

POLITECNICO DI MILANO

Facoltà di Ingegneria dei Processi Industriali

Dipartimento di Chimica, Materiali e Ingegneria Chimica
“Giulio Natta”



**STUDIO DELL'IMPATTO DELLA DINAMICA
INTRAMOLECOLARE SULLA CINETICA
MEDIANTE PERTURBAZIONE DELL'ENERGIA LIBERA**

Relatore: Prof. Carlo CAVALLOTTI

Tesi di Laurea Magistrale in Ingegneria Chimica di:

Daniele ONGARI

Matr. 800923

Anno Accademico 2013 - 2014

*Un uomo, dopo aver passato la serata a bere con gli amici,
si accorge rientrando di aver perso le chiavi di casa
e si mette a cercarle nel fascio di luce dell'unico lampione lungo la strada.
«Perché cerchi proprio lì?» domanda stupito un passante.
«Perché è l'unico posto in cui riesco a vedere qualcosa!» risponde sorridendo l'ubriaco.*

Indice

Introduzione	1
Capitolo 1: Stato dell'arte	3
1.1 Il polistirene e la polimerizzazione radicalica	3
1.1.1 La reazione di backbiting	4
1.1.2 Interesse per il processo di polimerizzazione ad alta temperatura dello stirene	5
1.2 Analisi statistica delle configurazioni estese	6
1.2.1 Successo dell'approccio QM/MM	6
1.2.2 Stima della velocità di reazione e problema conformazionale	8
1.2.3 Protocollo utilizzato per questo lavoro	9
1.3 Obiettivi del lavoro	10
Capitolo 2: Metodi computazionali	12
2.1 Metodi usati per calcolare la correzione conformazionale statistica	12
2.1.1 Campo di Forze	13
2.1.2 Costruzione della topologia	17
2.1.3 <i>Restrained Electrostatic Potential</i> (RESP)	18
2.1.4 Box di simulazione: <i>Packmol</i> e condizioni al contorno periodiche	19
2.1.5 Potenziale di forza media	20
2.1.6 <i>Umbrella Sampling</i> e WHAM	21
2.1.7 Metadinamica	22
2.2 Stima dei parametri per la TST	29

Capitolo 3: Risultati	30
3.1 Topologia del polistirene	30
3.1.1 Scan rotazionale 1	33
3.1.2 Scan rotazionale 2	34
3.1.3 Scan rotazionale 3	35
3.2 Topologia dello stirene e dell'alcol benzilico	36
3.3 Calcolo della PMF	38
3.3.1 Metodo WHAM	38
3.3.2 Utilizzo della Metadinamica	42
3.3.3 Utilizzo dell'algoritmo <i>Reweight</i>	44
3.3.4 PMF calcolate per i vari sistemi	44
3.4 Struttura dello stato precursore	47
3.4.1 Calcolo della correzione conformazionale statistica	50
3.5 Calcolo dell'energia e della funzione di partizione con metodi QM	50
3.6 Stima finale delle costanti cinetiche di reazione	51
3.7 Confronto dei risultati con lavori precedenti	54
Conclusioni	59
Appendice	61
Bibliografia	65

Introduzione

I recenti sviluppi nel campo della modellazione computazionale quantistica delle molecole permettono l'applicazione della teoria dello stato di transizione al fine di calcolare le costanti cinetiche per classi di reazioni sempre più vaste. Il progressivo aumento della potenza dei calcolatori favorisce sia lo sviluppo e l'utilizzo di metodi quantistici sempre più accurati sia la modellazione di molecole contenenti un numero sempre maggiore di elettroni.

La modellazione computazionale quantistica si rivela dunque un valido strumento anche nel campo della polimerizzazione, caratterizzata da molecole organiche composte da un elevato numero di atomi.

L'indagine sulla reattività di catene polimeriche tuttavia solleva una nuova problematica. Esse presentano un'elevata mobilità interna data dalla torsione dei numerosi legami carbonio - carbonio di cui sono composte, cosa che le porta ad assumere un elevato numero di conformazioni geometriche: qual è dunque la dipendenza tra il fenomeno reattivo e la conformazione assunta dalla molecola?

Numerose teorie sono state sviluppate per andare oltre questo problema. Principalmente si è cercato di modellare le torsioni, viste dal software come oscillazioni a bassa frequenza attorno allo stato di equilibrio di minimo energetico, non come oscillazioni armoniche ma in qualità di rotori vincolati da un potenziale che ne ostacola la rotazione libera. I limiti pratici di questo tipo di modello appaiono presto evidenti: ogni legame carbonio - carbonio è caratterizzato da un'energia torsionale dipendente però non solo dall'angolo diedro che caratterizza quel legame ma dal valore degli angoli diedri di tutti i legami della catena. Si tratta dunque di un potenziale n -dimensionale (con n numero dei diedri considerati) la cui stima risulta troppo onerosa per metodi quantistici attuali. Per poter procedere con i calcoli si ipotizza necessariamente che ciascun potenziale sia monodimensionale, cioè dipenda solamente dalla torsione del legame a cui è associato. Questa semplificazione molto forte potrebbe però non essere sempre lecita.

In questo lavoro di tesi si sviluppa una nuova metodologia per affrontare il problema, andando ad analizzare il contributo di tutte le conformazioni geometriche che la molecola può

assumere. Per fare questo si è utilizzato un codice di dinamica molecolare (sostanzialmente meno accurato riguardo le interazioni atomiche ma enormemente più rapido dei metodi quantistici) unito ad un algoritmo di metadinamica che permette di perturbare l'energia libera della molecola al fine di rendere più efficiente l'esplorazione di tutte le sue configurazioni.

La reazione esaminata è il *backbiting 1:5* del polistirene. Si tratta di una reazione unimolecolare nella quale l'idrogeno legato al quinto carbonio della catena reagisce con il primo carbonio, che è un radicale, legandosi ad esso: di fatto quindi il radicale passa dal primo al quinto carbonio. La molecola studiata è un oligomero del polistirene composto da sei unità monomeriche e ne vengono presi in considerazione quattro differenti isomeri per poter valutare l'influenza della tatticità. Inoltre vengono valutati vari ambienti di simulazione caratterizzati da differenti temperature e solventi.

I risultati di questo lavoro di tesi mostrano che l'eseguire in modo adeguato l'analisi conformazionale del sistema reagente può avere un'influenza sul calcolo della costante di reazione significativa, anche superiore ad un fattore 40, rispetto alle procedure di calcolo attualmente utilizzate in letteratura. In particolare per il sistema studiato, l'analisi svolta ha dimostrato che il meccanismo di terminazione determinato dalla reazione di *backbiting* seguito da β -decomposizione è controllato dalla velocità della reazione di *backbiting*, la cui stima accurata qui effettuata può quindi essere usata in futuro per prevedere in modo preciso l'importanza di tale meccanismo relativamente a processi di ramificazione e *backbiting*.

Capitolo 1: Stato dell'arte

1.1 Il polistirene e la polimerizzazione radicalica

Il polistirene è un polimero ampiamente diffuso in tutto il mondo (miliardi di chilogrammi prodotti ogni anno) il cui processo di produzione è attivo dalla prima metà del Novecento. Esso è ottenuto tramite polimerizzazione radicalica, reazione tipicamente esotermica che viene tradizionalmente mantenuta a temperature inferiori ai 100° C. Per mezzo di questo processo è possibile produrre catene polimeriche costituite da un numero di monomeri intorno alla migliaia: a seconda del tipo di reattore e dei parametri operativi è possibile regolare specificamente la media e la distribuzione della lunghezza delle catene, tenendo conto che più le catene saranno lunghe più aumenterà la viscosità del polimero prodotto.

L'iniziazione del processo di polimerizzazione radicalica è causata dalla decomposizione del monomero stirene (secondo una reazione con cinetica trimolecolare) o dalla decomposizione di un iniziatore addizionato alla miscela di reazione: a basse temperature la prima avviene molto lentamente, dunque non ci si può esimere dall'introdurre un iniziatore di polimerizzazione. Inoltre sempre a basse temperature, inferiori ai 100° C, è possibile trascurare tutta una serie di reazioni secondarie di ricombinazione dei radicali, ipotizzando che il cammino di reazione sia semplicemente: iniziazione, propagazione e terminazione.

Negli ultimi quarant'anni tuttavia è cresciuto l'interesse per processi che operassero a temperature più elevate, in grado di ottenere con minori tempi di reazione catene polimeriche con peculiari caratteristiche. Aumentando la temperatura del processo infatti vengono attivate tutta una classe di reazioni secondarie che arrivano a competere in termini di velocità con la reazione di propagazione, influenzando significativamente la lunghezza e più debolmente anche la ramificazione delle catene prodotte. Le evidenze sperimentali denotano infatti che ad alte temperature, nonostante la maggiore velocità di conversione del monomero, si ottengono distribuzioni delle lunghezze di catena centrate su valori inferiori e tipicamente multimodali: all'aumentare della temperatura aumenta il numero di polimeri a catena cortissima, specialmente dimeri e trimeri.

Questi risultati hanno permesso di individuare la presenza di reazioni secondarie in grado di ricombinare il radicale e provocarne la scissione.

1.1.1 La reazione di *backbiting*

Nella polimerizzazione radicalica a basse temperature il carbonio radicale è tipicamente sul primo monomero della catena. Questa caratteristica si mantiene durante tutta la fase di propagazione, permettendo la formazione di una lunga catena lineare.

Ad alte temperature tuttavia aumenta la probabilità che l'idrogeno di un carbonio interno alla catena crei un legame con il carbonio radicale in testa: si forma dunque quello che viene chiamato *Mid-Chain Radical* (MCR). La reazione prende il nome di *backbiting* ed avviene più frequentemente tra il carbonio di testa ed il terzo, quinto, settimo o nono carbonio della molecola, ma in questo lavoro è stato indagato solamente il *backbiting 1:5* essendo spesso il più favorito. La maggiore predisposizione al *backbiting 1:5* è dovuta all'anello esagonale che si forma nello stato di transizione relativo a questa reazione, particolarmente stabile e dunque particolarmente favorevole a far progredire la reazione.

Una volta che si è formato un MCR, questo può intraprendere più percorsi:

- reazione inversa (*backbiting 5:1*)
- ulteriore *backbiting* interno alla catena
- scissione il legame tra il carbonio radicale ed il carbonio adiacente da una parte o dall'altra della catena, formando un polimero a terminazione vinilica ed un radicale (reazione di β -scissione)
- propagazione con un monomero, formando un radicale ramificato

Il *backbiting* se seguito da β -scissione è la causa della considerevole produzione di cortissime catene polimeriche composte perlopiù da due o tre unità monomeriche.

Un'altra reazione che provoca la produzione di polimeri a basso peso molecolare, rilevante solo ad elevate temperatura, è il trasferimento del radicale al polimero: la catena morta (il polimero) diventa dunque un MCR che a seguito di una β -scissione va a dividersi in due catene più corte (di cui una viva e una morta, dove per “viva” si intende una catena contenente un radicale e per “morta” una catena polimerica senza radicali).

In questo complesso schema di reazione non è più possibile regolare la distribuzione di lunghezze del polimero dal rapporto tra la velocità di propagazione e la velocità di

terminazione in quanto queste non sono più predominanti come nel caso a bassa temperatura. E' utile dunque riuscire a determinare le costanti cinetiche per tutte queste reazioni in modo da poter modellare e controllare la polimerizzazione ad alte temperature. Sperimentalmente questo presenta molti limiti in quanto la specie reagente è un radicale.

E' possibile dunque risalire alle costanti cinetiche monitorando la composizione finale della miscela di reazione, ma risulta particolarmente complicato scomporre i contributi delle varie reazioni. Un'altra tecnica molto affermata è la Pulsed-Laser Polymerization (PLP) in cui un laser permette di produrre con una determinata frequenza solo una piccola porzione di radicali tramite fotoiniziazione. Questa tecnica deve essere accoppiata ad un sistema di rivelazione: cromatografia, spettroscopia, risonanza magnetica nucleare (NMR), *size-exclusion chromatography* (SEC), risonanza elettronica paramagnetica (EPR) e *near infrared spectroscopy* (NIR) sono i metodi attualmente più utilizzati.

In particolare per le reazioni secondarie di backbiting gli studi sperimentali tramite PLP si sono concentrati quasi esclusivamente sugli acrilati, in particolare il butil acrilato (N. Nikitin *et al.*, *Macromolecules*, 2007) e comunque comportano significativi margini di incertezza.

1.1.2 Interesse per il processo di polimerizzazione ad alta temperatura dello stirene

Il processo di polimerizzazione radicalica ad alta temperatura permette di ottenere una elevata produttività rispetto al processo classico a basse temperature in quanto consente con limitati tempi di residenza elevate conversioni del monomero (tipicamente superiori all'85%).

Il prodotto che si ottiene è sostanzialmente un polimero ceroso composto da catene a basso peso molecolare accompagnato da una grande quantità di oligomeri (catene a bassissimo peso molecolare). La ricerca di materiali polimerici a bassa viscosità che mantengano buone proprietà meccaniche, caratteristica fondamentale soprattutto per l'industria delle vernici, ha portato allo studio di copolimeri stirene-acrilici e recentemente del polistirene ad elevato grado di ramificazione. Quest'ultimo può essere ottenuto tramite polimerizzazione ad alta temperatura con una miscela reagente di stirene e divinilbenzene: condizioni di reazione alle quali non è possibile escludere la presenza delle reazioni secondarie descritte precedentemente.

In letteratura il primo tentativo di indagare il processo ad alta temperatura fu di Hui e Hamielec nel 1972; più recentemente il problema è stato riaffrontato da Campbell *et al.* per mezzo di una campagna di misure sperimentale seguita dalla proposta di un modello cinetico

da cui estrapolare le costanti delle velocità di reazione, e dal dipartimento di Chimica Fisica Applicata di questa università il cui scopo è stato quello di riottenere i risultati di Campbell basandosi esclusivamente su calcoli ab Initio.

1.2 Analisi statistica delle configurazioni estese

Lo scopo di questo lavoro di tesi consiste nello sviluppare un nuovo approccio per la stima di costanti cinetiche che unisca le potenzialità della meccanica quantistica (QM) con le potenzialità della simulazione meccanica molecolare (MM).

1.2.1 Successo dell'approccio QM/MM

L'approccio combinato QM/MM ha riscosso negli ultimi anni un notevole successo, legato soprattutto a pregi e difetti dei metodi computazionali quantistici: essi permettono di modellare quasi ogni tipo di molecola senza la necessità di parametri sperimentali ed il loro sviluppo unito all'aumento delle performance dei calcolatori permette ogni anno di aumentare l'accuratezza della modellazione. A scopo esemplificativo si osservi nel grafico di figura 1.1 il confronto dello scan rotazionale eseguito sullo stirene tra un metodo sperimentale (spettroscopia a microonde in trasformata di Fourier) ed un metodo quantistico ($M06-2x$, set di base $6-311+G(d,p)$).

Al vantaggio di un'accuratezza molto elevata si contrappone il principale limite della modellazione quantistica, che consiste nell'elevato tempo di calcolo: per stimare l'energia rotazionale della molecola di stirene (composta da 16 atomi) sono necessari, per un metodo piuttosto accurato, qualche decina di ore. Inoltre occorre tener conto che il tempo di calcolo impiegato da questi metodi a funzionale di densità (DFT) è proporzionale al cubo del numero di atomi (o più precisamente di elettroni).

Tale lentezza impedisce di lavorare agevolmente con molecole composte da più di qualche decina di atomi. Per poter modellare sistemi composti da molti atomi, nel nostro caso polimeri ma spesso macromolecole biologiche o anche sistemi in solvente, è necessario ricorrere a metodi di meccanica molecolare.

La meccanica molecolare (MM) elimina completamente il comportamento quantistico delle molecole, descrivendole come un insieme di sfere (corrispondenti ai nuclei) e molle (corrispondenti ai legami) che seguono le leggi della fisica classica. A costo di un elevato

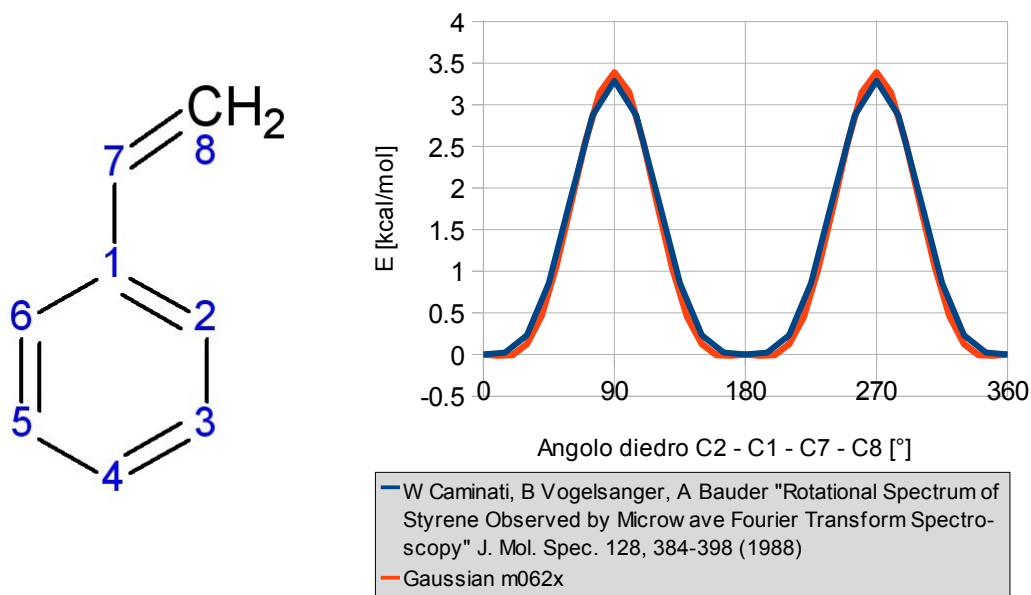


Figura 1.1. Confronto tra misura sperimentale e calcolo quantistico dell'energia correlata alla rotazione del vinile rispetto all'anello aromatico nello stirene.

numero di parametri di input e una semplificazione delle interazioni atomo - atomo questo metodo permette istantaneamente (frazioni di secondo invece che decine di minuti) di calcolare l'energia del sistema in una determinata configurazione. La rapidità del calcolo permette in primo luogo di stimare in pochi secondi la configurazione di minimo energetico e dunque diventa possibile anche rappresentare la velocità delle sfere che sostituiscono gli atomi simulando l'effetto della temperatura sul sistema dinamico; a questo tipo di simulazioni ci si riferisce con il nome di “dinamica molecolare” (MD). E' possibile ricreare dunque sistemi complessi, solvatati, che simulino le condizioni fisiche di temperatura e pressione, nei quali si può andare a studiare la mobilità della molecola e la variazione dell'energia riferita alla configurazione geometrica. Ovviamente però non essendo in grado di prevedere la rottura e la formazione di legami, un software MM non potrà mai essere usato per modellare un sistema reagente (occorre però menzionare recenti metodi che sviluppando una gerarchia di legami tra atomi cercano di modellare in maniera estremamente semplificata alcune classi di reazioni chimiche, *ReaxFF* per citarne uno).

Unendo dunque l'accuratezza dei metodi QM e la rapidità dei metodi MM si ottiene una classe di metodi ibridi definita QM/MM : questo approccio ad esempio può essere applicato in macromolecole nelle quali individuato un centro di interesse (tipicamente reattivo) si

procede modellando tale porzione della molecola con metodi quantistici e la restante parte con un modello MM. Occorrerà dunque prestare particolare attenzione alla sezione della molecola in cui si innestano le due porzioni modellate con differenti metodi, ma complessivamente tale approccio ha permesso di indagare con successo sistemi solvatati e biomolecole, in particolare reazioni enzimatiche. Come pioniere per lo sviluppo e l'utilizzo di questi metodi ibridi occorre citare Martin Karplus, i cui sforzi e successi in quest'ambito sono stati ampiamente apprezzati dalla comunità scientifica e riconosciuti con la recente assegnazione del Premio Nobel per la Chimica nel 2013.

1.2.2 Stima della velocità di reazione e problema conformazionale

In questo lavoro viene utilizzato un approccio che combina meccanica quantistica e dinamica molecolare in una maniera però ben differente da quella illustrata nel paragrafo precedente: per poterne comprendere l'utilità occorre prima affrontare il problema dell'influenza che la conformazione geometrica della molecola ha sulla stima della velocità di reazione.

Grazie ai software di simulazione quantistica oggi è possibile applicare la teoria dello stato di transizione (TST) al fine di calcolare la costante cinetica di una reazione. Essa prevede che nel percorso lungo la coordinata di reazione, che collega la configurazione reagente al prodotto finale, vi sia un punto di massimo energetico chiamato appunto “stato di transizione”. Accettate le ipotesi alla base della teoria, è possibile calcolare il fattore pre-esponenziale della costante cinetica di reazione come rapporto tra la funzione di partizione molecolare tra lo stato di transizione e lo stato reagente moltiplicato per un contributo termico, mentre l'energia di attivazione è data dalla differenza tra l'energia dei due stati, opportunamente corretta con l'energia di punto zero.

Di seguito è riportata l'espressione della costante cinetica stimata con la TST:

$$k(T) = \frac{k_b T}{h} \frac{Q^{TS}}{Q^R} e^{-\frac{E_A}{k_b T}}$$

- T: temperatura
- k_b : costante di Boltzmann
- h: costante di Plank
- Q: funzione di partizione riferita allo stato di transizione (TS) e al reagente (R)
- E_A : energia di attivazione

Per molecole di grandi dimensioni e con elevata mobilità (in questo caso catene polimerica) diventa difficile individuare una rappresentativa configurazione reagente e una configurazione a seguito della reazione: è infatti dimostrabile che la stessa reazione che coinvolge le stesse molecole in diverse conformazioni geometriche se modellata con la TST fornisce valori differenti della costante cinetica. Anche considerando i conformeri di minimo energetico non è garantito che il cammino di reazione che li collega sia energeticamente il più favorito, ossia quello con la minore barriera e dunque più frequente ed in grado di determinare significativamente la velocità della reazione. Inoltre non è assolutamente banale identificare il conformero di minima energia per una molecola ad elevata mobilità quale un polimero.

Vi è il bisogno dunque di esplorare un enorme quantità di conformazioni della molecola per arrivare a determinare il cammino di reazione più favorito, e la modellazione quantistica, come già detto, si rivela troppo lenta per questo scopo. Una possibilità alternativa consiste nel ricorrere alla rapidità di calcolo offerta della meccanica molecolare.

1.2.3 Protocollo utilizzato per questo lavoro

Lo scopo del lavoro si concentra sulla stima della costante cinetiche per reazioni di *backbiting* 1:5 nel polistirene, in varie condizioni di reazione. Affinché avvenga il salto dell'idrogeno sul carbonio radicale in testa occorre che la catena si ripieghi su se stessa in modo da raggiungere una breve distanza tra i due atomi. Da questa particolare configurazione è possibile calcolare la frequenza del fenomeno reattivo.

L'idea è quella di scomporre i due contributi, calcolando con un metodo MM la probabilità statistica che la molecola abbia una distanza radicale - idrogeno sufficientemente bassa e con un metodo QM basato sulla TST la frequenza con cui avviene il salto.

Come molecola campione si è considerato un oligomero composto da sei unità monomeriche in quanto abbastanza lunga per far avvenire il *backbiting* 1:5 (occorrono necessariamente tre unità), ed in più considera altri tre fenili che si ritengono determinanti per modellare la mobilità della catena.

Il primo passo consiste nel creare un adeguato modello MM della molecola, dopodiché occorrerà valutare le conformazioni di minimo energetico.

Diagrammando l'energia libera della molecola in funzione della distanza radicale - idrogeno, variabile che meglio rappresenta la coordinata di reazione per il *backbiting*, sarà possibile individuarne i minimi relativi. Quello che ci si aspetta da lavori precedenti è che vi sia un

minimo assoluto per una configurazione piuttosto lineare della catena polimerica, e che a seguito di una barriera energetica la molecola trovi un minimo energetico relativo per basse distanze tra i due atomi: questa particolare struttura sarà denominata “stato precursore”. Essa rappresenta una conformazione, o meglio una classe di conformazioni molecolari accomunate dalla stessa ridotta distanza radicale - idrogeno, dalla quale si verificherà il fenomeno reattivo con una certa frequenza che verrà calcolata applicando la TST.

La prima difficoltà consiste nel valutare statisticamente la variazione dell'energia della molecola in funzione della distanza radicale - idrogeno: l'analisi passa teoricamente per la valutazione di tutte le possibili conformazioni che il polimero può assumere ed occorre un metodo adeguato in grado di effettuare questo lavoro in maniera efficace. Ipotizzando poi che nello stato precursore la distanza radicale - idrogeno oscilli armonicamente intorno al minimo relativo (occorre determinare l'ampiezza media di questa oscillazione), è possibile ottenere la probabilità che la molecola si trovi in tale configurazione. Bisogna considerare tuttavia che esiste un gran numero di conformeri etichettati come “stato precursore” e diventa necessario quindi identificare quanti e quali siano le strutture significativamente diverse con cui procedere con i calcoli quantistici: in questo lavoro si assume che la geometria della porzione di polimero che comprende la quarta la quinta e la sesta unità monomerica non influenzi significativamente il salto finale dell'idrogeno. Per quanto riguarda invece la porzione di molecola compresa tra il carbonio radicale e il quinto carbonio della catena, si assume che una diversa combinazione di valori degli angoli diedri identifichi un diverso stato precursore e occorrerà dunque applicare la TST a partire da ciascuno di essi.

Nel caso in cui stati precursori diversi raggiungano lo stato di transizione con coefficienti cinetici differenti sarà necessario sommare tutti i contributi considerando la probabilità del sistema di ricadere nel determinato stato precursore.

1.3 Obiettivi del lavoro

In questo lavoro di tesi si seguirà lo sviluppo di un nuovo originale protocollo di stima delle costanti cinetiche in reazioni unimolecolari per catene polimeriche applicato alla reazione di *backbiting* 1:5 del polistirene.

Innanzitutto verrà esaminato in dettaglio il processo di parametrizzazione della molecola (prendendo in esame una molecola di polistirene composta da sei unità monomeriche) per il

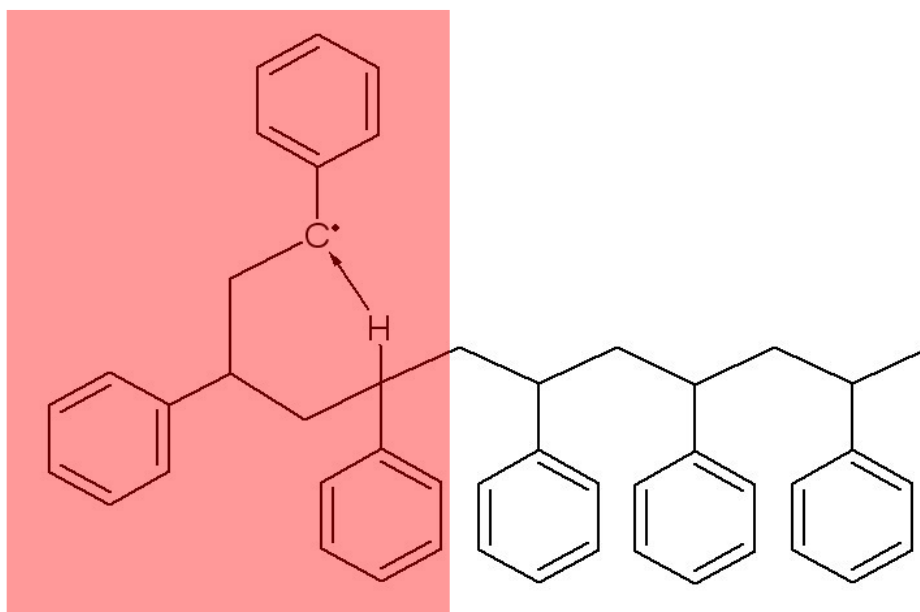


Figura 1.2. Reazione di *backbiting* 1:5 in una molecola di polistirene a sei unità monomeriche. In rosso è evidenziata la porzione della catena la cui geometria influenza maggiormente la reazione, identificando dunque le caratteristiche di un determinato stato precursore.

software di MM e occorrerà verificare che questo modello sia coerente con il più accurato modello QM. In secondo luogo ci sarà bisogno di individuare un metodo efficace e più rapido possibile per poter ricostruire tramite MD il profilo dell'energia libera in funzione della distanza carbonio radicale - idrogeno.

Dunque si applicherà il metodo precedente a diversi isomeri del polimero in modo da determinare l'influenza della tatticità sul profilo di energia. Inoltre si stimerà l'energia per sistemi solvatati (stirene, alcol benzilico e acqua) in modo da verificare l'influenza che ha il solvente e la pressione. La simulazione verrà condotta a diverse temperature.

Individuate le principali configurazioni degli stati precursori per ogni isomero, si partirà da queste per stimare mediante TST la velocità con cui reagiscono.

Le costanti cinetiche ottenute mettendo insieme le analisi precedenti saranno confrontate con i risultati dei lavori precedenti e rapportate alla velocità di propagazione del polistirene, al fine di determinare le temperature a cui il *backbiting* 1:5 diventa rilevante secondo questo studio.

Capitolo 2: Metodi computazionali

Vediamo innanzitutto come scomporre la costante cinetica della reazione di *backbiting* 1:5 nei due contributi che verranno stimati con due metodi differenti: il primo contributo è una correzione conformazionale che stima l'abbondanza di stati precursori normalizzata rispetto tutte le possibili configurazioni geometriche della catena. Essa sarà calcolato con metodi MM. Il secondo contributo è dato dalla frequenza del fenomeno reattivo vero e proprio, calcolato considerando come reagente lo stato precursore e utilizzando la TST con metodi QM.

$$k_{RXN} = \frac{k_b T}{h} \frac{Q^{TS}}{Q^R} e^{-\frac{E_{TS}-E_R}{k_b T}} = \left[\frac{Q^{SP}}{Q^R} e^{-\frac{E_{SP}-E_R}{k_b T}} \right] \cdot \left[\frac{k_b T}{h} \frac{Q^{TS}}{Q^{SP}} e^{-\frac{E_{TS}-E_{SP}}{k_b T}} \right] = k_{CC} \cdot \left[\frac{k_b T}{h} \frac{Q^{TS}}{Q^{SP}} e^{-\frac{E_{TS}-E_{SP}}{k_b T}} \right]$$

Nella formula è evidenziato come il primo contributo, impossibile da calcolare per via quantistica, si riduca ad un coefficiente di correzione conformazionale (CC) calcolato con il protocollo descritto nel prossimo paragrafo mentre il secondo mantiene la formulazione del TST a partire però dallo stato precursore (SP).

2.1 Metodi usati per calcolare la correzione conformazionale statistica

Per poter stimare la correzione conformazionale occorrerà prima di tutto conoscere il sistema di parametrizzazione Campo di Forze con cui si intende modellare la molecola (paragrafo 2.1.1) ed il suo utilizzo. Dopodiché verrà presentato il protocollo utilizzato per definire i parametri essenziali per il modello (paragrafi 2.1.2 - 2.1.4). Si specificherà quindi nel dettaglio cosa vuol dire diagrammare l'energia della molecola rispetto una coordinata geometrica (paragrafo 2.1.5) e i metodi utilizzati per farlo: WHAM (paragrafo 2.1.6) e Metadinamica (paragrafo 2.1.7). Infine viene descritta l'ipotesi di oscillatore armonico che permette di ricavare dal profilo del PMF ricavato precedentemente l'abbondanza relativa di stati precursori (paragrafo 2.1.8).

2.1.1 Campo di Forze

I metodi basati sull'utilizzo del Campo di Forze (FF, dall'inglese *Force Field*) permettono di simulare il comportamento delle molecole a partire dalle coordinate dei nuclei, descrivendo le interazioni tra i singoli atomi con correlazioni i cui parametri sono ottenuti sperimentalmente o da metodi computazionali quantistici (ossia molto più complessi e onerosi). L'influenza dei singoli elettroni non viene quindi considerata esplicitamente ma è l'atomo ad essere caratterizzato con peculiari proprietà. L'ipotesi alla base del metodo prevede che strutture

Tabella 2.1. Tipi Atomici utilizzati da Amber per caratterizzare gli atomi che compongono la molecola da modellare

Tipi Atomici	Descrizione	Tipi Atomici	Descrizione
c	sp2 C in C=O, C=S	o	sp2 O in C=O, COO-
c1	sp1 C	oh	sp3 O in hydroxyl group
c2	sp2 C, aliphatic	os	sp3 O in ether and ester
c3	sp3 C		
ca	sp2 C, aromatic		
n	sp2 N in amide	s2	sp2 S (p=S, C=S etc)
n1	sp1 N	sh	sp3 S in thiol group
n2	sp2 N with 2 subst. readl double bond	ss	sp3 S in -SR and SS
n3	sp3 N with 3 subst.	s4	hypervalent S, 3 subst.
n4	sp3 N with 4 subst.	s6	hypervalent S, 4 subst.
na	sp2 N with 3 subst	hc	H on aliphatic C
nh	amine N connected to the aromatic rings	ha	H on aromatic C
no	N in nitro group	hn	H on N
		ho	H on O
		hs	H on S
		hp	H on P
f	any F	p2	sp2 P (C=P etc)
cl	any Cl	p3	sp3 P, 3 subst.
br	any Br	p4	hypervalent P, 3 subst.
i	any I	p5	hypervalent P, 4 subst.
h1	H on aliphatic C with 1 EW group;	cc(cd)	inner sp2 C in conj. ring systems
h2	H on aliphatic C with 2 EW group;	ce(cf)	inner sp2 C in conj. chain systems
h3	H on aliphatic C with 3 EW group;	cp(cq)	bridge aromatic C
h4	H on aromatic C with 4 EW group;	cu	sp2 C in three-membered rings
h5	H on aromatic C with 5 EW group;	cv	sp2 C in four-membered rings
	EW: electron-withdraw group	cx	sp3 C in three-membered rings
		cy	sp3 C in four-membered rings
n	aromatic nitrogen	pb	aromatic phosphorus
nb	inner sp2 N in conj. ring systems	pc(pd)	inner sp2 P in conj. ring systems
nc(nd)	inner sp2 N in conj. chain systems	pe(pf)	inner sp2 P in conj. chain systems
sx	conj. S, 3 subst.	px	conj. P, 3 subst.
sy	conj. S, 4 subst.	py	conj. P, 4 subst.

simili, come ad esempio il legame tra un ossigeno e un idrogeno oppure l'angolo formato da tre carboni primari, manifestino comportamenti simili in tutte le molecole. Inoltre, nel caso di sistemi dinamici, sono trascurati gli aspetti quantistici del moto dei nuclei, che invece è descritto dalla meccanica classica (seconda legge di Newton).

Le molecole sono costituite in questo modo da un sistema a “sfere e molle” nel quale gli atomi (le “sfere”) vengono etichettate con dei determinati Tipi Atomici (AT) che li caratterizzano non solo per il numero atomico ma anche per il tipo di legami in cui essi sono coinvolti all'interno della molecola. La tabella 2.1 riporta l'elenco dei Tipi Atomici per il FF utilizzato nel presente lavoro di tesi: il “*Generical Amber Force Field*” (GAFF).

Questa semplificazione del problema permette di trattare molecole contenenti un elevato numero di atomi e simulare il comportamento di campioni immersi in solvente e soggetti a determinate condizioni fisiche di temperatura e pressione. La modellazione di questi sistemi, contenenti anche migliaia di atomi, risulta impensabile sia per i computer attuali che nel prossimo futuro con metodi quantistici, ai quali è permesso risolvere solamente sistemi contenenti al massimo una centinaia di atomi, dovendo comunque mettere in conto parecchie ore di simulazione (a seconda del metodo quantistico adottato). I metodi che utilizzano il FF dunque hanno riscontrato in questi ultimi anni molto successo nel campo della proteomica ed in generale per trattare il comportamento di macromolecole o macrosistemi.

Il codice di simulazione che utilizza il Campo di Forze richiede in genere come input:

- le coordinate dei nuclei della molecola
- i parametri della molecola per tutte le correlazioni previste dallo specifico FF

Esso calcolerà quindi l'energia della molecola di input, sommando i contributi:

$$E_{FF} = E_{stiramento} + E_{piegamento} + E_{torsione} + E_{vdW} + E_{elettrostatica} + E_{termini\ incrociati}$$

- $E_{stiramento}$: funzione della distanza tra due atomi legati
- $E_{piegamento}$: funzione dell'angolo tra tre atomi legati
- $E_{torsione}$: funzione dell'angolo diedro formato da quattro angoli legati tra loro (o non legati nel caso di angolo diedro improprio)
- E_{vdW} : funzione della distanza tra due atomi non direttamente legati, descrive le interazioni “non-polari” di Van der Waals
- $E_{elettrostatica}$: funzione della distanza tra due atomi non direttamente legati, descrive le

interazioni polari dovute alle cariche parziali all'interno della molecola

- $E_{\text{termini incrociati}}$: considera i contributi incrociati dei termini precedenti.

Esistono numerose funzioni che definiscono i sei contributi dell'energia. In seguito saranno descritte solamente le relazioni utilizzate dal software *Amber*, utilizzato per questo lavoro nella versione del 2010. Si noti fin da subito che la scelta di una relazione più o meno complessa che descriva un determinato contributo dell'energia deve tener conto della bontà con cui essa modella l'interazione "reale", la velocità di calcolo ed il numero di parametri di input necessari: la filosofia alla base dei metodi che utilizzano il FF è proprio quella di approssimare efficacemente ma velocemente il comportamento della molecola. Una modellazione estremamente accurata potrebbe richiedere elevati tempi di calcolo e numerosi parametri di input di cui alcuni probabilmente non presenti nelle librerie e difficili da stimare, indebolendo dunque le potenzialità di questo approccio.

Energia di stiramento

$$E_{\text{stiramento}} = K_r (r - r_{eq})^2$$

L'energia di stiramento del legame tra due atomi in funzione della loro distanza r , è data dall'espansione al secondo ordine della serie di Taylor centrata sul punto di equilibrio del legame (punto di minimo, derivata prima nulla): questo si traduce in un potenziale armonico definito dai parametri K_r e r_{eq} .

E' noto come la relazione migliore per l'energia di legame sia la funzione di Morse, ma per la vasta maggioranza dei sistemi, avendo a che fare con energie di stiramento inferiori alla decina di kcal/mol, l'approssimazione armonica si rivela del tutto ragionevole. Lo stesso discorso vale per formule che utilizzano espansioni della serie di Taylor per ordini superiore al secondo.

Energia di piegamento

$$E_{\text{piegamento}} = K_\theta (\theta - \theta_{eq})^2$$

Analogamente all'energia di stiramento, l'energia di piegamento è data da un potenziale armonico definito dai parametri K_θ e θ_{eq} , dove θ è l'angolo compreso tra tre atomi legati.

Energia di torsione

$$E_{torsione} = \sum_i^n K_{\varphi_i} [1 + \cos(PN_i \varphi - \gamma_i)]$$

L'energia torsionale varia in funzione dell'angolo diedro φ formato da quattro atomi legati tra loro secondo un'espressione data dalla somma di n contributi, ciascuno caratterizzato dai parametri K_{φ_i} , PN_i , e la fase γ_i . A differenza dei precedenti, il profilo dell'energia torsionale presenta più minimi relativi (solitamente tre per le molecole idrocarburiche): questo permette ad esempio ad una catena polimerica di assumere numerose configurazioni geometriche di minimo. Ecco perché la ricerca della struttura di minimo energetico assoluto risulta particolarmente complessa per i metodi numerici quali gradiente coniugato o discesa del gradiente.

Energia di Van der Waals

$$E_{vdw} = \frac{A}{R^{12}} - \frac{B}{R^6}$$

L'energia di Van der Waals varia in funzione della distanza R tra due atomi non legati secondo i parametri A e B caratteristici per quella determinata coppia di atomi. Esistono numerose relazioni che modellano efficacemente questo contributo: in questo caso viene usato il *Potenziale di Lennard-Jones*.

Energia elettrostatica

$$E_{elettrostatica} = \frac{q_1 q_2}{\epsilon R}$$

L'energia elettrostatica è dovuta all'interazione tra la carica q di due atomi non legati, semplificata come carica puntuale e posizionata in corrispondenza del nucleo. ϵ è la costante dielettrica del mezzo e R è la distanza tra il centro dei due atomi.

Energia dei termini incrociati

I contributi incrociati vengono trascurati nel codice utilizzato.

Una volta modellata la molecola servendosi del Campo di Forze è possibile, nota la posizione di tutti i nuclei che la compongono, ricavare in maniera quasi istantanea la sua energia: in questo caso si parla di “Meccanica Molecolare” (MM). In modo relativamente veloce è possibile dunque ottenere la configurazione di minimo energetico e scan rotazionali dell'energia a partire da una struttura di input.

E' possibile anche simulare il moto della molecola, modellato come un sistema di sfere e molle governato dalla seconda legge di Newton: definita la temperatura, una precisa distribuzione di forze dalla direzione casuale (che simulano gli urti con altre molecole) imprimerà una accelerazione agli atomi che compongono la molecola. Le loro velocità e posizioni sono ottenute integrando l'accelerazione per piccolissimi intervalli di tempo (solitamente di un femtosecondo) secondo l'*algoritmo di Verlet*.

Questa tecnica prende il nome di “Dinamica Molecolare” (MD) e sarà ampiamente utilizzata in questo lavoro di tesi perché il moto degli atomi permette alla molecola di esplorare nuove configurazioni geometriche.

2.1.2 Costruzione della topologia

Per topologia si intende l'insieme dei parametri associati al Campo di Forze di una molecola o in generale ad un sistema di molecole, necessari per poter procedere con la simulazione meccanica o dinamica. Si intuisce dunque come la sua costruzione sia un processo delicato e fondamentale se lo scopo è quello di ricreare una molecola che si comporti più similmente possibile ad una simulazione quantistica.

In seguito verrà descritto nel dettaglio il protocollo utilizzato per costruire e validare la topologia di una molecola.

L'ambito principale per cui vengono sfruttati software di dinamica molecolare quali *Amber* è la modellazione delle proteine: ecco perché la costruzione della topologia di una molecola passa per l'assemblaggio di unità primarie denominate “residui”. Nel caso delle proteine questi corrisponderebbero agli amminoacidi che ne costituiscono la struttura primaria mentre nel caso in esame, dovendo lavorare con catene polimeriche, questa impostazione del programma risulta comunque utile per creare catene di svariate lunghezze a partire da tre residui: testa radicalica, unità centrale e coda terminale.

Nota dunque la struttura e calcolate le cariche atomiche in ciascun residuo è possibile assemblare la molecola che si desidera simulare. Il software adibito a questo scopo (*Leap* nel

caso di *Amber*) assegnerà in primo luogo a ciascun atomo uno specifico Tipo Atomico a seconda degli altri atomi a cui è legato ed in secondo luogo andrà a ricercare nelle librerie di dati (il *General Amber Force Field*, nel caso di *Amber*) i parametri relativi ai legami presenti nella molecola in esame. Questo procedimento viene fatto in automatico ma dettagliatamente descritto all'utente in modo che questi possa intervenire per correggere eventuali errori o mancanze del programma.

La topologia prodotta alla fine di questo processo è un unico file formattato, contenente tutti i parametri necessari per la simulazione (escluse le coordinate dei nuclei, presenti su un secondo file). Tale file dunque non viene mai modificato dal software di dinamica molecolare in quanto costituisce esclusivamente l'elenco di tutti i valori numerici che caratterizzano il peso atomico, la polarizzabilità e la carica di ciascun atomo, i legami, gli angoli e i diedri presenti nella molecola.

Una volta costruita la topologia è necessario, prima di procedere con ulteriori analisi, validare il modello ottenuto confrontandone il comportamento con un modello quantistico. Per fare questo si utilizzerà il metodo *M06-2x* sviluppato recentemente da Zhao e Truhlar (*Theor. Chem. Account*, 2008): esso è basato sul funzionale di densità elettronica (DFT) e rispetto al celebre B3LYP vanta una più accurata modellazione delle interazioni di medio raggio (di cui fanno parte le attrazioni di Van der Waals e le interazioni π - π tra gli anelli aromatici). Il software utilizzato per i calcoli quantistici è *Gaussian 09*.

2.1.3 Restrained ElectroStatic Potential (RESP)

Verrà illustrato ora il protocollo che permette di determinare le cariche dei singoli atomi.

Il metodo più comune per il calcolo delle cariche parziali nota la densità elettronica della molecola è l'analisi di popolazione di Mulliken, nel quale la carica viene ottenuta integrando il valore della densità nei pressi di ciascun nucleo. Questo metodo tuttavia non risulta molto efficace e non viene usato per le simulazioni di dinamica molecolare al contrario invece del metodo RESP che meglio riesce a modellare la distribuzione di carica nella molecola.

Il primo passo del metodo consiste nel creare una griglia di punti nel volume occupato dalla molecola già precedentemente ottimizzata; per ciascun punto viene dunque stimato il campo elettrostatico (*Electrostatic Potential*, ESP) dovuto alle cariche locali presenti sugli atomi.

Queste operazioni vengono condotte modellando la molecola (o meglio il residuo) con la meccanica quantistica, utilizzando metodo e set di base coerenti con quelli utilizzati dal

software per produrre i parametri del proprio FF.

Il secondo passo consiste nel calcolare, noto l'ESP, la carica di ciascun atomo, che nella semplificazione introdotta dal Campo di Forze costituirà una carica puntuale situata al centro della sfera che rappresenta l'atomo. Il codice utilizzato per questo scopo permette inoltre di imporre cariche uguali su determinati atomi al fine di ottenere per una porzione della molecola simmetrica anche la simmetria delle cariche. E' consentito anche imporre che la somma delle cariche di un gruppo di atomi sia nulla, permettendo così l'eliminazione del determinato gruppo mantenendo la neutralità complessiva della molecola. L'importanza pratica di queste due opzioni sarà meglio chiara nel prossimo capitolo.

2.1.4 Box di simulazione: *Packmol* e condizioni al contorno periodiche

Il software *Packmol* permette di creare facilmente la topologia di un box di simulazione contenente una molecola immersa in solvente. Oltre a simulare le interazioni con il solvente, un box permette al software di dinamica molecolare di applicare una pressione al sistema. Affinché la simulazione funzioni correttamente è necessario che al contorno del box (scelto per semplicità di forma cubica) vi siano condizioni periodiche: questo significa, come illustrato nella figura 2.1, che nel caso in cui una molecola oltrepassi una faccia del cubo essa rientrerà nel box dalla parte opposta e che le interazioni degli atomi ai margini del box verranno calcolate come se ci fosse un altro box contiguo.

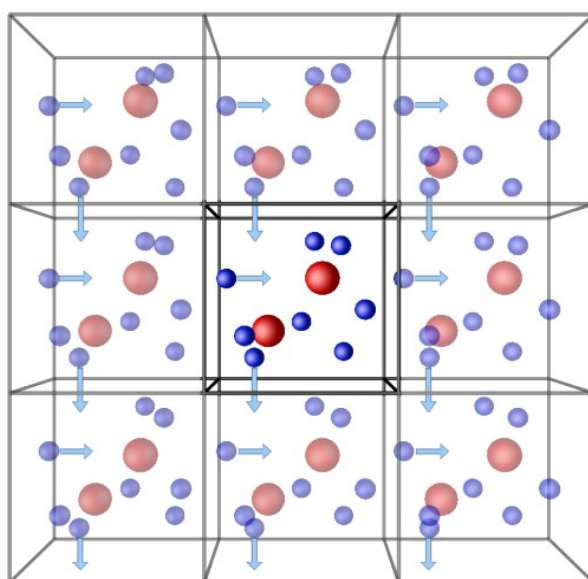


Figura 2.1. Rappresentazione delle condizioni periodiche al contorno: l'unico sistema realmente simulato è quello centrale ma grazie a questa condizione è come se fosse circondato da sistemi identici. Fonte: isaacs.sourceforge.net

Occorre prestare attenzione dunque che il box non sia troppo piccolo per evitare che la molecola o peggio un singolo atomo interagisca con se stesso a causa delle condizioni periodiche. Per questo motivo è buona norma costruire un box di simulazione abbastanza grande da contenere la molecola da esaminare senza che gli atomi in testa interagiscano con gli atomi di coda, ma il più piccolo possibile per limitare il numero di atomi e dunque i tempi di simulazione.

Packmol consente di impostare le dimensioni del box, porre al centro la molecola principale e decidere il numero di molecole di solvente da inserire. Quest'ultimo valore è stato ottenuto dalla densità del solvente alla temperatura di simulazione in modo da ottenere un sistema di input che già assomigli al sistema finale.

Le molecole di solvente sono addizionate in posizione e orientamento random, imponendo che non ci siano atomi troppo vicini che potrebbero compromettere le successive fasi della simulazione.

2.1.5 Potenziale di forza media

Il potenziale di forza media (*Potential of Mean Force*, PMF) è un concetto introdotto per la prima volta da J. G. Kirkwood in un articolo del 1935. Esso rappresenta il profilo di energia libera di Helmholtz relativo ad una singola coordinata geometrica del sistema.

In una molecola costituita da un numero elevato di atomi vi saranno numerosi parametri geometrici che influenzano l'energia della stessa: il concetto introdotto con il PMF è quello di mediare tutti questi contributi in modo da ottenere statisticamente la curva di energia per la variazione della singola coordinata in esame.

Per lo scopo del lavoro risulta fondamentale associare il PMF alla distanza tra il carbonio radicale e l'idrogeno, in quanto ci permette di valutare il profilo dell'energia correlato al ripiegamento della molecola. Una volta noto dunque, sarà possibile identificare la distanza radicale - idrogeno caratteristica dello stato precursore e la sua abbondanza relativa.

Volendo ottenere il diagramma del PMF si rende necessario esplorare per ogni valore della coordinata tutte le possibili configurazioni geometriche che la molecola può assumere. Per fare ciò si effettua una simulazione dinamica, ma di fatto è impossibile dal punto di vista pratico permettere alla molecola di visitare tutte le sue conformazioni possibili in un tempo limitato. Bisogna ulteriormente considerare in primo luogo che tale metodo risulta inefficiente in quanto la molecola passerà la grande maggioranza del tempo in configurazioni favorite,

probabilmente rivisitando più volte le stesse strutture (se non identiche, molto simili), in secondo luogo la presenza di elevate barriere energetiche potrebbe impedire alla molecola di andare a visitare configurazioni relativamente stabili, che dunque influenzerebbero notevolmente il profilo del PMF.

I metodi sviluppati per ovviare a questo problema ed adoperati per questo lavoro introducono un potenziale virtuale che forza la molecola ad esplorare efficacemente un elevato numero di configurazioni.

2.1.6 Umbrella Sampling e WHAM

L'*Umbrella Sampling* (US) è una tecnica che, addizionando un potenziale virtuale parabolico centrato in equidistanti valori della coordinata di interesse, permette di esplorare tutto l'intervallo accessibile da quella variabile. Ciascuna simulazione dinamica, identificata dal valore per cui il potenziale virtuale è nullo (centro della parabola) viene denominata traiettoria. Il tempo di calcolo totale necessario per l'US è dato dunque dal tempo di calcolo della singola traiettoria moltiplicato il numero di traiettorie (stimabile dall'intervallo da esplorare diviso per la distanza tra i centri delle parabole).

Questa tecnica costringe la molecola ad esplorare tutte le configurazioni per le quali i valori della coordinata geometrica in esame risiedono nei pressi del valore in cui è centrato il potenziale armonico.

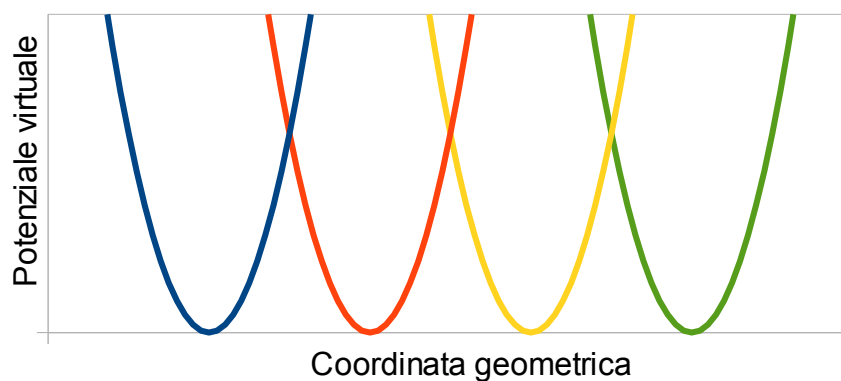


Figura 2.2. Ciascuna delle quattro traiettorie è identificata da una parabola di colore diverso, centrata in un determinato valore della coordinata geometrica di riferimento.

Noto il potenziale virtuale introdotto e registrati i valori assunti dalla coordinata di interesse è possibile quindi risalire al PMF relativo a tutto l'intervallo esplorato con l'US. Tale metodo deve prima di tutto rimuovere dai risultati delle singole traiettorie l'influenza del potenziale

virtuale e poi assemblare i risultati ottenuti: esso prende il nome di *Weighted Histogram Analysis Method* (WHAM). Per unire i segmenti di potenziale reale calcolati per ogni traiettoria questo metodo utilizza una procedura iterativa che mira a far combaciare il più possibile gli estremi delle curve ottenute. In figura 2.3 è possibile vedere un esempio esplicativo: le curve di potenziale ottenute da un US di quattro traiettorie, dalle quali è già stato rimosso il contributo del potenziale virtuale, vengono fatte coincidere e si procede successivamente identificando il minimo assoluto.

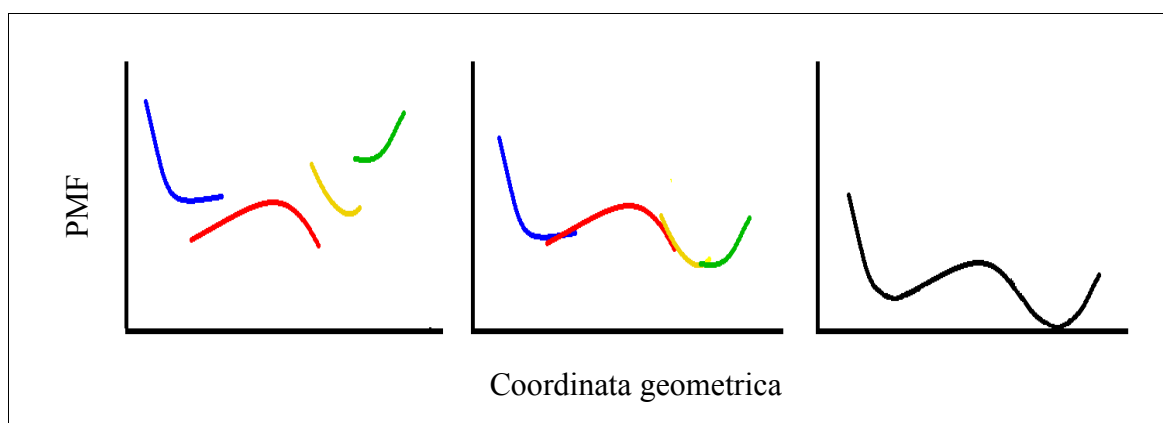


Figura 2.3. Tre fasi finali del metodo WHAM. Le curve di PMF ottenute da ciascuna traiettoria (corrispondente al potenziale virtuale dello stesso colore nella figura precedente) vengono fatte combaciare per ottenere il PMF complessivo da cui è possibile identificare il minimo assoluto.

E' importante dunque che le curve di potenziale ottenute siano abbastanza estese da sovrapporsi agli estremi: una mancata sovrapposizione implica l'impossibilità di definire l'energia relativa rispetto al minimo assoluto e una scarsa sovrapposizione ne causa una stima imprecisa.

Una ulteriore considerazione riguarda il valore del coefficiente armonico nel potenziale virtuale: se elevato (parabole strette) occorre effettuare un elevato numero di traiettorie ma al contrario se modesto (parabole ampie) occorrono traiettorie con lunghi tempi di simulazione per effettuare un campionamento efficace.

2.1.7 Metadinamica

La Metadinamica sfrutta un differente approccio per il calcolo del PMF. A differenza del WHAM il potenziale virtuale introdotto da questo metodo aumenta nel tempo allontanando la molecola dalle configurazioni più stabili, ossia quelle visitate più spesso.

Il programma *PLUMED*, utilizzato per questo lavoro, interagendo col software di dinamica molecolare, provvede ad aggiungere il potenziale virtuale sotto forma di gaussiane centrate nel valore della coordinata visitato nella simulazione, secondo la formula:

$$HILL(\vec{s}, k \tau) = W \cdot \exp \left[-\frac{(\vec{s} - \vec{s}_0(k \tau))^2}{2 \cdot \sigma^2} \right]$$

dove:

- \vec{s} è il vettore contenente tutte le variabili sulle quali si vuole aggiungere il potenziale (“*collective variables*”, “CV”). Una CV può essere ad esempio la distanza fra due atomi, l'angolo fra tre atomi, un angolo diedro oppure una variabile più complessa costruita su gruppi di atomi.
- \vec{s}_0 è il centro della gaussiana, nonché la posizione di tutte le CV in cui si trova la molecola al momento dell'aggiunta della gaussiana;
- $k \tau$ è il valore temporale in cui viene addizionata la gaussiana, in quanto τ rappresenta l'intervallo di tempo tra due addizioni (tempo nel quale la molecola ha modo di “rilassarsi”) mentre k rappresenta il numero di questi intervalli trascorsi;
- W è l'altezza della gaussiana;
- σ è un parametro proporzionale alla larghezza della gaussiana;

Al tempo $t = N \cdot k$ il potenziale V stimato con la metadinamica altri non è che la somma di tutte le gaussiane invertite di segno:

$$V(\vec{s}, k \tau) = \sum_{k=1}^{k=N} HILL(\vec{s}, k \tau)$$

Nella figura 2.4 il metodo è applicato ad un sistema in un'unica CV (variabile da -6 a 6 e denominata x), del quale è già nota a priori il potenziale $V(x)$ (linea più spessa). E' possibile apprezzare come partendo dal valore iniziale di x pari a zero e corrispondente ad un minimo locale, la metadinamica permetta al sistema di andare in breve tempo ad esplorare le configurazioni oltre al minimo locale, riempiendo il pozzo con una ventina di gaussiane; dopo aver addizionato 320 gaussiane il potenziale totale (dato dalla somma di potenziale reale e virtuale) raggiunge un valore circa costante per tutti i valori di x e come già detto il potenziale

reale diventa calcolabile direttamente invertendo di segno il potenziale virtuale (somma delle gaussiane), essendo i due perfettamente complementari. Questa situazione è tanto più vera quanto più il potenziale totale assume un valore costante, il che equivale a dire che si arriva a costruire un sistema nel quale tutti i valori di x hanno la stessa probabilità di manifestarsi.

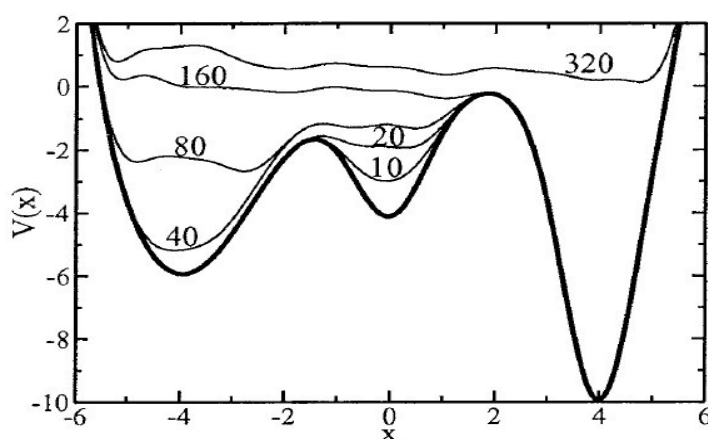


Figura 2.4. Potenziale totale V in funzione della coordinata geometrica x al variare del numero di gaussiane addizionate. Fonte: *Laio, Parrinello, "Escaping Free-Energy Minima", 2002.*

Si nota subito come i parametri di input del programma di metadinamica W , σ e τ debbano essere adeguatamente calibrati sul sistema da analizzare: l'altezza delle gaussiane deve essere opportunamente inferiore all'ordine di grandezza delle barriere del PMF, la larghezza delle gaussiane deve essere opportunamente inferiore all'ordine di grandezza della larghezza dei pozzi del PMF e la velocità di deposizione deve essere sufficientemente grande da permettere effettivamente alla molecola di rilassarsi andando a cercare una configurazione stabile (ossia con minima energia locale).

Il problema risiede proprio nel fatto che il profilo del PMF non si conosce a priori (essendo l'oggetto dell'analisi), è quindi opportuno effettuare un primo scan veloce del sistema ipotizzando i parametri W e σ per poi poter calibrare gli stessi in maniera più accurata. Una τ adeguata si ipotizza invece osservando con che velocità le CV diffondono, ossia il tempo necessario affinché si allontanano da una determinata posizione per una distanza comparabile alla sigma utilizzata come larghezza della gaussiana.

L'analisi è tanto più precisa dunque quanto minori sono i valori di W e σ e quanto maggiore è il valore di τ : il costo però sarà un elevato tempo di calcolo necessario per esplorare tutte le configurazioni del sistema.

Un ulteriore importante e delicato parametro di input risulta la scelta delle CV. A seconda dell'analisi che si desidera fare e del modo in cui i parametri geometrici di una molecola si influenzano fra di loro, il potenziale virtuale può essere applicato ad un'unica CV e sarebbe il caso più semplice in cui il vettore \vec{s} diventa il valore della singola CV s , oppure è necessario considerare un numero d di CV. In quest'ultimo caso ad ogni intervallo di tempo τ il metodo addiziona una gaussiana d -dimensionale centrata nella posizione \vec{s}_0 dello spazio a d dimensioni. Aumenterà notevolmente il tempo necessario per l'analisi: il tempo richiesto per esplorare tutte le configurazioni cresce esponenzialmente con il numero d delle CV scelto. Per quanto si voglia dunque ridurre il più possibile il numero delle CV, la loro scelta risulta ancora un tema piuttosto complesso e specifico al singolo problema. Verrà quindi trattato nel prossimo capitolo nel caso del sistema in esame.

Algoritmo *Welltempered*

Come illustrato in precedenza, l'obiettivo da raggiungere per avere una corretta stima della PMF è ottenere un potenziale totale (reale e virtuale) il più possibile costante in tutto l'intervallo di valori delle CV esplorabile. Questa condizione è teoricamente impossibile in quanto il metodo, anche ipotizzando di raggiungere una condizione equipotenziale, continuerà ad aggiungere (a questo punto casualmente) le gaussiane di potenziale virtuale: di conseguenza il PMF stimato continuerà ad oscillare intorno al valore reale proporzionalmente alle grandezze di input W e σ

Le soluzioni a questo problema sono tre:

- scegliere un valore modesto di W per limitare l'oscillazione a costo di un superiore tempo necessario al calcolo
- mediare tutti i valori di PMF ottenuti dopo un determinato tempo (necessario perlomeno a "colmare" tutti i pozzi)
- ridurre durante l'analisi il valore di W , tale che per tempi elevati esso tenda a zero portando la PMF a convergenza

Quest'ultima soluzione è stata sviluppata dai ricercatori di *PLUMED* sotto il nome di algoritmo *WellTempered* (WT).

Nel WT, l'altezza della gaussiana addizionata non sarà più costante durante tutta l'analisi bensì

inversamente proporzionale al potenziale virtuale letto al momento e nella posizione in cui sarà addizionata e centrata la nuova gaussiana.

$$W(k\tau) = W_0 \cdot \exp\left[\frac{-V(\vec{s}, k\tau)}{R \cdot \Delta T}\right]$$

- W_0 è il valore di input assegnato
- V è il potenziale letto nella configurazione \vec{s} all'istante $t = k\tau$
- R è la costante dei gas
- ΔT è il termine che indica la velocità con cui l'altezza delle gaussiane viene ridotto ed è fornito dal dato di input BIASFACTOR (BF) oltre che dalla temperatura del sistema

$$BIASFACTOR = \frac{T + \Delta T}{T}$$

Il potenziale virtuale, per un lungo tempo di analisi convergerà ad un valore proporzionale al PMF esatto:

$$\lim_{t \rightarrow \infty} V(\vec{s}, k\tau) = -\frac{\Delta T}{T + \Delta T} \cdot PMF(\vec{s})$$

Dunque è possibile stimare il PMF dal potenziale virtuale con la formula:

$$PMF(\vec{s}, k\tau) = -\frac{T + \Delta T}{\Delta T} \cdot V(\vec{s}, k\tau)$$

Il BF solitamente scelto è intorno al valore 10, e la velocità con cui W diminuisce nel tempo è inversamente proporzionale al BF e direttamente proporzionale alla temperatura del sistema, come è possibile notare dalla figura 2.5, nella quale per W_0 unitario, W è diagrammato in funzione di V .

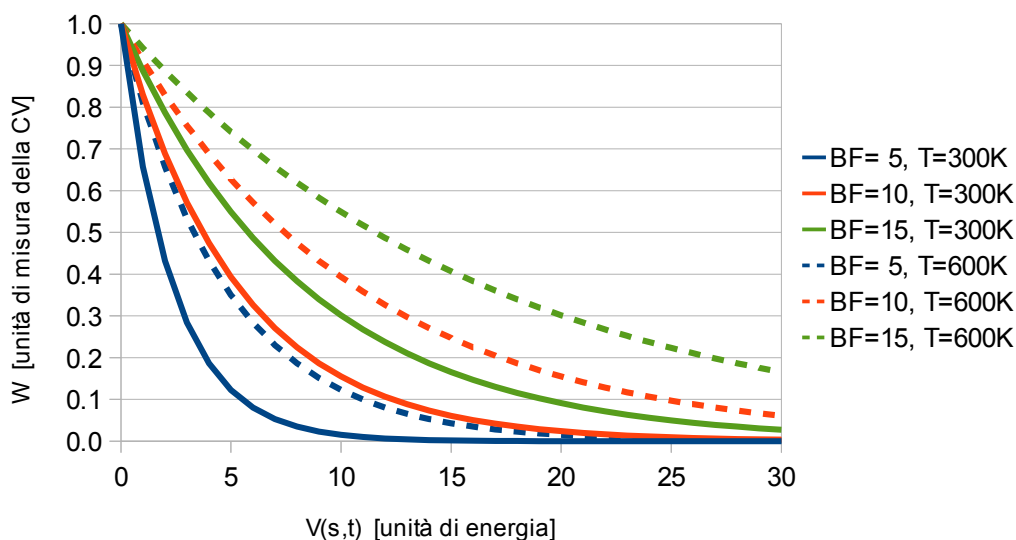


Figura 2.5. Diagramma che rappresenta l'altezza delle gaussiane addizionate W in funzione dell'energia virtuale precedentemente addizionata in quel determinato punto, per vari valori di temperatura e di BiasFactor.

Algoritmo *SumHills*

L'algoritmo *SumHills* permette semplicemente di sommare tutte le gaussiane generate dalla metadinamica invertirle di segno e restituire quella che, se l'analisi è stata svolta adeguatamente, rappresenta la stima del PMF in funzione delle CV.

E' possibile inoltre ricalcolare il PMF in funzione di un numero g di CV inferiore al numero di CV totali d considerato per l'analisi.

$$\vec{s} = [CV_1 CV_2 \dots CV_g CV_{g+1} \dots CV_{d-1} CV_d]$$

CV desiderate
nell'output

CV calcolate
ma non desiderate nell'output

Definendo:

$$\vec{g} = [CV_1 CV_2 \dots CV_g]$$

è permesso calcolare il PMF in funzione solo delle g CV desiderate a partire dal PMF calcolato per tutte le d CV considerate dalla metadinamica.

$$PMF(\vec{g}) = -k_b T \cdot \log \left[\sum_{S_{g+1}} \sum_{S_{g+2}} \dots \sum_{S_d} \exp \left(\frac{-PMF(\vec{s})}{k_b T} \right) \right]$$

Algoritmo *Reweight*

L'algoritmo *Reweight* consente di fare un passo in più rispetto all'algoritmo *SumHills* appena visto: esso permette di ricostruire il PMF di una variabile non considerata dalla metadinamica. Questo risulta possibile sotto l'ipotesi che questa variabile sia “veloce”, ossia che il suo valore sia fortemente dipendente da altre CV alle quali verrà applicato invece il potenziale virtuale. Permette dunque di ridurre il numero di queste ultime e così il tempo necessario a far convergere il potenziale stimato, che come detto precedentemente risulta proporzionale al numero di CV in modo esponenziale.

In appendice è presentata la derivazione delle equazioni base di questo metodo e l'implementazione dell'algoritmo in quanto esso risulta particolarmente importante in questo lavoro di tesi.

2.1.8 Calcolo dell'abbondanza relativa di stati precursori

Una volta ottenuto il PMF rispetto una coordinata geometrica, la funzione di densità di probabilità legata al valore x di tale coordinata è dato da :

$$Prob(x) = A \cdot \exp \left(\frac{PMF(x)}{R T} \right)$$

con $PMF(x)$ espressa in kcal/mol, R costante dei gas, T temperatura del sistema in Kelvin e A fattore di normalizzazione.

Nel nostro caso sarà determinante valutare un intervallo di valori per la distanza radicale - idrogeno entro cui considerare la molecola nella configurazione di stato precursore e ottenerne l'abbondanza relativa tramite integrazione della densità di probabilità: il risultato dell'integrazione sarà la costata di correzione conformazionale k_{CC} .

Si ipotizza dunque, una volta individuato il valore della distanza per cui il PMF presenta un minimo relativo corrispondente allo stato precursore, che la distanza oscilli intorno ad esso secondo una forzante armonica che approssimi il potenziale reale. L'ampiezza

dell'oscillazione è data dal valore massimo di energia che l'oscillatore armonico può raggiungere ad una determinata temperatura:

$$U_{\text{oscillatore armonico}} = \left[\frac{1}{2} + \frac{e^{-\frac{h\nu}{k_b T}}}{1 - e^{-\frac{h\nu}{k_b T}}} \right] \cdot h\nu N_{\text{avogadro}}$$

dove h è la costante di Planck e ν è la frequenza in Hz.

2.2 Stima dei parametri per la TST

Il primo passo per poter applicare la TST a partire da uno stato precursore consiste appunto nel determinare la geometria dello stato precursore di minimo energetico secondo i metodi MM. E' necessario passare alla modellazione quantomeccanica: in questo lavoro si utilizzerà il metodo *M06-2x*, set di base *6-311+G(d,p)* e griglia *ultrafine* necessaria nel caso di molecole ad alta mobilità che presentano frequenze di vibrazione molto basse.

Una volta ottimizzata la geometria della molecola nello stato precursore (prevedendo che non ci siano significative variazioni della struttura usando metodi QM) è possibile andare a ricercare lo stato di transizione. Per entrambe le configurazioni, stato precursore e stato di transizione, occorre stimare l'energia assoluta corretta con la rispettiva energia di punto zero e la funzione di partizione molecolare. Quest'ultima è calcolabile direttamente dalle frequenze di vibrazione e rotazione della molecola, stimate sempre per via quantistica. Una volta stimate tutte queste informazioni è possibile applicare la formula della TST riportata all'inizio di questo capitolo.

Trattandosi di una reazione che coinvolge il salto di un idrogeno, alla costante cinetica ottenuta andrà moltiplicata la correzione di tunneling secondo il potenziale di Eckart.

Capitolo 3: Risultati

Seguendo l'approccio illustrato nel precedente capitolo verrà ora seguita nel dettaglio la costruzione della topologia del polistirene (paragrafo 3.1) e dei solventi utilizzati: stirene e alcol benzilico (paragrafo 3.2). Dunque si procederà alla stima del PMF al variare della distanza carbonio radicale - idrogeno, evidenziando limiti e punti di forza dei vari metodi presi in esame (paragrafo 3.3), e all'identificazione della struttura di riferimento per lo stato precursore (paragrafo 3.4). Nota questa struttura sarà possibile applicare la TST per calcolare la frequenza con cui avviene la reazione a partire dalla molecola nello stato precursore (paragrafo 3.5) e moltiplicare quindi i vari contributi per ottenere la costante cinetica complessiva per la reazione di *backbiting* 1:5 (paragrafo 3.6). Questi valori saranno infine confrontati con quelli ottenuti in precedenti lavori (paragrafo 3.7).

3.1 Topologia del polistirene

La catena polimerica che si desidera simulare in questo lavoro è composta da sei unità monomeriche. Essa è composta da tre residui:

- *molR*, la testa radicalica del polimero
- *molC*, l'unità centrale che determina la lunghezza della catena
- *molT*, l'unità terminale del polimero

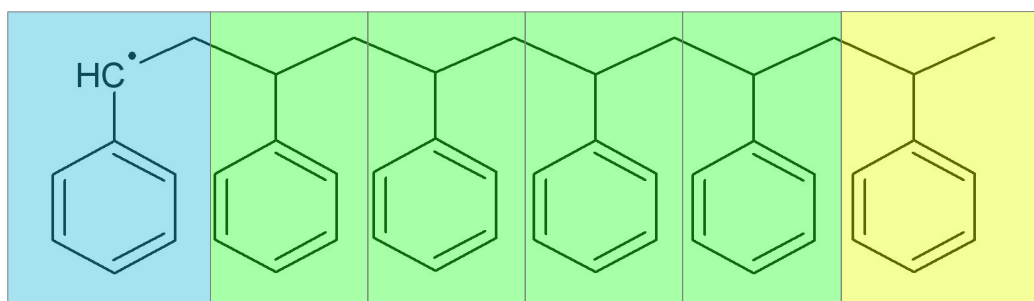


Figura 3.1. Molecola di *esastirene* scomposta nei tre residui che la compongono; *molR* in azzurro, *molC* in verde e *molT* in giallo.

A ciascun residuo viene addizionato un gruppo metilico a sostituire il legame che verrà a crearsi una volta assemblata la catena completa: questo permette di approssimare meglio la distribuzione di cariche atomiche che si avrà nel polimero. Le tre molecole così ottenute sono mostrate in figura 3.2.

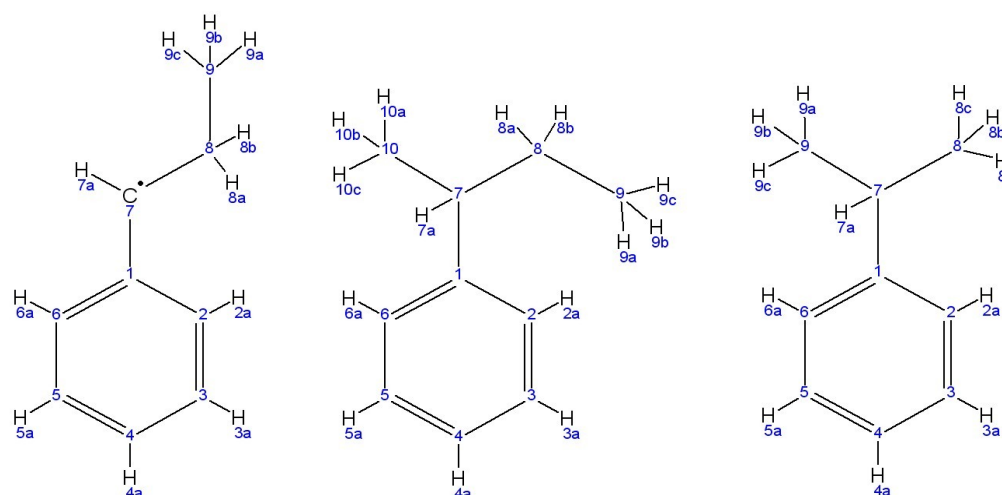


Figura 3.2. Molecole ottenute sommando ai tre residui *molR*, *molC* e *molT* un gruppo metilico laddove andranno a collegarsi per formare il polimero.

La struttura delle tre molecole viene quindi ottimizzata con il metodo B3LYP e set di base 6-31G(d), come suggerito dal tutorial di *Amber* in quanto permette di calcolare velocemente risultati simili rispetto a quelli ottenibili con il metodo MP2 con cui sono stati ricavati i parametri nel GAFF: è importante che i valori calcolati autonomamente siano coerenti con quelli presenti nel FF che si sta utilizzando. Successivamente si procede al calcolo del campo elettrostatico sulla struttura ottimizzata sempre servendosi dello stesso metodo e set di base ed infine si applica il metodo RESP per ottenere la carica parziale dei singoli atomi. In quest'ultimo passaggio occorre tenere presente due accortezze: occorre imporre l'uguaglianza delle cariche in modo che gli anelli benzenici risultino simmetrici e così anche gli idrogeni legati ai carboni della catena ed inoltre occorre imporre che la somma delle cariche dei gruppi CH₃ addizionati sia nulla in modo da essere successivamente eliminati mantenendo la neutralità complessiva della molecola.

Dalla Tabella 3.1 è possibile apprezzare la differente distribuzione di cariche nelle tre molecole (si faccia riferimento alla figura 3.2 per gli indici degli atomi); per colori uguali nella stessa molecola corrispondono cariche imposte uguali.

Tabella 3.1. Cariche puntuali in unità elettronica assegnate dal programma RESP agli atomi delle tre molecole di figura 3.2 (a cui fanno riferimento gli indici atomici). A colori uguali corrispondono cariche imposte uguali per simmetria.

Atomo	ID atomo	molR_CH ₃	CH ₃ _molC_CH ₃	CH ₃ _molT
C	1	0.02790	0.00365	0.01853
C	2	-0.05839	-0.08226	-0.09379
H	2a	0.08165	0.09628	0.09767
C	3	-0.16239	-0.16016	-0.15874
H	3a	0.11468	0.12006	0.11620
C	4	-0.08280	-0.10578	-0.08882
H	4a	0.10376	0.11525	0.10560
C	5	-0.16239	-0.16016	-0.15874
H	5a	0.11468	0.12006	0.11620
C	6	-0.05839	-0.08226	-0.09379
H	6a	0.08165	0.09628	0.09767
C	7	-0.20131	-0.00886	0.02905
H	7a	0.11733	0.03712	0.01995
C	8	0.01021	-0.03286	-0.05247
H	8a	0.03691	0.02181	0.00756
H	8b	0.03691	0.02181	0.00756
H	8c			0.00756
C	9	-0.04022	-0.00431	-0.02268
H	9a	0.01341	0.00493	0.01515
H	9b	0.01341	0.00493	0.01515
H	9c	0.01341	0.00493	0.01515
C	10		-0.01179	
H	10a		0.00044	
H	10b		0.00044	
H	10c		0.00044	

Eliminati manualmente i CH₃ in eccesso si procede ad assemblare la molecola unendo fra di loro i vari residui. Per quanto riguarda invece i parametri caratteristici della molecola, il programma riesce ad identificare autonomamente tutti i Tipi Atomici ad esclusione del carbonio radicale che verrà classificato con l'etichetta “C” e avrà, in prima analisi, i valori dei parametri tipici di un carbonio aromatico.

Si procede dunque a confrontare il comportamento della molecola simulata usando il FF con una simulazione quantomeccanica (metodo *M06-2x* e il set di base *6-311+G(d,p)*). Poiché quest'ultima richiede un tempo di calcolo davvero elevato per una catena di sei monomeri (una decina di giorni per un'ottimizzazione) si è optato per confrontare due strutture più semplici: la prima è un *distirene* formato da un residuo *molR* unito ad un residuo *molT*, la seconda è un *tristirene* formato dall'unione dei tre residui *molR*, *molC* e *molT*.

L'obiettivo principale del confronto consiste nel verificare che l'energia correlata alla rotazione degli angoli diedri della molecola sia la stessa in entrambi i modelli: essa infatti è il principale contributo che determina la mobilità della struttura e le sue configurazioni più stabili. Sono stati eseguiti dunque degli scan rotazionali sulla molecola per poi confrontare i

risultati del modello quantistico (eseguito con il software *Gaussian*) ed il modello MM (*Amber*). Tutti gli scan sono stati ottenuti forzando ripetutamente il diedro di 10° e ottimizzando la struttura.

Si tenga presente dell'enorme differenza di calcolo necessaria per i due metodi: se uno scan con *Gaussian* per il *tristirene* impiega una decina di giorni per giungere al termine, con *Amber* è sufficiente solamente un minuto.

3.1.1 Scan rotazionale 1

Il primo scan eseguito misura il profilo di energia relativo alla torsione del primo fenile.

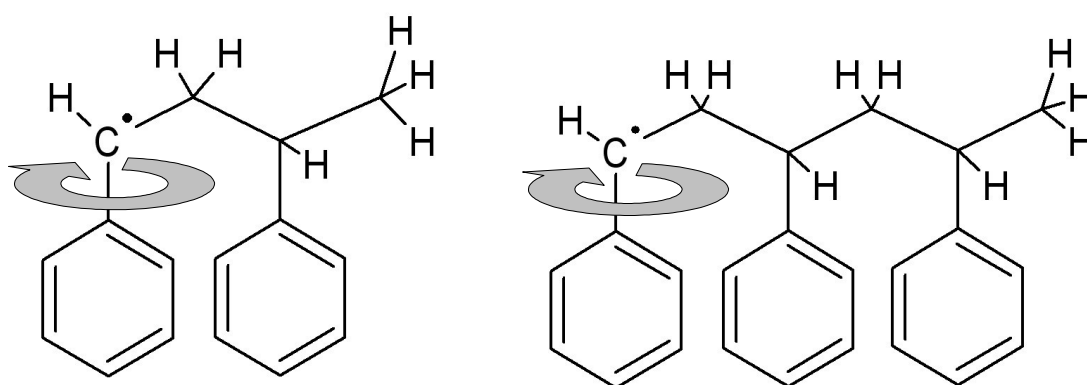


Figura 3.3. Scan rotazionale 1 nelle molecole di *distirene* e *tristirene*.

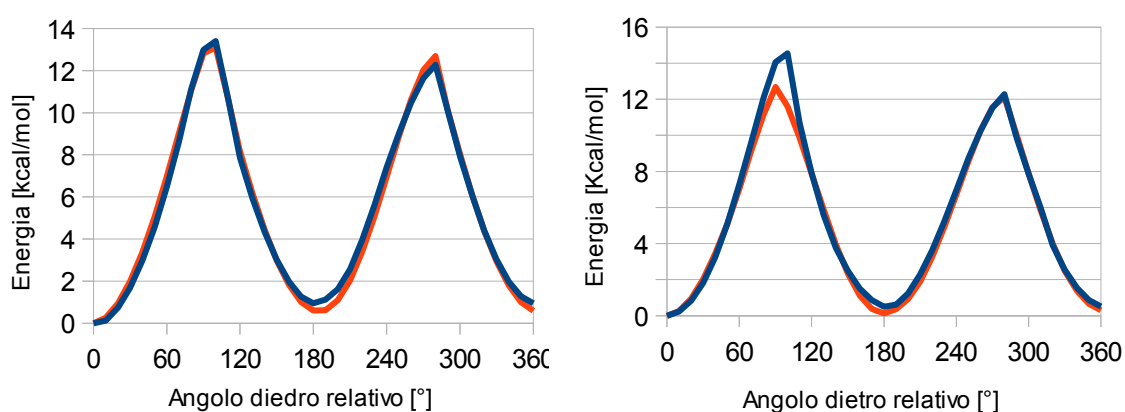


Figura 3.4. Energia corrispondente allo scan rotazionale 1 per il *distirene* (sinistra) e il *tristirene* (destra). In blu è riportato il risultato ottenuto con *Gaussian*, in rosso quello con *Amber*. In ascissa è riportata la distanza dall'angolo diedro della geometria iniziale.

Non essendo presente nella libreria di *Amber* il Tipo Atomico relativo al carbonio radicale esso è stato parametrizzato come un carbonio aromatico in previsione di future correzioni: in questa condizione il modello MM sovrastima la barriera necessaria per questo scan rotazionale. E' stato possibile ovviare al problema correggendo il parametro K_ϕ (vedi formula dell'energia torsionale) relativo al diedro formato da due carboni aromatici, il carbonio radicale e l'idrogeno legato ad esso abbassando il valore da 6.650 kcal/mol a 1.500 Kcal/mol. In figura 3.4 è mostrata la corrispondenza tra i vari profili energetici ottenuti in seguito alla correzione.

Come è possibile notare in entrambi i casi al termine della rotazione l'energia relativa non è uguale a quella iniziale: questo perché la molecola si porta in una nuova configurazione geometrica di energia simile ma non identica a quella di partenza.

Il picco di energia si ha per la configurazione in cui il piano dell'anello aromatico è perpendicolare al piano determinato dal carbonio radicale, dall'idrogeno legato ad esso e dal secondo carbonio della catena.

Si nota comunque un'ottima corrispondenza tra i due modelli.

3.1.2 Scan rotazionale 2

In questo caso si nota un percorso differente nei due metodi ma sostanzialmente simile e accettabile per lo scopo del lavoro. In particolare si nota una stabilizzazione attorno ai 50°-150° che la dinamica molecolare non riesce a modellare, probabilmente dovuto a particolari interazione di tipo $\pi - \pi$ tra gli anelli aromatici.

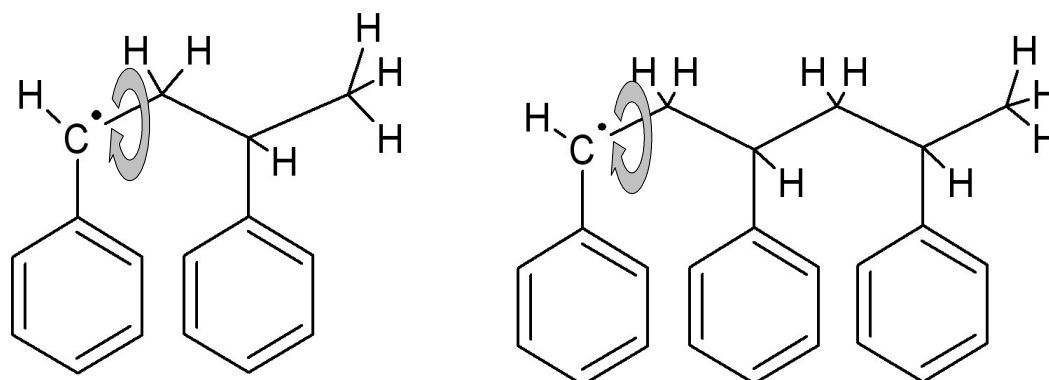


Figura 3.5. Scan rotazionale 2 nelle molecole di *distirene* e *tristirene*.

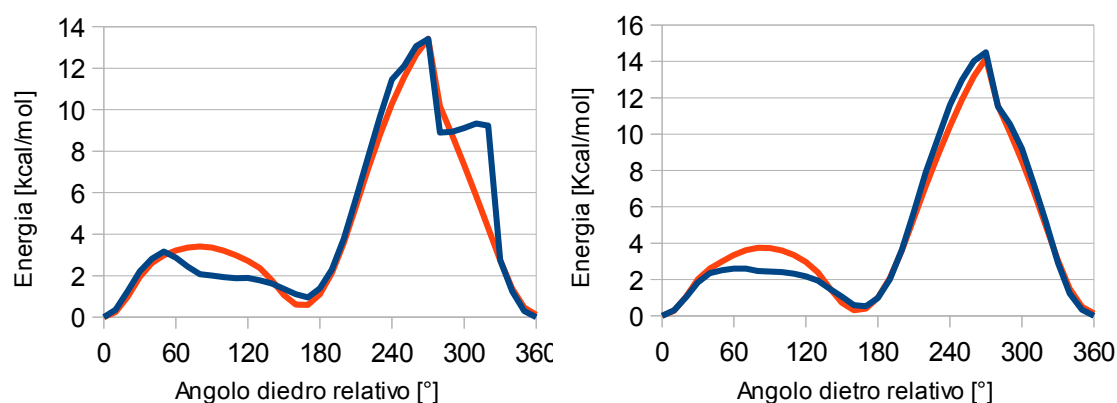


Figura 3.6. Energia corrispondente allo scan rotazionale 2 per il *distirene* (sinistra) e il *tristirene* (destra). In blu è riportato il risultato ottenuto con *Gaussian*, in rosso quello con *Amber*. In ascissa è riportata la distanza dall'angolo diedro della geometria iniziale.

3.1.3 Scan rotazionale 3

Anche per il terzo scan rotazionale si notano differenze tra i due modelli, tuttavia modeste soprattutto nel caso del *tristirene* (che fortunatamente è più simile alla catena di sei monomeri oggetto degli studi successivi).

Tali risultati sono stati ottenuti senza il bisogno di modificare ulteriori parametri se non quello specificato nel paragrafo 3.1.1: escluso il carbonio radicale, *Amber* si è rivelato dunque capace di identificare i Tipi Atomici corretti ed effettuare una efficace parametrizzazione in automatico.

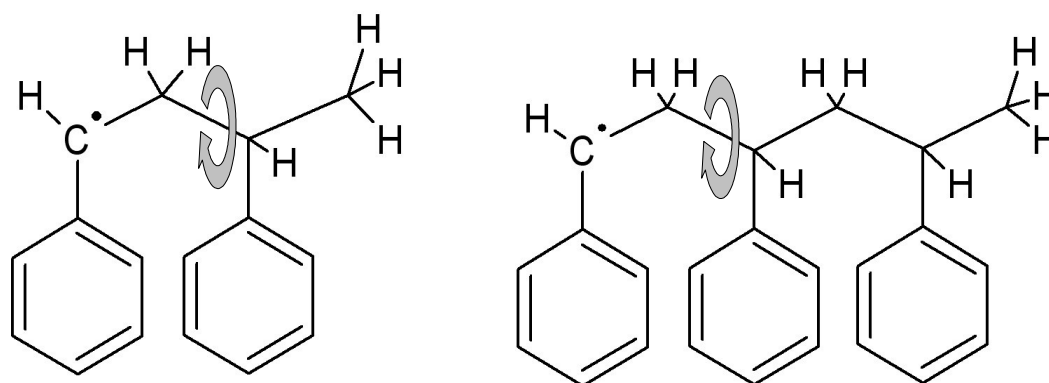


Figura 3.7. Scan rotazionale 3 nelle molecole di *distirene* e *tristirene*.

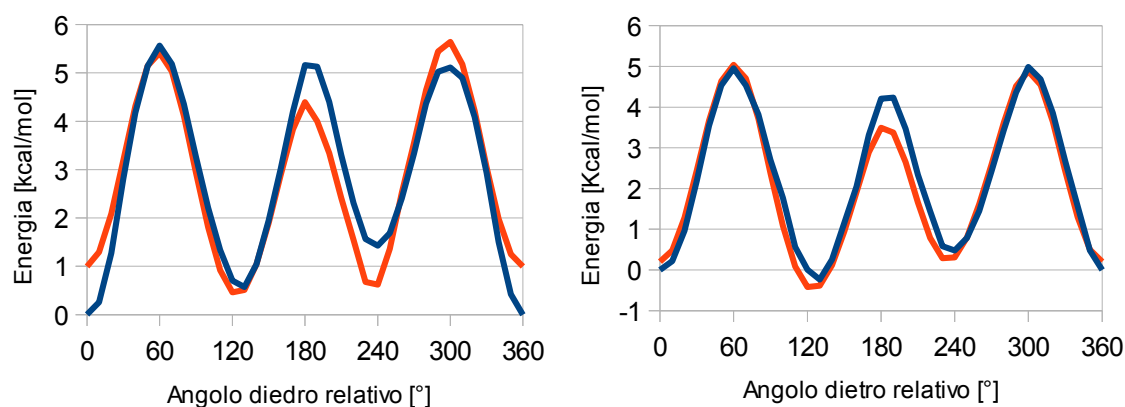


Figura 3.8. Energia corrispondente allo scan rotazionale 3 per il *distirene* (sinistra) e il *tristyrene* (destra). In blu è riportato il risultato ottenuto con *Gaussian*, in rosso quello con *Amber*. In ascissa è riportata la distanza dall'angolo diedro della geometria iniziale.

3.2 Topologia dello stirene e dell'alcol benzilico

Vengono illustrati ora i risultati ottenuti durante la costruzione della topologia per lo stirene e per l'alcol benzilico che serviranno per l'analisi del comportamento del polistirene in solvente. Sono presentati in ordine: la struttura delle due molecole (figura 3.9), il confronto di scan rotazionali più significativi (figura 3.10) e le cariche atomiche ottenute con il metodo RESP (tabella 3.2).

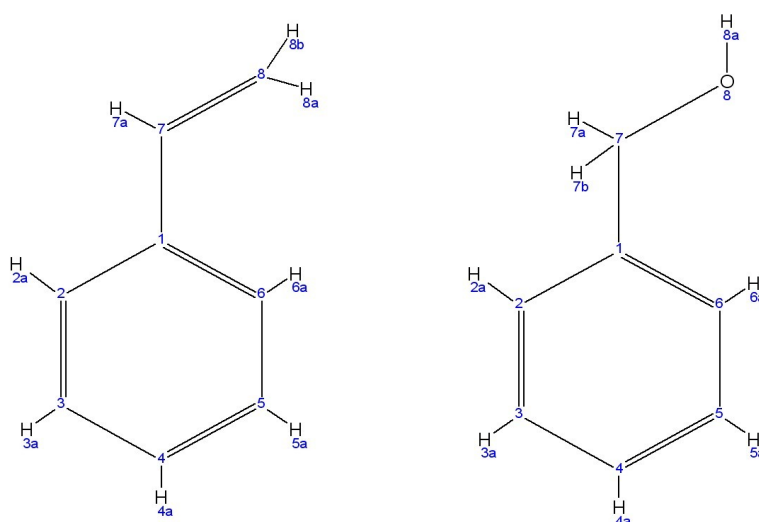


Figura 3.9. Struttura molecolare dello stirene (destra) e dell'alcol benzilico (sinistra)

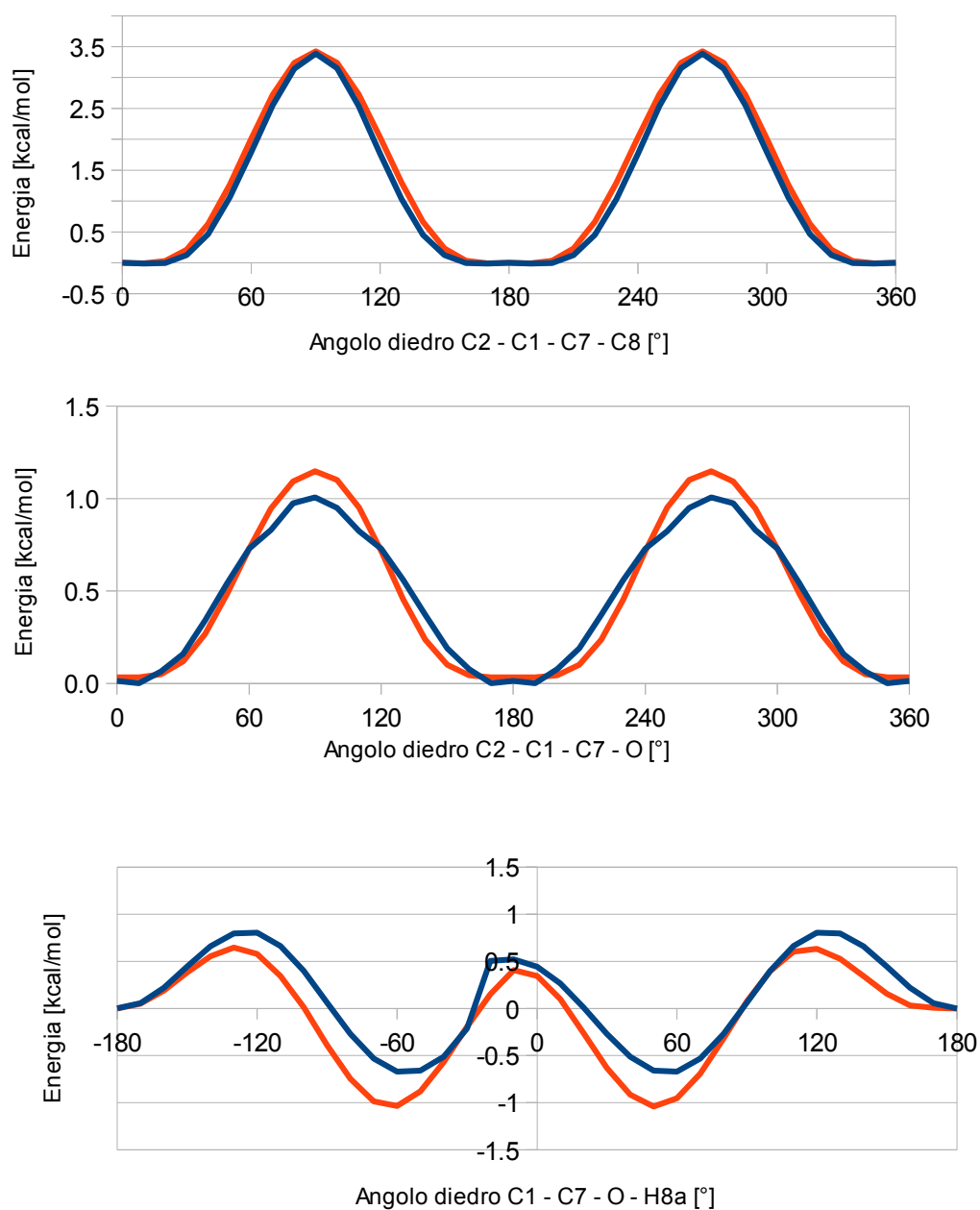


Figura 3.10. Energia corrispondente allo scan rotazionale per le principali torsioni di legame di stirene e alcol benzilico. In blu è riportato il risultato ottenuto con *Gaussian*, in rosso quello con *Amber*. Il primo grafico è correlato alla torsione tra il vinile e il gruppo fenilico nello stirene. Il secondo alla torsione del gruppo fenilico rispetto al resto della molecola nell'alcol benzilico. Il terzo alla torsione del diedro formato dagli atomi C-C-O-H sempre per l'alcol benzilico.

Tabella 3.2. Cariche puntuali in unità elettronica assegnate dal codice RESP agli atomi per i due solventi (a cui fanno riferimento gli indici atomici definiti in figura 3.9). A colori uguali corrispondono cariche imposte uguali per simmetria.

Stirene			Alcol Benzilico		
Atomo	ID atomo	Carica	Atomo	ID atomo	Carica
C	1	0.19780	C	1	0.02411
C	2	-0.18560	C	2	-0.06387
H	2a	0.14210	H	2a	0.08326
C	3	-0.16490	C	3	-0.15399
H	3a	0.14900	H	3a	0.12472
C	4	-0.13150	C	4	-0.13594
H	4a	0.13950	H	4a	0.12247
C	5	-0.16490	C	5	-0.15399
H	5a	0.14900	H	5a	0.12472
C	6	-0.18560	C	6	-0.06387
H	6a	0.14210	H	6a	0.08326
C	7	-0.19070	C	7	0.13095
H	7a	0.14720	H	7a	0.02963
C	8	-0.41730	H	7b	0.02963
H	8a	0.18690	O	8	-0.56050
H	8b	0.18690	H	8a	0.37942

3.3 Calcolo della PMF

3.3.1 Metodo WHAM

Costruita la catena a sei monomeri di stirene (si è partiti concentrandosi sul modello isotattico) è possibile procedere alla stima del PMF correlata alla distanza tra il carbonio radicalico e l'idrogeno legato al quinto carbonio della catena. Il primo passo per l'applicazione del WHAM consiste dunque nel riconoscere la minima e la massima distanza raggiunta dai due atomi ad un ragionevole valore di energia, decidere il numero di traiettorie e la costante armonica del potenziale virtuale dunque raccogliere i dati statistici ottenuti; questi verranno poi processati con l'algoritmo presentato da B. Roux (*Computer Physics Communication*, 1994) al fine di ricostruire la PMF completa.

Per quanto riguarda la dinamica molecolare la simulazione è stata condotta a 300K, nel vuoto con un cutoff, la distanza alla quale vengono attenuate le interazioni elettrostatiche e di Van der Waals tra gli atomi, di 12 Armstrong. L'intervallo entro cui varia ragionevolmente la distanza tra i due atomi di interesse è compresa tra 2.3 e 6.2 Å: di conseguenza un ragionevole Umbrella Sampling conta 8 traiettorie equidistanti centrate alla distanza di 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 e 6.0 Å.

Il grafico di figura 3.11 mostra i dati ottenuti per traiettorie di 40 nanosecondi a due diversi valori della costante armonica. La formula secondo cui tale costante influisce sul potenziale è

la seguente:

$$Potenziale\ Virtuale = k_{armonica} \cdot (x - x_{centrale})^2$$

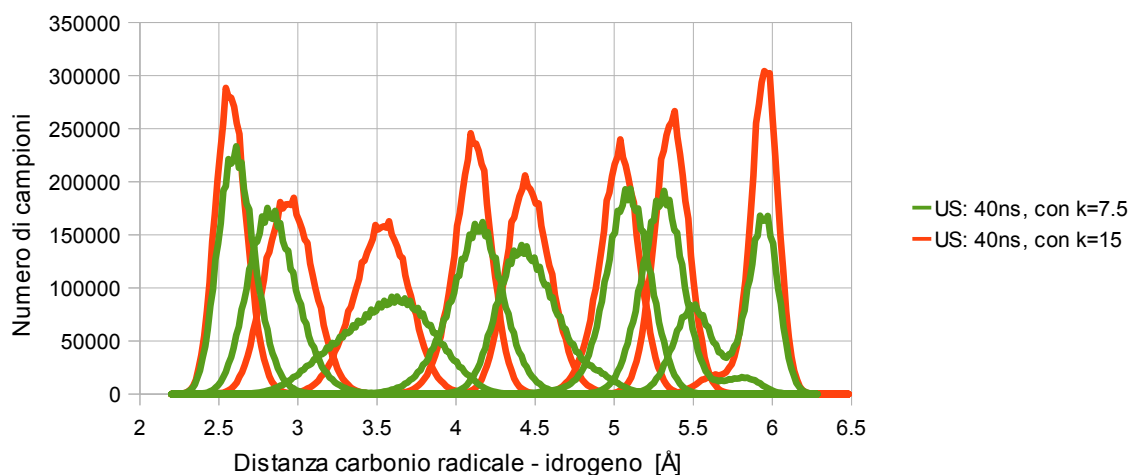


Figura 3.11. Valori della distanza radicale - idrogeno ottenuti con traiettorie da 40 nanosecondi per l'isotattico. I due colori evidenziano i dati ottenuti con differenti costanti armoniche k [kcal/mol/ Å]

Un altro parametro che è possibile impostare è il numero di simulazioni (denominato “*istep*”) che intercorre tra la registrazione di un campione e la registrazione del successivo: scegliendo un valore di *istep* ragionevolmente uguale a 10 e considerando che le simulazioni sono state effettuate con passi di un femtosecondo, per ogni nanosecondo di simulazione vengono raccolti centomila campioni.

Dal grafico di figura 3.11 è possibile notare come con una costante armonica più elevata le distribuzioni di valori siano più strette e prossime al valore centrale della traiettoria. Inoltre è verificato che in entrambi i casi vi sia una sovrapposizione delle distribuzioni adiacenti: questa condizione è fondamentale per una corretta ricostruzione della PMF.

Tuttavia sebbene il valore della costante armonica non dovrebbe compromettere il profilo finale della PMF ottenuta applicando il metodo WHAM, i due risultati mostrano andamenti comuni ma valori differenti.

E' già possibile farsi comunque un'idea approssimativa della curva di energia correlata all'avvicinamento dell'idrogeno al carbonio radicale: si evidenzia un minimo relativo intorno ai 2.6 Å che rappresenta uno stato precursore della reazione di backbiting. Questo è separato dal minimo assoluto da una barriera di circa 3 kcal/mol.

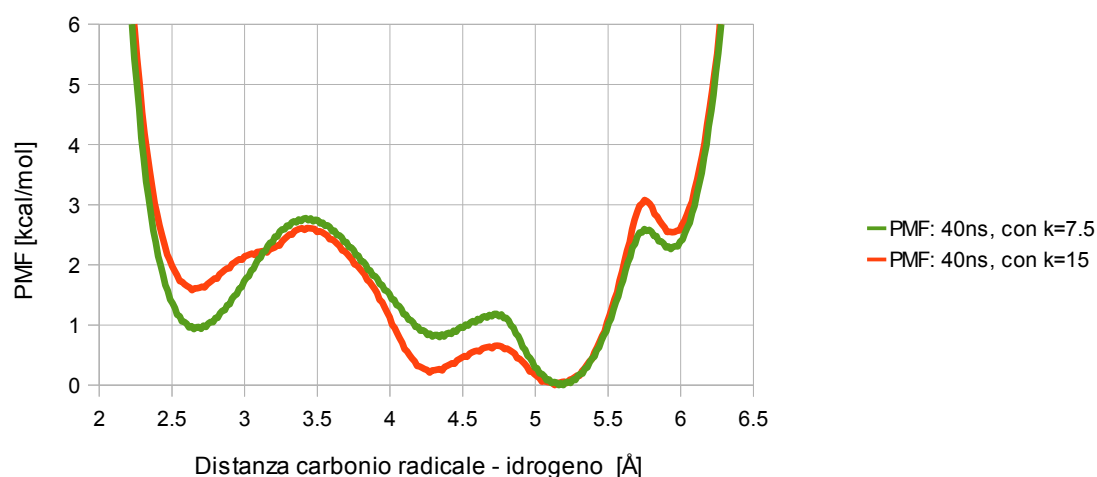


Figura 3.12. PMF ottenuto tramite WHAM utilizzando i campioni raccolti con l'US per otto traiettorie da 40 nanosecondi sul modello isotattico e riportati nella figura precedente.

Purtroppo però non è ancora possibile valutare accuratamente la differenza di energia tra il minimo assoluto e il minimo relativo del precursore data la differenza dei due risultati ma ragionevolmente sarà intorno alla singola kcal/mol.

Si è cercato dunque di portare a convergenza il profilo della PMF aumentando il tempo di simulazione delle traiettorie e verificando che campionamenti indipendenti o con piccole modifiche dei parametri portassero comunque a curve simili. Procedendo con l'indagine è stato impossibile raggiungere una convergenza ragionevole, soprattutto per quanto riguarda proprio l'energia dello stato precursore.

Il motivo dell'insuccesso risiede nel fatto che la distanza che si desidera misurare non è una variabile indipendente in quanto è determinata primariamente dai legami, gli angoli e soprattutto i diedri formati dagli atomi compresi tra le due estremità (il carbonio radicalico e l'idrogeno legato al quinto carbonio).

In figura 3.13 viene mostrato un esempio che evidenzia questa criticità: per una simulazione da 200 nanosecondi (costante armonica di 7.5 kcal/mol/Å) è possibile notare una evidente deviazione nel risultato nel periodo compreso tra 50 e 100 ns. Questo scostamento interessa la traiettoria centrata su valore di 3.5 Å ed è evidente se si osserva direttamente il grafico dei campioni raccolti (figura 3.14). Osservando il comportamento del polimero si nota che la distribuzione dei valori campionati varia a seguito di una distorsione del diedro formato dal primo (radicalico), secondo, terzo e quarto carbonio della catena polimerica: succede che il diedro si porta dalla configurazione più stabile ad una seconda configurazione che implica una

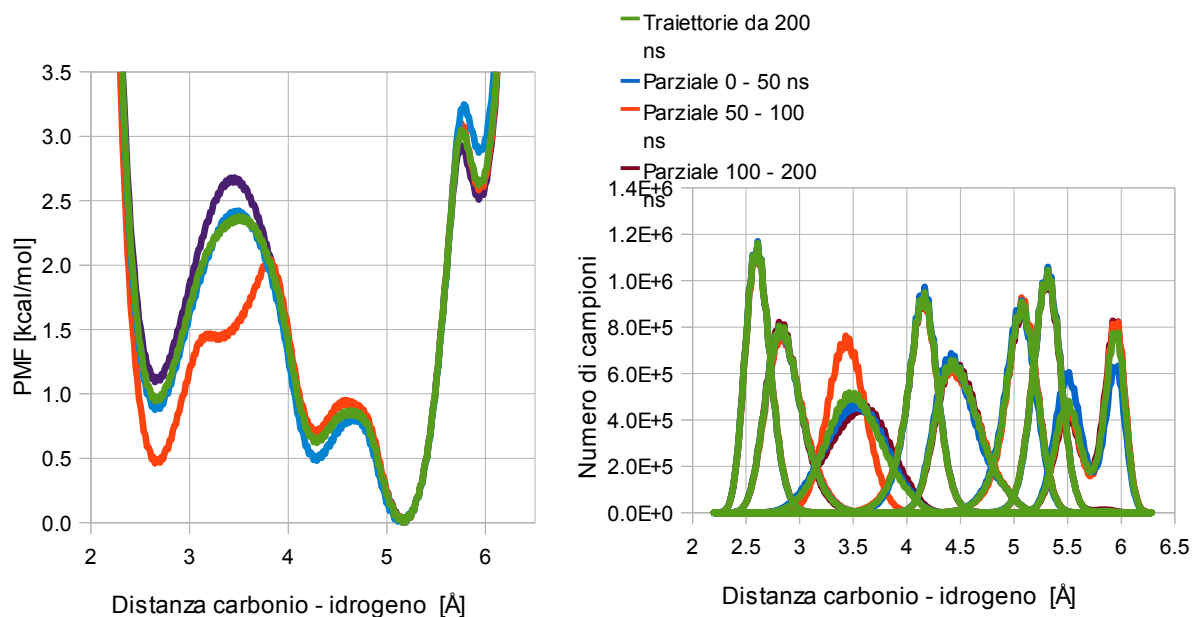


Figura 3.13. Andamento del PMF e dei campioni raccolti con l'US durante il procedere della simulazione dinamica. Nel periodo compreso tra i 50 e i 100 ns (curva rossa) si nota un significativo scostamento dai valori medi del resto della simulazione.

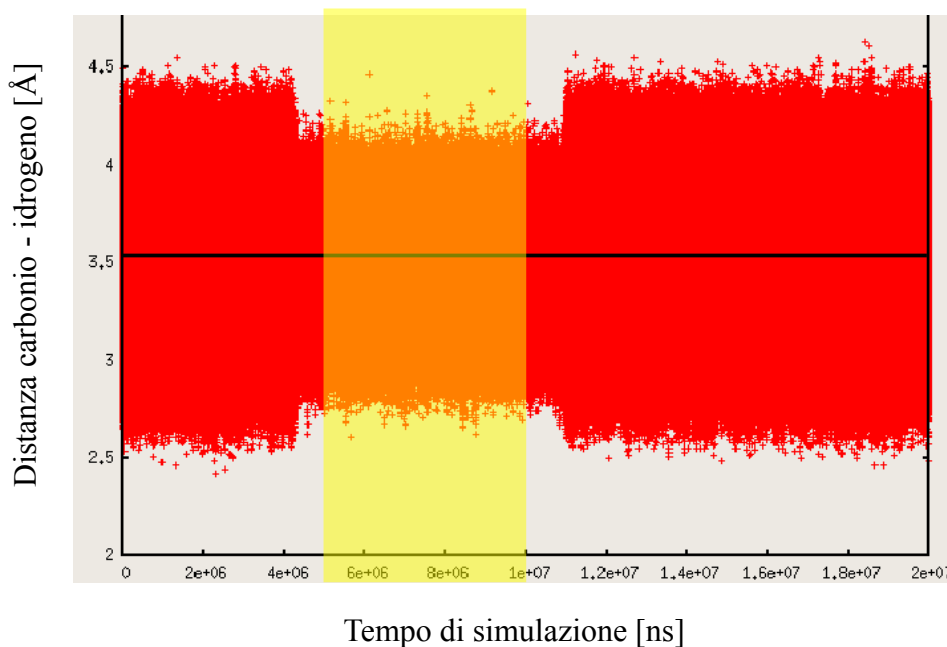


Figura 3.14. Valore della distanza C - H dei campioni raccolti nel tempo. In giallo è evidenziata la porzione di traiettoria compresa tra 50 e 100 ns.

distribuzione della distanza carbonio - idrogeno più stretta.

Il passaggio da una configurazione all'altra del diedro, considerando che la distanza carbonio - radicale è bloccata a 3.5 Å dal potenziale virtuale, è un evento piuttosto raro con una frequenza dell'ordine della decina di nanosecondi ad una temperatura di 300 K. Quello che accade in pratica è che la forzatura sulla distanza fa sì che il diedro si incastri nell'una o nell'altra posizione impedendo quindi di pesare correttamente l'abbondanza relativa delle due. Questa evidenza decreta l'inadeguatezza dell'approccio utilizzato ad ottenere risultati precisi con tempi di calcolo ragionevoli ed evidenzia soprattutto la complessità del problema che si sta cercando di risolvere.

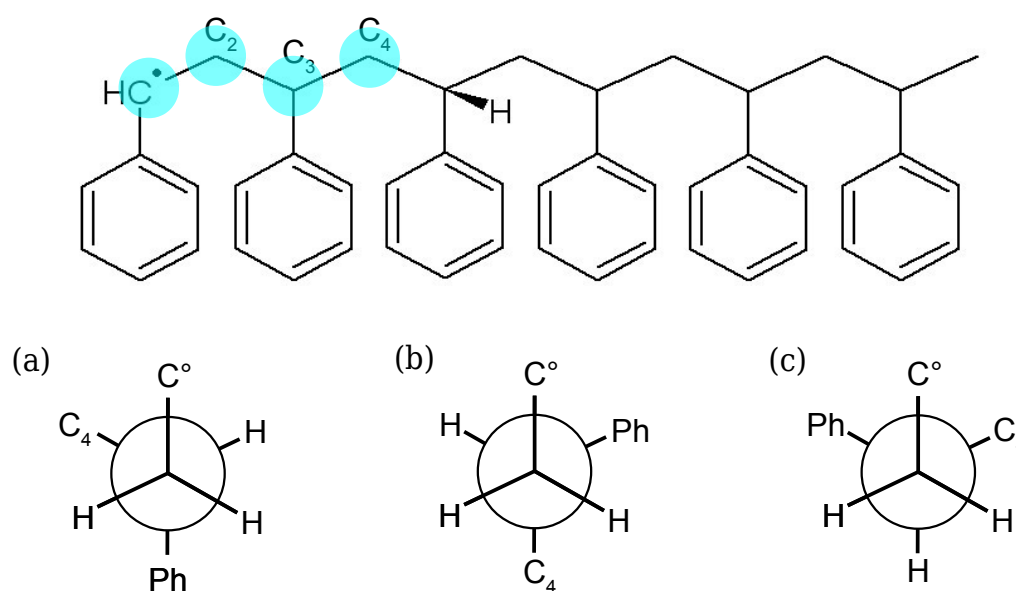


Figura 3.15. Angolo diedro $C^\circ - C_2 - C_3 - C_4$ nella molecola di *esastirene*. Per un valore del diedro di -60° si ha la configurazione (a) che risulta la più stabile; la configurazione (b) per 180° è instabile e torna a dare (a) mentre la configurazione (c) per $+60^\circ$ nonostante sia meno stabile è quella in cui il sistema tende ad “incastrarsi” per elevati periodi di tempo.

3.3.2 Utilizzo della Metadinamica

Il primo problema che si presenta per questo approccio è la scelta di valori ragionevoli per i parametri di input: altezza e larghezza delle gaussiane, intervallo di deposizione, BF e tempo di simulazione. Fortunatamente avendo già avuto modo di approcciarsi al sistema nelle analisi precedenti col WHAM e avendo un'idea della curva finale della PMF è stato possibile

ipotizzare subito dei parametri ragionevoli.

Un'altra criticità è rappresentata dalla scelta delle *variabili collettive* (CV), ossia le variabili geometriche del sistema a cui applicare il potenziale virtuale.

Inizialmente per testare il metodo si è scelto di utilizzare come unica CV la distanza carbonio radicale - idrogeno: anche in questo caso tuttavia, dopo molti tentativi, è stato impossibile arrivare ad una convergenza della PMF a causa del problema di fondo evidenziato alla fine del paragrafo precedente. E' stato dunque necessario analizzare il sistema nel dettaglio per affrontare adeguatamente il problema.

La metadinamica consente di applicare il potenziale virtuale a più CV in modo da forzare la molecola ad esplorare rapidamente tutte le configurazioni possibili. I gradi di libertà per una catena polimerica sono moltissimi (tutti i legami, gli angoli e i diedri formati da atomi adiacenti) e sarebbe impensabile concepirli tutti come CV: nella pratica si riesce ad arrivare a massimo 3 o 4 CV, con tempi di calcolo ragionevoli.

In quest'ottica la distanza di interesse per il *backbiting* 1:5 non è neppure un grado di libertà indipendente in quanto è caratterizzato dai cinque legami, quattro angoli e tre diedri che separano nella catena il carbonio radicale dall'idrogeno. Dodici CV sono ancora troppe, ma dal momento che fondamentalmente i legami e gli angoli oscillano stabilmente intorno ad una posizione di equilibrio, è ragionevole considerare come CV solamente i tre diedri e la distanza carbonio - idrogeno (quest'ultima conterrà implicitamente gli otto gradi di libertà dei legami e degli angoli).

Lo svantaggio di quest'ultimo approccio è dovuto alla lentezza della misurazione: il potenziale deve saturare tutte le combinazioni di valori delle tre CV, per un tempo totale proporzionale a x^4 dove x è proporzionale all'intervallo di valori della CV e inversamente proporzionale alla larghezza delle gaussiane.

Il grafico in figura 3.16 mostra come il PMF vada lentamente a convergenza ed al contrario del WHAM individui bene fin da subito la variazione di energia dal minimo assoluto allo stato precursore ed impieghi più tempo invece per determinare l'altezza delle barriere. Il grafico è stato ottenuto per una simulazione a 600K: l'elevata temperatura ha contribuito molto a rendere più rapida la convergenza.

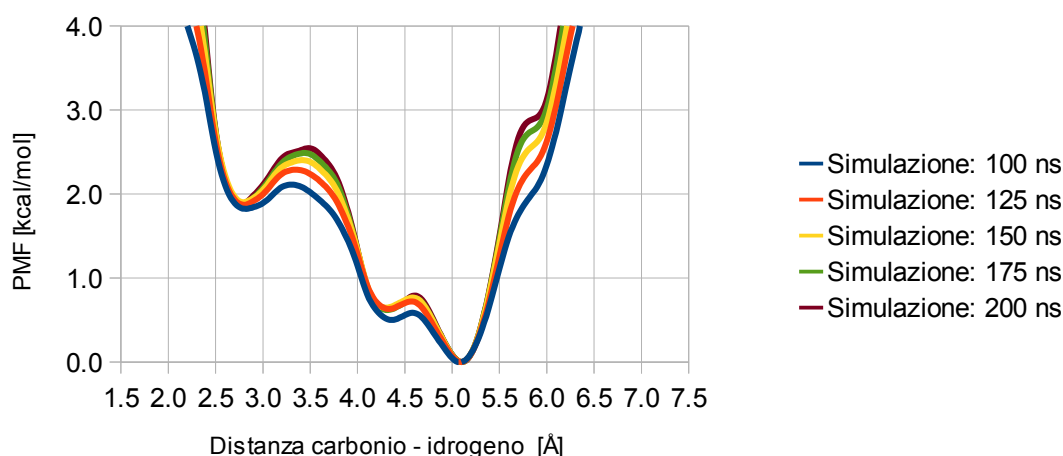


Figura 3.16. PMF ottenuto per vari tempi di simulazione con la metadinamica. Il potenziale virtuale è applicato a quattro CV: tre diedri e la distanza C - H.

3.3.3 Utilizzo dell' algoritmo Reweight

Implementando l'algoritmo Reweight all'interno della metadinamica è possibile ridurre i tempi necessari all'analisi riducendo a tre il numero di CV (solamente i diedri) su cui applicare il potenziale virtuale. In un secondo momento sarà possibile ricostruire il PMF relativo alla distanza di interesse.

Questo approccio si è rivelato particolarmente vincente per questo lavoro in quanto permette di ottenere curve di energia poco accurate ma con le giuste proporzioni dopo soli pochi nanosecondi di simulazione ed un profilo decisamente accurato a 100 ns. E' stato possibile dunque procedere con una campagna di misurazioni a varie temperature e differenti strutture isomeriche e soprattutto è stato possibile lavorare con i più onerosi sistemi solvatati.

3.3.4 PMF calcolati per i vari sistemi

Il calcolo dei PMF è stato eseguito su quattro isomeri dell'*esastirene*: l'isotattico, il sindiotattico e due atattici simili alle strutture precedenti con però tatticità invertita sul settimo carbonio della catena.

Le quattro strutture sono mostrate in figura 3.17.

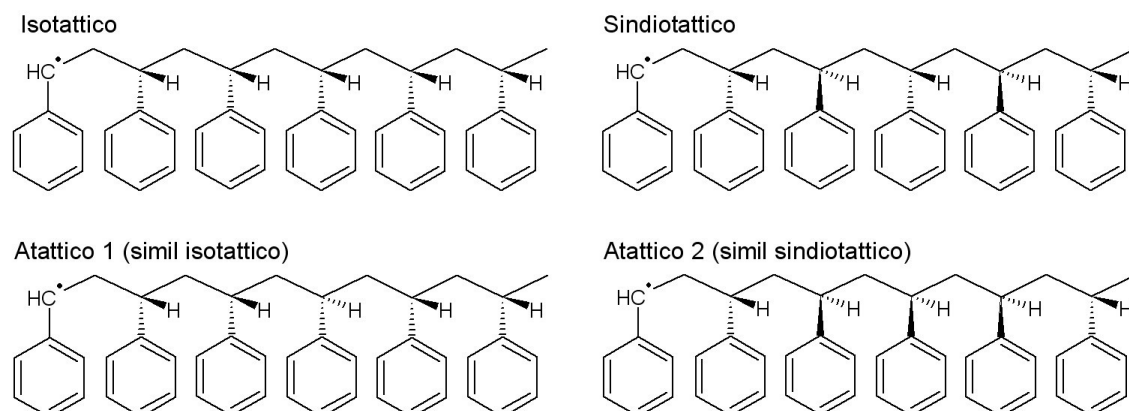


Figura 3.17: i quattro isomeri dell'*esastirene* studiati.

La simulazione è stata condotta nel vuoto a varie temperature comprese tra 300K e 600K mantenendo i seguenti parametri:

<i>Metadinamica</i>
Assenza del termine <i>generalized Born</i>
Termostato di Langevin
Step di integrazione: 1fs
Frequenza di collisione: 5 ps
Cut-off: 12 Å
Tempo di simulazione: 100 ns

<i>PLUMED</i>
Altezza gaussiane: 0.25 kcal/mol
Sigma gaussiane: 0.15 Å
Intervallo di deposizione: 500 step
Intervallo di monitoraggio: 100 step

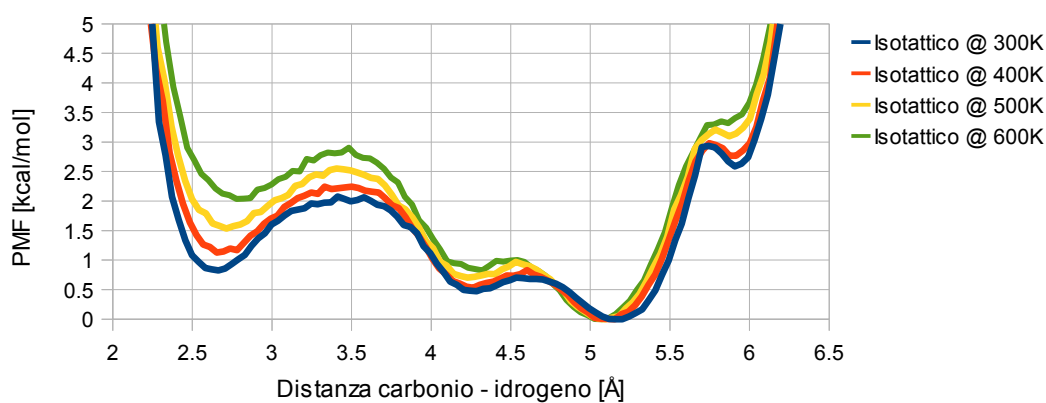


Figura 3.18. PMF relativi all'*esastirene* isotattico, ottenuti con l'algoritmo Reweight a varie temperature.

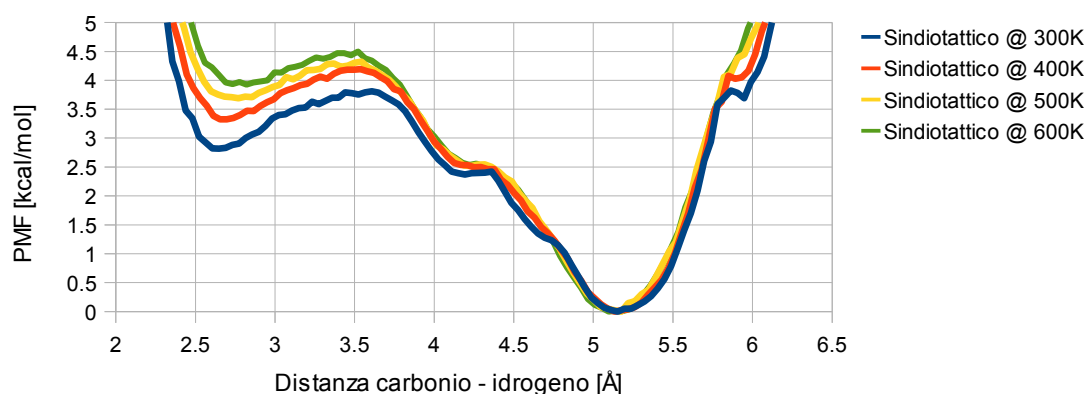


Figura 3.19. PMF relativi all'*esastirene* sindiotattico, ottenuti con l'algorithm Reweight a varie temperature.

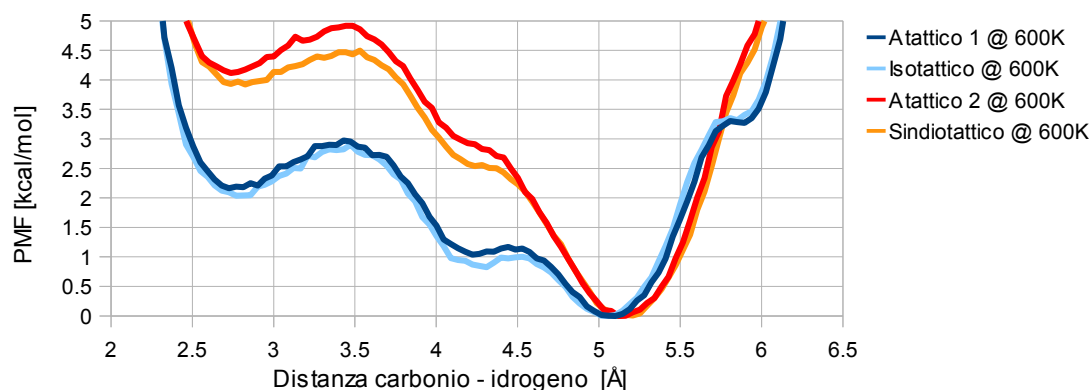


Figura 3.20. PMF relativi ai quattro isomeri dell'*esastirene*, ottenuti con l'algorithm Reweight a 600K.

Osservando i grafici delle figure 3.18, 3.19, 3.20, è possibile fare alcune considerazioni. In primo luogo si nota che all'aumentare della temperatura aumentano in modo regolare l'energia dello stato precursore e la barriera energetica. Inoltre è evidente che per l'isomero sindiotattico lo stato precursore sia molto meno favorito rispetto all'isotattico. Infine dall'ultimo grafico si evince che le due configurazioni atattiche si comportano in modo molto simile (praticamente identico nel caso del primo atattico) ai rispettivi isomeri di riferimento.

Sono presentati ora in figura 3.21 i risultati delle simulazioni in solvente a 400K e 600K (a 300K non è stato possibile raggiungere una convergenza accettabile). Si tenga presente che queste simulazioni da 100ns hanno richiesto un tempo di calcolo compreso tra le due e le quattro settimane dunque si è optato per applicare lo studio del sistema solvatato per un solo isomero: l'*esastirene* sindiotattico.

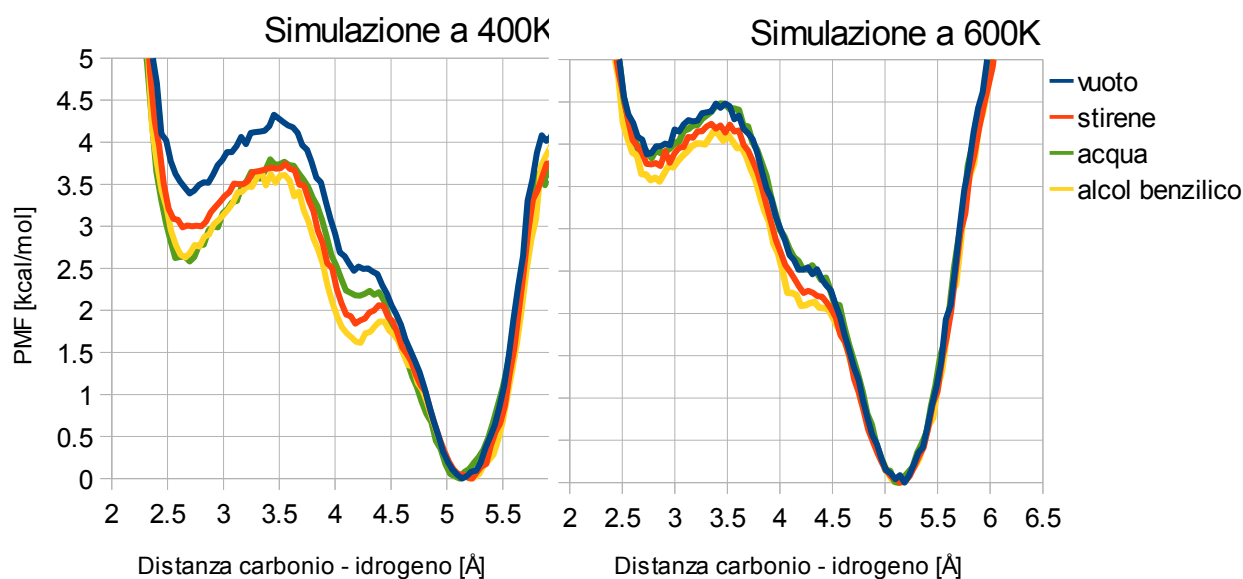


Figura 3.21. PMF relativi all'*esastirene* sindiotattico in solvente (stirene, acqua e alcol benzilico). Per la simulazione a 600K la PMF ottenuta con acqua (verde) si sovrappone a quella in vuoto (blu).

Si ha modo di notare una leggera stabilizzazione indotta dal solvente ma non particolarmente significativa tenendo comunque conto del margine di incertezza del metodo che si attesta intorno alla mezza chilocaloria per mole.

3.4 Struttura dello stato precursore

Una volta individuato il PMF è necessario caratterizzare la geometria dello stato precursore da cui avverrà la reazione di backbiting. In base alle ipotesi di questo approccio si cerca una configurazione stabile (rappresentata da un minimo relativo), avente una bassa distanza tra l'idrogeno e il carbonio radicale. Rappresentando il grafico nelle due variabili distanza e diedro è possibile individuare anche la combinazione dei tre diedri dello stato (che non è detto sia unico) precursore.

Nei grafici di figura 3.22 sono riportati i risultati per l'isotattico a 600K che sostanzialmente risulteranno simili all'atattico 1 e manterranno gli stessi andamenti, con valori diversi, anche a temperature inferiori.

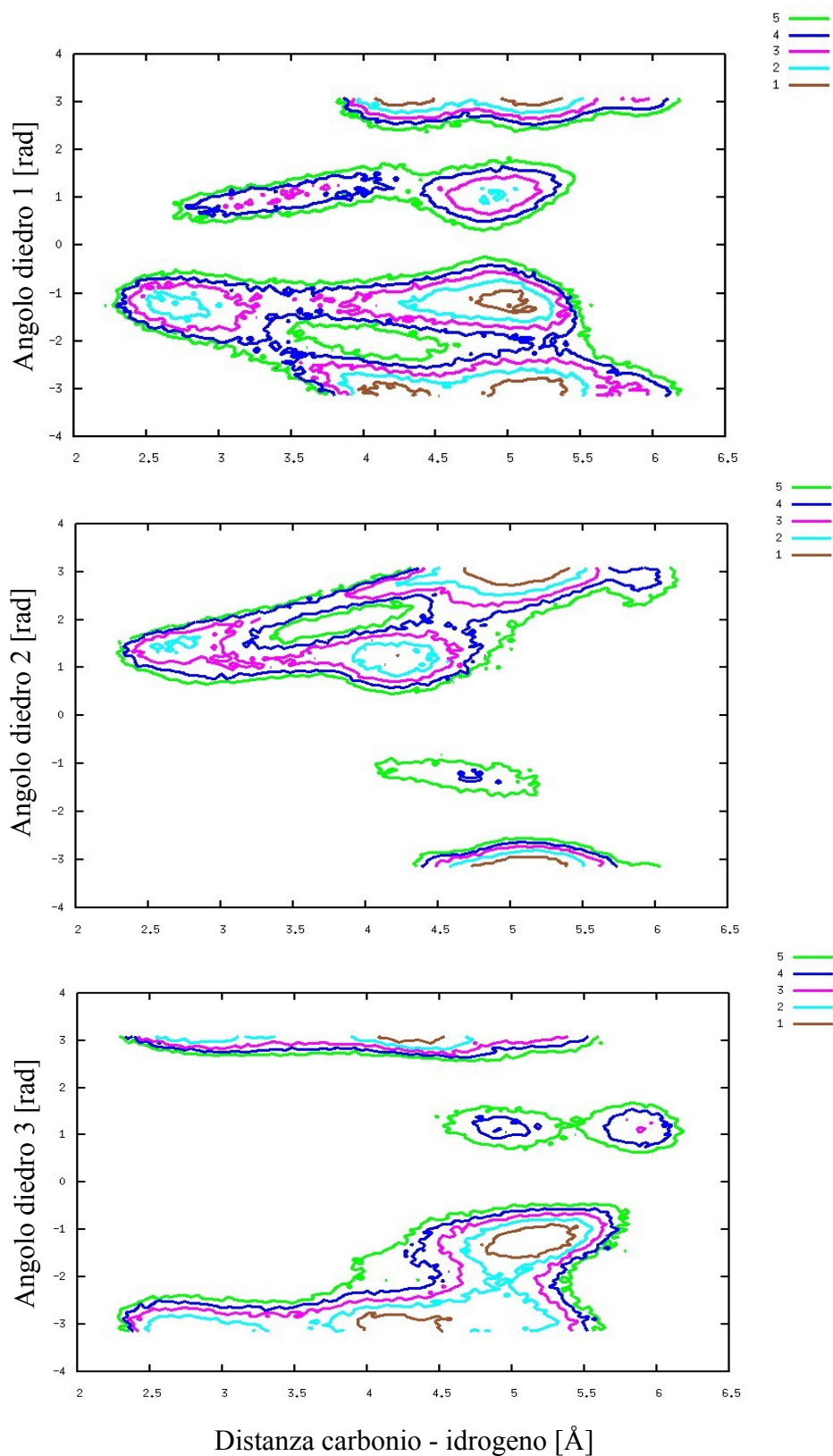


Figura 3.22. Grafico del PMF [kcal/mol] (proiettato sul piano con curve di livello) in funzione della distanza carbonio radicale - idrogeno e dei tre diedri di riferimento. Nel primo grafico si tratta del diedro C radicale - C2 - C3 - C4, nel secondo C2 - C3 - C4 - C5 e nel terzo del diedro C3 - C4 - C5 - C6. L'indice rappresenta la posizione del carbonio sulla catena.

Sono presentate di seguito le caratteristiche dello stato precursore, che risulta essere unico.

<i>Isotattico e Atattico 1</i>	
Distanza C - H	2.6 Å
Diedro 1	- 60°
Diedro 2	+ 60°
Diedro 3	180°

<i>Sindiotattico e Atattico 2</i>	
Distanza C - H	2.6 Å
Diedro 1	- 60°
Diedro 2	+ 60°
Diedro 3	+ 60°

Per identificare le caratteristiche dello stato precursore si è ritenuto lecito trascurare il comportamento della porzione di catena dal sesto all'ultimo carbonio, ma c'è un altro parametro geometrico che non può essere trascurato: il diedro formato dall'idrogeno legato al carbonio radicale, dallo stesso carbonio radicale e dal secondo e terzo carbonio della catena. Per distanze radicale - idrogeno prossime ai 2.6 Å il PMF calcolato rispetto a questo diedro presenta due minimi intorno a +100° e -60°: occorre quindi tener conto di queste due configurazioni dello stato precursore per tutti gli isomeri. Verranno chiamati d'ora in poi "stato precursore A" e "stato precursore B". Il sistema rilassato si porterà in uno stato o l'altro con una certa probabilità, calcolabile integrando l'energia delle configurazioni caratterizzate da distanze radicale - idrogeno vicine a 2.6 Å: tanto più il risultato dell'integrazione sarà 0.5 e 0.5, tanto più i due stati saranno equiprobabili.

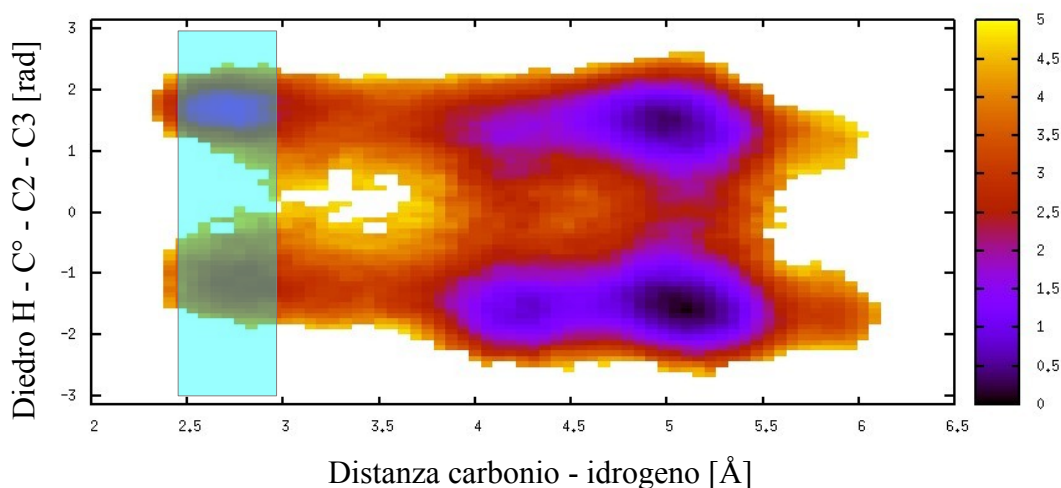


Figura 3.23. Grafico del PMF [kcal/mol] in funzione della distanza carbonio radicale - idrogeno [Å] (ascisse) e del diedro H - C radicale - C2 - C3 (dove H è l'idrogeno legato al carbonio radicale). In azzurro è evidenziata la porzione di valori per distanze vicine a quelle tipiche dello stato precursore (2.6 Å) ed utilizzate per l'integrazione.

Tale coefficiente verrà riportato nelle tabelle 3.5 e 3.6 con il nome di “Peso relativo per lo stato precursore A” (per lo stato B la probabilità è data semplicemente da uno meno il valore riportato).

3.4.1 Calcolo della correzione conformazionale statistica

Noto il profilo di PMF al variare della distanza radicale - idrogeno è possibile stimare l'abbondanza relativa di stati precursore che corrisponderà al coefficiente di correzione conformazionale. Come illustrato nel capitolo precedente però occorre valutare l'ampiezza dell'intervallo entro cui oscilla il valore della distanza dal punto di minimo energetico, approssimando ad armonico il potenziale nel suo intorno.

Utilizzando metodi quantistici è possibile identificare i moti vibrazionali per le configurazioni di stato precursore di ogni isomero: da questa analisi si osserva che le vibrazioni che influenzano maggiormente la distanza radicale - idrogeno hanno, per tutti i casi, frequenza compresa tra i 100 e i 200 cm^{-1} . Tenendo conto dunque di una frequenza media di 150 cm^{-1} l'energia massima raggiunta per l'oscillazione armonica è pari a 0.62 kcal/mol a 300 K, 0.81 kcal/mol a 400K, 1.01 kcal/mol a 500 K e 1.20 kcal/mol a 600K.

Noti questi valori si procede approssimando il profilo del PMF nell'intorno del minimo relativo ad una parabola, stimando l'ampiezza dell'oscillazione armonica e pesando dunque la quantità relativa di configurazioni della molecola aventi distanza radicale - idrogeno compresa in quest'intervallo. Quest'ultima operazione si esegue integrando la funzione di densità di probabilità calcolata dal PMF.

Tutti i valori ottenuti saranno riportati nelle tabelle 3.5 e 3.6 sotto il nome di “Correzione conformazionale statistica” della costante cinetica.

3.5 Calcolo dell'energia e della funzione di partizione con metodi QM

Ottenuta la geometria dello stato precursore si passa ai metodi QM per calcolare la frequenza con cui avviene il salto dell'idrogeno a partire da questa configurazione.

Purtroppo al livello di teoria desiderato (M06-2x/6-311+G(d,p)), la modellazione dell'esastirene risulta davvero troppo onerosa: sono state eliminate dunque le due unità monomeriche finali, contando sul fatto che esse non avranno un grosso impatto sul fenomeno reattivo per la struttura già ripiegata. Inoltre non avendo informazioni circa la loro geometria

dalle analisi precedenti si evita di selezionare una conformazione arbitraria per il calcolo. La tabella 3.3 elenca i risultati ottenuti per quanto riguarda l'energia dei vari isomeri, sia per lo stato precursore (A e B) sia per lo stato di transizione che si ottiene da esso.

Tabella 3.3. Energia assoluta per entrambi gli stati precursori di ogni isomero e differenza di energia tra precursore e stato di transizione. Calcoli eseguiti per via quantistica.

		Energia SCF [kcal/mol]	ZPE [kcal/mol]	Energia tot. [kcal/mol]	Δ Energia [kcal/mol]
Isotattico, precursore A	Stato precursore	-777490.28	352.00	-777138.29	19.19
	Stato di transizione	-777467.95	348.86	-777119.10	
Isotattico, precursore B	Stato precursore	-777487.92	352.02	-777135.90	20.82
	Stato di transizione	-777464.04	348.96	-777115.08	
Sindiotattico, precursore A	Stato precursore	-777490.41	352.19	-777138.22	20.69
	Stato di transizione	-777466.81	349.28	-777117.53	
Sindiotattico, precursore B	Stato precursore	-777486.84	352.37	-777134.47	16.40
	Stato di transizione	-777467.35	349.28	-777118.07	
Atattico 1, precursore A	Stato precursore	-777491.92	352.19	-777139.73	21.86
	Stato di transizione	-777467.31	349.44	-777117.87	
Atattico 1, precursore B	Stato precursore	-777489.98	351.95	-777138.03	22.00
	Stato di transizione	-777464.94	348.92	-777116.03	
Atattico 2, precursore A	Stato precursore	-777486.86	351.58	-777135.28	19.10
	Stato di transizione	-777464.69	348.51	-777116.18	
Atattico 2, precursore B	Stato precursore	-777488.04	351.84	-777136.20	20.48
	Stato di transizione	-777464.51	348.79	-777115.72	

Infine, la stima delle frequenze di vibrazioni e di rotazione eseguita sempre per via quantistica, consente di calcolare per ognuna delle configurazioni la funzione di partizione molecolare in approssimazione di oscillatore armonico. Tale parametro dipende dalla temperatura del sistema e permetterà di determinare il fattore pre-esponenziale della costante cinetica applicando la teoria dello stato di transizione.

3.6 Stima finale delle costanti cinetiche di reazione

A questo punto è possibile unire i risultati dei calcoli eseguiti con la meccanica molecolare e quelli eseguiti con la meccanica quantistica per ottenere i valori complessivi per la reazione di

backbiting 1:5 per i sistemi esaminati.

Occorre innanzitutto individuare quale tra i due precursori individuati risulta il minimo energetico secondo i calcoli QM: esso costituirà idealmente la struttura di collegamento tra i due metodi MM e QM. Secondo i calcoli quantistici il precursore con energia minore è il precursore A per tutti gli isomeri tranne che per l'atattico 2. In tabella 3.4 sono riportate le differenze di energia tra il precursore di minimo energetico e gli stati di transizione ottenuti a partire da A e da B.

Tabella 3.4. Differenza di energia tra lo stato precursore e lo stato di transizione ottenuto dalla configurazione A e dalla B. Sono comprese le correzioni di energia di punto zero.

Isomero	Stato precursore di minimo energetico	Energia di attivazione stato di transizione A	Energia di attivazione stato di transizione B
		[kcal/mol]	[kcal/mol]
isotattico	A	19.19	23.21
atattico 1	A	21.86	23.70
atattico 2	B	20.02	20.48
sindiotattico	A	20.69	20.15

La scelta di selezionare un precursore di minimo energetico a cui comparare i due stati di transizione invece di considerare entrambi i precursori A e B rapportati al loro stato di transizione permette di collegare meglio il passaggio da MM a QM rendendo l'approccio complessivo più robusto: la costante finale è meno soggetta a errori dovuti alla selezione di precursori A e B con energia relativamente elevata. La tabella 3.5 riporta le costanti cinetiche finali calcolate con questo approccio e i vari contributi che le compongono:

$$k_{cinetica} = [k_{TST}^A \cdot k_{Tunnel}^A + k_{TST}^B \cdot k_{Tunnel}^B] \cdot k_{CC} \cdot \left(\begin{array}{l} \text{Peso relativo} \\ \text{per lo stato} \\ \text{precursore di} \\ \text{minimo energetico} \end{array} \right)$$

Si ricordi che poiché nel caso dell'atattico 2 lo stato precursore di minimo è il B, occorrerà considerare come fattore il valore complementare del valore riportato nella colonna "Peso relativo per lo stato precursore A". Per quanto riguarda la correzione dovuta al tunneling con il metodo Eckart bisogna tener conto che la stima a 300K è poco accurata ed è lecito tenere in considerazione solamente l'ordine di grandezza del valore ottenuto, mentre per temperature superiori il metodo è già sufficientemente accurato.

Tabella 3.5. Costante cinetica per la reazione di *backbiting* 1:5 nel vuoto.

Isomero	T [K]	k_{TST}^A	k_{TST}^B	k_{Tunnel}^A	k_{Tunnel}^B	k_{CC}	Peso relativo per lo stato precursore A	$k_{BB1:5} [s^{-1}]$
isotattico	300	6.83E-3	1.33E-4	20.42	30.85	0.094	0.70	9.46E-3
	400	2.29E+1	2.61E+0	4.02	4.64	0.084	0.65	5.66E+0
	500	3.04E+3	1.01E+3	2.30	2.47	0.086	0.65	5.28E+2
	600	8.05E+4	5.42E+4	1.75	1.84	0.084	0.61	1.24E+4
atattico 1	300	5.52E-5	3.53E-5	29.67	49.14	0.078	0.79	2.08E-4
	400	5.55E-1	8.51E-1	4.51	5.45	0.105	0.74	5.53E-1
	500	1.42E+2	3.69E+2	2.43	2.69	0.064	0.66	5.68E+1
	600	5.79E+3	2.15E+4	1.81	1.94	0.070	0.63	2.29E+3
atattico 2	300	9.06E-3	1.70E-3	22.48	16.03	0.007	0.74	3.86E-4
	400	4.54E+1	1.01E+1	4.19	3.61	0.013	0.64	1.02E+0
	500	7.68E+3	1.87E+3	2.35	2.16	0.015	0.62	1.29E+2
	600	2.39E+5	6.20E+4	1.78	1.68	0.022	0.59	4.87E+3
sindiotattico	300	3.98E-4	2.35E-3	27.76	17.83	0.006	0.58	1.85E-4
	400	2.45E+0	1.18E+1	4.46	3.94	0.011	0.54	3.39E-1
	500	4.69E+2	1.99E+3	2.42	2.29	0.020	0.56	6.31E+1
	600	1.58E+4	6.17E+4	1.81	1.76	0.029	0.54	2.16E+3

Valutando l'andamento del contributo relativo alla conformazione statistica è possibile notare che per quanto riguarda l'isotattico e l'atattico 1 (simile all'isotattico) tale valore è più elevato e non mostra una significativa relazione con la temperatura, mentre per il sindiotattico e il simile atattico 2 il valore della correzione è ben più modesto ed aumenta con la temperatura in maniera evidente.

Nel complesso si nota che l'isotattico che reagisce più velocemente è l'isotattico, mentre gli altri isomeri presentano una reattività piuttosto simile al variare della temperatura.

L'effetto della solvatazione porta ad un lieve aumento della velocità di temperatura per tutti i tipi di solvente. La tabella 3.6 riporta i risultati per i sistemi studiati: le simulazioni sono state condotte a 10 bar per i 400 K e a 100 bar per i 600 K. La scelta di pressioni così elevate è dovuta al desiderio di forzare il solvente ad interagire con la molecola per poter evidenziare eventuali influenze significative.

Si noti che, come ci si poteva attendere dall'osservazione dei grafici del PMF, il solvente comporta un lieve ma non particolarmente significativo aumento della velocità della reazione dovuto ad una maggior stabilità dello stato precursore.

Di fatto, se il tipo di solvente non influenzasse in modo evidente la reazione di *backbiting*, la percentuale di stirene nella miscela reattiva sarebbe un parametro controllante il rapporto tra propagazione e *backbiting*: essendo la prima una reazione bimolecolare dipendente dalla concentrazione di monomero e la seconda indipendente da essa, diluendo la miscela di stirene il *backbiting* diventerà sempre più rilevante nel confronto con la propagazione.

Tabella 3.6. Risultati ottenuti per i sistemi solvatati.

Isomero	T, P	Solvente	k_{TST}^A	k_{TST}^B	k_{CC}	Peso relativo per lo stato precursore A	$k_{BB1:5}$ [s ⁻¹]
isotattico	600 K, 100 bar	stirene	1.41E+5	9.96E+4	0.094	0.60	1.36E+4
		stirene			0.017	0.60	5.71E-1
sindiotattico	400 K, 10 bar	alcol benzilico	1.10E+1	4.65E+1	0.018	0.60	6.30E-1
		acqua			0.026	0.50	7.48E-1
sindiotattico	600 K, 100 bar	stirene			0.035	0.61	2.93E+3
		alcol benzilico	2.86E+4	1.08E+5	0.039	0.54	2.89E+3
		acqua			0.028	0.56	2.17E+3

3.7 Confronto dei risultati con lavori precedenti

Al fine di valutare i principali progressi che sono stati possibili grazie a questo lavoro di tesi è utile fare un confronto con i precedenti lavori svolti su questo argomento che sono riportati nella letteratura scientifica.

Il primo confronto possibile è con i valori delle costanti cinetiche per la reazione di *backbiting* 1:5 calcolate mediante teoria dello stato di transizione utilizzando dati stimati per via quantistica da Moscatelli *et al.*. I modelli studiati sono catene di polistirene composte da sei unità e, per tenere conto dei possibili orientamenti sterici, sono stati considerati tre diversi isomeri: uno isotattico e due atattici.

I dati calcolati da Moscatelli *et al.* sono confrontati con quelli determinati in questo lavoro di tesi in Tabella 3.7 per il sistema isotattico ed in Tabella 3.8 per il sistema atattico. La principale differenza fra il lavoro di Moscatelli *et al.* ed il presente studio risiede nell'approccio utilizzato per descrivere la libertà conformazionale del sistema reagente. Nel presente studio infatti tale aspetto è stato preso esplicitamente in considerazione, mentre nello studio precedente è stato sostanzialmente trascurato, stimando la costante cinetica rispetto al

minimo energetico del sistema ed utilizzando l'approssimazione di oscillatore armonico per descrivere i gradi di libertà interni della molecola (approssimazione HO).

I dati riportati in Tabella 3.7 mostrano un accordo fra i due set di simulazioni che a prima vista può apparire piuttosto buono. Tuttavia va considerato che nel lavoro di Moscatelli *et al.* non sono stati inclusi gli effetti di tunneling, che contano per un fattore 20-30 a 300 K ed un fattore 2 a 600 K. Considerando questo aspetto, si può concludere che per il modello isotattico l'approssimazione HO porti ad una sostanziale sovrastima della costante cinetica, che a 600 K è di circa un fattore 3 ed a 300 K di un fattore 10.

Tabella 3.7. Confronto fra la costante cinetica per la reazione di *backbiting* 1:5 calcolato da Moscatelli *et al.* utilizzando un modello isotattico e quella determinata nel presente lavoro.

Temperatura [K]	$k_{\text{BB1:5}} [\text{s}^{-1}]$	
	Moscatelli <i>et al.</i>	Presente Lavoro
	Isotattico	Isotattico
300	5.2E-3	9.5E-3
400	9.6	5.7
500	8.7E+2	5.3E+2
600	1.8E+4	1.2E+4

Il confronto fra le costanti cinetiche calcolate sulla base dell'approssimazione HO per i due modelli atattici considerati da Moscatelli *et al.* ed i risultati ottenuti in questo lavoro per il sistema sindiotattico ed i due sistemi atattici considerati è riportato in Tabella 3.8.

Tabella 3.8. Confronto fra le costante cinetiche per la reazione di *backbiting* 1:5 calcolato da Moscatelli *et al.* utilizzando due modelli atattici e quelle determinata nel presente lavoro usando due modelli atattici ed il modello sindiotattico.

Temperatura [K]	$k_{\text{BB1:5}} [\text{s}^{-1}]$				
	Moscatelli <i>et al.</i>		Presente lavoro		
	RSRRS-R°	RRRSS-R°	Sindiotattico	SSRSS-R°	SRRRS-R°
300	4.5E-3	1.3E-5	1.9E-4	2.1E-4	3.9E-4
400	1.2E+1	1.3E-1	3.4E-1	5.5E-1	1.0E+0
500	1.4E+3	3.2E+1	6.3E+1	5.7E+1	1.3E+2
600	3.2E+4	1.3E+3	2.2E+3	2.3E+3	4.9E+3

Come si può osservare, l'approccio HO prevede una forte dipendenza della costante cinetica dal modello molecolare atattico utilizzato. Ciò è in contrasto con quanto è ragionevole aspettarsi per questo sistema, in quanto ci si aspetterebbe un impatto importante per un cambio di posizionamento relativo dei gruppi fenilici solo se questo fosse associato ad una importante modifica strutturale, il che, come è noto, non avviene per sistemi atattici. E' invece più ragionevole attribuire la grossa variabilità delle costanti cinetiche calcolate con il modello HO alla sua inadeguatezza ad essere utilizzato per studiare sistemi ad elevata mobilità interna. Questa interpretazione è pienamente supportata dai risultati delle simulazioni qui svolte per i due modelli atattici e per il modello sindiotattico considerati. Come si può osservare in fatti le costanti cinetiche predette con questo approccio sono in buon accordo fra di loro, differendo al massimo di un fattore di 2. E infine interessante osservare come le costanti cinetiche predette per sistemi sindiotattici o atattici siano sistematicamente inferiori rispetto a quelle determinate per il sistema isotattico. Ciò è consistente con quanto è ragionevole aspettarsi per questo sistema in quanto è ben noto che il polistirene isotattico è caratterizzato dall'aver una sua propria struttura interna elicoidale. La possibilità per tale polimero di organizzarsi in modo ordinato può essere associata ad una sua tendenza a diminuire la libertà conformazionale, che si rifletterà quindi in una diminuzione dell'entropia del reagente e quindi, in ultima analisi, della differenza di entropia tra reagente e stato di transizione. Ciò si traduce in un aumento della costante cinetica che dipende in modo esponenziale, in base alla teoria dello stato di transizione, da tale variazione di entropia.

I dati riportati nelle tabelle 3.7 e 3.8 consentono di trarre una importante conclusione sul comportamento reattivo del polistirene. Considerando infatti che l'isomero che reagisce in maniera nettamente più veloce è anche quello che si forma meno frequentemente in una polimerizzazione radicalica, ossia l'isotattico, è possibile considerare come ordine di grandezza per la costante cinetica a 600K un valore di 10^3 s^{-1} . La stima di questo valore per la costante di *backbiting* ha importanti implicazioni per la reattività che segue a tale reazione. Infatti, successivamente al trasferimento del radicale da posizione terminale a centrale, diventano possibili due cammini cinetici: il processo inverso e la decomposizione beta. Fra questi due processi quello più rapido è la β -scissione. Infatti, sempre in base ai dati riportati nel lavoro del 2007 ed assumendo che la costante del processo inverso di *backbiting* sia simile a quello del processo diretto, la β -scissione risulta molto più veloce con una costante cinetica di $2.8 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}$ (energia di attivazione di 20 kcal/mol e fattore pre-esponenziale di $10^{12.737}$). Tale

risultato ha una ricaduta piuttosto importante sull'interpretazione dei meccanismi di terminazione delle polimerizzazioni ad alta temperatura del polistirene. In tali condizioni infatti un eventuale *backbiting* di un radicale terminale sarebbe immediatamente seguito dalla decomposizione del radicale così formato.

E' inoltre possibile confrontare i risultati delle presenti simulazioni con le costanti ottenute da Campbell *et al.* nel 2003 per fitting di dati sperimentali a temperature intorno ai 500-600K. Le costanti $k'_{BB1:5}$ che Campbell *et al.* ricavano sono riferite necessariamente ad un *backbiting* 1:5 seguito da una β -scissione: esse sono calcolate misurando l'abbondanza dei dimeri e trimeri prodotti da questa sequenza di reazioni e non è possibile dunque distinguere i due contributi. E quindi molto interessante osservare come vi sia un sostanziale accordo fra le costanti fittate da Campbell *et al.* ed i valori determinati in questo lavoro, con una differenza compresa fra un fattore 2 ed un fattore 3 nel range di temperature di interesse. Considerando le molte incertezze alla base del fitting effettuato da Campbell *et al.* (basato su un modello cinetico complesso), i due set di dati sono molto simili. Tale accordo ci permette di concludere che le costanti ottenute da Campbell *et al.* sono sostanzialmente costanti di *backbiting*.

Tabella 3.9. Confronto fra le costanti cinetiche ottenute da Campbell *et al.* per fit di dati sperimentali e riferite al *backbiting* 1:5 seguito da β -scissione con le costanti per il solo *backbiting* 1:5 stimate in questo lavoro per l'esastirene sindiotattico e due diversi atattici.

Temperatura [K]	$k'_{BB1:5}$ [s ⁻¹]	$k_{BB1:5}$ [s ⁻¹]		
	Campbell <i>et al.</i>	Presente lavoro		
		Sindiotattico	SSRSS-R°	SRRRS-R°
300	9.4E-4	1.9E-4	2.1E-4	3.9E-4
400	2.1E+0	3.4E-1	5.5E-1	1.0E+0
500	2.1E+2	6.3E+1	5.7E+1	1.3E+2
600	4.6E+3	2.2E+3	2.3E+3	4.9E+3

Infine è interessante confrontare la velocità del *backbiting* 1:5 rispetto alla velocità di propagazione del polistirene. Poiché la concentrazione dello stirene liquido puro a temperatura e pressione ambiente è di circa 8.25 mol/L si è considerato come ordine di grandezza della concentrazione di monomero 10⁰.

La costante cinetica di propagazione è stata ottenuta da Buback *et al.* nel lavoro del 1995 per

temperature comprese tra -12 e $+93^{\circ}\text{C}$. In particolare a 400 K il rapporto fra la costante di propagazione e quella di backbiting è di circa 5000 , indicando quindi che per polimeri che raggiungono questa lunghezza di catena è ragionevole aspettarsi che, durante il processo di polimerizzazione, possa avvenire almeno una reazione di backbiting, la quale potrebbe successivamente essere seguita da una ramificazione (*branching*). In prospettiva, sarebbe interessante cercare di correlare il rapporto fra velocità di *backbiting* e velocità di propagazione con alcune proprietà dei polimeri ottenuti, quali il grado di *branching*. Tale calcolo diviene infatti ora possibile grazie alla stima accurata della costante di *backbiting* qui effettuata.

Tabella 3.10. Confronto fra la frequenza con cui avviene la propagazione e le costanti cinetiche relative al *backbiting* 1:5 dell'*esastirene* sindiotattico e dei due diversi atattici. La frequenza con cui il radicale propaga è calcolata dalla costante cinetica stimata da Buback *et al.* considerando una concentrazione di monomero (stirene) unitaria.

Temperatura [K]	f_p [s^{-1}]	$k_{\text{BB}1:5}$ [s^{-1}]		
		Sindiotattico	SSRSS-R $^{\circ}$	SRRRS-R $^{\circ}$
300	9.32E+1	1.9E-4	2.1E-4	3.9E-4
400	2.42E+3	3.4E-1	5.5E-1	1.0E+0

Conclusioni

I principali risultati del presente lavoro di tesi sono di seguito riassunti.

- E' stato sviluppato un nuovo modello per la stima di costanti cinetiche per reazioni unimolecolari caratterizzate da un reagente avente ampia variabilità conformazionale ed uno stato di transizione in cui tale mobilità venga limitata, come è ad esempio il caso delle reazioni di backbiting qui studiate. Il modello proposto si basa sull'applicazione della teoria dello stato di transizione ma ne estrapola il contributo conformazionale. Ciò è possibile dividendo il processo reattivo in due parti: una prima fase di modificazione della struttura della molecola per giungere ad uno stato precursore avente energia interna e struttura simile al reagente ma libertà conformazionale molto minore, ed una seconda caratterizzata dalla modificazione della struttura interna molecolare, ossia dalla rottura e formazione di legami chimici.
- Sono stati studiati diversi protocolli per la stima del termine reattivo associato alla correzione conformazionale. In particolare si è studiata l'applicazione dei metodi che sfruttano la perturbazione dell'energia libera. E' stato trovato che, per quanto riguarda la scelta delle variabili di cui si vuole perturbare l'energia, il campionamento conformazionale è maggiormente efficace se si utilizzano come variabili angoli diedri invece che distanze fra atomi.
- Tra i diversi approcci basati sull'implementazione della teoria di perturbazione dell'energia libera, si è qui trovato che la teoria metadinamica consente di arrivare più rapidamente ed in modo più accurato ai risultati, rispetto al protocollo di calcolo WHAM.
- Si è trovato che tutti gli isomeri del polistirene considerati portano alla formazione, al procedere lungo la coordinata reazione, di due stati precursori differenti, caratterizzati da un diverso orientamento relativo dei gruppi fenili.
- Si è trovato che l'influenza del tipo di solvente sulla costante conformazionale è secondaria, anche se non trascurabile, e tende a rendere più stabile lo stato precursore.

- Per il sistema studiato, è stata determinata una costante di backbiting ad un livello di accuratezza nettamente superiore a quanto presente attualmente nella letteratura scientifica. Tale informazione ha consentito di determinare che il meccanismo di formazione di oligomeri associato alle reazioni di trasferimento di radicale intramolecolare seguito da β -scissione è controllato dalla velocità della reazione di backbiting, un aspetto sul quale vi è stata considerevole discussione in letteratura. Tale conclusione è supportata dal confronto con i dati di letteratura disponibili.

Appendice

Derivazione delle equazioni dell'algorithmo Reweight

Si definisca il vettore \vec{s} contenente i valori istantanei di tutte le d CV che a loro volta dipendono dalle posizioni di tutti i nuclei degli atomi che compongono la molecola e che formano il vettore \vec{R} .

Considerando il sistema in equilibrio istantaneo, la probabilità di una data configurazione \vec{R} dipende dal potenziale reale U della molecola e dal potenziale virtuale V applicato dalla metadinamica, normalizzato su tutte le configurazioni possibili.

$$P(\vec{R}, t) = \frac{e^{-\beta[U(\vec{R})+V(\vec{s}(\vec{R}), t)]}}{\int e^{-\beta[U(\vec{R}')+V(\vec{s}(\vec{R}'), t)]} d\vec{R}'}$$

con $\beta = \frac{1}{k_b T}$.

Potendo manipolare il denominatore:

$$P(\vec{R}, t) = \frac{e^{-\beta[U(\vec{R})+V(\vec{s}(\vec{R}), t)]}}{\int e^{-\beta[U(\vec{R}')+V(\vec{s}, t)]} \delta(\vec{s} - \vec{s}(\vec{R}')) d\vec{R}' d\vec{s}}$$

e facendo presente che:

$$P(\vec{s}) = \frac{\int e^{-\beta \cdot U(\vec{R})} \delta(\vec{s} - \vec{s}(\vec{R})) d\vec{R}}{\int e^{-\beta \cdot U(\vec{R})} d\vec{R}}$$

$$PMF(\vec{s}) = -\frac{1}{\beta} \cdot \log P(\vec{s})$$

$$P_0(\vec{R}) = \frac{e^{-\beta U(\vec{R})}}{\int e^{-\beta U(\vec{R})}}$$

è possibile ottenere la seguente relazione:

$$P(\vec{R}, t) = P_0(\vec{R}) \cdot e^{-\beta V(\vec{s}(\vec{R}), t)} \frac{\int e^{-\beta PMF(\vec{s})} d\vec{s}}{\int e^{-\beta (PMF(\vec{s}) + V(\vec{s}, t))} d\vec{s}}$$

Si noti come il potenziale U della molecola dipenda per definizione dalla posizione di tutti i nuclei \vec{R} mentre la PMF dipende solo dai valori delle CV \vec{s} e si ottiene direttamente dalla distribuzione di probabilità $P(\vec{s})$; P_0 rappresenta la distribuzione di Boltzmann.

Dalla relazione precedente è possibile definire come “bias offset” il termine $c(t)$ dipendente dal tempo:

$$c(t) = -\frac{1}{\beta} \log \left(\frac{\int e^{-\beta PMF(\vec{s})} d\vec{s}}{\int e^{-\beta (PMF(\vec{s}) + V(\vec{s}, t))} d\vec{s}} \right)$$

che sostituito nella stessa va a dare:

$$P(\vec{R}, t) = P_0(\vec{R}) \cdot e^{-\beta [V(\vec{s}(\vec{R}), t) + c(t)]}$$

Questa espressione correla al tempo t la distribuzione del sistema affetto da potenziale virtuale V alla distribuzione di Boltzmann canonica. Per un intervallo di tempo relativamente piccolo, è possibile dunque calcolare l'evoluzione della distribuzione :

$$P(\vec{R}, t + \Delta t) = P(\vec{R}, t) \cdot e^{-\beta [\hat{V}(\vec{s}(\vec{R}), t) + \hat{c}(t)] \cdot \Delta t}$$

dove:

$$\hat{c}(t) = -\int \hat{V}(\vec{s}, t) P(\vec{s}, t) d\vec{s} = -\langle \hat{V}(\vec{s}, t) \rangle$$

Implementazione dell' algoritmo Reweight

Per illustrare il funzionamento dell' algoritmo Reweight, si consideri il caso semplificato di un'unica CV (dunque $\vec{s} = s_{CV}$) e di voler valutare per la variabile $f = f(\vec{R})$ la distribuzione *unbiased* (privata cioè dagli effetti del potenziale virtuale) $P(f)$.

- 1) Una gaussiana viene addizionata all'istante t_0 .
- 2) Nell'intervallo tra t_0 e t_1 viene aggiornato l'istogramma bidimensionale $N_t(s, f)$.
- 3) Una nuova gaussiana viene addizionata all'istante t_1 centrata in s_1 .
- 4) Si calcola:

$$\dot{V}(s, t) = \omega(t) e^{-\frac{(s-s_1)^2}{2\sigma^2}}$$

(la variazione del potenziale virtuale è rappresentata proprio dalla gaussiana addizionata) con $\omega(t) = W(k\tau)$ altezza della gaussiana calcolata con l'algoritmo WellTempered.

- 5) Si calcola:

$$\dot{\epsilon}(t) = - \int \dot{V}(\vec{s}, t) N_t(s) d\vec{s}$$

con $N_t(s) = \frac{\sum_f N_t(s, f)}{\sum_{s, f} N_t(s, f)}$ approssimazione discretizzata del termine $P(\vec{s}, t)$.

- 6) Si evolve l'istogramma $N_t(s, f)$ utilizzando l'espressione ottenuta per $P(\vec{R}, t + \Delta t)$:

$$N_{t+\Delta t}(s, f) = N_t(s, f) \cdot e^{-\beta[\hat{V}(\vec{R}, t) + \hat{c}(t)] \cdot \Delta t} .$$

Infine la distribuzione *unbiased* di f , oggetto della ricerca, è stimata come:

$$P(f) = \frac{\sum_s [e^{+\beta V(s,t)} N_t(s, f)]}{\sum_{s, f} [e^{+\beta V(s,t)} N_t(s, f)]}$$

Bibliografia

- M. Bonomi, A. Barducci, M. Parrinello, "Reconstructing the Equilibrium Boltzmann Distribution from Well-Tempered Metadynamics", *J. Comput. Chem.*, 2009, 30, 1615-1620.
- M. Buback, R. G. Gilbert, R. A. Hutchinson, B. Klumperman, F. D. Kuchta, B. G. Manders, K. F. O'Driscoll, G. T. Russell, J. Schweer, "Critically evaluated rate coefficients for free-radical polymerization, 1", *Macromol. Chem. Phys.*, 1995, 196, 3267-3280.
- W. Caminati, B. Vogelsanger, A. Bauder, "Rotational Spectrum of Styrene Observed by Microwave Fourier Transform Spectroscopy", *J. Mol. Spec.*, 1988, 128, 384-398.
- J.D. Campbell, F. Teymour, M. Morbidelli, "High temperature Free Radical Polymerization. 1. Investigation of Continuous Styrene Polymerization", *Macromolecules*, 2003, 36, 5491-5501.
- J.D. Campbell, F. Teymour, M. Morbidelli, "High temperature Free Radical Polymerization. 2. Modeling Continuous Styrene Polymerization", *Macromolecules*, 2003, 36, 5502-5515.
- J.D. Campbell, F. Teymour, M. Morbidelli, "Production of Hyperbranched Polystyrene by High-Temperature Polymerization", *Macromolecules*, 2005, 38, 752-760.
- W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, "A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules", *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, 117, 5179-5197.
- D. Cuccato "Quantum chemistry investigation of Free Radicals: power and limits of the tool", PhD Thesis, 2012.
- A. C. T. van Duin, S. Dasgupta, F. Lorant, W. A. Goddard, "ReaxFF: A Reactive Force Field for Hydrocarbons", *J. Phys. Chem.*, 2001, 105, 9396-9409.
- R. Glaser, G. R. Nichols, "Conformational Preferences and Pathways for Enantiomerization and Diastereomerization of Benzyl Alcohol. Data Mining and ab Initio Quantum-Mechanical Study", *J. Org. Chem.*, 2000, 65, 755-766.
- A. Hui, A. E. Hamielec, "Thermal polymerization of styrene at high conversions and temperatures. An experimental study", *J. Appl. Polym. Sci.*, 1972, 16, 749.
- A. Hussain, A. E. Hamielec, "Thermal polymerization of styrene", *J. Appl. Polym. Sci.*, 1978, 22, 1207.
- F. Jensen, "Introduction to Computational Chemistry. 2nd ed.", *J. Wiley & Sons Ltd*, 2007.
- J. G. Kirkwood, "Statistical Mechanics of fluid Mixtures", *J. Chem. Phys.*, 1935, 3, 300.
- S. Kumar, J. M. Rosenberg, D. Bouzida, R. H. Swendsen, P. A. Kollman, "Multidimensional free-energy calculations using the weighted histogram analysis method", *J. Comput. Chem.*, 1995, 16, 1339.
- A. Laio, M. Parrinello, "Escaping free-energy minima", *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2002, 20, 12562.
- A. Laio, A. Rodriguez-Forteza, F. Luigi Gervasio, M. Ceccarelli, M. Parrinello, "Assessing the Accuracy of Metadynamics", *J. Phys. Chem.*, 2005, 109, 6714-6721.
- H. Lin, G. Truhlar, "QM/MM: what have we learned, where are we, and where do we go from here?", *Th. Chem. Accounts*, 2007, 117, 185-199.
- S. Liu, S. Srinivasan, M. C., Grady, M. Soroush, A. M. Rappe, "Backbiting and β -Scission Reactions in Free-Radical Polymerization of Methyl Acrylate", *Int. J. Quantum Chem.*, 2014, 114, 345-360.
- D. Moscatelli, C. Cavallotti, M. Morbidelli, "Prediction of Molecular Weight Distribution Based on ab Initio Calculations: Application to the High Temperature Styrene Polymerization", *Macromolecules*, 2006, 39, 9641-9653.
- A. N. Nikitin, R. A. Hutchinson, M. Buback, and P. Hesse, "Determination of Intramolecular Chain Transfer and Midchain Radical Propagation Rate Coefficients for Butyl Acrylate by Pulsed Laser Polymerization". *Macromolecules*, 2007, 40, 8631-8641.
- B. Roux, "The calculation of the potential of mean force using computer simulations", *Computer Physics Communications*, 1995, 91, 275-282.
- Y. Zhao, D. G. Truhlar, "The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new

- functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals”, *Theor. Chem. Account*, 2008, 120 215–241.
- Y. Zhao, D. G. Truhlar, “Density Functionals with Broad Applicability in Chemistry”, *Acc. Chem. Res.*, 2008, 41, 157-167.
 - F. Zhu, G. Hummer, “Convergence and Error Estimation in Free Energy Calculations Using the Weighted Histogram Analysis Method”, *J. Comp. Chem.*, 2012, 33, 453-465.
-
- *ACD/ChemSketch*: version 11.02, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada, www.acdlabs.com, 2008.
 - *AMBER 10*: D.A. Case, T.A. Darden, T.E. Cheatham, III, C.L. Simmerling, J. Wang, R.E. Duke, R. Luo, M. Crowley, R.C. Walker, W. Zhang, K.M. Merz, B. Wang, S. Hayik, A. Roitberg, G. Seabra, I. Kolossváry, K.F. Wong, F. Paesani, J. Vanicek, X. Wu, S.R. Brozell, T. Steinbrecher, H. Gohlke, L. Yang, C. Tan, J. Mongan, V. Hornak, G. Cui, D.H. Mathews, M.G. Seetin, C. Sagui, V. Babin, and P.A. Kollman University of California, San Francisco, 2008.
 - *Gaussian 09*: M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
 - *Molden*: G. Schaftenaar and J.H. Noordik, “Molden: a pre- and post-processing program for molecular and electronic structures”, *J. Comput.-Aided Mol. Design*, 14 (2000) 123-134
 - *Packmol*, L. Martínez, R. Andrade, E. G. Birgin, J. M. Martínez, “Packmol: A package for building initial configurations for molecular dynamics simulations”, *Journal of Computational Chemistry*, 30(13):2157-2164, 2009.
 - *Plumed 1.3*: M. Bonomi, D. Branduardi, G. Bussi, C. Camilloni, D. Provasi, P. Raiteri, D. Donadio, F. Marinelli, F. Pietrucci, R.A. Broglia and M. Parrinello, “PLUMED: a portable plugin for free-energy calculations with molecular dynamics”, *Comp. Phys. Comm.* 2009, 180, 1961-1972.