



a cura di Silvia Cauteruccio e Monica Civera

Dipartimento di Chimica
Università di Milano
silvia.cauteruccio@unimi.it
monica.civera@unimi.it

Metodi non convenzionali per la produzione di ammoniaca

La fissazione dell'azoto e la sua conversione in ammoniaca e ioni ammonio è un processo fondamentale in natura, che permette di fornire azoto a tutti quegli organismi viventi che sono in grado di utilizzarlo solamente come azoto combinato. A livello biologico è un processo che avviene a temperatura e pressione ambiente, ad opera di particolari batteri (i diazotrofi), che utilizzano l'enzima nitrogenasi in condizioni anaerobiche. A livello industriale, la produzione di NH_3 è affidata principalmente al processo Haber-Bosch (HB), che consiste nella reazione tra idrogeno e azoto gassosi ad elevate temperature (fino a 500 °C) e pressioni (fino a 200 bar) in presenza di catalizzatori a base di ferro. Al fine di condurre il processo HB in condizioni più moderate, negli ultimi anni sono state prese in considerazione metodologie sintetiche alternative, che sfruttano, ad esempio, la fotocatalisi, la sintesi elettrochimica e meccanochimica. Un gruppo del Max-Planck-Institut ha sviluppato un sistema meccanochimico che è in grado di produrre ammoniaca a temperatura ambiente sia in *batch* che in continuo fino a concentrazioni dello 0,26 vol.% per oltre 60 ore, a partire dai suoi elementi ed in presenza di una miscela di ferro e cesio metallico (2,2 mol% Cs su 2,0 g di catalizzatore), a valori di pressione compresi tra 20 e 50 bar [F. Schutz, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2021, **60**, 26385]. La possibilità di condurre questa reazione a temperatura ambiente è sicuramente un risultato molto interessante, sebbene gli stessi autori non escludano la possibilità di un riscaldamento locale durante l'urto delle sfere di collisione. Inoltre, il processo può essere condotto anche a pressione ambiente sebbene con una significativa diminuzione della concentrazione di NH_3 prodotta. Due esperimenti di controllo hanno permesso, infine, di escludere la possibilità che la formazione di NH_3 derivi da eventuali impurezze di azoto presenti nell'apparecchiatura; infatti, la reazione in *batch* usando $^{15}\text{N}_2$ forniva esclusivamente $^{15}\text{NH}_3$, mentre un esperimento in flusso continuo condotto in assenza di N_2 gassoso produceva quantità di NH_3 trascurabili (<10 ppm).

Con l'obiettivo di produrre NH_3 mediante processi più ecosostenibili, alternativamente al processo HB sono state studiate vie sintetiche differenti, come, ad esempio, la riduzione elettrocatalitica di nitrati ad ammoniaca (*electrocatalytic nitrate reduction reaction*, NITRR), usando acqua come fonte di idrogeno. Questo metodo risulta particolarmente interessante a livello ambientale, perché evita l'impiego di H_2 gassoso con elevato grado di purezza, la cui produzione mediante reazione di *reforming* a partire da combustibili fossili produce notevoli quantità di CO_2 nell'atmosfera. Inoltre, il nitrato quale materiale di partenza è un derivato il cui consumo risponde alle problematiche legate a contaminazione e accumulo di nitrati nelle acque. Nonostante le potenzialità sopramenzionate, NITRR presenta ancora forti limitazioni in termini di efficienza e selettività nella formazione di NH_3 , in quanto all'intrinseca difficoltà di ridurre NO_3^- a NH_3 si accompagnano reazioni competitive, come la formazione di H_2 (*hydrogen evolution reaction*, HER). Tra i diversi tentativi di ottimizzare questo processo, è stata sviluppata una classe di elettrocatalizzatori a base di ossidi di niobio in grado di effettuare l'elettroriduzione dei nitrati ad ammoniaca, con un'efficienza di Faraday del 94,5% e una velocità di formazione di NH_3 di 55mg/(h x mg_{cat}) [B. Han, *Green Chem.*, 2022, DOI: [10.1039/d1gc04483d](https://doi.org/10.1039/d1gc04483d)].

Screening virtuale: un esempio di integrazione tra machine learning ed ensemble docking

Il docking è una delle tecniche computazionali utilizzate nel campo del *virtual screening* per identificare molecole capaci di legarsi ad una proteina. Data la struttura del target, un classico *tool* di docking determina sia conformazione o posa del composto all'interno di una tasca di legame, sia il valore dell'interazione con la proteina o *score*, ovvero una stima dell'energia libera di legame. Esistono diverse tipologie di *scoring functions*: quelle classiche utilizzano una relazione, solitamente lineare, tra alcune caratteristiche dell'interazione ligando-proteina, quelle di ultima generazione basate sui metodi di *machine learning*, utilizzano una





relazione non lineare [H. Li, *WIREs Comput. Mol. Sci.*, 2020, DOI: [10.1002/wcms.1465](https://doi.org/10.1002/wcms.1465)].

Per trovare un compromesso tra velocità e accuratezza, spesso nei calcoli di docking la conformazione della proteina è fissa e solo il ligando è libero di muoversi ed adattarsi al sito di legame. La flessibilità della proteina può però essere integrata nel calcolo con diversi metodi, nel caso dell'*ensemble docking* considerando più conformazioni della proteina, ciascuna trattata come un corpo rigido. Di conseguenza, per ogni ligando si ottengono più valori di *scores*, uno per ogni struttura della proteina. Tutti gli *scores* solitamente vengono condensati in un unico valore con opportune tecniche di *consensus*. In questo lavoro [J. Ricci-Lopez, *Chem. Inf. Model.*, 2021, DOI: [10.1021/acs.jcim.1c00511](https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00511)], gli autori analizzano gli *scores* ottenuti dall'*ensemble docking* con due algoritmi di classificazione binaria di *machine learning* (*logistic regression* e *gradient boosting trees*). I due metodi sono stati allenati utilizzando un *dataset* di molecole attive e *decoys* e il ranking dei composti è stato fatto considerando la probabilità di ciascun composto di essere attivo.

Come *case studies* sono stati selezionati quattro diversi target, aventi siti di legame differenti per forma e caratteristiche chimico-fisiche. Le conformazioni delle proteine sono state estratte dal *Protein Data Bank*, un *database* di strutture sperimentali, mentre i *datasets* di molecole con attività biologica, da tre *databases* di ligandi, DUD, DEKOIS e CSAR. I modelli per il *virtual screening* sono stati generati utilizzando come input la matrice degli *scores* dei calcoli di *ensemble docking*, il cui elemento x_{ij} rappresenta il valore migliore di *score* dell' i -esimo composto nella j -esima conformazione della proteina, e come output la definizione di composto attivo/inattivo (Fig. 1).

Il confronto dei metodi *machine learning* con tre diverse strategie di *consensus* classico, ovvero lo *score* più basso (csMIN), lo *score* medio (csAVG), e lo *score* calcolato con la media geometrica (csGEO), ha evidenziato una prestazione migliore dei metodi di *machine learning*.

Inoltre, aumentando il numero di conformazioni della proteina, contrariamente a quanto osservato per gli altri approcci, si osserva un miglioramento dei risultati.

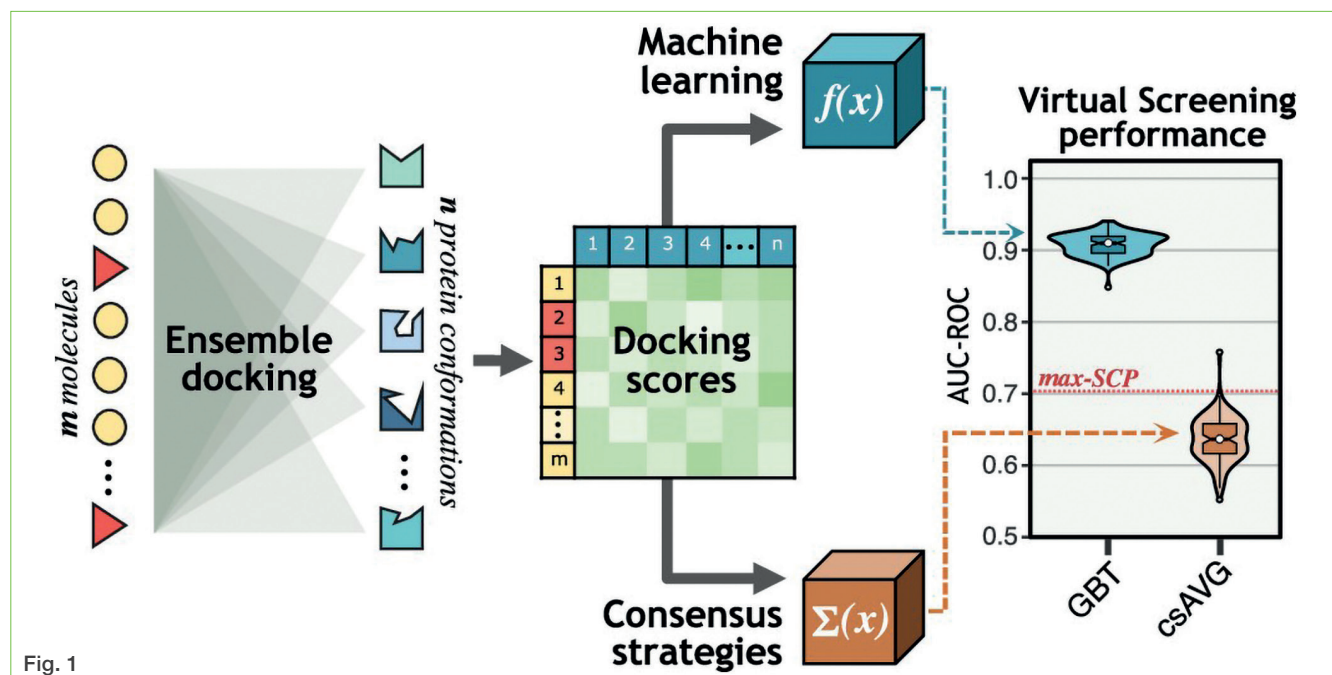


Fig. 1