UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

TESIS DOCTORAL

Estudio teórico de la influencia del disolvente sobre la desexcitación radiante y no radiante de los estados excitados del cromóforo de la Proteína Amarilla Fotoactiva haciendo uso de la metodología ASEP/MD.

Francisco Fernández García-Prieto

Departamento de Ingeniería Química y Química Física.

Conformidad de los directores:

Fdo: Manuel Ángel Aguilar Espinosa Fdo: María Elena Martín Navarro Fdo: Ignacio Fernández Galván

2015

UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

TESIS DOCTORAL

Estudio teórico de la influencia del disolvente sobre la desexcitación radiante y no radiante de los estados excitados del cromóforo de la Proteína Amarilla Fotoactiva haciendo uso de la metodología ASEP/MD.

Departamento de Ingeniería Química y Química Física.

Memoria presentada por el Licenciado

D. Francisco Fernández García-Prieto

para optar al grado de

Doctor Internacional en Ciencias.

Badajoz, 2015.

El grupo de Investigación QCAMM *Quantum Chemistry and Molecular Modelling* del departamento de Ingeniería Química y Química Física de la Universidad de Extremadura quiere agradecer a las siguientes instituciones el apoyo prestado en la elaboración de esta Tesis Doctoral:

- Al Ministerio de Ciencia e Innovación, actualmente Ministerio de Economía y Competitividad, por la concesión de la ayuda predoctoral de Formación de Personal Investigador de referencia BES-2009-133467, asociada al proyecto de investigación CTQ2008-06224.

- Al Ministerio de Ciencia e Innovación, actualmente Ministerio de Economía y Competitividad, por la concesión de la ayuda a la movilidad predoctoral para la realización de estancias breves en centros extranjeros, con referencia EEBB-I-12-05148.

- A la Fundación Computación y Tecnologías Avanzadas de Extremadura (COMPUTAEX), al Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) y al Gobierno de Extremadura por su participación en el desarrollo y gestión de las ayudas anteriormente mencionadas.

I am very grateful to my mentors, Dr. Manuel Ángel Aguilar Espinosa, Dra. María Elena Martín Navarro, and Dr. Ignacio Fernández Galván, because this PhD thesis had not come to light without them. I also want to express especial thankfulness for helping me in the final stages and for her generous patience to Dra. Aurora Muñoz Losa. Obviously, it would be unfair not to show gratitude to all the staff from the Departamento de Ingeniería Química y Química Física at the Universidad de Extremadura. Especial thanks to Rute María Barata Morgado, Eloísa González Lavado, Samuel Frutos Puerto, Glauco Garrido Almeida and Manuel Monge Palacios, my teammates in the “Quantum World”.

Thanks to Dr. Manuel Ruiz López, Dra. Marilia Martins Costa, Dra. Francesca Ingrosso, Dr. Muhannad Altarsha, Dr. Alessandro Geroni, Dr. Agesilaos Hantzis, Dr. Javier González, Dr. Xavier Assfeld, Dr. Mounir Tarek, Dr. Robert Schulz and Dr. Antonio Monari from the Université de Lorraine-Nancy for their kind attention and warm welcome, they made me feel like home. I am grateful to Dr. Manuel Yánez Montero, Dr. Manuel Alcamí Pertejo, Dra. Otilia Mó Romero, Wilson Rodríguez de León and Carlo Montero Baldeon from the Universidad Autónoma de Madrid for making possible for me to join the "European Master in Theoretical Chemistry and Computational Modelling" in their University. Special thanks to Juan Guisado Parejo, for his work in Human Resources at the Universidad de Extremadura.

The roman poet Juvenal said: "***Mens sana in corpore sano***". Thanks to the staff, the members as well as the boxing team from Record Gym-Badajoz, for giving me a place where having a break from my research activities. I would also like to thank the so-called “Friends of Chemistry Club”: Abraham Rodríguez Cano, María del Pilar Godoy Caballero, María del Carmen Hurtado Sánchez, Fernando Rueda Holgado, María de la Gala Morales, Antonio Manuel Durán Cristóbal, Antonio María Saavedra Conchudo, Milagros Noriega Portero, Helena Hernández Tena, Mercedes Romero Hurtado, David Jaime Pérez Becerra, Francisco Iván Prado Moreno, Gregorio Manuel Martínez Serrano, Victoria Boraíta Berciano, Luis Antonio Serrano González, Adrián Barroso Bogeat, Daniel Mora Pimentel, Luis García Cuenda, José María Monteagudo Silgo, Manuel Pizarro Fernández and Raúl Márquez García.

I am extremely thankful to all the PhD students who I have met during this period of my life and with whom I have shared especial and unforgettable moments. Trust me, meeting you was a privilege: Alba Campo Cacharrón, Alberto Pablo Sánchez Muzas, Alfonso Gallo Bueno, Ana Martín Sómer, Ana Rodríguez Sanz, Chiara Paris, Christophe Iftner, Dalibor Hršak, Daniel Sethio, David Ferro Costas, Dilara Öksüz, Giovanni Bistoni, Hanif Muhammad Khan, Humberto Da Silva Jr., Huyen Thi Nguyen, Isabel Bordes Pastor, Gustavo Lugo Preciado, Felipe Franco González, Juan Pablo Sánchez Castillo, Kemel Arafet Cruz, Kirill Zinovjev,

Levan Tsereteli, Lucía Vázquez Viñuela, Luis Miguel Azofra Mesa, Maitreyi Robledo Relaño, Marcos Menéndez San Francisco, Miguel Ángel Mompeán García, Muammar El Khatib Rodríguez, Quan Phung, Rafael García Meseguer, Riccardo Verzeni, Roberto Di Remigio, Rodrigo Pérez García, Rui Ferreira Da Silva, Vijay Gopal Chilkuri, Cathal Ó´Broin, Murali Krishna, Yann Cornaton, Antoine Marion, Maura Casciola, Marina Kasimova, Thibaud Etienne, Ilke Ugur, Thibaut Very, Daniel Bonhenry, Christian Jørgensen, Andraz Polak, Irina Osadchuk, Christian Giese, José Aníbal Mora Villalobos, Nanna Holmgaard List and Amélie Pernet.

And finally, thanks to my family, specially to my siblings and their virtues: Antonio for his unconditional support, Concepción for her good sense and Elena for her generosity. Dedicated to them, to my parents Antonio and Francisca, and to my grandmother Dorotea.

ABSTRACT.....17

CAPÍTULO 1: **INTRODUCCIÓN.**

1.1. Métodos para el estudio de sistemas con fases condensadas.....21

- Métodos cuánticos.....21
- Métodos clásicos.....22
- Métodos mixtos o enfocados.....23

- *Métodos que emplean el modelo de continuo dieléctrico*.....24
- *Modelo de dipolos de Langevin*.....24
- *Métodos que emplean mecánica molecular*.....24

1.2. Sistemas químicos a estudiar.....26
1.3. Objetivos.....27

CAPÍTULO 2:
MÉTODOS EMPLEADOS EN EL ESTUDIO DE SISTEMAS EN FASE CONDENSADA.

2.1. Aproximación de Born-Oppenheimer.....31
2.2. Determinantes de Slater.....33
2.3. Método Hartree-Fock.....34
2.4. Algunos métodos con correlación.....36
2.5. Teoría del Funcional de la Densidad.....41

2.5.1. Métodos de densidad local.....43
2.5.2. Métodos corregidos con el gradiente.....44
2.5.3. Teoría del Funcional de la Densidad dependiente del tiempo.....45

2.6. Métodos para la representación clásica del disolvente: mecánica molecular.....45
2.7. Métodos de simulación: dinámica molecular.....48
2.8. Cálculo de la energía libre.....56

2.8.1. Métodos para el cálculo de la energía libre.....58
2.8.1.1. Método de perturbación de la energía libre.....58
2.8.1.2. Integración termodinámica.....59

2.8.1.3. Método de crecimiento lento.....60

2.8.2. Potencial de fuerza media.....60
2.8.2.1. *Umbrella sampling*.....63
2.8.2.2. Método de Análisis de Histogramas Ponderados (WHAM).....64
2.8.2.3. Corrección cuántica del PMF.....65

2.9. Tratamiento mecanocuántico de los procesos fotoquímicos.....66
2.10. Transiciones no adiabáticas.....67

2.10.1. Fundamento teórico.....68
2.10.2. Intersecciones cónicas.....70
2.10.3. Algoritmos empleados para la búsqueda de intersecciones cónicas.....71

2.11. Método ASEP/MD.....74

2.11.1. Optimización de geometrías.....80
2.11.2. Cálculo de energías libres.....87
2.11.3. Cálculo de la intersección cónica en disolución.....89
2.11.4. Disolvente polarizable en el método ASEP/MD.....91

CAPÍTULO 3:
ESTUDIO DEL CROMÓFORO DE LA PROTEÍNA AMARILLA FOTOACTIVA.

3.1. Introducción.....95
3.2. Propiedades estudiadas en el cromóforo de la PYP.....98

CAPÍTULO 4:
ESTUDIO DE LA ABSORCIÓN DE LAS DIFERENTES FORMAS PROTONADAS DEL ÁCIDO P-COUMÁRICO.

4.1. Detalles computacionales.....101
4.2. Especies neutras.....104

4.2.1. Influencia del disolvente sobre la geometría, distribución de carga y estabilidad relativa de las formas neutras.....104
4.2.2. Espectro de absorción en las formas neutras.....111

4.3. Especies monoaniónicas.....115

4.3.1. Influencia del disolvente sobre la geometría, distribución de carga y estabilidad relativa de las especies fenolato y carboxilato.....115
4.3.2. Espectro de absorción en las formas monoaniónicas.....122

4.4. Especie dianiónica.....129

4.4.1. Influencia del disolvente sobre las geometrías y distribuciones de carga.....130
4.4.2. Espectro de absorción.....132

4.5. Papel de la desprotonación.....135

CAPÍTULO 5:
ESTUDIO DE LA ABSORCIÓN EN DIFERENTES MODELOS DEL ÁCIDO P-COUMÁRICO.

5.1. Detalles computacionales.....139
5.2. Resultados en fase gas.....141
5.3. Resultados en disolución.....150

CHAPTER 6:
STUDY ON DESEXCITATION PROCESSES IN PHOTOACTIVE YELLOW PROTEIN DERIVATIVES.

6.1. Computational details.....161
6.2. Emission spectra in vacuum.....162
6.3. Emission spectra in solution.....165
6.4. Single- and double bond torsions and the competition with fluorescence channel.....171

6.4.1. Stationary points with respect to the single and double bond.....172
6.4.2. Oxygen vs. Sulphur derivatives: different MECI in vacuo.....178
6.4.3. Desexcitation pathway in solution. Free energy differences between located CIs and planar structures.....184

6.5. Topology of the S1 excited state surface.....191

CAPÍTULO 7:

ESTUDIO DE COMPUESTOS ÓRGÁNICOS VOLÁTILES EN INTERFASES AGUA/AIRE.

7.1. Introducción.....193
7.2. Condiciones de trabajo.....195
7.3. Solvatación en la interfase.....197
7.4. Reactividad de los VOCs en la interfase líquido/gas.....199
7.5. Espectro UV/Visible y fotolisis del benzaldehído.....202

CONCLUSIONS.....207

BIBLIOGRAFÍA.....211

ABSTRACT

In the last decades, Computational Chemistry has become a useful tool for studying chemical processes. Computers have permitted the activation of many approaches in sciences that were limited in their applications to the level of simple model, for the lack of appropriate computational tools. One of the fields where Computational Chemistry can play an important role is in the study of complex condensed phases. Solutions and liquid-gas interfaces are examples of this. One of the most important computational tools in this field is related to the use of classical simulations in the description of the solvent combined with a quantum mechanical (QM) description of the solute.

One of the most profusely systems studied for understanding the influence of solute-solvent interactions on chemical properties is the Photoactive Yellow Protein (PYP). PYP is a photoreceptor firstly found in the bacterium *Halorhodospira halophila*. This protein initiates a process called negative phototaxis: in the presence of blue light, the bacteria moves towards regions with less intensity of radiation to escape from potentially harm caused by this radiation. PYP is a small water-soluble protein, consisting in 125 aminoacids and a small prosthetic group, the para-coumaric acid (pCA), covalently linked to the side chain via thioester bond with the Cys69 residue. The pCA is embedded in the main chromophore core of PYP, which isolates it from the solvent. Upon irradiation with blue light, the chromophore undergoes a *trans/cis* isomerization in its double central bond, and a series of structural changes occur in the protein that, in last term, ends in the biological response. One of the key questions motivating experimental and experimental studies is to know whether the photocycle process is controlled by the intrinsic properties of the chromophore or by the protein environment.

Media effects are not only important in systems of biological interest, also in other chemical processes which take place in nature. For instance, many efforts have been done in the study of reactions which occur in heterogeneous systems, due to its influence in the atmospheric chemistry. Air-water interfaces present in clouds and aerosols provides an unique environment where neutral molecules, radicals and ions meet, interact and eventually react to form new compounds. This has a an enormous impact in the air quality, the destruction of the ozone layer, as well as the global warming. Volatile Organic Compounds (VOCs), emitted from both natural and antrophogenic sources, are released into the atmosphere and suffer reactions where solar radiation is involved. In this way, the water droplets present uptake these organic molecules and function as micro-reactors. Unravelling the mechanism of chemical and photochemical reactions at aqueous interfaces remains a major scientific and technological challenge.

In this work, we carried out classical simulations combined with QM calculations for the study of solvent effects in two chemical systems: different models of the PYP chromophore in aqueous solution and a selected group of VOCs (formaldehyde, acetaldehyde and benzaldehyde) in an air/water interface. For the PYP chromophore we used a sequential quantum mechanics/molecular mechanics (QM/MM) method, known as ASEP/MD (*Averaged Solvent Electrostatic Potential from Molecular Dynamics*), developed by Aguilar and co-workers in the Universidad de Estremadura. For the VOCs we used a method developed by Ruiz-López's group in the Université de Lorraine which combines Molecular Dynamics (MD) simulations with QM/MM corrections using the Free Energy Perturbation (FEP) theory.

For the study of solvent effects in absorption spectra, different deprotonated forms of pCA have been considered: neutral (pCA), monoanionic (pCA^-) and dianionic (pCA^{2-}). Results reproduce the main experimental characteristics of the absorption spectra in solution. For the pCA^{2-}, the absorption band is blue-shifted in water, and the most intense transitions for pCA and pCA^- forms are red-shifted. For the pCA- carboxilate forms, however, there exist important discrepancies between the obtained red-shift and the experimental blue-shift reported. Theoretical studies performed by other groups have suggested a revision of the gas-phase absorption experiment for the pCA- carboxilate in order to clarify the problematic. We also analyze the modifications induced by the substitution in the coumaryl tail in both absorption and desexcitation (fluorescence emission and non-radiative decay). The derivatives considered were all deprotonated by the phenolate group: acid (pCA^-), thioacid ($pCTA^-$), methyl ester ($pCMe^-$) and methyl thioester ($pCTMe^-$). In solution, the absorption spectrum substantially change with respect to the obtained in gas phase. The lone pair of the phenolic oxygen is destabilized by a polar solvent like water and the first two transitions (which involve π orbitals) substantially mix, founding contributions of both in S1 and S2 excited states. The presence of sulphur modulates the solvent effect and the two first excited states become practically degenerated for pCA- and pCMe- but moderately well separated for pCTA- and pCTMe-. For the desexcitation process, our theoretical results reproduce the experimental observations: the *trans/cis* photoisomerization seems to be the deactivation mechanism for models containing an oxygen atom in the carbonyl moiety (just as in the native protein), whereas for thio-derivatives a single-bond torsion of the ethylenic bond is the preferred desexcitation route.

For VOCs, results show two important facts: 1) they exhibit a preference for the air/water interface with respect to the bulk of water and the gas phase, where the average reactivity indices may display large solvation effects and solvation dynamics are responsible for large fluctuations, 2) the rate constant of benzaldehyde in the range 290-308 nm increases by one order of magnitude at the surface of a water droplet.

"Neo, tarde o temprano te darás cuenta, como yo hice, de que existe una diferencia entre conocer el camino, y andar el camino".

Morfeo.

"No lo intentes. Hazlo o no lo hagas".

Maestro Yoda.

"Nada termina hasta que tú sientes que termina"

Rocky Balboa.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

Uno de los retos actuales a los que se enfrenta la química computacional es conseguir la comprensión y predicción de los fenómenos que tienen lugar en fase condensada con el mismo nivel de éxito que el logrado en condiciones de vacío. En la complejidad de este propósito concurren, entre otras razones, el elevado número de grados de libertad que hay que considerar al estudiar fases condensadas y la necesaria consideración de un gran número de moléculas que permitan tener una correcta descripción del sistema. La combinación de estos factores hace muy complicado la descripción químico-cuántica del sistema completo, por lo que la alternativa ha sido el empleo de aproximaciones en la descripción del soluto, del medio, o de ambos, dando origen a diferentes modelos en el tratamiento de estos sistemas.

1.1. Métodos para el estudio de sistemas con fases condensadas.

Los avances tecnológicos en el campo de la informática que han tenido lugar en las últimas décadas así como el desarrollo de algoritmos más eficientes han permitido una aplicación cada vez más rigurosa de la teoría cuántica al estudio de disoluciones e interfases. La cada vez mayor capacidad de cálculo de los ordenadores ha posibilitado además abordar el estudio de sistemas cada vez más complejos y ha elevado el nivel de precisión y exactitud de los cálculos teóricos. Aunque existen muchas formas de organizar los modelos propuestos para la consideración de la influencia que el medio ejerce sobre el soluto, es posible hacer una clasificación atendiendo al punto de vista (clásico o cuántico) desde el que se describen las distintas moléculas del sistema. De este modo, los métodos teóricos empleados pueden clasificarse en tres grandes grupos: cuánticos, clásicos y mixtos.

- **Métodos cuánticos.**

Tanto el soluto como las moléculas de disolvente que componen la fase condensada se describen empleando su función de onda o un funcional de la densidad. Los métodos cuánticos presentan la ventaja de que proporcionan resultados potencialmente más precisos y fiables, pero su elevado coste computacional obliga a hacer más simplificaciones de las deseables y su aplicación está bastante limitada. Dentro de estos métodos se pueden distinguir dos versiones: métodos estáticos y métodos dinámicos.

Incluido en los métodos estáticos podemos considerar el de supermoléculas. Este método fue empleado por primera vez por Morokuma y Pedersen [1], Alagona y col. [2] y, posteriormente, por A. Pullman y B. Pullman [3]. En él se considera una sola molécula de soluto y un número muy reducido de moléculas de disolvente, generalmente sólo aquellas que por su situación y orientación, se prevé que puedan influir más en el soluto. Este procedimiento resulta adecuado para el estudio de agregados moleculares (*clusters*), si se considera un número suficiente de moléculas y configuraciones, pero es totalmente inapropiado para líquidos, disoluciones e interfases, ya que desprecia el efecto de la mayoría de las moléculas de disolvente y, en general, no tiene en cuenta los efectos estadísticos asociados al gran número de configuraciones que la agitación térmica hace accesibles, pues se obvia por completo la dinámica interna del sistema.

Entre los métodos dinámicos destacan las dinámicas moleculares *ab initio* [4]. Estos métodos se basan en la resolución simultánea de las ecuaciones clásicas del movimiento para los núcleos y la ecuación de Schrödinger para las distribuciones electrónicas de las moléculas del disolvente, lo que conduce a la obtención de las propiedades dinámicas del sistema. La combinación de los aspectos dinámico y cuántico hace de este método una herramienta excepcional para el estudio de procesos reactivos en disolución, si bien su elevado coste computacional hace que el número de moléculas y configuraciones incluidas sean bajos en comparación con otros métodos, lo que puede limitar la validez de los resultados.

- **Métodos clásicos.**

En este grupo se engloban todos aquellos modelos en los que tanto el soluto como la fase condensada se presentan de forma clásica [5]. En general, estos métodos no proporcionan información de tipo químico, ya que la ruptura y formación de enlaces es un problema estrictamente cuántico, pero sí pueden aportar una valiosa información estructural y termodinámica del sistema.

Dentro de los métodos clásicos se incluyen los métodos basados en teorías perturbacionales y en la utilización de ecuaciones integrales para la descripción de las funciones de distribución de las moléculas de disolvente de la fase condensada, así como otras aproximaciones basadas en el desarrollo del virial de la función de estado. En general, estos métodos dejan en un segundo plano los aspectos químicos del problema y recurren a importantes simplificaciones en el cálculo de la integral configuracional. Entre las diversas teorías integrales destaca el método denominado RISM (*Reference Interaction Site Model*),

desarrollado por Chandler y Andersen [6]. Otros métodos que pueden citarse son: PY (Perkus-Yevick) [7], MSA (*Mean Spherical Approximation*) [8], HNC (*HyperNet Chain*) [9], etc.

Otros métodos clásicos son los basados en técnicas de simulación, en los que soluto y disolvente se representan como un conjunto de partículas interaccionantes sencillas. Por distintos métodos puede obtenerse un conjunto representativo de configuraciones de estas partículas y, a partir de éstas, las distintas propiedades del sistema. En este caso el problema cuántico se sustituye por uno clásico en el que la energía electrónica y las interacciones electrostáticas de los núcleos se modelan conjuntamente a través de un campo de fuerzas sencillo. Dependiendo de la metodología usada, determinista o estocástica, encontramos dos tipos principales de métodos: dinámica molecular [10], el cual permite estudiar la evolución de las propiedades del sistema durante el intervalo temporal de la simulación, y Monte Carlo [11], que sólo permite el cálculo de propiedades de equilibrio. Si bien, existe toda una variedad de métodos intermedios que mezclan características determinísticas y estocásticas, como pueden ser *biased*-Monte Carlo [219], dinámica browniana [220], dinámicas de Langevin [221], etc.

- **Métodos mixtos o enfocados.**

Una posibilidad a la hora de afrontar el estudio de estos sistemas químicos es restringir el tratamiento mecanocuántico a una pequeña fracción de éste. Así, mientras que el medio (disolvente en una disolución o en un sistema multifásico) puede representarse como un sistema clásico, el soluto puede tratarse desde el punto de vista cuántico. Por ello, en función de las aproximaciones introducidas en la descripción cuántica del soluto y del modelo empleado para describir al disolvente, estos métodos pueden ser más o menos costosos desde un punto de vista computacional. Sin embargo, considerando la calidad de los resultados obtenidos y su razonable coste, los métodos mixtos pueden ser muy eficientes. Algunos de estos métodos emplean la aproximación denominada del campo medio (*Mean Field Approximation*, MFA). En sistemas condensados, cualquier propiedad del sistema debe ser calculada promediando sobre todas las configuraciones térmicamente accesibles. Con la MFA dicho promedio es reemplazado por el valor obtenido para la propiedad usando una perturbación o configuración de disolvente promedio.

Si bien los métodos mixtos se pueden clasificar de diferentes maneras, en nuestro caso hemos optado por una clasificación atendiendo al modelo empleado para describir al disolvente.

Métodos que emplean el modelo de continuo dieléctrico.

Los modelos llamados del continuo suponen que el comportamiento microscópico de un líquido puede representarse mediante su constante dieléctrica ε. Esta idea fue desarrollada inicialmente por Born [12] y Debye [13]. Posteriormente, Bell [14] y Onsager [15] adaptaron el modelo para estudiar moléculas neutras dipolares, y Kirkwood [16,17] extendió el modelo de Onsager incluyendo la contribución debida a los momentos multipolares de orden superior al dipolo. La expresión multipolar de Kirkwood ha servido como base para el desarrollo de una serie de modelos adaptados a su uso conjunto con la descripción cuántica del soluto. Algunos de los métodos más conocidos de entre los pertenecientes a este grupo son: PCM (*Polarizable Continuum Model*) [18], COSMO (*Conductor-like Screening Model*) [19], SCRF (*Self-Consistent Reaction Field*) [20] así como los desarrollados por Truhlar y Cramer [21] y Tapia y col. [22]. Todos los métodos anteriormente mencionados emplean la aproximación del campo medio y si bien son muy empleados por su gran simplicidad, introducen importantes simplificaciones en la descripción del disolvente, por lo que sus resultados no pueden asegurar una validez suficiente en el estudio de disoluciones o interfases.

Modelo de dipolos de Langevin.

El método fue desarrollado por Warshel y col. [23] y se basa en la evaluación de las interacciones entre el campo electrostático generado por el soluto y dipolos puntuales que representan al disolvente ubicados en una red alrededor de éste. Dicha red de dipolos se encuentra rodeada de un continuo dieléctrico. El campo electrostático del soluto es generado por cargas atómicas puntuales, y el campo electrostático total de un dipolo dado y la magnitud de dicho dipolo se relacionan a través de la función de Langevin, que se satura cuando la magnitud del campo electrostático es elevada. Este modelo ofrece una estimación efectiva de las propiedades energéticas de solutos en disolventes polares, empleando para ello la aproximación del campo medio, y también puede emplearse para representar el entorno cuando éste es una proteína en lugar de un disolvente, lo que ha permitido el estudio de reacciones enzimáticas [24]. El método, en cambio, no es indicado para el estudio de interfases o sistemas con interacciones específicas pues padece de las mismas carencias que los métodos del continuo dieléctrico.

Métodos que emplean mecánica molecular.

La mecánica molecular (*Molecular Mechanics*, MM), a diferencia de los métodos cuánticos, se basa en un modelo microscópico de la estructura molecular. En este modelo, las

moléculas son tratadas como un conjunto de átomos en el espacio, unidos entre sí mediante enlaces que se comportan de acuerdo a las aproximaciones del oscilador armónico o anarmónico, y que vienen gobernados por un conjunto de funciones de potencial mecanoclásicas. A esta clase de métodos mixtos que emplean la mecánica molecular para la representación del disolvente se les conoce con el nombre de métodos QM/MM, y pueden clasificarse a su vez en convencionales y secuenciales.

Métodos QM/MM convencionales.

En estos métodos, se parte de una configuración inicial del sistema definida por las posiciones de sus moléculas constituyentes en un determinado instante. Para dicha configuración se realiza un cálculo cuántico para la molécula de soluto, introduciendo el efecto de la interacción electrostática con las moléculas de disolvente. Como resultado de este cálculo se obtienen las fuerzas ejercidas sobre los átomos del soluto, que sirven para determinar su evolución temporal. El movimiento de las moléculas del disolvente en cambio se trata de forma clásica. A partir de la configuración inicial se obtiene entonces otra, a la que se realiza un nuevo cálculo cuántico. Las propiedades termodinámicas se calculan como promedio de los valores obtenidos en los cálculos cuánticos para cada una de las configuraciones. El elevado número de cálculos cuánticos que se necesita realizar, uno por cada configuración del sistema, hace necesario introducir aproximaciones adicionales como limitar la calidad de estos cálculos o reducir el número de configuraciones tenidas en cuenta. Podemos citar a modo de ejemplo los desarrollados por Ruiz-López y col. [35], Warshel y Levitt [225], Karplus y col. [226], y Gao y Xia [227].

Métodos QM/MM secuenciales.

A diferencia de los convencionales, en los que los cálculos cuánticos y clásicos se realizan de manera simultánea, los secuenciales realizan primero simulaciones clásicas (ya sea por dinámica molecular o Monte Carlo) con el fin de generar un conjunto extenso de configuraciones. Posteriormente se hace una selección estadísticamente significativa y en una segunda etapa al conjunto de configuraciones seleccionadas se realiza un cálculo cuántico. Se obtiene un promedio de los valores de las propiedades (tanto termodinámicas como geométricas) y se repite de nuevo el proceso hasta alcanzar la convergencia. La principal ventaja de los métodos secuenciales radica en que se reduce muy considerablemente el coste computacional al reducirse el número de cálculos cuánticos necesario. Se pueden mencionar como métodos pertenecientes a este grupo el desarrollado por Coutinho y Canuto [25], que emplea una función de correlación temporal para despreciar aquellas configuraciones (obtenidas

mediante Monte Carlo [11]) que estén altamente correlacionadas entre sí, y dos métodos que emplean la aproximación del campo medio: el método RISM-SCF (*Reference Interaction Site Model Self-Consistent Field*) [26], y el desarrollado por nuestro grupo de investigación, denominado ASEP/MD (*Averaged Solvent Electrostatic Potential from Molecular Dynamics*) [27-34]. Estos dos últimos métodos difieren entre sí por la manera de obtener la estructura y evolución del disolvente, bien sea mediante teorías integrales o mediante simulaciones de dinámica molecular, respectivamente. Otros métodos secuenciales que emplean la MFA son el ASEC/MC (*Averaged Solvent Electrostatic Configurations by Monte Carlo simulations*) [222], el MF-QM/MM (*Mean Field-Quantum Mechanics/Molecular Mechanics*) [223], así como métodos basados en la FDET (*Frozen Density Embedding Theory*) [224].

1.2. Sistemas químicos a estudiar.

El presente trabajo de investigación se ha orientado al estudio teórico de la influencia que el disolvente ejerce sobre las propiedades estructurales y espectroscópicas de algunos sistemas de interés químico y biológico. Desde el punto de vista teórico, ante la complejidad que presentan, se hace necesario recurrir a los llamados métodos mixtos, que permiten, como se ha mencionado previamente, una descripción mecanocuántica adecuada de la molécula de interés (soluto) y una representación suficientemente precisa del disolvente.

Los dos sistemas químicos escogidos fueron los siguientes:

- El primer sistema considerado fue el cromóforo de la proteína fotoactiva amarilla (conocida por su acrónimo en inglés PYP, *Photoactive Yellow Protein*). Esta proteína es la responsable de la respuesta biológica de la bacteria *Halorhodospira halophila* en presencia de luz azul, siendo su cromóforo (el ácido p-coumárico en su forma fenólica, que se encuentra unido a la proteína a través de un residuo de cisteína) el principal actor en todo el proceso. Se estudiaron los espectros de absorción y las rutas de desescitación tanto en vacío como en disolución de una serie de modelos para dicho cromóforo, que abarcaron desde distintas formas desprotonadas y conformacionales del ácido p-coumárico hasta los derivados tioácido, éster y tioéster de su forma fenólica.

- El segundo sistema trató sobre la influencia de un sistema multifásico líquido/gas en los espectros de absorción de una serie de compuestos orgánicos volátiles (*Volatile Organic Compounds*, VOCs). Los compuestos elegidos fueron el acetaldehído, el formaldehído y el benzaldehído. Los tres constan de una parte polar (el grupo carbonilo) y otra apolar, lo que los hace idóneos para estudiar la diferente afinidad que esta familia química

presenta por diferentes medios o fases con distintas propiedades y el efecto que un sistema heterogéneo tiene sobre las propiedades químicas de solutos presentes en él. Esto tiene importancia en la química atmosférica puesto que las nubes y aerosoles actúan como captadores de dichos compuestos (causantes de la contaminación del aire) y rigen la reactividad que pueden presentar.

1.3. Objetivos.

Los objetivos concretos que persigue esta Tesis Doctoral se pueden resumir en los siguientes puntos:

- Predecir y analizar los espectros de absorción obtenidos para el ácido p-coumárico y todos sus derivados (posición de las bandas más características, desplazamiento de las mismas por acción del disolvente, etc.).

- Estudiar el papel desempeñado por el estado de protonación del ácido p-coumárico en la posición de las bandas de absorción en vacío y su modificación cuando son consideradas las interacciones con el disolvente.

- Clarificar la preferencia en la ruta de desexcitación de los derivados ácido, tioácido, éster y tioéster y la identificación de los puntos de cruce entre estados electrónicos en vacío y en disolución.

- Estudiar cómo la interfase líquido/gas influye en las propiedades energéticas de los compuestos orgánicos volátiles considerados.

- Esclarecer las razones que gobiernan el comportamiento de los compuestos orgánicos volátiles considerados en el sistema multifásico agua/aire.

La exposición de la Tesis Doctoral constará de tres partes bien diferenciadas. En la primera parte, se describirán los métodos cuánticos que se emplean para una adecuada descripción del soluto y los principales métodos para la representación clásica del disolvente. Se explicarán así mismo los métodos para el cálculo de energías libres y todo lo concerniente a la caracterización y estudio de los procesos fotoquímicos. En la segunda parte se describirán con sumo detalle los métodos mixtos empleados. El primero de ellos, denominado ASEP/MD, fue empleado para el estudio de los sistemas en disolución [27-34]. Dicho método ha sido desarrollado y mejorado en los últimos años por nuestro grupo de investigación, se cataloga como un método QM/MM secuencial y tiene como característica distintiva el uso de la

aproximación del campo medio. La principal ventaja de este método con respecto al conjunto de los métodos QM/MM es que permite la reducción, de una manera significativa, del número de cálculos cuánticos que necesitamos realizar, permitiéndonos elevar el nivel de exactitud en los cálculos *ab initio*. El segundo método, desarrollado por Ruiz-López y col. [35], fue empleado en el estudio del sistema multifásico. Su principal característica es que combina simulaciones de dinámica molecular con correcciones cuánticas QM/MM sirviéndose para ello de las técnicas conocidas como *Umbrella Sampling* [36] y WHAM [37]. En la tercera y última parte, se expondrán los resultados obtenidos para los sistemas escogidos y se enumerarán las conclusiones más relevantes que ha proporcionado la Tesis.

CAPÍTULO 2

MÉTODOS EMPLEADOS EN EL ESTUDIO DE SISTEMAS EN FASE CONDENSADA.

Como hemos explicado en el capítulo 1, la principal característica de los métodos mixtos es que combinan una descripción clásica del medio envolvente con el tratamiento cuántico que se realiza de las propiedades del soluto. En esta descripción cuántica se pueden emplear métodos "semiempíricos", que desprecian el valor de ciertas integrales, sustituyendo otras por parámetros empíricos, etc., o los llamados métodos *ab initio*, que parten de principios teóricos e introducen aproximaciones matemáticas en ciertos conceptos o en la forma de la solución, pero no hacen uso de parámetros experimentales en los cálculos. El investigador, según la precisión que requiera, la disponibilidad computacional, las características del sistema a estudiar o la naturaleza del proceso químico, deberá elegir el tipo de cálculo y las aproximaciones convenientes para obtener una función de onda y unos resultados suficientemente significativos.

Este capítulo consta de varias secciones. Primero, se describirán brevemente los métodos *ab initio* más relevantes empleados en esta tesis para la descripción del soluto, haciendo hincapié en aquellos indicados para el estudio de estados excitados, como son los métodos multiconfiguracionales. Posteriormente, nos centraremos en los métodos para la representación clásica del disolvente, enfocándonos particularmente en los que hacen uso de la mecánica molecular. Por último, se explicarán las herramientas empleadas en el cálculo de las diferencias de energía libre y en la localización de puntos singulares en superficies de estados excitados, con especial énfasis en la metodología ASEP/MD.

2.1. Aproximación de Born-Oppenheimer

Como es bien conocido, la ecuación de Schrödinger no relativista independiente del tiempo toma la forma:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \qquad [2.1]$$

donde E es la energía total, Ψ es la función de estado o función de onda del sistema y $\hat{H}$ es el operador hamiltoniano no relativista, que se puede escribir, en unidades atómicas, como:

$$\hat{H} = -\sum_{i=1}^{N}\frac{1}{2}\nabla_{\mathrm{i}}^{2} - \sum_{\alpha=1}^{M}\frac{1}{2m_{\alpha}}\nabla_{\alpha}^{2} - \sum_{\mathrm{i}=1}^{N}\sum_{\alpha=1}^{M}\frac{Z_{\alpha}}{r_{\mathrm{i}\alpha}} + \sum_{\mathrm{i}=1}^{N}\sum_{\mathrm{j}>i}^{N}\frac{1}{r_{\mathrm{ij}}} + \sum_{\alpha=1}^{M}\sum_{\beta>\alpha}^{M}\frac{Z_{\alpha}Z_{\beta}}{r_{\alpha\beta}} \qquad [2.2]$$

El primer término corresponde a la energía cinética de los electrones, el segundo a la energía cinética de los núcleos, el tercero a la energía de interacción electrostática entre los electrones y los núcleos, y los dos últimos representan la repulsión entre electrones y entre núcleos, respectivamente.

La aproximación de Born-Oppenheimer surge ante la dificultad para resolver la ecuación de Schrödinger debido al acoplamiento que existe entre el movimiento de los núcleos y de los electrones. Esta aproximación es el tratamiento mecanocuántico de la observación de un hecho: los núcleos se mueven mucho más lentos que los electrones debido a la diferencia de masas entre ambas partículas. De este modo, puede suponerse que los electrones en una molécula se mueven en el campo electrostático originado por los núcleos, supuestos fijos, por lo que los movimientos de los núcleos y los electrones se pueden considerar independientes. Dentro de esta aproximación, la función de onda se puede escribir como:

$$\Psi_{tot} = \psi_N \psi_e \qquad [2.3]$$

Con lo que podemos reescribir el operador hamiltoniano como suma de dos contribuciones:

$$\hat{H} = \hat{T}_N + \hat{H}_e \qquad [2.4]$$

$$\hat{T}_N = -\sum_{\alpha=1}^{M}\frac{1}{2m_{\alpha}}\nabla_{\alpha}^{2} \qquad [2.5]$$

$$\hat{H}_e = -\sum_{i=1}^{N}\frac{1}{2}\nabla_{\mathrm{i}}^{2} - \sum_{\mathrm{i}=1}^{N}\sum_{\alpha=1}^{M}\frac{Z_{\alpha}}{r_{\mathrm{i}\alpha}} + \sum_{\mathrm{i}=1}^{N}\sum_{\mathrm{j}>i}^{N}\frac{1}{r_{\mathrm{ij}}} + \sum_{\alpha=1}^{M}\sum_{\beta>\alpha}^{M}\frac{Z_{\alpha}Z_{\beta}}{r_{\alpha\beta}} \qquad [2.6]$$

Para la mayoría de aplicaciones químicas, podemos resolver la ecuación electrónica de Schrödinger independiente del tiempo [38]:

$$\hat{H}_e \psi_e(\boldsymbol{r}, \boldsymbol{R}) = E_e \psi_e(\boldsymbol{r}, \boldsymbol{R}) \qquad [2.7]$$

donde $\psi_e(\boldsymbol{r}, \boldsymbol{R})$ depende explícitamente de las coordenadas electrónicas y paramétricamente de las nucleares. Es de señalar que esta aproximación considera despreciable el acoplamiento entre los términos nucleares y electrónicos.

2.2. Determinantes de Slater.

La función de onda total debe ser antisimétrica con respecto al intercambio de electrones, es decir, se debe cumplir que:

$$\hat{P}_{ij}\psi_e = -\psi_e \qquad [2.8]$$

donde $\hat{P}_{ij}$ es el operador permutación que intercambia las coordenadas de las partículas *i* y *j*. Como consecuencia de esta exigencia se encuentra el principio de exclusión de Pauli, el cual dice que dos electrones no pueden tener los mismos números cuánticos. Esta antisimetría se puede obtener construyendo los determinantes de Slater, donde cada columna está formada por funciones de onda monoelectrónicas, es decir, espinorbitales. Las funciones monoelectrónicas que se obtienen como el producto de un orbital espacial por una función de espín (α *y* β) se denominan espinorbitales. De este modo, podemos construir un determinante de Slater como:

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \phi_1(1) & \phi_2(1) & \cdots & \phi_N(1) \\ \phi_1(2) & \phi_2(2) & \dots & \phi_N(2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_1(N) & \phi_2(N) & \dots & \phi_N(N) \end{vmatrix} \qquad [2.9]$$

donde $1/\sqrt{N!}$ es el factor de normalización.

Existe una notación para un determinante de Slater, que ya incluye el factor de normalización, y que sólo muestra los elementos de la diagonal del determinante:

$$\Psi(\boldsymbol{x}_1, \boldsymbol{x}_2, \dots, \boldsymbol{x}_N) = \left| \phi_i(\boldsymbol{x}_1), \phi_j(\boldsymbol{x}_2), \dots, \phi_N(\boldsymbol{x}_N) \right\rangle \qquad [2.10]$$

Un determinante de Slater introduce correlación de intercambio, es decir, el movimiento de los electrones con espín paralelo está correlacionado. En cambio, el movimiento de los electrones con espín opuesto sigue sin estar correlacionado, introduciendo errores en el tratamiento de sistemas polielectrónicos.

2.3. Método Hartree-Fock.

La aproximación Hartree-Fock ha jugado un papel importante en el desarrollo de la química moderna. De hecho, en la actualidad constituye el primer paso hacia aproximaciones más precisas como los métodos que incluyen correlación electrónica y que se describirán con posterioridad.

Basándose en el principio variacional, el objetivo del método Hartree-Fock es minimizar la energía mediante una adecuada elección de los espinorbitales. Así, se desarrolló la ecuación Hartree-Fock:

$$\hat{f}(i)\chi(\boldsymbol{x}_i) = \varepsilon\chi(\boldsymbol{x}_i) \qquad [2.11]$$

donde $\hat{f}(i)$ es un operador monoelectrónico, llamado operador de Fock, de la forma:

$$\hat{f}(i) = -\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum_{\alpha=1}^{M}\frac{Z_\alpha}{r_{i\alpha}} + \upsilon^{HF}(i) \qquad [2.12]$$

el término $\upsilon^{HF}(i)$ es el potencial promedio que sufre un electrón *i* debido a la presencia de otros electrones.

Una de las ventajas del método Hartree-Fock es que convierte la ecuación de Schrödinger multielectrónica en varias monoelectrónicas más simples, donde la repulsión interelectrónica se trata de forma promedio. Cada ecuación monoelectrónica se resuelve proporcionando una función de onda monoelectrónica, denominada orbital, y una energía, que es la energía del orbital. La solución de la ecuación Hartree-Fock proporciona un conjunto de orbitales ortonormales. El determinante de Slater que se forme a partir de los orbitales ocupados crea la función de onda HF del estado fundamental. Las energías de los orbitales ocupados son precisamente las energías de ionización cambiadas de signo, según el teorema de Koopmans.

Ya que el potencial $\upsilon^{HF}(i)$ depende de los espinorbitales de los otros electrones, la ecuación Hartree-Fock se debe resolver iterativamente. A este proceso iterativo se le denomina método de campo autoconsistente (*Self-Consistent Field*, SCF). En el mismo, con unos espinorbitales iniciales se calcula $\upsilon^{HF}(i)$ y se resuelve la ecuación 2.11 para un nuevo conjunto de espinorbitales, proceso que se repite hasta que se alcance la autoconsistencia.

Se puede escribir la energía Hartree-Fock de un estado fundamental de capa cerrada como:

$$E_0 = 2\sum_{i}^{N/2}(\phi_i|\hat{h}|\phi_i) + \sum_{i}^{N/2}\sum_{j}^{N/2}[2(\phi_i\phi_i|\hat{h}|\phi_j\phi_j) - (\phi_i\phi_j|\hat{h}|\phi_j\phi_i)] \qquad [2.13]$$

Si consideramos la interpretación física de esta ecuación, el primer término engloba la energía cinética promedio y la energía de atracción nuclear de un electrón descrito por una función de onda $\phi_i(\boldsymbol{r}_1)$:

$$(\phi_i|\hat{h}|\phi_i) \equiv h_{ii} = \int \phi_i^*(\boldsymbol{r}_1)\left(-\frac{1}{2}\nabla_1^2 - \sum_{\alpha}\frac{Z_\alpha}{r_{i\alpha}}\right)\phi_i(\boldsymbol{r}_1)d\boldsymbol{r}_1 \qquad [2.14]$$

La integral bielectrónica se puede separar en dos términos, el término de repulsión de Coulomb, que se denota como J_{ij}:

$$(\phi_i\phi_i|\hat{h}|\phi_j\phi_j) \equiv J_{ij} = \int \phi_i(\boldsymbol{r}_1)^2\frac{1}{r_{12}}\phi_j(\boldsymbol{r}_2)^2 d\boldsymbol{r}_1 d\boldsymbol{r}_2 \qquad [2.15]$$

Y el término de intercambio o canje K_{ij}, el cual no tiene interpretación clásica. Esta integral es el resultado de la correlación de intercambio antes mencionada:

$$(\phi_i\phi_j|\hat{h}|\phi_j\phi_i) \equiv K_{ij} = \int \phi_i^*(\boldsymbol{r}_1)\,\phi_j(\boldsymbol{r}_1)\frac{1}{r_{12}}\phi_j^*(\boldsymbol{r}_2)\phi_i(\boldsymbol{r}_2)d\boldsymbol{r}_1 d\boldsymbol{r}_2 \qquad [2.16]$$

Así, se puede reescribir la ecuación Hartree-Fock como:

$$E_0 = 2\sum_{i} h_{ii} + \sum_{ij}(2J_{ij} - K_{ij}) \qquad [2.17]$$

El método HF es un método cada vez más en desuso ya que son conocidos sus fallos, siendo los más frecuentes que proporciona energías de activación altas, distancias de enlace ligeramente más cortas, frecuencias vibracionales demasiado altas y momento dipolares y cargas demasiado grandes. El motivo principal de estos errores es que en el método *Restricted*

Hartree-Fock (RHF) se fuerza a los electrones a estar apareados y cuando en el sistema real éstos se desaparean, el método Hartree-Fock falla.

Por este motivo, se desarrollaron dos técnicas para construir funciones de onda para moléculas con electrones desapareados:

1. *Unrestricted Hartree-Fock* (UHF), que emplea dos conjuntos de orbitales separados para los electrones α y β. Esto quiere decir que los electrones apareados no tendrán la misma distribución espacial, lo cual introduce errores en el cálculo conocidos como la contaminación de espín.

2. *Restricted Open Shell Hartree-Fock* (ROHF), donde los electrones apareados comparten el mismo orbital espacial, por lo que no hay contaminación de espín.

El método Hartree-Fock genera como se ha visto soluciones a la ecuación de Schrödinger en las que la interacción electrón-electrón real se sustituye por una interacción promedio. Sin embargo, aunque se emplease un conjunto de base extenso, la función Hartree-Fock sólo podría dar cuenta del 99% de la energía total del sistema. La energía restante es una parte importante de la energía total ya que se trata de una contribución a tener en cuenta en el cálculo de energías de enlaces o de intersecciones entre superficies de energía potencial. La energía de correlación se puede definir como la diferencia entre la energía exacta no relativista y la energía Hartree-Fock:

$$E_{correlación} = E_{exacta} - E_{HF} \qquad [2.18]$$

Este efecto es de gran importancia cuando el sistema a estudiar tiene una redistribución electrónica significativa como, por ejemplo, en transiciones electrónicas o en procesos donde se produzcan formación o rotura de enlaces. Si no consideramos esta energía de correlación, se estarán subestimando longitudes de enlace y obteniendo valores de energía superiores a los valores exactos.

2.4. Algunos métodos con correlación.

Dado que el estado fundamental de un gran número de moléculas, en la geometría de equilibrio y en sus cercanías, viene bien descrito cualitativamente mediante una sola configuración electrónica, no es de extrañar que se haya realizado un gran esfuerzo en el desarrollo de tratamientos teóricos tales como Møller-Plesset (MP) [39], *coupled cluster* (CC)

[40], o interacción de configuraciones (CI) en los que el punto de partida es la determinación de la función de onda Hartree-Fock (HF). En general, la situación es diferente para los estados electrónicos excitados, cuya correcta descripción requiere de varias configuraciones. Igualmente ocurre para estados electrónicos fundamentales en conformaciones que se alejan de su geometría en equilibrio como, por ejemplo, en estados de transición. Por este motivo surgieron alternativas a los métodos existentes que contemplan la naturaleza multiconfiguracional de la estructura electrónica.

Una de las aproximaciones más importantes es el método MCSCF (*MultiConfigurational Self-Consistent Field*) [41-43]. La función de onda MCSCF se puede considerar una expansión truncada de la función CI. La idea principal de los métodos multiconfiguracionales es la optimización simultánea de orbitales y de coeficientes de expansión a lo largo del proceso de obtención de la energía mínima del sistema. De este modo, la función de onda será:

$$\Phi_0 = \Psi_0 + \sum_{i,a} c_i^a \Psi_i^a + \sum_{i,j,a,b} c_{ij}^{ab} \Psi_{ij}^{ab} + \cdots \qquad [2.19]$$

donde

$$\Psi_i = \sum_{\mu}^{N} c_{i\mu} \psi_\mu \qquad [2.20]$$

Por tanto, se lleva a cabo la determinación variacional óptima tanto de los coeficientes de la expansión de configuraciones como de los orbitales implicados en las mismas mediante un proceso iterativo. En el caso de una sola configuración, el proceso MCSCF sería equivalente al modelo más sencillo empleado en la química cuántica: la teoría Hartree-Fock.

El método CASSCF (*Complete Active Space Self-Consistent Field*) es, probablemente, el método MCSCF más utilizado hoy en día. En dicho método, los orbitales se clasifican en tres tipos, dependiendo del papel que desempeñan en la construcción de la función de onda multielectrónica: orbitales inactivos, activos y secundarios. Los orbitales inactivos y activos están ocupados en la función de onda, mientras que los orbitales secundarios, también denominados virtuales o externos, constituyen el resto del espacio orbital, que se encuentra fijado en función del conjunto de base monoelectrónico usado para construir los orbitales moleculares. La función de onda CASSCF se forma mediante una combinación lineal de todas

las configuraciones posibles que se pueden formar entre los orbitales activos y los electrones activos, esto es, en el espacio configuracional expandido por los orbitales activos, la función CASSCF es completa.

Para la elección del espacio activo no existe un protocolo sistemático, puesto que depende del sistema y del tipo de tránsitos electrónicos que se quieran estudiar. Como regla general se puede decir que el espacio deberá contener aquellos orbitales cuyos números de ocupación varíen significativamente de 2 y de 0 durante el proceso considerado. Orbitales con números de ocupación cercanos a 2 deben trasladarse al conjunto de inactivos, y los que tengan dichos valores casi 0 deben tratarse como virtuales. El espacio activo debe ser el menor espacio posible que permita el estudio adecuado del sistema en cuestión. Siempre podremos evaluar la idoneidad de la elección realizada mediante cálculos de calibrado; por otro lado, la presencia o ausencia de estados intrusos nos confirmará lo adecuado o no del espacio activo elegido y podremos replantearnos, si fuera necesario, su ampliación en base a la estructura de la función de primer orden.

En un cálculo realizado a nivel CASSCF se tiene en cuenta la correlación estática, de largo alcance, describiéndose el efecto de las cuasidegeneraciones entre varias configuraciones. La correlación dinámica, que refleja la interacción electrón-electrón de corto alcance, se puede aproximar bien mediante métodos variacionales como *MultiReference* CI (MRCI) [41] o empleando la teoría de perturbaciones como hace el método CASPT2 (*Complete Active Space Perturbation Theory of Second Order*) [42, 43].

El primer tratamiento de la correlación electrónica dinámica en métodos multiconfiguracionales se realizó empleando el método MRCI, que aproxima la función de onda como una expansión de configuraciones simple y doblemente excitadas con respecto a un conjunto de configuraciones de referencia seleccionadas. La función de onda obtenida suele ser muy exacta para sistemas pequeños y con conjuntos de bases no muy extensos; sin embargo, para sistemas grandes, esta aproximación demanda excesivos recursos computacionales.

En cambio, la aproximación basada en la teoría de perturbaciones se ha erigido como un método válido para una amplia variedad de aplicaciones, en particular, en espectroscopia electrónica. Sus principios básicos son sencillos: comenzando con una función de referencia CASSCF, los efectos de correlación electrónica dinámica se estiman empleando la teoría de perturbación de segundo orden. El método CASPT2 corrige la función de onda de primer orden y, por consiguiente, la energía de segundo orden. La solución a la ecuación

$$\hat{H}(\lambda)\Psi(\lambda) = E(\lambda)\Psi(\lambda) \qquad [2.21]$$

se expande en una serie de potencias de λ:

$$\hat{H} = \hat{H}^0 + \lambda\hat{H}' \qquad [2.22]$$

$$\Psi = \Psi^0 + \lambda\Psi^{(1)} + \lambda^2\Psi^{(2)} \qquad [2.23]$$

$$E = E^0 + \lambda E^{(1)} + \lambda^2 E^{(2)} \qquad [2.24]$$

Si introducimos estos términos en la ecuación de Schrödinger y los agrupamos según el orden de λ:

$$\hat{H}^0\Psi^0 = E^0\Psi^0 \qquad [2.25]$$

$$\left(\hat{H}^0 - E^0\right)\Psi^{(1)} = \left(E^{(1)} - \hat{H}^{(1)}\right)\Psi^0 \qquad [2.26]$$

$$\left(\hat{H}^0 - E^0\right)\Psi^{(2)} = \left(E^{(1)} - \hat{H}^{(1)}\right)\Psi^{(1)} + E^{(2)}\Psi^0 \qquad [2.27]$$

De este modo, las correcciones de orden *k* a la función de onda $\Psi^{(k)}$ y a la energía $E^{(k)}$ se obtienen resolviendo consecutivamente las correspondientes ecuaciones de perturbación. Por tanto, la corrección general de orden *k* a la energía, se puede expresar como:

$$E^{(k)} = \left\langle \Psi^0 \middle| \hat{H}' \middle| \Psi^{k-1} \right\rangle \qquad [2.28]$$

Si extendemos el tratamiento perturbativo al caso multiconfiguracional, empleando como función de referencia Ψ^0 la función CASSCF, el hamiltoniano de orden cero se puede escribir como:

$$\hat{H}^0 = \hat{P}^0\hat{F}\hat{P}^0 + \hat{P}^K\hat{F}\hat{P}^K + \hat{P}^{SD}\hat{F}\hat{P}^{SD} + \hat{P}^X\hat{F}\hat{P}^X \qquad [2.29]$$

donde $\hat{P}^0 = |\Psi^0\rangle\langle\Psi^0|$ es el operador de proyección de la función de referencia, *K* es el resto del espacio CAS CI, SD es el espacio que contiene las excitaciones simples y dobles con respecto a la función de referencia CAS y *X* es el resto del espacio CI.

Para los orbitales inactivos y externos, los elementos de la diagonal del operador de Fock son las energías de los orbitales, como se desprende del teorema de Koopmans. Entonces, se puede escribir el operador de Fock monoelectrónico como:

$$\hat{F} = \sum_p \sum_q f_{pq} \hat{E}_{pq} \qquad [2.30]$$

donde $f_{pq} = h_{pq} + \sum_{r,s} D_{rs} \left[(pq|rs) - \frac{1}{2}(pr|qs) \right]$.

La función CASSCF no varía con las rotaciones entre orbitales inactivos, activos y externos. De este modo, si elegimos estos tres subconjuntos de orbitales (inactivos *i*, activos *a* y externos *e*) el operador de Fock queda de la siguiente manera:

$$\hat{F} = \sum_i \varepsilon_i \hat{E}_i + \sum_a \varepsilon_a \hat{E}_a + \sum_e \varepsilon_e \hat{E}_e + \sum f_{ai} \left[\hat{E}_{ia} + E_{ai} \right] + \sum f_{ei} \left[\hat{E}_{ie} + E_{ei} \right] + \\ + \sum f_{ea} \left[\hat{E}_{ae} + E_{ea} \right] \qquad [2.31]$$

Con la definición de $\hat{H}^0$ sólo las configuraciones que interaccionan directamente con la función de referencia CASSCF se deben incluir en la función de onda de primer orden

$$|\Psi^1\rangle = \sum_p \sum_q \sum_r \sum_s C_{pqrs} \, |pqrs\rangle \qquad [2.32]$$

siendo $|pqrs\rangle = \hat{E}_{pq} \hat{E}_{rs} |\Psi^0\rangle$, es decir, son combinaciones lineales de orbitales CSF (*Configuration State Function*) con coeficientes que proceden de la función de referencia $|\Psi^0\rangle$.

Las diferentes funciones que contribuyen al espacio SD en general son no ortogonales entre sí. Por tanto, la ecuación de primer orden para los coeficientes C_{pqrs} es:

$$(\boldsymbol{F} - E_0 \boldsymbol{S})\boldsymbol{C} = -\boldsymbol{V} \qquad [2.33]$$

donde $\boldsymbol{F}$ es la matriz de Fock en el espacio SD, $\boldsymbol{S}$ es la matriz de solapamiento, $\boldsymbol{C}$ es el vector de los coeficientes y $\boldsymbol{V}$ es el vector que representa la interacción entre el espacio SD y la función de referencia, y cuyos elementos tienen la forma $V_{pqrs} = \langle \Psi^0 | \hat{H} | pqrs \rangle$.

Esta ecuación no se puede resolver directamente por la dependencia lineal con la base, por lo que primero se diagonaliza $\boldsymbol{S}$ y se transforma a la base correspondiente al mismo tiempo que se eliminan las dependencias lineales. La ecuación transformada se diagonaliza empleando

un proceso iterativo, normalmente con el método de diagonalización de Davidson. Esta ecuación es similar a la del método MP2 cuando no hay orbitales activos.

Los elementos de ***F*** tendrán, por tanto, la estructura:

$$\langle pqrs|\hat{F}|p'q'r's'\rangle = \sum_{\alpha\beta}\langle\Psi^0|\hat{E}_{sr}\hat{E}_{qp}\hat{E}_{\alpha\beta}\hat{E}_{p'q'}\hat{E}_{r's'}|\Psi^0\rangle \qquad [2.34]$$

El cálculo de estos elementos de la matriz ocupa la mayor parte del tiempo que se emplea en los cálculos CASPT2, aún más cuanto mayor sea el espacio activo.

El método CASPT2 tiene como ventaja su validez para todos los problemas de teoría de estructura electrónica, ya que se puede aplicar tanto para el estudio de estados excitados como del estado fundamental, independientemente de la complejidad de la estructura electrónica del sistema. Por este motivo, este método es especialmente útil para el estudio de estados excitados y de complejos con metales de transición, donde las capas abiertas y las degeneraciones son muy comunes.

2.5. Teoría del Funcional de la Densidad.

La Teoría del Funcional de la Densidad (*Density Functional Theory*, DFT) se basa en la idea de que cualquier observable del sistema cuántico se puede determinar una vez conocida la densidad electrónica ρ, la cual es una magnitud que puede ser medida experimentalmente (por ejemplo, con difracción de rayos X). Esta teoría fue desarrollada en su forma actual por Hohenberg y Kohn [44] y se basa en dos teoremas fundamentales:

1. Cualquier observable de un estado estacionario fundamental no degenerado puede ser calculado, en principio, de forma exacta a partir de la densidad electrónica de este estado fundamental.

2. La densidad electrónica de un estado fundamental no degenerado puede ser calculada, en principio de forma exacta, determinando aquella densidad que minimiza la energía del estado fundamental.

Con este segundo teorema se introduce el principio variacional en la teoría DFT. Así, la expresión de la energía se puede describir como:

$$E_0 \leq E[\rho] = T[\rho] + V_{ee}[\rho] + V_{ne}[\rho] \qquad [2.35]$$

siendo $T[\rho]$ la energía cinética de los electrones, $V_{ee}[\rho]$ la energía de repulsión electrón-electrón y $V_{ne}[\rho]$ la energía potencial electrón-núcleo.

Sabiendo que la densidad electrónica es el cuadrado de la función de onda, el acierto de los distintos métodos DFT está en describir funcionales que conecten la densidad electrónica con la energía.

Posteriormente, Kohn y Sham introdujeron los orbitales en el funcional, los cuales se obtienen por resolución de la ecuación:

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla^2 + V(\boldsymbol{r})\right]\phi_i = \varepsilon_i \phi_i \qquad [2.36]$$

siendo la energía:

$$E[\rho] = T[\rho] + \int V(\boldsymbol{r})\rho(\boldsymbol{r})d\boldsymbol{r} + V_{\boldsymbol{ee}}[\rho] \qquad [2.37]$$

La clave de la teoría Kohn-Sham es que se asume un sistema de referencia en el que los electrones no interactúan. Sin embargo, en dicho sistema de referencia no se puede calcular la energía cinética total real, $T[\rho]$, y el remanente de dicha energía cinética es absorbido por un término denominado de correlación-intercambio. Así, se introduce la siguiente partición de la energía:

$$E_{DFT}[\rho] = T_s[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] + V_{ne}[\rho] \qquad [2.38]$$

donde $J[\rho]$ es la energía de interacción electrostática de los electrones, $T_s[\rho]$ es la energía cinética del sistema de referencia y $E_{xc}[\rho]$ es la llamada energía de "correlación-intercambio" e incluye todos los efectos no contemplados ni en $T_s[\rho]$ ni en $J[\rho]$.

La gran dificultad de la teoría DFT es la búsqueda de una expresión que ofrezca la mayor exactitud al término de correlación-intercambio. Por este motivo se han desarrollado a lo largo de los años varios modelos que dan cuenta de este término. Se pueden clasificar en dos grandes grupos: métodos de densidad local y aquellos corregidos con el gradiente.

2.5.1. Métodos de densidad local.

Se basan en la aproximación de densidad local (*Local Density Approximation*, LDA), en la que se asume que la densidad local puede ser tratada como un gas uniforme, es decir, que la densidad es una función que varía muy lentamente. Los resultados que se obtienen son:

$$E_{XC}^{LDA}[\rho] = \int \varepsilon_{XC}^{LDA}[\rho]\rho(\boldsymbol{r})d\boldsymbol{r} \qquad [2.39]$$

donde:

$$\varepsilon_{XC}^{LDA}[\rho] = \varepsilon_{X}^{LDA}[\rho] + \varepsilon_{C}^{LDA}[\rho] \qquad [2.40]$$

$$\varepsilon_{X}^{LDA}[\rho] = -\frac{3}{4}\left(\frac{3\rho(\boldsymbol{r})}{\pi}\right)^{1/3} \qquad [2.41]$$

$\varepsilon_{X}^{LDA}[\rho]$ es la energía de intercambio por electrón, que da lugar al funcional de intercambio de Slater-Dirac. La componente de correlación es más complicada y se ha calculado por métodos numéricos. Vosko, Wilk y Nusair propusieron un funcional de la siguiente forma [45]:

$$\varepsilon_{c}^{VWN}[\rho] = A\left[ln\frac{x^2}{X(x)} + \frac{2b}{Q}P - \frac{bx_0}{X(x_0)}\left(ln\frac{(x-x_0)^2}{X(x)} + \frac{2(b+2x_0)}{Q}P\right)\right] \qquad [2.42]$$

donde:

$$x = \left(\frac{3}{4\pi\rho(r)}\right)^{1/6} \qquad [2.43]$$

$$X(t) = t^2 + bt + c \qquad [2.44]$$

$$Q = (4c - b^2)^{1/2} \qquad [2.45]$$

$$P = arctan\frac{Q}{2x+b} \qquad [2.46]$$

Los parámetros toman los valores A = 0,0310907, x_0 = −0,10498, b = 3,72744 y c = 12,9352. La combinación de estos dos funcionales es lo que se llama aproximación de la densidad local.

2.5.2. Métodos corregidos con el gradiente.

Estos métodos consideran al sistema como un gas no uniforme. Las energías de correlación e intercambio no sólo dependen de la densidad electrónica, sino también de su derivada. Existen varios funcionales que emplean esta técnica, de los cuales podemos destacar:

- Funcional de Becke (B o B88): propone una corrección de la energía de intercambio del siguiente tipo [46]:

$$\varepsilon_X^{B88} = \varepsilon_x^{LDA} + \Delta\varepsilon_x^{B88} \qquad [2.47]$$

$$\Delta\varepsilon_X^{B88} = -\beta\rho^{1/3}\frac{x^2}{1+6\beta\sinh^{-1}x} \qquad [2.48]$$

$$x = \frac{|\nabla\rho|}{\rho^{4/3}} \qquad [2.49]$$

siendo β un parámetro que se determina por ajuste a datos atómicos conocidos.

- Funcional de Lee-Yang-Parr (LYP) para la energía de correlación [47]:

$$\varepsilon_c^{LYP} = -a\frac{\gamma}{(1+d\rho^{-1/3})} - ab\frac{\gamma e^{-c\rho^{-1/3}}}{9(1+d\rho^{-1/3})\rho^{8/13}} \times$$
$$\times\left[18\left(2^{2/3}\right)C_F\left(\rho_\alpha^{8/3}+\rho_\beta^{8/3}\right) - 18\rho t_w + \rho_\alpha(2t_w^\alpha) + \rho_\alpha(2t_w^\alpha + \nabla^2\rho_\alpha) + \right.$$
$$\left. +\rho_\beta\left(2t_w^\beta + \nabla^2\rho_\beta\right)\right] \qquad [2.50]$$

$$\gamma = 2\left[1 - \frac{\rho_\alpha^2+\rho_\beta^2}{\rho^2}\right] \qquad [2.51]$$

$$t_w^\sigma = \frac{1}{8}\left(\frac{|\nabla\rho_\sigma|^2}{\rho_\sigma} - \nabla^2\rho_\sigma\right) \qquad [2.52]$$

En los últimos años se están desarrollando mejoras de los funcionales introduciendo parte del intercambio exacto que es el calculado de la misma manera que en el método Hartree-Fock, pero con los orbitales Kohn-Sham. A estos funcionales se les denomina híbridos, siendo uno de los más conocidos el funcional B3LYP.

En resumen, la teoría DFT tiene como ventajas que introduce los efectos de correlación electrónica con un coste reducido y proporciona buenos resultados para gran cantidad de

sistemas, pero su principal inconveniente es que no es válido para el estudio de sistemas que sean multideterminantales.

2.5.3. Teoría del Funcional de la Densidad dependiente del tiempo.

Tal y como se ha descrito anteriormente, la Teoría del Funcional de la Densidad es independiente del tiempo y por tanto no da respuesta a fenómenos que implican campos que varían con el tiempo, como por ejemplo es el caso de la interacción de una molécula con la luz. Sin embargo, la Teoría del Funcional de la Densidad Dependiente del Tiempo (TD-DFT) constituye una generalización dependiente del tiempo de la teoría DFT, permitiendo así su aplicación a fenómenos tan importantes como las propiedades ópticas y espectroscópicas de las moléculas, que dependen de la respuesta dinámica de la densidad de carga a campos que varían con el tiempo. Su fundamento matemático reside en el teorema de Runge-Gross [48]. En él se demuestra que es posible obtener valores propios dependientes del tiempo como funcionales de la densidad de carga dependiente del tiempo. Así, se puede derivar la ecuación de Kohn-Sham dependiente del tiempo, asumiendo que existe un potencial efectivo tal que, aplicado sobre un sistema de partículas independientes, da la densidad real del sistema dependiente del tiempo. Esta aproximación provoca la aparición de un funcional de correlación e intercambio, que es desconocido y que puede determinarse asumiendo que el potencial externo varía lentamente con el tiempo (aproximación local respecto al tiempo). De esta forma, el potencial de correlación e intercambio sólo depende de la densidad en el instante dado, y por consiguiente la calidad del potencial que se emplee determina en gran medida la exactitud de los cálculos.

Una vez visto que es posible determinar la densidad de carga dependiente del tiempo, cualquier propiedad que dependa de ella o de su respuesta podrá obtenerse dentro de la aproximación del funcional utilizado. Especialmente interesantes son las propiedades que resultan de la aplicación de un campo electromagnético, ya que permiten obtener el espectro de absorción teórico de la molécula estudiada a partir de las energías de excitación y la fuerza del oscilador asociada a cada excitación, relacionada con su intensidad.

2.6. Métodos para la representación clásica del disolvente: mecánica molecular.

En las secciones previas, nos hemos centrado en la descripción de los métodos que se emplean para describir al soluto desde un punto de vista cuántico. El disolvente, en cambio, se describe dentro del marco clásico. Puede ser representado bien de forma discreta, teniendo en cuenta la estructura molecular de las partículas empleando campos de fuerza clásicos, o bien en forma continua como un dieléctrico o empleando densidades de dipolo de Langevin. Dentro de

la gran variedad existente de métodos, destacan aquellos que emplean mecánica molecular. El objetivo de estos métodos consiste en la obtención de la energía potencial de cada configuración del sistema para predecir los puntos críticos de una superficie de energía potencial, como son los puntos de mínima energía. En mecánica molecular, las moléculas se describen mediante un modelo de bolas y muelles que se mueven de forma clásica. Las distancias de enlace y las constantes de fuerza son transferibles entre los átomos del mismo tipo y grupos funcionales similares contribuyen de igual forma a la energía de formación. La energía electrónica se considera así una función paramétrica de las coordenadas nucleares.

En mecánica molecular se puede describir la energía potencial en una serie de contribuciones:

$$E = E_r + E_\theta + E_\omega + E_{vdW} + E_{elec} + E_{pol} + E_{acop} \qquad [2.53]$$

donde:

- E_r es la energía de tensión de enlace o *streching* (energía necesaria para acortar o alargar un enlace entre dos átomos). En la aproximación armónica su expresión es:

$$E_r = \sum k_{ij}\left(r_{ij} - r_{ij}^{eq}\right)^2 \qquad [2.54]$$

- E_θ es la energía de flexión de enlace o *bending* (energía necesaria para abrir o cerrar el ángulo formado por tres átomos enlazados de forma consecutiva). De igual modo que en la energía de tensión, se suele emplear una aproximación armónica:

$$E_\theta = \sum k_{ijk}\left(\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^{eq}\right)^2 \qquad [2.55]$$

- E_ω es la energía de torsión de enlace (energía asociada a la rotación de un enlace B−C en una secuencia consecutiva de cuatro átomos A−B−C−D). Esta energía es periódica en el ángulo de torsión, por lo que se representa mediante funciones seno o coseno:

$$E_\omega = \frac{1}{2}\sum_{n=1} V_n\left[1 + (-1)^{n+1}\cos(n\omega)\right] \qquad [2.56]$$

donde *n* es la periodicidad (*n* = 1,2,3 principalmente).

- E_{vdW} es la energía de interacción de Van der Waals (describe las interacciones entre los átomos que no están directamente enlazados). Existen diversas expresiones para este término:

  - Expresión de Lennard-Jones: es una de las descripciones más empleadas. Depende sólo de dos parámetros (ε_{ij} y σ_{ij}, donde $\{i,j\}$ designan a dos tipos de átomos).

$$E_{LJ} = 4\varepsilon_{ij}\left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}}\right)^{6}\right] \qquad [2.57]$$

    Los parámetros ε_{ij} y σ_{ij} se obtienen a partir de los átomos individuales por medias geométricas o aritméticas dependiendo del campo de fuerzas considerado. Por ejemplo, el campo de fuerzas OPLS-AA (*Optimized Potentials for Liquid Simulations-All Atom*) [49, 50] utiliza una media geométrica para los dos parámetros.

  - Expresión de Buckingham o Hill: aunque tiene mayor sentido físico que la de Lennard-Jones, computacionalmente es más costosa.

$$E_{Bu} = Ae^{-Br_{ij}} - \frac{C}{r_{ij}^{6}} \qquad [2.58]$$

  - Expresión de Morse:

$$E_{Mo} = D_{ij}\left[1 - e^{-\alpha(r_{ij} - r_{ij}^{eq})}\right]^{2} \qquad [2.59]$$

    siendo D_{ij} la energía necesaria para romper la interacción entre dos átomos.

- E_{elec} es la energía de interacción electrostática. En vez de considerar una distribución electrónica continua, se asignan las cargas puntuales en los átomos:

$$E_{elec} = \sum_{i}^{N}\sum_{j>i}^{N}\frac{q_i q_j}{\varepsilon r_{ij}} \qquad [2.60]$$

donde se suele considerar el valor en vacío de la constante dieléctrica (ε = 1).

- E_{pol} es la energía de polarización. En la mayoría de los campos de fuerza se desprecia esta componente, que puede llegar a representar entre el 10% y el 20% de la energía total. Aquellos campos que la incluyen consideran en general polarizabilidades atómicas.

- E_{acop} considera todos los términos de acoplamiento, es decir, da cuenta de la influencia de unas componentes sobre otras. Son muchos los términos de acoplamiento que se pueden considerar, siendo los más empleados:

  - Términos tensión-flexión:

$$E_{r\theta} = \frac{1}{2} k_{ijk}^{r\theta} \left(r_{ij} - r_{ij}^{eq}\right)\left(\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^{eq}\right) \qquad [2.61]$$

  - Términos tensión-tensión:

$$E_{rr} = \frac{1}{2} k_{ijkl}^{rr} \left(r_{ij} - r_{ij}^{eq}\right)\left(r_{kl} - r_{kl}^{eq}\right) \qquad [2.62]$$

  - Términos tensión-torsión:

$$E_{r\omega} = k_{ij}^{r\omega} \left(r_{ij} - r_{ij}^{eq}\right)[1 + (-1)^{n+1} \cos\,(n\omega)] \qquad [2.63]$$

Estas fórmulas pueden mejorarse introduciendo términos anarmónicos, otros términos de acoplamiento, términos adicionales que representen, por ejemplo, los enlaces de hidrógeno, etc. La forma concreta de los potenciales empleados, junto con el conjunto de valores asignados a los distintos parámetros, recibe el nombre de "campo de fuerzas". Se han desarrollado diferentes campos de fuerzas ajustados para el estudio de una gran variedad de propiedades, procesos y sistemas, algunos de los campos de fuerzas más usados son: AMBER [51], CHARMM [52], OPLS [49, 50, 53, 54], MM2 [55] o MMFF94 [56].

2.7. Métodos de simulación: dinámica molecular.

Una simulación genera configuraciones representativas del sistema de modo que se pueden obtener sus propiedades estructurales y termodinámicas como promedios estadísticos. Dentro de estas técnicas de simulación, la dinámica molecular permite determinar el

comportamiento de los sistemas atómicos o moleculares dependientes del tiempo, proporcionando una imagen del modo en que el sistema cambia de una configuración a otra.

El valor instantáneo de cualquier propiedad *A* que se quiera estudiar se puede escribir en función de las posiciones y de los momentos lineales del sistema $A\left(\boldsymbol{p}^N(t), \boldsymbol{r}^N(t)\right)$. El valor instantáneo de la propiedad fluctúa como resultado de las interacciones entre partículas. El valor que se mide experimentalmente es un promedio de *A* a lo largo del tiempo, de modo que si la medida se realizara durante un tiempo infinito, el valor de la propiedad sería:

$$A = \lim_{\tau \to \infty} \frac{1}{\tau} \int_0^{\tau} A\left(\boldsymbol{p}^N(t), \boldsymbol{r}^N(t)\right) dt \qquad [2.64]$$

Para calcular los valores promedio de las propiedades del sistema será necesario simular el comportamiento dinámico del sistema, es decir, determinar los valores de $A\left(\boldsymbol{p}^N(t), \boldsymbol{r}^N(t)\right)$ según las interacciones intra- e intermoleculares del sistema. Para cualquier reordenamiento de átomos, las fuerzas que actúan en cada átomo debidas a las interacciones con otros átomos se pueden calcular por diferenciación de la función energía potencial; según la segunda ley de Newton es posible calcular la aceleración a partir de la fuerza en cada átomo. La integración de estas ecuaciones de movimiento proporciona una trayectoria que describe cómo varían las posiciones, velocidades y aceleraciones con el tiempo. La gran dificultad nace del enorme número de partículas, del orden de 10^{23}. Una formulación alternativa sustituye el promedio temporal por el promedio colectivo (*ensemble average*):

$$\langle A \rangle = \int \int A(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N)\, \rho(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N) d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N \qquad [2.65]$$

siendo $\rho(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N)$ la densidad de probabilidad del conjunto, esto es, la probabilidad de encontrar una configuración con momentos $\boldsymbol{p}^N$ y posiciones $\boldsymbol{r}^N$. De acuerdo con la hipótesis ergódica, que es uno de los axiomas fundamentales de la mecánica estadística, el promedio colectivo es igual al promedio temporal. Bajo condiciones *NVT* (número de partículas, volumen y temperatura constantes), la densidad de probabilidad se escribe como una distribución de Boltzmann:

$$\rho(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N) = \frac{exp\left(-\beta E(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N)\right)}{\int \int exp\left(-\beta E(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N)\right) d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N} \qquad [2.66]$$

con $\beta = 1/k_B T$ y donde $E\left(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N\right)$ es la energía de cada configuración.

Una de las características principales de la mayoría de técnicas de simulación es el empleo de las denominadas condiciones periódicas de contorno, las cuales permiten calcular propiedades macroscópicas empleando un número pequeño de partículas en la representación del sistema completo. Consiste en repetir un volumen de partículas, normalmente una caja cúbica, en todas las direcciones del espacio. Si durante la simulación una partícula deja la caja, se reemplaza por una imagen de la partícula que entraría por el lado opuesto de la celda; así, el número de partículas permanece siempre constante. Para el cálculo de las interacciones en el sistema, se tienen en cuenta las interacciones de cada partícula con todas las otras partículas y con sus imágenes periódicas situadas en celdas vecinas. Es frecuente, sin embargo, considerar las interacciones únicamente cuando la distancia entre las partículas implicadas es menor que una distancia dada. Este truncamiento de las interacciones de largo alcance es una de las limitaciones de las condiciones periódicas y puede introducir errores importantes. Por tanto, la elección del tamaño de la celda juega un papel crucial en las simulaciones.

Existen métodos para tratar estas interacciones de largo alcance, entre los que se puede destacar los modelos del continuo anteriormente tratados y el método de la suma de Ewald [57-59]. El potencial electrostático se expresa mediante una suma de términos en el espacio real y en el espacio recíproco (relacionado con el espacio real a través de una transformada de Fourier, aprovechando la periodicidad del sistema):

$$E_{elec} = \sum_{n=0}^{\infty}\sum_{i=1}^{N}\sum_{j>i}^{N} q_i q_j \frac{\operatorname{erfc}\left(\alpha\left|\boldsymbol{r}_{ij}+\boldsymbol{n}\right|\right)}{\left|\boldsymbol{r}_{ij}+\boldsymbol{n}\right|} + \frac{4\pi}{L^3}\sum_{k\neq 0}^{\infty}\frac{e^{-k^2/4\alpha^2}}{k^2}\left(\sum_{i=1}^{N} q_i e^{-ik\boldsymbol{r}_i}\right)^2 - \\ -\frac{\alpha}{\sqrt{\pi}}\sum_{i=1}^{N} q_i^2 \qquad [2.67]$$

donde:

- erfc(x) es la función de error complementaria, erfc(x) = $2/\sqrt{\pi}\int_x^{\infty} e^{-t^2}dt$.
- $\boldsymbol{n}$ es el vector de red en el espacio real, $\boldsymbol{n} = (n_xL, n_yL, n_zL)$.
- $\boldsymbol{k}$ es el vector de red en el espacio recíproco, $\boldsymbol{k} = 2\pi\boldsymbol{n}/L^2$.
- α es el parámetro de relación entre los espacios real y recíproco.
- N es el número de cargas en el sistema.
- L es el lado de la celdilla unidad, que se supone cúbica.

Como se ha visto, de las simulaciones se pueden obtener las propiedades estructurales y energéticas del sistema. Para describir la estructura del sistema se suele emplear la función de distribución radial $g(r)$ (*radial distribution function*, *rdf*), que nos da la probabilidad de encontrar un átomo o molécula a una distancia r de otro átomo o molécula comparada con la distribución de un gas ideal. La expresión matemática es:

$$g(r) = \frac{L^3}{N^2}\langle \sum_{j \neq i} \delta(r - r_{ij})\rangle \qquad [2.68]$$

siendo $\delta(x)$ la función delta de Dirac.

En líquidos, las *rdf* tienen un número pequeño de picos, que corresponden a las distintas capas de solvatación del soluto, y tienden a un valor constante de 1 a largas distancias. El número de coordinación, es decir, el número de moléculas de disolvente que rodean al soluto se puede obtener integrando el área bajo estos picos.

En dinámica molecular, una vez conocida la expresión para la energía potencial de interacción intermolecular y conocidas las condiciones iniciales (normalmente *NVE*, número de partículas, volumen y energía constantes; aunque también son posibles *NVT*, a temperatura constante, y *NPT* , a presión constante), se selecciona un punto en el espacio de fase y se calculan las fuerzas que actúan sobre cada partícula. Mediante la resolución de las ecuaciones de Lagrange, y a través de un algoritmo de tiempo finito, se obtiene una nueva disposición de las partículas así como sus velocidades, lo cual conduce a un nuevo punto del espacio de fase para el que se procede a calcular nuevamente las fuerzas ejercidas sobre cada átomo, y así sucesivamente.

La primera simulación de dinámica molecular de un sistema en fase condensada fue realizada por Alder y Wainwright [10] empleando un modelo de esferas rígidas, en el que las esferas se mueven a una velocidad constante. Evidentemente, se trata de un modelo bastante sencillo que sufre algunas deficiencias. Por este motivo se desarrollaron nuevos modelos basados en interacciones intermoleculares, de modo que la fuerza entre cada partícula varía según cambie su posición. La primera simulación de este tipo fue realizada por Rahman [60] con átomos de helio; este mismo autor posteriormente realizó junto a Stillinger la primera dinámica del agua líquida [61].

Cada partícula siente una fuerza igual a:

$$\boldsymbol{F}_i(\boldsymbol{r}) = -\nabla_i E(\boldsymbol{r}) \qquad [2.69]$$

El cálculo de $\boldsymbol{F}_i$ suele ser sencillo y se reduce a la suma de diferentes contribuciones. Además, según la segunda ley de Newton, la fuerza que actúa sobre cada partícula induce una aceleración directamente proporcional, por lo tanto:

$$-\frac{\partial E}{\partial \boldsymbol{r}_i} = m_i \frac{\partial^2 \boldsymbol{r}_i}{\partial t^2} = m_i \boldsymbol{a}_i = \frac{\partial \boldsymbol{p}_i}{\partial t} \qquad [2.70]$$

con lo que se tiene una relación entre la configuración actual y su evolución en el tiempo.

Bajo la influencia de un potencial continuo, los movimientos de las partículas se acoplan, impidiendo una resolución analítica del problema, por lo que normalmente se recurre a un desarrollo en serie de Taylor. Para ello se toma un intervalo temporal pequeño, ∂t, que suele ser del orden de fs, y se calculan las posiciones $\boldsymbol{r}$ y velocidades $\boldsymbol{v}$ de las partículas del sistema en diferentes instantes separados por dicho intervalo.

Dentro de estos métodos, el algoritmo de Verlet [62] ha sido uno de los más empleados en los últimos años. Este algoritmo emplea las posiciones y aceleraciones a un tiempo t , y las posiciones del paso previo $\boldsymbol{r}\ (t - \partial t)$ para calcular las nuevas posiciones a un tiempo $t + \partial t$. De este modo, se pueden escribir las siguientes relaciones:

$$\boldsymbol{r}(t + \delta t) = \boldsymbol{r}(t) + \delta t \boldsymbol{v}(t) + \frac{1}{2}\delta t^2 \boldsymbol{a}(t) + \cdots \qquad [2.71]$$

$$\boldsymbol{r}(t - \delta t) = \boldsymbol{r}(t) - \delta t \boldsymbol{v}(t) - \frac{1}{2}\delta t^2 \boldsymbol{a}(t) - \cdots \qquad [2.72]$$

siendo $\boldsymbol{v}$ la velocidad y $\boldsymbol{a}$ la aceleración. Sumando estas dos ecuaciones:

$$\boldsymbol{r}(t + \delta t) = 2\boldsymbol{r}(t) - \boldsymbol{r}(t - \delta t) + \delta t^2 \boldsymbol{a}(t) \qquad [2.73]$$

Como se observa en la ecuación 2.73, no es necesario el cálculo de la velocidad. Esta magnitud puede ser obtenida como:

$$\boldsymbol{v}(t) = \frac{\boldsymbol{r}(t + \delta t) - \boldsymbol{r}(t + \delta t)}{2\delta t} \qquad [2.74]$$

Precisamente el hecho de que no se explicite el término de la velocidad en la ecuación es una desventaja de este algoritmo, ya que es difícil obtener las velocidades al necesitar que se calculen las posiciones del paso siguiente. De este modo, se desarrollaron otros algoritmos que introdujeron variaciones en el de Verlet para evitar el problema de las velocidades. Se pueden destacar los siguientes:

• Algoritmo *leap-frog* [63], el cual emplea las siguientes relaciones:

$$\boldsymbol{r}(t+\delta t) = \boldsymbol{r}(t) + \delta t \boldsymbol{v}(t) + \frac{1}{2}\delta t \qquad [2.75]$$

$$\boldsymbol{v}\left(t+\frac{1}{2}\delta t\right) = \boldsymbol{v}(t) - \frac{1}{2}\delta t + \delta t \boldsymbol{a}(t) \qquad [2.76]$$

• Método de la velocidad de Verlet, desarrollado por Swope y col. [64], en el que para calcular las nuevas velocidades se requieren las aceleraciones a t y $t + \delta t$:

$$\boldsymbol{v}\left(t+\frac{1}{2}\delta t\right) = \boldsymbol{v}(t) + \frac{1}{2}\delta t \boldsymbol{a}(t) \qquad [2.77]$$

$$\boldsymbol{v}(t+\delta t) = \boldsymbol{v}\left(t+\frac{1}{2}\delta t\right) + \frac{1}{2}\delta t \boldsymbol{a}(t+\delta t) \qquad [2.78]$$

• Algoritmo de Beeman [65], que emplea una expresión para la velocidad más precisa:

$$\boldsymbol{r}(t+\delta t) = \boldsymbol{r}(t) + \delta t \boldsymbol{v}(t) + \frac{2}{3}\delta t^2 \boldsymbol{a}(t+\delta t) - \frac{1}{6}\delta t^2 \boldsymbol{a}(t+\delta t) \qquad [2.79]$$

$$\boldsymbol{v}(t+\delta t) = \boldsymbol{v}(t) + \frac{1}{3}\delta t \boldsymbol{a}(t-\delta t) + \frac{5}{6}\delta t \boldsymbol{a}(t) - \frac{1}{6}\delta t \boldsymbol{a}(t-\delta t) \qquad [2.80]$$

Ya que la energía cinética se calcula directamente a partir de las velocidades, este algoritmo ofrece una mejor conservación de la energía. Sin embargo, las expresiones son más complejas que el algoritmo de Verlet y, por tanto, es computacionalmente más costoso.

Las dinámicas moleculares se han desarrollado tradicionalmente en el conjunto microcanónico *NVE*, manteniendo constantes el número de partículas, el volumen y la energía. Pero también, muchas de ellas se suelen realizar a temperatura constante, sobre todo si en el estudio se quiere evaluar el comportamiento de un sistema según los cambios de temperatura.

El método más sencillo para mantener la temperatura fija de un sistema en una dinámica molecular consiste simplemente en renormalizar las velocidades para que la temperatura del sistema sea la requerida. Cada cierto número de pasos de simulación se sustituyen las velocidades $\boldsymbol{v}$ por otras $\boldsymbol{v}'$ tales que:

$$\boldsymbol{v}_i' = \sqrt{\frac{3Nk_BT}{2E_k}}\boldsymbol{v}_i \qquad [2.81]$$

$$E_k = \frac{1}{2}\sum_i^N m_i\boldsymbol{v}_i^2 \qquad [2.82]$$

Sin embargo, esto introduce perturbaciones artificiales en la simulación y en las propiedades termodinámicas derivadas de ella. Si esta renormalización se realizara en cada paso de la dinámica, se anularía la fluctuación en la energía cinética, lo cual es irreal.

Un método más sofisticado es el llamado «termostato de Nosé-Hoover» [66, 67], en el que el sistema se acopla con un baño térmico, que se introduce a través de una masa ficticia, *Q*. En lugar de $\boldsymbol{F}_i = m_i\boldsymbol{a}_i$ se obtiene:

$$\boldsymbol{F}_i = m_i\boldsymbol{a}_i + \zeta\boldsymbol{v}_i \qquad [2.83]$$

$$\zeta = \frac{3N}{Q}\left(\sum_i^N m\boldsymbol{v}_i^2 - k_BT\right) \qquad [2.84]$$

Este método también introduce fluctuaciones sin sentido físico en la simulación, pero estas pueden minimizarse con una correcta elección de *Q* y un tiempo de simulación suficientemente extenso.

En el caso de que se consideren moléculas rígidas, la expresión 2.53 se simplifica y sólo es necesario tener en cuenta los términos E_{elec} y E_{vdW} entre átomos de diferentes moléculas, ya que las interacciones intramoleculares se mantienen constantes y no juegan, por lo tanto, ningún papel en la dinámica del sistema. Además, en este caso no es necesario tratar de manera independiente a cada átomo, sino que las ecuaciones de movimiento pueden describir los movimientos de traslación y rotación de las moléculas completas según las ecuaciones de Newton-Euler:

$$M_i\boldsymbol{a}_i^{CM} = F_i \qquad [2.85]$$

$$\boldsymbol{J}_i\dot{\boldsymbol{\omega}}_i - \boldsymbol{\omega}_i \times (\boldsymbol{J}_i\boldsymbol{\omega}_i) = \boldsymbol{N}_i \qquad [2.86]$$

donde:

- $\boldsymbol{a}_i^{CM}$ es la aceleración en la posición del centro de masas de la molécula $\boldsymbol{R}_i$, de modo que $\boldsymbol{R}_i = \frac{1}{M_i}\sum_\alpha m_{i\alpha}\boldsymbol{r}_{i\alpha}$.
- M_i es la masa total de la molécula *i*, $M_i = \sum_\alpha m_{i\alpha}$.
- $\boldsymbol{F}_i$ es la fuerza total en el centro de masas de la molécula *i*, $\boldsymbol{F}_i = \sum_{\alpha j\beta}\boldsymbol{f}_{i\alpha j\beta}$, donde $\boldsymbol{f}_{i\alpha j\beta}$ es la fuerza que existe entre el átomo α de la molécula *i* y el átomo β de la molécula *j* .
- $\boldsymbol{J}_i$ es el tensor momento de inercia de la molécula *i*, calculado como $\boldsymbol{J}_i = \sum_\alpha m_{i\alpha}(\boldsymbol{s}_{i\alpha}^2\boldsymbol{I} - -\boldsymbol{s}_{i\alpha}\boldsymbol{s}_{i\alpha}^T)$ donde $\boldsymbol{s}_{i\alpha} = \boldsymbol{r}_{i\alpha} - \boldsymbol{R}_i$ es el vector posición del átomo α con respecto al centro de masas.
- $\boldsymbol{\omega}_i$ es la velocidad angular de la molécula *i* .
- $\boldsymbol{N}_i$ es el momento de la fuerza total sobre la molécula *i*, $\boldsymbol{N}_i = \sum_\alpha m_{i\alpha}\boldsymbol{s}_{i\alpha} \times \boldsymbol{f}_{i\alpha}$.

Evans [68] y posteriormente Pawley y col. [69] sugirieron el uso de cuaterniones para representar las coordenadas generales de rotación del sistema. Estos cuaterniones constan de cuatro parámetros que cumplen el requisito de tener ecuaciones de movimiento que se comportan bien. El algoritmo de simulación básico fue descrito por Evans y Murad [70].

Un cuaternión $\boldsymbol{Q}$ es un conjunto de cuatro escalares $\boldsymbol{Q} = (q_0, q_1, q_2, q_3)$ que satisfacen la condición:

$$q_0^2 + q_1^2 + q_2^2 + q_3^2 = 1 \qquad [2.87]$$

Según los ángulos de Euler θ, ϕ y ψ, podemos definir cada uno de los parámetros del cuaternión unitario como:

$$q_0 = cos\frac{\theta}{2}cos\frac{\phi+\psi}{2} \qquad [2.88]$$

$$q_1 = sin\frac{\theta}{2}cos\frac{\phi-\psi}{2} \qquad [2.89]$$

$$q_2 = sin\frac{\theta}{2}sin\frac{\phi-\psi}{2} \qquad [2.90]$$

$$q_3 = cos\frac{\theta}{2}sin\frac{\phi+\psi}{2} \qquad [2.91]$$

El método de dinámica molecular permite el estudio no sólo de las propiedades termodinámicas de un sistema, sino también de las propiedades cinéticas o dependientes del tiempo, como coeficientes de difusión, viscosidades o conductividades térmicas.

Por otro lado, el método de dinámica molecular puede proporcionar más información que el de Monte Carlo, puesto que permite estudiar la evolución de las propiedades del sistema durante el intervalo temporal de la simulación. Además, se trata de una técnica válida tanto para moléculas flexibles como para moléculas rígidas y semirrígidas.

2.8. Cálculo de la energía libre.

Podemos definir la energía libre como una medida de la cantidad de trabajo que puede realmente obtenerse de un sistema. Normalmente la energía libre se expresa como la función de Helmholtz, *A*, o la función de Gibbs, *G*. La energía libre de Helmholtz es apropiada para sistemas en los que se mantienen constantes el número de partículas, la temperatura y el volumen (*NVT*); la energía libre de Gibbs, por su parte, se emplea cuando se mantienen constantes el número de partículas, la temperatura y la presión (*NPT*). La mayoría de los experimentos se llevan a cabo bajo condiciones de presión y temperatura constantes, por lo que la función de Gibbs es la magnitud que más se estudia; sin embargo, las simulaciones a volumen constante son más sencillas que las simulaciones a presión constante, por lo que es más frecuente el cálculo teórico de la energía libre de Helmholtz. En cualquier caso, para sistemas poco compresibles, como la mayor parte de los líquidos, la diferencia entre ambas energías libres es muy pequeña y puede considerarse una u otra indistintamente.

La termodinámica estadística proporciona el nexo de unión entre la descripción cuántica de un sistema y su descripción termodinámica. Su objetivo es deducir las propiedades en equilibrio de un sistema macroscópico (como puede ser la entropía o la energía libre) a partir de sus propiedades microscópicas (geometría molecular, interacciones intermoleculares, etc). Así, se define como microestado a la especificación detallada de una configuración microscópica de un sistema termodinámico. Por el contrario, un macroestado se refiere a una caracterización del sistema termodinámico mediante los valores de un número finito de variables llamadas de estado, tales como el volumen, la temperatura, la presión o la cantidad de materia. El macroestado obedece por tanto a una descripción macroscópica, y viene dado por una distribución de probabilidad sobre un conjunto de microestados. Dicho de otra forma, se considera que un sistema en equilibrio permanece en un macroestado mientras visita los diferentes microestados accesibles a lo largo de sus fluctuaciones, siendo todos estos

compatibles con el mencionado macroestado. En función del conjunto de microestados considerado, la distribución toma una forma u otra.

Por todo lo anterior, para conocer la energía interna del sistema se hace necesario no sólo saber la energía de sus diferentes microestados sino además la evolución temporal del mismo, sabiendo qué microestados visita y durante cuánto tiempo mientras realizamos el proceso de medida. Sin embargo, gracias a la hipótesis ergódica, podemos suponer que, si el tiempo de medida de la energía es grande comparado con el tiempo que tarda nuestro sistema en pasar de un microestado a otro, entonces podremos considerar que durante dicho tiempo el sistema ha visitado todos los microestados compatibles con el estado macroscópico, permaneciendo en cada uno de ellos un tiempo proporcional a la probabilidad de ocupación de cada microestado. El promedio temporal se puede sustituir por un promedio en un conjunto de microestados (al que llamamos colectivo) y las variables macroscópicas se podrán calcular si conocemos la probabilidad de ocupación de todos los microestados.

La energía libre es una magnitud difícil de calcular, especialmente en sistemas que tienen muchas configuraciones de energía parecida, como líquidos y macromoléculas flexibles. Otras magnitudes relacionadas, como la entropía y el potencial químico también son difíciles de obtener. La energía libre no puede determinarse de manera precisa a partir de una dinámica molecular o simulación de Monte Carlo corrientes, debido a que estas simulaciones no muestrean de manera adecuada las regiones del espacio de configuraciones que contribuyen de forma importante a la energía libre.

Concretamente, la energía libre de Helmholtz viene dada por:

$$A = -k_B T lnQ = k_B T \ln\left(\int\int e^{\beta E(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N)}\,\rho(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N)d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N\right) \qquad [2.92]$$

donde $\int\int e^{\beta E(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N)}\,\rho(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N)d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N$ es la función de partición del sistema. Según aumenta la energía de las configuraciones, $\rho(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N)$ disminuye, pero $e^{\beta E(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N)}$ aumenta, de manera que la contribución a la integral sigue siendo importante incluso para configuraciones de elevada energía. Las simulaciones de dinámica molecular y Monte Carlo, sin embargo, sólo muestrean las regiones de menor energía del espacio de configuraciones y dejan sin explorar estas otras regiones que contribuyen significativamente a la integral 2.92.

2.8.1. Métodos para el cálculo de la energía libre.

Como se ha comentado anteriormente, el cálculo de energías libres es una tarea difícil, sin embargo, la dificultad disminuye cuando lo que queremos es determinar la diferencia de energía libre de dos estados [72]. Este cálculo sí puede abordarse con métodos que emplean simulaciones de dinámica molecular o de Monte Carlo.

Se han propuesto tres métodos principales para el cálculo de diferencias de energía libre [59, 73-76]: *Free Energy Perturbation*, FEP (perturbación de la energía libre), *thermodynamic integration* (integración termodinámica) y *slow growth* (desarrollo lento). En principio, los tres métodos deben dar el mismo resultado, ya que la energía libre es una función de estado que depende de los estados inicial y final del sistema y por tanto independiente del camino seguido para conectar dichos extremos. No obstante, puede haber razones de tipo práctico a la hora de escoger un método u otro.

La formulación de la energía libre se hace en términos de la función de partición, Q, y de la energía total, que incluyen contribuciones de energía cinética y potencial. Puede considerarse que, en un ciclo termodinámico, las contribuciones de energía cinética son iguales en los dos estados y se anulan al hallar la diferencia, en cuyo caso las distintas ecuaciones se pueden escribir en términos de la integral configuracional, Z, y la energía potencial, respectivamente.

2.8.1.1. Método de perturbación de la energía libre (*Free Energy Perturbation*).

Consideremos los sistemas bien definidos A y B con N partículas cada uno. La diferencia de energía libre, ΔA, entre los dos estados es:

$$\Delta A = A_B - A_A = -k_B T \ln \frac{\int\int e^{-\beta E_B(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N)} d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N}{\int\int e^{-\beta E_A(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N)} d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N} \qquad [2.93]$$

Y en términos de un promedio colectivo:

$$\Delta A = -k_B T ln\langle e^{-\beta[E_B(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N)-E_A(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N)]}\rangle_A = -k_B T ln\langle e^{-\beta[E_A(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N)-E_B(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N)]}\rangle_B \quad [2.94]$$

La nomenclatura $\langle\ \rangle_X$ indica que se promedia la magnitud sobre todas las configuraciones representativas del estado en cuestión.

Este método para calcular las diferencias de energía libre se atribuye generalmente a Zwanzig [77]. Para realizar un cálculo de «perturbación de energía libre», debemos definir primero E_A y E_B, luego llevar a cabo una simulación en el estado A y calcular el promedio de exp $(-\beta(E_B - E_A))$ para las configuraciones obtenidas. De igual manera se actúa con el estado B. Si los muestreos de A y B no solapan en el espacio de configuraciones entonces el valor de la energía libre calculado con la ecuación 2.94 no será muy preciso, porque no se estará muestreando de manera adecuada el espacio de configuraciones de B cuando se simula A y viceversa. Este problema surge sobre todo cuando la diferencia de energía entre los dos estados es mucho mayor que las fluctuaciones térmicas: $|E_B - E_A| \gg k_B T$. En estas circunstancias, para obtener una estimación válida de la diferencia de energía libre, se suele introducir una serie de *n* estados intermedios entre A y B.

$$\Delta A = (A_1 - A_A) + \sum_{i=1}^{n-1}(A_{i+1} - A_i) + (A_B - A_n) = -k_B T \ln\left[\frac{Q_1}{Q_A}\left(\prod_{i=1}^{n-1}\frac{Q_{i+1}}{Q_i}\right)\frac{Q_B}{Q_n}\right] =$$

$$= -k_B T \sum_{i=0}^{n} \ln\langle e^{-\beta[E_{i+1}(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N) - E_i(\boldsymbol{p}^N,\boldsymbol{r}^N)]}\rangle_{\mathrm{i}} \qquad [2.95]$$

considerando que $E_A = E_0$ y $E_B = E_{n+1}$. La principal característica es que los términos correspondientes a los estados intermedios (que suelen describirse por un parámetro de acoplamiento λ) se cancelan entre sí, por lo que somos libres de elegir tantos estados como sea necesario para conseguir buenos solapamientos entre los espacios de configuraciones y, por lo tanto, valores fiables de las diferencias de energía libre. El número de estados intermedios se elige de tal manera que cada promedio se calcule sobre diferencias de energía comparables a $k_B T$. Para comprobar la calidad del resultado, el cálculo se realiza normalmente en ambas direcciones ($A \rightarrow B$ y $B \rightarrow A$), y la diferencia es una medida del error cometido en ΔA.

2.8.1.2. Integración termodinámica (*Thermodynamic integration*).

Una manera alternativa de calcular diferencias de energía libre es la integración termodinámica. Se supone que la energía del sistema varía con el parámetro de acoplamiento λ, de manera que $E = E(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N, \lambda)$. La energía libre del sistema, *A*, por lo tanto, también depende de λ y, sabiendo que es una función continua y la definición de *Q*, podemos escribir:

$$\Delta A = \int_0^1 \int\int \frac{\partial E(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N, \lambda)}{\partial \lambda} \frac{e^{-\beta E(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N, \lambda)}}{Q(\lambda)} d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N d\lambda = \int_0^1 \langle \frac{\partial E(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N, \lambda)}{\partial \lambda} \rangle_\lambda \, d\lambda \quad [2.96]$$

Para calcular una diferencia de energía libre por integración termodinámica es necesario determinar la integral de la ecuación 2.96. En la práctica, esto se consigue realizando una serie de simulaciones correspondientes a distintos valores de λ entre 0 y 1. Para cada valor de λ se calcula el promedio de $\partial/_{\partial\lambda} E(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N, \lambda)$. Estas derivadas parciales pueden calcularse analíticamente o mediante diferencias finitas ($\partial E/\partial\lambda \approx \Delta E/\Delta\lambda$). La diferencia de energía libre total, ΔA, se calcula entonces por integración numérica.

2.8.1.3. Método de crecimiento lento (*Slow growth*).

Un tercer método para el cálculo de diferencias de energía libre a partir de simulaciones es el método de «desarrollo lento» (*slow growth*). En este método, la forma de la energía del sistema varía de una manera constante y muy lentamente a lo largo de la simulación. Esto quiere decir que en cada etapa, la energía E_{i+1} es prácticamente igual a E_i. La ecuación 2.95 puede entonces desarrollarse como una serie de Taylor:

$$\Delta A = -k_B T \sum_{i=0}^{N} \ln \langle 1 - \frac{E_{i+1} - E_i}{k_B T} + \cdots \rangle_i = -k_B T \sum_{i=0}^{N} \ln \left[1 - \frac{\langle E_{i+1} - E_i \rangle_i}{k_B T} + \cdots \right] \approx$$

$$\approx \sum_{i=1;\, \lambda=0}^{N;\, \lambda=1} \langle E_{i+1} - E_i \rangle \qquad [2.97]$$

En este caso, N es el número de pasos de la simulación y E varía de manera que $E_0 = E_A$ y $E_{N+1} = E_B$.

El método *slow growth* ya no se recomienda hoy en día. La razón estriba en que este método experimenta un fenómeno conocido como retraso del hamiltoniano (*Hamiltonian lag*): el sistema nunca tiene tiempo de permanecer apropiadamente en equilibrio para un valor dado de parámetro λ, ya que la función potencial cambia a cada paso de la simulación. Por esta razón son más preferibles los métodos FEP y de integración termodinámica.

2.8.2. Potencial de fuerza media (*Potential of Mean Force*).

La gran complejidad del estudio de fases condensadas radica en el elevado número de moléculas y de grados de libertad que hay que tener presente a la hora de elaborar una representación del sistema químico suficientemente fidedigna. Como el estudio de las propiedades del soluto es el que concentra nuestro mayor interés, se ha buscado disminuir lo

máximo posible el número de moléculas de disolvente para reducir así el coste computacional. Para ello es habitual usar condiciones de contorno periódicas, que en el caso de una disolución, se aplican en las tres direcciones espaciales. Con esta técnica se incorporan los efectos del disolvente sobre la molécula de soluto de manera bastante fiel al sistema químico real, aunque el efecto que ejercen las moléculas ubicadas en regiones alejadas del soluto (cercanas a las regiones límite de contorno) queda marginado. El efecto particular de estas moléculas de disolvente no es significativo en disolución, pero puede ser crítico en el estudio del comportamiento de solutos en sistemas multifásicos, donde además la existencia de interfases que separan medios de diferentes propiedades no permite usar condiciones de contorno periódicas en todas las direcciones del espacio. En estos sistemas heterogéneos, las propiedades del soluto se ven influenciadas de distinta manera dependiendo de su localización específica dentro de éste. En química, frecuentemente estamos interesados en saber cómo cambia la energía libre en función de una coordenada del sistema en particular, ya sea una distancia, un ángulo de enlace, un ángulo diedro, una combinación de ellos, o bien una función de coordenadas cartesianas del sistema, $\xi(\boldsymbol{r}^N)$. El cambio de la energía libre a lo largo de una coordenada particular se conoce como potencial de fuerza media (*Potential of Mean Force*, PMF) y se representa como $W(\xi)$. En particular, propiedades de equilibrio conformacionales o la energía de activación de procesos activados puede ser expresada en términos del PMF [78]. Esta cantidad puede ser obtenida evaluando las integrales que aparecen en la expresión 2.93 para aquellas configuraciones del sistema que presentan un valor particular de la coordenada elegida. La selección de configuraciones puede llevarse a cabo formalmente introduciendo la función delta de Dirac δ (la cual restringe la integral a aquellas configuraciones con el valor deseado de la coordenada, ya que en otro caso ésta es igual a cero):

$$\Delta W(\xi_A \longrightarrow \xi_B) = -k_B T ln \frac{\int\int \delta(\xi(\boldsymbol{r}^N) - \xi_B) e^{-\beta E_B(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N)} d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N}{\int\int \delta(\xi(\boldsymbol{r}^N) - \xi_A) e^{-\beta E_A(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N)} d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N} \qquad [2.98]$$

Esta cantidad puede ser alternativamente expresada como función particular de la densidad de probabilidad de encontrar un valor particular de ξ en el sistema:

$$\langle \rho(\xi) \rangle = \frac{\int\int \delta(\xi(\boldsymbol{r}^N) - \xi)\, e^{-\beta E(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N)} d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N}{\int\int e^{-\beta E(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N)} d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N} =$$

$$= \int\int \rho_{NVT}\, \delta(\xi(\boldsymbol{r}^N) - \xi) d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N \qquad [2.99]$$

Así, la ecuación 2.98 queda de la siguiente manera:

$$\Delta W(\xi_A \rightarrow \xi_B) = -k_B T ln \frac{\langle \rho(\xi_B) \rangle}{\langle \rho(\xi_A) \rangle} \qquad [2.100]$$

o, alternativamente:

$$W(\xi) = -k_B T ln \langle \rho(\xi) \rangle \qquad [2.101]$$

En principio, el PMF puede ser evaluado utilizando FEP o Integración Termodinámica, simplemente asignando el parámetro de acoplamiento λ a la coordenada ξ.

$$\xi = (1 - \lambda)\xi_A + \lambda \xi_B \qquad [2.102]$$

Sin embargo, la ecuación 2.101 permite obtener el PMF a partir de la densidad de probabilidad de encontrar el sistema con un valor dado de la coordenada ξ. Durante una simulación la densidad de probabilidad puede ser evaluada determinando el número de veces que el sistema tiene un valor de la coordenada entre ξ y $\xi + \Delta\xi$: $N(\xi)$. Si el número total de configuraciones recogidas en la simulación es M, el histograma de la coordenada puede construirse como:

$$\langle \rho(\xi) \rangle \Delta\xi = \frac{\langle N(\xi) \rangle}{M} \qquad [2.103]$$

El inconveniente de este procedimiento es que algunos valores de la coordenada ξ pueden no ser explorados o aparecer muy raramente, por lo que serían necesarios tiempos de simulación extraordinariamente largos para obtener valores convergidos del PMF, con el problema añadido de obtener para cada valor de coordenada un conjunto de configuraciones estadísticamente significativo. Todo esto hace al cálculo del PMF computacionalmente muy costoso y prácticamente inviable por esta vía.

Se han propuesto varios métodos para calcular el PMF. El más simple sería calcular el perfil de energía libre a través de esta ecuación 2.101. Desgraciadamente, la relación logarítmica entre el PMF y la función de densidad conlleva que pequeños cambios en las energías de las configuraciones hagan variar el peso con que éstas contribuyen al PMF total, de manera que configuraciones de alta energía pueden contribuir de manera significativa aun cuando la probabilidad dentro de la distribución de éstas es pequeña. Las simulaciones de dinámica molecular o Monte Carlo no muestrean de manera adecuada regiones donde la función de

distribución difiere drásticamente del valor más probable, llevando entonces a valores erróneos de PMF.

2.8.2.1. *Umbrella sampling*.

Una de las técnicas más utilizadas para mejorar el muestreo de todas las configuraciones de interés es la conocida como *Umbrella Sampling* [36]. En este método la simulación se lleva a cabo en presencia de un potencial de sesgado adicional $V_{umb}(\xi)$, introducido para aumentar el muestreo en los alrededores de un valor particular de la coordenada ξ. Así, las simulaciones se generan utilizando una función nueva de energía, $E(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N) + V_{umb}(\xi)$. La distribución de la probabilidad modificada (*biased*) del sistema es:

$$\langle \rho(\xi) \rangle_{biased} = \frac{\int\int \delta(\xi(\boldsymbol{r}^N) - \xi)\, e^{-\beta(E(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N) + V_{umb}(\xi))} d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N}{\int\int e^{-\beta(E(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N) + V_{umb}(\xi))} d\boldsymbol{p}^N d\boldsymbol{r}^N} \qquad [2.104]$$

Esta distribución está relacionada con la del sistema sin modificar:

$$\langle \rho(\xi) \rangle_{biased} = \frac{e^{-\beta V_{umb}(\xi)} \langle \rho(\xi) \rangle_u}{\langle e^{-\beta V_{umb}(\xi)} \rangle_u} \qquad [2.105]$$

donde el sufijo *u* indica el conjunto no perturbado (*unbiased*). El PMF está entonces relacionado con la distribución perturbada por la siguiente expresión:

$$W(\xi) = -k_B T ln \langle \rho(\xi) \rangle_{biased} - V_{umb}(\xi) + F(\xi) \qquad [2.106]$$

donde $F(\xi)$ es la energía libre asociada a la introducción del potencial de sesgado:

$$F(\xi) = -k_B T ln \langle e^{-\beta V_{umb}(\xi)} \rangle_u \qquad [2.107]$$

El potencial se suele seleccionar de forma que restrinja la coordenada de interés dentro de un pequeño intervalo alrededor de un valor dado, ayudando a conseguir un mayor muestreo configuracional en un intervalo particular de valores de ξ del que se obtendría en condiciones normales. Estos intervalos de simulación se conocen como ventanas o *windows*. La forma del potencial *umbrella* es arbitraria. Una elección bastante común es una función armónica cuya forma es:

$$V_{umb}(\xi) = \frac{1}{2} K_{umb} \left(\xi - \xi_{ref}^{\alpha}\right)^2 \qquad [2.108]$$

donde K_{umb} es la constante de fuerza y ξ_{ref}^{α} es el valor de referencia en la coordenada, cuyo valor se cambia en cada ventana α de simulación. De esta forma el intervalo entero de interés para la coordenada ξ se explora, no por una única simulación sino por una serie de ventanas.

2.8.2.2. Método de Análisis de Histogramas Ponderados (WHAM).

Se han propuesto diferentes aproximaciones para construir el potencial de fuerza media, $W(\xi)$, y la función de distribución, $\langle \rho(\xi) \rangle_u$, a partir de los histogramas de la coordenada ξ obtenida en las diferentes ventanas de simulación con *Umbrella Sampling*. El método de análisis WHAM [37] (*Weighted Histogram Analysis Method*) nos proporciona una forma óptima de combinar los datos obtenidos en las simulaciones. De acuerdo con este método, la función de distribución total se obtiene como una suma ponderada de las funciones de distribución de las N_w ventanas:

$$\langle \rho(\xi) \rangle_u = \sum_{\alpha=1}^{N_w} w^{\alpha} \langle \rho(\xi) \rangle_u^{\alpha} = \sum_{\alpha=1}^{N_w} w^{\alpha} \langle \rho(\xi) \rangle_{biased}^{\alpha} e^{\beta\left(V_{umb}^{\alpha} - F^{\alpha}\right)} \qquad [2.109]$$

Los pesos, w^{α}, cumplen la condición de normalización,

$$\sum_{\alpha=1}^{N_w} w^{\alpha} = 1 \qquad [2.110]$$

y son introducidos con la condición de minimizar el error estadístico (σ^2) producido en la distribución de probabilidad total, esto es:

$$\frac{\partial \sigma^2 \lfloor \rho(\xi) \rfloor}{\partial w^{\alpha}} = 0 \qquad [2.111]$$

Se puede demostrar que los pesos que satisfacen estas condiciones anteriores son [37,105]:

$$w^{\alpha} = \frac{n^{\alpha} e^{-\frac{1}{k_B T}\left(\left(V_{umb}^{\alpha}(\xi)\right) - F^{\alpha}\right)}}{\sum_{\beta=1}^{N_w} n^{\beta}\, e^{-\frac{1}{k_B T}\left(\left(V_{umb}^{\beta}(\xi)\right) - F^{\beta}\right)}} \qquad [2.112]$$

donde n^{α}es el número de los puntos de los datos independientes empleados para generar la función de distribución de la ventana α.

Para finalizar, es necesario estimar las constantes F^{α}:

$$e^{-\frac{F^{\alpha}}{k_B T}} = \langle e^{-\frac{V_{umb}^{\alpha}(\xi)}{k_B T}} \rangle_u = \int\int e^{-\frac{V_{umb}(\xi)}{k_B T}} \langle \rho(\xi) \rangle_u d\xi \qquad [2.113]$$

Las ecuaciones 2.109 y 2.113 deben ser resueltas iterativamente porque tanto la función de distribución como las constantes F^{α} son desconocidas inicialmente. El procedimiento pasa por utilizar una serie de valores iniciales para F^{α} a partir de los que se evalúa $\langle \rho(\xi) \rangle_u$. Esta estimación de la función de distribución es entonces usada para determinar la constante de energía libre de la ventana repitiendo el proceso hasta llegar a convergencia [59,106].

2.8.2.3. Corrección cuántica del PMF.

Hasta ahora, hemos visto la técnica empleada para mejorar el muestreo de aquellas configuraciones que por métodos de simulación de dinámica molecular o Monte Carlo no hubieran sido tenidas en cuenta para el cálculo del PMF, así como el método para construir una función de distribución total del sistema a partir de las simulaciones realizadas. No obstante, el PMF así obtenido de la combinación de las técnicas *Umbrella Sampling* y WHAM está calculado de forma clásica (ecuación 2.101), y necesita ser corregido a fin de que tener en cuenta la naturaleza cuántica del sistema químico considerado. Con este fin, Manuel Ruiz López y col. [35] desarrollaron un método que emplea el método de perturbación de energía libre. En él, se asume que el sistema varía desde un sistema de referencia descrito clásicamente hasta uno final descrito cuánticamente. La ecuación 2.94 se expresa entonces en términos de un promedio colectivo sobre las configuraciones representativas del sistema de referencia:

$$\Delta W(\xi_{MM} \rightarrow \xi_{QM}) = -k_B T ln \langle e^{-\beta[E_{QM}(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N) - E_{MM}(\boldsymbol{p}^N, \boldsymbol{r}^N)]} \rangle_{MM} \qquad [2.114]$$

En principio, debería usarse el conjunto entero de configuraciones para todos los valores dados de coordenada ξ, pero con el objetivo de reducir el coste computacional, se seleccionan un conjunto discreto de configuraciones sólo para ciertos valores de coordenada de reacción.

2.9. Tratamiento mecanocuántico de los procesos fotoquímicos.

Cuando un fotón se acerca a una molécula se produce una interacción entre el campo eléctrico asociado a la molécula y el campo eléctrico asociado a la radiación. Esta interacción se traduce en que la molécula puede absorber el fotón, el cual deja de existir y transfiere su energía a la molécula, produciendo una variación en su estructura electrónica. Dicha variación se ve reflejada en la modificación de la ocupación de los orbitales moleculares que conforman la configuración electrónica del estado fundamental. La fotoquímica es la ciencia relacionada con la descripción física y química de los procesos que se derivan de esta absorción de fotones, en términos de un modelo mecanístico concreto basado en estructuras moleculares y sus propiedades implícitas.

La molécula electrónicamente excitada es inestable respecto a su estado fundamental, por lo que buscará alguna forma de perder su energía de excitación. Dependiendo del sistema químico y/o las condiciones del medio, tras la absorción de radiación pueden transcurrir procesos de desexcitación tanto radiativos (emisión de radiación en forma de fenómenos de fluorescencia o fosforescencia) como no radiativos (fenómenos de conversión interna y de cruce entre sistemas).

El concepto de superficie de energía potencial (PES, *Potential Energy Surface*) viene de la aproximación Born-Oppenheimer que, como ya dijimos en la sección 2.1, se basa en considerar el movimiento de los núcleos mucho más lento que el de los electrones debido a la diferencia existente de masas [38]. Con esta aproximación se consigue descomponer el hamiltoniano total en la suma de un hamiltoniano electrónico y otro nuclear, de manera que resolver la ecuación de Schrödinger electrónica da como solución la energía para una determinada configuración nuclear. El valor de esta energía para cada posible configuración es específicamente la superficie de energía potencial. De manera general, el estudio teórico de un proceso químico depende de encontrar los puntos singulares de esta superficie así como del camino de mínima energía que los conecta (*Minimum Energy Path*, MEP) [79], ya que dichos puntos se asocian con las estructuras tanto de los reactivos y productos (identificados como mínimos en la superficie) como de los estados de transición (identificados como *saddle points* o puntos de silla). Volveremos sobre este punto más adelante, cuando hablemos de la optimización de estructuras con el método ASEP/MD.

Los procesos fotoquímicos pueden definirse de manera general como aquellos que transcurren en las superficies de energía potencial de estados excitados. Bajo el amparo de la aproximación Born-Oppenheimer, podemos clasificar a los procesos fotoquímicos en dos tipos. Por un lado, los procesos adiabáticos, que se definen como aquellos procesos que transcurren en una única superficie de energía potencial. En contraposición, están los procesos no adiabáticos, que se definen como procesos que se inician en la superficie de energía potencial de un estado y finalizan, como resultado de una transición no radiativa, en la superficie de energía potencial de otro estado electrónico, frecuentemente el estado fundamental. Hasta hace muy poco tiempo los cálculos de caminos de reacción se veían limitados al estudio de reacciones térmicas y, en general, a procesos que transcurrían en una sola superficie de energía potencial [80]. Aquellos procesos donde los reactivos evolucionaban a lo largo de la superficie de energía potencial de un estado excitado mientras que los productos se acumulaban en el estado fundamental no podían ser tratados con tanta facilidad: el progreso sobre la superficie del estado excitado se podía abordar con estrategias parecidas a las seguidas para el estudio de reacciones térmicas, pero la dificultad residía en la correcta definición y el correspondiente cálculo del "embudo" que conectaba esta superficie con la correspondiente al del estado fundamental, porque debido a que en esta zona los núcleos se mueven en más de una superficie de energía potencial, se viola la aproximación Born-Oppenheimer.

2.10. Transiciones no adiabáticas.

Como ya hemos explicado anteriormente, los procesos que violan la aproximación Born-Oppenheimer se denominan no adiabáticos y se definen como aquellos en los que los núcleos se mueven en más de una superficie de energía potencial. Entre los fenómenos típicos podemos citar las colisiones a alta energía (donde se pueden producir cambios en los números cuánticos electrónicos), las relajaciones sin emisión de radiación de estados electrónicos excitados, relajaciones unimoleculares fotoinducidas y procesos de isomerización de moléculas. En todos ellos, al representar la energía de dos estados electrónicos involucrados (el fundamental y el excitado) respecto a las N coordenadas nucleares se obtiene una intersección a lo largo de una hiperlínea de dimensión $N - X$, siendo $N = 3n - 6$ los grados de libertad internos del sistema y n el número de átomos. Dependiendo de la simetría de espín, las transiciones no adiabáticas pueden clasificarse en conversiones internas (si los estados tienen la misma simetría, $X = 2$) o en cruce entre sistemas (si por el contrario la tienen distinta, $X = 1$). Igual que en la fluorescencia y la fosforescencia, el primer proceso está permitido mientras que el segundo está prohibido, a menos que el acoplamiento espín-órbita favorezca la mezcla de los estados singlete y triplete dando como resultado que esta transición se encuentre débilmente permitida.

2.10.1. Fundamento teórico.

Las transiciones no adiabáticas ocurren cuando al menos dos superficies de energía potencial se acercan una a la otra y el acoplamiento entre ellas se vuelve importante. Partiendo de esta premisa, una función de onda se puede definir como una combinación lineal de funciones CSF (*Configurational State Function*) que son funciones propias de los operadores momento angular orbital $\hat{L}^2$ y momento angular de espín $\hat{S}^2$ y se forman como combinación lineal de determinantes de Slater:

$$\Psi = c_1\psi_1 + c_2\psi_2 \qquad [2.115]$$

Si se resuelve la ecuación secular asociada obtenemos:

$$\begin{vmatrix} \langle\psi_1|\hat{H}|\psi_1\rangle - E & \langle\psi_1|\hat{H}|\psi_2\rangle \\ \langle\psi_2|\hat{H}|\psi_1\rangle & \langle\psi_2|\hat{H}|\psi_2\rangle - E \end{vmatrix} = 0 \qquad [2.116]$$

Desarrollando el determinante obtenemos una ecuación de segundo grado, siendo $H_{11} = \langle\psi_1|\hat{H}|\psi_1\rangle, H_{22} = \langle\psi_2|\hat{H}|\psi_2\rangle$ y $H_{12} = \langle\psi_1|\hat{H}|\psi_2\rangle = H_{21}$:

$$E^2 - (H_{11} + H_{22})E + H_{11}H_{22} - H_{12}^2 = 0 \qquad [2.117]$$

De este modo, si resolvemos la ecuación, obtenemos el valor de la energía:

$$E_{\pm} = \frac{(H_{11} + H_{22}) \pm \sqrt{(H_{11} + H_{22})^2 - 4(H_{11}H_{22} - H_{12}^2)}}{2} \qquad [2.118]$$

Para que exista degeneración, $E_+ = E_-$, el discriminante debe ser 0:

$$(H_{11} + H_{22})^2 - 4(H_{11}H_{22} - H_{12}^2) = 0 \qquad [2.119]$$

$$H_{11} - H_{22} = \pm 2H_{12} \qquad [2.120]$$

Por tanto, las dos condiciones que se deben cumplir para que se produzca el cruce de dos superficies de energía potencial son:

1. La existencia de degeneración de la energía asociada a cada CSF:

$$H_{11} = H_{22} \qquad [2.121]$$

2. El acoplamiento entre las CSF debe ser 0:

$$H_{12} = H_{21} = 0 \qquad [2.122]$$

Para que se cumplan simultáneamente las condiciones anteriores se requiere la existencia de al menos dos coordenadas nucleares variables independientes. En moléculas diatómicas sólo hay una coordenada nuclear variable: la distancia interatómica, por lo que dos estados sólo intersecarán si por simetría se verifica que $H_{12} = H_{21} = 0$. A este hecho se le denomina regla de no cruzamiento (*noncrossing rule*): dos superficies de energía potencial de una molécula diatómica sólo podrán intersecar si tienen diferente simetría. El punto de intersección, en el caso de que exista, aparece cuando $H_{11} = H_{22}$. Si las dos superficies tienen la misma simetría, no intersecarán.

Esta regla no es aplicable para moléculas poliatómicas ya que éstas tienen los suficientes grados de libertad como para cumplir las dos condiciones simultáneamente siempre y cuando se elijan los valores adecuados de las dos variables independientes [81]. El resto de grados de libertad pueden variar sin que ello implique dejar la región de cruce. De este modo, la regla de cruzamiento para moléculas poliatómicas se puede enunciar como sigue: dos estados electrónicos, incluso de la misma simetría de espín, intersecarán a lo largo de una hiperlínea de $N - 2$ dimensiones cuando se representa la energía en función de las N coordenadas nucleares internas (una vez eliminados los 6 grados de libertad correspondientes a las traslaciones y rotaciones del centro de masas). En el caso de que los estados tengan distinta simetría de espín, se obtiene una hipersuperficie de intersección de $N - 1$ dimensiones, ya que el término de acoplamiento H_{12} es cero en estos casos. Según esto, el espacio de coordenadas se puede dividir en dos subespacios:

- Subespacio de intersección o *seam space*, de dimensión $N - 2$ o $N - 1$ dependiendo del espín de las superficies indicadas, y en el que los dos espacios tienen la misma energía, independientemente del valor que tomen las coordenadas del subespacio.

- Subespacio de bifurcación o *branching space*, de una o dos dimensiones, en el que la degeneración desaparece al cambiar el valor de las variables independientes que definen el subespacio.

2.10.2. Intersecciones cónicas.

Tal y como hemos visto en el anterior apartado, en un proceso no adiabático dos superficies de energía potencial intersectarán a lo largo de un subespacio de intersección, de dimensiones $N-2$ o $N-1$ según la geometría de espín. Así, mientras no abandonemos dicho subespacio, los dos estados electrónicos estarán degenerados en energía [82, 83]. De acuerdo a esto, no es correcto afirmar que las regiones en las que se producen estos cruces entre las superficies sean puntos aislados en el espacio, sino que rigurosamente debemos decir que es una región multidimensional formada por infinitos puntos. Cuando tenemos estados electrónicos con la misma geometría de espín a dicha región se la denomina intersección cónica (*conical intersection*, CI). Se le asigna este nombre porque cuando se representa la energía en función de las coordenadas que definen el subespacio de bifurcación se adquiere la forma de un cono doble en la zona de degeneración energética (figura 2.1).

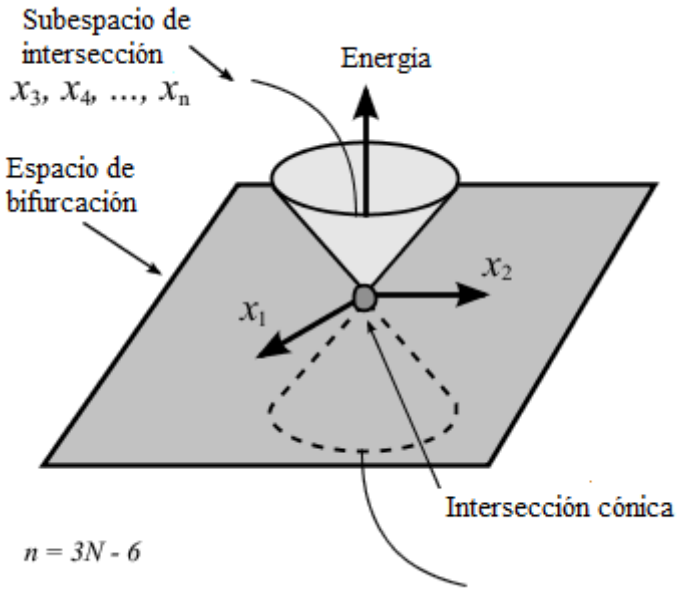


Figura 2.1. Representación de una intersección cónica en el espacio de bifurcación.

Una de las particularidades de las intersecciones cónicas es el llamado efecto geométrico de fase, puede considerarse de hecho como su seña identificativa. Herzberg y Longuet-Higgins [84] demostraron que una función de onda electrónica real cambia de signo (es decir, es una función no inyectiva) cuando las coordenadas nucleares atraviesan un camino cerrado que rodea la intersección cónica. Si tenemos las siguientes funciones electrónicas para los estados adiabáticos involucrados:

$$\psi_1 = cos(\alpha/2)\phi_1 + sin(\alpha/2)\phi_2 \qquad [2.123]$$

$$\psi_2 = -sin(\alpha/2)\phi_1 + cos(\alpha/2)\phi_2 \qquad [2.124]$$

las funciones cambiarán de signo cuando se vaya de α a $\alpha + 2\pi$, es decir, $\psi_1(\alpha + 2\pi) = -\psi_1(\alpha)$ y $\psi_2(\alpha + 2\pi) = -\psi_2(\alpha)$. Para que la función de onda molecular total permanezca inyectiva, las funciones de onda electrónicas de las representaciones adiabáticas deben estar multiplicadas por un factor de cambio de signo que esté compensado en la función de onda nuclear. Mead y Truhlar [85] propusieron dos aproximaciones para incluir el cambio de signo en la función de onda y estudiaron su influencia en la descripción del movimiento nuclear. Berry [86] generalizó la teoría dentro del contexto de la mecánica cuántica y desde entonces se le denomina también efecto de fase de Berry.

2.10.3. Algoritmos empleados para la búsqueda de intersecciones cónicas.

La eficacia de una intersección cónica en promover una transición no adiabática se ve reflejada en la topografía de las regiones próximas a ésta. De este modo, se busca una geometría molecular en particular a lo largo del espacio de intersección que pueda dominar la transición no adiabática. Se han propuesto a los puntos mínimos en el subespacio de la intersección cónica (*Minimal Energy Conical Intersections*, MECI) como tales geometrías. Dichos puntos han sido definidos como mínimos locales en la región de intersección. Durante la década de los 90, varios grupos propusimos distintos algoritmos para localizarlos. Todos ellos asumen que las superficies de energía potencial no presentan ni rugosidades ni discontinuidades. El método de Olivucci y col. [87] optimiza el punto de más baja energía de una intersección cónica sin emplear la condición de fase de Berry y con técnicas de gradientes analíticos. Los otros dos algoritmos más empleados (el de Yarkony [88] y el propuesto por Beapark y col. [89]) emplean el método de multiplicadores de Lagrange, en ambos se miniminiza la energía del estado electrónico excitado con la condición de que la diferencia de energía que separa éste y el fundamental desaparezca. En el método de Yarkony, los multiplicadores de Lagrange se optimizan completamente mientras que en el de Beapark y col. se aplican restricciones con multiplicadores fijos y se usan gradientes proyectados para simplificar la implementación. En estos dos métodos se necesita definir dos vectores que definen el subespacio de bifurcación, con el objetivo de evitar así que se explore en direcciones donde la función que describe los estados fundamental y excitado (denotados por J e I, respectivamente) no sea uniforme. Dichos vectores son el gradiente diferencia (*difference gradient*, $\vec{g}$) y el vector derivada de acoplamiento (*derivative coupling*, $\vec{h}$):

$$\left(\vec{g}_{IJ}\right)_i = \frac{\partial}{\partial R_i}\left(\langle\psi_I|\hat{H}|\psi_I\rangle - \langle\psi_J|\hat{H}|\psi_J\rangle\right) \equiv \frac{\partial}{\partial R_i}\left(E_I - E_J\right) \qquad [2.125]$$

$$\left(\vec{h}_{IJ}\right)_i = \left(E_J - E_I\right)\left\langle\psi_I\middle|\frac{\partial\psi_J}{\partial R_i}\right\rangle \qquad [2.126]$$

Como ya hemos adelantado, el problema de los dos métodos anteriormente descritos es que necesitan que las funciones a minimizar sean uniformes, lo cual puede no ser posible en el caso de querer localizar el MECI: las derivadas de los estados fundamental y excitado con frecuencia presentan discontinuidades para geometrías localizadas a lo largo del subespacio de intersección, lo cual hace costoso computacionalmente el cálculo de estos vectores, sobretodo el *derivative coupling*. Por todo lo anterior, el grupo de T. J. Martínez [90] desarrolló un novedoso algoritmo, cuya particularidad radica en que no necesita definir los vectores $\vec{g}$ y $\vec{h}$: se trata de una variación del método denominado *sequential penalty* [91] y sólo requiere información acerca de la energía. Otra de las ventajas es que no es obligatorio conocer los gradientes de la energía, aunque si están disponibles, se logra una mayor eficiencia en el cálculo del MECI. Con el objetivo de encontrar una intersección entre los estados I y J se busca el mínimo de la siguiente función:

$$F_{IJ}\left(\vec{R};\sigma;\alpha\right) = \vec{E}_{IJ}\left(\vec{R}\right) + \sigma G_{IJ}\left(\Delta E_{IJ}\left(\vec{R}\right);\alpha\right) \qquad [2.127]$$

donde $\vec{E}_{IJ}\left(\vec{R}\right)$ y $\Delta E_{IJ}\left(\vec{R}\right)$ se definen como:

$$\vec{E}_{IJ}\left(\vec{R}\right) = \frac{E_I\left(\vec{R}\right) + E_J\left(\vec{R}\right)}{2} \qquad [2.128]$$

$$\Delta E_{IJ}\left(\vec{R}\right) = E_I\left(\vec{R}\right) - E_J\left(\vec{R}\right) \qquad [2.129]$$

$G_{IJ}\left(\Delta E_{IJ}\left(\vec{R}\right);\alpha\right)$ es la función de penalización (*penalty function*), una función monotónica creciente de la banda de energía $\Delta E_{IJ}\left(\vec{R}\right)$ (*energy gap*), definido en la ecuación 2.129 de forma que sea siempre positivo. $\vec{R}$ es el vector que representa las coordenadas nucleares. Los parámetros α y σ son constantes definidas. En esencia, la minimización de la ecuación 2.127 corresponde a la minimización de las energías de los estados I y J sometidas a la condición de que el valor de la banda de energía que las separa, ΔE_{IJ}, desaparezca. De este modo, la función de penalización debe de cumplir tres condiciones: 1) tiende a cero cuando el valor de ΔE_{IJ} tiende a cero, 2) tiende al valor de ΔE_{IJ} cuando dicho valor es grande, y 3)

permanece diferenciable para todas las geometrías. La ecuación más simple que satisface estos requerimientos es:

$$G_{IJ}(\Delta E_{IJ};\alpha) = \frac{{\Delta E_{IJ}}^2}{\Delta E_{IJ} + \alpha} \qquad [2.130]$$

donde α es conocido como parámetro de alisamiento (*smoothing parameter*). Por aplicación de la regla de la cadena, la ecuación 2.130 permanece diferenciable en una intersección cónica incluso cuando la derivada de ΔE_{IJ} es discontinua, siempre y cuando α no sea cero y la derivada de ΔE_{IJ} sea finita, que en el caso de las intersecciones cónicas siempre se cumple. Como hemos comentado anteriormente, si los gradientes analíticos de la energía están disponibles, el gradiente de $F_{IJ}(\vec{R};\sigma;\alpha)$ puede calcularse fácilmente:

$$\frac{dF_{IJ}(\vec{R};\sigma;\alpha)}{d\vec{R}} = \frac{1}{2}\left(\frac{dE_I(\vec{R})}{d\vec{R}} + \frac{dE_J(\vec{R})}{d\vec{R}}\right) + \\ +\sigma\frac{{\Delta E_{IJ}}^2 + 2\alpha\Delta E_{IJ}}{(\Delta E_{IJ} + \alpha)^2}\left(\frac{dE_I(\vec{R})}{d\vec{R}} - \frac{dE_J(\vec{R})}{d\vec{R}}\right) \qquad [2.131]$$

Para un valor finito de σ, el mínimo de $F_{IJ}(\vec{R};\sigma;\alpha)$ no es un MECI verdadero. En la geometría optimizada, $\vec{R}_{opt}(\sigma,\alpha)$, donde $dF_{IJ}(\vec{R};\sigma;\alpha) = 0$, se demuestra que:

$$\Delta E\left(\vec{R}_{opt}(\sigma,\alpha)\right) = \alpha\left(\sqrt{\frac{\sigma Z}{1+\sigma Z}} - 1\right) \qquad [2.132]$$

donde:

$$Z = \left.\frac{\nabla\Delta E_{IJ}\cdot\nabla\bar{E}_{IJ}}{\nabla\bar{E}_{IJ}\cdot\nabla\bar{E}_{IJ}}\right|_{\vec{R}=\vec{R}_{opt}(\sigma,\alpha)} \qquad [2.133]$$

En los límites donde $\sigma \to \infty$ y $\alpha \to 0$, $\Delta E\left(\vec{R}_{opt}(\sigma,\alpha)\right)$ desaparece y $\vec{R}_{opt}(\sigma,\alpha)$ es la geometría del MECI. En la práctica, se fija un valor δ correspondiente a una diferencia de energía entre los dos estados aceptable para una intersección cónica, y se escogen valores iniciales para α y σ con el que se miniminiza $F_{IJ}(\vec{R};\sigma;\alpha)$. Si el valor de la diferencia de energía excede δ, se

incrementa σ y se repite la optimización. Así, el parámetro σ se incrementa repetidamente hasta que $\Delta E\left(\vec{R}_{opt}(\sigma,\alpha)\right) \leq \delta$, momento en el se satisface que $\vec{R}_{opt}(\sigma,\alpha)$ es un MECI.

La diferencia de energía en la geometría final optimizada será siempre finita y arbitrariamente pequeña. Sería una pregunta legítima cuestionarse si la geometría optimizada verdaderamente corresponde a una intersección cónica. Es por eso que este algoritmo introduce otros tres criterios de convergencia:

$$F_{IJ}\left(\vec{R}_{prior};\sigma;\alpha\right) - F_{IJ}\left(\vec{R};\sigma;\alpha\right) \leq tol_{step} \qquad [2.134]$$

$$\frac{1}{\sigma}\frac{dF_{IJ}\left(\vec{R};\sigma;\alpha\right)}{d\vec{R}} \cdot \vec{u} \leq tol_{grad} \qquad [2.135]$$

$$\left|\frac{dF_{IJ}\left(\vec{R};\sigma;\alpha\right)}{d\vec{R}} - \left(\frac{dF_{IJ}\left(\vec{R};\sigma;\alpha\right)}{d\vec{R}} \cdot \vec{u}\right)\vec{u}\right| \leq tol_{grad} \qquad [2.136]$$

siendo $\vec{u}$ un vector unitario en la dirección de la función de la penalización:

$$\vec{u} = \frac{\dfrac{dG_{IJ}\left(\vec{R};\alpha\right)}{d\vec{R}}}{\left|\dfrac{dG_{IJ}\left(\vec{R};\alpha\right)}{d\vec{R}}\right|} \qquad [2.137]$$

El primer criterio requiere que el tamaño del último paso tomado en la optimización sea pequeño. El segundo y el tercer criterio involucra al gradiente de $F_{IJ}\left(\vec{R};\sigma;\alpha\right)$, que es separado en dos componentes, una paralela y otra perpendicular a $dG_{IJ}\left(\vec{R};\alpha\right)/d\vec{R}$. Ambas componentes deben ser menores que un valor tol_{grad} , para asegurarse así que la optimización dentro del subespacio de intersección no está comprometido si σ toma valores grandes.

2.11. Método ASEP/MD.

Como ya se ha indicado anteriormente, en la actualidad se dispone de muchos métodos orientados al estudio teórico de sistemas en fase condensada, distinguiéndose entre sí por el tratamiento clásico o cuántico que puede realizarse de sus dos partes constituyentes: la molécula de soluto y el resto o disolvente. De entre todos los métodos existentes, es cometido del investigador la elección de aquel que mejor se adecúa a sus necesidades y posibilidades, en

función del sistema que se quiere estudiar y de la precisión exigida, así como también de los recursos computacionales disponibles.

Si nuestro principal interés es el estudio de la interacción entre el soluto y el disolvente y de cómo éste influye en las propiedades electrónicas y geométricas del soluto, los métodos clásicos son los menos adecuados para cubrir nuestros objetivos, puesto que al hacer una representación clásica de todo el sistema, incluido el soluto, pierden relevancia los aspectos locales y químicos del problema. Por otro lado, los métodos puramente cuánticos implican un coste computacional tan elevado que deben limitar el nivel de descripción de las moléculas así como el número de moléculas y configuraciones consideradas. Por tales razones, son los métodos mixtos los más utilizados en la actualidad para el estudio de sistemas y reacciones químicas en fase condensada.

Manteniendo la óptica ya mencionada de los métodos mixtos, nuestro grupo de investigación ha desarrollado la metodología denominada ASEP/MD, acrónimo en inglés de *Averaged Solvent Electrostatic Potential / Molecular Dynamics*. El ASEP/MD puede ser considerado un método QM/MM secuencial que emplea la aproximación del campo medio (*Mean Field Approximation*, MFA) y que, como se ha demostrado ya en numerosos trabajos de investigación, reduce drásticamente el número de cálculos cuánticos a realizar sin introducir errores significativos en las propiedades estudiadas. La esencia del método está en introducir la perturbación del disolvente en el hamiltoniano molecular del soluto en forma promediada. La perturbación promedio se calcula como media del potencial electrostático para una serie de configuraciones seleccionadas tras un proceso de simulación, empleando dinámica molecular.

Como suele ocurrir en los métodos QM/MM, el hamiltoniano molecular del soluto se divide en tres términos:

$$\hat{H} = \hat{H}_{MM} + \hat{H}_{QM} + \hat{H}_{QM/MM} \qquad [2.138]$$

donde se separan los términos que corresponden a la parte cuántica, $\hat{H}_{QM}$, la clásica, $\hat{H}_{MM}$, y la interacción entre ellas, $\hat{H}_{QM/MM}$.

En la metodología ASEP/MD, la parte cuántica del sistema sólo está formada por la o las moléculas de soluto, por lo que no es más que su hamiltoniano molecular en fase gas, mientras que la parte clásica del sistema está formada por las moléculas de disolvente.

La energía y la función de estado de la molécula de soluto solvatada se obtienen resolviendo la ecuación de Schrödinger que hace uso del hamiltoniano perturbado:

$$(\hat{H}_{QM} + \hat{H}_{QM/MM})|\Psi\rangle = E|\Psi\rangle \qquad [2.139]$$

en donde el término de interacción tiene la siguiente forma:

$$\hat{H}_{QM/MM} = \hat{H}^{elec}_{QM/MM} + \hat{H}^{vdW}_{QM/MM} \qquad [2.140]$$

A su vez:

$$\hat{H}^{elec}_{QM/MM} = \int \hat{\rho} \cdot \langle V_d(\boldsymbol{r}, \rho) \rangle d\boldsymbol{r} \qquad [2.141]$$

siendo $\hat{\rho}$ el operador densidad electrónica del soluto e indicando los paréntesis angulares que se usa un valor promedio. De esta forma, el término $\langle V_d(\boldsymbol{r}, \rho)\rangle$ representa el potencial electrostático promedio generado por el disolvente en la posición $\boldsymbol{r}$, y se obtiene a partir de los datos extraídos de una simulación previa con dinámica molecular. A este término lo identificaremos de aquí en adelante como ASEP, $V_{ASEP}(\boldsymbol{r})$.

El término $\hat{H}^{vdW}_{QM/MM}$ es el hamiltoniano correspondiente a las interacciones de Van der Waals, que generalmente se representan mediante un potencial de tipo Lennard-Jones. Se debe aclarar que sólo el término electrostático $\hat{H}^{elec}_{QM/MM}$ se introduce en el hamiltoniano molecular. Otras contribuciones a la energía de interacción soluto-disolvente como son los términos de repulsión y dispersión incluidos en $\hat{H}^{vdW}_{QM/MM}$, se tratan con potenciales clásicos semiempíricos que dependen sólo de coordenadas nucleares y, por tanto, no modifican la función de onda del soluto.

No debemos olvidar que, en esencia, la utilidad de un operador hamiltoniano con término efectivo depende, en gran medida, de la posibilidad que hay de obtener el potencial electrostático del disolvente de una manera sencilla. En el método ASEP/MD se opta por el cálculo numérico del potencial electrostático promedio generado por el disolvente en el volumen ocupado por el soluto. El método tiene en cuenta además la posible respuesta del disolvente a los cambios en la estructura electrónica que se producen en el soluto.

El esquema básico procedimental del método ASEP/MD se organiza en las siguientes etapas (véase la figura 2.2):

1. Se realiza un cálculo cuántico en vacío de la molécula de soluto y se obtienen un conjunto de cargas puntuales que representan a la densidad de carga de la molécula de soluto y que se sitúan generalmente en los núcleos de los átomos. Para el ajuste de las cargas al potencial empleamos principalmente el método CHELP (*CHarges from Electrostatic Potential*) desarrollado por Chirlian y Francl [92] o el método CHELPG (*CHarges from Electrostatic Potential Grid*), desarrollado por Breneman y col. [93]. Estas cargas sirven como parámetros de entrada en el siguiente paso.

2. Se procede a la simulación mediante dinámica molecular para el sistema completo y a la selección de un conjunto de configuraciones en equilibrio con la distribución electrónica del soluto en vacío, una vez alcanzada la fase de producción.

3. Para cada configuración seleccionada del disolvente se calcula el potencial electrostático que las moléculas de disolvente generan en la zona ocupada por el soluto. A continuación se calcula el valor promedio, es decir, el ASEP. Una vez obtenido el potencial promedio en forma numérica, se obtienen las cargas puntuales que lo van a representar.

4. De nuevo se realiza un cálculo cuántico de la molécula de soluto, incluyendo ahora la presencia del efecto del disolvente (ASEP) mediante las cargas obtenidas en el paso anterior.

5. Una vez resuelta la ecuación de Schrödinger en disolución, se hallan las cargas atómicas que mejor reproducen el potencial electrostático generado por el soluto a partir de su nueva función de onda, y éstas se emplean a continuación como parámetros de entrada para un nuevo cálculo de dinámica molecular. Este proceso se continúa hasta conseguir la convergencia, tanto en las cargas como en la energía de interacción soluto-disolvente. Durante este proceso autoconsistente, la distribución de carga del soluto, q^{i}_{soluto}, varía en cada paso *i* del ciclo; sin embargo, la distribución de carga de las moléculas de disolvente utilizadas en el cálculo de dinámica molecular se mantiene constante.

El método ASEP/MD así presentado puede emplearse en el estudio de disoluciones y de líquidos puros. En este último caso existe la posibilidad de adoptar una segunda estrategia, ya que, en los líquidos puros, las moléculas de soluto y disolvente son iguales. Obviamente, la distribución de carga de cada molécula depende del entorno específico en el que se encuentre, pero, dado que utilizamos la aproximación de campo medio, podemos asumir que todas y cada una de las moléculas sienten el mismo campo eléctrico promedio; por tanto, en buena aproximación podemos suponer que todas las moléculas en el líquido tienen idéntica distribución electrónica promedio. Esto quiere decir que se puede emplear la distribución

electrónica obtenida para la molécula de soluto, tratada mecanocuánticamente, para representar todas las moléculas en el cálculo de simulación con dinámica molecular.

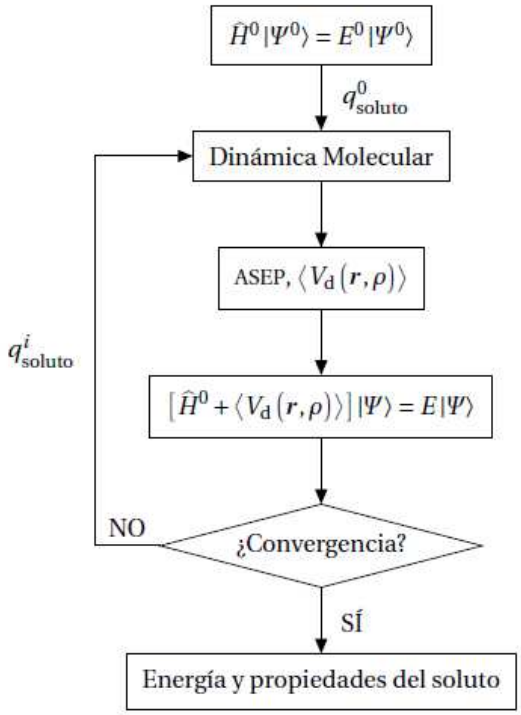


Figura 2.2. Esquema del método ASEP/MD.

Puesto que la estructura del disolvente y, por lo tanto, el ASEP, varía en función de la distribución electrónica del soluto, las ecuaciones 2.139 y 2.141 han de resolverse de manera iterativa precisándose, por lo general, unos pocos ciclos sucesivos de cálculos cuánticos y de dinámica molecular para alcanzar la convergencia.

Como ya se ha explicado, en el método ASEP/MD se calcula numéricamente el potencial electrostático promedio generado por el disolvente en el volumen ocupado por el soluto. Posteriormente, se representa el ASEP numérico en forma de un conjunto finito de cargas puntuales q_i susceptibles de ser introducidas de forma simple en el cálculo cuántico.
Tal potencial se verá representado como:

$$\langle V_d(\boldsymbol{r},\rho)\rangle = \sum_{i=1}^{n} \frac{q_i}{|\boldsymbol{r}-\boldsymbol{r}_i|} \qquad [2.142]$$

De manera más detallada, la obtención de las cargas que permiten construir el ASEP se organiza según las siguientes etapas:

1. Las configuraciones seleccionadas se rotan y trasladan con respecto a un nuevo sistema de referencia centrado en el centro de masas del soluto y orientado según sus ejes principales de inercia. De este modo, todas las coordenadas de las moléculas de disolvente estarán referidas al mismo sistema.

2. Se identifican las cargas pertenecientes a las moléculas de disolvente que, en cualquiera de las configuraciones seleccionadas de la dinámica molecular, se encuentran dentro de la primera capa de solvatación. Estas cargas se incluyen explícitamente en el cálculo del ASEP. Para disminuir el número de cargas, se agrupan todas aquellas que distan entre sí menos de una distancia dada, que normalmente suele ser de 0,5 Å. Al objeto de obtener la perturbación promedio, el valor de cada carga se divide por el número de configuraciones del disolvente que fueron seleccionadas para el cálculo del ASEP.

3. Se calcula, para cada configuración seleccionada de la dinámica molecular, el potencial electrostático generado por las cargas pertenecientes a las moléculas que no forman parte de la primera capa de solvatación en los distintos puntos de una red tridimensional definida en el volumen ocupado por el soluto, esto es, en un conjunto de puntos definidos mediante esferas interpenetradas cuyos radios son los radios de Van der Waals de los átomos del soluto y a los que se les multiplica por un factor f . Los nodos, es decir, los puntos donde se calculará el potencial, se generan dividiendo el volumen en cada dirección del espacio en n partes. Los valores usuales para f y n suelen ser 0,7 y 12, respectivamente, ya que, como se ha demostrado en estudios anteriores, estos valores proporcionan un compromiso aceptable entre la calidad de los resultados obtenidos y el coste computacional. Por último, se promedia sobre las distintas configuraciones.

4. Se obtiene un conjunto de cargas situadas fuera de la primera capa de solvatación y cuyo valor se ajusta para reproducir el potencial residual obtenido como diferencia del ASEP y del potencial producido por las cargas explícitas de la primera capa de solvatación. El número de cargas obtenidas asciende a unos pocos cientos, distribuidas en los vértices de un icosaedro truncado cuyo centro coincide con las posiciones de los átomos de la molécula de soluto.

El número total de cargas así obtenidas puede oscilar entre 10 000 y 35 000, según sea la naturaleza del sistema estudiado y según sean los valores que se tomen para la distancia de la primera capa de solvatación y la distancia mínima entre las cargas. Generalmente, se procede a

un proceso ulterior de reducción de cargas por el cual todas aquellas que se encuentran próximas ocupando una misma posición del espacio se agrupan.

Una vez que ya se dispone de una representación adecuada del ASEP, podemos resolver la ecuación de Schrödinger para el hamiltoniano con el término efectivo y, por lo tanto, extraer la función de onda y energía del soluto en disolución.

2.11.1. Optimización de geometrías.

Una de las mejoras incorporadas al método ASEP/MD ha sido el desarrollo y puesta a punto de la metodología que permite la determinación de puntos críticos sobre superficies de energía libre de moléculas en disolución. Esta cuestión es de gran importancia puesto que posibilita el acceso a nuevos campos de aplicación, muy especialmente el estudio de reacciones químicas en disolución y el de estados excitados. El método ASEP/MD emplea el método del Gradiente de la Energía Libre (*Free Energy Gradient*, FEG) [94, 95], cuya principal ventaja es que permite la obtención de estados estacionarios como son mínimos y puntos de silla.

En el marco de la aproximación de Born-Oppenheimer, la energía de los sistemas químicos puede considerarse como una función de las coordenadas que definen el sistema, es decir, las posiciones de los núcleos. Estas posiciones pueden darse en forma de coordenadas cartesianas o bien como coordenadas internas que relacionan unos núcleos con otros, como distancias y ángulos de enlace. En cualquier caso, una vez determinado el sistema químico a estudiar (cargas y masas nucleares, número de electrones), su energía varía con las mencionadas coordenadas nucleares. Para cada estructura o geometría del sistema puede obtenerse una energía y su representación con respecto a las coordenadas nucleares se conoce como “superficie o hipersuperficie de energía potencial” (aunque también incluye la energía cinética de los electrones, formalmente se considera que es la energía potencial de los núcleos).

El problema de la optimización de geometrías moleculares consiste en hallar las estructuras, definidas por las coordenadas nucleares, para las que la energía es mínima, es decir se trata de una búsqueda de mínimos en la superficie de energía potencial. Los mínimos locales en esta superficie corresponden a estructuras estables del sistema, ya que cualquier pequeña deformación de la geometría conduce a un aumento de energía y, por lo tanto, a una desestabilización. Matemáticamente, el problema es la minimización de una función no lineal de múltiples variables, función que generalmente carece de expresión analítica.

No solamente los mínimos en la superficie de energía potencial tienen interés químico, también son objeto de estudio los llamados "puntos de silla" (*saddle points*). La estructura definida por un punto de silla corresponde a un estado de transición, es decir, la estructura de mayor energía dentro del camino de menor energía que une dos mínimos.

Toda estructura molecular viene descrita por un conjunto de coordenadas que, si son cartesianas, se representarán en forma de un vector $\boldsymbol{r}$ de 3*N* dimensiones, siendo *N* el número de átomos. La energía potencial es una función de las coordenadas, de manera que $E(\boldsymbol{r})$. El gradiente es otro vector de 3*N* dimensiones, en el que cada componente del vector es la primera derivada de la energía con respecto a una coordenada, y la hessiana es una matriz de 3*N* × 3*N* dimensiones, en la que cada elemento es la segunda derivada de la energía respecto a dos coordenadas:

$$\boldsymbol{g}(\boldsymbol{r}) = \begin{pmatrix} \partial E(\boldsymbol{r})/\partial x_1 \\ \partial E(\boldsymbol{r})/\partial y_1 \\ \partial E(\boldsymbol{r})/\partial z_1 \\ \vdots \\ \partial E(\boldsymbol{r})/\partial z_{\mathrm{N}} \end{pmatrix} \qquad [2.143]$$

$$\boldsymbol{H}(\boldsymbol{r}) = \begin{pmatrix} \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial x_1^2} & \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial y_1 x_1} & \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial z_1 x_1} & \cdots & \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial z_{\mathrm{N}} x_1} \\ \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial x_1 y_1} & \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial y_1^2} & \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial z_1 y_1} & \cdots & \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial z_{\mathrm{N}} y_1} \\ \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial x_1 z_1} & \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial y_1 z_1} & \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial z_1^2} & \cdots & \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial z_{\mathrm{N}} z_1} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial x_1 z_{\mathrm{N}}} & \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial y_1 z_{\mathrm{N}}} & \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial z_1 z_{\mathrm{N}}} & \cdots & \frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial z_{\mathrm{N}}^2} \end{pmatrix} \qquad [2.144]$$

La matriz hessiana es simétrica, puesto que el orden de diferenciación no altera el resultado. Si el gradiente es nulo, hay evidencia de que nos encontramos ante un punto estacionario y su naturaleza viene determinada por las características de la matriz hessiana. Si todos los valores propios de la matriz hessiana son positivos, nos encontramos ante un mínimo de energía, absoluto o relativo. Si un número determinado de ellos, por ejemplo *n*, son negativos y todos los demás positivos, tendremos un punto de silla o *saddle point* de orden *n*. Si existe un

único valor propio negativo en nuestra hessiana, se trata de un punto de silla de orden 1. Un punto de silla vendría representado tridimensionalmente por un mínimo en todas las direcciones excepto en una, que es un máximo, por lo que la forma de la superficie es de silla de montar, tomando como plano de referencia el plano de dos de las coordenadas y como eje de referencia a la energía.

Como ya hemos indicado, la hessiana es una matriz de $3N \times 3N$ elementos, siendo N el número de átomos de la molécula en estudio. Para conocer su curvatura necesitamos los valores propios de la hessiana, es decir, los elementos diagonales obtenidos una vez diagonalizada la matriz; igualmente obtendremos el vector propio correspondiente a cada valor propio. La operación que ha de realizarse es:

$$\boldsymbol{A} = \boldsymbol{X}\boldsymbol{D}\boldsymbol{X}^{T} \qquad [2.145]$$

donde $\boldsymbol{A}$ y $\boldsymbol{D}$ son las matrices hessiana sin diagonalizar y diagonalizada, respectivamente, y $\boldsymbol{X}$ y $\boldsymbol{X}^{T}$ son las matrices normal y transpuesta de los vectores propios.

Si todos los elementos diagonales de la matriz $\boldsymbol{D}$ son positivos, nos encontramos en una situación de mínima energía, de modo que cualquiera de las vibraciones correspondientes a estos modos normales conducirá siempre a dicho mínimo. Por el contrario, si uno de estos modos normales es negativo, nos encontramos en un punto de ensilladura, siendo el vector propio correspondiente a este modo normal el que indicará la dirección de evolución del sistema.

Fundamentalmente, en el marco de la aproximación QM/MM existen dos métodos para encontrar la geometría optimizada en disolución de una molécula:

- Permitir que durante la dinámica molecular (DM) la molécula siga la dirección del gradiente instantáneo asociado a esa configuración, lo que requiere un cálculo cuántico por cada configuración.

- Optimización siguiendo el Gradiente de la Energía Libre (FEG), en el que se calcula el promedio de las fuerzas sobre los núcleos de los átomos del soluto, localizando de este modo los puntos estacionarios sobre la superficie de energía libre del sistema, $G(\boldsymbol{r})$.

Dada la filosofía de la metodología ASEP/MD, este último método de optimización es el que ha sido implementado en nuestro algoritmo. Partiendo de la expresión 2.92, la fuerza sobre los átomos de soluto, $\boldsymbol{F}(\boldsymbol{r}_{QM})$, se expresa como [94-96]:

$$-\frac{\partial G(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}} = -\langle\frac{\partial E(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}}\rangle = \boldsymbol{F}(\boldsymbol{r}_{QM}) \qquad [2.146]$$

donde $\boldsymbol{r}_{QM}$ corresponde a las coordenadas nucleares del soluto y los paréntesis angulares denotan un promedio estadístico sobre todas las configuraciones en equilibrio.

La hessiana se calcula como:

$$\boldsymbol{H}(\boldsymbol{r}_{QM}) = \langle\frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}\boldsymbol{r}'_{QM}}\rangle - \beta\,\langle\left(\frac{\partial E(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}}\right)\left(\frac{\partial E(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}}\right)^T\rangle + \beta\,\langle\left(\frac{\partial E(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}}\right)\rangle\langle\left(\frac{\partial E(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}}\right)^T\rangle \qquad [2.147]$$

$$\boldsymbol{H}(\boldsymbol{r}_{QM}) = \langle\frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}\boldsymbol{r}'_{QM}}\rangle - \beta\left[\langle\boldsymbol{F}(\boldsymbol{r}_{QM})^2\rangle - \langle\boldsymbol{F}(\boldsymbol{r}_{QM})\rangle^2\right] \qquad [2.148]$$

donde el superíndice ^{T} indica una transposición y $\beta = {}^1/_{k_B T}$, siendo k_B la constante de Boltzmann y T la temperatura absoluta. El último término de la ecuación 2.148 está relacionado con las fluctuaciones térmicas de la fuerza.

La energía de la molécula de soluto se puede dividir en dos términos:

$$E(\boldsymbol{r}) = E_{QM}(\boldsymbol{r}) + E_{QM/MM}(\boldsymbol{r}) \qquad [2.149]$$

En nuestro modelo, la energía potencial total $E_{QM/MM}(\boldsymbol{r})$ de cada configuración se descompone en una componente electrostática, $E^{elec}_{QM/MM}(\boldsymbol{r})$, y en otra de Van der Waals, $E^{vdW}_{QM/MM}(\boldsymbol{r})$.

$$E_{QM/MM}(\boldsymbol{r}) = E^{elec}_{QM/MM}(\boldsymbol{r}) + E^{vdW}_{QM/MM}(\boldsymbol{r}) \qquad [2.150]$$

Según la filosofía del ASEP/MD, el promedio del potencial electrostático sobre todas las configuraciones seleccionadas es sustituido por el valor del potencial electrostático de una configuración promedio. Aplicando la aproximación del campo medio, esto equivale a sustituir

el promedio de las derivadas de la energía para cada configuración con respecto a las coordenadas nucleares del soluto por la derivada para una configuración promedio. Las expresiones para la fuerza y la hessiana quedan así de la siguiente manera (ecuaciones 2.152 y 2.154):

$$\boldsymbol{F}(\boldsymbol{r}_{QM}) = -\langle\frac{\partial E(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}}\rangle = -\langle\frac{\partial E_{QM}(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}}\rangle - \langle\frac{\partial E_{QM/MM}(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}}\rangle \qquad [2.151]$$

$$\boldsymbol{F}(\boldsymbol{r}_{QM}) \simeq -\frac{\partial\langle E_{QM}(\boldsymbol{r})\rangle}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}} - \frac{\partial\langle E^{elec}_{QM/MM}(\boldsymbol{r})\rangle}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}} - \langle\frac{\partial E^{vdW}_{QM/MM}(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}}\rangle \qquad [2.152]$$

$$\boldsymbol{H}(\boldsymbol{r}) = \langle\frac{\partial^2 E(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}\boldsymbol{r}'_{QM}}\rangle = \langle\frac{\partial^2 E_{QM}(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}\boldsymbol{r}'_{QM}}\rangle + \langle\frac{\partial^2 E_{QM/MM}(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}\boldsymbol{r}'_{QM}}\rangle \qquad [2.153]$$

$$\boldsymbol{H}(\boldsymbol{r}) \simeq \frac{\partial^2\langle E_{QM}(\boldsymbol{r})\rangle}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}\boldsymbol{r}'_{QM}} + \frac{\partial^2\langle E^{elec}_{QM/MM}(\boldsymbol{r})\rangle}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}\boldsymbol{r}'_{QM}} + \langle\frac{\partial^2 E^{vdW}_{QM/MM}(\boldsymbol{r})}{\partial \boldsymbol{r}_{QM}\boldsymbol{r}'_{QM}}\rangle \qquad [2.154]$$

habiéndose despreciado en la expresión de la hessiana las fluctuaciones térmicas de las fuerzas, ya que en una configuración promedio estas fluctuaciones se anulan. Con respecto a la contribución de Van der Waals en las expresiones del gradiente y de la hessiana, no es necesario para su obtención ningún cálculo cuántico, determinándose su valor fácilmente a partir de las configuraciones del disolvente obtenidas de dinámica molecular.

En comparación con los modelos QM/MM tradicionales, los errores que introducen las ecuaciones descritas anteriormente son:

- La distribución electrónica del soluto obtenida al resolver la ecuación de Schrödinger en presencia de la perturbación promedio, ρ, es diferente del valor medio de la distribución electrónica obtenida para cada configuración del disolvente, es decir, $\rho \neq \langle\rho\rangle$. Esta diferencia aparece porque en los métodos QM/MM tradicionales la distribución electrónica del soluto se ajusta en cada etapa a la nueva configuración del disolvente, lo cual no ocurre en las teorías de campo medio. Este error, conocido como componente Stark de la energía de interacción, es inherente a la aproximación del campo medio empleada.

- En el cálculo de la hessiana se desprecian las fluctuaciones térmicas de la fuerza, el último término de la ecuación 2.148. Como se ha indicado anteriormente, si bien pueden existir estas fluctuaciones cuando se consideran diversas configuraciones, el concepto carece de sentido cuando la configuración promedio empleada en los cálculos es sólo una.

El proceso de optimización de geometrías con el método ASEP/MD se lleva a cabo mediante la realización de las siguientes etapas, cuyo esquema se puede observar en la figura 2.3:

1. Se comienza obteniendo la distribución de cargas del soluto, q^0_{soluto}, mediante un cálculo *ab initio* en vacío. Esta distribución se usará como dato de entrada en el cálculo de la primera dinámica molecular.

2. Se realiza una dinámica molecular y, a partir de los datos que proporciona, se obtiene el potencial electrostático promedio generado por el disolvente, ASEP, y la contribución de Van der Waals (dependiente únicamente de las posiciones de los núcleos) al gradiente y a la hessiana.

3. El ASEP se introduce en el hamiltoniano molecular del soluto. La función de estado del soluto, ahora en disolución, se puede obtener resolviendo la ecuación de Schrödinger que emplea el hamiltoniano efectivo asociado.

4. Se calculan las contribuciones electrostáticas al gradiente, $\partial/\partial\boldsymbol{r}\,\langle E^{elec}_{QM/MM}(\boldsymbol{r})\rangle$, y la hessiana, $\partial^2/\partial\boldsymbol{r}^2\,\langle E^{elec}_{QM/MM}(\boldsymbol{r})\rangle$, y se añaden a las contribuciones de Van der Waals (terceros términos de las ecuaciones 2.152 y 2.154). Con esta información se obtiene una nueva geometría empleando algún de los algoritmos de optimización disponibles.

5. Con la nueva geometría se obtiene la función de onda electrónica del soluto en disolución y se calcula una nueva distribución de cargas para el soluto, q^i_{soluto}. La nueva geometría y distribución electrónica del soluto se emplea entonces como dato de entrada para otro cálculo de dinámica molecular (2.ª etapa). Este proceso se repite hasta que se consigue la convergencia según criterios estructurales y energéticos previamente establecidos.

Para la obtención de una nueva geometría a partir de una precedente (4.ª etapa) se dispone de distintas alternativas:

- Utilizar sólo la fuerza para determinar la posición del siguiente punto en la superficie de energía libre. Es el denominado método de la pendiente máxima o *steepest descent method*:

$$\boldsymbol{r}_{k+1} = \boldsymbol{r}_k + \boldsymbol{F}_k \qquad [2.155]$$

- Hallar el siguiente punto empleando la fuerza y la hessiana, mediante el método de Newton:

$$\boldsymbol{r}_{k+1} = \boldsymbol{r}_k + \boldsymbol{H}_k^{-1}\boldsymbol{F}_k \qquad [2.156]$$

Generalmente se suele introducir un parámetro en las dos ecuaciones anteriores, λ, cuyo valor puede ser un dato predeterminado o bien obtenerse mediante minimización lineal. Las ecuaciones quedarían ahora de la forma:

$$\boldsymbol{r}_{k+1} = \boldsymbol{r}_k + \boldsymbol{\lambda}\boldsymbol{F}_k \qquad [2.157]$$

$$\boldsymbol{r}_{k+1} = \boldsymbol{r}_k + \boldsymbol{\lambda}\boldsymbol{H}_k^{-1}\boldsymbol{F}_k \qquad [2.158]$$

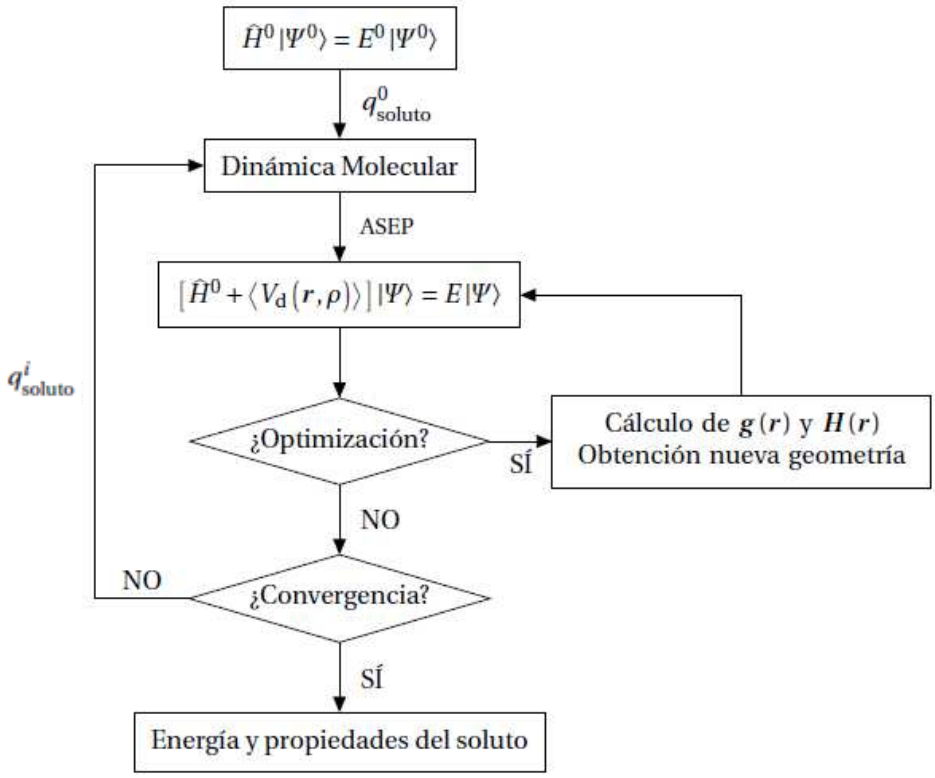


Figura 2.3. Esquema del proceso de optimización mediante el método ASEP/MD.

En los casos en los que la hessiana no pueda calcularse o presente un coste excesivo, pueden emplearse otros métodos, llamados con frecuencia métodos cuasi-Newton. En estos métodos $\boldsymbol{H}^{-1}$ se aproxima mediante una matriz simétrica definida positiva $\boldsymbol{B}$, que se va

actualizando de iteración en iteración. La matriz inicial $\boldsymbol{B}_0$ puede ser cualquier matriz simétrica definida positiva, y a falta de una mejor estimación puede tomarse la matriz unidad $\boldsymbol{I}$, pero, si es posible, suele ser más adecuado tomar $\boldsymbol{B}_0 = \boldsymbol{H}^{-1}$ (sólo es necesario hacer el cálculo de la hessiana una vez). Así, la fórmula general de estos métodos es:

$$\boldsymbol{r}_{k+1} = \boldsymbol{r}_k + \boldsymbol{\lambda} \boldsymbol{B}_k \boldsymbol{F}_k \qquad [2.159]$$

donde λ puede ser 1 o puede calcularse por minimización lineal en cada iteración. Una vez obtenido el nuevo punto $\boldsymbol{r}_{k+1}$, y con la información de $\boldsymbol{r}_k$, $\boldsymbol{r}_{k+1}$, y los gradientes $\boldsymbol{g}_k$, $\boldsymbol{g}_{k+1}$, se actualiza la matriz $\boldsymbol{B}_k$ para obtener $\boldsymbol{B}_{k+1}$.

Para la actualización de la matriz hessiana $\boldsymbol{B}$ existen diversas fórmulas, cada una más adecuada en distintos casos, siendo las dos más utilizadas la BFGS (Broyden- Fletcher-Goldfarb-Shanno) [97-101] y la DFP (Davidon-Fletcher-Powell) [102-104].

Durante el proceso de optimización ASEP/MD, el soluto sufre cambios tanto en su geometría como en su distribución electrónica. En estudios previos se ha observado la validez de este método de optimización en disolución analizando distintas propiedades como la evolución del momento dipolar o la estructura del disolvente que rodea al soluto según transcurran los ciclos de optimización [33].

2.11.2. Cálculo de energías libres.

Durante el proceso ASEP/MD, se espera observar una disminución en la energía libre durante las primeras iteraciones (señal de que el sistema se estabiliza) y una fluctuación en torno a un valor determinado una vez que se ha alcanzado la convergencia, fluctuación debida a que las muestras de configuraciones generadas por las simulaciones son finitas. El método de perturbación de energía libre (FEP) como el más adecuado, ya que permite, de una manera sencilla, el cálculo de las energías libres tras haber obtenido las configuraciones en equilibrio de los distintos sistemas. Como se ha mencionado, entre dos iteraciones sucesivas del método ASEP/MD tiene lugar una variación en las cargas atómicas del soluto y, posiblemente, en su geometría. El objetivo, por lo tanto, es calcular la diferencia de energía libre entre dos sistemas en los que la geometría del soluto cambia de $\boldsymbol{r}_{i-1}$ a $\boldsymbol{r}_i$, y su función de onda (y con ella la distribución electrónica y cargas atómicas) varía en consecuencia.

La expresión empleada para obtener esta diferencia de energía libre es la siguiente:

$$\Delta G = G(\boldsymbol{r}_i) - G(\boldsymbol{r}_{i-1}) = \Delta G_{sol} + \Delta G_{int} = \Delta E_{soluto} + \Delta V + \Delta G_{int} \qquad [2.160]$$

$$\Delta E_{soluto} = E_{QM}(\boldsymbol{r}_i) - E_{QM}(\boldsymbol{r}_{i-1}) = \langle \Psi_i | \hat{H}_i^0 | \Psi_i \rangle - \langle \Psi_{i-1} | \hat{H}_{i-1}^0 | \Psi_{i-1} \rangle \qquad [2.161]$$

$$\Delta G_{int} = k_B T ln \langle e^{\beta [E_{QM/MM}(\boldsymbol{r}_i) - E_{QM/MM}(\boldsymbol{r}_{i-1})]} \rangle_i \qquad [2.162]$$

donde ΔE_{soluto} corresponde a la diferencia de energía cuántica del soluto entre los puntos $\boldsymbol{r}_i$ y $\boldsymbol{r}_{i-1}$, mientras que ΔG_{int} corresponde a la diferencia de energía libre de interacción soluto-disolvente entre dichos puntos. Incluye además las contribuciones entrópicas y térmicas a la energía de interacción soluto-disolvente. Para su cálculo, basta con tomar la muestra de configuraciones en equilibrio con el soluto en el estado i y, para cada una de ellas calcular la diferencia de $E_{QM/MM}$ según se consideren la geometría y distribución de cargas del soluto en el estado i ($\boldsymbol{r}_i$) o $i-1$ ($\boldsymbol{r}_{i-1}$). El último término, ΔV, incluye las diferencias de energía del punto 0 (ZPE) y contribuciones entálpicas y entrópicas del soluto.

Este método es válido no sólo para calcular la diferencia de energía entre dos iteraciones consecutivas del proceso ASEP/MD, sino entre dos sistemas cualesquiera. Así, por ejemplo, pueden obtenerse las estructuras (geometrías y distribuciones de carga) de dos confórmeros, A y B de un mismo soluto y, posteriormente, calcular la diferencia de energía libre entre ellos. Cuando los sistemas son demasiado diferentes, se recurre a la técnica mostrada en la ecuación 2.95, creando estados intermedios, que pueden tener o no sentido físico:

$$\Delta G_{A\to B} = E_{QM}(\boldsymbol{r}_B) - E_{QM}(\boldsymbol{r}_A) + k_B T \sum_{i=1}^{m+1} ln \langle e^{\beta [E_{QM/MM}(\boldsymbol{r}_i) - E_{QM/MM}(\boldsymbol{r}_{i-1})]} \rangle_i + \Delta V =$$

$$= E_{QM}(\boldsymbol{r}_B) - E_{QM}(\boldsymbol{r}_A) - k_B T \sum_{i=0}^{m} ln \langle e^{-\beta [E_{QM/MM}(\boldsymbol{r}_{i+1}) - E_{QM/MM}(\boldsymbol{r}_i)]} \rangle_i + \Delta V \qquad [2.163]$$

De esta manera, basta con efectuar un cálculo de FEP entre los dos sistemas, considerando únicamente la energía de interacción entre soluto y disolvente, y al resultado sumarle la diferencia en las E_{QM}, valores que se obtienen de los cálculos ASEP/MD previos.

Los estados intermedios, como ya se ha mencionado, pueden elegirse de la manera que resulte más conveniente, pues la energía libre es función de estado y no depende de la naturaleza de estos estados intermedios; lo más sencillo es realizar una interpolación lineal entre $\boldsymbol{r}_A$ y $\boldsymbol{r}_B$. Así, a efectos del cálculo de energía libre, la energía de interacción entre soluto y disolvente, $E_{QM/MM}$ en las expresiones 2.160, 2.161, 2.162 y 2.163, se calcula clásicamente, representando al soluto mediante su distribución de cargas en disolución.

El hamiltoniano del sistema se escribe como función del parámetro de perturbación λ. Para $\lambda = 0$, la geometría del soluto, su distribución de cargas y los parámetros Lennard-Jones corresponden al estado inicial, y para $\lambda = 1$ son los del estado final. La diferencia de energía libre de interacción entre los estados correspondientes a λ y $\lambda + \Delta\lambda$¸ se calcula, según la teoría de perturbación de la energía libre (FEP), con la siguiente ecuación:

$$\Delta G_{int}^{\lambda} = -k_B T ln \langle exp\left(-\frac{E_{\mathrm{QM/MM}}(\lambda + \Delta\lambda) - E_{\mathrm{QM/MM}}(\lambda)}{k_B T}\right)\rangle_{\lambda} \qquad [2.164]$$

donde $\langle \quad \rangle_{\lambda}$ denota el promedio configuracional en equilibrio con el estado λ. Así, la variación de energía libre total es:

$$\Delta G_{int} = \sum_{\lambda=0}^{1} \Delta G_{int}^{\lambda} \qquad [2.165]$$

Se suele emplear un $\Delta\lambda$ comprendido entre 0,025 y 0,050. Esto quiere decir que se realizan entre 20 y 50 dinámicas moleculares para la determinación de ΔG_{int}. Para comprobar la calidad de la convergencia del cálculo, se comparan las energías libres de interacción obtenidas "hacia adelante" y "hacia atrás"; en general, los resultados se consideran aceptables cuando los errores son menores del 5 %.

El término ΔV normalmente se evalúa aplicando la aproximación armónica a los modos vibracionales del soluto en disolución, y necesita la información dada por la matriz hessiana. Obtener una matriz hessiana adecuada es muy costoso desde el punto de vista computacional, así que a menudo se aproximan los resultados despreciando este término.

2.11.3. Cálculo de la intersección cónica en disolución.

Como ya se adelantó en la sección 2.10.3, muchos de los algoritmos empleados en la búsqueda de intersecciones cónicas asumen que la función de onda es uniforme en las proximidades de ésta. Sin embargo esta asunción no es real, puesto que las derivadas de los estados fundamental y excitado con frecuencia presentan discontinuidades para geometrías localizadas a lo largo del subespacio de intersección, complicándose el cálculo del gradiente diferencia y del *derivative coupling* (ecuaciones 2.125 y 2.126). Cuando se estudia el papel del disolvente en la búsqueda y caracterización de estos puntos de cruce, es más provechoso tratar con superficies de energía libre más que con superficies de energía potencial, pero una vez más, se debe tener en consideración que la función de onda electrónica no está únicamente definida y,

por tanto, el formalismo para evaluar estos vectores (sobretodo el vector *derivative coupling*) no está en ocasiones lo suficientemente claro.

Por todo lo anterior, en este trabajo de investigación se ha desarrollado una metodología para localizar y describir las propiedades energéticas y geométricas del MECI en disolución, implementando en el método ASEP/MD el algoritmo desarrollado por T.J. Martínez y col. [90], que como ya explicamos presenta como ventaja no necesitar definir los vectores del subespacio de bifurcación. El esquema de todo el proceso se puede apreciar en la figura 2.4.

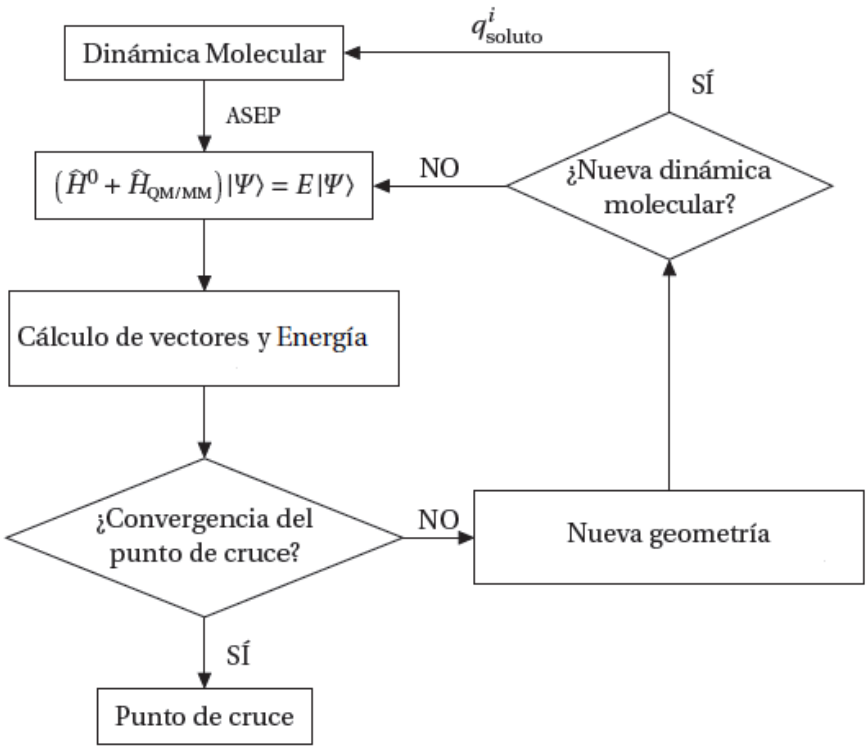


Figura 2.4. Esquema del proceso de búsqueda de puntos de cruce en disolución según el método ASEP/MD.

1. Como en cualquier cálculo habitual del ASEP/MD, se realiza una simulación de dinámica molecular de donde se extraen N configuraciones y se calcula el potencial electrostático promedio.

2. De un cálculo cuántico con la contribución del ASEP se obtienen tanto la diferencia de energía como las componentes paralela y perpendicular del gradiente de la función $F_{IJ}(\vec{R};\sigma;\alpha)$, definidas en las ecuaciones 2.135 y 2.136.

3. Si no se cumplen los criterios de convergencia fijados para la energía y las componentes del gradiente, se optimiza la geometría del soluto incluyéndose esta vez las contribuciones electrostáticas y de Lennard-Jones del disolvente por diferentes métodos de optimización.

4. Una vez llegados a este punto se puede optar por dos caminos:

   a) Realizar una nueva simulación (punto 1) y continuar el ciclo hasta que se alcance la convergencia.

   b) No equilibrar la estructura del disolvente y realizar un nuevo cálculo cuántico (punto 2), provocando una situación que podemos denominar de pseudo-equilibrio; es decir, se puede elegir el número de iteraciones que se realizan con el mismo disolvente entre distintos cálculos de dinámica molecular. Esta situación se puede considerar intermedia entre un cálculo con un disolvente en equilibrio constante con la molécula de soluto (esto es, en cada iteración se realiza una simulación, que es el caso 4a que se acaba de citar) y un estudio con el disolvente en no equilibrio.

5. Cuando se alcancen las condiciones de convergencia, esto es, una diferencia de energía entre estados menor que un valor predeterminado, y la geometría de la molécula de soluto permanezca estable en un cierto número de iteraciones, se habrá conseguido el punto de mínima energía de la hiperlínea o hipersuperficie de intersección.

2.11.4. Disolvente polarizable en el método ASEP/MD.

En el caso de la versión totalmente acoplada del método ASEP/MD, todas las moléculas del sistema se representan con la distribución electrónica de la molécula de soluto obtenida cuánticamente. De esta forma, se tiene en cuenta la polarización electrónica de las moléculas de disolvente en respuesta al campo eléctrico generado por el soluto y por el propio disolvente. Este tipo de respuesta es importante en el estudio de estados electrónicos excitados, donde se produce un cambio brusco en la distribución de carga de la molécula de soluto mientras que los núcleos mantienen sus posiciones por más tiempo. Por tanto, aunque la estructura del disolvente permanezca constante al pasar a otro estado electrónico, no ocurre lo mismo con la distribución electrónica. Como el disolvente se representa clásicamente, hemos de tener en cuenta su polarización a través de su polarizabilidad electrónica, bien sea usando la medida experimental o bien mediante la polarizabilidad calculada con alguno de los métodos disponibles. En nuestro procedimiento, la contribución debida a la polarización del disolvente se introduce sólo en el cálculo del potencial promedio. Esto quiere decir que las dinámicas moleculares se siguen

realizando con distribuciones de carga fijas, es decir, no polarizables. Así, de cada dinámica molecular se obtiene una estructura del disolvente que suponemos válida y empleamos tal estructura en el cálculo del potencial de interacción, permitiendo ahora que el disolvente se polarice. Para ello, una vez realizada la simulación y seleccionadas las configuraciones oportunas, a cada molécula de disolvente se le asignan las correspondientes cargas atómicas de la molécula en el vacío, a las que denominaremos cargas permanentes q_s^0 y sus dipolos inducidos, designados como $\boldsymbol{\mu}_k$. Puesto que los momentos dipolares inducidos generan a su vez un campo eléctrico, este cálculo debe realizarse de forma iterativa. De este modo, cuando acabe el proceso, los momentos inducidos y el campo eléctrico se encontrarán mutuamente equilibrados entre sí.

Se puede describir el proceso de polarización del siguiente modo:

1. En primer lugar, se calcula el campo eléctrico generado por el soluto y por las cargas permanentes del resto de moléculas de disolvente sobre cada uno de los centros polarizables (generalmente situado en el centro de masas de cada una de las moléculas de disolvente).

2. Este campo eléctrico provoca en cada uno de ellos un momento dipolar inducido que a su vez generan un campo eléctrico sobre el resto de centros polarizables. El proceso debe, por tanto, ser iterativo y se repite hasta llegar a convergencia.

3. Por último, mediante un proceso de ajuste de cargas similar al descrito anteriormente, se calculan las cargas que mejor reproducen el potencial electrostático generado por los dipolos inducidos, promediado para todas las configuraciones. El potencial total es suma de dos contribuciones: el creado por las cargas permanentes y el creado por los dipolos inducidos, siendo esta vez las cargas permanentes las del disolvente en vacío y no aquellas obtenidas de la dinámica molecular. Así, el potencial total tendrá la forma:

$$V(\boldsymbol{r}) = \sum_s \frac{q_s^0}{r_{sj}} + \sum_k \frac{\boldsymbol{\mu}_k \, \boldsymbol{r}_{kj}}{r_{kj}^3} \qquad [2.166]$$

siendo $\boldsymbol{r}_{kj} = \boldsymbol{r}_j + \boldsymbol{r}_k$.

4. Para la resolución de la ecuación de Schrödinger en disolución, se introduce el ASEP en el hamiltoniano molecular del soluto de forma análoga a como lo hacemos en el caso del disolvente no polarizable, si bien conviene puntualizar que sólo las cargas situadas en la capa

externa son las que introducen el efecto de los dipolos inducidos tanto de la primera capa de solvatación como de las moléculas restantes.

5. Una vez obtenida una nueva distribución electrónica del soluto se reinicia el cálculo de dipolos inducidos del disolvente, conservándose la estructura del disolvente inicial. El proceso total continuará hasta que se alcance la convergencia.

CAPÍTULO 3

ESTUDIO DEL CROMÓFORO DE LA PROTEÍNA AMARILLA FOTOACTIVA.

Todos los seres vivos poseen la habilidad de captar los cambios físicos, químicos, mecánicos o de otra índole que ocurren en su entorno a través de receptores. Con dicha información interpretan los diferentes estímulos que perciben y reaccionan a dichos cambios para adaptarse al medio, siempre cambiante, y conseguir así sobrevivir. Uno de los estímulos más importantes es la luz. Los seres vivos a lo largo de su evolución han desarrollado diferentes mecanismos y órganos sensoriales para captarla, como ejemplo podemos citar los distintos fotorreceptores indispensables en el proceso de visión en los animales o en la fotosíntesis de las plantas. Si descendemos a la escala biomolecular, la respuesta última reside en la capacidad que tienen ciertas moléculas fotosensibles de interaccionar con la radiación. En este capítulo describiremos el cromóforo de una proteína bacteriana con dicha propiedad, haciendo especial alusión a los problemas a los que nos enfrentamos desde el punto de vista computacional.

3.1. Introducción.

La proteína amarilla fotoactiva (más conocida por el acrónimo en inglés PYP, *Photoactive Yellow Protein*) es un fotorreceptor encontrado originariamente en la bacteria *Halorhodospira halophila* [144], responsable de la fototaxis negativa de dicho organismo en presencia de luz azul [145]. Esto es, cuando la bacteria es irradiada con luz perteneciente a esta longitud de onda, ésta se mueve por resultarle dañina dicha radiación alejándose del foco emisor. Se trata de una proteína de pequeño tamaño, consta de 125 aminoácidos y de un único cromóforo, la forma aniónica (desprotonada en el grupo fenólico) del ácido p-coumárico, que se une a la proteína por un enlace covalente tioéster a través del aminoácido cisteína-69 (Cis-69) [146]. Dicho cromóforo se encuentra representado en la figura 3.1.

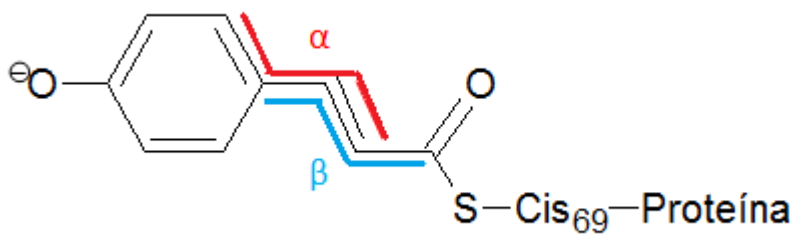


Figura 3.1. Esquema del cromóforo de la PYP unido a la proteína.

Se han llevado a cabo muchos estudios para dilucidar los cambios estructurales que tienen lugar en la proteína una vez que absorbe radiación y que provocan, en última instancia, la respuesta biológica de la bacteria. Estudios experimentales han señalado que tras la absorción de radiación por parte del cromóforo de la PYP se produce una fotoisomerización *trans-cis* de su doble enlace, marcado como β en la figura 3.1 [147], de forma muy similar a la que sufre el retinal durante el proceso de visión [148]. Está comúnmente aceptado que dicha isomerización, que ocurre en una escala de tiempo del orden de subpicosegundos, es la clave que inicia todo el proceso [149]. Éste se extiende durante varios segundos, e involucra la protonación del cromóforo (en una escala del orden del microsegundo) y el desplegamiento parcial de la proteína (en una escala del orden del milisegundo) [150]. Junto con la rodopsina, la PYP es uno de los sistemas fotosensibles de carácter biológico más estudiados tanto desde el punto de vista experimental como teórico. El interés que la química computacional tiene en esta proteína se debe en parte a su reducido tamaño y a la sencillez estructural de su cromóforo, lo que la hace idónea para el empleo de herramientas computacionales [171-173].

La fotoisomerización *trans-cis* del cromóforo sucede a través de una intersección cónica entre la superficie del primer estado excitado S1 y la superficie del estado fundamental S0. Diferentes estudios [157] han puesto de manifiesto que el proceso de isomerización que experimenta el cromóforo va acompañado de cambios en la red de enlaces por puentes de hidrógeno que éste establece con el medio que lo rodea. Se cree que con estas interacciones el entorno proteico favorece una serie de condiciones para que la isomerización sea propicia. De hecho, dicha relación puede constatarse si se comparan los espectros de absorción experimentales del cromóforo inmerso dentro de la proteína [145] con el de derivados de éste en fase gas [151-153] y en disolución [154-156]. Estos enlaces de hidrógeno estabilizan la carga negativa alojada por el extremo fenólico [158] y, según diversos estudios experimentales [159] y teóricos [160, 161], dichas interacciones lo protegen previniendo la autoionización que sufre en sus estados electrónicamente excitados, al ser éstos metaestables. Para desentrañar la influencia del entorno proteico cercano en la absorción y posterior isomerización, se han llevado a cabo estudios teóricos con el ácido p-coumárico o diferentes modelos de éste rodeándolo de una serie de aminoácidos presentes en la PYP que por su cercanía pudieran tener una influencia significativa en la estabilización de la carga negativa [160-162]. Otros estudios han preferido además emplear diversos mutantes de la PYP [163]. Sin embargo, las conclusiones no son siempre coincidentes y todavía hay controversia acerca del papel desempeñado por algunos de estos aminoácidos, como es el caso de la arginina-52 (Arg-52) [164-167] y del Cis-69 y sus puentes de hidrógeno con el grupo carbonilo [160, 168]. Los efectos del disolvente en los procesos de absorción, emisión e isomerización en diferentes modelos del cromóforo también han sido estudiados teórica [162, 172-175] y experimentalmente [154-156, 176-181], pero las

dificultades radican en que la variedad de los estudios teóricos es mucho más limitada y en el empleo que hacen de bajos niveles de cálculo.

Como se ha mencionado anteriormente, tras la absorción de radiación por parte del cromóforo, se produce una isomerización *trans-cis* que es considerada la etapa inicial del proceso de respuesta biológica. Sin embargo, el giro del doble enlace parece no ser el único que puede producirse. Estudios teóricos llevados a cabo por Gromov y col. [164, 169, 170] señalan que existe también la posibilidad de un giro alrededor del enlace sencillo adyacente (marcado como α), que presenta una menor barrera de energía. Debido a esta alternativa para la desexcitación, el comportamiento del cromóforo una vez que se produce la absorción sique siendo objeto de debate. Algunos autores consideran que en la proteína estas dos torsiones entran en competencia en el proceso de desactivación, aunque la fotoisomerización se ve favorecida debido al entorno proteico, que impide por impedimentos estéricos la torsión en α [159, 163, 165]. Groenhof y col. llegaron a proponer que ambas torsiones ocurren en la proteína, aunque el giro en α en mucha menor proporción [165]. Gromov y col. [169, 170] sugieren que existe un acoplamiento entre ambos giros, de manera que la torsión en β no puede producirse sin una ligera torsión en α. No obstante, estos autores van más allá: en dichos estudios, en los que consideraron microsolvatación y un conjunto seleccionado de aminoácidos, llegaron a la conclusión de que, conforme aumenta la red de enlaces por puentes de hidrógeno en el oxígeno fenólico del cromóforo, la torsión en α se ve desfavorecida y se hace más estable la β. A pesar de la disyuntiva que sostienen los estudios teóricos con respecto al comportamiento y función del enlace α, este giro dentro de la proteína no ha sido confirmado experimentalmente, aunque un reciente estudio ha observado que la isomerización *trans-cis* se ve inhibida si se suprime completamente la torsión en α [166].

Por todo lo anteriormente expuesto, se han dedicado grandes esfuerzos en la descripción de la topología de la superficie del primer estado excitado, S1, con el fin de determinar y comprender los factores que gobiernan al cromóforo una vez que absorbe radiación y que pueden dirigirlo o bien a la fotoisomerización del doble enlace o bien a una ruta alternativa de desexcitación, ya sea por giro en el enlace α o por emisión fluorescente. Aun así, esta tarea es compleja. Para describir al cromóforo tanto en su estado fundamental como en el excitado, se hace necesario el empleo de niveles de cálculo elevados, pues las geometrías y los puntos singulares que se localizan en las superficies varían mucho dependiendo de éste (Gromov y col., [164, 170]). Sin embargo, aun empleando un nivel adecuado de teoría (como pueden ser los métodos multiconfiguracionales) y una base lo suficientemente extensa para la descripción del cromóforo o de alguno de sus modelos más empleados, en vacío estos estudios tienen una utilidad limitada. Se hace necesario considerar además las interacciones intermoleculares, pues

ahí está la clave de lo que realmente le sucede al cromóforo una vez que absorbe la radiación. Sin embargo, reproducir fielmente estas interacciones (debidas a un entorno proteico o a un disolvente) se torna complicado debido al alto costo computacional.

Hasta ahora nos hemos enfocado fundamentalmente en las diferencias que existen debido a la influencia que ejerce el entorno del cromóforo (fase gas/disolvente/proteína). Sin embargo, no menos destacables son las diferencias que existen según el modelo de cromóforo que se emplee. Aunque en vacío los resultados entre diferentes análogos pueden ser perfectamente comparables (y de hecho muchos estudios teóricos justifican la elección de un modelo de cromóforo u otro atendiendo a la semejanza que hay en las propiedades espectroscópicas [164, 182, 183]), la consideración de interacciones intermoleculares complica aún más si cabe el estudio puesto que no todos los modelos interaccionan igual con el medio. Espagne y col. [155] estudiaron experimentalmente tres modelos distintos en diferentes disolventes: la forma completamente desprotonada del pCA (pCA^{2-}), el derivado aminado en el extremo carbonílico (pCM^{-}) y el derivado tiofeniléster (pCT^{-}). Los espectros de absorción y emisión mostraban que los derivados pCA^{2-} y pCM^{-} sufrían una fotoisomerización *trans-cis* como vía principal de desexcitación. En cambio, el modelo pCT^{-} experimentaba una vía alternativa en la que se detectaba un intermedio con una banda de absorción a 450 nm (2.76 eV). Otros estudios experimentales también han detectado la existencia de este intermedio en disoluciones básicas del derivado tiometiléster ($pCTMe^{-}$ [184]). La formación de este intermedio ha sido justificada en términos de una diferente respuesta de los modelos a las propiedades del disolvente (viscosidad, polaridad, dinámica de la solvatación, etc) debido a las diferentes afinidades electrónicas del grupo terminal. De todas formas, hasta el momento no se ha hecho un estudio computacional exhaustivo sobre las causas de estas diferencias para los diferentes modelos del cromóforo de la PYP en disolución.

3.2. Propiedades estudiadas en el cromóforo de la PYP.

Como hemos expuesto en la introducción de este capítulo, existen muchas incógnitas acerca de lo que sucede una vez que el cromóforo de la PYP absorbe radiación, tanto en lo concerniente a las rutas de desexcitación que puede experimentar como a los factores que influyen y gobiernan la preferencia de unas rutas sobre otras, ya sean debidos al propio cromóforo o al medio que le rodea y que interactúa con él. Por todas estas razones, se ha optado por dividir el estudio del cromóforo de la PYP en tres frentes claramente diferenciados, enfocado cada uno a tratar una serie de propiedades concretas:

- El primer objetivo fue el estudio del espectro de absorción en disolución acuosa de la molécula de ácido *trans*-p-coumárico, pCA. Dicha molécula consta en sus extremos de un grupo fenólico (-OH) y otro carboxílico (-COOH). Estos grupos pueden desprotonarse en función del pH de la disolución y dar lugar a diversas especies cargadas. Además, tanto para la forma neutra como para las cargadas pueden existir diversas conformaciones: formas *s-cis* y *s-trans* de acuerdo a las posiciones relativas de los enlaces dobles C=O y central, y disposiciones *syn* y *anti* según la posición del grupo OH con respecto al anillo. Se estudió la influencia del disolvente sobre el espectro de absorción del cromóforo de la PYP en sus distintos estados de protonación y en sus posibles formas isoméricas.

- El segundo punto a tratar fue el estudio de la absorción y la emisión en vacío y en disolución de una serie de modelos para el cromóforo del ácido *trans*-p-coumárico. En concreto se han estudiado los derivados ácido (pCA^-), tioácido ($pCTA^-$), metil éster ($pCMe^-$) y tiometil éster ($pCTMe^-$). Todos estos modelos se encuentran desprotonados por el grupo fenólico diferenciándose únicamente en el grupo terminal en el extremo carbonílico. Fueron elegidos con el objetivo de analizar la influencia del grupo terminal en estas propiedades espectroscópicas, ya que al poseer diferentes tamaños y polaridades se les presupone diferentes capacidades de alojar la carga negativa del anillo fenólico así como de interacción con el disolvente.

- Para finalizar, para los cuatro modelos fenólicos tratados en el anterior apartado se realizó una búsqueda de geometrías en la superficie S1, correspondientes a intersecciones cónicas y mínimos del estado excitado. Se trató de hallar aquellos puntos que pudieran relacionarse con la fotoisomerización *trans-cis* (giro en β), la torsión en el enlace sencillo adyacente (giro en α) y la emisión fluorescente. Conocer la topología de la superficie del estado excitado en vacío y en disolución para cada uno de los derivados podrá indicarnos cuáles son los factores que controlan la fotodinámica del cromóforo una vez que absorbe radiación y que lo conducen por una vía u otra de desexcitación.

CAPÍTULO 4

ESTUDIO DE LA ABSORCIÓN DE LAS DIFERENTES FORMAS PROTONADAS DEL ÁCIDO P-COUMÁRICO.

El *solvent shift* ("desplazamiento ocasionado por el disolvente") se define como el desplazamiento observado en la posición de las bandas del espectro como consecuencia del cambio en las interacciones soluto-disolvente que se ocasiona al variar las características del medio que contiene al sistema (por ejemplo, cambiando el disolvente o bien al cambiar desde condiciones de disolución a vacío). Puede ser de dos tipos: desplazamiento batocrómico o *red shift*, en el que la posición de una banda se desplaza hacia zonas de menor frecuencia (a mayores longitudes de onda), y desplazamiento hipsocrómico o *blue shift*, en el que las bandas del espectro se desplaza hacia frecuencias mayores (a menores longitudes de onda). El valor del *solvent shift* se puede obtener tanto teórica como experimentalmente como la diferencia de energías de absorción/emisión del sistema en distintos medios. En nuestro caso, hemos estudiado la influencia del disolvente en los tránsitos electrónicos comparando los resultados obtenidos en vacío y en disolución acuosa, por lo que el *solvent shift* se calculará como la diferencia entre la energía de absorción obtenida en fase gas y la obtenida en disolución.

En este capítulo se han analizado las posibles diferencias en la absorción y en los desplazamientos solvatocrómicos que pudieran existir dependiendo de la conformación y carga de la molécula. Para este objetivo se eligió al modelo más simple de todos ellos, el ácido p-coumárico. En total se han tratado nueve confórmeros atendiendo a la isomería s-*cis/s-trans* de los posibles estados de protonación del sistema y a los rotámeros *syn* y *anti* que pueden existir para cada uno de ellos.

4.1. Detalles computacionales.

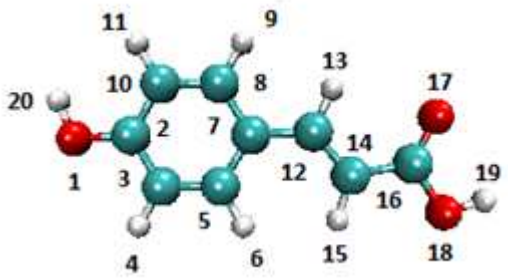
Se estudiaron los isómeros *cis* y *trans* del ácido p-coumárico en sus distintos estados de protonación junto con sus rotámeros *syn* y *anti* resultantes de la posición del grupo fenólico. En total se trataron nueve especies: cuatro neutras, pCA, cuatro monoaniónicas, pCA- (dos en forma de carboxilato y dos en forma de fenolato) y una dianiónica, pCA^{2-}. Las estructuras de mínima energía se obtuvieron empleando el método DFT con el funcional B3LYP [46,47] y el conjunto de base cc-pVDZ [131]. Las optimizaciones de geometría se realizaron con el programa Gaussian03 [185]. Las simulaciones necesarias para la obtención de la perturbación ocasionada por el disolvente se llevaron a cabo con el software MOLDY [133]. El método

ASEP/MD, que acopla dichos cálculos cuánticos y clásicos, fue el utilizado para realizar el estudio de la influencia del disolvente.

Los estados electrónicos fundamental y excitados de las estructuras de mínima energía en vacío y en disolución se describieron empleando la teoría CASSCF. La energía de correlación electrónica dinámica se calculó con la teoría de perturbación de segundo orden CASPT2 ya que, como es conocido, para el correcto estudio de tránsitos electrónicos en moléculas que presentan dobles enlaces conjugados es necesario incluir la contribución de la correlación dinámica. El conjunto de base empleado fue el mismo que para las optimizaciones en vacío y en disolución, cc-pVDZ. El espacio activo fue el resultante de incluir todas las configuraciones posibles que surgen de distribuir 14 electrones de valencia en 12 orbitales, todos ellos de naturaleza π, con un total de 10 raíces. Debido al tamaño limitado de la base empleada y para facilitar la comparación con los resultados experimentales, se empleó un IPEA igual a 0.0. Para minimizar la aparición de estados intrusos se fijó un *imaginary shift* de $0.1i\ E_h$. El programa empleado para el cálculo de las transiciones electrónicas fue Molcas 7.4 [186].

En las dinámicas moleculares, la celda de simulación contenía una molécula del confórmero como soluto y 900 moléculas de agua, descritas mediante el modelo TIP3P [134], con una geometría intramolecular fija. El tamaño de la caja cúbica fue de 30,06 Å. El potencial de interacción usado se construyó como una combinación de potenciales interatómicos de Lennard-Jones con interacciones electrostáticas [50]; los parámetros de Lennard-Jones corresponden al campo de fuerzas OPLS-AA [49, 50, 53, 54] y son los recogidos en la tablas 4.1A y 4.1B. Los parámetros de interacción de pares se obtienen como media geométrica de los pertenecientes a los átomos del soluto y los del oxígeno del agua. Hay que tener en cuenta que los parámetros de Lennard-Jones varían en el extremo carboxílico dependiendo del estado de protonación. Se aplicaron condiciones de contorno periódicas, y las interacciones no electrostáticas se truncaron a 11,59 Å. El tamaño de paso temporal utilizado fue de 0,5 fs y la interacción electrostática se calculó mediante el método de Ewald [57-59]. La temperatura se mantuvo fija a 298,15 K durante toda la simulación, empleando un termostato Nosé-Hoover [66, 67]. La densidad de la disolución es el valor de la densidad del agua, 1,000 g/cm^3. En todos los casos, las simulaciones constaron de 150 000 pasos temporales: 50 000 para alcanzar el equilibrio del sistema y 100 000 para la fase de producción y extracción de las configuraciones que se emplearon para la representación del disolvente; en el cálculo del ASEP, se seleccionó una configuración de cada 100, lo que resulta en un total de 1000 configuraciones por cada dinámica molecular. Los resultados finales fueron obtenidos como promedio de los últimos cinco ciclos ASEP/MD, es decir, 250 ps. Las cargas atómicas que representan a la molécula de soluto durante la dinámica molecular se obtuvieron mediante ajuste al potencial electrostático

molecular del soluto empleando el algoritmo CHELPG [93]. Las cargas iniciales fueron obtenidas por ajuste al potencial del soluto en vacío, aunque en las sucesivas etapas las cargas sufren variaciones, toda vez que el potencial electrostático molecular del soluto incorpora la polarización del disolvente.



	σ (Å)	ε (kcal/mol)
C2	3.55	0.070
C3	3.55	0.070
C5	3.55	0.070
C7	3.55	0.070
C8	3.55	0.070
C10	3.55	0.070
C12	3.55	0.076
C14	3.55	0.076
C16	3.75	0.105

	σ (Å)	ε (kcal/mol)
O1	3.07	0.170
H4	2.42	0.030
H6	2.42	0.030
H9	2.42	0.030
H11	2.42	0.030
H13	2.42	0.030
H15	2.42	0.030
H19	0	0
H20	0	0

		σ (Å)	ε (kcal/mol)
grupo COOH	O17	2.96	0.210
	O18	3.00	0.170
grupo COO-	O17	2.96	0.210
	O18	2.96	0.210

Tabla 4.1A. Parámetros de Lennard-Jones para el soluto.

	σ (Å)	ε (kcal/mol)	carga (u.a.)
O (W)	3.15	0.152	-0.834
H (W)	0	0	0.417

Tabla 4.1B. Parámetros de Lennard-Jones para el disolvente.

4.2. Especies neutras.

Se pueden distinguir 4 isómeros para la forma neutra del ácido p-coumárico, pCA. Dependiendo de las disposiciones *cis* o *trans* que presentan el doble enlace central y el enlace C=O del grupo carboxílico se obtienen los isómeros *s-cis* y *s-trans*. Adicionalmente, para cada uno de ellos, el hidrógeno del anillo fenólico puede estar en posiciones *syn* o *anti*. Estas cuatro especies se encuentran representadas en la figura 4.1 y se identifican como I (*anti*, *s-cis*), II (*syn*, *s-cis*), III (*anti*, *s-trans*) y IV (*syn*, *s-trans*).

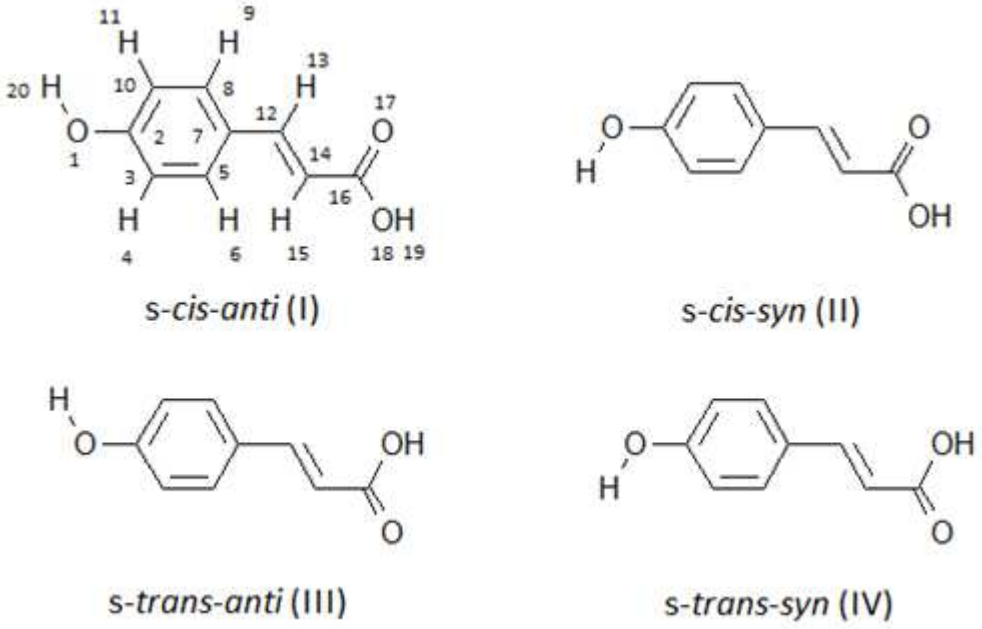


Figura 4.1. Isómeros para la forma neutra del ácido p-coumárico (pCA).

4.2.1. Influencia del disolvente sobre la geometría, distribución de carga y estabilidad relativa de las formas neutras.

En las tablas 4.2A y 4.2B se recogen los parámetros geométricos más significativos en fase gas y en disolución de los distintos confórmeros de la forma neutra. Así mismo, en la tabla 4.3 se muestra la diferente estabilidad energética que presentan en ambos ambientes. En fase

gas, las longitudes de enlace y los ángulos obtenidos en las optimizaciones son completamente equivalentes para todos los isómeros neutros. El único punto a destacar es el ligero carácter quinoidal del anillo fenólico ya que los enlaces C8-C10 y C3-C5 presentan un carácter de doble enlace más marcado con respecto a los del resto del anillo. La semejanza de las geometrías en vacío está en concordancia con la estabilidad energética de estos confórmeros. Como puede observarse, en vacío los isómeros *s-cis* son sólo 0,8 kcal/mol más estables que los *s-trans* y no existen diferencias significativas entre sus respectivas disposiciones *syn* y *anti*. Nuestros resultados son análogos a los publicados por Gromov y col. [190]: estos autores encuentran que el isómero *syn*, *s-cis* (forma II) es el más estable, siendo las diferencias entre los isómeros *anti* y *syn* de apenas 0,1 kcal/mol.

	Fase gas			
	I	II	III	IV
d(C2-C10)	1.401	1.402	1.401	1.402
d(C8-C10)	1.393	1.390	1.393	1.390
d(C7-C8)	1.408	1.411	1.408	1.411
d(C5-C7)	1.413	1.410	1.413	1.410
d(C3-C5)	1.387	1.390	1.387	1.390
d(C2-C3)	1.406	1.405	1.406	1.405
d(O1-C2)	1.360	1.360	1.360	1.360
d(O1-H20)	0.969	0.969	0.969	0.969
d(C7-C12)	1.459	1.459	1.461	1.461
d(C12-C14)	1.350	1.350	1.350	1.351
d(C14-C16)	1.474	1.474	1.471	1.471
d(C16-O17)	1.216	1.216	1.215	1.216
d(C16-O18)	1.361	1.361	1.363	1.363
d(O18-H19)	0.974	0.974	0.974	0.973
a(C7-C12-C14)	128.2	128.2	127.6	127.6
a(C12-C14-C16)	119.9	119.9	123.7	123.7
a(C14-C16-O17)	126.5	126.6	124.3	124.3
a(O17-C16-O18)	122.1	122.1	121.8	121.8

Tabla 4.2A. Longitudes de enlace (en Å) y ángulos de las formas neutras del pCA en vacío.

	Disolución			
	I	II	III	IV
d(C2-C10)	1.403	1.404	1.403	1.404
d(C8-C10)	1.391	1.389	1.391	1.390
d(C7-C8)	1.410	1.411	1.409	1.411
d(C5-C7)	1.413	1.411	1.413	1.411
d(C3-C5)	1.387	1.388	1.386	1.388
d(C2-C3)	1.408	1.407	1.408	1.406
d(O1-C2)	1.355	1.355	1.354	1.356
d(O1-H20)	0.993	0.994	0.994	0.994
d(C7-C12)	1.454	1.454	1.455	1.457
d(C12-C14)	1.353	1.353	1.353	1.353
d(C14-C16)	1.466	1.466	1.463	1.463
d(C16-O17)	1.229	1.229	1.230	1.230
d(C16-O18)	1.343	1.343	1.344	1.342
d(O18-H19)	1.003	1.003	1.001	1.002
a(C7-C12-C14)	128.9	128.3	127.7	126.9
a(C12-C14-C16)	119.7	120.0	124.0	124.6
a(C14-C16-O17)	125.3	125.4	122.8	122.5
a(O17-C16-O18)	121.7	121.8	121.7	121.8

Tabla 4.2B. Longitudes de enlace (en Å) y ángulos de las formas neutras del pCA en disolución.

	Fase gas	Disolución		
Confórmero	ΔE (kcal/mol)	ΔE_{sol} (kcal/mol)	ΔG_{int} (kcal/mol)	ΔG (kcal/mol)
I	0	0	0	0
II	0.09	0.1	-0.37	-0.27
III	0.81	1.14	-0.1	1.04
IV	0.84	1.17	-0.69	0.49

Tabla 4.3. Estabilidad relativa de las formas neutras del pCA en vacío (ΔE) y en disolución (ΔG). Se incluyen las componentes de la diferencia de energía libre en disolución, ΔE_{sol} y ΔG_{int}. ΔE_{sol} es la diferencia de energía interna del soluto y ΔG_{int} es la diferencia de energía libre de interacción soluto-disolvente.

Con respecto a la distribución electrónica, no obstante, sí se pueden observar algunas diferencias entre los cuatro confórmeros. En la tabla 4.4 se recogen los momentos dipolares en vacío y en disolución de las cuatro formas neutras para el estado fundamental, S0, y los dos

primeros estados excitados, S1 y S2. El momento dipolar total de una molécula puede ser considerado como la suma vectorial de todos los momentos dipolares de enlace. El valor de su módulo ayuda a la interpretación de las diferencias encontradas en el momento dipolar de los cuatro isómeros. De esta forma, cuando la dirección del momento dipolar correspondiente al enlace OH fenólico es opuesta a las direcciones de los momentos dipolares de los enlaces C=O y OH del extremo carboxílico, el momento dipolar total es más bajo que cuando la dirección de los tres momentos dipolares coincide. Debido a esto, en vacío, la disposición *anti* para el isómero *s-cis*, I, y la disposición *syn* para el *s-trans*, IV, presentan un valor para el estado fundamental S0 en torno a 1,5 D, mientras que la disposición *syn* para el isómero *s-cis*, II, y la disposición *anti* para el *s-trans*, III, presentan, respectivamente, valores en torno a 2,5 y 3,0 D.

	Fase gas			**Disolución**		
	S0	S1	S2	S0	S1	S2
I	1.5	1.5	6.8	2.3	2.4	9.5
II	2.6	2.6	6.5	4.3	4.4	10.2
III	3.1	3.2	7.5	5.5	5.6	11.5
IV	1.5	1.5	6.4	2.7	2.8	9.9

Tabla 4.4. Módulo de los momentos dipolares (en D) en vacío y en disolución para las formas neutras del pCA.

En disolución acuosa la distribución electrónica del cromóforo se polariza como resultado de la interacción con el disolvente. Esta polarización se observa en el incremento del momento dipolar con respecto a los valores en la fase gas. El incremento observado oscila entre un 53 y un 77% para los estados S0, entre un 60 y un 85 % para el S1 y entre un 40 y un 57 % para el estado S2. Al igual que en fase gas, prácticamente no existen diferencias en estabilidad entre los diferentes isómeros neutros en disolución. El único punto destacable es que la conformación *syn* es ligeramente más estable que la *anti*, como puede verse en el valor de la diferencia de energía libre de interacción, ΔG_{int}, en la tabla 4.3. Al igual que ocurre en fase gas, los isómeros *s-cis* son más estables que los *s-trans* aunque las diferencias energéticas son muy pequeñas. En cualquier caso, al ser tan bajos, estos valores de las diferencias de energía libre deben de tomarse con mucha cautela debido a las aproximaciones introducidas en el cálculo.

El disolvente también introduce variaciones en los parámetros geométricos del estado fundamental del cromóforo incluso si las modificaciones no son muy significativas. De forma general, los dobles enlaces se vuelven más cortos y los enlaces sencillos más largos cuando un

disolvente polar interacciona con el sistema en disolución y en el caso del ácido p-coumárico, el carácter quinoidal del anillo fenólico se acentúa. Es esperable que los extremos del cromóforo presenten interacciones más significativas con las moléculas de agua ya que pueden formar enlaces por puentes de hidrógeno con el disolvente. En las figuras 4.2A, 4.2B, 4.2C, 4.2D y 4.2E se representan las funciones de distribución radial, *rdf*, correspondientes a las interacciones entre el hidrógeno del agua (Hw) y los oxígenos O1, O17 y O18, así como las de los oxígenos del agua (Ow) con los hidrógenos H19 y H20. Como consecuencia del establecimiento de estas interacciones, las longitudes de los enlaces OH y C=O muestran valores más altos en disolución que en fase gas (ver tablas 4.2A y 4.2B). Para cada una de las interacciones no se observan diferencias significativas entre las distintas formas neutras en lo que se refiere a la disposición del disolvente en torno a las mismas.

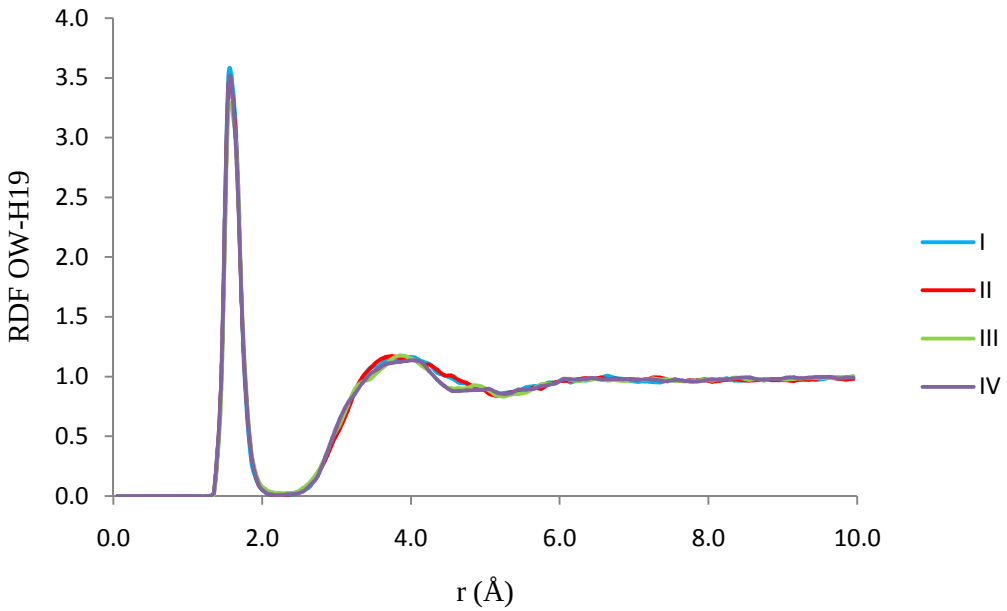


Figura 4.2A. Funciones de distribución radial Ow-H19 para las formas neutras de pCA.

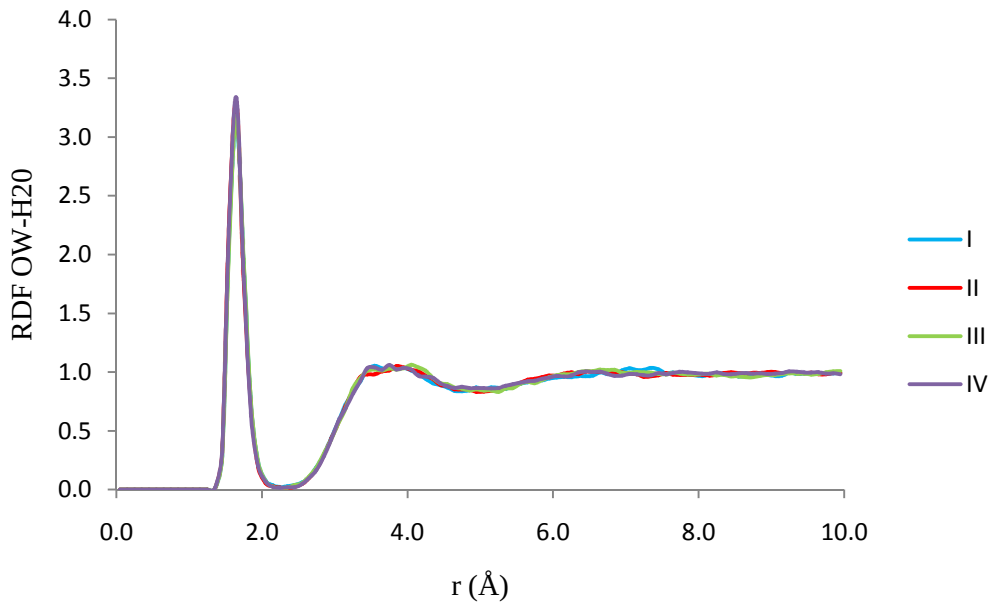


Figura 4.2B. Funciones de distribución radial Ow-H20 para las formas neutras del pCA.

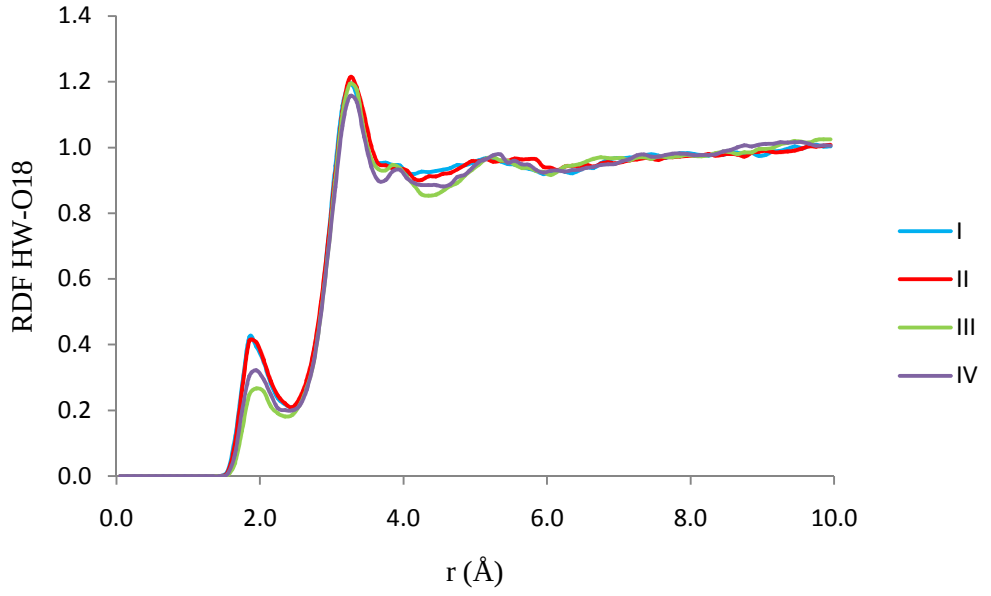


Figura 4.2C. Funciones de distribución radial Hw-O18 para las formas neutras de pCA.

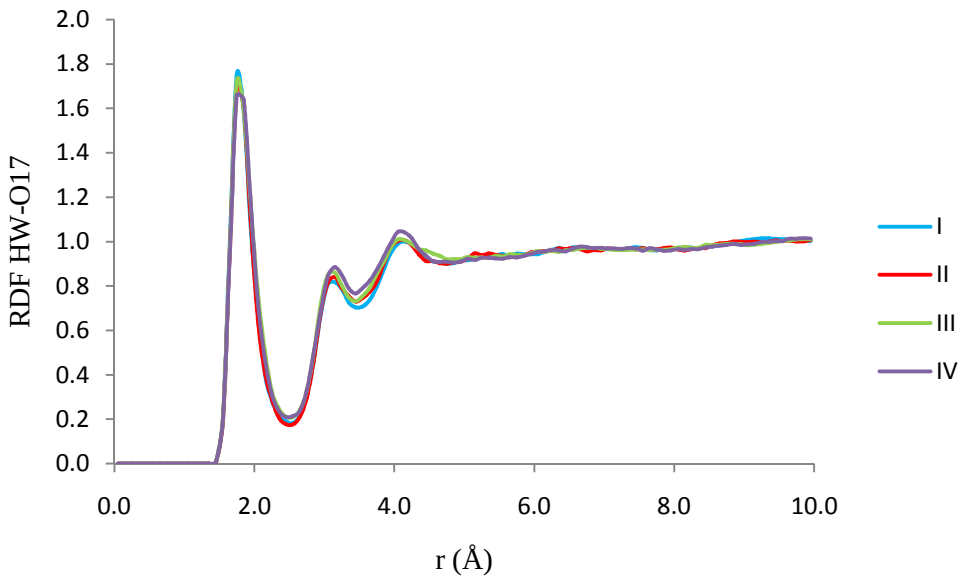


Figura 4.2D. Funciones de distribución radial Hw-O17 para las formas neutras de pCA.

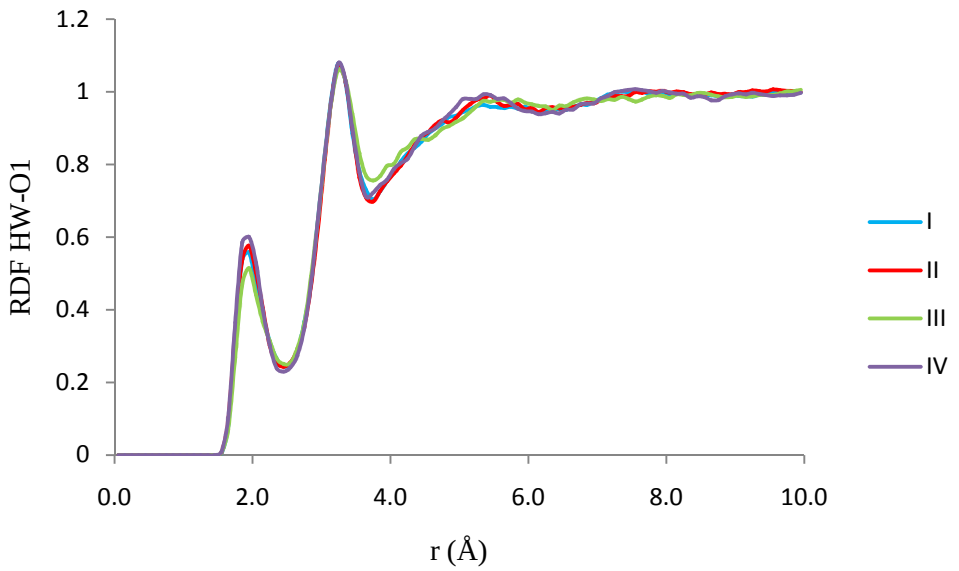


Figura 4.2E. Funciones de distribución radial Hw-O1 para las formas neutras de pCA.

Con respecto a las cargas, es evidente que las variaciones más significativas son las relacionadas con los átomos con una interacción más intensa con el disolvente, que son los oxígenos y los hidrógenos unidos al oxígeno (los átomos O1, O17, O18, H19 y H20). Debido a la formación de enlaces por puente de hidrógeno con las moléculas de agua la tendencia es el incremento de la carga negativa en los oxígenos y la positiva en los hidrógenos al pasar de vacío a disolución. En la tabla 4.5 se muestran las cargas atómicas de Mulliken con las cargas de los hidrógenos sumadas a los átomos pesados (con la excepción de H19 y H20) para el estado

fundamental y los dos primeros estados excitados del confórmero I en fase gas y en disolución. Idénticas conclusiones se obtienen para las formas II, III y IV.

	Fase gas			**Disolución**		
	S0	S1	S2	S0	S1	S2
C2	0.128	0.100	0.191	0.134	0.098	0.167
C10	-0.009	-0.002	-0.010	0.017	0.024	0.097
C8	0.051	0.048	0.105	0.059	0.058	0.038
C7	-0.140	-0.093	-0.210	-0.158	-0.097	0
C5	0.031	0.011	0.103	0.037	0.020	0.036
C3	0.061	0.061	0.055	0.045	0.053	0.089
C12	0.173	0.148	0.238	0.174	0.135	-0.031
C14	-0.112	-0.098	-0.259	-0.105	-0.091	-0.137
C16	0.422	0.417	0.384	0.470	0.464	0.407
O1	-0.319	-0.306	-0.261	-0.399	-0.387	-0.328
O17	-0.324	-0.323	-0.365	-0.455	-0.455	-0.498
O18	-0.319	-0.319	-0.329	-0.367	-0.368	-0.386
H20	0.176	0.176	0.177	0.268	0.268	0.269
H19	0.180	0.180	0.180	0.279	0.279	0.279
Anillo	-0.020	-0.005	0.151	0.004	0.037	0.365
Doble enlace	0.061	0.050	-0.020	0.069	0.044	-0.168
Extremo COOH	-0.041	-0.045	-0.131	-0.073	-0.081	-0.199

Tabla 4.5. Cargas de Mulliken (en u.a.) para el confórmero I en vacío y en disolución.

4.2.2. Espectro de absorción en las formas neutras.

En la tabla 4.6 se muestran las energías de transición en vacío y en disolución para los cuatro isómeros neutros del ácido p-coumárico. La homogeneidad obtenida en las propiedades estructurales y energéticas de dichos isómeros (sección anterior) se vuelve a repetir a la hora de abordar sus propiedades espectroscópicas. La transición ($\pi \rightarrow \pi^*$) más probable en vacío corresponde a una transición desde el estado fundamental al segundo excitado, S2, con una fuerza de oscilador en torno a 0,5. Se trata de una transición HOMO→LUMO con una banda que aparece sobre los 4,5 eV y los 4,6 eV para los isómeros *s-cis* y *s-trans*, respectivamente. La transición al primer estado excitado, S1, corresponde a una transición HOMO→LUMO+1 con valor de energía en torno a los 4,23 eV para todas las formas neutras. En la figura 4.3 se representan los orbitales implicados en estas transiciones así como los mapas tridimensionales de variación de densidad electrónica para las transiciones S0-S1 y S0-S2 del isómero I en vacío.

Las topologías de los orbitales y de los mapas para el resto de los confórmeros son completamente equivalentes, y son similares a los encontrados por Gromov y col. [190]. Así, la transición S0-S2 corresponde principalmente a una redistribución de la densidad electrónica desde el anillo fenólico y el doble enlace central hacia los enlaces sencillos adyacentes a este último. Por el contrario, el anillo fenólico es el que está principalmente implicado en la transición S0-S1. Dividiendo la molécula en tres partes (anillo fenólico, enlace doble central y extremo carboxílico) y analizando la variación de las cargas de Mulliken durante la transición electrónica (tabla 4.5) resulta evidente que el estado fundamental y el primer excitado muestran prácticamente la misma distribución electrónica mientras que en el segundo estado excitado existe un descenso de la densidad electrónica en la parte del anillo, densidad que se traslada al doble enlace y al extremo carboxílico. Estos hechos están de acuerdo con los mapas de variación de densidad electrónica, representados en la figura 4.3, y con el aumento del momento dipolar para el estado S2 con respecto a los de los estados fundamental y primer excitado. Este mismo comportamiento se da en disolución, si bien los valores de la carga positiva en el anillo y de las negativas en el doble enlace y en el extremo carboxílico para el estado S2 son mucho mayores. Se puede concluir por tanto que el disolvente facilita la redistribución de la densidad electrónica desde el anillo aromático hacia el resto de la molécula. Los incrementos en el momento dipolar en disolución con respecto a los valores en fase gas están de acuerdo con esta afirmación. De manera coherente con todo lo anterior, los orbitales y los mapas de variación de densidad electrónica para las transiciones verticales S0-S1 y S0-S2 en disolución acuosa son similares a los mostrados en fase gas. Es importante advertir que, aunque se están considerando las poblaciones de Mulliken para analizar los cambios en la densidad electrónica, en todas las simulaciones se utilizaron cargas obtenidas mediante el algoritmo CHELPG [93], ya que ofrecen una mejor representación de la interacción electrostática entre soluto y disolvente. No obstante, si se quiere un análisis cualitativo, las cargas de Mulliken son perfectamente válidas.

Las energías de transición obtenidas en vacío (4,23 y 4,49 eV) difieren de los valores publicados por Gromov y col. [190] (4,84 y 5,13 eV para las transiciones a los estados S1 y S2) y Martínez y col. [191] (4,93 y 5,17 eV para S1 y S2). Martínez y col. emplearon la base de cálculo 6-31G* a los niveles de teoría EOM-CCSD y CASPT2. Para CASPT2 se sirvieron como referencia de una función de onda CASSCF, calculada ésta como el promedio de tres o cinco raíces, con un espacio activo resultante de distribuir 6 electrones en 5 orbitales, y un *IPEA shift* igual a 0,25. Gromov y col. llevaron a cabo cálculos con un nivel EOM-CCSD similar. Las diferencias son achacables probablemente a los diferentes niveles de cálculo utilizados. A pesar de estas discrepancias, todos ellos coinciden en la naturaleza de los estados S0, S1 y S2 y en el valor de la diferencia de energía entre los dos estados excitados, que oscila entre los 0,24 y los 0,30 eV. Esta diferencia es notablemente mayor en el estudio de Sergi y col. [196] (1,4 eV), en

el que emplearon un nivel de teoría TD-DFT y una base triple-ζ con una función de polarización. Este valor tan alto cuestiona la validez de TD-DFT para estudiar este sistema.

En la tabla 4.6 se muestra también el desplazamiento de las bandas de absorción ocasionado por el disolvente, magnitud conocida como *solvent shift* (δ). Como se ha dicho anteriormente, al ser los orbitales y los mapas de variación de densidad electrónica implicados en las transiciones S0-S1 y S0-S2 similares tanto en vacío como en disolución, se puede decir que el disolvente no modifica la naturaleza de la transición, si bien afecta a su valor. Experimentalmente, se obtiene una energía de transición en disolución acuosa a pH ácido cercana a los 4,00 eV (310 nm) [154]. De acuerdo a nuestros cálculos, la transición más probable corresponde al estado S2, con una energía situada sobre los 4,30 eV y una fuerza de oscilador cercana a 0,4. La energía se encuentra sobreestimada en torno a 0,3 eV. No obstante, hay que tener en cuenta que en los cálculos realizados no se tiene en cuenta la polarización electrónica del disolvente. Cálculos adicionales en los que se tiene en cuenta esta componente dan un resultado de 4,00 eV, en perfecto acuerdo con el dato experimental.

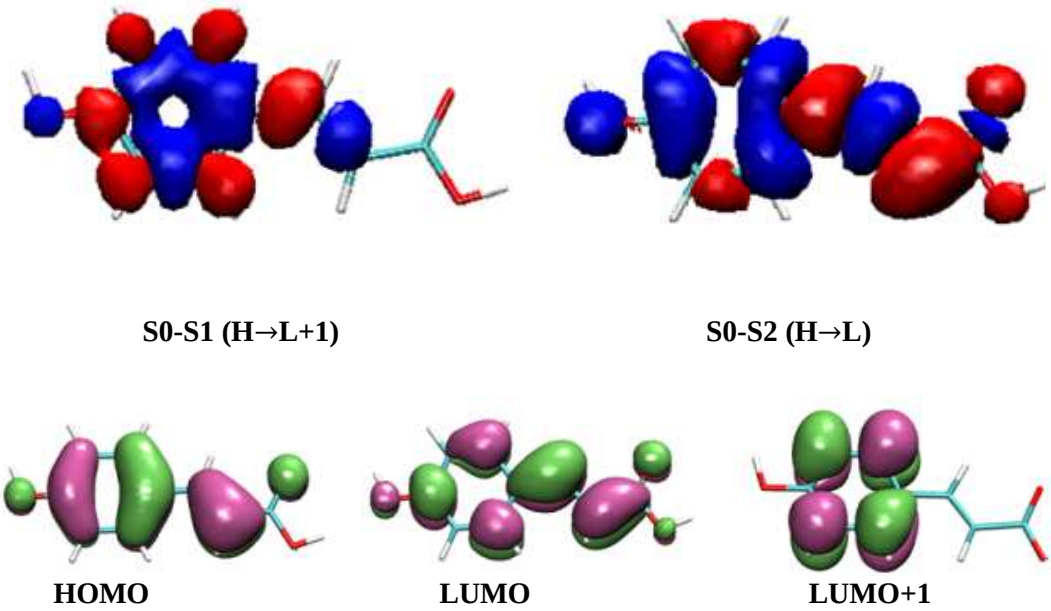


Figura 4.3. Mapas de variación de densidad electrónica para las transiciones en el isómero I S0-S1 y S0-S2 y orbitales HOMO, LUMO y LUMO+1 en fase gas.

	Fase gas			
	I	II	III	IV
S0-S1	4.23	4.23	4.24	4.24
S0-S2	4.49	4.52	4.62	4.65
f. osc. S0-S1	0.005	0.005	0.005	0.004
f. osc. S0-S2	0.566	0.549	0.583	0.564

	Disolución			
	I	II	III	IV
S0-S1	4.22	4.22	4.23	4.22
S0-S2	4.33	4.29	4.37	4.36
f. osc. S0-S1	0.097	0.005	0.005	0.005
f. osc. S0-S2	0.333	0.425	0.408	0.394

		Solvent shift			
		I	II	III	IV
δ (S0-S1)	(eV)	-0.011	-0.009	-0.013	-0.012
	(kcal/mol)	-0.24	-0.21	-0.31	-0.29
δ (S0-S2)	(eV)	-0.161	-0.234	-0.250	-0.291
	(kcal/mol)	-3.72	-5.39	-5.78	-6.72

Tabla 4.6. Energías de transición en vacío y en disolución (en eV), fuerzas de oscilador y solvent shift para las formas neutras de pCA.

La transición S0-S1 es la que menos afectada resulta por la interacción con el disolvente y las energías de transición en vacío y en disolución presentan valores semejantes. Los estados S0 y S1 están estabilizados en la misma extensión por el disolvente y no hay por tanto una variación en el valor de la energía de transición. Sin embargo, no sucede lo mismo con la transición S0-S2. En este caso, el estado S2 muestra un momento dipolar considerablemente mayor que el estado fundamental y es de esperar por tanto una interacción mucho más intensa con el disolvente. Ya que estas interacciones son de naturaleza estabilizante, el estado excitado S2 se estabiliza en mayor medida que el fundamental y de ahí que la energía de transición S0-S2 sea más baja que en fase gas. Se puede ver así un desplazamiento hacia el rojo (*red shift*) de entre 0,16 eV y 0,29 eV (3,7-6,7 kcal/mol), dependiendo de la forma neutra. El *solvent shift* de la transición S0-S2 es el mismo para todas las formas neutras, siendo esto un reflejo de que para todos ellos se dan las mismas interacciones con las moléculas de agua.

4.3. Especies monoaniónicas.

Para la especie monoaniónica, pCA-, se han estudiado 4 isómeros, todos ellos están representados en la figura 4.4. En función de cuál es el grupo hidroxilo que se disocia se tienen los aniones fenolato o carboxilato, y cada uno de estos aniones presenta dos posibles formas. Atendiendo a la posición del hidrógeno del anillo fenólico tenemos las especies V (*anti*) y VI (*syn*) para el anión carboxilato. Para el fenolato, dependiendo de las disposiciones del doble enlace central y del doble enlace del grupo COOH, se obtienen las especies VII (*s-cis*) y VIII (*s-trans*).

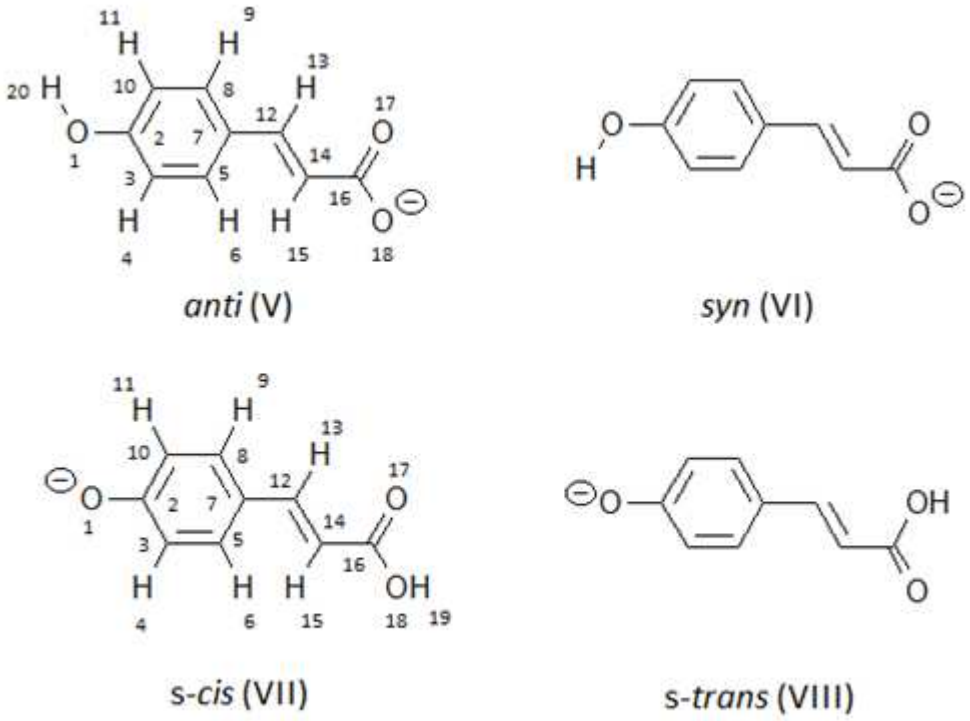


Figura 4.4. Isómeros para la forma monoaniónica del ácido p-coumárico.

4.3.1. Influencia del disolvente sobre la geometría, distribución de carga y estabilidad relativa de las especies fenolato y carboxilato.

En la tabla 4.7 se recogen las energías relativas en fase gas así como las diferencias de energía libre en disolución entre las distintas formas de la especie monoaniónica. En fase gas el estado fundamental de la forma fenolato es más estable que la forma carboxílica en aproximadamente 19 kcal/mol. Este valor es ligeramente superior a los 13 kcal/mol publicado por Rocha-Rinza y col. [151] a un nivel de cálculo B3LYP/aug-cc-pVDZ. La diferencia puede ser atribuida a que en nuestro estudio no se emplearon funciones difusas porque, aunque es conocida su importancia en el estudio de aniones en fase gas, su uso puede ser problemático

cuando se llevan a cabo estudios en disolución. Puesto que en última instancia el interés de este estudio es el cálculo del *solvent shift* y ésta es una magnitud obtenida como la diferencia de la energía de transición en fase gas y en disolución, el posible error cometido por la ausencia de estas funciones se ve minimizado.

	Fase gas	**Disolución**		
Confórmero	ΔE (kcal/mol)	ΔE_{solute} (kcal/mol)	ΔG_{int} (kcal/mol)	ΔG (kcal/mol)
V	0.00	0.00	0.00	0.00
VI	-0.05	0.80	-1.55	-0.75
VII	-19.00	-24.54	26.03	1.50
VIII	-18.45	-23.65	26.01	2.36

Tabla 4.7. Estabilidad relativa de las formas aniónicas pCA- en vacío (ΔE) y en disolución (ΔG). Se incluyen las componentes de la diferencia de energía libre en disolución, ΔE_{sol} y ΔG_{int}. ΔE_{sol} es la diferencia de energía interna del soluto y ΔG_{int} es la diferencia de energía libre de interacción soluto-disolvente.

Con respecto a las geometrías optimizadas, en las tablas 4.8A y 4.8B se recogen las distancias y los ángulos de enlace más significativos en fase gas y en disolución. Así mismo, en las tablas 4.9A, 4.9B y 4.9C se muestran las cargas de Mulliken de los primeros estados electrónicos de los isómeros V (carboxilato) y VII (fenolato). Las cargas atómicas de los hidrógenos han sido sumadas a los átomos pesados correspondientes (salvo H19 y H20). De acuerdo a los parámetros geométricos y a las poblaciones de Mulliken obtenidas en fase gas para las distintas especies, los valores obtenidos son compatibles con la existencia de las formas resonantes representadas en la figura 4.5. El carboxilato en particular muestra valores equivalentes de las distancias de enlace C16-O17 y C16-O18, siendo estos valores intermedios entre los correspondientes a simples y dobles enlaces típicos. La carga negativa se deslocaliza únicamente en el extremo carboxílico de la molécula. En cambio, en el anión fenolato la carga negativa puede deslocalizarse a lo largo de toda la molécula, mostrando un equilibrio entre una estructura quinoidal en donde dicha carga negativa se localiza en el fragmento COOH, y una estructura no quinoidal donde ésta se concentra en el oxígeno fenólico. La geometría calculada para el anión fenolato en vacío presenta distancias de enlace intermedias entre las dos posibles formas resonantes. Por un lado el anillo fenólico tiene estructura quinoidal, con distancias O1-C2, C8-C10 y C3-C5 mucho menores que las mostradas por el anión carboxilato mientras que en la cadena alifática se produce un aumento en longitud del enlace doble central C12-C14 y una disminución de los enlaces simples adyacentes, produciéndose una disminución del BLA

(*Bond Lenght Alternation*) en esta zona de la molécula. Como puede observarse en la Tabla 4.9C, en el estado fundamental gran parte de la carga negativa se localiza en el extremo del anillo fenólico y más específicamente en el O1. El resto de la densidad electrónica se reparte entre la parte central de la molécula y en mayor extensión por el extremo carboxílico. Esta distribución pone de manifiesto el papel desempeñado por las dos posibles formas resonantes del anión fenolato. A la vista de la Tabla 4.8A se puede concluir que no existen diferencias estructurales significativas entre las formas *anti* y *syn* del anión carboxilato y entre los isómeros *s-cis* y *s-trans* del fenolato. No obstante desde el punto de vista de la estabilidad, las formas *syn* del carboxilato y la *s-cis* del fenolato son ligeramente más estables que las correspondientes *anti* y *s-trans* (ver Tabla 4.7).

	Fase gas			
	V	VI	VII	VIII
d(C2-C10)	1.398	1.398	1.459	1.459
d(C8-C10)	1.398	1.396	1.374	1.374
d(C7-C8)	1.409	1.412	1.430	1.430
d(C5-C7)	1.414	1.412	1.432	1.431
d(C3-C5)	1.392	1.394	1.372	1.373
d(C2-C3)	1.402	1.401	1.463	1.463
d(O1-C2)	1.379	1.379	1.252	1.252
d(O1-H20)	0.968	0.968	---	---
d(C7-C12)	1.468	1.468	1.423	1.424
d(C12-C14)	1.346	1.346	1.378	1.378
d(C14-C16)	1.544	1.543	1.441	1.440
d(C16-O17)	1.257	1.257	1.230	1.230
d(C16-O18)	1.257	1.258	1.387	1.387
d(O18-H19)	---	---	0.973	0.972
a(C7-C12-C14)	128.5	128.4	129.9	129.6
a(C12-C14-C16)	122.8	123.0	120.8	124.1
a(C14-C16-O17)	116.0	116.0	128.9	126.7
a(O17-C16-O18)	130.2	130.2	118.8	118.6

Tabla 4.8A. Longitudes de enlace (en Å) y ángulos (en º) de las formas aniónicas pCA- en fase gas.

	Disolución			
	V	VI	VII	VIII
d(C2-C10)	1.400	1.402	1.439	1.439
d(C8-C10)	1.394	1.392	1.380	1.381
d(C7-C8)	1.406	1.409	1.422	1.421
d(C5-C7)	1.411	1.409	1.424	1.423
d(C3-C5)	1.389	1.389	1.378	1.378
d(C2-C3)	1.406	1.405	1.443	1.443
d(O1-C2)	1.363	1.360	1.280	1.281
d(O1-H20)	0.991	0.992	---	---
d(C7-C12)	1.462	1.463	1.432	1.434
d(C12-C14)	1.346	1.347	1.368	1.366
d(C14-C16)	1.498	1.495	1.446	1.445
d(C16-O17)	1.266	1.266	1.237	1.237
d(C16-O18)	1.267	1.268	1.354	1.353
d(O18-H19)	---	---	0.999	0.999
a(C7-C12-C14)	127.8	127.2	129.2	128.1
a(C12-C14-C16)	122.7	123.4	120.2	124.2
a(C14-C16-O17)	119.1	119.3	126.3	123.7
a(O17-C16-O18)	124.6	124.5	120.4	120.4

Tabla 4.8B. Longitudes de enlace (en Å) y ángulos (en º) de las formas aniónicas pCA- en disolución.

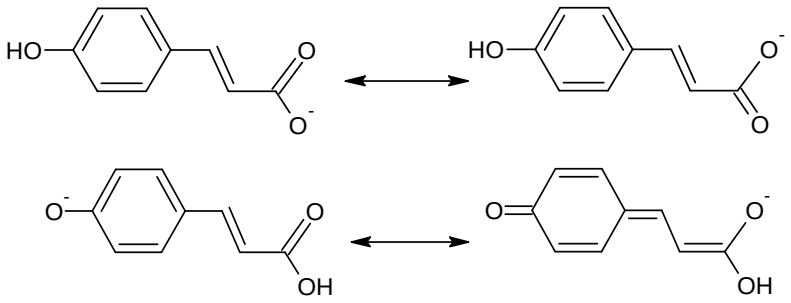


Figura 4.5. Estructuras resonantes para los aniones carboxilato y fenolato.

Cuando se tiene en cuenta la interacción con las moléculas del disolvente, se alteran muchas de las propiedades de estos isómeros con respecto a lo encontrado en fase gas, empezando con la estabilidad relativa. Mientras que en fase gas la forma más estable es el fenolato ya que es la que presenta la carga negativa más deslocalizada, en disolución se produce una inversión. El disolvente estabiliza en mayor extensión aquellos sistemas en donde la carga se encuentra localizada, como es el caso del anión carboxilato, y por lo tanto la convierte en la

especie más estable en disolución (tabla 4.9B). Sin embargo, la población de la forma fenolato no es despreciable. Concretamente, si consideramos los confórmeros más estables de las formas fenolato y carboxilato, la diferencia de estabilidad ronda los 2,25 kcal/mol (tabla 4.7). Se observa cómo la diferencia de estabilidad registrada en fase gas entre los aniones carboxilato y fenolato se reduce notablemente al pasar a disolución debido a la estabilización que ejerce el disolvente sobre solutos cargados. Las cargas de Mulliken para el fenolato (tabla 4.9C) muestran cómo la carga negativa sobre el oxígeno fenólico (O1) es mayor en disolución que en fase gas, haciendo de nuevo hincapié en la preferencia que tiene el disolvente de interaccionar con cargas localizadas. De esta manera, la carga negativa está menos deslocalizada a lo largo del cromóforo, la carga sobre el grupo COOH es más baja, y por consiguiente la forma quinoidal está menos favorecida que en fase gas. Esta hipótesis se confirma cuando se analiza el cambio de los parámetros geométricos del anión fenolato causado por la interacción con el disolvente (tabla 4.8B). Los enlaces O1-C2, C8-C10, C3-C5, C7-C12 y C14-C16 ven incrementada su longitud y los enlaces conjugados muestran el efecto contrario. Además, los enlaces O1-C2, C16-O17 y O18-H19 ven incrementada su longitud como consecuencia de la formación de enlaces por puentes de hidrógeno de los átomos O1, O17 y H19 con las moléculas de agua.

	Fase gas				
	S0	S1	S2	S3	S4
C2	0.122	0.035	0.127	0.147	0.063
C10	-0.036	-0.092	-0.050	-0.211	-0.004
C8	0.024	-0.017	0.014	-0.160	-0.038
C7	-0.067	-0.193	-0.085	-0.155	-0.023
C5	0.018	-0.054	-0.020	-0.125	-0.061
C3	0.033	0.005	0.016	-0.179	0.046
C12	0.054	0.060	0.098	0.175	-0.015
C14	-0.151	-0.525	-0.128	-0.353	-0.096
C16	0.319	0.378	0.314	0.381	0.309
O1	-0.348	-0.364	-0.331	-0.357	-0.324
O17	-0.566	-0.175	-0.559	-0.148	-0.509
O18	-0.560	-0.216	-0.552	-0.172	-0.506
H20	0.156	0.156	0.156	0.156	0.157
Anillo	-0.097	-0.523	-0.173	-0.884	-0.184
Doble enlace	-0.097	-0.465	-0.030	-0.178	-0.110
Extremo COO-	-0.807	-0.012	-0.797	0.062	-0.706

Tabla 4.9A. Cargas de Mulliken (en u.a.) para el isómero V en vacío.

	Disolución		
	S0	S1	S2
C2	0.127	0.105	0.181
C10	0.011	0.012	0.002
C8	0.048	0.042	0.095
C7	-0.145	-0.106	-0.234
C5	0.028	0.006	0.093
C3	0.043	0.042	0.032
C12	0.119	0.104	0.189
C14	-0.147	-0.135	-0.261
C16	0.405	0.401	0.370
O1	-0.411	-0.396	-0.354
O17	-0.668	-0.668	-0.679
O18	-0.671	-0.67	-0.697
H20	0.263	0.263	0.263
Anillo	-0.037	-0.032	0.078
Doble enlace	-0.028	-0.031	-0.072
Extremo COO-	-0.935	-0.937	-1.006

Tabla 4.9B. Cargas de Mulliken (en u.a.) para el isómero V en disolución.

	Fase gas		Disolución	
	S0	S1	S0	S1
C2	0.191	0.160	0.189	0.190
C10	-0.138	-0.044	-0.100	-0.021
C8	0.031	-0.001	0.048	0.047
C7	-0.246	-0.084	-0.232	-0.105
C5	0.013	-0.033	0.024	0.014
C3	-0.111	-0.086	-0.075	-0.028
C12	0.161	0.054	0.176	0.048
C14	-0.262	-0.258	-0.168	-0.248
C16	0.422	0.363	0.473	0.395
O1	-0.452	-0.429	-0.718	-0.591
O17	-0.403	-0.432	-0.5	-0.564
O18	-0.357	-0.363	-0.385	-0.406
H19	0.152	0.152	0.269	0.268
Anillo	-0.713	-0.517	-0.865	-0.493
Doble enlace	-0.101	-0.204	0.008	-0.200
Extremo COOH	-0.187	-0.280	-0.143	-0.307

Tabla 4.9C. Cargas de Mulliken (en u.a.) para el isómero VII en vacío y en disolución.xxx

En la figura 4.6B se representan diferentes *rdf* correspondientes al isómero *s-cis* del anión fenolato (VII). Puede observarse cómo la molécula establece enlaces por puente de hidrógeno de diferente intensidad dependiendo del par considerado. De esta forma, el primer y segundo pico de la *rdf* O1-Hw en el fenolato son más altos si los comparamos con el correspondiente a la función O17-Hw, incluso si sus posiciones coinciden completamente. Este hecho está de acuerdo con la mayor carga negativa alojada por el átomo O1 y es señal de un disolvente más estructurado alrededor del oxígeno fenólico. El carácter ácido del átomo H19 se pone de manifiesto en la función H19-Ow: el primer pico está desplazado hacia distancias demasiado cortas y la profundidad de su mínimo es muy marcada. Estos hechos pueden ser interpretados como signo de una interacción muy fuerte del átomo H19 con una molécula de agua que podría llevar a la desprotonación del anión fenolato para dar lugar a la especie dianiónica, pCA^{2-}.

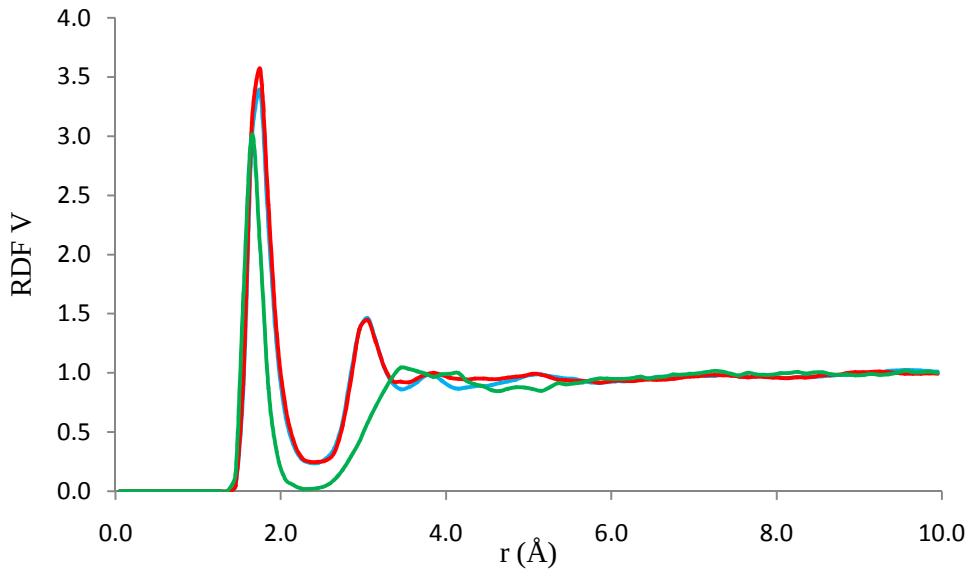


Figura 4.6A. Funciones de distribución radial O17-Hw (azul), O18-Hw (rojo) y H20-Ow (verde) para la forma carboxilato V.

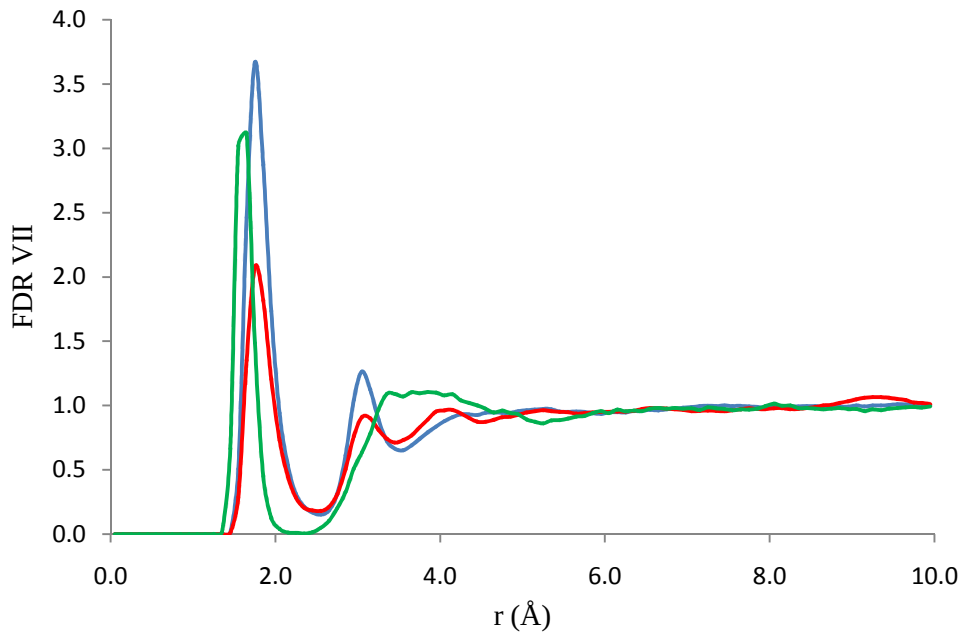


Figura 4.6B. Funciones de distribución radial O1-Hw (azul), O17-Hw (rojo) y H20-Ow (verde) para la forma fenolato VII.

Para el anión carboxilato puede decirse que el efecto del disolvente sobre la geometría está principalmente localizado en los extremos del cromóforo (tablas 4.8A y 4.8B): se incrementan los enlaces O1-H20, C16-O17, C16-O18 y se acorta el enlace C14-C16 debido a la formación de fuertes enlaces de hidrógeno con el agua. En la figura 4.6A se representan diferentes *rdf* correspondientes al isómero *syn* del anión carboxilato (V). Se ve claramente la similitud de las *rdf* para los átomos O17 y O18, y la misma conclusión obtenida para el hidrógeno H19 del fenolato se puede obtener del análisis de la *rdf* correspondiente al hidrógeno H20.

4.3.2. Espectro de absorción en las formas monoaniónicas.

Los valores de energía para las transiciones más importantes en vacío y en disolución se encuentran recogidos en la Tabla 4.10, junto con los valores calculados de *solvent shift*. Así mismo, los valores del momento dipolar se muestran en la Tabla 4.11. No obstante, existen algunos aspectos que hay que tener en cuenta previamente al estudio del efecto del disolvente en el espectro de absorción de los isómeros monoaniónicos del ácido p-coumárico (pCA-). Por una parte, es importante indicar que ambos tipos de aniones presentan bandas de absorción $\pi \rightarrow \pi^*$ en el continuo de ionización. Es decir, las energías de ionización están por debajo de la primera energía de transición [197], y por lo tanto los estados excitados son estados metaestables. Esta es la razón por la cual se debe ser prudente al comparar las energías de transición vertical

obtenidas por métodos experimentales y teóricos en fase gas para el cromóforo aislado. No obstante, éste no parece ser el caso cuando el cromóforo se encuentra en un entorno más complejo como por ejemplo en presencia de un contraión o dentro de la proteína, tal y como encontraron Gromov y col. [164] para una molécula similar (derivado $pCTMe^-$). Estos autores observaron que el valor del potencial de ionización se desplazaba a valores más altos de energía en presencia de dos moléculas de agua próximas al oxígeno del anillo (en un intento de imitar las interacciones con el disolvente) o bien con una molécula del aminoácido arginina en la posición que dicho aminoácido ocuparía en la proteína. Nuestro propósito en el presente estudio es poner de manifiesto el cambio experimentado por la distribución electrónica del cromóforo cuando se tienen en cuenta interacciones específicas con el disolvente y el efecto que esto puede tener en la posición del máximo de absorción con respecto a la fase gas. Es únicamente en este contexto en el que se deben de considerar los valores de las transiciones electrónicas en vacío calculadas aquí.

Por otra parte, existen importantes discrepancias entre el espectro de absorción del anión carboxilato en fase gas medido experimentalmente del que se obtiene teóricamente. Mientras que los resultados experimentales en fase gas indican que el máximo de absorción para ambos tipos de aniones (carboxilato y fenolato) aparece a 2,88 eV [151, 152], los cálculos *ab initio* ofrecen un amplio rango de valores dependiendo del método teórico empleado [151, 182, 197]. Además, independientemente de la mejor o peor reproducción de los datos experimentales es de destacar que sólo el método aug-MCQDPT2 consigue dar máximos similares para ambos tipos de aniones (2,85 y 2,82 eV para las formas carboxilato y fenolato, respectivamente) [151], mientras que el resto de los métodos empleados proporcionan diferencias comprendidas entre 1 y 2 eV. Ante estos resultados tan dispares, Zuev y col. [197] sugirieron la posibilidad de que existiera una contaminación de la muestra de carboxilato con cantidades traza de la forma fenolato, animando así a revisar los resultados experimentales. Nuestros resultados a nivel CASPT2 (14,12)/cc-pVDZ//B3LYP/cc-pVDZ muestran una diferencia de 2,1 eV entre las energías de transición en fase gas de las formas carboxilato y fenolato, en concordancia con los resultados obtenidos a nivel MRMP2/d-aug-cc-pVDZ [151]. Dadas las dudas acerca del espectro de absorción en fase gas para el anión carboxilato, y considerando el buen acuerdo entre la energía de excitación calculada para el fenolato (2,89 eV y 2,91 eV para los isómeros VII y VIII, respectivamente) y el dato experimental (2,88 eV), se ha considerado apropiado el nivel de cálculo empleado en nuestro estudio.

	Fase gas			
	V	VI	VII	VIII
S0-S1	3.87	3.86	2.89	2.91
S0-S2	4.03	4.03	---	---
S0-S3	4.68	4.69	---	---
S0-S4	5.06	5.05	---	---
f. osc. S0-S1	0.017	0.016	1.002	1.052
f. osc. S0-S2	0.010	0.009	---	---
f. osc. S0-S3	0.000	0.001	---	---
f. osc. S0-S4	0.501	0.499	---	---

	Disolución			
	V	VI	VII	VIII
S0-S1	4.26	4.25	3.10	3.14
S0-S2	4.68	4.76	---	---
f. osc. S0-S1	0.005	0.005	0.882	0.848
f. osc. S0-S2	0.572	0.536	---	---

		Solvent shift			
		V	VI	VII	VIII
δ (S0-S1)	(eV)	0.223	0.223	0.209	0.229
	(kcal/mol)	5.14	5.15	4.81	5.29
δ (S0-S2)	(eV)	-0.390	-0.291	---	---
	(kcal/mol)	-8.99	-6.72	---	---

Tabla 4.10. Energías de transición en vacío y en disolución (en eV), fuerzas de oscilador y solvent shift para los isómeros pCA-.

	Fase gas				
	S0	S1	S2	S3	S4
V	17.54	2.99	16.66	4.64	14.90
VI	17.30	2.10	16.40	4.84	14.67
VII	5.51	1.98	---	---	---
VIII	5.33	2.58	---	---	---

	Disolución				
	S0	S1	S2	S3	S4
V	22.22	22.13	26.49	24.05	14.16
VI	22.01	21.91	25.87	24.65	14.01
VII	12.78	4.11	---	---	---
VIII	12.73	4.78	---	---	---

Tabla 4.11. Módulo de los momentos dipolares (en D) en vacío y en disolución para los isómeros pCA-.

En la figura 4.7A se representan los orbitales implicados y los mapas tridimensionales de variación de densidad electrónica para la forma V en vacío. El espectro electrónico teórico del anión carboxilato resulta muy complejo debido al elevado número de estados excitados de energía inferior al estado al cual la transición es más probable. De hecho, la transición con la constante de fuerza de oscilador más elevada en vacío corresponde a una transición desde el estado fundamental hasta el cuarto estado excitado (transición S0-S4 con constante de fuerza en torno a 0,5 para las formas V y VI). Se trata de una transición ($\pi \rightarrow \pi^*$) entre los orbitales HOMO y LUMO. Las transiciones menos energéticas son las que ocurren entre los orbitales HOMO-1 y LUMO (S0-S1), HOMO y LUMO+1 (S0-S2) y HOMO-1 y LUMO+1 (S0-S3). De los mapas de variación de densidad electrónica se deduce que las transiciones S0-S1 y S0-S3 se caracterizan por una transferencia de carga desde el grupo carboxilato, bien hacia el anillo (transición S0-S3) o bien hacia una zona más extensa de la molécula, que envuelve tanto el anillo como el doble enlace central (S0-S1). Las diferencias entre los momentos dipolares del estado fundamental y los estados S1 y S3 (Tabla 4.11) apoyan la naturaleza de estos estados de transferencia de carga. El estado excitado S2 aparece con una energía intermedia entre la de los estados S1 y S3, la transición S0-S2 corresponde a una transición ($\pi \rightarrow \pi^*$) desde el doble enlace central y parte del anillo fenólico hacia un orbital de naturaleza π^* que involucra exclusivamente al anillo. En el caso de la transición S0-S4, aunque también implica una redistribución de la densidad electrónica en el anillo y en el doble enlace central, puede

identificarse, a partir de los orbitales moleculares implicados, como una transición ($\pi \rightarrow \pi^*$) del doble enlace central.

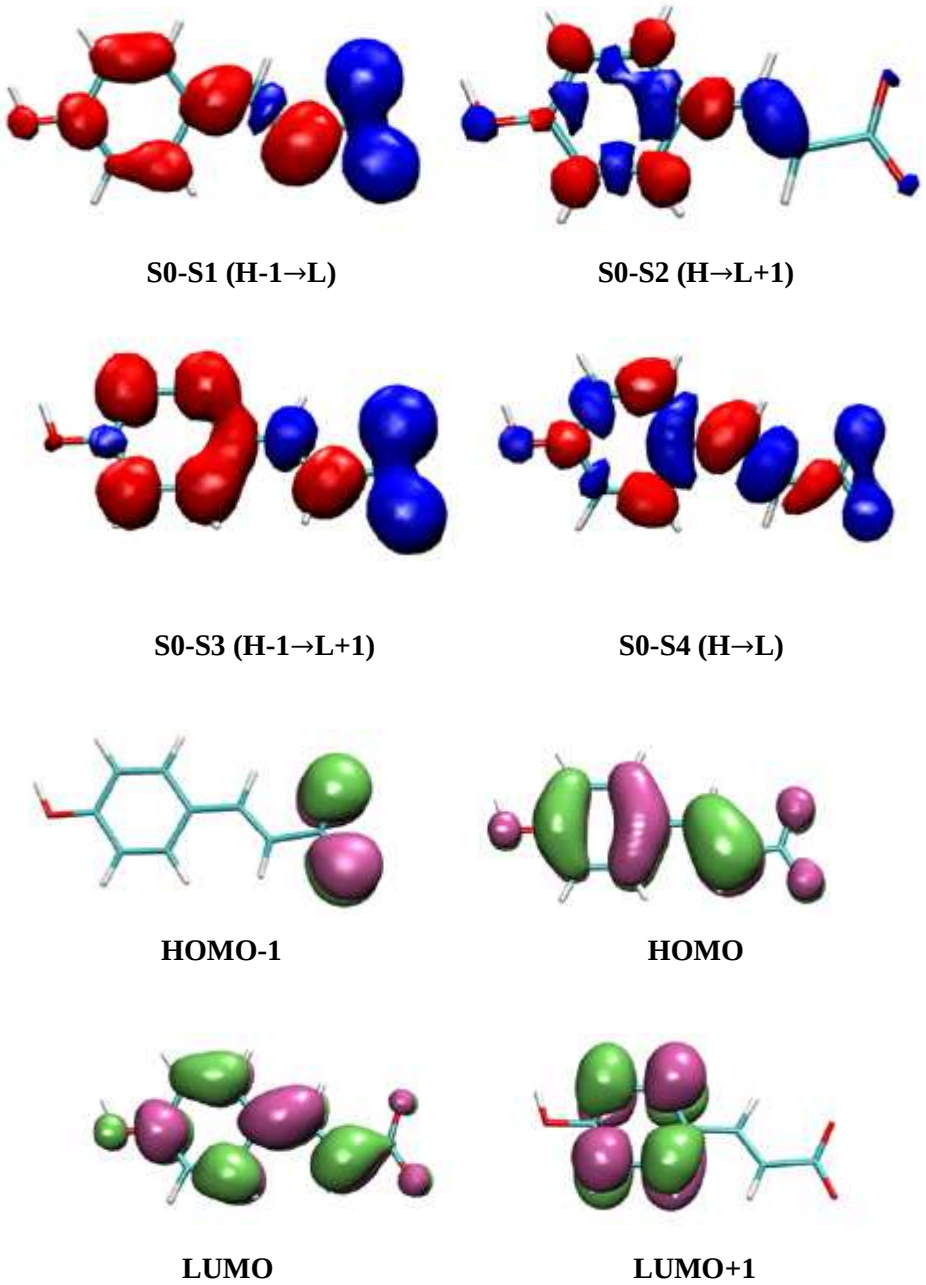


Figura 4.7A. Mapas de variación de densidad electrónica para las transiciones en el confórmero V y orbitales implicados en fase gas.

En la figura 4.7B se representan para el anión carboxilato los orbitales implicados y los mapas tridimensionales de variación de densidad electrónica en disolución. En disolución acuosa se encuentran diferencias significativas en lo que respecta a los espectros electrónicos. La característica más llamativa es la desaparición de los estados de transferencia de carga de entre los 10 primeros estados excitados. Ya que el anión carboxilato localiza su carga negativa

principalmente en el extremo COO-, la interacción resultante con las moléculas de agua se vuelve muy intensa. Como consecuencia de esto las transferencias de carga hacia zonas con menores interacciones estabilizantes y de difícil acceso para las moléculas de disolvente no están favorecidas, y estos estados se ven desplazados hacia mayores valores de energía. El primer estado excitado S1 en disolución involucra una transición HOMO→LUMO+1, muy similar a la encontrada en fase gas. La transición más probable es la que sucede desde el estado fundamental hacia el S2, tratándose de una transición HOMO→LUMO con una fuerza de oscilador ligeramente superior a la registrada en vacío.

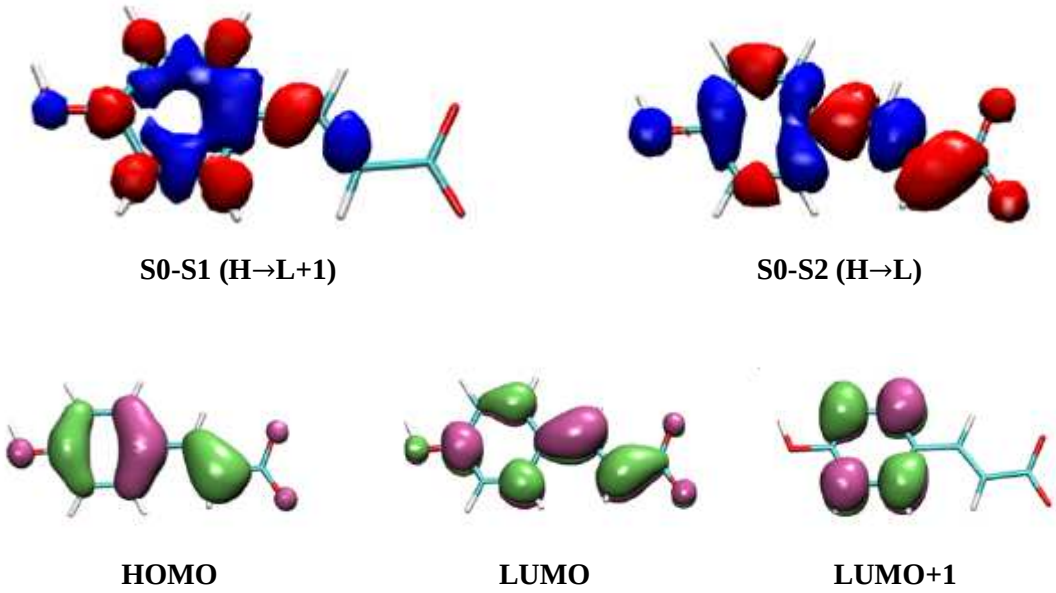


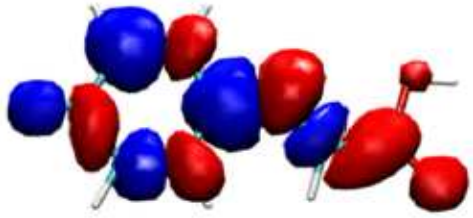
Figura 4.7B. Mapas de variación de densidad electrónica para las transiciones en el confórmero V y orbitales implicados en disolución.

Como puede verse en la tabla 4.11, el momento dipolar en fase gas para los estados S1 y S3 de las formas carboxilato se ve reducido con respecto al del estado fundamental como consecuencia del desplazamiento de la carga negativa desde el extremo carboxílico COO- hacia el resto de la molécula, con un incremento notable de la carga en el átomo C14 (ver tabla 4.9A). De hecho, para el estado excitado S1 prácticamente la mitad de la carga se localiza en el anillo y la otra mitad en el átomo C14. Para los estados excitados S2 y S4, no existe un cambio de la distribución electrónica tan acentuado y por lo tanto no se producen modificaciones importantes del momento dipolar respecto al valor correspondiente al estado fundamental. Como se mencionó previamente, un disolvente polar como el agua favorece las cargas localizadas al permitir de esta manera que las interacciones estabilizantes sean más fuertes. Este hecho se corrobora comparando las poblaciones de Mulliken del estado fundamental en fase gas y en

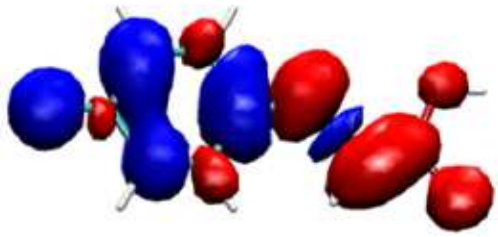
disolución (tablas 4.9A y 4.9B). La polarización del sistema como consecuencia de la interacción con el disolvente se traduce en un incremento del momento dipolar en cerca de 5 D para el estado fundamental. La carga negativa se incrementa en el extremo COO-, principalmente en el estado excitado S2. Por esta razón el momento dipolar de este estado es mayor en disolución que el correspondiente al de la fase gas. Como consecuencia de esta nueva distribución de carga, el estado excitado S2 es solvatado de manera mucho más efectiva, está más estabilizado que el estado fundamental y la banda de energía para la transición en disolución disminuye con respecto al valor en fase gas, lográndose un *red shift* para el confórmero V de 0,390 eV (8,99 kcal/mol) y de 0,291 eV (6,72 kcal/mol) para el VI. La energía de transición calculada en disolución (4,68 eV y 4,76 eV para V y VI, respectivamente) está en concordancia con algunos datos experimentales recogidos en la bibliografía. Nielsen y col. [152] dieron un valor en disolución a pH neutro de 285 nm (4,35 eV) y Rocha-Rinza y col. en su estudio con el derivado metil éter en disolución de metanol obtuvieron uno igual a 282 nm (4,40 eV) [151]. Si se tienen en cuenta los datos experimentales dados por este último (2,88 eV en vacío y 4,40 eV en disolución), el *solvent shift* que se obtiene resulta ser un *blue shift* de 1,59 eV, en contraste con los desplazamientos batocrómicos obtenidos en nuestro estudio (0,390 eV y 0,291 eV). Dado el acuerdo existente entre los valores experimentales y teóricos para las energías de transición en disolución, la diferencia debe atribuirse a las discrepancias entre los resultados obtenidos en fase gas. En nuestra opinión, un *blue shift* experimental tan elevado no parece ser demasiado realista dadas las características del sistema estudiado y la variación de densidad electrónica durante la transición. Por otro lado también es posible que en nuestros cálculos teóricos se haya producido una sobreestimación de la energía de transición S0-S4 en vacío debido a la presencia de los dos estados de transferencia de carga que aparecen a menor energía (S1 y S3). Es evidente que son necesarios nuevos estudios experimentales que ayuden a clarificar la problemática en torno al anión carboxilato en fase gas.

A diferencia de lo que ocurre para el anión carboxilato, los espectros electrónicos del anión fenolato en vacío y en disolución son muy semejantes entre sí. No se detectan estados de transferencia de carga entre los 10 primeros estados excitados y el orden de éstos se mantiene al pasar de vacío a disolución. En la figura 4.8 se representan los orbitales implicados en las transiciones en vacío y en disolución así como los mapas de variación de densidad electrónica para el isómero VIII. De la observación de los orbitales HOMO y LUMO implicados en la transición S0-S1 (tanto en vacío como en disolución) se deduce que la redistribución electrónica cubre la totalidad de la molécula, incluyendo al par solitario perteneciente al oxígeno fenólico y que la forma quinoidal parece ejercer un papel importante en la estructura electrónica del anión fenolato. En fase gas la banda de energía entre el estado fundamental y el primero excitado se localiza a los 2,90 eV con una fuerza de oscilador en torno a 0,8. Este valor está en

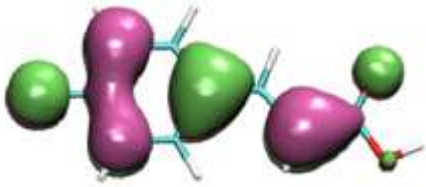
concordancia con datos experimentales (2,88 eV para el éster metilsustituido $pCMe^-$ [151, 152] y 2,70 eV para el derivado aniónico tiofenil éster, pCT^- [152]) y con otros resultados teóricos provenientes de la bibliografía (2,98 eV por Zuev y col. [197] y 2,89 eV para el modelo pCTMe- de acuerdo a Gromov y col. [160]). En disolución la banda de absorción aparece desplazada hacia valores más elevados de energía (3,10 eV y 3,14 eV para las formas VII y VIII, respectivamente) obteniéndose un *blue shift* de aproximadamente 0,2 eV (tabla 4.10). Este hecho está relacionado con la mayor estabilización del estado fundamental en disolución respecto al estado excitado S1. En fase gas el estado fundamental tiende a localizar la mayor parte de la carga en el extremo fenólico. Durante la transición, la carga negativa en la parte fenólica se reduce en cerca de un 27% y se acomoda en las otras partes de la molécula. Esta distribución de carga más equilibrada provoca una disminución en torno al 50% del momento dipolar del estado excitado. El mismo comportamiento se observa en disolución. Dado que el disolvente estabiliza más los estados de carga localizada (en el caso del fenolato el estado fundamental), se produce un *blue shift*.



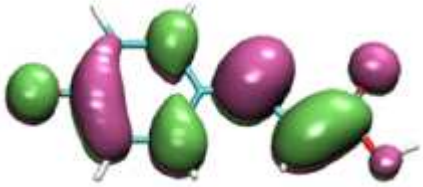
S0-S1 (H→L) (vacío)



S0-S1 (H→L) (disolución)



HOMO



LUMO

Figura 4.8. Mapas de variación de densidad electrónica para las transiciones en el isómero VIII y orbitales implicados en fase gas y en disolución.

4.4. Especie dianiónica.

La especie dianiónica pCA^{2-} presenta dos cargas negativas, como consecuencia de la desprotonación tanto del extremo fenólico como carboxílico. En la figura 4.9 se representa la forma dianiónica del ácido p-coumárico. El dianión es inestable en fase gas y sufre de

autoionización espontánea, en disolución acuosa sin embargo se incrementa el potencial de ionización permitiendo su existencia [198].

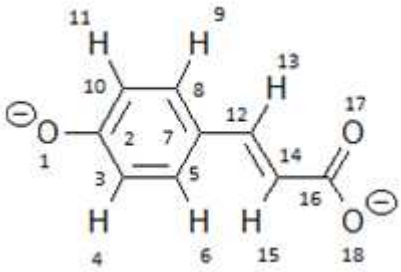


Figura 4.9. Forma dianiónica del ácido p-coumárico (pCA^{2-})

4.4.1. Influencia del disolvente sobre las geometrías y distribuciones de carga.

En la tabla 4.12 se recogen las longitudes de enlace y algunos ángulos de enlace para la especie dianiónica tanto en fase gas como en disolución. En vacío, el estado fundamental de la especie dianiónica presenta longitudes de enlace intermedias a las correspondientes a las formas carboxilato y fenolato, pudiéndose distinguir dos partes: mientras que el extremo fenólico se asemeja a la forma fenolato (con enlaces O1-C2, C8-C10 y C3-C5 con cierto carácter de doble enlace al igual que en la forma quinoidal), el resto de la molécula es más parecido a la forma carboxilato (los enlaces C7-C12 y C14-C16 presentan carácter de enlace sencillo, en contraste con el carácter de doble enlace del C12-C14). En disolución el dianión forma enlaces por puente de hidrógeno con las moléculas de agua y los cambios más significativos en la geometría corresponden a las partes de la molécula más expuestas a dicha interacción. De esta forma los enlaces O1-C2, C16-O17 y C16-O18 incrementan su longitud al pasar de vacío a disolución. En lo que respecta a la distribución de cargas de la molécula (tabla 4.14, momentos dipolares en la tabla 4.13) el disolvente favorece la concentración de carga sobre los oxígenos terminales. Los átomos O17 y O18 presentan una carga negativa ligeramente inferior que la correspondiente al O1 lo que se traduce en pequeñas diferencias en las *rdf* representadas en la figura 4.10. Si bien las tres *rdf* son funciones que indican una clara estructura del disolvente en torno al soluto y que coinciden en la posición de los principales máximos, la correspondiente al par O1-Hw presenta algunas diferencias. Así, la mayor altura del primer máximo junto con la mayor profundidad del primer mínimo evidencian una mayor estructura del disolvente en torno al O1 debido a la mayor carga negativa sobre este átomo.

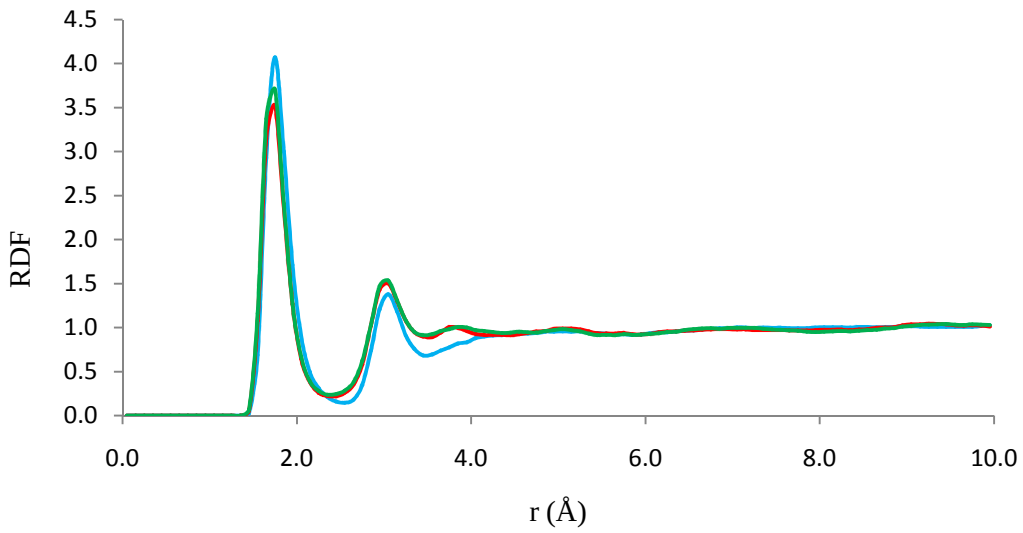


Figura 4.10. Funciones de distribución radial O1-Hw (azul), O17-Hw (rojo) y O18-Hw (verde) para la forma dianiónica pCA^{2-}.

	Fase gas	**Disolución**
d(C2-C10)	1.450	1.434
d(C8-C10)	1.391	1.386
d(C7-C8)	1.417	1.414
d(C5-C7)	1.420	1.417
d(C3-C5)	1.388	1.382
d(C2-C3)	1.454	1.437
d(O1-C2)	1.270	1.289
d(C7-C12)	1.467	1.449
d(C12-C14)	1.352	1.353
d(C14-C16)	1.534	1.485
d(C16-O17)	1.264	1.270
d(C16-O18)	1.266	1.272
a(C7-C12-C14)	130.7	128.4
a(C12-C14-C16)	124.2	123.0
a(C14-C16-O17)	117.4	119.5
a(O17-C16-O18)	127.7	123.8

Tabla 4.12. Longitudes de enlace (en Å) y ángulos (en º) del dianión pCA^{2-} en vacío y en disolución.

Fase gas		
S0	S1	S2
4.87	4.72	11.45

Disolución		
S0	S1	S2
4.78	13.49	4.53

Tabla 4.13. Módulo de los momentos dipolares (en D) en vacío y en disolución para el dianión pCA^{2-}.

	Fase gas			Disolución		
	S0	S1	S2	S0	S1	S2
C2	0.172	0.121	0.134	0.168	0.163	0.109
C10	-0.189	-0.248	-0.075	-0.109	-0.011	-0.138
C8	-0.018	-0.068	-0.068	0.027	0	0.008
C7	-0.184	-0.069	-0.117	-0.207	-0.129	-0.097
C5	-0.027	-0.096	-0.059	0.004	0.021	-0.049
C3	-0.166	-0.247	-0.091	-0.082	-0.044	-0.110
C12	0.079	0.077	-0.047	0.120	-0.010	0.093
C14	-0.227	-0.188	-0.324	-0.187	-0.302	-0.159
C16	0.328	0.322	0.330	0.411	0.380	0.404
O1	-0.584	-0.434	-0.458	-0.773	-0.619	-0.695
O17	-0.586	-0.580	-0.604	-0.682	-0.716	-0.679
O18	-0.597	-0.590	-0.621	-0.690	-0.732	-0.687
Anillo	-0.996	-1.040	-0.733	-0.971	-0.619	-0.972
Doble enlace	-0.149	-0.112	-0.371	-0.068	-0.312	-0.067
Extremo COO-	-0.856	-0.849	-0.896	-0.962	-1.069	-0.961

Tabla 4.14. Cargas de Mulliken (en u.a.) para el dianión pCA^{2-} en vacío y en disolución.

4.4.2. Espectro de absorción.

En la tabla 4.15 se muestran los valores de energía para las transiciones verticales en vacío y en disolución, así como la fuerza de oscilador y el *solvent shift*. En fase gas la transición más probable es al estado excitado S2 y corresponde a una transición HOMO→LUMO, con un

gap de energía de 3,96 eV. La excitación hasta el estado S1 en cambio implica una transición HOMO→LUMO+1, con una energía de transición en 3,45 eV. En la figura 4.11 se representan los orbitales implicados en estas transiciones y los mapas tridimensionales de variación de densidad electrónica en vacío y en disolución. En general, los orbitales son muy similares a los analizados previamente para las especies neutras y monoaniónicas. La transición hacia el primer estado excitado apenas implica un cambio de la densidad electrónica mientras que cuando la transición se produce al segundo es la parte central de la molécula la que ve incrementada su carga negativa. Las poblaciones de Mulliken calculadas para las tres partes de la molécula (tabla 4.14) están de acuerdo con estas observaciones. El orden de los estados excitados y la topología de los orbitales son coincidentes con los publicados por Boggio-Pasqua y col. [198]. Estos autores también encontraron que la promoción hacia el orbital LUMO llevaba consigo un desplazamiento de carga desde el anillo hasta el doble enlace central. Nuestros valores en las energías son ligeramente superiores a los obtenidos en su estudio (3,45 y 3,96 eV frente a 3,22 y 3,67 eV), si bien sus cálculos son de menor nivel. En cualquier caso, el intervalo de energía entre los estados S1 y S2 es similar con ambos métodos, aproximadamente.

	Fase gas	**Disolución**
S0-S1	3.45	3.75
S0-S2	3.96	3.81
f. osc. S0-S1	0.078	0.657
f. osc. S0-S2	0.608	0.072

	eV	kcal/mol
δ (S0-S1)	-0.207	-4.77

Tabla 4.15. Energías de transición en vacío y en disolución (en eV), fuerzas de oscilador y solvent shift para el dianión pCA^{2-}.

En disolución acuosa, la transición HOMO→LUMO se estabiliza en mayor extensión que la HOMO→LUMO+1, convirtiéndose ahora en el primer estado excitado, S1. Dicho estado posee la fuerza de oscilador más elevada. Como se ha comentado previamente, la transición HOMO→LUMO involucra un movimiento de la densidad electrónica desde el extremo fenólico hacia el resto de la molécula favoreciendo el disolvente este desplazamiento al ser la solvatación más efectiva en el extremo carboxílico. Lo opuesto ocurre durante la transición HOMO→LUMO+1, apareciendo este estado de disolución como segundo estado excitado, S2.

Debido que la estabilización del estado S1 por el disolvente es mayor que la experimentada por el estado fundamental, la transición entre estos dos estados en disolución es menos energética que en la fase gas. Por consiguiente el máximo de absorción en disolución se desplaza hacia el rojo en torno a 4,77 kcal/mol (0,207 eV) respecto a su posición en fase gas. Por otro lado, la energía de transición calculada en disolución, 3,75 eV, está en perfecto acuerdo con los resultados experimentales recientemente publicados por Putschögl y col. [154] que obtuvieron un máximo de absorción a 3,71 eV (334 nm) para el ácido p-coumárico en disolución acuosa a pH>10. Boggio-Pasqua y col. [198] intentaron simular las interacciones del agua mediante microsolvatación, aunque encontraron una estabilización de la transición HOMO→LUMO, no fue suficiente para provocar la inversión de los estados S1 y S2. Este hecho corrobora la importancia que tiene considerar la contribución del disolvente como medio y no sólo las moléculas más cercanas.

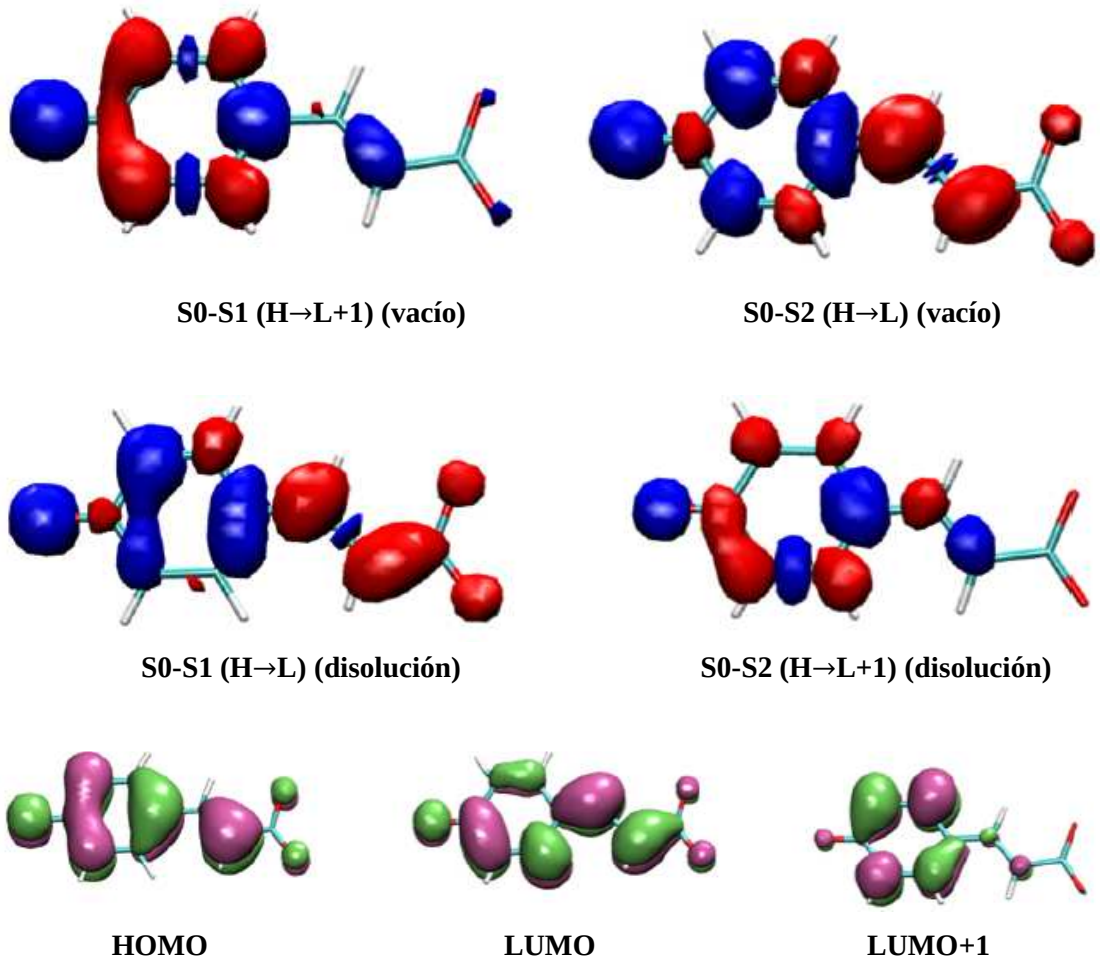


Figura 4.11. Mapas de variación de densidad electrónica para las transiciones en el dianión pCA^{2-} y orbitales implicados en fase gas y en disolución.

4.5. Papel de la desprotonación.

Se puede analizar el papel de la desprotonación en el cromóforo de la PYP comparando los resultados energéticos obtenidos para las formas pCA^{2-}, pCA- y pCA, representados en la figura 4.12. Para ello sólo nos fijaremos en la transición más probable. En fase gas, se observa un descenso en torno a 1,6 eV en la energía de la transición al pasar de la forma neutra a la forma fenolato. Este resultado está de acuerdo con el obtenido por Gromov y col. para el pCTMe empleando los métodos CC2 y EOM-CCSD [160]. Estos autores encontraron un *red shift* de 1,7 eV. Es de destacar el buen acuerdo existente entre las energías de transición calculadas para el pCTMe y el pCA en sus formas neutra y fenolato (4,59 eV y 2,89 eV para las formas pCTMe y pCTMe-, y 4,49 eV y 2,89 eV para las formas pCA I y VII). Este hecho, a pesar del uso de diferentes niveles de cálculo, pone de relieve la validez del empleo del ácido p-coumárico como modelo para el estudio del cromóforo de la PYP. La energía de transición en fase gas para la forma fenolato es muy próxima al máximo de absorción de la PYP, situado en los 446 nm (2,78 eV). De acuerdo a los resultados obtenidos, el entorno proteico parece proporcionar al cromóforo un conjunto de interacciones que reproducen las condiciones existentes en fase gas. Estudios experimentales llevados a cabo apoyan esta hipótesis [152]. Al pasar a la forma dianiónica, se obtiene un aumento de la energía de transición en torno a 1 eV.

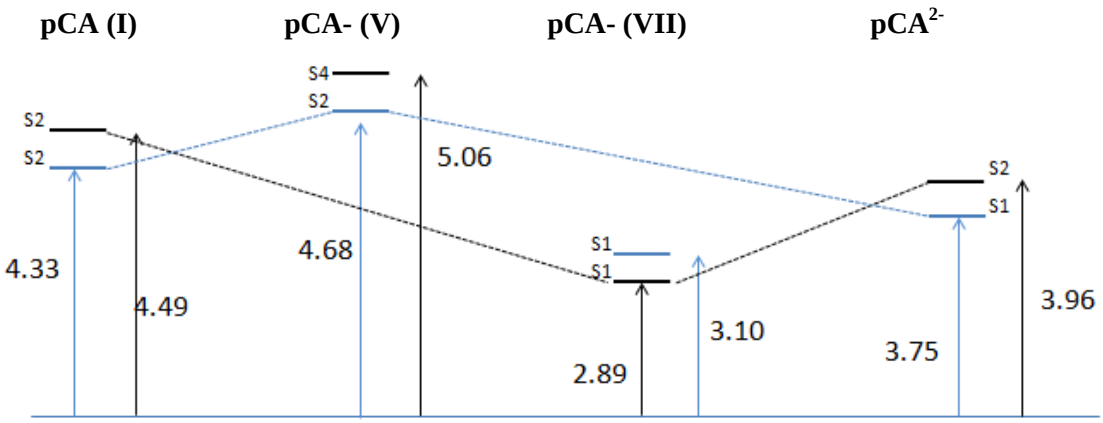


Figura 4.12. Transiciones en vacío (negro) y en disolución (azul) para las distintas formas desprotonadas del ácido p-coumárico

En disolución acuosa, al pasar de la forma neutra a la forma fenolato se obtiene un *red shift* sobre los 1,2 eV. Sin embargo, este resultado debe ser tratado cuidadosamente debido a la diferente estabilidad en fase gas y en disolución de las formas monoaniónicas (fenolato y carboxilato). Putschögl y col. [154], en un estudio experimental en el que fueron variando poco a poco el pH de la disolución desde valores ácidos (pH < 4) hasta un medio neutro (4 < pH < 9) obtuvieron un *blue shift* en torno a 0,11 eV. Este valor corresponde a la desprotonación de la

forma neutra para dar lugar al carboxilato, la forma aniónica pCA- más estable en disolución acuosa. Nuestros cálculos reproducen la tendencia hacia energías más elevadas pero el *blue shift* es ligeramente superior (sobre los 0,3 eV). Al incrementar la basicidad, se logra la desprotonación del anión carboxilato para obtener la forma dianiónica. Esta desprotonación produce un desplazamiento batocrómico en la absorción del cromóforo. Putschögl y col. [154] obtuvieron un *red shift* de aproximadamente 0,4 eV. Nielsen y col. [152] publicaron un valor de 0,66 eV. Nuestros resultados reproducen la tendencia experimental pero el desplazamiento calculado (0,93 eV para la forma V y 1,01 para la forma VI) vuelve a estar sobreestimado. Considerando el buen acuerdo existente entre el valor teórico obtenido para la transición en el dianión (3,75 eV) y los valores dados por estos autores (3,71 eV [154] y 3,69 eV [152]), la causa de esta sobreestimación debe estar en desviaciones en los valores del anión carboxilato. De hecho, incluso entre los valores experimentales dados para la transición en el carboxilato existe una diferencia en torno a 0,3 eV (4,11 eV [154] y 4,35 eV [152]).

Otro efecto importante de la desprotonación es el carácter autoionizante de los estados excitados en las especies pCA-. Este hecho ya fue mencionado cuando se analizaron los espectros de absorción para las especies monoaniónicas (apartado 4.3.2) y ha sido objeto de numerosos estudios [160, 164, 197]. El entorno proteico y/o el disolvente desplaza el potencial de ionización hacia valores de energía más elevados, estabilizando así los estados excitados de las formas aniónicas.

CAPÍTULO 5

ESTUDIO DE LA ABSORCIÓN EN DIFERENTES MODELOS DEL ÁCIDO P-COUMÁRICO.

Como hemos adelantado en el capítulo 3, las interacciones intermoleculares entre el medio envolvente y el cromóforo de la PYP influyen en la evolución de dicha molécula tras la absorción de radiación. En el entorno proteico el cromóforo se encuentra en forma fenolato, y es en este extremo de la molécula donde se producen las interacciones más importantes. Como ya vimos en el capítulo 4, tras la absorción de radiación se produce una distribución de la carga a lo largo de toda la molécula. En este panorama cobra especial trascendencia el extremo carbonílico al ser, junto con el anillo bencénico, el principal receptor del flujo de carga. Es por ello que, como paso previo al estudio de las principales rutas de desexcitación del cromóforo, se hace necesario considerar los factores que rigen la redistribución electrónica tras la excitación. En este capítulo describiremos las diferencias encontradas en fase gas y en disolución en los espectros de absorción de cuatro modelos del cromóforo del ácido *trans*-p-coumárico.

5.1. Detalles computacionales.

Los modelos considerados del cromóforo de la PYP se encuentran representados en la figura 5.1. Los hemos identificado como derivados ácido (pCA^-), tioácido ($pCTA^-$), metil éster ($pCMe^-$) y tiometil éster ($pCTMe^-$). Todos estos modelos se encuentran desprotonados por el grupo fenólico diferenciándose únicamente en el grupo terminal del extremo carbonílico. Estas cuatro moléculas nos permiten estudiar tanto factores intrínsecos al cromóforo, como puede ser el volumen del sustituyente carbonílico y la diferente polaridad de los átomos de oxígeno y azufre, como la diferente solvatación que experimentan por interacción por puentes de hidrógeno con el disolvente. El estudio de la absorción para estos cuatro modelos nos posibilitó así mismo comparar la influencia que tienen el espacio activo y el método de cálculo sobre las geometrías y las energías de transición.

Las estructuras de mínima energía en vacío y en disolución se obtuvieron empleando el método ASEP/MD, a nivel de teoría CASSCF y conjunto de base cc-pVDZ. No obstante, de manera adicional se realizaron optimizaciones del estado fundamental a niveles CASSCF y DFT-B3LYP con diferentes conjuntos de base y espacios activos con el fin de comparar los valores obtenidos en las transiciones y las geometrías. Los conjuntos de base empleados para este propósito fueron, junto con la base cc-pVDZ, cc-pVTZ y aug-cc-pVDZ. Del mismo modo,

se emplearon tres espacios activos diferentes: considerando sólo orbitales π (12 electrones en 11 orbitales), añadiendo un orbital n más del oxígeno del anillo fenólico (14 electrones en 12 orbitales) y considerando, junto con los orbitales anteriores, un orbital n del extremo carbonílico (16 electrones en 13 orbitales). La energía de correlación electrónica dinámica se calculó con la teoría CASPT2, empleando un IPEA igual a 0,0 y un *imaginary shift* de $0.1i\ E_h$. Se calcularon un total de 5 raíces para la búsqueda de mínimos. El programa escogido para las metodologías CASSCF y CASPT2 fue Molcas 7.4 [186]. Para los cálculos DFT se usó Gaussian03 [185].

Las simulaciones de dinámica molecular se llevaron a cabo con el software Gromacs 4.5 [187]. Dichas simulaciones contenían 1532 moléculas de agua modelo TIP4P [188] por cada molécula de soluto en una caja de simulación dodecahédrica. Al igual que para los confórmeros de pCA, los parámetros de Lennard-Jones para los cuatro derivados corresponden al campo de fuerzas OPLS-AA y son los recogidos en la tabla 5.1. Las cargas atómicas fueron obtenidas de los cálculos cuánticos. Se aplicaron condiciones de contorno periódicas, truncándose las interacciones electrostáticas de corto alcance a 13 Å. El tamaño de paso temporal utilizado fue de 1 fs y la interacción electrostática se calculó mediante el método PME (*Particle-Mesh Ewald method*, [189]). Cada simulación fue realizada en un colectivo NVT y constó de 500 000 pasos temporales (500 ps), 200 000 para alcanzar el equilibrio del sistema y 300 000 para la fase de producción y extracción de las configuraciones que se emplearon para la representación del disolvente. La temperatura se mantuvo fija a 298,15 K durante toda la simulación, empleando un termostato Nosé-Hoover. La densidad de la disolución es el valor de la densidad del agua, 1,000 g/cm^3. Los resultados finales fueron obtenidos como promedio de los últimos cinco ciclos ASEP/MD, es decir, 1,5 ns.

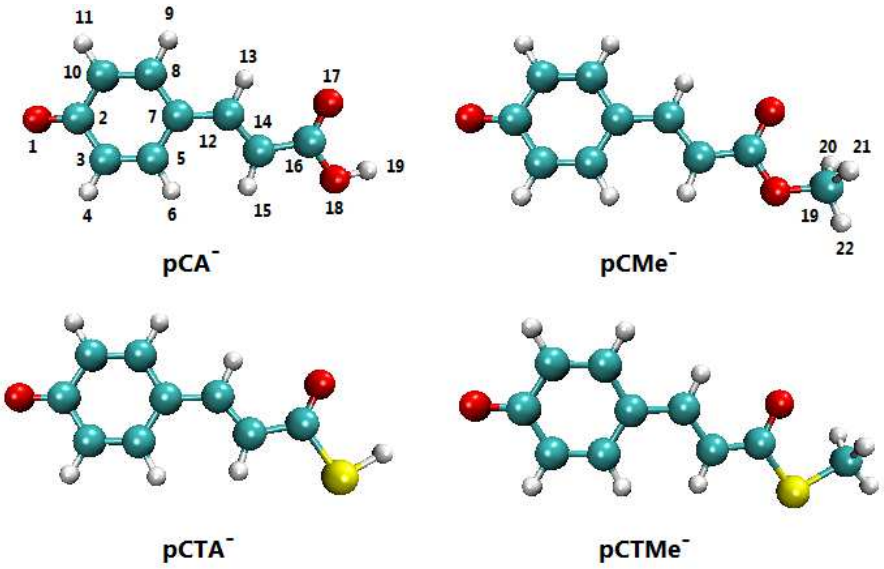


Figura 5.1. Modelos considerados del cromóforo de la PYP.

Parámetros comunes

	σ (Å)	ε (kcal/mol)
O1	3.07	0.170
C2	3.55	0.070
C3	3.55	0.070
H4	2.42	0.030
C5	3.55	0.070
H6	2.42	0.030
C7	3.55	0.070
C8	3.55	0.070
H9	2.42	0.030

	σ (Å)	ε (kcal/mol)
C10	3.55	0.070
H11	2.42	0.030
C12	3.55	0.076
H13	2.42	0.030
C14	3.55	0.076
H15	2.42	0.030
C16	3.75	0.105
O17	2.96	0.210

		σ (Å)	ε (kcal/mol)
pCMe$^-$	O18	3.00	0.170
	C19	3.50	0.066
	H20	2.42	0.015
	H21	2.42	0.015
	H22	2.42	0.015
pCA$^-$	O18	3.00	0.170
	H19	0.00	0

		σ (Å)	ε (kcal/mol)
pCTMe$^-$	S18	3.55	0.250
	C19	3.50	0.066
	H20	2.50	0.030
	H21	2.50	0.030
	H22	2.50	0.030
pCTA$^-$	S18	3.55	0.250
	H19	0	0

agua (modelo TIP4P)

	σ (Å)	ε (kcal/mol)	carga (u.a.)
O (W)	3.15	0.155	0
H (W)	0	0	0.52
MW	0	0	-1.04

Tabla 5.1. Parámetros de Lennard-Jones para los cuatro modelos y el disolvente.

5.2. Resultados en fase gas.

En las tablas 5.2A, 5.2B y 5.2C se recogen los parámetros geométricos más significativos en fase gas para los cuatro modelos a diversos niveles de teoría. Para las optimizaciones de geometría se emplearon dos niveles: CASSCF y DFT con un funcional

B3LYP. En los cálculos CASSCF, se emplearon dos espacios activos para los derivados éster y tioéster, un espacio (14,12) que incluye todos los orbitales de naturaleza π más el orbital n del oxígeno del anillo y otro (16,13) que considera además el orbital n del grupo terminal (ver sección 5.1 y tabla 5.2B). Debido a la naturaleza cargada de los compuestos, se hicieron cálculos con la base aug-cc-pVDZ con el espacio activo más completo, para su posterior comparación con cálculos DFT-B3LYP empleando el mismo conjunto de base (tabla 5.2C). De forma general, en fase gas se obtiene que, empleando CASSCF, las longitudes de enlace y los ángulos son independientes del espacio activo y de la base empleada. En cambio, si comparamos estos valores con los logrados con el nivel DFT, este último da para los cuatro modelos longitudes de enlace algo mayores salvo para los enlaces C7-C12 y C14-C16, que ven acortadas su longitud. En cualquier caso, con ambos métodos el carácter quinoidal del anillo bencénico se conserva: los enlaces C2-C3, C5-C7, C7-C8 y C2-C10 tienen un carácter de doble enlace menos marcado que los restantes enlaces del anillo. Por último, conviene señalar que el empleo de funciones difusas no introduce grandes variaciones en la geometría.

	pCA- (X=O)		**pCTA- (X=S)**	
	cc-pVDZ		cc-pVDZ	
	CASSCF(14,12)	B3LYP	CASSCF(14,12)	B3LYP
d(O1-C2)	1,233	1,252	1,230	1,250
d(C2-C3)	1,458	1,463	1,461	1,465
d(C3-C5)	1,371	1,372	1,368	1,370
d(C5-C7)	1,428	1,432	1,433	1,434
d(C7-C8)	1,425	1,430	1,430	1,432
d(C8-C10)	1,373	1,374	1,369	1,372
d(C2-C10)	1,454	1,459	1,457	1,461
d(C7-C12)	1,426	1,423	1,415	1,417
d(C12-C14)	1,369	1,378	1,378	1,385
d(C14-C16)	1,451	1,441	1,443	1,434
d(C16-O17)	1,206	1,230	1,203	1,220
d(C16-X18)	1,357	1,387	1,844	1,894
d(X18-H19)	0,948	0,973	1,338	1,356
a(C7-C12-C14)	130,1	129,9	130,2	129,7
a(C12-C14-C16)	121,0	120,8	120,7	120,7
a(C14-C16-O17)	128,3	128,9	129,0	129,8
a(C17-C16-O18)	119,1	118,8	118,3	118,8

Tabla 5.2A. Longitudes de enlace (en Å) y ángulos (en º) de las formas pCA$^-$ y pCTA$^-$ en fase gas. Conjunto de base empleado: cc-pVDZ.

	pCMe- (X=O)			pCTMe- (X=S)		
	cc-pVDZ			cc-pVDZ		
	CASSCF		B3LYP	CASSCF		B3LYP
	(14,12)	(16,13)		(14,12)	(16,13)	
d(O1-C2)	1,233	1,233	1,252	1,231	1,231	1,250
d(C2-C3)	1,458	1,458	1,463	1,461	1,461	1,464
d(C3-C5)	1,371	1,371	1,373	1,369	1,369	1,371
d(C5-C7)	1,428	1,428	1,431	1,432	1,432	1,434
d(C7-C8)	1,424	1,424	1,430	1,429	1,429	1,432
d(C8-C10)	1,373	1,373	1,374	1,370	1,370	1,372
d(C2-C10)	1,454	1,454	1,459	1,457	1,457	1,460
d(C7-C12)	1,428	1,428	1,423	1,417	1,418	1,419
d(C12-C14)	1,368	1,368	1,377	1,376	1,376	1,383
d(C14-C16)	1,454	1,454	1,442	1,446	1,446	1,435
d(C16-O17)	1,204	1,204	1,227	1,206	1,206	1,225
d(C16-X18)	1,358	1,358	1,393	1,829	1,829	1,871
d(X18-C19)	1,400	1,400	1,419	1,812	1,812	1,826
a(C7-C12-C14)	130,0	130,0	129,9	130,2	130,2	129,8
a(C12-C14-C16)	121,0	121,0	120,8	120,9	120,9	121,0
a(C14-C16-O17)	128,0	128,0	128,9	128,3	128,3	129,2
a(C17-C16-O18)	120,3	120,3	120,1	118,7	118,7	118,7

Tabla 5.2B. Longitudes de enlace (en Å) y ángulos (en º) de las formas pCMe$^-$ y pCTMe$^-$ en fase gas. Conjunto de base empleado: cc-pVDZ.

Con respecto a las energías de transición vertical, conviene seleccionar un método de cálculo que ofrezca resultados de calidad a un coste computacional razonable. Por este motivo, y siendo el objetivo principal la comparación de las diferencias encontradas en vacío y en disolución, para los derivados éster y tioéster se procedió a realizar un estudio completo de las transiciones en vacío a los mismos niveles de teoría utilizados en las optimizaciones con el fin de seleccionar aquel que por las cualidades anteriormente descritas pudiera ser empleado en disolución. Dichos valores se recogen en las tablas 5.3A, 5.3B y 5.3C. Así mismo, en la tabla 5.3D se muestra a modo de resumen las transiciones a nivel SA-CASSCF(14,12)/cc-pVDZ con corrección CASPT2 para los cuatro modelos a fin de facilitar el cotejo de los datos para el posterior análisis de la influencia del grupo terminal en la transición. Para las cuatro moléculas se obtiene que la transición más brillante corresponde a una transición ($\pi \rightarrow \pi^*$) que concierne a toda la molécula, centrándose la redistribución electrónica en el anillo fenólico y en el doble enlace. En la figura 5.2 se representan a modo de ejemplo los orbitales de interés y los mapas de variación de densidad electrónica para el modelo pCTMe$^-$. Esta transición ($\pi \rightarrow \pi^*$) es

consistente con la obtenida para los derivados fenolato VII y VIII en vacío (capítulo 4, figura 4.8). La transición hacia el segundo estado excitado es una transición ($n \rightarrow \pi^*$) que involucra al orbital n del oxígeno fenólico. Cuando se tiene en cuenta el orbital n del oxígeno carbonílico (denotado como $n_{C=O}$), se obtiene una transición ($n_{C=O} \rightarrow \pi^*$) muy alta en energía. De hecho, aparece como la quinta para los derivados con azufre (modelos pCTA- y pCTMe-), y como la octava en los derivados con oxígeno (modelos pCA$^-$ y pCMe$^-$). Si nos fijamos en las fuerzas de oscilador, las dos transiciones que involucran a orbitales solitarios de los átomos de oxígeno resultan ser transiciones muy débiles, por lo que apenas tienen relevancia en el espectro de absorción.

	pCMe- (X=O)		**pCTMe- (X=S)**	
	aug-cc-pVDZ		aug-cc-pVDZ	
	CASSCF (16,13)	B3LYP	CASSCF (16,13)	B3LYP
d(O1-C2)	1,239	1,259	1,236	1,257
d(C2-C3)	1,457	1,460	1,459	1,461
d(C3-C5)	1,374	1,374	1,371	1,373
d(C5-C7)	1,426	1,430	1,430	1,432
d(C7-C8)	1,422	1,428	1,426	1,430
d(C8-C10)	1,376	1,376	1,373	1,375
d(C2-C10)	1,451	1,455	1,454	1,456
d(C7-C12)	1,431	1,425	1,421	1,420
d(C12-C14)	1,368	1,378	1,375	1,383
d(C14-C16)	1,456	1,441	1,448	1,434
d(C16-O17)	1,207	1,230	1,208	1,228
d(C16-X18)	1,358	1,394	1,826	1,866
d(X18-C19)	1,404	1,425	1,813	1,826
a(C7-C12-C14)	129,6	129,5	129,8	129,3
a(C12-C14-C16)	121,2	121,2	121,1	121,5
a(C14-C16-O17)	127,8	128,9	128,2	129,2
a(C17-C16-X18)	120,4	120,0	118,8	118,8

Tabla 5.2C. Longitudes de enlace (en Å) y ángulos (en º) de las formas pCMe$^-$ y pCTMe$^-$ en fase gas. Conjunto de base empleado: aug-cc-pVDZ.

Para los derivados pCMe$^-$ y pCTMe$^-$ se obtiene que, a la hora de calcular la posición de las bandas con la estrategia CASSCF/CASPT2, la consideración de un orbital más dentro del espacio activo sólo supone una ligera disminución de los valores de las transiciones, de 0,03 eV y de 0,05 eV para las transiciones ($\pi \rightarrow \pi^*$) y ($n \rightarrow \pi^*$), respectivamente, independientemente del nivel de teoría empleado para las optimizaciones de geometría. Podemos concluir que un

espacio activo (16,13) no mejora significativamente dichos resultados, a pesar de su mayor coste computacional. Del mismo modo, si nos fijamos en los cálculos con la base aug-cc-pVDZ y geometría B3LYP-DFT, nos encontramos con un descenso de la energía para la primera transición (sobre los 0,20 eV para los derivados pCMe- y pCTMe-) con respecto a los valores calculados con base cc-pVDZ. Los cálculos con base cc-pVTZ siguen la misma tendencia. Teniendo en cuenta el alto coste computacional que supone el empleo de funciones difusas y a los errores que se pueden introducir en disolución, optamos por no emplearlas en nuestros cálculos. Por último, las geometrías calculadas con DFT-B3LYP y CASSCF arrojan espectros de absorción similares, si acaso lo único destacable es que con las geometrías DFT-B3LYP se obtienen energías de transición algo menores.

Si comparamos los resultados obtenidos para los cuatro modelos (tabla 5.3D), podemos ver que las transiciones son del mismo orden de magnitud, aunque podemos discernir dos grupos: uno con los modelos portadores de un átomo de oxígeno en el grupo terminal (pareja $pCMe^-/pCA^-$), y otro con los modelos con un átomo de azufre (pareja $pCTMe^-/pCTA^-$). A simple vista, pueden destacarse dos hechos. El primero, que la presencia de un átomo de azufre resulta en un desplazamiento hacia el rojo del espectro (sobre los 0,20 eV, aproximadamente). Por otro lado, que la sustitución de un átomo de hidrógeno por un grupo más voluminoso como es el metilo no afecta a la posición de las bandas. En lo que se refiere a los valores de energía propiamente dichos, las transiciones calculadas en este estudio están en muy buena concordancia con otros estudios experimentales y teóricos. Tanto Rocha-Rinza y col. [151] como Nielsen y col. [152] obtuvieron experimentalmente bandas de absorción a 2,88 eV para los derivados pCA^- y $pCMe^-$. Aunque ni para el tiometil éster ni para el tioácido se han encontrado estudios experimentales en vacío, Nielsen y col. [152] obtuvieron para el derivado tiofenil éster, pCT^-, una banda de energía situada en los 2,70 eV. Estos mismos autores argumentan que dicho derivado puede ser considerado un modelo válido de otros tioderivados del cromóforo de la PYP, ya que razonan que el sistema conjugado del anillo no se extiende más allá del átomo de azufre y por tanto el grupo terminal en el extremo carboxílico apenas influye. Desde el punto de vista teórico, Gromov y col. [164], aplicando dos niveles de teoría (CC2/cc-pVDZ y EOM-CCSD/cc-pVDZ) obtuvieron para la transición ($\pi \rightarrow \pi^*$) unos valores de, respectivamente, 3,10 y 3,17 para el modelo $pCTMe^-$, y de 3,27 eV y 3,35 eV para el derivado $pCMe^-$. En otro estudio también encabezado por este mismo investigador [160] se da un valor para el metil tioéster igual a 2,89 eV a un nivel de teoría más elevado, CC2/SV(P). En ambos trabajos, aunque se sobreestima para ambos modelos la posición de las bandas, se pone de relieve que la presencia de un átomo de azufre en vez de oxígeno resulta en un ligero desplazamiento de las bandas hacia el rojo. Molina y col. [199], realizando cálculos CASPT2 sobre una estructura del modelo $pCTMe^-$ obtenida mediante cristalografía, encontraron una

banda correspondiente a la primera transición de 2,58 eV. Como hemos mencionado anteriormente, el cálculo de transiciones empleando la base aug-cc-pVDZ producen un descenso en las bandas en torno a los 0,20 eV, hecho también encontrado por Gromov y col. en su estudio con diversos derivados del cromóforo de la PYP [164]. La pérdida de correspondencia con los resultados experimentales en vacío es una razón más que justifica no emplear funciones difusas en el estudio de estados electrónicos excitados. Este hecho puede estar relacionado con el uso en nuestros cálculos CASPT2 de un valor de 0,0 para el IPEA, ya que con conjuntos de base extensos se recomienda un valor mayor (sobre los 0,2). Es importante destacar que todos los resultados publicados a nivel TDDFT también sobreestiman los resultados experimentales. Muguruza y col. [210] obtuvieron unos valores a nivel PBE/TDDFT de 3,40 y 3,28 eV para las energías verticales de los modelos pCTMe$^-$ y pCT$^-$. Sergi y col. [196] encontraron un valor de 3,24 eV para el modelo pCA$^-$.

		Fase gas	
	Nivel de cálculo en las optimizaciones	SA-CASSCF(14,12)/cc-pVDZ	SA-CASSCF(16,13)/cc-pVDZ
	Nivel de cálculo en las transiciones	SA-CASSCF(14,12)-PT2/cc-pVDZ	SA-CASSCF(16,13)-PT2/cc-pVDZ
pCMe$^-$	$(\pi \rightarrow \pi^*)$	2,94	2,91
	$(n \rightarrow \pi^*)$	3,65	3,60
	$(n_{C=O} \rightarrow \pi^*)$	---	5,33
	f. osc. $(\pi \rightarrow \pi^*)$	0,989	0,975
	f. osc. $(n \rightarrow \pi^*)$	0,000	0,000
	f. osc. $(n_{C=O} \rightarrow \pi^*)$	---	0,001
pCTMe$^-$	$(\pi \rightarrow \pi^*)$	2,73	2,69
	$(n \rightarrow \pi^*)$	3,47	3,42
	$(n_{C=O} \rightarrow \pi^*)$	---	4,35
	f. osc. $(\pi \rightarrow \pi^*)$	1,048	1,056
	f. osc. $(n \rightarrow \pi^*)$	0,000	0,000
	f. osc. $(n_{C=O} \rightarrow \pi^*)$	---	0,000

Tabla 5.3A. Energías de transición en vacío (en eV) para los modelos pCMe- y pCTMe-. Los cálculos con espacio activo (16,13) se realizaron a 10 raíces. Los cálculos con espacio activo (14,12) se realizaron a 5 raíces.

		Fase gas		
Nivel de cálculo en las optimizaciones		B3LYP/cc-pVDZ		B3LYP/aug-cc-pVDZ
Nivel de cálculo en las transiciones		SA-CASSCF(14,12)-PT2/cc-pVDZ	SA-CASSCF(16,13)-PT2/cc-pVDZ	SA-CASSCF(14,12)-PT2/aug-cc-pVDZ
pCMe⁻	$(\pi \rightarrow \pi^*)$	2,86	2,83	2,64
	$(n \rightarrow \pi^*)$	3,54	3,49	3,64
	$(n_{C=O} \rightarrow \pi^*)$	---	5,12	---
	f. osc. $(\pi \rightarrow \pi^*)$	1,024	1,014	0,932
	f. osc. $(n \rightarrow \pi^*)$	0,000	0,000	0,099
	f. osc. $(n_{C=O} \rightarrow \pi^*)$	---	0,000	---
pCTMe⁻	$(\pi \rightarrow \pi^*)$	2,66	2,63	2,41
	$(n \rightarrow \pi^*)$	3,36	3,32	3,66
	$(n_{C=O} \rightarrow \pi^*)$	---	4,24	---
	f. osc. $(\pi \rightarrow \pi^*)$	1,062	1,082	0,979
	f. osc. $(n \rightarrow \pi^*)$	0,000	0,000	0,058
	f. osc. $(n_{C=O} \rightarrow \pi^*)$	---	0,000	---

Tabla 5.3B. Energías de transición en vacío (en eV) para los modelos pCMe- y pCTMe-. Los cálculos con espacio activo (16,13) se realizaron a 10 raíces. Los cálculos con espacio activo (14,12) se realizaron a 5 raíces.

	Fase gas	
	pCMe⁻	pCTMe⁻
$(\pi \rightarrow \pi^*)$	2,75	2,53
$(n \rightarrow \pi^*)$	3,52	3,34
f. osc. $(\pi \rightarrow \pi^*)$	0,968	1,019
f. osc. $(n \rightarrow \pi^*)$	0,000	0,000

Tabla 5.3C. Energías de transición en vacío (en eV) para los modelos pCMe- y pCTMe-. Transiciones calculadas a nivel SA-CASSCF(14,12)-PT2/cc-pVTZ con geometría CASSCF(14,12)/cc-pVTZ.

	Fase gas			
	pCMe$^-$	pCTMe$^-$	pCA$^-$	pCTA$^-$
$(\pi \rightarrow \pi^*)$	2,94	2,73	2,96	2,73
$(n \rightarrow \pi^*)$	3,65	3,47	3,65	3,45
f. osc. $(\pi \rightarrow \pi^*)$	0,989	1,048	0,999	1,058
f. osc. $(n \rightarrow \pi^*)$	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabla 5.3D. Energías de transición en vacío (en eV) y fuerzas de oscilador para los modelos pCMe$^-$, pCTMe$^-$, pCA$^-$ y pCTA$^-$. Transiciones calculadas a nivel SA-CASSCF(14,12)-PT2/cc-pVDZ con geometría CASSCF(14,12)/cc-pVDZ.

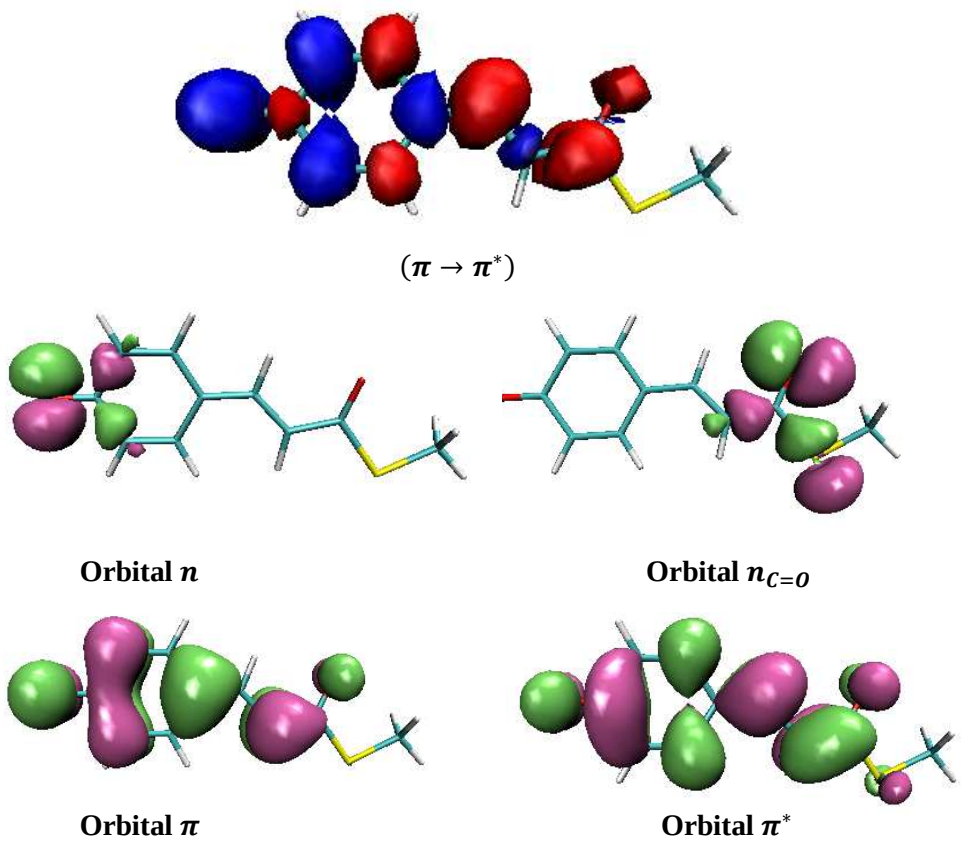


Figura 5.2. Mapas de variación de densidad electrónica para las transiciones en el modelo pCTMe$^-$ y orbitales implicados en fase gas.

Si nos fijamos en el mapa de variación de densidad electrónica para la transición $(\pi \rightarrow \pi^*)$ de la figura 5.2, vemos que se produce una redistribución de densidad electrónica desde el anillo fenólico hacia el extremo carboxílico. En la tabla 5.4 se muestran las cargas ajustadas al potencial en fase gas de los estados fundamental y primer excitado para los cuatro

modelos. Tal y como hicimos en el estudio de las diferentes formas protonadas del ácido p-coumárico (capítulo 4), las moléculas se dividieron en tres partes (anillo, enlace doble central y extremo terminal). Los derivados con átomos de oxígeno ($pCMe^-$ y pCA^-) presentan mayor carga negativa en el anillo y en el doble enlace central que sus homólogos con azufre ($pCTMe^-$ y $pCTA^-$). En cambio, para los derivados $pCTMe^-$ y $pCTA^-$ la carga negativa es mayor en el extremo carboxílico. La explicación a esta diferencia reside en que el átomo de azufre presenta un mayor carácter electrón-aceptor que el oxígeno, lo que provoca que se aloje más carga en el grupo terminal.

	$pCMe^-$ (X=O, Y=C)		$pCTMe^-$ (X=S, Y=C)		pCA^- (X=O, Y=H)		$pCTA^-$ (X=S, Y=H)	
	S0	S1	S0	S1	S0	S1	S0	S1
O1	-0,652	-0,620	-0,638	-0,624	-0,650	-0,621	-0,629	-0,620
C2	0,667	0,550	0,677	0,548	0,656	0,536	0,664	0,531
C3	-0,400	-0,330	-0,411	-0,334	-0,392	-0,321	-0,390	-0,315
H4	0,097	0,091	0,107	0,101	0,099	0,093	0,103	0,097
C5	-0,062	-0,154	-0,019	-0,137	-0,054	-0,149	0,002	-0,119
H6	0,096	0,101	0,073	0,084	0,075	0,080	0,050	0,060
C7	-0,047	0,215	-0,088	0,160	-0,022	0,239	-0,102	0,142
C8	-0,144	-0,256	-0,119	-0,232	-0,156	-0,269	-0,096	-0,210
H9	0,099	0,105	0,092	0,100	0,097	0,102	0,081	0,089
C10	-0,368	-0,162	-0,355	-0,174	-0,356	-0,150	-0,367	-0,191
H11	0,087	0,062	0,085	0,064	0,087	0,062	0,095	0,074
C12	0,009	-0,114	0,058	-0,045	-0,062	-0,182	-0,007	-0,107
H13	0,061	0,047	0,054	0,037	0,099	0,084	0,107	0,089
C14	-0,560	-0,538	-0,590	-0,487	-0,509	-0,487	-0,526	-0,413
H15	0,131	0,118	0,190	0,172	0,165	0,152	0,218	0,200
C16	0,866	0,773	0,668	0,564	0,849	0,762	0,599	0,502
O17	-0,592	-0,597	-0,490	-0,496	-0,630	-0,634	-0,520	-0,523
X18	-0,490	-0,494	-0,426	-0,432	-0,701	-0,707	-0,483	-0,491
Y19	0,200	0,211	0,081	0,085	0,404	0,410	0,202	0,206
H20	0,002	0,000	0,045	0,043	---	---	---	---
H21	-0,001	-0,004	0,002	0,002	---	---	---	---
H22	-0,001	-0,004	0,002	0,002	---	---	---	---
Anillo	-0,626	-0,398	-0,595	-0,446	-0,615	-0,398	-0,589	-0,462
Doble enlace	-0,358	-0,487	-0,287	-0,323	-0,308	-0,433	-0,209	-0,232
Extremo CX-Y	-0,016	-0,115	-0,118	-0,231	-0,077	-0,169	-0,202	-0,307

Tabla 5.4. Cargas ajustadas al potencial para los cuatro modelos en vacío. Cargas calculadas a nivel CASSCF(14,12)/cc-pVDZ con geometría CASSCF(14,12)/cc-pVDZ.

Los valores correspondientes de momento dipolar para los estados fundamental y dos primeros excitados se recogen en la tabla 5.5. Durante la transición, la migración de carga y su consiguiente redistribución provoca una disminución del momento dipolar para los cuatro modelos, estando esta disminución más marcada en los derivados con átomos de oxígeno por ser dicho flujo de carga mayor que en los derivados con azufre. Los valores de momento dipolar están de acuerdo con las distribuciones de carga obtenidas para los cuatro modelos (tabla 5.4). Es interesante observar que el estado S3 es más polar que el estado S2, correspondiente a la transición ($n \rightarrow \pi^*$). Volveremos a este punto más adelante cuando discutamos los resultados obtenidos en disolución.

	Fase gas				
	S0	S1	S2	S3	$\Delta\mu$ (S0→S1)
pCMe$^-$	8,03	4,61	1,76	11,53	3,42
pCTMe$^-$	5,29	3,39	3,66	9,39	1,90
pCA$^-$	7,82	4,67	1,65	11,41	3,15
pCTA$^-$	4,70	3,33	4,06	8,86	1,37

Tabla 5.5. Módulo de los momentos dipolares (en D) en vacío para los cuatro modelos. Dipolos calculados a nivel CASSCF(14,12)/cc-pVDZ con geometría CASSCF(14,12)/cc-pVDZ.

5.3. Resultados en disolución.

Como hemos explicado en el apartado anterior, el estudio en vacío a diferentes niveles de teoría tenía como propósito dilucidar cuál era el método más idóneo para llevar a cabo cálculos en presencia del disolvente. Considerando la buena concordancia obtenida con los valores experimentales en fase gas, y teniendo presente el coste computacional, se decidió realizar la parte cuántica de los cálculos en disolución acuosa a nivel CASSCF(14,12)/cc-pVDZ. En la tabla 5.6 se recogen los parámetros geométricos para los cuatro modelos en disolución acuosa. Desde el punto de vista estructural las diferencias más notables radican, una vez más, en el extremo fenólico del cromóforo: las interacciones con el disolvente provocan un aumento del enlace O1-C2, tal y como vimos para las formas VII y VIII del ácido p-coumárico (capítulo 4, tablas 4.8A y 4.8B). Este aumento es similar para las cuatro formas, pasando de un valor aproximado de 1,23 Å en vacío a un valor cercano a los 1,28 Å en disolución. Si nos fijamos en las longitudes de enlace en el anillo aromático, también vemos una pérdida notable del carácter quinoidal.

	pCMe- (X=O, Y=C)	pCTMe- (X=S, Y=C)	pCA- (X=O, Y=H)	pCTA- (X=S, Y=H)
d(O1-C2)	1,274	1,272	1,277	1,275
d(C2-C3)	1,432	1,433	1,427	1,432
d(C3-C5)	1,386	1,384	1,388	1,384
d(C5-C7)	1,415	1,416	1,411	1,416
d(C7-C8)	1,410	1,412	1,415	1,412
d(C8-C10)	1,386	1,386	1,384	1,387
d(C2-C10)	1,426	1,427	1,431	1,427
d(C7-C12)	1,453	1,450	1,455	1,452
d(C12-C14)	1,351	1,353	1,352	1,354
d(C14-C16)	1,472	1,475	1,471	1,477
d(C16-O17)	1,204	1,203	1,203	1,202
d(C16-X18)	1,321	1,784	1,325	1,790
d(X18-Y19)	1,420	1,811	0,966	1,353
a(C7-C12-C14)	129,2	128,8	127,7	128,7
a(C12-C14-C16)	119,4	119,7	120,5	119,7
a(C14-C16-O17)	124,7	124,4	125,3	124,4
a(C17-C16-X18)	122,2	120,9	121,7	120,8

Tabla 5.6. Longitudes de enlace (en Å) y ángulos (en º) de los cuatro derivados en disolución. Geometrías optimizadas a nivel CASSCF(14,12)/cc-pVDZ.

Contrariamente a lo esperado, la interacción con el disolvente apenas produce cambios en la longitud del enlace carbonílico C=O, lo cual es indicativo de que aquella debe ser muy débil. Los impedimentos estéricos así como la carga tan baja que presenta el grupo C16-O17 parecen ser los responsables de este hecho. En las figuras 4.3A, 4.3B y 4.3C se representan las *rdf* correspondientes a la interacción del agua con los átomos O1, O17 y X18 (X=O, S) para los cuatro modelos en el estado fundamental. Así mismo, en la tabla 5.7 se muestran las cargas atómicas ajustadas al potencial de los estados fundamental y excitado para la transición más probable. Para todos los modelos podemos ver una fuerte interacción de las moléculas de agua con el oxígeno fenólico, lo cual es acorde con el aumento observado tanto de la longitud del enlace O1-C2 como de la carga negativa en este átomo respecto a la fase gas. Sin embargo, tanto el oxígeno O17 como el átomo X18 del extremo carboxílico establecen débiles enlaces por puentes de hidrógeno, siendo para los átomos X18 de una magnitud casi despreciable salvo para el derivado ácido, donde se aprecia un pico de pequeña altura. En la figura 4.3B se detecta además una diferente intensidad en la interacción dependiendo del modelo considerado. De esta forma, la altura del primer pico en las *rdfs* es algo mayor para la pareja $pCA^-/pCMe^-$. Puede comprobarse que los átomos O17 de los derivados portadores de un átomo de oxígeno en el

extremo carboxílico presentan una carga negativa mayor que los átomos O17 correspondientes a sus homólogos con azufre. Además, si comparamos con los valores en vacío (tabla 5.4), vemos que la carga del O17 del pCA$^-$ y del pCMe$^-$ sufre un aumento al interaccionar con el disolvente, al contrario de lo que sucede con el O17 de los derivados con azufre. Como se ha explicado en el capítulo 4, un disolvente polar como es el agua favorece las cargas localizadas que son estabilizadas por puentes de hidrógeno más fuertes. De este modo, cuanto mayor es la carga negativa más intensa es la interacción estabilizante y por tanto mayor la altura del pico. En relación con lo anterior, los átomos con una interacción más intensa tendrán un disolvente más estructurado. Los cálculos de los números de coordinación (es decir, el número de moléculas de disolvente que rodean a la molécula de soluto) muestran mayores valores para pCA$^-$ y pCMe$^-$. Dichos valores se encuentran recogidos en la tabla 5.8. Se puede comprobar que la magnitud de los números de coordinación es decreciente conforme aumenta el volumen del grupo terminal. A tenor de lo visto en el análisis de las *rdfs* y de los números de coordinación, se puede concluir que la diferente interacción de las moléculas de agua con los extremos fenólico y carboxílico para cada pareja de modelos (pCA$^-$/pCMe$^-$ y pCTA$^-$/pCTMe$^-$) puede explicarse por una combinación de dos factores. Por un lado, a la diferente carga electrónica de los átomos que establecen interacciones por puentes de hidrógeno con el disolvente. Por otro lado, al impedimento estérico que el grupo terminal del extremo carboxílico ejerce impidiendo el acercamiento de las moléculas de agua. Durante la excitación, la carga migra desde el anillo hacia el doble enlace central y el extremo carboxílico, siendo esto consistente con los valores de los momentos dipolares para los estados fundamental y excitado, mostrados en la tabla 5.10.

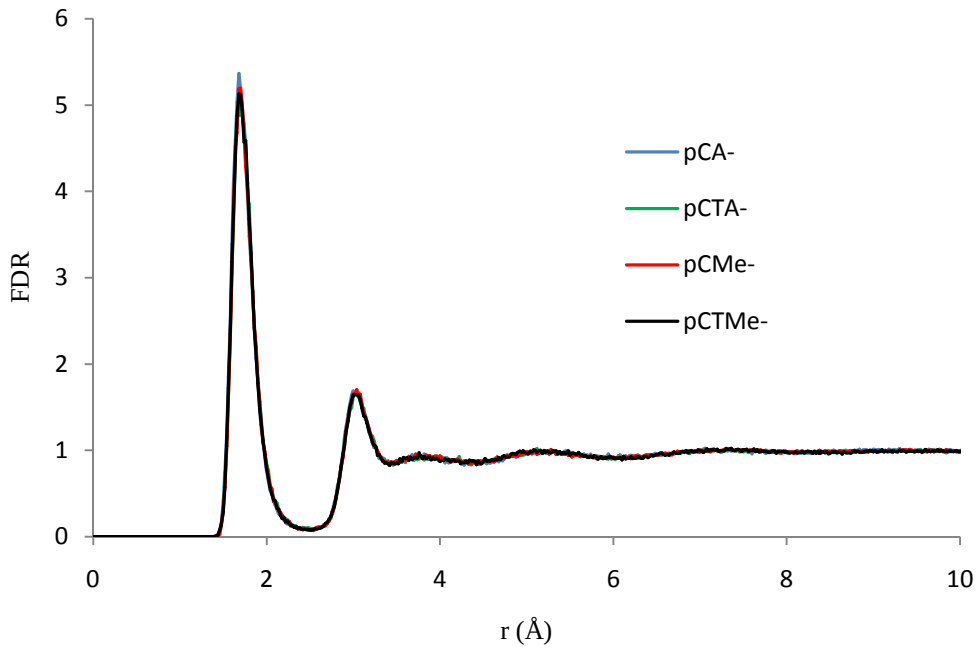


Figura 5.3A. Funciones de distribución radial O1-Hw para los cuatro modelos en el estado fundamental.

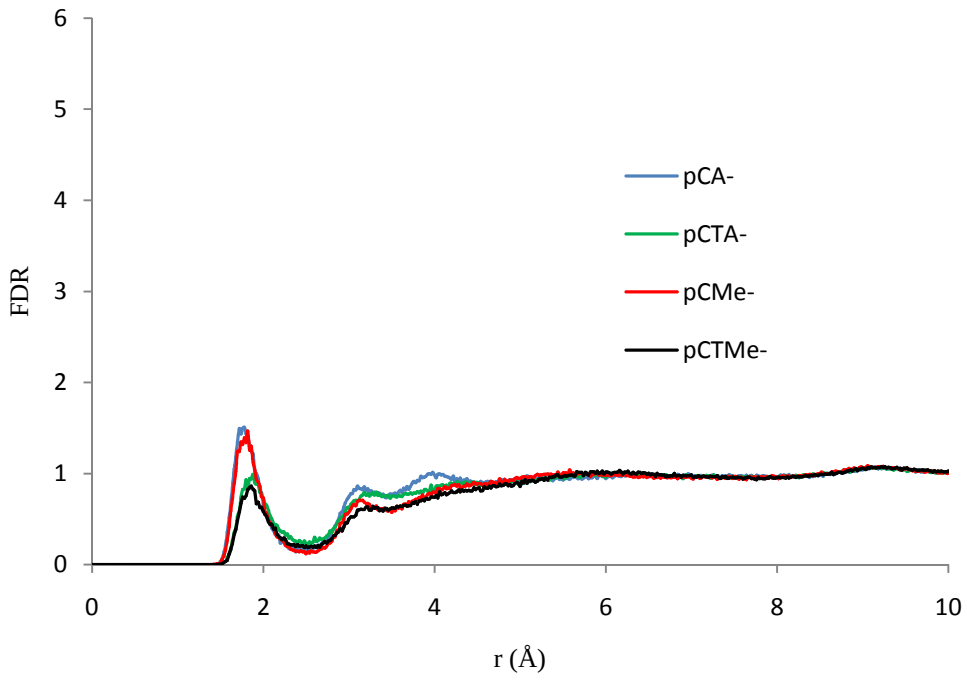


Figura 5.3B. Funciones de distribución radial O17-Hw para los cuatro modelos en el estado fundamental.

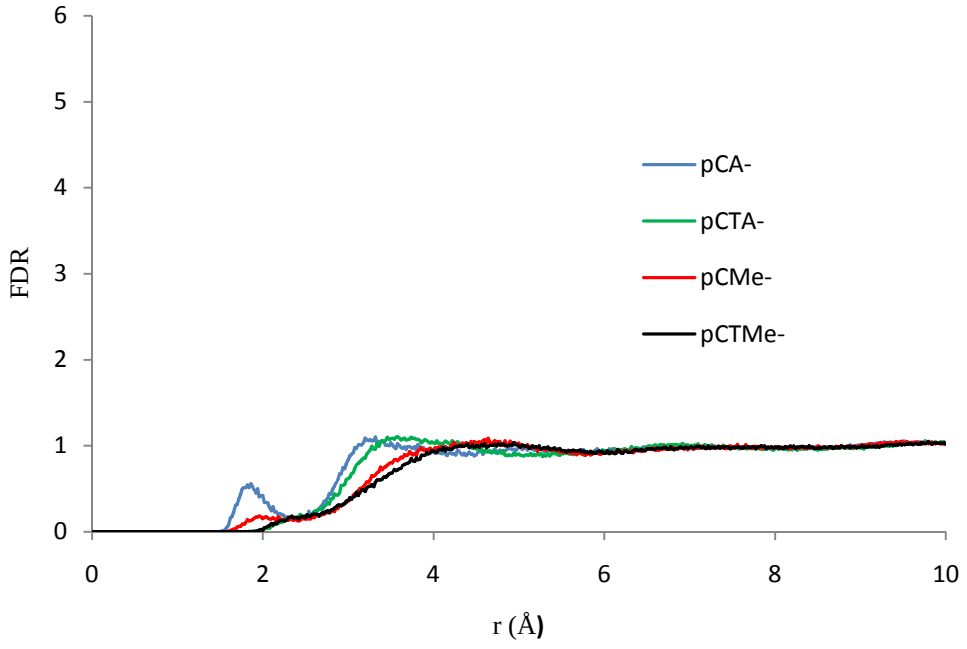


Figura 5.3C. Funciones de distribución radial X18-Hw para los cuatro modelos en el estado fundamental (X=O para pCA$^-$ y pCMe$^-$, X=S para pCTA$^-$ y pCTMe$^-$).

	pCMe- (X=O, Y=C)		pCTMe- (X=S, Y=C)		pCA- (X=O, Y=H)		pCTA- (X=S, Y=H)	
	S0	S2	S0	S1	S0	S2	S0	S1
O1	-0,970	-0,856	-0,962	-0,849	-0,964	-0,843	-0,955	-0,835
C2	0,681	0,689	0,694	0,709	0,613	0,662	0,659	0,658
C3	-0,477	-0,452	-0,493	-0,474	-0,460	-0,293	-0,454	-0,401
H4	0,167	0,158	0,171	0,157	0,173	0,137	0,162	0,144
C5	-0,128	-0,128	-0,065	-0,076	-0,142	-0,232	-0,031	-0,058
H6	0,188	0,181	0,166	0,151	0,167	0,161	0,131	0,117
C7	-0,019	0,173	-0,176	0,028	-0,049	0,157	-0,250	-0,035
C8	-0,143	-0,213	-0,089	-0,121	-0,120	-0,093	-0,009	-0,056
H9	0,177	0,163	0,163	0,154	0,167	0,156	0,131	0,124
C10	-0,486	-0,342	-0,496	-0,450	-0,436	-0,426	-0,515	-0,441
H11	0,170	0,141	0,167	0,152	0,167	0,160	0,176	0,157
C12	-0,041	-0,276	0,172	-0,012	-0,053	-0,307	0,089	-0,096
H13	0,096	0,123	0,058	0,087	0,125	0,156	0,117	0,146
C14	-0,496	-0,549	-0,580	-0,649	-0,385	-0,495	-0,363	-0,457
H15	0,166	0,161	0,223	0,220	0,186	0,190	0,228	0,235
C16	1,025	0,958	0,702	0,668	0,869	0,798	0,442	0,401
O17	-0,674	-0,687	-0,488	-0,515	-0,658	-0,679	-0,471	-0,504
X18	-0,490	-0,500	-0,309	-0,316	-0,702	-0,716	-0,375	-0,388
Y19	0,061	0,059	-0,201	-0,225	0,501	0,508	0,288	0,290
H20	0,088	0,090	0,168	0,175	---	---	---	---
H21	0,052	0,054	0,090	0,096	---	---	---	---
H22	0,052	0,053	0,087	0,092	---	---	---	---
Anillo	-0,839	-0,485	-0,921	-0,620	-0,883	-0,454	-0,956	-0,627
Doble enlace	-0,275	-0,541	-0,127	-0,355	-0,128	-0,456	0,072	-0,172
Extremo CX-Y	0,114	0,026	0,048	-0,025	0,011	-0,089	-0,116	-0,200

Tabla 5.7. Cargas ajustadas al potencial para los cuatro modelos en disolución. Cargas calculadas a nivel CASSCF(14,12)/cc-pVDZ con geometría CASSCF(14,12)/cc-pVDZ.

	pCMe$^-$ (X=O)	pCA$^-$ (X=O)	pCTMe$^-$ (X=S)	pCTA$^-$ (X=S)
O1	2,10	2,08	2,06	2,06
O17	0,88	0,88	0,61	0,74
X18	0,18	0,41	0,05	0,06

Tabla 5.8. Números de coordinación para los cuatro modelos.

En lo concerniente a las transiciones verticales en disolución, al igual que sucedía en fase gas, el grupo terminal del extremo carboxílico no influye en la posición de las bandas de los espectros de absorción. En la tabla 5.9 se muestran los valores para las energías de transición, las fuerzas de oscilador y el desplazamiento ocasionado por el disolvente (*solvent shift*) para los cuatro modelos a dos espacios activos. Los derivados pCA$^-$ y pCMe$^-$ presentan bandas de absorción similares entre sí, al igual que los derivados con azufre (pCTA$^-$ y pCTMe$^-$). Nuestros resultados en disolución están en concordancia con otros estudios experimentales. Espagne y col. [156] obtuvieron para el modelo pCMe$^-$ en disolución acuosa una banda centrada a 3,54 eV. Para el derivado pCTMe$^-$, Naseem y col. [181] dieron un valor de 3,36 eV para la transición más intensa. Los valores de *solvent shift* calculados son equivalentes para los cuatro modelos, obteniéndose un *blue shift* en torno a los 0,80 eV, bastante próximo al experimental (0,66 eV para pCMe$^-$ y PCTMe$^-$ si se tienen en cuenta los valores experimentales en vacío [151, 152]). Las energías de transición para los estados más brillantes de pCA- y pCMe- (3,80 eV) son ligeramente superiores a las correspodientes a los tio-derivados (3,50 eV), siendo la diferencia (0,30 eV) bastante próxima a la encontrada en vacío (0,20 eV, tabla 5.3D). Sin embargo, y al contrario de lo que sucedía en fase gas, esta vez la resolución del espectro resulta más compleja, ya que se obtiene una mezcla de estados electrónicos para los dos primeros estados excitados. De este modo, hay una participación de una transición desde un orbital π (similar al encontrado en fase gas) hasta un orbital π antienlazante localizado en el anillo bencénico, al que hemos llamado π^*_{ring}. Para el par pCMe$^-$/pCA$^-$, con un espacio activo (14,12), los estados S1 y S2 se encuentran prácticamente degenerados en energía (en torno a los 3,80 eV) aunque, de acuerdo a las fuerzas de oscilador, la transición más probable corresponde al estado S2 (0,600 frente a 0,100 para ambos modelos). En cambio, para los derivados con azufre (par pCTMe$^-$/pCTA$^-$), existe un *gap* en torno a 0,40 eV entre los dos estados excitados (3,45 y 3,85 eV para S1 y S2, respectivamente), permaneciendo el primero como el más brillante (fuerza de oscilador sobre los 0,500). En la figura 5.4 se representan los orbitales implicados y los mapas de densidad electrónica para el derivado tioéster, aunque para los cuatro modelos los orbitales y los mapas son similares en su topología y las mismas conclusiones se obtienen para todos ellos. Las dos primeras transiciones presentan desplazamientos de carga electrónica casi idénticos, desde el anillo y el doble enlace central a los enlaces sencillos adyacentes a éste último. De igual manera, no se aprecian diferencias entre estos mapas y el obtenido para la transición HOMO→LUMO en disolución para los aniones fenolato VII y VIII (capítulo 4, figura 4.8). Gromov y col. [164], en su estudio con el modelo tioéster, advierten de la posibilidad de mezcla de ambos estados π antienlazante en el modelo neutro en fase gas. Así mismo, estos autores también encontraban que en fase gas las transiciones $(\pi \rightarrow \pi^*)$ y $(\pi \rightarrow \pi^*_{ring})$ estaban bien distinguidas cuando se producía la desprotonación en el oxígeno fenólico.

Sin embargo, y contrariamente a nuestro estudio, al colocar dos moléculas de agua cerca de este oxígeno (en un intento de imitar la interacción con el disolvente), la separación de estados electrónicos aún se conservaba. De todas formas, es necesario aclarar que dos moléculas de agua no es una representación fidedigna de una interacción soluto-disolvente. De hecho, los valores de *solvent shift* que dan para el pCTMe$^-$ a nivel CC2 son de 0,05 eV y de 0,03 eV con, respectivamente, bases aug-cc-pVDZ y cc-pVDZ. Por todo esto podemos afirmar que, para este sistema químico, la microsolvatación subestima claramente el papel jugado por el disolvente.

La mezcla que existe entre los dos primeros estados excitados se entiende si nos atenemos a los valores de momento dipolar en vacío (tabla 5.5). La transición $(n \rightarrow \pi^*)$, correspondiente al estado S2, es desestabilizada por el disolvente debido a su bajo momento dipolar, pasando en disolución a ser el tercer estado excitado para los cuatro modelos. Así mismo, el estado S3 en fase gas, que corresponde a una absorción $(\pi \rightarrow \pi^*_{ring})$, resulta ser más polar que los estados S0 y S1. Para los modelos con oxígeno, el momento dipolar de este estado S3 es más elevado que los mostrados por los tio-derivados (11,5 D aproximadamente, frente a un valor en torno a 9,0 D), lo cual se traduce en la existencia de una carga más localizada en el extremo fenólico y, por tanto, en una mejor solvatación para el par pCMe$^-$/pCA$^-$. Este hecho explica que la banda $(\pi \rightarrow \pi^*_{ring})$ corresponda ahora en disolución a una transición al estado S1 y que exista una degeneración energética entre los dos primeros estados excitados. Por el contrario, los derivados con azufre muestran una separación más pronunciada en las energías de los estados S1 y S2 gracias al menor momento dipolar que presenta dicha banda.

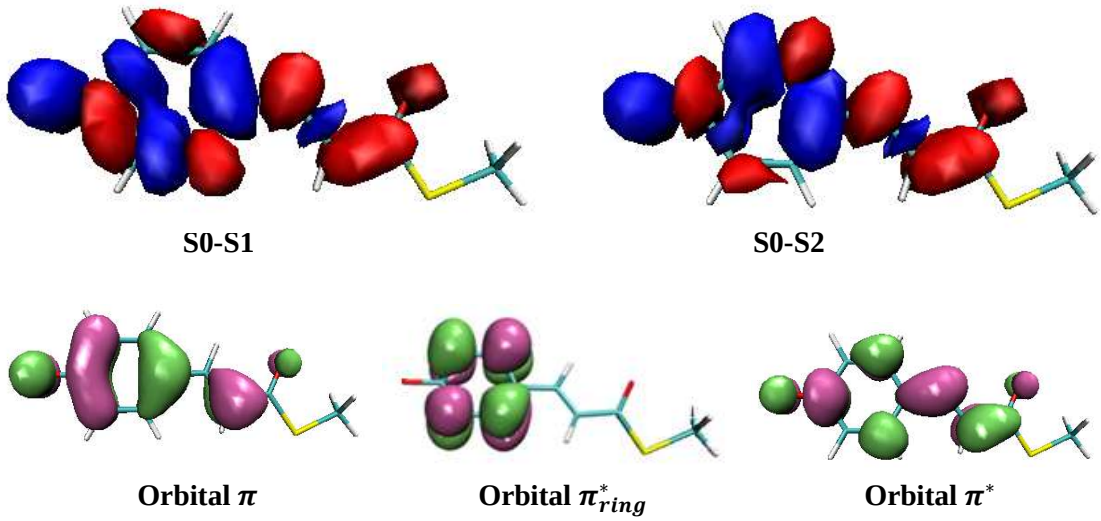


Figura 5.4. Mapas de variación de densidad electrónica para las transiciones en el modelo pCTMe$^-$ y orbitales implicados en disolución. Mapas de densidad electrónica calculados a nivel CASSCF(14,12)/cc-pVDZ con geometría CASSCF(14,12)/cc-pVDZ.

		Disolución			
		pCMe$^-$		pCTMe$^-$	
		(14,12)	(12,11)	(14,12)	(12,11)
S0-S1	eV	3,77	3,73	3,47	3,63
	$(\pi \rightarrow \pi^*)$	17%	61%	49%	31%
	$(\pi \rightarrow \pi^*_{ring})$	41%	---	---	30%
S0-S2	eV	3,80	3,90	3,82	3,68
	$(\pi \rightarrow \pi^*)$	51%	---	20%	40%
	$(\pi \rightarrow \pi^*_{ring})$	12%	47%	36%	20%
	f. osc. S0-S1	0,161	0,631	0,490	0,291
	f. osc. S0-S2	0,607	0,086	0,307	0,480

		pCA$^-$		pCTA$^-$	
		(14,12)	(12,11)	(14,12)	(12,11)
S0-S1	eV	3,74	3,69	3,44	3,57
	$(\pi \rightarrow \pi^*)$	22%	62%	53%	37%
	$(\pi \rightarrow \pi^*_{ring})$	37%	---	---	25%
S0-S2	eV	3,80	3,93	3,85	3,73
	$(\pi \rightarrow \pi^*)$	46%	---	15%	34%
	$(\pi \rightarrow \pi^*_{ring})$	16%	46%	34%	24%
	f. osc. S0-S1	0,204	0,624	0,540	0,350
	f. osc. S0-S2	0,557	0,074	0,256	0,427

		Solvent shift			
		pCMe$^-$	pCTMe$^-$	pCA$^-$	pCTA$^-$
δ (S0-S1) (14,12)	(eV)	0,86	0,74	0,84	0,71
	(kcal/mol)	19,83	17,07	19,37	16,37
δ (S0-S1) (12,11)	(eV)	0,79	0,95	0,73	0,84
	(kcal/mol)	18,22	21,91	16,83	19,37

Tabla 5.9. Energías de transición en vacío (en eV), fuerzas de oscilador, peso de las transiciones y solvent shift para los modelos pCMe$^-$, pCTMe$^-$, pCA$^-$ y pCTA$^-$. Transiciones calculadas a niveles SA-CASSCF(14,12)-PT2/cc-pVDZ y SA-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ con geometría CASSCF(14,12)/cc-pVDZ.

	Fase gas				
	S0	S1	S2	S3 ($n \rightarrow \pi^*$)	$\Delta\mu$ ($\pi \rightarrow \pi^*$)
pCMe$^-$	18,83	17,80	11,83	8,51	3,42
pCTMe$^-$	19,83	13,94	17,08	8,78	1,90
pCA$^-$	16,38	14,80	9,16	5,76	3,15
pCTA$^-$	17,47	10,83	15,12	6,39	1,37

Tabla 5.10. Módulo de los momentos dipolares (en D) en disolución para los cuatro modelos. Dipolos calculados a nivel CASSCF(14,12)/cc-pVDZ con geometría CASSCF(14,12)/cc-pVDZ.

CHAPTER 6

STUDY ON DESEXCITATION PROCESSES IN PHOTOACTIVE YELLOW PROTEIN DERIVATIVES.

In chapter 3 we have previously reported that, after irradiation, the Photoactive Yellow Protein (PYP) undergoes a deactivation pathway that, inside the protein, involve the *trans-cis* isomerization of the chromophore. This isomerization process is thought to be accompanied by dynamic changes in the hydrogen-bonding network. These interactions between the chromophore and the surrounding aminoacids stabilize the negative charge held by the phenolic oxygen and prevent against its autoionization. However, despite the simplicity of this mechanism in the native environment of the chromophore, many questions are still without answer when other external conditions are considered. A certain number of theoretical and experimental studies have pointed out the existence of alternative relaxation processes both in vacuum and in solution that are not related to the torsion of the double bond. This concerns, in particular, the torsion of an adjacent single bond as an alternative fluorescence deactivation channel.

It is our aim in this chapter to study the different deactivation mechanisms in the PYP chromophore models considered (methyl ester, $pCMe^-$, thiomethyl ester, $pCTMe^-$, acid, pCA^-, and thioacid, $pCTA^-$) and the key factors (intrinsic properties of the chromophore and/or the influence of the media) that can favour the preference of one channel or other. The chapter is structured as follows. Firstly, we will analyze the emission spectra for the four derivatives in gas phase and in solution, comparing our results with available experimental and theoretical data. After that, we will study the single- and double-bond torsions and their energy barriers.

6.1. Computational details.

Solvent effects on the emission spectra and deactivation channels of four models of the PYP protein chromophore were studied with the ASEP/MD method. This is a sequential quantum mechanics/molecular mechanics method (QM/MM) that makes use of the mean field approximation (MFA) [33, 34]. In this approximation, instead of considering specific solvent configurations, the perturbation enters into the solute molecular Hamiltonian in an averaged way. Consequently, ASEP/MD through the MFA permits to reduce the number of quantum calculation from several thousands, as usual in QM/MM methods, to only a few, and the highest levels of theory available at present can be employed. In solution calculations were performed

using Molcas-7.4 [186] and Gromacs-4.5 [187] programs for quantum calculations and molecular dynamics, respectively.

Geometry optimization was performed with the complete active self-consistent field (CASSCF) [41] theory both in gas phase and in solution. Based in our previous experience with the p-coumaric acid, the selected basis set was the cc-pVDZ and the active space was the complete π space with 12 electrons in 11 orbitals, (12,11). Excited states structures (minima, stationary points and conical intersections) where calculated as a state averaged of the first two states (SA2), with equal weights. Whereas CASSCF takes into account the near-degeneracies of different electronic configurations, the dynamic correlation energy is not included. This component was considered in the calculation by using CASPT2 methodology [42, 43]. In these calculations, the SA(2)-CASSCF wave functions were used as reference. Because of the limited size of the basis set and in order to facilitate comparison with experiment, we use a value of 0.0 for the ionization potential–electron affinity (IPEA) shift in the CASPT2 calculation. To minimize the appearance of intruder states, an additional imaginary shift of 0.1i Eh was used. The oscillator strengths were calculated with the RASSI algorithm implemented in Molcas.

The molecular dynamics simulations included 1532 water molecules and one molecule of solute in a rhombic dodecahedral box. All molecules had fixed intramolecular geometry. For the solute, the Lennard-Jones parameters were taken from the optimized potentials for liquid simulations, all atoms (OPLS-AA) force field [49, 50, 53, 54], and the atomic charges were obtained from the quantum calculations (see table 5.1, chapter 5). For water molecules, the TIP4P [188] model was employed. Periodic boundary conditions were applied in all directions. Short-range electrostatic interactions were cut-off at 1.3 nm and long-range interactions were calculated with the Particle-Mesh Ewald (PME) method [189]. The temperature was fixed at 298 K with the Nosé-Hoover thermostat [66, 67]. Each simulation was run in the NVT ensemble for 500 ps, with a time step of 1 fs, where the first 200 ps were used for equilibration and the last 300 ps for production. In solution final results were obtained by averaging the last five ASEP/MD cycles, and therefore they represent a 1.5 ns average.

6.2. Emission spectra in vacuum.

Gas phase optimizations of the first excited state lead to planar structures with bond lengths and angles similar to that found in the ground state (see chapter 5). Geometric parameters of interest for the four models considered are shown in Table 6.1. According to these values, it is evident that in vacuum exists an equilibrium between two resonance forms (see figure 4.5 in chapter 4). The negative charge is localized at the phenolate oxygen or at the

carboxyl fragment, depending on the structure. The quinolic character of the phenolic ring is present for all the models: C2-C3, C5-C7, C7-C8 and C2-C10 bonds show a less marked double bond character than the rest of the ring. Table 6.2 displays the charge distribution during the desexcitation for each PYP chromophore model. Comparing the different derivatives, one can observe that the flux of charge along the emission process goes from the carboxyl moiety and central double bond to the phenolic part, just in the opposite direction of the absorption process (chapter 5, table 5.4). The first excited state of pCTMe$^-$ and pCTA$^-$ accommodate more negative charge on the carbonyl part of the molecule than pCMe$^-$ and pCA$^-$, due to the bigger electron-acceptor character of the sulphur.

	pCMe$^-$ (X=O, Y=C)	pCTMe$^-$ (X=S, Y=C)	pCA$^-$ (X=O, Y=H)	pCTA$^-$ (X=S, Y=H)
d(O1-C2)	1,243	1,242	1,243	1,242
d(C2-C3)	1,441	1,444	1,441	1,444
d(C3-C5)	1,401	1,397	1,401	1,397
d(C5-C7)	1,432	1,427	1,432	1,427
d(C7-C8)	1,422	1,418	1,422	1,418
d(C8-C10)	1,389	1,392	1,389	1,393
d(C2-C10)	1,458	1,454	1,458	1,454
d(C7-C12)	1,461	1,471	1,462	1,472
d(C12-C14)	1,413	1,408	1,414	1,407
d(C14-C16)	1,425	1,428	1,424	1,428
d(C16-O17)	1,220	1,222	1,221	1,219
d(C16-X18)	1,376	1,837	1,373	1,849
d(X18-Y19)	1,393	1,811	0,947	1,337
a(C7-C12-C14)	123,9	124,2	123,9	124,2
a(C12-C14-C16)	121,6	121,8	121,7	121,6
a(C14-C16-O17)	128,1	127,7	128,3	128,2
a(C17-C16-X18)	119,4	118,5	118,0	118,3

Table 6.1. Selected geometrical parameters for the four PYP chromophore models in gas phase. Optimized geometries at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level of theory.

	pCMe$^-$ (X=O, Y=C)		pCTMe$^-$ (X=S, Y=C)		pCA$^-$ (X=O, Y=H)		pCTA$^-$ (X=S, Y=H)	
	S0	S1	S0	S1	S0	S1	S0	S1
O1	-0,630	-0,625	-0,642	-0,614	-0,642	-0,606	-0,606	-0,613
C2	0,642	0,569	0,673	0,548	0,632	0,517	0,621	0,533
C3	-0,407	-0,365	-0,403	-0,335	-0,374	-0,322	-0,379	-0,321
H4	0,133	0,121	0,105	0,099	0,099	0,094	0,125	0,112
C5	-0,123	-0,182	-0,028	-0,138	-0,083	-0,173	-0,071	-0,149
H6	0,121	0,118	0,074	0,089	0,088	0,096	0,072	0,070
C7	-0,020	0,209	-0,072	0,164	0,002	0,245	-0,067	0,149
C8	-0,144	-0,241	-0,125	-0,233	-0,176	-0,282	-0,105	-0,204
H9	0,113	0,113	0,096	0,108	0,103	0,111	0,100	0,104
C10	-0,360	-0,153	-0,374	-0,187	-0,347	-0,142	-0,378	-0,192
H11	0,080	0,044	0,097	0,075	0,094	0,068	0,094	0,062
C12	-0,007	-0,101	0,008	-0,100	-0,085	-0,198	-0,029	-0,094
H13	0,063	0,049	0,086	0,065	0,117	0,098	0,088	0,067
C14	-0,566	-0,550	-0,556	-0,475	-0,486	-0,461	-0,485	-0,463
H15	0,138	0,128	0,195	0,176	0,166	0,147	0,208	0,226
C16	0,801	0,747	0,662	0,565	0,826	0,743	0,538	0,534
O17	-0,569	-0,591	-0,501	-0,508	-0,634	-0,636	-0,492	-0,534
X18	-0,426	-0,478	-0,425	-0,429	-0,705	-0,708	-0,438	-0,497
Y19	-0,017	0,181	0,069	0,071	0,405	0,409	0,203	0,213
H20	0,054	-0,008	0,046	0,045	---	---	---	---
H21	0,061	0,007	0,007	0,007	---	---	---	---
H22	0,061	0,007	0,007	0,007	---	---	---	---
$^-$O-Ring	-0,593	-0,392	-0,598	-0,426	-0,603	-0,394	-0,593	-0,451
Vinylic bond	-0,372	-0,474	-0,267	-0,333	-0,288	-0,414	-0,219	-0,264
CX-Y fragment	-0,036	-0,135	-0,135	-0,241	-0,109	-0,192	-0,188	-0,285

Table 6.2. Electrostatic potential fitted charges on the atoms of the four PYP chromophore models in gas phase. Optimized geometries at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level of theory.

In gas phase, the most probable absorption is that leading to the S1 state, with an oscillator strength of about 1,0 for the four derivatives that corresponds to a ($\pi \rightarrow \pi^*$) transition (see chapter 5, table 5.3D and figure 5.2). It is found that the emission process goes in the opposite direction, involving the desexcitation the same orbitals. This finding agrees with the flux of charge found. In table 6.3 we display the electronic transition energies and oscillator strengths for the four models. Once again, we can distinguish two groups: on one hand, models containing a sulphur atom, on the other hand, models with an oxygen atom in the terminal group. Our calculations provide a value for the energy gap between the first excited state and

the ground state of 2,70 eV for pCMe$^-$/pCA$^-$ and 2,50 eV for pCTMe$^-$/pCTA$^-$. As in the absorption, the substitution of an hydrogen atom for a bulkier group as the methyl one does not affect the values of the energies. Regarding the charge distribution, the flux of charge during the emission from the carbonyl moiety and vinylic bond towards the ring is lower for the models with a sulphur. This results in a less dramatic electronic transfer and a slight red shift (about 0,20 eV) on the emission band for the thio-derivatives is produced. As a consequence of this flux of charge, it is implied a decrease of the dipole moment that is larger as the flux increases (table 6.4). Concerning the values, pCA$^-$ and pCMe$^-$ have the negative charge more separated along the molecule and consequently they present higher dipole moments and a greater decrease is obtained. To the best of our knowledge, we do not have found gas-phase experimental data for comparison with our theoretical results.

	Gas phase			
	pCMe$^-$	pCTMe$^-$	pCA$^-$	pCTA$^-$
$(\pi \rightarrow \pi^*)$	2,69	2,50	2,71	2,51
osc. str. $(\pi \rightarrow \pi^*)$	0,913	0,954	0,918	0,960

Table 6.3. Electronic transition energies (in eV) and oscillator strengths in gas phase for the four models at SA2-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ level of theory.

	Gas phase		
	S0	S1	$\Delta\mu$(S1→ S0)
pCMe$^-$	7,32	4,00	-3,32
pCTMe$^-$	5,42	2,94	-2,48
pCA$^-$	7,26	4,14	-3,12
pCTA$^-$	5,02	2,89	-2,13

Table 6.4. Dipole moment values (in D) for the four models at SA2-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ level of theory in gas phase.

6.3. Emission spectra in solution.

Table 6.5 displays some geometric parameters of the four models in water solution. The solvent causes only small changes on the geometry of the excited state. Gas phase and in solution geometries are very similar and only a slight increase in O1-C2 and C16-O17 bond

lengths is appreciated due to the interaction of both oxygens with water molecules. By analyzing the electrostatic potential fitted charges in solution (table 6.6), it can be noted that the negative charge over the phenolic oxygen (O1) is larger than in gas phase (see table 6.2). The same situation occurs with both the carboxylic oxygen (O17) and the atom from the terminal group (X18). The interaction with the solvent modifies the electronic distribution of the chromophores. The negative charge is now shared between the extremes of the chromophore, in contrast to the ground state, where the negative charge was mainly over the phenolic ring (see chapter 5, table 5.7). The differences in charge distribution between the optimized geometries for ground and excited state result in a different solvent structure around the phenolic and carbonyl moiety. In figures 6.1A, 6.1B and 6.1C we gather the radial distribution functions (*rdf*) for the atoms O1, O17 and X18 at the excited state geometry for the four derivatives. Whereas in the ground state the height of the first peak is great in the Hw-O1 *rdf*, very low in Hw-O17 *rdf* and negligible in Hw-X18 *rdf* (see chapter 5, figures 5.3A, 5.3B and 5.3C), in the excited state the situation turned into a higher height for Hw-O17 and Hw-O18 *rdfs* and a less structured solvent around the phenolic oxygen, although the height of the first peak for the Hw-O1 *rdf* is still greater than for both the other *rdfs*.

	pCMe- (X=O, Y=C)	pCTMe- (X=S, Y=C)	pCA- (X=O, Y=H)	pCTA- (X=S, Y=H)
d(O1-C2)	1,257	1,260	1,256	1,261
d(C2-C3)	1,435	1,436	1,447	1,434
d(C3-C5)	1,392	1,389	1,388	1,388
d(C5-C7)	1,432	1,428	1,421	1,428
d(C7-C8)	1,423	1,422	1,432	1,422
d(C8-C10)	1,388	1,387	1,388	1,389
d(C2-C10)	1,445	1,442	1,431	1,442
d(C7-C12)	1,458	1,460	1,456	1,461
d(C12-C14)	1,418	1,399	1,417	1,398
d(C14-C16)	1,422	1,435	1,415	1,434
d(C16-O17)	1,229	1,241	1,230	1,238
d(C16-X18)	1,351	1,797	1,349	1,799
d(X18-Y19)	1,415	1,811	0,963	1,347
a(C7-C12-C14)	125,1	126,3	121,4	124,1
a(C12-C14-C16)	119,8	120,0	121,2	121,8
a(C14-C16-O17)	125,5	124,7	125,9	125,2
a(C17-C16-X18)	119,6	119,2	119,0	119,1

Table 6.5. Selected geometrical parameters for the four PYP chromophore models in solution. Optimized geometries at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level of theory.

	pCMe$^-$ (X=O, Y=C)		pCTMe$^-$ (X=S, Y=C)		pCA$^-$ (X=O, Y=H)		pCTA$^-$ (X=S, Y=H)	
	S0	S1	S0	S1	S0	S1	S0	S1
O1	-0,822	-0,782	-0,726	-0,695	-0,825	-0,788	-0,800	-0,780
C2	0,798	0,708	0,538	0,431	0,805	0,723	0,765	0,668
C3	-0,525	-0,463	-0,359	-0,293	-0,515	-0,357	-0,478	-0,414
H4	0,178	0,173	0,152	0,149	0,185	0,166	0,171	0,167
C5	-0,047	-0,150	-0,031	-0,125	-0,054	-0,160	-0,012	-0,124
H6	0,176	0,190	0,140	0,152	0,157	0,166	0,142	0,159
C7	-0,099	0,148	-0,197	0,008	-0,174	0,077	-0,214	-0,016
C8	-0,117	-0,240	-0,230	-0,330	-0,010	-0,103	-0,033	-0,131
H9	0,175	0,187	0,195	0,208	0,154	0,163	0,150	0,162
C10	-0,484	-0,306	-0,262	-0,116	-0,523	-0,472	-0,490	-0,366
H11	0,177	0,153	0,121	0,102	0,177	0,175	0,172	0,159
C12	0,016	-0,129	0,229	0,084	0,011	-0,168	0,112	-0,024
H13	0,101	0,090	0,055	0,046	0,130	0,127	0,113	0,102
C14	-0,720	-0,664	-0,701	-0,540	-0,647	-0,574	-0,531	-0,371
H15	0,186	0,164	0,216	0,190	0,209	0,187	0,231	0,210
C16	1,013	0,924	0,739	0,616	0,922	0,842	0,522	0,425
O17	-0,735	-0,733	-0,646	-0,651	-0,755	-0,753	-0,653	-0,651
X18	-0,543	-0,541	-0,402	-0,407	-0,746	-0,757	-0,435	-0,445
Y19	0,128	0,118	-0,083	-0,092	0,498	0,504	0,267	0,270
H20	0,070	0,072	0,132	0,134	---	---	---	---
H21	0,038	0,041	0,058	0,061	---	---	---	---
H22	0,036	0,040	0,063	0,067	---	---	---	---
$^-$O-ring	-0,590	-0,382	-0,660	-0,507	-0,622	-0,409	-0,626	-0,516
Vinylic bond	-0,417	-0,539	-0,201	-0,220	-0,297	-0,428	-0,075	-0,083
CX-Y fragment	0,007	-0,079	-0,139	-0,272	-0,081	-0,164	-0,299	-0,401

Table 6.6. Electrostatic potential fitted charges on the atoms of the four PYP chromophore models in solution. Optimized geometries at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level of theory.

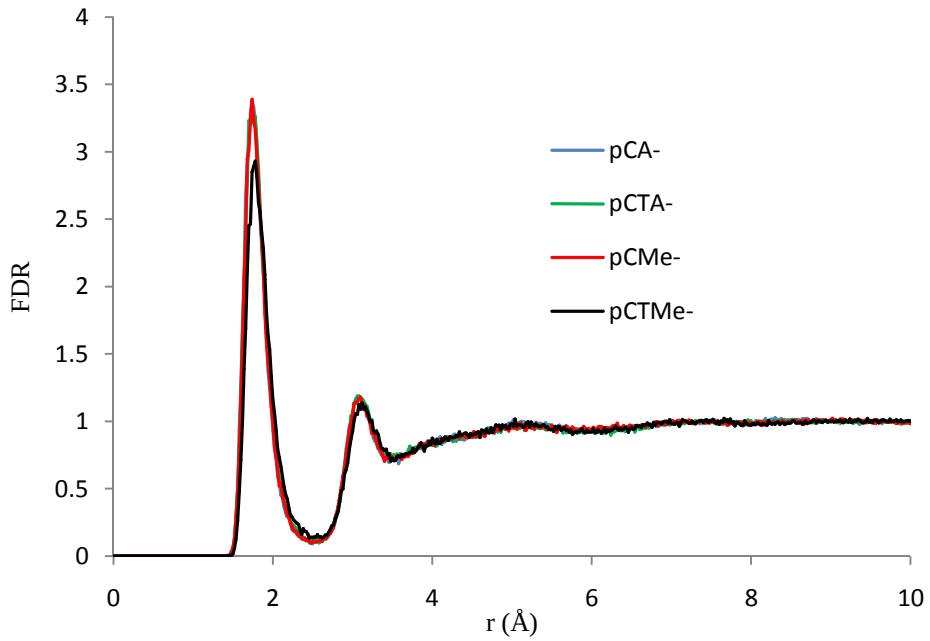


Figure 6.1A. O1-HW radial distribution function for the excited state of the four models in aqueous solution.

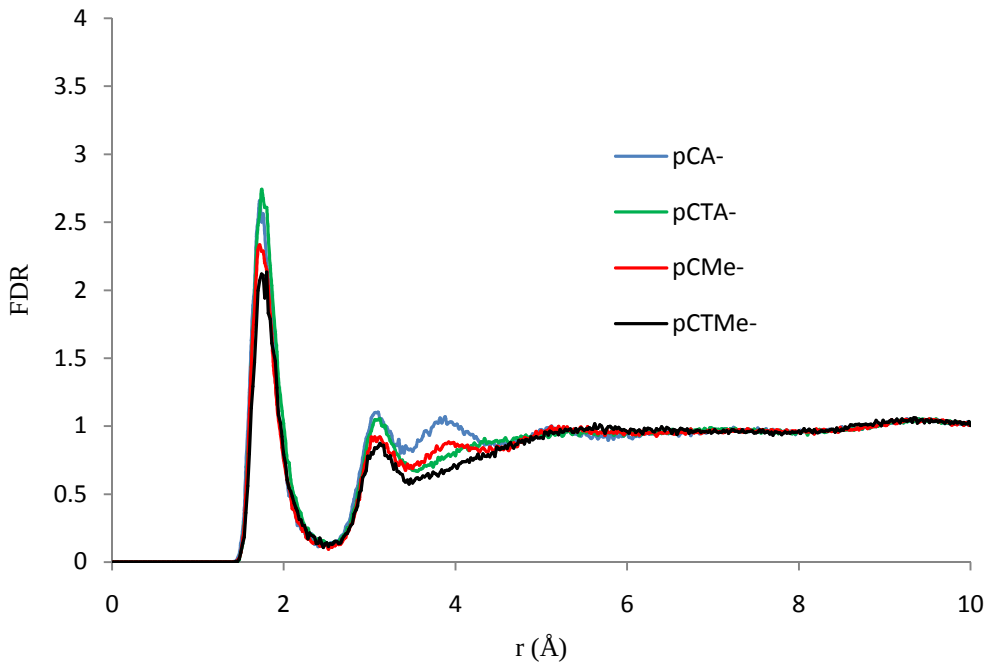


Figure 6.1B. O17-HW radial distribution function for the excited state of the four models in aqueous solution.

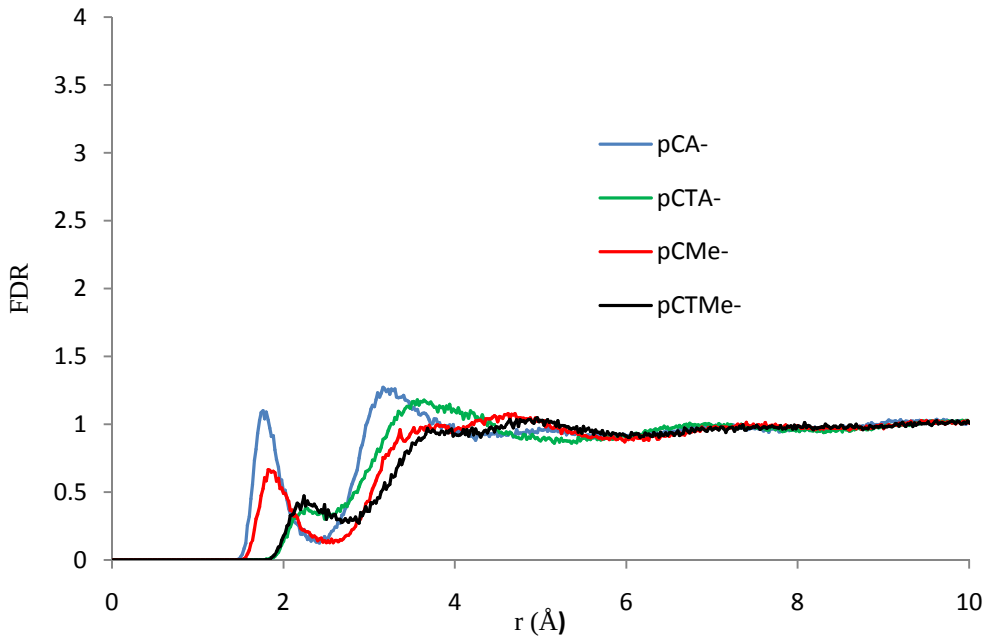


Figure 6.1C. X18-HW radial distribution function for the excited state of the four models in aqueous solution (X=O for pCA⁻ and pCMe⁻, X=S for pCTA⁻ and pCTMe⁻).

Previously on chapter 5 we have shown that both in vacuum and in solution the absorption spectrum is characterized by an absorption band corresponding to a $(\pi \rightarrow \pi^*)$ transition which involves a migration of charge from the phenolic ring to the central double bond and the carbonyl moiety. However, while in gas phase this is the transition with the strongest oscillator strength, in solution the four models considered features two degenerated excited states which are found to substantially mix, together with the $(\pi \rightarrow \pi^*)$ transition an additional $(\pi \rightarrow \pi^*_{ring})$ excitation is obtained. In contrast, the emission spectrum in solution involves mainly a $(\pi^* \rightarrow \pi)$ desexcitation with no mixture of states, being the characteristics of the electronic spectrum in solution quite similar to those observed in gas phase. There exists a flux of charge from the vinylic bond and terminal group to the ring, and models can be clasified in two groups depending on the X18 atom nature, having a poor influence the volume of the terminal group bounded to the latter atom. Table 6.7 displays transition energy values as well as the solvent shift obtained for the fluorescence emission for the derivatives considered. We have obtained a fluorescence band for the pair pCMe⁻/pCA⁻ of about 2,70 eV, in very good agreement with the experimental value of 2,76 eV reported by Espagne et al. for the methyl ester derivative [156]. For the pair pCTMe⁻/pCTA⁻, as in vacuum, a red shift of 0,20 eV is found compared with the models with an oxygen atom, the value calculated (nearby 2,50 eV) is close to the experimental value of 2,47 eV [155]. The reason of this red shift is related to the change in the electronic distribution during the desexcitation process: the greater the flux of charge is, the larger the energy gap between the excited and ground state increase. The pCTMe⁻/pCTA⁻

models displace less negative charge to the phenolic ring than the pCMe$^-$/pCA$^-$ pair: -0,153 and -0,110 a.u., versus -0,208 and 0,213 a.u., respectively. The dipole moment values differences between S0 and S1 state support this idea (table 6.8): the displacement of electronic charge is less dramatic for the pair pCTMe$^-$/pCTA$^-$ and for this reason the difference of dipole moment values going from excited to ground state is lower. Finally, we observe that, in opposition to the absorption spectrum, the emission solvent shift is very low. This fact agrees with the experimental data that show that the position of the fluorescence band hardly depends on the solvent considered [155]. The solute charges in gas phase and in solution are very similar and the solvent shift in emission becomes almost zero.

	Solution			
	pCMe$^-$	pCTMe$^-$	pCA$^-$	pCTA$^-$
$(\pi \rightarrow \pi^*)$	2,74	2,51	2,70	2,49
f. osc. $(\pi \rightarrow \pi^*)$	1,017	1,164	1,002	1,171

		Solvent shift			
		pCMe$^-$	pCTMe$^-$	pCA$^-$	pCTA$^-$
δ (S0-S1)	(eV)	0,08	0,03	0,02	0,01
	(kcal/mol)	1,84	0,69	0,46	0,23

Tabla 6.7. Electronic transition energies (in eV), oscillator strengths and solvent shifts for the models pCMe$^-$, pCTMe$^-$, pCA$^-$ and pCTA$^-$ at SA2-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ level of theory.

	Solution		
	S0	S1	$\Delta\mu$(S1→S0)
pCMe$^-$	9,61	6,50	-3,11
pCTMe$^-$	9,05	6,72	-2,33
pCA$^-$	6,74	3,80	-2,94
pCTA$^-$	6,25	4,91	-1,34

Table 6.8. Dipole moment values (in D) for the four models at SA2-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ level of theory in solution.

The red shift obtained when the substituted carbonyl end group is changed from an oxygen to a sulphur atom (0,20 eV) is in agreement with the tendency found by Espagne et al.

[155, 177]. In their studies with different derivatives (dianionic, pCA^{2-}, amide, pCM^{-}, methyl ester, $pCMe^{-}$, ketone, pCK^{-} and phenyl thioester, pCT^{-}), a progressive red shift for both the absorption and emission spectra is found, correlated with the progressive increase of the electron acceptor strength of the carbonyl tail. They also found that the amplitude of the fluorescence red shift is smaller than that of the absorption, which leads to a progressive decrease of the large fluorescence Stokes shift. As a summary, we can say that the calculated fluorescence spectra of the series of PYP chromophore analogues in aqueous solution reproduce fairly well the results obtained by experimental measurements.

6.4. Single- and double bond torsions and the competition with fluorescence channel.

Previously, in the chapter 3, we have summarized the main questions of the Photoactive Yellow Protein that must be solved in order to clarify what happens after irradiation with light. In the native protein, and thanks to the stabilizing interactions with the surrounding aminoacids that protects the chromophore against autoionization [159-161], the absorption of blue light initiates the trans-to-cis photoisomerization process and triggers the biological response [145]. Nevertheless, this clear picture of the initial step of the chromophore inside the protein pocket is controversial regarding other aspects. For instance, the chemical nature of the ester moiety (containing sulphur, as in the native species, or oxygen) exerts a significant influence in the preferred deactivation channel, photoisomerization or fluorescence emission [177]. In addition, in the isolated chromophore with no protein environment, several theoretical studies have pointed out, along with the fluorescence deactivation channel and the rotation of the double bond (β-twist torsion), the existence of a rotation of the single bond adjacent to the ring (α-twist torsion, [163-166]). Several authors have suggested that the relative importance of these torsional pathways can be strongly influenced by the environment [165] and, despite it has been not yet confirmed experimentally, several authors have justified their experimental results due to the existence of the α-twist torsion [155, 166, 178]. It is clear that an adequate comprehension of the photoisomerization process required the detailed description of the energy surfaces involved.

In this section, we have applied a new strategy based on T.J. Martínez's algorithm [90] for searching α- and β-twist MECIs in the four derivatives of the PYP chromophore and comparing the free energy differences with S1 planar structures that lead to emission process. This new approach has been implemented in the ASEP/MD method for the search in solution (for technical details see chapter 2). Anyway, we have tried the localization of optimized minima with similar geometries to these MECIs both in vacuum and in solution. Considering the poor influence of oxygen atoms lone-pair orbitals in absorption spectra (see chapter 5), and

in order to rationalize the computational cost required to perform the calculations needed, the active space has been reduced and only orbitals of π nature have been considered in the calculations, resulting now in an active space consisting of 12 electrons in 11 orbitals. Boggio-Pasqua et al. [200] show that reduction of active space is possible while keeping a reasonable description of the global S0 and S1 energy surfaces topology.

6.4.1. Stationary points with respect to the single and double bond.

For each PYP model considered, at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level, we have found, along with the planar S1 structures previously discussed in section 6.2, two stationary points corresponding to the single- and the double- bond torsions. In the discussion below we denote these structures as $S1^{\alpha}$ and $S1^{\beta}$, respectively. Figure 6.1 displays these structures for the pCA^- derivative. Table 6.9 summarizes the most important geometric parameters. The $S1^{\alpha}$ structures show a α-twist of around 90º. The $S1^{\beta}$ stationary points are characterized by torsional angles β=90º and α=180º, approximately. Before extending the analysis of these structures, we must emphatize that in this study we focus primarily on the MECI located thanks to the T.J. Martínez's algorithm [90] and conclusions regarding these stationary points are useful as preliminary approach. If we compare these geometries with the planar structures in vacuum (table 6.1), we can verify that the quinolic character of the phenolic ring for $S1^{\alpha}$ and $S1^{\beta}$ is stronger and their final structures look like more to a quinolic compound than the planar geometries, as C2-C3, C5-C7 and C7-C8 bond lengths are longer and C3-C5 and C8-C10 shorter. Concerning the values of these latter parameters as well as the rest of bond lengths and angles, there are no significant differences among models regardless of the α/β structure, the presence of O/S atom, or the CH3/H group in the carboxylic moiety, with the exception of C7-C12 and C12-C14 bonds. For $S1^{\alpha}$ structures, the C7-C12 bond length (bond placed between the ring and the central vinylic bond, C12-C14) is about 1.478 Å for each model, a value that is close to a C-C single bond. However, there is a clear difference in the $S1^{\beta}$ stationary points, so that the bond length has a noticeable double-bond character, being the bond length slightly higher for models containing oxygen atoms (1.410 Å vs. 1.406 Å). The C12-C14 bond (central double bond) has a different behaviour. The $S1^{\alpha}$ structures have a C12-C14 bond length closer to a C-C double bond, in this case there is no homogeneity and thio-derivatives show lower values (1.417 Å for $pCMe^-/pCA^-$ vs. 1.413 Å for $pCTMe^-/pCTA^-$). The $S1^{\beta}$ geometries present larger values for this bond (1.467 Å for pair $pCMe^-/pCA^-$ and 1.470 Å for $pCTMe^-/pCTA^-$), but we must not forget that the double-bond torsion undergoes the C12-C14 bond break. In fact, due to this torsion in $S1^{\beta}$structures the adjacent bond C7-C12 suffers the decrease in its length. These results are in agreement with Gromov et al. [164]. In their study at CC2 level of theory

with the pCTMe$^-$ model containing hydrogen bonds with two water molecules, they found a further elongation of the double bond and a marked shortening of C7-C12 and C16-S18 bonds for the S1$^\beta$ minimum as compared with the values at the S1$^\alpha$ minimum, a similar pattern is noted in our calculations.

	pCMe- (X=O, Y=C)		pCTMe- (X=S, Y=C)		pCA- (X=O, Y=H)		pCTA- (X=S, Y=H)	
	S1$^\alpha$	S1$^\beta$	S1$^\alpha$	S1$^\beta$	S1$^\alpha$	S1$^\beta$	S1$^\alpha$	S1$^\beta$
d(O1-C2)	1,237	1,244	1,236	1,243	1,237	1,244	1,236	1,242
d(C2-C3)	1,454	1,450	1,454	1,446	1,454	1,450	1,454	1,446
d(C3-C5)	1,378	1,375	1,377	1,379	1,378	1,375	1,377	1,378
d(C5-C7)	1,432	1,433	1,430	1,434	1,432	1,432	1,430	1,434
d(C7-C8)	1,431	1,436	1,430	1,436	1,431	1,436	1,430	1,436
d(C8-C10)	1,378	1,377	1,377	1,375	1,378	1,377	1,377	1,375
d(C2-C10)	1,454	1,443	1,454	1,449	1,454	1,443	1,454	1,449
d(C7-C12)	1,478	1,410	1,479	1,406	1,478	1,410	1,479	1,406
d(C12-C14)	1,417	1,467	1,413	1,471	1,418	1,467	1,413	1,470
d(C14-C16)	1,405	1,459	1,401	1,457	1,404	1,458	1,400	1,456
d(C16-O17)	1,225	1,201	1,226	1,204	1,228	1,202	1,221	1,201
d(C16-X18)	1,394	1,356	1,871	1,821	1,387	1,357	1,888	1,833
d(X18-Y19)	1,388	1,402	1,811	1,812	0,946	0,948	1,338	1,338
a(C7-C12-C14)	122,2	124,6	122,4	124,4	122,2	124,6	122,4	124,4
a(C12-C14-C16)	123,0	123,9	123,2	123,8	123,0	123,9	122,9	123,7
a(C14-C16-O17)	129,3	126,8	130,0	126,3	129,5	127,0	130,8	126,8
a(C17-C16-X18)	118,2	121,2	116,9	119,9	116,5	120,1	116,5	119,7
β (C7-C12-C14-C16)	180,0	93,5	179,8	92,7	179,8	93,6	179,9	93,1
α (C8-C7-C12-C14)	90,0	176,2	89,9	176,9	90,0	176,3	89,9	176,7

Table 6.9. Selected geometrical parameters for the four S1$^\alpha$ *and* S1$^\beta$ *PYP chromophore models in gas phase. Optimized geometries at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level of theory.*

These stationary points are associated with different charge distributions in the S1 state. Table 6.10 displays the dipole moment values for S1$^\alpha$ and S1$^\beta$structures. If we compare these dipole moments with those corresponding to planar S1 structures (table 6.8), it is noted that both torsions undergo a noticeable electronic polarization. In this way, the difference in dipole moments between the S1 and S0 states on S1$^\alpha$ structures is more intense for models containing oxygen, just as occur in planar geometries ($\Delta\mu$(S0→S1) of 8.22 D for pCMe$^-$ vs. 4.97 D for pCTMe$^-$, and 6.49 D for pCA$^-$ vs. 1.78 D for pCTA$^-$). On the contrary, models with sulphur show higher variations on S1$^\beta$ geometries, so that pCTMe$^-$ and pCTA$^-$ are characterized by a decrease of 9.34 D and 5.08 D, respectively. The existence of a methyl group strengthens the

separation of charges, therefore the larger differences in dipole moments for methyl ester and thiomethyl ester derivatives. Charge distributions and electrostatic potential fitted charges are shown in Tables 6.11A and 6.11B. Regarding the evolution of the charge distributions as a function of geometry, it is evident a charge inversion in the S0 and S1 states at the twisted geometries. For $S1^{\alpha}$ structures, the electronic density at the excited state is localized exclusively on the alkene fragment, whereas for $S1^{\beta}$ geometries exhibit a localization of the negative charge on the phenolate moiety. Figures 6.2A and 6.2B show the orbitals for both excited geometries of the pCMe$^-$ model, the rest of the models show a certain similarity in orbital patterns and conclusions are coincident. For $S1^{\alpha}$ structures, the π_{α} orbital is concentrated on the phenolic part, with a p-type atomic orbital on the C7 atom. The π_{α}^{*} orbital has the electronic density localized exclusively on the alkene fragment, with a p-type orbital on the C12 atom. Overall, the new patterns of these orbitals show a deconjugation of the π-electron system. For the $S1^{\beta}$ stationary points, orbitals also point out a deconjugation of the initial π-electron system. In this case, atoms involved in the formation of the central double bond present orthogonal p-type orbital patterns, π_{β} electronic density is concentrated on the alkene moiety, while the π_{β}^{*} density is concentrated on the phenolic ring. This different localization of charge depending on the final structure has been reported by several studies [164, 165], and explained in terms of the biradicaloid state theory [201,202].

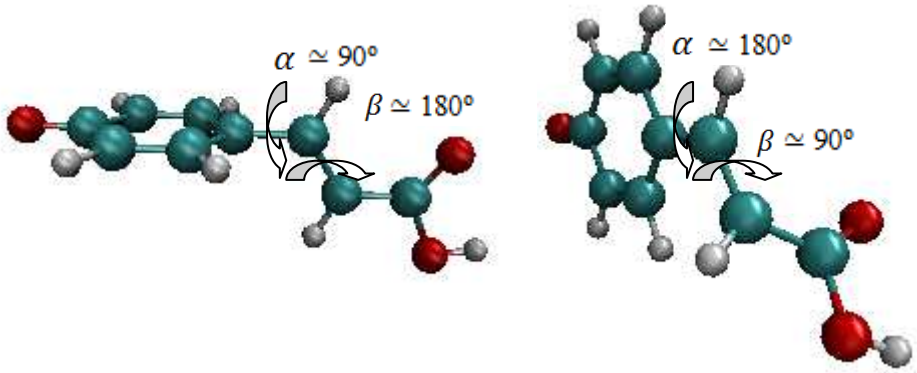
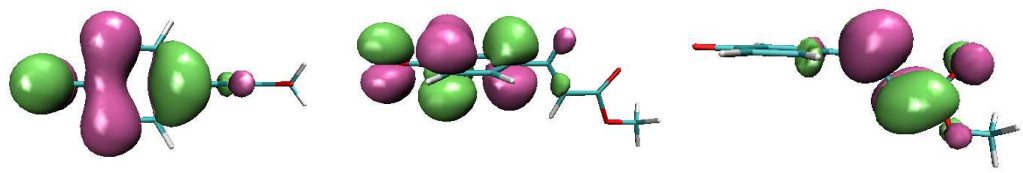
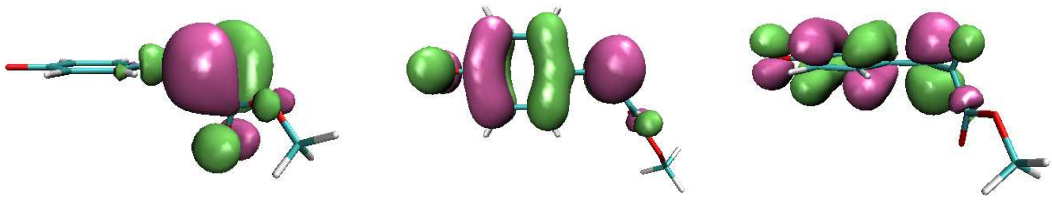


Figure 6.1. $S1^{\alpha}$ and $S1^{\beta}$ geometries for the pCA$^-$ model.



π_{α} orbital (view from above) **π_{α} orbital (side view)** **π_{α}^{*} orbital (side view)**

Figure 6.2A. Molecular orbitals of the pCMe$^-$ model at $S1^{\alpha}$ geometry.



π_β orbital (side view) **π^*_β orbital (view from above)** **π^*_β orbital (side view)**

Figure 6.2B. Molecular orbitals of the pCMe⁻ model at S1$^\beta$ geometry.

	Gas phase					
	α-twist structure S1$^\alpha$			β-twist structure S1$^\beta$		
	S0	S1	$\Delta\mu$(S1→S0)	S0	S1	$\Delta\mu$(S1→S0)
pCMe⁻	13,57	5,35	-8,22	3,10	11,52	8,42
pCTMe⁻	12,67	6,18	-6,49	2,81	12,15	9,34
pCA⁻	11,52	6,54	-4,97	5,11	9,57	4,46
pCTA⁻	10,31	8,54	-1,78	5,05	10,13	5,08

Table 6.10. Dipole moment values (in D) for the four S1$^\alpha$ and S1$^\beta$ PYP chromophore models at SA2-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ level of theory in gas phase.

Table 6.12A displays transition energy values ΔE(S1-S0) for S1$^\alpha$ and S1$^\beta$ structures. Relative energies for the three stationary points found (planar minimum, named S1, as well as S1$^\alpha$ and S1$^\beta$) are collected in Table 6.12B. From an energetic point of view, the stability order is different depending on the atom of the carboxylic fragment. For pCMe⁻/pCA⁻ models, the S1$^\beta$ geometry is 0.30 eV more stable than the planar structure, and 0.25 eV lower in energy than the corresponding S1$^\alpha$ points. On the contrary, the S1$^\alpha$ structures of models containing sulphur are more stables than the S1$^\beta$ structures, about 0.13 eV for pCTMe⁻ and 0.15 eV for pCTA⁻ in relation to the planar minimums. The S0-S1 energy gaps for S1$^\beta$ structures are much smaller than the S0-S1 gap for S1$^\alpha$, this fact has previously reported by Gromov et al. [164] with similar values in the ΔE(S1-S0) for pCMe⁻·2H_2O and pCTMe⁻·2H_2O at CC2 level. We will return to this point later when we discuss the preferred desexcitation routes for each type of PYP chromophore model

	pCMe$^-$ (X=O)				pCTMe$^-$ (X=S)			
	S1$^\alpha$		S1$^\beta$		S1$^\alpha$		S1$^\beta$	
	S0	S1	S0	S1	S0	S1	S0	S1
O1	-0,737	-0,589	-0,580	-0,667	-0,699	-0,506	-0,580	-0,668
C2	0,626	0,686	0,750	0,563	0,587	0,578	0,767	0,591
C3	-0,418	-0,251	-0,404	-0,371	-0,415	-0,233	-0,427	-0,397
H4	0,114	0,083	0,098	0,101	0,122	0,103	0,110	0,113
C5	-0,117	-0,062	0,186	-0,136	-0,149	-0,143	0,175	-0,133
H6	0,075	0,023	-0,001	0,079	0,087	0,062	0,003	0,079
C7	-0,199	0,254	-0,141	0,103	-0,216	0,344	-0,104	0,107
C8	-0,137	-0,057	-0,069	-0,222	-0,140	-0,135	-0,050	-0,199
H9	0,072	0,013	0,066	0,103	0,082	0,058	0,064	0,101
C10	-0,407	-0,252	-0,281	-0,308	-0,415	-0,234	-0,309	-0,348
H11	0,117	0,087	0,069	0,084	0,121	0,103	0,083	0,098
C12	0,411	-0,007	0,504	-0,431	0,366	-0,214	0,418	-0,470
H13	-0,099	-0,070	-0,058	0,083	-0,034	0,006	-0,036	0,093
C14	-0,414	-0,769	-1,082	0,113	-0,397	-0,585	-0,965	0,156
H15	0,095	0,128	0,135	-0,018	0,128	0,169	0,154	0,008
C16	0,849	0,755	0,762	0,767	0,737	0,473	0,574	0,592
O17	-0,547	-0,627	-0,682	-0,560	-0,459	-0,523	-0,596	-0,447
X18	-0,444	-0,571	-0,488	-0,510	-0,413	-0,451	-0,415	-0,420
C19	0,241	0,584	0,215	0,232	0,016	0,097	0,043	0,065
H20	-0,055	-0,148	-0,005	-0,011	0,052	0,036	0,050	0,044
H21	-0,009	-0,102	0,012	0,011	0,019	-0,003	0,029	0,025
H22	-0,015	-0,108	-0,006	-0,004	0,020	-0,003	0,011	0,010
$^-$O-Ring	-1,011	-0,065	-0,306	-0,671	-1,035	-0,003	-0,268	-0,657
Vinylic bond	-0,008	-0,717	-0,502	-0,254	0,062	-0,624	-0,429	-0,212
CX-Y fragment	0,019	-0,218	-0,192	-0,075	-0,027	-0,373	-0,303	-0,131

Table 6.11A. Electrostatic potential fitted charges on the atoms of pCMe$^-$ and pCTMe$^-$ models in gas phase for S1$^\alpha$ *and* S1$^\beta$ *structures. Optimized geometries at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level of theory.*

The vibrational analysis of the S1$^\alpha$ and S1$^\beta$ stationary points revealed no imaginary frequencies with the exception of S1$^\alpha$ structures for the pair pCMe$^-$/pCA$^-$, where one mode is found that concerns the whole molecule in a slight bending along the main axis. Vibrational analysis with S1$^\alpha$ and S1$^\beta$ geometries calculated at SA5-CASSCF(14,12)-PT2/cc-pVDZ level of theory (that is, including the lone pair of the phenolic oxygen into the active space) were performed for comparison. Results show that the incorporation of this new orbital produces that now all the S1$^\alpha$ structures present an imaginary mode, regarless the carbonyl end group.

Gromov et al., in their studies with the pCTMe$^-$ model at CC2 level of theory [164, 170], obtained that one of the stationary points found at the S1 surface changed from transition state to minimun with the addition of diffuse functions, concluding that its use is necessary to provide the correct description of the S1 topology, specially along the coordinates connected with α and β torsion. According to our results, the S1$^{\alpha}$ and S1$^{\beta}$ stationary points prove to be surrounded by a plain S1 landscape and, as a result, the assignment of the corresponding structure to a minimum or a transition state is strongly dependent of the level of theory employed.

	pCA- (X=O)				pCTA- (X=S)			
	S1$^{\alpha}$		S1$^{\beta}$		S1$^{\alpha}$		S1$^{\beta}$	
	S0	S1	S0	S1	S0	S1	S0	S1
O1	-0,700	-0,510	-0,579	-0,666	-0,701	-0,508	-0,570	-0,658
C2	0,597	0,590	0,752	0,563	0,591	0,585	0,746	0,569
C3	-0,436	-0,257	-0,397	-0,362	-0,408	-0,234	-0,416	-0,383
H4	0,125	0,107	0,099	0,101	0,117	0,101	0,108	0,110
C5	-0,129	-0,125	0,145	-0,180	-0,135	-0,119	0,170	-0,141
H6	0,082	0,057	0,012	0,091	0,080	0,053	0,000	0,076
C7	-0,205	0,367	-0,085	0,162	-0,243	0,300	-0,086	0,134
C8	-0,132	-0,127	-0,050	-0,207	-0,132	-0,116	-0,066	-0,219
H9	0,083	0,057	0,057	0,096	0,079	0,053	0,070	0,107
C10	-0,434	-0,256	-0,301	-0,325	-0,409	-0,236	-0,290	-0,327
H11	0,124	0,107	0,075	0,090	0,117	0,101	0,078	0,093
C12	0,292	-0,314	0,428	-0,510	0,329	-0,241	0,384	-0,515
H13	-0,006	0,038	-0,042	0,098	-0,001	0,038	-0,032	0,099
C14	-0,358	-0,600	-1,036	0,167	-0,324	-0,520	-0,892	0,231
H15	0,111	0,149	0,152	-0,002	0,137	0,180	0,156	0,010
C16	0,893	0,683	0,764	0,767	0,683	0,425	0,509	0,530
O17	-0,607	-0,658	-0,706	-0,583	-0,484	-0,559	-0,603	-0,449
X18	-0,678	-0,709	-0,700	-0,729	-0,478	-0,501	-0,463	-0,474
H19	0,378	0,401	0,414	0,428	0,183	0,196	0,198	0,206
$^-$O-Ring	-1,025	0,009	-0,273	-0,637	-1,044	-0,018	-0,256	-0,638
Vinylic bond	0,039	-0,726	-0,498	-0,247	0,140	-0,543	-0,385	-0,175
CX-Y fragment	-0,015	-0,283	-0,229	-0,116	-0,096	-0,439	-0,359	-0,187

Table 6.11B. Electrostatic potential fitted charges on the atoms of pCA$^-$ and pCTA$^-$ models in gas phase for S1$^{\alpha}$ *and* S1$^{\beta}$ *structures. Optimized geometries at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level of theory.*

	Gas phase			
	α-twist structure $S1^{\alpha}$		β-twist structure $S1^{\beta}$	
	$(\pi^*_{\alpha} \rightarrow \pi_{\alpha})$	Osc. Str.	$(\pi^*_{\beta} \rightarrow \pi_{\beta})$	Osc. Str.
pCMe$^-$	1,70	0,000	0,38	0,000
pCTMe$^-$	1,34	0,000	0,75	0,000
pCA$^-$	1,69	0,000	0,40	0,000
pCTA$^-$	1,30	0,000	0,81	0,000

Table 6.12A. Electronic transition energies (in eV) and oscillator strengths in gas phase for the four models at SA2-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ level of theory for $S1^{\alpha}$ *and* $S1^{\beta}$ *structures.*

	ΔE (eV) in gas phase			
	pCMe-	pCTMe-	pCA-	pCTA-
S1	0	0	0	0
$S1^{\alpha}$	-0,05	-0,13	-0,06	-0,15
$S1^{\beta}$	-0,30	-0,07	-0,30	-0,06

Table 6.12B. Relative energies (in eV) for the different stationary points located in the excited state surface in gas phase of the four models at SA2-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ level.

6.4.2. Oxygen vs. Sulphur derivatives: MECIs in vacuo.

Even though we must remember again that the localization of planar, $S1^{\alpha}$ and $S1^{\beta}$ structures does not describe completely the topology of the excited state, certain key factors in the study of the *trans-cis* isomerization process can be unraveled thanks to these geometries. According to our results in the section 6.4.1, the charge distribution of the located excited states depends on the geometry. In this way, a quite marked polarization effect is observed at the twisted minima, with an inversion of the electronic density for $S1^{\alpha}$ and $S1^{\beta}$ structures. At the same time, the S0-S1 energy gaps are a sensitive function of the atom in the carboxylic group. For the $S1^{\alpha}$ geometries, the energy gap is decreased for the pair pCTMe$^-$/pCTA$^-$. the bigger electron-acceptor character of the sulphur permits the accommodation of more negative charge on the carbonyl moiety and causes that the S1 state is more stabilized. The same trend is observed in fluorescence transition energies (see Tables 6.2, 6.11A and 6.11B). For the $S1^{\beta}$ structures, however, the inverse trend is observed: models with an oxygen atom present a lower energy gap. This is a consequence of the proximity of $S1^{\beta}$ to a conical intersection (CI) that leads to photoisomerization deactivation channel. These regions are characterized by an

irregular topology and consequently an inverse charge distribution can be expected. This explanation has been suggested by Gromov et al. [164], mentioning retinal-type systems where a similar charge inversion close to the S0-S1 conical intersection has been found [203-206]. The small S0-S1 energy gap obtained for the pair pCMe$^-$/pCA$^-$ (0,38 eV and 0,40 eV) seems to confirm this vicinity. According to the energetic values in table 6.12A, two types of CIs must be found: a α-type CI related to torsion in the single bond, and a CI linked with the double-bond twist (denoted CI^{α} and CI^{β} in this work). Calculations starting from planar S1 structures leads to CI^{β} geometries for the pair pCMe$^-$/pCA$^-$, whereas in the case of thio-derivatives CI^{α} structures are located. In order to reach the structures corresponding to the CI^{β} geometries in the pair pCTMe$^-$/pCTA$^-$, it is necessary to start from a configuration that is already strongly twisted around the C12-C14 bond. This fact was reported by Gromov et al. [164], and it indicates a substantial barrier that exists with respect to the β-torsion for derivatives with a sulphur atom in the carboxylic moiety. In total, six CIs structures are found, the most important geometric parameters are summarized in table 6.13. For models containing an oxygen atom, it was not possible to obtain CI^{α} structures even using the $S1^{\alpha}$ geometries for pCA$^-$ and pCMe$^-$ as starting points.

According to the results previously exposed, the relaxation process from S1 planar structures ends at different CIs depending on the atom in the carbonylic group. pCMe$^-$/pCA$^-$ models reach at CI^{β} geometries with a torsional angle β of about 73º. CI^{β} structures for pCTMe$^-$ and pCTA$^-$ derivatives, although are possible, are less favoured than the CI^{α} geometries, which present a barrierless energy [165]. Clearly, the heteroatom exerts an influence undergoing a different desexcitation pathway. Let us focus on the planar S1 structures for each model and compare their respective values of the C7-C12 and C12-C14 bond lengths (Table 6.1). The pair pCMe$^-$/pCA$^-$ present a C7-C12 bond (the single bond adjacent to the ring) shorter (decrease of about 0,01 Å) than those found in the pair pCTMe$^-$/pCTA$^-$: 1,46 Å vs. 1,47 Å. The opposite is found in the C12-C14 bond (central double bond), being larger for the pair pCMe$^-$/pCA$^-$ compared with pCTMe$^-$/pCTA$^-$ (1,413 Å vs. 1,408 Å). According to these results, it seems that the bond length alternation (BLA) produced by the quinolic character is a sensitive function of the heteroatom, so that a stronger double-bond character of the C7-C12 bond is reached for models containing oxygen and resulting in a high-barrier torsion around it.

	pCMe- (X=O, Y=C)	pCTMe- (X=S, Y=C)		pCA- (X=O, Y=H)	pCTA- (X=S, Y=H)	
	CI^{β}	CI^{α}	CI^{β}	CI^{β}	CI^{α}	CI^{β}
d(O1-C2)	1,246	1,233	1,246	1,246	1,233	1,246
d(C2-C3)	1,441	1,457	1,441	1,441	1,458	1,441
d(C3-C5)	1,388	1,369	1,388	1,388	1,368	1,388
d(C5-C7)	1,420	1,439	1,418	1,420	1,440	1,419
d(C7-C8)	1,426	1,425	1,425	1,426	1,425	1,425
d(C8-C10)	1,380	1,376	1,381	1,380	1,376	1,380
d(C2-C10)	1,447	1,456	1,446	1,447	1,456	1,447
d(C7-C12)	1,437	1,483	1,440	1,438	1,483	1,438
d(C12-C14)	1,472	1,478	1,472	1,472	1,479	1,471
d(C14-C16)	1,497	1,382	1,508	1,496	1,380	1,506
d(C16-O17)	1,192	1,227	1,194	1,191	1,222	1,192
d(C16-X18)	1,334	1,891	1,790	1,336	1,911	1,802
d(X18-Y19)	1,411	1,813	1,812	0,949	1,339	1,336
a(C7-C12-C14)	118,9	113,4	119,2	118,9	113,9	119,4
a(C12-C14-C16)	123,3	119,0	122,7	123,4	118,9	122,8
a(C14-C16-O17)	124,6	131,5	122,0	124,8	132,7	122,6
a(C17-C16-X18)	123,7	116,2	122,4	122,8	115,2	122,0
β(C7-C12-C14-C16)	72,8	103,7	72,2	73.0	105,3	72,2
α(C8-C7-C12-C14)	-165,3	91,8	-159,2	-164,7	92,9	-159,7

Table 6.13. Selected geometrical parameters for CI^{α} *and* CI^{β} *PYP chromophore models in gas phase. Optimized geometries at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level of theory.*

Another interesting point is that the CI^{α} structures show values for the β- torsion that are distant from the values obtained for $S1^{\alpha}$ points. This difference in β- torsion between these two structures is in agreement with a study from Virshup et al. with the pCK^{-} model [173]. In vacuum, they located a twisted single-bond S1 PES minima with values $\alpha \simeq 90°$ and $\beta \simeq 180°$, and a S0/S1 MECI with angles around $\alpha = 120°$ and $\beta = 90°$. On the other hand, values for the torsion angles in CI^{β} are similar to those found in $S1^{\beta}$ structures, there exist only differences in the sign of α angle depending on whether the α-twist occur along the counterclock- or clock-wise (CCW or CW). It must be indicated that, in vacuum, both twist directions are equivalent, only their consideration is important if modifications in the symmetry of the chromophore are present [170]. As has been mentioned in chapter 3 (see [163-170]), the α- and β-twist torsions are not independent, but are coupled to each other and several authors have concluded that the β-α twisting motion is concerted. Although the coupling of both torsions is not the main objective of our study, this would be an evidence of the possibility that the relaxation involves a

concerted rotation of both single and double bonds. Finally, dipole moment values as well as potential fitted charges are displayed in tables 6.14A, 6.14B and 6.15. The magnitude of the values is similar to those found for $S1^{\alpha}$ and $S1^{\beta}$ stationary points, and conclusions are coincident.

	pCMe$^-$ (X=O, Y=C)		pCTMe$^-$ (X=S, Y=C)		pCA$^-$ (X=O, Y=H)		pCTA$^-$ (X=S, Y=H)	
	S0	S1	S0	S1	S0	S1	S0	S1
O1	-0,602	-0,639	-0,586	-0,645	-0,618	-0,625	-0,572	-0,657
C2	0,673	0,610	0,694	0,595	0,646	0,639	0,698	0,577
C3	-0,402	-0,398	-0,374	-0,381	-0,369	-0,377	-0,335	-0,352
H4	0,112	0,110	0,109	0,111	0,100	0,104	0,097	0,101
C5	0,061	-0,111	0,078	-0,166	-0,103	-0,072	0,034	-0,252
H6	0,030	0,087	0,001	0,077	0,093	0,077	0,037	0,131
C7	0,012	0,147	0,015	0,191	0,197	0,123	0,039	0,192
C8	-0,135	-0,209	-0,105	-0,216	-0,221	-0,202	-0,106	-0,227
H9	0,075	0,097	0,065	0,103	0,099	0,098	0,068	0,113
C10	-0,290	-0,293	-0,282	-0,305	-0,273	-0,302	-0,260	-0,322
H11	0,081	0,084	0,078	0,086	0,082	0,087	0,075	0,089
C12	0,134	-0,326	0,188	-0,542	-0,184	-0,164	0,266	-0,628
H13	-0,007	0,080	-0,022	0,113	0,060	0,043	-0,040	0,106
C14	-0,742	-0,188	-0,789	0,228	-0,458	-0,344	-0,863	0,430
H15	0,044	-0,008	0,082	-0,063	0,042	0,012	0,079	-0,068
C16	0,857	0,805	0,688	0,601	0,816	0,816	0,604	0,472
O17	-0,642	-0,588	-0,606	-0,574	-0,630	-0,643	-0,573	-0,482
X18	-0,443	-0,443	-0,328	-0,330	-0,660	-0,663	-0,412	-0,407
Y19	0,129	0,115	-0,084	-0,025	0,381	0,393	0,165	0,184
H20	0,021	0,023	0,069	0,057	---	---	---	---
H21	0,026	0,030	0,059	0,048	---	---	---	---
H22	0,009	0,015	0,049	0,038	---	---	---	---
$^-$O-Ring	-0,384	-0,515	-0,307	-0,550	-0,367	-0,451	-0,225	-0,607
Vinylic bond	-0,572	-0,441	-0,540	-0,265	-0,541	-0,452	-0,559	-0,160
CX-Y fragment	-0,044	-0,043	-0,152	-0,185	-0,092	-0,097	-0,216	-0,232

Table 6.14A. Electrostatic potential fitted charges on the atoms of the four models in gas phase for CI^{β} structures. Optimized geometries at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level of theory.

	pCTMe$^-$ (X=S, Y=C)		pCTA$^-$ (X=S, Y=H)	
	S0	S1	S0	S1
O1	-0,701	-0,553	-0,699	-0,547
C2	0,627	0,649	0,609	0,632
C3	-0,430	-0,250	-0,406	-0,223
H4	0,117	0,096	0,110	0,090
C5	-0,150	-0,165	-0,165	-0,179
H6	0,092	0,084	0,095	0,086
C7	-0,139	0,334	-0,147	0,349
C8	-0,146	-0,147	-0,162	-0,166
H9	0,116	0,115	0,133	0,134
C10	-0,410	-0,272	-0,390	-0,250
H11	0,119	0,102	0,111	0,094
C12	0,075	-0,226	0,048	-0,282
H13	-0,009	0,034	0,022	0,070
C14	-0,118	-0,543	-0,083	-0,509
H15	0,098	0,137	0,115	0,155
C16	0,591	0,445	0,558	0,407
O17	-0,398	-0,502	-0,434	-0,544
X18	-0,478	-0,497	-0,505	-0,514
Y19	0,213	0,274	0,190	0,198
H20	0,002	-0,011	---	---
H21	-0,041	-0,060	---	---
H22	-0,029	-0,046	---	---
$^-$O-Ring	-0,906	-0,006	-0,910	0,019
Vinylic bond	0,047	-0,597	0,101	-0,565
CX-Y fragment	-0,140	-0,397	-0,191	-0,453

Table 6.14B. Electrostatic potential fitted charges on the atoms of pCTA$^-$ and PCTMe$^-$ models in gas phase for CI$^{\alpha}$ *structures. Optimized geometries at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level of theory.*

	Gas phase					
	structure CI^{α}			structure CI^{β}		
	S0	S1	$\Delta\mu$(S1→S0)	S0	S1	$\Delta\mu$(S1→S0)
pCMe$^-$	---	---	---	4,29	9,97	5,68
pCTMe$^-$	11,95	3,65	-8,30	3,05	11,44	8,39
pCA$^-$	---	---	---	3,74	4,98	1,24
pCTA$^-$	11,20	5,33	-5,87	4,18	9,73	5,55

Table 6.15. Dipole moment values (in D) for the four CI^{α} *and* CI^{β} *PYP chromophore models at SA2-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ level of theory in gas phase.*

Previously we have exposed that one of the characteristics of a CI structure is that the energy gap between S0 and S1 states should be almost zero, as these points connect quasi-degenerated PES. However, the MECI optimization method used presents several limitations that imply the difficulty of reaching this threshold. For that purpose, in practice we set a threshold δ corresponding to the maximum acceptable gap for a CI. In this way, the S0-S1 energy gap at the final optimized CI geometry will be finite but arbitrarily small. In the minimization algorithm implemented in the ASEP/MD method, three convergence criteria must be simultaneously met at a given value of σ. Thus, tol_{step} and tol_{grad} (see equations 2.134, 2.135 and 2.136 on chapter 2) must be 10^{-6} Hartree and 0,005 Hartree/Bohr, respectively. In addition, the energy difference between S0 and S1 states, δ, must be $\leq$ 0,002 a.u. (0,05 eV). Table 6.16 displays S0-S1 energy gaps (calculated with and without CASPT2 correction) at CIs geometries calculated with SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level of theory. Whereas CI^{α} structures for pCTA$^-$ and pCTMe$^-$ models show a very low energy gap and, consequently, these structures correspond to MECIs, that is not the case for CI^{β} points. With the exception of pCA$^-$ model, all the models present a S0-S1 energy gap very similar to those calculated for the $S1^{\beta}$ points, although this time CASPT2 correction leads to S1 states lower in energy than the S0 state values, hence the negative sign. According to the energetic criteria, SA-CASSCF structures are not MECIs at CASPT2 level. It is well known that the SA-CASSCF method is propitious for describing excited states because is capable of describing multireference character of the wave function near an intersection. Besides, at this level of theory, gradient and coupling vectors are available, facilitating the CI optimization. However, it does not efficiently describe dynamic electron correlation effects, and this can lead to results of uncertain accuracy. CASPT2 theory provides an efficient and accurate way to add the dynamic electron correlation energy component to SA-CASSCF, but derivative coupling vectors are not implemented at this level of theory. An additional problem is that Molcas software (used in the QM calculations both in gas

phase and in solution) only performs CASPT2 calculations with numerical gradients. It must be remarked that this CI optimization algorithm requires neither derivative coupling nor even analytic gradient vectors. In fact, as has been reported by Todd Martínez et al. [90], it was originally developed for using CASPT2 level of theory. So, the most accurate results must be obtained by using the latter level for both geometry optimization and energy calculations. This is confirmed in table 6.17, where different S0-S1 energy gaps are calculated for the pCMe$^-$ model depending on the level of theory. Differences between SA2-CASSCF(12,11) and CASPT2(12,11) CI$^\beta$ geometries are not important, being the structures very similar.

	Gas phase			
	structure CI$^\alpha$ $(\pi_\alpha^* \rightarrow \pi_\alpha)$		structure CI$^\beta$ $(\pi_\beta^* \rightarrow \pi_\beta)$	
	CASPT2	RASSCF	CASPT2	RASSCF
pCMe$^-$	---	---	-0.42	-0.01
pCTMe$^-$	-0.01	-0.03	-0.71	-0.01
pCA$^-$	---	---	-0.04	-0.02
pCTA$^-$	0.09	-0.01	-0.68	-0.05

Table 6.16. Electronic transition energies (in eV) and oscillator strengths in gas phase for the four models at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ and SA2-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ level of theories for CI$^\alpha$ *and* CI$^\beta$ *structures.*

	RASSCF geometry			**CASPT2 geometry**		
	E_{S0} (a.u.)	E_{S1} (a.u.)	ΔE (eV)	E_{S0} (a.u.)	E_{S1} (a.u.)	ΔE (eV)
RASSCF	-608.5680	-608.5683	-0.01	-608.5863	-608.5695	0.46
CASPT2	-610.3182	-610.3336	-0.42	-610.3333	-610.3321	0.03

Table 6.17. Absolute energies (in a.u.) and relative energies (in eV) for the CI^β structure in gas phase for the pCMe$^-$ model. Geometries and energies calculated with SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ and CASPT2(12,11)/cc-pVDZ levels of theory.

6.4.3. Desexcitation pathway in solution. Free energy differences between located CIs and planar structures.

Results for both CIs and stationary points calculations in vacuum show a fairly description of the different desexcitation channels that the PYP chromophore can suffer.

However, we must remind that, although useful, this is an incomplete representation of the behaviour after absorption, as the structural modificacions of the chromophore seem to be affected by interactions of the surrounding media. The protein environment has a dramatic effect on the excited state reactivity, it is clear that an adequate comprehension of the photoisomerization process requires the consideration of the whole protein system, not only the prosthetic group. As a previous step, a clear picture can be achieved via considering solvent effects. Experimental studies with different PYP chromophore models reveal that the excited-state relaxation mechanism is quite different depending on the group of the carbonyl moiety, due to the different interactions established with the media [154-156, 177, 178, 207-209]. This different behaviour is also illustrated in the absorption bands. We have exposed in the chapter 5 that, in pCA^- and $pCMe^-$, S1 and S2 states are practically degenerated even though the brighter state, accordingly with the oscillator strength, is S2. Opposite, for $pCTA^-$ and $pCTMe^-$ there exist a gap of around 0.35 eV between the two first excited states, remaining S1 the bright one. The differences in the relative stabilities of the excited states of oxy- and thio-derivatives could be related to the different de-excitation routes that pCT^- and $pCMe^-$ followed in polar solvents.

By using the ASEP/MD method for geometry optimization, no minima were found on the excited state surface that could be related to the *trans/cis* isomerization and/or the torsion around the single bond adjacent to the aromatic ring. However, structures that can be identified as MECIs were located by using the ASEP/MD together with Todd Martinez´s algorithm [90]. Tables 6.18A and 6.18B display the most important geometric parameters. The first interesting point is that both CIs for α and β torsional angles are found for all the models considered, whereas in gas phase no CI^{α} structures were found for the $pCMe^-/pCA^-$ pair. In addition, values for the β- torsion in CI^{α} geometries are different from the corresponding CI^{α} structures found in vacuum (around 105º and 170º, respectively. See Table 6.13), but similar to the values showed by the $S1^{\alpha}$ stationary points (180º, Table 6.9). Virshup et al. [173] carried out AIMS simulations with the pCK^- model embedded in a cluster of 300 TIP3P water molecules and, although they does not locate a MECI in solution, they located a single-bond twisted S1 PES minima with angles $\alpha \simeq 90°$ and $\beta \simeq 160°$. For this reason, in order to compare properly the changes induced by the solvent, we must regard the $S1^{\alpha/\beta}$ stationary points along with the CI geometries in vacuum. On section 6.3 (emission spectra in solution) we explained that interaction with water molecules induces small changes on the geometries of the excited states, with the exception of O1-C2 and C16-O17 bond lengths which suffer a slight increase. The same trend is found for CI structures. If we compare their dipole moment values (Table 6.19) with those from CIs and $S1^{\alpha}/S1^{\beta}$ geometries in gas phase (Tables 6.10 and 6.15), we can see that the solvent polarizes the electronic distribution of the solute, causing a general increase of

the S0 and S1 dipoles that it is quite evident in CI^{β} geometries. We must indicate that dipole moment values for the α-torsion in vacuum must be taken with caution when are compared with values in solution, as small differences in torsion angles can lead into differences in electronic distribution. Table 6.20 displays S0-S1 energy gaps for the four models in solution. Taking into account the previously discussed energetic criteria for the gap that must exist between S0 and S1 states, the level of theory employed and the characteristics of the algorithm used for searching MECIs (see section 6.4.2 and Tables 6.16 and 6.17), we can conclude that our results in solution point out the existence of two different non-radiative desexcitation pathways which must be added to the desexcitation in terms of fluorescence emission (see section 6.3). To the best of our knowledge, not many computational studies by using QM/MM methodologies have been performed for the searching and the characterization of CIs in condensed phase systems, with the exception of a study from Toniolo et al. [175].

	pCMe- (X=O, Y=C)	pCTMe- (X=S, Y=C)	pCA- (X=O, Y=H)	pCTA- (X=S, Y=H)
d(O1-C2)	1,237	1,239	1,237	1,242
d(C2-C3)	1,452	1,448	1,450	1,447
d(C3-C5)	1,374	1,377	1,371	1,379
d(C5-C7)	1,425	1,419	1,425	1,415
d(C7-C8)	1,427	1,422	1,424	1,418
d(C8-C10)	1,372	1,374	1,375	1,376
d(C2-C10)	1,451	1,447	1,452	1,446
d(C7-C12)	1,474	1,473	1,472	1,471
d(C12-C14)	1,433	1,404	1,431	1,389
d(C14-C16)	1,407	1,42	1,403	1,432
d(C16-O17)	1,235	1,234	1,236	1,229
d(C16-X18)	1,359	1,807	1,355	1,793
d(X18-Y19)	1,416	1,814	0,965	1,368
a(C7-C12-C14)	122,6	121,9	121,3	122,8
a(C12-C14-C16)	122,8	123,8	122,7	122,9
a(C14-C16-O17)	126,6	126,4	126,9	124,9
a(C17-C16-X18)	118,8	118,7	117,8	118,6
β(C7-C12-C14-C16)	170,9	169,8	168,6	167,9
α(C8-C7-C12-C14)	86,9	87,2	88,6	91,3

Table 6.18A. Selected geometrical parameters for CI^{α} PYP chromophore models in solution. Optimized geometries at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level of theory.

	pCMe- (X=O, Y=C)	pCTMe- (X=S, Y=C)	pCA- (X=O, Y=H)	pCTA- (X=S, Y=H)
d(O1-C2)	1,246	1,261	1,250	1,277
d(C2-C3)	1,442	1,443	1,443	1,438
d(C3-C5)	1,378	1,356	1,367	1,367
d(C5-C7)	1,43	1,452	1,444	1,449
d(C7-C8)	1,441	1,442	1,443	1,451
d(C8-C10)	1,379	1,364	1,362	1,373
d(C2-C10)	1,452	1,434	1,446	1,442
d(C7-C12)	1,394	1,391	1,381	1,368
d(C12-C14)	1,468	1,455	1,455	1,486
d(C14-C16)	1,441	1,414	1,391	1,437
d(C16-O17)	1,204	1,212	1,208	1,211
d(C16-X18)	1,334	1,814	1,354	1,802
d(X18-Y19)	1,420	1,804	0,961	1,356
a(C7-C12-C14)	119,3	128,0	125,1	115,5
a(C12-C14-C16)	123,5	117,4	118,2	118,9
a(C14-C16-O17)	124,9	128,0	126,1	125,4
a(C17-C16-X18)	119,7	120,6	118,5	120,4
β(C7-C12-C14-C16)	86,5	78,9	95,8	85,7
α(C8-C7-C12-C14)	-171,7	-170,8	-179,0	-177,3

Table 6.18B. Selected geometrical parameters for CI^{β} PYP chromophore models in solution. Optimized geometries at SA2-CASSCF(12,11)/cc-pVDZ level of theory.

The isomerization mechanism inside the protein was shown to involve the flipping of the chromophore thioester tail while the phenolate side of the chromophore remains unaffected, leading to the formation of a relaxed *cis* isomer [157]. From a Frank-Condon (FC) geometry, the chromophore model will search the barrierless relaxation pathway, and the existence of an alternative route not related to this relaxation process have been previously outlined by several authors. For instance, Espagne et al. [207, 208] established that the "free" PYP chromophore in solution, modeled by pCT^- (phenyl thioester derivative) does not produce any stable *cis* isomer under irradiation, but after excitation, it relaxes back to the initial trans configuration via a short-lived intermediate. Formation of this intermediate has been correlated to the electron donor-acceptor structure of the chromophore. Experimental studies with $pCTMe^-$ models in water solution reported also the non-existence of isomerization and the restoration of the initial *trans* configuration via a short-lived intermediate [184, 207-209]. The behaviour of thio-derivatives of the PYP chromophore in solution contrasts with the relaxation mechanism reported for models containing an oxygen atom in the ester moiety. For the latter models,

transient spectroscopy studies in water solution has attributed the excited state deactivation to the concerted rotation of the ethylenic bond [155, 156, 177]. Concerning the emission, steady-state techniques have revealed that PYP chromophore models are weakly fluorescent, regarldless the carbonyl moiety [208, 209]: in aqueous solution the quantum yields of fluorescence have been estimated to be on the order of 0.1 %. It is evident that the nature of the carbonyl end group substituent has a direct influence on the excited state deactivation channel, and it is connected with the topology of the S1 free energy surface as well as the excited-state lifetime.

Tables 6.21A and 6.21B displays free-energy differences between all the structures located at the S1 surface for all the models, including the FC geometry. From an energetic point of view, our theoretical results show that, for models pCMe$^-$ and pCA$^-$, the CI^{β} structures are more stable than CI^{α} by a wide margin, around 24.40 kcal/mol for pCMe$^-$ and 10.40 kcal/mol for pCA$^-$. The opposite trend is found for thio-derivatives, being the CI^{α} structures more stables than CI^{β} ones (3.63 kcal/mol for pCTMe$^-$ and 4.40 kcal/mol for pCTA$^-$). Our results confirm the experimental observations where the *trans-cis* isomerization is the preferred deactivation route for models containing an oxygen atom, and that models with a sulphur atom follow an alternative route instead with no formation of a *cis* isomer [177, 178, 155, 156]. Espagne et al. [177] compare the evolution of the UV-visible absorption spectra in basic solution of methanol under steady-state irradiation of several models (dianionic, pCA^{2-}, amide, pCM$^-$, methyl ester, pCMe$^-$, ketone, pCK$^-$, and phenyl thioester, pCT$^-$). These authors observed a spectral change due to the *cis* isomer formation for all the compounds with the exception of pCT$^-$, which leads back to the initial *trans* form after the formation of an intermediate. They attribute this different behaviour to the stronger electron-acceptor character of the pCT$^-$ terminal group [155, 177]. This demonstrates that the electron-donor/acceptor character of the carbonyl end group has a direct influence on the evolution at the excited state surface. The stability of the different conformers in solution is the result of the interplay between two components (see equation 2.160): the internal energy component (ΔG_{solute}) and the solvation energy (ΔG_{int}). According to values on Table 6.21, the solvation energy is higher for CI^{β} structures regardless the PYP chromophore model, although ΔG_{int} values are higher for pCA$^-$ and pCMe$^-$ models (-20.13 and -30.93 kcal/mol, respectively). Experimental and theoretical results establish that in water solution, the predominant species are extended structures as these favour mayor interaction with the solvent molecules [211]. The stability differences found in water solution can be explained in terms of the contribution of the internal energy. Finally, for all the models considered, the desexcitation in terms of fluorescence emission is less favoured and a low quantum yield must be expected.

	Water solution					
	structure CI^{α}			structure CI^{β}		
	S0	S1	$\Delta\mu$(S1→S0)	S0	S1	$\Delta\mu$(S1→S0)
pCMe$^-$	11.72	5.23	-6.49	5.87	18.61	12.74
pCTMe$^-$	13.66	5.16	-8.50	4.44	18.27	13.83
pCA$^-$	9.24	7.91	-1.33	5.75	14.38	8.63
pCTA$^-$	11.66	7.05	-4.61	4.66	15.32	10.66

Table 6.19. Dipole moment values (in D) for the four CI^{α} and CI^{β} PYP chromophore models at SA2-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ level of theory in water solution.

	Water solution			
	structure CI^{α} $(\pi_{\alpha}^{*} \rightarrow \pi_{\alpha})$		structure CI^{β} $(\pi_{\beta}^{*} \rightarrow \pi_{\beta})$	
	CASPT2	RASSCF	CASPT2	RASSCF
pCMe$^-$	0.02	0.01	-0.06	0.04
pCTMe$^-$	-0.12	0.00	0.35	0.07
pCA$^-$	0.03	0.01	0.23	0.01
pCTA$^-$	0.06	0.01	0.31	0.11

Table 6.20. Electronic transition energies (in eV) and oscillator strengths in water solution for CI^{α} and CI^{β} structures at SA2-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ level of theory.

		ΔG_{solute} (kcal/mol)	ΔG_{int} (kcal/mol)	ΔG (kcal/mol)
pOMe$^-$	CI^{α}	11.48	-18.63	-7.15
	S1	0	0	0
	CI^{β}	-0.62	-30.93	-31.55
	FC	49.22	-21.60	27.62
pCTMe$^-$	CI^{α}	-2.54	-16.50	-19.04
	S1	0	0	0
	CI^{β}	7.39	-22.80	-15.41
	FC	50.54	-18.0	32.54

Table 6.21A. Relative free energies (in kcal/mol) for pOMe$^-$ and pCTMe$^-$ models in water solution at SA2-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ level of theory.

		ΔG_{solute} (kcal/mol)	ΔG_{int} (kcal/mol)	ΔG (kcal/mol)
	CI^{α}	8.99	-18.86	-9.87
pCA$^-$	S1	0	0	0
	CI^{β}	-0.14	-20.13	-20.27
	FC	44.63	-19.30	25.33
	CI^{α}	0.41	-1.36	-0.95
pCTA$^-$	S1	0	0	0
	CI^{β}	14.00	-10.55	3.45
	FC	50.81	-16.50	34.31

Table 6.21B. Relative free energies (in kcal/mol) for pCA$^-$ and pCTA$^-$ models in water solution at SA2-CASSCF(12,11)-PT2/cc-pVDZ level of theory.

6.5. Topology of the S1 excited state surface.

Figures 6.3 displays the in gas phase transition energies at CASSCF (blue) and CASPT2 (red) for all the structures located both in S0 and S1 surfaces. According to the energy profiles for both levels of theory, it is evident that the inclusion of the dynamic correlation energy decreases the energy of the electronic states. Energy values are calculated with respect to the energy of the ground state for the FC geometries. Absorption and fluorescence emission are marked with solid and dashed arrows, respectively. Absorption to the S2 excited state is also displayed (dotted arrow). For the four models, the main characteristic of the potential energy surface is that the stability order among all the local geometries (FC, S1, S1$^{\alpha}$, S1$^{\beta}$, CI$^{\alpha}$ and CI$^{\beta}$) is maintained when passing from gas phase to solution (see tables 6.21A and 6.21B). The energy diagrams show that the methyl group in the carbonyl moiety does not affect to the topology of the excited state, being the energy profiles very similar between the pairs pCMe$^-$/pCA$^-$ and pCTMe$^-$/pCTA$^-$. The figures can also be considered as a summary of the results obtained for each structure located at the S1 excited state surface. In section 6.4.1 we have exposed that, for planar minimum S1, S1$^{\alpha}$ and S1$^{\beta}$, the stability order depends on the atom (oxygen or sulphur) of the carbonyl moiety (see tables 6.12A and 6.12B). In this way, for the pair pCMe$^-$/pCA$^-$ the S1$^{\beta}$ geometry is the most stable structure in gas phase (around 0.30 eV compared with the S1 planar structure), whereas the S1$^{\alpha}$ structure becomes the most stable for the pair pCTMe$^-$/pCTA$^-$. This fact is connected with the different desexcitation routes that the models follow, since the preference for one or other deactivation channel (that is, the *trans/cis*

isomerization or the torsion of the adjacent single bond) depends of this stability order. From an energetic point of view, CI^{α} and CI^{β} structures present in gas phase higher values in energy than the FC, planar S1, $S1^{\alpha}$ and $S1^{\beta}$ points, but we must remind that CIs structures conect quasi-degenerated points. It is important to consider also the proximity between both S0 and S1 surfaces in order to unravel the preferred desexcitation process. In solution, CIs structures are more stable than those showed by the FC and planar S1 geometries, being the stability a function that is linked with the atom in the carboxylic end.

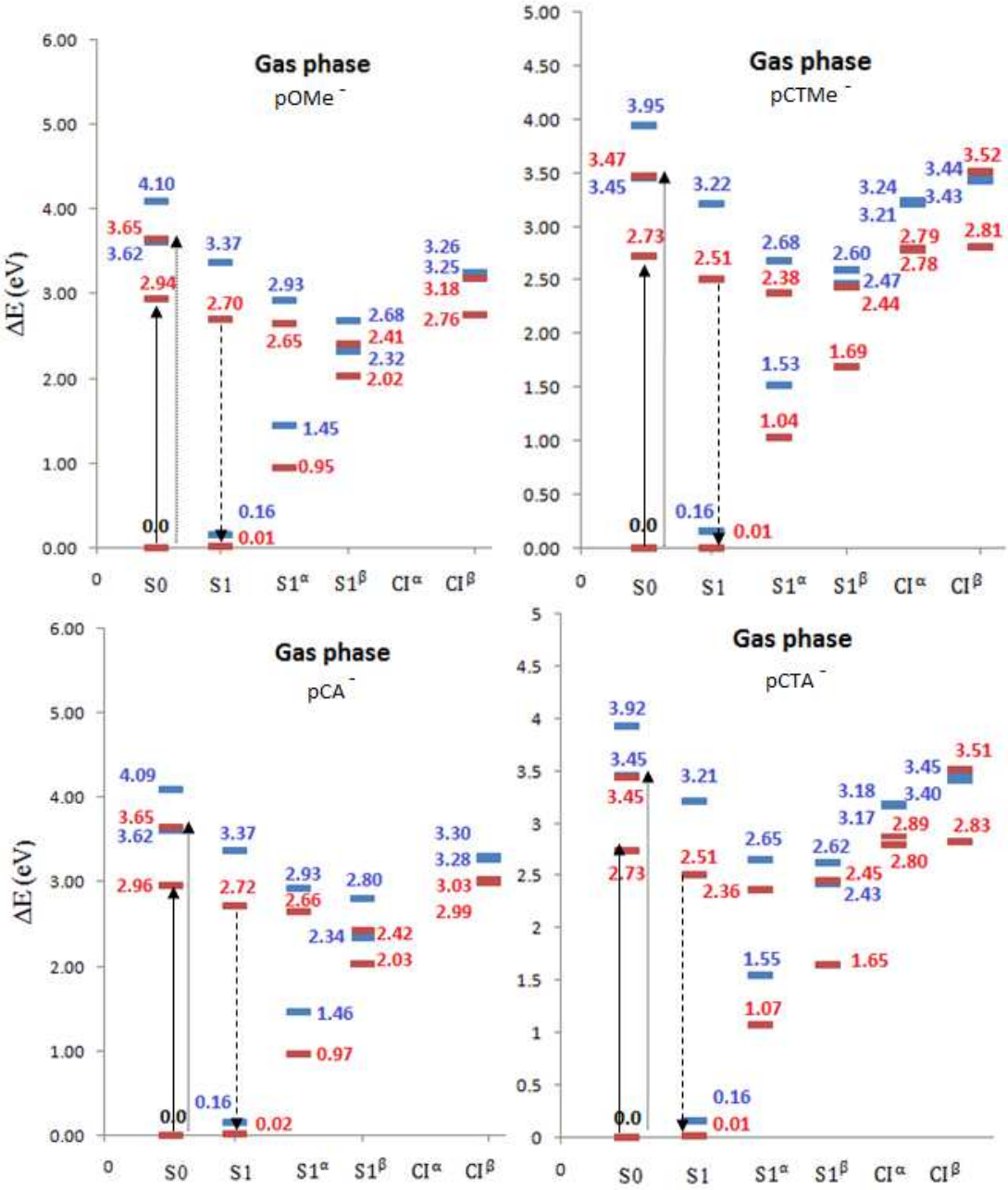


Figure 6.3. Relative energies (in eV) with respect to the in equilibrium ground state at CASSCF(blue) and CASSCF/CASPT2 (red) levels of theory for each structure found in gas phase and in solution for the four PYP chromophore models.

CAPÍTULO 7

ESTUDIO DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES EN INTERFASES AGUA/AIRE.

La troposfera es la porción de la atmósfera más cercana a la corteza terrestre. Contiene aproximadamente el 80 % de la masa total de la atmósfera y el 99 % del agua atmosférica, principalmente en forma de nubes y aerosoles. Los compuestos orgánicos volátiles (VOCs, *Volatile Organic Compounds)* que son emitidos desde la superficie terrestre por la actividad humana quedan retenidos en esta zona, y son causantes en gran medida, junto con otros contaminantes de origen antropogénico, de la polución del aire. La presencia de nubes y aerosoles en la troposfera propicia la aparición de procesos químicos en fase heterogénea, que transcurren en la interfase líquido/gas de las gotas de agua y que suponen una alternativa a los que pueden ocurrir en fase gas. A pesar de los esfuerzos, tanto experimentales como teóricos, dedicados al estudio de los factores fisicoquímicos que los gobiernan y a la influencia que la interfase líquido/gas tiene sobre las propiedades de dichos contaminantes, su comprensión no es aún completa.

Los compuestos orgánicos volátiles elegidos (formaldehído, acetaldehído y benzaldehído) constan de una parte polar (como es el grupo carbonilo) y otra apolar, lo que los hace idóneos para estudiar la diferente afinidad que esta familia de compuestos presenta por diferentes medios o fases con distintas propiedades. En este capítulo estudiaremos cómo la existencia de una interfase dentro de un sistema heterogéneo como es una gota de agua en la atmósfera afecta a las propiedades químicas de estos compuestos.

7.1. Introducción.

La composición química de la troposfera es muy compleja, al igual que los procesos químicos que tienen lugar en su seno [107]. La troposfera es un medio muy oxidante cuya química viene determinada por reacciones fotoquímicas en fase gas que involucran al ozono, a los óxidos de nitrógeno y a los radicales libres, jugando un papel muy importante los compuestos orgánicos volátiles (VOCs), como precursores del ozono troposférico. Dicho ozono (que no hay que confundir con el presente en la estratosfera, que es el que nos protege de la radiación UV) puede provocar en el ser humano problemas respiratorios y es el componente principal de la contaminación conocida como *smog* fotoquímico [108, 109].

Las especies iniciadoras de toda la cadena de reacciones químicas previamente esbozadas son los óxidos de nitrógeno. En las partes bajas de la troposfera, donde las radiaciones solares que llegan son las de longitud de onda superior a 280 nm, el óxido NO_2 sufre fotólisis para dar oxígeno atómico y NO (reacción 7.1):

$$NO_2 + \text{luz} \rightarrow NO + O \qquad [7.1]$$

Las especies NO y O son muy reactivas. La primera reacciona con ozono (reacción 7.2) y la segunda se combina con oxígeno molecular (reacción 7.3). Por esta segunda reacción se genera ozono, equilibrándose así el balance de esta particular especie química:

$$NO + O_3 \rightarrow NO_2 + O_2 \qquad [7.2]$$

$$O + O_2 \rightarrow O_3 \qquad [7.3]$$

Globalmente, estos tres procesos constituyen un sistema cíclico cerrado, el cual solamente se rompe en la troposfera como consecuencia de la presencia en la misma de compuestos orgánicos. Éstos pueden propiciar una transformación adicional del NO en NO_2, que compite con la reacción 7.2 y da lugar a cierta acumulación de ozono. Los compuestos orgánicos volátiles son oxidados por radicales hidroxilo (reacción 7.4), dando lugar a los radicales peroxi (ROO·), que son los responsables de la oxidación del NO a NO_2 (reacción 7.5):

$$VOCs + OH \cdot \rightarrow ROO \cdot \qquad [7.4]$$

$$ROO \cdot + NO \rightarrow RO \cdot + NO_2 \qquad [7.5]$$

Muchos de los radicales RO· generados terminan generando aldehídos. Éstos, cuando la concentración de NO es baja (conforme avanza el día, y muy especialmente durante la noche, al necesitarse radiación solar para su formación de acuerdo a la reacción 7.1), pueden reaccionar con el NO_2 presente dando lugar a compuestos del tipo $RCOOONO_2$. El peróxido de acetilnitrato (el grupo R es un grupo metilo), conocido por sus siglas PAN, es un compuesto muy tóxico.

Los compuestos orgánicos volátiles no sólo sufren reacciones en fase gas, también presentan una química mucho más compleja en fase acuosa debido a la solubilidad que tienen en agua. Así, en la atmósfera dichos compuestos podrían ser capturados por gotas de agua presentes en las nubes y en los aerosoles. A las reacciones químicas que pudieran tener lugar en fase gas se le añaden además los posibles procesos que pudieran existir en la interfase agua/aire

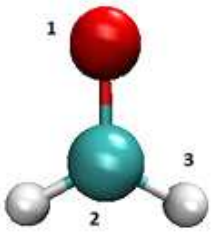
[110]. Se establece así una competencia entre tres tipos de procesos: los que suceden en cada una de las fases involucradas y los presentes en la interfase que las separa. Las simulaciones llevadas a cabo se han enfocado en los aspectos termodinámicos de la adsorción [111-118], concluyendo que esta familia de compuestos presenta una afinidad por permanecer en la interfase líquido/gas. En conclusión, las nubes y los aerosoles de la atmósfera pueden ser considerados como microrreactores, mediando en reacciones que juegan un papel vital en la troposfera [119, 120]. Sin embargo, los procesos en fase heterogénea son comúnmente obviados en los modelos atmosféricos actuales, y no se sabe con certeza el impacto que presentan.

7.2. Condiciones de trabajo.

Se escogieron a las moléculas de formaldehído, acetaldehído y benzaldehído para analizar cómo la presencia de una interfase agua/aire afectaban a diferentes propiedades reactivas. Adicionalmente, para el benzaldehído se estudió su espectro UV-Vis en fase gas y en la interfase. Los cálculos se realizaron usando un método QM/MM desarrollado por Ruiz-López y col. en la Université de Lorraine [35] en el que el cálculo del potencial de fuerza media (PMF) fue llevado a cabo usando los métodos *Umbrella Sampling* [36] y WHAM [37]. En el cálculo del PMF, se tomó como coordenada de reacción la distancia entre el centro de masas del soluto y el centro de masas del disolvente, variando la distancia en intervalos de 0,25 Å. La constante de fuerza K_{umb} fue de 10 kcal/(mol·Å^2). Se realizaron simulaciones de 20 ps a cada valor de coordenada para alcanzar el equilibrio térmico, y simulaciones de 200 ps para el cálculo del PMF. El tamaño de paso temporal fue de 0,5 fs con el soluto ubicado inicialmente en la interfase. Después del equilibrado térmico, las simulaciones realizadas constaron de 400 000 pasos temporales con un tamaño de paso temporal igual a 0,5 fs, lo que hace un tiempo de simulación total de 2 ns. Las propiedades se calcularon sobre un conjunto de 2 000 configuraciones a intervalos regulares de coordenada de reacción.

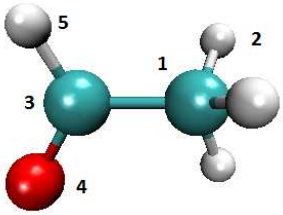
Las simulaciones de los cálculos QM/MM se llevaron a cabo mediante dinámica molecular, en un campo de fuerzas OPLS-AA [49, 50, 53, 54] para los tres aldehídos y un campo TIP3P para el agua [134], mediante el programa TINKER 4.2 [121]. Los parámetros correspondientes a este campo para los tres solutos y el agua se encuentran recogidos en las tablas 7.1A, 7.1B, 7.1C y 7.1D. Se asumió un colectivo NVT (con temperatura fijada a 298 K con el termostato de Nosé-Hoover [66, 67]) y se empleó una caja de simulación conteniendo una molécula de soluto y 499 moléculas de agua, con condiciones de contorno periódicas a lo largo de las direcciones X e Y. El tamaño de dicha caja fue de 24,7 Å × 24,7 Å × 130 Å. El programa empleado para los cálculos cuánticos fue Gaussian09 [122]. Los solutos fueron descritos mediante el método DFT con el funcional B3LYP, y como conjunto de base el 6-

311+G*, denominado *split valence* [130]. En estas bases, cada orbital interno (*core orbital*) está descrito mediante una función de tipo gaussiana formada por la combinación de 6 gaussianas primitivas, mientras que en la capa de valencia, cada orbital se representa por tres funciones de tipo gaussiana, formada por la combinación de tres, una y una funciones gaussianas primitivas. La presencia de un asterisco indica la adición de funciones de polarización sobre cada átomo pesado. El signo + representa la adición de funciones difusas s y p sobre dichos átomos. Los dos primeros estados electrónicos singletes ($n\pi^*$ y $\pi\pi^*$) fueron calculados a nivel B3LYP/6-311+G*, dentro del contexto de la TD-DFT.



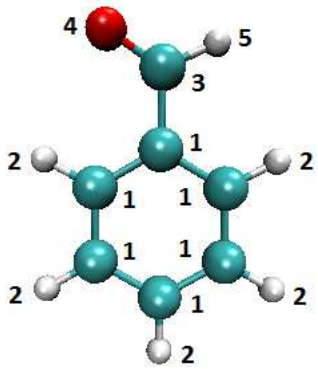
Átomo	σ (Å)	ε (kcal/mol)	carga (u.a.)
1	2.96	0.210	-0.450
2	3.75	0.105	0.450
3	2.42	0.015	0

Tabla 7.1A. Parámetros del campo de fuerzas OPLS-AA para el formaldehído.



Átomo	σ (Å)	ε (kcal/mol)	carga (u.a.)
1	3.50	0.066	-0.180
2	2.42	0.015	0.060
3	3.75	0.105	0.450
4	2.96	0.210	-0.450
5	2.42	0.015	0

Tabla 7.1B. Parámetros del campo de fuerzas OPLS-AA para el acetaldehído.



Átomo	σ (Å)	ε (kcal/mol)	carga (u.a.)
1	3.55	0.070	-0.115
2	2.42	0.030	0.115
3	3.75	0.105	0.565
4	2.96	0.210	-0.450
5	2.42	0.015	0

Tabla 7.1C. Parámetros del campo de fuerzas OPLS-AA para el benzaldehído.

	σ (Å)	ε (kcal/mol)	carga (u.a.)
O (W)	3.15	0.152	-0.834
H (W)	0	0	0.417

Tabla 7.1D. Parámetros del campo de fuerzas para el disolvente.

7.3. Solvatación en la interfase.

Las simulaciones de dinámica molecular realizadas muestran que, a pesar de presentar solubilidad en agua, los compuestos orgánicos volátiles considerados tienen preferencia por permanecer en la interfase líquido/gas. En la figura 7.1 se muestran los perfiles de potencial de fuerza media $W(\xi)$, para los tres compuestos con respecto a la coordenada ξ, que representa la distancia al centro de la caja de simulación. Se observa claramente que en la interfase se alcanza un mínimo, siendo notoriamente alto para el caso del benzaldehído. Así, la diferencia de energía libre entre el interior de la fase acuosa y la interfase se sitúa en torno a los 3,0 kcal/mol para esta molécula aromática, y alrededor de 1,5 kcal/mol para las otras dos moléculas. Nuestros resultados están de acuerdo con otros estudios teóricos donde también se pone de manifiesto la

existencia de esta barrera de energía libre. Canneaux y col. [111] llevaron a cabo un estudio teórico de la adsorción del benzaldehído, del etanol y de la acetona en una interfase agua/aire empleando una caja de simulación y una metodología para el cálculo del PMF similares a las empleadas en nuestro estudio. Obtuvieron unos valores de diferencia de energía libre entre el interior de la fase acuosa y la interfase de 2,8 kcal/mol para el benzaldehído, resultado en concordancia con los valores obtenidos en nuestro estudio para esta especie. El valor obtenido para el formaldehído reproduce el valor obtenido por Martins-Costa y col. [123] en un estudio previo en condiciones similares.

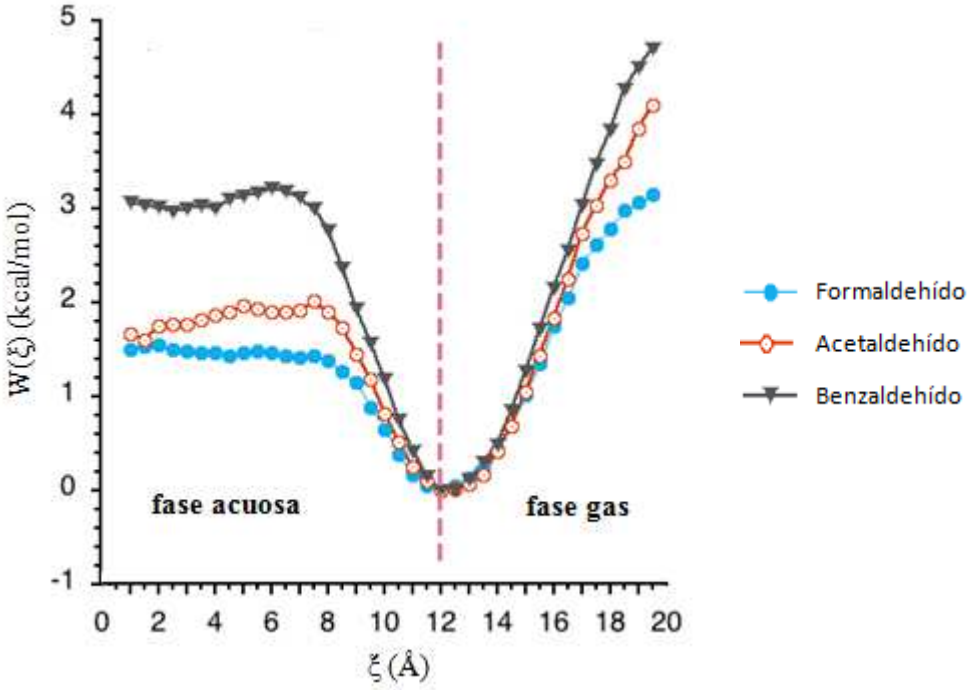


Figura 7.1. Perfiles de potencial de fuerza media (en kcal/mol) para el formaldehído, el acetaldehído y el benzaldehído.

En la figura 7.2 se representa una configuración, extraída de la simulación de dinámica molecular, de la molécula de acetaldehído en las cercanías de la interfase. En esta figura se pone de manifiesto que la molécula orgánica orienta su parte polar (el grupo carbonilo) hacia la fase líquida, quedando la parte apolar apuntando hacia la fase gas. Lo mismo sucede con el formaldehído y el benzaldehído. Con esta orientación los compuestos orgánicos volátiles establecen puentes de hidrógeno con las moléculas de agua de la superficie de la gota. Un factor importante en los fenómenos de solvatación en las interfases líquidas es el papel de la orientación de la molécula con respecto a éstas, ya que diferentes orientaciones implican diferentes polarizaciones inducidas. Por ejemplo, moléculas del mismo tipo con momentos dipolares y polarizabilidades similares en fase gas pueden interaccionar con la interfase en orientaciones diferentes y sufrir por tanto distintas polarizaciones [124]. Esto es una propiedad

específica de la interfase porque en fase acuosa, de acuerdo a la teoría de Onsager, el campo de reacción es proporcional al momento dipolar sin importar la orientación del soluto. Para las tres moléculas escogidas en nuestro estudio, es de suponer que el átomo de oxígeno carbonílico formará enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua, y que tal interacción orientará al grupo C=O directamente a la superficie de la fase acuosa. Sin embargo, aunque los enlaces de hidrógeno representan un factor importante para determinar la posición relativa del soluto con respecto a la interfase, no es el único. De hecho, la solvatación en esta parte del sistema heterogéneo se caracteriza también por las continuas incursiones del soluto en la fase acuosa, penetrando a través del plano medio que define formalmente la interfase. Debido a estas entradas y salidas lo más correcto es hablar de una anchura para definir la interfase, que en anteriores estudios de Martins-Costa y col. [123, 125-127] fue estimada en alrededor de 1 nm. Los valores de las propiedades químicas cuando el soluto está ubicado en la interfase sufren de grandes fluctuaciones. De este modo, existen situaciones donde el soluto interacciona débilmente con las moléculas de agua y sus propiedades están próximas a las que presentarían en fase gas. En otras está lo bastante inmerso en la capa de agua de la interfase como para que los valores de las propiedades se parezcan a los que existirían en fase acuosa.

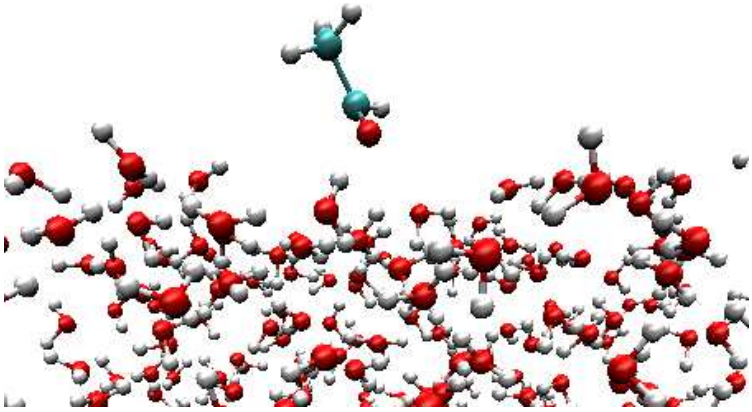


Figura 7.2. Molécula de acetaldehído en la interfase líquido/gas.

En la figura 7.3 se representa el promedio estadístico para la orientación de los aldehídos con respecto a la interfase. El eje Z se define como el eje perpendicular a la superficie de las moléculas de agua y al ángulo θ como el ángulo formado entre el eje Z y el doble enlace carbonílico. El benzaldehído y el formaldehído muestran una orientación preferencial con respecto a la interfase, de manera que ésta favorece situaciones donde el enlace C=O se dirige hacia el agua. Para el acetaldehído en cambio la distribución angular es esencialmente uniforme.

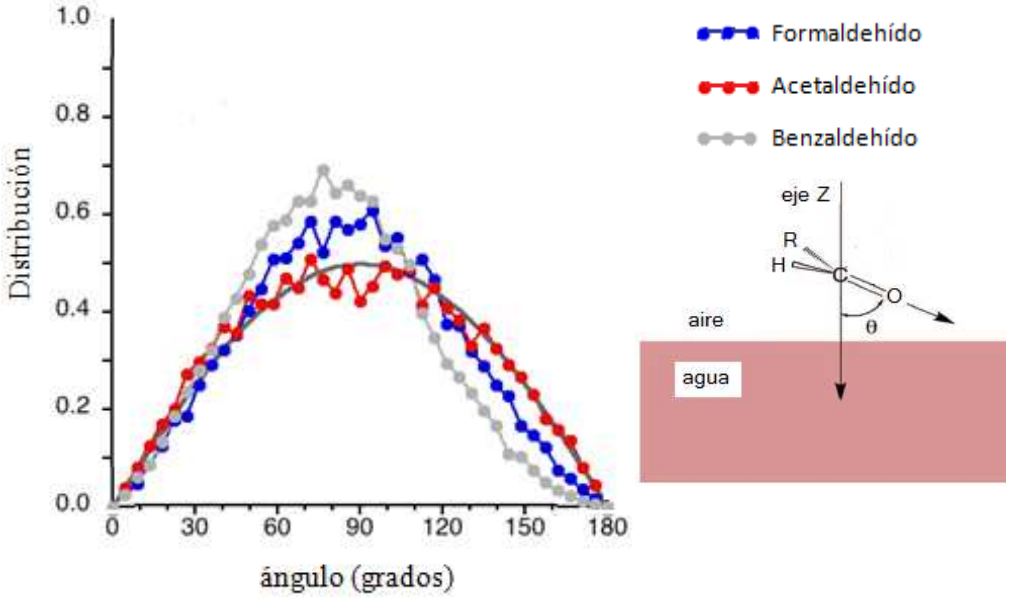


Figura 7.3. Distribución angular para los tres aldehídos en la interfase agua/aire.

7.4. Reactividad de los VOCs en la interfase líquido/gas.

Los efectos del disolvente sobre los índices de reactividad en disolución acuosa han sido tratados anteriormente y existe una amplia bibliografía al respecto [128, 129, 132, 133]. Sin embargo, según nuestros conocimientos, hasta ahora no han sido estudiados en el caso particular de interfases líquido/gas. Las energías de los orbitales se ven influenciadas por el potencial electrostático que genera el disolvente, que polariza la distribución electrónica del soluto y que en el caso de sistemas multifásicos resulta no ser homogéneo, sino que es mayor en la interfase que en la fase acuosa [123, 125, 135]. En el caso de aceptores de enlaces de hidrógeno, como son estas moléculas, la polarización de la capa de moléculas de agua es tal que se crea un potencial eléctrico positivo. En esta situación, se espera que el conjunto entero de orbitales moleculares de los solutos se estabilicen como consecuencia de la interacción. Si la estabilización fuera de la misma magnitud para todos los orbitales, cabe esperar que la dureza química η (definida en el contexto de la teoría del funcional de la densidad como la diferencia de la energía del orbital LUMO y HOMO, $\eta = (\varepsilon_{LUMO} - \varepsilon_{HOMO})$) no varíe, mientras que para el potencial químico μ (calculado como $\mu = 1/2\ (\varepsilon_{LUMO} + \varepsilon_{HOMO})$) se esperaría una disminución en su valor algebraico. En la tabla 7.2 se muestran los valores del momento dipolar, la dureza química, el potencial químico y la electrofilia ω (expresada como $\omega = \mu^2/\eta$) para las tres moléculas de aldehídos en fase gas y ubicadas en la interfase. Puede observarse que, al contrario de lo que lo que cabía esperar, en la interfase los índices de dureza química sufren una gran variación, siendo dicho efecto positivo en el caso del acetaldehído (la dureza se incrementa) y negativo en las otras dos moléculas (la dureza experimenta una disminución).

Además, la influencia de la interfase sobre el potencial químico es significativamente negativa sobre el formaldehído (hecho lógico al tratarse de un aceptor de protones), pero positiva para el benzaldehído. Finalmente, los cambios en los índices de electrofilia son pequeños para el caso del acetaldehído y benzaldehído, pero elevado y de signo positivo para el formaldehído. Todos estos resultados ponen de manifiesto, una vez más, la diferente solvatación que sufren los tres compuestos orgánicos en la interfase y la importancia que tiene la orientación preferencial que muestran con respecto a la superficie de moléculas de agua. Así mismo, la dinámica de la solvatación es un factor importante a la hora de explicar los valores obtenidos. En la figura 7.4 se muestran la magnitud de las fluctuaciones para el potencial químico del benzaldehído a lo largo de la simulación. Las oscilaciones se sitúan en $\pm$ 1 eV, representando aproximadamente un 20 % del valor del potencial químico promedio. El histograma presenta una forma simétrica, lo cual es indicativo de que los efectos de estabilización y desestabilización de la interfase ocurren con intensidades y probabilidades comparables.

		Formaldehído	**Acetaldehído**	**Benzaldehído**
Dipolo (D)	gas	2.63	2.91	3.56
	interfase	3.10 (+0.47)	3.68 (+0.77)	3.96 (+0.40)
μ (eV)	gas	-4.82	-4.42	-4.81
	interfase	-4.92 (-0.10)	-4.44 (-0.02)	-4.73 (+0.08)
η (eV)	gas	5.82	5.92	5.15
	interfase	5.68 (-0.14)	6.08 (+0.16)	4.94 (-0.21)
ω (eV)	gas	2.00	1.65	2.24
	interfase	2.16 (+0.16)	1.64 (-0.01)	2.29 (+0.05)

Tabla 7.2. Índices de reactividad calculados para los tres compuestos volátiles en fase gas y en la interfase (cambio de los valores con respecto a la fase gas entre paréntesis).

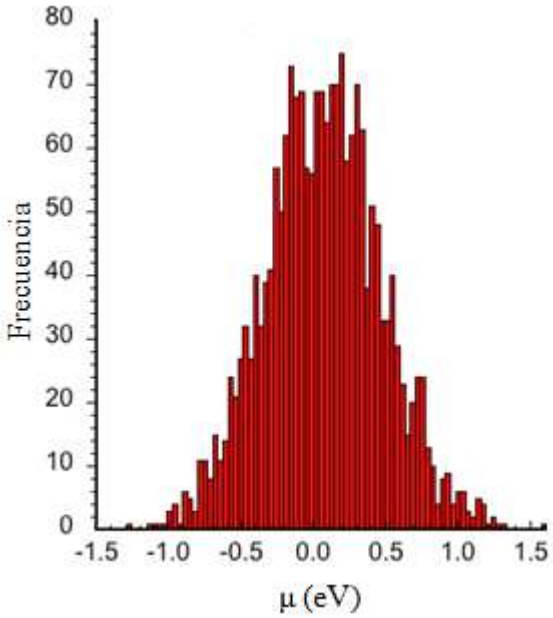


Figura 7.4. Histograma de las fluctuaciones en el potencial químico μ para el benzaldehído en la interfase agua/aire con respecto al valor en la fase gas.

7.5. Espectro UV/Visible y fotolisis del benzaldehído.

Las energías de excitación y las fuerzas de oscilador para el benzaldehído en fase gas se encuentran recogidas en la tabla 7.3, donde además se muestran valores recopilados de otros estudios tanto experimentales como teóricos [136-139]. Los valores de sección eficaz calculados en fase gas y en la interfase se encuentran en la figura 7.5, junto con recientes resultados experimentales en vacío [214]. La sección eficaz $\sigma(v)$ fue calculada de acuerdo a la fórmula $\sigma(v) = 0.811 \cdot 10^{-12} \frac{f}{\Delta v_{1/2}} exp\left(-2.772\left(\frac{v-v_0}{\Delta v_{1/2}}\right)^2\right)$, siendo las unidades de $\sigma(v)$ en cm^2/molécula si $\Delta v_{1/2}$ se expresa en cm^{-1} (tomamos un valor de $\Delta v_{1/2}$ igual a 3226 cm^{-1}, 0.40 eV). La presencia de una nube aromática en el benzaldehído con sus correspondientes orbitales π degenerados o muy cercanos en energía complica la resolución de su espectro UV-V de manera notable si lo comparamos con los de aldehídos y cetonas alifáticas. De manera general, los compuestos aromáticos con grupos carbonilo muestran tres bandas muy características. Al igual que ocurre con los aldehídos y las cetonas alifáticas, presentan una primera banda S0-S1 de muy baja intensidad, prohibida por simetría, correspondiente a una transición entre el orbital n del oxígeno y el orbital π^* del grupo carbonilo. Dicha banda recibe el nombre de banda R y, a pesar de ser muy débil, ha sido muy utilizada para estudiar desplazamientos solvatocrómicos gracias a su fácil localización y asignación en el espectro UV-V, tal y como sucede con aldehídos y cetonas alifáticas. En fase gas, experimentalmente se ha establecido que la

transición ($n \rightarrow \pi^*$) corresponde a una transición adiabática que se localiza en torno a 3.34 eV [140]. Diferentes estudios teóricos han dado valores en concordancia con el obtenido experimentalmente. Merchán y col. [136], en un estudio muy completo de la fluorescencia y fosforescencia de esta molécula, obtuvieron un valor igual a 3.71 eV empleando para ello la corrección MS-CASPT2 en funciones de base CASSCF. En disolución, varios autores han proporcionado valores para esta banda obtenidos tanto en disolventes polares como apolares [141-143, 211]. En agua la banda ($n \rightarrow \pi^*$) es muy débil, tanto que no puede distinguirse en el espectro y dar un valor fiable [141]. Para las bandas restantes en el espectro de las moléculas aromáticas se asume que éstas corresponden a transiciones ($\pi \rightarrow \pi^*$) que involucran a orbitales de naturaleza π localizados en el anillo bencénico. La siguiente banda (transición S0-S2), denominada B, está también prohibida por simetría, siendo su intensidad también de carácter débil. En vacío aparece en valores comprendidos entre 4.36 eV [212] y 4.51 eV [213], según la técnica experimental empleada. Merchán y col. [136] da un valor teórico de 4.33 eV. En disolución acuosa, Sham y Joens [141] midieron el espectro de absorción en el UV cercano de varios aldehídos a distintas temperaturas. Obtuvieron que en agua el benzaldehído sufre un ligero *red shift* en las transiciones que involucran a la nube π. Tal y como puede observarse en la tabla 7.3 y en la figura 7.5, nuestros cálculos en fase gas concuerdan tanto con estudios experimentales como con otros teóricos a mejores niveles de cálculo. Puesto que estamos interesados en la estimación de los efectos del disolvente, este acuerdo puede considerarse como adecuado y nuestro nivel de teoría como un buen compromiso entre precisión y coste computacional. Así mismo, las interacciones con el agua en la interfase modifican la absorción del benzaldehído en la región accesible de la troposfera ($\lambda > 290$ nm), estando el pico principal (transición ($\pi \rightarrow \pi^*$)) ligeramente desplazado hacia valores mayores de longitud de onda, desde 274 nm (4.52 eV) hacia 282 nm (4.40 eV), obteniéndose un *red shift* aproximado de 0.1 eV, valor conforme a estudios experimentales en fase acuosa [141]. La anchura de las bandas aumenta, especialmente para la banda ($n \rightarrow \pi^*$), ya que la interacción con el disolvente rompe la simetría planar alrededor del doble enlace carbonílico. Por último, cabe destacar que debido a todos los efectos anteriormente descritos, la intensidad de la absorción por encima de $\lambda > 290$ nm es siempre superior en la interfase que en fase gas.

	Cálculos teóricos				Exp.
banda	(a)	[138]	[137]	[136]	[139]
n→π*	3.61 (10^{-4})	3.92/4.02 (10^{-4})	3.84 (1.9 10^{-4})	3.71(<10^{-3})	---
π→π*	4.52 (0.0202)	4.55/4.50 (0.0206)	4.79 (0.012)	4.33 (0.002)	4.51

(a) TD-DFT a nivel B3LYP/6-311+G* (este trabajo).

[138] Energías a nivel CIPT2/CASPT2 con base cc-pVDZ y *IPEA shift*=0.2 u.a. Fuerzas de oscilador calculadas a nivel TD-DFT.

[137] nivel CC2/aug-cc-pVDZ.

[136] Cálculos MS-CASPT2 con bases de tipo ANO.

Tabla 7.3. Energías de transición (en eV) para los dos primeros estados del benzaldehído en fase gas y fuerzas de oscilador (entre paréntesis).

Como expusimos al inicio de este capítulo, la fotolisis es una importante vía de degradación para los aldehídos en la troposfera. La sección eficaz para la absorción así como el rendimiento cuántico de la fotodisociación ya han sido estudiados en condiciones atmosféricas para el acetaldehído y el formaldehído [215]. Para la molécula de benzaldehído existe abundante bibliografía al respecto a diferentes condiciones experimentales [216]. De este modo, el benzaldehído puede disociarse a través de dos vías principales:

$$C_6H_5CHO + hv \rightarrow C_6H_5 + HCO \qquad (\lambda < 292\ nm) \qquad [7.6]$$

$$C_6H_5CHO + hv \rightarrow C_6H_5 + CO + H \qquad (\lambda < 328\ nm) \qquad [7.7]$$

Los umbrales de la longitud de onda para ambas reacciones corresponden a estimaciones hechas en base a las entalpías de formación [216]. Sin embargo, Zhu y Cronin [216] publicaron que el canal de formación de HCO puede ser activo por encima del valor indicado, al menos hasta λ =308 nm. Los rendimientos cuánticos fueron medidos a diferentes longitudes de onda (0.32 $\pm$ 0.05, 0.45 $\pm$ 0.05, 0.29 $\pm$ 0.05, a longitudes de onda de 280 nm, 285 nm y 308 nm, respectivamente). Asumiendo una variación lineal entre los 285 y los 308 nm tanto de la sección eficaz para la absorción como para el rendimiento de la reacción 7.6, estos autores estimaron la constante de velocidad para la reacción de fotólisis en la troposfera entre $1.5\cdot 10^{-6}\ s^{-1}$ y $1.5\cdot 10^{-5}\ s^{-1}$, dependiendo de diversos factores ambientales. Usando los mismos rendimientos que para la reacción 7.6 [216], valores acerca del flujo radiante en superficies no reflejantes de radiación [217], junto con las secciones eficaces en fase gas calculadas en nuestro estudio, obtenemos una constante de velocidad para la reacción de fotólisis con formación de

CHO de $2.7 \cdot 10^{-5}\ s^{-1}$ en el rango comprendido entre los 290 y los 308 nm. Considerando las diferentes aproximaciones realizadas en nuestros cálculos, podemos dar por bueno el acuerdo con la estimación experimental. Si repetimos la operación con la sección eficaz calculada para la absorción en la interfase agua/aire, la constante de velocidad se incrementa un orden de magnitud, hasta los $2.8 \cdot 10^{-4}\ s^{-1}$. Por tanto, es de suponer que la reactividad de los compuestos orgánicos volátiles se ve incrementada en presencia de nubes y aerosoles en la atmósfera.

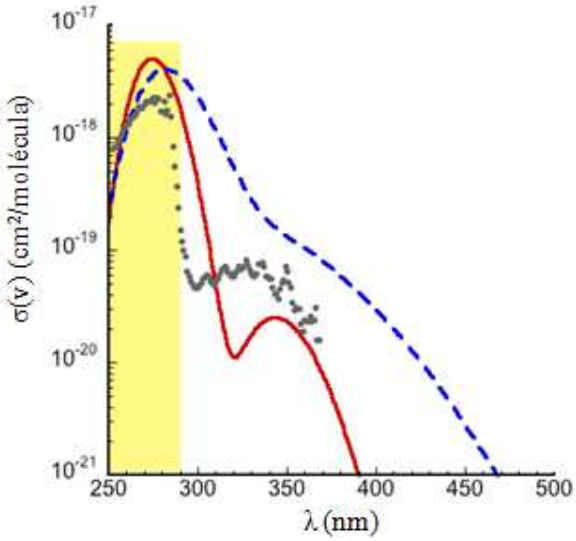


Figura 7.5. Espectro UV-visible del benzaldehído en fase gas (rojo, línea contínua) y en la interfase agua/aire (azul, línea discontínua), junto con resultados experimentales (gris, línea punteada, [338]).

El incremento de la constante de velocidad no es el único factor que favorece un aumento de la fotodisociación ya que, como puede observarse en la figura 7.1, el benzaldehído se estabiliza en la interfase, donde puede acumularse. Para estimar la concentración relativa para el benzaldehído entre la interfase y la fase gas, se puede tomar la energía libre de 7.0 kcal/mol que obtuvieron Canneaux y col. [111]. Este valor es consistente con el que se obtiene añadiendo la energía libre de solvatación en agua (con un rango de valores comprendido entre -4,80 y -3,10 kcal/mol, [218]) y excede el calculado en nuestro trabajo (-3,0 kcal/mol). Usando este valor, la concentración en la interfase debería ser sobre 10^5 veces mayor que en fase gas a 298 K. Tomando el incremento de la constante de velocidad y la mayor concentración en la interfase, la velocidad de fotólisis debería incrementarse con respecto a su valor en fase gas por aproximadamente un factor de 10^6. El impacto de este descubrimiento en la química de la troposfera es difícil de cuantificar porque no se tienen en cuenta factores que tienen una influencia específica como pueden ser la altitud, la penetración de la radicación UV en las nubes, el tamaño y distribución de las gotas de agua de las nubes y los aerosoles, etc. De todas maneras, nuestros resultados apuntan hacia la necesidad de tener en consideración la reactividad química en interfases agua/aire de cara a comprender lo que sucede en la atmósfera.

CONCLUSIONS

1) Regarding the conformational equilibrium, there are no important differences between neutral pCA conformers both in vacuum and in solution. However, we appreciate differences for the monoanionic pCA- forms: in water, the more stable monoanionic form is the carboxylate, whereas in gas phase it is the phenolate. This is related to the stabilization of the negative charge: for the phenolate, it is spread along the whole molecule in vacuum due to resonance forms, for the carboxylate it is located at the carboxylic tail and stabilization by water molecules are more favoured.

2) The calculated transition energies at SA(10)-CAS(14,12)-PT2//B3LYP/cc-pVDZ level for the different deprotonated forms of pCA are in quite good agreement with the available experimental data. The main difference is found when comparing theoretical and experimental absorption maxima for the carboxylate monoanion in gas phase. The experiment places this absorption at 2.88 eV (the same value for the phenolate monoanion). Our calculated transition energies in gas phase are 5.06 eV for carboxylate and 2.89 eV for phenolate. Since the experimental transition energy for carboxylate in water solution is found at around 4.35 eV, the solvent effect leads to an experimental blue shift of 1.47 eV. Our results support the idea that a revision or reinterpretation of the experimental data for the carboxylate monoanion in gas phase is required.

3) For all the studied pCA deprotonated forms, the bright state is a $\pi \rightarrow \pi^*$ transition involving a charge displacement along the system. For the neutral form, the transition involves an increase of the dipole moment of the excited state, a fact that leads to a larger stabilization of the excited state in water solution and consequently a bathochromic red shift of the absorption maximun. The phenolate monoanion in gas phase shows a displacement of the charge from the phenolic oxygen to the rest of the system during the transition, and this is enhanced in water solution. As the displacement involves a decrease of the dipole moment, the ground state is better stabilized than the excited one, and a final blue shift is achieved. The carboxylate monoanion shows in gas phase an opposite displacement (from the carboxylic end to the rest of the molecule), the solvent hinders this displacement, the dipole moment of the excited state becomes higher than the ground state one and a solvent red shift is found. Finally, for the dianionic species the electronic transition to the bright state involves a charge displacement from the phenolic part toward the rest of the system with an associated increase of the dipole moment. This displacement is enhanced in water solution, the excited state is more solvated and a final red shift is shown.

4) For the PYP chromophore models (pCA$^-$, pCMe$^-$, pCTA$^-$, pCTMe$^-$), the replacement of the hydrogen in the terminal group by a methyl group has not effect either the transition energies or the desexcitation pathways, even though it can be observed a clear loss of the solvent structure when the hydrogen terminal atoms are replaced by the methyl group. This fact evidences the scarce participation of this part of the molecule in the flux of charge that characterizes the electronic transition.

5) Regarding the electronic spectra of the studied PYP chromophore derivatives, their transition energies can be put into two groups: on the one hand pCA$^-$ and pCMe$^-$ and on the other hand pCTA$^-$ and pCTMe$^-$. In gas phase the bright state is the first excited state with a $(\pi \rightarrow \pi^*)$ character. This state is followed in energy by the corresponding to the $(n \rightarrow \pi^*)$ and $(\pi \rightarrow \pi^*_{ring})$ transitions. Regarding S1 $(\pi \rightarrow \pi^*)$, slightly red shifted absorption bands (around 0.20 eV) were calculated for pCTA$^-$ and pCTMe$^-$with respect to pCA$^-$ and pCMe$^-$. For all of them, this state shows a similar and strong charge transfer character. In solution, the spectrum substantially change, the $(n \rightarrow \pi^*)$ is destabilized by a polar solvent like water and it becomes the third excited state in solution experiencing an important blue shift. Now, $(\pi \rightarrow \pi^*)$ and $(\pi \rightarrow \pi^*_{ring})$ states mix, founding contributions of both transitions in S1 and S2. The presence of the sulfur modulates the solvent effect and the two first excited states become practically degenerated for pCA$^-$ and pCMe$^-$ but moderately well separated for pCTA$^-$ and pCTMe$^-$. As for the solvent shift, the bright state experiences a blue shift in water solution of 0.80 eV approximately, in quite good agreement with the experimental data (0.66 eV for both pCMe$^-$ and pCTMe$^-$ models). Although in this system are present several polar groups, the solvent shift seems to be mainly determined by the solvation of the phenolic oxygen.

6) During the fluorescence emission, the flux of charge along the emission process goes from the carboxyl moiety and central double bond to the phenolic part, just in the opposite direction of the absorption process. In gas phase, the energy gap between the first excited state and the ground state is about 2.70 eV for pCMe$^-$/pCA$^-$ and 2.50 eV for pCTMe$^-$/pCTA$^-$. The emission is hardly dependent of the solvent and small solvent shifts are obtained. The emission bands obtained agree with the experimental values reported in water solution. A slight red shift (about 0.20 eV) for the thio-derivatives is found, that it is correlated with the progressive increase of the electron acceptor strength of the carbonyl tail and, consequently, a less dramatic electronic transfer and a lower energy gap between excited and ground state.

7) PYP chromophore models are weakly fluorescent, regarldless the carbonyl moiety. The relaxation process is different depending on the atom in the carbonylic group. Both in vacuum and in solution, a desexcitation involving the torsion of the double bond (*trans/cis* isomerization) is the preferred route for $pCMe^-$ and pCA^- models, just as the chromophore in the native PYP. For $pCTMe^-$ and $pCTA^-$ derivatives, however, although this photoisomerization is possible, they follow an alternative route with no formation of a *cis* isomer that involves the torsion of the adjacent single bond. Our theoretical results are in agreement with other experimental studies which put in evidence the different desexcitation pathways observed. The solvent interacts more with β-twist torsion structures for all the models, but this interaction is more intense for models containing an oxygen atom.

8) Molecular Dinamycs simulations show that, despite their solubility in water, the three Volatile Organic Compounds (VOCs) considered exhibit a preference for the air-water interface. The calculated free-energy profiles exhibit a minimun in quite good agreement with the available experimental data. For benzaldehyde the value is about 3.0 kcal/mol, for formaldehyde and acetaldehyde 1.5 kcal/mol, approximately. The affinity for the air-water increases in the order formaldehyde<acetaldehyde<benzaldehyde, which parallels the increasing hydrogen bond acceptor character of the compounds.

9) The carbonyl oxygen atom form hydrogen bonds with water molecules. Despite such an interaction orientates the C=O group towards the air-water interface and mainly exerts the polarization of the molecule, large fluctuations of the molecular properties are expected at the interface since the VOCs enter and leave the water layer. In addition, the electrostatic potential due to the polarized interface is strongly dependent on the relative solute-solvent orientation and its effect must not be neglected, as different orientations imply different induced polarizations. The nature and size of the non-polar group of the VOC play the key role, as it governs the hydrophobic interactions with water and restrains the ability of the molecule to cross the interface. For that reason formaldehyde, acetaldehyde and benzaldehyde undergo different effects in their chemical properties.

10) the photolysis rate constant of benzaldehyde in the range 290–308 nm increases by one order of magnitude at the surface of a water droplet, from $2.7 \cdot 10^{-5}\ s^{-1}$ in the gas phase to $2.8 \cdot 10^{-4}\ s^{-1}$. This effect, combined with the trend of aldehydes to accumulate at the water surface as a result of thermodynamic stabilisation, has led us to estimate a photolysis rate increase by six orders of magnitude. Our results point towards the necessity of taking into account chemical reactivity at aqueous interfaces in atmospheric and environmental models due to its potential impact in air-quality, global warming and the destruction of ozone layer.

BIBLIOGRAFÍA

[1] K. Morokuma, L. Pedersen, “Molecular-orbital studies of hidrogen bonds. An *ab initio* calculation for dimeric H_2O”. *J. Chem. Phys.*, 48 (1968), 3275.

[2] G. Alagona, A. Pullman, E. Scrocco, J. Tomasi, “Quantum-mechanical studies of environmental effects on biomolecules. I. Hydration of formamide”. *Intr. J. Pept. Protein Res*., 5 (1973), 251.

[3] A. Pullman, B. Pullman, “New paths in the molecular orbital approach to solvation of biological molecules”. *Q. Rev. Biophys*., 7 (1975), 505.

[4] R. Car, M. Parrinello, “Unified approach for Molecular Dynamics and Density Functional Theory”. *Phys. Rev. Lett.*, 55 (1985), 2471.

[5] J. A. Barker, D. Henderson, “What is liquid? Understanding the states of matter”. *Rev. Mod. Phys.*, 48 (1976), 587.

[6] a) H. C. Andersen, D. Chandler, "Optimized cluster expansions for classical fluids. I. General theory and variational formulations of mean spherical model and hard sphere Percus-Yevick equations". *J. Chem. Phys*., 57 (1972), 1918.

b) D. Chandler, H.C. Andersen, "Optimized cluster expansions for classical fluids. II. Theory of molecular liquids". *J. Chem. Phys*., 57 (1972), 1930.

c) H. C. Andersen, D. Chandler, J.D. Weeks, "Optimized cluster expansions for classical fluids. III. Applications to ionic solutions and simple liquids". *J. Chem. Phys.*, 57 (1972), 2626.

d) D. Chandler, "Derivation of an integral equation for pair correlation functions in molecular fluids". *J. Chem. Phys*., 59 (1973), 2742.

[7] J. K. Perkus, G. J. Yevick, “Analysis of classical statistical mechanics by means of collective coordinates”. *Phys. Rev*., 110 (1958), 1.

[8] J. L. Lebowitz, J. K. Perkus, “Mean spherical model for lattice gases with extended hard cores and continuum fluids”. *Phys. Rev*., 144 (1966), 251.

[9] G. S. Rushbrooke, “On the hyper-chain approximation in the theory of classical fluids”. *Physica*, 26 (1960), 259.

[10] B. J. Alder, T. E. Wainwright, “Phase transition for a hard sphere system”. *J. Chem. Phys*., 27 (1957), 1208.

[11] N. C. Metropolis, A. W. Rosenbluth, M. N. Rosenbluth, A. H. Teller, E. Teller, “Equation of state calculations by fast computing machines”. *J. Chem. Phys*., 21 (1953), 1087.

[12] M. Born, “Volumen und hydratationswärme der ionen”. *Z. Physik*, 1 (1920), 45.

[13] P. Debye, “Polar molecules”, *The Chemical Catalog Company* (1929).

[14] R. P. Bell, “The electrostatic energy of dipole molecules in different media”. *Trans. Faraday Soc*., 27 (1931), 797.

[15] L. Onsager, “Electric moments of molecules in liquids”. *J. Am. Chem. Soc*., 58 (1936), 1486.

[16] J. G. Kirkwood, “Theory of solutions of molecules containing widely separated charges with special application to zwitterions”. *J. Chem. Phys*., 2 (1934), 351.

[17] J. G. Kirkwood, “Solutions containing zwitterions: Erratum”. *J. Chem. Phys*., 2 (1934), 713.

[18] a) S. Miertuš, E. Scrocco, J. Tomasi, “Electrostatic interaction of a solute with a continuum. A direct utilization of *ab initio* molecular potentials for the prevision of solvent effects”. *Chem. Phys.*, 55 (1981), 117.

b) S. Miertuš, J. Tomasi, “Approximate evaluations of the electrostatic free energy and internal energy changes in solution processes”. *Chem. Phys.*, 65 (1982), 239.

c) F. J. Olivares del Valle, J. Tomasi, “Electron correlation and solvation effects. I. Basic formulation and preliminary attempt to include the electron correlation in the quantum mechanical polarizable continuum model so as to study solvation phenomena”. *Chem. Phys.*, 150 (1991), 139.

d) B. Mennucci, J. Tomasi, “Continuum solvation models: A new approach to the problem of solute’s charge distribution and cavity boundaries”. *J. Chem. Phys*., 106 (1996), 5151.

e) J. Tomasi, R. Bonaccorsi, R. Cammi, F. J. Olivares del Valle, “Theoretical chemistry in solution. Some results and perspectives of the continuum methods and in particular of the polarizable continuum model”. *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, 234 (1991), 401.

f) J. Tomasi, M. Persico, “Molecular interactions in solution: an overview of methods based on continuous distributions of the solvent”. *Chem. Rev.*, 94 (1994), 2027.

[19] a) A. Klamt, G. Schüürmann, “COSMO: a new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the screening energy and its gradient”. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 2 (1993), 799.

b) T. N. Truong, E. V. Stefanovich, “A new method for incorporating solvent effect into the classical, *ab initio* molecular orbital and Density Functional Theory frameworks for arbitrary shape cavity”. *Chem. Phys. Lett.*, 240 (1995), 253.

[20] a) J.-L. Rivail, D. Rinaldi, “Liquid-state quantum chemistry: Computational applications of the polarizable continuum models”, en J. Leszczynski (ed.), *Computational Chemistry: Reviews of Current Trends*, vol. 1, cap. 4, World Scientific Publishing, Singapur (1996), 139.

b) D. Rinaldi, J.-L. Rivail, “Molecular polarizabilities and dielectric effect of the medium in the liquid state. Theoretical study of the water molecule and its dimers”. *Theor. Chim. Acta*, 32 (1973), 57.

c) J.-L. Rivail, D. Rinaldi, “A quantum chemical approach to dielectric solvent effects in molecular liquids”. *Chem. Phys.*, 18 (1976), 233.

[21] a) C. J. Cramer, D. G. Truhlar, “Continuum solvation models: classical and quantum mechanical implementations”, en K. B. Lipkowitz, D. B. Boyd (eds.), *Reviews in Computational Chemistry*, vol. 6, cap. 1, VCH Publishers, Inc., New York (1995), 1.

b) C. J. Cramer, D. G. Truhlar, “Implicit solvation models: equilibria, structure, spectra, and dynamics”. *Chem. Rev.*, 99 (1999), 2161.

[22] a) O. Tapia, O. Goscinski, “Self-consistent reaction field theory of solvent effects”. *Mol. Phys.*, 29 (1975), 1653.

b) O. Tapia, F. Sussman, E. Poulain, “Environmental effects on H-bond potentials: a SCRF MO CNDO/2 study of some model systems”. *J. Theor. Biol.*, 71 (1978), 49.

[23] a) A. Warshel, “Bicycle-pedal model for the first step in the vision process”. *Nature*, 260 (1976), 679.

b) A. Warshel, “Calculations of chemical processes in solutions”. *J. Phys. Chem.*, 83 (1979), 1640.

c) A. Warshel, S. T. Russell, “Calculations of electrostatic interactions in biological systems and in solutions”. *Q. Rev. Biophys*., 17 (1984), 183.

[24] J. Åqvist, M. Fothergill, A. Warshel, “Computer simulation of the carbon dioxide /bicarbonate interconversion step in human carbonic anhydrase I”. *J. Am. Chem. Soc.*, 115 (1993), 631.

[25] K. Coutinho, S. Canuto, “Solvent effects from a sequential Monte Carlo - quantum mechanical approach”. *Advances in Quantum Chemistry*, 28 (1997), 89.

[26] a) S. Ten-no, F. Hirata, S. Kato, “A hybrid approach for the solvent effect on the electronic structure of a solute based on the RISM and Hartree-Fock equations”. *Chem. Phys. Lett.*, 214 (1993), 391.

b) S. Ten-no, F. Hirata, S. Kato, “Reference interaction site model self-consistent field study for solvation effect on carbonyl compounds in aqueous solution”. *J. Chem. Phys*., 100 (1994), 7443.

[27] M. L. Sánchez, M. A. Aguilar, F. J. Olivares del Valle, “Study on solvent effects by means of averaged solvent electrostatic potentials obtained from molecular dynamics data”. *J. Comput. Chem.*, 18 (1997), 313.

[28] M. L. Sánchez, M. A. Aguilar, F. J. Olivares del Valle, “A mean field approach that combines quantum mechanics and molecular dynamics simulation: the water molecule in liquid water”. *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, 426 (1998), 181.

[29] M. L. Sánchez, M. E. Martín, M. A. Aguilar, F. J. Olivares del Valle, "Solvent effects on the $^1(n \rightarrow \pi^*)$ transition of formaldehyde in liquid water. A QM/MM study using the mean field approximation". *Chem. Phys. Lett.*, 310 (1999), 195.

[30] M. L. Sánchez, M. E. Martín, M. A. Aguilar, F. J. Olivares del Valle, "Solvent effects by means of averaged solvent electrostatic potentials: Coupled method". *J. Comput. Chem.*, 21 (2000), 705.

[31] M. E. Martín, M. L. Sánchez, F. J. Olivares del Valle, M. A. Aguilar, "A multiconfigurational self-consistent field/molecular dynamics study of the $^1(n \rightarrow \pi^*)$ transition of carbonyl compounds in liquid water". *J. Chem. Phys.*, 113 (2000), 6308.

[32] M. E. Martín, M. L. Sánchez, F. J. Olivares del Valle, M. A. Aguilar, "Multiconfigurational self-consistent and molecular mechanics simulation of solvent effects on the $^1(n \rightarrow \pi^*)$ blue shift of pyrimidine". *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, 537 (2001), 213.

[33] I. Fdez. Galván, M. L. Sánchez, M. E. Martín, F. J. Olivares del Valle, M. A. Aguilar, "Geometry optimization of molecules in solution: joint use of the mean field approximation and the free energy gradient method". *J. Chem. Phys.*, 118 (2003), 255.

[34] I. Fdez. Galván, M. L. Sánchez, M. E. Martín, F. J. Olivares del Valle, M. A. Aguilar, "ASEP/MD: a program for the calculation of solvent effects combining QM/MM methods and the mean field approximation". *Comput. Phys. Commun.*, 155 (2003), 244.

[35] M. Retegan, M. Martins-Costa, M. F. Ruiz-López, "Free energy calculations using dual-level Born-Oppenheimer molecular dynamics". *J. Chem. Phys.*, 133 (2010), 64103.

[36] G. M. Torrie, J. P. Valleau, "Nonphysical sampling distributions in Monte Carlo free-energy estimation: Umbrella sampling". *J. Comp. Phys.*, 23 (1977), 187.

[37] S. Kumar, J. M. Rosenberg, D. Bouzida, R. H. Swendsen, P. A. Kollman, "The weighted histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. I. the method". *J. Comput. Chem.*, 13 (1992), 1011.

[38] M. Born, J. R. Oppenheimer, "Zur Quantentheorie der Molekeln". *Ann. Phys. (Leipzig)*, 84 (1927), 457.

[39] a) C. Møller, M. S. Plesset, “Note on an approximation treatment for many-electron systems”. *Phys. Rev.*, 46 (1934), 618.

b) J. A. Pople, J. S. Binkley, R. Seeger, “Theoretical models incorporating electron correlation”. *Int. J. Quantum Chem., Quantum. Chem. Symp.*, 10 (1976), 1.

[40] a) J. Čížek, J. Paldus, “Coupled Cluster approach”. *Phys. Scr.*, 21 (1980), 251.

b) R. J. Bartlett, “Coupled Cluster approach to molecular structure and spectra: a step toward predictive quantum chemistry”. *J. Phys. Chem.*, 93 (1989), 1697.

[41] P. M. Kozlowski, M. Dupuis, E. R. Davidson, “The cope rearrangement revisited with Multireference Perturbation Theory”. *J. Am. Chem. Soc.*, 117 (1995), 774.

[42] K. Andersson, P.-Å Malmqvist, B. O. Ross, A. J. Sadlej, K. J. Wolinski, “Second-order perturbation theory with a CASSCF reference function”. *J. Phys. Chem.*, 94 (1990), 5483.

[43] K. Andersson, P.-Å Malmqvist, B. O. Ross, “Second-order perturbation theory with a complete active space self-consistent field reference function”. *J. Chem. Phys.*, 96 (1992), 1218.

[44] P. Hohenberg, W. Kohn, “Inhomogeneous electron gas”. *Phys. Rev.*, 136 (1964), 864.

[45] S. H. Vosko, L. Wilk, M. Nusair, “Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis”. *Can. J. Phys.*, 58 (1980), 1200.

[46] a) A. D. Becke, “Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior”. *Phys. Rev. A*, 38 (1988), 3098.

b) A. D. Becke, “Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange”. *J. Chem. Phys.*, 98 (1993), 5648.

[47] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, “Development of the Colle-Salvetti correlation-energy correlation-energy formula into a functional of the electron density”. *Phys. Rev. B*, 37 (1988), 785.

[48] E. Runge, E. K. U. Gross, “Density Functional Theory for time-dependent systems”. *Phys. Rev. Lett.*, 52 (1984), 997.

[49] W. L. Jorgensen, J. Tirado-Rives, “The OPLS Force Field for proteins. Energy minimizations for crystals of cyclic peptides and crambin”. *J. Am. Chem. Soc.*, 110 (1988), 1657.

[50] W. L. Jorgensen, D. S. Maxwell, J. Tirado-Rives, “Development and testing of the OPLS All-Atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids”. *J. Am. Chem. Soc.*, 118 (1996), 11225.

[51] 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.*, 117 (1995), 5179.

[52] B. R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan, M. Karplus, “CHARMM: a program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations”. *J. Comp. Chem*., 4 (1983), 187.

[53] W. L. Jorgensen, J. D. Madura, C. J. Swenson, “Optimized intermolecular potential functions for liquid hydrocarbons”. *J. Am. Chem. Soc.*, 106 (1984), 6638.

[54] W. L. Jorgensen, “Optimized intermolecular potential functions for liquid alcohols”. *J. Phys. Chem.*, 90 (1986), 1276.

[55] N. L. Allinger, “Conformational analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms”. *J. Am. Chem. Soc.*, 99 (1977), 8127.

[56] T. A. Halgren, “The representation of van der Waals (vdW) interactions in molecular mechanics force fields: potential form, combination rules, and vdW parameters”. *J. Am. Chem. Soc.*, 114 (1992), 7827.

[57] P. P. Ewald, “Die Berechnung optischer und elektrostatischer Gitterpotentiale”. *Ann. Phys. (Leipzig)*, 369 (1921), 253.

[58] M. P. Allen, D. J. Tildesley, *Computer Simulation of Liquids*, Oxford University Press, Oxford (1987).

[59] D. Frenkel, B. Smit, *Understanding Molecular Simulations. From Algorithms to Applications*, 2ª ed., nº 1 en Computational Science Series, Academic Press, San Diego (2002).

[60] A. Rahman, "Correlations in the motion of atoms in liquid argon". *Phys. Rev. A*, 136 (1964), 405.

[61] A. Rahman, F. H. Stillinger, "Molecular dynamics study of liquid water". *J. Chem. Phys.*, 55 (1971), 3336.

[62] L. Verlet, "Computer experiments on classical fluids. I. Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules". *Phys. Rev.*, 159 (1967), 98.

[63] R. W. Hockney, "The potential calculation and some applications". *Meth. Comput. Phys.*, 9 (1970), 136.

[64] W. C. Swope, H. C. Andersen, P. H. Berens, K. R. Wilson, "A computer simulation method for the calculation of equilibrium constants for the formation of physical clusters of molecules: application to small water clusters". *J. Chem. Phys.*, 76 (1982), 637.

[65] D. Beeman, "Some multistep methods for use in molecular dynamics calculations". *J. Comput. Phys.*, 20 (1976), 130.

[66] S. Nosé, "A molecular dynamics method for simulations in the canonical ensemble". *Mol. Phys.*, 52 (1984), 255.

[67] W. G. Hoover, "Canonical dynamics: equilibrium phase-space distributions". *Phys. Rev. A*, 31 (1985), 1695.

[68] D. J. Evans, "On the representation of orientation space". *Mol. Phys.*, 34 (1977), 317.

[69] G. S. Pawley, M. T. Dove, "Quaternion-based reorientation conditions for molecular dynamics analyses". *Mol. Phys.*, 55 (1985), 1147.

[70] D. J. Evans, S. Murad, “Singularity free algorithm for molecular dynamics simulation of rigid polyatomics”. *Mol. Phys*., 34 (1977), 327.

[71] N. C. Metropolis, S. Ulman, “The Monte Carlo method”. *J. Am. Stat. Assoc*., 44 (1949), 335.

[72] T. P. Straatsma, “Free energy by molecular simulation”. *Rev. Comput. Chem.,* 9 (1996), 81.

[73] P. A. Kollman, “Free energy calculations: applications to chemical and biochemical phenomena”. *Chem. Rev.,* 93 (1993), 2395.

[74] F. Jensen, *Introduction to Computational Chemistry*, 2ª ed., John Wiley & Sons, Chichester (2007).

[75] A. W. Leach, *Molecular Modelling. Principles and Applications*, 2ª ed., Prentice Hall, Harlow (2001).

[76] C. Chipot, D. A. Pearlman, “Free energy calculations. The long and winding gilded road”. *Mol. Simul*., 28 (2002), 1.

[77] R. W. Zwanzig, “High-temperature equation of state by a perturbation method. I. Nonpolar gases”. *J. chem. Phys.,* 22 (1954), 1420.

[78] D. G. Truhlar, B. C. Garrett, “Variational transition-state theory”. *Acc. Chem. Res.,* 13 (1980), 440.

[79] D. G. Truhlar, M. S. Gordon, “From force-fields to dynamics. Classical and quantal paths”. *Science*, 249 (1990), 491.

[80] M. A. Robb, M. Garavelli, M. Olivucci, F. Bernardi, “A computational strategy for organic photochemistry”, en K. B. Lipkowitz, D. B. Boyd (eds.), *Reviews in Computational Chemistry*, vol. 15, cap. 2, VCH Publishers, Inc., New York (2007), 87.

[81] E. Teller, “The crossing of potential surfaces”. *J. Phys. Chem*., 41 (1937), 109.

[82] G. J. Atchity, S. S. Xantheas, K. Ruedenberg, “Potential energy surfaces near intersections”. *J. Chem. Phys*., 95 (1991), 1862.

[83] D. R. Yarkony, “Conical intersections: the new conventional wisdom”. *J. Phys. Chem. A*, 105 (2001), 6277.

[84] a) H. C. Longuet-Higgins, U. Opik, M. H. L. Pryce, R. A. Sack, “Studies of the Jahn-Teller effect. II. The dynamical problem”. *Proc. R. Soc. London Ser. A*, 244 (1958), 1.

b) G. Herzberg, H. C. Longuet-Higgins, “Intersection of potential energy surfaces in polyatomic molecules”. *Discuss. Faraday Soc.*, 35 (1977), 77.

[85] a) C. A. Mead, D. G. Truhlar, “On the determination of Born-Oppenheimer nuclear motion wave functions including complications due to conical intersections and identical nuclei”. *J. Chem. Phys.*, 70 (1979), 2284.

b) C. A. Mead, “Superposition of reactive and nonreactive scattering amplitudes in the presence of a conical intersection”. *J. Chem. Phys.*, 72 (1980), 3839.

[86] M. V. Berry, “Quantal phase factors accompanying adiabatic changes”. *Proc. R. Soc. London Ser. A*, 392 (1984), 45.

[87] I. N. Ragazos, M. A. Robb, F. Bernardi, M. Olivucci, “Optimization and characterization of the lowest energy point on a conical intersection using an MC-SCF Lagrangian”. *Chem. Phys. Lett.*, 197 (1992), 217.

[88] M. R. Manaa, D. R. Yarkony, “On the intersection of two potential energy surfaces of the same symmetry. Systematic characterization using a Lagrange multiplier constrained procedure”. *J. Chem. Phys.*, 99 (1993), 5251.

[89] M. J. Bearpark, M. A. Robb, H. B. Schlegel, “A direct method for the location of the lowest energy point on a potential energy surface crossing”. *Chem. Phys. Lett.*, 223 (1994), 269.

[90] B. G. Levine, J. D. Coe, T. J. Martínez, “Optimizing conical intersections without derivative coupling vectors: application to Multistate Multireference Second-Order Perturbation Theory (MS-CASPT2)”. *J. Phys. Chem. B*, 112 (2008), 405.

[91] R. Fletcher, *Practical Methods of Optimization*, 2ª ed., John Wiley & Sons, New York (1987).

[92] L. E. Chirlian, M. M. Francl, “Atomic charges derives from electrostatic potentials: A detailed study”. *J. Comput. Chem.*, 8 (1987), 894.

[93] C. M. Breneman, K. B. Wiberg, “Determining atom-centered monopoles from molecular electrostatic potentials. The need for high sampling density in formamide conformational analysis”. *J. Comput. Chem.*, 11 (1990), 361.

[94] N. Okuyama-Yoshida, M. Nagaoka, T. Yamabe, “Transition-state optimization on free energy surface: Towards solution chemical reaction ergodography”. *Intr. J. QuantumChem.*, 70 (1998), 95.

[95] N. Okuyama-Yoshida, M. Nagaoka, T. Yamabe, “Structure optimization via free energy gradient method: Application to glycine zwitterions in aqueous solution”. *J. Chem. Phys.*, 113 (2000), 3519.

[96] H. Hirao, Y. Nagae, M. Nagaoka, “Transition-state optimization by the free energy gradient method: Application to aqueous-phase Menshutkin reation between ammonia and methyl chloride”. *Chem. Phys. Lett.*, 348 (2001), 350.

[97] C. G. Broyden, “The convergence of a class of double-rank minimization algorithms 1. General considerations”. *J. Inst. Math. Appl.*, 6 (1970), 76.

[98] C. G. Broyden, “The convergence of a class of double rank minimization algorithms 2. The new algorithm”. *J. Inst. Math. Appl.*, 6 (1970), 222.

[99] R. Fletcher, “A new approach to variable metric algorithms”. *Comput. J.*, 13 (1970), 317.

[100] D. Goldfarb, “A family of variable-metric methods derived by variational means”. *Math. Comp.*, 24 (1970), 23.

[101] D. F. Shanno, “Conditioning of quasi-Newton methods for function minimization”. *Math. Comp.*, 24 (1970), 647.

[102] W. C. Davidon, “Variance algorithm for minimization”, *Comput. J.*, 10 (1968), 406.

[103] R. Fletcher, “Function minimization without evaluating derivatives – a review”. *Comput. J.*, 8 (1965), 33.

[104] R. Fletcher, M. J. D. Powell, “A rapidly convergent descent method for minimization”, *Comput. J.*, 6 (1963), 163.

[105] M. Souaille, B. Roux, “Extension of weighted histogram analysis method: combining umbrella sampling with free energy calculations”. *Comput. Phys. Comm.*, 135 (2001), 40.

[106] M. Field, *A Practical Introduction to the Simulation of Molecular Systems*, Cambridge University Press, Cambridge (1999).

[107] C. E. Wayne, R. P. Wayne, *Photochemistry*, Oxford Chemistry Primers, Oxford University Press, Oxford (1996).

[108] B. J. Finlayson-Pitts, J. N. Jr. Pitts, *Chemistry of the Upper and Lower Atmosphere: Theory, Experiments, and Applications*, Academic Press, London (1999).

[109] T. Cocks, *The Chemistry and Deposition of Nitrogen Species in the Troposphere*, Royal Society of Chemistry, Cambridge (1993)

[110] J. P. Reid, R. M. Sayer, “Heterogeneous atmospheric aerosol chemistry: laboratory studies of chemistry on water droplets”. *Chem. Soc. Rev.*, 32 (2003), 70.

[111] S. Canneaux, J.-C. Soetens, E. Henon, F. Bohr, “Accommodation of ethanol, acetone and benzaldehyde by the liquid-vapor interface of water: a molecular dynamics study”. *Chem. Phys.*, 327 (2006), 512.

[112] R. S. Taylor, L. X. Dang, B. C. Garrett, “Molecular Dynamics Simulations of the Liquid/Vapor interface of SPC/E Water”. *J. Phys. Chem.*, 100 (1996), 11720.

[113] H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera, T. P. Straatsma, “The missing term in effective pair potentials”. *J. Phys. Chem.*, 91 (1987), 6269.

[114] R. S. Taylor, D. Ray, B. C. Garrett, “Understanding the mechanism for the mass accommodation of ethanol by a water droplet”. *J. Phys. Chem. B*, 101 (1997), 5473.

[115] R. S. Taylor, B. C. Garrett, “Accommodation of alcohols by the Liquid/Vapor interface of water: molecular dynamics study”. *J. Phys. Chem. B*, 103 (1999), 844.

[116] M. A. Wilson, A. Pohorille, “Adsorption and solvation of ethanol at the water liquid-vapor interface: a molecular dynamics study”. *J. Phys. Chem. B*, 101 (1997), 3130.

[117] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, M. L. Klein, “Comparison of simple potential functions for simulating liquid water”. *J. Chem. Phys.*, 79 (1983), 926.

[118] B. C. Garrett, G. K. Schenter, A. Morita, “Molecular simulation of the transport of molecules across the liquid/vapor interface of water”. *Chem. Rev*., 106 (2006), 1355.

[119] V. Vaida, “Perspective: water cluster mediated atmospheric chemistry”. *J. Chem. Phys.*, 135 (2011), 020901.

[120] R. J. Buszek, J. S. Francisco, J. M. Anglada, “Water effects on atmospheric reactions”. *Int. Rev. Phys. Chem.*, 30 (2011), 335.

[121] J. W. Ponder, “TINKER: Software tools for molecular design”. Washington University School of Medicine, Saint Louis, MO.:2004.

[122] 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. J. Bearpark, J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, N. J. 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, USA, 2009.

[123] M. T. C. Martins-Costa, J. M. Anglada, J. S. Francisco, M. F. Ruiz-López, “Reactivity of volatile organic compounds at the surface of a water droplet”. *J. Am. Chem. Soc.*, 134 (2012), 11821.

[124] J. M. Anglada, M. Martins-Costa, M. F. Ruiz-López, J. S. Francisco, "Spectroscopic signatures of ozone at the air-water interface and photochemistry implications". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 111 (2014), 11618.

[125] M. T. C. Martins-Costa, J. M. Anglada, J. S. Francisco, M. F. Ruiz-López, "Reactivity of atmospherically relevant small radicals at the air-water interface". *Angew. Chem. Int. Ed.*, 51 (2012), 5413.

[126] M. T. C. Martins-Costa, M. F. Ruiz-López, "Simulation of amino acid diffusion across water/hydrophobic interfaces". *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 13 (2011), 11579.

[127] M. T. C. Martins-Costa, M. F. Ruiz-López, "Amino acid capture by aqueous interfaces. Implications for biological uptake". *J. Phys. Chem. B*, 117 (2013), 12469.

[128] J. Padmanabhan, R. Parthasarathi, U. Sarkar, V. Subramanian, P. K. Chattaraj, "Effect of solvation on the condensed Fukui function and the generalized philicity index". *Chem. Phys. Lett.*, 383 (2004), 122.

[129] S. B. Liu, "Dynamic behavior of chemical reactivity indices in density functional theory: A Bohn-Oppenheimer quantum molecular dynamics study". *J. Chem. Sci.*, 117 (2005), 477.

[130] a) R. Ditchfield, W. J. Henre, J. A. Pople, "Self-consistent molecular-orbital methods. IX. An extended gaussian-type basis for molecular orbital studies of organic molecules". *J. Chem. Phys.*, 54 (1971), 724.

b) W. J. Henre, R. Ditchfield, J. A. Pople, "Self-consistent molecular-orbital methods. XII. Further extensions of gaussian-type basis sets for use in molecular orbital studies of organic molecules". *J. Chem. Phys.*, 56 (1972), 2257.

c) A. D. McLean, G. S. Chandler, "Contracted gaussian basis sets for molecular calculations. I. Second row atoms, Z=11-18". *J. Chem. Phys.*, 72 (1980), 5639.

d) R. Krishnan, J. S. Binkley, R. Seeger, J. A. Pople, "Self-consistent molecular-orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions". *J. Chem. Phys.*, 72 (1980), 650.

e) M. S. Gordon, “The isomers of silacyclopropane”. *Chem. Phys. Lett*., 76 (1980), 163.

f) P. C. Hariharan, J. A. Pople, “Accuracy of AHn equilibrium geometries by single determinant molecular orbital theory”. *Mol. Phys*., 27 (1974), 209.

[131] D. E. Woon, T. H. Dunning Jr., “Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. III. The atoms aluminum through argon”. *J. Chem. Phys*., 98 (1993), 1358.

[132] P. Jaramillo, P. Perez, P. Fuentealba, S. Canuto, K. Coutinho, “Solvent effects on global reactivity properties for neutral and charged systems using the sequential Monte Carlo quantum mechanics model”. *J. Phys. Chem. B*, 113 (2009), 4314.

[133] R. Kar, S. Pal, “Effect of solvent having different dielectric constants on reactivity: a conceptual DFT approach”. *Int. J. Quantum Chem.*, 110 (2010), 1642.

[134] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, M. L. Klein, “Comparison of simple potential functions for simulating liquid water”. *J. Chem. Phys.*, 79 (1983), 926.

[135] M. T. C. Martins-Costa, M. F. Ruiz-López, “Molecular dynamics of hydrogen peroxide in liquid water using a combined quantum/classical force field”. *Chem. Phys.*, 332 (2007), 341.

[136] V. Molina, M. Merchan, “Theoretical analysis of the electronic spectra of benzaldehyde”. *Phys. Chem. A*, 105 (2001), 3745.

[137] I. Alata, R. Omidyan, C. Dedonder-Lardeux, M. Broquier, C. Jouvet, “Electronically excited states of protonated aromatic molecules: benzaldehyde”. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 11 (2009), 11479.

[138] G. L. Cui, Y. Lu, W. Thiel, “Electronic excitation energies, three-state intersections, and photodissociation mechanisms of benzaldehyde and acetophenone”. *Chem. Phys. Lett.*, 537 (2012). 21.

[139] M. Berger, I. L. Goldblatt, C. Steel, “Photochemistry of benzaldehyde”. *J. Am. Chem. Soc.*, 95 (1973), 1717.

[140] a) H. Abe, S. Kamei, N. Mikami, M. Ito, “Sensitized phosphorescence excitation spectra of biacetyl, benzaldehyde and benzophenone in supersonic jets”. *Chem. Phys. Lett.*, 109 (1984), 217.

b) J. Smolarek, R. Zwarich, L. Goodman, “Active out-of-plane modes in $^1A''(n\pi^*) \leftarrow S_0$ of benzaldehyde vapor”. *J. Mol. Spectrosc.*, 43 (1972) 416.

c) N. Ohmori, T. Suzuki, M. Ito, “Why does intersystem crossing in isolated molecules of benzaldehyde, acetophenone, and benzophenone?”*J. Phys. Chem.*, 92 (1988), 1086.

[141] Y. Y. Sham, J. A. Joens, “Temperature dependent near UV molar absorptivities of several small aldehydes in aqueous solution”. *Spectrochimica Acta*, 51 (1995), 247.

[142] E. Spinner, A. Burawoy, “Electronic spectra of acetophenones substituted in the methyl group”. *Spectrochimica Acta*, 17 (1961), 558.

[143] E. Vander Donckt, C. Vogels, “Substituent and solvent effects on the $^1\pi^* \leftarrow n$, $^3\pi^* \leftarrow n$ and $^1\pi^* \leftarrow \pi$ transitions of benzaldehyde”. *Spectrochimica Acta*, 28A (1972), 1969.

[144] a) T. E. Meyer, “Isolation and characterization of soluble cytochromes, ferredoxins and other chromophoric proteins from the halophilic phototrophic bacterium Ectothiorhodospira halophila”. *Biochim. Biophys. Acta*, 806 (1985), 175.

b) T. E. Meyer, E. Yakali, M. A. Cusanovich, G. Tollin, “Properties of a water-soluble, yellow protein isolated from a halophilic phototrophic bacterium that has photochemical activity analogous to sensory rhodopsin”. *Biochem. J.*, 26 (1987), 418.

[145] W. W. Sprenger, W. D. Hoff, J. P. Armitage, K. J. Hellingwerf, “The eubacterium Ectothiorhodospira halophila is negatively phototactic, with a wavelength dependence that fits the absorption spectrum of the photoactive yellow protein”. *J. Bacteriol.*, 175 (1993), 3096.

[146] a) W. D. Hoff, P. Düx, K. Hård, B. Devreese, I. M. Nugteren-Roodzant, W. Crielaard, R. Boelens, R. Kaptein, J. van Beeuman, K. J. Hellingwerf, “Thiol ester-linked p-coumaric acid as a new photoactive prosthetic group in a protein with rhodopsin-like photochemistry”. *Biochemistry*, 33 (1994), 13959.

b) M. Baca, G. E. O. Borgstahl, M. Boissinot, P. M. Burke, D. R. Williams, K. A. Slater, E. D. Getzoff, "Complete chemical structure of Photoactive Yellow Protein: novel thioester-linked 4-hydroxycinnamyl chromophore and photocycle chemistry". *Biochemistry*, 33 (1994), 14369.

[147] a) E. D. Getzoff, K. N. Gutwin, U. K. Genick, "Anticipatory active-site motions and chromophore distortion prime photoreceptor PYP for light activation". *Nat. Struct. Biol.*, 10 (2003), 663.

b) U. K. Genick, S. M. Soltis, P. Kuhn, I. L. Canestrelli, E. D. Getzoff, "Structure at 0,85 Å resolution of an early protein photocycle intermediate". *Nature*, 392 (1998), 206.

c) G. E. O. Borgstahl, D. R. Williams, E. D. Getzoff, "1.4 Å structure of Photoactive Yellow Protein, a cytosolic photoreceptor: unusual fold, active site, and chromophore". *Biochemistry*, 34 (1995), 6278.

d) M. Baca, G. E. O. Borgstahl, M. Boissinot, P. M. Burke, D. R. Williams, K. A. Slater, E. D. Getzoff, "Complete chemical structure of Photoactive Yellow Protein: novel thioester-linked 4-hydroxycinnmamyl chromophore and photocycle chemistry". *Biochemistry*, 33 (1994), 14369.

[148] P. Kukura, D. W. McCamant, S. Yoon, D. B. Wandschneider, R. A. Mathies, "Structural observation of the primary isomerization in vision with femtosecond-stimulated Raman". *Science*, 392 (2005), 1006.

[149] R. Kort, H. Vonk, X. Xu, W. D. Hoff, W. Crielaard, K. J. Hellingwerf, "Evidence for trans-cis isomerization of the p-coumaric acid chromophore as the photochemical basis of the photocycle of photoactive yellow protein". *FEBS Lett*., 382 (1996), 73.

[150] a) R. Brudler, R. Rammelsberg, T. T. Woo, E. D. Getzoff, K. Gerwert, "Structure of the I1 early intermediate of photoactive yellow protein by FTIR spectroscopy". *Nat. Struct. Biol*., 8 (2001), 265.

b) U. K. Genick, G. E. O. Borgstahl, K. Ng, Z. Ren, C. Pradervand, P. M. Burke, V. Srajer, T.-Y. Teng, W. Schildkamp, D. E. McRee, K. Moffat, E. D. Getzoff, "Structure of a protein photocycle intermediate by millisecond time-resolved crystallography". *Science*, 275 (1997), 1471.

c) M. Unno, M. Kumauchi, J. Sasaki, F. Tokunaga, S. Yamauchi, “Resonance Raman spectroscopy and quantum chemical calculations reveal structural changes in the active site of photoactive yellow protein”. *Biochemistry*, 41 (2002), 5668.

d) M. Unno, M. Kumauchi, J. Sasaki, F. Tokunaga, S. Yamauchi, “Evidence for a protonated and cis configuration chromophore in the photobleached intermediate of Photoactive Yellow Protein”. *J. Am. Chem. Soc*., 122 (2000), 4233.

e) B. Perman, V. Srajer, Z. Ren, T.-Y. Teng, C. Pradervand, T. Ursby, D. Bourgeois, F. Schotte, M. Wulff, R. Kort, K. J. Hellingwerf, K. Moffat, “Energy transduction on the nanosecond time scale: early structural events in a xanthopsin photocycle”. *Science*, 279 (1998), 1946.

[151] T. Rocha-Rinza, O. Christiansen, J. Rajput, A. Gopalan , D.B. Rahbek, L. H. Andersen, A.V. Bochenkova, A.A. Granovsky, K.B. Bravaya, A.V. Nemukhin, K.L. Christiansen, M. B. Nielsen, “Gas phase absorption studies of photoactive yellow protein chromophore derivatives”. *J. Phys. Chem. A*, 113 (2009), 9442.

[152] I. B. Nielsen, S. Boyé-Péronne, M. O. A. El Ghazaly, M. B. Kristensen, S. B. Nielsen, L. H. Andersen, “Absorption spectra of photoactive yellow protein chromophores in vacuum”. *Biophys. J.*, 89 (2005), 2597.

[153] L. Lammich, J. Rajput, L. H. Andersen, “Photodissociation pathways of gas-phase photoactive yellow protein chromophores”. *Phys. Rev. E*, 78 (2008), 51916.

[154] M. Putschögl, P. Zirak, A. Penzkofer, “Absorption and emission behaviour of trans-p-coumaric acid in aqueous solutions and some organic solvents”. *Chem. Phys.*, 343 (2008), 107.

[155] A. Espagne, P. Changenet-Barret, P. Plaza, M. M. Martin, “Solvent effect on the excited-state dynamics of analogues of the photoactive yellow protein chromophore”. *J. Phys. Chem. A*, 110 (2006), 3393.

[156] A. Espagne, P. Changenet-Barret, J.-B. Baudin, P. Plaza, M. M. Martin, “Photoinduced charge shifts as the driving force for the excited-state relaxation of analogues of the photoactive yellow protein”. *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, 185 (2007), 245.

[157] a) M. L. Groot, L. J. G. W. van Wilderen, D. S. Larsen, M. A. van der Horst, I. H. M. van Stokkum, K. J. Hellingwerf, R. van Grondelle, "Initial steps of signal generation in photoactive yellow protein revealed with femtosecond mid-infrared spectroscopy". *Biochemistry*, 42 (2003), 10054.

b) K. Heyne, O. F. Mohammed, A. Usman, J. Dreyer, E. T. J. Nibbering, M. A. Cusanovich, "Structural evolution of the chromophore in the primary stages of trans/cis isomerization in photoactive yellow protein". *J. Am. Chem. Soc*., 127 (2005), 18100.

c) P. A. Sigala, M. A. Tsuchida, D. Herschlag, "Hydrogen bond dynamics in the active site of the photoactive yellow protein". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106 (2009), 9232.

[158] a) A. Yamada, S. Yamamoto, T. Yamato, T. Kakitani, "Ab initio MO study on potential energy surfaces for twisting around C7-C8 and C4-C7 bonds of coumaric acid". *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, 536 (2001), 195.

b) R. Brudler, T. E. Meyer, U. K. Genick, S. Devanathan, T. T. Woo, D. P. Millar, K. Gerwert, M. A. Cusanovich, G. Tollin, E. D. Getzoff, "Coupling of hydrogen bonding to chromophore conformation and function in photoactive yellow protein". *Biochemistry*, 39 (2000), 13478.

[159] I.-R. Lee, W. Lee, A. H. Zewail, "Primary steps of the photoactive yellow protein: isolated chromophore dynamics and protein directed function". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 103 (2006), 258.

[160] E. V. Gromov, I. Burghardt, H. Köppel, L. S. Cederbaum, "Electronic structure of the PYP chromophore in its native protein environment". *J. Am. Chem. Soc.*, 129 (2007), 6798.

[161] Z. He, C. H. Martin, R. Birge, K. F. Freed, "Theoretical studies on excited states of a phenolate anion in the environment of photoactive yellow protein". *J. Phys. Chem. A*, 104 (2000), 2939.

[162] M. Boggio-Pasqua, C. F. Burmeister, M. A. Robb, G. Groenhof, "Photochemical reactions in biological systems: probing the effect of the environment by means of hybrid quantum chemistry/molecular dynamics simulations". *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 14 (2012), 7912.

[163] a) R. Nakamura, N. Hamada, K. Abe, M. Yoshizawa, "Ultrafast hydrogen-bonding dynamics in the electronic excited state of photoactive yellow protein revealed by femtosecond stimulated Raman spectroscopy". *J. Phys. Chem. B*, 116 (2012), 14768.

b) A. F. Philip, R. A. Nome, G. A. Papadantonakis, N. F. Scherer, W. D. Hoff, "Spectral tuning in photoactive yellow protein by modulation of the shape of the excited state energy surface". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107 (2010), 5821.

c) S. Devanathan, S. Lin, M. A. Cusanovich, N. Woodbury, G. Tollin, "Early intermediates in the photocycle of the Glu46Gln mutant of photoactive yellow protein: femtosecond spectroscopy". *Biophys. J.*, 79 (2000), 2132.

d) H. Chosrowjan, N. Mataga, Y. Shibata, Y. Imamoto, F. Tokunaga, "Environmental effects on the femtosecond-picosecond fluorescence dynamics of photoactive yellow protein: chromophores in aqueous solutions and in protein nanospaces modified by site-directed mutagenesis". *J. Phys. Chem. B*, 102 (1998), 7695.

[164] E. V. Gromov, I. Burghardt, J. T. Hynes, H. Köppel, L. S. Cederbaum, "Electronic structure of the photoactive yellow protein chromophore: ab initio study of the low-lying excited singlet states". *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, 190 (2007), 241.

[165] a) G. Groenhof, M. Bouxin-Cadematory, B. Hess, S. P. de Visser, H. J. C. Berendsen, M. Olivucci, A. E. Mark, M. A. Robb, "Photoactivation of the photoactive yellow protein: why photon absorption triggers a trans-to-cis isomerization of the chromophore in the protein". *J. Am. Chem. Soc.*, 126 (2004), 4228.

b) G. Groenhof, L. V. Schäfer, M. Boggio-Pasqua, H. Grubmüller, M. A. Robb, "Arginine52 controls the photoisomerization process in photoactive yellow protein". *J. Am. Chem. Soc.*, 130 (2008), 3250.

c) M. Boggio-Pasqua, M. A. Robb, G. Groenhof, "Hydrogen bonding controls excited-state decay of the photoactive yellow protein chromophore". *J. Am. Chem. Soc.*, 131 (2009), 13580.

[166] A. D. Stahl, M. Hospes, K. Singhal, I. van Stokkum, R. van Grondelle, M. L. Groot, K. J. Hellingwerf, "On the involvement of single-bond rotation in the primary photochemistry of photoactive yellow protein". *Biophys. J.*, 101 (2011), 1184.

[167] C. Ko, A. M. Virshup, T. J. Martínez, “Electrostatic control of photoisomerization in the photoactive yellow protein chromophore: ab initio multiple spawning dynamics”. *Chem. Phys. Lett.*, 460 (2008), 272.

[168] a) K. Okamoto, N. Hamada, T.-A. Okamura, N. Ueyama, H. Yamamoto, “Color regulation and stabilization of chromophore by Cys69 in photoactive yellow protein active center”. *Org. Biomol. Chem.*, 7 (2009), 3782.

b) O. F. Mohammed, K. Heyne, A. Usman, J. Dreyer, E. T. J. Nibbering, M. A. Cusanovich, “Ultrafast polarization-sensitive infrared spectroscopy of photoactive yellow protein and model compounds”, en P. Corkum, D. Jonas, R. J. D. Miller, A. M. Weiner (eds.), *Ultrafast Phenomena XV, Springer Ser. Chem. Phys*., 88, Springer, Berlin (2007), 453.

c) K. Heyne, O. F. Mohammed, A. Usman, J. Dreyer, E. T. J. Nibbering, M. A. Cusanovich, “Structural evolution of the chromophore in the primary steps of trans/cis isomerization in photoactive yellow protein”. *J. Am. Chem. Soc*., 127 (2005), 18100.

[169] E. V. Gromov, I. Burghardt, H. Köppel, L. S. Cederbaum, “Native hydrogen bonding network of the photoactive yellow protein (PYP) chromophore: Impact on the electronic structure and photoinduced isomerization”. *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, 234 (2012), 123.

[170] E. V. Gromov, I. Burghardt, H. Köppel, L. S. Cederbaum, “Photoinduced isomerization of the photoactive yellow protein (PYP) chromophore: interplay of two torsions, a HOOP mode and hydrogen bonding”. *J. Phys. Chem. A*, 115 (2011), 9237.

[171] T. Rocha-Rinza, K. Sneskov, O. Christiansen, U. Ryde, J. Kongsted, “Unraveling the similarity of the photoabsorption of deprotonated p-coumaric acid in the gas phase and within the photoactive yellow protein”. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 13 (2011), 1585.

[172] C. M. Isborn, A. W. Götz, M. A. Clark, R. C. Walker, T. J. Martínez, “Electronic absorption spectra from MM and ab initio QM/MM molecular dynamics: environmental effects on the absorption spectrum of photoactive yellow protein”. *J. Chem. Theory Comput.*, 8 (2012), 5092.

[173] A. M. Virshup, C. Punwong, T. V. Pogorelov, B. A. Lindquist, C. Ko, T. J. Martínez, "Photodynamics in complex environments: ab initio multiple spawning quantum mechanical/molecular mechanical dynamics". *J. Phys. Chem. B*, 113 (2009), 3280.

[174] Y. Wang, H. Li, "Excited state geometry of photoactive yellow protein chromophore: a combined conductorlike polarizable continuum model and time-dependent density functional study". *J. Chem. Phys.*, 133 (2010), 034108.

[175] A. Toniolo, G. Granucci, T. J. Martínez, "Conical intersections in solution: a QM/MM study using floating occupation semiempirical configuration interaction wave function". *J. Phys. Chem. A*, 107 (2003), 3822.

[176] L. L. Premvardhan, F. Buda, M. A. van der Horst, D. C. Lührs, K. J. Hellingwerf, R. van Grondelle, "Impact of photon absorption on the electronic properties of p-coumaric acid derivatives of the photoactive yellow protein". *J. Phys. Chem. B*, 108 (2004), 5138.

[177] A. Espagne, D. H. Paik, P. Changenet-Barret, P. Plaza, M. M. Martin, A. H. Zewail, "Ultrafast light-induced response of photoactive yellow protein chromophore analogues". *Photochem. Photobiol. Sci.*, 6 (2007), 780.

[178] H. El-Gezawy, W. Rettig, A. Danel, G. Jonusauskas, "Probing the photochemical mechanism in photoactive yellow protein". *J. Phys. Chem. B*, 109 (2005), 18699.

[179] H. Kuramochi, S. Takeuchi, T. Tahara, "Ultrafast structural evolution of photoactive yellow protein chromophore revealed by ultraviolet resonance femtosecond stimulated Raman spectroscopy". *J. Phys. Chem. Lett.*, 3 (2012), 2025.

[180] P. Changenet-Barret, F. Lacombat, P. Plaza, "Reaction-coordinate tracking in the excited-state deactivation of the photoactive yellow protein chromophore in solution". *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, 234 (2012), 171.

[181] S. Naseem, A. D. Laurent, E. C. Carroll, M. Vengris, M. Kumauchi, W. D. Hoff, A. I. Krylov, D. S. Larsen, "Photo-isomerization upshifts the pKa of photoactive yellow protein chromophore to contribute to photocycle propagation". *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, 270 (2013), 43.

[182] Y. Ma, M. Rohlfing, C. Molteni, “Modeling the excited states of biological chromophores within many-body Green’s function theory”. *J. Chem. Theory Comput*., 6 (2010), 257.

[183] P. B. Coto, D. Roca-Sanjuán, L. Serrano-Andrés, A. Martín-Pendás, S. Martí, J. Andrés, “Toward understanding the photochemistry of photoactive yellow protein: a CASPT2/CASSCF and quantum theory of atoms in molecules combined study of a model chromophore in vacuo”. *J. Chem. Theory Comput*., 5 (2009), 3032.

[184] a) D. S. Larsen, M. Vengris, I. H. M. van Stokkum, M. A. van der Horst, R. A. Cordfunke, K. J. Hellingwerf, R. van Grondelle, “Initial photo-induced dynamics of the photoactive yellow protein chromophore in solution”. *Chem. Phys. Lett.*, 28 (2003), 563.

b) D. S. Larsen, M. Vengris, I. H. M. van Stokkum, M. A. van der Horst, F. L. de Weerd, K. J. Hellingwerf, R. van Grondelle, “Photoisomerization and photoionization of the photoactive yellow protein chromophore in solution”. *Biophys. J.*, 86 (2004), 2538.

c) M. Vengris, M. A. van der Horst, G. Zgrablic, I. H. M. van Stokkum, S. Haacke, M. Chergui, K. J. Hellingwerf, R. van Grondelle, D. S. Larsen, “Contrasting the excited-state dynamics of the photoactive yellow protein chromophore: protein versus solvent environments”. *Biophys. J.*, 87 (2004), 1848.

[185] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, 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, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, *Gaussian 03, (Revision D.02)*, Gaussian, Inc., Wallingford CT (2004).

[186] F. Aquilante, L. de Vico, N. Ferre, G. Ghigo, P. Å. Malmquist, P. Neogrady, T. Pedersen, M. Pitonak, M. Reiher, B. O. Roos, L. Serrano-Andres, M. Urban, V. Veryazov, R. Lindh, "MOLCAS 7: the next generation". *J. Comput. Chem*., 31 (2010), 224.

[187] B. Hess, C. Kutzner, D. van der Spoel, E. Lindahl, "GROMACS 4: Algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation". *J. Chem. Theory Comput*., 4 (2008), 435.

[188] W. L. Jorgensen, J. D. Madura, "Temperature and size dependence for Monte Carlo simulations of TIP4P water". *Mol. Phys*., 56 (1985), 1381.

[189] T. Darden, D. York, L. Pedersen, "Particle mesh Ewald: an N·log(N) method for Ewald sums in large systems". *J. Chem. Phys*., 98 (1993), 10089.

[190] E. V. Gromov, I. Burghardt, H. Köppel, L. S. Cederbaum, "Impact of sulfur vs. oxygen on the low-lying excited states of *trans*-p-coumaric acid and *trans*-p-coumaric thio acid". *J. Phys. Chem. A*, 109 (2005), 4623.

[191] K. Chaehyuk, B. Levine, A. Toniolo, L. Manohar, S. Olsen, H.-J. Werner, T. J. Martínez, "*Ab initio* excited-state dynamics of the Photoactive Yellow Protein Chromophore". *J. Am. Chem. Soc*., 125 (2003), 12710.

[192] I. Fdez. Galván, M. E. Martín, A. Muñoz-Losa, M. A. Aguilar, "Solvatochromic shifts on absorption and fluorescence bands of N,N-dimethylaniline". *J. Chem. Theory Comput.*, 5 (2009), 341.

[193] I. Fdez. Galván, M. E. Martín, M. A. Aguilar, "Theoretical study of the dual fluorescence of 4-(N,N-dimethylamino)benzonitrile in solution". *J. Chem. Theory Comput*., 6 (2010), 2445.

[194] I. Fdez. Galván, M. E. Martín, A. Muñoz-Losa, M. L. Sánchez, M. A. Aguilar, "Solvent effects on the structure and spectroscopy of the emitting states of 1-Phenylpyrrole". *J. Chem. Theory Comput.*, 7 (2011), 1850.

[195] I. Fdez. Galván, M. E. Martín, A. Muñoz-Losa, M. A. Aguilar, "Dual fluorescence of fluorazene in solution: a computational study". *J. Chem. Theory Comput.*, 7 (2011), 3694.

[196] A. Sergi, M. Grüning, M. Ferrario, F. Buda, “Density functional study of the photoactive yellow protein’s chromophore”. *J. Phys. Chem. B*, 105 (2001), 4386.

[197] D. Zuev, K. B. Bravaya, T. D. Crawford, R. Lindh, A. I. Krylov, “Electronic structure of the two isomers of the anionic form of p-coumaric acid chromophore”. *J. Chem. Phys.*, 134 (2011), 034310.

[198] M. Boggio-Pasqua, G. Groenhof, “Controlling the photoreactivity of the photoactive yellow protein chromophore by substituting at the p-coumaric acid group”. *J. Phys. Chem. B*, 115 (2011), 7021.

[199] V. Molina, M. Merchán, “On the absorbance changes in the photocycle of the photoactive yellow protein protein: a quantum chemical analysis”. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 (2001), 4299.

[200] M. Boggio-Pasqua, G. Groenhof, “On the use of reduced active space in CASSCF calculations”. *Comput. Theor. Chem.*, 1040-1041 (2014), 6.

[201] V. Bonačić-Koutecký, J. Koutecký, J. Michl, “Neutral and Charged Biradicals, Zwitterions, Funnels in S_1, and Proton Translocation: Their Role in Photochemistry, Photophysics, and Vision”. *Angew. Chem.*, 26 (1987), 170.

[202] V. Bonačić-Koutecký, K. Schöffel, J. Michl, “Critically heterosymmetric biradicaloid geometries of protonated Schiff bases”. *J. Theor. Chem. Acc.*, 72 (1987), 459.

[203] M. Garavelli, T. Vreven, P. Celani, F. Bernardi, M. A. Robb, M. Olivucci, “Photoisomerization path for a realistic retinal chromophore model: the nonatetraeniminium cation”. *J. Am. Chem. Soc.*, 120 (1998), 1285.

[204] F. Molnar, M. Ben-Nun, T. J. Martínez, K. Schulten, “Characterization of a conical intersection between the ground and first excited state for a retinal analog”. *THEOCHEM*, 506 (2000), 169.

[205] I. Burghardt, L. S. Cederbaum, J. T. Hynes, “Environmental effects on a conical intersection: a model study”. *Faraday Discuss. Chem. Soc.*, 127 (2004), 395.

[206] I. Burghardt, J. T. Hynes, “Excited-state charge transfer at a conical intersection: effects of an environment”. *J. Phys. Chem. A*, 110 (2006), 11411.

[207] P. Changenet-Barret, A. Espagne, N. Katsonis, S. Charier, J.-B. Baudin, L. Jullien, P. Plaza, M. M. Martin, "Excited-state relaxation dynamics of a PYP chromophore model in solution. Influence of the thioester group". *Chem. Phys. Lett.*, 365 (2002), 285.

[208] A. Espagne, D. H. Paik, P. Changenet-Barret, M. M. Martin, A. H. Zewail, "Ultrafast photoisomerization of photoactive yellow protein chromophore analogues in solution: influence of the protonation state". *Chem. Phys. Chem.*, 7 (2006), 1717.

[209] P. Changenet-Barret, A. Espagne, P. Plaza, K. J. Hellingwerf, M. M. Martin, "Investigations of the primary events in a bacterial photorreceptor for photomotility: Photoactive Yellow Protein (PYP)". *New J. Chem.*, 4 (2005), 527.

[210] E. Muguruza González, L. Guidoni, C. Molteni, "Chemical and protein shifts in the spectrum of the photoactive yellow protein: a time-dependent density functional theory/molecular mechanics study". *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 11 (2009), 4556.

[211] K. Nakashima, M. Koyanagi, “Solvent intensification effects on the $S_1(n\pi^*) \leftarrow S_0$ absorption spectra of benzaldehyde in fluid solutions”. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 55 (1982), 3923.

[212] C. R. Silva, J. P. Reilly, “Theoretical calculations on excited electronic states of benzaldehyde and observation of the $S_2 \leftarrow S_0$ Jet-Cooled spectrum”. *J. Phys. Chem.*, 100 (1996), 17111.

[213] K. Kimura, S. Nagakura, “Vacuum ultraviolet spectra of styrene, benzaldehyde, acetophenone, and benzonitrile”. *Theor. Chim. Acta*, 3 (1965), 164.

[214] G. Thiault, A. Mellouki, G. Le Bras, A. Chakir, N. Sokolowski, D. Daumont, “UV-absorption cross sections of benzaldehyde, ortho-, meta-, and para-tolualdehyde”. *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, 162 (2004), 273.

[215] T. J. Wallington, P. Dagaut, M. J. Kurylo, “UV absorption cross sections and reaction kinetics and mechanisms for peroxy radicals in the gas phase”. *Chem. Rev.*, 92 (1992), 667.

[216] L. Zhu, T. J. Cronin, “Photodissociation of benzaldehyde in the 280-308 nm region”. *Chem. Phys. Lett.*, 317 (2000), 227.

[217] B. J. Finlayson-Pitts, J. N. Pitts Jr., *Atmospheric Chemistry: Fundamental and Experimental Techniques*, John Wiley and Sons, New York, (1986).

[218] A. C. Chamberlin, C. J. Cramer, D. G. Truhlar, “Predicting aqueous free energies of salvation as functions of temperature”. *J. Phys. Chem. B*, 110 (2006), 5665.

[219] J. I. Siepmann, D. Frenkel, "Configurational bias Monte Carlo: a new sampling scheme for flexible chains". *Mol. Phys*., 75 (1992), 59.

[220] D. L. Ermak, J. A. McCammon, "Brownian dynamics with hydrodynamic interactions". *J. Chem. Phys.*, 69 (1978), 1352.

[221] X. Wu, B. R. Brooks, "Self-guided Langevin dynamics simulation method". *Chem. Phys. Lett.*, 381 (2003), 512.

[222] K. Coutinho, H. C. Georg, T. L. Fonseca, V. Ludwig, S. Canuto, "An efficient statistically converged average configuration for solvent effects". *Chem. Phys. Lett.*, 437 (2007), 148.