

Lunedì 18/7/22

**9.00-10.45 Dinamica degli spin: quanto meccanica e dinamica di uno spin isolato**

**Giuseppe Pileio, School of Chemistry, University of Southampton, UK**

Nella prima parte di questa lezione, tratteremo la descrizione quantistica di uno spin nucleare isolato con spin 1/2. La discussione introdurrà l'Hamiltoniana di Zeeman, la frequenza di Larmor e gli operatori momento angolare di spin nucleare. Nella seconda parte, discuteremo la dinamica di uno spin nucleare isolato. Anche se questo ultimo punto possa sembrare un esercizio puramente teorico, il trattamento ci permetterà di gettare le basi per trattare la dinamica di insiemi realistici di spin nucleari, argomento della lezione seguente.

**11.15-13.00 Dinamica degli spin: dinamica di un insieme di spins**

**Giuseppe Pileio, School of Chemistry, University of Southampton, UK**

Nella prima metà di questa lezione, discuteremo i concetti fondamentali per lo studio della dinamica di un insieme di sistemi di spin identici (spin ensemble) introducendo il concetto di operatore densità e un'equazione che ne descrive l'evoluzione temporale. Nella seconda parte, discuteremo la dinamica di tale insieme di spin.

**14.30-16.15 Analisi di Sequenze di Impulsi**

**E. Ravera, Dipartimento di Chimica "Ugo Schiff" e CERM, Università di Firenze**

In questa lezione verranno applicati i concetti introdotti nelle due lezioni precedenti all'analisi mediante operatori prodotto dell'evoluzione della magnetizzazione durante sequenze di impulsi omo- ed eteronucleari. Verranno discusse sequenze di complessità crescente, da impulso-acquisizione (zero-go) a esperimenti bidimensionali omonucleari (COSY) ed eteronucleari (HSQC).

**16.45-17.45 Comprendere una sequenza di impulsi**

**D.O. Cicero, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università di Roma "Tor Vergata"**

Le sequenze di impulsi, che costituiscono il programma che definisce un esperimento NMR, sono costruite a partire da un numero limitato di elementi semplici o "building-blocks". Riconoscere questi elementi può aiutare a comprendere come funziona una sequenza di impulsi e semplifica molto nel caso di voler affrontare un'analisi dettagliato. Le nuove sequenze di impulsi si disegnano abitualmente unendo questi building-block.

In questa lezione analizzeremo soltanto gli elementi che si usano nelle sequenze per l'NMR in stato liquido per sistemi accoppiati scalarmente. Considereremo un sistema formato da due spin 1/2 accoppiati. Inizieremo con un veloce ripasso del metodo degli operatori prodotto, che utilizzeremo per descrivere ogni building-block, e cercheremo di coprire quanti più building-blocks sia possibile. Finalmente, faremo due esempi di sequenze di complessità media e alta e analizzeremo come funzionano.

Martedì 19/7/22

**9-10.45 Applicazioni allo studio di piccole molecole in soluzione**

**A. Randazzo, Dipartimento di Farmacia, Università di Napoli**

La lezione è organizzata in modo da applicare concetti basilari della risonanza magnetica protonica e del carbonio-13 a problemi pratici. In particolare, verranno analizzate le difficoltà che si incontrano durante l'interpretazione di spettri NMR di piccole molecole organiche. Ad esempio, verranno esaminati il chemical shift, l'intensità e lo splitting di segnali NMR, prestando attenzione agli effetti dei nuclei magneticamente non equivalenti. Verranno anche commentati i più comuni esperimenti NMR bidimensionali e le strategie di delucidazione strutturale.

**11.15-13.00 Studi dinamici (moti molecolari) in soluzione**

**D.O. Cicero, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università di Roma "Tor Vergata"**

In questa lezione affronteremo il collegamento tra rilassamento del segnale NMR e la presenza di moti molecolari in soluzione. Si parte dall'analisi della natura del rilassamento, i vari meccanismi che contribuiscono ad esso, e le funzioni che si sono sviluppate per quantificare il loro comportamento: funzioni di autocorrelazione, la densità spettrale e i tempi di correlazione. Analizzeremo i contributi della precessione di spin e del moto molecolare su queste funzioni, e l'effetto che le fluttuazioni di campo che ne conseguono ha sui meccanismi di rilassamento. Definiremo la velocità delle transizioni che causano il rilassamento e come si correlano con le funzioni prima definite. Finalmente, rivolgeremo l'attenzione ai sistemi eteronucleari, in particolare il sistema H-N, che risulta il più utilizzato per studiare i moti molecolari di proteine in soluzione, presentando qualche esempio di studio di rilassamento su sistemi di interesse biologico.

#### **14.30-16.15 Misure di diffusione in soluzione**

**F. Castiglione, Dipartimento di Chimica, Materiali e Ingegneria Chimica, Politecnico di Milano**

Questa lezione ha l'obiettivo di fornire i concetti di base relativi all'uso dei metodi di risonanza magnetica nucleare ad alta risoluzione (HR) e in rotazione all'angolo magico (HR-MAS), per lo studio della diffusione in soluzioni fisicamente omogenee (isotropiche) e in sistemi anisotropi (gels). Tutte le moderne metodologie utilizzate per misure di diffusione si basano sull'applicazione di gradienti esterni di campo magnetico, utilizzati per codificare la posizione fisica di una molecola o di complessi in soluzione e caratterizzare così la loro diffusione lungo la direzione del gradiente di campo applicato. La lezione si articola in quattro parti: 1) Introduzione dei gradienti di campo magnetico, descrizione dettagliata delle sequenze d'impulsi spin-echo e loro successivi sviluppi; 2) acquisizione degli spettri e analisi matematica dei dati; 3) confronto alta risoluzione *versus* HR-MAS; 4) applicazioni delle metodologie descritte allo studio di soluzioni omogenee, miscele e fasi anisotrope.

#### **16.45-17.45 Metodi FAST per l'acquisizione di spettri NMR**

**F. Benevelli, Bruker Italia**

Durante la lezione si presenteranno alcuni dei principali metodi di acquisizione veloce sviluppati negli ultimi anni. In particolare si discuteranno strategie basate sull'uso dei gradienti, sull'ottimizzazione del relaxation delay, sull'applicazione di impulsi selettivi, su alternative alla trasformata di Fourier nelle dimensioni indirette e infine sui esperimenti con multireceiver.

**Mercoledì 20/7/22**

#### **9-10.45 Riepilogo dei concetti di base diffusion - MRI - MRS**

**A. Fringuello Mingo, Bracco Imaging s.p.a.**

La tecnica di Risonanza Magnetica per Immagini (RMI o MRI) viene comunemente utilizzata in clinica per produrre immagini ad alta definizione del corpo umano. La scoperta e la successiva introduzione nella pratica clinica dell'imaging mediante Risonanza Magnetica ha profondamente modificato ed ampliato la diagnostica per immagini. L'MRI rappresenta infatti una metodica non invasiva e sostanzialmente sicura per il paziente poiché utilizza campi magnetici, quindi completamente priva di radiazioni ionizzanti, ed inoltre si basa sul principio fisico di Risonanza Magnetica Nucleare (RMN), ossia sulle proprietà fisiche dell'atomo di idrogeno sottoposto a campi magnetici ed impulsi a radiofrequenza. Nella lezione si affronteranno le seguenti tematiche: localizzazione spaziale (i.e. frequency e phase encoding), i principi dello spazio k, la slice selection, imaging 3D, la diffusione ed alcuni principi introduttivi alle tecniche di risonanza magnetica e di spettroscopia localizzata.

#### **11.15-13 Agenti di contrasto**

**S. Geninatti, Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Centro Imaging Molecolare, Università di Torino**

Gli agenti di contrasto (CA) in MRI sono utilizzati per migliorare la distinzione delle strutture interne del corpo umano e, in molti casi, per ottenere una corretta diagnosi della patologia presente. I CA attualmente usati in clinica sono complessi poliamminocarbosilici dello ione Gd(III), metallo paramagnetico in grado di ridurre significativamente il tempo di rilassamento delle molecole d'acqua nei tessuti dei compartimenti dove si distribuisce. Esistono poi diverse altre tipologie di agenti di contrasto contenenti metalli paramagnetici come Fe, Mn la cui sperimentazione è al momento a livello preclinico. Infine, "metal free" CA sono oggetto di grande attenzione a causa della potenziale tossicità dei metalli stessi, soprattutto se somministrati a dosi elevate. Tra questi il meccanismo d'azione degli agenti CEST (chemical exchange saturation transfer) si basa sull'irraggiamento selettivo di particolari protoni in scambio con l'acqua di bulk. Questi protoni sono presenti su biomolecole contenenti gruppi -OH come il glucosio o possono essere semplici protoni amidici proteici presenti sul tessuto. Nella lezione verranno descritti i diversi meccanismi di azione delle diverse tipologie di CA e verranno mostrati esempi di applicazioni sia cliniche che pre-cliniche che mettono in evidenza la potenzialità dell'utilizzo di questi composti.

#### **14.30-16.15 Riepilogo dei concetti di base per NMR allo stato solido**

**S. Borsacchi, Istituto di Chimica dei Composti OrganoMetallici del CNR (ICCOM-CNR), Pisa**

Questa lezione, che apre lo spazio dedicato alla spettroscopia NMR allo Stato Solido, sarà dedicata al riepilogo dei principali elementi teorici e sperimentali caratteristici di questo specifico settore, trattati dettagliatamente nell'edizione di base della scuola. Lo scopo è quello di permettere agli studenti una fruizione ottimale delle lezioni di NMR a Stato Solido più avanzate che seguiranno. Attraverso un iniziale confronto con la spettroscopia NMR allo stato liquido, verranno introdotte le principali interazioni di spin nucleare, il concetto di anisotropia ed elementi teorici e pratici di NMR in bassa ed alta risoluzione.

#### **16.45-17.45 Applicazioni FAST MAS dell’NMR allo stato solido**

**F. Rossi, Dipartimento di Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università di Torino (Jeol)**

Durante la lezione verranno illustrati gli aspetti principali dell’NMR allo stato solido in regime di FAST MAS ( $\geq 40$  kHz). Dopo una breve introduzione teorica sulla tecnica e sul suo significativo guadagno in termini di risoluzione e sensibilità, verranno presentati e descritti in dettaglio i fondamentali esperimenti 2D attualmente utilizzati nell’NMR allo stato solido. Le spiegazioni teoriche saranno sempre accompagnate da rispettivi esempi su sistemi reali, per dimostrare l’utilità di tali esperimenti nell’ottenimento di importanti informazioni strutturali. Come argomento finale, verrà presentato un caso di studio completo su un particolare sistema farmaceutico che vedrà applicati tutti gli esperimenti descritti nel corso della lezione. Su tale sistema, verrà illustrata anche una particolare sequenza “personalizzata” che permette la misura della distanza tra N e H, al fine di ottenere una caratterizzazione davvero dettagliata del campione.

**Giovedì 21/7/22**

#### **9-10.45 Applicazioni allo studio di piccole molecole allo stato solido**

**R. Gobetto, Dipartimento di Chimica e NIS Centre, Università di Torino**

Durante la lezione mediante esempi ed applicazioni verranno trattati i seguenti argomenti: informazioni che si possono ottenere dall’NMR stato solido in alta risoluzione a livello locale sulla cella unitaria, sul disordine statico e dinamico, sulla reattività allo stato solido. Informazioni strutturali ottenibili mediante utilizzo complementare di tecniche diffrattometriche applicate su polveri, NMR allo stato solido e calcoli. Applicazioni SSNMR nel campo del polimorfismo. Interazioni intra ed intermolecolari (legame idrogeno, legame alogeno) mediante un approccio multinucleare.

#### **11.15-13 Studi dinamici allo stato solido**

**M. Geppi, Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale, Università di Pisa**

In questa lezione saranno presentate le basi teoriche, le tecniche sperimentali e di analisi dei dati necessarie per ottenere informazioni sulla dinamica molecolare in fasi solide da esperimenti NMR a stato solido.

Inizialmente saranno discusse le tipologie di moti in grado di influenzare i parametri nucleari misurabili mediante NMR, con particolare attenzione alle geometrie dei moti ed ai loro tempi caratteristici, ed alla loro classificazione nei regimi lento, intermedio e veloce.

Saranno poi mostrati i diversi possibili approcci sperimentali per lo studio dei moti molecolari: analisi della forma di riga in spettri ad alta risoluzione e statici per investigare l'effetto dei moti molecolari sulle varie interazioni nucleari (schermo chimico, dipolare e quadrupolare), studio dei processi di scambio mediante tecniche 1D e 2D, analisi dei vari tipi di tempi di rilassamento ( $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_{1\rho}$ ).

I vari casi saranno discussi con l'ausilio di esempi di applicazione a varie categorie di sistemi (molecole organiche a basso-medio peso molecolare, polimeri, modelli di membrane, zeoliti, ecc.) e introducendo alcuni cenni degli aspetti teorici necessari a comprendere: il modo in cui possono essere modellizzati i moti molecolari, il funzionamento degli esperimenti, la dipendenza delle osservabili sperimentali dai moti e le modalità di trattamento dei dati sperimentali per ottenere informazioni dinamiche.

#### **14.30-16.15 Stato Solido: nuclei quadrupolari**

**M.R. Chierotti, Dipartimento di Chimica, Università di Torino**

La lezione tratterà i metodi per l’acquisizione di spettri di nuclei quadrupolari allo stato solido. Un’introduzione sull’Hamiltoniano quadrupolare permetterà di capire quali sono i parametri che influenzano la larghezza di riga e la loro dipendenza dal numero di spin, dall’orientazione del tensore e dalla simmetria del sito. Di seguito verranno illustrati gli effetti del primo e secondo ordine sullo spettro e le principali tecniche di acquisizione: dalla quadrupolar echo all’eccitazione selettiva della transizione centrale per rimuovere gli effetti del primo ordine e dalla spin echo alle tecniche più complesse come DOR, DAS, MQMAS e QCPMG per rimuovere gli effetti del secondo ordine.

**Venerdì 22/7/22**

#### **9-10.45 Iperpolarizzazione: tecniche e applicazioni**

**F. Reineri, Dip. Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Università di Torino**

La scarsa sensibilità è uno dei principali limiti delle tecniche basate sulla RM (NMR e MRI). Da questo derivano scarsa rilevabilità di specie a bassa concentrazione e lunghi tempi di acquisizione. In questa lezione verranno descritte le principali tecniche di iperpolarizzazione: Dynamic Nuclear Polarization (DNP), Spin Exchange Optical Pumping (SEOP), ParaHydrogen Induced Polarization (PHIP) e Ultra Low Temperature (ULT). Per ognuna, verranno introdotti i principi fisici alla base del funzionamento, le applicazioni principali e le potenzialità in ambiti diversi, dalla diagnostica, all’analisi di miscele complesse e alla caratterizzazione di molecole sia in soluzione che allo stato solido.

### **11.15-13 NMR di biomacromolecole**

***P. Turano, CERM e Dipartimento di Chimica, Università di Firenze***

In questa lezione saranno illustrati i principali approcci di NMR eteronucleare utilizzabili per ottenere informazioni sulla struttura tridimensionale delle proteine e sulle loro interazioni. Verrà fatta un'analisi critica dei protocolli sperimentali classici della biologia strutturale e degli schemi di arricchimento isotopico dei campioni in funzione della dimensione del sistema in esame.

Sarà inoltre affrontato il tema dell'uso dell'NMR come tecnica di crescente importanza per il fingerprinting di higher order structures (HOS) di prodotti terapeutici a base di proteine, quali gli anticorpi monoclonali. HOS è un attributo di qualità critico che deve essere monitorato per garantire la sicurezza e l'efficacia dei prodotti farmaceutici ma che necessariamente deve essere misurato su campioni in abbondanza naturale.