

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN CHIMICA

TESI DI LAUREA MAGISTRALE

Parametrizzazione del campo di forze dei costituenti di nanocapsule metallo-organiche di La (III) per lo studio in silico delle loro proprietà strutturali e dinamiche tramite simulazioni di dinamica molecolare.

Relatore: Prof. Mirco Zerbetto

Controrelatore: Prof. Francesco Sedona

LAUREANDA: Gavasso Lisa

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

Indice

1. Introduzione.....	1
1.1 Nanocapsule metallo-organiche	1
1.1.1 Self-assembly.....	3
1.1.2 MONC basate su lantanidi.....	3
1.2 Simulazioni di dinamica molecolare	4
1.2.1 Ruolo delle simulazioni di dinamica molecolare.....	5
1.2.2 Stato dell'arte delle simulazioni di dinamica molecolare di MONC.....	6
1.3 Free energy perturbation (FEP).....	7
1.4 Scopo della tesi.....	8
2. Metodi computazionali	11
2.1 Parametrizzazione del campo di forze.....	11
2.1.1 Gaussian 16.....	14
2.2 Simulazioni di dinamica molecolare atomistiche.....	15
2.3 Calcolo dell'energia libera di formazione	16
3. Risultati.....	19
3.1 Parametrizzazione del campo di forze dei leganti L^M e L^B	19
3.3 Simulazioni di dinamica molecolare	26
3.4 Calcolo dell'energia libera	28
4. Conclusioni	33
Appendice A	35
Appendice B.....	41
Appendice C.....	46
Appendice D	47
Bibliografia	48

1. Introduzione

1.1 Nanocapsule metallo-organiche

Negli ultimi tre decenni la sintesi e lo studio delle proprietà di nano capsule metallo-organiche sono state ampiamente indagate e sviluppate.¹ A partire dagli anni 90 il *self-assembly* supramolecolare ha dimostrato considerevoli potenzialità per la costruzione di architetture come eliche, griglie, box, rods, capsule e tubi, presentando/rappresentando, quindi un metodo alternativo per il design di strutture supramolecolari.^{2,3} In particolare, dalla metà degli anni 90, è stato sviluppato un nuovo approccio basato sul *self-assembly* guidato da interazioni di coordinazione, il quale permette di costruire specie supramolecolari di dimensioni nanoscopiche con predeterminate forma, geometria e simmetria, sfruttando proprio la geometria di coordinazione dello ione metallico impiegato nel costruire la nanocapsula.¹

Ciò che rende le nanocapsule metallo-organiche (MONC) particolarmente interessanti è la possibilità di ottenere strutture coordinazione dotate di cavità tridimensionali, di dimensioni nanometriche, che possono essere utilizzate per diverse applicazioni, di cui lo stoccaggio di gas, la stabilizzazione di specie reattive, la catalisi, lo sviluppo di materiali con specifiche caratteristiche e le proprietà *host-guest* sono degli esempi.^{4,5,6}

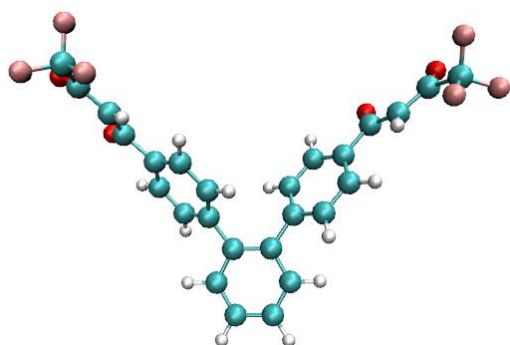
In natura si osserva che le reazioni chimiche che avvengono in organismi viventi hanno luogo all'interno di nanocompartimenti isolati, in questo modo si hanno spazi confinati in cui/ove avviene l'incapsulamento selettivo dei substrati necessari allo svolgimento della specifica reazione.^{7,10}

In quest'ottica le MONC risultano avere un ruolo promettente nella catalisi supramolecolare poiché presentano delle cavità che possono simulare i siti attivi degli enzimi e, più in generale, possono servire da contenitori molecolari con capacità *host-guest* e di riconoscimento molecolare.^{7,8,9}

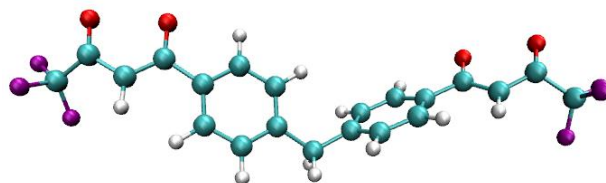
Come accennato in precedenza, le nanocapsule sono delle strutture tridimensionali che racchiudono delle cavità a loro volta tridimensionali. Le MONC sono il prodotto termodinamicamente favorito del processo spontaneo di organizzazione di ioni metallici e leganti organici, cui ci si riferisce col nome di "*self-assembly coordination driven*". Solitamente, i centri metallici sono metalli di transizione, mentre i leganti organici, posti a ponte tra i centri metallici, possono avere due o più atomi donatori (uguali o diversi), hanno una struttura che determina la dimensione e la forma dell'assemblato finale e possono essere legati a gruppi funzionali con particolari caratteristiche.^{7,18}

La direzionalità del legame metallo-legante, dovuta alla preferenza per un certo tipo di coordinazione a seconda dello ione metallico in ballo, combinata ad un adeguato legante organico permettono di avere un certo controllo sul *self-assembly* di queste strutture.^{1,12}

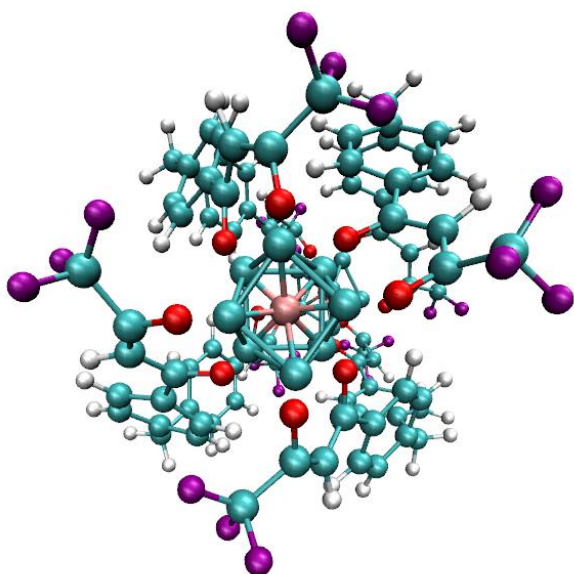
La chimica supramolecolare e la nanoscienza sono due settori in grande espansione grazie alle numerose possibilità di applicazione che hanno in diversi ambiti della scienza e della tecnologia.³
11,13



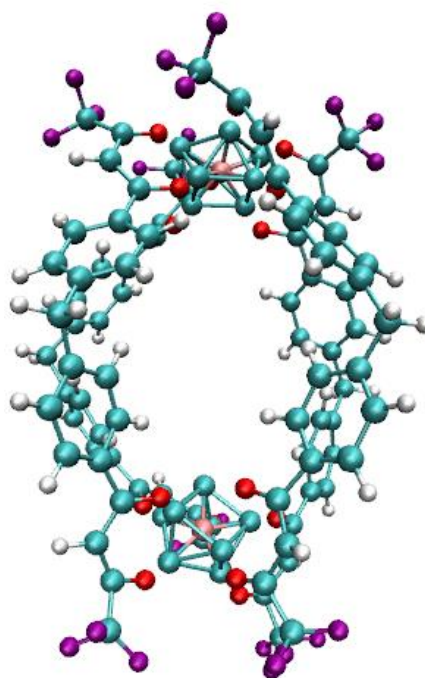
a.



b.



c.



d.

Figura 1: Rappresentazioni balls & sticks del Legante L^M (a), del legante L^B (b), della MONC vista dall'alto (c.) e della MONC vista di lato(d.). (H in bianco, C in azzurro, O in rosso, in figura a. F è in rosa, nelle figure b., c., d., F è in viola. Nelle MONC in figura c. e d. in La^{3+} è in rosa).

1.1.1 Self-assembly

Il *self-assembly* è un processo spontaneo in cui diverse componenti si assemblano per formare strutture ordinate. Tali componenti non hanno vincoli dimensionali, infatti si spazia dalle dimensioni di atomi e molecole fino ad arrivare ad oggetti mesoscopici (in un intervallo compreso tra i nanometri e il micrometro) e macroscopici (in un intervallo che compreso tra 0.1 e 100 micrometri).¹⁴

Ciò fa intuire la trasversalità di questo tipo di processo che riguarda, in particolare, gli ambiti della chimica, della biologia, della scienza dei materiali e della tecnologia, proprio perché esso rappresenta una strategia per organizzare la materia applicabile ad ogni scala dimensionale.¹⁵

Esempi di *self-assembly* si ritrovano sovente in natura, come nella cellula, dove le membrane fosfolipidiche, il *folding* delle proteine, i complessi proteici, i ribosomi, il riarrangiamento degli acidi nucleici nelle corrispondenti forme funzionali sono processi che avvengono tramite questo processo.
11,18

Per quanto riguarda i componenti di dimensioni macroscopiche, alcuni esempi si trovano nell'ambito dell'auto-assemblaggio di pattern meteorologici e di galassie.^{14,15} Dal punto di vista tecnologico il *self-assembly* risulta estremamente interessante poiché permette di ottenere nuovi tipi di aggregati, altrimenti impossibili da creare attraverso la sintesi legame per legame aventi possibili applicazioni nella microelettronica, nella fotonica, nei circuiti elettronici, nella medicina e nella nanoscienza.¹⁴⁻²² Nell'ambito della chimica supramolecolare i componenti del *self-assembly*, detti *building blocks*, possono essere atomi, molecole o aggregati che si organizzano in architetture di dimensioni nanometriche come, ad esempio, anelli, capsule e tubi.¹⁸ Ciò che permette la formazione di queste strutture tramite auto-assemblaggio molecolare sono le interazioni non-covalenti, quali le interazioni di van der Waals, elettrostatiche, idrofobiche, legami a idrogeno e legami di coordinazione metallo-legante.^{15, 18,19}

1.1.2 MONC basate su lantanidi

In questo lavoro di tesi verranno trattati dei complessi organici di La^{3+} tratti dal lavoro di Rancan et al..³⁵ I due complessi che verranno indagati si differenziano per la loro parte organica: verranno usati due diversi leganti, L^{M} e L^{B} (Figura 1).

Entrambi sono caratterizzati da due siti di coordinazione omotopici costituiti da unità di BTFA (benzoiltrifluoroacetone) collegati da due diversi scaffold centrali con diversa flessibilità, come si osserva in Figura 1. Questi complessi, solitamente, hanno un numero di coordinazione pari a otto e sono quindi caratterizzati da una geometria antiprismatica quadrata.

I quattro β -dichetonati impongono allo ione trivalente una simmetria di tipo D_{4h} mentre i leganti L^M e L^B possiedono un asse di simmetria C_2 , dando origine ad una gabbia di forma simile ad una lanterna avente formula generale del tipo $[Ln_2L_4]^{2-}$ (Ln =ione lantanide, L = legante).

L'interesse per strutture del tipo $[Ln_2L_4]^{2-}$ nel lavoro di Rancan et al ³⁵ è rivolto principalmente al caso in cui il centro metallico è rappresentato da uno ione Eu^{3+} , poiché tali sistemi consentono di combinare le proprietà ottiche tipiche dei lantanidi (come la luminescenza), con altre proprietà dei *building blocks* costituenti il complesso.

L'attenzione rivolta ai complessi dell' Eu^{3+} risiede, a livello applicativo, nella possibilità di utilizzarli come termometri molecolari e nell'ambito del fotovoltaico.

Le costanti di formazione ricavate tramite NMR sono riferite ai complessi di La^{3+} poiché i segnali risultano migliori rispetto al caso dell' Eu^{3+} ; è possibile fare ciò poiché nel caso dei lantanidi l'effetto del campo cristallino è piccolo.

1.2 Simulazioni di dinamica molecolare

Le simulazioni di dinamica molecolare (MD) descrivono il moto di ciascun atomo o molecola nel tempo, in base ad un modello che delinea le interazioni intra e intermolecolari.²³ Esse costituiscono uno dei metodi più utilizzati nell'ambito della chimica computazionale; infatti, risolvendo numericamente le equazioni del moto di Newton per tutti i componenti del sistema molecolare, consentono di ottenere le traiettorie di ciascun atomo del sistema.^{26,27}

In questo modo è possibile studiare la dinamica di evoluzione di un sistema nel tempo dal punto di vista atomico e molecolare.

La prima simulazione al computer di un liquido è stata eseguita negli USA nel 1953, su quello che era uno dei più potenti computer dell'epoca, mentre la prima simulazione di dinamica molecolare al computer di un fluido è stata effettuata da Alder e Wainwright, il cui lavoro è stato pubblicato nel 1957.^{24,26,28,30} Il sistema trattato in quest'ultimo lavoro era un fluido costituito da sfere rigide: sistemi costituiti da 32 e 96 particelle sono stati simulati all'interno di box rettangolari con condizioni periodiche al contorno.^{24,30}

Questi primi lavori computazionali sono stati realizzati considerando le molecole come dischi o sfere rigide, si è dovuto aspettare fino al 1964 affinché fossero introdotti potenziali tipo Lennard-Jones, in modo tale da ottenere una descrizione più realistica dei sistemi oggetto di studio. Nel 1964 Rahman ha studiato l'argon liquido descrivendolo come un sistema costituito da 864 atomi interagenti tramite

potenziale di Lennard-Jones e successivamente, nel 1971, ha condotto la prima simulazione sull'acqua liquida.^{24,26,32,33}

Nei decenni successivi le applicazioni delle simulazioni di dinamica molecolare nella chimica, nella fisica e nella biologia sono costantemente aumentate grazie al fatto che i computer sono diventati sempre più potenti ed accessibili ed i software per eseguire le simulazioni più semplici da utilizzare.^{25,29} Di conseguenza si è reso possibile arrivare a condurre simulazioni di dinamica molecolare su sistemi più estesi e più complessi come le macromolecole (proteine, acidi nucleici, lipidi, carboidrati) e complessi supramolecolari.^{19,29}

1.2.1 Ruolo delle simulazioni di dinamica molecolare

La chimica computazionale è una branca della chimica che si serve delle simulazioni al computer di sistemi chimici per indagarne le proprietà strutturali dinamiche.^{29,34} In particolare, le simulazioni di dinamica molecolare rappresentano uno strumento di questa disciplina di cui si fa sempre più uso grazie alla diffusione di computer adeguati e, soprattutto, grazie alle sue molteplici funzioni.²⁵

Le simulazioni di dinamica molecolare forniscono un modo per ottenere risultati esatti rispetto a problemi per cui esisterebbero soltanto metodi di risoluzione approssimati.²⁶ Storicamente, infatti, le simulazioni al computer sono servite principalmente come mezzo di validazione di teorie e i risultati di tali simulazioni sono stati confrontati con quelli ottenuti da esperimenti "reali".²⁶

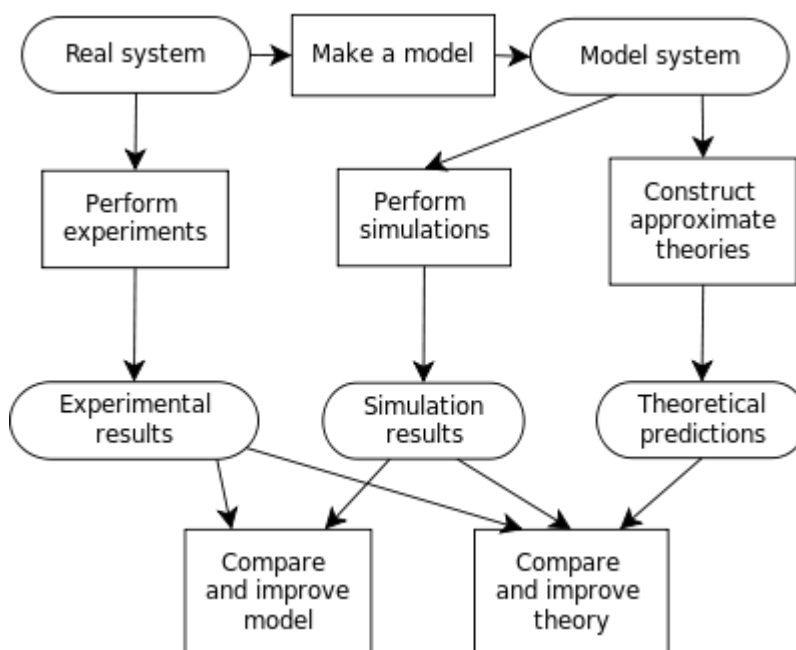


Figura 2: Collegamento fra esperimenti, modello teorico e simulazioni.

In questo senso, se il modello sviluppato si conferma adeguato, la simulazione può offrire diversi punti di vista e aiutare nell'interpretazione di nuovi risultati, ponendosi quindi come intermediaria sia tra la teoria e l'esperimento, sia tra la teoria e il modello: lo schema in Figura 2 illustra tale collegamento.^{26,27} Molto spesso infatti le simulazioni di dinamica molecolare vengono usate in combinazione a varie tecniche sperimentali, quali la cristallografia ai raggi X, la risonanza magnetica nucleare (NMR), la risonanza paramagnetica elettronica (EPR) e il trasferimento di energia di risonanza di Förster (FRET).²⁵

Un altro importante ruolo delle simulazioni al computer è quello di ponte tra la visione microscopica del sistema e le proprietà macroscopiche rilevate sperimentalmente; questo aspetto è di particolare interesse poiché rende possibile eseguire delle simulazioni in condizioni estreme (per esempio di temperatura e pressione) che sarebbero praticamente impossibili da riprodurre in laboratorio consentendo, inoltre, lo studio di reazioni/fenomeni molecolari molto veloci.²⁵⁻²⁷ Ancora, nelle simulazioni di dinamica molecolare si possono eseguire le “trasformazioni alchemiche”: questa è un'espressione propria della chimica computazionale che indica la possibilità di fare delle trasformazioni non fisiche, disaccoppiando le proprietà del sistema. Questo tipo di calcoli utilizzano stati intermedi non fisici, dove una parte del sistema preso in considerazione (per esempio un legante) viene cambiato, eliminando, modificando o inserendo atomi, modificando così il potenziale che determina le interazioni con il resto del sistema.⁴⁴ Le trasformazioni alchemiche sono utili quando si vogliono calcolare variazioni di funzioni di stato, dove il percorso seguito è irrilevante e, pertanto, è concesso eseguire una trasformazione alchemica

Inoltre, si ha il totale controllo delle condizioni in cui vengono condotte le simulazioni e delle forze che agiscono sui componenti del sistema.²³ Queste ultime vengono calcolate utilizzando i campi di forze della meccanica molecolare.³⁵ Sebbene i potenziali utilizzati in tali contesti siano approssimati, è possibile regolare ciascun contributo in base allo scopo della simulazione eseguita.^{23,25}

Le caratteristiche sopra elencate concorrono a rendere le simulazioni di dinamica molecolare uno strumento utile e versatile, che trova applicazioni anche nell'ambito dello studio dei processi biomolecolari e nel design di nuovi farmaci.²⁵

1.2.2 Stato dell'arte delle simulazioni di dinamica molecolare di MONC

Le simulazioni di dinamica molecolare di nanocapsule metallo-organiche vengono effettuate sempre più spesso, a causa dell'interesse dimostrato nei confronti di questo tipo di strutture nella chimica supramolecolare, come anticipato nel paragrafo 1.1.

Tali strutture metallo-organiche possono essere costituite da un enorme quantità di combinazioni metallo-legante organico, rendendo sperimentalmente quasi impossibile l'esplorazione di tutte le possibilità. In questo contesto si inseriscono le simulazioni di dinamica molecolare, andando a prevedere, tramite l'applicazione di opportuni protocolli di calcolo, quali possono essere le strutture effettivamente realizzabili in base alle caratteristiche e agli scopi desiderati.^{36,37}

È possibile eseguire le simulazioni del self-assembly, processo tramite cui si formano le MONC. Ciò consente lo studio approfondito della dinamica e delle interazioni che portano alla costruzione di tali strutture e permettono di investigare le loro caratteristiche strutturali, come il volume della cavità e le distanze metallo-metallo e metallo-legante.^{19,37} In particolare, facendo riferimento alle MONC trattate in questa tesi, in letteratura si trovano vari esempi di self-assembly guidato dall'interazione metallo-legante organico; in questo ambito una delle difficoltà risiede nella disponibilità di campi di forza adeguati alla descrizione del metallo e del legante di interesse.^{36,37,38,39,40,41}

Le simulazioni di dinamica molecolare permettono anche di ottenere parametri termodinamici e strutturali come, per esempio, l'energia libera di formazione di una capsula: in questi casi i processi di formazione vengono monitorati anche con analisi NMR o EPR, confrontando i dati sperimentali con quelli computazionali.^{23,29,39}

Inoltre, con questo metodo computazionale, è possibile razionalizzare il meccanismo host-guest delle nanocapsule, permettendo così di ottimizzare i processi di binding e di selettività nell'ambito della catalisi, e studiare la cinetica di tali processi.^{19,40,42,43}

1.3 Free energy perturbation (FEP)

Negli studi di dinamica molecolare il metodo delle "free energy perturbation" (abbreviato: FEP, perturbazioni di energia libera) è una procedura di calcolo che consente di convertire gradualmente una specie in un'altra all'interno di un ciclo termodinamico.³⁴

Il calcolo delle variazioni di energia libera è necessario in diversi casi: nella caratterizzazione termodinamica dei cammini di reazione, nel trasferimento di molecole da un ambiente ad un altro, nell'ambito della progettazione di nuovi farmaci, nel calcolo dell'energia di binding e di solvatazione.⁴⁴⁻⁴⁸ Per quest'ultima, in particolare, la letteratura è vasta poiché rappresenta una componente importante per problemi che riguardano diversi settori, quali la chimica, la biologia e le scienze farmaceutiche, come il folding delle proteine, le transizioni conformazionali, il binding proteina-legante e il trasporto di farmaci attraverso le membrane biologiche.⁴⁷

I primi studi sul computo dell'energia libera in simulazioni di dinamica molecolare risalgono agli anni '80. Nel lavoro di Postma, Berendsen e Haak è stata calcolata l'energia libera di formazione di

una cavità in acqua liquida, per valutare l'effetto idrofobico di quest'ultima, e per testare la SPT (*scaled particle theory*), dimostrando ancora una volta il ruolo delle simulazioni di MD nel testare le teorie e nello studio di sistemi reali.^{24,52} Grazie alla diffusa disponibilità di risorse computazionali degli ultimi anni, a partire dai primi anni 2000 il calcolo dell'energia libera tramite metodo FEP è spesso usato.^{47,49}

Il protocollo tipicamente impiegato per il calcolo della variazione di energia libera prevede l'uso di un adeguato campo di forze per la simulazione della dinamica molecolare accoppiato al metodo FEP.⁴⁹

Lo scopo di tale metodo è il calcolo della variazione dell'energia libera quando il sistema passa da uno stato iniziale A ad uno stato finale B. Questi due stati devono essere collegati da un *path* (nello spazio delle configurazioni) e si definisce un parametro di accoppiamento λ che varia da 0 a 1: per $\lambda=0$ il sistema si trova nello stato iniziale A e per $\lambda=1$ il sistema si trova nello stato finale B. Tale percorso è suddiviso in piccoli step e la variazione di energia libera tra lo stato A e B è calcolata come somma delle differenze di energia libera tra tutti questi step. Solitamente si cerca di suddividere il path in un numero elevato di step, in modo tale che la variazione di energia tra uno step e il suo successivo sia più piccola possibile, dato che si sta trattando una trasformazione quasistatica. Le trasformazioni quasistatiche, infatti, avvengono tra due stati di equilibrio, in questo caso A e B, in modo molto lento affinché il sistema durante la trasformazione passi attraverso un susseguirsi di stati di equilibrio. La trasformazione avviene attraverso una sequenza di trasformazioni infinitesime in modo tale che la variazione delle proprietà di uno stato e del suo successivo sia infinitesima, così da ottenere una serie di stati di equilibrio.^{49,50}

1.4 Scopo della tesi

Lo studio delle proprietà e delle strutture delle nanocapsule metallo-organiche risulta essere di grande interesse viste le varie applicazioni che tali strutture possono avere, come visto nella sezione 1.1.

In questo contesto gli strumenti che offre la chimica computazionale possono risultare molto utili nel razionalizzare il ruolo della termodinamica nel processo di self-assembly che porta alla formazione delle MONC. In particolare, le simulazioni di dinamica molecolare risultano essere particolarmente adatte a tale fine.

Lo scopo di questa tesi è di parametrizzare il campo di forze dei costituenti del complesso e condurre delle simulazioni di dinamica molecolare, sia standard che guidate, al fine di razionalizzare come cambiano le proprietà strutturali e dinamiche, quali l'energia libera di formazione, delle nanocapsule metallo-organiche di La (III). Inoltre, si confronterà la geometria del complesso ottenuta attraverso

la parametrizzazione del campo di forza dei leganti organici e dello ione metallico con quella ottenuta da calcoli DFT.³⁵

Allo scopo di ottimizzare il protocollo per il calcolo dell'energia libera, sono state condotte delle simulazioni di dinamica molecolare per un complesso costituito da uno ione La^{3+} e un legante L^{M} (ML) e per un complesso costituito da due ioni La^{3+} e da un legante L^{M} (ML_2): essendo questi sistemi più semplici rispetto alla MONC, i calcoli richiedono un costo computazionale minore e sono quindi più rapidi. Successivamente è stata ottenuta l'energia libera di formazione della MONC attraverso l'esecuzione di simulazioni di dinamica molecolare utilizzando il metodo FEP, tale risultato è stato confrontato con la costante di formazione globale della struttura ottenuta da analisi NMR.

L'ottimizzazione e la validazione del campo di forze del La^{3+} sono state fatte sulla geometria e sulla costante di formazione del complesso $[\text{M}_2\text{L}_4]^{2-}$.

Per quanto riguarda la parametrizzazione del campo di forze, nel caso dello ione La^{3+} si utilizza il “*cationic dummy atom model*”, il quale prevede la delocalizzazione della carica dello ione in otto *dummy atoms* posti lungo le direzioni degli atomi cui è coordinato, in questo caso atomi di ossigeno.

Il campo di forze per i due leganti bis- β -dichetoni (L^{M} e L^{B}) è stato, invece, ottenuto utilizzando un'altra metodologia, ossia scomponendo i due leganti in componenti più piccoli, per cui è più semplice parametrizzare un campo di forze sia dal punto di vista del numero di grandezza da prendere in considerazione (numero di lunghezze di legame, angoli di legame, angoli diedri, costanti di forza) sia da un punto di vista di costo computazionale, rendendo i calcoli più veloci. Ciò è stato possibile grazie anche al fatto che i due leganti, sono costituiti da due unità di BTFA ciascuno, legate da due diversi scaffold centrali.

2. Metodi computazionali

Il lavoro svolto in questa tesi consta di tre parti: *i)* la parametrizzazione del campo di forze per i due leganti organici e lo ione La^{3+} , *ii)* lo studio delle proprietà strutturali e dinamiche delle MONC tramite simulazioni di dinamiche molecolari atomistiche, e *iii)* il calcolo dell'energia libera di formazione delle MONC basato su simulazioni di dinamica molecolare guidate, in particolare usando il metodo della *free energy perturbation* (FEP).

In questo capitolo verranno presentati brevemente i metodi computazionali e i relativi software adottati per questi scopi.

2.1 Parametrizzazione del campo di forze

La meccanica molecolare prevede che la struttura e la dinamica dei sistemi molecolari sia descritta solo attraverso i nuclei, trattati utilizzando la meccanica classica.³⁴ In questo contesto la descrizione della funzione dell'energia potenziale del sistema è data da funzioni empiriche dipendenti dalla posizione dei nuclei: l'insieme di tali funzioni analitiche e di parametri costituiscono un campo di forze. Le simulazioni di dinamica molecolare si basano proprio sulla descrizione matematica dell'energia potenziale del sistema data dal campo di forze.^{34,53} Il vantaggio di rappresentare le interazioni tra atomi attraverso la fisica classica invece della quantomeccanica risiede nella possibilità di poter trattare sistemi costituiti da decine di migliaia di atomi, come nel caso di biomolecole e polimeri con solvente esplicito, ad un costo computazionale modesto rispetto al calcolo ab initio.⁵⁴

L'accuratezza dei risultati che si ottengono grazie alle simulazioni di dinamica molecolare è data principalmente dal campo di forze, il quale deve essere adeguato al tipo di struttura oggetto di studio.⁵⁴

Esistono, infatti, diverse tipologie di campi di forze a seconda del tipo di sistema trattato: ad esempio nell'ambito delle simulazioni di dinamica molecolare classiche, che tradizionalmente si concentrano sulle proteine, i campi di forza più utilizzati sono CHARMM, AMBER, OPLS e GROMOS.^{55,67,68,69,70}

In questo lavoro sono stati derivati i parametri per il campo di forze di una nanocapsula metallo-organica compatibili con la famiglia dei campi di forze CHARMM (Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics), come il CGenFF (CHARMM General Force Field), dedicato soprattutto a molecole di interesse farmaceutico e di dimensioni ridotte rispetto alle biomolecole.⁵⁶

A tale scopo si è utilizzato il plugin "Force Field Tool Kit" (ffTK) di VMD (Visual Molecular Dynamics) nella versione 1.9.4. Quest'ultimo è un software per la visualizzazione, l'animazione e l'analisi di traiettorie ottenute da simulazioni di dinamica molecolare.⁷⁵

Questo plugin è nato dall'esigenza di semplificare lo sviluppo di nuovi parametri per campi di forze di nuove specie chimiche.⁵⁵

La funzione dell'energia potenziale, costituita da una somma di termini di legame e non legame, in CHARMM è la seguente:

$$\begin{aligned}
 U_{CHARMM} = & \sum_{bonds} k_b (b - b_0)^2 + (\\
 & \sum_{angles} k_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \\
 & \sum_{UB} k_{ub} (b^{1,3} - b_0^{1,3})^2 + \\
 & \sum_{ihedrals} k_\psi (1 + \cos(n\psi - \delta)) + \\
 & \sum_{impropers} k_\omega (\omega - \omega_0)^2 + \\
 & \sum_{cmap} u_{cmap} (\Phi, \Psi) + \\
 & \sum_{atoms\ i,j} \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} + \sum_{atoms\ i,j} \epsilon_{ij} \left[\left(\frac{r_{ij}^{min}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r_{ij}^{min}}{r_{ij}} \right)^6 \right]
 \end{aligned}
 \tag{1}$$

I legami, gli angoli e gli angoli diedri impropri sono descritti da potenziali, mentre gli angoli diedri sono descritti da un termine sinusoidale.⁵⁷ Nell'espressione (1) le k corrispondono alle costanti di forza relative a ciascun contributo, mentre b_0, θ_0, ω_0 indicano i valori di equilibrio della distanza di legame, dell'angolo di legame e dell'angolo diedro improprio.

Nel contributo degli angoli torsionali ψ ne indica il valore, n indica la molteplicità e δ indica la fase. Sono presenti anche due termini aggiuntivi, il termine di Urey-Bradley (UB) e il termine CMAP. Il primo tiene conto delle costanti di forza di stretching e bending e delle interazioni repulsive tra atomi non legati; il secondo termine è una correzione al contributo degli angoli diedri, utilizzata quando si trattano peptidi.^{56,59} Entrambi questi termini, UB e CMAP, assieme al termine relativo agli angoli diedri impropri non erano in questo lavoro di tesi.

Le interazioni non covalenti/di Van der Waals sono rappresentate dal potenziale di Lennard-Jones, dove ϵ_{ij} è la profondità della buca di potenziale, r_{ij} è la distanza tra la particella e la particella j , r_{ij}^{min} è la posizione del minimo del potenziale e la prima parte dell'espressione rappresenta il contributo repulsivo tra le particelle, la seconda il contributo attrattivo. Il contributo elettrostatico è dato dal termine coulombiano, in cui q_i e q_j ⁱ sono le cariche atomiche parziali degli atomi i e j , r_{ij} è la distanza tra gli atomi i e j e ϵ è la costante dielettrica.^{154,56,57,58}

ⁱ Le cariche nel seguito saranno sempre da intendersi come moltiplicate per la carica eleme

Il Force Field Toolkit si pone come scopo quello di organizzare i passaggi per la parametrizzazione di un campo di forze in un workflow, come riportato in Figura 3, in modo tale da rendere la procedura più semplice e veloce, servendosi di un'interfaccia grafica che consente l'automazione di alcuni passaggi particolarmente soggetti ad errori.⁵⁵

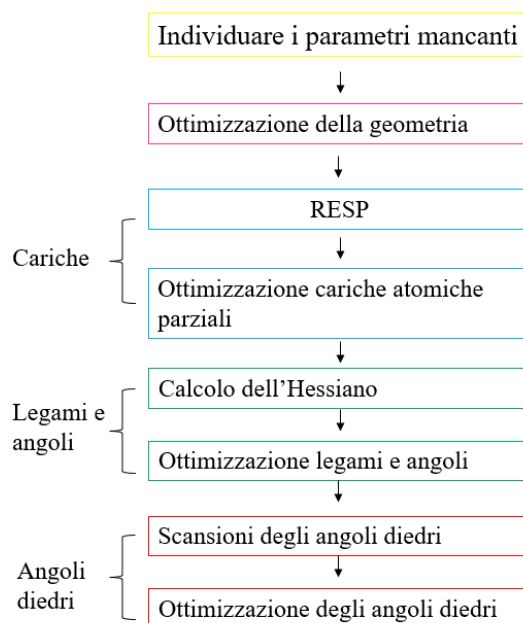


Figura 3: Workflow della parametrizzazione di un campo di forze

Dopo aver costruito il sistema di interesse, il protocollo prevede di ottimizzarne la geometria, le cariche atomiche parziali, i legami e gli angoli ed infine gli angoli diedri. Queste ottimizzazioni vengono fatte basandosi su calcoli quantomeccanici eseguiti dal software Gaussian nella versione 16; i file caricati su tale software vengono prodotti automaticamente dal Force Field Toolkit, previo inserimento di eventuali vincoli.⁵⁵ Infatti, prima di generare i file di input per Gaussian, si possono scegliere il numero di processori e la memoria disponibili per il calcolo, insieme alla carica e alla molteplicità opportuni per la molecola di interesse. Inoltre, nella sezione relativa all'ottimizzazione degli angoli diedri, per ciascuno di essi può essere regolata l'ampiezza della scansione in senso orario ed antiorario e la frequenza con cui avviene la scansione; per esempio, se si imposta un valore per la scansione pari a 180° e il valore di ciascuno step di scansione a 10° , si scansionerà l'angolo diedro di 180° in senso orario ed antiorario con un intervallo di 10° .

Per quanto riguarda la parametrizzazione delle cariche atomiche parziali è stato utilizzato il metodo RESP (Restrained ElectroStatic Potential), il quale consente di ottenere le cariche atomiche parziali in seguito al fitting del potenziale elettrostatico molecolare, ottenuto da calcoli quantomeccanici.^{61,62} I campi di forze dei leganti organici L^M e L^B sono stati parametrizzati seguendo il protocollo appena descritto, mentre il campo di forze del La^{3+} è stato ottenuto attraverso un altro metodo che prevede l'utilizzo del “*cationic dummy atom model*”. Questo approccio si differenzia dagli altri metodi più tradizionali che sono il “*nonbonded soft-sphere model*” e il metodo del legame covalente: nel primo l'interazione metallo-legante è descritta dai potenziali di van der Waals ed elettrostatico, trattazione che risulta soddisfacente nel caso degli ioni dei metalli alcalini e alcalino terrosi, ma non nel caso in cui si trattino ioni di metalli di transizioni e nei casi in cui nel sistema siano presenti più centri metallici. Nel secondo caso invece la descrizione dell'interazione metallo-legante come legame covalente non consente i processi di scambio di legante e di interconversione fra diverse geometrie di coordinazione.⁶⁰ L'approccio del *dummy atom* consiste nel descrivere il centro metallico per mezzo di un set di siti cationici (detti *dummy atoms*) posti attorno allo ione metallico secondo la geometria di coordinazione attesa in seguito alla formazione del complesso con il legante. Se la carica attribuita a ciascun *dummy atom* è pari a $+\delta$, la carica rimanente sul centro metallico sarà pari a $n - x\delta$, dove n è la carica dello ione metallico e x è il numero di *dummy atom*.^{52,60}

2.1.1 Gaussian 16

Gaussian è un software molto utilizzato nell'ambito della chimica, ma anche in altri rami della scienza come nella biochimica, nell'ingegneria chimica e nella fisica.⁷⁶ Gaussian 16 è la versione più recente di questo programma, il quale, attraverso calcoli quantomeccanici, è in grado di prevedere le strutture molecolari, le energie e le proprietà molecolari (per esempio le cariche atomiche, l'energia libera di solvatazione, il momento di dipolo, il potenziale elettrostatico) di diversi composti in differenti condizioni. L'idea implementata nel Gaussian è quella di utilizzare gli orbitali di tipo gaussiano come funzioni di base invece degli orbitali di Slater, in modo tale da rendere più efficiente, anche se a discapito della qualità della densità elettronica calcolata in prossimità del nucleo.

2.2 Simulazioni di dinamica molecolare atomistiche

Nelle simulazioni di dinamica molecolare classica atomistiche si ottengono le traiettorie di ciascun atomo del sistema, il cui stato è descritto dalle posizioni degli atomi, $\mathbf{q} = (q_1, q_2, \dots, q_N)$ e dai momenti, $\mathbf{p} = (p_1, p_2, \dots, p_N)$ di ciascuno degli N atomi costituenti il sistema.

L'energia totale del sistema è rappresentata dalla funzione hamiltoniana

$$H(\mathbf{q}, \mathbf{p}) = K(\mathbf{p}) + U(\mathbf{q}) \quad (2)$$

$$K(\mathbf{p}) = \sum_{i=1}^N \sum_{\alpha} \frac{p_{\alpha}^2}{2m_i} \quad (3)$$

dove m_i rappresenta la massa molecolare, l'indice i corre su tutti gli N atomi e l'indice α corre sulle coordinate cartesiane x, y, z .²⁶ Come si osserva nell'equazione 1, l'energia totale è data dalla somma di due contributi, il primo rappresenta l'energia cinetica del sistema e dipende dai momenti di tutti gli atomi, il secondo rappresenta l'energia potenziale del sistema e dipende dalle posizioni degli atomi del sistema. La forma funzionale di quest'ultimo termine è data dall'equazione 1; come accennato precedentemente, si tratta di un campo di forze i cui termini sono additivi e le forme funzionali di natura empirica.

Per ottenere le traiettorie di ciascun atomo è necessario risolvere le $6N$ equazioni accoppiate del moto di Newton

$$\frac{d\mathbf{q}}{dt} = \frac{\partial H(\mathbf{q}, \mathbf{p})}{\partial \mathbf{p}} \quad (4)$$

$$\frac{d\mathbf{p}}{dt} = -\frac{\partial H(\mathbf{q}, \mathbf{p})}{\partial \mathbf{q}} \quad (5)$$

Non è possibile risolvere le equazioni (4) e (5) analiticamente, pertanto, si ricorre al metodo numerico delle differenze finite: date le posizioni e le velocità degli atomi ad un certo tempo t , si vogliono ottenere le posizioni e le velocità per lo step successivo, cioè al tempo $t + \delta t$, con un buon grado di accuratezza. Le equazioni del moto vengono risolte ad ogni step, la scelta dell'intervallo di tempo δt è inferiore al tempo solitamente impiegato da una molecola per spostarsi ad una distanza pari alla sua stessa dimensione.²⁶

A tale scopo si utilizzano degli algoritmi che, preferibilmente, dovrebbero essere veloci, necessitare di poca memoria, consentire di utilizzare un δt lungo, replicare la traiettoria classica il più fedelmente possibile, essere reversibili nel tempo, soddisfare il principio di conservazione dell'energia e dei momenti, avere una forma semplice ed essere facili da programmare. L'algoritmo di Verlet risulta essere il più utilizzato, infatti è un metodo piuttosto semplice, reversibile nel tempo, e, usando forze conservative, conserva il momento lineare e l'energia, anche per δt lunghi; la forma più indicativa è quella del 1982, ossia la “*velocity Verlet form*”.^{26,63}

$$v\left(t + \frac{1}{2}\delta t\right) = v(t) + \frac{1}{2}\delta t a(t) \quad (6)$$

$$r\left(t + \frac{1}{2}\delta t\right) = r(t) + \delta t v\left(t + \frac{1}{2}\delta t\right) \quad (7)$$

$$v(t + \delta t) = v\left(t + \frac{1}{2}\delta t\right) + \frac{1}{2}\delta t a(t + \delta t) \quad (8)$$

Nelle equazioni 6, 7, 8 v rappresenta le velocità, r le coordinate, t il tempo, δt è l'intervallo temporale per cui si arriva allo step successivo ed a rappresenta l'accelerazione al tempo t . L'equazione 6 descrive l'arrivo ad uno step “intermedio” $t + \frac{1}{2}\delta t$ per le velocità (uno step completo corrisponderebbe a $t + \delta t$), in cui sono stati utilizzati i valori delle accelerazioni al tempo t . Le velocità allo step “intermedio” vengono usate nello step rappresentato in equazione 7, per far avanzare le coordinate r dal tempo t al tempo $t + \delta t$, cioè da uno step al suo successivo. Con l'equazione 8 si ricava l'accelerazione per $t + \frac{1}{2}\delta t$, concludendo il ciclo di evoluzione delle velocità.²⁶

In questo lavoro di tesi le simulazioni di dinamica molecolare sono state eseguite con il software NAMD, nella versione 2.14, e il modulo COLVAR (Collective Variables) di NAMD.^{65,66}

2.3 Calcolo dell'energia libera di formazione

L'energia libera di formazione della nanocapsula metallo organica è stata calcolata utilizzando il metodo FEP, descritto nella sezione 1.3. Anche in questo caso è stato utilizzato il software NAMD assieme al modulo COLVAR, che ha permesso di porre dei vincoli posizionali su alcuni atomi.^{65,66}

Durante una trasformazione alchemica la specie interessata passa da uno stato A ad uno stato B attraverso un processo fisicamente impossibile, ma realizzabile da un punto di vista computazionale,

che prevede il passaggio attraverso una successione di step intermedi. Gli stati A e B sono collegati da un parametro di accoppiamento λ , che descrive le forze e le energie durante la simulazione e può variare tra 0 (per cui ci si trova nello stato di partenza A) e 1 (per cui ci si trova nello stato di arrivo B). I valori intermedi di λ , corrispondono alla descrizione del cambiamento che sta avvenendo nel sistema. Nelle trasformazioni alchemiche gli atomi del sistema sono suddivisi in tre categorie: *i*) gli atomi che non cambiano nel corso della trasformazione, *ii*) gli atomi che descrivono lo stato A e *iii*) gli atomi che descrivono lo stato B. L'Hamiltoniano del sistema è funzione di λ , e una combinazione lineare degli Hamiltoniani dei tre gruppi di atomi appena citati

$$H(\mathbf{q}, \mathbf{p}; \lambda) = H_0(\mathbf{q}, \mathbf{p}) + \lambda H_B(\mathbf{q}, \mathbf{p}) + (1 - \lambda) H_A(\mathbf{q}, \mathbf{p}) \quad (9)$$

Dove $H_0(\mathbf{q}, \mathbf{p})$ è l'hamiltoniano relativo agli atomi che non subiscono cambiamenti nel corso della simulazione, indipendente quindi da λ , $H_B(\mathbf{q}, \mathbf{p})$ è l'hamiltoniano che descrive l'interazione tra lo stato finale B e il resto del sistema e $H_A(\mathbf{q}, \mathbf{p})$ corrisponde all'hamiltoniano che descrive l'interazione tra lo stato iniziale A e il resto del sistema. I punti più critici in questo tipo di simulazioni di dinamica molecolare si hanno quando λ si avvicina ai suoi estremi; si è osservato, infatti, che in queste condizioni si hanno delle instabilità numeriche nelle simulazioni. Questo problema è dovuto al fatto che quando λ si avvicina ad 1 o a 0, a seconda del tipo di trasformazione alchemica che si sta eseguendo, appaiono degli atomi, che prima non c'erano, dove sono già presenti altri atomi: di conseguenza la distanza interatomica è molto piccola e il potenziale tende all'infinito. Per risolvere tale problematica è stato introdotto un potenziale allo scopo di scalare gradualmente le interazioni non covalenti a corto raggio tra gli atomi che compaiono e l'ambiente. Questo potenziale è detto *soft-core potential* e consiste nel modificare il parametro di accoppiamento, λ_{LJ} o λ_{elect} , che regola l'interazione.

$$V_{NB}(r_{ij}) = \lambda_{LJ} \varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{R_{ij}^{min2}}{r_{ij}^2 + \delta(1 - \lambda_{LJ})} \right)^6 - \left(\frac{R_{ij}^{min2}}{r_{ij}^2 + \delta(1 - \lambda_{LJ})} \right)^3 \right] + \lambda_{elect} \frac{q_i q_j}{\varepsilon_{ij} r_{ij}} \quad (10)$$

Nel calcolo dell'energia libera di formazione questo metodo non altera i parametri che definiscono le interazioni intramolecolari di legame.

La differenza di energia libera tra gli stati A e B è

$$\Delta A_{A \rightarrow B} = -\frac{1}{\beta} \ln \langle \exp\{-\beta [H_B(\mathbf{q}, \mathbf{p}) - H_A(\mathbf{q}, \mathbf{p})]\} \rangle_A \quad (11)$$

$$\Delta A_{A \rightarrow B} = -\frac{1}{\beta} \sum_{i=1}^N \ln \langle \exp\{-\beta [H(\mathbf{q}, \mathbf{p}; \lambda_{i+1}) - H(\mathbf{q}, \mathbf{p}; \lambda_i)]\} \rangle_i \quad (12)$$

Nelle equazioni 11 e 12 si ha $\beta^{-1} = k_B T$, dove k_B è la costante di Boltzmann e T è la temperatura. Nell'equazione 11 $H_A(\mathbf{q}, \mathbf{p})$ e $H_B(\mathbf{q}, \mathbf{p})$ sono gli hamiltoniani che descrivono lo stato A e B, mentre l'argomento del logaritmo naturale indica che si è considerata una media d'insieme sulle configurazioni dello stato iniziale A. Nell'equazione 12, N indica il numero di step intermedi tra lo stato A e B, mentre l'equazione indica che la trasformazione tra i due stati del sistema avviene attraverso una serie di stati intermedi e non fisici: tale percorso è dato da λ . Ciò rende l'Hamiltoniano del sistema e l'energia libera funzioni continue di questo parametro.

Nell'eseguire simulazioni di dinamica molecolare utilizzando il metodo FEP sono tre i parametri che rivestono i ruoli principali: il $d\lambda$, il periodo di equilibrizzazione che segue l'aggiornamento del valore di λ e il periodo di accumulo per il calcolo dell'energia libera. Andando a regolare questi tre parametri si può modificare l'accuratezza della simulazione e quindi del valore di energia libera che si ottiene. Modificando il parametro $d\lambda$ si va considerare un diverso numero di step intermedi tra 0 e 1: aumentando il numero di step, la trasformazione alchemica si avvicina maggiormente ad una descrizione quasistatica, dato che essa, per definizione, procede per trasformazioni infinitesime nel passare da uno step al suo successivo. Per quanto concerne il secondo parametro, il periodo di equilibrizzazione seguente al passaggio al valore successivo di λ , aumentando gli step di equilibrizzazione si raggiunge una condizione per cui il sistema si trova più vicino ad uno stato di equilibrio. Il terzo parametro è importante per poter ottenere un valore di energia libera stabile e il più possibile accurato: facendo delle prove ripetute, il periodo di accumulo dovrebbe essere sufficientemente lungo per ottenere dei valori il più possibile costanti rispetto alle diverse ripetute della simulazione.^{64,71,72}

3. Risultati

Utilizzando il protocollo per la parametrizzazione di un campo di forze del Force Field Toolkit, sono stati ottenuti i parametri per i campi di forze dei leganti L^M e L^B attraverso una procedura a step, partendo dalla struttura dell'acetilacetato, a cui poi sono stati sostituiti i due gruppi metilici con un gruppo fenilico, fino ad ottenere le strutture dei leganti con i relativi parametri. Si è poi proseguito con la parametrizzazione del campo di forze per lo ione La^{3+} adoperando il “*cationic dummy atom model*”, mentre il campo di forze per il solvente (dimetilformammide abbreviata in DMF) era già disponibile in letteratura. Sono state poi eseguite le simulazioni di dinamica molecolare in presenza di uno ione La^{3+} , un legante L^M e del solvente, per poi passare alla simulazione del sistema totale, costituito dalla MONC $[La_2L^M_4]^{2-}$ e dal solvente. Infine, è stata calcolata l'energia libera di formazione di quest'ultima struttura ed è stata eseguita una dinamica di 20 ns per osservare le proprietà *host-guest* della capsula.

3.1 Parametrizzazione del campo di forze dei leganti L^M e L^B

Per la parametrizzazione dei campi di forze dei leganti organici sono stati utilizzati i software VMD, nella versione 2.14 e Gaussian 16.

A tale scopo si è sfruttato il fatto che il legante L^M è costituito da una coppia di frammenti uguali collegati da un gruppo CH_2 e il legante L^B , analogamente, è costituito da due unità tra loro uguali collegate da un fenile. In questo modo, per entrambi i leganti, è sufficientemente parametrizzare solo una metà.

Come precedentemente accennato, si è cominciato dalla parametrizzazione del campo di forze per lo ione acetilacetato (Figura 4) per poi arrivare ai leganti finali. Poiché in letteratura non sono stati trovati tutti i parametri del campo di forze dello ione acetilacetato, si è seguito il protocollo del Force Field Toolkit per ottenerli.

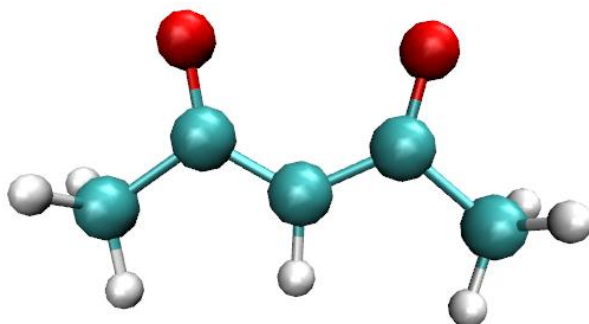


Figura 4: Rappresentazione balls & sticks dello ione acetilacetato (H in bianco, C in azzurro, O in rosso).

I valori numerici che si ottengono da questa procedura sono riportati nel *parameters file* che è sempre accompagnato da un *topology file*. Solitamente queste coppie di file sono definite in base al tipo di molecole di cui descrivono il campo di forze, per esempio per le proteine, per i carboidrati, per gli acidi nucleici.

Quest'ultimo contiene l'elenco degli atomi presenti nei residui, termine che in CHARMM si riferisce ad una molecola o a parte di essa, non soltanto ad un amminoacido. Gli atomi elencati sono caratterizzati da un *id*, che è un numero unico assegnato all'*atom type*, da un nome che indica l'*atom type* (costituito al massimo da sei caratteri), dalla massa molare dell'atomo e un ultimo termine, *mmff*, che solitamente coincide con il simbolo dell'elemento sulla tavola periodica. Ci possono essere più *atom type* per uno stesso elemento poiché l'*atom type* lo descrive più precisamente; infatti, ce ne possono essere più di uno per lo stesso elemento, poiché atomi con intorni diversi si comportano in modo differente. Per esempio, il carbonio di un gruppo CH₃ ha un *atom type* diverso dal carbonio in CH₂, nonostante si tratti del medesimo elemento. Nel *topology file*, dopo l'elenco appena descritto, inizia la lista dei residui, ossia di tutte le molecole o parte di esse che fanno parte del campo di forze trattato. Ogni definizione di un residuo si apre con la keyword "RESI", cui segue un nome (residue name) di massimo sei caratteri e la carica totale della molecola trattata. Sotto a questa riga sono elencati gli atomi costituenti la molecola caratterizzati da un *atom name*, che è un identificativo unico per quell'atomo all'interno di quel residuo, un *atom type* e la carica atomica parziale. Successivamente viene descritta la connettività, senza specificare se si tratta di un legame singolo, doppio o triplo, ed infine vengono date le coordinate interne. Queste ultime vengono date per ogni quattro atomi che formano un angolo diedro, e sono costituite da cinque valori: se l'angolo diedro è formato dagli atomi A, B, C, D, le coordinate interne comprendono la lunghezza del legame tra A e B, l'angolo di legame tra A, B e C, l'angolo diedro tra A, B, C, D, l'angolo di legame tra B, C, D e la lunghezza del legame tra C e D.

Il *parameters file* contiene tutti i valori numerici delle grandezze necessarie per poter eseguire una simulazione di un sistema. Tali parametri sono suddivisi in cinque categorie: legami, angoli, angoli diedri, angoli diedri impropri e parametri di Lennard-Jones. Nella sezione dei legami, in ogni riga vi è la coppia di *atom type* legata, la costante di forza del legame (in kcal mol⁻¹ Å⁻²) e la distanza di legame di equilibrio (in Å). Similmente nella sezione degli angoli sono elencati i tre *atom type* coinvolti seguiti dalla costante di forza (in kcal mol⁻¹ rad⁻²) e dall'angolo di equilibrio in gradi. Procedendo si trovano gli angoli diedri, dove sono indicati i quattro *atom type*, la costante di forza (in kcal mol⁻¹), la molteplicità e il valore dell'angolo diedro. Anche per gli angoli diedri impropri sono indicati i quattro *atom type*, la costante di forza (in kcal mol⁻¹ rad⁻²) e il valore dell'angolo in gradi. Infine, vi è la sezione relativa ai parametri di Lennard-Jones ϵ_{ij} e $R_{ij}^{min}/2$ per ciascun *atom type*, dove

il ε_{ij} indica la profondità della buca di potenziale ed il secondo corrisponde alla posizione del minimo di potenziale diviso per due.

Il punto di partenza per la parametrizzazione del campo di forze dello ione acetilacetato consiste nell'inserire nel *topology file* tre nuovi *atom type* (CGAC, CGACO, OGAC), corrispondenti agli atomi x in Figura, e il residuo corrispondente allo ione. Si è deciso di creare dei nuovi *atom type* perché in letteratura non ne sono stati trovati che descrivessero la delocalizzazione elettronica dovuta alla risonanza dell'acetilacetato. Anche nel *parameter file* si sono inseriti i nuovi *atom type* e gli sono stati assegnati dei parametri approssimativi, stimati per similitudine con *atom type* simili e sulla base del senso chimico. Questo si può fare perché la procedura prevede l'ottimizzazione di tali parametri; pertanto, è legittimo partire da dei valori imprecisi. Si è costruita la struttura dello ione utilizzando il plugin di VMD Molefactory e si è proseguito con la creazione del PDB (*Protein Data Bank*) e del PSF (*Protein Structure File*). Nel PDB sono indicate le coordinate cartesiane di tutti gli atomi del sistema, i quali sono indicizzati dal loro *atom ID* (un numero unico per ciascun atomo), da un *atom name*, dal *residue name* di appartenenza e dal *residue ID*, che è un numero che serve a distinguere più residui uguali. Nel corrispondente PSF sono elencati gli stessi atomi presenti nel PDB nello stesso ordine e anche qui sono indicizzati da un *atom ID* (che deve essere uguale al corrispondente nel PDB), *segment name*, *residue ID*, *residue name*, *atom name*, *atom type*, carica, massa e un parametro sempre pari a zero. Nel resto del PSF sono presenti le categorie *bonds*, *angles*, *dihedrals* e *impropers*, sotto ciascuna di esse sono elencati gli atomi (tramite il loro *atom ID*) coinvolti nei legami, angoli, angoli diedri e angoli diedri impropri. Tale file contiene quindi la topologia specifica del sistema molecolare di cui si sta per simulare la dinamica.

La scheda "Opt. Geometry" del Force Field Toolkit è relativa all'ottimizzazione della geometria della molecola: dopo aver inserito il PDB e il PSF, si possono inserire i parametri più opportuni per i file di input per Gaussian. In questo caso sono stati lasciati i parametri predefiniti, cioè un processore, 1 GB di memoria, carica totale pari a -1, molteplicità pari a 1 e un livello di teoria per i calcoli MP2/6-31G*, SCF=Tight. Questo passaggio, come tutti gli altri passaggi che si effettueranno con Gaussian, consente di avere un'ottimizzazione della geometria a livello quantomeccanico, in cui la conformazione a più bassa energia che si ottiene verrà usata come punto di partenza per tutti i calcoli successivi. Tramite la seconda parte della scheda "Opt. Geometry" si inseriscono il PDB, il PSF e il file di output di Gaussian e il programma ffTk aggiorna il file PDB con le nuove coordinate della geometria ottimizzata. Successivamente si passa alla scheda relativa all'ottimizzazione delle cariche ("Calc. ESP" nel programma), dove si inserisce il file PDB appena ottenuto e, per ottenere il file di input per Gaussian, si inseriscono gli stessi parametri di prima eccetto che per il livello di teoria dei calcoli, che in questo caso è HF/6-31G, SCF= Tight, comunemente usato per stimare il potenziale

elettrostatico. Nella scheda seguente (“Opt. ESP” nel programma) si esegue il fitting delle cariche atomiche parziali ottenute dal calcolo su Gaussian, cercando il set di cariche che meglio riproduce il potenziale elettrostatico. Dopo aver inserito il PSF, il PDB, la carica della molecola (pari a -1 in questo caso) e il *residue name* nella parte iniziale della scheda, nella sezione “*Charge Constraints*” sottostante vengono elencati tutti gli *atom type* presenti nel PDB e nel PSF. In questa finestra si lasciano gli atomi le cui cariche devono essere ottimizzate e si possono definire la carica iniziale e dei vincoli: in questo caso si è imposto che i due atomi di ossigeno (OGAC) avessero la stessa carica, così come per i due atomi di carbonio legati agli ossigeni (CGACO), i due carboni metilici (CG331) e i sei idrogeni metilici (HGA3). Nella finestra inferiore si è inserito il file di output di Gaussian e, lasciando i valori predefiniti per *ihfree*, *qwt*, e *iqopt* (1; 0,0005 e 2 rispettivamente) si ottiene il file di input per il fitting delle cariche. Nella finestra finale avviene il fitting delle cariche atomiche parziali. In questo caso, dopo tre iterazioni, si è ottenuto un risultato soddisfacente in quanto i valori delle cariche atomiche parziali ottenute sono simili a quelle relative ad atomi aventi un intorno chimico paragonabile.

La scheda successiva, “*Calc. Bonded*”, riguarda l’ottimizzazione delle costanti di forza e dei valori di equilibrio per gli angoli e i legami. Dopo aver inserito il PDB, il PSF e il file checkpoint di Gaussian ottenuto nell’ottimizzazione della geometria, si ottiene un nuovo file di input per Gaussian per il calcolo dell’Hessiano ad un livello di teoria MP2/6-31G, avendo a disposizione un processore e 1 GB di RAM. Passando alla scheda successiva, “*Opt. Bonded*”, si inseriscono il PDB, il PSF, l’Hessiano appena calcolato a livello quantomeccanico e il *parameter file*; compare quindi l’elenco dei legami e degli angoli da ottimizzare definiti dagli *atom type*, dalla costante di forza e dal valore di equilibrio. L’ottimizzazione viene eseguita iterativamente in modalità *downhill*, in questo caso per quattro volte, i parametri sono rimasti quelli preimpostati, tranne per “*Geom. Weight*” che è stato posto pari a 2 e “*Angles- Eq. Deviation*” posto pari a 5.

Infine, è stata eseguita l’ottimizzazione degli angoli diedri, a partire dalla sezione “*Scan Torsions*”, dove sono stati generati i file di input per Gaussian previo inserimento del PDB e del PSF. Sono stati elencati i sei angoli diedri da ottimizzare, indicando una scansione di ampiezza pari a 180° in senso orario e antiorario con intervalli pari a 15°. Il livello di teoria di questo calcolo è MP2/6-31g, la memoria disponibile 3GB e un processore; il calcolo effettuato consiste nello scansionare gli angoli elencati e, per ogni step, mentre l’angolo diedro è tenuto fisso, viene eseguita un’ottimizzazione della geometria per il resto della molecola e viene calcolata l’energia potenziale (*relaxed scan PES*). Nella scheda finale, “*Opt. Torsions*”, si inseriscono il PSF, il PDB, il *parameter file* e i file di output di Gaussian. Qui avviene l’ottimizzazione degli angoli torsionali, definiti dagli *atom type*, dalla costante di forza, dalla periodicità e dalla fase, con la modalità *downhill* e la tolleranza lasciata a 0.01. In

questa sezione viene calcolata anche l'energia potenziale a livello di teoria della meccanica molecolare, usando il software NAMD, in cui i diedri che devono essere ottimizzati non vengono considerati nel calcolo. Tale procedura è utile per avere un'idea della situazione di partenza del fitting. Nella penultima sezione di questa scheda è possibile visualizzare i dati ottenuti in un grafico, dove in ordinata è riportata l'energia e in ascissa la conformazione. Si visualizzano quindi tre profili: uno corrisponde ai dati ottenuti a livello QM, uno ai dati ottenuti a livello MM e il fitting, come si osserva in Figura 5.

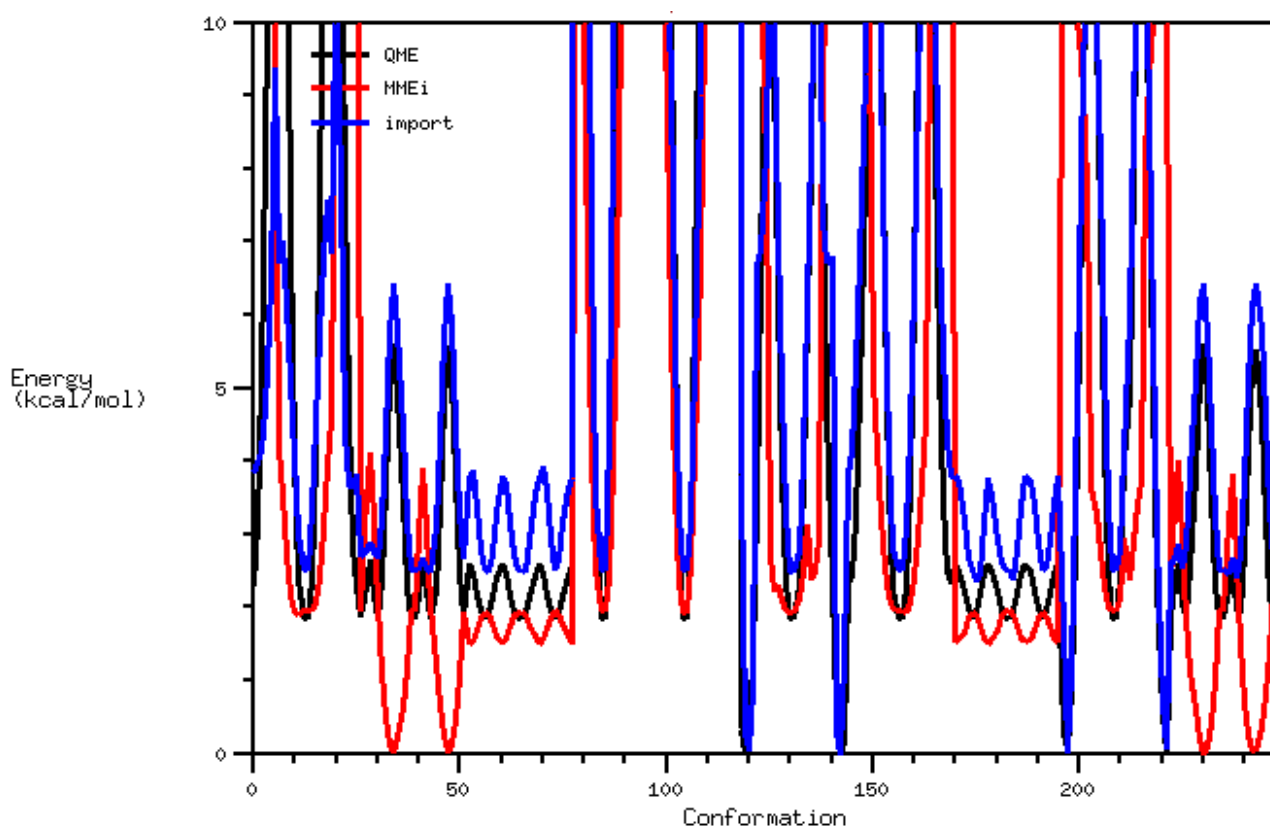


Figura 5: Fitting degli angoli diedri. In nero l'energia potenziale ottenuta da calcoli a livello quantomeccanico, in rosso quella ottenuta da calcoli a livello MM, in blu il fitting.

L'aggiornamento del *parameter file* con i nuovi valori ottenuti avviene nell'ultima sezione della scheda "Build Par".

La medesima procedura è stata seguita per parametrizzare le grandezze mancanti per la molecola 4,4,4-trifluoro-1-fenil-1,3-butadionato, riportata in Figura 6.

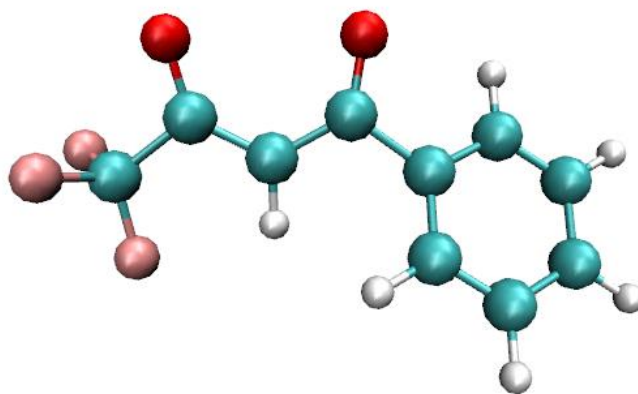


Figura 6: Rappresentazione balls & sticks dello ione 4,4,4-trifluoro-1-fenil-1,3-butadionato (H in bianco, C in azzurro, O in rosso, F in rosa).

I campi di forze dei leganti L^M e L^B sono stati parametrizzati con una procedura simile, dato che la maggior parte dei parametri necessari era già disponibile. Si è cominciato dalla creazione dei file PDB e PSF per i leganti completi, per un totale di 43 atomi e una carica pari a -1 nel caso di L^M ; nel caso di L^B gli atomi sono 50 e la carica è pari a -1. Si è poi proseguito, usando anche in questo caso il Force Field Toolkit, con l'ottimizzazione della geometria per entrambe le strutture utilizzando lo stesso metodo descritto precedentemente, con l'unica differenza che il calcolo eseguito su Gaussian è stato fatto ad un livello di teoria B3LYP/6-31G, poiché utilizzando quello precedente, MP2/6-31g, i calcoli non andavano a convergenza per le dimensioni delle molecole. L'ottimizzazione delle cariche atomiche parziali è stata condotta con la stessa metodologia precedentemente illustrata. Nel caso del legante L^M si è imposto che gli atomi tra loro simmetrici avessero la stessa carica come, per esempio, per i quattro atomi di ossigeno, i sei atomi di fluoro e così via. Anche per il legante L^B si è imposto che atomi corrispondenti per simmetria abbiano la stessa carica; gli atomi di carbonio appartenenti agli anelli hanno lo stesso *atom type* (CG2R61), ma cariche parziali diverse in virtù del diverso intorno chimico. Tutti i nuovi parametri ottenuti per i due leganti sono riportati in appendice A.

3.2 Parametrizzazione del campo di forze dello ione La^{3+}

Gli ioni La^{3+} , nella MONC trattata in questa tesi, sono coordinati agli otto atomi di ossigeno dei leganti organici, e sono caratterizzati da una geometria antiprismatica quadrata di simmetria D_{4d} . Il campo di forze per tale ione è stato ottenuto utilizzando il *cationic dummy atom model* e i parametri di Lennard-Jones sono stati ottimizzati allo scopo di riprodurre le corrette distanze tra lo ione lantanio e gli atomi di ossigeno date dalla struttura della MONC completa ottenuta da calcoli DFT.³⁵

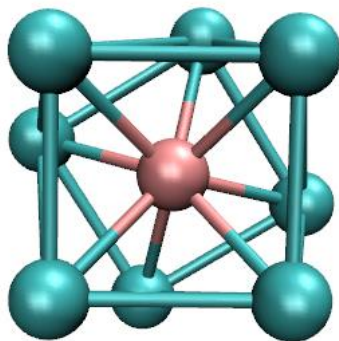


Figura 7: “Cationic dummy atom model”, in rosa lo ione La^{3+} e in azzurro i dummy atom.

Il PDB contiene le coordinate di uno ione La^{3+} e degli otto atomi di ossigeno circostanti prese dal file delle coordinate della struttura di riferimento. Utilizzando il plugin “Molefactory” di VMD sono stati posti otto *dummy atom* nel punto medio lungo ogni direzione lantanio-ossigeno ed è stato poi ottenuto il corrispondente PSF. Nel *parameter file* e nel *topology file* sono stati inseriti dei nuovi *atom type* per i *dummy atom* (DA) e per il lantanio (La). Ai *dummy atoms* è stata assegnata una carica atomica parziale pari a 0.5, una massa pari a 3 g/mol e i parametri di Lennard-Jones pari a zero. Lo ione invece ha carica pari a -1, la massa 114.9055, pari alla differenza tra la massa del lantanio e quella degli otto dummy atoms e, inizialmente, sono stati utilizzati i parametri di Lennard-Jones per lo ione in acqua, poiché in letteratura non sono stati trovati dati relativi allo ione lantanio in DMF. L’applicazione del *cationic dummy atom model* prevede, infatti, che la carica dello ione metallico sia delocalizzata sui *dummy atoms*, in modo tale da poter riprodurre la corretta geometria di coordinazione.^{51,60}

Per individuare i parametri di Lennard-Jones che riproducessero le corrette distanze La-O sono state eseguite varie prove, facendo variare ϵ_{ij} tra -0.1799 kcal/mol e -0.2100 kcal/mol, incrementando il valore di 0.1 kcal/mol ad ogni prova, i valori sono negativi perché nel parameter file si riportano così per consuetudine; $R_{ij}^{min}/2$ è stato variato in un intervallo compreso fra 1.958 Å e 2.100 Å, incrementando il valore di 0.1 Å ad ogni prova.

Si osserva che si ha un effetto maggiore variando il parametro $R_{ij}^{min}/2$. In appendice B sono riportati i dettagli del campo di forze dello ione La^{3+} .

3.3 Simulazioni di dinamica molecolare

Le simulazioni di dinamica molecolare atomistiche sono state condotte utilizzando soltanto il legante L^M ; si è cominciato simulando il sistema nel caso più semplice, costituito da un solo legante e uno ione La^{3+} , per poi arrivare alla simulazione del sistema complessivo composto da due ioni lantanio e quattro leganti L^M . Per condurre le simulazioni di dinamica molecolare è stato utilizzato il *software* NAMD.

Le simulazioni per entrambi i sistemi sopra citati sono state condotte in DMF all'interno di una box cubica il cui lato misura 30 Å, le altre informazioni sulle condizioni in cui tali simulazioni sono state condotte si trovano in Tabella 2.

Ensamble	NVT
Termostato	Langevin, damping 1ps
Timestep di integrazione	2 fs
Elettrostatica	PME, grid size 32
cutoff	10 Å
Pairlistdist	12 Å
margin	3 Å
switching	9 Å
Box	Cubica, lato=30 Å

Tabella 1: Condizioni di calcolo per le simulazioni.

Per calcolare il numero di molecole di DMF da inserire nel PDB del sistema costituito da un legante e da uno ione La^{3+} è stata utilizzata la densità del solvente ($0,9945 \text{ g/cm}^3$): al volume totale della box è stato sottratto il volume occupato dal legante e dallo ione, inclusi gli otto *dummy atom*. Inoltre, per ottenere un sistema complessivamente neutro, è stato aggiunto uno ione cloruro. Per ottenere il PDB è stato utilizzato il *software* Packmol, dove vengono indicati i PDB delle molecole che si vogliono inserire nel PDB finale, il numero di volte che si desidera inserire ciascuna molecola e la dimensione della box. Il PSF riassume la topologia del sistema molecolare completo: soluti e solvente. Le simulazioni sono state condotte seguendo uno schema comune che prevede una fase di minimizzazione, successivamente una fase di riscaldamento a cui segue la fase di produzione delle traiettorie.

Per la simulazione del sistema appena descritto, le molecole di solvente risultanti sono 183, sono stati fatti 10000 step per la minimizzazione. Successivamente si è adottata una rampa lineare di riscaldamento di 1 K ogni 500 step, da 60 K a 298 K. Infine la traiettoria di produzione consisteva di $5 \cdot 10^5$ step. Il *timestep* è stato impostato a 2 fs, tenendo rigidi i legami con gli altri atomi di idrogeno.

Pertanto, la simulazione di produzione ha una durata complessiva di 1 ns. Con questa simulazione si è voluto verificare la correttezza dei nuovi parametri del campo di forze, osservando, per esempio, che la distanza tra lo ione La^{3+} e i due atomi di ossigeno fosse coerente con quella misurata dalla struttura del complesso ottimizzata a livello quantomeccanico. In generale, per verificare che il sistema sia in uno stato di equilibrio dopo la fase di minimizzazione e riscaldamento, e cioè per verificare che il numero di step impostati a tal fine siano sufficienti, si grafica l'energia totale del sistema rispetto al tempo trascorso: se questa mostra fluttuazioni attorno a un valore allora la traiettoria sta campionando la distribuzione di equilibrio di Boltzmann e si può quindi procedere con la produzione delle traiettorie. È stata poi eseguita una simulazione di dinamica molecolare per la MONC completa, costituita da due ioni La^{3+} e da quattro leganti L^{M} , in questo caso il numero di molecole di solvente è pari a 179. Tale sistema ha una carica complessiva pari a -2, pertanto per avere un sistema neutro sono stati aggiunti nel PDB due ioni Na^+ . Nel lavoro di Rancan et al., invece, è stato usato il dicioesilammonio come controione, ma qui si è scelto di utilizzare lo ione sodio per semplicità computazionale, dato che il campo di forze per il dicioesilammonio non è disponibile in letteratura.³⁵ Questa scelta non ha alcun effetto sulle simulazioni condotte per gli scopi di questa tesi. Come nel caso precedente, per calcolare il numero di molecole di DMF da inserire nel PDB per solvatare il sistema, si è sottratto al volume complessivo della box il volume occupato dalla MONC. Il PDB è stato ottenuto mediante il *software* Packmol, come illustrato precedentemente. La simulazione è stata condotta con la medesima metodologia del primo sistema, eccetto che per il numero di step: 10000 nel caso della minimizzazione e 10^7 step per la produzione delle traiettorie. Si ottiene quindi una dinamica di 20 ns, allo scopo di osservare le proprietà *host-guest* della MONC. Infatti, si vede che all'inizio della simulazione la cavità è vuota (Figura 8a) mentre dopo 0.26 ns entra una molecola di solvente (Figura 8b) che permane fino alla fine della simulazione. Per poter avere delle informazioni riguardo la cinetica di inclusione di molecole di solvente non è sufficiente un solo esito, ma è necessario collezionare un maggiore numero di traiettorie di lunga durata per poter avere una statistica sui tempi di permanenza nella cavità.

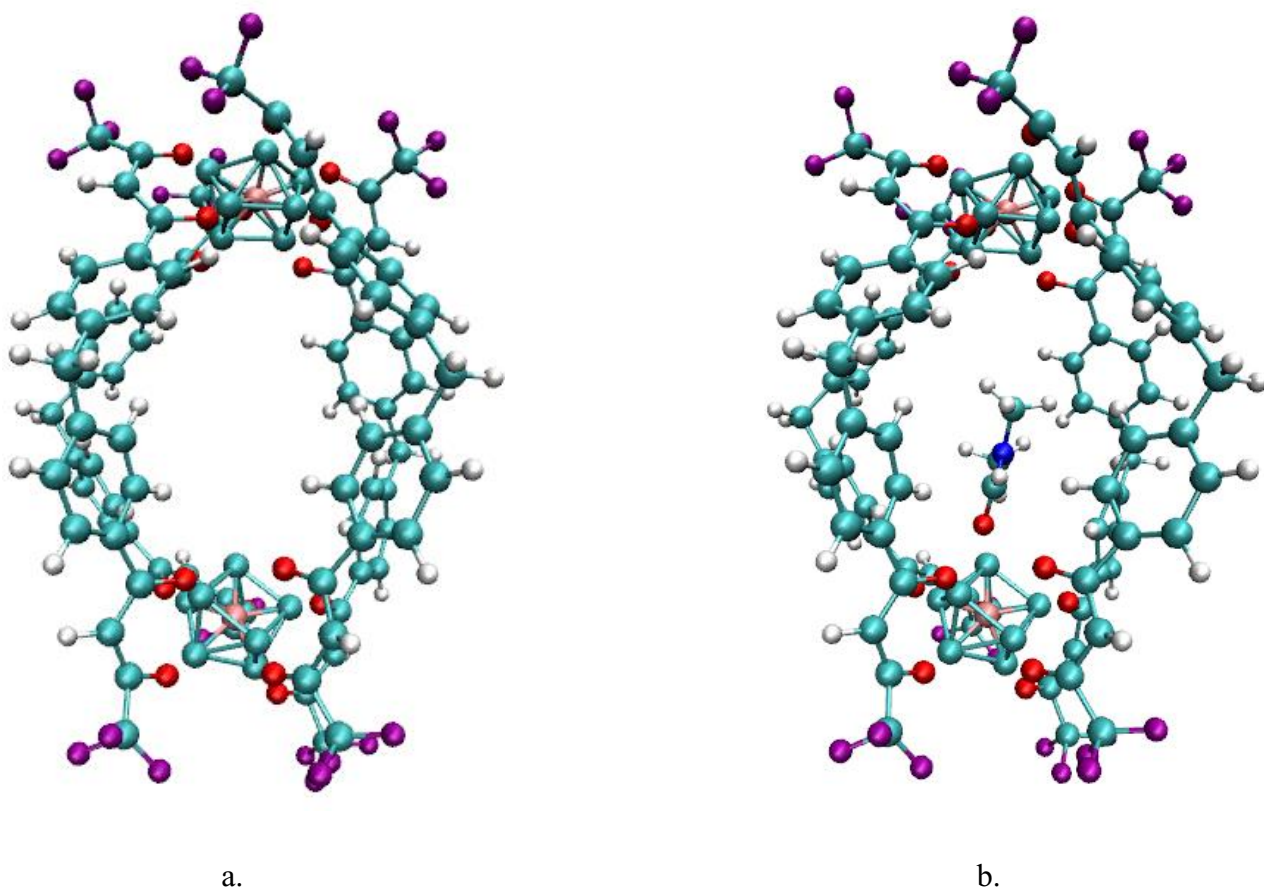


Figura 8: a. MONC vuota all'inizio della simulazione. b. MONC con una molecola di solvente nella cavità dopo 0.26 ns.

3.4 Calcolo dell'energia libera

Per il calcolo dell'energia libera di formazione si è preso spunto dal manuale di NAMD per le trasformazioni alchemiche, in cui per calcolare l'energia libera di formazione viene utilizzato il già citato metodo delle *free energy perturbations* (FEP).⁶⁴ Si è iniziato dal sistema costituito da uno ione La^{3+} e da un legante L^{M} prima di passare alla MONC, poiché per ottimizzare il protocollo computazionale si sono utilizzate le simulazioni del sistema più semplice dato che sono più veloci rispetto al caso della MONC. In un primo momento è stato utilizzato il medesimo ciclo termodinamico riportato nel manuale.⁶⁴

L'obiettivo finale è di ottenere l'energia libera di formazione per il complesso ML, che sarà pari a

$$\Delta G_{\text{binding}} = -\frac{1}{\beta} \ln K_a = \Delta G_{\text{annihl}}^{(1)} - \Delta G_{\text{annihl}}^{(2)} + \Delta G_{\text{rest}} \quad (13)$$

Dove $\Delta G_{binding}$ indica l'energia libera di formazione del complesso ML, $\Delta G_{annihl}^{(1)}$ indica la variazione di energia libera quando le interazioni elettrostatiche e di van der Waals dello ione vengono portate a 0 a partire dallo ione solvatato e $\Delta G_{annihl}^{(2)}$ indica la stessa cosa ma il punto di partenza è lo ione coordinato al legante. ΔG_{rest} indica la perdita di entropia traslazionale dovuta al fatto che si pongono dei vincoli posizionali sullo ione. Quest'ultimo contributo è stato calcolato vincolando il La^{3+} entro un certo volume, il quale è stato calcolato utilizzando il *software* Mathematica come riportato in appendice C, ottenuto in funzione della distanza tra gli atomi 3 e 2, dell'angolo formato dagli atomi 3,2,1 e dall'angolo diedro tra gli atomi 4,3,2,1.

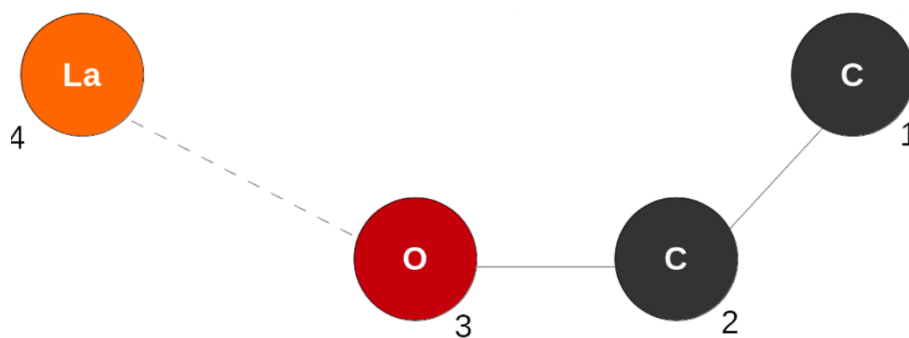


Figura 9: Numerazione degli atomi adottata nel calcolo del volume.

$$\Delta S = -\frac{1}{\beta} \ln (c_0 \Delta v) \quad (14)$$

Dove $\beta^{-1} = k_B T$, con k_B è la costante di Boltzmann e T la temperatura, c_0 è la concentrazione unitaria e Δv il volume effettivamente campionato. Per ottenere il contributo entropico si è fatto riferimento alle coordinate cartesiane, ma è stato necessario passare alle coordinate interne; inoltre, per ottenere l'elemento di volume campionato Δv , sono stati variati i tre parametri precedentemente citati al fine di ottenere il volume massimo e il volume minimo.

Gli intervalli entro cui tali grandezze possono variare sono stati ottenuti dall'analisi della simulazione eseguita: si sono ricavati i valori massimi e minimi assunti da ciascuna grandezza durante la simulazione, ed a ciascun minimo è stato sottratto il 5% e a ciascun massimo è stato aggiunto il 5%. Utilizzando il metodo FEP, sono state condotte delle simulazioni di dinamica molecolare sul complesso $[LaL^M]^+$: per ciascuna di queste, il punto di partenza era la conformazione del sistema dopo l'equilibratura. Successivamente, seguendo il metodo delle FEP, sono state eseguite delle simulazioni utilizzando il modulo COLVAR di NAMD per vincolare la distanza/angolo/diedro (metti

immagine di La, C, O, C) e delle trasformazioni alchemiche *forward*. Tali trasformazioni riguardano soltanto un gruppo di atomi, in questo caso lo ione lantanio e gli otto dummy atoms, e consistono nell'attivare le interazioni elettrostatiche e di Van der Waals. Il parametro che regola tale trasformazione è λ , che all'inizio è pari a zero, mentre alla fine della trasformazione è pari a 1. Per individuare il protocollo migliore, sono state effettuate diverse simulazioni variando $d\lambda$, il periodo di equilibratura che segue l'aggiornamento del valore di λ e il periodo di accumulo per il calcolo dell'energia libera, come riportato in Tabella 3.

Step di equilibratura	λ	Step di accumulo	ΔG (kcal/mol)
50	0.03125	200	-470
		500	-492
		1000	-564
50	0.01	200	-525
		500	-547
		1000	-580
50	0.005	200	-538
		500	-572
		1000	-587
		2000	-599
		3000	-602
		4000	-640
		5000	-620
500	0.005	1000	-605
1000	0.005	1000	-597

Tabella 2: Parametri per le simulazioni con il metodo FEP Parametri per le simulazioni con il metodo FEP utilizzati nell'ottimizzazione del protocollo.

Il protocollo che è risultato migliore ed è quindi stato utilizzato per le simulazioni consta di 1000 step di equilibratura e 1000 step di accumulo, variando $d\lambda$ di 0.005 considerando un bilanciamento tra tempo di calcolo e precisione del risultato accettabili rispetto alle risorse a disposizione.

Per calcolare l'energia libera di solvatazione dello ione La^{3+} è stata eseguita una simulazione di dinamica molecolare del sistema costituito dallo ione metallico, dagli otto *dummy atom* e da 210 molecole di DMF. Il numero di molecole di solvente, il PDB e il PSF sono stati ricavati in modo analogo a quanto detto precedentemente. La minimizzazione consta di 10000 step, per ogni grado di

riscaldamento (60 K-298 K) sono stati eseguiti 500 step e l'equilibratura ha una durata di 1 ns, con un timestep di 2 fs. La trasformazione forward è stata condotta quattro volte, ponendo $d\lambda$ pari $5 \cdot 10^{-3}$, eseguendo 1000 step di equilibratura e 1000 step di accumulo.

Per quanto concerne le simulazioni di dinamica molecolare e l'applicazione del metodo FEP per il calcolo dell'energia libera di Gibbs di formazione della MONC, è stato utilizzato il seguente ciclo termodinamico:

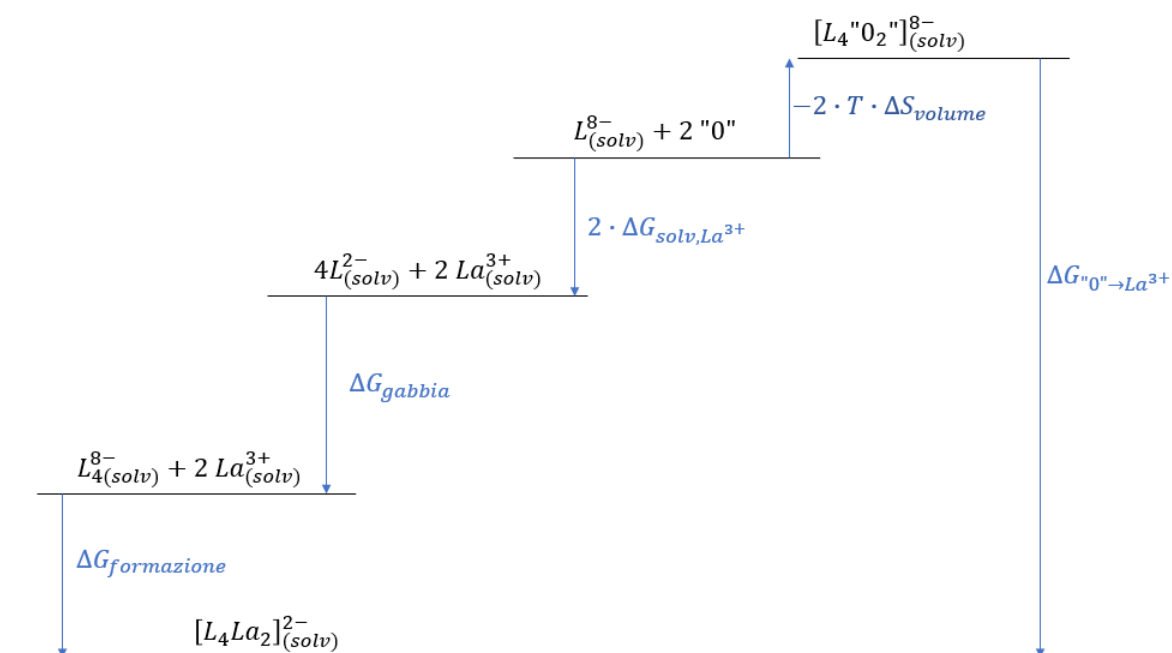


Figura 10: Ciclo termodinamico impiegato nel calcolo dell'energia libera di formazione di $[L_4La_2]_{(solv)}^{2-}$.

L'energia libera di formazione che si vuole calcolare risulta quindi:

$$\Delta G_{MONC} = \Delta G_{"O" \rightarrow La^{3+}} - 2 \cdot \Delta G_{solv,La^{3+}} + \Delta G_{gabbia} - 2 \cdot T \Delta S_{volume} \quad (15)$$

Rispetto al caso precedente appare il contributo $+\Delta G_{gabbia}$ che conta, *i*) la variazione di entalpia tra una configurazione in cui i 4 leganti sono organizzati a formare la nanocapsula e quella in cui sono infinitamente distanti, *ii*) la perdita di entropia roto-traslazionale che si verifica quando i quattro leganti "liberi" in soluzione assumono la conformazione che hanno nella MONC, e *iii*) l'aumento di

entropia dovuto al fatto che la gabbia costituita dai quattro leganti può ruotare e traslare (appendice D).⁷⁴

La simulazione del sistema costituito dai quattro leganti e 179 molecole di solvente è stata condotta come nei casi precedenti per la parte di minimizzazione, riscaldamento ed equilibrizzazione per una durata complessiva di 1 ns. La trasformazione *forward* è stata eseguita ponendo $d\lambda$ pari $5 \cdot 10^{-3}$, eseguendo 1000 step di equilibrizzazione, 1000 step di accumulo e vincolando, tramite un file COLVAR, le distanze tra gli atomi di carbonio che collegano i gruppi carbonilici. Gli intervalli di tali distanze sono stati ottenuti analizzando la traiettoria e considerando, per ciascuna distanza, il valore massimo e minimo e aggiungendo e togliendo, rispettivamente, il 5%. Similmente è stato fatto per la simulazione della MONC, in cui sono stati usati gli stessi parametri, anche per le COLVAR.

Sistema	ΔG (kcal/mol)
$\Delta G_{solv,La^{3+}}$	-527 ± 5
ΔG_{gabbia}	-202
$\Delta G_{"0" \rightarrow La^{3+}}$	-941 ± 13
$-2T\Delta S_{volume}$	-8.8

Tabella 3: Valori di energia libera ottenuti per ciascun sistema. ΔG_{gabbia} è un'energia libera a cui manca il contributo entropico roto-traslazionale, illustrato in appendice D.

Il risultato ottenuto è stato confrontato con il dato sperimentale disponibile nell'articolo di Rancan et al³⁵: utilizzando la costante di formazione della MONC pari a $6.40 \cdot 10^{17}$ si ottiene un'energia libera di formazione pari a -24.44 kcal/mol, il risultato computazionale è pari a -17.2 ± 13 kcal/mol, a cui corrisponde una costante di formazione pari a $3.4 \cdot 10^{12}$.

4. Conclusioni

In questo lavoro di Tesi è stata eseguita la parametrizzazione del campo di forze per i leganti L^M e L^B , introducendo nuovi *atom type* ad hoc (CGAC, HGAC, CGACO, OGAC) e ottimizzando la geometria, le cariche atomiche parziali e i parametri dei termini energetici di legame, angolo di legame e angolo diedro. Tale parametrizzazione è stata fatta ab initio, basata quindi su calcoli quantomeccanici, attraverso l'utilizzo del Force Field Toolkit di VMD. Questo software ha permesso di razionalizzare la procedura di parametrizzazione dei diversi gradi di libertà al fine di ottenere il *parameter file* e il *topology file* dei due leganti. Durante tale procedura si sono utilizzati anche altri software, principalmente Gaussian 16 per i calcoli condotti a livello quantomeccanico e NAMD per i calcoli eseguiti a livello MM. Utilizzando il cationic *dummy atom* model è stato parametrizzato anche il campo di forze del La^{3+} , per il quale è stato aggiunto un nuovo *atom type* (DA) e i corretti parametri di Lennard-Jones sono stati trovati confrontando le distanze lantanio-ossigeno ottenute variando i suddetti parametri con le distanze lantanio-ossigeno date dalla struttura della MONC ottenuta da calcoli DFT dalla prof.ssa Carlotto, del Dipartimento di Scienze Chimiche.³⁵

Sono state poi eseguite delle simulazioni di dinamica molecolare, utilizzando il software NAMD, sia del sistema semplificato ML (costituito, cioè, solo da uno ione La^{3+} e da un legante L^M), sia della MONC costituita da due ioni La^{3+} e dai quattro leganti L^M . Lo scopo di tali simulazioni è stato, da una parte, quello di ottimizzare il protocollo per il calcolo dell'energia libera di formazione della MONC. Dall'altro, quello di osservare proprietà *host-guest* della nanocapsula.

Per il calcolo dell'energia libera di formazione della MONC è stato utilizzato il metodo delle *free energy perturbation* e, a tale scopo, è stato necessario progettare un ciclo termodinamico apposito per questa struttura, che può essere utilizzato anche per altre MONC con struttura simile. La difficoltà era quella di considerare la formazione alchemica della capsula senza la presenza degli ioni metallici. Seguendo il metodo delle FEP, sono state condotte diverse simulazioni di dinamica molecolare utilizzando il modulo COLVAR di NAMD al fine di collezionare i dati necessari al calcolo dell'energia libera di formazione della MONC, in particolare è stata eseguita una simulazione per il solo ione La^{3+} con gli otto dummy atom, una dei solo quattro leganti e una della MONC.

Per osservare l'eventuale scambio di solvente all'interno della cavità della MONC è stata condotta una simulazione di dinamica molecolare di 20 ns.

Osservando il risultato ottenuto per l'energia libera di formazione della MONC, pari a $-17,2 \pm 13$ kcal/mol, si nota che il valore stimato si confronta bene con il dato sperimentale ottenuto dalla costante di formazione misurata tramite l'analisi degli spettri NMR, entro l'errore stimato per il metodo di calcolo utilizzato. Per le condizioni di calcolo adottate, l'errore associato alla stima

dell'energia libera di formazione è ± 13 kcal/mol, elevato rispetto alla precisione che di solito ci si attende da questi metodi, che non supera i ± 5 kcal/mol. Inoltre, si potrebbe migliorare il risultato ottenuto conducendo simulazioni di dinamica molecolare utilizzando un protocollo più lento, che porta ad una minor dissipazione del lavoro, ed effettuando simulazioni di durata più lunga; il metodo di Jarzynski potrebbe essere efficace a tale scopo. Si vuole anche far notare che per il calcolo del contributo ΔG_{gabbia} è stata utilizzata una formula empirica per la stima del contributo entropico. Una stima più accurata sarà necessaria una volta stabilito un protocollo di calcolo per i contributi derivanti dai calcoli FEP che diano un minor errore sulla stima dell'energia libera.

La simulazione di dinamica molecolare atomistica, in cui la MONC era stata inizialmente preparata con la cavità vuota, mostra che in 0.26 ns una molecola di solvente riesce ad entrare. Il singolo evento non può essere utilizzato per determinare informazioni sulla cinetica di inclusione del solvente. D'altra parte, questa osservazione mostra che la MONC $[\text{LaL}^{\text{M}}_4]^{2-}$ ha un'attività *host-guest* con il DMF e, plausibilmente, con molecole di simili dimensioni. Tale proprietà sarà indagata in futuro sia attraverso il calcolo di un maggiore numero di traiettorie più lunghe, per poter disporre di una statistica sui tempi di permanenza, sia con l'impiego di simulazioni di dinamica molecolare guidata per accedere al profilo di energia libera per l'ingresso dell'*host* nella cavità.

Appendice A

Sono riportati di seguito i nuovi *atom type* e i nuovi parametri ottenuti per il campo di forze dei due leganti organici.

RESI ACAC -1.00

GROUP

ATOM C2	CGAC	-0.31
ATOM C3	CGACO	0.23
ATOM C1	CGACO	0.23
ATOM H4	HGA3	0.09
ATOM H1	HGAC	0.12
ATOM C4	CG331	-0.38
ATOM O2	OGAC	-0.52
ATOM O1	OGAC	-0.52
ATOM C5	CG331	-0.38
ATOM H3	HGA3	0.09
ATOM H2	HGA3	0.09
ATOM H5	HGA3	0.09
ATOM H6	HGA3	0.09
ATOM H7	HGA3	0.09

RESI CF3 -1.00

GROUP

ATOM C3	CGAC	-0.32
ATOM C4	CGACO	0.25
ATOM C2	CGACO	0.25
ATOM C8	CG2R61	-0.149
ATOM H1	HGAC	0.049
ATOM C5	CG2R61	0.122
ATOM O2	OGAC	-0.50
ATOM O1	OGAC	-0.50
ATOM C1	CG302	0.39
ATOM H4	HGR61	0.113

ATOM C9 CG2R61 -0.166
ATOM F1 FGA3 -0.187
ATOM F3 FGA3 -0.187
ATOM F2 FGA3 -0.187
ATOM H5 HGR61 0.116
ATOM C10 CG2R61 -0.133
ATOM H6 HGR61 0.113
ATOM C6 CG2R61 -0.133
ATOM H2 HGR61 0.113
ATOM C7 CG2R61 -0.166
ATOM H3 HGR61 0.116

RESI LM -2.00

GROUP

ATOM H8 HGR61 0.115855
ATOM C3 CGAC -0.322838
ATOM C8 CG2R61 -0.035870
ATOM C4 CGACO 0.250299
ATOM C2 CGACO 0.250299
ATOM H1 HGAC 0.049729
ATOM O2 OGAC -0.503514
ATOM O1 OGAC -0.503514
ATOM C5 CG2R61 0.122449
ATOM C1 CG302 0.393235
ATOM F1 FGA3 -0.187247
ATOM F2 FGA3 -0.187247
ATOM F3 FGA3 -0.187247
ATOM C6 CG2R61 -0.1327
ATOM H2 HGR61 0.113217
ATOM C7 CG2R61 -0.165639
ATOM H3 HGR61 0.115855
ATOM C9 CG2R61 -0.165639
ATOM H4 HGR61 0.115855
ATOM C19 CGAC -0.322838

ATOM C18 CGACO 0.250299
ATOM C20 CGACO 0.250299
ATOM C12 CG2R61 -0.035870
ATOM H12 HGAC 0.049729
ATOM C15 CG2R61 0.122449
ATOM O3 OGAC -0.503514
ATOM O4 OGAC -0.503514
ATOM C21 CG302 0.393235
ATOM C11 CG321 -0.18
ATOM C13 CG2R61 -0.165639
ATOM F4 FGA3 -0.187247
ATOM F6 FGA3 -0.187247
ATOM F5 FGA3 -0.187247
ATOM C14 CG2R61 -0.1327
ATOM H9 HGR61 0.113217
ATOM C16 CG2R61 -0.1327
ATOM H10 HGR61 0.113217
ATOM C17 CG2R61 -0.165639
ATOM H11 HGR61 0.115855
ATOM H7 HGA2 0.09
ATOM H6 HGA2 0.09
ATOM C10 CG2R61 -0.1327
ATOM H5 HGR61 0.113217

RESI LB -2.00

GROUP

ATOM H8 HGR61 0.115855
ATOM C3 CGAC -0.322838
ATOM C8 CG2R61 0.053508
ATOM C4 CGACO 0.250299
ATOM C2 CGACO 0.250299
ATOM H1 HGAC 0.049729
ATOM O2 OGAC -0.503514

ATOM O1 OGAC -0.503514
ATOM C5 CG2R61 0.122449
ATOM C1 CG302 0.393235
ATOM F1 FGA3 -0.187247
ATOM F2 FGA3 -0.187247
ATOM F3 FGA3 -0.187247
ATOM C6 CG2R61 -0.1327
ATOM H2 HGR61 0.113217
ATOM C7 CG2R61 -0.165639
ATOM H3 HGR61 0.115855
ATOM C9 CG2R61 -0.165639
ATOM H4 HGR61 0.115855
ATOM C19 CGAC -0.322838
ATOM C18 CGACO 0.250299
ATOM C20 CGACO 0.250299
ATOM C12 CG2R61 0.053508
ATOM H12 HGAC 0.049729
ATOM C15 CG2R61 0.122449
ATOM O3 OGAC -0.503514
ATOM O4 OGAC -0.503514
ATOM C21 CG302 0.393235
ATOM C25 CG2R61 -0.089378
ATOM C13 CG2R61 -0.165639
ATOM F4 FGA3 -0.187247
ATOM F6 FGA3 -0.187247
ATOM F5 FGA3 -0.187247
ATOM C14 CG2R61 -0.1327
ATOM H9 HGR61 0.113217
ATOM C16 CG2R61 -0.1327
ATOM H10 HGR61 0.113217
ATOM C17 CG2R61 -0.165639
ATOM H11 HGR61 0.115855
ATOM C24 CG2R61 -0.115
ATOM H6 HGR61 0.115

ATOM C10 CG2R61 -0.1327
ATOM H5 HGR61 0.113217
ATOM C26 CG2R61 -0.115
ATOM H13 HGR61 0.115
ATOM C11 CG2R61 -0.115
ATOM H14 HGR61 0.115
ATOM C22 CG2R61 -0.089378
ATOM C23 CG2R61 -0.115
ATOM H7 HGR61 0.115

BONDS

CGACO CG331 246.18 1.5540
CGACO CGAC 397.74 1.4210
CGAC HGAC 359.82 1.0930
CGACO OGAC 714.02 1.2600
CGACO CG302 240.79 1.4970
CGACO CG2R61 230.70 1.4810

ANGLES

HGA3 CG331 CGACO 25.98 110.76
CG331 CGACO OGAC 119.77 117.53
CG331 CGACO CGAC 98.55 116.29
HGAC CGAC CGACO 89.49 118.04
OGAC CGACO CGAC 102.11 130.20
CGACO CGAC CGACO 87.77 126.86
FGA3 CG302 CGACO 178.43 111.61
CG302 CGACO CGAC 48.65 113.41
CG302 CGACO OGAC 57.17 111.69
CGACO CG2R61 CG2R61 1.56 119.44
OGAC CGACO CG2R61 97.82 119.83
CGAC CGACO CG2R61 59.56 117.08

DIHEDRALS

HGA3	CG331	CGACO	OGAC	2.9990	1	180.00
HGA3	CG331	CGACO	CGAC	3.0000	1	0.00
CG331	CGACO	CGAC	HGAC	2.9870	1	180.00
CG331	CGACO	CGAC	CGACO	3.0000	1	0.00
OGAC	CGACO	CGAC	HGAC	2.9960	1	0.00
OGAC	CGACO	CGAC	CGACO	2.9790	1	180.00
CGACO	CG2R61	CG2R61	CG2R61	2.1540	3	0.00
OGAC	CGACO	CG2R61	CG2R61	1.7960	2	180.00
CGACO	CGAC	CGACO	CG2R61	2.3690	1	180.00
CGACO	CGAC	CGACO	CG2R61	3.6230	2	180.00
CGAC	CGACO	CG2R61	CG2R61	0.1030	2	180.00
CG302	CGACO	CGAC	HGAC	4.1450	1	0.00
HGAC	CGAC	CGACO	CG2R61	5.4370	1	0.00
HGAC	CGAC	CGACO	CG2R61	4.9700	2	180.00
FGA3	CG302	CGACO	OGAC	2.9430	2	180.00
FGA3	CG302	CGACO	OGAC	2.4190	3	180.00
FGA3	CG302	CGACO	OGAC	2.9470	4	180.00
CGACO	CGAC	CGACO	CG302	3.1450	2	180.00
CGACO	CGAC	CGACO	CG302	1.8510	3	180.00
CGACO	CG2R61	CG2R61	HGR61	1.2390	1	0.00
CGAC	CGACO	CG302	FGA3	9.9580	2	180.00
CGAC	CGACO	CG302	FGA3	2.7350	3	180.00
CGAC	CGACO	CG302	FGA3	7.1190	4	180.00

LENNARD-JONES

HGAC	0.00	-0.0250	1.25000
CGAC	0.0	-0.0400	1.9300
CGACO	0.0	-0.0400	1.9300
OGAC	0.00	-0.1000	1.6500

Appendice B

Sono riportati di seguito i nuovi *atom type* e i nuovi parametri ottenuti per il campo di forze dello ione La^{3+} .

RESI LBD 3.00

GROUP

ATOM La1	LA	-1.000
ATOM DAA	DAA	0.500
ATOM DAB	DAB	0.500
ATOM DAC	DAC	0.500
ATOM DAD	DAD	0.500
ATOM DAE	DAE	0.500
ATOM DAF	DAF	0.500
ATOM DAG	DAG	0.500
ATOM DAH	DAH	0.500

BONDS

LA	DAA	250.00	1.2600
LA	DAB	250.00	1.2600
LA	DAC	250.00	1.2600
LA	DAD	250.00	1.2600
LA	DAE	250.00	1.2600
LA	DAF	250.00	1.2600
LA	DAG	250.00	1.2600
LA	DAH	250.00	1.2600
DAA	DAD	250.00	1.5660
DAA	DAE	250.00	1.5660
DAD	DAC	250.00	1.5620
DAC	DAE	250.00	1.5660
DAH	DAB	250.00	1.5270
DAH	DAF	250.00	1.5210
DAB	DAG	250.00	1.5160

DAF	DAG	250.00	1.5340
DAA	DAF	250.00	1.5670
DAA	DAH	250.00	1.4460
DAC	DAB	250.00	1.5750
DAC	DAG	250.00	1.4460
DAD	DAF	250.00	1.4440
DAD	DAG	250.00	1.5830
DAE	DAB	250.00	1.4440
DAE	DAH	250.00	1.5790

ANGLES

LA	DAH	DAF	250.000	52.883
LA	DAH	DAE	250.000	51.176
LA	DAH	DAB	250.000	52.674
LA	DAH	DAA	250.000	54.979
LA	DAG	DAF	250.000	52.515
LA	DAG	DAD	250.000	51.124
LA	DAG	DAC	250.000	54.975
LA	DAG	DAB	250.000	52.983
LA	DAF	DAH	250.000	52.869
LA	DAF	DAG	250.000	52.497
LA	DAF	DAD	250.000	55.075
LA	DAF	DAA	250.000	51.550
LA	DAE	DAH	250.000	51.216
LA	DAE	DAC	250.000	51.599
LA	DAE	DAB	250.000	55.002
LA	DAE	DAA	250.000	51.572
LA	DAD	DAG	250.000	51.095
LA	DAD	DAF	250.000	55.061
LA	DAD	DAC	250.000	51.690
LA	DAD	DAA	250.000	51.560
LA	DAC	DAG	250.000	54.983
LA	DAC	DAE	250.000	51.568

LA	DAC	DAD	250.000	51.727
LA	DAC	DAB	250.000	51.275
LA	DAB	DAH	250.000	52.731
LA	DAB	DAG	250.000	53.038
LA	DAB	DAE	250.000	55.018
LA	DAB	DAC	250.000	51.319
LA	DAA	DAH	250.000	54.994
LA	DAA	DAF	250.000	51.577
LA	DAA	DAE	250.000	51.544
LA	DAA	DAD	250.000	51.601
DAA	DAH	DAF	250.000	63.684
DAA	DAH	DAE	250.000	62.188
DAA	DAH	DAB	250.000	103.347
DAA	DAF	DAH	250.000	55.817
DAA	DAF	DAG	250.000	102.417
DAA	DAF	DAD	250.000	62.549
DAA	DAE	DAH	250.000	54.737
DAA	DAE	DAC	250.000	89.934
DAA	DAE	DAB	250.000	101.489
DAA	DAD	DAG	250.000	100.273
DAA	DAD	DAF	250.000	62.580
DAA	DAD	DAC	250.000	90.065
DAA	LA	DAH	250.000	70.027
DAA	LA	DAG	250.000	147.127
DAA	LA	DAF	250.000	76.873
DAA	LA	DAE	250.000	76.883
DAA	LA	DAD	250.000	76.839
DAA	LA	DAC	250.000	122.879
DAA	LA	DAB	250.000	135.611
DAB	DAH	DAF	250.000	90.297
DAB	DAH	DAE	250.000	55.398
DAB	DAG	DAF	250.000	90.217
DAB	DAG	DAD	250.000	102.338
DAB	DAG	DAC	250.000	64.205

DAB	DAE	DAH	250.000	60.463
DAB	DAE	DAC	250.000	62.965
DAB	DAC	DAG	250.000	60.042
DAB	DAC	DAE	250.000	54.754
DAB	DAC	DAD	250.000	100.615
DAB	LA	DAH	250.000	74.595
DAB	LA	DAG	250.000	73.979
DAB	LA	DAF	250.000	118.092
DAB	LA	DAE	250.000	69.980
DAB	LA	DAD	250.000	146.671
DAB	LA	DAC	250.000	77.407
DAC	DAG	DAF	250.000	103.013
DAC	DAG	DAD	250.000	61.894
DAC	DAE	DAH	250.000	100.465
DAC	DAD	DAG	250.000	54.758
DAC	DAD	DAF	250.000	101.784
DAC	DAB	DAH	250.000	102.366
DAC	DAB	DAG	250.000	55.754
DAC	DAB	DAE	250.000	62.281
DAC	LA	DAH	250.000	147.099
DAC	LA	DAG	250.000	70.042
DAC	LA	DAF	250.000	135.573
DAC	LA	DAE	250.000	76.833
DAC	LA	DAD	250.000	76.584
DAD	DAG	DAF	250.000	55.155
DAD	DAF	DAH	250.000	103.765
DAD	DAF	DAG	250.000	64.126
DAD	DAC	DAG	250.000	63.348
DAD	DAC	DAE	250.000	90.096
DAD	DAA	DAH	250.000	101.448
DAD	DAA	DAF	250.000	54.871
DAD	DAA	DAE	250.000	89.906
DAD	LA	DAH	250.000	135.496
DAD	LA	DAG	250.000	77.781

DAD	LA	DAF	250.000	69.864
DAD	LA	DAE	250.000	122.868
DAE	DAH	DAF	250.000	102.234
DAE	DAC	DAG	250.000	101.265
DAE	DAB	DAH	250.000	64.139
DAE	DAB	DAG	250.000	103.786
DAE	DAA	DAH	250.000	63.075
DAE	DAA	DAF	250.000	100.770
DAE	LA	DAH	250.000	77.608
DAE	LA	DAG	250.000	135.216
DAE	LA	DAF	250.000	146.600
DAF	DAD	DAG	250.000	60.718
DAF	DAA	DAH	250.000	60.499
DAF	LA	DAH	250.000	74.248
DAF	LA	DAG	250.000	74.988
DAG	DAF	DAH	250.000	89.495
DAG	DAB	DAH	250.000	89.983
DAG	LA	DAH	250.000	117.185

DIHEDRALS

LA * * * 0.0000 1 0.00

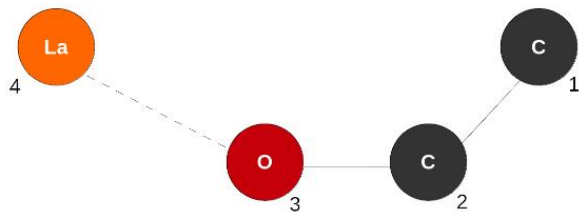
* LA * *

LENNARD-JONES

LA 0.0 -0.1899 2.1000

Appendice C

Si riporta di seguito il calcolo del volume eseguito con il software Mathematica.



$$r_1 = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix};$$

$$B_1 = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 0 & -R_{21} \\ 0 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix};$$

$$B_2 = \begin{pmatrix} -\text{Cos}[a_{321}] & -\text{Sin}[a_{321}] & 0 & -R_{32} \text{Cos}[a_{321}] \\ \text{Sin}[a_{321}] & -\text{Cos}[a_{321}] & 0 & R_{32} \text{Sin}[a_{321}] \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix};$$

$$B_3 = \begin{pmatrix} -\text{Cos}[\theta] & -\text{Sin}[\theta] & 0 & -d \text{Cos}[\theta] \\ \text{Sin}[\theta] \times \text{Cos}[\phi] & -\text{Cos}[\theta] \times \text{Cos}[\phi] & -\text{Sin}[\theta] & d \text{Sin}[\theta] \times \text{Cos}[\phi] \\ \text{Sin}[\theta] \times \text{Sin}[\phi] & -\text{Cos}[\theta] \times \text{Sin}[\phi] & \text{Cos}[\theta] & d \text{Sin}[\theta] \times \text{Sin}[\phi] \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix};$$

`r4 = B3.B2.B1.r1;`

`Print["Cartesian coordinates of La with respect to a frame centered on C1 atom:"];`

`r4 // Simplify // MatrixForm`

`r4 // Simplify // MatrixForm`

`x := Part[r4[[1]], 1];`

`y := Part[r4[[2]], 1];`

`z := Part[r4[[3]], 1];`

`J = ResourceFunction["JacobianMatrix"][{x, y, z}, {d, theta, phi}];`

`Print["Jacobian of the transformation:"];`

`J // Simplify // MatrixForm`

`Print["Determinant of the Jacobian:"]`

`f = Det[J] // Simplify`

`d_min = 1.93; d_max = 2.45;`

`theta_min = 117 $\frac{\pi}{180}$; theta_max = 162 $\frac{\pi}{180}$;`

`phi_min = -66 $\frac{\pi}{180}$; phi_max = 62 $\frac{\pi}{180}$;`

`Print["Volume:"];`

`V = - $\int_{\theta_{\min}}^{\theta_{\max}} \left(\int_{\phi_{\min}}^{\phi_{\max}} \left(\int_{d_{\min}}^{d_{\max}} f \, dd \right) d\theta \right) d\phi$`

`Manipulate[V // Evaluate, {R21, 1.29, 1.53}, {R32, 1.18, 1.35}, {a321, $\frac{111\pi}{180}$, $\frac{132\pi}{180}$ }]`

`(*NIntegrate[Abs[f], {d, d_min, d_max}, {theta, theta_min, theta_max}, {phi, phi_min, phi_max}]) (* Uncomment the line for numerical integration *)`

Appendice D

Per il calcolo del contributo entropico del termine ΔG_{gabbia} si è considerata la perdita di entropia roto-traslazionale che si verifica quando i quattro leganti “liberi” in soluzione assumono la conformazione che hanno nella MONC e l’aumento di entropia dovuto al fatto che la gabbia costituita dai quattro leganti può ruotare e traslare. Tale contributo è stato ottenuto utilizzando delle espressioni empiriche trovate in letteratura.⁷⁴

La perdita di entropia roto-traslazionale del legante è data dall’equazione:

$$\Delta S_{leg} \approx [A + B \cdot R \ln(MM_{leg})] \quad (D.1)$$

Dove A e B non sono funzioni del peso molecolare, ma dipendono dalla forma della molecola considerata. Da un’analisi condotta su 1500 composti in condizioni standard è stato visto che $A \approx 57 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ e $B \approx 5$. MM_{leg} indica il peso molecolare di un solo legante, che è pari a 442.23 g/mol, e R è la costante dei gas in $\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$.

L’aumento di entropia roto-traslazionale dovuta al fatto che la MONC è libera di ruotare e traslare è dato dall’equazione:

$$\Delta S_{leg_4} \approx [A + B \cdot R \ln(4 \cdot MM_{leg})] \quad (D.2)$$

Dove A, B e R sono analoghi ai parametri descritti in precedenza, in questo caso si considera la massa dei quattro leganti.

Il contributo entropico complessivo pertanto risulta:

$$\Delta S = \Delta S_{leg_4} - 4 \cdot \Delta S_{leg} \quad (D.3)$$

Eseguendo i calcoli si ottiene che ΔS è pari a $-873.01 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$, sostituendo nell’espressione il valore riportato in Tabella 4

$$\Delta G_{gabbia} = \Delta H - T \cdot \Delta S \quad (D.4)$$

Eseguendo i calcoli, ΔG_{gabbia} risulta pari a $-139,79 \text{ kcal/mol}$.

Bibliografía

1. Amouri, H., Desmarets, C., & Moussa, J. (2012). Confined nanospaces in metallocages: Guest molecules, weakly encapsulated anions, and catalyst sequestration. *Chem. Rev.*, *112*, 2015–2041.
2. Fujita, M., & Ogura, K. (1995). Transition-metal-directed assembly of well-defined organic architectures possessing large voids: from macrocycles to [2] catenanes. *Coord. Chem. Rev.*, *148*, 250-264.
3. Leininger, S., Olenyuk, B., & Stang, P. J. (2000). Self-Assembly of Discrete Cyclic Nanostructures Mediated by Transition Metals. *Chem. Rev.*, *100*, 853–907.
4. Ronson, T. K., Zarra, S., Black, S. P., & Nitschke, J. R. (2013). Metal–organic container molecules through subcomponent self-assembly. *Chem. Comm.*, *49*, 2476–2490.
5. Jin, P., Dalgarno, S. J., & Atwood, J. L. (2010). Mixed metal-organic nanocapsules. *Coord. Chem. Rev.*, *254*, 60–1768.
6. Dalgarno, S. J., Power, N. P., Warren, J. E., & Atwood, J. L. (2008). Rapid formation of metal-organic nano-capsules gives new insight into the self-assembly process. *Chem. Comm.*, *13*, 1539–1541.
7. Percástegui, E. G., Ronson, T. K., & Nitschke, J. R. (2020). Design and Applications of Water-Soluble Coordination Cages. *Chem. Rev.*, *120*, 13480–13544.
8. Zhu, F. F., Chen, L. J., Chen, S., Wu, G. Y., Jiang, W. L., Shen, J. C., Qin, Y., Xu, L., & Yang, H. B. (2020). Confinement Self-Assembly of Metal-Organic Cages within Mesoporous Carbon for One-Pot Sequential Reactions. *Chem*, *6*, 2395–2406.
9. Zarra, S., Wood, D. M., Roberts, D. A., & Nitschke, J. R. (2015). Molecular containers in complex chemical systems. In *Chem. Soc. Rev.*, *44*, 419–432.
10. Percástegui, E. G., Mosquera, J., & Nitschke, J. R. (2017). Anion Exchange Renders Hydrophobic Capsules and Cargoes Water-Soluble. *Angew. Chem.*, *129*, 9264–9268.
11. Chakrabarty, R., Mukherjee, P. S., & Stang, P. J. (2011). Supramolecular coordination: Self-assembly of finite two- and three-dimensional ensembles. *Chem. Rev.*, *111*, 6810–6918.
12. Cook, T. R., & Stang, P. J. (2015). Recent Developments in the Preparation and Chemistry of Metallacycles and Metallacages via Coordination. *Chem. Rev.*, *115*, 7001–704.
13. Dalgarno, S. J., Power, N. P., & Atwood, J. L. (2008). Metallo-supramolecular capsules. In *Coord. Chem. Rev.*, *252*, 825–841.

14. Whitesides, G. M., & Boncheva, M. (2002). Beyond molecules: Self-assembly of mesoscopic and macroscopic components., *PNAS*, *99*, 4769–4774.
15. Whitesides, G. M., & Grzybowski, B. (2002). Self-assembly at all scales. *Science*, *295*, 2418–2421.
16. Fan, T., Yu, X., Shen, B., & Sun, L. (2017). Peptide Self-Assembled Nanostructures for Drug Delivery Applications., *J. Nanomater.*, 2017.
17. Hirst, A. R., Escuder, B., Miravet, J. F., & Smith, D. K. (2008). High-tech applications of self-assembling supramolecular nanostructured gel-phase materials: From regenerative medicine to electronic devices. *Angew. Chem. Int. Ed.*, *47*, 8002–8018.
18. Pullen, S., Tessarolo, J., & Clever, G. H. (2021). Increasing structural and functional complexity in self-assembled coordination cages. *Chem. Sci.*, *12*, 7269–7293.
19. Yoneya, M., Yamaguchi, T., Sato, S., & Fujita, M. (2012). Simulation of metal-ligand self-assembly into spherical complex M6L8. *J. Am. Chem. Soc.*, *134*, 14401–14407.
20. Siringhaus, H., Kawase, T., Friend, R. H., Shi-modu, T., Inbasekaran, M., Wu, W. & Woo, E. P.(2000). *Science*, *290*, 2123–2126.
21. Jenekhe, S. A. & Chen, L. X. (1999). *Science*, *283*,372–375.
22. Lieber, C. M. (2001). *Sci. Am.*, *285*, 58–64.
23. Karplus, M., McCammon, A., (2002). Molecular dynamics simulations of biomolecules. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, *9*, 646-652.
24. Maginn, E. J., & Elliott, J. R. (2010). Historical perspective and current outlook for molecular dynamics as a chemical engineering tool. *Ind. Eng. Chem. Res.*, *49*, 3059–3078.
25. Hollingsworth, S. A., & Dror, R. O. (2018). Molecular Dynamics Simulation for All. *Neuron*, *99*,1129–1143.
26. Allen, M. P., Tildesley, D. J., Computer simulation of liquids., Oxford University Press, New York (2017).
27. Allen, M.P., Computational soft matter : from synthetic polymers to proteins; Winter School, 29 February - 6 March 2004, Gustav-Stresemann-Institut, Bonn, Germany.
28. Metropolis, N.; Rosenbluth, A. W.; Rosenbluth, M. N.; Teller, A. H.; Teller, E. J. (1953). *Chem. Phys.*, *21*, 1087-1092.
29. van Gunsteren, W. F., & Berendsen, H. J. C. (1990). Computer Simulation of Molecular Dynamics: Methodology, Applications, and Perspectives in Chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed.*, *29*, 992–1023.
30. Alder, B. J., & Wainwright, T. E. (1957). Phase transition for a hard sphere system. *J. Chem. Phys.*, *27*, 1208–1209.

31. Alder, B. J., & Wainwright, T. E. (1959). Studies in molecular dynamics. I. General method. *J. Chem. Phys.*, *31*, 459–466.
32. Rahman A. (1964), *Phys. Rev*, *136*, 405-411.
33. Rahman, A., & Stillinger, F. H. (1971). Molecular dynamics study of liquid water. *J. Chem. Phys.*, *55*, 3442–3449.
34. van de Waterbeemd, H., Carter, R. E., Grassy, G., Kubinyi, H., Martin, Y. C., Tute, M. S. and Willett, P. (1997) "Glossary of terms used in computational drug design (IUPAC Recommendations 1997)" *Pure Appl. Chem.*, *69*,1137-1152.
35. Rancan, M., Tessarolo, J., Carlotto, A., Carlotto, S., Rando, M., Barchi, L., Bolognesi, E., Seraglia, R., Bottaro, G., Casarin, M., Clever, G. H., & Armelao, L. (2022). Adaptive helicity and chiral recognition in bright europium quadruple-stranded helicates induced by host-guest interaction. *Cell Reports Physical Science*, *3*.
36. Tarzia, A., & Jelfs, K. E. (2022). Unlocking the computational design of metal-organic cages. *Chem. Comm.*, *58*, 3717–3730.
37. Piskorz, T. K., Martí-Centelles, V., Young, T. A., Lusby, P. J., & Duarte, F. (2022). Computational Modeling of Supramolecular Metallo-organic Cages-Challenges and Opportunities. *ACS Catalysis*, 5806–5826.
38. Jiang, Y., Zhang, H., Cui, Z., & Tan, T. (2017). Modeling Coordination-Directed Self-Assembly of M2L4 Nanocapsule Featuring Competitive Guest Encapsulation. *J. Phys. Chem. Lett.*, *8*, 2082–2086.
39. Yoneya, M., Tsuzuki, S., Yamaguchi, T., Sato, S., & Fujita, M. (2014). Coordination-directed self-assembly of M12L24 nanocage: Effects of kinetic trapping on the assembly process. *ACS Nano*, *8*, 1290–1296.
40. Juber, S., Wingbermhühle, S., Nuernberger, P., Clever, G. H., & Schäfer, L. v. (2021). Thermodynamic driving forces of guest confinement in a photoswitchable cage. *PCCP*, *23*, 7321–7332.
41. Holden, D., Jelfs, K. E., Cooper, A. I., Trewin, A., & Willock, D. J. (2012). Bespoke force field for simulating the molecular dynamics of porous organic cages. *J. Phys. Chem. C*, *116*, 16639–16651.
42. Jiang, Y., Zhang, H., Cui, Z., & Tan, T. (2017). Modeling Coordination-Directed Self-Assembly of M2L4 Nanocapsule Featuring Competitive Guest Encapsulation. *J. Phys. Chem. Lett.*, *8*(9), 2082–2086.
43. Sciortino, G., Norjmaa, G., Maréchal, J. D., & Ujaque, G. (2022). Catalysis by Metal–Organic Cages: A Computational Perspective. *Supramol. Cat.*, 271–285.

44. Mey, A. S. J. S., Allen, B. K., Bruce Macdonald, H. E., Chodera, J. D., Hahn, D. F., Kuhn, M., Michel, J., Mobley, D. L., Naden, L. N., Prasad, S., Rizzi, A., Scheen, J., Shirts, M. R., Tresadern, G., & Xu, H. (2020). Best Practices for Alchemical Free Energy Calculations *LiveComMs*, 2.
45. Jorgensen, W. L., & Thomas, L. L. (2008). Perspective on free-energy perturbation calculations for chemical equilibria. *J. Chem. Theory Comput.*, 4, 869–876.
46. Williams-Noonan, B. J., Yuriev, E., & Chalmers, D. K. (2018). Free Energy Methods in Drug Design: Prospects of “alchemical Perturbation” in Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.*, 61, 638–649.
47. Shivakumar, D., Williams, J., Wu, Y., Damm, W., Shelley, J., & Sherman, W. (2010). Prediction of absolute solvation free energies using molecular dynamics free energy perturbation and the oplis force field. *J. Chem. Theory Comput.*, 6, 1509–1519.
48. Chodera, J. D., Mobley, D. L., Shirts, M. R., Dixon, R. W., Branson, K., & Pande, V. S. (2011). Alchemical free energy methods for drug discovery: Progress and challenges. In *COSB*, 21, 150–160.
49. Pappalardo, M., Milardi, D., Grasso, D. M., & la Rosa, C. (2003). Free energy perturbation and molecular dynamics calculations of copper binding to azurin. *J. Comput. Chem.*, 24, 779–785.
50. Oostenbrink, C., & van Gunsteren, W. F. (2004). Free Energies of Binding of Polychlorinated Biphenyls to the Estrogen Receptor from a Single Simulation. *Proteins: Struct. Funct. Genet.*, 54, 237–246.
51. Postma, J. P. M.; Berendsen, H. J. C.; Haak, J. R. Thermodynamics of Cavity Formation in Waters A Molecular Dynamics Study. *Faraday Symp. Chem. Soc.* 1982, 17, 55–67.
52. Saxena, A., & Sept, D. (2013). Multisite ion models that improve coordination and free energy calculations in molecular dynamics simulations. *J. Chem. Theory Comput.*, 9, 3538–3542.
53. Roccatano, D. La simulazione di dinamica molecolare, 2015.
54. Vanommeslaeghe, K., & MacKerell, A. D. (2012). Automation of the CHARMM general force field (CGenFF) I: Bond perception and atom typing. *J. Chem. Info. and Model.*, 52, 3144–3154.
55. C.G. Mayne, J. Saam, K. Schulten, E. Tajkhorshid, and J.C. Gumbart. (2013), *J. Comput. Chem*, 34, 2757–2770
56. Vanommeslaeghe, K., Hatcher, E., Acharya, C., Kundu, S., Zhong, S., Shim, J., Darian, E., Guvench, O., Lopes, P., Vorobyov, I., & Mackerell, A. D. (2010). CHARMM general force

- field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. *J. Comput. Chem.*, *31*, 671–690.
57. Mackerell, A. D. (2004). Empirical force fields for biological macromolecules: Overview and issues. *J. Comput. Chem.*, 1584–1604.
 58. Vanommeslaeghe, K., Raman, E. P., & MacKerell, A. D. (2012). Automation of the CHARMM General Force Field (CGenFF) II: Assignment of Bonded Parameters and Partial Atomic Charges. *J. Chem. Inf. Model*, *52*, 3155–3168.
 59. Forrette, J. E.; Lanterman, E. (1964). The Urey Bradley Force Field: Its Significance and Application. *Appl. Spectrosc.*, *9*, 158–168.
 60. Duarte, F., Bauer, P., Barrozo, A., Amrein, B. A., Purg, M., Åqvist, J., & Kamerlin, S. C. L. (2014). Force field independent metal parameters using a nonbonded dummy model. *J. Phys. Chem. B*, *118*, 4351–4362.
 61. Bayly, C. I., Cieplak, P., Cornell, W. D., & Kollman, P. A. (1993). A Well-Behaved Electrostatic Potential Based Method Using Charge Restraints for Deriving Atomic Charges: The RESP Model. *J. Phys. Chem*, *97*.
 62. Schauerl, M., Nerenberg, P. S., Jang, H., Wang, L. P., Bayly, C. I., Mobley, D. L., & Gilson, M. K. (2020). Non-bonded force field model with advanced restrained electrostatic potential charges (RESP2). *Comm. Chem.*, *3*.
 63. L. Verlet, (1967). Computer experiments on classical fluids. I. Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules, *Phys. Rev.*, *98*.
 64. Phillips, J. C., Hardy, D. J., Maia, J. D. C., Stone, J. E., Ribeiro, J. v., Bernardi, R. C., Buch, R., Fiorin, G., Héning, J., Jiang, W., McGreevy, R., Melo, M. C. R., Radak, B. K., Skeel, R. D., Singharoy, A., Wang, Y., Roux, B., Aksimentiev, A., Luthey-Schulten, Z., ... Tajkhorshid, E. (2020). Scalable molecular dynamics on CPU and GPU architectures with NAMD. *Chem. Phys.*, *153*.
 65. G. Fiorin, M. L. Klein, and J. H'ening. (2013). Using collective variables to drive molecular dynamics simulations. *Mol. Phys.*, *111*, 3345–3362.
 66. Maragliano, L., Vanden-Eijnden, E. (2006) *Chem. Phys. Lett.*, *426*, 168-175.
 67. A. D. MacKerell, Jr., D. Bashford, M. Bellott, R. L. Dunbrack, Jr., J. D. Evanseck, M. J. Field, S. Fischer, J. Gao, H. Guo, S. Ha, D. Joseph, L. Kuchnir, K. Kuczera, F. T. K. Lau, C. Mattos, S. Michnick, T. Ngo, D. T. Nguyen, B. Prodhom, I. W. E. Reiher, B. Roux, M. Schlenkrich, J. Smith, R. Stote, J. Straub, M. Watanabe, J. Wiorkiewicz-Kuczera, D. Yin, and M. Karplus. (1998). All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins. *J. Phys. Chem. B*, *102*, 3586–3616.

68. W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, Jr., D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell, and P. A. Kollman. , (1995). A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. *J. Am. Chem. Soc.*, *117*, 5179–5197.
69. W.J. Jorgensen and J. Tirado-Rives. (1988). The OPLS potential functions for protein energy minimization for crystals of cyclic peptides and crambin. *J. Am. Chem. Soc.*, *110*, 1657–1666.
70. C. Oostenbrink, A. Villa, A.E. Mark, and W.F. van Gunsteren. (2004). A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: The GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6. *J. Comp. Chem.*, *25*, 1656–1676,
71. Chipot, C., & Pearlman, D. A. (2002). Free energy calculations. The long and winding gilded road. *Mol. Simul.*, *28*, 1–12.
72. Axelsen, P. H., & Li, D. (1998). Improved convergence in dual-topology free energy calculations through use of harmonic restraints. *J. Comput. Chem.*, *19*, 1278–1283.
73. Li, P., Song, L. F., & Merz, K. M. (2015). Parameterization of highly charged metal ions using the 12-6-4 LJ-type nonbonded model in explicit water. *J. Phys. Chem. B*, *119*, 883–895.
74. Murray, C. W., & Verdonk, M. L. (2002). The consequences of translational and rotational entropy lost by small molecules on binding to proteins. *J. Comput. Aided Mol. Des.*, *16*.
75. Humphrey, W., Dalke, A. and Schulten, (1996). K., VMD - Visual Molecular Dynamics, *J. Molec. Graph.*, *14*, 33-38.
76. Gaussian 16, Revision C.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.