

Nuno Nobre

IMAGIOLOGIA METABÓLICA: SIMULAÇÃO DAS PROPRIEDADES DE FLUORESCÊNCIA DAS COENZIMAS NADH E FAD

Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra para cumprimento dos
requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Física

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



FCTUC FACULDADE DE CIÊNCIAS
E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Nuno Miguel Machado Nobre

Imagiologia metabólica: simulação das propriedades de fluorescência das coenzimas NADH e FAD

*Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra para
cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do
grau de Mestre em Engenharia Física*

Orientadores:

Prof. Fernando Manuel da Silva Nogueira

CFisUC, Department of Physics, University of Coimbra, Portugal

Prof. António Miguel Lino Santos Morgado

IBILI, Faculty of Medicine, University of Coimbra, Portugal

Coimbra, 2016

Este trabalho foi desenvolvido em colaboração com:

Centro de Física da Universidade de Coimbra



Esta cópia da tese é fornecida na condição de que quem a consulta reconhece que os direitos de autor são pertença do autor da tese e que nenhuma citação ou informação obtida a partir dela pode ser publicada sem a referência apropriada.

This copy of the thesis has been supplied on condition that anyone who consults it is understood to recognize that its copyright rests with its author and that no quotation from the thesis and no information derived from it may be published without proper acknowledgement.

Agradecimentos

As ideias e as convicções que temos são seguramente influenciadas pelas pessoas que fazem parte da nossa vida. O trabalho que realizamos diariamente, como manifestação natural dos conceitos e noções que temos, é também, por esse motivo, fruto colectivo das experiências que várias pessoas vão partilhando connosco. A tarefa de agradecer a todas elas seria sempre interminável e a tarefa de agradecer a apenas algumas será sempre injusta. Os parágrafos seguintes têm assim a inglória missão de mencionar aqueles que, ao longo do último ano, marcaram de forma mais preponderante o presente trabalho.

Em primeiro lugar, quero agradecer ao Professor Miguel pela ajuda importante na compreensão das motivações e relevância clínica que estudos deste tipo podem ter no futuro. Agradeço ainda a possibilidade que me foi dada de trabalhar num tema que tão exemplarmente funde as áreas da física teórica e da instrumentação médica, uma conexão tantas vezes esquecida, e que tão bons frutos já deu no passado. Ao Bruce, for the insightful chemist's perspective over these topics and, of course, for the help provided in making the phosphate groups of my coenzymes tetrahedral! Organic chemistry is an art which few have the knowledge to dominate, but you certainly do. E, claro, ao professor Fernando, a pessoa com mais vocação para ensinar que alguma vez conheci. Desde as questões mais elementares, àquelas que algumas vezes ficaram sem resposta, sempre se mostrou disponível para discutir ideias e resolver os problemas mais exóticos de que a minha mente se lembrava. Não posso ainda deixar de agradecer a paciência demonstrada para esperar por mim durante os 10 km mais lentos que alguma vez correu. Para mim, foram os primeiros 10 km que corri na vida! Obrigado pela motivação!

Quero deixar também uma palavra aos meus amigos, desde aqueles que conheci no meu primeiro dia na faculdade até àqueles que conheci durante este ano lectivo. Em especial, à Catarina que sempre se preocupou com o estado do meu trabalho e ao Pedro por tão frutuosas discussões, desde aquelas em que tentámos contar os elementos de conjuntos não-numeráveis até aquelas em que tentámos esmiuçar a filosofia de Platão até ao mais ínfimo pormenor.

Por último, quero referir aqueles para os quais não há palavras para descrever toda a paciência, amor e apoio que me dão diariamente. Ao meu pai, à minha mãe e à minha irmã por me tirarem de casa e obrigarem a descontraír nas horas de maior aflicção. E à Bia, por dedicar parte do seu tempo à edição de figuras e verificação ortográfica de todo o texto, e por me estimar, mimar e acreditar incondicionalmente em mim.

Resumo

As alterações nas vias metabólicas são um importante indicador de alterações no estado fisiológico, patológico e de diferenciação da célula ou tecido. Para além disso, a imagiologia de fluorescência das coenzimas NADH e FAD, quer se tratem de medidas de intensidade ou de tempo de vida, é uma ferramenta extremamente útil para sondar o metabolismo celular e tem sido testada clinicamente na determinação de tecidos suspeitos durante operações cirúrgicas e na detecção precoce de doenças como o cancro. Usa-se a Teoria dos Funcionais da Densidade Dependente do Tempo para construir um método que, apenas recorrendo à informação contida nos espectros de absorção, permita verificar se se pode concluir acerca das concentrações relativas da fracção ligada e não ligada das coenzimas, um importante indicador bioquímico, a partir da análise dos seus tempos de vida de fluorescência.

Abstract

Change in metabolic pathways is an important signal of modifications in the physiological, pathological and differentiation state of the cell or tissue. Furthermore, fluorescence imaging of coenzymes NADH and FAD, whether by intensity or lifetime measurements, is a notable tool to probe cell metabolism and is being clinically tested for pre-operative tissue diagnostics and early cancer detection. Here, a Time Dependent Density Functional Theory method, solely based on absorption spectra, is proposed to verify the hypothesis that the coenzymes' fluorescence lifetimes suffice to extract information regarding the relative concentrations of their free and bound forms.

Lista de Tabelas

2.1	Conversão entre unidades atômicas e unidades SI.	14
3.1	Energias das orbitais de valência do fósforo	47
3.2	Energia de ionização do fósforo (AE e PP)	48
3.3	Parâmetros de simulação do Octopus	51
3.4	Constantes necessárias ao cálculo dos tempos de vida	54
3.5	Tempos de vida obtidos	54

Lista de Figuras

1.1	Metabolismo celular: uma visão simplificada	4
1.2	A glicólise e o ciclo de Krebs	6
1.3	Estrutura de uma mitocôndria	7
1.4	Cadeia transportadora de electrões	8
1.5	O efeito Warburg	10
2.1	Sistema de coordenadas para uma molécula.	14
2.2	Representação esquemática do teorema de Hohenberg-Kohn.	22
2.3	Representação esquemática do método de Kohn-Sham.	26
2.4	Representação esquemática do teorema de Runge-Gross.	34
2.5	Representação esquemática do método de Kohn-Sham dependente do tempo.	36
2.6	Sistema de bandas de uma molécula.	38
3.1	Estrutura da coenzima NADH	41
3.2	Estrutura da coenzima FAD	42
3.3	A nicotinamida no NAD^+	43
3.4	Comparação dos espectros absorção da adenina, NAD^+ e NADH	43
3.5	Diferentes etapas da simulação.	44
3.6	Densidade de probabilidade radial para as orbitais de valência do fósforo (AE)	45
3.7	Densidade de probabilidade radial para as orbitais de valência do fósforo (PP)	46
3.8	Pseudopotencial para o fósforo	47
3.9	Diferença entre as derivadas logarítmicas das verdadeiras e das pseudo-funções de onda	48
3.10	Espectro de absorção calculado para a coenzima NADH	52
3.11	Espectro de absorção calculado para a coenzima FAD	53
3.12	Estrutura do Indol	53
3.13	Espectro de absorção calculado para o Indol	55
A.1	Densidade de probabilidade radial para as orbitais 3d do fósforo (AE)	65
A.2	Densidade de probabilidade radial para as orbitais 3d do fósforo (PP)	66

Conteúdo

Agradecimentos	vii
Resumo	ix
Abstract	xi
1 Introdução	1
1.1 Definição do problema	1
1.2 Sinopse	2
1.3 Do metabolismo celular à fluorescência das moléculas NADH e FAD	3
1.3.1 O que é o metabolismo celular?	3
1.3.2 Respiração celular aeróbia	5
1.3.3 Fluorescência das moléculas NADH e FAD como assinaturas do me- tabolismo celular	8
2 O problema de muitos electrões	13
2.1 A aproximação de Born-Oppenheimer	13
2.2 O método de Hartree-Fock	16
2.2.1 Motivação e determinantes de Slater	16
2.2.2 As equações de Hartree-Fock	18
2.3 Teoria dos Funcionais da Densidade	21
2.3.1 Os Teoremas de Hohenberg-Kohn	21
2.3.2 As equações de Kohn-Sham	23
2.3.3 Energia de troca e correlação	26
2.4 Pseudopotenciais	27
2.4.1 O conceito de pseudopotencial	27
2.4.2 Pseudopotenciais <i>ab-initio</i> : o potencial de Troullier-Martins	29
2.4.3 Transferibilidade de um pseudopotencial	31
2.5 Teoria dos Funcionais da Densidade Dependente do Tempo	32
2.5.1 O Teorema de Runge-Gross	32
2.5.2 As equações de Kohn-Sham dependentes do tempo	34
2.5.3 Espectros de absorção	36
2.6 Tempos de vida de fluorescência	37

3 Simulando as coenzimas NADH e FAD	41
3.1 Visão geral da simulação	41
3.2 O pseudopotencial do fósforo	45
3.3 Optimizações de geometria	48
3.4 Os espectros de absorção das coenzimas	50
4 Conclusões	57
Bibliografia	59
A Funções de onda 3d do fósforo	65

Capítulo 1

Introdução

1.1 Definição do problema

A monitorização dos processos metabólicos em células e tecidos vivos é, necessariamente, um pré-requisito para a compreensão detalhada da sua fisiologia e das modificações que sofrem em caso de doença. De facto, tanto processos fisiológicos que correspondem ao normal funcionamento do organismo, de que são exemplo o envelhecimento, a gravidez ou a diferenciação celular, como a maioria das patologias, incluindo inflamações, isquemia, doenças cardiovasculares e cancro são caracterizados por importantes alterações metabólicas [1–9].

Entre as biomoléculas com propriedades intrínsecas de fluorescência encontram-se a espécie reduzida do dinucleótido de adenina nicotinamida (NADH), a espécie oxidada do dinucleótido de adenina flavina (FAD), proteínas estruturais como o colagénio, a elastina e as suas ligações cruzadas (*cross-linking*), os aminoácidos com cadeias laterais aromáticas (tirosina, triptofano e fenilalanina) e as porfirinas [10]. Dos fluoróforos referidos, as moléculas NADH e FAD, por se tratarem das coenzimas mais relevantes no metabolismo celular, tornaram-se convenientes marcadores fluorescentes, *in vivo* e não-invasivos, do estado metabólico dos tecidos desde as experiências de Chance e seus colegas em 1962 [11]. Na verdade, desde o início do século que se tem vindo a testar o uso da fluorescência das moléculas mencionadas como uma das ferramentas de diagnóstico precoce dos cancros do cólon, do colo do útero, do esófago, dos pulmões, da bexiga e da mama [12].

Dada a complexidade que o corpo humano e, em particular, as suas células encerram, é natural que se pondere acerca da influência de uma grande variedade de factores nas propriedades de absorção e fluorescência habitualmente medidas experimentalmente: características espectrais, intensidade e, no caso da fluorescência, tempo de vida. De facto, nos últimos anos o leque coberto é vastíssimo: pH, temperatura, polaridade do solvente, campos eléctricos externos, estados de oxidação, protonação e ligação das coenzimas aos

respectivos complexos enzimáticos, condições de stress oxidativo e de hipoxia, entre outros [10, 13–17]. Apesar da variedade salientada, os estudos publicados têm em comum uma base fundamentalmente empírica que, além dos custos monetários que habitualmente acarreta, peca pelo facto de não conseguir isolar e controlar facilmente todas as variáveis das quais depende a informação obtida. Deste modo, uma análise alicerçada em modelos teóricos dos fenómenos físicos e químicos envolvidos poderá colmatar algumas das lacunas encontradas.

O presente trabalho pretende assim propor uma estratégia alternativa e complementar às técnicas experimentais que passa por simular computacionalmente as coenzimas, o seu comportamento face à absorção de radiação electromagnética e posterior relaxação. Obtêm-se os espectros de absorção das moléculas NADH e FAD livres e, a partir destes, os tempos de vida de fluorescência [18]. Discute-se então de que forma os resultados obtidos estabelecem uma base para estudos futuros em que se incluam efeitos de solvente ou as ligações às respectivas enzimas. Este será um passo importante na validação da tese de que se pode utilizar a informação dos tempos de vida como indicador metabólico: actualmente considera-se que as coenzimas apresentam decaimentos bi-exponenciais com uma das componentes associada à fracção livre e outra à fracção ligada [10, 19].

1.2 Sinopse

Dado que o historial académico do autor visa, fundamentalmente, duas componentes, a física e a matemática, considerou-se importante incluir uma secção unicamente destinada à clarificação de alguns conceitos importantes de biologia que permitirão uma melhor percepção das implicações que a investigação nesta área tem na medicina. Por conseguinte, a secção 1.3 resume os principais mecanismos metabólicos que motivam o trabalho a desenvolver.

Já o capítulo 2 foca-se no problema de tentar encontrar soluções aproximadas para equação de Schrödinger para um sistema de muitos electrões. Explica-se brevemente o método de Hartree-Fock (HF), para depois abordar a principal ferramenta que permitiu levar a cabo a simulação computacional. Trata-se da Teoria dos Funcionais da Densidade (DFT), uma reformulação da Mecânica Quântica introduzida nos anos 60 por Hohenberg, Kohn e Sham [20, 21], em que é a densidade electrónica e não a função de onda de muitos electrões que toma o papel principal. Em particular, como a natureza do problema exige o conhecimento da evolução temporal do sistema, usar-se-á uma extensão da teoria acima para sistemas arbitrários dependentes do tempo, a Teoria dos Funcionais da Densidade Dependente do Tempo (TDDFT) desenvolvida por Runge e Gross em 1984 [22] e que já tem vindo a ser usada com sucesso no cálculo do espectro de absorção de várias moléculas

[23–26]. Introduzem-se ainda outros conceitos importantes como o de pseudopotencial e o método usado na obtenção dos tempos de vida de fluorescência das moléculas a partir dos seus espectros de absorção.

O capítulo 3 ilustra, ao expor os resultados das simulações computacionais efectuadas, os conceitos descritos no capítulo 2. Obtêm-se os espectros de absorção das coenzimas e respectivos tempos vida de fluorescência. Por último, no capítulo 4 encontram-se as principais conclusões deste trabalho bem como sugestões de investigação futura.

1.3 Do metabolismo celular à fluorescência das moléculas NADH e FAD

1.3.1 O que é o metabolismo celular?

O conjunto de reacções químicas que ocorrem no interior das células de qualquer ser vivo constitui o metabolismo celular. Este compreende dois tipos fundamentais de reacções [27]:

Anabolismo Conjunto de reacções que requerem consumo de energia para sintetizar moléculas complexas a partir de outras mais simples. É necessário para o crescimento, reprodução e reparação de estruturas celulares.

Catabolismo Conjunto de reacções que libertam energia por quebra de moléculas complexas noutras mais simples. Providencia energia ao organismo para as suas várias actividades, incluindo o movimento, transporte e síntese de moléculas complexas (isto é, anabolismo).

A gama de processos metabólicos conhecida é imensa, sobretudo devido aos microorganismos, que são particularmente versáteis nas formas em que conseguem obter energia. Contudo, interessa aqui enfatizar os processos metabólicos característicos dos seres quimioheterotróficos¹, lote em que se incluem todos os animais e, em particular, os humanos². Estes processos incluem a glicólise (oxidação da glicose³ a ácido pirúvico), a fermentação (conversão de ácido pirúvico em álcool etílico, ácido láctico ou outros compostos orgânicos) e a respiração aeróbia (oxidação do ácido pirúvico a dióxido de carbono e água).

¹Os seres heterotróficos usam como fonte de carbono moléculas orgânicas que obtêm a partir de outros organismos (vivos ou mortos). Dentro destes, os quimioheterotróficos são aqueles que obtêm energia por degradação de compostos orgânicos e não luz solar como no caso dos fotoheterotróficos.

²Note-se, no entanto, que tal não significa que todos os processos metabólicos que caracterizam o grupo dos seres quimioheterotróficos, caracterizem também os seres humanos. Em particular, a fermentação alcoólica por exemplo, é realizada por algumas leveduras e bactérias mas não pelo organismo humano.

³A molécula de glicose é também designada frequentemente por glucose.

A glicólise e a fermentação (processos anaeróbios) não requerem oxigénio e apenas uma pequena quantidade da energia da molécula de glicose é armazenada sob a forma de moléculas de trifosfato de adenosina (ATP). Já a respiração aeróbia requer oxigénio como aceitador final de electrões e é um processo bastante mais rentável. Note-se que, como a glicólise é uma via catabólica⁴ inerente tanto à fermentação como à respiração aeróbia, é usual, quando se menciona qualquer uma das duas últimas, assumir implicitamente a primeira. Por este motivo, tal é o que se fará daqui em diante.

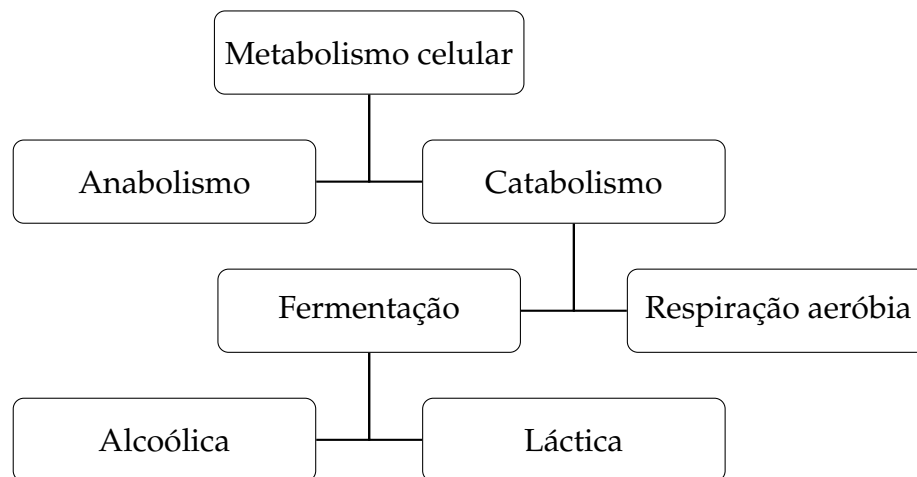


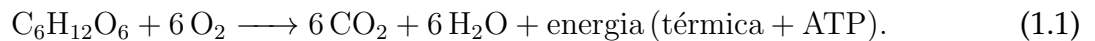
FIGURA 1.1: O metabolismo celular compreende reacções anabólicas e catabólicas. O esquema resume as vias catabólicas de maior relevo neste trabalho. Se a molécula de oxigénio intervir no processo, a respiração celular diz-se aeróbia, caso contrário pode, mas não necessariamente, tratar-se de um processo de fermentação. A fermentação alcoólica resulta na produção de álcool etílico e é utilizada pelo Homem para produzir vinho, cerveja e pão. Já a fermentação láctica resulta na criação de ácido láctico e é usada na indústria de lacticínios na produção de iogurtes e queijo e também pelas células do Homem e outros animais em condições anaeróbias.

O esquema da Fig. 1.1 pretende resumir as considerações tecidas. Dos dois tipos de fermentação especificados, a fermentação láctica, que resulta na formação de ácido láctico, é de particular interesse porque, a par da respiração aeróbia, é utilizada pelas células humanas e de outros animais. Antes, contudo, foque-se a atenção na extremamente mais rentável e frequente respiração aeróbia.

⁴Como quase a totalidade dos processos químicos em organismos vivos, a glicólise, a fermentação e a respiração aeróbia consistem em séries de reacções químicas em que o produto de uma reacção serve, sucessivamente, como o substrato da seguinte. A estas cadeias de reacções dá-se o nome de vias metabólicas. Por sua vez, estas podem ser designadas anabólicas ou catabólicas, consoante os mesmos critérios apresentados no início da secção.

1.3.2 Respiração celular aeróbia

A respiração celular aeróbia é uma sequência bem determinada de reacções químicas controladas por enzimas⁵ em que o oxigénio (O₂) está envolvido e que resulta na quebra de moléculas de glucose (C₆H₁₂O₆) em dióxido de carbono (CO₂) e água (H₂O). A energia armazenada nas ligações químicas da glucose é disponibilizada à célula sob a forma de ATP num processo que se pode resumir pela seguinte equação:



Na verdade, o conjunto de reacções subjacente à respiração aeróbia está longe da simplicidade aparente da expressão (1.1). Há três vias metabólicas distintas envolvidas: a glicólise, o ciclo de Krebs e a cadeia transportadora de electrões.

A palavra glicólise vem do grego *glykys*, que significa doce, e *lysis* que significa divisão [28]. A glicólise é, portanto, a transformação e divisão da glucose. É uma sequência de reacções enzimáticas que ocorrem no hialoplasma⁶ através das quais a molécula de glucose, com seis átomos de carbono, é transformada e clivada, que culmina na produção de duas moléculas de piruvato⁷, com três átomos de carbono, e uma quantidade reduzida de ATP a partir de difosfato de adenosina (ADP) e fosfato inorgânico (P_i) (cf. Fig. 1.2). Durante o processo, alguns átomos de hidrogénio e respectivos electrões são removidos das moléculas orgânicas sob catálise e captados pela molécula transportadora de electrões NAD⁺ formando NADH. A coenzima⁸ NADH contém uma enorme quantidade de energia que pode ser usada para formar mais ATP na cadeia transportadora de electrões. A tarefa do NADH consiste, de facto, em transportar os electrões e prótons capturados para a cadeia transportadora de electrões. Assim que soltam as ditas partículas, as moléculas de NAD⁺,

⁵As enzimas são proteínas que actuam como catalisadores e que, como tal, aceleram a reacção e podem ser recuperadas, intactas, no seu final. A produção destes catalisadores proteicos está sob o controlo directo do material genético do organismo (DNA).

⁶Ao conteúdo genérico que ocupa o interior das células dá-se o nome de citoplasma. O citoplasma é constituído por duas fracções distintas: uma hialina de grande complexidade química, geralmente muito hidratada, designada por hialoplasma, citosol ou matriz citoplasmática e a outra constituída pelas diferentes estruturas e organelos citoplasmáticos. Organelos ou organitos são estruturas intracelulares presentes nas células eucarióticas que desempenham funções específicas. São exemplos de organelos o núcleo, as mitocôndrias, o retículo endoplasmático, os ribossomas, o complexo de Golgi, os cloroplastos e os lisossomas.

⁷Em rigor, o piruvato é a espécie ionizada do ácido pirúvico ou, por outras palavras, a sua base conjugada. Contudo, como as duas espécies são indissociáveis e convivem em equilíbrio químico, podem aqui tomar-se como equivalentes, tal como é comum na literatura. O mesmo acontece, por exemplo, com os pares ácido láctico/lactato e ácido cítrico/citrato.

⁸Algumas enzimas precisam de uma molécula adicional que as auxilie a desempenhar a sua função. Os cofactores são iões inorgânicos ou moléculas orgânicas que servem precisamente esse propósito. Iões de zinco, ferro e magnésio que se combinam quimicamente com as enzimas assistem-nas no seu papel como catalisadores. Uma coenzima é uma molécula orgânica que funciona como cofactor. Elas são sintetizadas a partir de aminoácidos, bases azotadas e vitaminas. Por exemplo, a vitamina riboflavina (B₂) é metabolizada pelas células tornando-se no dinucleótido de adenina flavina (FAD) ao passo que, por processos análogos, a vitamina niacina (B₃) se torna no dinucleótido de adenina nicotinamida (NAD⁺).

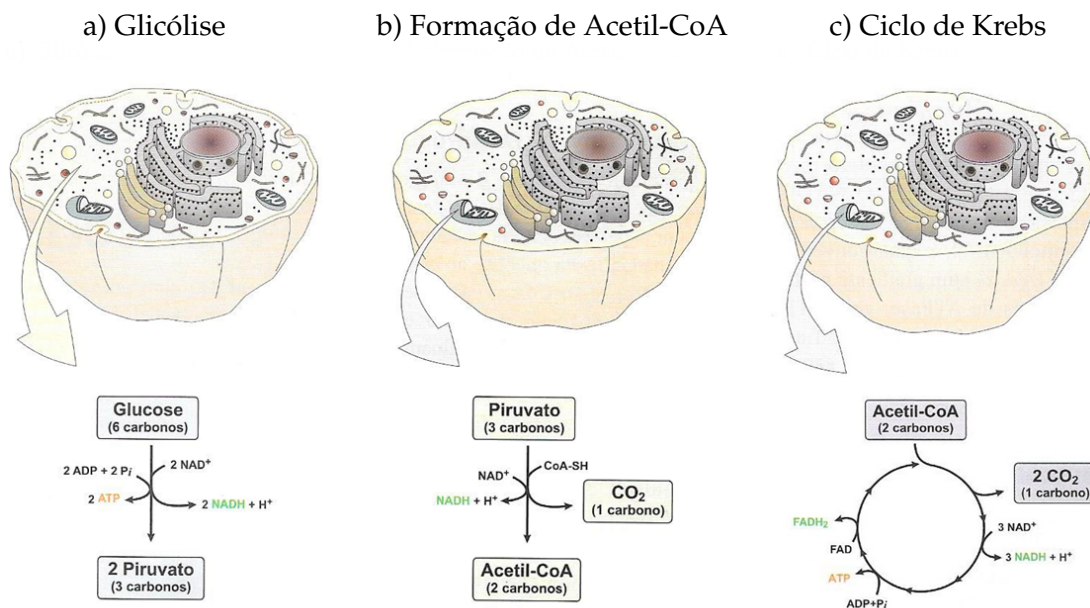


FIGURA 1.2: Esquema simplificado de duas das etapas fundamentais da respiração aeróbia: a glicólise (a) e o ciclo de Krebs (c). Inclui-se a localização na célula onde os respectivos conjuntos de reacções ocorrem. A via glicolítica ocorre no hialoplasma, ao passo que o ciclo de Krebs acontece na matriz mitocondrial. A descarboxilação do piruvato a acetil-CoA (b) é considerada uma curta etapa auxiliar que precede o ciclo de Krebs e que, por conseguinte, é muito frequentemente subentendida na designação do ciclo. Adaptado de Quintas et al. [28].

agora novamente oxidadas, estão disponíveis para capturar mais electrões e repetir o processo [29].

O ciclo de Krebs⁹ tem lugar no interior das mitocôndrias das células, especificamente, na matriz mitocondrial (cf. Fig. 1.3). Ao entrar na mitocôndria, cada uma das moléculas de piruvato com três átomos de carbono é sujeita à acção de enzimas específicas sintetizadas a partir de informação genética contida no DNA localizado dentro da própria mitocôndria (mDNA). Dos três átomos de carbono, um é removido e libertado sob a forma de dióxido de carbono e o fragmento restante com dois átomos de carbono (grupo acetilo) é anexado a uma molécula de coenzima A (CoA) formando um composto denominado acetil-coenzima A (acetil-CoA). Durante o processo que origina a acetil-CoA, molécula que procede para o ciclo de Krebs, há também a formação de NADH (cf. Fig. 1.2). No decorrer do ciclo de Krebs, a acetil-CoA é continuamente clivada, isto é, os seus átomos de hidrogénio e respectivos electrões são sucessivamente removidos. A maioria dos electrões são capturados pelo NAD⁺ que se reduz a NADH, mas há um ponto no processo em que é o FAD que é reduzido a FADH₂. Independentemente do transportador de electrões em causa, estes são sempre enviados para a cadeira transportadora de electrões. No final do ciclo, o grupo acetilo da acetil-CoA foi completamente oxidado a CO₂ e a CoA libertada, ficando disponível para nova utilização. Repare-se que a quantidade de ATP produzida neste conjunto

⁹Ciclo de Krebs, ciclo do ácido cítrico ou ainda ciclo dos ácidos tricarboxílicos (TCA).

de reacções é, tal como na glicólise, extremamente reduzida. Para além disso, parte da energia é ainda libertada termicamente. É ainda de salientar que uma única molécula de glicose permite a realização de dois ciclos de Krebs, uma vez que a sua degradação origina duas moléculas de piruvato [29].

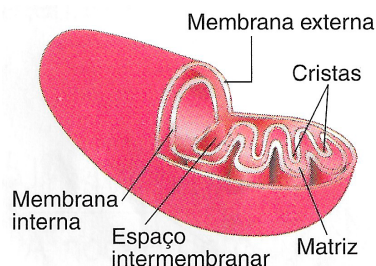


FIGURA 1.3: Esquema representativo da estrutura de uma mitocôndria. As mitocôndrias participam em diversas reacções bioquímicas. Estruturalmente, estes organelos têm quatro compartimentos: a membrana externa, a membrana interna (que apresenta invaginações para o interior, as cristas mitocondriais), o espaço intermembranar e a matriz mitocondrial. A principal função das mitocôndrias é a transdução de energia e, dado que a maioria das moléculas de ATP são formadas no seu interior, são coloquialmente designadas as centrais energéticas das células. Adaptado de Reis et al. [30].

A cadeia transportadora de electrões¹⁰ acoplada à fosforilação oxidativa é um dos mecanismos de transdução de energia mais complexos e eficazes da natureza. Localizada nas cristas mitocondriais (cf. Fig. 1.3), a cadeia transportadora de electrões é constituída por quatro grandes complexos enzimáticos responsáveis pelo transporte de electrões e formação de um gradiente protónico: NADH: ubiquinona oxidorreductase (complexo I); succinato: ubiquinona desidrogenase (complexo II); ubiquinona: citocromo c oxidorreductase (complexo III) e citocromo c oxidase (complexo IV). A ATP sintase (ATPase ou complexo V) é responsável pela degradação do gradiente de protões formado e pela síntese de ATP (cf. Fig. 1.4).

Os complexos I e II recebem os electrões das moléculas de NADH e FADH₂ respectivamente, os quais são dirigidos para um transportador de electrões, a coenzima Q, que conduz os electrões no interior da membrana para o complexo III. Este complexo, por sua vez, reduz o citocromo c, o segundo transportador móvel da cadeia respiratória. O citocromo c doa os seus electrões ao complexo IV que transfere os electrões para o seu aceitador final, o oxigénio, formando-se uma molécula de água por cada dois protões captados. A energia libertada na sequência das reacções *redox* ao longo do fluxo electrónico que ocorre na cadeia transportadora de electrões é utilizada pelos complexos I, III e IV para bombear protões para o espaço intermembranar, contra o gradiente de concentração. Uma vez que a membrana interna das mitocôndrias é impermeável a iões, este gradiente protónico é dissipado através do complexo V, permitindo a síntese de grandes quantidades de ATP

¹⁰Cadeia transportadora de electrões ou cadeia respiratória.

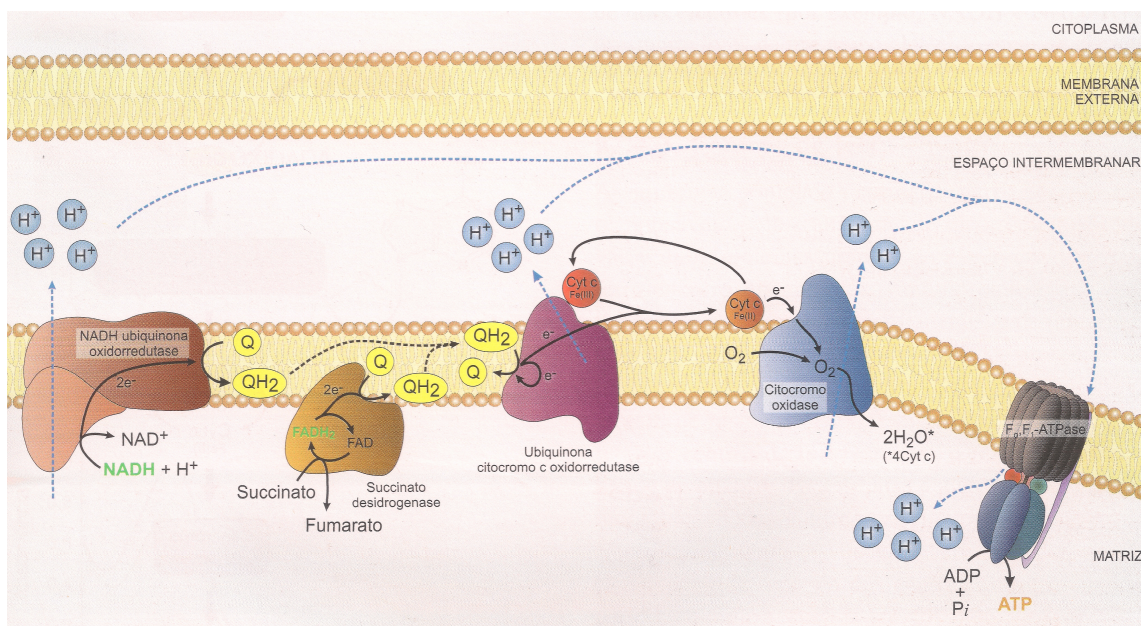


FIGURA 1.4: A cadeia transportadora de electrões. Além da coenzima Q e do citocromo c, são visíveis os diferentes complexos enzimáticos: NADH: ubiquinona oxidorreductase (complexo I); succinato: ubiquinona desidrogenase (complexo II); ubiquinona: citocromo c oxidorreductase (complexo III); citocromo c oxidase (complexo IV); e ATP sintase (complexo V). Adaptado de Quintas et al. [28].

por via da fosforilação¹¹ de ADP por fosfato inorgânico, P_i . Também nesta via metabólica alguma energia é dissipada sob a forma de calor.

Neste ponto são já claros os processos metabólicos em que todos os intervenientes da expressão (1.1) participam. Logicamente, a presente secção não pretende expor exaustivamente cada uma das reacções químicas que compõem as vias metabólicas e, por conseguinte, a estequiometria da dita equação não fica evidente na exposição. De facto, os conceitos de bioquímica subjacentes à totalidade das reacções químicas envolvidas vão muito além do âmbito desta secção introdutória. Contudo, caso se pretenda um estudo mais aprofundado do tema, encontrar-se-ão bons pontos de partida em Black [27], Quintas et al. [28] e Enger et al. [29].

1.3.3 Fluorescência das moléculas NADH e FAD como assinaturas do metabolismo celular

A subsecção anterior permitiu concluir que as moléculas de NADH e $FADH_2$ são os principais transportadores de electrões entre as vias metabólicas da respiração aeróbia e, por conseguinte, desempenham um papel fundamental em todo o processo. Acontece que a forma reduzida do dinucleótido de adenina nicotinamida (NADH) e a espécie oxidada do dinucleótido de adenina flavina (FAD) fluorescem ao passo que as suas formas oxidada

¹¹A fosforilação consiste, tal como o próprio nome indica, na adição de um grupo fosfato a uma molécula.

(NAD⁺) e reduzida FADH₂, respectivamente, não. Com efeito, as moléculas de NADH e FAD apresentam máximos de excitação para 340 nm e 450 nm e máximos de emissão para 450 nm e 535 nm, respectivamente, quando se constroem matrizes de excitação-emissão¹² (EEM) de fluorescência [31]. Este desvio para o vermelho característico dos espectros de fluorescência (desvio de Stokes) confere às técnicas que tiram proveito deste fenómeno uma grande sensibilidade, pois permite que os fotões emitidos sejam detectados com pouco fundo, isolados dos fotões de excitação. Esta situação contrasta com o que acontece, por exemplo, na espectrofotometria de absorção que requer medidas de luz transmitida relativamente a intensidades elevadas de luz incidente do mesmo comprimento de onda.

Uma vez que as medidas de intensidade de fluorescência podem ser afectadas por parâmetros da instrumentação utilizada ou atenuação por absorção devida à hemoglobina nos tecidos, a razão *redox*, definida como o quociente entre as intensidades de fluorescência de FAD e NADH+FAD, tem sido empregue como indicador da actividade metabólica dado que devolve informação mais fidedigna que a medida isolada da intensidade de fluorescência para as duas moléculas [32]. Analise-se um caso concreto.

Na presença de oxigénio, a maioria das células diferenciadas¹³ catabolizam a glicose a dióxido de carbono por oxidação do piruvato no ciclo Krebs. Este conjunto de reacções produz NADH e FADH₂ que depois alimentam a fosforilação oxidativa para maximizar a produção de ATP, tal como se viu na subsecção 1.3.2. De facto, as células diferenciadas apenas produzem elevadas quantidades de ácido láctico (fermentação láctica) sob condições anaeróbias (cf. Fig. 1.5).

Pelo contrário, a maioria das células neoplásicas¹⁴ produzem grandes quantidades de ácido láctico independentemente da disponibilidade de oxigénio. Este processo, denominado efeito Warburg [34], é intrigante dado que as células neoplásicas, devido à rápida divisão celular, deveriam, à primeira vista, procurar maximizar a produção de ATP [32, 35]. Ora, acontece que a fermentação láctica é na realidade uma glicólise *exactamente* igual à que se viu na Fig. 1.2 seguida da redução do piruvato a lactato pelas moléculas de NADH formadas imediatamente antes durante a via glicolítica. Não há, portanto, qualquer intervenção das vias metabólicas que ocorrem no interior das mitocôndrias. Deste modo, a célula, embora aparentemente necessite de maior quantidade de energia, direcciona a grande maioria dos seus recursos para um processo bem menos rentável (cf. Fig.

¹²Uma matriz de excitação-emissão (EEM) é um gráfico bidimensional de curvas de contorno que representa a intensidade de fluorescência em função da uma dada gama de comprimentos de onda de excitação e emissão. Deste modo, é possível extrair os comprimentos de onda de excitação e emissão óptimos para levar a cabo, por exemplo, uma experiência que envolva microscopia de fluorescência.

¹³Uma célula diferenciada é uma célula especializada, isto é, que já tem a sua função no organismo determinada e que não pode dar origem a outros tipos de células. Os neurónios, os glóbulos brancos, as hemácias ou as células da pele são exemplos de células diferenciadas.

¹⁴As células neoplásicas são também comumente denominadas células tumorais.

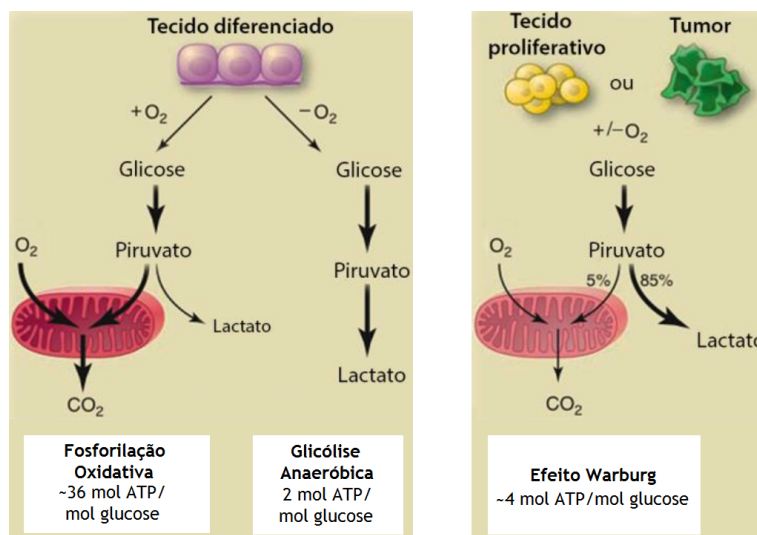


FIGURA 1.5: As diferenças entre a fosforilação oxidativa e a fermentação láctica (glicólise anaeróbica) realizadas pelas células diferenciadas em condições aeróbias e anaeróbias, respectivamente (a); e o efeito Warburg observável em células neoplásicas e em células estaminais com capacidade proliferativa (b). No caso das células com elevado potencial proliferativo, cerca de 10 % da glicose é desviada para outras vias metabólicas que não figuram no esquema. Repara-se nas diferenças abismais de rendimento entre a fosforilação oxidativa e os demais processos. Adaptado de Vander Heiden et al. [33].

1.5). As razões que motivam este comportamento são, ainda hoje, objecto de discussão [33]. A justificação apresentada por Vander Heiden et al. [33] passa pela necessidade da célula replicar todos os seus componentes durante a proliferação, tarefa que naturalmente implica uma grande necessidade de nucleótidos, aminoácidos e lípidos. Assim, durante o crescimento, a glicose é consumida não só na produção de ATP, mas também de biomassa. Desta perspectiva, parece claro que a conversão da glicose em CO_2 através da fosforilação oxidativa por forma a maximizar a produção de ATP vai contra as necessidade do tecido proliferativo. Parte da glicose tem que ser desviada, por exemplo, para a produção de acetil-CoA para a síntese de ácidos gordos, um constituinte importante das membranas celulares. Este facto pode ajudar a explicar, pelo menos em parte, a vantagem selectiva providenciada pelo efeito Warburg.

Dado que a razão *redox* reflecte o estado de oxidação ou redução do NADH e/ou do FAD, resulta que esta pode ser usada como medida da contribuição da respiração aeróbia para o metabolismo de uma dada célula. Logicamente, as mudanças de metabolismo acima descritas devem reflectir-se em alterações nas concentrações relativas de NADH e FAD à medida que tecidos saudáveis progridem para cancro. Com efeito, pensa-se que, em tumores, estas coenzimas existam no seu estado reduzido, o que implica uma diminuição da razão *redox* [10]. Uma vez que as células estaminais¹⁵ se assemelham às células

¹⁵As células estaminais são células não diferenciadas. São, portanto, células não especializadas, isto é, sem função determinada no organismo. As células estaminais podem diferenciar-se numa grande variedade de tipos de células distintas, para além de poderem dar origem a novas células estaminais.

tumorais no que toca à utilização de mecanismos anaeróbios, a fluorescência de NADH e FAD pode também vir a ser utilizada na detecção de células desta natureza [36].

Uma outra implicação do efeito Warburg passa pelo facto da glicólise decorrer no hialoplasma. De facto, a ligação aos complexos enzimáticos da cadeia transportadora de electrões nas cristas mitocondriais, complexo I para NADH e complexo II para FADH₂, deverá ser perturbada de alguma forma. Se o tempo de vida de fluorescência das coenzimas depender de facto destes ligandos, tal como é sugerido na literatura [10, 17, 19], então existem bases para usar o tempo de vida como indicador de alterações metabólicas, em particular, daquelas do cariz descrito.

O leque de processos biológicos associados às coenzimas sob estudo é enorme e cada um deles parece estar associado a elevados níveis de complexidade. Deste modo, impõe-se um estudo faseado e estruturado que comece pelas propriedades mais simples, mas tão gerais quanto possível, das moléculas em causa.

Capítulo 2

O problema de muitos electrões

2.1 A aproximação de Born-Oppenheimer

A percepção actual acerca da estrutura electrónica da matéria baseia-se em métodos teóricos da mecânica quântica e da mecânica estatística. Nos muitos casos em que os efeitos relativistas não são relevantes (elementos leves [37]), a equação de Schrödinger independente do tempo, proposta em 1925 pelo físico austríaco com o mesmo nome, é uma boa descrição do comportamento de sistemas com muitos electrões, como são os átomos ou as moléculas. Assim, o ponto de partida é o hamiltoniano para um sistema de N electrões e M núcleos, que se pode escrever

$$\mathbf{H}_{\text{tot}}(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N, \vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M) = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{|\vec{r}_i - \vec{R}_A|} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{|\vec{R}_A - \vec{R}_B|}, \quad (2.1)$$

em que a posição dos núcleos e electrões é descrita pelos vectores \vec{R}_A e \vec{r}_i , respectivamente (cf. Fig. 2.1). Na equação acima, M_A é a razão entre a massa do núcleo A e a massa do electrão, e Z_A é o número atómico do núcleo A. O primeiro termo do lado direito na Eq. (2.1) é o operador para a energia cinética dos electrões; o segundo representa a energia cinética dos núcleos; o terceiro termo representa a atracção coulombiana entre electrões e núcleos; e os quarto e quinto termos contemplam, respectivamente, a repulsão entre electrões e entre núcleos. Para simplificar as expressões, o spin não foi considerado.

O sistema de unidades usado é o sistema de unidades atómicas, em que

$$\hbar = m_e = e = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} = 1,$$

com \hbar a constante de Planck dividida por 2π , m_e a massa do electrão, e o módulo da sua carga e ϵ_0 a permissividade do vazio. Neste sistema, a unidade de comprimento é

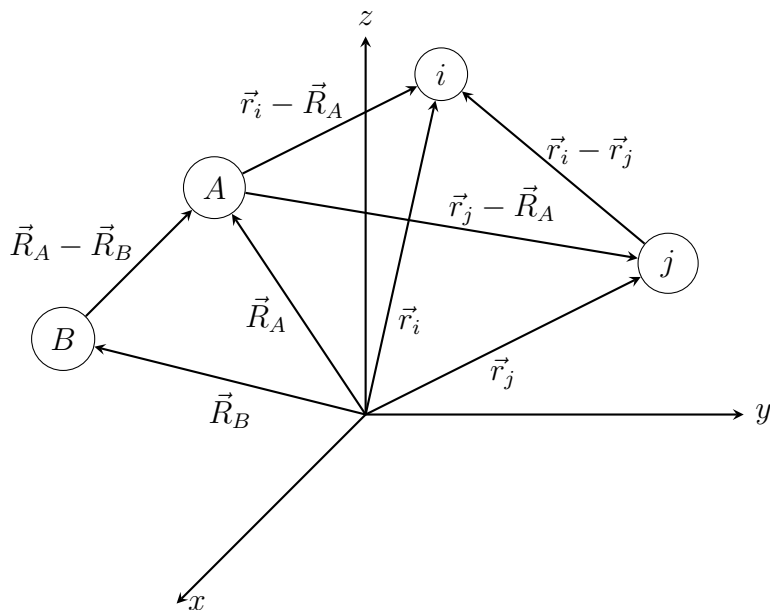


FIGURA 2.1: Sistema de coordenadas para uma molécula: i, j = electrões; A, B = núcleos. Adaptado de Szabo e Ostlund [38].

o bohr, que não é mais que o raio de Bohr, a_0 (1 bohr = $a_0 = 0.52918 \text{ \AA}$), a unidade de energia é o hartree, o dobro do módulo da energia do estado fundamental do átomo de hidrogénio, $E_h = e^2/4\pi\epsilon_0 a_0$ (1 hartree = 1 Ha = $E_h = 27.211 \text{ eV}$), e a unidade de tempo é $2.4189 \times 10^{-17} \text{ s}$. A Tabela 2.1 expõe os factores de conversão entre unidades atómicas e unidades SI para algumas quantidades físicas.

Quantidade física	Factor de conversão	Valor em SI
Comprimento	a_0	$5.2918 \times 10^{-11} \text{ m}$
Massa	m_e	$9.1095 \times 10^{-31} \text{ Kg}$
Carga	e	$1.6022 \times 10^{-19} \text{ C}$
Energia	E_h	$4.3598 \times 10^{-18} \text{ J}$
Momento angular	\hbar	$1.0546 \times 10^{-34} \text{ J s}$
Tempo	$\hbar E_h^{-1}$	$2.4189 \times 10^{-17} \text{ s}$
Momento dipolar eléctrico	$e a_0$	$8.4784 \times 10^{-30} \text{ C m}$
Polarizabilidade eléctrica	$e^2 a_0^2 E_h^{-1}$	$1.6488 \times 10^{-41} \text{ C}^2 \text{ m}^2 \text{ J}^{-1}$
Campo eléctrico	$E_h e^{-1} a_0^{-1}$	$5.1423 \times 10^{11} \text{ V m}^{-1}$
Função de onda	$a_0^{-3/2}$	$2.5978 \times 10^{15} \text{ m}^{-3/2}$

TABELA 2.1: Conversão entre unidades atómicas e unidades SI. Adaptado de Szabo e Ostlund [38].

Estão agora reunidas as condições para se abordar a primeira das simplificações a aplicar à Eq. (2.1). De facto, ela, ou melhor, a equação de Schrödinger a ela associada, é, em geral, impossível de resolver. Agora, uma vez que os núcleos são muito mais pesados que os electrões, pode considerar-se, em boa aproximação, que os electrões de uma molécula se movem num campo de núcleos fixos. Por conseguinte, o operador para a energia cinética nuclear é tão pequeno que a dinâmica electrónica se pode considerar independente

da nuclear, ao passo que aquele que representa a repulsão entre núcleos pode ser tomado constante, motivo pelo qual se passará a designar E_{nn} . Deste modo, pode-se separar o hamiltoniano num hamiltoniano electrónico e noutro nuclear. O hamiltoniano electrónico escreve-se

$$\mathbf{H}_{\text{elec}}(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N; \vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M) = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{|\vec{r}_i - \vec{R}_A|} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} + E_{\text{nn}}, \quad (2.2)$$

e a equação para os electrões fica

$$\begin{aligned} \mathbf{H}_{\text{elec}}(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N; \vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M) \Psi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N; \vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M) = \\ = E(\vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M) \Psi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N; \vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M). \end{aligned} \quad (2.3)$$

Repare-se como a equação anterior depende explicitamente das coordenadas electrónicas mas apenas parametricamente das coordenadas nucleares. Por outras palavras, as funções de onda $\Psi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N; \vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M)$ e valores de energia $E(\vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M)$ obtidos na sua resolução variam com o arranjo nuclear.

A aproximação adiabática ou de Born-Oppenheimer [39] consiste agora em assumir que, à medida que os núcleos se movem, os electrões permanecem no mesmo estado. Isto é, embora a função de onda electrónica $\Psi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N; \vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M)$ e a própria energia $E(\vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M)$ dependam das coordenadas nucleares \vec{R}_A , admite-se que os electrões não mudam de estado e que nenhuma energia é transferida entre os graus de liberdade nucleares e de excitação dos electrões. De facto, esta estaria necessariamente associada a uma mudança de estado electrónico [40]. Assim, assume-se que os núcleos se movem num "potencial" que é a energia do estado electrónico correspondente à configuração dos núcleos nesse instante:

$$\mathbf{H}_{\text{nuc}}(\vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M) = - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 + E(\vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M). \quad (2.4)$$

A respectiva equação para os núcleos virá

$$\mathbf{H}_{\text{nuc}}(\vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M) \Lambda(\vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M) = \epsilon \Lambda(\vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M), \quad (2.5)$$

em que a solução $\Lambda(\vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M)$ descreve a vibração, rotação e translação da molécula e ϵ é a aproximação de Born-Oppenheimer para a energia total do sistema e inclui as contribuições electrónica, vibracional, rotacional e translacional. A aproximação correspondente para a função de onda que descreve todo o sistema é

$$\Phi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N, \vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M) = \Psi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N; \vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M) \Lambda(\vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M). \quad (2.6)$$

As considerações tecidas mantêm-se válidas desde que a massa dos núcleos seja, efectivamente, bastante superior à dos electrões. Ora, como a massa de um único protão (núcleo do átomo de hidrogénio) é já cerca de 1800 vezes superior à do electrão, esta é uma boa aproximação para os sistemas moleculares de interesse neste trabalho. É ainda necessário que a configuração nuclear seja tal que os estados electrónicos se encontrem longe de apresentar degenerescência.

A partir deste ponto não se considerará mais o problema vibracional/rotacional e toda a exposição recairá sobre o problema electrónico que, tal como exposto nas expressões (2.2) e (2.3), tem ainda resolução bastante difícil, apenas possível para sistemas de poucas partículas [41]. O objectivo das secções seguintes passa, assim, por explorar diferentes alternativas de resolver, de forma aproximada, o problema electrónico. Por conseguinte, deixar-se-á cair o índice "elec" do hamiltoniano electrónico \mathbf{H} e omitir-se-á a dependência paramétrica nas coordenadas nucleares.

2.2 O método de Hartree-Fock

2.2.1 Motivação e determinantes de Slater

A aproximação de Hartree-Fock é central em problemas de estrutura electrónica e o ponto de partida de outras aproximações mais elaboradas. Este método foi pela primeira vez aplicado, em átomos, por Fock em 1930 [42].

Deixando cair E_{nn} da Eq. (2.2) (qualquer constante adicionada a um operador tem apenas o efeito de se adicionar aos seus valores próprios, não alterando os seus estados próprios), pode escrever-se

$$\mathbf{H}(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N) = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{|\vec{r}_i - \vec{R}_A|} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|}. \quad (2.7)$$

Se se definir o operador de um electrão $h(\vec{r})$ (assim denominado porque apenas envolve as coordenadas de um único electrão) como

$$h(\vec{r}) = -\frac{1}{2} \nabla^2 - \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{|\vec{r} - \vec{R}_A|}, \quad (2.8)$$

e um operador de dois electrões $v(\vec{r}, \vec{r}')$ (assim designado porque envolve as coordenadas de dois electrões) como

$$v(\vec{r}, \vec{r}') = \frac{1}{|\vec{r} - \vec{r}'|}, \quad (2.9)$$

pode reescrever-se a Eq. (2.7) sob a forma

$$\mathbf{H}(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N) = \sum_{i=1}^N h(\vec{r}_i) + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N v(\vec{r}_i, \vec{r}_j). \quad (2.10)$$

Embora o hamiltoniano de (2.10) dependa apenas das coordenadas espaciais dos electrões, a descrição completa do electrão requer que se especifique o seu spin. Introduzem-se assim duas funções de spin, completas e ortonormalizadas, $\alpha(\omega)$ e $\beta(\omega)$, de uma variável não especificada ω e que correspondem aos dois estados de spin 1/2 [38]. Neste formalismo, o electrão é especificado por três coordenadas espaciais e uma de spin, designadas colectivamente por \vec{x} ,

$$\vec{x} = \{\vec{r}, \omega\}. \quad (2.11)$$

Fazendo uso das funções de spin acima definidas e introduzindo um conjunto finito de K orbitais espaciais ortonormalizadas $\{\psi_i(\vec{r}) \mid i = 1, \dots, K\}$, é agora possível construir um conjunto de $2K$ orbitais de spin $\{\chi_i(\vec{x}) \mid i = 1, \dots, 2K\}$ ¹,

$$\left. \begin{aligned} \chi_{2i-1}(\vec{x}) &= \psi_i(\vec{r})\alpha(\omega) \\ \chi_{2i}(\vec{x}) &= \psi_i(\vec{r})\beta(\omega) \end{aligned} \right\} i = 1, \dots, K, \quad (2.12)$$

que, dadas as condições impostas sobre as orbitais espaciais e de spin, são naturalmente ortonormalizadas.

Se ao hamiltoniano de (2.10) se removesse a interacção entre electrões,

$$\mathbf{H}(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N) = \sum_{i=1}^N h(\vec{r}_i), \quad (2.13)$$

a sua solução seria um simples produto de orbitais de spin, a que se dá o nome de produto de Hartree,

$$\Psi^{\text{HP}}(\vec{x}_1, \dots, \vec{x}_N) = \chi_1(\vec{x}_1) \cdots \chi_N(\vec{x}_N), \quad (2.14)$$

que, no fundo, é uma função de onda de electrões independentes, cujo movimento é completamente não correlacionado. Acontece que os produtos de Hartree não satisfazem o

¹A construção das orbitais de spin não tem que seguir este procedimento e, de facto, tal não seria o caso se as orbitais espaciais não fossem restringidas a serem iguais para o spin para cima e para o spin para baixo. Com efeito, esta imposição resulta num ramo chamado Hartree-Fock Restrito (RHF) ao passo que o seu levantamento conduz ao domínio do método de Hartree-Fock não Restrito (UHF).

princípio da anti-simetria, que dita que a função de onda tem que ser anti-simétrica perante a troca da coordenada \vec{x} de quaisquer dois electrões. Esta situação pode ser contornada introduzindo os determinantes de Slater,

$$\Psi^S(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_1(\vec{x}_1) & \chi_2(\vec{x}_1) & \cdots & \chi_N(\vec{x}_1) \\ \chi_1(\vec{x}_2) & \chi_2(\vec{x}_2) & \cdots & \chi_N(\vec{x}_2) \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ \chi_1(\vec{x}_N) & \chi_2(\vec{x}_N) & \cdots & \chi_N(\vec{x}_N) \end{vmatrix}. \quad (2.15)$$

É, ainda, usual escrever a Eq. (2.15) de uma forma mais simples, que inclui a constante de normalização e a ordem dos electrões $\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N$ de uma forma implícita,

$$\Psi^S(\vec{x}_1, \dots, \vec{x}_N) = |\chi_1 \cdots \chi_N\rangle. \quad (2.16)$$

É lógico que ignorar a interacção dos electrões é uma aproximação algo forte e, embora a função de onda que se acabou de escrever recupere alguma correlação entre o movimento dos electrões com spin paralelo por via da anti-simetrização, a sua aplicação ao hamiltoniano completo da Eq. (2.10) nunca deixará de ser uma aproximação. Assim, o objectivo é agora o de encontrar o determinante² que minimiza a energia total para o hamiltoniano da Eq. (2.10), isto é, pretendem-se determinar as orbitais de spin óptimas que farão parte da função de onda da Eq. (2.16).

2.2.2 As equações de Hartree-Fock

Dado um único determinante de Slater $|\Psi^{\text{HF}}\rangle = |\chi_1 \cdots \chi_N\rangle$, a energia $E^{\text{HF}} = \langle \Psi^{\text{HF}} | \mathbf{H} | \Psi^{\text{HF}} \rangle$ é um funcional das orbitais de spin $\{\chi_i | i = 1, \dots, N\}$. Assim, para obter as equações de Hartree-Fock, é necessário minimizar $E^{\text{HF}}[\{\chi_i\}]$, que se escreve, em termos dos operadores de um e dois electrões de (2.8) e (2.9),

$$E^{\text{HF}}[\{\chi_i\}] = \sum_{i=1}^N \langle i | h | i \rangle + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \langle ij | ij \rangle - \langle ij | ji \rangle, \quad (2.17)$$

onde se usou a denominada notação dos físicos,

$$\langle i | h | j \rangle = \int d\vec{x} \chi_i^*(\vec{x}) h(\vec{r}) \chi_j(\vec{x}), \quad (2.18)$$

²É ainda possível usar uma combinação linear de vários determinantes, o do estado fundamental e outros singularmente, duplamente, triplamente... excitados, para aprimorar o resultado obtido. A este procedimento dá-se o nome de interacção de configuração (CI).

$$\langle ij|kl\rangle = \int d\vec{x} d\vec{x}' \chi_i^*(\vec{x}) \chi_j^*(\vec{x}') v(\vec{r}, \vec{r}') \chi_k(\vec{x}) \chi_l(\vec{x}'). \quad (2.19)$$

O estado fundamental do sistema obtém-se pelo princípio variacional,

$$\frac{\delta}{\delta \chi_i^*(\vec{x})} \left[E^{\text{HF}}[\{\chi_i\}] - \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \varepsilon_{ij} (\langle i|j\rangle - \delta_{ij}) \right] = 0, \quad (2.20)$$

em que ε_{ij} são multiplicadores de Lagrange que garantem a ortonormalização das orbitais de spin e

$$\langle i|j\rangle = \int d\vec{x} \chi_i^*(\vec{x}) \chi_j(\vec{x}). \quad (2.21)$$

Por fim, alguma manipulação algébrica sobre (2.20) permite obter as equações (integro-diferenciais) de Hartree-Fock

$$\left[h(\vec{r}) + \sum_{j=1}^N \left(J_j(\vec{r}) - K_j(\vec{x}) \right) \right] \chi_i(\vec{x}) = \sum_{j=1}^N \varepsilon_{ij} \chi_j(\vec{x}), \quad (2.22)$$

em que

$$J_j(\vec{r}) = \int d\vec{x}' |\chi_j(\vec{x}')|^2 v(\vec{r}, \vec{r}'), \quad (2.23)$$

é o operador de Coulomb, que representa o potencial médio em \vec{r} criado por um electrão em χ_j , e

$$K_j(\vec{x}) \chi_i(\vec{x}) = \left[\int d\vec{x}' \chi_j^*(\vec{x}') v(\vec{r}, \vec{r}') \chi_i(\vec{x}') \right] \chi_j(\vec{x}) \quad (2.24)$$

é o operador de troca, ou melhor, a forma como ele se aplica a uma dada orbital de spin. Este operador, ao contrário do anterior, é não-local pois a sua aplicação em $\chi_i(\vec{x})$ requer o conhecimento de χ_i em todo o espaço, e não apenas em \vec{x} . Repare-se ainda como o operador de troca só tem efeito quando as orbitais de spin χ_i e χ_j têm spins paralelos, naquela que é uma consequência da anti-simetrização que se impôs à função de onda. De facto, esta não é uma verdadeira interacção física entre os electrões, mas apenas uma forma conveniente de representar a energia de um sistema descrito por orbitais de partícula única [38]. A interacção física entre dois electrões i e j reside no termo repulsivo do hamiltoniano $v(\vec{r}_i, \vec{r}_j)$ e não depende do spin, tal como expresso pelo operador de Coulomb (2.23).

Demonstra-se que existe, e que é única, uma transformação unitária sobre as orbitais de spin $\{\chi_i\}$, tal que a matriz dos multiplicadores de Lagrange, cujos elementos são ε_{ij} , se torna diagonal. Assim, é sempre possível escrever (2.22) na forma

$$\left[h(\vec{r}) + \sum_{j=1}^N \left(J_j(\vec{r}) - K_j(\vec{x}) \right) \right] \chi_i(\vec{x}) = \varepsilon_i \chi_i(\vec{x}), \quad (2.25)$$

que, identificando o potencial de Hartree-Fock

$$v_{\text{HF}}(\vec{x}) = \sum_{j=1}^N \left(J_j(\vec{r}) - K_j(\vec{x}) \right), \quad (2.26)$$

e o operador de Fock

$$f(\vec{x}) = h(\vec{r}) + v_{\text{HF}}(\vec{x}), \quad (2.27)$$

se resume a

$$f |\chi_i\rangle = \varepsilon_i |\chi_i\rangle. \quad (2.28)$$

Qual o significado dos valores próprios $\{\varepsilon_i\}$? O teorema de Koopmans afirma que o valor próprio associado a uma orbital preenchida (vazia) é igual à alteração da energia total (2.17) se um electrão for removido (adicionado) ao sistema, diminuindo (aumentando) o tamanho do determinante por omissão (adição) da linha e coluna envolvendo uma dada orbital em particular, deixando todas as outras orbitais intactas [40]. Do enunciado geral retira-se que, no caso particular da energia de ionização, esta iguala o valor absoluto do valor próprio da última orbital ocupada.

Em princípio, há um número infinito de soluções para as equações (2.28). Na prática, contudo, introduz-se uma base finita de funções espaciais $\{\phi_\mu(\vec{r}) \mid \mu = 1, \dots, K\}$ na qual se podem expandir as orbitais espaciais $\{\psi_i(\vec{r})\}$ tanto para as orbitais de spin α como para aquelas de spin β . Substituindo as ditas expansões em (2.28) obtêm-se equações matriciais (p.ex. equações de Roothaan para o método de Hartree-Fock Restrito de camadas fechadas) que não passam de problemas de valores próprios generalizados e que, portanto, produzem $2K$ orbitais de spin, das quais as N com menor valor próprio compõem o determinante do estado fundamental $|\Psi_0^{\text{HF}}\rangle$. Depois de obtidas as N orbitais, é uma questão de voltar a (2.17) para obter a energia do estado fundamental E_0^{HF} .

Há ainda um pequeno entrave adicional. De facto, repare-se como o operador de Fock depende das suas funções próprias. Assim, as equações de Hartree-Fock são não lineares e devem ser resolvidas iterativamente. O procedimento utilizado recebe o nome de método do campo auto-consistente (SCF). A ideia é simples: começa-se com uma estimativa inicial das orbitais de spin que permite obter a primeira aproximação para v_{HF} , resolvem-se as equações (2.28) obtendo-se um novo conjunto de orbitais de spin e, usando estas novas orbitais pode voltar a calcular-se v_{HF} e repetir o procedimento até que se atinja auto-consistência.

De referir, por último, que a diferença entre o valor exacto³ da energia electrónica E_0 e $E_0^{\text{HF}} + E_{\text{nn}}$ se chama, no limite de Hartree-Fock, isto é, no limite em que o número de funções da base K tende a infinito, energia de correlação. Como o próprio nome indica,

³No domínio da aproximação de Born-Oppenheimer.

pretende-se reiterar que, na aproximação de Hartree-Fock, o movimento de electrões de spins anti-paralelos permanece não correlacionado [38].

2.3 Teoria dos Funcionais da Densidade

2.3.1 Os Teoremas de Hohenberg-Kohn

O princípio fundamental da Teoria dos Funcionais da Densidade é que *qualquer* propriedade de um sistema de muitas partículas interactuantes pode ser vista como um funcional da densidade electrónica do estado fundamental $\rho(\vec{r})$,

$$\rho(\vec{r}) = N \int d\vec{r}_2 \dots d\vec{r}_N |\Psi_0(\vec{r}, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N)|^2, \quad (2.29)$$

com $\Psi_0(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N)$ a função do estado fundamental do hamiltoniano (2.2) e em que se deixou cair novamente a referência explícita ao spin para simplificar as expressões. Por outras palavras, uma única função escalar da posição, $\rho(\vec{r})$, determina toda a informação contida nas funções de onda de muitos corpos para o estado fundamental e todos os estados excitados. Estas ideias têm por base dois teoremas apresentados e provados pela primeira vez por Hohenberg e Kohn em 1964 [20].

Recupere-se o hamiltoniano electrónico (2.2),

$$\mathbf{H}(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N) = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 + \sum_{i=1}^N v_{\text{ext}}(\vec{r}_i) + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} + E_{\text{nn}}, \quad (2.30)$$

em que, dado que a formulação a apresentar se aplica a um qualquer sistema de partículas interactuantes num potencial externo $v_{\text{ext}}(\vec{r})$, se omitiu a forma explícita do dito potencial, um pouco à semelhança do que se fez na secção 2.2 ao "esconder" a atracção coulombiana entre electrões e núcleos em $h(\vec{r})$.

O primeiro teorema⁴ de Hohenberg-Kohn estabelece que, para qualquer sistema de partículas interactuantes num potencial externo $v_{\text{ext}}(\vec{r})$, o dito potencial é univocamente determinado, a menos de uma constante aditiva, pela densidade electrónica do estado fundamental $\rho(\vec{r})$. Tal implica imediatamente que o hamiltoniano (2.30) está completamente determinado e, por conseguinte, também as funções de onda para todos os estados estão determinadas, o que permite escrever $|\Psi\rangle \equiv |\Psi[\rho]\rangle$. Assim, todas as propriedades do sistema ficam completamente definidas dada apenas a densidade do estado fundamental

⁴Sempre que, no decorrer da exposição, se refira o teorema de Hohenberg-Kohn sem se especificar qual dos dois está em causa, será sempre este primeiro teorema. O mesmo se pode afirmar, em geral, para a literatura disponível no tema.

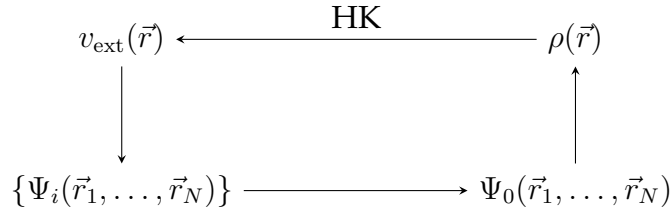


FIGURA 2.2: Ao resolver a equação de Schrödinger, o potencial $v_{\text{ext}}(\vec{r})$ determina todos os estados do sistema $\{\Psi_i(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N)\}$ e, em particular, o estado fundamental $\Psi_0(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N)$ e a sua densidade electrónica $\rho(\vec{r})$. O teorema de Hohenberg-Kohn completa o ciclo. Adaptado de Martin [40].

$\rho(\vec{r})$. Por outras palavras, qualquer observável O é um funcional da densidade do estado fundamental

$$\langle \Psi | O | \Psi \rangle = \langle \Psi[\rho] | O | \Psi[\rho] \rangle = O[\rho]. \quad (2.31)$$

A Fig. 2.2 providencia uma representação esquemática deste primeiro teorema.

O segundo teorema estabelece que se pode escrever um funcional para a energia do estado fundamental⁵ de um sistema de N electrões, em termos da densidade $\rho(\vec{r})$, válido qualquer que seja o potencial externo $v_{\text{ext}}(\vec{r})$ como

$$E_0^{\text{HK}}[\rho(\vec{r})] = \langle \Psi_0[\rho] | \mathbf{H} | \Psi_0[\rho] \rangle = F_{\text{HK}}[\rho(\vec{r})] + \int d\vec{r} v_{\text{ext}}(\vec{r}) \rho(\vec{r}) + E_{\text{nn}}, \quad (2.32)$$

em que $F_{\text{HK}}[\rho(\vec{r})]$ é um funcional universal, que não depende do potencial externo, e que, portanto, é o mesmo para todos os sistemas electrónicos. A sua definição inclui todas as energias internas, cinética e potencial, do sistema de electrões interactuantes. O estado fundamental, obtém-se, mais uma vez, por aplicação do princípio variacional

$$\frac{\delta}{\delta \rho(\vec{r})} \left[E_0^{\text{HK}}[\rho(\vec{r})] - \mu \left(\int d\vec{r} \rho(\vec{r}) - N \right) \right] = \frac{\delta F_{\text{HK}}[\rho(\vec{r})]}{\delta \rho(\vec{r})} + v_{\text{ext}}(\vec{r}) - \mu = 0, \quad (2.33)$$

em que μ é um multiplicador de Lagrange que impõe a normalização da densidade ao número total de electrões. Note-se que, se a forma exacta de $F_{\text{HK}}[\rho(\vec{r})]$ fosse conhecida, a energia obtida E_0^{HK} seria identicamente igual ao valor exacto E_0 .

Algumas notas [43]:

- Supõe-se que o estado fundamental do sistema é não degenerado, sendo, no entanto, esta restrição facilmente levantada [44].
- O raciocínio mantém-se válido para o caso de electrões não interactuantes.
- A utilização do princípio variacional subentende que todas as funções $\rho(\vec{r})$ positivas, bem comportadas e cuja integral é N , são densidades do estado fundamental

⁵De facto, este funcional difere um pouco daquele definido em (2.17) porque só é válido para a obtenção das características (energia e densidade) do estado fundamental do sistema e não dos seus estados excitados.

do hamiltoniano (2.30) para algum potencial externo $v_{\text{ext}}(\vec{r})$. Esta restrição pode ser levantada tal como demonstrado por Lieb [45] e Levy [46] mas, em todo caso, não parece ser limitante em casos práticos de aplicação da Teoria dos Funcionais da Densidade.

2.3.2 As equações de Kohn-Sham

À semelhança do método de Hartree-Fock que reduz efectivamente o problema de muitos electrões em interacção às equações de partícula única com o mesmo nome, Kohn e Sham propuseram, em 1965 [21], uma alternativa para simplificar o mesmo problema: um sistema de um electrão que se move num potencial efectivo, o potencial de Kohn-Sham.

Viu-se na subsecção 2.2.1 que o estado fundamental⁶ de um sistema de electrões independentes é, respeitando o princípio da anti-simetria, um determinante de Slater. Na realidade, até já se conhecem quais as equações a que as orbitais $\{\psi_i(\vec{r})\}$ que compõem o determinante devem obedecer. Generalizando o operador (2.8) para um qualquer potencial externo $v_s(\vec{r})$, tem-se

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla^2 + v_s(\vec{r}) \right] \psi_i(\vec{r}) = \varepsilon_i \psi_i(\vec{r}), \quad (2.34)$$

com a densidade electrónica dada por

$$\rho(\vec{r}) = \sum_{i=1}^N |\psi_i(\vec{r})|^2, \quad (2.35)$$

onde, no estado fundamental, a soma é sobre os N valores próprios mais baixos, conforme ditado pelo princípio de exclusão de Pauli.

Conforme se fez notar no final da subsecção anterior, é possível aplicar os teoremas de Hohenberg-Kohn ao sistema de electrões independentes sob análise. Por conseguinte, conclui-se de imediato que há um, e só um, potencial externo⁷ que gera a densidade $\rho(\vec{r})$. O funcional (2.32) para a energia total escreve-se agora

$$E_0^s[\rho(\vec{r})] = T_s[\rho(\vec{r})] + \int d\vec{r} v_s(\vec{r})\rho(\vec{r}) + E_{\text{int}}, \quad (2.36)$$

⁶Que se assume não degenerado para simplificar a exposição.

⁷Este potencial é, evidentemente, determinado a menos de uma constante, que pode ser sempre escolhida de forma a que $\lim_{|\vec{r}|\rightarrow\infty} v_s(\vec{r}) = 0$.

onde, por analogia a (2.32), se percebe que $T_s[\rho(\vec{r})]$,

$$T_s[\rho(\vec{r})] = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \int d\vec{r} \psi_i^*(\vec{r}) \nabla^2 \psi_i(\vec{r}), \quad (2.37)$$

a energia cinética do estado fundamental do sistema de electrões independentes de densidade $\rho(\vec{r})$, é apenas um caso particular do funcional $F_{\text{HK}}[\rho(\vec{r})]$. Já por analogia com (2.33), as equações de Euler-Lagrange escrevem-se

$$\frac{\delta}{\delta \rho(\vec{r})} \left[E_0^s[\rho(\vec{r})] - \mu_s \left(\int d\vec{r} \rho(\vec{r}) - N \right) \right] = \frac{\delta T_s[\rho(\vec{r})]}{\delta \rho(\vec{r})} + v_s(\vec{r}) - \mu_s = 0, \quad (2.38)$$

em que μ_s é um multiplicador de Lagrange que impõe a normalização da densidade ao número total de electrões. Repare-se que esta última equação é formalmente equivalente à expressão (2.34).

Voltando ao sistema de electrões interactuantes, a hipótese central do método de Kohn-Sham consiste em assumir que existe um sistema auxiliar de partículas independentes cuja densidade do estado fundamental é a mesma que a densidade exacta do estado fundamental do sistema real. Embora não se conheçam provas rigorosas para sistemas reais de interesse, esta hipótese permanece a forma mais usual de aplicar a teoria.

O funcional $F_{\text{HK}}[\rho(\vec{r})]$ para um sistema de electrões interactuantes pode, assim, escrever-se como

$$F_{\text{HK}}[\rho(\vec{r})] = T_s[\rho(\vec{r})] + \frac{1}{2} \int d\vec{r} d\vec{r}' \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} + E_{\text{xc}}[\rho(\vec{r})], \quad (2.39)$$

em que o primeiro termo do lado direito, $T_s[\rho(\vec{r})]$, é, conforme se viu, o funcional da energia cinética para um sistema de electrões independentes. O segundo é a contribuição clássica para a energia electrostática de uma distribuição contínua de carga de densidade volumétrica $\rho(\vec{r})$ (vulgarmente designada por energia de Hartree) e $E_{\text{xc}}[\rho(\vec{r})]$ é o funcional da energia de troca e correlação, que é definido à custa da Eq. (2.39), e que, consequentemente, inclui todas as contribuições para a energia interna, cinética e potencial, do sistema de electrões interactuantes, não incluídas nas duas parcelas anteriores. Deste forma, a parcela $E_{\text{xc}}[\rho(\vec{r})]$ inclui, mas não se restringe, aos efeitos quânticos das interacções electrão-electrão. Substituindo em (2.32), obtém-se a energia total do estado fundamental

$$E_0^{\text{KS}}[\rho(\vec{r})] = T_s[\rho(\vec{r})] + \frac{1}{2} \int d\vec{r} d\vec{r}' \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} + E_{\text{xc}}[\rho(\vec{r})] + \int d\vec{r} v_{\text{ext}}(\vec{r})\rho(\vec{r}) + E_{\text{nn}}, \quad (2.40)$$

e a aplicação do princípio variacional resulta nas equações de Euler-Lagrange correspondentes

$$\begin{aligned} \frac{\delta}{\delta\rho(\vec{r})} \left[E_0^{\text{KS}}[\rho(\vec{r})] - \mu \left(\int d\vec{r}' \rho(\vec{r}') - N \right) \right] &= \\ &= \frac{\delta T_s[\rho(\vec{r})]}{\delta\rho(\vec{r})} + \int d\vec{r}' \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} + v_{\text{xc}}[\rho](\vec{r}) + v_{\text{ext}}(\vec{r}) - \mu = 0, \end{aligned} \quad (2.41)$$

onde o potencial de troca e correlação é um funcional da densidade dado, a menos de uma constante⁸, por

$$v_{\text{xc}}[\rho](\vec{r}) = \frac{\delta E_{\text{xc}}[\rho(\vec{r})]}{\delta\rho(\vec{r})}. \quad (2.42)$$

Se agora se identificar o potencial efectivo v_{KS} como

$$v_{\text{KS}}[\rho](\vec{r}) = \int d\vec{r}' \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} + v_{\text{xc}}[\rho](\vec{r}) + v_{\text{ext}}(\vec{r}), \quad (2.43)$$

então a Eq. (2.41) pode reescrever-se

$$\frac{\delta}{\delta\rho(\vec{r})} \left[E_0^{\text{KS}}[\rho(\vec{r})] - \mu \left(\int d\vec{r}' \rho(\vec{r}') - N \right) \right] = \frac{\delta T_s[\rho(\vec{r})]}{\delta\rho(\vec{r})} + v_{\text{KS}}[\rho](\vec{r}) - \mu = 0. \quad (2.44)$$

Mas, a forma da Eq. (2.44) é idêntica à da Eq. (2.38) para partículas independentes que se movem no potencial efectivo $v_{\text{KS}}[\rho](\vec{r})$ ao invés de no potencial externo $v_s(\vec{r})$. Assim, se se assumir que a densidade é a mesma nos dois sistemas, conclui-se que o problema de obter a densidade electrónica do estado fundamental do sistema interactuante se resume à resolução das equações de partícula única (2.34) em que $v_s(\vec{r})$ é substituído por $v_{\text{KS}}[\rho](\vec{r})$ (cf. Fig. 2.3)

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla^2 + v_{\text{KS}}[\rho](\vec{r}) \right] \psi_i(\vec{r}) = \varepsilon_i \psi_i(\vec{r}), \quad (2.45)$$

com a densidade do estado fundamental dada por

$$\rho(\vec{r}) = \sum_{i=1}^N |\psi_i(\vec{r})|^2. \quad (2.46)$$

Estas são chamadas as equações (auto-consistentes) de Kohn-Sham. Repare-se que, se a forma exacta do funcional de troca e correlação fosse conhecida, a avaliação da energia por (2.40) produziria o valor exacto E_0 . Assim, a utilidade prática das equações está inteiramente dependente da capacidade de encontrar aproximações para o dito funcional que sejam ao mesmo tempo simples e precisas. A subsecção 2.3.3 dá um exemplo de uma dessas aproximações.

Nem as orbitais $\{\psi_i(\vec{r}) \mid i = 1, \dots, N\}$ nem as suas energias $\{\varepsilon_i \mid i = 1, \dots, N\}$ têm algum

⁸Que pode ser sempre escolhida de forma a que $\lim_{|\vec{r}| \rightarrow \infty} v_{\text{xc}}[\rho](\vec{r}) = 0$.

significado conhecido ou directamente observável[43], excepto a ligação óbvia entre as orbitais e a densidade electrónica dada por (2.46) e a igualdade entre a energia de ionização e a magnitude do valor próprio associado à última orbital preenchida [47].

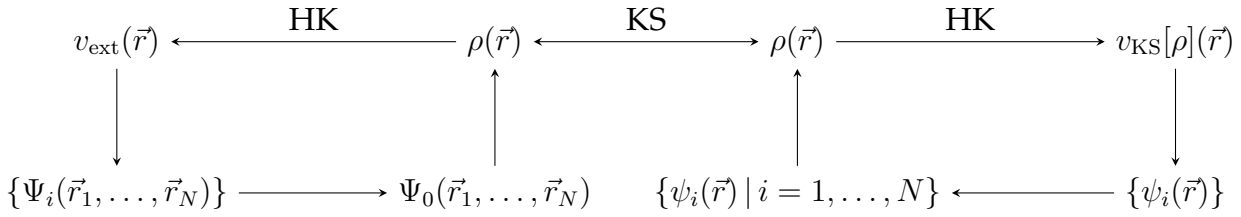


FIGURA 2.3: Ao admitir a existência de um sistema auxiliar de partículas independentes com a mesma densidade do estado fundamental que o sistema interactuante, o método de Kohn-Sham consegue usar equações e soluções de partícula única para descrever as propriedades de sistemas de muitas partículas. Ao potencial efectivo de Kohn-Sham correspondem as orbitais $\{\psi_i(\vec{r})\}$, em particular as N de valor próprio mais baixo, que correspondem ao estado fundamental e à sua densidade electrónica. Adaptado de Martin [40].

2.3.3 Energia de troca e correlação

Até este ponto, a Teoria dos Funcionais da Densidade foi apresentada como um modelo matemático que permitiu visualizar o problema electrónico da perspectiva da densidade electrónica. Embora motivado por considerações físicas, o uso concreto do modelo requer aproximações para o funcional $E_{xc}[\rho(\vec{r})]$ que reflectam a física da estrutura electrónica.

A mais simples e, ao mesmo tempo, mais usual, é denominada aproximação da densidade local (LDA) [21]:

$$E_{xc}^{\text{LDA}}[\rho(\vec{r})] = \int d\vec{r} e_{xc}(\rho(\vec{r}))\rho(\vec{r}), \quad (2.47)$$

onde $e_{xc}(\rho(\vec{r}))$ é a energia de troca e correlação por partícula para um gás uniforme de electrões de densidade $\rho = \rho(\vec{r})$ ⁽⁹⁾. A parte da troca pode ser obtida pelo método de Hartree-Fock e, em unidades atómicas, escreve-se

$$e_x(\rho(\vec{r})) = -\frac{0.458}{r_s}, \quad (2.48)$$

em que

$$r_s(\rho(\vec{r})) = \left(\frac{4\pi}{3}\rho(\vec{r})\right)^{-1/3}, \quad (2.49)$$

⁹Ou seja, aplicar-se-ão expressões derivadas para um gás de electrões homogéneo a uma densidade electrónica não necessariamente uniforme. No fundo, é como se se tivesse uma distribuição contínua de carga que se considera apenas localmente homogénea, isto é, no volume infinitesimal d^3r (que se tem vindo a designar, num claro abuso de linguagem, por $d\vec{r}$) em torno de cada ponto \vec{r} .

é o raio de uma esfera ocupada por um electrão, habitualmente denominado parâmetro de densidade. Já a parcela correspondente à correlação foi estimada pela primeira vez em 1938 por Wigner [48]

$$e_c(\rho(\vec{r})) = -\frac{0.44}{r_s + 7.8}, \quad (2.50)$$

e mais recentemente por Ceperley [49] e Ceperley e Alder [50] utilizando métodos de Monte Carlo.

A priori, seria de esperar que a LDA, logicamente exacta para um gás uniforme de electrões, se revelasse de alguma utilidade apenas para densidades de variação suave à escala de r_s . Em sistemas atómicos, estas condições são raramente verificadas e frequentemente seriamente violadas. No entanto, a experiência mostra que a LDA tem produzido bons resultados para a maioria das situações em que é empregue, com precisão no mínimo semelhante ao método de Hartree-Fock para sistemas atómicos e moleculares [51].

A LDA é a aproximação de base para muitas outras. Por exemplo, a aproximação de gradientes generalizada (GGA) envolve já o gradiente da densidade $\nabla\rho(\vec{r})$ e os métodos híbridos procuram calcular a energia de troca pelo método de Hartree-Fock, complementando o cálculo com GGA [52].

2.4 Pseudopotenciais

2.4.1 O conceito de pseudopotencial

A resolução da equação de Schrödinger para muitos electrões pode ser deveras simplificada se os electrões do sistema forem separados em dois grupos: os de valência e os do cerne. Os electrões do cerne, isto é, aqueles das camadas mais internas, estão fortemente ligados e a experiência mostra que não desempenham um papel significativo na ligação química dos átomos, formando com o núcleo um caroço que, na prática, se pode considerar inerte. Com efeito, as propriedades de ligação, especialmente em metais e semicondutores, são quase totalmente descritas pelos electrões de valência [53].

As referidas considerações sugerem que os electrões do cerne podem, na grande maioria dos casos, ser efectivamente ignorados, reduzindo portanto o átomo a um caroço iónico que interage com os electrões de valência. O uso de uma interacção efectiva, um pseudopotencial, que aproxima o verdadeiro potencial em que se movem os electrões de valência foi proposto pela primeira vez em 1934 por Fermi [54] e em 1935 por Hellmann [55]. Não foi, no entanto, até 1959 com Phillips e Kleinman [56] que os pseudopotenciais começaram a ser extensivamente usados. Eis os seus argumentos.

Sejam as soluções exactas do problema electrónico (já reduzido a um conjunto de equações de partícula única) para os electrões do cerne, $|\psi_c\rangle$, e para os electrões de valência, $|\psi_v\rangle$

$$\mathbf{H}' |\psi_n\rangle = \varepsilon_n |\psi_n\rangle, \quad (2.51)$$

onde \mathbf{H}' é, por exemplo, o hamiltoniano que figura nas equações de Kohn-Sham (2.45) e $n = c, v$. As orbitais de valência podem ser escritas como a soma de uma função mais suave (chamada pseudo-função de onda), $|\varphi_v\rangle$, com uma função oscilante que resulta da ortogonalização das orbitais de valência àquelas do cerne

$$|\psi_v\rangle = |\varphi_v\rangle + \sum_c \alpha_{cv} |\psi_c\rangle, \quad (2.52)$$

com

$$\alpha_{cv} = -\langle \psi_c | \varphi_v \rangle. \quad (2.53)$$

Substituindo a orbital suavizada φ_v em (2.51) resulta em

$$\mathbf{H}' |\varphi_v\rangle - \sum_c (\varepsilon_c - \varepsilon_v) |\psi_c\rangle \langle \psi_c | \varphi_v \rangle = \varepsilon_v |\varphi_v\rangle. \quad (2.54)$$

Esta equação indica que os estados "suavizados" $|\varphi_v\rangle$ satisfazem uma equação de Schrödinger com um pseudo-hamiltoniano dependente da energia

$$\mathbf{H}^{\text{PK}}(\varepsilon) = \mathbf{H}' - \sum_c (\varepsilon_c - \varepsilon) |\psi_c\rangle \langle \psi_c|, \quad (2.55)$$

e que o valor próprio que lhes está associado é igual ao que corresponde às orbitais de valência $|\psi_v\rangle$. Pode assim identificar-se

$$\mathbf{W}^{\text{PK}}(\varepsilon) = \mathbf{V} - \sum_c (\varepsilon_c - \varepsilon) |\psi_c\rangle \langle \psi_c|, \quad (2.56)$$

como o potencial efectivo onde se movem os electrões de valência. Note-se que \mathbf{V} representa aqui o potencial verdadeiro, já num formalismo de partícula única, em que os electrões de valência se movem. O potencial de Kohn-Sham (2.43) é, assim, um exemplo válido. O pseudopotencial (2.56) além de depender do valor próprio do estado electrónico a determinar, é não-local.

Devido ao decaimento das orbitais do cerne, \mathbf{W}^{PK} reduz-se, a partir de uma dada distância ao caroço iónico, a \mathbf{V} . Já na região próxima do núcleo atómico, a ortogonalização das orbitais de valência às orbitais do cerne fortemente oscilantes, força os electrões de valência a ter elevada energia cinética¹⁰. É esta característica das orbitais de valência, que

¹⁰A energia cinética é, na verdade, uma medida da curvatura da função de onda.

naturalmente seriam bastantes oscilantes, que se procura transferir para o próprio hamiltoniano sob a forma do segundo termo de (2.55) ou (2.56). Por conseguinte, este termo de ortogonalização ao cerne representa um potencial repulsivo que torna o pseudopotencial bastante mais fraco na região junto ao caroço iónico. Deste modo, as pseudo-funções de onda serão mais suaves e não vão oscilar tanto na dita região. Repare-se como além de reduzir o número de electrões sob consideração, o conceito de pseudopotencial facilita o problema numericamente, essencialmente porque reduz a distribuição espectral da onda, facilitando, por exemplo, a sua representação numa base de ondas planas ou a resolução de equações diferenciais que a envolvam.

O pseudopotencial que, dada a sua natureza não-local, é em geral designado $w(\vec{r}, \vec{r}')$, é usualmente reescrito na forma

$$w(\vec{r}, \vec{r}') = \sum_l \sum_{m=-l}^l Y_{lm}^*(\hat{r}) w_l(r, r') Y_{lm}(\hat{r}'), \quad (2.57)$$

em que Y_{lm} são os harmónicos esféricos. Esta expressão enfatiza o facto de w_l , como função de r e r' , depender ainda do momento angular. A forma mais habitual é, contudo, a forma semi-local, assim denominada porque é local apenas na coordenada radial

$$w_l(r, r') = w_l(r) \frac{\delta(r - r')}{r^2}. \quad (2.58)$$

2.4.2 Pseudopotenciais *ab-initio*: o potencial de Troullier-Martins

Os pseudopotenciais modernos são obtidos por via de cálculos atómicos com todos os electrões e são capazes de reproduzir com rigor a distribuição de carga de valência [57]. O procedimento levado a cabo para gerar uma grande parte deles, em particular, os chamados pseudopotenciais que conservam a norma, é o seguinte [58]:

1. Resolvem-se as equações de Kohn-Sham radiais para o átomo livre, com todos os electrões (AE), para uma dada configuração de referência. Para o átomo isolado, o potencial externo que figura em (2.43) é apenas o potencial nuclear $-Z/r$. Supondo uma aproximação esférica para o potencial de Hartree¹¹ $v_H[\rho^{\text{AE}}](r)$ e para o potencial de troca e correlação $v_{\text{xc}}[\rho^{\text{AE}}](r)$, pode escrever-se

$$v_{\text{KS}}^{\text{AE}}[\rho^{\text{AE}}](r) = -\frac{Z}{r} + v_H[\rho^{\text{AE}}](r) + v_{\text{xc}}[\rho^{\text{AE}}](r), \quad (2.59)$$

¹¹O potencial de Hartree é simplesmente o potencial associado à energia (potencial) de Hartree e é uma designação frequente do primeiro termo de (2.43).

que é um potencial esfericamente simétrico e que, conseqüentemente, permite separar as orbitais de Kohn-Sham nas suas partes radial e angular $\psi_i(\vec{r}) = R_{nl}(r)Y_{lm}(\theta, \phi)^{(12)}$. A parte radial é, assim, solução da equação

$$\left[-\frac{1}{2} \frac{d^2}{dr^2} + \frac{l(l+1)}{2r^2} + v_{\text{KS}}^{\text{AE}}[\rho^{\text{AE}}](r) \right] r R_{nl}^{\text{AE}}(r) = \varepsilon_{nl}^{\text{AE}} r R_{nl}^{\text{AE}}(r). \quad (2.60)$$

2. As pseudo-funções de onda $R_l^{\text{PP}}(r)$, para os electrões de valência (PP), são obtidas usando um esquema adequado que obedece a certas condições.
3. Uma vez obtida a pseudo-função de onda, a inversão da equação radial (2.60) para a pseudo-função de onda e densidade dos electrões de valência permite obter o pseudopotencial blindado

$$w_l^{\text{scr}}(r) = \varepsilon_l^{\text{PP}} - \frac{l(l+1)}{2r^2} + \frac{1}{2r R_l^{\text{PP}}(r)} \frac{d^2}{dr^2} [r R_l^{\text{PP}}(r)]. \quad (2.61)$$

4. A desblindagem dos termos de Hartree e troca e correlação para os electrões de valência permite obter a forma final do pseudopotencial

$$w_l(r) = w_l^{\text{scr}}(r) - v_{\text{H}}[\rho^{\text{PP}}](r) - v_{\text{xc}}[\rho^{\text{PP}}](r). \quad (2.62)$$

As condições impostas sobre as pseudo-funções de onda são as que se listam [58]:

1. As pseudo-funções de onda, além de normalizadas, são obrigadas a coincidir com as verdadeiras funções de onda dos electrões de valência para lá de uma certa distância, o raio de corte r_c . Estas condições podem escrever-se

$$\begin{cases} R_l^{\text{PP}}(r) = R_{nl}^{\text{AE}}(r) & \text{se } r > r_c^l \\ \int_0^{r'} dr r^2 |R_l^{\text{PP}}(r)|^2 = \int_0^{r'} dr r^2 |R_{nl}^{\text{AE}}(r)|^2 & \text{se } r' \geq r_c^l \end{cases}, \quad (2.63)$$

em que o índice n nas funções de onda para todos os electrões especifica o nível de valência. De notar que o raio de corte depende também do momento angular.

2. Os pseudo-valores próprios são iguais aos obtidos no cálculo com todos os electrões

$$\varepsilon_l^{\text{PP}} = \varepsilon_{nl}^{\text{AE}}. \quad (2.64)$$

3. As pseudo-funções de onda não devem ter superfícies nodais.

¹²Ainda como consequência da simetria esférica, existe degenerescência no número quântico m e estados com os mesmos n e l têm a mesma ocupação. As propriedades dos harmónicos esféricos (*closure relation*) implicam imediatamente que também a densidade electrónica tem simetria esférica, tal como se verificaria na solução exacta do problema de muitos corpos, pois o potencial de Coulomb é esfericamente simétrico.

O raio de corte pode ser interpretado como uma medida da qualidade do pseudopotencial. O menor valor que pode assumir é, logicamente, determinado pela posição da superfície nodal mais exterior das funções de onda com todos os electrões. Neste limite, o pseudopotencial resultará bastante realista, mas também bastante forte. Por sua vez, a escolha de um raio de corte superior conduz a pseudopotenciais mais suaves, com pouca dependência no momento angular, que embora benéficos do ponto de vista numérico, são pouco realistas. Deste modo, a escolha do raio de corte é um compromisso entre a precisão desejada para o pseudopotencial e a celeridade dos métodos computacionais.

Um dos métodos para a construção da pseudo-função de onda foi proposto por Troullier e Martins [59, 60], que se basearam em trabalho realizado anteriormente por Kerker [61]. As pseudo-funções de onda definem-se

$$R_l^{\text{PP}}(r) = \begin{cases} R_{nl}^{\text{AE}}(r) & \text{se } r > r_c^l \\ r^l e^{p(r)} & \text{se } r < r_c^l \end{cases}, \quad (2.65)$$

com

$$p(r) = c_0 + c_2 r^2 + c_4 r^4 + c_6 r^6 + c_8 r^8 + c_{10} r^{10} + c_{12} r^{12}. \quad (2.66)$$

Os sete coeficientes do polinómio $p(r)$ são ajustados impondo outras sete condições: a conservação da norma (2.63), a continuidade da pseudo-função de onda e das suas primeiras quatro derivadas para $r = r_c^l$ e a nulidade da curvatura do pseudopotencial blindado, w_l^{scr} , na origem. Esta última condição traduz-se em

$$c_2^2 + c_4(2l + 5) = 0, \quad (2.67)$$

e é responsável pela suavidade dos pseudopotenciais obtidos por este método.

2.4.3 Transferibilidade de um pseudopotencial

Por construção, os pseudopotenciais gerados têm a capacidade de reproduzir fielmente os valores próprios de valência e as funções de onda (para lá do raio de corte) do átomo isolado. Contudo, a utilidade do pseudopotencial reside na sua aptidão de reproduzir o efeito do potencial verdadeiro em vários ambientes químicos. Por outras palavras, é necessário estudar o potencial quanto à sua transferibilidade.

Uma forma de forçar o pseudopotencial a actuar num dado electrão do mesmo modo que o verdadeiro potencial é requerer que ele possua as mesmas propriedades de dispersão. Demonstra-se que, a par da energia do electrão, a derivada logarítmica da função de onda desempenha um papel crucial na determinação destas propriedades [58]. Os pseudopotenciais que conservam a norma são construídos de tal forma que, para $r \geq r_c^l$, a

coincidência entre a derivada logarítmica das pseudo-funções de onda e das verdadeiras funções está garantida. Contudo, o que acabou de se afirmar só é verdade para a energia de referência ε_l e os valores próprios dependem do ambiente químico. Para que haja transferibilidade do pseudopotencial, esta identidade dever-se-ia verificar para todas as energias de interesse, e não apenas para aquela para a qual se ajustou o pseudopotencial. Esta condição pode ser aliviada se se restringir o estudo apenas a uma pequena gama de energias em torno da energia de referência ou, por outras palavras, se apenas se exigir a igualdade da primeira derivada em ordem à energia das derivadas logarítmicas. Na verdade, a conservação da norma assegura, desde logo, que assim é para $r \geq r_c^l$, uma vez que [57, 62]

$$\frac{\partial}{\partial \varepsilon_l} \frac{d}{dr} \ln R_l(r) = -\frac{2}{|R_l(r)|^2 r^2} \int_0^r dr' |R_l(r')|^2 r'^2. \quad (2.68)$$

Dado que a condição (2.68) está à partida assegurada, o procedimento passa, em geral, por simplesmente verificar se a condição é de facto respeitada.

Um outro teste simples consiste em comparar energias de excitação ou a energia de ionização para o pseudo-átomo e para o átomo com todos os seus electrões. Pode ainda estudar-se a variação da energia total do átomo livre com a ocupação das orbitais de valência [63]. Contudo, nenhum dos testes referidos tem em conta que o ambiente que rodeia os electrões é distinto em situações que não a de referência. Assim, embora o pseudopotencial se mantenha, o potencial efectivo altera-se dado que tanto os termos de Hartree como de troca e correlação dependem da densidade electrónica. Por este motivo, o método ideal passaria sempre por verificar se o pseudopotencial reproduz com sucesso os cálculos com todos os electrões em vários ambientes químicos. A forma mais habitual de o fazer é testar a robustez do pseudopotencial para outras configurações atómicas, ou até mesmo iónicas.

2.5 Teoria dos Funcionais da Densidade Dependente do Tempo

2.5.1 O Teorema de Runge-Gross

O movimento correlacionado dos electrões em sistemas de muitos corpos tem um papel preponderante na descrição das características dos espectros desses sistemas [64]. A abordagem directa ao problema consiste em resolver a equação de Schrödinger dependente do tempo para a equação de onda de N electrões $\Psi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N, t)$

$$\mathbf{H}(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N, t)\Psi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N, t) = i\frac{\partial}{\partial t}\Psi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N, t), \quad (2.69)$$

em que, mais uma vez, se invocou a forma genérica do hamiltoniano (2.2)

$$\mathbf{H}(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N, t) = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 + \sum_{i=1}^N v_{\text{ext}}(\vec{r}_i, t) + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} + E_{\text{nn}}, \quad (2.70)$$

e se omitiu a forma explícita do potencial externo $v_{\text{ext}}(\vec{r}, t)$. Este pode então representar, por exemplo, a atracção coulombiana dos electrões a um conjunto de núcleos em movimento ou a interacção com campos externos, como no caso de um sistema iluminado por um feixe laser.

Resolver a equação (2.69) para o hamiltoniano (2.70) é uma tarefa extremamente difícil. Foi então que, em 1984, Runge e Gross [22] apresentaram e provaram um teorema que hoje ostenta os seus nomes e que simplificou substancialmente a forma como se passou a encarar o problema. O teorema central da Teoria dos Funcionais da Densidade Dependente do Tempo afirma que existe uma correspondência biunívoca entre o potencial externo dependente do tempo $v_{\text{ext}}(\vec{r}, t)$ e a densidade electrónica $\rho(\vec{r}, t)$ ⁽¹³⁾

$$\rho(\vec{r}, t) = N \int d\vec{r}_2 \dots d\vec{r}_N |\Psi(\vec{r}, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N, t)|^2, \quad (2.71)$$

para sistemas de muitos corpos que evoluem no tempo a partir de um dado estado inicial $\Psi_i = \Psi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N, t_0)$ que, note-se, não tem que ser o estado fundamental Ψ_0 ou sequer um estado estacionário do hamiltoniano de (2.70) para $t = t_0$.

As implicações do referido teorema são profundas: a densidade electrónica dependente do tempo $\rho(\vec{r}, t)$ de um sistema que parte de um dado estado inicial Ψ_i determina, a menos de uma função dependente (apenas) do tempo¹⁴, o potencial externo $v_{\text{ext}}(\vec{r}, t)$ que produz a dita densidade. Por sua vez, o potencial externo define completamente o hamiltoniano (2.70) e a equação de Schrödinger dependente do tempo (2.69) pode então, em princípio, ser resolvida e todas as propriedades do sistema obtidas. Com efeito, a função de onda, determinada a menos de uma fase puramente dependente do tempo, $\alpha(t)$, dada a liberdade na definição do potencial, pode ser vista como um funcional da densidade e do estado inicial

$$\Psi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N, t) = e^{-i\alpha(t)} \Psi[\rho, \Psi_i](\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N, t). \quad (2.72)$$

¹³Em que se usou a mesma letra (ρ) que para a densidade do estado fundamental na secção 2.3, pois o contexto não deverá permitir margem para ambiguidade.

¹⁴Esta liberdade é semelhante à que se viu no caso do teorema de Hohenberg-Kohn. De facto, uma função que depende apenas do tempo não altera a física do problema: se dois potenciais diferirem somente de uma função com estas características, as funções de onda resultantes diferirão apenas de uma fase puramente dependente do tempo. Por conseguinte, a densidade electrónica e todos os valores esperados de observáveis permanecem inalterados.

Portanto, o valor esperado de qualquer observável $O(t)$ é também um funcional da densidade e do estado inicial

$$O[\rho, \Psi_i](t) = \langle \Psi[\rho, \Psi_i](t) | O(t) | \Psi[\rho, \Psi_i](t) \rangle. \quad (2.73)$$

Isto é, para um dado estado inicial, a densidade electrónica, uma função de apenas três variáveis espaciais e do tempo, determina todas as propriedades do sistema de electrões interactuantes. A Fig. 2.4 esquematiza o teorema.

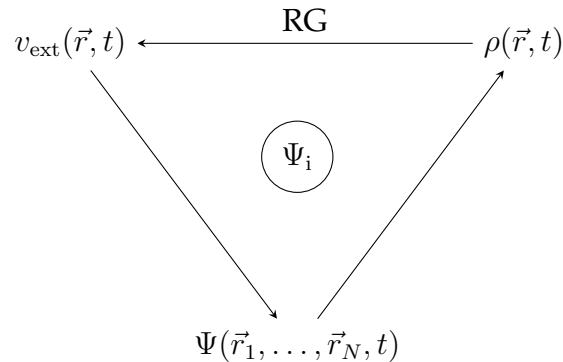


FIGURA 2.4: Ao resolver a equação de Schrödinger dependente do tempo, o potencial $v_{\text{ext}}(\vec{r}, t)$ determina a função de onda dependente do tempo $\Psi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N, t)$ que descreve um sistema que partiu inicialmente do estado Ψ_i . A densidade electrónica $\rho(\vec{r}, t)$ é depois trivialmente determinada. O teorema de Runge-Gross completa o ciclo, ao fazer corresponder à densidade electrónica do sistema que parte do estado Ψ_i , o potencial externo de onde o raciocínio partiu.

2.5.2 As equações de Kohn-Sham dependentes do tempo

À semelhança do raciocínio seguido na subsecção 2.3.2, recorrer-se-á a um sistema de electrões independentes, definido por forma a reproduzir a densidade do sistema de electrões interactuantes de interesse. Assim, todas as propriedades do sistema de electrões interactuantes podem ser extraídas a partir da densidade deste sistema auxiliar.

Dado que a correspondência biunívoca entre densidades e potenciais dependentes do tempo pode ser invocada independentemente do tipo de interacção entre as partículas, ela pode ser aplicada, tal como se viu no caso do teorema de Hohenberg-Kohn para o estado fundamental, ao caso particular do sistema de electrões independentes [64]. Deste modo, o potencial externo¹⁵ $v_{\text{KS}}[\rho, \Psi_i^{\text{KS}}](\vec{r}, t)$ que resulta na densidade $\rho(\vec{r}, t)$ para um sistema de electrões independentes que parte do estado Ψ_i^{KS} , está univocamente determinado.

¹⁵Na subsecção 2.3.2, para o caso do estado fundamental, expôs-se detalhadamente o raciocínio que culminou na substituição do potencial externo $v_s(\vec{r})$ pelo potencial efectivo $v_{\text{KS}}[\rho](\vec{r})$. Repare-se que tal seria perfeitamente equivalente a concluir que se identificou o potencial externo $v_s(\vec{r})$ com $v_{\text{KS}}[\rho](\vec{r})$. Assim, faz-se aqui a associação equivalente para o caso dependente do tempo, sem, contudo, se referirem os detalhes que a alicerçam.

Regressando ao sistema de electrões interactuantes de interesse, assume-se de novo que existe um sistema auxiliar de electrões independentes ou, de forma equivalente, que existe v_{KS} , para a densidade dependente do tempo do sistema interactuante. Por conseguinte, se forem $\{\psi_i(\vec{r}, t) \mid i = 1, \dots, N\}$ as orbitais que compõem o determinante de Slater do sistema de electrões independentes¹⁶, a densidade do sistema interactuante pode escrever-se

$$\rho(\vec{r}, t) = \sum_{i=1}^N |\psi_i(\vec{r}, t)|^2, \quad (2.74)$$

em que as orbitais $\{\psi_i(\vec{r}, t)\}$ satisfazem as equações de Kohn-Sham dependentes do tempo (cf. Fig. 2.5)

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla^2 + v_{\text{KS}}[\rho, \Psi_i^{\text{KS}}](\vec{r}, t) \right] \psi_i(\vec{r}, t) = i \frac{\partial}{\partial t} \psi_i(\vec{r}, t). \quad (2.75)$$

De forma análoga ao procedimento anteriormente seguido, v_{KS} é decomposto em três termos

$$v_{\text{KS}}[\rho, \Psi_i^{\text{KS}}](\vec{r}, t) = v_{\text{ext}}[\rho, \Psi_i](\vec{r}, t) + \int d\vec{r}' \frac{\rho(\vec{r}', t)}{|\vec{r} - \vec{r}'|} + v_{\text{xc}}[\rho, \Psi_i, \Psi_i^{\text{KS}}](\vec{r}, t), \quad (2.76)$$

em que o primeiro é o (verdadeiro) potencial externo dependente do tempo, isto é, aquele a que os electrões interactuantes estão sujeitos, e o segundo é o potencial de Hartree dependente do tempo e representa, como já se viu, a interacção de distribuições de carga clássicas. A dependência funcional do potencial externo não é, na verdade, de grande relevância prática, dado que para cálculos reais ele é escrito descrevendo explicitamente a física do problema. Por último, o potencial de troca e correlação $v_{\text{xc}}[\rho, \Psi_i, \Psi_i^{\text{KS}}](\vec{r}, t)$ tem que ser, na prática, aproximado e é definido à custa de (2.76). De facto, este termo, adicionado ao potencial de Hartree, é igual à diferença entre o potencial que resulta na densidade $\rho(\vec{r}, t)$ num sistema de electrões independentes que parte do estado Ψ_i^{KS} , e o potencial que produz a mesma densidade para um sistema real de electrões interactuantes que parte do estado Ψ_i .

A aplicação das ideias descritas inicia-se na escolha de um conjunto (que, em geral, pode ser seleccionado a partir de uma infinidade de possibilidades) de N orbitais ortonormalizadas $\{\psi_i(\vec{r}, t_0)\}$ que reproduzam a densidade do estado inicial $\rho(\vec{r}, t_0)$ (e a sua primeira derivada em ordem ao tempo). As equações de Kohn-Sham dependentes do tempo (2.75) propagam depois estas orbitais iniciais.

O funcional de troca e correlação tem "memória", isto é, depende não só da densidade, mas também da sua história. Contudo, a grande maioria dos funcionais em utilização nos dias que correm não exibem dependência alguma nessa "memória". São ditos adiabáticos, no sentido em que a densidade no instante t é simplesmente injectada num funcional para

¹⁶Para o caso particular de Ψ_i^{KS} , ou seja, para $t = t_0$, as orbitais escrevem-se $\{\psi_i(\vec{r}, t_0) \mid i = 1, \dots, N\}$.

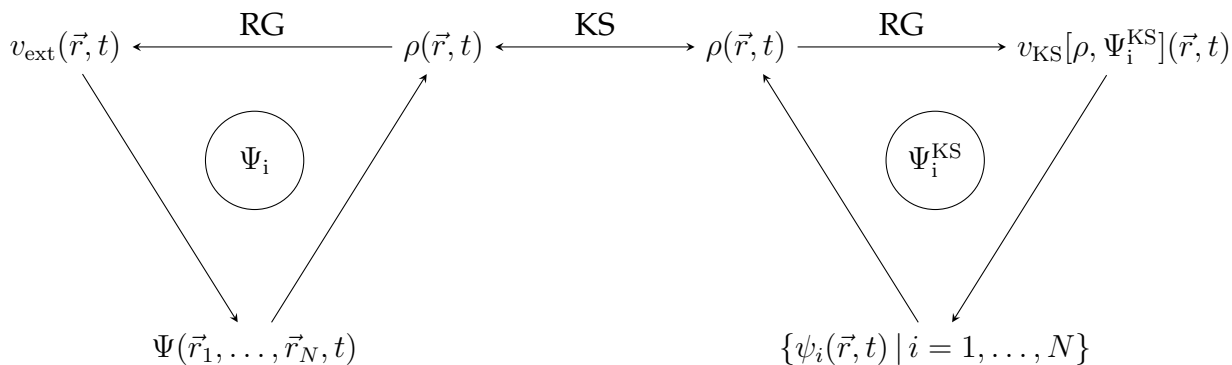


FIGURA 2.5: Ao admitir a existência de um sistema auxiliar de partículas independentes com a mesma densidade dependente do tempo que o sistema interactuante, o método de Kohn-Sham permite obter a densidade do sistema real a partir de orbitais de partícula única. O único entrave é a forma do potencial $v_{\text{KS}}[\rho, \Psi_i^{\text{KS}}](\vec{r}, t)$, em particular a do termo de troca e correlação, que é, em rigor, desconhecida.

o estado fundamental [64], isto é

$$v_{\text{xc}}^{\text{adia}}[\rho](\vec{r}, t) = v_{\text{xc}}^{\text{GS}}[\rho](\vec{r}, t). \quad (2.77)$$

Esta generalização para o caso dependente do tempo de funcionais já conhecidos para a teoria do estado fundamental deu origem à aproximação adiabática da densidade local (ALDA), à aproximação adiabática generalizada de gradientes (AGGA) e a extensões adiabáticas de funcionais híbridos. De notar ainda que a aproximação mais simples, a ALDA, de validade à partida restringida a sistemas de variação lenta tanto no espaço como no tempo, produz bons resultados mesmo para sistemas que se afastam deste limite [64].

2.5.3 Espectros de absorção

Um "espectro" é o nome que normalmente se dá à resposta de uma amostra quando sujeita a uma perturbação, que pode ser provocada por um campo electromagnético externo (fotões) ou por outras partículas (p. ex. electrões ou neutrões). Esta resposta é habitualmente representada em função da energia (ou, de forma equivalente, da frequência ou do comprimento de onda) da partícula incidente. Nesta secção o foco está sobre o cálculo da resposta óptica de um dado sistema de interesse.

A abordagem proposta passa por aplicar o método de Kohn-Sham da subsecção 2.3.2 para obter as orbitais do estado fundamental $\{\psi_i(\vec{r}) \mid i = 1, \dots, N\}$ e a respectiva densidade electrónica $\rho(\vec{r})$. De seguida, conforme sugerido por Yabana e Bertsch [65], excitam-se todas as frequências do sistema por aplicação de uma pequena perturbação instantânea κ às orbitais de partícula única que se acabaram de obter

$$\psi_i(\vec{r}, t_0) = e^{i\kappa z} \psi_i(\vec{r}). \quad (2.78)$$

O pequeno momento κ é aplicado de forma coerente a todos os electrões do sistema e tem como consequência a indução de um momento dipolar eléctrico no sistema à medida que este evolui no tempo. Uma vez na posse das orbitais $\{\psi_i(\vec{r}, t_0) \mid i = 1, \dots, N\}$ e da densidade electrónica $\rho(\vec{r}, t_0)$ que, repare-se, é a densidade do estado fundamental, pode depois recorrer-se à equação (2.75) para propagar o sistema no tempo, enquanto se regista a evolução do momento dipolar eléctrico. Este procedimento é repetido para cada uma das três direcções do espaço cartesiano, o que permite obter o tensor polarizabilidade dinâmica à custa da transformada de Fourier do momento dipolar eléctrico do sistema [64]

$$\alpha_{xz}(\omega) = \frac{1}{\kappa} \int dt e^{i\omega t} [d_{xz}(t) - d_{xz}(t_0)], \quad (2.79)$$

em que $\alpha_{xz}(\omega)$ é a polarizabilidade dinâmica segundo a direcção x para radiação polarizada segundo z e de frequência ω . Já $[d_{xz}(t) - d_{xz}(t_0)]$ é a componente segundo x do momento dipolar eléctrico induzido¹⁷ no sistema por radiação polarizada segundo z . Os elementos do tensor da secção eficaz de absorção óptica definem-se

$$\sigma_{xz}(\omega) = \frac{4\pi\omega}{c} \text{Im } \alpha_{xz}(\omega), \quad (2.80)$$

onde c é a velocidade da luz no vácuo e Im designa a parte imaginária do seu argumento. O espectro pode depois ser obtido a partir da expressão para a função da força do dipolo (*dipole strength function*), que se escreve

$$S(\omega) = \frac{c}{2\pi^2} \left[\frac{1}{3} \text{Tr } \sigma(\omega) \right], \quad (2.81)$$

em que $\text{Tr } \sigma(\omega)$ é o traço do tensor da secção eficaz de absorção.

As considerações que se acabaram de tecer são válidas até primeira ordem de teoria de perturbações, ou seja, têm em consideração apenas termos lineares no campo perturbativo. Para além disso, assume-se que κ é suficientemente pequeno, isto é, que o comprimento de onda é suficientemente grande quando comparado com as distâncias interatómicas, para que o problema se encontre no regime de aplicabilidade da aproximação dipolar.

2.6 Tempos de vida de fluorescência

Há cerca de um século, Einstein derivou uma forma de relacionar quantitativamente os fenómenos de absorção, emissão estimulada e emissão espontânea baseando-se apenas na compreensão intuitiva que tinha dos processos envolvidos [66]. Aqui, o objectivo é usar

¹⁷Repare-se como $d_{xz}(t_0)$ é igual ao momento dipolar eléctrico antes de se aplicar a perturbação, dado que $\rho(\vec{r}, t_0)$ é ainda a densidade do estado fundamental.

essas ideias para se perceber o método derivado por Bolton e Archer [18] para extrair o tempo de vida de fluorescência das moléculas a partir, exclusivamente, do seu espectro de absorção.

A Fig. 2.6 mostra a forma típica das bandas de energia e dos espectros de absorção e fluorescência de uma molécula. Todos os estados vibracionais correspondentes à superfície de Born-Oppenheimer do estado fundamental caem dentro da diferença de energia E_g correspondente à transição entre os estados vibracionais de menor energia para as duas superfícies (0-0). Assim sendo, é de esperar que o espectro de absorção fique para lá de ν_g (a frequência que corresponde a E_g) e o de fluorescência se situe em frequências inferiores a ν_g . É normal que a excitação relaxe sensivelmente a configuração da molécula. Por este motivo, as superfícies de energia potencial e as frequências vibracionais afastam-se ligeiramente do comportamento do estado fundamental. Nesse caso, o máximo de fluorescência está ainda mais desviado para o vermelho.

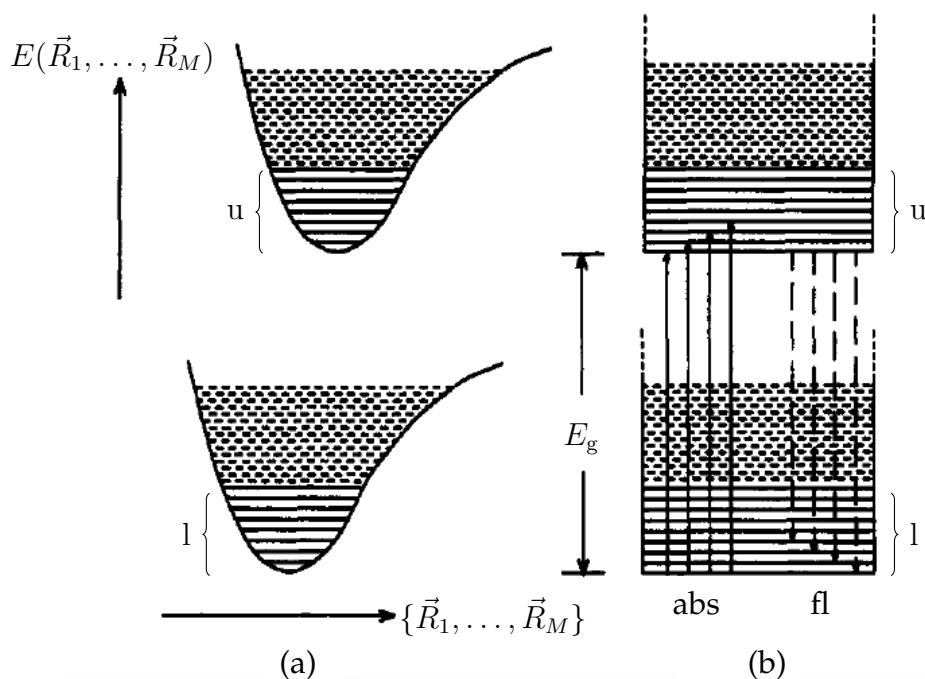


FIGURA 2.6: Sistema de bandas de uma molécula. Em (a) apresentam-se as superfícies de energia potencial em que os núcleos, na aproximação de Born-Oppenheimer, se movem. A curva de menor energia corresponde ao estado fundamental electrónico para diferentes arranjos nucleares $\{\vec{R}_1, \dots, \vec{R}_M\}$. Já aquela de energia superior, é a curva equivalente para o primeiro estado excitado electrónico. Em (b) mostram-se as transições que contribuem mais decisivamente para o espectro de absorção à temperatura ambiente. Adaptado de Bolton e Archer [18].

Uma vez que, à temperatura ambiente, a separação entre níveis vibracionais consecutivos é bastante superior a kT , com k a constante de Boltzmann e T a temperatura absoluta, a maioria das transições na absorção têm origem nos níveis $\nu = 0$ do estado fundamental, enquanto as transições na fluorescência têm origem nos níveis $\nu = 0$ do estado excitado (cf. Fig. 2.6). Assim, se as frequências vibracionais dos estados fundamental e excitado

forem idênticas, os espectros de absorção e fluorescência devem exibir simetria de reflexão em torno de ν_g , a frequência associada precisamente a essa transição (0-0). Aqui, far-se-á justamente essa suposição, isto é, que os espectros de absorção e fluorescência são a imagem no espelho um do outro e que, portanto, se pode extrair toda a informação através dos dados da absorção. Tal tem a óbvia desvantagem de negligenciar o verdadeiro espectro de fluorescência e a informação que este contém acerca da superfície de Born-Oppenheimer do estado fundamental.

Nestas condições, o coeficiente de Einstein para a transição $l0 \rightarrow ub$ (absorção, cf. Fig 2.6) deve ser o mesmo que para a transição "simétrica" $u0 \rightarrow lb$ (fluorescência, cf. Fig 2.6). Esta condição, denominada condição de Birks [67], pode escrever-se

$$g_l B_{lu}(\nu_g + \delta) = g_u B_{ul}(\nu_g - \delta), \quad (2.82)$$

em que g_l é a degenerescência do estado vibracional de energia mais baixa ($\nu = 0$) do estado fundamental e g_u é a degenerescência do estado vibracional equivalente para o estado excitado. A frequência δ é tal que $\nu_a = \nu_{l0 \rightarrow ub} = \nu_g + \delta$ está na região espectral de absorção e $\nu_f = \nu_{u0 \rightarrow lb} = \nu_g - \delta$ está na região espectral de fluorescência. $B_{lu}(\nu)$ é o coeficiente de Einstein para a absorção e $B_{ul}(\nu)$ o coeficiente de Einstein para a emissão estimulada. Usando a relação entre o coeficiente de Einstein para a emissão espontânea A_{ul} e para a emissão estimulada B_{ul} ⁽¹⁸⁾

$$A_{ul} = \frac{8\pi h n^3 \nu_{ul}^3}{c^3} B_{ul}, \quad (2.83)$$

em que h é a constante de Planck e n o índice de refração do meio, que aqui se assume independente da frequência, pode reescrever-se (2.82) como

$$B_{lu}(\nu_g + \delta) = \frac{A_{ul}(\nu_g - \delta) c^3}{8\pi h n^3 (\nu_g - \delta)^3} \frac{g_u}{g_l}. \quad (2.84)$$

A taxa de geração de moléculas excitadas pode escrever-se

$$\frac{dN_u}{dt} = B_{lu}(\nu) \rho_{bb}(\nu) N_l d\nu, \quad (2.85)$$

em que N_u e N_l são as densidades de moléculas no estado electrónico excitado e fundamental, respectivamente. $\rho_{bb}(\nu)$ é a densidade de energia da radiação por unidade de frequência e é dada, para um corpo negro, pela distribuição de Planck,

$$\rho_{bb}(\nu) = \frac{8\pi h n^3 \nu^3}{c^3} \frac{1}{e^{h\nu/kT} - 1}. \quad (2.86)$$

¹⁸Dado que não é habitual na literatura usarem-se unidades atómicas neste domínio da física, também aqui se evitou o seu uso. Repare-se ainda que B é dado em unidades de $[J^{-1}m^3s^{-1}]$ e A em $[s^{-1}Hz^{-1}]$. Assim, em relação às unidades "habituais", estas quantidades são aqui dadas por unidade de frequência.

Por outro lado, a mesma taxa pode escrever-se, em termos do coeficiente de absorção $\alpha(\nu)$ [m^{-1}] e do fluxo de fotões incidentes $j(\nu)$ [fotões $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{Hz}^{-1}$], como

$$\frac{dN_u}{dt} = \alpha(\nu)j(\nu) d\nu. \quad (2.87)$$

Em termos da secção eficaz de absorção¹⁹, o coeficiente de absorção escreve-se

$$\alpha(\nu) = \sigma(\nu)N_l, \quad (2.88)$$

e, se for c/n a velocidade de um fotão, pode escrever-se

$$j(\nu) = \frac{\rho_{\text{bb}}(\nu)}{h\nu} \frac{c}{n}. \quad (2.89)$$

Inserindo estas relações em (2.87), obtém-se

$$\frac{dN_u}{dt} = \frac{\sigma(\nu)c}{hn\nu} \rho_{\text{bb}}(\nu)N_l d\nu. \quad (2.90)$$

Comparando (2.85) com (2.90) pode identificar-se

$$B_{lu}(\nu) = \frac{\sigma(\nu)c}{hn\nu}, \quad (2.91)$$

que se pode agora substituir em (2.84):

$$\frac{\sigma(\nu_g + \delta)c}{hn(\nu_g + \delta)} = \frac{A_{ul}(\nu_g - \delta)c^3}{8\pi hn^3(\nu_g - \delta)^3} \frac{g_u}{g_l}, \quad (2.92)$$

que rearranjando e substituindo $\nu_a = \nu_g + \delta$ e $\nu_f = \nu_g - \delta = 2\nu_g - \nu_a$ produz

$$A_{ul}(\nu_f) = A_{ul}(2\nu_g - \nu_a) = \frac{8\pi n^2}{c^2} \frac{g_l}{g_u} \frac{(2\nu_g - \nu_a)^3}{\nu_a} \sigma(\nu_a). \quad (2.93)$$

Como $A_{ul}(\nu_f)$ é dado por unidade de frequência, o tempo de vida de fluorescência τ é obtido não pela simples inversão deste coeficiente, mas pelo inverso da sua integral sobre toda a banda de absorção:

$$\tau^{-1} = \int d\nu_a A_{ul}(2\nu_g - \nu_a) = \frac{8\pi n^2}{c^2} \frac{g_l}{g_u} \int d\nu_a \frac{(2\nu_g - \nu_a)^3}{\nu_a} \sigma(\nu_a). \quad (2.94)$$

A expressão (2.94) pode agora ser avaliada usando valores experimentais ou teóricos para o índice de refração do meio e para a secção eficaz de absorção. Evidentemente, a aproximação dada para o tempo de vida será tanto melhor quanto melhor a relação de simetria entre os espectros de absorção e fluorescência.

¹⁹Em que, em termos do tensor que se discutiu na subsecção 2.5.3, a grandeza escalar $\sigma(\nu)$ introduzida na equação (2.88) é igual a $\frac{1}{3} \text{Tr} \sigma(\nu)$.

Capítulo 3

Simulando as coenzimas NADH e FAD

3.1 Visão geral da simulação

O objectivo deste capítulo é expor as diferentes etapas da simulação levada a cabo, bem como os resultados obtidos em cada uma dessas fases. Contudo, para que se possa delinear o trajecto a seguir até à obtenção dos espectros finais, é indispensável, em primeiro lugar, conhecer com rigor as moléculas que se pretendem estudar. A Fig. 3.1 expõe a estrutura da coenzima dinucleótido de adenina nicotinamida (NADH) na sua forma protonada.

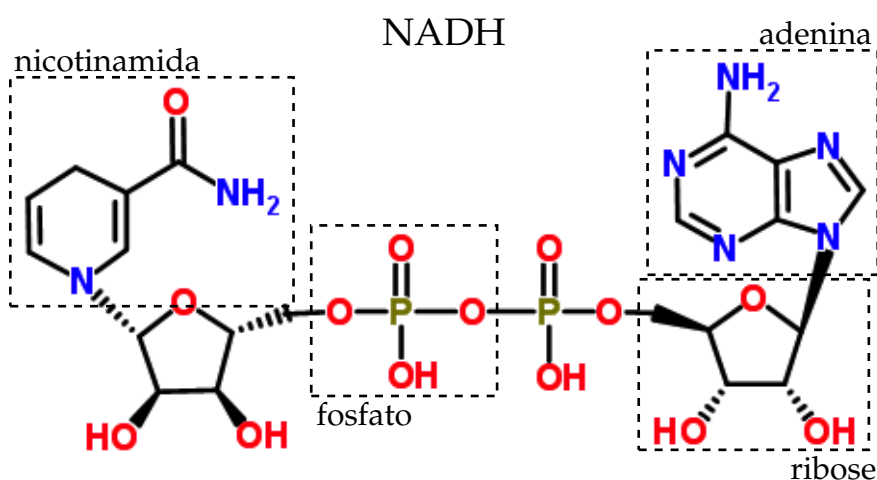


FIGURA 3.1: Estrutura molecular da coenzima NADH, $C_{21}H_{29}N_7O_{14}P_2$. Mostram-se ainda a adenina, a nicotinamida, uma das riboses e um dos grupos fosfato que compõem a molécula. Adaptado de ChemSpider [68].

A molécula é composta por cinco espécies atómicas distintas: hidrogénio (H), carbono (C), azoto (N), oxigénio (O) e fósforo (P), o mesmo acontecendo com a coenzima dinucleótido¹ de adenina flavina (FAD) representada na Fig. 3.2. Nas suas estruturas é possível

¹Na verdade, e apenas como curiosidade, o FAD não é um dinucleótido no sentido estrito do termo [69]. De facto, um nucleótido é formado a partir de pelo menos um grupo fosfato e de um nucleósido. Estes, por sua vez, são constituídos por uma base azotada, de que são exemplo a adenina ou a flavina, e por uma molécula de açúcar com cinco átomos de carbono, a ribose ou a desoxirribose. Ora, acontece que flavina está na realidade ligada a um álcool, o ribitol, que resulta da redução da ribose. Deste modo, o nome da molécula é algo enganador.

identificar vários grupos funcionais, em particular aqueles que são responsáveis pela sua cor, os cromóforos. Estes podem ser definidos como as entidades moleculares em que a transição electrónica responsável por uma dada banda espectral se encontra aproximadamente localizada [70]. Acontece que os cromóforos orgânicos são caracterizados pela presença de sistemas conjugados π [71]. Estas ligações conjugadas podem, usualmente, ser representadas por ligações simples e duplas alternadas, tal como habitualmente se faz, por exemplo, para a estrutura de ressonância do benzeno. Para o caso do FAD, os grupos da adenina e da flavina são, portanto, facilmente identificáveis como os seus dois grupos cromóforos. Já para o caso do NADH, podem tecer-se algumas considerações adicionais que certamente ajudarão a esclarecer a relevância do papel desempenhado pelos cromóforos nas propriedades espectroscópicas das moléculas.

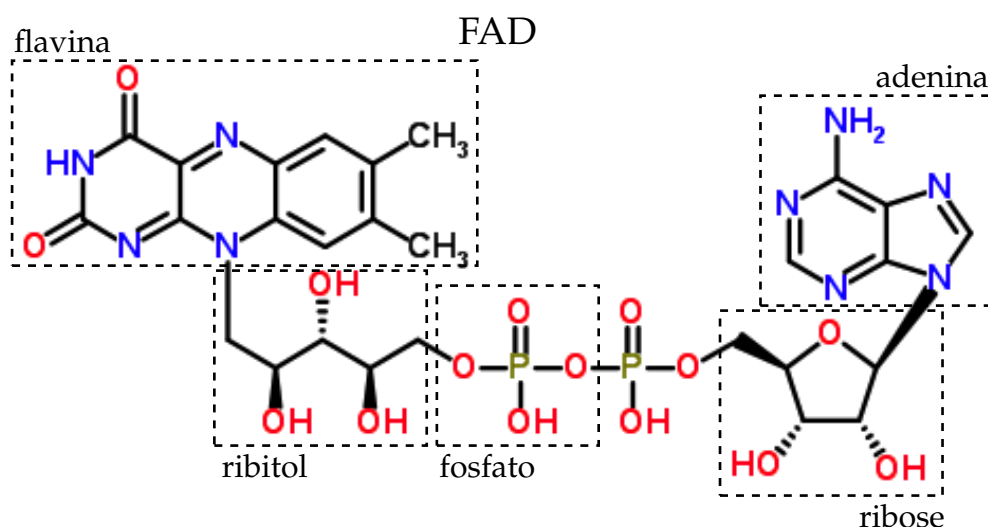


FIGURA 3.2: Estrutura molecular da coenzima FAD, $C_{27}H_{33}N_9O_{15}P_2$. Assinalam-se ainda a adenina, a flavina, a ribose, o ribitol e um dos grupos fosfato que compõem a molécula. Adaptado de ChemSpider [72].

Quando a molécula de NAD^+ é reduzida, o anel de piridina perde a sua aromaticidade (comparar Fig. 3.1 e Fig. 3.3) e há uma alteração das suas propriedades espectroscópicas [73]. Com efeito, tanto a adenina como a nicotinamida têm máximos de absorção para 260 nm, o que confere ao NAD^+ uma banda de absorção intensa nesta região. A perda das propriedades cromóforas da nicotinamida aquando da redução implica uma quebra na intensidade de absorção nos 260 nm e o aparecimento de um novo pico nos 340 nm. A Fig. 3.4 mostra os espectros de absorção da adenina, do NAD^+ e do NADH. Esta característica dos grupos cromóforos reterem a sua identidade mesmo quando inseridos em moléculas de dimensões superiores² é o que torna estes sistemas em particular e as moléculas em que estão inseridos tão interessantes do ponto de vista das propriedades espectrais.

²Tal não seria verdade se os cromóforos estivessem ligados por um sistema conjugado π , circunstâncias em que o sistema poderia ser tratado como apenas um único cromóforo e a identidade individual dos cromóforos iniciais se desvaneceria.

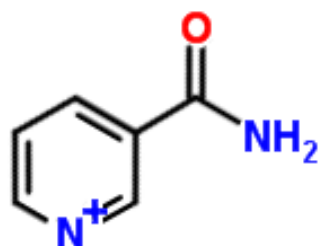


FIGURA 3.3: O anel de piridina (o único anel visível na figura) do grupo nicotinamida exibe, no NAD^+ , um sistema de ligações conjugadas que se perde aquando da redução a NADH . Adaptado de ChemSpider [74].

As coenzimas foram simuladas na sua forma protonada, tal como se apresentam nas Figs. 3.1 e 3.2. Não obstante, é essencial reter que, ao pH fisiológico [7.0–7.4] [75], o NADH se apresenta maioritariamente como um anião duplamente carregado, $\text{NADH}(2-)$, e o FAD como um anião triplamente carregado, $\text{FAD}(3-)$. A circunscrição do estudo a moléculas electricamente neutras permite, por enquanto, colocar de parte eventuais obstáculos que possam advir da localização de carga nos respectivos aniões [76]. Para além disso, os cálculos foram levados a cabo supondo as moléculas isoladas, isto é, em fase gasosa, não se incluindo, por conseguinte, quaisquer efeitos de polarização de solvente.

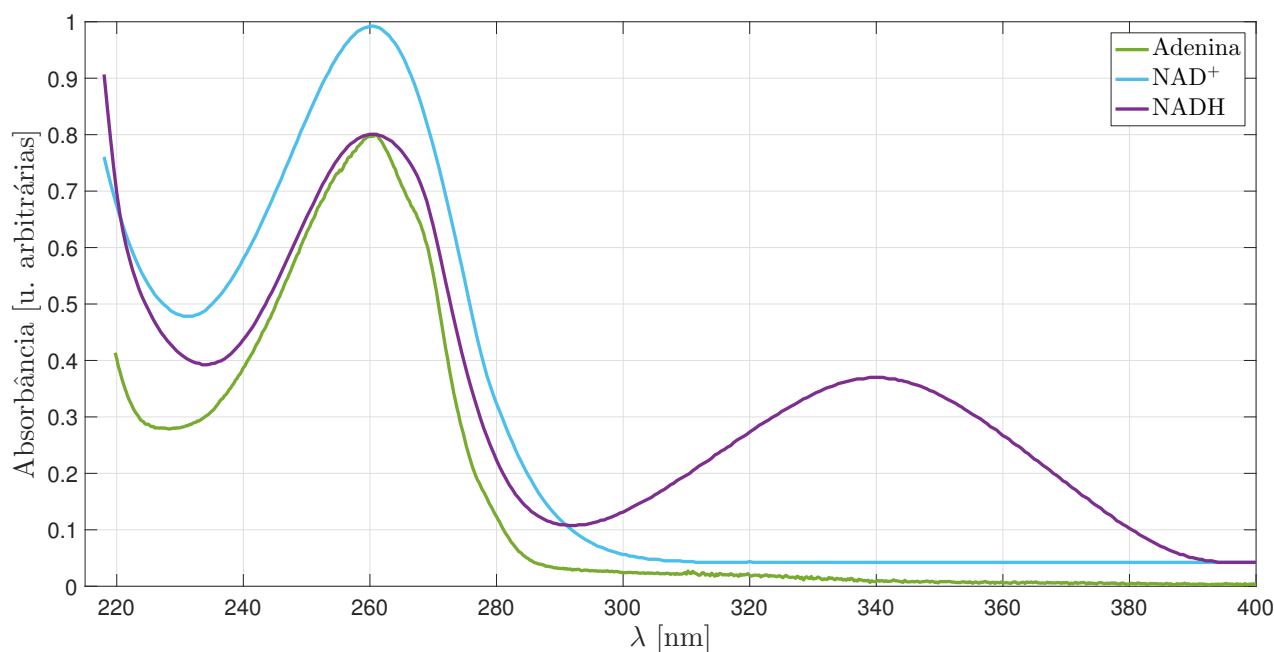


FIGURA 3.4: Os espectros de absorção das moléculas NAD^+ e NADH foram extraídos de Nelson et al. [77] e o da adenina de Dixon et al. [78] já em função do comprimento de onda, λ . O espectro da adenina foi ainda renormalizado para que o seu pico nos 260 nm coincidissem, em altura, com o pico correspondente do NAD^+ . Como a redução do NAD^+ a NADH é acompanhada do aparecimento de um pico nos 340 nm, a evolução dessa mesma reacção pode ser acompanhada registando a absorção nessa região espectral [77].

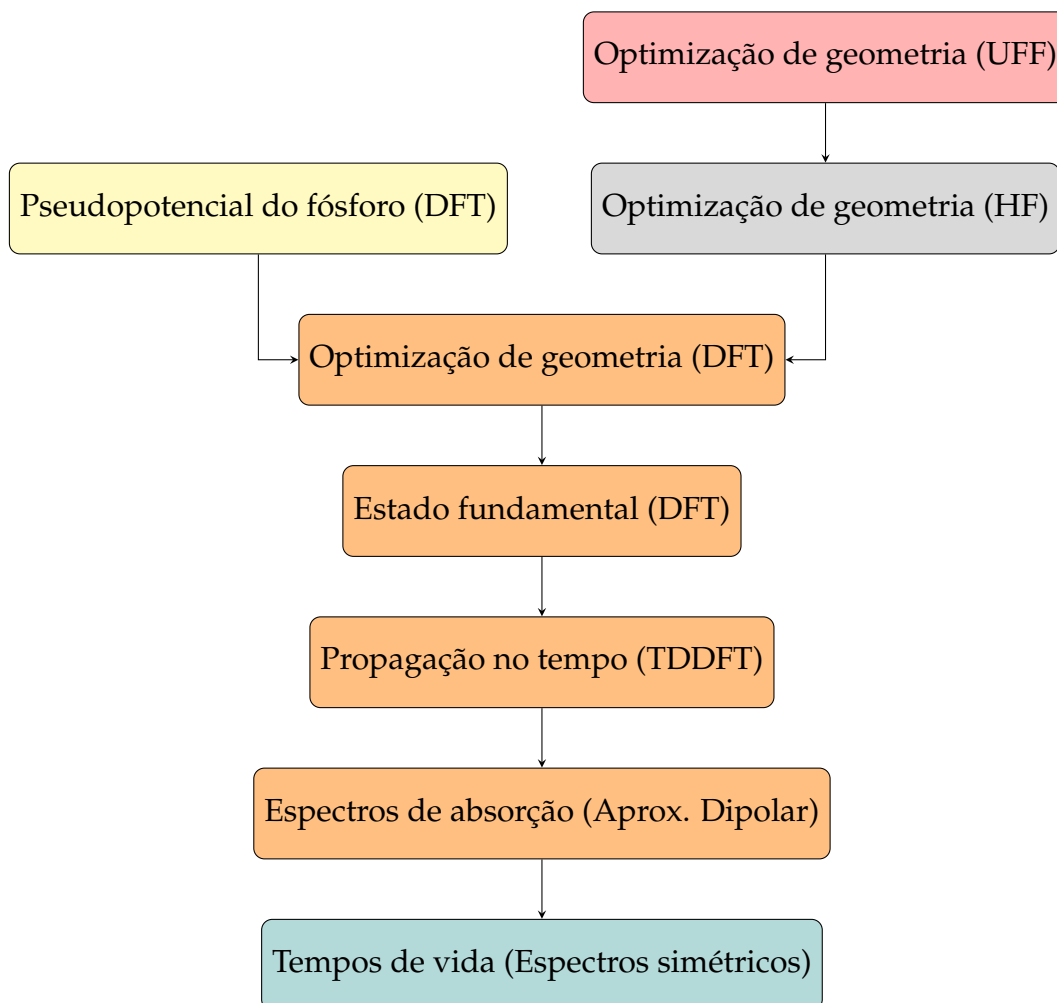


FIGURA 3.5: Para cada etapa da simulação, escreve-se ainda o método ou aproximação fundamental que a tornou possível (ver corpo do texto). O código de cores é tal que a cada uma corresponde um programa diferente: rosa para o Avogadro, cinzento para o MOPAC[®], amarelo para o APE, laranja para o Octopus e azul para o MATLAB[®].

A Fig. 3.5 resume a sequência de passos que culminaram na obtenção dos espectros de absorção e tempos de vida de fluorescência. Em primeira instância, otimizou-se a geometria de ambas as moléculas usando três abordagens distintas: simples mecânica molecular (campo de forças universal - UFF) utilizando o Avogadro [79, 80]; método de Hartree-Fock (HF) utilizando o MOPAC[®] [81]; e Teoria dos Funcionais da Densidade (DFT) utilizando o Octopus [82–85]. Após determinação do estado fundamental ainda em DFT e também com o Octopus, fez-se uso da Teoria dos Funcionais da Densidade Dependente do Tempo (TDDFT) para obter a evolução do momento dipolar do sistema com o tempo ainda com o mesmo programa. O Octopus providencia ainda uma pequena ferramenta auxiliar que permite a obtenção directa dos espectros de absorção. Contudo, o código original não inclui um pseudopotencial para o fósforo, ao contrário do que acontece para as outras espécies atómicas das moléculas em causa. Assim, utilizou-se o APE [58, 86] para gerar o dito pseudopotencial, essencial à construção pelo Octopus do potencial efectivo de Kohn-Sham onde se movem os electrões de valência das moléculas. Por último, a análise numérica do

espectro permitiu a obtenção dos tempos de vida, admitindo que os espectros de absorção e fluorescência são a imagem no espelho um do outro. Este curto passo e todos os outros que tenham envolvido tratamento de dados ou geração de gráficos foram executados usando o MATLAB® [87].

3.2 O pseudopotencial do fósforo

O pseudopotencial do fósforo foi obtido segundo o esquema de Troullier-Martins, tal como delineado na subsecção 2.4.2. O programa utilizado, o APE, é um gerador de pseudopotenciais atômicos construído no quadro da Teoria dos Funcionais da Densidade. Uma peça fundamental da teoria é, como se viu, o funcional de troca e correlação. A oferta neste campo é variadíssima, dado que o APE recorre à biblioteca libxc [88], uma vasta colecção de aproximações para o funcional de troca e correlação. Os cálculos aqui efectuados utilizaram sempre a LDA e, em particular para o termo de correlação, a formulação de Perdew e Wang [89].

Em primeiro lugar, obtêm-se as orbitais de Kohn-Sham com todos os electrões, em particular a sua parte radial $R_{nl}^{\text{AE}}(r)$. Neste caso, a carga nuclear é $Z = 15$ e, por conseguinte, a configuração electrónica escreve-se ${}_{15}\text{P}: [\text{Ne}] 3s^2 3p^3$. A Fig. 3.6 mostra a densidade de probabilidade radial associada às orbitais de valência obtidas num cálculo com todos os electrões.

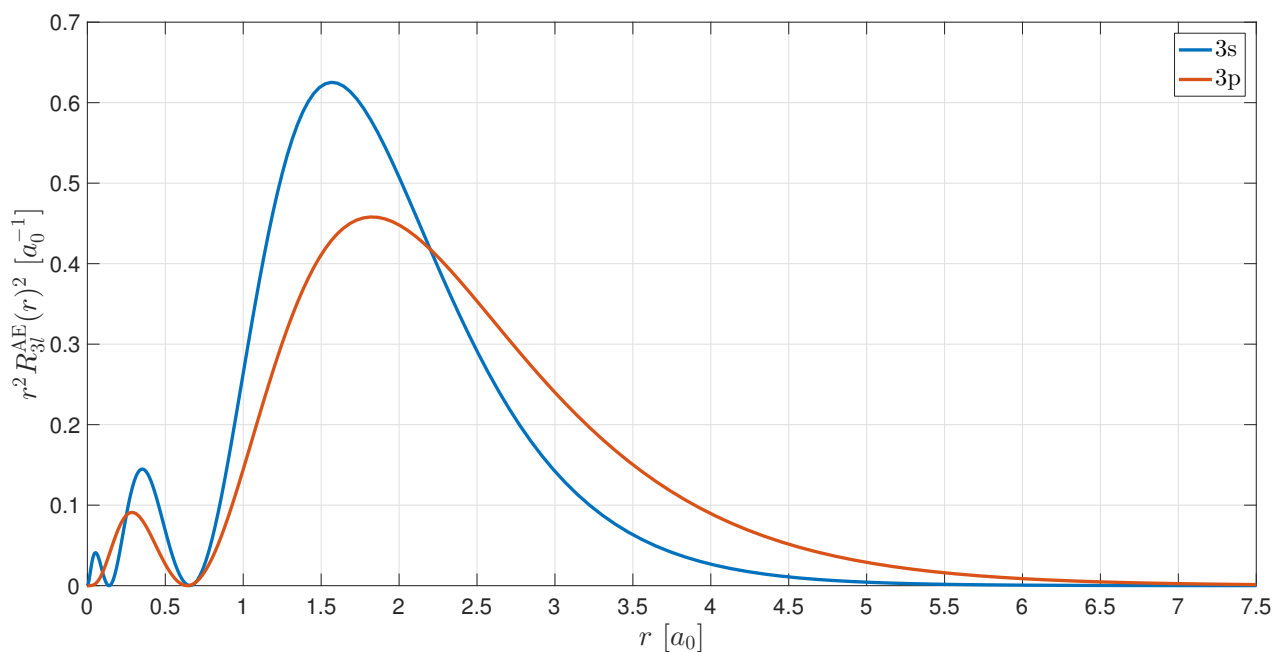


FIGURA 3.6: Densidade de probabilidade radial para as orbitais de valência do fósforo obtidas num cálculo com todos os electrões (AE).

Dado que se usarão as verdadeiras funções de onda $R_{3l}^{\text{AE}}(r)$ para construir as pseudo-funções de onda $R_l^{\text{PP}}(r)$ e, em última instância, o pseudopotencial $w_l(r)$, é conveniente gerar também a função de onda radial correspondente às orbitais 3d, pois tal assegura uma componente de momento angular adicional na soma, idealmente infinita, da expressão (2.57). Acontece, no entanto, que os estados 3d são não ligados e a respectiva função de onda radial, ao invés de tender a zero no infinito, diverge. A representação da dita função pode ser encontrada no apêndice A.

As pseudo-funções de onda podem agora ser obtidas. A Fig. 3.7 mostra a densidade de probabilidade radial que corresponde a cada uma dessas funções. Repare-se na sua suavidade. Assinalam-se ainda os raios de corte r_c^l , limite a partir do qual as funções reproduzem, por construção, aquelas da Fig. 3.6. Mais uma vez, a função respectiva para os estados 3d pode ser encontrada no apêndice A.

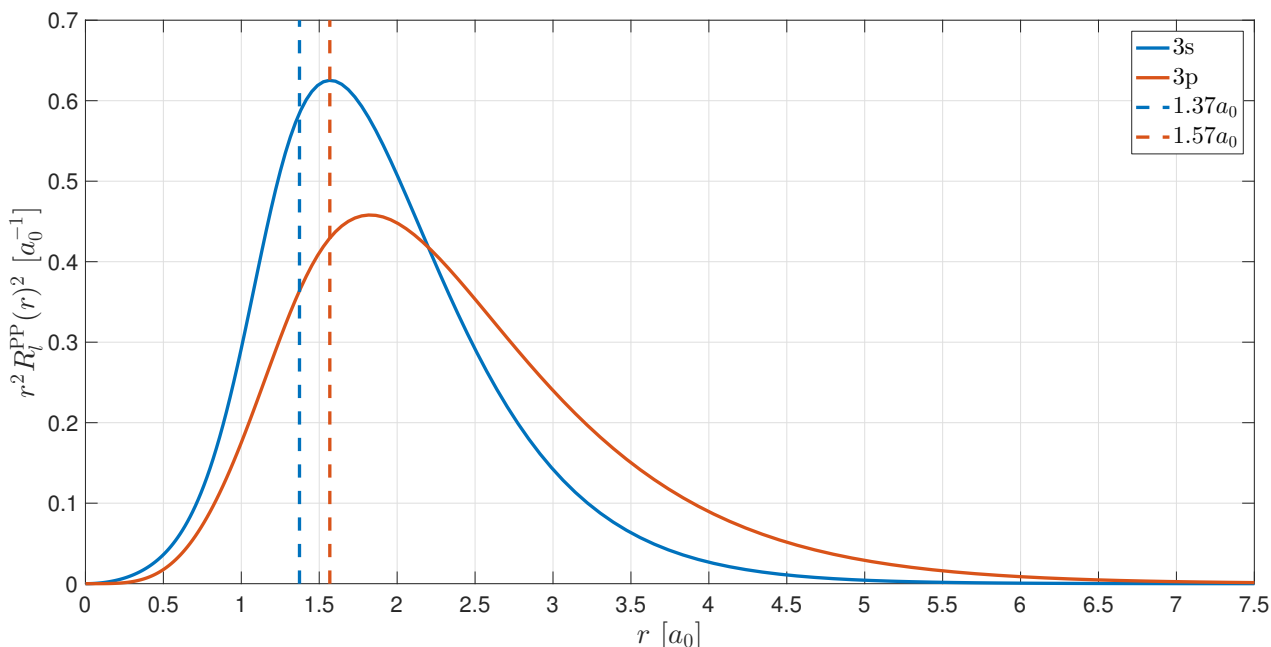


FIGURA 3.7: Densidade de probabilidade radial correspondente às pseudo-funções de onda obtidas pelo método de Troullier-Martins. Os raios de corte para cada uma das funções estão também demarcados.

Uma vez na posse das pseudo-funções de onda, trata-se apenas de recorrer às equações (2.61) e (2.62) para obter o pseudopotencial já na sua forma final, não blindada. É este potencial, em conjunto com os das outras espécies atômicas já incluídos no Octopus, que vai permitir a construção do potencial externo $v_{\text{ext}}(\vec{r})$ em que os electrões de valência das moléculas se movem. A Fig. 3.8 mostra os resultados obtidos.

A suavidade do pseudopotencial encontrado deve-se, em grande parte, à escolha dos raios de corte. De facto, estes foram seleccionados por forma a favorecer a suavidade do pseudopotencial, sem no entanto descurar a sua transferibilidade e capacidade de produzir resultados realistas. Um dos testes que se discutiu na subsecção 2.4.3 tinha que

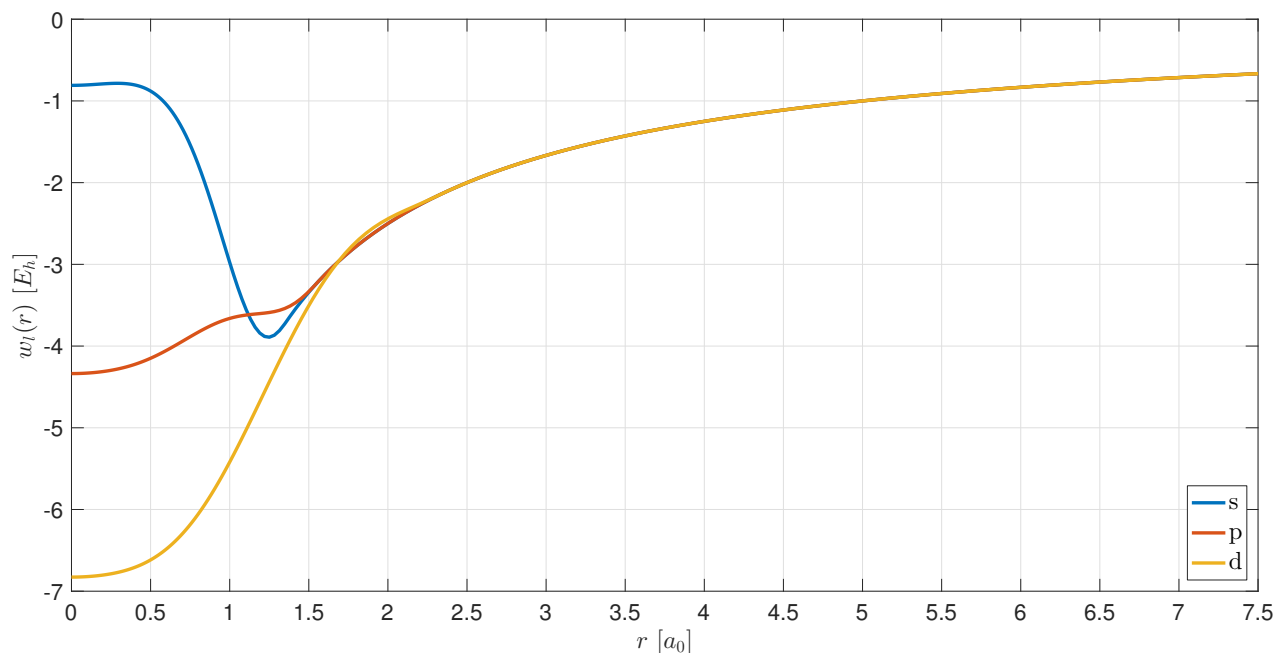


FIGURA 3.8: Pseudopotencial gerado para o fósforo. A suavidade das diferentes componentes angulares, uma característica dos pseudopotenciais de Troullier-Martins, está bem evidente.

ver com a coincidência das derivadas logarítmicas das verdadeiras funções de onda e das pseudo-funções de onda que, para energias próximas daquela para a qual se ajustou o pseudopotencial, deveria ser bastante boa. No APE, esta verificação é levada a cabo calculando as derivadas logarítmicas das funções de onda, como função do valor próprio ε_l , tanto para o potencial com todos os electrões, como para o pseudopotencial, para um raio superior aos raios de corte [90]. Neste caso, como o raio de corte para a função de onda 3d é $2.35a_0$, escolheu-se um raio de teste de $2.4a_0$. Repare-se na Fig. 3.9 como, de facto, se verifica a coincidência para valores de energia em redor dos valores próprios para os quais se ajustou o pseudopotencial (Tabela 3.1).

Estado	$\varepsilon_l [E_h]$
3s	-0.51231
3p	-0.20607
3d	0.00000

TABELA 3.1: Valores próprios associados às orbitais de valência do átomo de fósforo. Recorde-se que há degenerescência no número quântico m .

Realizou-se ainda um segundo teste que consistiu em comparar a energia de ionização obtida num cálculo com todos os electrões (AE), com aquela obtida num cálculo considerando apenas os electrões de valência sujeitos ao pseudopotencial (PP). Para o primeiro cálculo, utilizou-se novamente o APE, enquanto para o segundo se utilizou o Octopus. O Octopus recorre também à biblioteca libxc para providenciar uma vasta gama de funcionais de troca e correlação. Não obstante, em todos os cálculos efectuados com o dito

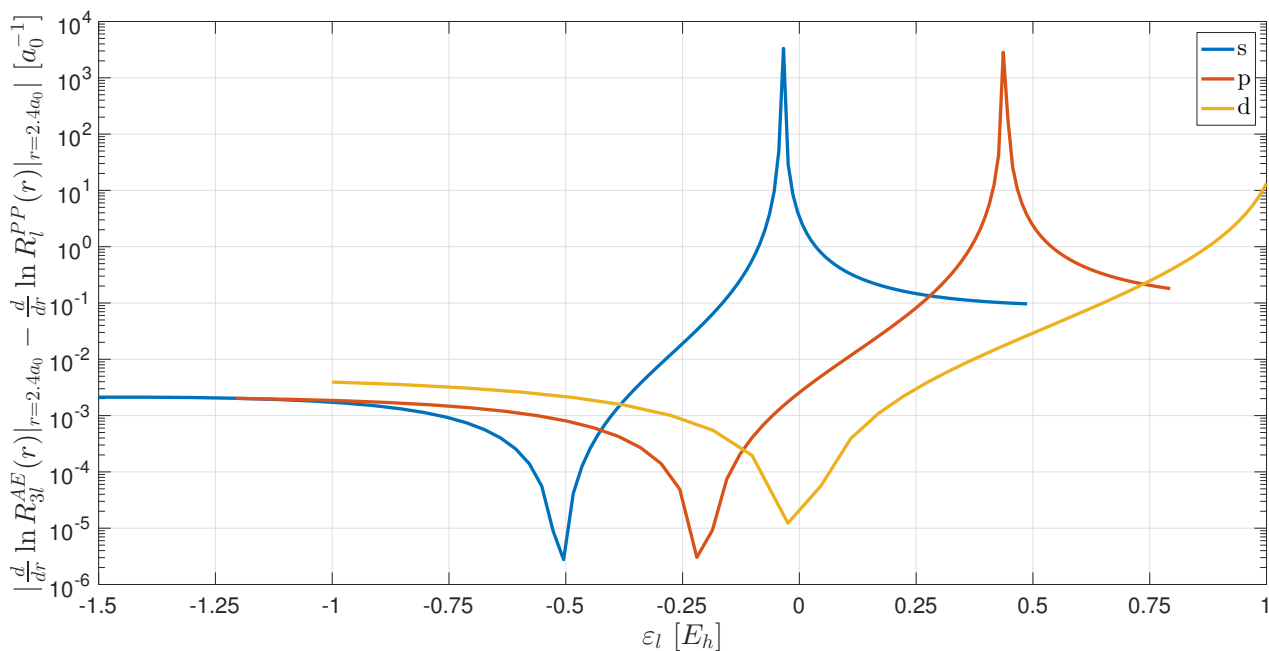


FIGURA 3.9: A figura representa, em escala logarítmica, o módulo da diferença entre as derivadas logarítmicas das verdadeiras funções de onda e das pseudo-funções de onda em função do valor próprio para um raio de teste de $2.4a_0$.

programa, e à semelhança do que se fez com o APE, utilizou-se sempre a LDA. Contudo, para o termo de correlação, empregou-se uma formulação distinta, por Perdew e Zunger [91]. A Tabela 3.2 mostra que os resultados obtidos são, de facto, compatíveis entre si.

E. Ionização (AE) [E_h]	E. Ionização (PP) [E_h]	Erro [%]
0.361136	0.361115	0.006

TABELA 3.2: Comparação das energias de ionização do fósforo obtidas por um cálculo com todos os electrões (AE) e por um cálculo apenas com os electrões de valência sujeitos ao pseudopotencial (PP). O erro é relativo ao cálculo efectuado com o potencial para todos os electrões.

Por último, comparação com pseudopotenciais disponíveis para utilização livre [92], permitiu estabelecer definitivamente os valores dos raios de corte a usar.

3.3 Optimizações de geometria

Optimizar a geometria de uma molécula é, no fundo, tentar encontrar o mínimo da superfície de Born-Oppenheimer do estado fundamental (cf. Fig. 2.6). Essa superfície é na realidade uma hipersuperfície, pois depende das coordenadas de todos os M núcleos do sistema. De facto, se se subtraírem os graus de liberdade de rotação e translação, facilmente se percebe que a energia do estado fundamental electrónico depende (parametricamente) de $3M - 6$ coordenadas. A tarefa de encontrar o mínimo absoluto é, pois,

extremamente difícil. Os algoritmos mais comuns procuram, assim, determinar a configuração de menor energia mais "próxima" da configuração inicial. Actualmente, há alguma variedade nos métodos de optimização disponíveis: descida mais íngreme, gradiente conjugado, Newton-Raphson, algumas variações destes, outros que utilizam aproximações da matriz Hessiana³ e ainda alguns mais recentes, como o FIRE [93].

O processo de optimização levado a cabo sobre cada uma das moléculas pode ser dividido em três grandes fases. Na primeira, utilizou-se o Avogadro para, no caso do NADH, gerar uma estrutura tridimensional a partir da estrutura bidimensional original [94, 95]. Este passo é conseguido à custa de um conjunto de regras, isto é, geometrias típicas, que o Avogadro extrai da biblioteca Open Babel [96] e aplica átomo a átomo por forma a conseguir gerar uma estrutura tridimensional. De seguida, e ainda usando o Avogadro, optimizou-se a geometria utilizando mecânica molecular, isto é, modelos de mecânica clássica aplicados a sistemas moleculares⁴. Neste contexto, aplicou-se o campo de forças universal (UFF), desenvolvido por Rappe et al. [97], cuja parametrização é feita, exclusivamente, à custa do elemento em causa, da sua hibridação e conectividade. O algoritmo de optimização seleccionado foi o método da descida mais íngreme. No caso da coenzima FAD, como a estrutura original tinha já informação tridimensional [98, 99], procedeu-se de imediato à optimização de geometria tal como descrita acima.

A segunda fase de optimização consistiu em fazer uso do MOPAC[®] que utiliza uma abordagem teórica distinta, o método de Hartree-Fock, e que, por conseguinte, dará origem a uma nova geometria. Para uma dada configuração molecular, as forças sobre cada núcleo podem ser calculadas pelo teorema de Hellmann-Feynman [100]. A minimização é pois levada a cabo usando um algoritmo implementado por Baker [101], que utiliza, além da energia e do seu gradiente (forças sobre os núcleos), estimativas locais da matriz Hessiana. É, no fundo, uma expansão em série de Taylor até segunda ordem da energia em torno de um dado ponto.

O MOPAC[®] utiliza orbitais atómicas para formar a base (finita) de funções espaciais de que se falou na subsecção 2.2.2. As orbitais moleculares são assim combinações lineares de orbitais atómicas (LCAO). Acontece que este programa utiliza métodos semi-empíricos para parametrizar e simplificar as integrais que surgem envolvendo as orbitais atómicas da base. Por exemplo, alguns métodos negligenciam todos os termos que envolvam o produto de orbitais atómicas, funções das coordenadas do mesmo electrão, pertencentes a átomos distintos. O hamiltoniano usado, o PM7, é uma derivação dos métodos desta família.

³A matriz Hessiana é uma matriz quadrada que contém as derivadas parciais de segunda ordem de uma função escalar. Descreve, portanto, a curvatura local de uma função de muitas variáveis.

⁴Por exemplo, é recorrente usar a energia potencial do oscilador harmónico para modelar a energia associada a uma ligação química entre dois átomos. Note-se ainda que, neste contexto clássico, não faz muito sentido pensar em superfícies de Born-Oppenheimer. Ainda assim, embora de diferente origem teórica, não se deixa de ter uma superfície de energia potencial para a qual se pretende encontrar um mínimo local.

A terceira e última fase de otimização foi conduzida pelo Octopus usando Teoria dos Funcionais da Densidade. Como já se mencionou, usou-se a LDA para aproximar o funcional de troca e correlação e, nomeadamente para o termo de correlação, a formulação de Perdew e Zunger [91]. O potencial externo, $v_{\text{ext}}(\vec{r})$, é construído à custa do pseudopotencial do fósforo e de todas as outras espécies atômicas que compõem as moléculas, tal como se viu na secção 3.1. Em cálculos em que os átomos se podem mover, é especialmente importante filtrar as componentes de Fourier dos pseudopotenciais de frequência mais elevada que a própria grelha de simulação (cf. Tabela 3.3). Com este propósito, usou-se o filtro proposto por Tafipolsky e Schmid [102].

Também nesta abordagem as forças sobre os núcleos⁵ podem ser obtidas, para uma dada configuração, pelo teorema de Hellmann-Feynman. O algoritmo de otimização aplicado dá pelo acrónimo FIRE (*fast inertial relaxation engine*, motor de rápida relaxação inercial) e tem a peculiaridade de se basear nas equações do movimento clássicas de um corpo que se move sujeito à acção não só da força calculada explicitamente acima, mas também de uma outra componente que tende a alterar a direcção da velocidade mais rapidamente a favor da descida mais íngreme [93].

3.4 Os espectros de absorção das coenzimas

Uma vez otimizada a geometria das moléculas, pode agora fazer-se uso do procedimento delineado na subsecção 2.5.3 para obter os espectros de absorção das coenzimas. Tal envolve a determinação do estado fundamental, usando Teoria dos Funcionais da Densidade, e a propagação no tempo das orbitais, inicialmente perturbadas, utilizando a extensão dependente do tempo da teoria.

Em linha com o se explicou até aqui, instruiu-se o Octopus de forma a usar o mesmo funcional de troca e correlação, bem como os mesmos pseudopotenciais. Contudo, torna-se ainda relevante expor alguns dos parâmetros da simulação efectuada⁶. O Octopus trabalha sobre uma grelha linear no espaço real. Sobre essa grelha, é necessário restringir o cálculo a uma região finita do espaço, a caixa de simulação. Esta foi construída à custa da adição de esferas centradas em cada um dos átomos da molécula. Esta forma da caixa permite minimizar o volume de simulação em relação a outras construções que fazem uso, por exemplo, de sólidos geométricos, como um paralelepípedo ou uma esfera, que englobem toda a molécula como um todo. O raio das ditas esferas e o parâmetro de grelha

⁵Na realidade, e tal como se passa com o MOPAC[®], ao usar pseudopotenciais subentende-se que apenas se trata explicitamente da energia electrónica associada ao electrões de valência. Assim, estes "núcleos" são na realidade iões, formados pelos verdadeiros núcleos atômicos e os electrões do caroço.

⁶O Octopus, à semelhança do MOPAC[®] ou do APE, têm inúmeros parâmetros ajustáveis e aqueles que se apresentam são apenas uma diminuta amostra de todos eles. Evidentemente, tomaram-se os valores padrão dos respectivos programas para todos os parâmetros que não se mencionam.

(distância entre primeiros vizinhos) foram escolhidos com base em testes de convergência da energia do estado fundamental do átomo de fósforo. A Tabela 3.3 resume os parâmetros usados. Dela constam também aqueles parâmetros que descrevem a propagação no tempo: o momento aplicado, que deve ser pequeno o suficiente para que se torne aplicável a aproximação dipolar tal como se viu na subsecção 2.5.3, o tempo de total de propagação do qual depende a resolução do espectro e o passo de cada iteração no tempo que deve ser escolhido por forma a garantir a convergência do método. Logicamente, quanto maior ele for, mais rapidamente se atinge o tempo total de propagação e menor será o tempo computacional necessário.

Parâmetro	Valor
Forma da caixa	Esferas centradas nos átomos
Raio	6 Å
Parâmetro de grelha	0.1 Å
Momento aplicado κ	0.1 Å ⁻¹
Tempo de propagação (NADH)	17.5 ħ/eV
Tempo de propagação (FAD)	9.03 ħ/eV
Passo de tempo	0.0007 ħ/eV

TABELA 3.3: Parâmetros de simulação do Octopus. Aqueles relativos à grelha e à caixa de simulação são transversais a todos os cálculos: otimização de geometria, estado fundamental e propagação no tempo. Os restantes referem-se, logicamente, apenas ao último destes tipos de cálculo.

A Fig. 3.10 representa o espectro de absorção obtido para a coenzima NADH. A comparação com o espectro experimental, a sombreado na mesma figura, mostra que há um pequeno desvio para o vermelho dos dois picos que caracterizam a resposta espectral. Uma possível justificação para este facto passa pelo comportamento assintótico do potencial de Kohn-Sham, em particular do termo de troca e correlação na LDA, que tende exponencialmente a zero, uma queda demasiado abrupta para o que seria expectável atendendo à forma do potencial de Coulomb, apenas inversamente proporcional à distância entre cargas [53]. Por outro lado, e embora seja difícil prever e avaliar antecipadamente os efeitos de polarização do solvente, é possível que eles se encontrem na origem de um ou ambos os desvios.

A Fig. 3.11 mostra o espectro de absorção obtido para a coenzima FAD. Desta feita, os picos parecem concordar em posição com a experiência, mas não em largura. A verdade é que, com o nível de teoria que se usou, não se deveria esperar sequer qualquer concordância ao nível da dita largura. Com efeito, uma vez que a teoria se restringe ao estudo do problema electrónico, todos os estados associados à vibração, rotação ou translação nuclear estão, simplesmente, inacessíveis. Ora, se, experimentalmente, a largura dos picos está associada, em parte, precisamente a estes estados, ela nunca será, neste âmbito, reproduzível. Por outro lado, a largura dos picos está, também, directamente relacionada com

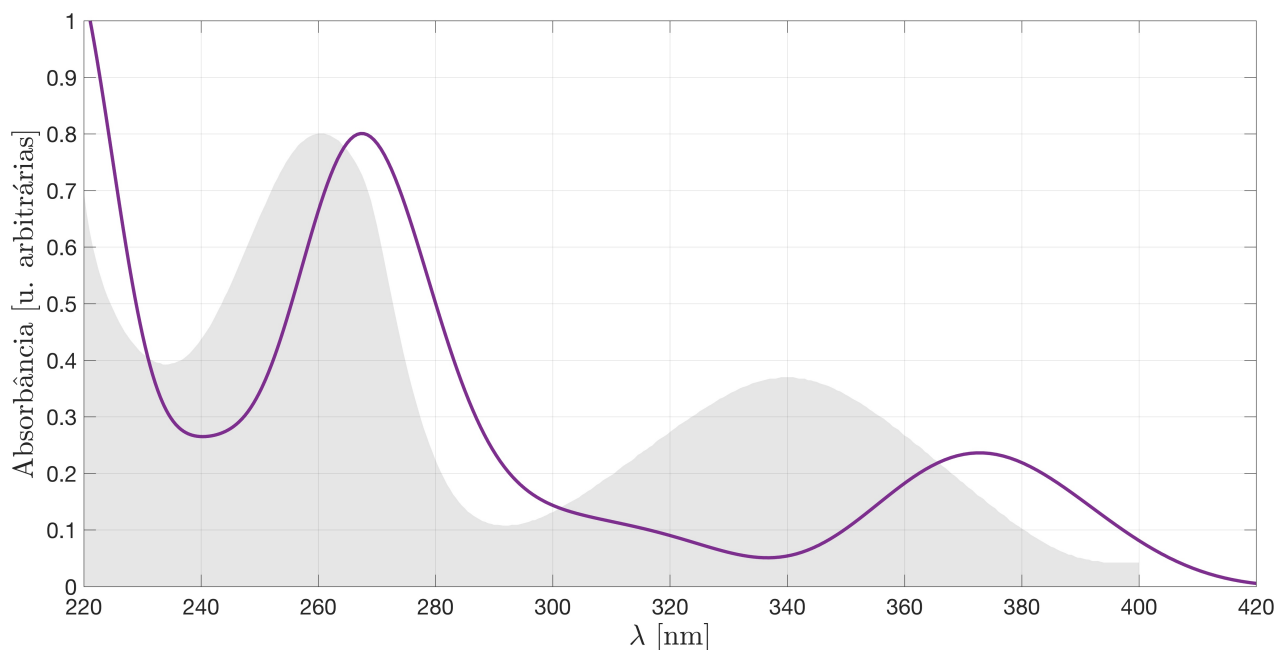


FIGURA 3.10: A figura expõe o espectro de absorção calculado para a molécula NADH sobre o espectro de Nelson et al. [77] a sombreado. Nota-se um pequeno desvio para o vermelho característico da LDA.

o facto do estado ter um dado tempo de vida finito. Acontece que o processo delineado na subsecção 2.5.3 introduz uma certa quantidade de energia no sistema, mas a natureza da equação de Schrödinger não permite que tal energia seja jamais libertada. Por outras palavras, o sistema permanecerá indefinidamente num estado excitado. Esta inibição de relaxar, traduz-se, na prática, num tempo de vida indefinidamente grande. Assim, se os tempos de propagação da Tabela 3.3 fossem estendidos a infinito, a tendência seria que os picos obtidos assumissem a forma da função generalizada delta de Dirac. Qualquer tempo de propagação finito, traduz-se numa largura também finita, mas apenas por força de incertezas puramente numéricas.

Os tempos de vida de fluorescência podem agora ser obtidos por aplicação de (2.94). Tem apenas que se definir o domínio de integração de ν_a^{\min} a ν_a^{\max} , e as constantes n , o índice de refração do meio celular [105], g_l/g_u , o quociente dos graus de degenerescência do primeiro estado vibracional correspondente ao estado fundamental e ao primeiro estado excitado electrónico (que se assumiram idênticos), e ν_g , a frequência associada à transição entre esses dois estados. Esta última foi escolhida por forma a que o domínio de integração, que se escolheu, por simplicidade de ν_g a $2\nu_g$, ficasse abaixo do limiar de validade da teoria que se usou⁷. Por outro lado, também se procurou estabelecer ν_g em torno da frequência que, experimentalmente, separaria os domínios de absorção e fluorescência [15]. A Tabela 3.4 resume os valores seleccionados.

Se se atentar no facto de que $\sigma(\nu_a)$, que figura na equação (2.94), verifica a regra de soma

⁷Este limiar é usualmente estimado pelo valor absoluto da energia do estado fundamental da última orbital de Kohn-Sham ocupada.

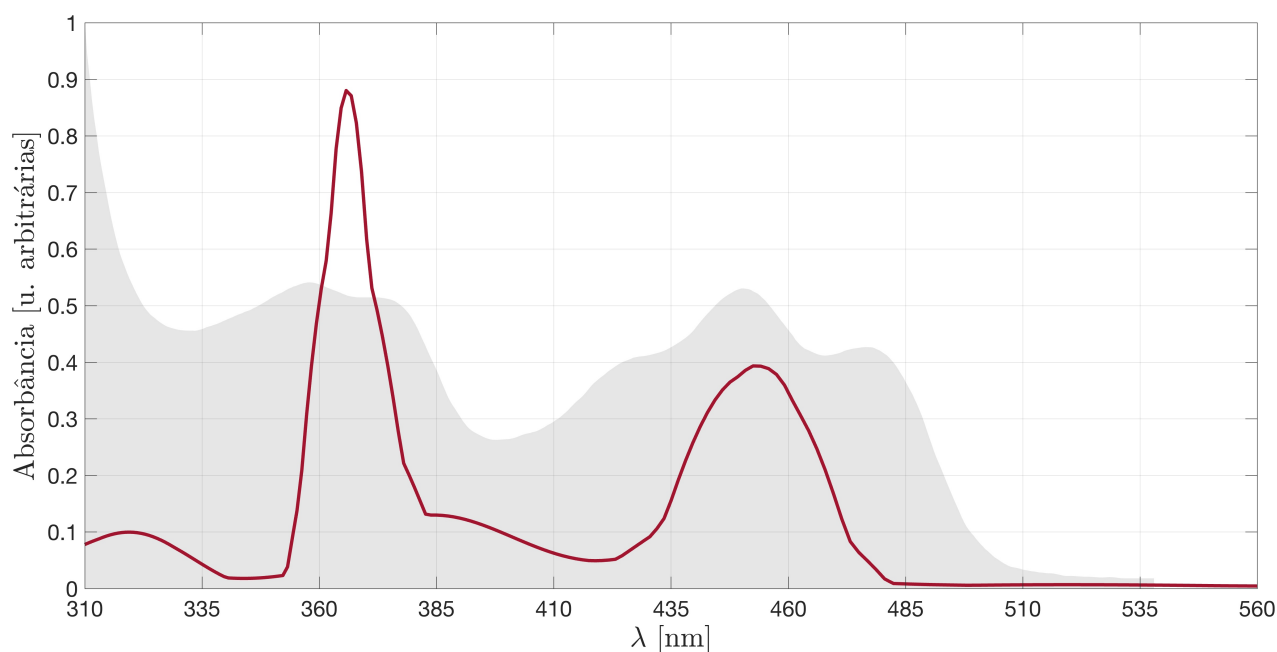


FIGURA 3.11: A curva correspondente ao espectro de absorção calculado para a molécula FAD encontra-se sobreposta ao espectro obtido experimentalmente por Kao et al. [103] em solução tampão, pH 7.4. A largura dos picos do espectro aqui calculado não é, por natureza, comparável àquela dos picos experimentais. Este espectro tem uma resolução anormalmente boa para o baixo tempo de propagação, tal deve-se à aplicação de um algoritmo denominado aquisição comprimida [104], uma alternativa à transformada de Fourier para a análise de sinais.

de Thomas-Reiche-Kuhn [106–108] e que, por conseguinte, a sua integral deve ser uma constante, parece evidente que a integral de (2.94) deve depender da sua forma. Assim, como esta depende do tempo de propagação computacional, os tempos de vida obtidos não são comparáveis com a experiência. Podem, contudo, ser comparáveis entre si, se obtidos a partir de espectros de absorção propagados durante o mesmo intervalo de tempo (que, no presente caso, está obviamente limitado pelo valor do tempo de propagação para o FAD, ver Tabela 3.3). Com o intuito de aprimorar este estudo, analisou-se uma terceira molécula, de dimensões bastante inferiores às coenzimas com que se tem vindo a lidar, o Indol [109], cuja estrutura está representada na Fig. 3.12.

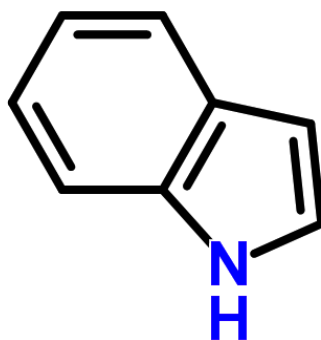


FIGURA 3.12: Estrutura molecular do Indol, C_8H_7N . Adaptado de ChemSpider [109].

Molécula	Constante	Valor
Todas	n	1.36
	g_l/g_u	1
NADH	ν_g	720 THz (~ 416 nm)
	ν_a^{\min}	720 THz (~ 416 nm)
	ν_a^{\max}	1140 THz (~ 208 nm)
FAD	ν_g	545 THz (~ 550 nm)
	ν_a^{\min}	545 THz (~ 550 nm)
	ν_a^{\max}	1090 THz (~ 275 nm)
Indol	ν_g	800 THz (~ 375 nm)
	ν_a^{\min}	800 THz (~ 375 nm)
	ν_a^{\max}	1600 THz (~ 187 nm)

TABELA 3.4: Definição das constantes e limites de integração para o cálculo dos tempos de vida das coenzimas e de uma outra molécula, o Indol, por via de (2.94).

O espectro obtido, com o mesmo de tempo de propagação que para o NADH, é o que se apresenta na Fig. 3.13. O domínio de integração está definido na Tabela 3.4. Os tempos de vida obtidos para as três moléculas constam da Tabela 3.5. Como se referiu, não é possível fazer uma comparação directa entre os tempos de vida obtidos com o nível de teoria aplicado e aqueles adquiridos experimentalmente. Contudo, e embora não se tenham incluído efeitos de solvente, a maiores tempos de vida experimentais, correspondem também maiores tempos de vida calculados.

Molécula	Tempo de vida calculado	Tempo de vida experimental
NADH	~ 24 ns	~ 0.4 ns (solução tampão, pH 7.0)
FAD	~ 42 ns	2 ns (soluções tampão, pH 5 a 9); 3 ns (células HeLa)
Indol	~ 49 ns	7.66 ns (ciclohexano); 4.10 ns (etanol)

TABELA 3.5: Tempos de vida obtidos com tempo de propagação limitado a $9.03 \hbar/eV$. Entre parêntesis indicam-se os solventes no seios dos quais os tempos de vida foram medidos. O tempo de vida experimental para o NADH foi extraído de Lakowicz et al. [19], para o FAD de Islam et al. [15] e para o Indol de Gryczynski et al. [111].

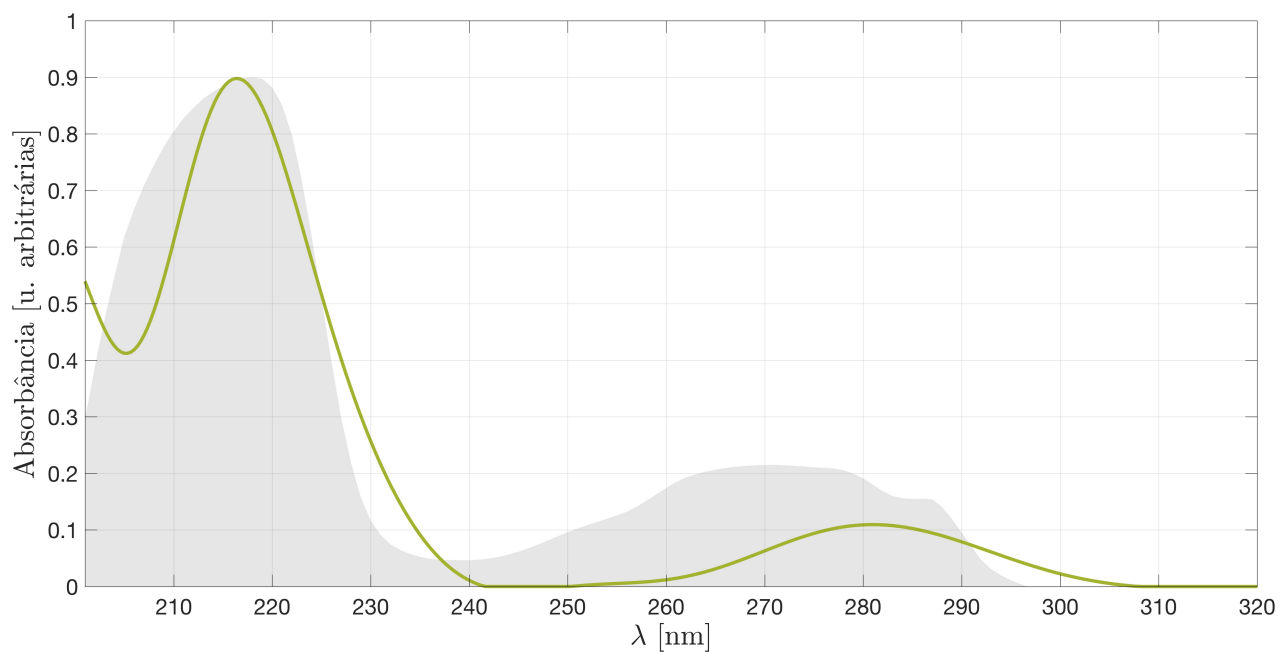


FIGURA 3.13: A curva correspondente ao espectro de absorção calculado para a molécula Indol encontra-se sobreposta ao espectro obtido experimentalmente por Kumar T. et al. [110] com um cristal da molécula. Também neste caso se nota um desvio para o vermelho do pico de maior comprimento de onda.

Capítulo 4

Conclusões

Técnicas de diagnóstico, rápidas e não-invasivas, baseadas em imagiologia de fluorescência têm o potencial para ligar as características bioquímicas e morfológicas dos tecidos à assistência médica ao paciente. Com efeito, as propriedades de fluorescência das coenzimas NADH e FAD podem ser exploradas como importantes indicadores metabólicos. Em particular, quando comparado com medidas de intensidade de fluorescência, o tempo de vida é uma sonda mais sensível ao ambiente químico que rodeia o fluoróforo e parece ter maior capacidade de discriminação entre as formas livres e ligadas aos respectivos complexos enzimáticos da cadeia transportadora [10]. Não obstante, esta permanece uma observação puramente experimental que seria interessante alicerçar num cálculo teórico em que eventuais alterações no tempo de vida são mais facilmente identificáveis com alguma perturbação no ambiente em que a molécula se encontra.

Correntemente, considera-se que o NADH ligado apresenta um tempo de vida superior àquele que apresenta enquanto entidade livre dentro da célula. Já para o FAD, é a fracção livre que parece decair mais lentamente [10]. Ora, se em primeira instância a discriminação entre as duas componentes pode ser simplesmente conseguida por uma análise comparativa dos tempos de vida, verificar esta diferença computacionalmente seria já bastante relevante.

O trabalho que aqui se conclui, embora não contemple os complexos enzimáticos a que as coenzimas se ligam, fornece já um importante indicador acerca da concordância entre teoria e experiência para a comparação dos tempos de vida. De facto, os tempos de vida de fluorescência obtidos para as coenzimas NADH e FAD e para o Indol verificam a relação de ordem dos tempos experimentalmente obtidos. Assim, futuramente, seria da maior importância incluir os complexos enzimáticos na simulação, por forma a comprovar definitivamente que também os tempos de vida das fracções ligadas se relacionam correctamente com os das componentes livres. Isto é, que para o NADH ligado se obtém um tempo de vida superior e para o FAD ligado se obtém um tempo de vida inferior.

Neste ponto, a inclusão das enzimas parece, de facto, ser o passo lógico a seguir. Não obstante, numa fase posterior da investigação em que se equacione a obtenção explícita do

tempo de vida e dos espectros de fluorescência por relaxação do sistema excitado, poderá já tornar-se relevante a inclusão dos efeitos de solvente para aprimorar os resultados obtidos. Por outro lado, a investigação das consequências de se usar a forma não protonada (base conjugada) das coenzimas fica, também, em aberto.

Bibliografia

- [1] V. Bassien-Capsa, J. C. Fouron, B. Comte e A. Chorvatova, *Cardiovasc Res* **69**, 423 (2006).
- [2] C. T. Chen, Y. R. Shih, T. K. Kuo, O. K. Lee e Y. H. Wei, *Stem Cells* **26**, 960 (2008).
- [3] C. Frezza e E. Gottlieb, *Semin Cancer Biol* **19**, 4 (2009).
- [4] C. Jose, N. Bellance e R. Rossignol, *Biochimica Et Biophysica Acta-Bioenergetics* **1807**, 552 (2011).
- [5] E. J. Lesnefsky, S. Moghaddas, B. Tandler, J. Kerner e C. L. Hoppel, *J Mol Cell Cardiol* **33**, 1065 (2001).
- [6] A. Mayevsky e B. Chance, *Mitochondrion* **7**, 330 (2007).
- [7] H. M. Piper, T. Noll e B. Siegmund, *Cardiovasc Res* **28**, 1 (1994).
- [8] H. M. Piper, B. Siegmund, V. Ladilov Yu e K. D. Schluter, *Basic Res Cardiol* **88**, 471 (1993).
- [9] J. Smith, E. Ladi, M. Mayer-Proschel e M. Noble, *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**, 10032 (2000).
- [10] H.-W. Wang, Y.-H. Wei e H.-W. Guo, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **9**, 1012 (2009).
- [11] B. Chance, P. Cohen, F. Jobsis e B. Schoener, *Science* **137**, 499 (1962).
- [12] T. Vo-Dinh, *Biomedical photonics handbook* (CRC Press, Boca Raton, Fla., 2003).
- [13] E. Schauenstein, W. Saenger, R. J. Schaur, G. Desoye e W. Schreibmayer, *Zeitschrift Fur Naturforschung C-a Journal of Biosciences* **35**, 76 (1980).
- [14] B. Liu, H. T. Liu, D. P. Zhong e C. T. Lin, *Current Opinion in Plant Biology* **13**, 578 (2010).
- [15] M. S. Islam, M. Honma, T. Nakabayashi, M. Kinjo e N. Ohta, *Int J Mol Sci* **14**, 1952 (2013).
- [16] T. Nakabayashi, M. S. Islam, L. Li, M. Yasuda e N. Ohta, *Chemical Physics Letters* **595-596**, 25 (2014).

- [17] J. Horilova, A. Mateasik, R. Revilla-i Domingo, F. Raible, D. Chorvat e A. Marcek Chorvatova, *Medical Photonics* **27**, 62 (2015).
- [18] J. R. Bolton e M. D. Archer, *Journal of Physical Chemistry* **95**, 8453 (1991).
- [19] J. R. Lakowicz, H. Szmecinski, K. Nowaczyk e M. L. Johnson, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **89**, 1271 (1992).
- [20] P. Hohenberg e W. Kohn, *Physical Review B* **136**, B864 (1964).
- [21] W. Kohn e L. J. Sham, *Physical Review* **140**, A1133 (1965).
- [22] E. Runge e E. K. U. Gross, *Physical Review Letters* **52**, 997 (1984).
- [23] M. Oltean, A. Calborean, G. Mile, M. Vidrighin, M. Iosin, L. Leopold, D. Maniu, N. Leopold e V. Chis, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* **97**, 703 (2012).
- [24] J. Jornet-Somoza, J. Alberdi-Rodriguez, B. F. Milne, X. Andrade, M. A. Marques, F. Nogueira, M. J. Oliveira, J. J. Stewart e A. Rubio, *Phys Chem Chem Phys* **17**, 26599 (2015).
- [25] M. H. Stockett, L. Musbat, C. Kjaer, J. Houmoller, Y. Toker, A. Rubio, B. F. Milne e S. Brondsted Nielsen, *Phys Chem Chem Phys* **17**, 25793 (2015).
- [26] D. Fazzi, M. Barbatti e W. Thiel, *Phys Chem Chem Phys* **17**, 7787 (2015).
- [27] J. G. Black, *Microbiology : principles and explorations*, 8th ed. (Wiley, Hoboken, NJ, 2012).
- [28] A. Quintas, A. P. Freire e M. J. Halpern, *Bioquímica: organização molecular da vida* (Lidel - Edições Técnicas, Lisboa, 2008).
- [29] E. D. Enger, F. C. Ross e D. B. Bailey, *Concepts in biology*, 14th ed. (McGraw-Hill Higher Education, London, 2011).
- [30] J. Reis, P. Lemos e A. Guimarães, *Biologia e geologia: 11º ou 12º (ano 2): preparação para o exame nacional 2008* (Porto Editora, Porto, 2008).
- [31] N. Ramanujam, *Neoplasia* **2**, 89 (2000).
- [32] B. Chance, B. Schoener, R. Oshino, F. Itshak e Y. Nakase, *J Biol Chem* **254**, 4764 (1979).
- [33] M. G. Vander Heiden, L. C. Cantley e C. B. Thompson, *Science* **324**, 1029 (2009).
- [34] O. Warburg, *The metabolism of tumors* (Constable, London, 1930).
- [35] N. Ramanujam, R. Richards-Kortum, S. Thomsen, A. Mahadevan-Jansen, M. Follen e B. Chance, *Opt Express* **8**, 335 (2001).

- [36] J. M. Reyes, S. Fermanian, F. Yang, S. Y. Zhou, S. Herretes, D. B. Murphy, J. H. Elisseeff e R. S. Chuck, *Stem Cells* **24**, 1213 (2006).
- [37] P. Pyykko, *Chemical Reviews* **88**, 563 (1988).
- [38] A. Szabo e N. S. Ostlund, *Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory* (Dover Publications, Mineola, N.Y., 1996).
- [39] M. Born e R. Oppenheimer, *Annalen Der Physik* **84**, 0457 (1927).
- [40] R. M. Martin, *Electronic structure: basic theory and practical methods* (Cambridge University Press, Cambridge, 2004).
- [41] F. Nogueira, *Descrição de propriedades físicas de sólidos e agregados com pseudopotencias* (Coimbra, 1999).
- [42] V. Fock, *Zeitschrift Fur Physik* **61**, 126 (1930).
- [43] W. Kohn, *Reviews of Modern Physics* **71**, 1253 (1999).
- [44] R. G. Parr e W. Yang, *Density-functional theory of atoms and molecules*, International series of monographs on chemistry (Oxford University Press, Oxford, 1989).
- [45] E. H. Lieb, *International Journal of Quantum Chemistry* **24**, 243 (1983).
- [46] M. Levy, *Physical Review A* **26**, 1200 (1982).
- [47] C. O. Almbladh e U. Vonbarth, *Physical Review B* **31**, 3231 (1985).
- [48] E. Wigner, *Transactions of the Faraday Society* **34**, 0678 (1938).
- [49] D. Ceperley, *Physical Review B* **18**, 3126 (1978).
- [50] D. M. Ceperley e B. J. Alder, *Physical Review Letters* **45**, 566 (1980).
- [51] M. A. Marques, *Gazeta de Física* **29**, 10 (2006).
- [52] A. D. Becke, *Journal of Chemical Physics* **104**, 1040 (1996).
- [53] C. Fiolhais, F. Nogueira e M. A. L. Marques, *A primer in density functional theory* (Springer, New York, 2003).
- [54] E. Fermi, *Il Nuovo Cimento* **11**, 157 (1934).
- [55] H. Hellmann, *Journal of Chemical Physics* **3**, 61 (1935).
- [56] J. C. Phillips e L. Kleinman, *Physical Review* **116**, 287 (1959).
- [57] W. C. Topp e J. J. Hopfield, *Physical Review B* **7**, 1295 (1973).
- [58] M. J. T. Oliveira e F. Nogueira, *Computer Physics Communications* **178**, 524 (2008).
- [59] N. Troullier e J. L. Martins, *Solid State Communications* **74**, 613 (1990).

- [60] N. Troullier e J. L. Martins, *Physical Review B* **43**, 1993 (1991).
- [61] G. P. Kerker, *Journal of Physics C-Solid State Physics* **13**, L189 (1980).
- [62] R. W. Shaw e W. A. Harrison, *Physical Review* **163**, 604 (1967).
- [63] M. Teter, *Physical Review B* **48**, 5031 (1993).
- [64] M. A. L. Marques, N. Maitra, F. Nogueira, E. Gross e A. Rubio, *Fundamentals of time-dependent density functional theory* (Springer-Verlag, New York, 2012).
- [65] K. Yabana e G. F. Bertsch, *Physical Review B* **54**, 4484 (1996).
- [66] A. Einstein, *Physikalische Zeitschrift* **18**, 121 (1917).
- [67] J. B. Birks, *Photophysics of aromatic molecules*, Wiley monographs in chemical physics (Wiley-Interscience, London, New York, 1970).
- [68] ChemSpider, *NADH - CSID:388299* (ChemSpider: Royal Society of Chemistry, 2015).
- [69] S. Müller, *Nucleic acids from a to z : a concise encyclopedia* (Wiley-VCH, Weinheim, 2008).
- [70] A. D. McNaught, A. Wilkinson, I. U. of Pure e A. Chemistry., *Compendium of chemical terminology : iupac recommendations*, 2nd ed. (Blackwell Science, Oxford Oxfordshire; Malden, MA, 1997).
- [71] B. J. Schwartz, *Nat Mater* **7**, 427 (2008).
- [72] ChemSpider, *FAD - CSID:559059* (ChemSpider: Royal Society of Chemistry, 2015).
- [73] E. G. Brown, *Ring nitrogen and key biomolecules : the biochemistry of n-heterocycles* (Kluwer Academic, Dordrecht; Boston, 1998).
- [74] ChemSpider, *NAD+ - CSID:5682* (ChemSpider: Royal Society of Chemistry, 2015).
- [75] I. H. Madshus, *Biochemical Journal* **250**, 1 (1988).
- [76] X. X. Cheng, Y. Zhang, E. Jonsson, H. Jonsson e P. M. Weber, *Nature Communications* **7** (2016).
- [77] D. L. Nelson, A. L. Lehninger e M. M. Cox, *Lehninger principles of biochemistry*, 6th ed. (W.H. Freeman e Company, New York, 2013).
- [78] J. M. Dixon, M. Taniguchi e J. S. Lindsey, *Photochemistry and Photobiology* **81**, 212 (2005).
- [79] M. D. Hanwell, D. E. Curtis, D. C. Lonie, T. Vandermeersch, E. Zurek e G. R. Hutchison, *Journal of Cheminformatics* **4** (2012).
- [80] M. D. Hanwell, T. Vandermeersch e G. R. Hutchison, *Avogadro: an open-source molecular builder and visualization tool. Version 1.2.0* (2016).

- [81] J. J. P. Stewart, *MOPAC2016* (Stewart Computational Chemistry, 15210 Paddington Circle, Colorado Springs, CO, 2016).
- [82] M. Marques, A. Castro, G. F. Bertsch, A. Rubio, H. Appel, M. Oliveira, C. A. Rozzi, X. Andrade, E. K. U. Gross, D. Strubbe, U. De Giovannini, A. H. Larsen, J. Alberdi-Rodriguez, A. Varas, I. Theophilou, N. Helbig, M. J. Verstraete, L. Stella, F. Nogueira e A. Aspuru-Guzik, *Octopus. Version 5.0.1* (2016).
- [83] M. A. L. Marques, A. Castro, G. F. Bertsch e A. Rubio, *Computer Physics Communications* **151**, 60 (2003).
- [84] A. Castro, H. Appel, M. Oliveira, C. A. Rozzi, X. Andrade, F. Lorenzen, M. A. L. Marques, E. K. U. Gross e A. Rubio, *Physica Status Solidi B-Basic Solid State Physics* **243**, 2465 (2006).
- [85] X. Andrade, D. Strubbe, U. De Giovannini, A. H. Larsen, M. J. T. Oliveira, J. Alberdi-Rodriguez, A. Varas, I. Theophilou, N. Helbig, M. J. Verstraete, L. Stella, F. Nogueira, A. Aspuru-Guzik, A. Castro, M. A. L. Marques e A. Rubio, *Physical Chemistry Chemical Physics* **17**, 31371 (2015).
- [86] M. Oliveira e F. Nogueira, *APE: Atomic Pseudopotentials Engine. Version 2.2.1* (2016).
- [87] The MathWorks Inc., *MATLAB® R2016a* (The MathWorks, 1 Apple Hill Drive, Natick, MA, 2016).
- [88] M. A. L. Marques, M. J. T. Oliveira e T. Burnus, *Computer Physics Communications* **183**, 2272 (2012).
- [89] J. P. Perdew e Y. Wang, *Physical Review B* **45**, 13244 (1992).
- [90] D. R. Hamann, *Physical Review B* **40**, 2980 (1989).
- [91] J. P. Perdew e A. Zunger, *Physical Review B* **23**, 5048 (1981).
- [92] Abinit, *Fritz-Haber-Institute (FHI) pseudopotentials for selected elements (Troullier-Martins scheme)*, Norm-conserving Pseudopotentials (2012).
- [93] E. Bitzek, P. Koskinen, F. Gahler, M. Moseler e P. Gumbsch, *Physical Review Letters* **97** (2006).
- [94] DrugBank, *NADH - DB00157* (DrugBank: Wishart Research Group, 2016).
- [95] D. S. Wishart, C. Knox, A. C. Guo, S. Shrivastava, M. Hassanali, P. Stothard, Z. Chang e J. Woolsey, *Nucleic Acids Research* **34**, D668 (2006).
- [96] N. M. O'Boyle, M. Banck, C. A. James, C. Morley, T. Vandermeersch e G. R. Hutchison, *Journal of Cheminformatics* **3** (2011).

- [97] A. K. Rappe, C. J. Casewit, K. S. Colwell, W. A. Goddard e W. M. Skiff, *Journal of the American Chemical Society* **114**, 10024 (1992).
- [98] Ligand Expo, *FAD* (RCSB: Protein Data Bank, 2011).
- [99] H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T. N. Bhat, H. Weissig, I. N. Shindyalov e P. E. Bourne, *Nucleic Acids Research* **28**, 235 (2000).
- [100] R. P. Feynman, *Physical Review* **56**, 340 (1939).
- [101] J. Baker, *Journal of Computational Chemistry* **7**, 385 (1986).
- [102] M. Tafipolsky e R. Schmid, *Journal of Chemical Physics* **124** (2006).
- [103] Y. T. Kao, C. Saxena, T. F. He, L. J. Guo, L. J. Wang, A. Sancar e D. P. Zhong, *Journal of the American Chemical Society* **130**, 13132 (2008).
- [104] E. J. Candes e M. B. Wakin, *Ieee Signal Processing Magazine* **25**, 21 (2008).
- [105] X. J. Liang, A. Q. Liu, C. S. Lim, T. C. Ayi e P. H. Yap, *Sensors and Actuators a-Physical* **133**, 349 (2007).
- [106] W. Thomas, *Naturwissenschaften* **13**, 627 (1925).
- [107] F. Reiche e W. Thomas, *Zeitschrift für Physik* **34**, 510 (1925).
- [108] W. Kuhn, *Zeitschrift Fur Physik* **33**, 408 (1925).
- [109] ChemSpider, *Indole - CSID:776* (ChemSpider: Royal Society of Chemistry, 2015).
- [110] M. Kumar T., R. Mohan T., A. Branton, D. Trivedi, G. Nayak, R. K. Mishra e S. Jana, *Environmental Analytical Chemistry* **2**, 2380 (2015).
- [111] I. Gryczynski, W. Wicz, M. L. Johnson e J. R. Lakowicz, *Biophysical Chemistry* **32**, 173 (1988).

Apêndice A

Funções de onda 3d do fósforo

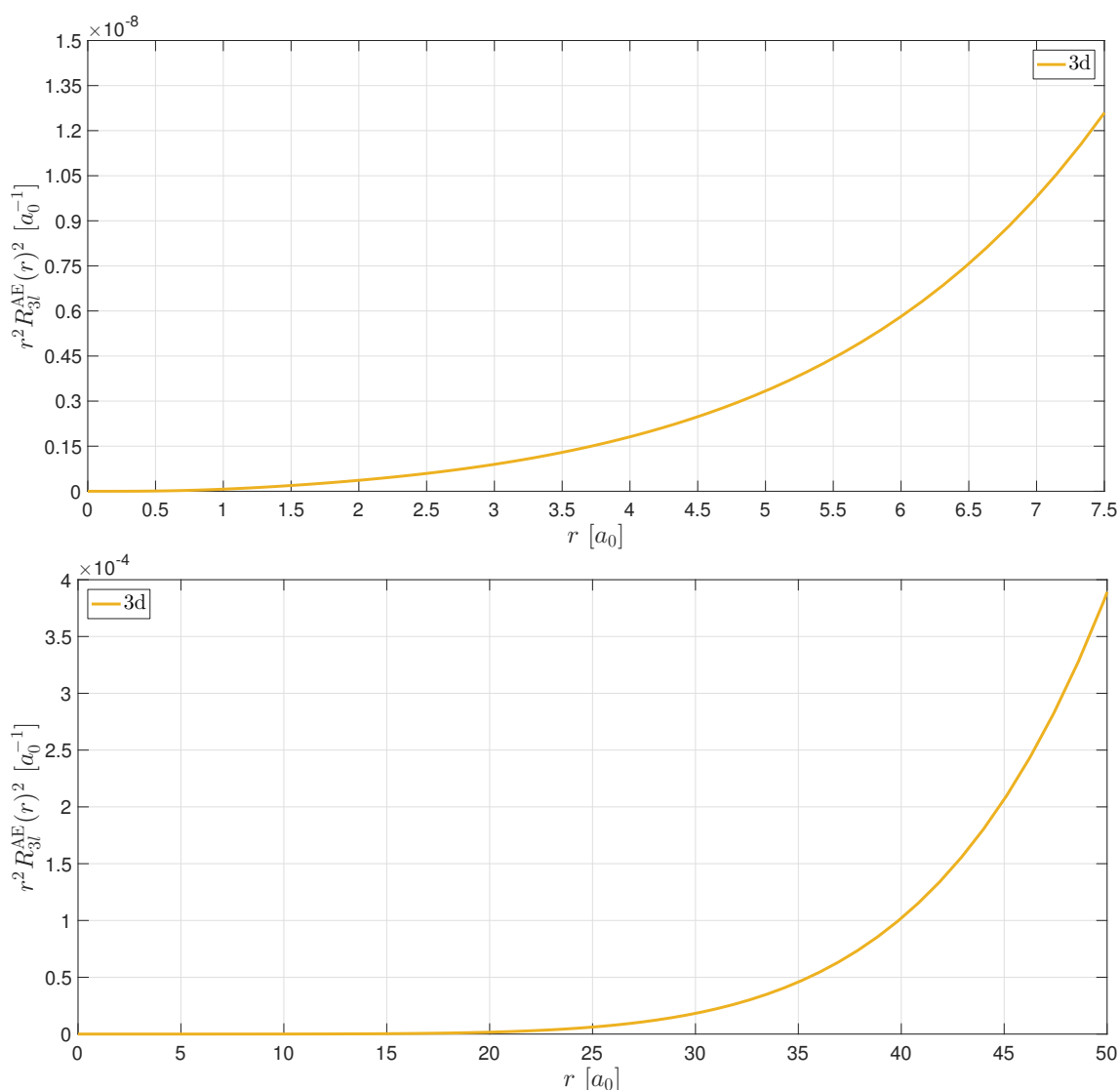


FIGURA A.1: Densidade de probabilidade radial para as orbitais 3d do fósforo obtidas num cálculo com todos os electrões (AE). Em cima, o eixo horizontal termina, por forma a permitir comparação directa com a Fig. 3.6, em $r = 7.5a_0$. Em baixo, a representação termina em $r = 50a_0$ para dar uma melhor perspectiva sobre o verdadeiro comportamento da função. Comparem-se as escalas horizontal e vertical com as da Fig. 3.6. Dado tratarem-se de estados não ligados, a função de onda não tende a zero e diverge à medida que a distância ao centro do átomo aumenta.

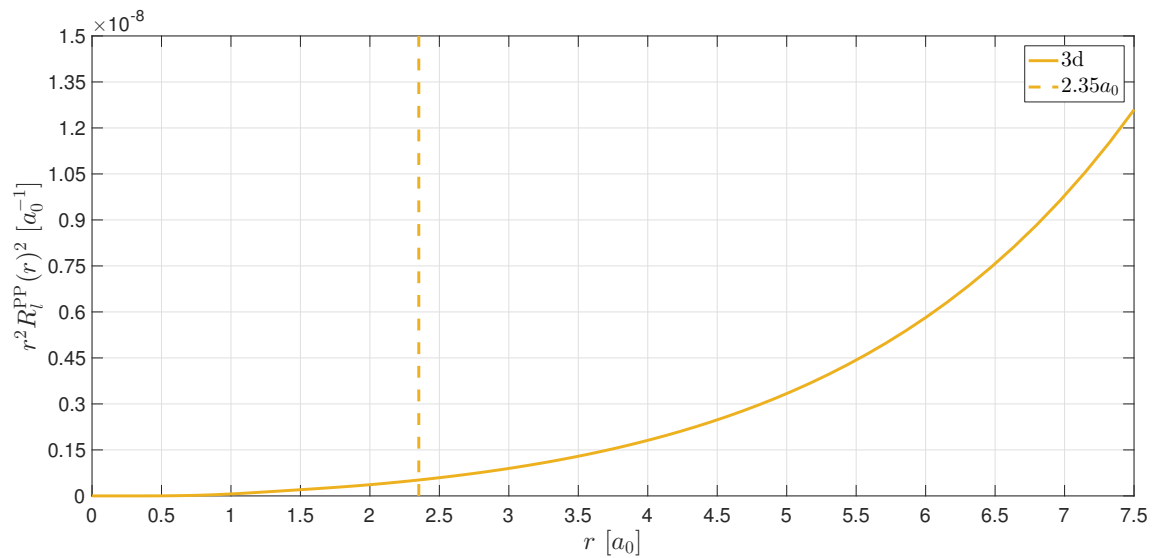


FIGURA A.2: Densidade de probabilidade radial correspondente à pseudo-função de onda obtida pelo método de Troullier-Martins. As diferenças para o gráfico da Fig. A.1 abaixo do raio de corte são mínimas, tal como seria de esperar dada a forma simples, sem estrutura, da função de onda verdadeira e das condições impostas sobre o polinómio (2.66) durante construção da pseudo-função de onda.