STUDIU DFT AL SPECTRELOR DE DICROISM CIRCULAR VIBRAȚIONAL PENTRU CONFORMERII ACIDULUI ASCORBIC

DFT STUDY OF VIBRATIONAL CIRCULAR DICHROISM SPECTRA FOR THE CONFORMERS OF ASCORBIC ACID

ARSENE Ion, dr., conf. univ.
UPS „Ion Creangă" din Chișinău,
Institutul de Chimie, Chișinău

ARSENE Ion, PhD, Associate Professor,
"Ion Creanga" State Pedagogical University of Chisinau,
Institute of Chemistry, Chisinau
ORCID ID: 0000-0003-3102-3507

ORCID:0000-0003-3102-3507
arsene.ion@upsc.md

PURCEL Viorica, doctorandă,
Universitatea de Stat din Moldona

PURCEL Viorica, PhD student,
State University of Moldova

ORCID: 0000-0002-2785-6277
purcel.viorica@upsc.md

CZU: 547.967 + 535.347 + 544.4.018.2
DOI: 10.46727/c.v2.19-20-09-2025.p130-138

Rezumat. În această cercetare, au fost investigate conformațiile acidului ascorbic prin calcule computaționale de tip DFT, utilizând funcționala hibridă B3LYP și setul de bază extins 6-311++G(d,p), bine consacrate în studiile de conformație și spectroscopie vibrațională. Studiul a evidențiat mai mulți conformeri stabili, iar cei situați la maximum 3,5 kcal/mol față de structura geometrică cu cea mai mică energie au fost supuși clasificării energetice pe baza energiei punctuale. Pentru acești conformeri au fost generate spectrele de dicroism circular vibrațional (VCD) la același nivel de teorie, permițând corelarea directă între stabilitatea energetică și caracteristicile spectrale. Rezultatele au arătat că cel mai stabil conformer este C12, cu o energie de stabilizare de –3,63 kcal/mol.

Cuvinte cheie: conformer, stabilitate energetică, DFT, spectru VCD.

Abstract. In this research, the conformations of ascorbic acid were investigated by DFT-type computational calculations, using the B3LYP hybrid functional and the 6-311++G(d,p) extended basis set, well established in conformation and vibrational spectroscopy studies. The conformational analysis revealed several stable conformers, and those located at a maximum of 3.5 kcal/mol from the conformer with the lowest energy were subjected to energetic classification based on point energy. Vibrational circular dichroism (VCD) spectra were generated for these conformers at the same level of theory, allowing direct correlation between energetic stability and spectral characteristics. The results showed that the most stable conformer is C12, with a stabilization energy of –3.63 kcal/mol.
Keywords: conformer, energy stability, DFT, VCD spectrum.

Introducere

Acidul ascorbic este o vitamină hidrosolubilă, antioxidantă și cofactor esențial pentru biosinteza colagenului, metabolismul carnitinei și catecolaminelor și absorbția fierului [1]. Este recunoscut pentru rolul său esențial în procese biologice și pentru proprietățile antioxidante puternice, funcționând ca donor de electroni și stabilizând radicalii liberi prin formarea speciilor anionice (ascorbat), ceea ce îi conferă importanță atât în biologie, cât și în chimia materialelor și alimentară [2]. Din punct de vedere structural, acidul ascorbic este o lactonă cu schelet de șase atomi de carbon, caracterizată printr-un sistem enediolic foarte reactiv. Această particularitate face ca molecula să prezinte mai multe conformații și tautomeri, stabilizate prin rețele de legături de hidrogen intramoleculare.

Unul dintre primele studii ab initio dedicate acidului ascorbic este prezentat în lucrarea [3], unde au fost optimizați nouă conformeri și comparate energiile lor relative. Această lucrare a pus bazele pentru înțelegerea peisajului conformațional al vitaminei C.

În lucrarea [4] se extinde analiza anterioară, realizând optimizări la mai multe niveluri de teorie ab initio. Sunt descrise în detaliu conformațiile posibile și diferențele energetice dintre acestea, oferind o imagine mai completă asupra flexibilității structurale a acidului ascorbic.

Utilizând teoria funcționalei de densitate în lucrările [5, 6] autorii demonstrează cum prin modificarea valorii unghiurilor diedrale au obținut un șir de conformații geometrice pentru acidul ascorbic, de asemenea aceștia au testat stabilitatea acestor conformeri în solvenți polari, nepolari și în vid.

Spectroscopia de dicroism circular vibrațional (VCD) reprezintă una dintre cele mai avansate metode spectroscopice pentru caracterizarea moleculelor chirale, furnizând informații precise despre configurația

absolută, conformațiile preferențiale și procesele de recunoaștere stereochimică [7, 8]. Spre deosebire de spectroscopia (IR), care oferă doar detalii legate de vibrațiile fundamentale, VCD măsoară diferența dintre absorbția luminii infraroșii circular polarizate stânga și dreapta, oferind astfel un semnal sensibil la chiralitate [9].

Totuși, interpretarea spectrelor experimentale VCD este adesea dificilă din cauza intensității reduse a semnalelor și a influenței factorilor externi, precum efectele solventului sau mobilitatea conformațională [10]. În acest context, calculele teoretice, în special cele bazate pe teoria funcționalei de densitate, devin indispensabile. Simularea spectrelor VCD permite compararea directă cu datele experimentale, oferind o metodă robustă pentru atribuirea configurației absolute și analiza reactivității moleculare [11, 12].

Studiile recente arată că o abordare integrată, care combină măsurările experimentale cu calculele DFT, oferă o înțelegere mult mai detaliată asupra structurii moleculare, facilitând validarea modelelor teoretice și permițând o corelație fiabilă între caracteristicile spectrale prezise și cele observate [13, 14]. Astfel, cercetarea de față își propune să investigheze spectrele VCD printr-o analiză combinată experimental-teoretică, contribuind la dezvoltarea și rafinarea metodologiilor utilizate în chimia structurală și stereochimie.

Scopul cercetării a fost evaluarea conformațiilor geometrice ale acidului ascorbic, cu identificarea structurilor stabile din punct de vedere energetic și analiza spectrelor VCD corespunzătoare.

Metode computaționale

Spectrele VCD au fost calculate utilizând metode de chimie computațională bazate pe teoria funcționalei de densitate (DFT). Structurile moleculare ale compușilor studiați au fost optimizate la nivelul B3LYP/6-31++G(2p, d), iar ulterior au fost calculate frecvențele vibraționale și intensitățile VCD [15, 16, 17, 18]. Calculul spectrelor a fost realizat utilizând pachetele software GAUSSIAN și instrumentul de procesare VCD pentru suprapunerea și compararea datelor teoretice cu cele experimentale.

Geometria conformerilor acidului ascorbic a fost optimizată folosind metoda DFT la nivelul teoriei B3LYP/6-311++G (2p,d) [19] cu pachetul de programe GAUSSIAN 09 [20]. Optimizarea completă a geometriei moleculare și a energiei a fost efectuate fără restricții de simetrie, utilizând în calitate de solvent apa. Conformerii aflați la cel mult 3,5 kcal/mol de conformerul cu cea mai mică energie au fost clasificați energetic pe baza calculului energiei punctuale, iar pentru aceștia s-a realizat calculul

spectrelor VCD utilizând B3LYP/6-31++G (2p,d). Efectele solventului au fost luate în considerare prin aplicarea modelului continuu polarizabil de tip conductor (CPCM) [21, 22].

Rezultate și discuții

Studiul se axează în continuare pe optimizarea metodologiei de calcul aplicate vitaminei C, prin selecția conformerilor cu relevanță energetică și analiza detaliată a acestora. Abordarea teoretică a fost ulterior utilizată pentru predicția spectrelor IR și VCD, iar rezultatele obținute au fost comparate cu date experimentale din literatura de specialitate. În Figura 1 este reprezentat profilul energetic al conformerilor analizați, considerând apa ca solvent.

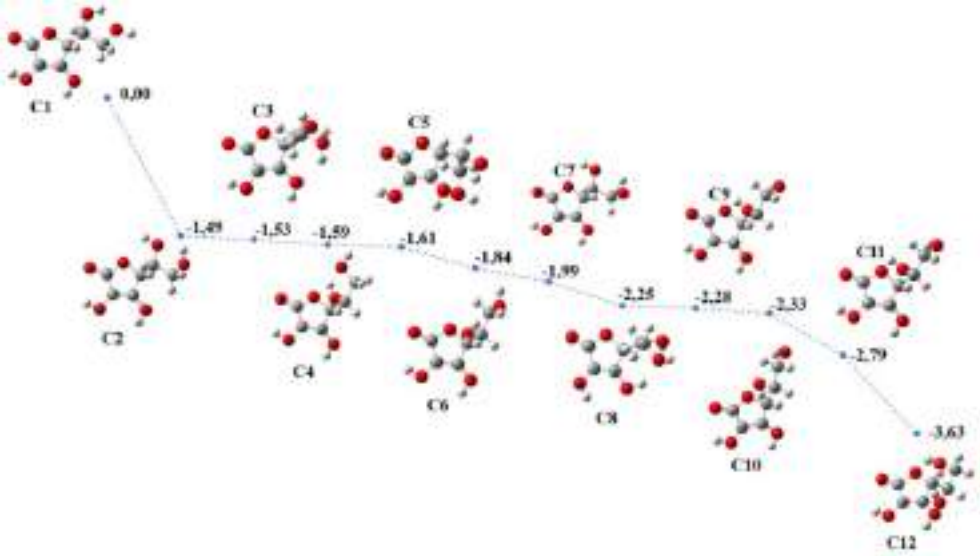


Figura 1. Stabilitatea formelor conformaționale studiate

Reieșind din curba energetică se observă o creștere treptată a stabilității conformerilor în funcție de valoarea unghiurilor diedrale care influențează poziționarea grupărilor hidroxilie atât pe inelul furanic cât și pe lanțul lateral.

Spectrele IR și VCD experimentale și cele teoretice, determinate prin calcule DFT la nivelul teoriei nivelul B3LYP/6-31++G ale vitaminei C sunt prezentate în Figurile 2, 3 și 4.

Spectru FTIR experimental (Figura 3) al vitaminei C prezintă o corespondență foarte bună cu spectrul său teoretic calculat (Figura 2), confirmând identitatea acidului L-ascorbic și prezența grupărilor funcționale caracteristice. În regiunea 3525-2916 cm^{-1}, spectrul experimental arată o

bandă foarte largă și neregulată, cu mai multe maxime locale (3525, 3410, 3314, 3271, 3029 și 2916 cm^{-1}), atribuită vibrațiilor de întindere O-H ale celor patru grupări hidroxilice și ale enediolului. Această bandă apare mai ascuțită și mai bine definită în spectrul teoretic, dar deplasată ușor către frecvențe mai înalte. Lărgirea observată experimental este cauzată de legăturile de hidrogen intermoleculare, de efectele rețelei cristaline și de eventuale urme de umiditate din probă, fenomene care nu sunt complet surprinse de calculul armonic utilizat pentru modelul teoretic.

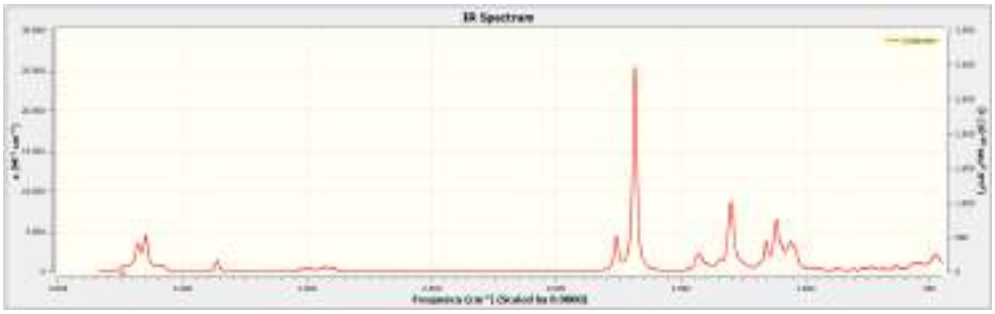


Figura 2. Spectrul FTIR teoretic al acidului ascorbic calculat la nivelul B3LYP/6-31++G

O potrivire aproape perfectă se observă pentru vibrația carbonilului lactonic, cu un maxim puternic la 1754 cm^{-1} în spectrul experimental și o valoare calculată în intervalul 1760-1740 cm^{-1} în spectrul teoretic. Această concordanță confirmă integritatea ciclului lactonic al acidului ascorbic. Ușor mai jos, între 1673 și 1620 cm^{-1}, spectrul experimental prezintă o bandă moderată care corespunde dublei legături C=C conjugate cu carbonilul și cu sistemul enediol. Intensitatea relativă a acestei benzi este mai mică în spectrul experimental decât în cel teoretic, probabil din cauza suprapunerii cu vibrațiile de deformare O-H și a efectelor de orientare cristalină.

În regiunea 1457-1231 cm^{-1} se disting mai multe benzi experimentale (1388, 1321, 1231 cm^{-1}) care coincid cu predicțiile teoretice din zona 1400-1200 cm^{-1} și se atribuie vibrațiilor de deformare O-H, C-H și C-O-H caracteristice enediolului. Aceste splitări reflectă inechivalența grupărilor hidroxilice și interacțiunile prin legături de hidrogen în rețeaua solidă.

Benzile intense de la 1120, 1076, 1026 și 998 cm^{-1} din spectrul experimental se suprapun foarte bine cu vârfurile teoretice din intervalul 1150-1000 cm^{-1}. Acestea corespund vibrațiilor de întindere C-O ale alcoolilor secundari și ale legăturilor eterice din inelul lactonic. Intensitățile relative diferă ușor între cele două spectre, ceea ce este frecvent atunci când

orientarea cristalină sau metoda de măsurare modifică interacțiunea radiației infraroșii cu moleculele.

În regiunea specifică de absorbție (<900 cm^{-1}), spectrul experimental prezintă un model complex cu benzi la 886, 819, 756, 689, 596 și 493 cm^{-1}. Aceste poziții coincid în mare parte cu predicțiile teoretice și sunt asociate deformărilor C-C și C-O, rotațiilor și vibrațiilor de tip „ring bending”. Deși mai greu de atribuit individual, reproducerea acestui tipar confirmă suplimentar structura acidului ascorbic.

Diferențele dintre cele două spectre se explică prin efectele de anharmonicitate, legături de hidrogen extinse și posibile impurități cu apă adsorbită, factori care deplasează și lărgesc benzile în proba reală. De asemenea, spectrul teoretic este obținut prin calcule armonice DFT cu un factor de scalare (≈0,98) ce nu poate corecta complet aceste efecte. Cu toate acestea, pozițiile cheie - banda carbonilului la ~1754 cm^{-1}, benzile largi O-H între 3525 și 2916 cm^{-1} și întinderile C-O din 1150-1000 cm^{-1} - apar în ambele spectre, indicând o potrivire excelentă.

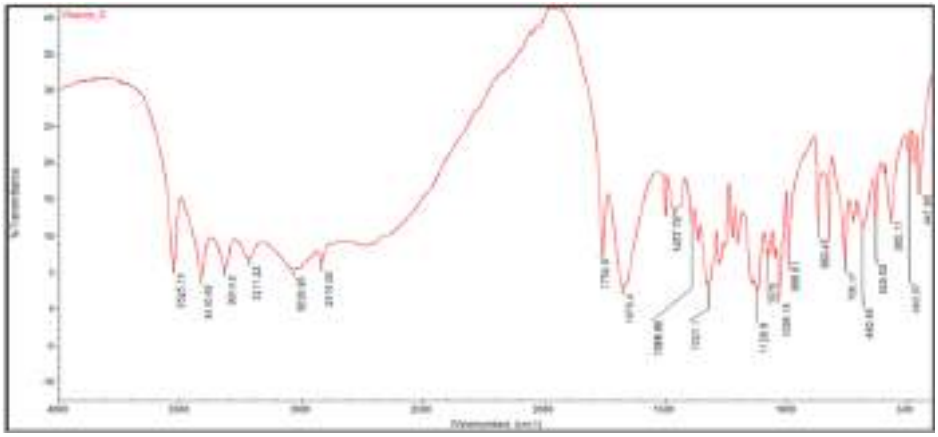


Figura 3. Spectrul FTIR experimental al acidului ascorbic descris in literatură de către Chaudhry, H., & Rangra, N. K. (2023) [23]

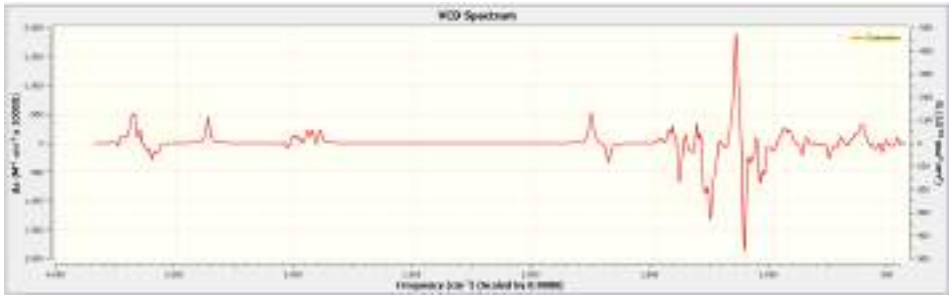


Figura 4. Spectru VCD al acidului ascorbic calculat la nivelul B3LYP/6-31++G

Spectrele VCD teoretice ale acidului L-ascorbic (Figura 4), obținute prin calcule DFT cu includerea efectelor de solvație sau cristalinitate, prezintă un set de benzi cu semn opus (pozitiv/negativ) în intervalul 1800-900 cm^{-1}, în special asociate cu vibrațiile carbonilului lactonic (~1750 cm^{-1}), deformările și întinderile C-O (~1150-1000 cm^{-1}) și cu regiunea de amprentă (<900 cm^{-1}). Aceste semnături VCD apar cu intensități relativ mici comparativ cu benzile FTIR, dar distribuția lor de semne și poziții este foarte specifică pentru configurația chirală L.

La compararea exclusivă a spectrelor calculate, s-au utilizat factorii de scalare a frecvenței propuși de literatura de specialitate. În comparația dintre spectrele calculate și cele experimentale, frecvențele au fost scalate astfel încât să fie maximizată suprapunerea combinată IR și VCD estimată.

Mulțumiri

Această lucrare a fost realizată în cadrul subprogramului de cercetare 010603 „Identificarea proceselor tehnologice de epurare, formarea calității și cantității apei și cercetări avansate în chimie computațională și ecologică”.

Concluzii

Compararea spectrelor FTIR teoretic și experimental arată o concordanță foarte bună, confirmând identitatea vitaminei C și evidențiind comportamentul său de formare a legăturilor de hidrogen în faza solidă. Această suprapunere demonstrează utilitatea modelării computaționale pentru prezicerea caracteristicilor spectrale și validarea datelor experimentale, dar și necesitatea interpretării în contextul fenomenelor intermoleculare care afectează spectrele reale. Analiza combinată FTIR-VCD oferă o validare riguroasă a structurii și stereochimiei vitaminei C. FTIR confirmă prezența grupărilor funcționale și a legăturilor de hidrogen, în timp ce VCD furnizează caracteristica spectrală chirală, necesară pentru a distinge între formele enantiomerice, demonstrând că proba analizată corespunde izomerului natural L-ascorbic. Această abordare integrată subliniază importanța metodelor spectroscopice complementare în caracterizarea detaliată a compușilor bioactivi.

Bibliografie:

1. FENECH M, AMAYA I, VALPUESTA V, BOTELLA MA. Conținutul de vitamina C din fructe: biosinteză și reglare. Front Plant Sci. 2018; 9 :2006.
2. BLASZCZAK W, BARCZAK W, MASTERNAK J, KOPCZYŃSKI P, ZHITKOVICH A, RUBIŚ B. Vitamin C as a Modulator of the Response to Cancer Therapy. Molecules. 2019 Jan 28;24(3)
3. MOHAMMAD A. AL-LAHAM AND G. A. PETERSSON AND PAUL HAAKE Ab initio study of ascorbic acid conformations, J-COMPUT-CHEM, 113-118, 1991
4. M.A MORA, F.J MELENDEZ, Conformational ab initio study of ascorbic acid, Journal of Molecular Structure: THEOCHEM, Volume 454, Issues 2-3, 1998, Pages 175-185, ISSN 0166-1280, https://doi.org/10.1016/S0166-1280(98)00288-7
5. ARSENE, Ion, PURCEL, Viorica, CERNEAVSCAIA, Iana. Studiul DFT al influenței solventului asupra stabilității conformerilor neutri ai acidului ascorbic. In: Higher education: traditions, values, perspectives, 27-28 septembrie 2024, Chișinău. pp. 297-301. ISBN (pdf) 978-9975-46-968-5.
6. ARSENE, ION, PURCEL, VIORICA. Study of molecular structures of highly stable conformers of ascorbic acid. In: Instruire prin cercetare pentru o societate prosperă, 1-2 martie 2025, Chişinău. Ediția 12, Vol. 1, pp. 165-171. ISBN 978-9975-48-246-2. DOI: 10.46727/c.v1.01-02-03-2025.p165-171.
7. NAKANISHI, K.; BEROVA, N.; WOODY, R. W. Circular Dichroism: Principles and Applications. Wiley-VCH, 2000.
8. NAFIE, L. A. Vibrational Optical Activity: Principles and Applications. Wiley, 2011
9. STEPHENS, P. J.; DEVLIN, F. J.; CHEESEMAN, J. R. Vibrational Circular Dichroism Spectroscopy. CRC Press, 2012
10. KEIDERLING, T. A. Recent Advances in Vibrational Circular Dichroism for Structural Studies of Biomolecules. Chem. Rev. 2020, 120, 3381-3419.
11. FREEDMAN, T. B.; CAO, X.; DUKOR, R. K.; NAFIE, L. A. Absolute Configuration Determination of Chiral Molecules in Solution Using Vibrational Circular Dichroism. Chirality 2003, 15, 743-758.
12. STEPHENS, P. J.; MCCANN, D. M. Determination of the Absolute Configuration of Natural Products Using Density Functional Theory Calculations of Vibrational Circular Dichroism. J. Nat. Prod. 2005, 68, 1404-1414.
13. TANIGUCHI, T.; MONDE, K. Application of VCD Spectroscopy for the Stereochemical Analysis of Natural Products. Nat. Prod. Rep. 2012, 29, 1009-1031.

14. POLAVARAPU, P. L. Chiroptical Spectroscopy: Fundamentals and Applications. CRC Press, 2016
15. FRISCH, M. J.; et al. Gaussian 16, Revision C.01. Gaussian Inc., Wallingford CT, 2019.
16. MERRICK, J. P.; MORAN, D.; RADOM, L. An Evaluation of Harmonic Vibrational Frequency Scale Factors. J. Phys. Chem. A 2007, 111, 11683-11700.
17. COUSSAN, S.; et al. Solvent Effects on VCD: Explicit vs. Implicit Solvation Models. Phys. Chem. Chem. Phys. 2019, 21, 14795-14805.
18. JÄHNIGEN, S.; ET AL. Vibrational Circular Dichroism of Chiral Crystals: A Benchmark Study. Angew. Chem. Int. Ed. 2023, 62, e202303595.
19. A. BECKE, Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. In: J. Chem. Phys. 1993, 98, 5648-5652. doi: 10.1063/1.464913
20. P. STEPHENS, et al. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. J. Phys. Chem. 1994, 98, 11623-11627. doi: 10.1021/j100096a001
21. BARONE, V.; COSSI, M. Quantum Calculation of Molecular Energies and Energy Gradients in Solution by a Conductor Solvent Model. J. Phys. Chem. A 1998, 102, 1995-2001.
22. COSSI, M.; REGA, N.; SCALMANI, G.; BARONE, V. Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model. J. Comput. Chem. 2003, 24, 669-681.
23. CHAUDHRY, H., & RANGRA, N. K. Development and validation of a stability indicating green analytical method for the simultaneous estimation of L-glutathione, N-acetyl L-cysteine and Vitamin C in marketed formulation using UV-visible spectroscopy. Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 2023, 9(1). https://doi.org/10.1186/s43094-023-00523