49}	1062	1072	10
ν_5	3036	2941	-95	ν_{50}	1056	1072	16
ν_6	3036	2941	-95	ν_{51}	1005	984	-21
ν_7	3030	2941	-89	ν_{52}	999	984	-15
ν_8	3028	2941	-87	ν_{53}	955	943	-12
ν_9	2979	2840	-139	ν_{54}	949	943	-6
ν_{10}	2961	2840	-121	ν_{55}	926		
ν_{11}	2939	2709	-230	ν_{56}	920		
ν_{12}	2915	2655	-260	ν_{57}	896	896	0
ν_{13}	2865	2603	-262	ν_{58}	895	896	1
ν_{14}	2844	2558	-286	ν_{59}	888	878	-10
ν_{15}	2644	2479	-165	ν_{60}	881	848	-33
ν_{16}	2640	2479	-161	ν_{61}	789	776	-13
ν_{17}	1704	1676	-28	ν_{62}	784	776	-8
ν_{18}	1699	1676	-23	ν_{63}	764	764	0
ν_{19}	1693	1647	-46	ν_{64}	760	753	-7
ν_{20}	1692	1647	-45	ν_{65}	728	717	-11
ν_{21}	1658	1612	-46	ν_{66}	701	682	-19
ν_{22}	1657	1612	-45	ν_{67}	662	658	-4
ν_{23}	1651	1612	-39	ν_{68}	625	633	8
ν_{24}	1641	1612	-29	ν_{69}	594	583	-11
ν_{25}	1586	1581	-5	ν_{70}	590	583	-7
ν_{26}	1570	1581	11	ν_{71}	569		
ν_{27}	1514	1499	-15	ν_{72}	568		
ν_{28}	1511	1499	-12	ν_{73}	539	539	0
ν_{29}	1464	1424	-40	ν_{74}	538	539	1
ν_{30}	1459	1424	-35	ν_{75}	500		
ν_{31}	1424	1399	-25	ν_{76}	467	452	-15
ν_{32}	1418	1399	-19	ν_{77}	462	452	-10
ν_{33}	1414	1399	-15	ν_{78}	452	413	-39
ν_{34}	1403	1399	-4	ν_{79}	343	335	-8
ν_{35}	1351	1356	5	ν_{80}	342	335	-7
ν_{36}	1347	1356	9	ν_{81}	256		
ν_{37}	1344	1336	-8	ν_{82}	249		
ν_{38}	1340	1336	-4	ν_{83}	241		
ν_{39}	1301	1262	-39	ν_{84}	226	227	1
ν_{40}	1293	1262	-31	ν_{85}	219		
ν_{41}	1266	1248	-18	ν_{86}	207		
ν_{42}	1262	1248	-14	ν_{87}	183		
ν_{43}	1193	1168	-25	ν_{88}	175		
ν_{44}	1181	1168	-13	ν_{89}	158		
ν_{45}	1179	1151	-28	ν_{90}	155		

^a: modo normale.

^b: frequenza calcolata a livello B3LYP-D2 con approccio periodico.

^c: frequenza sperimentale.

^d: differenza tra il valore sperimentale e quello calcolato.

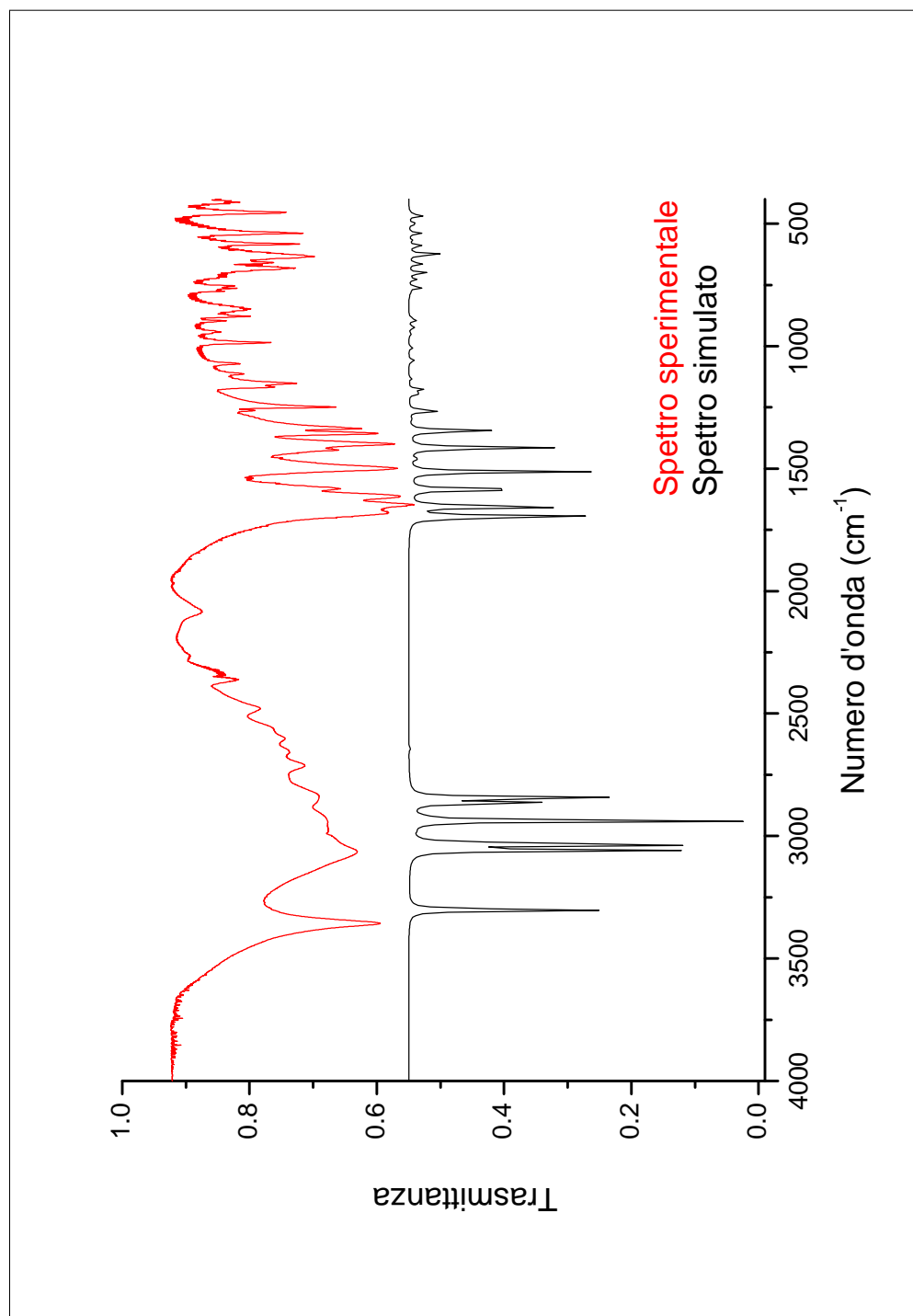


Figura 6.8: Confronto tra lo spettro infrarosso sperimentale e quello simulato a livello B3LYP-D2 con approccio periodico dell'L-Asparagina tra 4000 e 400 cm⁻¹. Per facilitare il confronto, lo spettro simulato è stato traslato verso il basso.

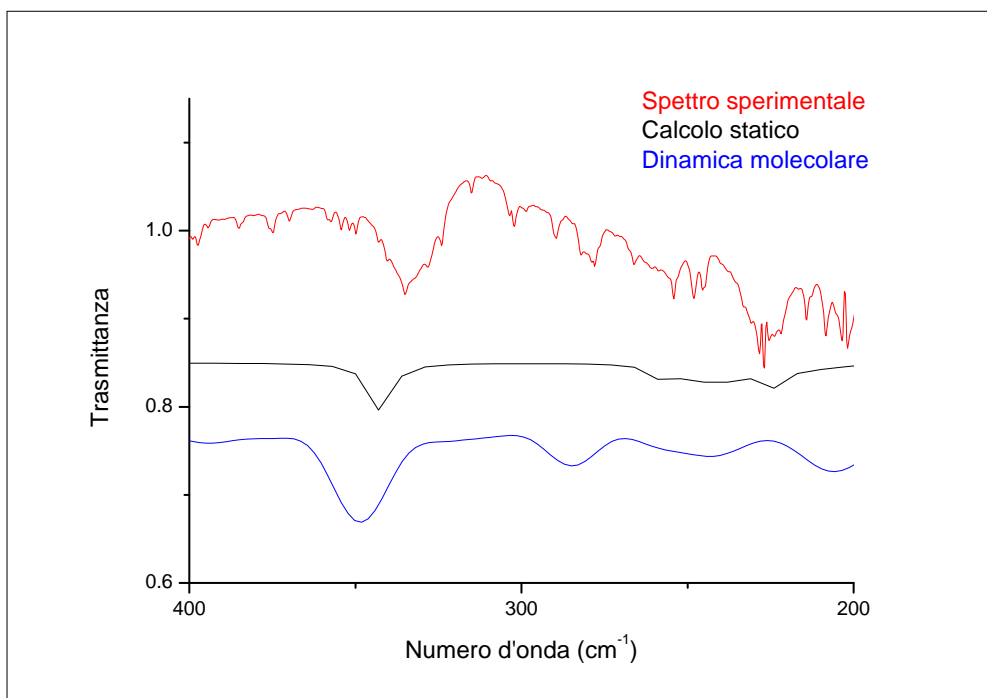


Figura 6.9: Confronto tra lo spettro sperimentale e quelli simulati, a livello B3LYP-D2 con approccio periodico e a livello BLYP-D3 con la dinamica molecolare, dell’L-Asparagina solida tra 400 e 200 cm^{-1} . Per facilitare il confronto, gli spettri simulati sono stati traslati verso il basso.

6.4.3 Dinamica molecolare

I dati della simulazione di dinamica molecolare sono stati analizzati con il software TRAVIS. Lo spettro infrarosso è stato simulato attraverso l’utilizzo dei centri di Wannier, calcolati con il software CP2K per ogni step della simulazione. Per l’L-Asparagina solida non è stato possibile effettuare l’analisi dei modi normali poiché la funzione normal coordinates analysis di TRAVIS non prevede come geometrie di riferimento sistemi composti da più di una molecola. Il confronto con i dati sperimentali è stato quindi effettuato sulla base delle posizioni delle bande presenti nello spettro simulato, riportato nelle figure 6.9 e 6.10, per quanto riguarda rispettivamente le regioni del FIR e del MIR. La tabella 6.6 riporta le frequenze di vibrazione misurate nello spettro registrato sperimentalmente e quelle misurate nello spettro simulato.

Dal confronto emerge che anche per l’L-Asparagina allo stato solido le simulazioni di dinamica molecolare permettono di ottenere risultati in ottimo accordo con i dati sperimentali. Considerando lo spettro simulato in termini di posizione, intensità e

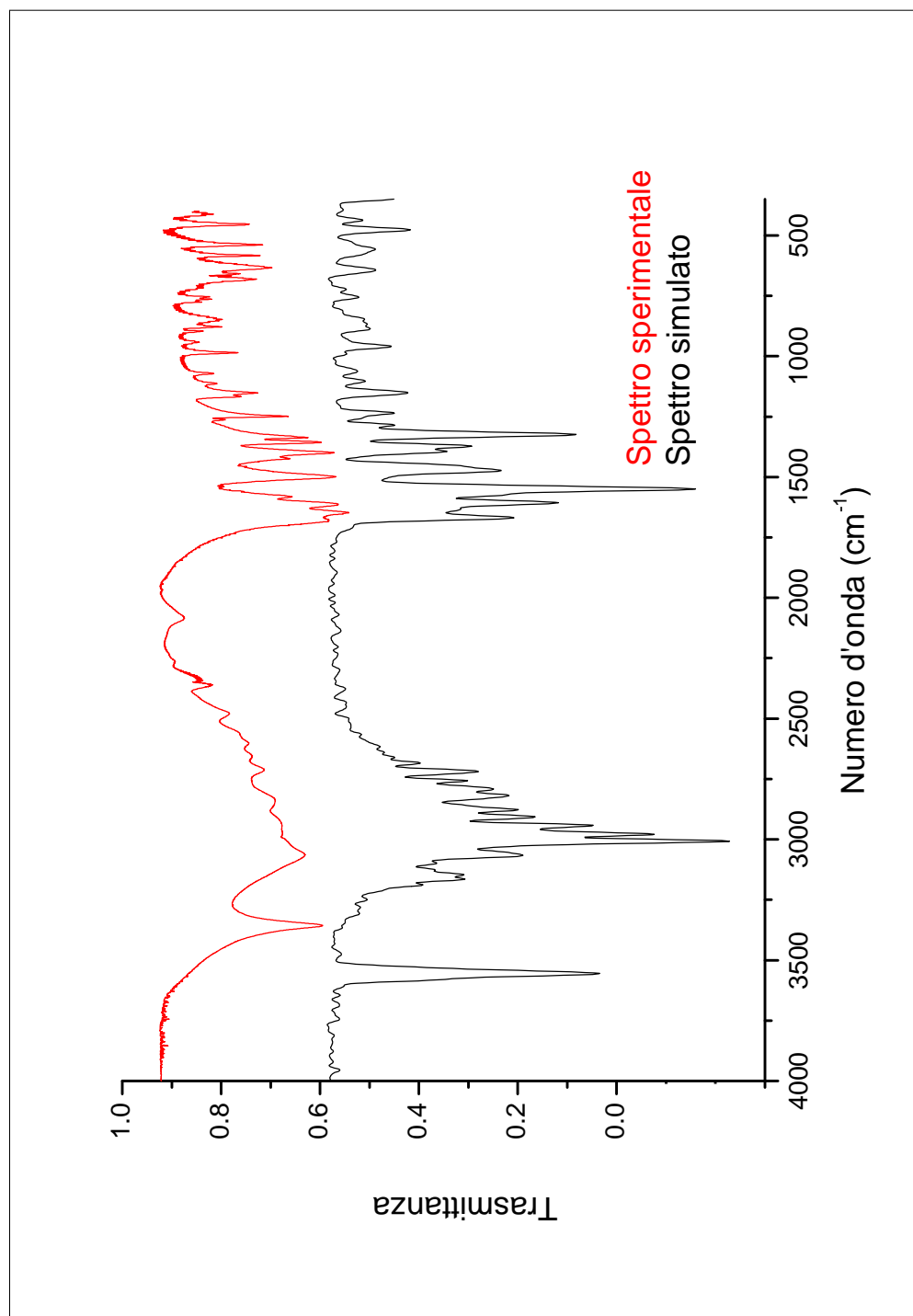


Figura 6.10: Confronto tra lo spettro sperimentale e quello simulato con la dinamica molecolare dell'L-Asparagina solida tra 4000 e 4000 cm⁻¹. Per facilitare il confronto, lo spettro simulato è stato traslato verso il basso.

Tabella 6.6: Frequenze vibrazionali dell’L-Asparagina solida misurate sullo spettro infrarosso sperimentale e su quello simulato tramite dinamica molecolare.

Sper. ^a (cm ⁻¹)	MD ^b (cm ⁻¹)	Sper.-MD ^c (cm ⁻¹)	Sper. ^a (cm ⁻¹)	MD ^b (cm ⁻¹)	Sper.-MD ^c (cm ⁻¹)
3360	3554	-194	1151	1150	1
3064	3007	57	1113	1103	10
2941	2942	-1	1072	1061	11
2840	2907	-67	984	959	25
2709	2819	-110	943	947	-4
2655	2793	-138	896	888	8
2603	2757	-154	878	867	11
2558	2719	-161	848	847	1
2479	2683	-204	776	755	21
2086			764	755	9
1679	1669	10	753	723	30
1647	1606	41	717	696	21
1612	1549	63	682	643	39
1581	1549	32	658	643	15
1499	1474	25	633	557	76
1424	1384	40	583	557	26
1399	1372	27	539	557	-18
1356	1323	33	452	476	-24
1336	1285	51	413	438	-25
1262			335	348	-13
1248	1236	12	227	206	21

^a : massimo misurato sullo spettro sperimentale.

^b : massimo misurato sullo spettro simulato mediante dinamica molecolare.

^c : differenza tra il valore sperimentale e quello calcolato.

forma delle bande, è evidente che i risultati delle simulazioni di dinamica molecolare sono in maggiore accordo con quelli sperimentali rispetto a quanto ottenuto con l’approccio statico. Infatti, dalle tabelle 6.5 e 6.6 si nota che le differenze tra i numeri d’onda sperimentali e quelli calcolati sono più contenute nel caso della simulazione di dinamica molecolare, attestandosi attorno ai 46 cm⁻¹. Le deviazioni più significative si hanno per i modi normali ν_{11} - ν_{15} , che comparivano tra quelli maggiormente affetti da errore anche nell’approccio statico.

Per quanto riguarda la dinamica molecolare la vibrazione fondamentale ν_1 , corrispondente allo stretching N-H, è sovrastimata di quasi 200 cm⁻¹. Anche in questo caso tali deviazioni possono essere imputabili all’elevata anarmonicità del potenziale in corrispondenza delle vibrazioni che coinvolgono stretching e bending N-H e C-H.

Come per i calcoli quanto-meccanici statici, la banda di combinazione a 2086 cm⁻¹ non è presente nello spettro calcolato poiché le simulazioni di dinamica molecolare permettono di includere alcuni effetti di anarmonicità ma non i sovratoni, le bande calde e le bande di combinazione.

Capitolo 7

Conclusioni

Il lavoro svolto nella presente tesi ha permesso un'approfondita analisi vibrazionale dell'L-Asparagina, sia in soluzione acquosa sia allo stato solido cristallino. I risultati ottenuti apportano un significativo miglioramento ai dati presenti in letteratura.

L'utilizzo per la prima volta dei metodi di dinamica molecolare *ab initio* applicati alla molecola in soluzione acquosa ha consentito una migliore comprensione dello spettro Raman, grazie alla possibilità di distinguere i singoli assorbimenti ascrivibili alle vibrazioni fondamentali e la struttura con cui essi appaiono nello spettro. L'utilizzo dei modelli di solvatazione statici implicito, esplicito e misto non si è invece dimostrato particolarmente adeguato per la descrizione del sistema considerato. Dei tre approcci, quello implicito basato sul PCM si è dimostrato il meno soddisfacente, in quanto, come atteso, non è in grado di simulare gli effetti dovuti a interazioni direzionali, come i legami a idrogeno. L'inclusione esplicita di alcune molecole di solvente, seppure in numero esiguo, ha permesso di ottenere risultati in maggiore accordo con il dato sperimentale, sia per quanto riguarda l'approccio puramente esplicito sia per quello misto.

Anche per quanto riguarda l'L-Asparagina allo stato solido sono stati utilizzati per la prima volta i metodi di AIMD, e come per il caso della molecola in soluzione i risultati ottenuti sono stati molto soddisfacenti, in termini di accordo generale dello spettro infrarosso simulato con quello registrato sperimentalmente. Sempre in relazione alla molecola solida, attraverso i calcoli statici periodici a livello DFT è stata effettuata un'assegnazione più razionale di quella presente in letteratura, poiché è stata condotta sulla base di tutti i modi normali di vibrazione della cella elementare del cristallo.

Oltre all'indagine dettagliata delle caratteristiche vibrazionali e strutturali dell'amminoacido, il presente lavoro ha anche permesso di valutare l'applicabilità e la validità dei metodi di AIMD. In particolare, considerando la soluzione acquosa di L-

Asparagina come modello per un sistema biologico, si è potuto constatare che l'AIMD permette simulazioni in ottimo accordo con i dati sperimentali, poiché permette di includere alcuni effetti dovuti all'anarmonicità del potenziale e di simulare allargamento e struttura delle bande derivanti dal moto conformazionale delle molecole.

Il confronto di diverse tecniche per la simulazione di una molecola in soluzione acquosa ha portato a concludere che si rivela necessario un approccio di tipo esplicito, almeno parzialmente, nell'ambito del quale le tecniche di AIMD forniscono risultati indubbiamente migliori. Per quanto riguarda l'applicazione dell'AIMD per lo stato solido, l'accordo dello spettro simulato con quello sperimentale consente di concludere che anche in questo caso l'approccio dinamico si rivela migliore rispetto ai metodi statici. I risultati ottenuti permettono quindi di affermare il successo dell'utilizzo delle tecniche di dinamica molecolare *ab initio*, per lo studio sia di sistemi polari in soluzione acquosa sia di sistemi cristallini.

Appendice A

Principali unità atomiche

Proprietà	Unità atomica	Equivalente SI
Massa	m_e , massa di un elettrone	$9.1094 \times 10^{-31} \text{kg}$
Carica	e , carica elementare	$1.6022 \times 10^{-19} \text{C}$
Momento angolare	\hbar	$1.0546 \times 10^{-34} \text{J s}$
Lunghezza	$a_0 = \frac{4\pi\epsilon_0\hbar^2}{m_e e^2}$, raggio di Bohr	$5.2918 \times 10^{-11} \text{m}$
Energia	$E_h = \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 a_0} = \frac{m_e e^4}{16\pi^2 \epsilon_0^2 \hbar^2}$, Hartree	$4.3597 \times 10^{-18} \text{J}$
Permettività	$4\pi\epsilon_0$	$1.1127 \times 10^{-10} \text{C}^2 \text{J}^{-1} \text{m}^{-1}$

Appendice B

Strutture dell'L-Asparagina· $n\text{H}_2\text{O}$ ($n = 1 - 4$) ottenute per il modello di solvatazione esplicito

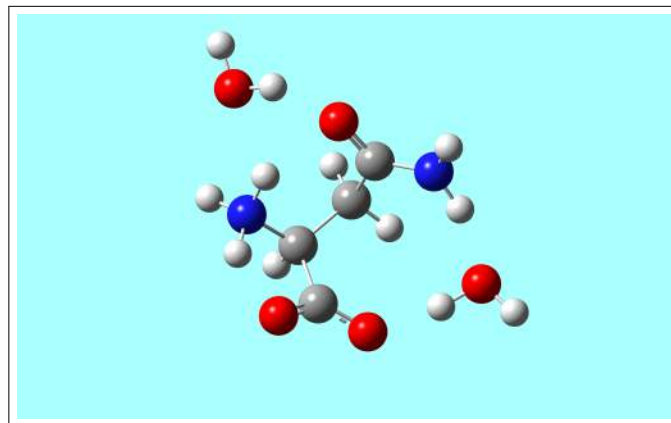


Figura B.2: Struttura dell'L-Asparagina·2H₂O ottimizzata a livello PBE0/SNSD.

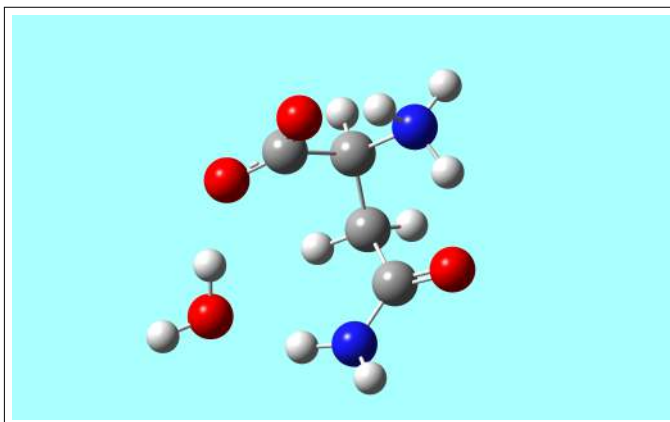


Figura B.1: Struttura dell'L-Asparagina·H₂O ottimizzata a livello PBE0/SNSD.

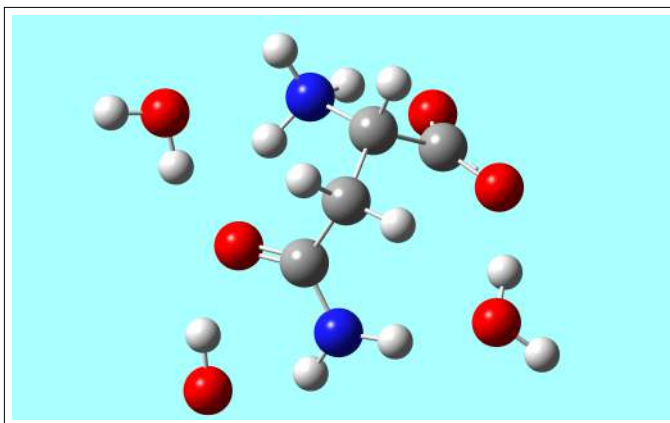


Figura B.3: Struttura dell'L-Asparagina·3H₂O ottimizzata a livello PBE0/SNSD.

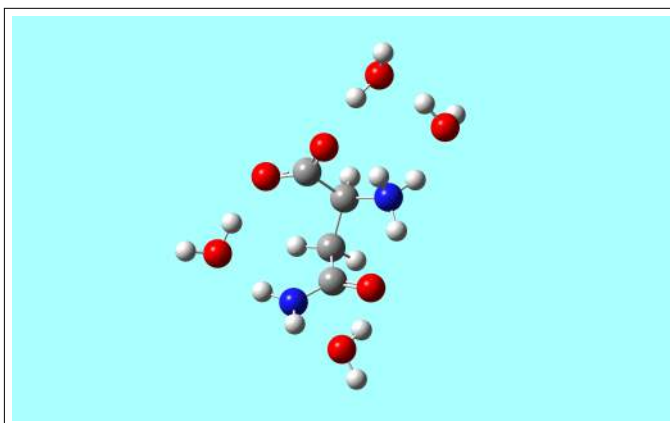


Figura B.4: Struttura dell'L-Asparagina·4H₂O ottimizzata a livello PBE0/SNSD.

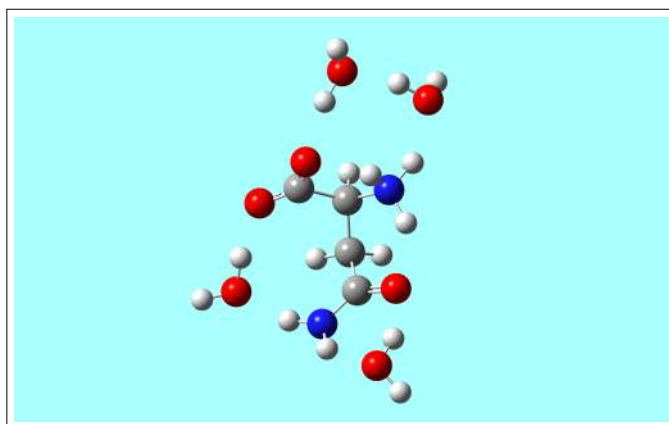


Figura B.5: Struttura dell'L-Asparagina·4H₂O ottimizzata a livello PBE0-D3/SNSD.

Bibliografia

- [1] A. Barth, *Biochim. Biophys. Acta*, 2007, **1767**, 1073.
- [2] D. M. Byler, H. Susi, *Biopolymers*, 1986, **25**, 469.
- [3] K. Cieřlik-Boczula, B. Czarnik-Matuszewicz, M. Perevozkina, A. Filarowski, N. Boens, W. M. De Borggraeve, A. Koll, *J. Mol. Struct.*, 2007, **878**, 162.
- [4] A. Murawska, K. Cieřlik-Boczula, B. Czarnik-Matuszewicz, *J. Mol. Struct.*, 2010, **974**, 183.
- [5] K. Murayama, Y. Wu, B. Czarnik-Matuszewicz, Y. Ozaki, Y., *J. Phys. Chem. B*, 2001, **105**, 4763.
- [6] J. Szwed, K. Cieřlik-Boczula, B. Czarnik-Matuszewicz, A. Jaszczyszyn, K. Gasiorowski, P. Świątek, W. Malinka, *J. Mol. Struct.*, 2010, **974**, 192.
- [7] L. Szyc, S. Pilorz, B. Czarnik-Matuszewicz, *J. Mol. Liq.*, 2008, **141**, 155.
- [8] M. Wolpert, P. Hellwig, *Spectrochim. Acta A*, 2006, **64**, 987.
- [9] Y. Wu, K. Murayama, B. Czarnik-Matuszewicz, Y. Ozaki, *Appl. Spectrosc.*, 2002, **56**, 1186.
- [10] N. Kausar, B. D. Alexander, T. J. Dines, R. Withnall, B. Z. Chowdhry, *J. Raman Spectrosc.*, 2009, **40**, 670.
- [11] H. A. A. Medien, *Spectrochim. Acta A*, 1998, **54**, 359.
- [12] S. Olsztyńska-Janus, M. Gasior-Głogowska, K. Szymborska-Małek, B. Czarnik-Matuszewicz and M. Komorowska, (2011). *Specific Applications of Vibrational Spectroscopy in Biomedical Engineering*, in *Biomedical Engineering, Trends, Research and Technologies*, Dr. Sylwia Olsztyńska (Ed.), ISBN: 978-953-307-514-3, InTech, Available

from: <http://www.intechopen.com/books/biomedicalengineering-trends-research-and-technologies/specific-applications-of-vibrational-spectroscopy-in-biomedicalengineering>.

- [13] A. Pawlukojć, J. Leciejewicz, J. Tomkinson, S. F. Parker, *Spectrochim. Acta Part A*, 2002, **58**, 2897.
- [14] M. Chitra, S. M. Sharma, S. Karmakar, S. K. Sikka, *Physica B*, 2003, **339**, 23.
- [15] S. Shigeto, D. D. Dlott, *Chem. Phys. Lett.*, 2007, **447**, 134.
- [16] P. Carloni, U. Roethlisberger, M. Parrinello, *Acc. Chem. Res.*, 2002, **35**, 455.
- [17] M. Sprik, J. Hutter, M. Parrinello, *J. Chem. Phys.*, 1996, **105**, 142.
- [18] P. L. Silvestrelli, M. Bernasconi, M. Parrinello, *Chem. Phys. Lett.*, 1997, **277**, 478.
- [19] M. Bernasconi, P. L. Silvestrelli, M. Parrinello. *Phys. Rev. Lett.*, 1998, **81**, 1235.
- [20] A. Putrino, M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.*, 2002, **88**, 176401.
- [21] L. A. Eriksson, *Theoretical Biochemistry - Processes and Properties of Biological Systems*, Department of Quantum Chemistry, Uppsala University, Box 518, 751 20 Uppsala, Sweden.
- [22] Z. W. Zhu, M. E. Tuckerman, *J. Phys. Chem. B*, 2002, **106**, 8009.
- [23] M. P. Gaigeot, M. Sprik, *J. Phys. Chem. B*, 2003, **107**, 10344.
- [24] M. Pagliai, G. Cardini, R. Righini, V. Schettino, *J. Chem. Phys.*, 2003, **119**, 6655.
- [25] A. Putrino, D. Sebastiani, M. Parrinello, *J. Chem. Phys.*, 2002, **113**, 7102.
- [26] L. N. Vauquelin, P. J. Robiquet, *Ann. Chim.*, 1806, **57**, 88.
- [27] P. Lund, *Nitrogen Metabolism in Mammalian*, Applied Science, Barking, 1981.
- [28] K. Yamada, D. Hashizume, T. Shimizu, S. Yokoyama, *Acta Cryst.*, 2007, **E63**, o3802.
- [29] A. Pawlukojć, K. Hołderna-Natkaniec, G. Bator, I. Natkaniec, *Vib. Spectrosc.*, 2014, **72**, 1.

- [30] J. Casado, J. T. López Navarrete, F. J. Ramírez, *J. Raman Spectrosc.*, 1995, **26**, 1003.
- [31] J. Casado, F. J. Ramírez, J. T. López Navarrete, *J. Mol. Struct.*, 1995, **349**, 57.
- [32] J. Casado, J. T. López Navarrete, F. J. Ramírez, *Spectrochim. Acta Part A*, 1995, **51**, 2347.
- [33] B. Boeckx, G. Maes, *Biophys. Chem.*, 2012, **165**, 62.
- [34] J. T. López Navarrete, J. Casado, V. Hernández, F. J. Ramírez, *J. Raman Spectrosc.*, 1997, **28**, 501.
- [35] M. Chen, Z. Huang, Z. Lin, *J. Mol. Struct.: THEOCHEM*, 2005, **719**, 153.
- [36] J. T. López Navarrete, J. Casado, V. Hernández, F. J. Ramírez, *Theor. Chem. Acc.*, 1997, **98**, 5.
- [37] D. L. Nelson, Michael M. Cox, *I principi di Biochimica di Lehninger*, III ed., Zanichelli, Bologna, 2002.
- [38] G. C. Barrett, D. T. Elmore, *Amino Acids and Peptides*, Cambridge University Press, 2004.
- [39] R. K. Murray, D. K. Granner, P. A. Mayes, V. W. Rodwell, *Harper's Illustrated Biochemistry*, XXVI ed., Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2003.
- [40] L. G. Wade Jr, *Organic Chemistry*, VIII ed., Prentice Hall, 2013.
- [41] F. A. Jenkins, H. E. White, *Fundamentals of Optics*, IV ed., McGraw-Hill, 1976.
- [42] I. N. Levine, *Physical Chemistry*, VI ed., McGraw-Hill, 2009.
- [43] G. M. Barrow, *Introduction to Molecular Spectroscopy*, McGraw-Hill, 1962.
- [44] P. W. Atkins, J. De Paula, *Chimica fisica*, Zanichelli, Bologna, 2004.
- [45] J. M. Hollas, *High Resolution Spectroscopy*, II ed., Wiley, 1998.
- [46] J. M. Hollas, *Modern Spectroscopy*, IV ed., Wiley, 1987.
- [47] G. Herzberg, *Molecular Spectra and Molecular Structure. II. Infrared and Raman Spectra of Polyatomic Molecules*, Krieger Publishing Company, Malabar, 1945.

- [48] S. F. Boys, *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 1950, **200**, 542.
- [49] L. H. Thomas, *Proc. Cambridge Phil. Soc.*, 1927, **23**, 524.
- [50] E. Fermi, *Rend. Accad. Naz. Lincei*, 1927, **6**, 602.
- [51] F. Bloch, *Z. Physik*, 1929, **57**, 545.
- [52] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, 1993, **98**, 1372.
- [53] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B*, 1988, **37**, 785.
- [54] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, 1993, **98**, 5648.
- [55] J. P. Perdew, in *Electronic Structure of Solids*, Ed. P. Ziesche and H. Eschrig, Akademie Verlag, Berlin, 1991.
- [56] P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, M. J. Frisch, *J. Phys. Chem.*, 1994, **98**, 11623.
- [57] C. Adamo, V. Barone, *J. Chem. Phys.*, 1999, **110**, 6158.
- [58] W. Kohn, L. J. Sham, *Phys. Rev. A*, 1965, **140**, 1133.
- [59] R. G. Parr, W. Yang, *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*, Oxford University Press, Oxford, 1989.
- [60] P. Hobza, J. Spöner, T. J. Reschel, *Comput. Chem.*, 1995, **11**, 1315.
- [61] S. Kristyan, P. Pulay, *Chem. Phys. Lett.*, 1994, **229**, 175.
- [62] W. Kutzelnigg, *Einführung in die Theoretische Chemie: Band 2, Die chemische Bindung*, Verlag Chemie, Weinheim, 1978.
- [63] U. Zimmerli, M. Parrinello, P. Koumoutsakos, *J. Chem. Phys.*, 2004, **120**, 2693.
- [64] Q. Wu, W. Yang, *J. Chem. Phys.*, 2002, **116**, 515.
- [65] X. Wu, M. C. Vargas, S. Nayak, V. Lotrich, G. Scoles, *J. Chem. Phys.*, 2001, **115**, 8748.
- [66] N. Tasinato, S. Grimme, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, **17**, 5659.
- [67] S. Grimme, *J. Comput. Chem.*, 2004, **25**, 1464.

- [68] B. Zou, K. Dreger, C. Mük-Lichtenfeld, S. Grimme, H. J. Schäfer, H. Fuchs, L. Chi, *Langmuir*, 2005, **21**, 1364.
- [69] M. Piacenza, S. Grimme, *Chem. Phys. Chem.* 2005, **6**, 1554.
- [70] M. Parac, M. Etinski, M. Peric, S. Grimme, *J. Chem. Theory Comput.*, 2005, **1**, 1110.
- [71] M. Piacenza, S. Grimme, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 14841.
- [72] S. Grimme, *J. Comput. Chem.*, 2006, **27**, 1788.
- [73] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg, *J. Chem. Phys.*, 2010, **132**, 154104.
- [74] J. Gräfenstein, D. Cremer, *J. Chem. Phys.*, 2009, **130**, 124105.
- [75] N. E. Schultz, Y. Zhao, D. G. Truhlar, *J. Phys. Chem. A*, 2005, **109**, 11127.
- [76] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg, *J. Chem. Phys.*, 2010, **132**, 154104.
- [77] S. Grimme, *J. Comput. Chem.*, 2004, **25**, 1463.
- [78] S. Grimme, *J. Comput. Chem.*, 2006, **27**, 1787.
- [79] S. Grimme, S. Ehrlich, L. Görigk. *J. Comput. Chem.*, 2011, **32**, 1456.
- [80] A. D. Becke, E. R. Johnson, *J. Chem. Phys.*, 2005, **122**, 154101.
- [81] E. R. Johnson, A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, 2005, **123**, 024101.
- [82] E. R. Johnson, A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, 2006, **124**, 174104.
- [83] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.*, 1988, **37**, 785.
- [84] C. Dellago, P. G. Bolhuis, D. Chandler, *J. Chem. Phys.*, 1999, **110**, 6617.
- [85] M. Born, K. Huang, *Dynamical Theory of Crystal Lattices*, Claredon Press, Oxford, 1988.
- [86] W. Kutzelnigg, *Molecular Physics*, 1997, **90**, 909.
- [87] R. D. King-Smith, D. Vanderbilt, *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.*, 1993, **47**, 1651.
- [88] R. Resta, *Rev. Mod. Phys.*, 1994, **66**, 899.

- [89] N. Marzari, D. Vanderbilt, *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.*, 1997, **56**, 12847.
- [90] P. L. Silvestrelli, M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.*, 1999, **82**, 3308.
- [91] P. L. Silvestrelli, M. Parrinello, *J. Chem. Phys.*, 1999, **111**, 3572.
- [92] B. Kirchner, J. Hutter, *J. Chem. Phys.*, 2004, **121**, 5133.
- [93] M. Thomas, M. Brehm, R. Fligg, P. Vöhringer, B. Kirchner, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2013, **15**, 6608.
- [94] S. Miertus, E. Scrocco, J. Tomasi, *Chem. Phys.*, 1981, **55**, 117.
- [95] T. Engel, P. Reid, *Physical Chemistry*, Prentice Hall, 2006.
- [96] C. J. Cramer, *Essential of Computational Chemistry*, II ed., Wiley, 2004.
- [97] J. B. Foresman, Æ. Frisch, *Exploring Chemistry with Gaussian*, II ed., Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, 1993.
- [98] D. Marx, J. Hutter, *Ab Initio Molecular Dynamics: basic theory and advanced methods*, Cambridge University Press, 2009.
- [99] C. Cohen-Tannoudji, B. Diu, F. Laloe, *Quantum Mechanics, Volume 2*, Wiley, New-York, 1991.
- [100] Gaussian 09, Revision D.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, O. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2013.
- [101] G. Lippert, J. Hutter, M. Parrinello, *Theor. Chem. Acc.*, 1999, **103**, 124.

- [102] <http://www.cp2k.org> (Consultato a febbraio 2015).
- [103] I. Carnimeo, C. Puzzarini, N. Tasinato, P. Stoppa, A. Pietropoli Charmet, M. Biczysko, C. Cappelli, V. Barone, *J. Chem. Phys.*, 2013, **139**, 074310.
- [104] J. J. Verbist, M. S. Lehmann, T. F. Koetzle, W. C. Hamilton, *Acta Cryst.*, 1972, **B28**, 3006.
- [105] V. Barone, M. Biczysko, J. Bloino, M. Borkowska - Panek, I. Carnimeo, P. Panek, *Int. J. Quantum Chem.*, 2012, **112**, 2185.
- [106] J. VandeVondele, M. Krack, F. Mohamed, M. Parrinello, T. Chassaing, J. Hutter, *Comput. Phys. Commun.*, 2005, **167**, 103.
- [107] J. VandeVondele, J. Hutter, *J. Chem. Phys.*, 2007, **127**, 114105.
- [108] S. Goedecker, M. Teter, J. Hutter, *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.*, 1996, **54**, 1703.
- [109] C. Hartwigsen, S. Goedecker, G. Hutter, *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.*, 1998, **58**, 3641.
- [110] M. Krack, *Theor. Chem. Acc.*, 2005, **114**, 145.
- [111] S. Nosé, *J. Chem. Phys.*, 1984, **81**, 511.
- [112] S. Nosé, *Mol. Phys.*, 1984, **52**, 255.
- [113] G. J. Martyna, M. L. Klein, M. Tuckerman, *J. Chem. Phys.*, 1992, **97**, 2635.
- [114] M. Brehm, B. Kirchner, *J. Chem. Inf. Model.*, 2011, **51**, 2007.
- [115] M. Thomas, M. Brehm, R. Fligg, P. Vöhringerb, B. Kirchner, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2013, **15**, 6608.
- [116] D. Frenkel, B. Smit, *Understanding Molecular Simulation from Algorithms to Simulations*, Elsevier, 1996, pp. 529–532.
- [117] W. D. Allen, A. G. Czaszar, *J. Chem. Phys.*, 1993, **98**, 2983.
- [118] R. Dovesi, V. R. Saunders, C. Roetti, R. Orlando, C. M. Zicovich-Wilson, F. Pascale, B. Civalleri, K. Doll, N. M. Harrison, I. J. Bush, P. D’Arco, M. Llunell, *CRYSTAL14 User’s Manual*, University of Torino, Torino, 2014.

- [119] R. Dennington, T. Keith, J. Millam, *GaussView, Version 5*, Semichem Inc., Shawnee Mission, KS, 2009.
- [120] R. Dovesi, M. Causà, R. Orlando, C. Roetti, V. R. Saunders, *J. Chem. Phys.*, 1990, **92**, 7402.
- [121] C. Gatti, V. R. Saunders, C. Roetti, *J. Chem. Phys.*, 1994, **101**, 10686.
- [122] R. Dovesi, E. Ermondi, E. Ferrero, C. Pisani, C. Roetti, *Phys. Rev. B*, 1983, **29**, 3591.

Ringraziamenti

Innanzitutto voglio ringraziare Nicola, per tutto quello che mi ha insegnato, per il tempo che mi ha dedicato, per la (santa!) pazienza e per l'aiuto fondamentale che mi ha dato nella realizzazione di questo lavoro.

Ringrazio il Professor Paolo Stoppa e il gruppo di Spettroscopia Molecolare e Chimica Computazionale del Dipartimento di Scienze Molecolari e Nanosistemi dell'Università Ca' Foscari Venezia.

Ringrazio il Consorzio Interuniversitario CINECA per le risorse hardware e software nell'ambito del progetto NIB3 (Non-covalent Interactions in Biomolecular Building Blocks, codice HP10CGDAVH).

Ringrazio la Professoressa Paola Taddei per la disponibilità e la competenza.

Ringrazio il Professor Alberto Gambi per la collaborazione.

Infine, un particolare ringraziamento al Professor Santi Giorgianni, per l'insostituibile supporto morale durante questi mesi di tirocinio.