

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI  
**RENDICONTI**

---

GIOVANNI BATTISTA BONINO, ALESSANDRO BERTOLUZZA

**Spettri Raman e ultrarossi di composti caratterizzati  
da legami di idrogeno forti e loro importanza nello  
studio di problemi di interesse applicativo e biologico**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 61 (1976), n.6, p. 617–622.*  
Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1976\\_8\\_61\\_6\\_617\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1976_8_61_6_617_0)>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)  
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>



## SEZIONE II

(Fisica, chimica, geologia, paleontologia e mineralogia)

**Chimica.** — *Spettri Raman e ultrarossi di composti caratterizzati da legami di idrogeno forti e loro importanza nello studio di problemi di interesse applicativo e biologico.* Nota di GIOVANNI BATTISTA BONINO (\*) e ALESSANDRO BERTOLUZZA (\*), presentata (\*\*) dal Socio G. B. BONINO.

SUMMARY. — A review of our latest vibrational researches performed at the "Centro Studi di Spettroscopia Raman" of Bologna University on systems characterized by "strong" hydrogen bonds is given and discussed.

This research arises from our previous studies on the problem of "anomalous" water and deals with solid and liquid  $\text{HBr} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , concentrated aqueous solutions of strong inorganic acids and bases, concentrated anhydrous solutions of  $\text{HCl}$  in  $\text{MeOH}$ , and with a structural model of the concentrated aqueous solutions depending on water-solute interactions.

In these studies it is shown that the hydrogen bond "strength" between water molecules depends on the "strength" of water molecule-perturbing centre interaction.

Hydrogen bonds characterized by potential function with double minimum and low barrier are so allowed.

At the same time hydrogen bond polarizability increases; it is one of the causes of the continuous absorption that is observed in i.r. spectra and of a large continuous band observable in Raman spectra, also.

Lastly, vibrational research under way on systems characterized by "strong" hydrogen bonds both in applied inorganic chemistry ( $\text{HBO}_2$  III,  $\text{NaHCO}_3$ — $\text{Na}_2\text{CO}_3$ — $\text{H}_2\text{O}$  system) and in applied biological chemistry ( $(\text{CH}_3\text{CONH}_2)_2$ ,  $\text{HCl}$ , Aspirine and analogous drugs) is reported.

Lo studio della struttura dell'acqua cosiddetta « anomala » o « polimerica », di cui ci siamo interessati in precedenti ricerche [1-4] ponendoci al di fuori della sterile polemica se l'acqua anomala sia da considerarsi una forma polimorfa dell'acqua, o piuttosto le sue proprietà siano da riferirsi a semplici impurezze, ha indirizzato un programma di ricerca presso il Centro di Studio sulla Spettroscopia Raman dell'Università di Bologna, diretto dal prof. G. Semerano, sulle modificazioni che può subire la « forza » del legame di idrogeno — in particolare quello OHO dell'acqua — a seconda delle perturbazioni, di natura elettronica, indotte sugli atomi che sottendono il legame stesso.

Significative sono, nel detto nostro programma, le indagini vibrazionali realizzate su  $\text{HBr} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  solido e liquido [3], quelle sulle soluzioni acquose concentrate di acidi e basi forti inorganici [5], sulle soluzioni anidre concentrate di acido cloridrico in metanolo [6], su un modello di struttura delle soluzioni acquose concentrate a seconda del tipo di interazione acqua-soluto [7].

(\*) Centro di Studio per la Spettroscopia Raman dell'Università di Bologna.

(\*\*) Nella seduta dell'11 dicembre 1976.

Tali indagini evidenziano come le modificazioni indotte da centri perturbanti sulla struttura dell'acqua liquida - di cui ci siamo interessati in precedenza [8-10] -, comportino una modificazione del legame di idrogeno delle molecole d'acqua direttamente interagenti con il centro perturbante, modificazione che si trasmette, con carattere cooperativo, alle molecole adiacenti.

Se l'interazione centro perturbante-molecole d'acqua è del tipo prevalentemente elettrostatico, i legami di idrogeno OHO delle molecole d'acqua interagenti con il centro perturbante sono caratterizzati da una funzione di potenziale asimmetrica, la cui anarmonicità aumenta all'aumentare del grado di interazione centro-molecole d'acqua.

Contemporaneamente, aumenta la polarizzabilità dei legami di idrogeno e anche lo spostamento della frequenza di vibrazione di allungamento OH verso i minori numeri d'onda.

È questo il caso delle molecole d'acqua adsorbite superficialmente ad un solido ionico caratterizzato da ioni a basso campo elettrostatico, e anche dell'acqua che interagisce, in soluzione, con gli stessi ioni. Il fatto che lo spettro vibrazionale della soluzione acquosa diluita non riveli sostanziali spostamenti della frequenza di vibrazione di allungamento OH può essere spiegato considerando che il campo elettrostatico degli ioni nella soluzione diluita è diffuso sopra un più grande numero di molecole d'acqua, risultando i loro legami di idrogeno meno perturbati e quindi meno polarizzabili.

Nel caso in cui l'interazione centro perturbante-molecole d'acqua sia del tipo più forte, cioè avvenga con un parziale carattere dativo, si realizza una più forte modificazione dei legami di idrogeno fra le molecole d'acqua direttamente interagenti col centro perturbante, modificazione che si trasmette cooperativamente alle molecole adiacenti.

I legami di idrogeno OHO delle molecole d'acqua assumono allora una funzione di potenziale a doppio minimo e bassa barriera, dipendendo direttamente l'anarmonicità dalla perturbazione asimmetrica cui è sottoposta la molecola d'acqua. Contemporaneamente si accorcia la distanza  $O \cdots O$  e l'atomo di idrogeno tende a centralizzarsi rispetto agli atomi di ossigeno, promuovendo il passaggio del legame dal tipo normale  $O-H \cdots O$  al tipo forte  $O-H-O$  <sup>(1)</sup>.

L'alto valore della polarizzabilità di questi legami, assieme alla loro diversa e varia distribuzione in soluzione e quindi al diverso accoppiamento del movimento degli idrogeni, nonché le interazioni con le molecole d'acqua meno perturbate e l'accoppiamento con le vibrazioni reticolari, sono fenomeni proposti da G. Zundel [11] per spiegare quell'assorbimento continuo che inizia a  $\sim 3000 \text{ cm}^{-1}$  e che T. Ackermann [12] aveva per primo osservato negli spettri u.r. di soluzioni acquose concentrate di HCl e NaOH e G. Zundel [11] nello spettro u.r. di HCl in metanolo.

(1) Con il simbolismo  $O-H-O$  si rappresenta comunemente sia il legame di idrogeno forte simmetrico, caratterizzato da una funzione potenziale a minimo singolo, sia quello asimmetrico, caratterizzato da una funzione potenziale a doppio minimo e bassa barriera.

Noi abbiamo potuto confermare le misure u.r. sulle soluzioni acquose concentrate di acidi e basi forti inorganici e quelle su acido cloridrico in metanolo, estendendo le prime anche nell'u.r. prossimo. Inoltre, per la prima volta, abbiamo messo in evidenza come anche negli spettri Raman sia presente una larga banda continua, e come nelle soluzioni acquose concentrate di HCl e NaOH[5] (nonché in quelle di HCl in metanolo[6]) si formino ioni  $H^+(H_2O)_n$  e  $OH^-(H_2O)_r$  (nel caso di HCl in metanolo, ioni  $H^+(CH_3OH)_n$ ) con legami di idrogeno  $(O-H-O)^+$  e  $(O-H-O)^-$ , ugualmente forti, caratterizzati da una funzione potenziale a doppio minimo e bassa barriera.

Le nostre misure Raman sono state confermate, per quanto riguarda gli spettri di soluzioni acquose di acido cloridrico, da G. Zundel *et al.* [13] in un lavoro pubblicato subito dopo il nostro.

La formazione di ioni  $H^+(H_2O)_n$  e  $OH^-(H_2O)_n$ , caratterizzati da legami di idrogeno  $O-H-O$  con forza via via decrescente a procedere dal centro perturbante sulle molecole d'acqua, trova un'evidenza sperimentale nelle misure di diffrazione di raggi X su  $HBr \cdot 4 H_2O$  cristallino [14], in quelle su soluzioni acquose concentrate di HCl [15, 16], nonché da misure di sezioni d'urto per diffusione elastica di ioni  $H^+(H_2O)_n$  e  $OH^-(H_2O)_n$  [17, 18].

Alla luce di queste indagini si può dar corpo all'ipotesi, che è stata il fulcro dell'attività di ricerca svolta ed è indirizzo di quella futura, e cioè che la perturbazione della « forza » del legame di idrogeno della struttura dell'acqua, conseguente alla perturbazione operata da un centro perturbante (sia esso in soluzione, oppure un sito in superficie ad un solido), sia all'origine delle proprietà presentate dal sistema. Da ciò prende anche forma la visione che possa sussistere una gamma di « acque », contenute nei materiali e non ultimi quelli di interesse biologico, con proprietà diverse a seconda della forza del legame di idrogeno.

In tal senso si sta sviluppando un indirizzo di ricerca presso il Centro di Studio per la Spettroscopia Raman di Bologna.

Significativa, a questo riguardo, è l'anomala conducibilità protonica che si osserva nelle soluzioni acquose contenenti ioni idratati  $H^+(H_2O)_n$ , e che è stata attribuita alla presenza di legami di idrogeno  $O-H-O$  forti [11].

Sotto un altro aspetto, suggestivo è il caso dell'acido metaborico  $HBO_2$ , di cui ci stiamo occupando in una ricerca a parte.

Delle tre modificazioni note dell'acido metaborico, la cui struttura è stata determinata dai raggi X [19-22], solo quella cubica contiene legami di idrogeno  $O-H-O$  di tipo forte, e l'indagine vibrazionale da noi eseguita in confronto con le altre due modificazioni si accorderebbe con l'ipotesi della presenza di tali legami. Confrontata con le altre due forme polimorfe di  $HBO_2$ , la modificazione cubica presenta proprietà anomale, e cioè valori più alti di densità, di indice di rifrazione, di durezza, etc.

Anche il sistema carbonato-bicarbonato sodico, che stiamo ora studiando, è caratterizzato da componenti idrogenati (bicarbonato sodico  $NaHCO_3$ , sesquicarbonato sodico  $NaHCO_3 \cdot Na_2CO_3 \cdot 2 H_2O$ , sale di Wegscheider

$3 \text{ NaHCO}_3 \cdot \text{Na}_2\text{CO}_3$ ) caratterizzati da legami di idrogeno forti  $\text{O}-\text{H}-\text{O}$ , non sufficientemente descritti nella letteratura scientifica.

Riteniamo che le proprietà chimico-fisiche e le caratteristiche di impiego dei componenti di questo sistema siano da ricondurre alla presenza, nella loro struttura, di questi legami.

Infine, anche il caso delle idrossiapatiti, specie di quelle a composizione non stechiometrica, costituisce un altro interessante campo di indagine, inesplorato dalla spettroscopia Raman e di cui si sta interessando il Centro di Studio di Bologna, su materiali di interesse bio-medico caratterizzati da legami di idrogeno  $\text{OHO}$  di forza variabile. L'importanza di queste ricerche, deriva dal fatto che il tessuto delle ossa e dei denti è costituito da idrossiapatiti deficienti in calcio.

Contemporaneamente a queste ricerche, il Centro di Studio per la Spettroscopia Raman di Bologna ha condotto una serie di indagini intese ad evidenziare la presenza di legami di idrogeno forti in composti di interesse biologico e a collegare - quando possibile - le proprietà di tali composti con la natura del legame di idrogeno da essi presentata.

Sotto questo aspetto vanno inquadrare le ricerche di spettroscopia Raman e u.r. sull'acetamide  $\text{CH}_3\text{CONH}_2$  e sul suo emicloridrato  $(\text{CH}_3\text{CONH}_2)_2 \cdot \text{HCl}$  [23], quelle sulle soluzioni acquose e acquose acide di acetamide [24, 25], le ricerche sull'aspirina e derivati [26] e sull'acido 4-isobutil fenil-2-propionico (Ibuprofen) e prodotti farmacologicamente analoghi - tuttora in corso - in relazione ad una loro ipotetica azione inibitrice della biosintesi delle prostaglandine.

L'importanza dell'acetamide nello studio delle correlazioni fra struttura e proprietà di composti di interesse biologico è fornita dal fatto che le amidi contengono lo stesso gruppo funzionale tipico dei polipeptidi.

Le nostre ricerche spettroscopiche hanno evidenziato come tale gruppo possa formare, per parziale protonazione, legami di idrogeno  $\text{O}-\text{H}-\text{O}$  particolarmente forti, probabilmente di tipo simmetrico con l'idrogeno centralizzato rispetto ai due atomi di ossigeno.

Per completa protonazione del gruppo si ottiene invece il derivato cloridrato, sotto forma di ione ossonio e non di ammonio, come ancora non era del tutto stabilito nella letteratura scientifica.

Le nostre ricerche vibrazionali Raman e u.r. sull'aspirina e derivati e sull'Ibuprofen e analoghi costituiscono i primi originali contributi di natura spettroscopica vibrazionale a quell'indirizzo di ricerca che opera nel senso di ricondurre l'attività biologica di un farmaco all'interpretazione del più intimo e complesso meccanismo chimico-fisico a scala molecolare.

In questo contesto si è cercato di interpretare l'azione antiinfiammatoria dei farmaci non steroideici (tipo aspirina, Ibuprofen, indometacina, ecc.), riferita nella letteratura più recente alla inibizione della sintesi delle prostaglandine secondo un meccanismo a tutt'oggi sconosciuto, ad una interazione farmaco-sito inibitore basico dell'enzima (sintetasi) che presiede alla biosintesi

delle prostaglandine, caratterizzata da un legame di idrogeno O—H—B del tipo forte.

Confermerebbe l'ipotesi il fatto che questi farmaci sono di per se stessi caratterizzati da legami di idrogeno OHO del tipo più forte del normale legame di idrogeno, e possono formare derivati caratterizzati da legami di idrogeno O—H—O particolarmente forti.

Nelle nostre indagini, che si stanno ora indirizzando su problemi più specifici, si è anche dimostrato come sia sufficiente la presenza di centri basici sull'enzima ipotizzato dotati di una opportuna forza basica affinché sia possibile la formazione di legami di idrogeno O—H—B particolarmente forti, fra la funzione acida del farmaco e l'ipotetico centro basico dell'enzima.

Tali legami di idrogeno possono trasmettere una perturbazione sul vicino sito del substrato (cioè sul sito dell'enzima che presiede alla interazione col substrato) o tramite un fenomeno di tipo allosterico, generalmente ipotizzato nella più recente letteratura, oppure tramite un effetto cooperativo che agirebbe all'interno dell'enzima e che è stato per la prima volta da noi avanzato.

A conclusione di questa Nota, riassuntiva delle più recenti attività di ricerca e programmatica di quella futura, riteniamo che l'interpretazione di molti fenomeni di interesse biologico siano da ricondurre alla natura del legame di idrogeno presente nella struttura dei sistemi considerati.

Un esempio tipico, al quale stiamo attendendo già da qualche tempo, è costituito dalle interazioni fra poliammine e componenti gli acidi nucleici.

Le nostre misure preliminari relative all'interazione poliammina-fosfato sembrano evidenziare la presenza di legami di idrogeno forti O—H—O in questi sistemi, sia direttamente fra il gruppo amminico e quello fosfato, sia indirettamente tramite catene polimeriche di molecole d'acqua.

Il ruolo biochimico delle poliammine in interazioni con gli acidi nucleici è, a nostro avviso, riconducibile alla formazione di legami di idrogeno di forza superiore al legame di idrogeno normale.

Un approfondimento della natura di tali legami, quale quello che può derivare dall'indagine vibrazionale Raman e u.r., dovrebbe stare perciò alla base dell'enunciazione di ipotesi strutturali sui meccanismi biochimici di questa e di altre classi di composti biologici.

#### BIBLIOGRAFIA

- [1] A. BERTOLUZZA e G. B. BONINO (1970) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 48, 427.
- [2] A. BERTOLUZZA, G. B. BONINO e M. A. BERTOLUZZA MORELLI (1970) « Rend. Accad. Naz. Lincei », 49, 100.
- [3] A. BERTOLUZZA, G. B. BONINO e C. FAGNANO (1971) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 50, 140.
- [4] A. BERTOLUZZA e G. B. BONINO (1974) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 56, 931.
- [5] A. BERTOLUZZA, M. A. BERTOLUZZA MORELLI e C. FAGNANO (1974) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 56, 1.
- [6] A. BERTOLUZZA, M. A. BERTOLUZZA MORELLI, C. FAGNANO e M. R. TOSI - In corso di stampa sui « Rend. Accad. Naz. Lincei ».

- [7] A. BERTOLUZZA, S. BONORA e M. A. BATTAGLIA - In corso di stampa sui « Rend. Accad. Naz. Lincei ».
- [8] G. B. BONINO (1955) - « Boll. Scient. Fac. Chim. Ind. », 13.
- [9] A. BERTOLUZZA (1961) - « Rend. Accad. Naz. XL », 12, 1-23.
- [10] A. BERTOLUZZA (1969) - *Moderne concezioni sulla struttura dell'acqua liquida e delle soluzioni acquose di soluti polari e apolari*, I Congresso « Acqua e Acque », Salsomaggiore, Novembre.
- [11] G. ZUNDEL (1969) - *Hydration and Intermolecular Interaction*, Accademic Press, New York.
- [12] T. ACKERMANN (1961) - « Z. Physik. Chem. », 27, 253.
- [13] I. PERNALL, U. MAYER, R. JANOSCHEK e G. ZUNDEL (1975) - « J. Chem. Soc., Faraday Trans., II », 71, 201.
- [14] J. O. UNDGREEN e I. OLOVSSON (1968) - « J. Chem. Phys. », 49, 1068.
- [15] S. C. LEE e R. KAPLOW (1970) - « Science », 169, 477.
- [16] D. L. WERTZ (1972) - « J. Solution Chem. », 1, 489.
- [17] M. DE PAZ, J. J. LESENTHAL e L. FRIEDMAN (1969) - « J. Chem. Phys. », 51, 3748.
- [18] M. DE PAZ, A. GUIDONI GIARDINI e L. FRIEDMAN (1970) - « J. Chem. Phys. », 52, 687.
- [19] H. TAZAKI (1940) - « J. Sci. Hiroshima Univ. Japan », 10, 37, 55.
- [20] W. H. ZACHARIASEN (1952) - « Acta Cryst. », 5, 68.
- [21] W. H. ZACHARIASEN (1963) - « Acta Cryst. », 16, 380.
- [22] W. H. ZACHARIASEN (1963) - « Acta Cryst. », 16, 385.
- [23] A. BERTOLUZZA, C. FAGNANO, M. A. MORELLI e R. TOSI (1975) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 58, 919.
- [24] A. BERTOLUZZA, C. FAGNANO, M. A. MORELLI e R. TOSI (1976) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 60, 135.
- [25] A. BERTOLUZZA, C. FAGNANO, M. A. MORELLI e R. TOSI (1976) - V Intern. Conf. on Raman Spectrosc., Freiburg, Settembre.
- [26] A. BERTOLUZZA, M. A. BERTOLUZZA MORELLI, C. FAGNANO e R. TOSI (1976) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 60, 462.