



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Simulacions de propietats vibracionals. Aplicació a aminoàcids.

Joan Lliteras i Bauzà

Grau de Química

Any acadèmic 2016-17

DNI de l'alumne: 41539587T

Treball tutelat per Joan Frau Munar
Departament de Química

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

Autor		Tutor	
Sí	No	Sí	No
X		X	

Paraules clau del treball:

Gaussian 09, M06-2X, 6-31+G(d,p), Valina, Metionina, Histidina, dissolució aquosa, molècules explícites d'aigua.

Índex

1. Resum.....	5
2. Introducció.....	6
3. Objectius.....	9
4. Metodologia.....	10
5. Resultats.....	12
5.1. <i>Benchmark</i>	12
5.2. Aminoàcids.....	19
5.2.1. Valina.....	19
5.2.2. Metionina.....	22
5.2.3. Histidina.....	23
6. Conclusions	26
7. Bibliografia.....	27

1. Resum

En el següent treball de final de grau es pretén analitzar la precisió de les freqüències vibracionals obtingudes a partir de simulacions teòriques respecte a les freqüències experimentals. Amb aquest objectiu es realitzarà un estudi comparatiu per determinar quina combinació entre funcionals de densitat i bases és la més efectiva i menys costosa computacionalment per assolir l'objectiu proposat. Així, es farà prèviament un *benchmark* amb molècules senzilles i els funcionals SVWN5, BP86, MPWB95, B3LYP i M06-2X amb conjunció amb les bases 6-31G, 6-31G(d,p), 6-31+G(d,p) i 6-311+G(2df,p).

Els resultats obtinguts mostren com la millor combinació es dona entre els funcionals M06-2X i la base 6-31+G(d,p), i aquesta serà la combinació metodològica que s'usarà per l'estudi de les freqüències vibracionals de tres aminoàcids, la Valina, la Metionina i la Histidina. Els càlculs estan realitzats en fase gas, amb un mètode continuu que representa el dissolvent, com el SMD, i amb 5 molècules explícites d'aigua. La forma zwitteriònica és la que s'ha considerat pels aminoàcids degut a que aquesta és la forma predominant a pH=7. D'ells es pot extreure la necessitat de considerar un model en continuu del dissolvent més molècules d'aigua explícites per reproduir els modes de vibració i els valors de les freqüències vibracionals corresponents.

2. Introducció

L'espectroscòpia vibracional constitueix una eina de considerable eficàcia per a la determinació d'estructures moleculars i per el coneixement de les seves dinàmiques. Els sistemes moleculars es troben en constant moviment i les vibracions moleculars són molt sensibles a les interaccions inter i intramoleculars (enllaços d'hidrogen, interaccions de stacking, etc.), i per tant els espectres vibracionals obtinguts poden ser molt útils per obtenir les característiques conformacionals dels sistemes moleculars.

La Química Computacional és una branca de la Química, la qual estudia els problemes químics a nivell microscòpic utilitzant les equacions de la Mecànica Quàntica (que permet caracteritzar l'estructura electrònica dels àtoms i de les molècules) i de la Mecànica Estadística (que permet obtenir propietats macroscòpiques a partir dels constituents microscòpics).

Els mètodes teòrics constitueixen, per tant, una eina complementària per a la determinació de les freqüències vibracionals i dels modes normals de vibració associats. La determinació de les freqüències teòriques de vibració requereix prèviament de l'optimització de la molècula. L'avaluació de les segones derivades de l'energia respecte a totes les coordenades atòmiques, matriu Hessiana, permet la determinació de les freqüències vibracionals suposant moviments harmònics. Les freqüències s'obtenen a partir dels valors propis d'aquesta matriu fent us de la equació (1), on $k_{f,i}$ representa la constant de força i m_i la massa associada a cada mode normal de vibració.

$$\nu = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k_{f,i}}{m_i}} \quad (1)$$

Si els valors propis són tots positius, llavors les freqüències són totes reals, i el punt estacionari és un mínim local. Si un valor propi és negatiu, significa que hi ha alguna freqüència imaginària, i per tant el punt estacionari és un estat de transició.

Diversos *benchmarks* s'han publicat sobre la capacitat dels mètodes teòrics de predicció de freqüències vibracionals en molècules petites [Sousa 2007] [Zhao 2005] [Zhao 2008a] [Goerigk 2011] [Zhao 2011] [Bras 2011]. De fet, molècules com el formaldehid i l'aigua han estat molt ben reproduïdes fent us de càlculs d'elevat nivell [Martin 1994] [Feller 2009]. Així i tot, la metodologia *Coupled Cluster* utilitzada a aquests treballs implica temps de càlcul prohibitius per a molècules més grosses i per tant és necessari tenir metodologies de càlcul menys costoses però suficientment precises per abordar amb garanties la determinació de les freqüències vibracionals.

Els aminoàcids, com a molècules essencials per a la vida, constitueixen un conjunt de molècules molt estudiades. Entendre les seves propietats és important per poder analitzar les estructures i les funcions de sistemes biològics més complexos com els sistemes polipeptídics i les proteïnes. En fase gas, la forma predominant dels aminoàcids és la neutra ($\text{NH}_2\text{-CHR-COOH}$), on R representa la cadena lateral que els distingeix. Estudis realitzats en fase gas d'algunes estructures d'aminoàcids proporcionen una visió de les seves propietats intrínseques que poden proporcionar referències per estudiar les molècules d'aminoàcids en la forma zwitteriònica ($\text{NH}_3^+\text{-CHR-COO}^-$).

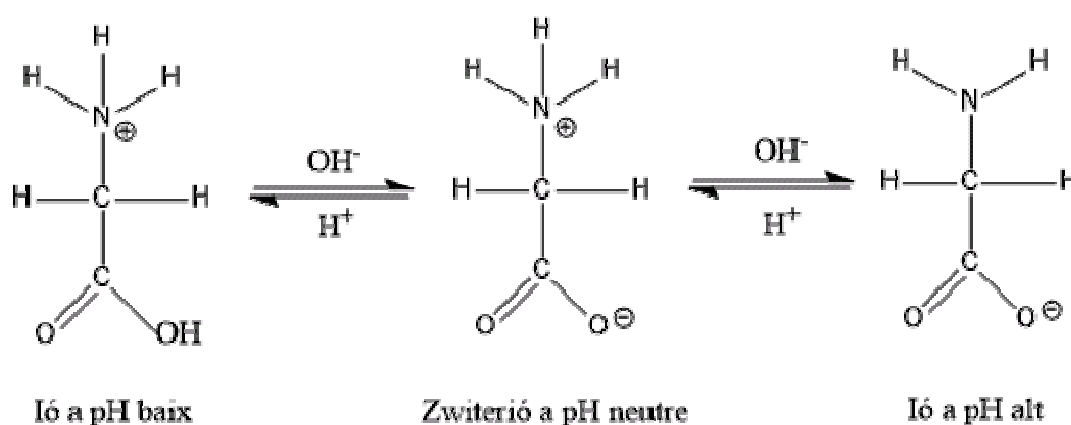


Figura 1: Formes de l'aminoàcid segons el seu pH.

Com s'ha indicat anteriorment, l'espectroscòpia vibracional constitueix una poderosa eina per analitzar l'estructura dinàmica de les biomolècules basada en els moviments moleculars i per proporcionar informació molt valuosa sobre l'estructura secundària de

pèptids i proteïnes en dissolució aquosa mitjançant l'anàlisi de les regions espectrals denominades amida I, II, III, ..., les quals són sensibles als moviments de l'esquelet peptídic. Per aquestes raons, l'espectroscòpia IR s'ha convertit en una tècnica important per l'estudi dels aminoàcids tant en fase gas com en fase aquosa [Ganesan 2013]. Degut a la facilitat per determinar teòricament les freqüències vibracionals, els mètodes teòrics constitueixen per tant una eina complementària, útil i efectiva per la seva determinació.

El coneixement de les millors combinacions de mètodes teòrics i bases per la determinació de les freqüències vibracionals d'aminoàcids és per tant l'objectiu fonamental d'aquest treball.

Per dur endavant aquesta tasca es varen seleccionar algunes molècules petites i representatives per determinar quin mètode i quines bases eren les més adequades per fer el càlcul de freqüències. Posteriorment, aquest funcional s'utilitzarà per determinar les freqüències vibracionals de tres aminoàcids d'especial interès com són la Valina, la Metionina i la Histidina. La Valina i la Metionina són aminoàcids essencials que l'organisme no pot sintetitzar, i que per tant han de ser aportats per la dieta. La Valina és un aminoàcid indispensable per a la formació de teixits, la regeneració muscular i la cicatrització. D'altra banda, la Metionina té un alt contingut en sofre, beneficiós per un correcte manteniment d'alguns teixits com les ungles, la pell o els cabells. També és imprescindible per sintetitzar dos aminoàcids, la Cisteïna i la Taurina. El caràcter hidrofòbic d'aquests dos aminoàcids és una de les propietats fonamentals que determina l'estructura de les proteïnes. Per la seva part, la Histidina és un aminoàcid essencial en nins i no essencial a l'edat adulta, ja que l'organisme el pot sintetitzar a partir d'altres aminoàcids, però la majoria s'ingereix normalment a partir de l'alimentació. És un precursor de la histamina, amb propietats per desencadenar reaccions d'al·lèrgia responsables dels processos inflamatoris i de la resposta urticària de la pell.

La determinació de les freqüències vibracionals d'aquests aminoàcids introdueix un factor addicional a considerar que és la llibertat conformacional d'aquests compostos que influirà sobre els valors quantitius dels modes de vibració.

3. Objectius

El principal objectiu d'aquesta memòria és poder determinar quina combinació de funcional de la densitat i de bases és la més adequada en la determinació de les freqüències vibracionals d'aminoàcids.

Aquest objectiu es concreta amb tres subobjectius:

- La determinació dels nodes normals de vibració d'un conjunt petit de molècules amb diferents combinacions i la seva comparació amb els resultats experimentals.
- L'aplicació d'aquesta metodologia a tres aminoàcids, la Valina, la Metionina i la Histidina, i poder racionalitzar els efectes de la conformació sobre els valors de les freqüències vibracionals associades als modes normals de vibració.
- L'estudi de l'efecte de les molècules d'aigua explícites en la determinació de les freqüències vibracionals.

4. Metodologia

La optimització de les estructures i el càlcul de les freqüències vibracionals s'ha realitzat mitjançant el programa Gaussian 09. Les freqüències vibracionals de tres molècules petites i representatives, com l'àcid acètic, el t-dicloroetè, i el formaldehid, s'han calculat mitjançant la Teoria del Funcional de la Densitat (DFT). La combinació de funcionals i bases inclou els funcionals SVWN5 [Vosko 1980], BP86 [Becke 1998], MPWB95 [Perdew 1991] [Adamo 1998] [Becke 1996], B3LYP [Becke 1998] [Lee 1988] i M06-2X [Zhao 2008b]; i les bases 6-31G, 6-31G(d,p), 6-31+G(d,p) i 6-311+G(2df,p). Totes les estructures estudiades en fase gas s'han caracteritzat com a mínims energètics i no presenten cap freqüència imaginària.

La millor combinació de funcional i base fou utilitzada per estudiar els modes de vibració de tres aminoàcids, la Valina, la Metionina i la Histidina en la seva forma predominant a pH fisiològic. Per tant, considerem les formes zwitteriòniques de la Valina, de la Metionina i de la Histidina amb el grup àcid desprotonat i la amina protonada. En el cas de la Histidina, la cadena lateral té un pKa de 6,04 i en aquest treball considerarem la forma protonada de l'anell d'imidazol.

Aquestes estructures es caracteritzen per una llibertat conformacional que afecta als valors de les freqüències obtingudes. Per aquest motiu es va realitzar un anàlisi conformacional dels tres aminoàcids a partir de simulacions de Dinàmica Molecular amb el programa Gromacs 4.6.5 i el camp de força Amber03, tant en fase gas com en dissolució. El protocol per la realització de les dinàmiques moleculars en fase gas consistí en neutralitzar la càrrega positiva de la Histidina amb ions clorur i realitzar una minimització amb l'algoritme '*steepest descent*', una fase d'equilibració de 200 ps i posteriorment 5 ns de producció en un '*ensemble*' NVT.

En el cas de les simulacions en fase aquosa, l'aminoàcid es va introduir dins una capsula dodecaèdrica de molècules d'aigua amb una distància de 10 Å entre l'aminoàcid i el límit de la capsula i es va omplir amb aigües TIP3P, donant 372, 501 i 480 molècules d'aigua per la Valina, la Metionina i la Histidina, respectivament. Posteriorment, es va realitzar una

minimització amb l'algoritme '*steepest descent*', una fase d'equilibració NVT de 200 ps, una segona equilibració de 200 ps NPT i finalment 5 ns de producció en un '*ensemble*' NPT.

En totes les simulacions, el '*time step*' va ser de 2 fs. La temperatura es va mantenir a 310 K usant un termòstat de reescalament de velocitats i un baròstat de Parrinello-Rahman, a l'equilibració NPT. Les interaccions de van der Waals es varen determinar amb un potencial de Lennard-Jones amb un cutoff de 10 Å, i es varen emprar condicions periòdiques (PBC) a totes les simulacions.

Les estructures obtingudes a partir d'un anàlisi de clúster, amb un cutoff de 0,075 nm, de les trajectòries generades a les simulacions de Dinàmica Molecular varen ser optimitzades i caracteritzades amb el programa Gaussian 09 usant un dissolvent en continu tipus SMD, sense considerar cap molècula de aigua explícita o bé considerant cinc molècules d'aigua pròximes als grups ionitzables.

5. Resultats

5.1 Benchmark

En aquest treball el primer que es va fer va ser un *benchmark* amb molècules senzilles, i amb diferents mètodes de càlcul i diverses bases per determinar quin és el mètode més adient per utilitzar en la determinació de les freqüències vibracionals, per després fer els càlculs dels aminoàcids amb el mètode obtingut en aquest apartat.

En cap moment es tractava de fer un anàlisi exhaustiu, per aquest exercici es poden revisar les referències esmentades anteriorment, sinó un petit estudi amb molècules petites sense llibertat conformacional i amb grups funcionals molt representatius.

Les molècules proposades han estat l'àcid acètic, el formaldehid i el t-dicloroetè. Per altra part, s'han considerat cinc funcionals, SVWN5, BP86, MPWB95, B3LYP i M06-2X. El primer d'aquests funcionals és del tipus *Local Spin Density Approximation* (LSDA), el segon *Generalized Gradient Approximation* (GGA), el tercer és un meta-GGA (m-GGA), el quart és un híbrid-GGA (h-GGA), i finalment un híbrid meta-GGA (hm-GGA). Aquests funcionals, entre d'altres coses, es diferencien en l'aproximació usada per determinar el potencial d'intercanvi-correlació. El valor del % HF varia des de 0 %, pels tres primers funcionals, 20 % per B3LYP, i 54 % per M06-2X. Diferents bases s'han utilitzat amb els funcionals anteriors que van des de no considerar funcions polaritzades ni difuses (6-31G) fins una triple zeta tipus 6-311+G(2df,p).

Les freqüències de vibració obtingudes amb els mètodes de càlcul es multipliquen per un factor corrector que té el seu origen en que les diferents metodologies de càlcul no incorporen per complet la correlació electrònica, excepte quan es realitza una interacció de configuracions completa, i a que la superfície d'energia potencial no és harmònica. L'estimació d'aquests factors d'escalament a partir de l'anàlisi de les vibracions fonamentals de nombrosos compostos és una tasca molt tediosa. Per aquest motiu, en algunes ocasions els factors d'escalament per determinades combinacions de mètode i base no estan disponibles i s'ha de fer ús de valors aproximats amb bases semblants. D'altra banda, en general s'utilitza un únic factor d'escalament per totes les vibracions, encara que

aproximacions més sofisticades fan us de factors d'escalament per vibracions d'alta freqüència i per vibracions de baixa freqüència, i inclús per modes normals de vibració específics [Buczek 2011]. A la Taula 1 es mostren els factors d'escalament globals per les diferents combinacions de base i funcional usats a aquest treball.

Taula 1: Factors d'escalament per a cada combinació de funcional i base.

	B3LYP ^a	M06-2X	SVWN5 ^d	BP86	MPWB95 ^f
6-31G	0,9613	0,945 ^b	0,982	0,981 ^e	0,947
6-31G(d,p)	0,9608	0,947 ^b	0,984	0,981 ^e	0,952
6-31+G(d,p)	0,9648	0,9419 ^c	0,985	0,9939 ^a	0,952
6-311+G(2df,p)	0,9686	0,9444 ^c	0,990	0,9976 ^a	0,957

a) [Merrick 2007]

b) [NIST 2016]

c) [Merrick 2007]. Són valors del funcional M05-2X

d) [NIST 2016]. Són valors del funcional SVWN

e) [Irikura 2005]

f) [Zhao 2004]. Són valors del funcional MPW1B95

A les següents taules es mostren les freqüències vibracionals més intenses de l'àcid acètic (Taula 2) i del t-diclorete (Taula 3), i totes les freqüències del formaldehid (Taula 4) juntament amb les freqüències experimentals.

En tots els casos s'indica també la mitjana de totes les freqüències vibracionals i l'error màxim respecte al valor experimental. Pel càlcul de la mitjana s'ha considerat la mitjana de tots els valors absoluts de la diferència entre la freqüència experimental i la freqüència calculada, corregida pel factor d'escalament. Respecte a l'error màxim, un valor negatiu implica que la freqüència teòrica és inferior a la freqüència experimental.

Taula 2: Freqüències vibracionals (cm^{-1}) de l'àcid acètic en fase gas obtingudes amb els funcionals B3LYP, M06-2X, SVWN5, BP86 i MPWB95 i diferents bases. A totes les freqüències s'ha aplicat el factor d'escalament corresponent (Taula 1). Les sis freqüències considerades corresponen a la vibració de tensió OH (ν_1), la vibració de tensió del carbonil (ν_2), la vibració de deformació s del CH_3 (ν_3), la vibració de tensió del C-O (ν_4), la vibració de rocking del CH_3 (ν_5) i la vibració de deformació OCO (ν_6).

	Exp ^a	B3LYP				M06-2X			
		6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)	6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)
ν_1	3583	3561	3607	3623	3634	3488	3636	3613	3621
ν_2	1788	1775	1782	1758	1759	1714	1814	1775	1775
ν_3	1382	1346	1366	1364	1365	1385	1367	1351	1349
ν_4	1182	1165	1168	1162	1162	1137	1176	1159	1160
ν_5	989	945	963	966	968	979	961	955	958
ν_6	657	652	654	643	643	627	645	626	627
Mitjana		34	28	32	30	35	30	35	36
Error max		-133	-130	-127	-122	-129	-130	-130	-125

	Exp ^a	SVWN5				BP86			
		6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)	6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)
ν_1	3583	3419	3567	3570	3581	3396	3549	3598	3583
ν_2	1788	1724	1813	1774	1785	1670	1756	1748	1735
ν_3	1382	1368	1364	1349	1346	1372	1341	1351	1338
ν_4	1182	1119	1156	1146	1150	1118	1145	1150	1141
ν_5	989	961	940	942	943	954	941	953	946
ν_6	657	670	682	662	662	646	659	650	644
Mitjana		47	40	40	37	51	38	39	38
Error max		-164	-134	-129	-126	-187	-137	-128	-129

	Exp ^a	MPWB95			
		6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)
ν_1	3583	3262	3422	3437	3454
ν_2	1788	1613	1706	1675	1678
ν_3	1382	1319	1297	1287	1287
ν_4	1182	1073	1105	1095	1097
ν_5	989	915	908	908	910
ν_6	657	627	641	623	623
Mitjana		93	78	84	82
Error max		-321	-153	-149	-147

a) [NIST 2017]. Valors experimentals en fase gas

Els resultats obtinguts per l'àcid acètic (Taula 2) mostren que l'error en la determinació de les freqüències vibracionals és menor amb els funcionals B3LYP i M06-2X que en la resta de funcionals. Especialment, el MPWB95 dona uns resultats molt dolents. Respecte a la combinació funcional i base, es pot apreciar que, com era d'esperar, la inclusió de funcions polaritzades millora els resultats, en canvi les funcions difuses no tenen el mateix efecte. Encara que les diferències són minses, els millors resultats són els obtinguts amb els dos funcionals amb bases 6-31G(d,p). Un anàlisi en major profunditat mostra que la tensió de l'hidroxil és un dels modes de vibració que pitjor es reproduïx quantitativament, amb errors absoluts de l'ordre de 50 cm^{-1} per la combinació M06-2X/6-31G(d,p) o bé per B3LYP/6-311+G(2df,p). De qualsevol manera, les discrepàncies més significatives es troben amb els modes de vibració amb freqüències baixes i especialment la torsió C-O que es subestima per totes les combinacions de funcional i base.

En el cas del t-diclorete (Taula 3), els resultats globals obtinguts no mostren diferències molt significatives entre els funcionals, a excepció del MPWB95 que es manifesta i clarament inferior per a reproduir les freqüències del t-diclorete. Com a característica comuna dels quatre funcionals, els resultats obtinguts amb la base 6-31G són lleugerament pitjors, però la inclusió de funcions polaritzades i difuses no millora de forma apreciable els resultats. Així i tot, el B3LYP mostra errors superiors a freqüències elevades, de l'ordre de 40 cm^{-1} en les tensions C-H, mentre que en el M06-2X els majors errors es donen en les freqüències de menor valor. Curiosament, el SVWN5 té les majors discrepàncies en els valors de freqüències respecte a les experimentals en la zona intermèdia, de 900 a 1300 cm^{-1} que se corresponen amb la flexió C-H (ν_2) i la flexió fora del pla dels carbonis (ν_3).

Taula 3: Freqüències vibracionals (cm^{-1}) del t-diclorete en fase gas obtingudes amb el funcionals B3LYP, M06-2X SVWN5, BP86 i MPWB95 i diferents bases. A totes les freqüències s'ha aplicat el factor d'escalament (Taula 1). Les freqüències considerades corresponen a la tensió asimètrica C-H (ν_1), la flexió C-H (ν_2), la flexió fora del pla dels carbonis (ν_3), la tensió asimètrica C-Cl (ν_4) i la vibració d'esquelet (ν_5).

	Exp ^a	B3LYP				M06-2X			
		6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)	6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)
ν_1	3090	3156	3121	3127	3118	3115	3077	3057	3045
ν_2	1200	1184	1184	1189	1184	1177	1168	1161	1157
ν_3	900	912	897	893	905	927	902	890	900
ν_4	828	762	783	782	781	782	797	791	790
ν_5	250	217	229	230	230	211	218	217	220
Mitjana		42	22	23	23	32	24	27	29
Error max		95	48	56	47	63	47	-47	-45

	Exp ^a	SVWN5				BP86			
		6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)	6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)
ν_1	3090	3137	3099	3096	3089	3146	3102	3139	3130
ν_2	1200	1162	1151	1152	1143	1168	1164	1180	1170
ν_3	900	888	868	860	865	887	872	877	900
ν_4	828	778	835	832	841	752	783	789	792
ν_5	250	219	229	230	229	215	227	230	228
Mitjana		38	24	23	20	44	28	28	25
Error max		69	-51	-52	-57	-90	-45	69	58

	Exp. ^a	MPWB95			
		6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)
ν_1	3090	3041	3015	3009	3006
ν_2	1200	1122	1123	1123	1116
ν_3	900	852	843	834	841
ν_4	828	724	763	758	765
ν_5	250	205	218	218	215
Mitjana		62	56	59	61
Error max		-117	-78	-80	-102

a) [Shimanouchi 1972]. Valors experimentals en fase gas

Els resultats obtinguts amb les freqüències vibracionals del formaldehid són bastant discrepants, tant el B3LYP com el BP86 són els que donen millors resultats i a més es constata la necessitat d'emprar funcions polaritzades i difuses. Sorprenentment, els resultats globals i parcials obtinguts amb les diferents combinacions de bases i el funcional M06-2X no són excessivament bons i pitjors que el B3LYP.

Taula 4: Freqüències vibracionals (cm^{-1}) del formaldehid en fase gas obtingudes amb el funcionals B3LYP, M06-2X SVWN5, BP86 i MPWB95 i diferents bases. A totes les freqüències s'ha aplicat el factor d'escalament (Taula 1). Les freqüències considerades corresponen a la tensió asimètrica CH_2 (ν_1), la tensió simètrica CH_2 (ν_2), la tensió del carbonil (ν_3), la vibració de tisora del CH_2 (ν_4), la vibració de rocking CH_2 (ν_5) i la vibració wagging CH_2 (ν_6).

	Exp ^a	B3LYP				M06-2X			
		6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)	6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)
ν_1	2843	2917	2840	2873	2845	2937	2871	2898	2886
ν_2	2782	2848	2785	2810	2791	2860	2806	2828	2820
ν_3	1745	1681	1774	1755	1760	1691	1801	1787	1789
ν_4	1500	1500	1494	1483	1483	1487	1478	1470	1466
ν_5	1250	1225	1225	1218	1224	1216	1217	1212	1215
ν_6	1167	1157	1153	1152	1160	1156	1152	1152	1158
Mitjana		40	13	22	12	47	29	37	33
Error max		-74	28	-31	-25	94	55	55	43

	Exp ^a	SVWN5				BP86			
		6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)	6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)
ν_1	2843	2853	2787	2814	2794	2861	2780	2847	2822
ν_2	2782	2794	2741	2759	2744	2803	2740	2795	2776
ν_3	1745	1702	1806	1780	1790	1659	1751	1748	1752
ν_4	1500	1487	1467	1448	1444	1484	1477	1480	1476
ν_5	1250	1212	1205	1193	1199	1210	1209	1212	1216
ν_6	1167	1141	1128	1121	1128	1134	1129	1137	1144
Mitjana		24	45	40	46	36	35	18	19
Error max		-44	-60	-56	-56	-87	-63	-37	-33

	Exp ^a	MPWB5			
		6-31G	6-31G(d,p)	6-31+G(d,p)	6-311+G(2df,p)
v1	2843	2762	2703	2727	2707
v2	2782	2706	2661	2676	2662
v3	1745	1604	1703	1675	1680
v4	1500	1433	1432	1413	1413
v5	1250	1167	1170	1157	1163
v6	1167	1092	1091	1083	1092
Mitjana		87	92	93	95
Error max		-142	-140	-116	-136

a) [Nakanaga 1982]. Valors experimentals en fase gas

Una vegada obtinguts tots els resultats, podem observar quins són els mètodes que tenen més bons resultats i que són més fiables per poder fer els càlculs amb els aminoàcids seleccionats.

Els funcionals SVWN5, BP86 i MPWB95 donen resultats en general pitjors que la resta de funcionals. Aquests funcionals es caracteritzen per a que el valor del percentatge de HF és zero, per tant per obtenir bons resultats amb les freqüències vibracionals és necessari considerar-ho. Entre els dos funcionals restants, els resultats obtinguts són molt semblants. En general, els millors resultats s'obtenen amb la combinació dels funcionals M06-2X i B3LYP amb les bases 6-31G(d,p) i 6-31+G(d,p). La diferència entre elles és mínima, però com els càlculs dels aminoàcids es faran a pH fisiològic, i per tant considerant les espècies zwitteriòniques, escollirem la base 6-31+G(d,p) que incorpora funcions difuses més adients per l'estudi d'espècies aniòniques. Al considerar una base triple zeta i amb més funcions polaritzades, 6-311+(2df,p), els resultats obtinguts són similars o lleugerament millors, però no lo considerarem a estudis posteriors degut a que l'increment de temps computacional és molt elevat respecte de la millora dels valors de les freqüències vibracionals.

5.2. Aminoàcids

Una vegada seleccionat el mètode i les bases per poder fer l'optimització i el càlcul de freqüències dels aminoàcids, com la Valina, la Metionina i la Histidina, hem de considerar un aspecte que és les diferents possibles conformacions d'aquests aminoàcids. Les molècules d'un sistema a una temperatura es troben en moviment variant la seva disposició tridimensional segons la seva flexibilitat conformacional.

A partir de simulacions de Dinàmica Molecular, amb les condicions descrites a l'apartat de Metodologia, podem determinar els clústers més poblats i la seva energia. Aquest estudi es fa en fase gas i també considerant un nombre suficientment elevat de molècules d'aigua explícites. Les estructures corresponents als clústers de mínima energia en fase gas seran posteriorment optimitzades amb el mètode M06-2X i la base 6-31+G(d,p). Respecte als clústers de mínima energia amb una capsula de molècules d'aigua, seran optimitzats també amb el funcional M06-2X i la base 6-31+G(d,p) considerant un dissolvent continuu SMD sense molècules explícites d'aigua, i també considerant el dissolvent continuu amb cinc molècules d'aigua obtingudes de l'estructura dels clústers de Dinàmica Molecular. Tots els càlculs són realitzats amb la forma zwitteriònica dels tres aminoàcids.

5.2.1 Valina

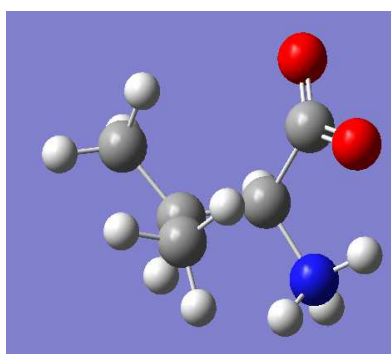


Figura 2: Estructura de mínima energia de la Valina en fase gas (E1G)

A l'hora de calcular la conformació més estable per l'aminoàcid de la Valina s'han obtingut a partir de les simulacions de Dinàmica Molecular dues estructures de mínima energia en fase gas (Figura 2) i dues estructures en dissolució. La diferència d'energies entre les estructures optimitzades en fase gas és de 0,28 kJ/mol, mentre que amb el dissolvent en continuu sense i amb cinc molècules d'aigua és d'aproximadament 0,22 kJ/mol.

A les dues estructures en fase gas, durant el procés d'optimització, com era d'esperar, un protó de l'amina es transfereix al grup carboxílic. Per evitar aquest fet, congelem la distància d'enllaç N-H a 1,05 Å.

A la Taula 5 es mostren les freqüències vibracionals M06-2X/6-31G+(d,p), corregides amb el corresponent factor d'escalament, calculades en fase gas, en dissolució en continuu, i en dissolució en continuu amb cinc molècules d'aigua. Hernández et al. [Hernández 2009] han indicat que cinc molècules d'aigües es pot considerar com un bon model per estimar les característiques estructurals i vibracionals d'un conjunt d'aminoàcids en medi aquós. Aquests valors s'han comparat també amb els valors experimentals obtinguts a partir de l'espectre IR en dissolució aquosa i amb els valors teòrics obtinguts amb altres metodologies. De les 51 freqüències obtingudes, s'indiquen únicament aquelles més representatives i especialment a la regió espectral entre 1800 i 500 cm^{-1} que és la zona associada als moviments moleculars de l'esquelet de proteïnes.

Taula 5: Freqüències M06-2X/ 6-31G+(d,p) i assignacions dels modes vibracionals més representatius de la Valina en fase gas (E1G, E2G), en dissolvent continuu (E1SMD i E2SMD) i en dissolvent continuu amb 5 molècules d'aigua explícites (E1SMD-5W, E2SMD-5W). Totes les freqüències es donen en cm^{-1} .

E1G	E2G	E1SMD	E2SMD	E1SMD-5W	E2SMD-5W	Teòriques ^{a/b}	Exp ^c	Assignació
1531	1529	1530	1537	1535	1550	1664/1672	1633	$\delta,as \text{NH}_3^+$
1736	1733	1522	1523	1523	1526	1619/1656	1597	$\nu,as \text{COO}^-$
1501	1498	1479	1482	1496	1513	1483/1613	1521	$\rho,s \text{NH}_3^+$
1428	1428	1417	1421	1420	1434	1459/1533	1468	$\delta,as \text{CH}_3$
1421	1419	1392	1393	1411	1405	1405/1460	1411	$\delta,s \text{CH}_3$
1315	1309	1373	1376	1398	1403	1383/1436	1398	$\nu,s \text{COO}^-$
1283	1281	1284	1282	1385	1387	1362/1371	1358	$\nu,s \text{COO}^-$
1004	1005	1037	1038	1026	1009	1105/1007	1019	$\rho,as \text{CH}_3$

ν tensió, δ flexió, ω wagging, ρ rocking, τ torsió; *s* simètrica, *as* asimètrica

- a) [Ebenezar 2013]. Valors obtingut amb B3LYP/6-311+G(d,p) en fase gas
- b) [Hernández 2009]. Valors obtinguts amb B3LYP/6-31++G* amb cinc molècules d'aigua
- c) [Hernández 2009]

Comparant els resultats obtinguts de la Taula 5, on hi ha les freqüències de vibració de la Valina en estat gas, en dissolució (SMD) i amb cinc molècules d'aigua, podem fer el següent anàlisi. En fase gas, les freqüències obtingudes a les dues estructures de mínima energia són pràcticament iguals i molt semblants a les obtingudes per Ebenezer et al. [Ebenezer 2013] amb el mètode B3LYP/6-311+G(d,p). Les diferències més significatives es troben a les freqüències associades a l'amina i al grup carboxílic, degut a que l'estudi realitzat en aquest treball s'ha fet amb la forma zwitteriònica de la Valina.

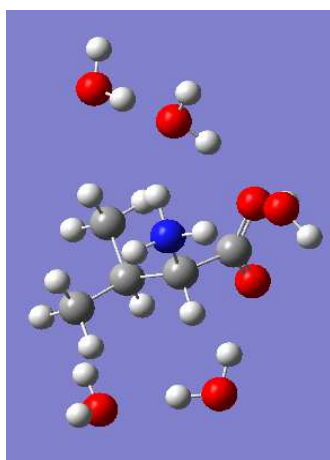


Figura 3: Estructura de la Valina amb cinc molècules d'aigua (E1SMD-5W)

L'anàlisi de les freqüències de la Valina en dissolució mostra que les freqüències obtingudes amb el mètode continu més cinc molècules d'aigua (E1SMD-5W i E2SMD-5W) (Figura 3) són sempre superiors a les obtingudes amb el mètode continu sense les molècules d'aigua (E1SMD i E2SMD).

Les diferències més significatives es donen en els modes de vibració associats a l'amina i al grup carboxílic i poden ser de l'ordre dels 40 cm^{-1} . En qualsevol cas, s'obtenen resultats molt semblants als experimentals com es pot apreciar de la comparació entre aquestes freqüències i les obtingudes per la Valina amb el mètode SMD i cinc molècules d'aigua.

5.2.2 Metionina

Seguint el mateix procediment descrit anteriorment, a partir de les simulacions de Dinàmica Molecular s'han obtingut dos clústers de mínima energia per la Metionina en fase gas i un únic clúster per la Metionina dins una capsula de molècules d'aigua.

Com en el cas de la L-Valina, l'optimització en fase gas condueix a una transferència d'un protó de l'amina a l'oxigen de l'àcid, i per aquest motiu és va congelar la distància d'enllaç del N-H a 1,05 Å. A la Figura 4 i Figura 5 es mostren l'estructura optimitzada de menor energia en fase gas i l'estructura optimitzada amb el mètode SMD/M06-2X/6-31G+(d,p) i cinc molècules d'aigua, respectivament.

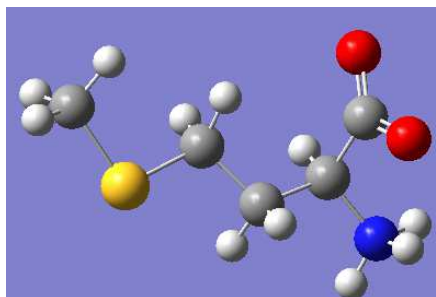


Figura 4: Estructura de la Metionina

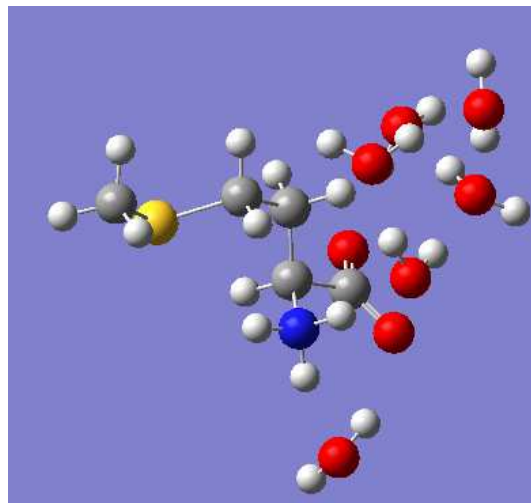


Figura 5: Clúster de la Metionina envoltada de cinc molècules d'aigua

A continuació hi ha les freqüències més representatives tant en fase gas com amb els dos mètodes considerats per la dissolució aquosa. En total tenim 54 freqüències vibracionals per la Metionina en fase gas i considerant un dissolvent en continuu. D'aquestes freqüències es mostren únicament aquelles més representatives en la zona espectral de 1800 i 500 cm^{-1} (Taula 6).

Taula 6: Freqüències vibracionals M06-2X/6-31+G(d,p) i assignacions dels modes vibracionals més representatius de la Metionina en fase gas (E1G), en dissolvent continuu (E1SMD) i en dissolvent continuu amb 5 molècules d'aigua explícites (E1SMD-5W). Totes les freqüències es donen en cm^{-1} .

E1G	E2G	E1SMD	E1SMD-5W	Teòriques ^a	Exp ^b	Assignació
1759	1757	1550	1510	1690	1615	$\nu,as \text{COO}^-$
1543	1556	1417	1432	1590	1585	$\rho,as \text{NH}_3^+$
1319	1316	1381	1306	1414	1385	$\rho,s \text{NH}_3^+$
1307	1304	1369	1380	1379	1371	$\nu,s \text{COO}^-$
1294	1296	1298	1366	1319	1370	$\delta,as \text{CH}_3$
1217	1199	1222	1299	1225	1238	$\delta,s \text{CH}_3$

ν tensió, δ flexió, ω wagging, ρ rocking, τ torsió; *s* simètric, *as* asimètric

- a) [Naganathappa 2015]. Càlculs realitzats mitjançant el mètode B3LYP i la base 6-311++G(d,p) en fase gas.
 b) [Gunasekaran 1982]

Les tendències dels resultats obtinguts són semblants a les indicades per la Valina. Concretament, el model E1SMD-5W reproduïx amb bastant de precisió les freqüències experimentals i novament les majors discrepàncies es troben amb els modes asimètrics associats a l'amina i al grup carboxílic.

5.2.3 Histidina

El cas de la Histidina és un poc diferent als altres dos aminoàcids estudiats fins a l'hora degut a la presència del grup imidazol amb un pKa de 6,04. A aquest treball únicament hem considerat la forma predominant a pH menor que 6 i per tant amb l'anell completament protonat. Considerant aquesta forma, els resultats de les simulacions de Dinàmica Molecular donen un únic clúster d'estructures de mínima energia en fase gas i també un únic clúster a les simulacions de la Histidina dins una capsula de molècules d'aigua.

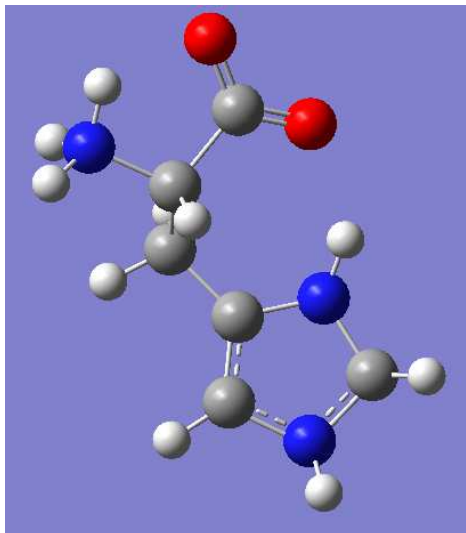


Figura 6: Estructura de la Histidina.

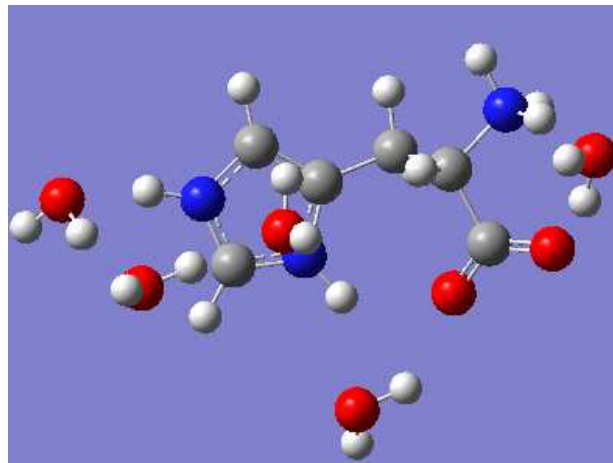


Figura 7: Clúster de la Histidina envoltada de 5 molècules d'aigua.

Les estructures obtingudes derivades de l'anàlisi dels clústers s'han optimitzat en fase gas amb el mètode M06-2X i amb la base 6-31+G(d,p) (Figura 6) i amb el dissolvent continuu SMD sense molècules d'aigua i amb cinc molècules d'aigua (Figura 7).

Novament, a l'estructura en fase gas la distància d'enllaç del protó de l'amina s'ha restringit a 1,05 Å per evitar la transferència d'aquest hidrogen a un dels oxígens del grup carboxílic.

A la Taula 7 es mostren les freqüències vibracionals M06-2X/6-31G+(d,p), corregides amb corresponent factor d'escalament, calculades en fase gas, en dissolució en continuu, i en dissolució en continuu amb cinc molècules d'aigua. Aquests valors s'han comparat també amb els valors experimentals obtinguts a partir de l'espectre IR en dissolució aquosa i amb els valors teòrics obtinguts amb altres metodologies.

Taula 7: Freqüències vibracionals M06-2X/6-31+G(d,p) i assignacions dels modes vibracionals més representatius de la Histidina en fase gas (E1G), en dissolvent continuu (E1SMD) i en dissolvent continuu amb 5 molècules d'aigua explícites (E1SMD-5W). Totes les freqüències es donen en cm^{-1} .

E1G	E1SMD	E1SMD-5W	Teòriques ^a	Exp ^b	Assignació
3416	3411	3298	3419	3443	N-H imidazol
3388	3291	3247	3206	3109	$\delta,as \text{NH}_3^+$
3306	3384	2997	2851	2850	N-H imidazol
1728	1540	1556	1633	1635	$\nu,as \text{COO}^-$
1393	1347	1448	1518	1573	C-N (imidazol)
1326	1361	1387	1434	1491	$\rho,s \text{NH}_3^+$

ν tensió, δ flexió, ω wagging, ρ rocking, τ torsió; *s* simètric, *as* asimètric

a) [Ahmed 2008]. Valors obtinguts amb el mètode B3LYP/6-31G(d)

b) [Ittyachan 2003]

Els resultats obtinguts mostren que en general la inclusió de les molècules d'aigua explícites millora el resultat de les freqüències vibracionals obtingudes amb un model de solvatació en continuu quan es compara amb els resultats experimentals. En aquest cas, els resultats no són tan concloents com amb els aminoàcids analitzats anteriorment, i és necessari fer un anàlisi més minucios de les freqüències elevades de l'ordre de 3000 cm^{-1} per poder extraure conclusions més definitives.

6. Conclusions

Una vegada realitzat el treball i obtingudes totes les freqüències vibracionals dels aminoàcids estudiats en diferents condicions (fase gas, dissolvent continuu i dissolvent continuu amb cinc molècules d'aigua explícites), podem concloure que els mètodes teòrics avui per avui constitueixen una poderosa eina que permeten calcular freqüències vibracionals, i que representen una eina complementària a diverses metodologies experimentals.

El mètode M06-2X juntament amb les bases 6-31G(d,p) i 6-31+G(d,p) constitueixen una bona combinació per l'obtenció de freqüències vibracionals amb una mitjana d'errors que està al voltant dels 28 cm^{-1} i 36 cm^{-1} , respectivament. Són resultats semblants, i un poc superiors, als obtinguts amb les mateixes bases per el funcional B3LYP (21 i 26 cm^{-1}).

Per l'estudi de les freqüències de les formes zwitteròniques de la Valina, Metionina i Histidina s'ha considerat el mètode M06-2X/6-31+G(d,p) donada la necessitat d'incloure funcions difuses per l'estudi d'anions i a la similitud dels resultats obtinguts a les espècies neutres entre els dos conjunts de bases.

Respecte als resultats obtinguts amb els tres aminoàcids, es pot concloure la necessitat d'incloure aigües explícites juntament amb un dissolvent en continuu, com el SMD, per poder assignar eficientment modes normals de vibració i per obtenir valors de freqüències d'aquests modes comparables a les experimentals. Els resultats obtinguts a la zona espectral per davall de 1500 cm^{-1} són molt acurats, encara que a aquells modes en freqüències al voltant dels 1700 cm^{-1} i associats a vibracions asimètriques de l'amina i del grup carboxílic es donen variacions al voltant dels 100 cm^{-1} .

7. Bibliografia

- [Adamo 1998] C Adamo, V Barone, *J Chem Phys* **1998**, 108, 664
- [Ahmed 2008] AB Ahmed, H Feki, Y Abid, *J Mol Struct* **2008**, 888, 180-186
- [Becke 1988] AD Becke, *Phys Rev A* **1988**, 38, 3098–3100
- [Becke 1996] AD Becke, *J Chem Phys* **1996**, 104, 1040
- [Buczek 2011] A Buczek, T Kupka, MA Broda, *J Mol Modeling* **2011**, 17, 2029-2040
- [Bras 2011] NF Bras, MAS Perez, PA Fernandes, PJ Silva, MJ Ramos, *J Chem Theory and Comput* **2011**, 7, 3898
- [Ebenezar 2013] IJD Ebenezar, S Ramalingam, CR Raja, V Helan, *J Theor Comput Sci* **2013**, 1-2, 1000106
- [Feller 2009] D Feller, KA Peterson, *J Chem Phys* **2009**, 131, 154306–154310
- [Ganesan 2013] A Ganesan, MJ Brunger, F Wang, *Eur Phys J D* **2013**, 67, 229
- [Gaussian 09] Gaussian 09, Revision B.01, MJ Frisch, GW Trucks, HB Schlegel, GE Scuseria, MA Robb, JR Cheeseman, G Scalmani, V Barone, B Mennucci, GA Petersson, H Nakatsuji, M Caricato, X Li, HP Hratchian, AF Izmaylov, J Bloino, G Zheng, JL Sonnenberg, M Hada, M Ehara, K Toyota, R Fukuda, J Hasegawa, M Ishida, T Nakajima, Y Honda, O Kitao, H Nakai, T Vreven, JA Montgomery Jr, JE Peralta, F Ogliaro, M Bearpark, JJ Heyd, E Brothers, KN Kudin, VN Staroverov, R Kobayashi, J Normand, K Rachavachari, A Rendell, JC Burant, SS Iyengar, J Tomasi, M Cossi, N Rega, JM Milliam, M Klenke, JE Knox, JB Cross, V Bakken, C Adamo, J Jaramillo, R Gomperts, RE Stratmann, O Yazyev, AJ Austin, R Cammi, C Pomelli, JW Ochterski, RL Martin, K Morokuma, VG Zakrzewski, GA Voth, P Salvador, JJ Dannenberg, S Dapprich, AD Daniels, Ö Farkas, JB Foresman, JV Ortiz, J Cioslowski, DJ Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT. **2009**
- [Goerigk 2011] L Goerigk, S Grimme, *J Chem Theory Comput* **2011**, 7, 291
- [Hernández 2009] B Hernández, F Pflüger, M Nsangou, M Ghomi, *J Phys Chem B* **2009**, 113, 3169-3178
- [Irikura 2005] KK Irikura, RD Johnson, RN Kacker, *J Phys Chem* **2005**, 109, 8430-8437
- [Ittyachan 2003] R Ittyachan, P Sagayaraj, *Crystal Growth* **2003**, 249, 557

- [Lee 1988] C Lee, W Yang, RG Parr, *Phys Rev B: Condens. Matter Mater Phys* **1988**, 37, 785
- [Martin 1994] JML Martin, *J Chem Phys* **1994**, 100, 8186–8193
- [Merrick 2007] JP Merrick, D Moran, L Radom, *J Phys Chem A* **2007**, 111, 11683-11700
- [Naganathappa 2015] M Naganathappa, A Chaudhari, *Astrophys Space Sci* **2015**, 357, 42
- [Nakanaga 1982] T Nakanaga, S Kondo, S Saeki, *J Chem Phys* **1982**, 76, 3860-3865
- [NIST 2016] NIST Computational Chemistry Comparison and Benchmark Database. NIST Standard Reference Database Number 101 Release 18, October **2016**, Editor: RD Johnson III. <http://cccbdb.nist.gov/>
- [NIST 2017] Coblenz Society, Inc., "Evaluated Infrared Reference Spectra" en NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, editat per PJ Linstrom i WG Mallard, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899 (obtingut 31 maig **2017**) <http://webbook.nist.gov>
- [Perdew 1991] JP Perdew, in "Electronic Structure of Solids'91" editat per P Ziesche i H Esching (Akademie Verlag, Berlin, **1991**), p. 11-64
- [Quesada-Moreno 2015] MM Quesada-Moreno, JR Avilés-Moreno, JJ Lopez-Gonzalez, *Tetrahedron: asymmetry* **2015**, 26, 1314-1327
- [Shimanouchi 1972] T Shimanouchi, "Tables of Molecular Vibrational Frequencies Consolidated Volume I" U.S. Department of Commerce, National Bureau of Standards. U.S. Government Printing Office: Washington, DC, **1972**; SD Catalog No. CI3.48:39, Stock Number 0303-0845.
- [Sousa 2007] SF Sousa, PA Fernandes, MJ Ramos, *J Phys Chem A* **2007**, 111, 10439
- [Vosko 1980] SH Vosko, L Wilk, M Nusair, *Can J Phys*, **1980**, 58, 1200-1211
- [Zhao 2004] Y Zhao, DG Truhlar, *J. Phys. Chem. A* **2004**, 108, 6908
- [Zhao 2005] Y Zhao, N Gonzalez-Garcia, DG Truhlar, *J Phys Chem A* **2005**, 109, 2012
- [Zhao 2008a] Y Zhao, DG Truhlar, *Acc Chem Res* **2008**, 41, 157
- [Zhao 2008b] Y Zhao, DG Truhlar, *Theor Chem Acc* **2008**, 120, 215-241
- [Zhao 2011] Y Zhao, DG Truhlar, *J Chem Theory Comput* **2011**, 7, 669