

Marcelo Zimmer Sampaio Flores

*De Aminoácidos a Proteínas: Medidas e
Cálculos ab initio de Propriedades
Estruturais e Eletrônicas de Polímeros
Cristalinos de Glicina e a Interação entre
Clorotetraciclina e o Receptor TetR*

Fortaleza – CE

Março / 2007

Marcelo Zimmer Sampaio Flores

*De Aminoácidos a Proteínas: Medidas e
Cálculos ab initio de Propriedades
Estruturais e Eletrônicas de Polímeros
Cristalinos de Glicina e a Interação entre
Clorotetraciclina e o Receptor TetR*

Dissertação apresentada à Coordenação da
Pós-Graduação de Física da Universidade
Federal do Ceará para a obtenção do título
de Mestre em Física.

Orientador:

Prof. Dr. Valder Nogueira Freire

Co-orientador:

Prof. Dr. Benildo Sousa Cavada

DEPARTAMENTO DE FÍSICA
CENTRO DE CIÊNCIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

Fortaleza – CE

Março / 2007

Dissertação de Mestrado sob o título “*De Aminoácidos a Proteínas: Medidas e Cálculos ab initio de Propriedades Estruturais e Eletrônicas de Polimorfos Cristalinos de Glicina e a Interação entre Clorotetraciclina e o Receptor TetR*”, defendida por Marcelo Zimmer Sampaio Flores e aprovada em 02 de Março de 2007, em Fortaleza, Ceará, pela banca examinadora constituída pelos doutores:

Prof. Dr. Valder Nogueira Freire
Departamento de Física - UFC
Orientador

Prof. Dr. Benildo Sousa Cavada
Laboratório de Moléculas Biologicamente Ativas
Departamento de Bioquímica - UFC
Co-Orientador

Prof. Dr. Manoel Silva de Vasconcelos
Departamento de Ciências Exatas - CEFET-MA

Aos meus amores:

Pai, Mãe, Irmão, Rachel, Família e Amigos

Por tudo o que tenho e sou

Por tudo o que consegui

E por tudo o que aprendi.

Esta dissertação é dedicada e em homenagem in memoriam ao meu Pai.

Agradecimentos

Ofereço meus mais francos agradecimentos a:

- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro para realização dessa dissertação;
- Professor Doutor Valder Nogueira Freire, pela orientação e por todos os ensinamentos e perspicácia voltada para a inovação e desenvolvimento científico;
- Professor Doutor Benildo Sousa Cavada, pela co-orientação nesse trabalho científico, e pela orientação de ciência;
- Professor Doutor Ewerton Wagner Santos Caetano (Centro Federal de Ensino Tecnológico do Ceará - CEFET/CE), pela amizade e conhecimento compartilhados, além das críticas sempre produtivas inerentes aos trabalhos realizados em conjunto;
- Coordenador da Pós-Graduação em Física, Professor Doutor José Soares de Andrade Júnior, e o vice-coordenador, Professor Doutor Josué Mendes Filho;
- Professor Sylvio Canuto (IF-USP) pelo uso do programa G03;
- Professora Doutora Conceição (Depto. Química - UFC) pela simpatia e disponibilidade a me ajudar a compreender e transcender a tênue linha que separa as diversas áreas do conhecimento;
- Professora Doutora Ana Maria Sampaio Assreuy e minha tia, pela sempre participação na minha formação científica e pessoal, pautada na ética e na paixão;
- Doutorando e amigo Francisco Franciné Maia Júnior, pelo apoio em todos os momentos da minha formação e por inestimáveis críticas e conselhos ao meu trabalho;
- Doutorando e amigo Ricardo Pires dos Santos, por todas as discussões e críticas pautadas sempre na ética;
- Aos amigos do LabInitio Sérgio, Eveline e Pedro Henrique por ter tornado o trabalho mais fácil e divertido, além da criação de um ambiente de rara unidade, ética e força produtiva;

- Aos amigos do BioMol-Lab Gustavo, Taianá, Victor, Júlia, Emanuel Prata e Bruno pela sempre dedicação e conversas produtivas nas discussões dentro da interface física-biologia, em que minha formação foi pautada para a elaboração dessa dissertação;
- Novos alunos de iniciação científica Levi, Cláudio e Josias pela franqueza com que estão se empenhando no trabalho e me lembrando do belo ciclo que é a formação científica;
- Doutores Marcus Vinícius e Hermes, por terem me iniciado em cálculos *ab initio*;
- A todos os amigos e colegas com quem tive o prazer de compartilhar disciplinas e vivência acadêmica;
- A todos os professores que tive, não só os acadêmicos como os de vida;
- A minha mãe, por ter me dado o amor materno e paterno sempre e incondicionalmente;
- Ao meu pai, pelos quatorze anos que me transformou no que sou;
- Ao meu irmão, pelo apoio em minhas decisões sempre do seu jeito peculiar;
- A minha namorada Rachel, pelo amor, carinho e compreensão em toda essa jornada, em especial nos momentos mais difíceis;
- Aos meus avós maternos Maria Coelho e José Júlio pelo carinho e apoio em toda a minha jornada;
- Aos meus avós paternos Francisca e Getúlio (*in memoriam*) pelo amor sempre dispensados;
- A todos os meus familiares que sempre me enriqueceram e que permitem o meu crescimento pessoal e profissional;

“Entendendo que a sorte não é uma divindade, como a maioria das pessoas acredita (pois um deus não faz nada ao acaso), nem algo incerto, o sábio não crê que ela proporcione aos homens nenhum bem ou nenhum mal que sejam fundamentais para uma vida feliz, mas, sim, que dela pode surgir o início de grandes bens e de grandes males. A seu ver, é preferível ser desafortunado e sábio, a ser afortunado e tolo; na prática, é melhor que um bom projeto não chegue a bom termo, do que chegue a ter êxito um projeto mau. Medita, pois, todas estas coisas e muitas outras a elas congêneres, dia e noite, contigo mesmo e com teus semelhantes, e nunca mais te sentirás perturbado, quer acordado, quer dormindo, mas viverás como um deus entre os homens. Porque não se assemelha absolutamente a um mortal o homem que vive entre bens imortais.”

Carta Sobre a Felicidade (a Menescau) - Epicuro

Tradução de Álvaro Lorencini e Enzo Del Carratore

Resumo

Glicina é o mais simples dos aminoácidos protéicos existentes e o único não quiral, tendo como cadeia lateral um átomo de hidrogênio. Na forma gasosa, ela se apresenta em forma não-iônica, enquanto que em solução ou cristal, ela assume uma forma iônica chamada de *zwitterion*. Embora em termos moleculares não exista L- ou D-glicina, ela apresenta grande versatilidade em sua forma cristalina, ocorrendo em várias fases polimórficas, dentre as quais as três principais são: α -, β - ou γ -glicina, contendo respectivamente quatro, duas e três moléculas por célula unitária. Na presente dissertação, foram realizados cálculos de primeiros princípios baseados na aproximação do gradiente generalizado da teoria do funcional da densidade (DFT-GGA) usando o funcional PBE para as seguintes formas de tratamento dos elétrons de caroço: todos os elétrons (TE), pseudopotenciais ultramacios e pseudopotenciais de norma conservada (NC). Critérios elevados de convergência foram adotados e os resultados estruturais obtidos coincidem satisfatoriamente com os resultados experimentais e teóricos existentes na literatura. A estabilidade cristalina foi estudada tanto pela energia por molécula, quanto pela análise populacional de Mulliken e energias de ligação dos elétrons de caroço. Foi obtida a seqüência $\alpha > \beta > \gamma$, onde α é o polimorfo mais estável, em detrimento da ordem de estabilidade obtida experimentalmente ($\gamma > \alpha > \beta$). Essa discordância, entretanto está em acordo com o já obtido por Chisholm *et. al.* (J. A. Chisholm *et. al.*, Crystal Growth & Design 5(4), 1437, 2005). A absorção ótica foi calculada, e mostrou que o cristal de γ -glicina apresenta uma menor dependência com a polarização da radiação incidente que os outros polimorfos estudados. Todos os polimorfos apresentaram *gaps* indiretos na estrutura de banda.

Além das simulações teóricas, foram feitas medidas de absorção ótica e espectroscopia de fotoelétron de raios-X (XPS) apenas em cristais de α -glicina crescidos através do método de evaporação lenta de solvente. Da absorção, foi obtido um *gap* de energia de $5,11 \pm 0.02$ eV, enquanto que do XPS foram obtidas as energias de ligação dos elétrons em orbitais profundos para os átomos de C, N e O. Além disso, a análise do XPS detectou a presença de cloro e sódio, em baixas concentrações. A interpretação dos resultados experimentais foi feita comparando com os resultados obtidos teoricamente pelos três métodos descritos acima. A absorção calculada apresenta grande dependência com a polarização da radiação incidente, devido ao arranjo espacial das moléculas de glicina que cria uma resultante dipolar na direção 100. O XPS foi interpretado analisando as densidades parciais de estados eletrônicos obtidas através dos cálculos com TE, além da comparação entre os níveis de orbitais 1s para os átomos não hidrogênio. Nesse caso, a diferença entre os resultados experimentais e os teóricos foi inferior a 5%. Medidas de luminescência foram feitas em cristais de α -glicina com temperaturas variando de 4 K a 300 K. Cálculos baseados na teoria do funcional da densidade dependente do tempo foram realizados e permitiram o assinalamento do pico em 3,4 eV no espectro de luminescência como sendo uma assinatura molecular.

Por fim, como aplicação, foram calculadas as energias de interação do antibiótico

Tetraciclina (Tc) com os resíduos de aminoácidos pertencentes ao sítio de ligação da proteína repressora Tet responsiva à Tc (TetR). Tc são uma família de antibióticos de largo espectro que exibem atividade contra um grande número de bactérias gram-positiva e gram-negativa. As energias de interação foram computadas para todos os resíduos da TetR (aminoácidos do sítio de ligação) interagentes com a Tc, a partir das posições atômicas obtidas experimentalmente e disponibilizadas no *Protein Data Bank* sob a identificação 2TCT. Os cálculos de energia foram realizados através da teoria do funcional da densidade com a aproximação do gradiente generalizado (DFT-GGA) em conjunto com o funcional híbrido de correlação e troca proposto por Becke-Lee-Yang-Parr (BLYP). Foi usado o conjunto de base numérica dupla com polarização (DNP) com um raio orbital de corte de 4,9 Å. Os resultados obtidos são coerentes com os já propostos, a menos de uma discrepância na interação entre a Met177 e a tetraciclina, que está muito mais intensa que a esperada. Apesar disso, os resultados sugerem que a metodologia empregada possa ser utilizada em outros sistemas, além de sugerir quais modificações na estrutura da Tc podem ser feitas de forma a potencializar a ação antibiótica.

Abstract

Glycine is the simplest among all naturally occurring amino acids, presenting an hydrogen atom in its side chain and for this reason it is the only non-chiral. In its gaseous phase, glycine appears in a non-ionic structure, whereas in solution or crystal, it takes an ionic or *zwitterionic* form. Although at molecular level, there is no L- or D-glycine, it presents great versatility in its crystalline phase related to the existence of several polymorphs, which the three most studied are: α -, β - or γ -glycine, containing four, two and three molecules per unit cell, respectively. First principles calculations based on the density functional theory within the generalized gradient approach (DFT-GGA) using the PBE functional were performed. Three different approaches for accounting core electrons were used: (i) all electron (AE); (ii) ultra-soft pseudopotentials (USP); and (iii) norm-conserving pseudopotentials. Lattice parameters are in good agreement with those previously published from both experimental and theoretical works. The crystal stability was studied by both the energy per molecule and Mulliken populational analysis, accounting also for the core electron binding energy. This way, the stability sequence was taken as $\alpha > \beta > \gamma$, being the α polymorph the most stable structure, which is in agreement with the previously published results by Chisholm *et. al.* (J. A. Chisholm *et. al.*, *Crystal Growth & Design* 5(4), 1437, 2005) from DFT simulations. However, this result confronts experimental results, which account for the $\gamma > \alpha > \beta$ stability sequence. Optical absorption was computed, showing that γ -glycine presents the lowest dependence with the incident radiation polarization amongst all polymorphs studied. All glycine phases presented indirect band gaps.

Optical absorption and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) experiments were made for α -glycine grown by the standard solvent slow evaporation method using ultra-pure commercially-obtained glycine powder (> 99%) and Milli-Q water. The absorption spectra showed the existence of a $5, 11 \pm 0.02$ eV direct energy band gap, and the XPS showed the binding energy for core electrons for non-hydrogen atoms and also showed the presence of chlorine and sodium atoms in α -glycine crystals. These experimental results were interpreted by comparison with first principles calculations. The calculated absorption spectra showed great dependence with the incident radiation polarization, due to the molecular space arrangement, which generates the greatest electric dipole within 100 direction. XPS was interpreted analyzing the partial density of states for every element and functional group obtained by AE calculations, and also by comparing 1s orbital energies for non-hydrogen atoms. The difference between theoretically predicted binding energies was lower than 5%. Luminescence spectra were obtained for temperatures varying from 4 K to 300 K for α -glycine crystals. Time-dependent density functional theory calculations were performed in order to assign molecular signature for the 3,4 eV peak in the luminescence spectra.

The present dissertation also includes calculations for binding energies between the Tetracycline (Tc) antibiotic with its binding site at the protein Tet responsive to Tc

(TetR). Tc are a family of broad spectrum antibiotics, which exhibits activity against several gram-positive and gram-negative bacteria. The interaction energies were computed for all Tc interacting residues of Tetr, constrained to their atomic positions obtained experimentally, with structure available at Protein Data Bank within ID 2TCT. Energy calculations were performed within DFT-GGA using the hybrid functional proposed by Becke-Lee-Yang-Parr (BLYP) and taking the double numerical plus polarization (DNP) basis set with an orbital cutoff of 4.9 Å. Our results are in overall good agreement with previously proposed interaction energies, though Met177 presents a great discrepancy, related to fact that calculations lead to greater interaction intensity than it is expected experimentally. Despite this fact, our results suggest that the methodology employed can be extended to other systems with relative confidence and also, which changes can be made in order to increase the antibiotic activity.

Lista de Figuras

1	James Watson (esq.) e Francis Crick (dir.) mostrando o modelo de dupla-hélice para o ADN. Foto tirada em 1953 no Lab. Cavendish por Antony B. Brown.	p. 1
2	Estrutura geral comum a todos os aminoácido (exceto a prolina que é um aminoácido cíclico), em forma iônica (<i>zwitterion</i>).	p. 4
3	Estrutura de todos os vinte aminoácidos protéicos, classificados pela carga do grupo <i>R</i> . As fórmulas estruturais mostram o estado de ionização que predominaria em pH 7,0. Figura extraída de [4]	p. 5
4	Representação esquemática da molécula de glicina (a) não-iônica (gasosa); e (b) em forma iônica (<i>zwitterion</i>).	p. 11
5	Representação esquemática em perspectiva da célula unitária do cristal de α -glicina.	p. 21
6	Análise da constituição atômica do cristal de de α -glicina.	p. 26
7	Representação da densidade de estados eletrônicos (DOS) da banda de valência para o cristal de α -glicina. (a) espectro dos estados eletrônicos obtidos por XPS; (b) DOS obtido considerando-se todos os elétrons; (c) DOS obtido utilizando pseudopotenciais de norma conservada; (d) DOS obtido utilizando pseudopotenciais ultra macios.	p. 27
8	Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da α -glicina obtidos pelo DMol ³	p. 29
9	Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da α -glicina obtidos usando pseudopotenciais de norma conservada.	p. 30
10	Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da α -glicina obtidos usando pseudopotenciais ultra macios.	p. 31

11	Medida XPS e PDOS para os grupamentos funcionais obtidos com a aproximação levanto em conta todos os elétrons para: (a) Região I; (b) Região II; e (c) Região III.	p. 32
12	Representação da densidade de estados eletrônicos obtidos por medidas de XPS para elétrons em níveis mais profundos. As figuras da linha inferior representam a deconvolução em gaussianas dos picos experimentais mostrados na linha superior.	p. 35
13	Absorção ótica não polarizada para o cristal de α -glicina a 300 K. O <i>inset</i> mostra a absorção (quadrados) interpolado por uma reta (linha) que indica o <i>gap</i> de energia direto.	p. 37
14	Comparação entre os quadrados da absorbância medidos (quadrados) com resultados de pseudopotenciais de norma conservado (linha sólida) e ultramacios (linha tracejada). As intensidades calculadas foram ajustadas de forma a encaixar no quadro.	p. 39
15	Estrutura de bandas obtida considerando todos os elétrons de caroço.	p. 40
16	Comparação da região de <i>gap</i> nas estrutura de bandas do cristal de α -glicina obtidas através da inclusão de todos os elétrons (linha sólida) e usando pseudopotenciais de norma conservada (linha tracejada).	p. 41
17	Comparação da região de <i>gap</i> nas estrutura de bandas do cristal de α -glicina obtidas através da inclusão de todos os elétrons (linha sólida) e usando pseudopotenciais ultramacios (linha tracejada).	p. 42
18	Absorbância na região do <i>gap</i> calculado usando pseudopotenciais de norma conservada para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (pontilhada) e 001 (ponto tracejada), além de policristal (contínua).	p. 44
19	Absorbância na região do <i>gap</i> calculado usando pseudopotenciais ultramacios para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (pontilhada) e 001 (ponto tracejada), além de policristal (contínua).	p. 45
20	Vista do cristal na direção do eixo <i>a</i> . As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.	p. 46
21	Vista do cristal na direção do eixo <i>b</i> . As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.	p. 46

22	Vista do cristal na direção do eixo c . As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.	p. 47
23	Processos físicos possíveis com a absorção de fóton por uma molécula. O quadro mostra a configuração esquemática para os diferentes estados e multiplicidades de spin indicados nas transições	p. 48
24	Fotoluminescência da α -glicina medida variando a temperatura de 4 K a 100 K.	p. 49
25	Configurações moleculares utilizadas nas simulações de TD-DFT: (a) uma molécula; e (b) quatro moléculas dispostas em planos ac paralelos.	p. 49
26	Orbitais moleculares para as configurações utilizadas nos cálculos.	p. 50
27	Transições singleto \rightarrow singleto para uma molécula de glicina. As barras indicam as forças de oscilador (f), enquanto que a linha sólida é a soma das funções gaussianas centradas nas energias em que ocorrem as transições.	p. 52
28	Transições singleto \rightarrow singleto para quatro moléculas de glicina. As barras indicam as forças de oscilador (f), enquanto que a linha sólida é a soma das funções gaussianas centradas nas energias em que ocorrem as transições.	p. 52
29	Representação esquemática em perspectiva da célula unitária do cristal de β -glicina.	p. 54
30	Vista do cristal na direção do eixo a . As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.	p. 59
31	Vista do cristal na direção do eixo b . As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.	p. 59
32	Vista do cristal na direção do eixo c . As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.	p. 60
33	Estrutura de bandas do cristal de β -glicina obtidas através da simulação envolvendo todos os elétrons.	p. 62
34	Comparação da região de gap nas estrutura de bandas do cristal de β -glicina obtidas através da inclusão de todos os elétrons (linha sólida) e usando pseudopotenciais de norma conservada (linha tracejada).	p. 64

35	Comparação da região de <i>gap</i> nas estrutura de bandas do cristal de β -glicina obtidas através da inclusão de todos os elétrons (linha sólida) e usando pseudopotenciais de ultramacios (linha tracejada).	p. 65
36	Absorbância na região do <i>gap</i> calculado usando pseudopotenciais de norma conservada para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (pontilhada) e 001 (ponto tracejada), além de policristal (contínua).	p. 66
37	Absorbância na região do <i>gap</i> calculado usando pseudopotenciais de norma conservada para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (pontilhada) e 001 (ponto tracejada), além de policristal (contínua).	p. 66
38	Absorbância na região do <i>gap</i> calculado usando pseudopotenciais ultramacios para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (pontilhada) e 001 (ponto tracejada), além de policristal (contínua).	p. 67
39	Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da β -glicina obtidos usando a abordagem que considera todos os elétrons (DMol ³).	p. 68
40	Densidade de estados eletrônicos para cada elemento e grupamentos funcionais da β -glicina obtidos usando pseudopotenciais de norma conservada.	p. 69
41	Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da β -glicina obtidos usando pseudopotenciais ultramacios.	p. 70
42	Representação esquemática em perspectiva da célula unitária do cristal de γ -glicina.	p. 72
43	Vista do cristal na direção do eixo <i>a</i> . As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.	p. 75
44	Vista do cristal na direção do eixo <i>b</i> . As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.	p. 76
45	Vista do cristal na direção do eixo <i>c</i> . As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.	p. 76
46	Estrutura de bandas do cristal de γ -glicina obtidas através de pseudopotenciais de norma conservada.	p. 80

47	Comparação da região de <i>gap</i> nas estrutura de bandas do cristal de γ -glicina obtidas através da inclusão de todos os elétrons (linha sólida) e usando pseudopotenciais de norma conservada (linha tracejada).	p. 81
48	Comparação da região de <i>gap</i> nas estrutura de bandas do cristal de γ -glicina obtidas através da inclusão de todos os elétrons (linha sólida) e usando pseudopotenciais de ultramacios (linha tracejada).	p. 82
49	Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da γ -glicina obtidos pelo DMol ³	p. 83
50	Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da γ -glicina obtidos usando pseudopotenciais de norma conservada.	p. 84
51	Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da γ -glicina obtidos usando pseudopotenciais ultra macios.	p. 85
52	Absorbância na região do <i>gap</i> calculado usando pseudopotenciais de norma conservada para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (tracejada) e 001 (pontilhada), além de policristal (contínua). O <i>inset</i> mostra o espectro completo.	p. 87
53	Absorbância na região do <i>gap</i> calculado usando pseudopotenciais ultramacios para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (tracejada) e 001 (pontilhada), além de policristal (contínua). O <i>inset</i> mostra o espectro completo.	p. 87
54	Requisitos de estereoquímica e substituições para atividade antibacteriana ótima dentre a série de tetraciclinas.	p. 90
55	Esquema de interação (linhas tracejadas) entre as partes constituintes do sítio estudado, onde Tc está representada em azul, o resíduo selecionado, em verde e o restante do sítio, em rosa. E1, E2 e E3 estão relacionados com energias de interação.	p. 94
56	Representação esquemática da interação entre a 7ClTc e os resíduos da TetR.	p. 95
57	Demonstração do ciclo autoconsistente para resolver a equação de Kohn-Sham (A.37) até o cálculo dos observáveis $O = O[\rho]$. (Adaptado de [80])	p. 114

Lista de Tabelas

1	Parâmetros de rede das fases cristalinas α , β e γ -glicina. (Dados extraídos de Perlovich <i>et.al.</i> [24])	p. 15
2	Comparação entre as metodologias usadas por Chisholm e por nós. . .	p. 22
3	Parâmetros de rede obtidos pela análise de convergência do cristal de α -glicina em diferentes energias de corte (E_{cut}).	p. 23
4	Coordenadas reduzidas das posições atômicas no cristal de α -glicina. . .	p. 24
5	Comprimentos de ligações em um cristal de α -glicina.	p. 24
6	Análise populacional da molécula no cristal de α -glicina através do métodos de Mulliken para as três aproximações realizadas nessa dissertação. . .	p. 33
7	Energias de ligação para níveis profundos para os elétrons nos orbitais O_{1s} , N_{1s} e C_{1s}	p. 34
8	Energias dos máximos da banda de valência.	p. 40
9	<i>Gaps</i> de energia para α -glicina.	p. 43
10	Transições para Estados Excitados (E.E.) <i>singlete</i> \rightarrow <i>singlete</i> para os diferentes arranjos moleculares analisados. Os símbolos H(L) denotam os orbitais HOMO(LUMO), enquanto que f é a força do oscilador.	p. 51
11	Comparação entre parâmetros de rede da β -glicina calculados com GGA/PBE para diferentes energias de corte e obtidos experimentalmente por Perlovich <i>et. al.</i> e teoricamente por Chisholm <i>et. al.</i>	p. 55
12	Comparação entre as metodologias usadas por Chisholm e por nós. . .	p. 56
13	Posições atômicas no cristal de β -glicina.	p. 57
14	Comprimentos de ligações para o cristal de β -glicina.	p. 58
15	Assinalamento das cagas atômicas calculadas pela análise populacional de Mulliken obtida através das três abordagens diferentes de cálculo. .	p. 61

16	Energias de ligação dos níveis eletrônicos profundos nos orbitais O_{1s} , N_{1s} e C_{1s}	p. 61
17	Energias dos máximos da banda de valência em cristais de β -glicina. . .	p. 62
18	<i>Gaps</i> de energia em cristais de β -glicina.	p. 63
19	Comparação entre parâmetros de rede da γ -glicina calculados com GGA/PBE para diferentes energias de corte e obtidos experimentalmente.	p. 73
20	Energias relativas dos polimorfos da glicina estudados nessa dissertação.	p. 73
21	Posições atômicas no cristal de γ -glicina.	p. 74
22	Comparação entre os comprimentos de ligação em cristais de γ -glicina determinados teoricamente com a maior energia de corte e experimentalmente.	p. 74
23	Análise populacional de Mulliken para o cristal de γ -glicina.	p. 78
24	Energia de ligação para os elétrons de caroço no cristal de γ -glicina. . .	p. 79
25	Máximos da banda de valência e mínimos da banda de condução para cristais de γ -glicina.	p. 86
26	Estrutura química dos principais membros não-sintéticos da classe de tetraciclina. Em parênteses estão informações sobre o nome genérico da droga e seu nome comercial.	p. 91
27	Energias de interação (E.I.) com $[Mg7ClTc]^+$ para cada resíduo interagente da 2TCT.	p. 96

Lista de Abreviaturas

A	- Adenina
a. u.	- Unidades Arbitrárias (<i>arbitrary units</i>)
ADN (DNA)	- Ácido Desoxirribonucléico (<i>deoxyribonucleic acid</i>)
ARN (RNA)	- Ácido Ribonucléico (<i>ribonucleic acid</i>)
B3LYP	- Funcional de Becke(3)-Lee-Yang-Parr
BFGS	- Otimização de Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno
BLYP	- Funcional de Becke-Lee-Yang-Parr
C	- Citosina
C α	- Carbono alfa
CPMD	- Algoritmo de Car-Parrinello para dinâmica molecular baseada na DFT (<i>Car-Parrinello Molecular Dynamics</i>)
DFT	- Teoria do Funcional da Densidade (<i>Density Functional Theory</i>)
Dmol ³	- Quando usado como aproximação utilizada, indica que foi usada base DNP e considerados todos os elétrons
DNP	- Base numérica <i>Double Numerical Plus Polarization</i>
DOE	- Departamento de Energia (<i>Department of Energy</i>)
DOS	- Densidade de Estados (<i>Density of States</i>)
FFT	- Transformada Rápida de Fourier (<i>Fast Fourier Transform</i>)
G	- Guanina
GGA	- Aproximação do Gradiente Generalizado (<i>Generalized Gradient Approximation</i>)
GLY	- Glicina
HF	- Hartree-Fock
HOMO	- Orbital Molecular Mais Alto Ocupado (<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>)
HTH	- α -hélice-volta- α -hélice
IDC	- <i>International Data Group Inc.</i>
IV (IR)	- Infra-vermelho (<i>Infrared</i>)
KS	- Kohn-Sham

LDA	- Aproximação da Densidade Local (<i>Local Density Approximation</i>)
LSDA	- Aproximação da Densidade Local de Spin (<i>Local Spin Density Approximation</i>)
LUMO	- Orbital Molecular Mais Baixo Desocupado (<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>)
MIA	- <i>Multiplicative Integral Approximation</i>
MP2	- Moller-Plesset
NC	- Pseudopotencial de Norma Conservada
NEXAFS	- <i>Near-Edge X-Rays Absorption Fine Structure</i>
NIH	- Instituto Nacional Norte-Americano de Saúde (<i>National Institute of Health</i>)
OM (<i>MO</i>)	- Orbitais Moleculares (<i>Molecular Orbitals</i>)
PBE	- Funcional de Perdew-Wang-Ernzerhof
PDB	- Banco de Dados de Proteínas (<i>Protein Data Bank</i>)
PDB-ID	- Identificação no PDB
PDOS	- Densidade de Estados Parciais (<i>Partial Density of States</i>)
PES	- Superfície de Energia Potencial (<i>Potential Energy Surface</i>)
PGH	- Projeto Genoma Humano
SCF	- Campo Auto-Consistente (<i>Self-Consistent Field</i>)
SM	- Modelo de super molécula
T	- Timina
Tc	- Tetraciclina
TD-DFT	- Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo (<i>Time-Dependent Density Functional Theory</i>)
TE (<i>AE</i>)	- Todos os Elétrons (<i>All Electron</i>)
TEY-NEXAFS	- <i>Total Electron Yield Near-Edge X-Rays Absorption Fine Structure</i>
tRNA	- RNA Transportador
U	- Uracila
USP	- Pseudopotencial Ultra Macio (<i>Ultra-Soft Pseudopotential</i>)
UV	- Ultravioleta
XPS	- <i>X-ray Photoemission Spectroscopy</i>

Sumário

Introdução	p. 1
Do ADN aos Aminoácidos	p. 1
Cristalização de Aminoácidos	p. 3
Simulações e Biotecnologia	p. 7
Escopo da Dissertação	p. 8
1 Glicina	p. 10
1.1 A Molécula	p. 10
1.2 O Polimorfismo Cristalino	p. 14
2 α-Glicina	p. 18
2.1 Metodologia Teórica	p. 18
2.2 Análise Estrutural	p. 20
2.3 Estrutura Eletrônica	p. 25
2.4 Absorção	p. 36
2.5 Luminescência	p. 45
3 β-Glicina	p. 54
3.1 Análise Estrutural	p. 54
3.2 Propriedades Eletrônicas	p. 60
4 γ-Glicina	p. 72
4.1 Análise Estrutural	p. 72

4.2	Propriedades Eletrônicas	p. 78
5	Tetraciclina	p. 89
5.1	Tetraciclinas e seus mecanismos de ação	p. 89
5.2	Metodologia Teórica	p. 92
5.3	Resultados e Discussão	p. 96
	Conclusões	p. 98
	Apêndice A – Cálculos de Primeiros Princípios	p. 101
A.1	Base Teórica	p. 101
A.2	Método de Hartree-Fock Restrito	p. 103
A.3	Teoria do Funcional da Densidade	p. 106
A.3.1	Aproximação da Densidade Local	p. 115
A.3.2	Aproximação do Gradiente Generalizado	p. 116
A.4	Conjuntos de Base	p. 117
	Referências	p. 120
	Anexo A – Artigos Escritos Durante o Mestrado	p. 127

Introdução

Do ADN aos Aminoácidos

Em 1953, James Watson e Francis Crick publicaram dois artigos que estabeleceram aquele ano como um marco no desenvolvimento das ciências, permitindo substituir antigas barreiras por tênues linhas imaginárias que separam as áreas do conhecimento científico. No primeiro artigo [1], eles mostraram a estrutura tri-dimensional do ácido desoxirribonucleico (ADN) em forma de hélice dupla (Figura 1). As implicações genéticas dessa descoberta foram o foco do segundo artigo que eles publicaram naquele ano [2]. Tal enovelamento helicoidal permitiu a natureza tanto compactar o material genético quanto garantir simultaneamente a diversidade e a identidade genéticas das espécies.

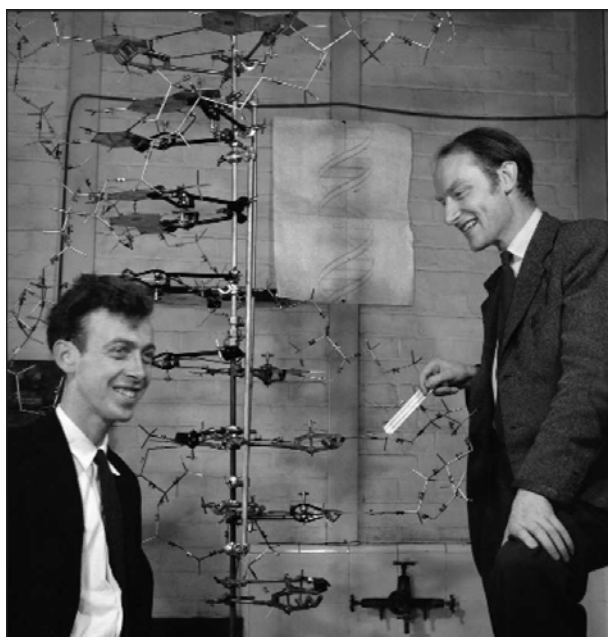


Figura 1: James Watson (esq.) e Francis Crick (dir.) mostrando o modelo de dupla-hélice para o ADN. Foto tirada em 1953 no Lab. Cavendish por Antony B. Brown.

No ano do cinquentenário desses artigos que revolucionaram a ciência, as comemorações coincidiram com o fim do Projeto Genoma Humano (PGH) iniciado treze anos antes, que tinha o objetivo de sequenciar o genoma humano [3], a partir de um esforço internacional comandado principalmente pelo Departamento de Energia (Department of

Energy - DOE) e Institutos Nacionais de Saúde (National Institutes of Health - NIH) dos Estados Unidos, além da Wellcom Trust, do Reino Unido. Outros países que contribuíram significativamente foram Japão, França, Alemanha e China, além de muitos outros países que desenvolveram projetos genômicos para diferentes espécies. O Brasil teve participação no PGH, mas também criou projetos genomas específicos, *e. g.* o sequenciamento da *Xyllela fastidiosa*, agente da chamada praga do “amarelinho” e o projeto genoma câncer. O desenvolvimento desses projetos fez surgir nas últimas décadas desde discussões éticas (*e. g.* experimentos de clonagem) até novas áreas do conhecimento, em que a mais notável foi a chamada Engenharia Genética e a Bioinformática.

Embora tenha sido um marco no progresso científico, o sequenciamento do genoma humano mostrou que muito ainda tem de ser feito, principalmente porque ainda não se consegue prever a função biológica a partir da estrutura gênica e/ou protéica (nem prever a estrutura a partir do sequenciamento gênico e/ou protéico). Além disso, tem-se que enquanto o material genético é responsável pela transmissão de informação, os agentes responsáveis pelo funcionamento dos organismos vivos são proteínas que comandam reações com finalidades bastante específicas (*e. g.* enzimas). Como a síntese protéica começa com a transcrição do ADN, pode-se pensar então que ao se saber o sequenciamento genético e a seqüência de qualquer proteína, a relação entre causa e efeito estaria completa, permitindo prever qualquer mutação gênica possível. Entretanto, essa relação embora seja direta ao sabermos que cada aminoácido é formado a partir de seus respectivos códon (conjunto de três bases nitrogenadas do ácido ribonucléico - ARN - mensageiro), a recíproca não é verdadeira, ou seja, sabendo uma seqüência de bases nitrogenadas, o número de proteínas que podem ser sintetizadas é enorme, pois ocorre que em muitos casos bases não-vizinhas do ADN se alinham para formar o ARN mensageiro (que carrega o “desenho” da proteína a ser sintetizada). Esse alinhamento não previsível, com a formação de reentrâncias (chamados de íntrons) que não participam da transcrição do ADN, confere um número incontável de possibilidades de síntese protéicas, onde seguramente apenas uma ínfima parte delas apresenta algum aproveitamento biológico.

Apesar da situação ser extremamente complexa, ela não é nada caótica, uma vez que a natureza repete seus processos de forma idêntica (resultado de bilhões de anos de evolução dos processos biológicos dos organismos), conferindo ao universo que conhecemos inúmeras possibilidades de investigação. Entretanto, mutações e erros na síntese protéica são comuns, levando a doenças e dando grande capacidade de mutação em alguns seres (*e. g.* vírus). Em geral, a atividade biológica das proteínas está tão intimamente ligada à sua estrutura tri-dimensional, e essa por sua vez com sua seqüência, que a mudança de um

único resíduo de aminoácido dentro de uma cadeia de centenas ou milhares deles provocam alterações que comprometem significativamente o funcionamento de suas atribuições. A anemia falciforme, por exemplo, é uma doença de natureza genética resultante do intercâmbio de posição um aminoácido com outro distante **oito** ligações peptídicas [4].

Por fim, chegamos às unidades monoméricas das proteínas: os aminoácidos. Além de serem os formadores dos elementos essenciais aos organismos vivos, eles isoladamente são objetos de interesse para aplicações biológicas e tecnológicas. Enquanto existem apenas cinco bases nitrogenadas (Adenina, Timina, Guanina, Citosina e Uracila), em que A, T, G e C estão presentes no ADN e A, T, U e C estão presentes no ARN, onde as letras usadas se referem às iniciais das bases nitrogenadas mencionadas anteriormente, existem mais de cem aminoácidos conhecidos na natureza, sendo que apenas vinte estão presentes em proteínas, garantindo uma diversidade protéica maior do que de material genético. Por exemplo, com vinte aminoácidos é possível construir $6,4 \times 10^7$ hexapeptídeos diferentes, e com quatro bases nitrogenadas (que é o número máximo de bases diferentes que um ADN ou ARN apresenta), teríamos, em comparação, apenas 4.096 possibilidades de fazermos uma cadeia com seis bases. Acredita-se que esse tenha sido o motivo para a evolução através de seleção natural ter escolhido as proteínas para serem o resultado da expressão genética e constituírem os principais catalisadores celulares. Outro fato notável é que, embora os aminoácidos possam se apresentar em duas formas enantioméricas, no mundo que conhecemos apenas L- aminoácidos estão presentes nas proteínas.

Cristalização de Aminoácidos

Todas as formas de vida conhecidas apresentam duas características que chamaremos aqui de: o fator genômico e o proteômico. O primeiro é responsável pela transmissão e armazenamento de informações genéticas, enquanto que o segundo está relacionado com a funcionalidade das características biológicas, onde as proteínas desempenham o papel central. Esses dois fatores são complementares para o entendimento dos mecanismos envolvidos nos processos biológicos.

Do ponto de vista estrutural, todos os 20 aminoácidos comumente encontrados são α -aminoácidos, apresentando grupamentos carboxila e amina ligados a um mesmo átomo de carbono (o carbono α). A diferença entre os aminoácidos está na cadeia lateral, chamada também de radical, mostrada na Figura 2, identificada pela letra *R*. Excetuando-se a prolina, que é um aminoácido cíclico, todos os aminoácidos protéicos apresentam a forma

iônica mostrada na Figura 2.

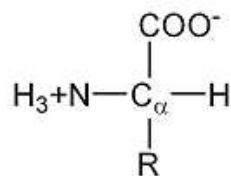


Figura 2: Estrutura geral comum a todos os aminoácido (exceto a prolina que é um aminoácido cíclico), em forma iônica (*zwitterion*).

Em geral, os aminoácidos podem ser classificados de acordo com as propriedades da cadeia lateral. Em particular, eles podem ser classificados de acordo com sua polaridade, ou tendência de interagir com água em pH biológico (próximo ao pH 7,0). A polaridade da cadeia lateral (ou grupo *R*) apresenta grande variabilidade, partindo de cadeias não polares e hidrofóbicas (insolúveis em água) a aminoácidos extremamente polares e hidrofílicos (solúveis em água). Embora aja discordância relativa à classificação dos aminoácidos em grupos e a determinação de qual grupo cada um pertence, usualmente os aminoácidos podem ser classificados de acordo com a regra acima, da seguinte maneira (ilustrados na Figura 3):

- *Grupos R Não Polares, Alifáticos* - a cadeia lateral nessa classe de aminoácidos são não polares e hidrofóbicas, cujos representantes são: glicina, alanina, prolina, valina, leucina, isoleucina e metionina;
- *Grupos R Aromáticos* - por apresentarem cadeia lateral aromática, eles são relativamente não-polares. Esse grupo é por formado fenilalanina, tirosina e triptofano;
- *Grupos R Polares, Não Carregados* - Por serem polares, os aminoácidos pertencentes a esse grupo (serina, cisteína, treonina, asparagina e glutamina) são mais solúveis em água que os não-polares, pois apresentam grupamentos funcionais que permitem a formação de ligações de hidrogênio. No caso da cisteína, elas podem formar as chamadas pontes de dissulfeto, que são responsáveis pela estabilidade do enovelamento em “folhas- β ” nas proteínas;
- *Grupos R Positivamente Carregados* - Por serem carregados, os aminoácidos lisina, arginina e histidina são bastante hidrofílicos;
- *Grupos R Negativamente Carregados* - Como os aminoácidos do grupo anterior, os aminoácidos pertencentes a este grupo (ácido aspártico e ácido glutâmico, ou aspartato e glutamato, respectivamente) também são bastante solúveis em água.

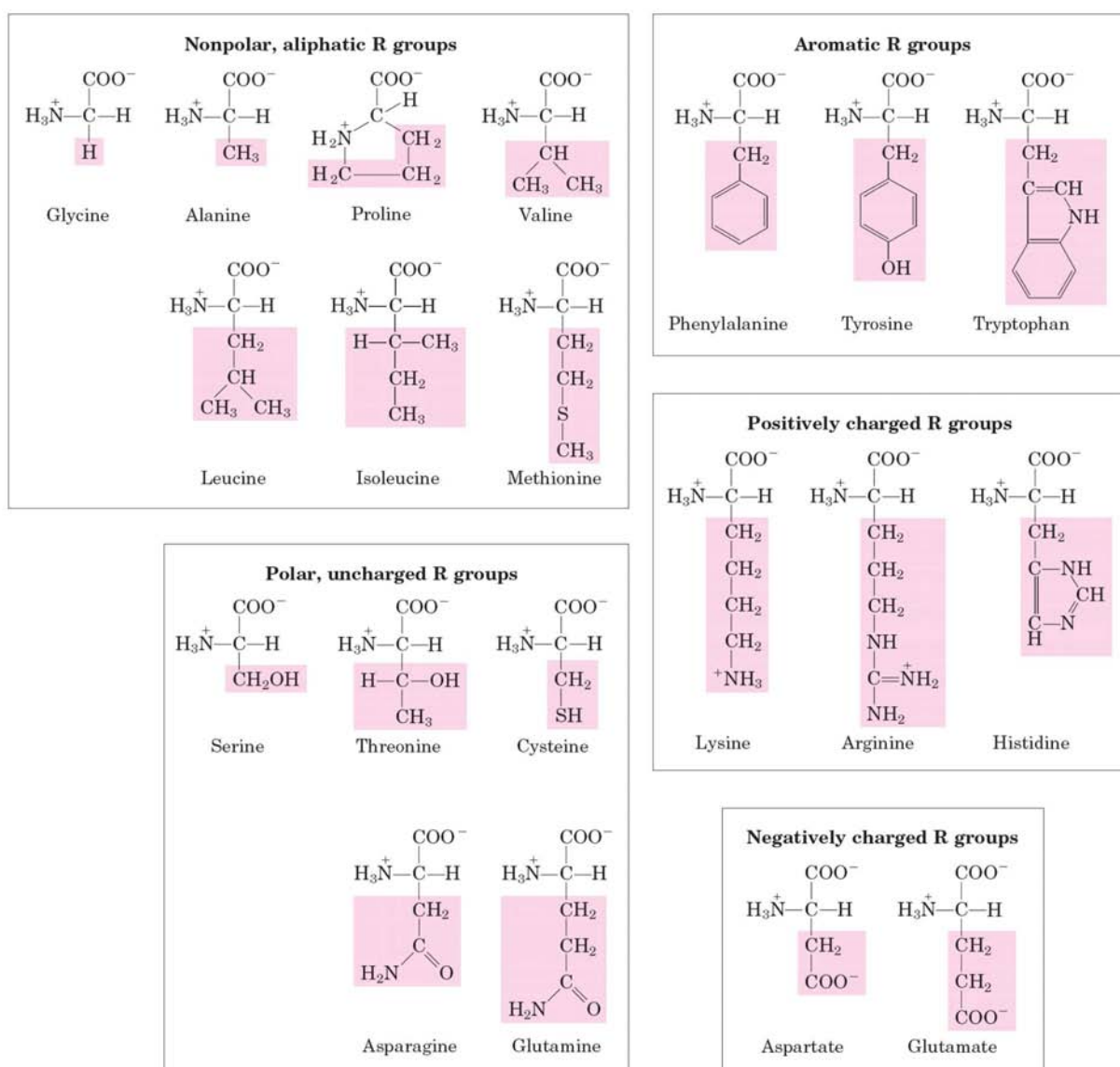


Figura 3: Estrutura de todos os vinte aminoácidos protéicos, classificados pela carga do grupo *R*. As fórmulas estruturais mostram o estado de ionização que predominaria em pH 7,0. Figura extraída de [4]

Como constituintes monoméricos das proteínas, os aminoácidos estarão no foco da presente dissertação, que irá se concentrar na *glicina*, que é o menor aminoácido existente dentre os vinte proteicos e o único não quiral, ou seja, que apresenta uma estrutura molecular centro-simétrica. A glicina, além de sua importância biológica por participar não só da formação de inúmeras proteínas, mas também por atuar no processo de neurotransmissão [5, 6, 7], apresenta grande interesse tecnológico, onde já foi demonstrado grande potencial para ser utilizada como memória para os futuros computadores quânticos [8], além de propriedades elétricas ainda não explicadas, oferecendo, assim, oportunidades para identificação e desenvolvimento de materiais com propriedades elétricas aprimoradas.

Informações acerca da atuação de uma dada molécula em sistemas biológicos são adquiridas estudando, principalmente, a parte estrutural (configuração tridimensional) da mesma. Classicamente, para esse objetivo, utiliza-se a técnica de cristalização e resolução por raios-x. Mais recentemente, devido ao avanço tecnológico, modelos computacionais, baseados em estudos em nível eletrônico, têm sido desenvolvidos para implementação de abordagem teórica sobre moléculas. Sua aplicabilidade, entretanto, se restringe ao tamanho do sistema em estudo, uma vez que tal nível de detalhamento teórico gera um grande custo computacional.

Uma grande vantagem relativa ao estudo de cristais de aminoácidos está no fato de que eles formam uma família de moléculas que apresentam uma estrutura em comum conectada a um grupo de átomos variável. Isso faz com que eles sejam sistemas ideais, por exemplo, para o estudo de adição deliberada de impurezas. Ainda, cristais de aminoácidos usualmente apresentam polimorfismos, ou seja, cristalizam-se em mais de uma possibilidade de grupos de simetria e de células unitárias. Tanto em cristalização industrial (*e. g.* fármacos), quanto em cristalização de proteínas, um polimorfo pode oferecer um hábito cristalino desejável em detrimento de outros. Outra característica muitas vezes procurada é que o polimorfo produzido inicialmente na cristalização não seja o termodinamicamente mais estável e, dessa forma, uma transição de fase no estado sólido ou via solução possa ocorrer [9].

Além das vantagens mencionadas anteriormente, a cristalização de aminoácidos se torna relevante também se compararmos com a cristalização de proteína. Um dos principais pontos está no fato de que embora sejam sistemas bastante diferentes, tendo as proteínas um alto grau de complexidade, tanto do ponto de vista estrutural quanto do ponto de vista da cristalização em si, eles apresentam algumas afinidades. Entre as semelhanças compartilhadas, temos que: (i) a maioria dos aminoácidos são solúveis em água e pouco solúveis em solventes orgânicos; (ii) tanto a forma molecular em solução, quanto sua solubilidade são extremamente sensíveis ao pH; (iii) cristais de aminoácidos apresentam estabilidade, em geral, devido a ligações de hidrogênio, além de serem geralmente hidratados [9]. Como modelo a ser estudado, cristais de aminoácidos se tornam uma escolha particularmente útil, uma vez que é relativamente fácil crescer cristais de boa qualidade com aproximadamente 1 cm em um dos eixos do hábito cristalino a partir de solução aquosa.

Simulações e Biotecnologia

As simulações computacionais para qualquer sistema de interesse têm ganhado destaque devido, principalmente, à evolução do poder computacional das últimas décadas, aliada ao barateamento do custo dos computadores que podem ser usados de maneira satisfatória para esse fim. Em alguns casos, simulações alcançaram “status de experimento”, sendo usualmente chamada (principalmente por biólogos) como experimentos *in silico*, em concorrência aos tradicionais experimentos *in vitro* e *in vivo*. Obviamente os experimentos *in silico* devem ser analisados com certa cautela, tomando o devido cuidado ao se estabelecer os parâmetros que podem ser analisados e levados a comparação com o mundo real, uma vez que dentre os tipos experimentais citados, este é o que apresenta o maior grau de reducionismo em relação às variáveis existentes no sistema analisado como um todo.

Dada a confiabilidade dos resultados obtidos através de simulações computacionais, o interesse por esse tipo de técnica transcende o campo de especulação científica e passa a fazer parte do cotidiano de grandes indústrias, com foco desde ciência de materiais até a indústria farmacêutica. Com base na suposição de que o investimento em modelagem e simulações computacionais traria retorno financeiro aos investidores, o instituto americano IDC (*International Data Group Inc.*) realizou uma pesquisa em que foi analisado o retorno do investimento para empresas ligadas a ciência de materiais com o uso de técnicas de modelagem e simulação [10]. Como resultado, a pesquisa mostrou que para cada dólar investido em ferramentas de modelagem e simulação, além de pessoal capacitado aliado às ferramentas tradicionais de experimentação, o retorno do investimento pode variar de três a nove dólares levando em conta os seguintes cenários relativos aos benefícios que essas técnicas levaram às empresas estudadas: (i) eficiência experimental; (ii) maior variedade de opções para solução na exploração de materiais; (iii) economia no desenvolvimento de produtos; (iv) modelagem e simulação de testes de margens de segurança juntamente com a anulação de despesas e obrigações relacionadas com materiais perigosos; e (v) aprimoramento do tempo de chegada ao mercado para novos produtos. Embora o estudo se refira às empresas de materiais, muitas das suposições em que ela se baseia são conservadas para outros ramos, por exemplo, a indústria farmacêutica, que é um dos setores de maior destaque e inserção social da biotecnologia.

A biotecnologia se apresenta como uma evolução natural da mesclagem de conhecimentos, como por exemplo em física, química e biologia, em que experimentos laboratoriais e simulações e/ou modelagens computacionais desempenham papel relevante. A biotecnologia, juntamente com sua faceta mais recente a nanobiotecnologia, se consolida,

portanto como um dos mais recentes pilares do desenvolvimento industrial, tecnológico e científico. Embora ainda esteja em estágio inicial de amadurecimento, suas conseqüências já podem ser notadas: desde o controle de pragas em plantações à engenharia genética e biosensores. Esse crescente desenvolvimento se deve em grande parte ao aprimoramento das técnicas de simulação, quer sejam simulações de mercado ou de retorno de investimento, quer sejam de compreensão das propriedades mais fundamentais da natureza, presentes nos produtos e técnicas que tendem a chegar ao mercado.

O aprimoramento da biotecnologia ainda traz em seu bojo a necessidade de redução das margens de erro, determinada pela total intolerância a eles por parte tanto da sociedade civil quanto dos órgãos governamentais. Dessa forma, as pesquisas para a criação e colocação no mercado dos produtos biotecnológicos têm envolvido investimentos astronômicos por parte de empresas e governos, além da necessidade de um tempo cada vez maior de pesquisa. Com efeito, o retorno do investimento tende a acontecer no médio e longo prazo. Ações que aumentem a eficiência e introduzam novas técnicas que sejam traduzidas em economia no investimento realizado são sempre desejadas, uma vez que além de diminuir o custo final do produto, diminuem o tempo em que o retorno do investimento é alcançado.

É dentro da perspectiva de que a união entre técnicas computacionais e experimentais pode trazer grande retorno, tanto do ponto de vista de enriquecimento do conhecimento do objeto de estudo, quanto do ponto de vista do investimento financeiro realizado, que esta dissertação se insere. Embora não tenha a pretensão de ser um guia de procedimentos a fim de abranger todas as potencialidade de técnicas teóricas aplicadas no cotidiano, a presente dissertação busca se inserir de forma secundária (sendo a primária, voltada à compreensão dos objetos de estudo) na categoria de auxílio à correlação entre simulação e experimento, mostrando como algumas medidas podem ser explicadas por simulações computacionais.

Escopo da Dissertação

A presente dissertação está dividida em basicamente duas seções independentes, porém ligadas onde a primeira se concentra no estudo das propriedades estruturais, eletrônicas e vibracionais de três diferentes polimorfos cristalinos da glicina: α -, β - e γ -glicina; e a segunda seção mostra o uso de métodos de primeiros princípios no estudo da interação proteína-ligante com aplicação em fármacos, em que o ligante é o antibiótico

7-clorotetraciclina (7Tc). Diante dessa diferenciação dos trabalhos apresentados nessa dissertação, temos que a primeira seção é bem mais extensa que a segunda.

A primeira seção começa no **Capítulo 1 - Glicina**, onde é feita uma apresentação do aminoácido estudado, com as propriedades moleculares e cristalinas mostradas em função das principais publicações existentes, incluindo a análise dos polimorfos da glicina existentes. Em seguida, o **Capítulo 2 - α -Glicina** trata das propriedades estruturais, eletrônicas e óticas do polimorfo α -glicina. Nesse capítulo, são apresentados resultados de medidas de absorção, XPS e luminescência, interpretados usando diversas técnicas de simulação de primeiros princípios baseados em DFT. Os **Capítulo 3 - β -Glicina** e **Capítulo 4 - γ -Glicina** apresentam as propriedades estruturais, eletrônicas e óticas para os polimorfos β e γ , respectivamente. Os resultados foram obtidos exclusivamente via cálculos *ab initio*, mas foram feitas comparações dos resultados, de forma a diferenciar um polimorfo do outro, e comparação com resultados existentes na literatura.

A segunda seção, tem apenas o **Capítulo 4 - Tetraciclina**, que começa com a descrição dos mecanismos de ação do antibiótico de largo espectro, Tetraciclina. Nesse capítulo, além dos resultados que são bastante concordantes com os determinados experimentalmente, a metodologia empregada para realizar os cálculos é bem valorizada, uma vez que ela é peça-chave para obtenção dos resultados e comparação com os experimentos de forma satisfatória. Por fim, o **Apêndice A - Cálculos de Primeiros Princípios** apresenta um resumo com certo detalhamento sobre os cálculos de primeiros princípios para solução de problemas baseados em mecânica quântica com foco maior na teoria do funcional da densidade, mas fazendo contraste com o método de Hartree-Fock.

1 Glicina

1.1 A Molécula

Glicina é o mais simples dos aminoácidos protéicos existentes, cuja cadeia lateral é um átomo de hidrogênio, sendo por isso, o único não quiral. Na forma gasosa, ela se apresenta em forma não-iônica, enquanto que em solução (no ponto isoelétrico característico) ou em cristal, ela assume uma forma iônica chamada de *zwitterion* (Figura 4). A forma iônica depende do ambiente em que a molécula está inserida, pois em solução ácida, em que há excesso de hidrogênio (H^+), o grupamento carboxila (COO^-) se neutraliza dentro da faixa de tamponamento, fazendo com que a molécula apresente uma carga formal positiva, de forma a manter uma certa neutralidade na solução. Nessa mesma tendência, glicina em meio básico (com excesso de OH^- , doa um hidrogênio do grupamento amina (NH_3^+) para a solução, fazendo com que a molécula apresente uma carga formal negativa. Apesar dessa *zwitterionização* causar um aumento na energia em relação à forma gasosa, acredita-se que a forma iônica é a “preferida” tanto nos cristais quanto em solução, pois sua estabilidade ocorre através de ligações de hidrogênio, potencializadas na forma iônica.

Dada sua simplicidade molecular e seu tamanho diminuto, a glicina apresenta a vantagem evolutiva de poder se “infiltrar” em posições da cadeia peptídica que nenhum outro aminoácido poderia, pois isso acarretaria em um aumento das tensões envolvidas para estabilidade da estrutura protéica e, dessa forma, em um aumento da energia necessária para manter a estrutura. Como exemplo dessa vantagem, apenas a glicina pode ser o aminoácido interno na hélice de *colágeno*. Nesse caso, sua presença chega a um terço dos aminoácidos presentes, enquanto que em geral a presença de glicina em proteínas é relativamente baixa. Ainda em proteínas como *citocromo C*, *mioglobina* e *hemoglobina*, ela oferece grande estabilidade estrutural, pois qualquer outro aminoácido (inevitavelmente com uma cadeia lateral maior) substituindo-a, poderia levar à quebra da estrutura protéica [4, 11]. Do ponto de vista fisiológico, a glicina atua como mediadora de neurotransmissão

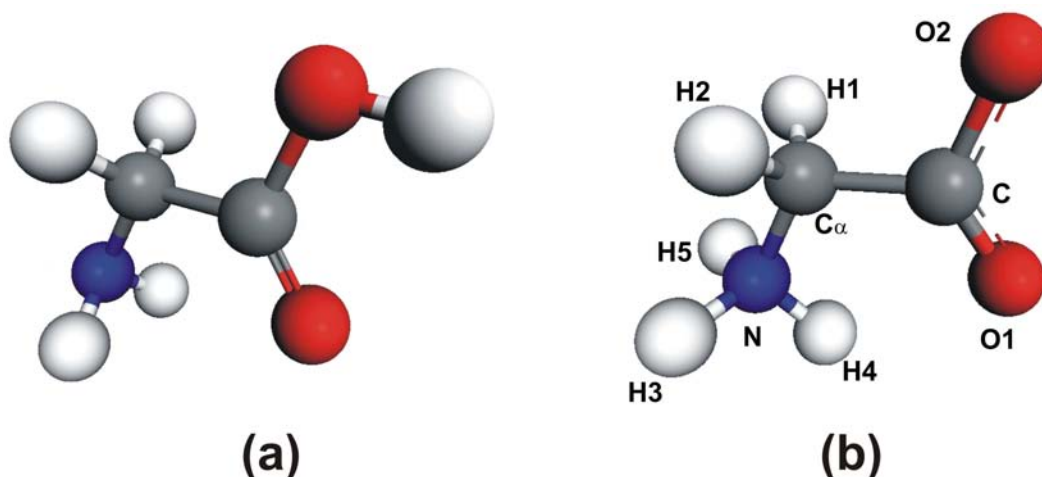


Figura 4: Representação esquemática da molécula de glicina (a) não-iônica (gasosa); e (b) em forma iônica (*zwitterion*).

inibidora, que é essencial em respostas por reflexo, controle do motor voluntário e o processamento de sinais sensoriais no sistema nervoso central de mamíferos [5]. Receptores de glicina estão entre os receptores inibidores mais amplamente distribuídos no sistema nervoso central e, dessa forma, eles se tornaram alvos de intensos estudos para desvendar seus mecanismos de ação [5, 6].

Muitos estudos em sua forma molecular foram realizados, principalmente para se estabelecer qual estrutura conformacional apresenta maior estabilidade ou, em termos da grandeza estudada, busca-se a estrutura que apresente a menor energia para formação. Nesse sentido, a busca maior tem sido na determinação através de experimentos e simulações da forma gasosa da glicina (4-a), pois ela apresenta um maior número de possibilidades conformacionais. Além disso, a glicina na forma *zwitterionica* apresenta dificuldades relativas ao cálculo teórico, pois o processo de minimização de energia geralmente leva a uma estrutura não iônica (“transferência” de hidrogênio do grupo amina para o carboxila) ou geometrias instáveis, detectados pela presença de vibrações negativas resultantes dos cálculos teóricos de análise dos modos vibracionais [12]. Para resolver esses problemas em busca de uma geometria aceitável é necessária a inclusão de efeitos de solvente (*continuum*) além da inclusão explícita, em alguns casos, de moléculas do solvente em consideração (*e.g.*, moléculas de água). Nesse sentido Godfrey e Brown [13] analisaram o espectro rotacional de 2 dentre 7 conformações de glicina, sendo as moléculas estudadas as que apresentaram maior estabilidade. Para isso, eles fizeram substituições isotópicas (trocar átomos de hidrogênio por de deutério na molécula) em todos os átomos “pesados” que compõem a molécula. As moléculas analisadas apresentavam a estrutura não-iônica. Os resultados foram comparados com cálculos *ab initio* para se determinar a diferença en-

ergética de cada conformação, de forma a se estabelecer qual das estruturas seria a mais estável. Reva *et. al.* [14] realizaram experimentos de espectroscopia no infravermelho (IR) para caracterização de diferentes configurações de glicina e seus isotopómeros (glicina substituídas por seus análogos deuterados) em fase gasosa em ambiente inerte com gás de Ne, Ar e Kr. O método de espectroscopia vibracional é de aplicação limitada, pois as intensidades de transição no espectro de microondas são proporcionais ao quadrado do momento de dipolo das moléculas, de forma que desvios na orientação do mesmo, que podem estar relacionados com diferentes conformações moleculares não podem ser detectados.

Em um trabalho posterior realizado por Stepanian *et. al.* [15], foram realizadas medidas de espectroscopia infra-vermelho (IR) em amostras de glicina depositadas em temperaturas entre 19K e 5,5K. Foram analisadas moléculas de glicina na fase gasosa em ambiente inerte para três polimorfos, em que dois deles já haviam sido comprovados em experimentos anteriores em medidas de espectro de microondas. Entretanto, há dificuldade na detecção de outros tipos de conformações usando esta técnica, uma vez que as intensidades desse espectro são proporcionais ao quadrado do momento de dipolo das moléculas, fazendo com que desvios na orientação do mesmo (geralmente relacionadas com diversidade conformacional) dificilmente sejam detectados. Ainda conformações que apresentem momentos de dipolo relativamente baixos são pouco prováveis de serem detectados por espectroscopia de microondas. Eles mostraram que a espectroscopia por infravermelho se torna uma técnica adequada para investigação conformacional da glicina, uma vez que os espectros IR são extremamente sensíveis a ligações de hidrogênio intramoleculares. Eles realizaram ainda cálculos DFT (*Density Functional Theory*) e MP2 (*Moller-Plesset*, que é um método *ab initio* baseado na teoria da perturbação) para conjuntos de bases grandes para simular o espectro IR de forma a interpretar os resultados experimentais. Nesse trabalho, eles observaram o surgimento de uma banda nova no espectro IR quando a temperatura se tornava maior que 13K, que foi evidenciado como sendo um novo conformero que não havia sido identificado na literatura anteriormente. Os cálculos de primeiros princípios mostraram que essa suposição se mostrou verdadeira. Além da glicina e seus conformeros, foram utilizados os respectivos isotopómeros dela (substituição de átomos de hidrogênio por de deutério). A dizer, foram analisados os isotopómeros: glicina (*glicina* - d_0), *C, C* - d_2 - *glicina*, *N, N, O* - d_3 - *glicina*, além das glicinas totalmente deuteradas. Por fim, eles demonstram que métodos baseados a partir da teoria do funcional da densidade (DFT) com funcionais híbridos (B3LYP) produzem estruturas para os conformeros da glicina em excelente concordância com os dados ex-

perimentais e praticamente idêntico aos resultados por MP2, o que é uma vantagem do ponto de vista do custo computacional.

Embora a forma *zwitterionica* da glicina não apresente a versatilidade conformacional da fase gasosa, Chakraborty e Manogaran [12] realizaram cálculos *ab initio* dos modos vibracionais para moléculas de glicina em sua estrutura *zwitterionica* através do método de Onsager para determinação de um meio contínuo, a fim de aplicar efeitos corretivos aos resultados obtidos para uma molécula isolada relacionados com as interações intermoleculares tanto glicina-glicina quanto glicina-solvente. Foi mostrado que a escolha apropriada do conjunto de base juntamente com as constantes dielétricas e raio de cavidade, além da aplicação de um fator de escala corretivo arbitrário incluem de maneira satisfatória esses efeitos. Dessa forma, pode-se comparar de maneira bem sucedida os resultados da simulação com os resultados experimentais. A superfície de energia potencial (*potential energy surface* - PES) *ab initio* de glicina na fase gasosa foi estudada extensivamente. Entretanto, estudos teóricos da forma *zwitterionica* são relativamente poucos, pois tentativas de se estudar glicinas *zwitterionicas* isoladas usando métodos *ab initio* não têm sido bem sucedidas devido às dificuldades citadas anteriormente.

Recentemente, Fischer *et. al.* [16] realizaram experimentos e cálculos de primeiros princípios (DFT/B3LYP e HF) para determinação e caracterização por espectroscopia de infravermelho (IR) em moléculas de glicina e glicilglicina. Foram consideradas as estruturas *zwitterionicas* nos cálculos, e notaram que essa deve ser a estrutura presente durante as medidas realizadas. Para o experimento, soluções de glicina e glicilglicina foram colocadas em vários ambientes alcalinos (KBr, KCl, NaI, NaCl, NaBr, CsI e CsCl). Foi percebido que as diferenças de energia entre possíveis conformeros *zwitterionicos* são bastante baixas (menores que 330 cm^{-1}) e que não há nenhuma descrição consistente relacionada sobre a preferência de estabilidade de uma conformação em detrimento à outra.

Messer *et. al.* [17] levaram em consideração a dependência da estrutura eletrônica da glicina com o pH, uma vez que aminoácidos individuais existem como cátions em meios ácidos, *zwitterions* com carga total nula em pH intermediários, e como ânions em soluções básicas, onde se deve entender com pH intermediário, ácido e básico aqueles valores próximos, menores e maiores que o ponto isoelétrico, respectivamente. Essa forte dependência do pH do estado de cargas é refletido na sensibilidade a mudanças no ambiente das propriedades de peptídeos e proteínas construídos a partir de aminoácidos individuais. Foram medidos os espectros *K-edge* dos átomos pesados (carbono, nitrogênio

e oxigênio) em soluções aquosas de glicina através da espectroscopia *total electron yield near-edge X-ray absorption fine structure* (TEY–NEXAFS). Eles realizaram cálculos DFT e métodos de potenciais transientes para analisar os espectros coletados pelos experimentos de NEXAFS para cada estado da glicina. Utilizaram o funcional de correlação formulado por Perdew, Burke e Ernzerhof [18] e uma formulação revisada do funcional de troca proposto por Hammer, juntamente com o conjunto de base DZVP otimizada. Outros autores também buscaram estudar as propriedades eletrônicas da glicina através de experimentos de espectroscopia de fotoelétrons de raios-x e de estrutura fina de absorção por raios-X para determinação da energia de ligação dos elétrons 1s dos átomos não hidrogênio (*e.g.* C, N, O), que além de serem análises quantitativas (relativa à abundância dos átomos na amostra) são também constitutivas (identificam os átomos presentes na amostra analisada), em aminoácidos adsorvidos em diferentes superfícies de materiais não orgânicos [19, 20] e em oligopeptídeos [21, 22, 23]. Alguns desses estudos, ainda realizaram comparações com cálculos de primeiros princípios de forma a ajudar a identificar os picos obtidos experimentalmente [19, 22].

1.2 O Polimorfismo Cristalino

Embora em termos moleculares não exista L- ou D-glicina [4], há grande versatilidade em sua forma cristalina, apresentando grande polimorfismo, dentre os quais os três principais são: α -, β - ou γ -glicina [24] (com grupamentos espaciais $P2_1/n$, $P2_1$ e $P3_2$, respectivamente), onde essa nomenclatura não está relacionada com a posição do carbono centro-simétrico, mas somente para enumeração/diferenciação dos polimorfos cristalinos. Em temperatura e pressão ambiente, a ordem de estabilidade segue a seqüência $\gamma > \alpha > \beta$, onde γ é a fase mais estável. Apesar disso, a fase mais estudada é a α -glicina [24, 25, 26], pois ela é facilmente obtida pelo método da evaporação lenta do solvente em solução aquosa concentrada, enquanto que a γ é obtida a partir de solução ácida [24, 27, 28]. Trabalhos recentes mostraram ainda que a formação de γ -glicina pode ser induzida por irradiação de laser polarizado [29]. A fase β é obtida a partir da solução de etanol/água [30, 31], entretanto ela se transforma rapidamente nas fases α ou γ na presença de umidade em temperatura ambiente, mas é meta-estável em ar seco [32]. A Tabela 1 apresenta os dados cristalográficos dos principais polimorfos dos cristais de glicina, obtidos por Perlovich *et al.* [24].

A primeira contribuição importante para a determinação da estrutura da α -glicina no estado sólido foi realizada por Albrecht e Corey [25], que determinaram não só sua estru-

Tabela 1: Parâmetros de rede das fases cristalinas α , β e γ -glicina. (Dados extraídos de Perlovich *et.al.* [24])

	α -glicina	β -glicina	γ -glicina
$a/\text{Å}$	5,107(2)	5,0943(13)	7,035(2)
$b/\text{Å}$	12,040(2)	6,286(5)	7,035(2)
$c/\text{Å}$	5,460(2)	5,3831(15)	5,481(2)
α	90°	90°	90°
β	$111,82^\circ(2)$	$113,21^\circ(2)$	90°
γ	90°	90°	120°
Z	4	2	3
$V/\text{Å}^3$	311,67(3)	158,44(3)	234,91(13)
G. E.*	P2 ₁ /n	P2 ₁	P3 ₂

* Grupo Espacial

tura cristalina como também a estrutura molecular, uma vez que as posições atômicas dos átomos não-hidrogênio foram determinadas. Embora não tenham determinado as posições dos hidrogênios, foi proposto que o arranjo atômico sugere uma estrutura *zwitterionica* para a molécula da glicina no cristal, indicando que a estabilidade cristalina fosse devido por ligações de hidrogênio inter-moleculares. Depois, cristais de α -glicina foram reinvestigados por Marsh [33]. De forma a se obter as posições dos átomos de hidrogênio mais precisamente, foram realizados experimentos de difração de nêutrons. Uma combinação de raios-x e difração de neutrons foram usados para estudar a densidade eletrônica em temperatura ambiente [34] e a 120K [35]. β -glicina [31] e γ -glicina [28] foram estudadas por Iitaka através de experimentos de difração de raios-x. Depois, também foram realizados experimentos de difração de neutrons em γ -glicina a 83K e 298K. Peeters *et. al.* [36] realizaram cálculos de primeiros princípios para determinar a estrutura molecular *zwitterionica* da glicina em um ambiente cristalino. Para isso eles montaram um *cluster* com 15 moléculas colocadas nas posições cristalinas dos polimorfos α -, β - e γ -glicina e analisaram a estrutura da molécula central. Foram usadas duas abordagens: (i) modelo PC - em que uma única molécula é determinada por uma função de onda (quanticamente), enquanto que o restante das moléculas atuam, na realidade, como cargas pontuais colocadas nas posições atômicas das moléculas vizinhas. Dessa forma, a interação entre a molécula central e o ambiente é feita de forma puramente eletrostática; (ii) modelo de supermolécula (SM) - em que todas as moléculas, tanto a central quanto as vizinhas, são descritas quanticamente, ou seja, trata-se de cálculos *ab initio*, em que foi empregado o método MIA (*multiplicative integral approximation*), que é uma combinação da aproximação da integral multiplicativa e o método de campo autoconsistente (SCF) direto. Nos cálculos realizados pelo método SM todos os $3N$ (para N átomos) graus de liberdade podem ser refinados,

enquanto que para o modelo PC tanto a posição do centro de massa quanto a orientação do eixo inercial estão fixas nos valores experimentais.

Dovbeshko *et. al.* [37] realizaram experimentos de infravermelho distante (Far-IR) para baixas frequências em cristais de α -glicina, β -alanina, L-histidina e DL-triptofano na região 0,2–400 cm^{-1} . Com o decréscimo da temperatura, mudanças notáveis foram observadas no espectro Raman da glicina: um aumento das frequências vibracionais, uma diminuição de seus *halfwidths*, uma redistribuição das intensidades e o surgimento de novas linhas. Os maiores deslocamentos absolutos (acima de 10cm^{-1}) tomaram lugar das linhas dentro da região 100-220 cm^{-1} , deslocamentos menores (até 10cm^{-1}) na região 30-90 cm^{-1} , e na região abaixo 50 cm^{-1} os deslocamentos foram ainda menores. Os dados obtidos para α -glicina podem ser explicados quando se é assumido que múltiplos desvios da perfeição (defeitos cristalinos etc.) efetivamente eliminam o centro de inversão para áreas estendidas do cristal adjacentes a esses defeitos. Murli *et. al.* [38] realizaram medidas de espalhamento Raman em cristais de α -glicina submetidos a altas pressões, no intervalo [0,23] GPa. Nesse intervalo, para esse cristal não foi observado qualquer transição de fase, entretanto houve um certo rearranjo estrutural molecular, tornando as interações inter- e intramoleculares mais fortes. Recentemente, Shi e Wang realizaram [39] experimentos de espectroscopia pulsada em terahertz (*terahertz time-domain spectroscopy*) para investigar a absorção e a dispersão de policristais de α - e γ -glicina na região espectral 0,5–3,0THz. Eles demonstraram com sucesso que essa técnica é extremamente sensível a pequenas variações configuracionais, conformacionais e estruturais tanto do cristal como um todo, mas também da molécula. Existe um esforço, do ponto de vista teórico, da predição não só das propriedades estruturais em nível molecular, mas também do ponto de vista macroscópico do cristal, incluindo ainda a simulação dos hábitos cristalinos de cristais orgânicos, como simulações da morfologia de crescimento da α -glicina [40, 41, 42, 43].

Outros polimorfos de cristais de glicina também são possíveis, mas não são obtidos por nucleação espontânea em solução. Recentemente, Dawson *et. al.* [29] mostraram que há transição de fase de cristais de glicina quando submetidos a altas pressões, obtendo-se os polimorfos δ -glicina (obtida a partir de compressão da fase β) e ϵ -glicina (a partir da fase γ). Chisholm *et. al.* [44] realizaram cálculos de primeiros princípios (DFT) utilizando vários funcionais, onde foi mostrada ainda a transição da β -glicina para a δ -glicina. Embora propriedades estruturais dos aminoácidos já tenham sido satisfatoriamente investigadas, propriedades óticas - que são fundamentais para a caracterização de seus filmes [45], além do uso como biosensores [46] - têm sido pouco investigadas [47]. Recentemente, Tulip e Clark [48], realizaram cálculos de primeiros princípios na abordagem DFT

para determinação da estrutura de bandas dos cristais de quatro L-aminoácidos: alanina, leucina, isoleucina e valina. O objetivo desse trabalho era mais no sentido de validação do método empregado, juntamente com o algoritmo utilizado, e menos no sentido de elucidar as propriedades mostradas.

2 α -Glicina

2.1 Metodologia Teórica

O processo de minimização de energia é feito de forma cíclica em duas etapas: primeiramente se faz a minimização da densidade eletrônica para uma dada configuração nuclear com suas posições mantidas fixas, em seguida a partir de informações acerca do gradiente de energia, são calculadas as forças de Hellman-Feynman, os núcleos são deslocados para uma nova configuração nuclear e, por fim é feita nova minimização da densidade eletrônica. Na realidade, essa aproximação é baseada na separação de Born-Oppenheimer e dessa forma, basicamente dois critérios de convergência devem ser usados. Um deles, relativo à otimização de geometria (posicionamento nuclear) e o outro relativo ao cálculo de campo autconsistente (*self-consistent field* - SCF), que minimiza a densidade eletrônica. As coordenadas atômicas e os parâmetros de rede utilizados como configuração inicial foram os obtidos experimentalmente por Perlovich *et. al.* [24].

Os cálculos realizados compreenderam duas etapas: (i) estabelecimento da estrutura mais estável e; (ii) cálculo das propriedades eletrônicas e óticas. Na primeira etapa, portanto a estrutura do polimorfo cristalino α -glicina foi otimizada a um mínimo de energia usando o programa comercial CASTEP [49], que emprega a expansão do conjunto de bases em ondas planas e trata os elétrons de caroço através de pseudopotenciais de Vanderbilt [50], tornando o cálculo mais rápido para estruturas periódicas, além de manter boa concordância com os resultados experimentais. O uso de ondas planas evita o erro resultante da superposição de conjuntos de base, que ocorre para conjuntos de base centradas nos átomos. Foi utilizada a aproximação do gradiente generalizado da teoria do funcional da densidade (DFT-GGA) com com o funcional proposto por Perdew, Burke e Ernzerhof (PBE) [18, 51] tanto para os passos auto-consistentes quanto para gerar o pseudopotencial a ser utilizado, de forma a manter a coerência. Em se tratando de um cristal de origem molecular, cujas interações que mantêm a estabilidade cristalina são em geral mais fracas

que as dos cristais iônicos, além do fato da existência de diferentes orientações moleculares na célula unitária, em que pequenas mudanças podem levar a uma significativa mudança estrutural e das propriedades eletrônicas, sendo portanto necessário empregar um critério de convergência bastante rigoroso. Em geral foram utilizados os valores-padrão do nível “Ultra-Fine” oferecido pelo programa para maior parte das grandezas de controle de convergência. Nesse nível de cálculo o critério de convergência é atingido quando: a variação de energia for menor que 5×10^{-6} eV/átomo, a maior força de Hellmann-Feynmann calculada em qualquer átomo for inferior a 0,01 eV/Å, o deslocamento atômico máximo permitido para qualquer átomo for menor que 5×10^{-4} Å, e a máxima pressão for inferior a 0,02 GPa. A convergência foi atingida no cálculo de campo auto-consistente (SCF) quando a variação de energia foi inferior a 5×10^{-7} eV/átomo. Os números máximos de iterações e de passos auto-consistentes foram extrapolados a fim de garantir a convergência pelos critérios acima citados.

Para se obter o mínimo de energia foi usado o seguinte procedimento: inicialmente, foi permitido que apenas os átomos pudessem relaxar, mantendo-se fixa a célula unitária; em seguida, as coordenadas atômicas relativas foram mantidas fixas e, apenas a célula unitária pôde variar; por fim, todos os parâmetros foram mantidos livres, a fim de se obter as posições finais. Nesse último estágio, foi utilizado o critério em que foi estabelecido uma energia de corte fixa para o truncamento do conjunto de base, que em princípio devem levar a erros na energia total computada e suas derivadas. De forma a reduzir a magnitude desse erro, a energia de corte foi sistemática e gradualmente aumentada de 380 eV (padrão do “Ultra-Fine”) até 560 eV. O número de ondas planas é proporcional ao volume da célula unitária e ao cubo da raiz quadrada da energia de corte, portanto para o valor máximo de energia de corte utilizado teremos proporcionalmente 4.531.952 ondas planas, que faz com que o aumento da energia de corte leve a um custo computacional muito alto sem que a estrutura e, principalmente, as propriedades eletrônicas mudem significativamente seu perfil. Manter a energia de corte fixa faz com que o número de ondas planas variem para que a convergência seja alcançada, sendo necessário usar a correção de base finita. Essa correção foi feita usando o algoritmo *Smart* fornecido pelo programa, que aplica a correção apenas quando pressão é fornecida, de forma a acelerar a otimização de geometria. O critério de compressibilidade de cristal utilizado foi o sugerido para o caso de cristais moleculares, cujo valor nominal é de 25 GPa. As integrais no espaço recíproco foram realizadas em uma rede de Monkhorst-Pack [52] de $5 \times 2 \times 5$, o que resulta em um espaçamento dos pontos- k em média de aproximadamente $0,04 \text{ \AA}^{-1}$. Foi utilizado o esquema de otimização de Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno (BFGS) [53].

Após a otimização de geometria ter sido realizada, foram tomados dois caminhos para o cálculo de propriedades físicas do cristal (*e. g.* estrutura de bandas, densidade de estados, absorção, etc.). Em um dos caminhos, continuou-se com a abordagem levando em conta pseudopotenciais para simular a ação dos elétrons de caroço como um potencial efetivo, entretanto foram utilizados os dois tipos disponíveis: ultramacios e de norma conservada. As energias de corte utilizadas em cada caso e estágio da simulação serão descritos no início da descrição dos resultados. No outro caminho, foram simuladas algumas propriedades eletrônicas utilizando-se orbitais numéricos, levando em conta todos os elétrons (DMol³ [54, 55]), em que foi utilizada também a aproximação do gradiente generalizado com o funcional PBE mas com o conjunto de base numérica DNP (*Double Numerical plus Polarization*), que inclui funções de orbitais *d* em todos os átomos diferentes de hidrogênio além de incluir uma função de polarização *p* em todos os átomos de hidrogênio. Essa base é a melhor quando ligações de hidrogênio desempenham um papel importante. Foi utilizado um raio de corte de 5,0 Å e uma tolerância para o cálculo de campo auto-consistente de $1,0 \times 10^{-6}$. A rede para a transformada rápida de Fourier (*FFT Grid*) foi mantida no menor nível durante os procedimentos de otimização, entretanto ao se computar as propriedades eletrônicas, esse parâmetro foi mudado para *preciso*, que gera uma densidade eletrônica exata para uma dada energia de corte.

2.2 Análise Estrutural

O cristal de α -glicina está esquematicamente representada na Figura 5. É sabido que o método GGA tende a superestimar os comprimentos de ligação, devido à grande localização da densidade eletrônica. Dessa forma, é de se esperar que a célula unitária apresente um aumento no seu volume. Os parâmetros de rede calculados e medidos estão mostrados na Tabela 3 para as quatro energias de corte utilizadas para a convergência do cristal de α -glicina. Chisholm *et. al.* [44] fizeram estudos das propriedades estruturais da α -, β -, γ - e δ -glicina utilizando o mesmo tipo de abordagem utilizado nessa dissertação, entretanto eles não computaram nenhuma propriedade eletrônica nem realizaram experimentos. De acordo com a abordagem empregada por eles, a condição inicial foram estruturas que apresentaram menor energia obtidas teoricamente através do campo de força de Williams e um modelo eletrostático usando multipolos. A concordância dos parâmetros de rede obtidos por eles comparado com resultados obtidos experimentalmente por Legros e Kvik [35] e por Perlovich *et. al.* [24] são melhores que os nossos. Entretanto, é importante ressaltar que os critérios de convergência adotados por eles são muito menos rigorosos

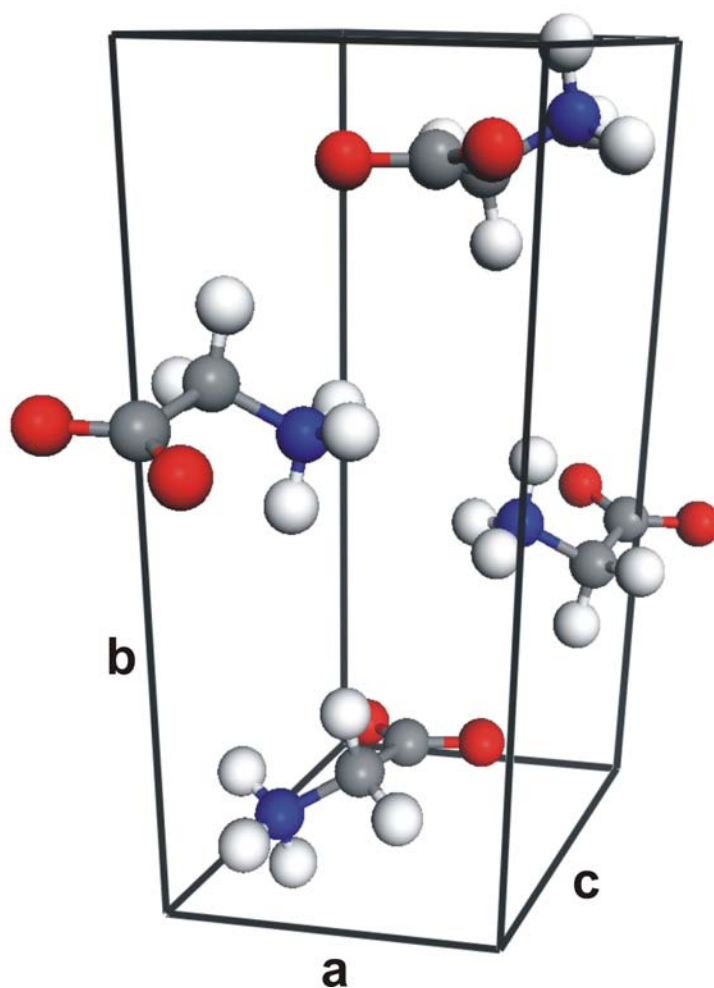


Figura 5: Representação esquemática em perspectiva da célula unitária do cristal de α -glicina.

que o empregado nessa dissertação, além do que essa aparente concordância teoria \times experimento deve ser analisada com cuidado, uma vez que é esperado que os resultados obtidos através de DFT-GGA sejam discordantes. A Tabela 2 mostra as diferenças dos critérios de convergência adotados por nós e aqueles adotados por Chisholm *et. al.* para os melhores resultados. Apesar da melhor concordância com experimento obtida por eles, é de se supor que tanto as estruturas deles quanto as mostradas nessa dissertação estão em diferentes mínimos locais para a energia total, resultante do uso de diferentes posições iniciais na célula unitária. Como será mostrado posteriormente na discussão para o polimorfo β -glicina, temos que a estrutura obtida por nós com uma energia de corte de 470 eV se assemelha bastante com os resultados apresentados por Chisholm (sendo importante ressaltar que ainda nesse caso, as nossas condições de convergência são mais rigorosas que as deles), com uma diferença inferior a 1% nos parâmetros de rede apresentados. Entretanto, o aumento da energia de corte para 560 eV fez com que os parâmetros

de rede se diferenciasssem mais, enquanto que a energia diminuiu significativamente (veja Tabela 11).

Tabela 2: Comparação entre as metodologias usadas por Chisholm e por nós.

PARÂMETRO	Chisholm <i>et. al.</i> [44]	NOSSO
Maior En. de Corte	450 eV	560 eV
ΔE	2×10^{-5} eV/átomo	5×10^{-6} eV/átomo
Rede Monkhorst-Pack	$0,08 \text{ \AA}^{-1}$	$0,04 \text{ \AA}^{-1}$
Max. Força	$2,5 \times 10^{-2}$ eV/Å	1×10^{-2} eV/Å
Max. Deslocamento	$0,001 \text{ \AA}^*$	5×10^{-4} Å
Max. Stress	0,1 GPa	0,02 GPa

As coordenadas atômicas estão mostradas na Tabela 4 para a maior energia de corte utilizada nos cálculos. É preferível, entretanto, tomar as distâncias interatômicas, em detrimento das coordenadas reduzidas para se estabelecer o desvio das geometrias calculadas em relação às medidas. A Tabela 5 mostra os comprimentos de ligação calculados e medidos experimentalmente para as moléculas constituintes do cristal de α -glicina. Comparando a Tabela 5 com a Tabela 3 vemos que o aumento na célula unitária se deve principalmente ao fato de que o ângulo produzido por $C-C_\alpha-N$ aumentou, fazendo com que houvesse um distanciamento entre moléculas vizinhas na ligação de hidrogênio $O1 \cdots H4$ de forma significativa. As interações por ligações de hidrogênio são responsáveis pela estabilidade do cristal, entretanto esse regime e, principalmente interações de Van der Waals são simuladas precariamente pela aproximação GGA. Essa restrição não é da teoria do funcional da densidade, mas das aproximações necessárias para tratar os sistemas multi-eletrônicos. Além disso, ligações coordenadas entre praticamente todos os átomos aumentaram em média aproximadamente 4,1%.

Tabela 3: Parâmetros de rede obtidos pela análise de convergência do cristal de α -glicina em diferentes energias de corte (E_{cut}).

	$E_{cut} = 380 \text{ eV}$	$E_{cut} = 440 \text{ eV}$	$E_{cut} = 500 \text{ eV}$	$E_{cut} = 560 \text{ eV}$	Exp.**
$a/\text{\AA}$	5,24755	5,22375	5,20895	5,21467	5,107(2)
$b/\text{\AA}$	12,9434	12,7275	12,7158	12,7110	12,040(2)
$c/\text{\AA}$	5,47444	5,47544	5,47923	5,47626	5,460(2)
α	90°	90°	90°	90°	90°
β	109,793°	109,748°	109,677°	109,586°	111,82°(2)
γ	90°	90°	90°	90°	90°
Z	4	4	4	4	4
$V/\text{\AA}^3$	349,865	342,626	341,730	341,982	311,67(3)
G. E.*	P2 ₁ /n	P2 ₁ /n	P2 ₁ /n	P2 ₁ /n	P2 ₁ /n
Energia (eV)	-6142,441464644	-6142,545419179	-6142,7027000	-6142,911579762	-

* Grupo Espacial

** Ref. [24]

Tabela 4: Coordenadas reduzidas das posições atômicas no cristal de α -glicina.

	GGA₅₆₀			Exp.*		
	x/a	y/b	z/c	x/a	y/b	z/c
N	-0,296431	0,415239	1,249362	-0,3008(8)	0,4104(3)	1,2588(7)
O ₁	-0,28174	0,397227	0,748993	-0,3042(6)	0,4055(2)	0,7653(5)
O ₂	0,172822	0,374869	0,900898	0,1472(6)	0,3586(3)	0,8954(6)
C	-0,060657	0,378163	0,928095	-0,0752(8)	0,3750(3)	0,9341(7)
C _{α}	-0,073817	0,356157	1,198351	-0,0647(9)	0,3549(3)	1,2130(8)
H ₁	0,11864	0,377254	1,347723	0,101(9)	0,386(3)	1,332(9)
H ₂	-0,107151	0,271503	1,216980	-0,086(9)	0,271(4)	1,234(9)
H ₃	-0,491271	0,391832	1,125774	-0,492(12)	0,387(4)	1,140(11)
H ₄	-0,275816	0,459763	1,218231	-0,303(11)	0,490(5)	1,229(11)
H ₅	-0,285827	0,405606	1,447752	-0,295(9)	0,398(4)	1,432(10)

Ref. [24]

Tabela 5: Comprimentos de ligações em um cristal de α -glicina.

LIGAÇÃO	GGA₅₆₀	Exp.*
C _{α} -H1	1,09524 Å	1,01130 Å
C _{α} -H2	1,10016 Å	1,01170 Å
C _{α} -C	1,53017 Å	1,51909 Å
C _{α} -N	1,48561 Å	1,62839 Å
C-O1	1,26996 Å	1,35874 Å
C-O2	1,27587 Å	1,40507 Å
N-H3	1,05729 Å	1,09657 Å
N-H4	1,04907 Å	0,944633 Å
N-H5	1,07616 Å	0,954095 Å
O1...H'4	2,72456 Å	2,37793 Å
O1...H'5	1,65024 Å	1,84002 Å
O2...H'3	1,78467 Å	1,86182 Å
O2...H'4	1,91128 Å	2,19522 Å
C-C _{α} -N	112,376°	111,676°

* Ref. [24]

2.3 Estrutura Eletrônica

Medidas de espectroscopia de fotoelétron de raios-X (XPS, do inglês *x-ray photoelectron spectroscopy*) foram realizadas para se obter o espectro de estados eletrônicos para o cristal de α -glicina. Esse espectro nos fornece uma figura da densidade de estados eletrônicos (DOS), além de possibilitar a identificação dos elementos presentes no material em questão. Para a realização dessa medida, cristais de α -glicina foram crescidos através do método de evaporação lenta do solvente em solução aquosa saturada do pó de glicina fornecido pela *Sigma-Aldrich Corporation* com pureza superior a 99%. Foi utilizada água Milli-Q de maneira a se minimizar as chances de entrada de impureza na solução. Várias soluções foram preparadas e vários cristais obtidos, em que aqueles com melhor qualidade ótica (determinada por injeção visual) foram escolhidos para que as medidas fossem realizadas. Os espectros XPS foram obtidos em equipamento VG Microtech modelo ESCA 3000. Este equipamento tem um vácuo de base de 3×10^{-10} mbar. Foi utilizada a radiação K_{α} do Magnésio de 1253,6 eV para a fotoemissão. Para detecção dos fotoelétrons o equipamento dispõe de um analisador semi-hemisférico de 250 mm dotado de 9 channeltrons, o que permite as medidas de banda de valência que usualmente apresentam estatística baixa. A resolução em energia do equipamento é de 0,8 eV. A irradiação com raios-x e a conseqüente emissão de elétrons do isolante causa um carregamento eletrostático da amostra. Este carregamento provoca uma alteração na energia dos elétrons fotoemitidos, o chamado efeito de carga. Há vários modos de fazer a correção da energia nos espectros XPS. Utilizou-se a correção pelo fotopico correspondente ao carbono 1s em 284,5 eV [56]. Esta energia corresponde ao carbono adventício sobre a amostra como também ao carbono em ligação C-C ou C-H.

Apesar do esforço em se obter uma solução livre de impurezas, uma análise da constituição atômica dos cristais obtidos de α -glicina por XPS (figura 6 mostra que há incorporação de átomos de sódio e de cloro, indicando que em alguma parte do processo (exposição ao ar ou da parte não filtrada no processo de purificação da água) permitiu a dissolução do sal NaCl e incorporação de seus íons no cristal. A figura 6 mostra os picos em 204 eV e 1068 eV relativos aos estados eletrônicos $2p^{3/2}$ do átomo de Cl e 1s do átomo de Na, respectivamente. Embora seja possível identificar a presença dessas impurezas, a concentração desses átomos na amostra é razoavelmente baixa onde a concentração de $Cl_{2p^{3/2}}$ é de 1,692% e a de Na_{1s} é de 2,157%, enquanto que as concentrações dos átomos constituintes da moléculas são bem mais elevadas, sendo 52,681% para o C_{1s} com pico localizado em 291 eV, 14,4% para o N_{1s} em 407 eV e 28,8% para o O_{1s} em 537 eV.

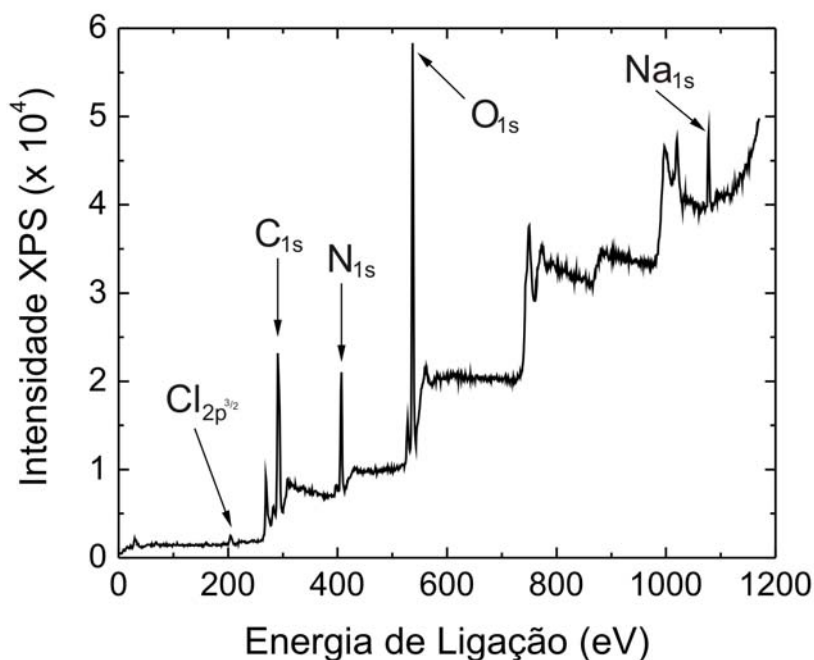


Figura 6: Análise da constituição atômica do cristal de de α -glicina.

A figura 7 mostra o resultado obtido pelo XPS e as densidades de estados eletrônicos simulados computacionalmente para os três tipos de tratamento dos elétrons de caroço descritos na metodologia teórica deste capítulo: expansão em orbitais numéricos levando-se em conta todos os elétrons (DMol³); expansão em ondas planas utilizando pseudopotenciais de norma conservada (NC); e pseudopotenciais ultra macios (USP). Estão mostrados apenas os resultados obtidos a partir da geometria convergida com a maior energia de corte (560 eV), que em princípio devem apresentar a melhor relação entre os resultados teóricos e experimental.

A comparação entre os resultados obtidos experimental e teoricamente será feita de forma direta, uma vez que a energia de ligação determinada por XPS reflete a profundidade da barreira de potencial que o elétron em um dado orbital (nível de energia) ultrapassa para chegar ao detector. Embora haja correção no espectro de XPS devido à energia cinética dos elétrons, a simulação teórica não descreve esse cenário e, portanto justifica parte das diferenças apresentadas entre os resultados experimental e teórico. Por causa da diferença na definição dos valores de energia apresentados, temos que os valores positivos da energia de ligação eletrônica mostrados no espectro de XPS devem estar relacionados com os níveis de energia mostrados na DOS simulados, como sendo a energia do estado ligado dos elétrons. Dessa forma, para que o espectro de XPS seja analisado é necessário

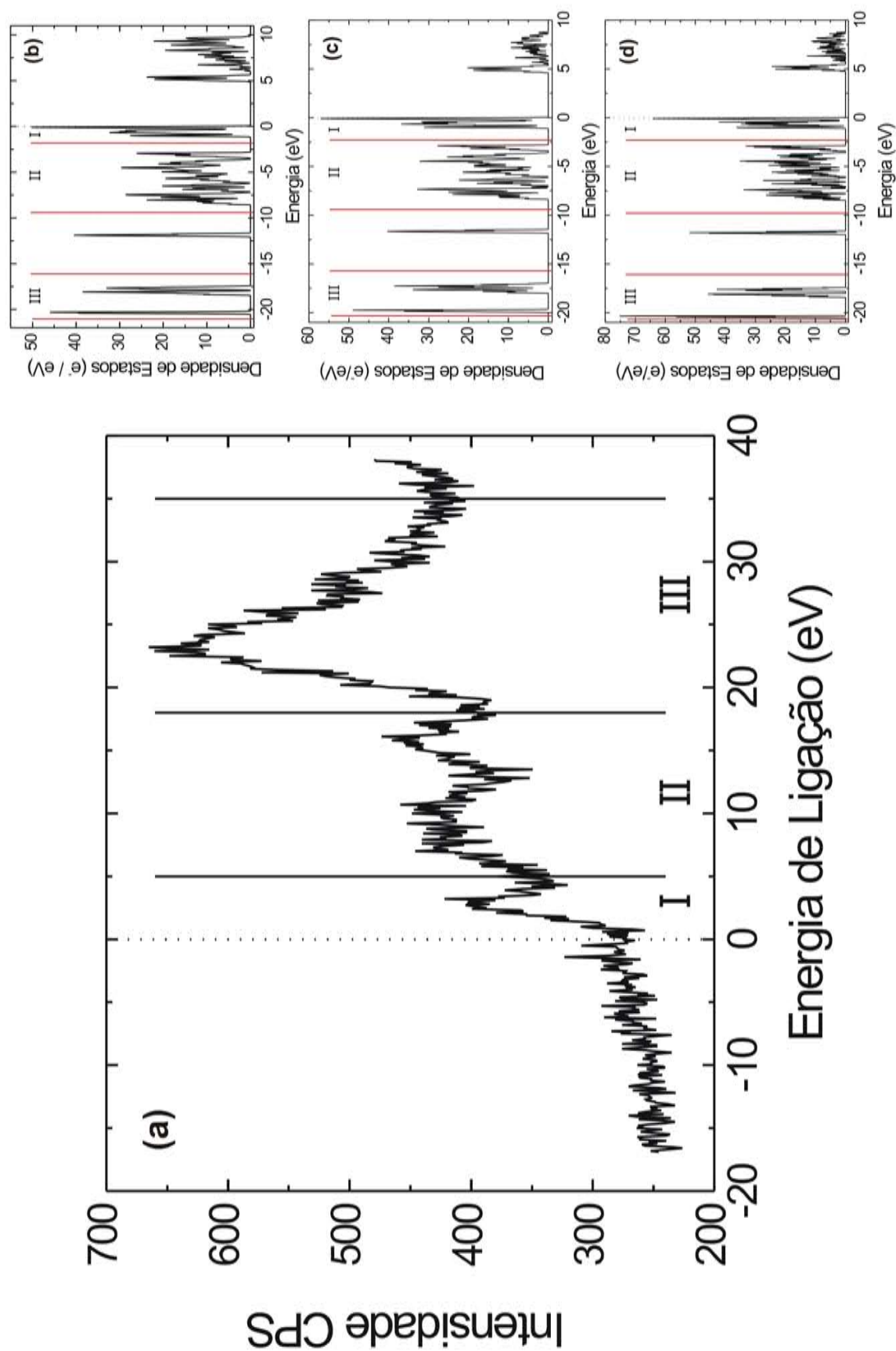


Figura 7: Representação da densidade de estados eletrônicos (DOS) da banda de valência para o cristal de α -glicina. (a) espectro dos estados eletrônicos obtidos por XPS; (b) DOS obtido considerando-se todos os elétrons; (c) DOS obtido utilizando pseudopotenciais de norma conservada; (d) DOS obtido utilizando pseudopotenciais ultra macios.

computar a contribuição para a densidade de estados eletrônicos parciais (PDOS), ou seja, a contribuição de cada elemento e grupamentos funcionais constituintes do cristal de α -glicina serão analisados separadamente. As Figuras 8–10 mostram as densidades de estados eletrônicos por elemento e grupamento funcional da α -glicina para os diferentes tipos de abordagem empregados nessa dissertação. De maneira geral, percebemos que o perfil dos gráficos são extremamente semelhantes, de forma que as três abordagens levam às mesmas conclusões (do ponto de vista de interpretação qualitativa) quanto às propriedades eletrônicas relativas às bandas de energia e ocupação eletrônica para um dado nível de energia. Isso se deve, principalmente ao fato de que a região analisada nos espectros de DOS seja referente à banda de valência e, portanto os níveis eletrônicos mais profundos, que estão relacionados com os elétrons de caroço, não sejam levados em consideração.

Entretanto, um efeito do uso de pseudopotenciais pode ser notado na DOS para o hidrogênio (ver Figs. 8-10), em que a ocupação de elétrons em orbitais do tipo p é nula, enquanto que em uma aproximação em que se contabiliza todos os elétrons mostra que há ocupação mesmo que pequena em orbitais- p em átomos de hidrogênio. Essa diferença se deve ao fato de que embora o hidrogênio não tenha elétrons de valência, ainda assim se lance mão do uso de pseudopotenciais para simular seus estados eletrônicos, de forma a manter a consistência da aproximação. Além desse efeito, pode-se notar um deslocamento dos valores de energia na direção de menores energias para os estados da banda de condução quando comparamos os métodos em que são empregadas ondas planas com pseudopotenciais.

O espectro obtido pelas medidas de XPS, na região de energia relativa à banda de valência, foi dividido em três partes que se apresentam como bandas com contribuições distintas dos orbitais atômicos (Fig. 7). Cada região foi analisada levando-se em conta as densidades de estados eletrônicos total (DOS, considerando todos os átomos coletivamente) e parcial (PDOS, considerando a contribuição individual de cada átomo ou grupamento funcional). As densidades de estados parcial para os grupamentos carboxila (COO^-) e amina (NH_3^+), além da contribuição atômica individual do oxigênio, nitrogênio, carbono e hidrogênio, calculadas usando DMol³, pseudopotenciais de norma-conservada e ultramacios, que estão mostradas nas Figuras 8, 9 e 10, respectivamente. As energias das transições obtidas experimentalmente foram deslocados negativamente em 6,9 eV, de forma a coincidir o nível de Fermi com o zero de energia. As diferentes regiões estão evidentes na Figura 11, onde as Regiões I a III estão tomadas separadamente com as respectivas densidade parcial de estados dos grupamentos funcionais obtidas com a aproximação

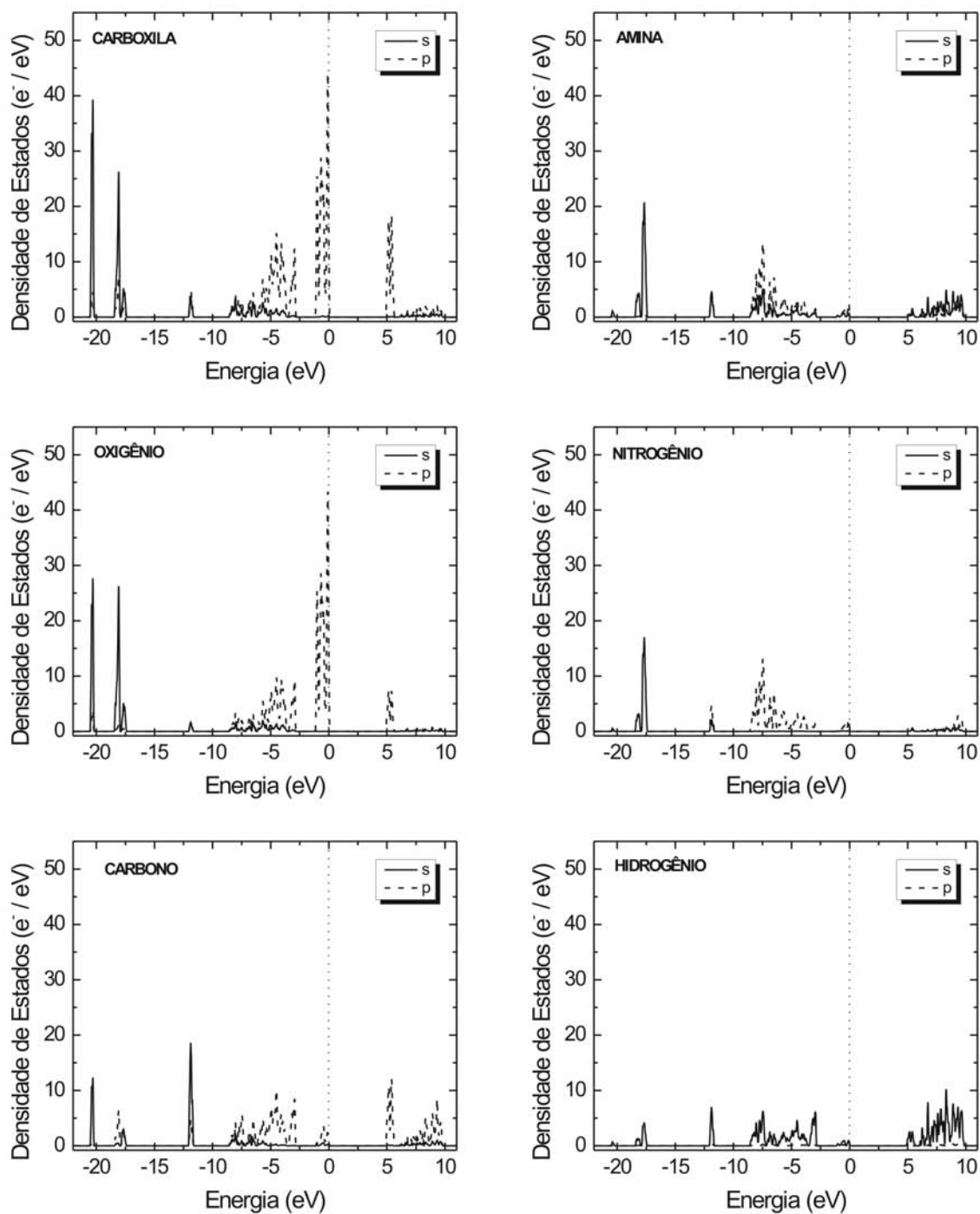


Figura 8: Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da α -glicina obtidos pelo DMol³.

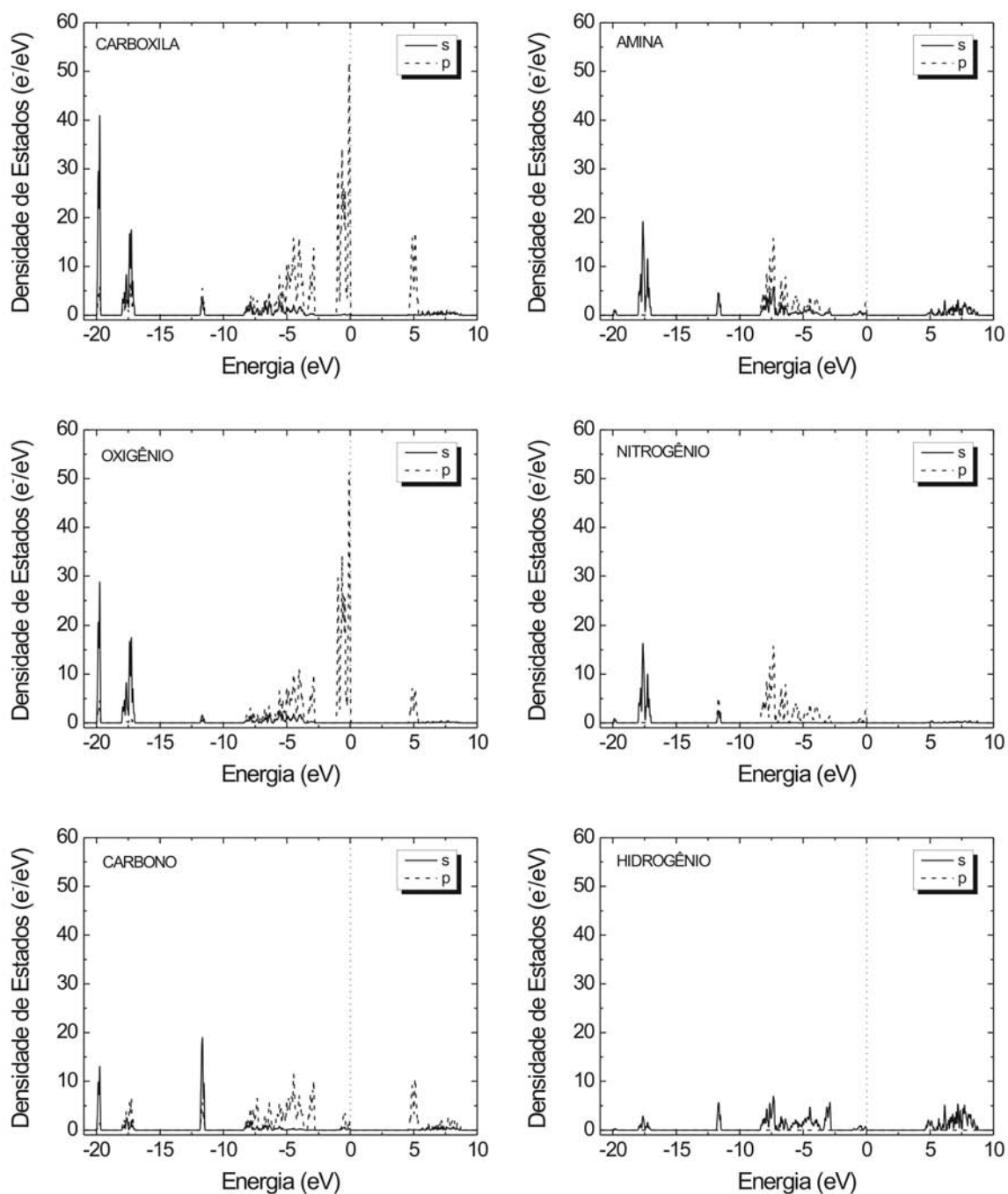


Figura 9: Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da α -glicina obtidos usando pseudopotenciais de norma conservada.

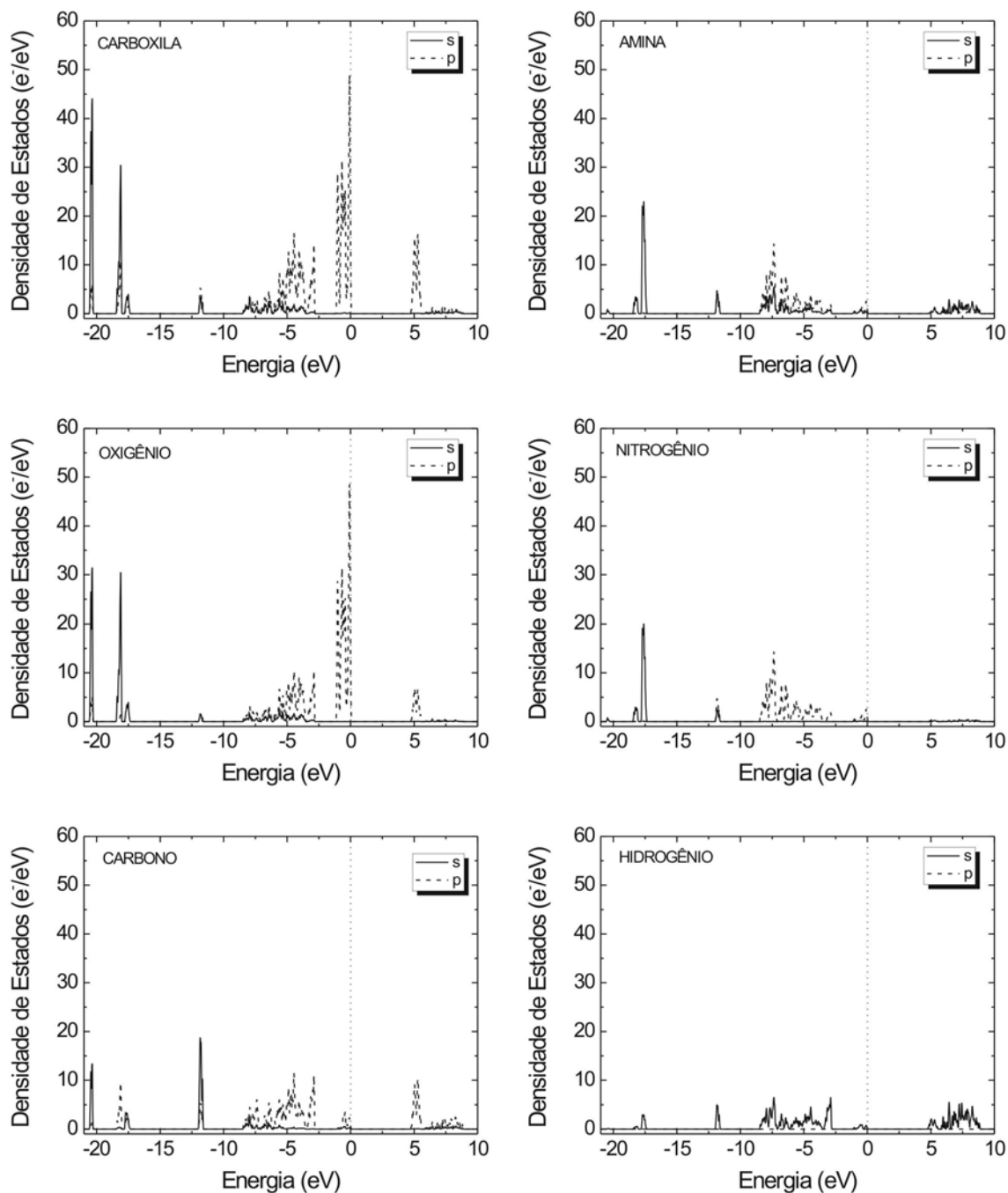


Figura 10: Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da α -glicina obtidos usando pseudopotenciais ultra macios.

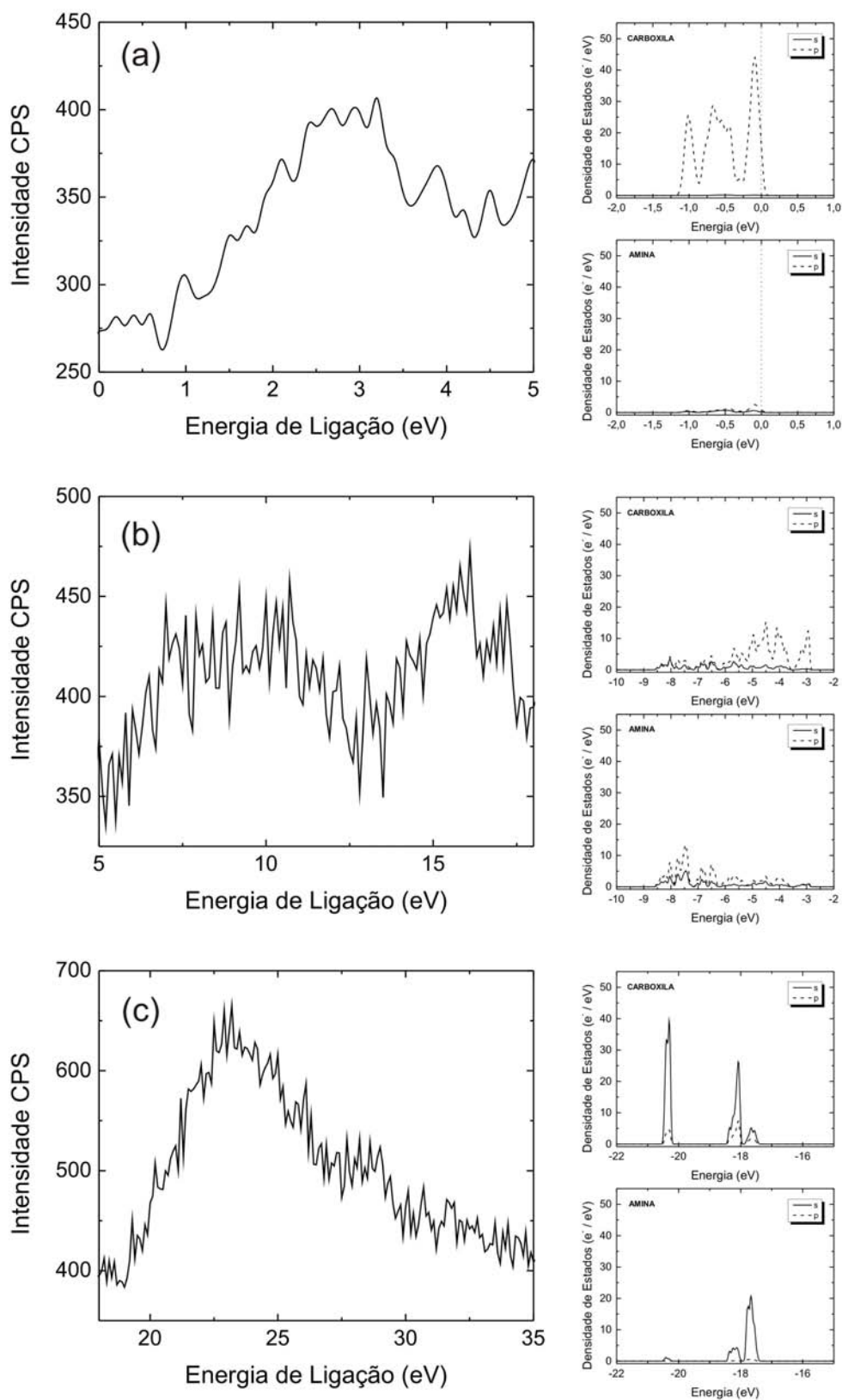


Figura 11: Medida XPS e PDOS para os grupamentos funcionais obtidos com a aproximação levanto em conta todos os elétrons para: (a) Região I; (b) Região II; e (c) Região III.

Tabela 6: Análise populacional da molécula no cristal de α -glicina através do métodos de Mulliken para as três aproximações realizadas nessa dissertação.

	Cargas de Mulliken		
	DMol ³	NC	USP
N	-0,466	-0,770	-0,780
O ₁	-0,610	-0,630	-0,650
O ₂	-0,640	-0,640	-0,660
C	0,534	0,570	0,630
C _{α}	-0,183	-0,420	-0,450
H ₁	0,149	0,290	0,300
H ₂	0,204	0,320	0,330
H ₃	0,343	0,430	0,430
H ₄	0,322	0,430	0,430
H ₅	0,011	0,420	0,420

considerando todos os elétrons.

A região I, próxima à energia de Fermi, no intervalo entre 0,0 e 5,0 eV, sugere a participação de excitações eletrônicas de orbitais p prioritariamente do oxigênio, embora haja uma pequena contribuição de elétrons- p do átomo de carbono do grupamento carboxila, que reflete o fato de que a região mais eletronicamente populosa (COO⁻) deve ceder mais facilmente os elétrons, devendo ocupar os níveis de energia mais externos da banda de valência. Corroborando com esse resultado, a Tabela 6 mostra a análise populacional pelo método de Mulliken para a distribuição eletrônica de cada elemento da molécula de glicina, mostrando que a probabilidade de que os elétrons pertencentes à carboxila estejam em níveis mais externos, próximos à banda de valência, é muito alta e portanto a transição mostrada na região I (Fig. 11a) deve ser de fato proporcionada por esse grupamento.

A região II, dentro do intervalo entre 5,0 e 18,0 eV, apresenta contribuição prioritária de elétrons- p de átomos de nitrogênio, sendo portanto uma contribuição do grupamento amina aos níveis eletrônicos de valência para os cristais de α -glicina. Contribui ainda nessa região elétrons de orbitais p de átomos de carbono. A região dos níveis mais profundos mostrados, compreendendo o intervalo entre 18,0 e 35,0 eV de energia mostrado na figura 7, nominada como região III, apresenta duas bandas, como mostrado nas DOS obtidas teoricamente (Figs. 11 b-c). As linhas próximas a -17,5 eV são formadas prioritariamente a partir da contribuição dos elétrons de orbitais s dos átomos de nitrogênio, além de elétrons- s do oxigênio. Como contribuição menor, porém não desprezível, nessa região está relacionada com elétrons- p de átomos de carbono. Por fim, as últimas linhas mostradas na DOS teórica, próximo a -20,0 eV, que ainda se relaciona com a região III mostrada no XPS, levam em conta contribuições eletrônicas de orbitais s de átomos de oxigênio e, de

Tabela 7: Energias de ligação para níveis profundos para os elétrons nos orbitais O_{1s} , N_{1s} e C_{1s} .

	Energia de Ligação (eV)
O_{1s}	510,396
O_{2s}	510,388
N_{1s}	382,785
C_{1s}	272,695
$C_{\alpha 1s}$	270,846

forma menos significante, de orbitais s de átomos de carbono.

Também foram medidas as contribuições dos elétrons nos orbitais mais internos ($1s$) de átomos não-hidrogênio. A Figura 12 mostra as DOS medidas por XPS para esses elétrons. Estão representadas ainda, embaixo das medidas para cada átomo, as deconvoluções dos picos medidos em funções gaussianas, que oferecem a oportunidade de se determinar o valor de energia mais provável para a transição eletrônica, que será comparado com os valores calculados. Nos gráficos das deconvoluções em gaussianas, estão indicados os valores de energia referentes ao centro da gaussiana, ou seja, o valor de energia em que a intensidade XPS é esperada apresentar o maior valor. Devido ao fato de que cada molécula de glicina apresenta dois átomos de carbono, dois átomos de oxigênio e um de nitrogênio, poder-se-ia esperar que existisse um pico característico para cada átomo, entretanto isso só se parece verdadeiro para os átomos de carbono, que apresentam dois picos e foram deconvolucionados em duas funções gaussianas.

A Tabela 7 mostra os níveis profundos (para os elétrons de caroço) para cada átomo não-hidrogênio. Como mencionado anteriormente, tanto para o oxigênio quanto para o carbono, há contribuição de dois níveis. Podemos ver pela Tabela 6 que as cargas de Mulliken para os dois oxigênios são muito semelhantes, indicando um ambiente eletrônico muito parecido e que resulta nos valores muito próximos dos níveis de energia mais profundos mostrados na Tabela 7, a dizer O_{1s} e O_{2s} com energias de 510,396 eV e 510,388 eV, respectivamente. A diferença entre esses níveis é de apenas 0,008 eV, que não pôde ser diferenciada nas medidas mostradas na Figura 12. O valor dado pelo pico da gaussiana gerada pela deconvolução da medida para O_{1s} foi de 530,961 eV, o que representa uma diferença absoluta de 20,569 eV da média extraída a partir da contribuição de ambas as energias dos oxigênios calculados. Esse valor representa ainda um erro relativo de aproximadamente 3,87%, mostrando a excelente concordância entre os resultados teórico e experimental.

Para o carbono, a Tabela 6 mostra uma grande diferença nas cargas de Mulliken

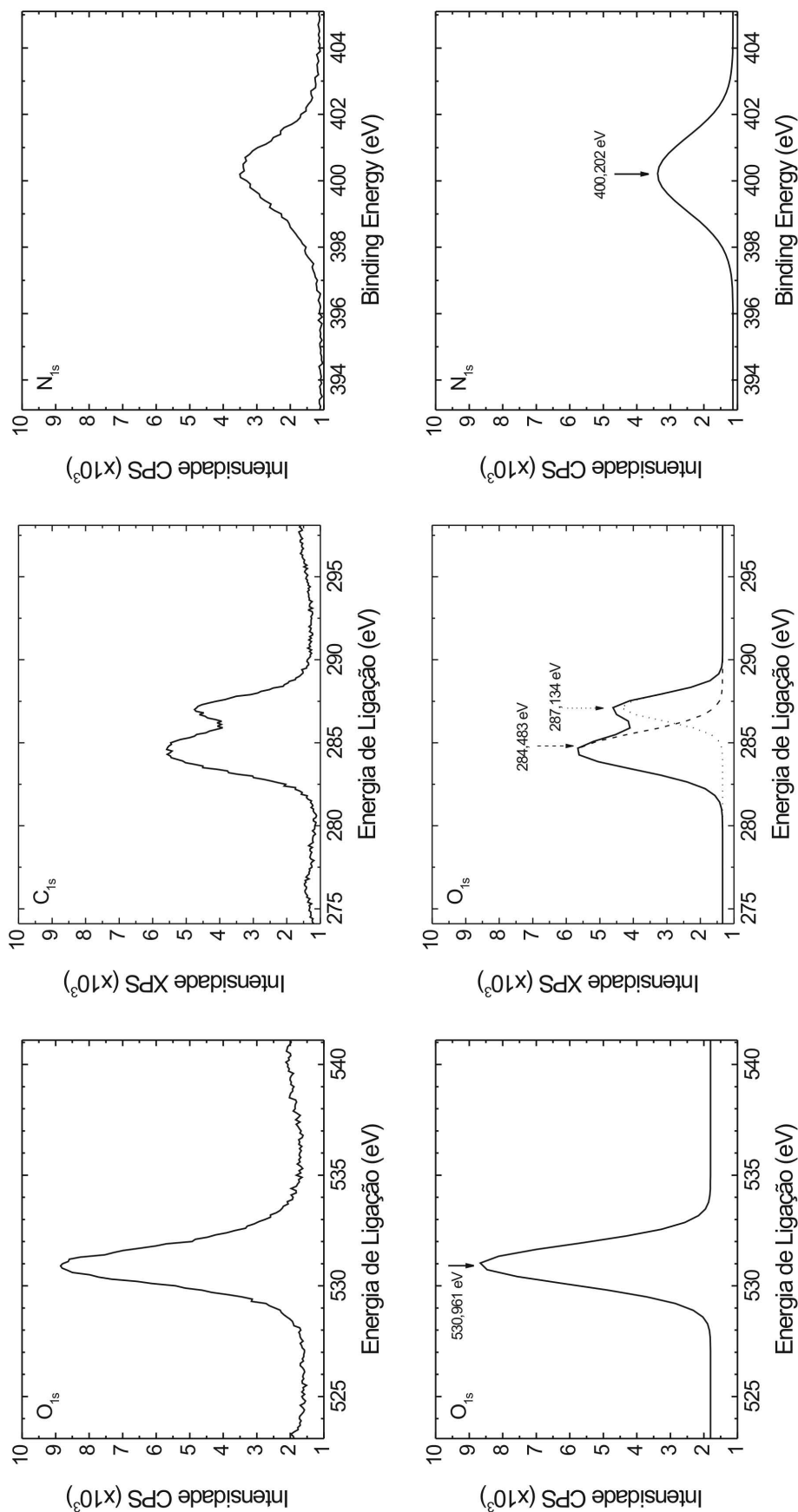


Figura 12: Representação da densidade de estados eletrônicos obtidos por medidas de XPS para elétrons em níveis mais profundos. As figuras da linha inferior representam a deconvolução em gaussianas dos picos experimentais mostrados na linha superior.

dados ao carbono alfa e ao carbono da carboxila, em que o C_{α} apresenta uma carga negativa igual a $-0,183$ do módulo da carga eletrônica, enquanto que o outro carbono apresenta uma carga positiva de $0,534e^{-}$, devido ao fato de este estar ligado a átomos de oxigênio, que é sabido apresentar uma alta eletronegatividade. Esses valores denotam uma grande diferença nos ambientes eletrônicos que rodeiam os diferentes átomos de carbono pertencentes à molécula da glicina. Isso também reflete nos níveis de energia dos elétrons mais profundos, cujos cálculos mostram energias de $272,695$ eV e $270,846$ eV para o carbono da carboxila e o carbono alfa, respectivamente. O valor menor para o carbono alfa já é esperado, uma vez que a menor população eletrônica no carbono da carboxila eleva a dificuldade em se retirar um elétron, por aumentar consideravelmente a interação com o núcleo. A diferença entre esses valores de energia é significativo, com o valor de $1,849$ eV, e experimentos são sensíveis nessa ordem de grandeza. Conforme esperado, medidas XPS para o elétrons de caroço do carbono mostrados na Figura 12. Os picos deconvolucionados mostram os centros das gaussianas em $284,483$ eV e $287,134$ eV que pela análise teórica indicam estar relacionados com os níveis profundos dos carbonos alfa e da carboxila, respectivamente. A diferença de energia entre esses picos é de $2,651$ eV, o que representa um valor $0,802$ eV maior que o teórico. O erro médio entre as energias medidas e calculadas é de aproximadamente $4,91\%$.

A energia calculada para o nível $1s$ do nitrogênio foi de $382,785$ eV, enquanto que a medida foi de $400,202$ eV, representando um erro de $4,35\%$ na comparação entre os resultados teórico e experimental. Como se pode ver, os resultados teóricos concordam de forma bastante satisfatória com os resultados experimentais, apresentando um erro menor que 5% . Além disso, os valores teóricos se mostram sistematicamente menores que os experimentais, o que concorda com o perfil já sabido para cálculos baseados na teoria do funcional da densidade.

2.4 Absorção

Espectros de absorção e transmissão de cristais de α -glicina foram medidos usando o fotosspectrômetro *Cary 500 scan-Varian UV-Vis-Nir*, que apresenta uma tolerância de $0,1$ nm na região UV-Visível. O espectro foi obtido em cristais de α -glicina crescidos e selecionados conforme detalhado anteriormente para temperatura de 300 K. A partir do espectro de absorção, pode-se obter informações acerca dos *gaps* de energia, tanto direto quanto indireto. Entretanto, a determinação deste por experimentos de absorção é mais difícil, uma vez que ruídos podem camuflar sua existência ou inserir erros, levando a valores

errados do *gap* indireto. A Figura 13 mostra o espectro de absorção para α -glicina com o *inset* realçando a região onde há o *gap* direto e mostrando o comportamento assintótico dessa região para a dependência do quadrado do coeficiente de absorção com a energia. O coeficiente de absorção para fótons com energia maiores que o *gap* das bandas de energia é dado por:

$$\alpha = C(h\nu - E_{gap})^{1/2} \quad (2.1)$$

para transições diretas, enquanto que para o *gap* indireto, a relação fica:

$$\alpha = C(h\nu - E_{gap})^2 \quad (2.2)$$

No gráfico inserido na Figura 13, quadrados representam os valores experimentais enquanto que a linha reta indica a interpolação feita segundo Eq. 2.1, gerando um valor de energia $E_{gap} = 5,11 \pm 0,02$ eV. Esse erro é devido a inhomogeneidades cristalinas, relacionado com defeitos estruturais oriundos de impurezas ou pontos de imperfeições, que podem ser notados no próprio gráfico de absorção.

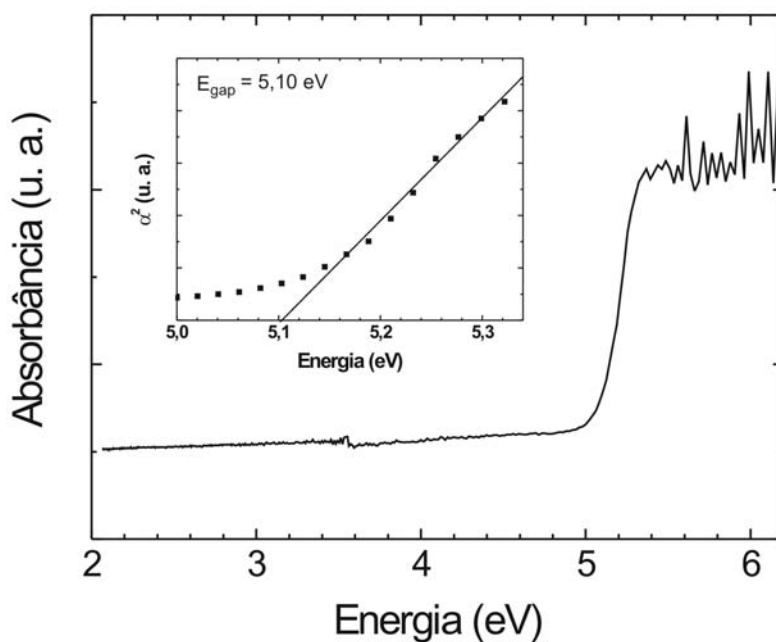


Figura 13: Absorção óptica não polarizada para o cristal de α -glicina a 300 K. O *inset* mostra a absorção (quadrados) interpolado por uma reta (linha) que indica o *gap* de energia direto.

A Figura 14 mostra a comparação entre os espectros de absorção experimental (quadrados) e os calculados para policristal de α -glicina usando os métodos com pseudopotenciais de norma conservada (linha sólida) e ultramacios (linha tracejada). As intensidades teóricas foram ajustadas de modo encaixar nos limites do quadro do gráfico, portanto é interessante notar apenas o valor de energia em que as transições começam a ocorrer de forma a gerar o espectro da absorção e informações acerca do *gap*. O primeiro pico de absorção está relacionado, em geral, com transição entre o estado ocupado no nível mais alto da banda de valência para o estado desocupado de energia mais baixa na banda de condução, levando em conta as regras de seleção para transição eletrônica:

$$S_{final} = S_{inicial}$$

$$\Delta L = 0, \pm 1$$

tal que

$$\Delta l = \pm 1$$

$$\Delta J = 0, \pm 1$$

sendo proibida a transição:

$$J = 0 \rightarrow J = 0$$

de forma que são proibidas as transições entre estados $s \rightarrow s$ e transições *singlete* \rightarrow *tripleto* [57]. Por esses motivos, pode-se extrair o valor do *gap* de energia a partir dessa região da absorção. Conseqüentemente, deve haver uma concordância entre os *gaps* previstos pela estimativa do quadrado da absorção e os extraídos pela estrutura de bandas (Tabela 9). De fato, as transições que geram a absorbância para simulações usando pseudopotenciais de norma conservada resultam em *gaps* menores que os previstos usando pseudopotenciais ultramacios.

De maneira a interpretar a absorção ótica, além da densidade de estados eletrônicos (Figs. 8–10) foram calculadas as estruturas de banda para os cristais de α -glicina, usando os três tratamentos dos elétrons de caroço descritos anteriormente: (i) levando-se em conta todos os elétrons; (ii) utilizando pseudopotenciais de norma conservada; e (iii) pseudopotenciais ultramacios. Estão mostrados apenas as estruturas de banda geradas a partir da configuração mais próxima do mínimo global de energia, dada pela maior energia de corte durante os cálculos de otimização de geometria (560 eV). Para a determinação dessas estruturas de bandas de energia, foram percorridos os principais pontos de alta sime-

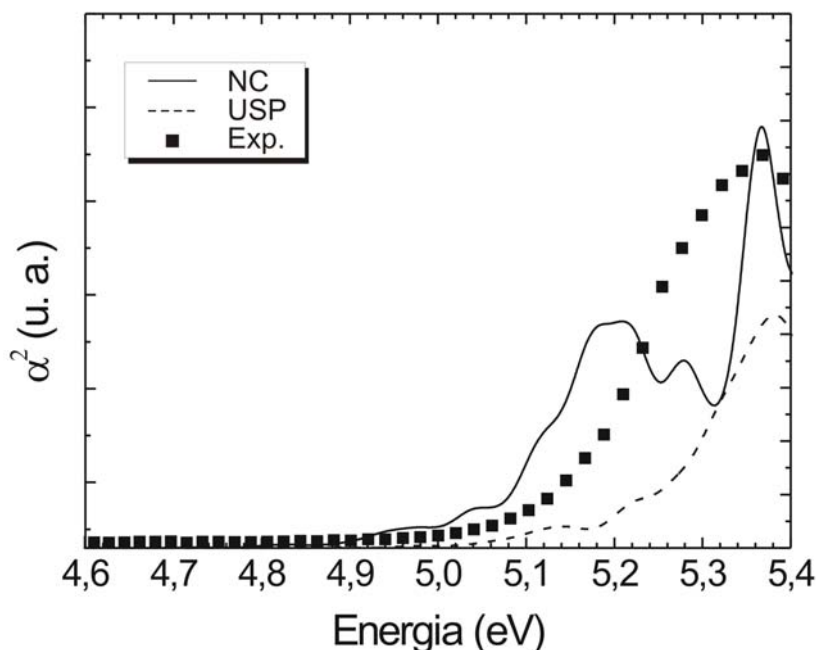


Figura 14: Comparação entre os quadrados da absorbância medidos (quadrados) com resultados de pseudopotenciais de norma conservado (linha sólida) e ultramacios (linha tracejada). As intensidades calculadas foram ajustadas de forma a encaixar no quadro.

tria da rede recíproca, a dizer: $Z(0, 0, 1/2) \rightarrow \Gamma(0, 0, 0) \rightarrow Y(0, 1/2, 0) \rightarrow A(-1/2, 1/2, 0) \rightarrow B(-1/2, 0, 0) \rightarrow D(-1/2, 0, 1/2) \rightarrow E(-1/2, 1/2, 1/2) \rightarrow C(0, 1/2, 1/2) \rightarrow Z(0, 0, 1/2)$. A Figura 15 apresenta a estrutura de bandas obtida considerando todos os elétrons de caroço. Os perfis dos gráficos obtidos pelos três métodos são bastante semelhantes entre si, apresentando os níveis de energia em bandas planas, característico de material isolante. Entretanto os valores de *gap* e níveis de energia variam de acordo com o método, que pode ser evidenciado pelas Figuras 16 e 17, que usam o resultado obtido considerando todos os elétrons como referência para comparação entre os métodos usando pseudopotenciais de norma conservada (Fig. 16) e ultramacios (Fig. 17). As bandas de valência obtidas por esses três métodos são muito semelhantes, de forma que se percebe apenas pequenas diferenças para os três máximos de energia para essa região listados na Tabela 8, enquanto que diferenças drásticas (principalmente em relação ao método utilizando norma conservada) nos valores de energia para o mínimo na banda de condução contribui para a determinação do *gap*, situado no ponto Γ (4,89 eV para DMol³, 4,58 eV para NC e 4,74 eV para USP). Dessa forma, teremos para cada método empregado três *gaps* indiretos e um, direto. Essas diferenças na simulação da banda de condução resultam em diferenças notáveis nos *gaps* obtidos para os três métodos mostrados na Tabela 9.

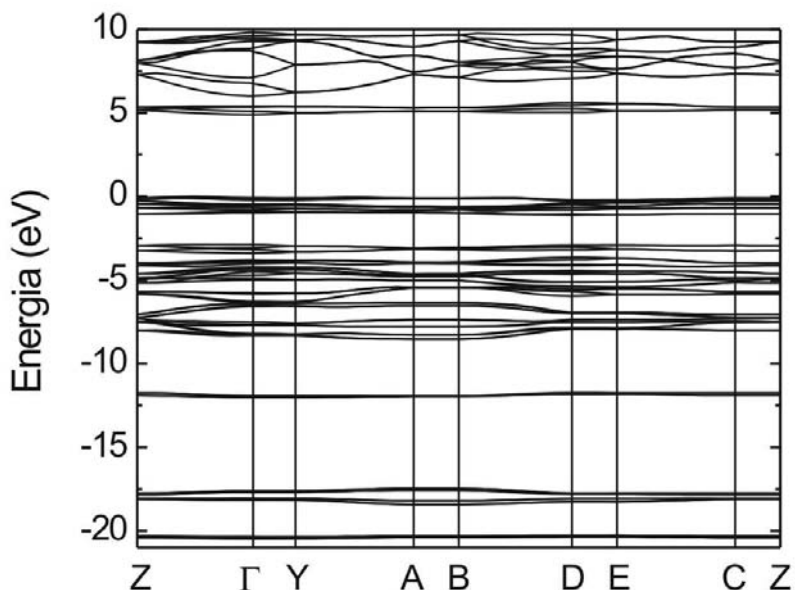


Figura 15: Estrutura de bandas obtida considerando todos os elétrons de caroço.

Tabela 8: Energias dos máximos da banda de valência.

	DMol ³	NC	USP
[Z, Γ]	0,000 eV	0,000 eV	0,000 eV
[Y, A]	-0,056 eV	-0,055 eV	-0,062 eV
[B, D]	-0,073 eV	-0,074 eV	0,076 eV

É sabido que métodos baseados na teoria do funcional da densidade subestimam os *gaps* de energia. Isso se deve ao fato de que as aproximações usualmente empregadas (LDA e GGA) descrevem precariamente a interação com vizinhos, uma vez que a densidade eletrônica é bastante localizada nessas aproximações, mesmo no GGA. Diferenças de energia entre níveis ocupados (banda de valência) e desocupados (banda de condução) devem incluir esse erro, devido à superestimação dos comprimentos de ligação decorrentes da dificuldade em se computar a interação entre elétrons e seus vizinhos não imediatos. A Tabela 9 mostra que o *gap* direto está de fato subestimado para os três métodos, entretanto a diferença é muito pequena para o caso DMol³ e para USP. O *gap* predito por pseudopotenciais de norma-conservada apresentou a maior discrepância com o valor experimental. Apesar dessa aparente desconexão para predição dos *gaps* de energia entre métodos DFT/GGA, os resultados se mostram bastante coerentes com o esperado, uma vez que as diferentes abordagens no tratamento dos elétrons de caroço levam a diferentes correlações quantitativas entre experimento e teoria.

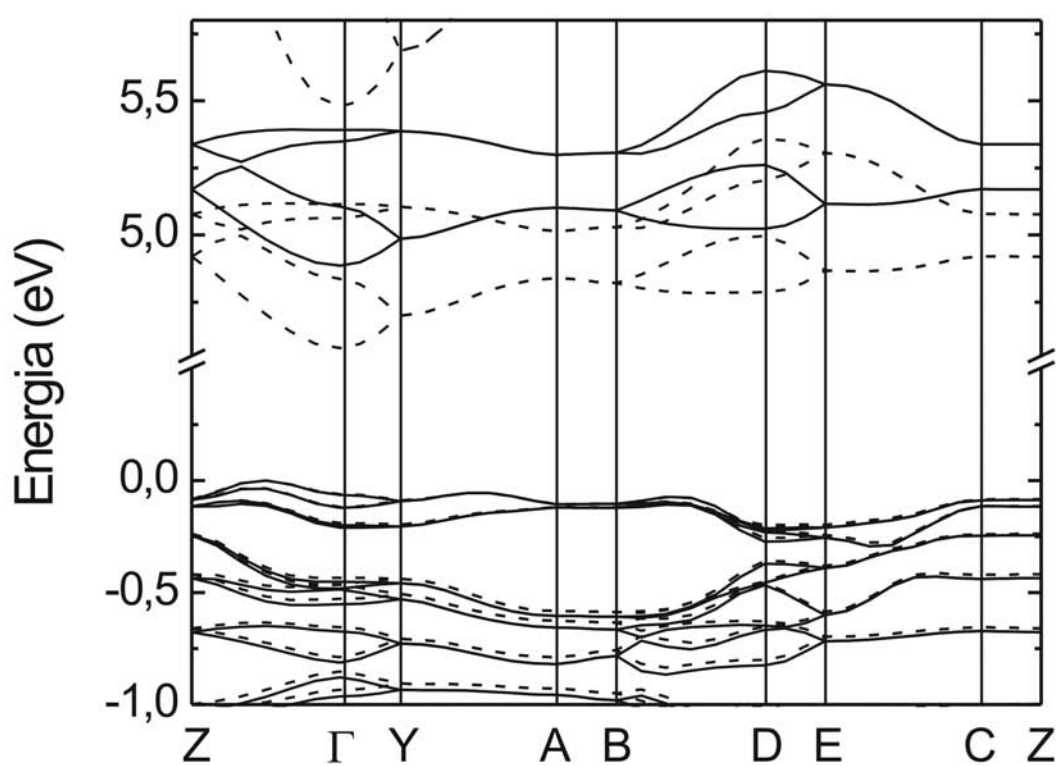


Figura 16: Comparação da região de *gap* nas estrutura de bandas do cristal de α -glicina obtidas através da inclusão de todos os elétrons (linha sólida) e usando pseudopotenciais de norma conservada (linha tracejada).

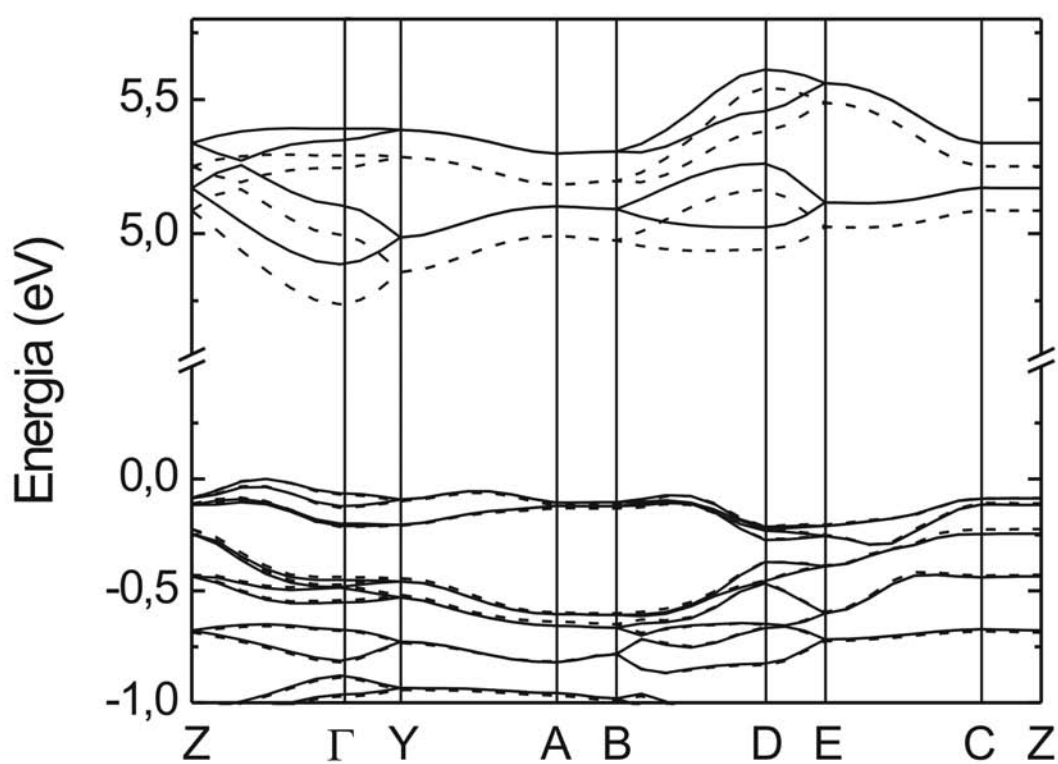


Figura 17: Comparação da região de *gap* nas estrutura de bandas do cristal de α -glicina obtidas através da inclusão de todos os elétrons (linha sólida) e usando pseudopotenciais ultramacios (linha tracejada).

Tabela 9: *Gaps* de energia para α -glicina.

	DMol ³	NC	USP
$\Gamma \rightarrow \Gamma$	4,95 eV	4,64 eV	4,81 eV
$[Z, \Gamma] \rightarrow \Gamma$	4,89 eV	4,58 eV	4,74 eV
$[Y, A] \rightarrow \Gamma$	4,94 eV	4,63 eV	4,80 eV
$[B, D] \rightarrow \Gamma$	4,96 eV	4,65 eV	4,81 eV

Devido ao fato de que não há implementação dos cálculos de absorção no código do programa DMol³, os resultados mostrados serão relativos aos cálculos realizados no CASTEP, usando tanto pseudopotenciais de norma conservada quanto ultramacios, que estão mostradas para a região próxima ao *gap* nas Figuras 18 e 19, respectivamente. As absorções computadas pelos dois métodos apresentam um perfil muito semelhante, entretanto os picos das transições obtidos com pseudopotenciais de norma conservada estão deslocados, em geral, de aproximadamente de 0,22 eV na direção de menores energias em relação aos obtidos com pseudopotenciais ultramacios. Esse deslocamento também pode ser observado nas estruturas de bandas calculadas por esses dois métodos (Figs. 16 e 17). De acordo com esse argumento, as discussões em relação à interpretação dos picos serão feitas usando os valores obtidos dos cálculos com NC.

A região abaixo de 5,4 eV engloba os regimes de transição direta e indireta, governados basicamente por transições $O - 2p$ da banda de valência e $O - 2p$ da banda de condução. Entretanto, de acordo com as regras de seleção descritas acima relacionadas com implicações na simetria das funções de onda, essas são transições proibidas, uma vez que a absorção óptica ocorre devido ao acoplamento de estados eletrônicos via um termo de interação de dipolo elétrico, que é pequeno quando estados eletrônicos originados de orbitais atômicos com o mesmo número quântico angular são considerados.

Na região de 5,4–7,5 eV, a absorção polarizada na direção 100 é muito mais pronunciada que nas direções 010 e 001, devendo apresentar a maior contribuição para o pico no policristal. Analisando as densidades parciais de estados eletrônicos (Figs. 8–10) vemos que essa região revela uma grande contribuição de níveis $H - s$ para a função de onda. Do ponto de vista estrutural, temos que as ligações de hidrogênio que mantêm a estabilidade cristalina ocorre no plano *ac*. Entretanto olhando para o grupamento amina positivamente carregado e seus três grupamentos carboxila mais próximos, percebe-se que o dipolo elétrico resultante da adição das componentes de dipolo ao longo das linhas conectando os radicais amina aos carboxilas tem uma componente dominante na direção 100. Dessa forma, uma vez que luz na direção 100 polariza um forte dipolo elétrico,

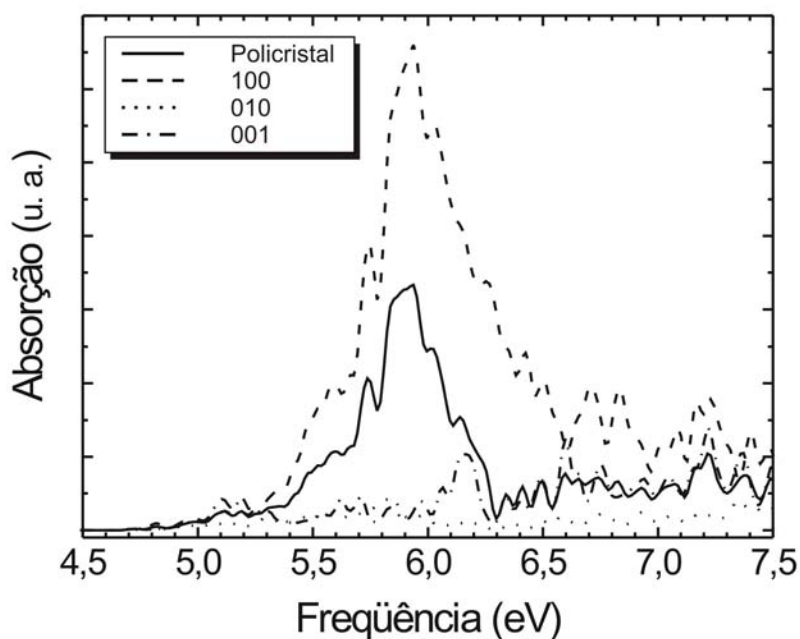


Figura 18: Absorbância na região do *gap* calculado usando pseudopotenciais de norma conservada para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (pontilhada) e 001 (ponto tracejada), além de policristal (contínua).

acoplamentos surgem na transferência de carga do grupamento carboxila ao amina, aumentando a intensidade do pico de absorção obtido nos cálculos realizados. As ligações de hidrogênio, responsáveis pela estabilidade cristalina e que interpretamos ser responsável pela existência do dipolo elétrico, estão indicadas nas Figuras 20–22, que mostram as interações entre células vizinhas vistas em diferentes planos. É possível ver que há contribuição para formação do dipolo em ambas as direções 100 e 010, entretanto devido à operação de simetria de rotação dentro da célula unitária, temos que moléculas de glicina se apresentam com direção dipolar alternada a cada meio parâmetro de rede no eixo *b* (que está relacionada com duas vezes a aplicação do grupo de rotação, que resulta na operação identidade), que podem ser percebidas nas Figuras 20–22

No regime de energias maiores que 6,3 eV, a intensidade de absorção diminui para todas as direções de polarização, porque os níveis $O - 2p$ contribuem mais fortemente para os estados de condução acima dessa energia. As principais contribuições ao espectro do policristal ocorrem para 5,2 eV, 5,5 eV, 5,7 eV, 5,9 eV (bastante intenso), 6,1 eV, 6,7 eV e 7,2 eV. Os primeiros dois picos estão relacionados com transições indiretas do topo da banda de valência ao quarto nível da banda de condução próximo aos pontos de

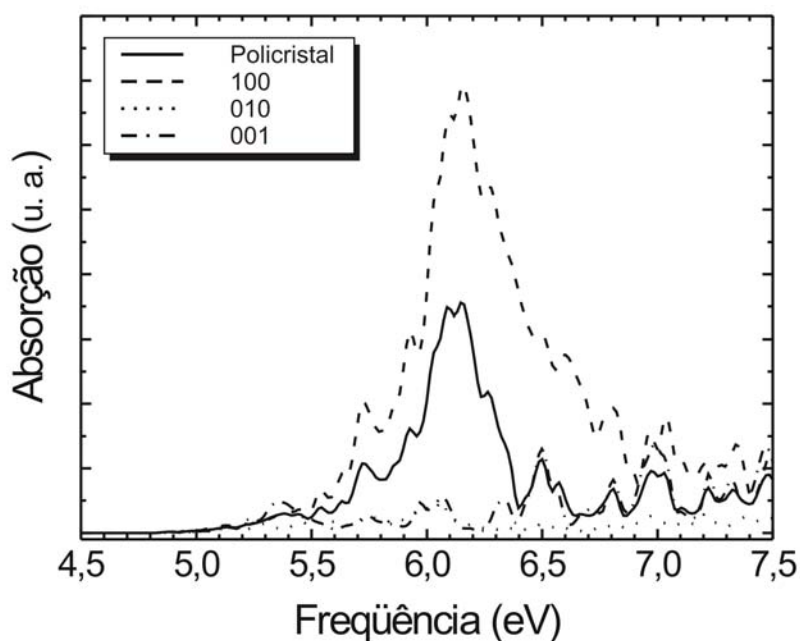


Figura 19: Absorbância na região do *gap* calculado usando pseudopotenciais ultramacios para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (pontilhada) e 001 (ponto tracejada), além de policristal (contínua).

alta simetria D e E. O pico mais forte está relacionado com transições diretas ($\Gamma \rightarrow \Gamma$) englobando o mínimo da quinta banda de condução próximo a 6,0 eV (Figs. 16–17).

2.5 Luminescência

Foram feitas ainda medidas de fotoluminescência na para energias abaixo do limiar da banda de condução para diferentes temperaturas, variando de 4 K a 100 K. Fotoluminescência é o processo no qual um fóton excita um elétron fazendo-o transitar para algum nível superior de energia, e este emite um outro fóton ao retornar para algum estado de energia mais baixo. Embora a excitação em geral seja de um nível de energia mais baixo para outro mais alto de forma direta, ou seja, sem que níveis intermediários participem do processo, o retorno ao nível de energia inicial ocorre frequentemente de maneira indireta, perdendo aos poucos a energia recebido. As diferenças na forma em que os níveis eletrônicos são ocupados durante o processo de relaxamento são assinaturas do material analisado e, ainda são classificados de maneira diferente. Existem basicamente três formas de fotoluminescência, que estão esquematizadas na Figura 23: (i) *radiações*

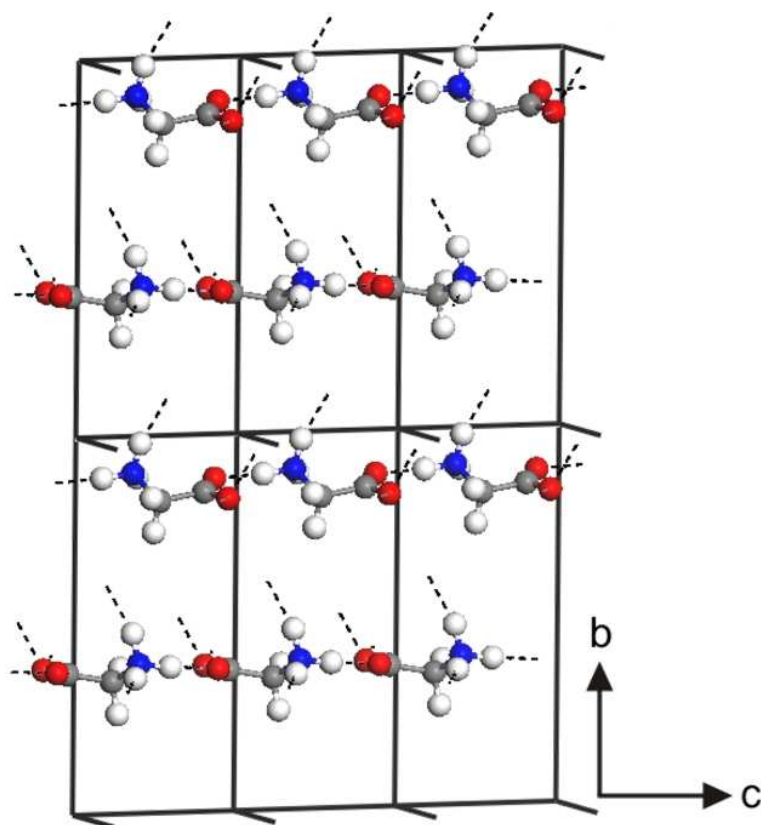


Figura 20: Vista do cristal na direção do eixo *a*. As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.

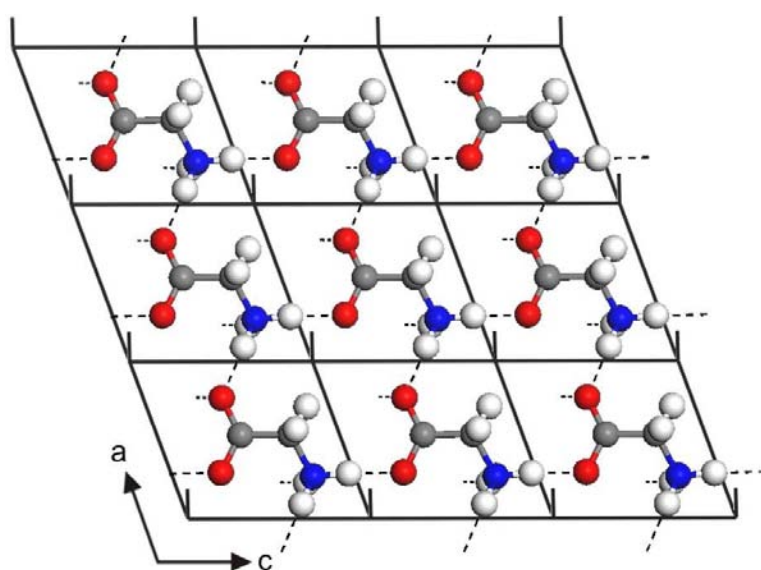


Figura 21: Vista do cristal na direção do eixo *b*. As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.

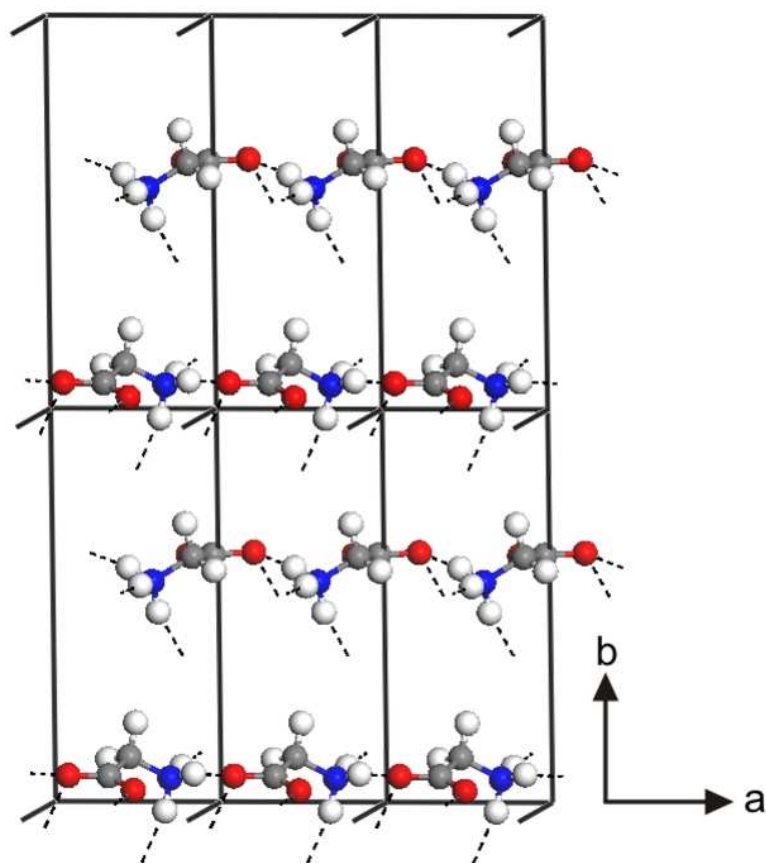


Figura 22: Vista do cristal na direção do eixo c . As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.

ressonantes, em que um fóton de uma dada energia é absorvido e outro fóton equivalente é imediatamente emitido; (ii) *fluorescência*, em que ocorre o segundo caso de fotoluminescência descrito acima, ou seja, há transições para estados intermediários durante o processo de reemissão da energia absorvida; e (iii) *fosforescência*, em que há transição de estados com multiplicidades de spin diferentes, por exemplo, transições $1s^{1/2} \rightarrow 1s^{3/2}$, ou seja, a transição de um estado singlete para outro, tripleto. Como a volta desse estado tripleto para o estado singlete anterior à absorção é proibido pelas regras de seleção da mecânica quântica, já descritas anteriormente, o tempo desse retorno é muito maior que o ordinário, podendo demorar de minutos a horas.

Dada sua própria natureza, descrita anteriormente, o espectro de fotoluminescência é governado pela disponibilidade de estados de energia e por transições permitidas entre estados, determinado pelas regras da mecânica quântica. Por esse motivo, cálculos de primeiros princípios serão empregados para a interpretação dos resultados experimentais. Recentemente, Kadantsev *et. al.* [58] realizaram um estudo extenso comparando diferentes aproximações *ab initio* para a estrutura eletrônica em oligoacenos com dados experimentais, e mostraram que cálculos usando a dependência temporal da teoria da

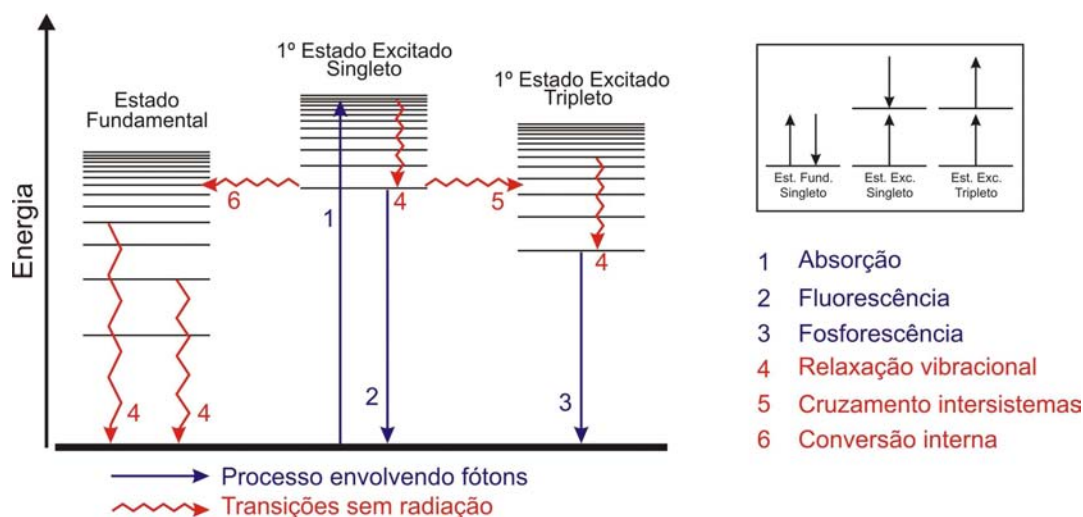


Figura 23: Processos físicos possíveis com a absorção de fóton por uma molécula. O quadro mostra a configuração esquemática para os diferentes estados e multiplicidades de spin indicados nas transições

densidade eletrônica (TD-DFT, de *time-dependent density functional theory*) geram excelentes resultados para as transições eletrônicas, especialmente para aquelas decorrentes a partir de orbitais moleculares (OM) abaixo do orbital molecular ocupado de nível mais alto (HOMO) para OM acima do orbital molecular desocupado de nível mais baixo (LUMO), *e. g.* HOMO-1→LUMO+1.

O espectro de fotoluminescência, para energias abaixo do limiar da banda de condução, obtido a partir de cristais de α -glicina está mostrado na Figura 24. Pode-se identificar duas estruturas no espectro, uma apresentando picos bastante largos e deslocalizados que ocupa a maior parte (entre 2,4 eV e 3,2 eV), e a outra com picos localizados (de 3,20 eV a 3,60). Dentro da primeira região, pode-se ver um pico forte de luminescência em 3,10 eV, que diminui de importância relativa à medida que a temperatura aumenta, tornando-se quase indistinguível em relação à essa parte larga do espectro. Na região do ultravioleta (UV) existem dois picos estreitos em 3,43 eV e 3,54 eV. Com o aumento da temperatura, além do aparente alargamento do espectro, o pico em 3,43 eV desaparece a partir de temperaturas acima de 100 K, enquanto que o outro pico permanece estreito e mais notável em relação ao resto do espectro, quando comparado com os espectros obtidos a temperaturas mais baixas. Essa dependência do espectro com a temperatura, evidenciado com o fato de que na maior parte do espectro a largura dos picos seja relativamente grande, indicam que o espectro é governado principalmente por processos relacionados com a rede cristalina, uma vez que essa dependência é típica de espalhamento de fônons transportadores. Transições provocadas por defeitos inter-bandas além das transições intra-banda devem ser os responsáveis pela região larga do espectro, enquanto que os picos estreitos

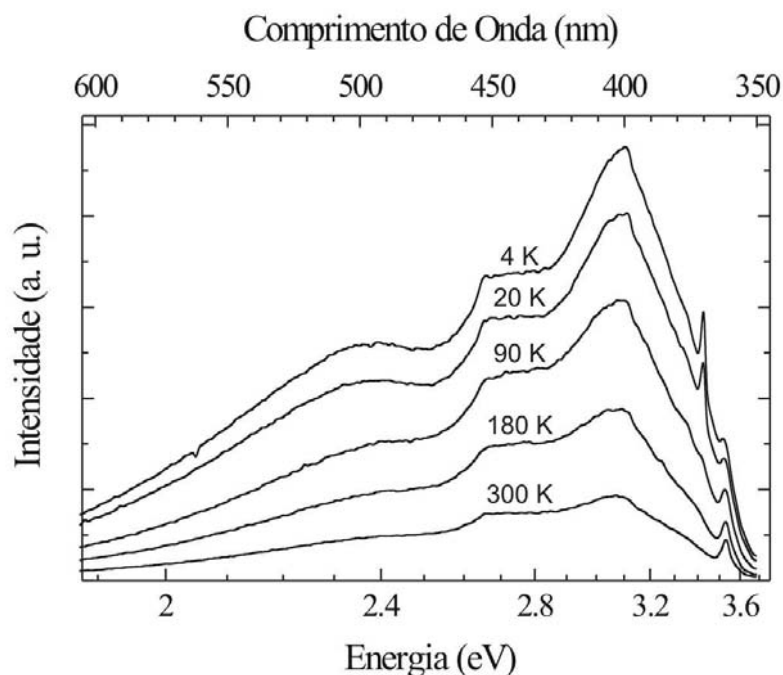


Figura 24: Fotoluminescência da α -glicina medida variando a temperatura de 4 K a 100 K.

localizados na região do ultravioleta podem ser assinalados como relaxamento de estados moleculares excitados característicos da molécula de glicina, uma vez que eles são extremamente estreitos e praticamente independentes da temperatura.

De forma a corroborar com a interpretação de que os picos localizados no UV podem estar relacionados com a assinatura molecular em cristais de α -glicina, identificando quais recombinações de estados eletrônicos contribuem para a fotoluminescência, transições singleto-singleto foram calculadas usando a teoria do funcional da densidade dependente do tempo (TD-DFT). Transições singleto-tripletto são proibidas pelas regras de seleção

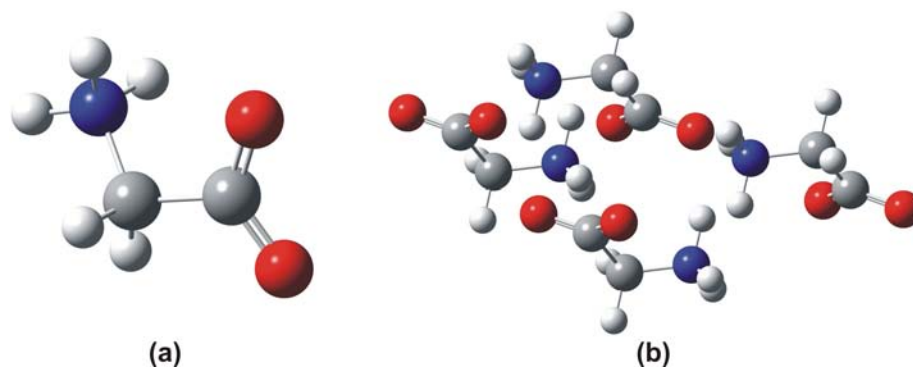


Figura 25: Configurações moleculares utilizadas nas simulações de TD-DFT: (a) uma molécula; e (b) quatro moléculas dispostas em planos ac paralelos.

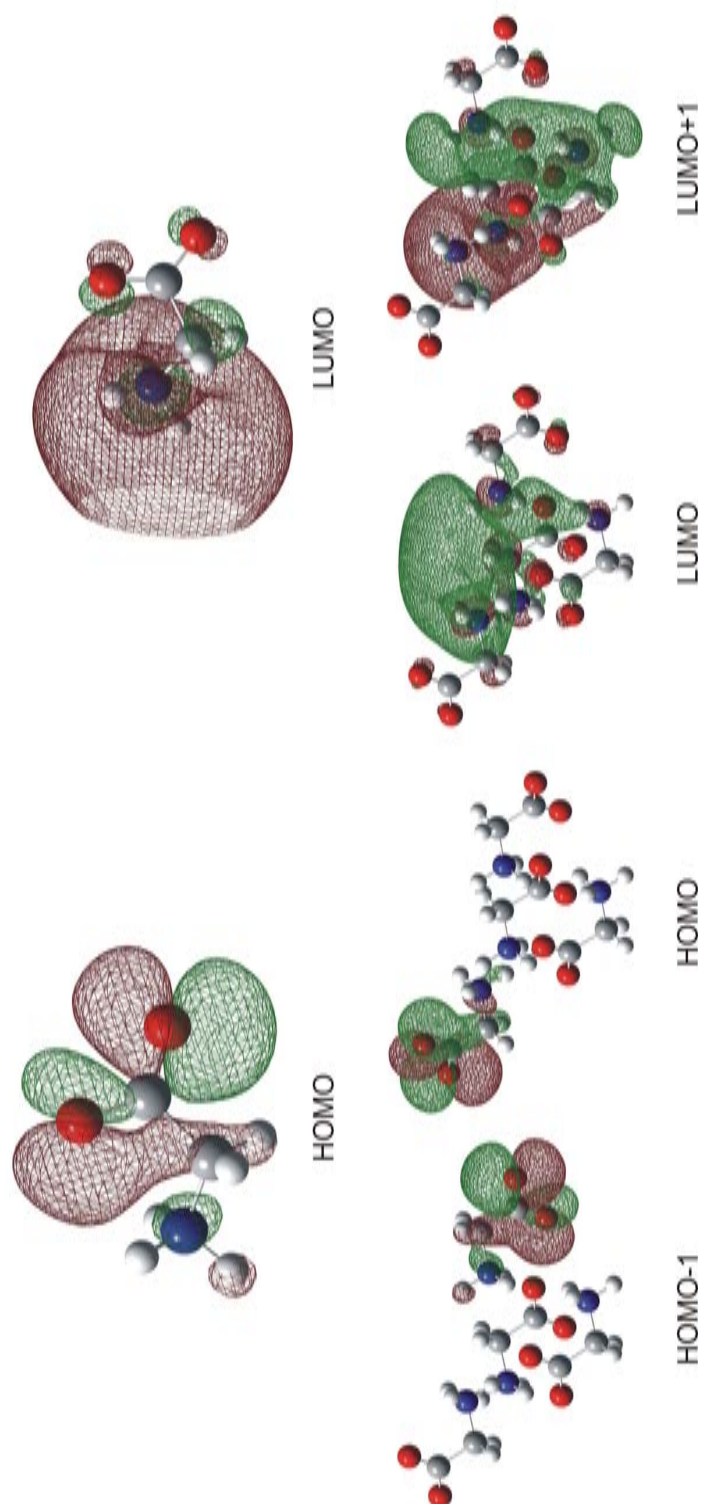


Figura 26: Orbitais moleculares para as configurações utilizadas nos cálculos.

Tabela 10: Transições para Estados Excitados (E.E.) *singlete*→*singlete* para os diferentes arranjos moleculares analisados. Os símbolos H(L) denotam os orbitais HOMO(LUMO), enquanto que f é a força do oscilador.

	E.E. (eV)	f
1 Glicina		
H→L	3,18	0,0356
H-1→L, H-2→L	3,46	0,0014
H-1→L, H-2→L	3,66	0,0085
H→L+1	4,58	0,0067
H→L+2	4,76	0,0066
H-1→L+1	4,95	0,0012
4 Glicinas		
H→L,H→L+1	2,64	0,0069
H-2→L,H-2→L+1	3,03	0,0013
H-1→L,H-1→L+1	3,08	0,0179
H-3→L,H→L+1	3,13	0,0049
H-3→L,H→L,H→L+1,H→L+2	3,21	0,0016
H-5→L,H-4→L,H-4→L+1	3,49	0,0006
H-4→L,H-1→L,H-1→L+1,H-1→L+2	3,53	0,0010
H-2→L,H-2→L+1,H-2→L+2	3,60	0,0026
H-5→L,H-5→L+1,H-4→L,H-1→L+1	3,62	0,0022
H→L+1,H→L+2	3,65	0,0002
H-3→L+1,H-3→L+2	3,72	0,0015

da mecânica quântica, e portanto não foram consideradas. Para a realização dos cálculos foi utilizado o programa comercial Gaussian03 [59] empregando o método TD-DFT com o funcional híbrido corrigido não-localmente PBE1PBE[51] e usando o conjunto de base 6-31++g(d,p) sem inclusão de efeito de solvente. Para esse fim, foram tomados dois arranjos moleculares obtidos a partir das posições atômicas no cristal de α -glicina [24] e estão mostradas na Figura 25, em que um deles consiste em apenas uma molécula a fim de identificação dos transições poderiam contribuir com a existência do pico em 3,4 eV. O outro sistema é formado por quatro moléculas de glicina dispostas de forma a preservar os vizinhos que mais se interagem via ligações de hidrogênio no plano ac , de forma a aproximar o ambiente cristalino.

Como mencionado ao longo deste capítulo, ligações de hidrogênio inter-moleculares são as responsáveis pela estabilidade da estrutura cristalina em cristais de α -glicina. Essas ligações são relativamente fracas e, portanto deve haver transições que resultem em picos de luminescência devido a assinatura molecular. Como podemos ver na Figura 26, os orbitais moleculares HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) e LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) para o arranjo de quatro moléculas conserva em grande parte

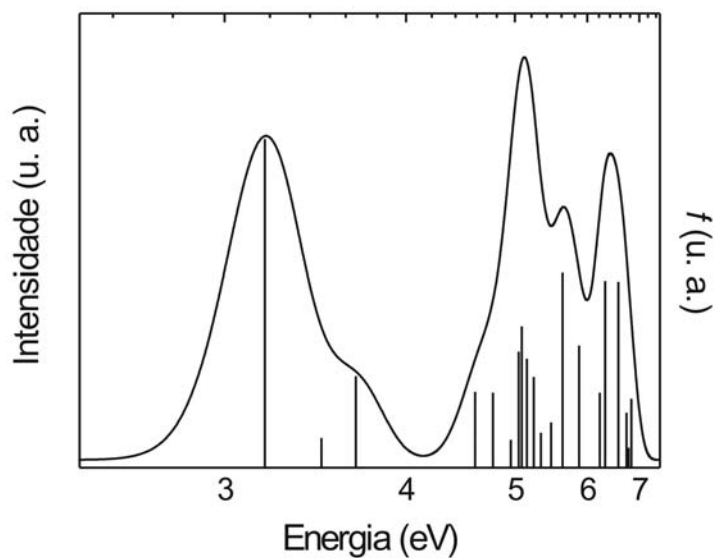


Figura 27: Transições singleto \rightarrow singleto para uma molécula de glicina. As barras indicam as forças de oscilador (f), enquanto que a linha sólida é a soma das funções gaussianas centradas nas energias em que ocorrem as transições.

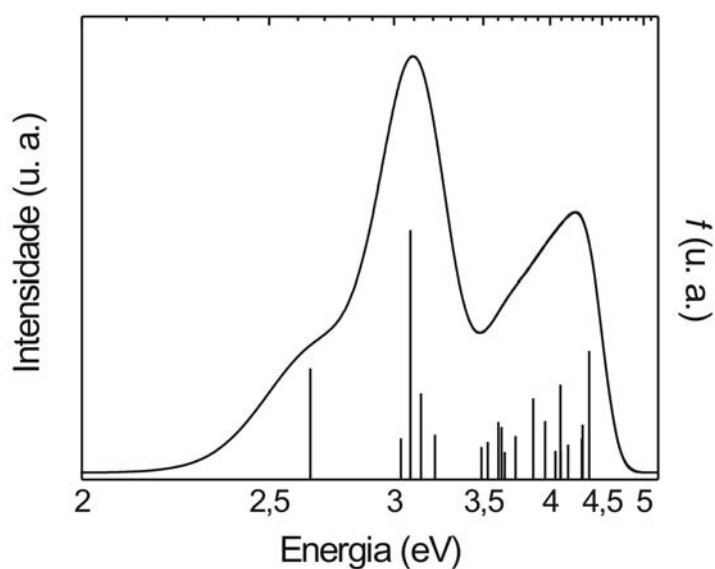


Figura 28: Transições singleto \rightarrow singleto para quatro moléculas de glicina. As barras indicam as forças de oscilador (f), enquanto que a linha sólida é a soma das funções gaussianas centradas nas energias em que ocorrem as transições.

a estrutura orbital molecular da glicina isolada. A notação HOMO(LUMO) $\pm n$, indica o n -ésimo nível eletrônico abaixo (acima) do HOMO (LUMO). A Tabela 10 mostram as transições para estados excitados com os maiores coeficientes para o esquema de configuração de interações (CI) e a força de oscilador, que indicam a probabilidade de ocorrência da transição. Embora tenham sido computados 20 estados excitados para cada esquema, estão mostradas apenas as transições que podem apresentar alguma contribuição no espectro de luminescência, dado o intervalo de energia em que foram obtidos os espectros.

As Figuras 27 e 28 mostram todas as transições computadas, além do espectro formado pela soma de gaussianas centradas nas energias de transição e intensidades proporcionais à força de oscilador de cada transição com $\sigma = 0,17$ eV. A transição em 3,18 eV dada por HOMO \rightarrow LUMO para uma molécula apresenta a maior força de oscilador e pode ser a responsável por uma assinatura molecular em 3,4 eV no espectro de luminescência (Figura 24). As outras transições mostradas na Tabela 10 para uma glicina não devem fazer parte dessa transição, uma vez que cálculos DFT tendem a subestimar as energias, fazendo com que todas as outras transições sejam improváveis de pertencer ao intervalo do espectro. Além disso, as transições para 4 glicinas no plano *ac* mostram que em 3,08 eV, ocorre a transição com maior força de oscilador envolvendo orbitais formados a partir de combinações dos orbitais de uma única molécula, envolvidos nas transições que indicam pertencer à assinatura molecular no espectro de luminescência.

3 β -Glicina

3.1 Análise Estrutural

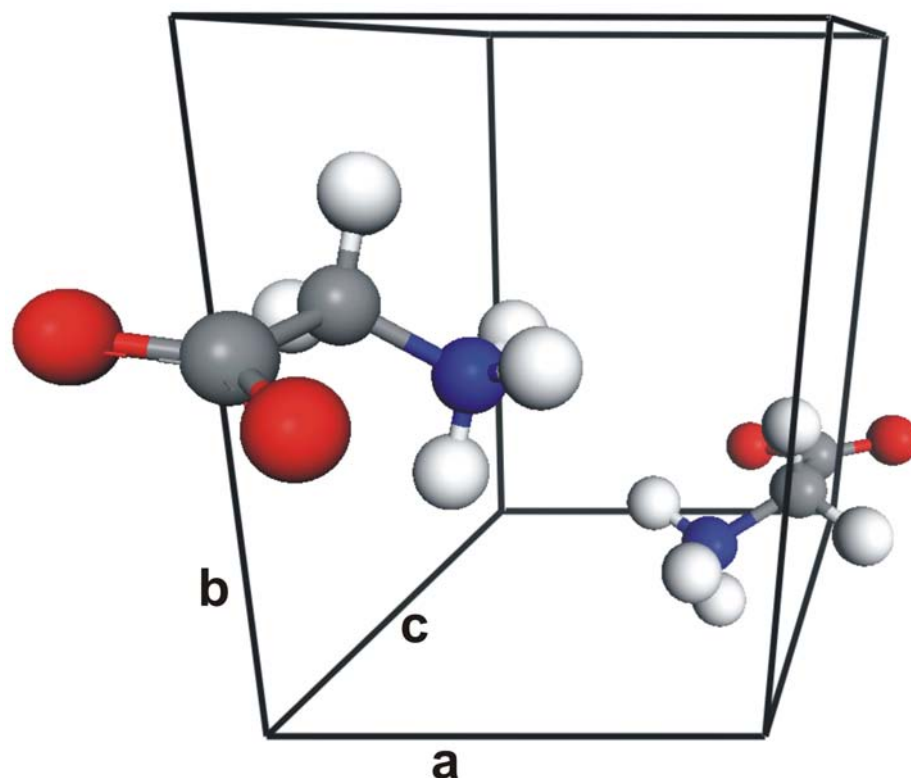


Figura 29: Representação esquemática em perspectiva da célula unitária do cristal de β -glicina.

Cristais de β -glicina apresentam duas moléculas por célula unitária (Figura 29) e foram simulados a partir das posições atômicas obtidas experimentalmente por Perlovich *et. al.* [24]. Antes das propriedades eletrônicas serem computadas, é necessário garantir que a geometria (parâmetros de rede e coordenadas atômicas relativas da célula unitária) seja a de menor energia, que está relacionada com a estrutura mais estável. Para isso, foram realizados cálculos DFT-GGA usando o funcional desenvolvido por Perdew, Burke

Tabela 11: Comparação entre parâmetros de rede da β -glicina calculados com GGA/PBE para diferentes energias de corte e obtidos experimentalmente por Perlovich *et. al.* e teoricamente por Chisholm *et. al.*.

	GGA₃₈₀	GGA₄₇₀	GGA₅₆₀	Chisholm / PBE	Perlovich
a/Å	5,28979	5,15047	5,17729	5,114	5,0943(13)
b/Å	8,25818	6,55565	6,94850	6,465	6,286(5)
c/Å	5,48042	5,40857	5,41830	5,392	5,3831(15)
α	90°	90°	90°	90	90°
β	121,841°	111,555°	112,715°	111,41	113,21°(2)
γ	90°	90°	90°	90	90°
Z	2	2	2	2	2
V/Å ³	203,380	169,848	179,801	166,0	158,44(3)
G. E.	P2 ₁	P2 ₁	P2 ₁	P2 ₁	P2 ₁
Energia (eV)	-3071,23200	-3071,28602	-3071,45539	—	—

e Ernzerhof (PBE) através do programa comercial CASTEP [49]. Foram utilizados pseudopotenciais ultramacios construídos a partir do mesmo funcional usado para os cálculos auto-consistentes (PBE), fazendo com que a energia de corte necessária seja diminuída. Inicialmente, os parâmetros de rede foram mantidos fixos enquanto que os átomos estavam livres para buscar a melhor configuração. Em seguida foi feito o oposto, mantendo-se fixas as posições atômicas relativas e permitindo que a rede cristalina pudesse relaxar. Por fim, todos os parâmetros foram mantidos livres, podendo variar tanto os parâmetros de rede quanto as coordenadas atômicas.

Tabela 12: Comparação entre as metodologias usadas por Chisholm e por nós.

PARÂMETRO	Chisholm <i>et. al.</i> [44]	NOSSO
Maior En. de Corte	450 eV	560 eV
ΔE	2×10^{-5} eV/átomo	5×10^{-6} eV/átomo
Rede Monkhorst-Pack	$0,08 \text{ \AA}^{-1}$	$0,04 \text{ \AA}^{-1}$
Max. Força	$2,5 \times 10^{-2}$ eV/Å	1×10^{-2} eV/Å
Max. Deslocamento	$0,001 \text{ \AA}$	$5 \times 10^{-4} \text{ \AA}$
Max. Stress	0,1 GPa	0,02 GPa

O limiar de convergência para a máxima variação de energia durante a otimização de geometria foi estabelecido como 5×10^{-6} eV/átomo, enquanto que os valores para as máximas força (obtidas pelo teorema de Hellman-Feynmann) e pressão foram $0,001$ eV/Å e $0,02$ GPa, respectivamente, além de se ter considerado o valor 5×10^{-6} como máximo deslocamento. O programa utiliza o algoritmo *Smart* que aplica correção de base finita quando se adota uma energia de corte fixa, fazendo com que seja possível que o número de ondas planas dentro da célula unitária possa variar. De forma a tornar os cálculos mais rápidos, esse algoritmo usa um critério de compressibilidade, de forma que foi utilizada a pressão sugerida para cristais orgânicos dentro do critério de convergência “*Ultra-Fine*”. Para os cálculos auto-consistentes, o limiar para determinar a convergência da densidade eletrônica para a dada configuração eletrônica foi de 5×10^{-7} eV/átomo. Foi utilizada a rede de Monkhorst-Pack $5 \times 4 \times 5$, levando a um distanciamento de dos k -pontos de aproximadamente $0,04 \text{ \AA}^{-1}$ para o cálculo das integrais no espaço recíproco. Foi estabelecido como máxima energia de corte, a maior energia de corte possível obtida com a otimização de geometria da α -glicina, que foi de 560 eV. Esse valor, entretanto foi obtido de forma gradual (embora menos gradual que o obtido para α -glicina) tendo como estruturas intermediárias, as obtidas com energias de corte de 380 eV e 470 eV.

A Tabela 11 mostra a evolução da energia e dos parâmetros de rede resultantes de cálculos com diferentes energias de corte. Podemos ver que, de fato é preferível trabalhar com altas energias de corte, pois a primeira estrutura foi obtida com a energia de

corde sugerida pelo programa dentro do critério “*Ultra-fine*” e apresenta enormes discrepâncias quando comparadas com os valores experimentais. Ainda na Tabela 11, estão mostrados os resultados publicados recentemente por Chisholm *et. al.* [44] usando uma aproximação baseada em DFT com o funcional PBE utilizando o programa CASTEP. Os critérios de convergência adotados por eles são bem menos rígidos que os empregados nessa dissertação. A Tabela 12 mostra as diferenças entre as metodologias adotadas. É importante notar na Tabela 11 que o resultado obtido por nós com uma energia de corte de 470 eV (próxima a de 450 eV usada por Chisholm) é extremamente semelhante ao obtido por eles, com diferença inferior a 1% nos valores dos parâmetros de rede, embora o restante dos parâmetros utilizados nessa dissertação para convergência ainda terem sido razoavelmente superiores (Tabela 12). Entretanto, analisando o comportamento da energia do cristal com o aumento da energia de corte, chegamos à conclusão de que o cristal obtido por uma energia de corte de inferior a 470 eV se encontra em um mínimo local com energia mais distante do mínimo global que o obtido através de uma energia de corte de 560 eV. É, portanto, extremamente necessário que sejam utilizadas energias de corte mais altas ainda para que se possa chegar a uma estrutura convergida, mas infelizmente, o aumento da energia de corte aumenta o custo computacional, pois aumenta consideravelmente o número de ondas planas a ser utilizada em cada passo autoconsistente. Dessa forma, os resultados obtido com a maior energia de corte devem apresentar maior coerência e concordância com resultados experimentais e por isso, as discussões posteriores serão feitas considerando apenas o estrutura obtida com a energia de corte de 560 eV.

Tabela 13: Posições atômicas no cristal de β -glicina.

	GGA ₅₆₀			Exp.*		
	x/a	y/b	z/c	x/a	y/b	z/c
N	-0,313682	0,012164	1,234365	-0,3509(6)	0,0129(5)	1,2623(5)
O ₁	0,147518	0,142922	0,897974	0,0914(4)	0,1405(5)	0,9029(4)
O ₂	-0,316422	0,075372	0,730298	-0,3780(5)	0,0897(6)	0,7575(4)
C	-0,085511	0,11178	0,920683	-0,1337(6)	0,1157(5)	0,9391(5)
C _{α}	-0,085943	0,125548	1,202197	-0,1122(6)	0,1267(7)	1,2305(5)
H ₁	0,115124	0,079094	1,353489	0,051(9)	0,064(8)	1,376(8)
H ₂	-0,114604	0,277577	1,242036	-0,112(9)	0,261(10)	1,286(9)
H ₃	-0,284779	-0,133403	1,201619	-0,313(15)	-0,116(19)	1,210(15)
H ₄	-0,512703	0,057048	1,097943	-0,526(10)	0,047(7)	1,159(9)
H ₅	-0,308424	0,032395	1,433164	-0,331(10)	0,039(9)	1,412(10)

* Ref. [24]

Segundo Perlovich *et. al.* [24], β -glicina é o polimorfo cristalino da glicina menos estável quando comparada com os polimorfos α e γ , sendo na realidade uma meta-

Tabela 14: Comprimentos de ligações para o cristal de β -glicina.

LIGAÇÃO	GGA ₅₆₀	Exp.*
C _{α} -H1	1,09580 Å	0,97301 Å
C _{α} -H2	1,09967 Å	0,89538 Å
C _{α} -C	1,52918 Å	1,53035 Å
C _{α} -N	1,48325 Å	1,47776 Å
C-O1	1,27756 Å	1,24635 Å
C-O2	1,26685 Å	1,25391 Å
N-H3	1,04759 Å	0,90328 Å
N-H4	1,05695 Å	0,87171 Å
N-H5	1,07615 Å	0,78879 Å
O1 · · H'3	1,87295 Å	2,21277 Å
O1 · · H'4	1,77554 Å	1,98166 Å
O2 · · H'3	3,01366 Å	2,47951 Å
O2 · · H'5	1,65359 Å	1,99223 Å
C-C _{α} -N	113,042°	111,538°

* Ref. [24]

estável em ar seco, sendo instável na presença de humidade, podendo se transformar em um dos polimorfos α - ou γ -glicina [32]. Entretanto, como será visto no próximo capítulo, nossos resultados mostram que a β -glicina apresenta uma energia por molécula inferior à da γ -glicina, sendo que a ordem de estabilidade fica em $\alpha > \beta > \gamma$, sendo a α a mais estrutura mais estável. A Figura 29 mostra a estrutura da célula unitária para o cristal da β -glicina, enquanto que a Tabela 13 mostra as coordenadas atômicas reduzidas obtidas para a estrutura obtida com a maior energia de corte comparadas com os valores experimentais. A Tabela 14 mostra os comprimentos de ligação e as distância interatômicas entre átomos que interagem por ligação de hidrogênio entre moléculas vizinhas, que são responsáveis pela estabilidade cristalina. Podemos ver que, assim como o obtido com α -glicina, os comprimentos de ligação resultantes dos cálculos são recorrentemente maiores que os obtidos experimentalmente por Perlovich [24]. Entretanto, as distâncias interatômicas obtidas teoricamente são menores que as determinadas experimentalmente, excetuando-se apenas a interação entre os átomos O2 · · H'3, em que a distância resultante da simulação é consideravelmente maior que a obtida experimentalmente. Isso se deve, principalmente ao fato de que o ângulo C-C _{α} -N obtido teoricamente ser maior. Este aumento é, em parte, devido ao aumento dos comprimentos de ligação intermoleculares. Como consequência disso, o volume da célula unitária é maior que a obtida experimentalmente, resultante do fato da alta localização das aproximações baseadas na teoria do funcional da densidade, como a GGA/PBE utilizada nessa dissertação.

Assim como na α -glicina, o plano ac contém as principais ligações de hidrogênio re-

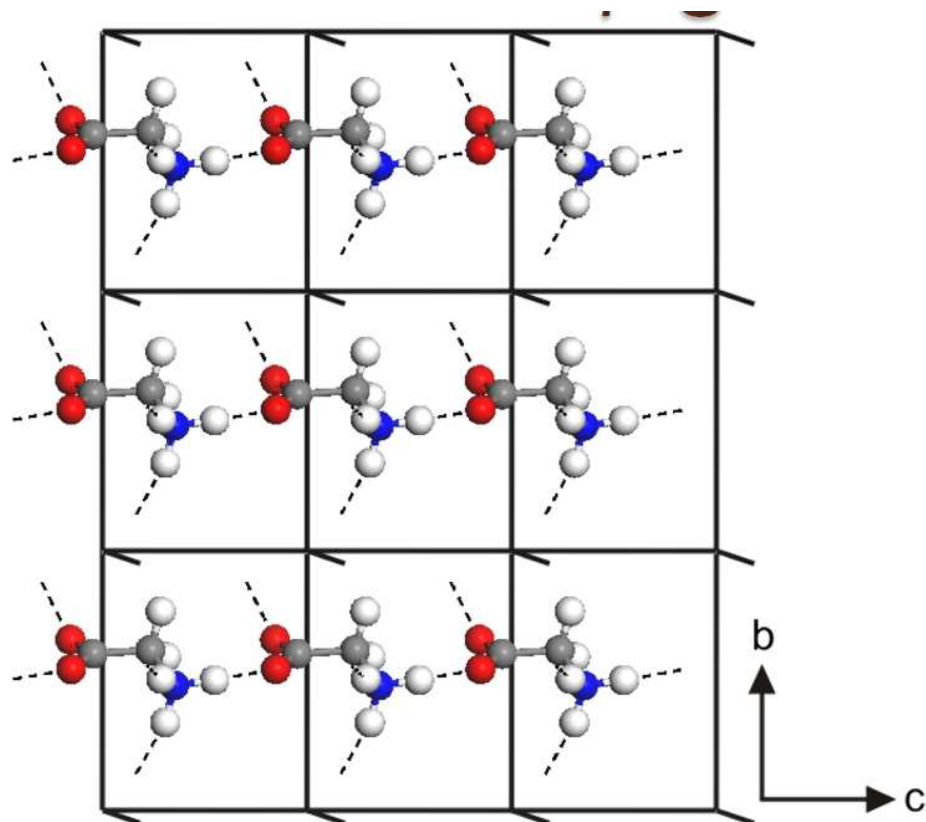


Figura 30: Vista do cristal na direção do eixo *a*. As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.

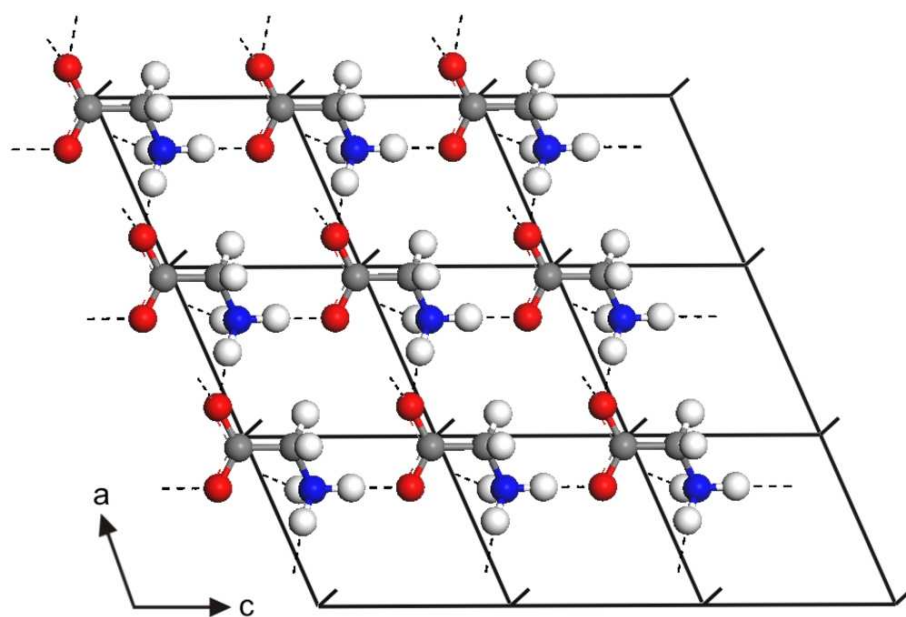


Figura 31: Vista do cristal na direção do eixo *b*. As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.

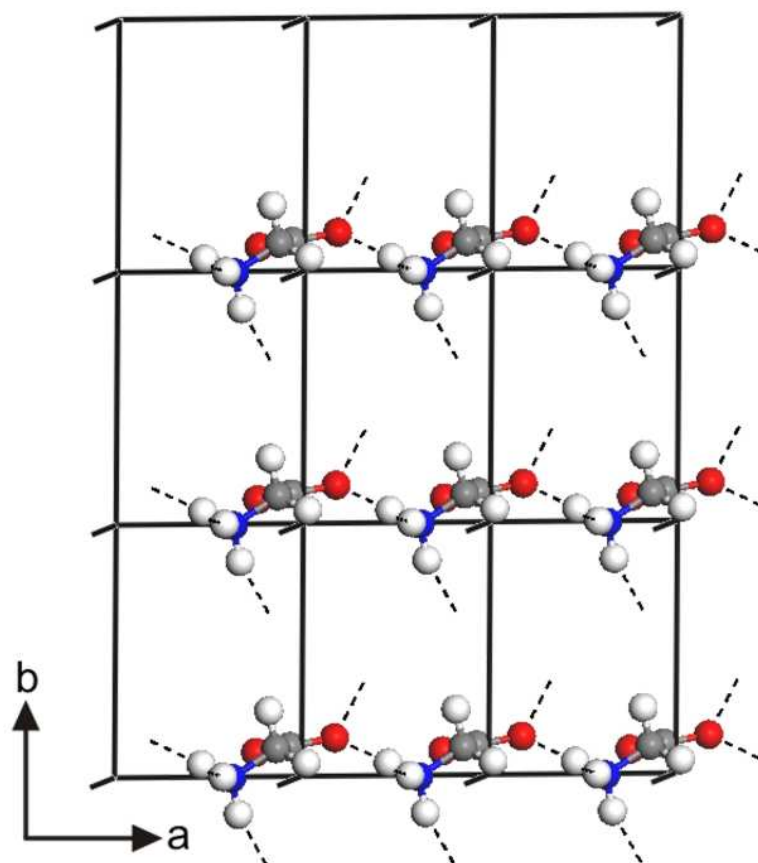


Figura 32: Vista do cristal na direção do eixo c . As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.

sponsáveis pela estabilidade cristalina. As Figuras 30–32 mostram as ligações de hidrogênio entre moléculas vizinhas, responsáveis pela estabilidade cristalina. Podemos ver, principalmente pelas Figuras 30 e 31, que o aumento no ângulo formado por $C-C_{\alpha}-N$ de fato aumenta a distância entre $O2 \cdots H'3$, pois além do fato de que DFT simula precariamente ligações de hidrogênio e interações de Van der Waals, essa interação ocorre entre moléculas vizinhas de planos diferentes, que devido ao grupo de simetria aplicadas no eixo “parafuso” (*screw axis*), as moléculas se apresentam com as terminações carboxila e amina desencontradas.

3.2 Propriedades Eletrônicas

Após a otimização de geometria e determinação dos parâmetros estruturais mais confiáveis do ponto de vista teórico, ou seja, resultados obtidos com a maior energia de corte, foram calculadas as propriedades eletrônicas e óticas do polimorfo β -glicina. A Tabela 15 apresenta a análise populacional através do método de Mulliken para cada átomo, de acordo com a nomenclatura dos átomos dada na Figura 4, para os três métodos de

Tabela 15: Assinalamento das cargas atômicas calculadas pela análise populacional de Mulliken obtida através das três abordagens diferentes de cálculo.

	Mulliken		
	DMol ³	NC	USP
N	-0,456	-0,780	-0,790
O ₁	-0,657	-0,660	-0,670
O ₂	-0,586	-0,620	-0,640
C	0,523	0,570	0,630
C _α	-0,194	-0,420	-0,460
H ₁	0,173	0,310	0,320
H ₂	0,172	0,300	0,310
H ₃	0,335	0,440	0,440
H ₄	0,347	0,430	0,430
H ₅	0,031	0,420	0,420

simulação dos elétrons de caroço usados nessa dissertação. Podemos ver que, assim como o mostrado na α -glicina, o ambiente eletrônico nos carbonos da molécula é bastante diferenciado, em que o C_α apresenta uma carga líquida negativa e o carbono da carboxila, uma carga líquida positiva. Essa diferença se deve ao fato de que o carbono da carboxila está ligado a átomos de oxigênio, que apresentam a segunda maior eletronegatividade da tabela periódica, ou seja, os oxigênios estão atraindo mais fortemente os elétrons do carbono que o contrário. A “vizinhança” ao C_α é diferente, não havendo portanto elementos atraindo tão fortemente os elétrons dele, uma vez que o nitrogênio, na forma *zwitteriônica* já se apresenta superpopulado de elétrons devido ao número de ligações maior que a exigida pela sua valência. Como consequência, os elétrons de caroço dos átomos de carbono (C_{1s}), simulados levando em conta a influência de todos os elétrons, apresentam energias de ligação diferenciadas, podendo indicar a presença de dois picos em uma análise por XPS nesses cristais, assim como o obtido para α -glicina. E da mesma forma que o anterior, os elétrons de caroço dos átomos de oxigênio da β -glicina apresentam energias de ligação muito próximas, devido ao ambiente eletrônico dado pela análise de Mulliken ser semelhante. A Tabela 16 mostra todas as energias de ligação para os elétrons de caroço

Tabela 16: Energias de ligação dos níveis eletrônicos profundos nos orbitais O_{1s}, N_{1s} e C_{1s}.

	Energia de Ligação (eV)
O _{1s}	510,322
O _{2s}	510,317
N _{1s}	382,719
C _{1s}	272,645
C _{α1s}	270,859

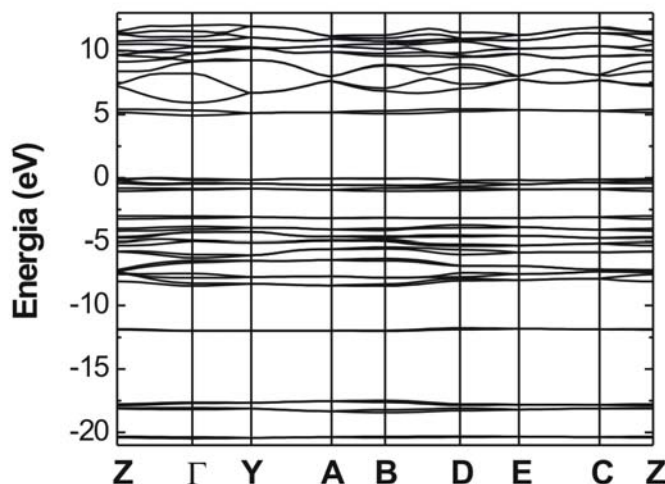


Figura 33: Estrutura de bandas do cristal de β -glicina obtidas através da simulação envolvendo todos os elétrons.

dos átomos não-hidrogênio em cristais de β -glicina. Os comportamentos da estrutura eletrônica fina para α - e β -glicina são bastante semelhantes, com diferenças inferiores a 0,002%, ocasionadas principalmente pela estrutura *zwitteriônica*, que mantém a estabilidade cristalina, mas também pelo fato da cadeia lateral da glicina ser extremamente simples, formada apenas por um átomo de hidrogênio. As energias de ligação dos elétrons de caroço da β -glicina são sistematicamente inferiores às equivalentes no polimorfo alfa, entretanto a energia de ligação para o C_{α_1s} é menor na α -glicina, que deve estar relacionado com o fato de que as ligações de hidrogênio existentes nesse polimorfo sejam ligeiramente mais fortes que no beta, justificado também pelo fato de que, em princípio, ligações de hidrogênio mais fortes devem fazer com que a população eletrônica no C_{α} seja menor (menos negativa), explicando a maior estabilidade da α -glicina em relação à β -glicina.

Tabela 17: Energias dos máximos da banda de valência em cristais de β -glicina.

	DMol ³	USP	NC
[Z, Γ]	0,000 eV	0,000 eV	0,000 eV
[A, B]	-0,043 eV	-0,055 eV	-0,045 eV
[B, D]	-0,032 eV	-0,083 eV	-0,032 eV

As ligações de hidrogênio no cristal de β -glicina estão mostradas nas Figuras 30–32. Analogamente à α -glicina, a estabilidade cristalina é conferida por essas ligações, que ocorrem entre o grupamento carboxila e amina de moléculas vizinhas, localizadas basicamente no plano *ac*. Entretanto há ligações de hidrogênio ocorrendo entre moléculas vizinhas situ-

Tabela 18: *Gaps* de energia em cristais de β -glicina.

	DMol ³	NC	USP
$\Gamma \rightarrow \Gamma$	5,00 eV	4,70 eV	4,85 eV
$[Z, \Gamma] \rightarrow \Gamma$	4,92 eV	4,62 eV	4,77 eV
$[A, B] \rightarrow \Gamma$	4,97 eV	4,66 eV	4,82 eV
$[B, D] \rightarrow \Gamma$	4,95 eV	4,65 eV	4,80 eV

adas em planos ac paralelos na direção b . Podemos ver ainda que o oxigênio O_1 contribui com duas ligações de hidrogênio, que pelas distâncias interatômicas mostradas na Tabela 14 devem gerar momentos de dipolo elétrico semelhantes e cuja projeção na direção a da resultante, é mais intensa de que em qualquer outra direção. Os *gaps* tanto direto quanto indireto podem ser obtidos a partir de experimentos de absorção (conforme mostrado para α -glicina), entretanto para essa finalidade foi calculada a estrutura de bandas (Figura 33). Para a determinação dessas estruturas de bandas, foram percorridos os principais pontos de alta simetria da rede recíproca, a saber: $Z(0, 0, 1/2) \rightarrow \Gamma(0, 0, 0) \rightarrow Y(0, 1/2, 0) \rightarrow A(-1/2, 1/2, 0) \rightarrow B(-1/2, 0, 0) \rightarrow D(-1/2, 0, 1/2) \rightarrow E(-1/2, 1/2, 1/2) \rightarrow C(0, 1/2, 1/2) \rightarrow Z(0, 0, 1/2)$. A Figura 33 mostra que a estrutura de bandas é bastante plana, típico de cristal molecular.

As Figuras 34 e 35 mostram as estruturas de bandas obtidas através de pseudopotenciais de norma conservada e ultramacios comparados com os obtidos com simulações que levam em conta todos os elétrons da estrutura. Todos os métodos apresentam um perfil muito semelhante, principalmente na banda de valência, entretanto as bandas de energia da banda de condução se apresentam deslocadas, de forma que o *gap* varia de acordo com o método empregado. De qualquer forma podemos ver três máximos na banda de valência (Tabela 17), que se encontram entre pontos de alta simetria (a notação $[Z, \Gamma]$ indica que o máximo se encontra no intervalo entre os pontos Z e Γ) e um mínimo na banda de condução no ponto Γ (4,92 eV para DMol³, 4,62 eV para NC e 4,77 eV para USP), de forma que temos três *gaps* indiretos e um direto. A Tabela 18 mostra os *gaps* de energia obtidos pela estrutura de bandas. É sabido que a teoria do funcional da densidade subestima os *gaps* de energia e, portanto, é de se esperar que em um experimento que possa determiná-lo (*e. g.* absorção) mostre um valor maior que os apresentados na Tabela 18.

A absorção ótica calculada com pseudopotenciais de norma conservada tomada na região de 4 eV a 12 eV está mostrada na Figura 36. Podemos ver que na região próxima ao *gap*, a absorção em um policristal é fortemente determinada pela direção de polarização 100, enquanto que próximo a 8 eV, a direção de polarização que governa a absorção em policristal é 001. Não é de causar estranheza o fato da absorção na região próxima ao *gap* ser determinada pela direção que apresenta o maior acoplamento devido a transferência

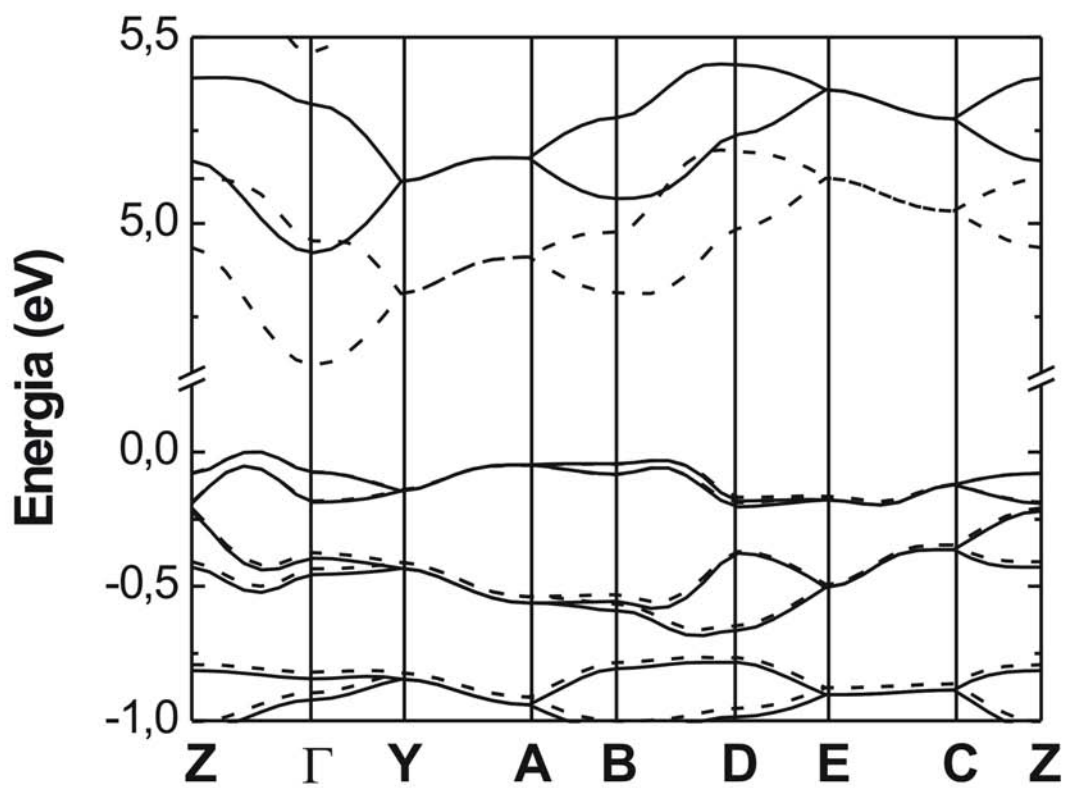


Figura 34: Comparação da região de *gap* nas estrutura de bandas do cristal de β -glicina obtidas através da inclusão de todos os elétrons (linha sólida) e usando pseudopotenciais de norma conservada (linha tracejada).

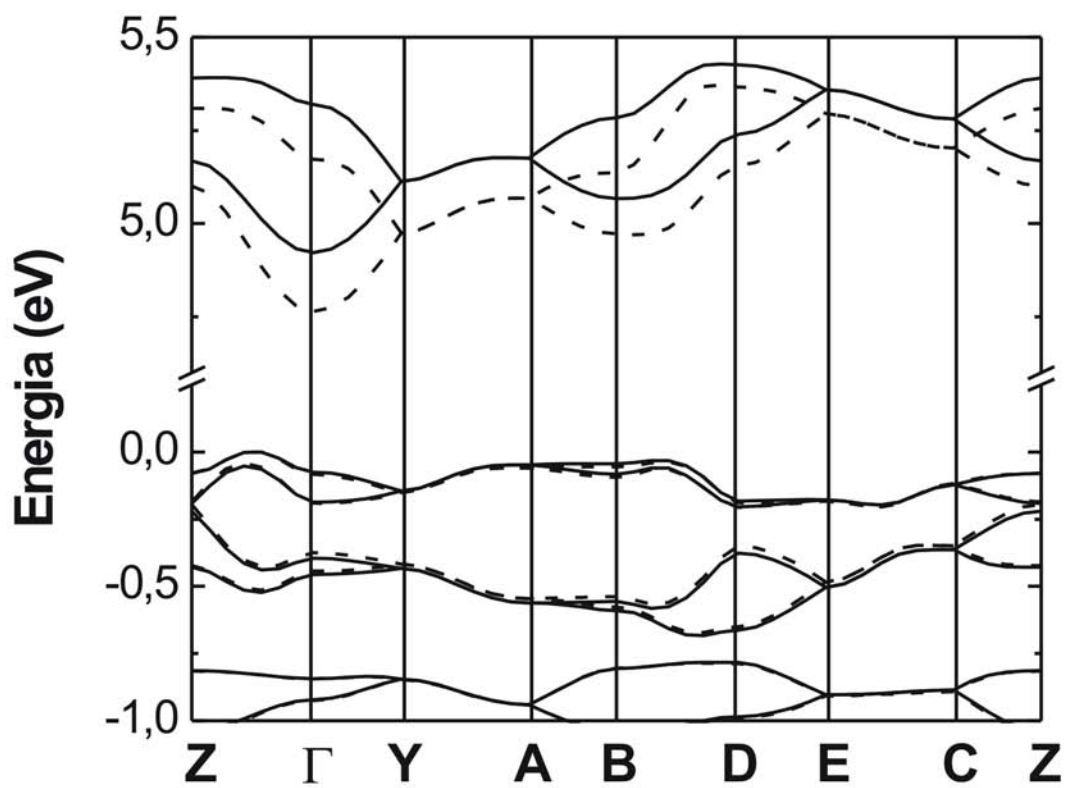


Figura 35: Comparação da região de *gap* nas estrutura de bandas do cristal de β -glicina obtidas através da inclusão de todos os elétrons (linha sólida) e usando pseudopotenciais de ultramacios (linha tracejada).

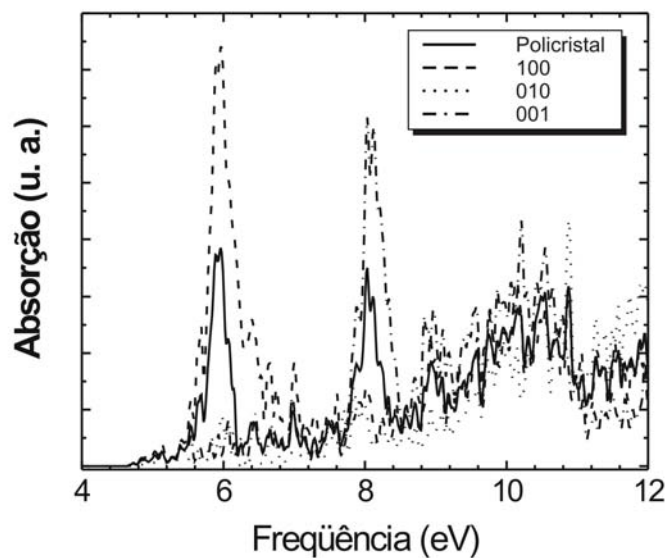


Figura 36: Absorbância na região do *gap* calculado usando pseudopotenciais de norma conservada para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (pontilhada) e 001 (ponto tracejada), além de policristal (contínua).

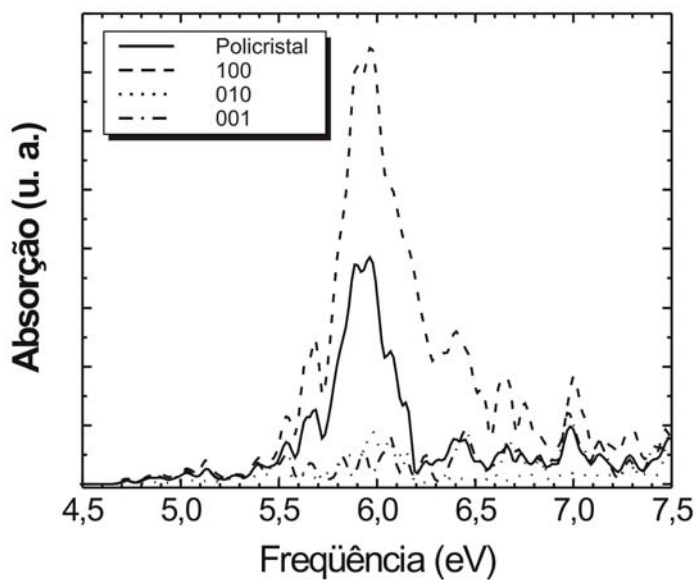


Figura 37: Absorbância na região do *gap* calculado usando pseudopotenciais de norma conservada para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (pontilhada) e 001 (ponto tracejada), além de policristal (contínua).

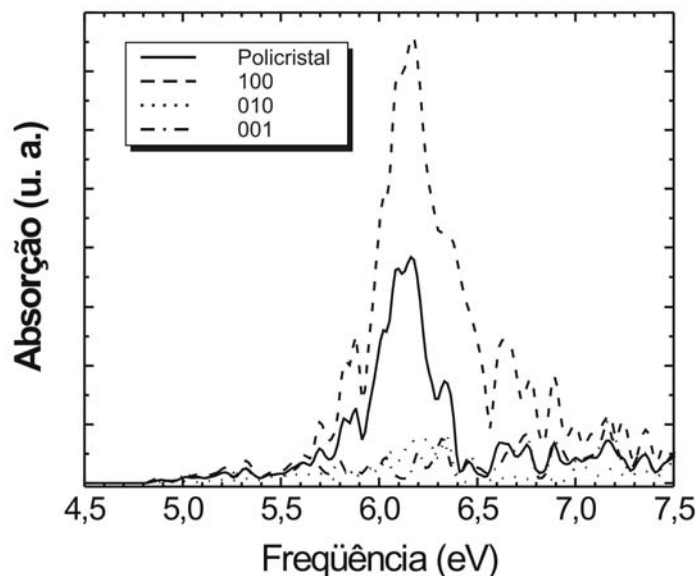


Figura 38: Absorbância na região do *gap* calculado usando pseudopotenciais ultramacios para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (pontilhada) e 001 (ponto tracejada), além de policristal (contínua).

de cargas entre os grupamentos carregados negativamente (carboxila) e positivamente (amina). De forma semelhante ao que ocorreu com a α -glicina, o acoplamento de dipolo devido aos grupamentos carboxila e amina na direção 010 é destruído por causa da simetria de rotação que a β -glicina apresenta, como está mostrado nas Figuras 30–32. Para energias inferiores a 5,4 eV, as transições ocorrem de forma direta entre O_{2p} da banda de valência e O_{2p} da banda de condução, conforme mostrado nas densidades de estados eletrônicos (Figuras 39–41). Essas transições são proibidas por regras de seleção da mecânica quântica e por isso não apresentam picos de absorção.

As absorções óticas próximas ao *gap* estão mostradas nas Figuras 37 e 38, que foram calculadas respectivamente através da abordagem dos elétrons de caroço por pseudopotenciais de norma conservada (NC) e ultramacios (USP). Devido aos dipolos elétricos formados pelas ligações de hidrogênio, conforme discutido anteriormente, a absorção ótica na direção 100 (relacionada com a direção a) deve ser mais intensa, uma vez que luz na direção 100 polariza um forte dipolo elétrico. De fato, na região próxima ao *gap* a absorção do policristal é governada pela absorção na direção 100. De maneira geral podemos ver que qualitativamente, os dois métodos utilizados para o estudo das propriedades óticas são bastante concordantes, entretanto os picos obtidos por pseudopotenciais ultramacios se mostram deslocados de 0,21 eV na direção de maiores energias em comparação com os

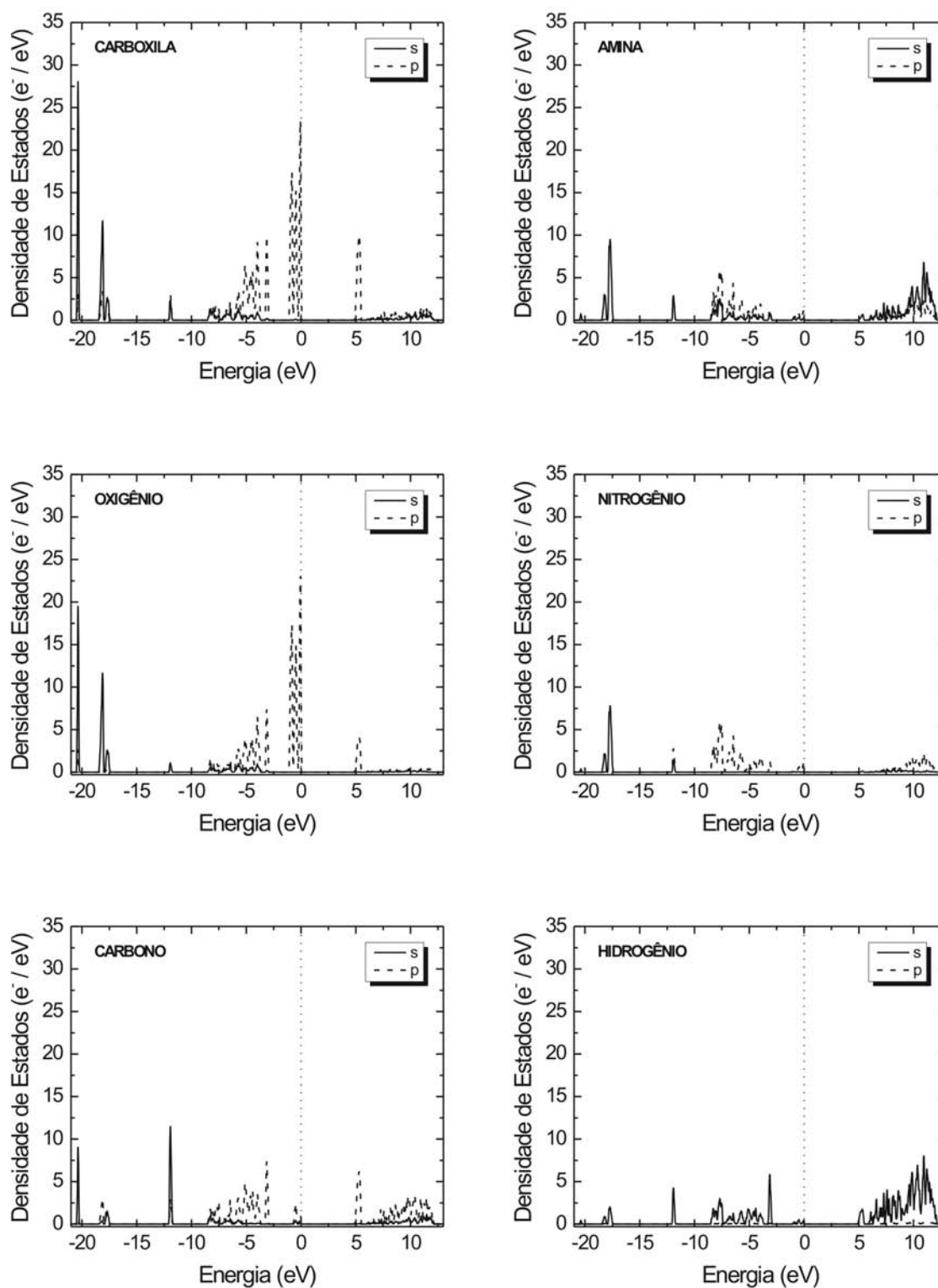


Figura 39: Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da β -glicina obtidos usando a abordagem que considera todos os elétrons (DMol³).

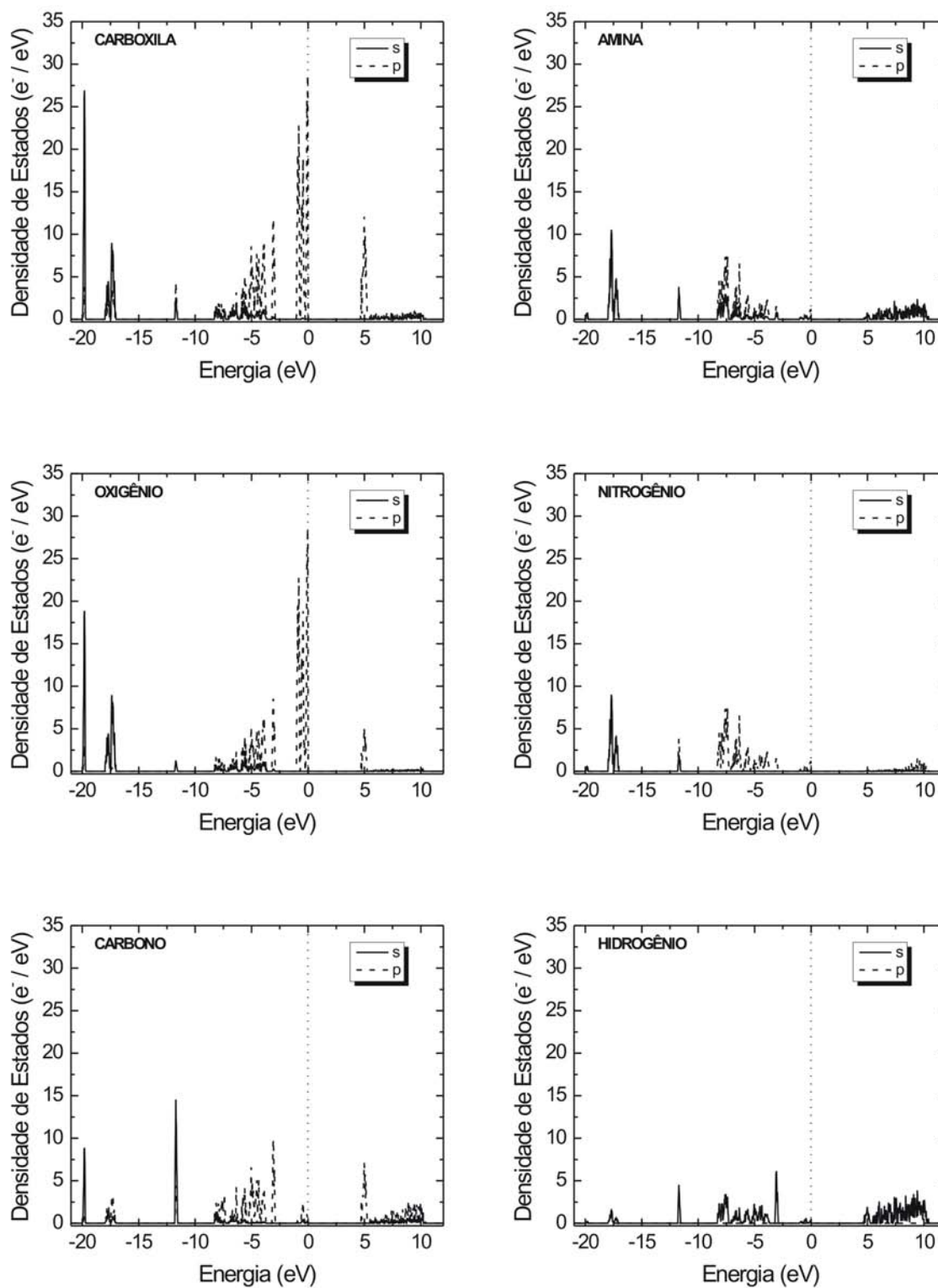


Figura 40: Densidade de estados eletrônicos para cada elemento e grupamentos funcionais da β -glicina obtidos usando pseudopotenciais de norma conservada.

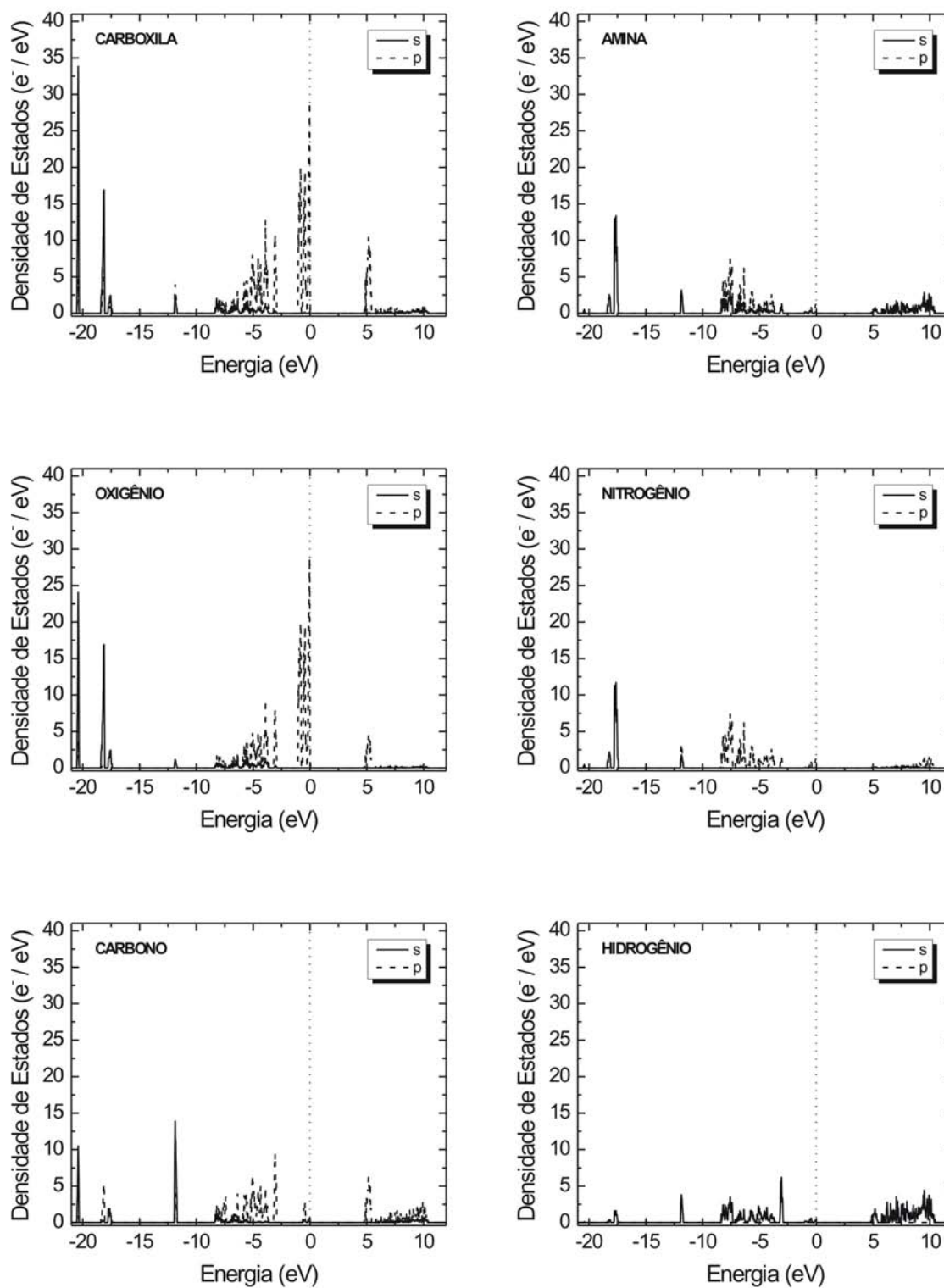


Figura 41: Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da β -glicina obtidos usando pseudopotenciais ultramacios.

resultados obtidos por pseudopotenciais de norma conservada. De forma a facilitar a discussão, sem que haja perda de informação, serão detalhados apenas os valores referentes aos resultados obtidos por pseudopotenciais de norma conservada.

Os primeiros picos de absorção surgem em valores próximos a 5,2 eV e estão relacionados com transições H_{1s} do grupamento amina para O_{2p} , do grupamento carboxila, como mostrado nos espectros calculados para as densidades parciais de estado, tomadas para todos os tipos de átomos e de grupamentos funcionais. Devido à baixa população de H_{1s} próximo ao máximo da banda de valência, os picos relativos a essa transição são pouco intensos. Além disso, esses picos estão relacionados com transições indiretas. Após esses picos, surgem os primeiros picos intensos no espectro de absorção. Na região entre 5,4 eV e 6,4 eV existem sete picos dominados por transições polarizadas na direção 100, que devem estar relacionados com transições do tipo $O_{2p} \rightarrow H_{1s}$. O primeiro pico, em 5,41 eV, está relacionado com transição direta $\Gamma \rightarrow \Gamma$ a partir de níveis profundos. Os dois picos em 5,54 e 5,69 devem estar relacionados com transições indiretas entre níveis rasos da banda de valência e níveis mais externos da banda de condução, entre os pontos $Z \rightarrow \Gamma$, para os dois casos. A região mais intensa apresenta dois picos em 5,90 eV e 5,97 eV, que estão relacionados com transições entre níveis razoavelmente rasos da banda de valência para níveis mais externos da banda de condução em $[Y, A] \rightarrow \Gamma$ e $[Z, \Gamma] \rightarrow \Gamma$, respectivamente. Nessa região, existe ainda mais dois picos em 6,33 eV e 6,40 eV, devidos a transições $Z \rightarrow Y$ e $C \rightarrow [B, D]$, respectivamente. O restante dos picos, são relacionados com transições entre níveis mais profundos da banda de valência e níveis mais externos da banda de condução.

4 γ -Glicina

4.1 Análise Estrutural

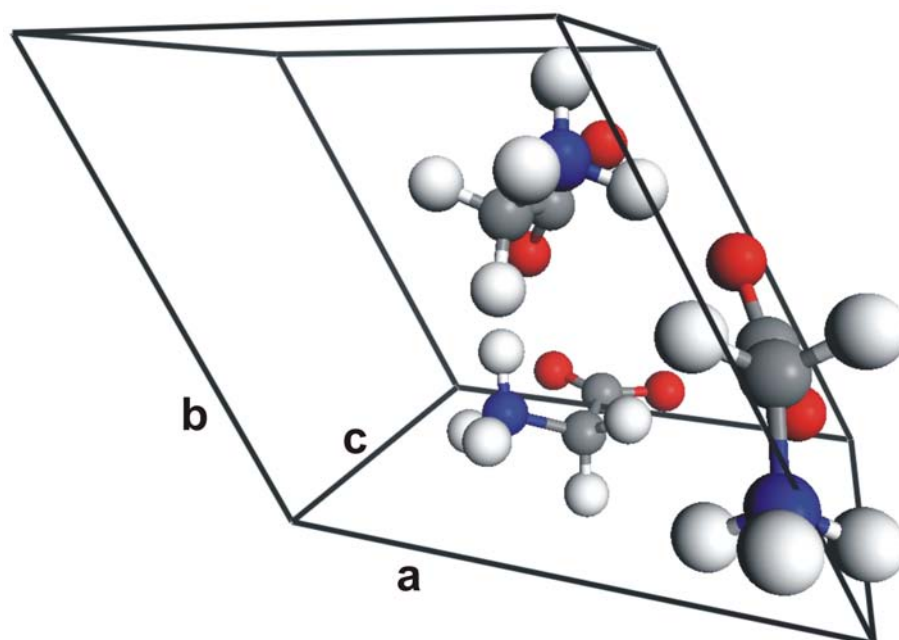


Figura 42: Representação esquemática em perspectiva da célula unitária do cristal de γ -glicina.

Estudos sobre polimorfismo cristalino de moléculas é um tópico de grande interesse, como exemplo de maior apelo científico e social podemos lembrar o fato de que a existência de polimorfos em fármacos pode fazer com que a potência farmacológica do mesmo seja bastante reduzida, sendo portanto necessário o controle total sobre a caracterização do material estudado, incluindo a determinação do polimorfo mais estável. O polimorfo cristalino γ -glicina apresenta três moléculas por célula unitária, como mostrado na Figura 42, sendo o polimorfo mais estável dentre os estudados nessa dissertação segundo Perlovich *et. al.* [24] e a partir das coordenadas atômicas obtidas nesse trabalho, foi extraída a estrutura inicial para os cálculos de primeiros princípios das propriedades eletrônicas da

Tabela 19: Comparação entre parâmetros de rede da γ -glicina calculados com GGA/PBE para diferentes energias de corte e obtidos experimentalmente.

	GGA₄₇₀	GGA₅₆₀	Exp.*
a/Å	7,25368	7,25465	7,035(2)
b/Å	7,25368	7,25465	7,035(2)
c/Å	5,51516	5,51721	5,481(2)
α	90°	90°	90°
β	90°	90°	90°
γ	120°	120°	120°
Z	3	3	3
V/Å ³	251,307	251,468	234,91(13)
G. E.	P3 ₂	P3 ₂	P3 ₂
Energia (eV)	-4606,92071	-4607,14497	—

*Ref. [24]

 γ -glicina.

Primeiramente, a geometria foi otimizada para um mínimo de energia através da DFT com a aproximação do gradiente generalizado fazendo uso do funcional desenvolvido por Perdew, Burke e Ernzerhof (PBE) implementado no programa CASTEP [49]. Para a γ -glicina foi possível fazer a otimização de geometria diretamente, sem que fossem necessários passos intermediários com inclusão de vínculos para as coordenadas atômicas nem para os parâmetros de rede, mantendo-se todos os parâmetros livres usando o esquema de otimização Broyden–Fletcher–Goldfarb–Shanno (BFGS). O CASTEP utiliza a expansão em pseudopotenciais com o formalismo desenvolvido por Vanderbilt [50] para o tratamento dos elétrons de caroço. Durante a convergência da estrutura foram utilizados pseudopotenciais ultramacios, que exigem uma energia de corte menor, o que resulta no aceleração na realização dos passos autoconsistentes. A energia de corte para o conjunto de base foi estabelecido primeiramente em 470 eV e, em seguida, em 560 eV, sendo que a estrutura inicial foi a resultante do primeiro cálculo. Integração na zona de Brillouin foi realizada em uma rede de k -pontos simetrizada de Monkhorst-Pack [52] com divisão $4 \times 4 \times 6$ para manter um espaçamento de $0,04 \text{ \AA}^{-1}$.

A estrutura eletrônica é calculada minimizando a energia total do sistema usando um algoritmo preconditionado de gradientes conjugados. O uso de ondas planas evita o erro

Tabela 20: Energias relativas dos polimorfos da glicina estudados nessa dissertação.

Polimorfo	PBE (Ecut₅₆₀)
α	0,000 eV/molécula
β	$1,950 \times 10^{-4}$ eV/molécula
γ	0,0129 eV/molécula

Tabela 21: Posições atômicas no cristal de γ -glicina.

	GGA₅₆₀			Exp.*		
	x/a	y/b	z/c	x/a	y/b	z/c
N	0,80035	0,75387	0,62219	0,75431(19)	0,78341(19)	0,6222(2)
O ₁	0,78698	0,75946	0,12664	0,76732(18)	0,77862(18)	0,1328(2)
O ₂	0,46241	0,46244	0,11341	0,4570(2)	0,4565(2)	0,1004(2)
C	0,61750	0,61219	0,22512	0,6070(2)	0,6080(2)	0,2208(2)
C _{α}	0,59405	0,61979	0,499434	0,6014(3)	0,5769(2)	0,4967(3)
H ₁	0,51985	0,45965	0,47779	0,665(7)	0,478(7)	0,547(8)
H ₂	0,49040	0,68630	0,53853	0,455(6)	0,522(7)	0,570(10)
H ₃	0,90431	0,69632	0,57484	0,886(4)	0,823(4)	0,576(5)
H ₄	0,86582	0,91250	0,56774	0,724(4)	0,889(4)	0,589(6)
H ₅	0,78341	0,74686	0,81522	0,708(7)	0,744(6)	0,806(8)

* Ref. [24]

Tabela 22: Comparação entre os comprimentos de ligação em cristais de γ -glicina determinados teoricamente com a maior energia de corte e experimentalmente.

LIGAÇÃO	GGA	Exp.*
C _{α} -H1	1,09588	1,03517
C _{α} -H2	1,09889	0,986682
C _{α} -C	1,52704	1,52564
C _{α} -N	1,47651	1,47586
C-O1	1,27860	1,26161
C-O2	1,26636	1,24911
N-H3	1,06127	0,861367
N-H4	1,04576	0,888124
N-H5	1,07032	1,05240
O1 · · · H'3	2,70465	2,38232
O1 · · · H'4	2,00458	2,34469
O1 · · · H'5	1,72011	1,82762
O2 · · · H'3	1,76277	2,58815
O2 · · · H'4	2,99287	2,04360
O2 · · · H'5	2,75356	2,49821
C-C _{α} -N	112,526	111,528

* Ref. [24]

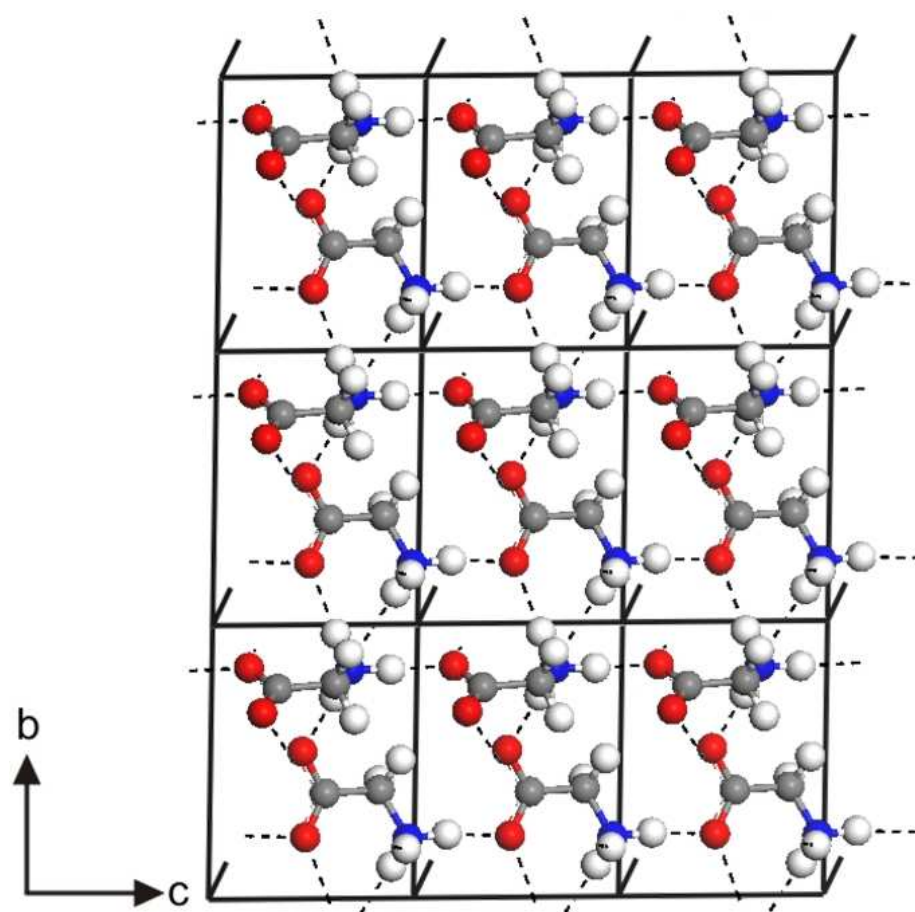


Figura 43: Vista do cristal na direção do eixo a . As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.

gerado pela superposição de conjuntos de bases, apresentado pelos conjuntos de bases centradas nos átomos. As estruturas foram consideradas otimizadas quando a energia total foi convergida em 5×10^{-6} eV/átomo, enquanto que os valores para as máximas força, pressão e deslocamento foram convergidas em 0,001 eV/Å, 0,02 GPa e 5×10^{-6} Å. Devido ao algoritmo “*Smart*” utilizado pelo programa a fim de acelerar os cálculos, um valor de pressão deve ser indicado, e no caso foi utilizado o valor sugerido segundo o conjunto de critérios de convergência denominado “*Ultra-fine*” pelo próprio programa para cristais orgânicos, a dizer 25 GPa. Para os cálculo auto-consistentes de minimização da densidade eletrônica para a configuração nuclear dada pela estrutura no passo anterior de otimização de geometria, foi estabelecida a convergência em 5×10^{-7} . A máxima energia de corte utilizada para os cristais de γ -glicina foi a mesma dada pela α -glicina, ou seja, 560 eV.

A Tabela 19 mostra a evolução dos parâmetros de rede e da energia para os cálculos com energias de corte em 470 eV e 560 eV, comparando-as com os valores experimentais obtidos por Perlovich *et. al.* [24]. O uso de critérios de convergência rigorosos é bastante

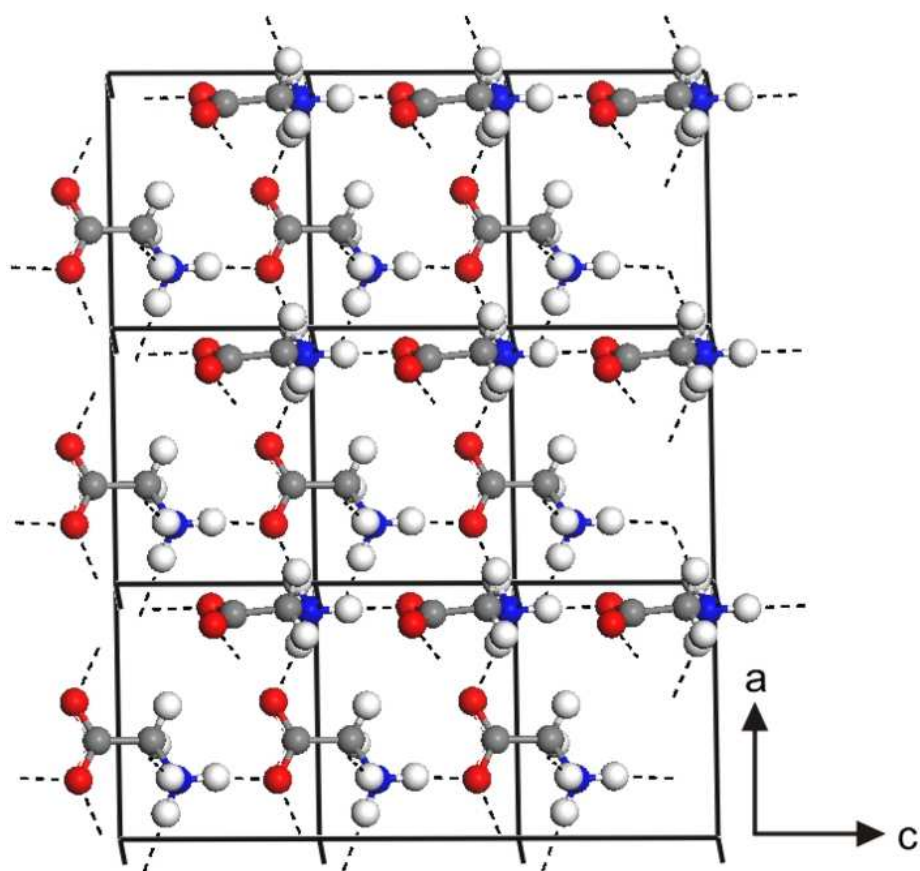


Figura 44: Vista do cristal na direção do eixo *b*. As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.

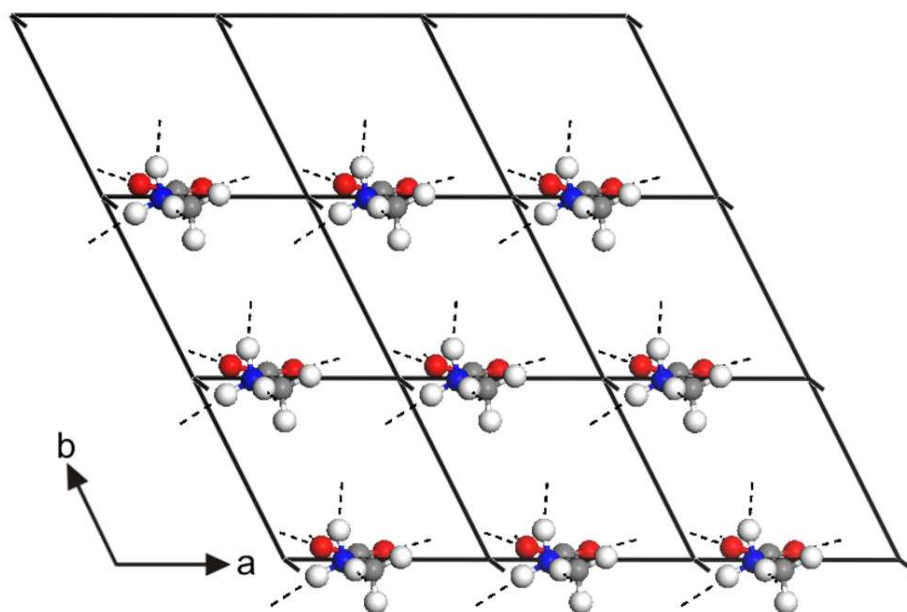


Figura 45: Vista do cristal na direção do eixo *c*. As linhas tracejadas em azul indicam as ligações de hidrogênio.

recompensador, uma vez que pequenas mudanças estruturais levam a diferentes energia, fazendo com que cristais moleculares sejam bastante sensíveis a essas mudanças, e o uso da energia de corte em 560 eV leva a estrutura mais coerente para comparação das propriedades com experimento. Embora energias de corte ainda maiores sejam preferíveis, o custo computacional aumenta significativamente com esse parâmetro. Comparando as energias obtidas para os cristais de α -, β - e γ glicina, vemos que ao contrário do obtido experimentalmente, em que a ordem de estabilidade é dada na seqüência $\gamma < \alpha < \beta$, sendo a γ a estrutura mais estável, temos a ordem de estabilidade dada pelo experimento como $\alpha < \beta < \gamma$, sendo que os polimorfos α e β apresentado praticamente a mesma energia por molécula. Essa inversão na ordem de estabilidade nas estruturas obtidas por cálculos baseados na teoria do funcional da densidade já foi reportado anteriormente por Chisholm *et. al.* [44], utilizando critérios de convergência menos rígidos que o nosso. A diferença entre os resultados aqui apresentados e os mostrados por Chisholm, está no fato de que no caso deles a β -glicina apresenta energia próxima à γ -glicina, enquanto que os nossos resultados mostra o oposto, em que a β -glicina apresenta praticamente a mesma energia por molécula do polimorfo *alpha* (Tabela 20). Essa aparente incongruência deve estar relacionada com a instabilidade do polimorfo β , que pode se transformar em α ou γ e, para isso, é necessário que a energia dessa estrutura seja próxima a uma das duas a qual ela poderá se transformar.

A Tabela 21 mostra as coordenadas atômicas obtidas para γ -glicina otimizada com a maior energia de corte, enquanto que a Tabela 22 mostra os comprimentos de ligação para γ -glicina otimizada com a maior energia de corte comparando com os resultados experimentais obtidos por Perlovich *et. al.*. O grupo de simetria do cristal de γ -glicina apresenta dois centros de inversão, fazendo com que o empacotamento molecular na célula unitária apresente uma descrição mais complexa, entre as interações, uma vez que a orientação das terminações não formam “linhas”, como pode ser visualizado na Figura 42. O comportamento das ligações, entretanto, segue o mesmo padrão que o descrito pela α - e β -glicina, em que os comprimentos de ligação calculadas são sistematicamente maior que os medidos, enquanto que as distâncias entre as terminações responsáveis pela formação de pontes de hidrogênio apresentam um comportamento mais complexo que os anteriores. Não há para a γ -glicina um comportamento único em relação às distâncias interatômicas entre moléculas vizinhas, ora apresentando distâncias menores que as medidas ora com distâncias maiores. O aumento no ângulo C-C $_{\alpha}$ -N, juntamente com o aumento do comprimento das ligações, são os principais fatores que levam a essas interações mais complexas, do ponto de vista descritivo.

Diferentemente dos outros dois polimorfos estudados, as pontes de hidrogênio que estabilizam o cristal não está predominantemente fixa em alguma direção particular. As Figuras 43–45 mostram um conjunto de quatro células unitárias vizinhas para cada uma das direções ao longo dos eixos principais do cristal para ilustrar a natureza das interações. Apesar disso, é possível perceber que as ligações de hidrogênio criam um pequeno momento de dipolo resultante na direção 010, ao longo do eixo *b*.

4.2 Propriedades Eletrônicas

Seguindo a mesma idéia apresentada para a β -glicina, podemos ver na Tabela 23 a análise populacional de Mulliken mostra que a carga líquida presente no carbono da carboxila no cristal de γ -glicina é mais positiva que nos outros dois polimorfos. Isso pode significar que as ligações de hidrogênio para a geometria computada são mais fracas, uma vez que a alta eletronegatividade do oxigênio tenderá a atrair mais elétrons do carbono já que não há uma interação mais forte com moléculas vizinhas. Dessa forma, em princípio, teríamos que a estrutura da γ -glicina deve apresentar uma estabilidade menor que a dos outros polimorfos, pois as ligações de hidrogênio são as responsáveis pela estabilidade cristalina. O ambiente eletrônico, no que se refere à distribuição de cargas na molécula, é parecida com os outros polimorfos e leva a uma energia de ligação dos elétrons de caroço com o mesmo perfil: valores próximos para os átomos de oxigênio e diferentes, para os carbonos (Tabela 24). Essa análise, através do ambiente eletrônico é compatível com a descrição feita na seção anterior mostrando a estabilidade cristalina através do valor da energia por molécula na célula unitária.

Tabela 23: Análise populacional de Mulliken para o cristal de γ -glicina.

	Mulliken		
	DMol ³	NC	USP
N	-0,470	-0,760	-0,770
O ₁	-0,658	-0,650	-0,660
O ₂	-0,599	-0,640	-0,660
C	0,557	0,580	0,640
C _{α}	-0,184	-0,420	-0,450
H ₁	0,164	0,300	0,310
H ₂	0,185	0,310	0,320
H ₃	0,339	0,430	0,430
H ₄	0,324	0,420	0,420
H ₅	0,016	0,430	0,430

Para determinação do *gap* de energia, foi calculada a estrutura de bandas (Figura 46) e

Tabela 24: Energia de ligação para os elétrons de caroço no cristal de γ -glicina.

Energia de Ligação (eV)	
O_{1s}	510,511
O_{2s}	510,279
N_{1s}	382,943
C_{1s}	272,686
C_{α1s}	270,898

a densidade de estados (Figuras 49–51). Os pontos de alta simetria da rede recíproca considerados nos cálculos formaram o caminho: $\Gamma(0, 0, 0) \rightarrow A(0, 0, 1/2) \rightarrow H(-1/3, 2/3, 1/2) \rightarrow K(-1/3, 2/3, 0) \rightarrow \Gamma(0, 0, 0) \rightarrow M(0, 1/2, 0) \rightarrow L(0, 1/2, 1/2) \rightarrow H(-1/3, 2/3, 1/2) \rightarrow \Gamma(0, 0, 0)$. Esses cálculos foram computados através dos três métodos de tratamento dos elétrons de caroço com o caminho dos pontos de alta simetria da rede recíproca sendo os mesmos. A fim de facilitar a interpretação, foi tomada a estrutura de bandas calculada considerando todos os elétrons de caroço (DMol³) como padrão para comparação, uma vez que é esperado que o valor dado por ele seja mais próximo do experimento que os calculados via pseudopotenciais. As Figuras 47 e 48 mostram respectivamente as estruturas de bandas na região próxima do *gap* calculada com pseudopotenciais de norma conservada comparada com DMol³ e com pseudopotenciais ultramacios comparado com DMol³.

Em uma visão geral (Figura 46), a estrutura de bandas para γ -glicina é bastante plana, típica de materiais isolantes e cristais orgânicos, entretanto olhando as bandas na região próxima ao *gap* (Figuras 47 e 48) vemos que a banda de condução apresenta três mínimos bastante parabólicos, mas situados de maneira pouco usual, uma vez que devido à alta simetria o ponto Γ costuma apresentar um mínimo de energia e, em geral, ele corresponde ao mínimo da banda de condução. Para cristais de γ -glicina, o ponto Γ apresenta um máximo de energia e, portanto, não deve participar de transições envolvendo a banda de valência e a banda de condução. Os mínimos da banda de condução estão localizados nos pontos A , K e M e basicamente cinco máximos da banda de valência podem ser visualizados de maneira a contribuir para a determinação do *gap*. Os valores dos máximos da banda de valência e dos mínimos da banda de condução calculados pelos três métodos estão mostrados na Tabela 25, resultando em um total de 15 *gaps* indiretos variando de 4,72 eV relativo às transições $[\Gamma, A] \rightarrow K$ e $[\Gamma, A] \rightarrow M$ até 4,82 eV relativo à transição $[H, K] \rightarrow A$ com esses valores dados pelo resultado obtido com pseudopotenciais de norma conservada. É possível, ainda computar transições diretas $K \rightarrow K$ e $M \rightarrow M$ com energia de 4,80 eV. Seguindo o mesmo padrão obtido para os cristais de α - e β -glicina, nota-se que as bandas de valência próximas ao *gap* são praticamente idênticas, sendo independentes da forma como os elétrons de caroço são tratados, e as bandas de

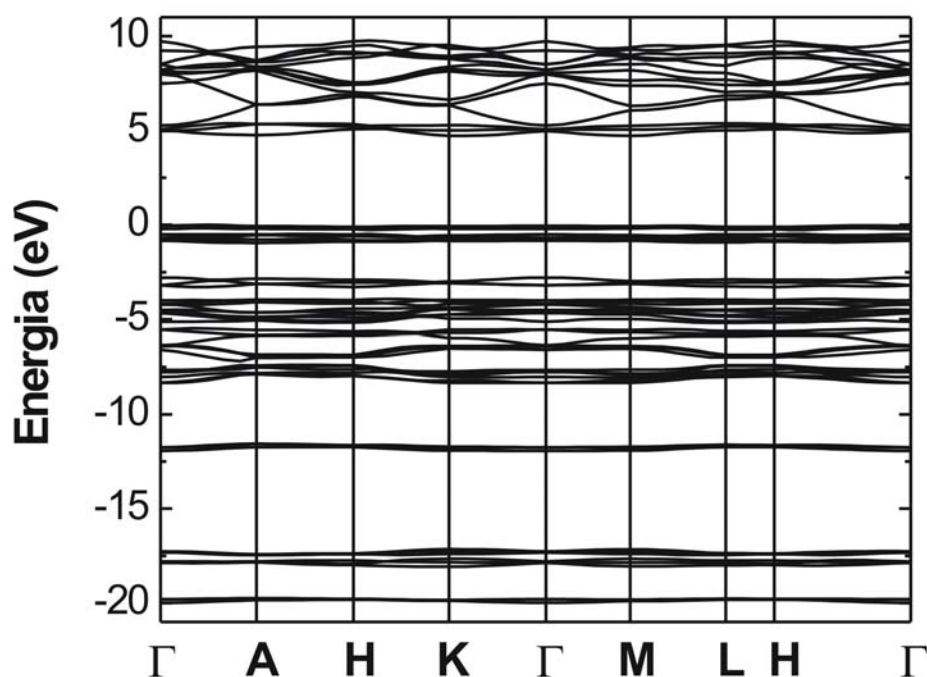


Figura 46: Estrutura de bandas do cristal de γ -glicina obtidas através de pseudopotenciais de norma conservada.

condução apresentam grandes discrepâncias, sendo bastante sensíveis à escolha do método do cálculo. Isso se deve ao fato de que a teoria do funcional da densidade é baseado no princípio variacional e, portanto, deve apresentar grande concordância para o estado fundamental e gerar resultados discrepantes para estados excitados.

Coforme foi discutido anteriormente, o cristal de γ -glicina não apresenta uma direção preferencial para que as ligações de hidrogênio ocorram. Em consequência disso, a absorção que está relacionada com o acoplamento de estados eletrônicos através de um termo de interação de dipolo elétrico, deve apresentar maior homogeneidade em relação às direções de polarização do cristal, sem que existam picos muito mais pronunciados em uma determinada direção em detrimento de outra. Com efeito, as Figuras 52 e 53 mostram respectivamente as absorbâncias calculadas usando pseudopotenciais de norma conservada e ultramacios na região próxima ao *gap*, que tem relação com a região em que começa a haver transições entre bandas e, portanto surgem os primeiros picos de absorção. O espectro nas direções de polarização 100 e 010 são idênticos, de forma que os traços são indistinguíveis e, portanto, foi utilizada o mesmo estilo de linha na legenda, de forma a enfatizar esse fato. Na região próxima ao *gap*, o espectro de absorção da

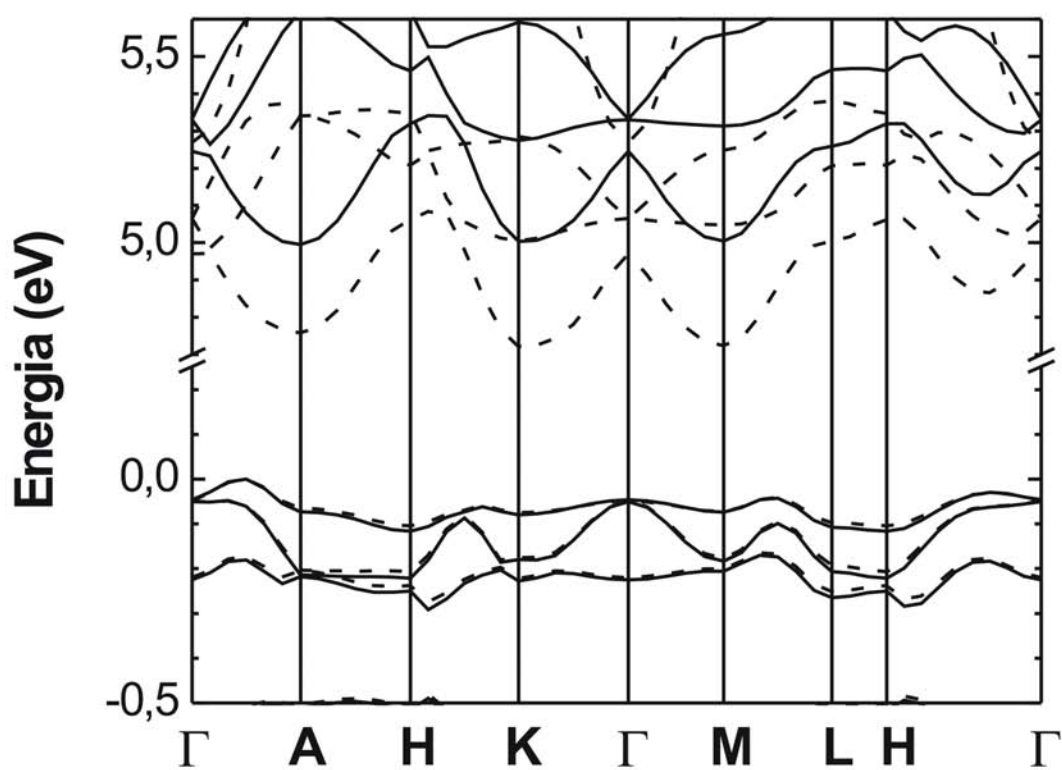


Figura 47: Comparação da região de *gap* nas estrutura de bandas do cristal de γ -glicina obtidas através da inclusão de todos os elétrons (linha sólida) e usando pseudopotenciais de norma conservada (linha tracejada).

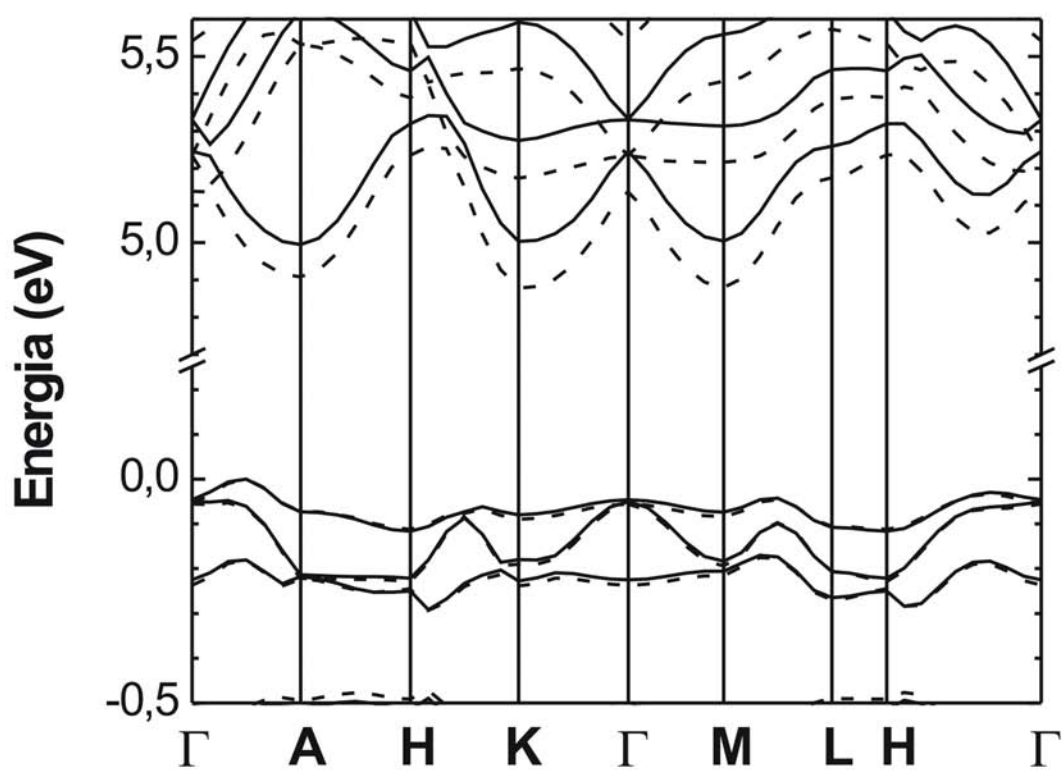


Figura 48: Comparação da região de *gap* nas estrutura de bandas do cristal de γ -glicina obtidas através da inclusão de todos os elétrons (linha sólida) e usando pseudopotenciais de ultramacios (linha tracejada).

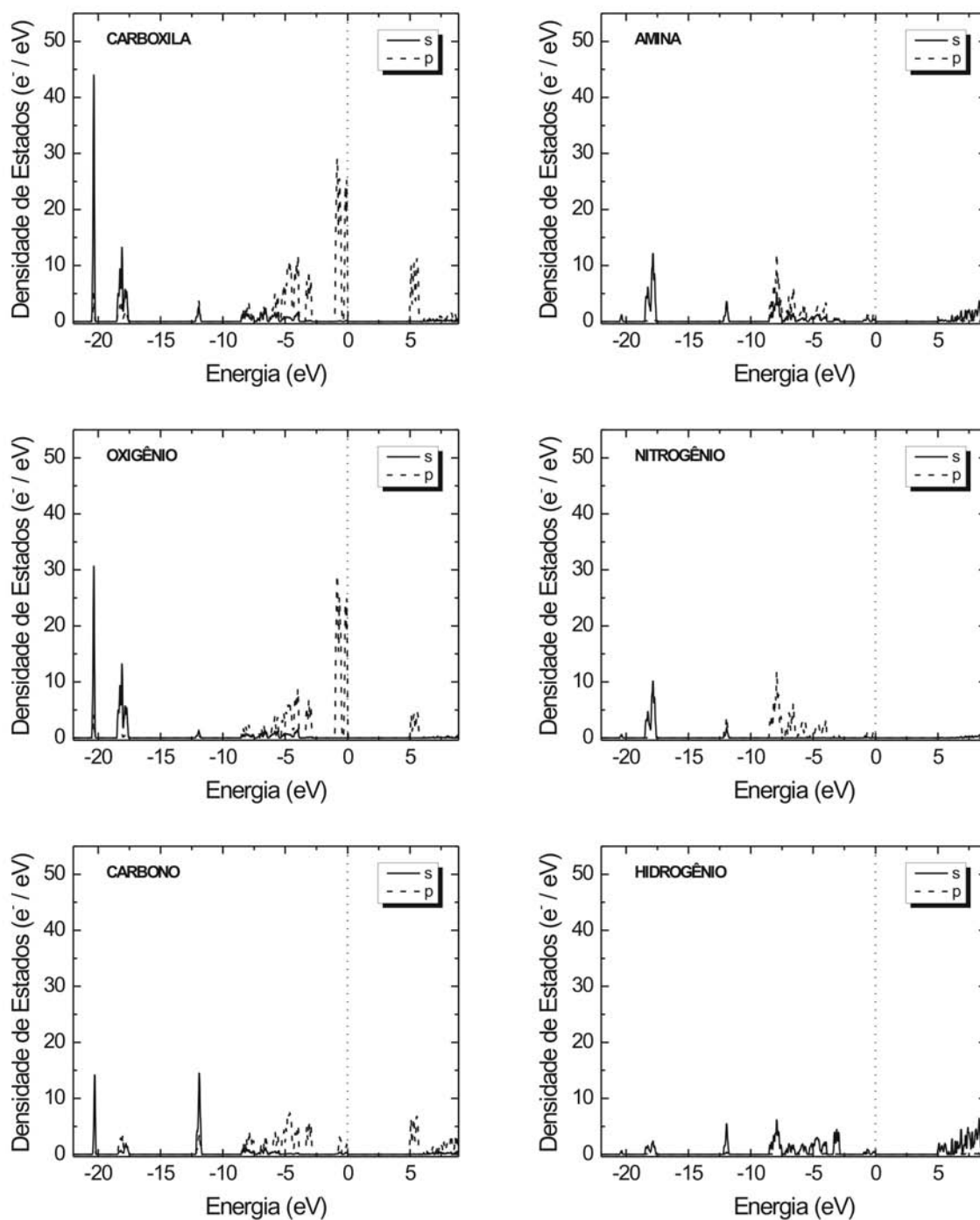


Figura 49: Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da γ -glicina obtidos pelo DMol³.

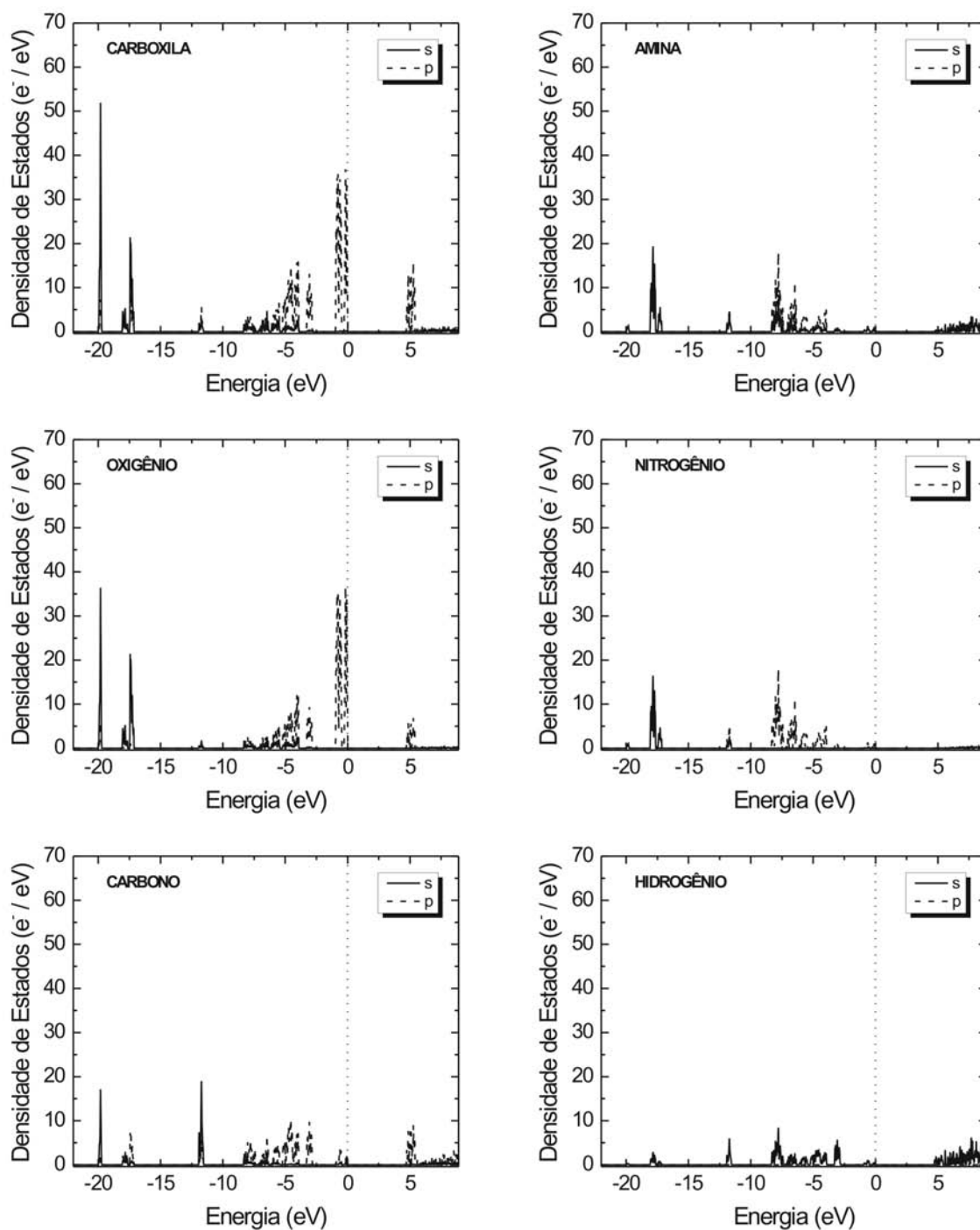


Figura 50: Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da γ -glicina obtidos usando pseudopotenciais de norma conservada.

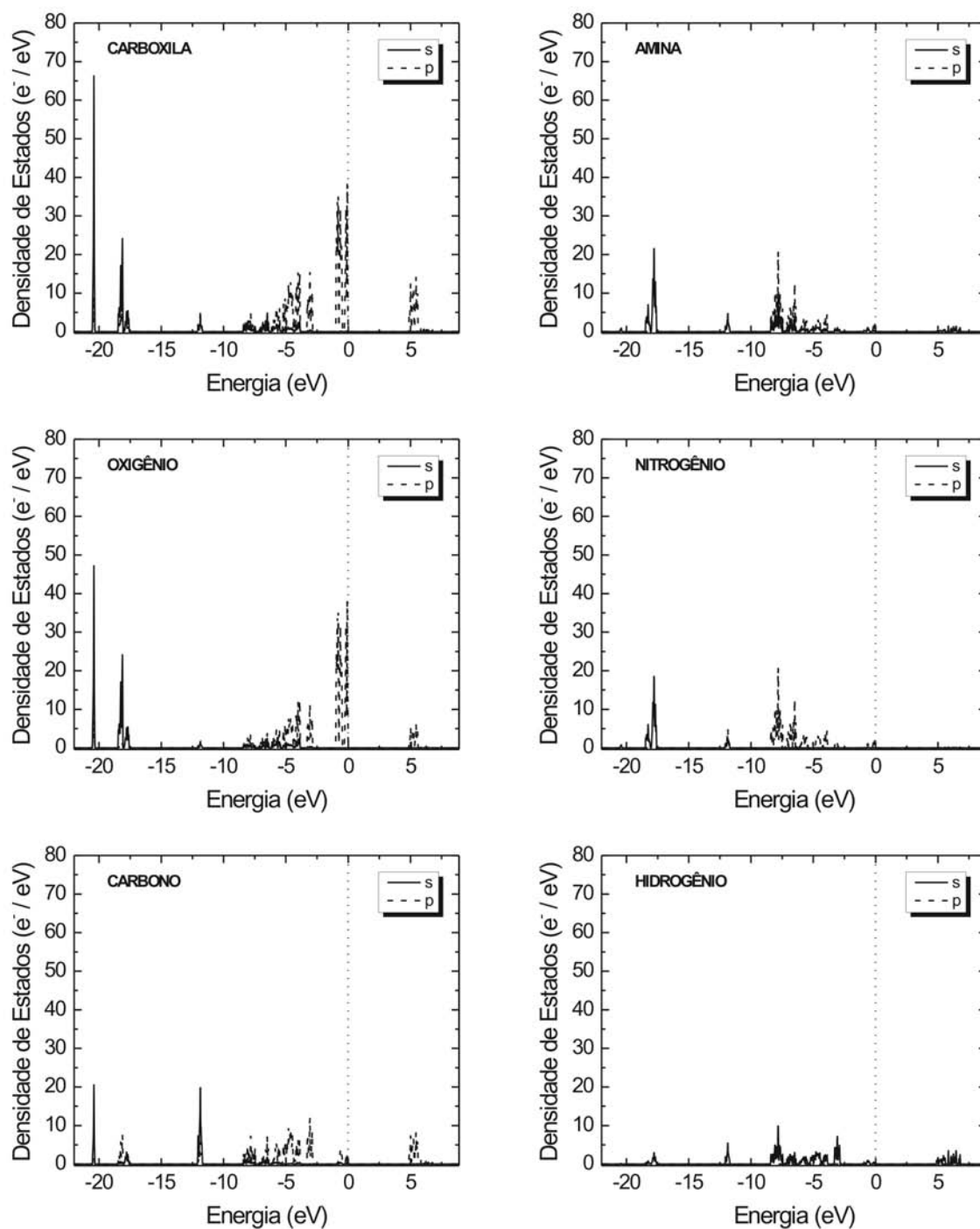


Figura 51: Densidade de estados eletrônicos para cada elemento grupamentos funcionais da γ -glicina obtidos usando pseudopotenciais ultra macios.

Tabela 25: Máximos da banda de valência e mínimos da banda de condução para cristais de γ -glicina.

	DMol ³	NC	USP
Máx. Valência			
[Γ ,A]	0,00 eV	0,00 eV	0,00 eV
[H,K]	-0,06 eV	-0,06 eV	-0,07 eV
Γ	-0,05 eV	-0,05 eV	-0,06 eV
[M,L]	-0,04 eV	-0,04 eV	-0,05 eV
[H, Γ]	-0,03 eV	-0,03 eV	-0,03 eV
Min. Condução			
A	4,99 eV	4,76 eV	4,91 eV
K	5,00 eV	4,72 eV	4,88 eV
M	5,00 eV	4,72 eV	4,88 eV

estrutura policristalina é fundamentalmente determinado por contribuições da absorção polarizada na direção 100 e 010. O perfil dos espectros obtidos através dos diferentes métodos é extremamente semelhante, sendo que o espectro obtido através de pseudopotenciais ultramacios encontra-se deslocado em média de aproximadamente 0,3 eV para regiões de maior energia e, analogamente como foi feito para os polimorfos α e β , usarei esse fato como justificativa para a análise dos picos apenas para o espectro obtido por pseudopotenciais de norma conservada.

Transições entre o máximo da banda de valência e o mínimo da banda de condução não apresentam picos correspondentes no espectro de absorção, pois se tratam de transições $O_{2p} \rightarrow O_{2p}$, que são proibidas pelas regras de seleção da mecânica quântica. Os primeiros picos de absorção surgem em valores próximos a 5,3 eV e estão relacionados com transições H_{1s} do grupamento amina para O_{2p} , do grupamento carboxila, como mostrado nos espectros calculados para as densidades de estado parcial, tomadas todos os tipos de átomos e de grupamentos funcionais. Devido à baixa população de H_{1s} próximo ao máximo da banda de valência, os picos relativos a essa transição são pouco intensos. Além disso, esses picos estão relacionados com transições indiretas. Após esses picos, surgem os primeiros picos intensos no espectro de absorção. Na região entre 5,6 eV e 6,4 eV existem cinco picos dominados por transições polarizadas nas direções 010 e 100. Os dois primeiros picos são devidos a transições diretas ($K \rightarrow K$ e $M \rightarrow M$) entre níveis mais internos da banda de valência aos primeiros níveis da banda de condução, sendo caracterizados por transições entre $O_{2p} \rightarrow H_s$ com valores de 5,63 eV e 5,87 eV. Os picos em 6,10 eV e 6,16 eV estão relacionadas com transições diretas ($\Gamma \rightarrow \Gamma$) entre níveis internos mais profundos da banda de valência e níveis mais externos da banda de condução. Por fim, o pico em

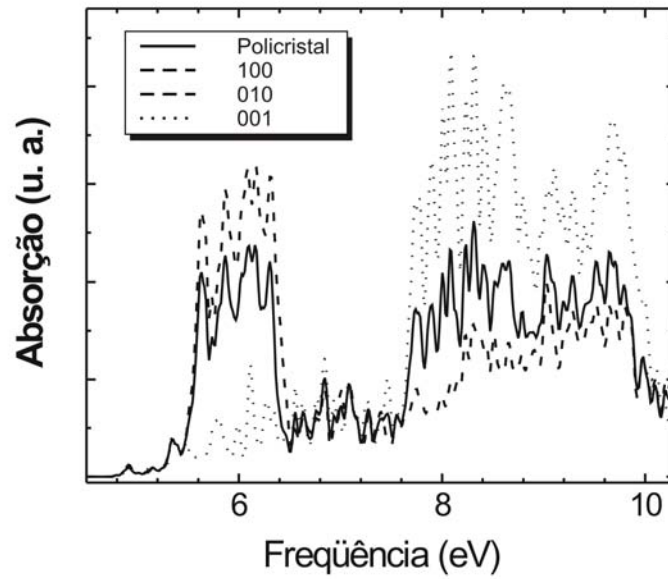


Figura 52: Absorbância na região do *gap* calculado usando pseudopotenciais de norma conservada para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (tracejada) e 001 (pontilhada), além de policristal (contínua). O *inset* mostra o espectro completo.

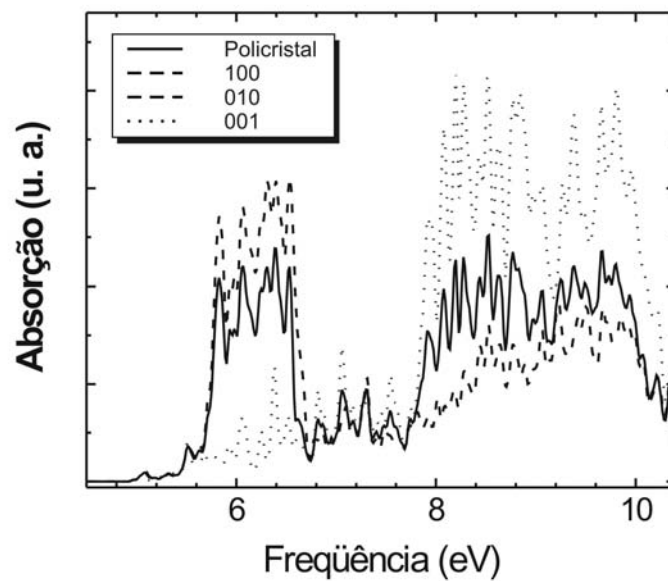


Figura 53: Absorbância na região do *gap* calculado usando pseudopotenciais ultramacios para luz polarizada nas direções 100 (linha tracejada), 010 (tracejada) e 001 (pontilhada), além de policristal (contínua). O *inset* mostra o espectro completo.

6,31 eV é caracterizado por transições indiretas entre níveis internos da banda de valência e o quarto nível da banda de condução no ponto M . Como pode ser visto pela densidade de estados eletrônicos, todas essas picos estão relacionados com transições entre níveis p do grupamento carboxila e níveis s do grupamento amina, dominado por elétrons externos de átomos de oxigênio e vacâncias nos átomos de hidrogênio.

5 Tetraciclina

Nesse capítulo, serão mostradas a estrutura eletrônica relacionada com a interação entre o antibiótico 7-clorotetraciclina com o seu receptor (TetR) através de cálculo usando a teoria do funcional da densidade.

5.1 Tetraciclinas e seus mecanismos de ação

Tetraciclinas (Tc) são uma família de antibióticos de largo espectro que exibem atividade contra um grande número de bactérias gram-positiva e gram-negativa, organismos atípicos como *chlamydiae*, micoplasmas, *rickettsiae* e parasitas protozoários. Elas agem prevenindo a anexação do aminoacyl-tRNA ao sítio aceitador de ribossomo (A), portanto inibindo a síntese protéica [60, 61]. A ausência de maiores efeitos colaterais e características favoráveis de sua ação tem levado ao uso extensivo na terapia para infecções tanto em humanas como em animais. Embora tetraciclinas continuem importantes nas medicinas humana e veterinária, sua aplicabilidade no tratamento de infecções microbóticas tem sido abruptamente reduzida pela expansão do surgimento de diferentes genes de resistência, particularmente em antigos membros da família das tetraciclinas [62]. Por um longo tempo, portanto, existiu um grande interesse em novos análogos ativos contra tanto organismos resistentes quanto suscetíveis a tetraciclinas.

O mecanismo de resistência mais abundante para Tc em bactérias gram-negativas de interesse clínico é a resistência baseada em efluxo, que consiste na exportação ativa da droga para fora da célula bacteriana. Isso se faz a partir de uma proteína intrínseca do transporte da proteína, TetA, que reduz as concentrações intracelulares de Tc [63, 64]. O mecanismo é regulado em nível de transcrição pelo repressor Tet responsivo à Tc (TetR), um homodímero com uma sequência principal do tipo α -hélice-volta- α -hélice (HTH) que se liga a dois operadores de DNA, *tetO*₁ e *tetO*₂, e impede a expressão dos genes *tetA* e *tetR*, que codificam para as próprias TetA e TetR. Por ligação do (Mg-Tc)⁺ (complexo de Tc

e um magnésio catiônico que ocorre sob condições fisiológicas), a proteína TetR submete-se a uma mudança conformacional e se torna não mais capaz de ligar ao DNA. Como consequência, TetR e TetA são expressadas e Tc é exportada antes de exibir atividade anti-microbiótica. Em princípio, análogos de Tc que não se ligam efetivamente a TetR e retêm atividade antibiótica podem ser usados contra todas as bactérias que apresentam apenas esse mecanismo de resistência. Ainda, a regulação sensível da expressão de TetA e alta afinidade a Tc revelou o potencial da TetR como regulador gênico específico e eficiente [65]. Por todas essas razões, uma compreensão mais profunda da interação Tc-TetR se torna valiosa para o uso da Tc no futuro.

A estrutura cristalina do complexo entre TetR de classe D, TetR^D, com magnésio acoplado à 7-clorotetraciclina, [Mg7ClTc]⁺, foi determinado por substituição múltipla de isomorfos a uma resolução de 2,1 Å [66, 67] e revelou que a interação entre Tc e TetR envolve principalmente quatorze resíduos. Do ponto de vista molecular, elementos da família de Tc apresentam a composição formada por 4 anéis de carbono em que uma variedade de grupos funcionais se anexam. A figura 54 mostra essa estrutura apresentando as posições em que se podem anexar terminações a fim de se otimizar a atividade biológica dos elementos da família das Tc.

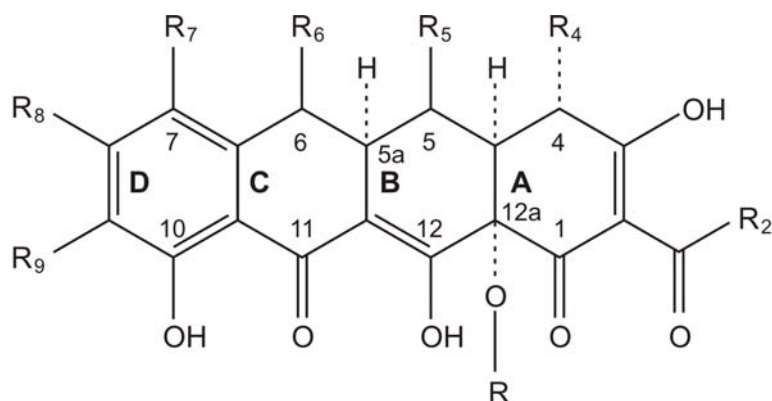
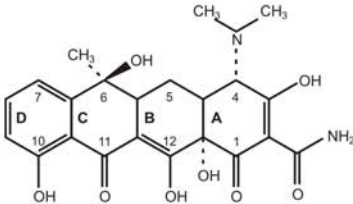
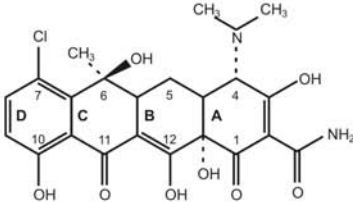
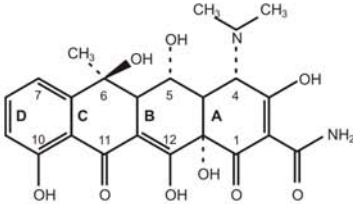
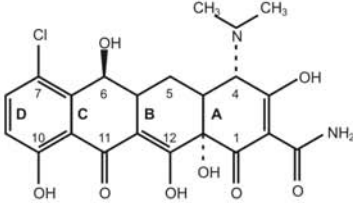
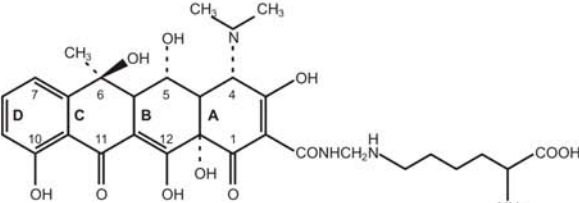


Figura 54: Requisitos de estereoquímica e substituições para atividade antibacteriana ótima dentro a série de tetraciclina.

A partir dessa estrutura básica foram encontradas ou sintetizadas as drogas pertencentes à classe das Tc. Os primeiros elementos dessa família a serem descobertos, foram a *chlortetracycline* e a *oxytetracycline* em 1948, como produtos respectivamente de *Streptomyces aureofaciens* e *S. rimosus* por cientistas da empresa Pfizer. A tabela 26 mostra os principais elementos dessa classe.

Simulações teóricas aplicadas em sistemas biológicos, tais como complexos formados por proteínas e seus ligantes, têm se tornado uma realidade na medida em que novas

Tabela 26: Estrutura química dos principais membros não-sintéticos da classe de tetraciclina. Em parênteses estão informações sobre o nome genérico da droga e seu nome comercial.

Nome Químico (genérico / comercial)	Estrutura
Tetracycline (Tetracycline / Achromycin)	 <p>The structure shows the tetracycline core with a dimethylamino group at C4, a methyl group at C6, and hydroxyl groups at C7, C10, C11, C12, and C13. The rings are labeled A, B, C, and D.</p>
7-Chlortetracycline (Chlortetracycline / Aureomycin)	 <p>The structure is identical to tetracycline but with a chlorine atom at C7.</p>
5-Hydroxytetracycline (Oxytetracycline / Terramycin)	 <p>The structure is identical to tetracycline but with an additional hydroxyl group at C5.</p>
6-Demethyl-7-chlortetracycline (Demethylchlortetraciclina / Declomycin)	 <p>The structure is identical to 7-chlortetracycline but with a hydroxyl group at C6 instead of a methyl group.</p>
2-N-Lysinomethyltetracycline (Limecyclina / Tetralysal)	 <p>The structure is identical to tetracycline but with a lysinyl side chain attached to C2 via an amide bond.</p>

técnicas e o avanço do poder computacional tem crescido [68, 69, 70, 71, 72]. Devido à sua grande importância, relacionado com o seu amplo espectro de ação e a existência de poucos efeitos colaterais, a tetraciclina tem sido alvo de vários estudos. Foram realizados estudos conformacionais, de forma a encontrar a geometria que potencializaria a atividade antibiótica [73]. Lanig *et. al.*, recentemente publicaram artigos em que eles investigaram o processo geral relacionado com o mecanismo de resistência para Tc, incluindo o seu papel na ligação com a TetR e o estágio final para o complexo TetR-Tc [74, 75]. Apesar disso, uma abordagem teórica em nível eletrônico baseado em simulações de primeiros princípios ainda é escassa. Diferentemente de outros métodos de cálculos de primeiros princípios, a DFT é capaz de tratar modelos de tamanhos relativamente grandes, além de conseguir fazê-lo com precisão satisfatória. Por esses motivos, em geral a DFT vem sendo o método escolhido para o estudo de propriedades estrutural, eletrônico e dinâmico em ciência dos materiais. Entretanto, dada a natureza dos sistemas biológicos, uma abordagem mais dinâmica é aconselhada, de forma que métodos como o algoritmo de Car-Parrinello para dinâmica molecular usando a DFT (CPMD) têm se popularizado [71, 72]. Porém, ainda é desejável buscar uma metodologia para DFT não dinâmica aplicada em sistemas biológicos, uma vez que o uso de CPMD exige um enorme custo computacional.

5.2 Metodologia Teórica

Para realização dos cálculos, primeiramente é necessário determinar as posições atômicas e para tanto usamos as coordenadas obtidas experimentalmente e depositadas no banco de dados de proteínas sob o identificador (PDB-ID) 2TCT, que é a estrutura protéica para o complexo 7ClTc-TetR que foi depositada com a melhor resolução cristalográfica entre todos os complexos TetR-Tc. Embora se tenha escolhido apenas um complexo, isso não deve afetar os resultados nem a descrição geral das interações realizadas, pois os resíduos (aminoácidos) que compõem o sítio de interação são conservados ou tipo-conservados em todas as classes de TetR. Devido às limitações computacionais relativas ao método escolhido, o número de átomos em que o problema se mantém tratável é reduzido e, portanto foi levado em conta apenas os resíduos que apresentam interações relevantes. O critério de escolha de quais resíduos seriam utilizados nos cálculos foi baseado no estabelecimento de um raio de corte de 4 Å a partir de todos os átomos não hidrogênicos da 7ClTc, o que garantiu que qualquer região do antibiótico estivesse interagindo com pelo menos um resíduo da TetR. O raio de corte escolhido é razoável, uma vez que o critério de “corte” é

feito de forma que se existir pelo menos um átomo pertencente a algum aminoácido dentro dessa esfera, o aminoácido inteiro é levado em consideração e, com isso, o sítio analisado apresenta um raio efetivo maior que o utilizado como corte. Seguindo essa metodologia, obteve-se praticamente os mesmos resíduos descritos por Kisker *et. al.* [67] como sendo os aminoácidos mais interagentes. Entretanto, quatro aminoácidos estiveram presentes em nosso critério de corte que não estavam presentes na descrição feita por Kisker *et. al.*, e portanto não foram levados em consideração, por efeito de facilitar a comparação entre resultados além do fato que esses resíduos se localizavam distante o suficiente para contribuir apenas fracamente na interação geral no complexo TetR-Tc. Devido à seleção dos resíduos e a não publicação das posições dos átomos de hidrogênio nos dados cristalográficos, por causa da resolução em que a estrutura protéica foi resolvida, teve-se que adicioná-los à estrutura, mantendo, entretanto, a polaridade dos resíduos determinada por Kister *et. al.* Foi feita adição de hidrogênio usando comprimentos de ligação e ângulo padrões a 7ClTc, a molécula de água e aos resíduos (completando a valência onde foi feita a quebra da ligação peptídica, nas terminações C- e N- dos aminoácidos).

Os cálculos de energia foram realizados através da teoria do funcional da densidade com a aproximação do gradiente generalizado (DFT-GGA) em conjunto com o funcional híbrido de correlação e troca proposto por Becke-Lee-Yang-Parr (BLYP). Foi usado o conjunto de base numérica dupla com polarização (DNP) com um raio orbital de corte de 4,9 Å. Este conjunto de base leva em conta funções orbitais *d* em todos os átomos não hidrogênio e para os hidrogênios ele inclui funções orbitais *p*, o que fornece grande precisão em ligações de hidrogênio. O limiar para determinação de convergência do campo auto-consistente (SCF, do inglês *self-consistent field*) foi de $1,0 \times 10^{-6}$. Os cálculos foram realizados utilizando o programa Dmol³ sem a inclusão de efeitos de solvente, embora as moléculas de água pertinentes ao sítio de ligação tivessem sido incluídas.

Pela figura 55 podemos ver as interações entre os constituintes do sítio, em que as linhas tracejadas representam tais interações. Pelo esquema mostrado, E1 é a interação entre 7ClTcTc e o sítio sem levar em conta o aminoácido escolhido; E2 representa a interação entre Tc e o aminoácido; e E3 é interação entre o aminoácido e o sítio sem levar em conta a Tc. Uma das formas para mostrar a expressão utilizada para determinar a energia de ligação entre a 7ClTc e o aminoácido, basta notarmos na figura 55 a energia de ligação entre a a 7ClTc e o sítio (considerando o aminoácido de interesse) é dada por uma “soma” das interações E1 e E2 (Δ_1). Analogamente, a energia de interação entre o aminoácido e o sítio é dada pela soma das interações E2 e E3 (Δ_2). Por fim, temos que o sistema está sujeito à soma das interações E1, E2 e E3 (Δ_3). Matematicamente, teremos:

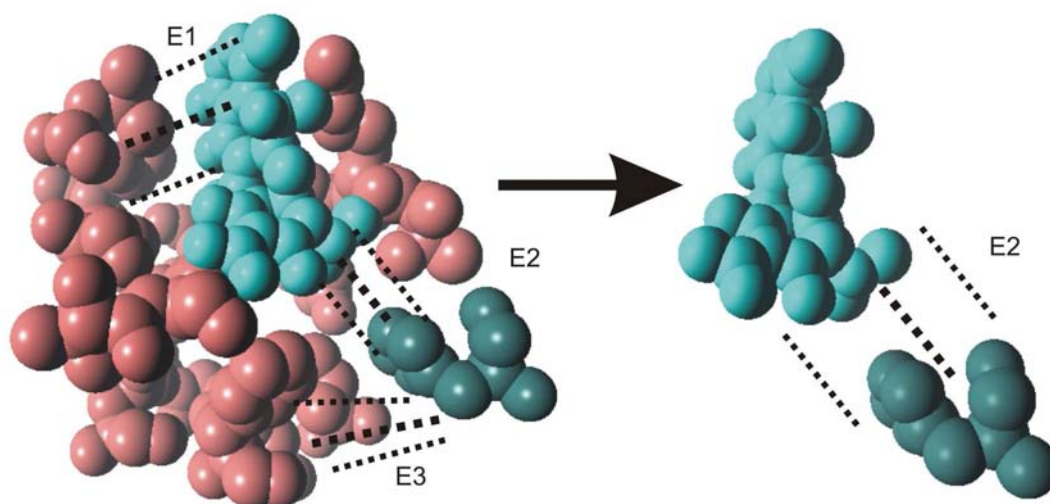


Figura 55: Esquema de interação (linhas tracejadas) entre as partes constituintes do sítio estudado, onde Tc está representada em azul, o resíduo selecionado, em verde e o restante do sítio, em rosa. E1, E2 e E3 estão relacionados com energias de interação.

$$\Delta_1 = E1 + E2 = E_T - (E_{Tc} + E_T^*)$$

$$\Delta_2 = E2 + E3 = E_T - (E_A + E_{T-A})$$

$$\Delta_3 = E1 + E2 + E3 = E_T - (E_A + E_{Tc} + E_{T-A}^*)$$

onde, E_T , E_{T-A} e E_A se referem respectivamente às energias do sítio de ligação completo (todos os resíduos mais 7ClTc), do sítio de ligação completo menos o resíduo selecionado e do aminoácido isolado. O asterisco denota as mesmas energias supramencionadas após a remoção da 7ClTc. E, ainda E_{Tc} é a energia da 7ClTc. Falta-nos portanto, encontrar uma expressão que nos forneça o valor da interação somente entre a 7ClTc e o aminoácido (ΔE_L) e, a partir das expressões acima, podemos ver que ela pode ser dada por:

$$\Delta E_L = \Delta_1 + \Delta_2 - \Delta_3$$

que resulta em:

$$\Delta E_L = E_T - E_T^* - (E_{T-A} - E_{T-A}^*) \quad (5.1)$$

Do ponto de vista da computação desses valores foram necessários realizar apenas dois

passos para determinar a interação entre a tetraciclina e cada aminoácido. Primeiramente, foram determinadas as interações entre cada resíduo com o resto do sítio de ligação através do cálculo da mudança de energia pela remoção de um aminoácido por vez (Δ_2). O segundo passo foi feito com o objetivo de se determinar a interação de cada resíduo com os outros através da determinação da mudança de energia com a remoção de um aminoácido por vez no sítio de ligação sem a 7ClTc. A diferença entre essas duas mudanças de energia resulta na interação entre o resíduo e a 7ClTc. Dessa forma, nós levamos em conta a influência da vizinhança na energia de ligação de cada resíduo. Analogamente, podemos citar mais algumas expressões que fornecem o mesmo resultado que a Eq. 5.1:

$$\Delta E_L = (E_T - E_{T-A} - E_A) - (E_T^* - E_{T-A}^* - E_A) = (E_T - E_{T-A}) - (E_T^* - E_{T-A}^*)$$

, em que o primeiro termo à esquerda é a energia de interação do resíduo com o resto do sítio de ligação. O segundo termo à esquerda é a energia de interação do resíduo selecionado com sítio sem 7ClTc. Os termos restantes estão relacionados com a interação resíduo-antibiótico.

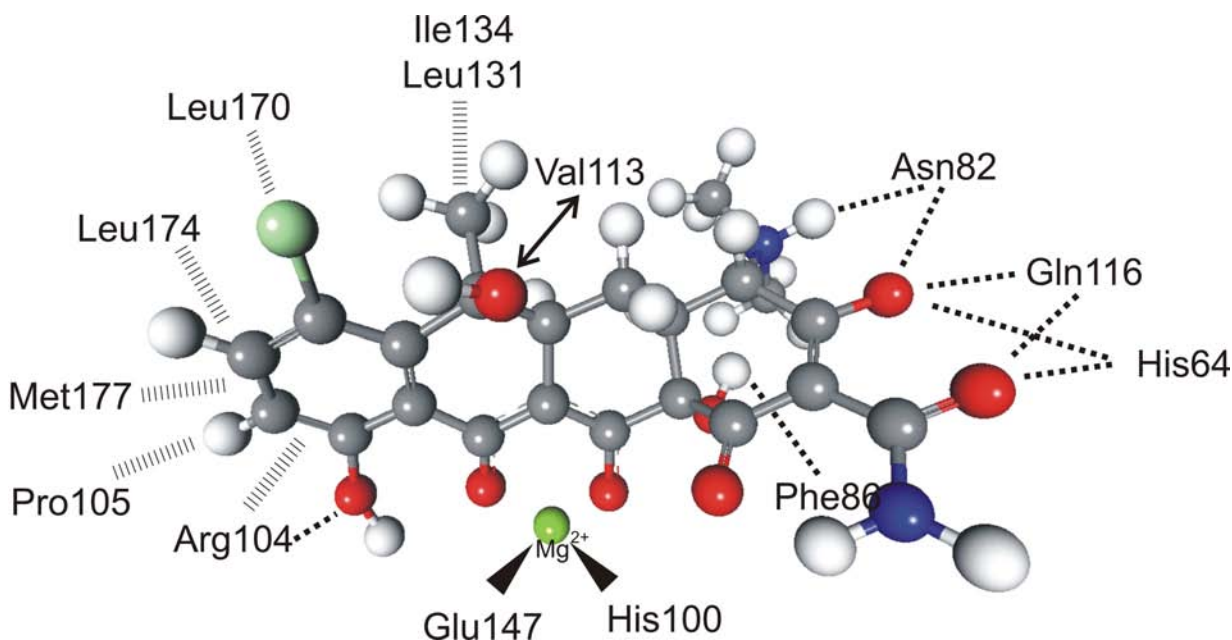


Figura 56: Representação esquemática da interação entre a 7ClTc e os resíduos da TetR.

5.3 Resultados e Discussão

Espera-se que as principais interações sejam as ligações de hidrogênio do anel A e ligações envolvidos na coordenação do magnésio, uma vez que a alteração do grupos nessas áreas da Tc remove sua atividade antibiótica e, portanto, esses grupos são altamente conservados em todos os membros da família de Tc. Seguindo esse pensamento, a figura 56 mostra que os resíduos Arg104, Asn82, Gln116, His64, His100 e Glu147 são os resíduos envolvidos nessas interações principais. Por outro lado, os resíduos Pro105, Met177, Leu174, Leu170, Leu131 e Ile134 interagents com o anel aromático D da 7ClTc e o grupamento metila do carbono C6 deve fornecer ligações menos intensas devido à sua natureza hidrofóbica. Val113 é o único resíduo esperado a dar uma repulsão significativa, uma vez que a remoção do grupo hidroxila de C6 aumenta a afinidade da TetR em 500 vezes [76]. Espera-se que a Phe86 faça ligações de hidrogênio entre seu anel aromático e grupamento hidroxila com o carbono C12a e deve fornecer um valor razoável para a ligação [67].

Tabela 27: Energias de interação (E.I.) com $[Mg7ClTc]^+$ para cada resíduo interagente da 2TCT.

Resíduos Interagente	E.I.* with $[Mg7ClTc]^+$
Entire Site	-271.34
Gln116	-180.63
Met177	-169.39
Glu147	-123.85
His64	-64.87
His100	-44.26
Leu131	-30.50
Arg104	-28.46
Asn82	-15.88
Val113	+0.19
Leu174	+2.07
Phe86	+2.39
Pro105	+4.25
Ile134	+27.09
Leu170	+42.02

*kcal·mol⁻¹

De forma geral, a interação do sítio de ligação foi extremamente favorável e a maioria das energias de interação obtidas através do cálculo *ab initio* corroboram com o esquema descrito acima, como mostrado na tabela 27. Gln116, His64 e Asn82 de fato revelaram ligações fortes, em particular Gln116 apresentou a energia mais forte da interação Mg7ClTc-resíduo com -180.63 kcal·mol⁻¹. Coordenação com magnésio revelou também energias fortes com Glu147 e His100, sendo a última mediada por moléculas de

água. Como esperado, o anel D revelou interações fracas e ainda algumas poucas repulsões. Arg104 não mostrou uma energia de ligação tão forte quanto a esperada, que provavelmente se deve ao fato de que o seu grupo guanidínio está muito longe para interagir por ligações de hidrogênio ao O₁₀. Essa descrição está em total acordo com o fato de que os resíduos que interagem com o anel D são apenas conservadas em relação ao tipo, exceto pela Leu170, enquanto que os outros são em sua maioria conservados em todas as classes de TetR. A única grande exceção foi Met177, com uma forte energia de ligação de -169.39 kcal·mol⁻¹. Uma possível causa de tal discrepância pode estar relacionada com o fato de que métodos baseados no funcional de densidade descrevem insatisfatoriamente interações de Van der Waals, que desempenham papel importante nessa parte de 7CITc. Apesar disso, embora a interação da Met177 esteja sendo superestimada pelos cálculos, a introdução de um radical nessa posição pode interagir desfavoravelmente com Met177, desestabilizando o sítio e diminuindo a afinidade da Tc com a TetR. Por outro lado, embora os resíduos envolvidos na coordenação com o magnésio também apresentem interações fortes, alterações no sistema keto-enol (posições 11, 12 e 12a) removem a atividade antibacteriana da droga.

Conclusões

Foram realizados cálculos de primeiros princípios baseados na teoria do funcional da densidade para diferentes sistemas: cristais de glicina e aplicação na interação ligante–proteína. Foi obtida boa concordância entre os resultados teóricos e experimentais disponíveis. Foi adotado um critério rígido de convergência para o estudo dos polimorfos cristalinos de glicina usando pseudopotenciais ultramacios, que permitem alcançar resultados confiáveis com energia de corte relativamente baixa. As estruturas obtidas para os três polimorfos de glicina foram compatíveis com os obtidos experimentalmente e teoricamente, presentes na literatura, entretanto os critérios de convergência adotados nessa dissertação mostram que, em alguns casos, embora a concordância entre os nossos resultados com o experimento seja inferior aos obtidos por Chisholm *et. al.* [44], a rigidez do nosso critério de convergência faz crer que eles tenham obtido um mínimo local de energia mais distante do global que o nosso. As propriedades foram calculadas através de três métodos de simulação dos elétrons de caroço: todos os elétrons (TE), pseudopotenciais ultramacios e pseudopotenciais de norma conservada (NC). Foi mostrada que os três métodos apresentam grande concordância qualitativa, entretanto há diferença nos valores quantitativos de energia. Em geral, as energias seguiram a seqüência $TE > USP > NC$, para os níveis de energia desocupados, uma vez que a banda de valência apresentou grande concordância quantitativa para os três métodos, com diferenças na ordem de 1 meV. A estabilidade cristalina dada pela energia por molécula na célula unitária teve a seguinte ordem: $\alpha > \beta > \gamma$, sendo o polimorfo α o mais estável. Embora esse resultado tenha sido obtido também por Chisholm *et. al.* [44], ele está em desacordo com o obtido experimentalmente por Perlovich *et. al.* [24], que mostra a estabilidade na ordem $\gamma > \alpha > \beta$, sendo o polimorfo β uma estrutura metastável, podendo haver transição de fase para os polimorfos α ou γ .

O estudo de cristais de α -glicina mostrou através das medidas de XPS e cálculos da análise populacional de Mulliken, bem como da densidade de estados parciais, que o ambiente cristalino é formado por moléculas de glicina na forma *zwitteriônica*, devido ao diferente comportamento dos carbonos e oxigênios em relação à energia de ligação dos elétrons de caroço. A análise de XPS mostrou ainda que os cristais obtidos para α -glicina

apresentam átomos de sódio e cloro, que devem estar presentes na água, mesmo tendo sido utilizada água Milli-Q, a mais pura possível. Dada a baixa concentração dessas impurezas, não deve haver grande influência nas outras medidas realizadas. A discordância entre os resultados obtidos teoricamente em comparação com as medidas de XPS ficou abaixo de 5%, mostrando que a DFT pode ser utilizada de maneira satisfatória (desde que seja empregado o rigor necessário nos critérios de convergência).

A absorção desses cristais mostrou um *gap* para transições diretas de $5,11 \pm 0,02$ eV, entretanto a estrutura de bandas calculadas mostrou que a glicina apresenta três *gaps* indiretos (4,89 eV na direção $[Z, \Gamma] \rightarrow \Gamma$, 4,94 eV na direção $[Y, A] \rightarrow \Gamma$ e 4,96 eV na direção $[B, D] \rightarrow \Gamma$, obtidos com os cálculos considerando todos os elétrons) e um, direto (4,95 eV na direção $\Gamma \rightarrow \Gamma$ para simulação TE) com valores razoavelmente próximos entre si. Para valores próximos do *gap*, a transição ocorre entre $O_{2p} \rightarrow O_{2p}$, sendo proibida pelos critérios de seleção da mecânica quântica e, portanto, não contribuem com picos na absorção. Foi mostrado ainda que na região entre 5,4–5,7 eV, radiação incidente polarizada na direção 100 é predominante, governando a absorção da estrutura policristalina.

Foi mostrada a possibilidade de existência de uma assinatura molecular em 3,4 eV para o espectro de luminescência de cristais de α -glicina. Sustentando esse resultado foram realizados cálculo TD-DFT (*Time-Dependent Density Functional Theory*) para sistema formado por uma e quatro moléculas de glicina dispostas nas posições atômicas do cristal de α -glicina situadas no plano *ac*, que é onde ocorrem as ligações de hidrogênio responsáveis pela estabilidade cristalina. Embora os resultados teóricos indiquem a possibilidade da assinatura molecular na luminescência, é ainda necessário melhorar a simulação do ambiente cristalino, uma vez que cálculos no vácuo o fazem de maneira muito precária.

A β -glicina apresentou resultados teóricos semelhantes à α -glicina em relação à absorção, em que a região entre 5,4 eV e 6,6 a radiação incidente polarizada na direção 100 governa a absorção em policristal. As transições nessa região estão basicamente relacionadas com a transferência de carga que ocorre nas ligações de hidrogênio entre o grupamento carboxila e amina entre moléculas vizinhas. A energia do cristal por molécula da célula unitária calculada para o cristal de β -glicina foi muito próxima à obtida para o polimorfo α , mas com este sendo mais estável. Os valores de energia de ligação dos elétrons de caroço apresentou o mesmo comportamento, mas com valores levemente diferentes. Foram obtidos também três *gaps* indiretos (4,92 eV na direção $[Z, \Gamma] \rightarrow \Gamma$, 4,97 eV na direção $[A, B] \rightarrow \Gamma$ e 4,95 eV na direção $[B, D] \rightarrow \Gamma$, obtidos com os cálculos considerando todos os elétrons) e um, direto (5,00 eV na direção $\Gamma \rightarrow \Gamma$ para simulação

TE).

O arranjo molecular na célula unitária da γ -glicina, devido ao grupo espacial é diferente do que ocorre nos outros dois polimorfos estudados, de forma que não há uma única direção preferencial na região entre 5,6 eV e 6,4 eV, sendo as contribuições das direções 100 e 010 que governam a absorção do policristal. A estrutura de bandas calculada pelos três métodos é bastante concordante qualitativamente, entretanto o perfil dela é pouco usual para cristais moleculares, uma vez que existem três mínimos na banda de condução muito próximos e o ponto Γ não contribui em nenhum deles. Desse forma, puderam ser identificados cerca de 15 *gaps* indiretos razoavelmente próximos (variando de 4,72 até 4,82 eV), e dois *gaps* diretos com valores idênticos de 4,80 eV para as transições $K \rightarrow K$ e $M \rightarrow M$.

Para a Tetraciclina foi adotada uma metodologia que permite analisar de forma comparativa entre os resíduos da TetR a contribuição efetiva de cada um deles na interação com o fármaco ligante. O perfil das interações computadas é bastante concordante com o descrito na literatura. Entretanto, resultados de raios-X sugerem que a Met177 não interaja fortemente, o que está em desacordo com o calculado por nós. Apesar disso, a concordância no sentido de quais resíduos apresentam “atração” e quais apresentam “repulsão” está em total acordo com as interpretações experimentais. Dessa forma, a substituição do radical do antibiótico com interage com esse resíduo da TetR pode mudar desfavoravelmente a interação Tc-TetR.

A presente dissertação abre caminho para a investigação de diferentes cristais de aminoácidos e efeitos de polimorfismo em outros tipos de cristais moleculares. Além disso, efeitos da adsorção de aminoácidos em superfícies também é de grande interesse. A interação entre proteína–ligante, especialmente em se tratando de fármacos abre uma via de estudo para o desenho racional de drogas, de forma a potencializar o efeito farmacológico ao mesmo tempo que minimiza os efeitos colaterais.

APÊNDICE A – Cálculos de Primeiros Princípios

A.1 Base Teórica

Sistemas em nível atômico e molecular são regidos pelos princípios e leis da mecânica quântica, cuja equação fundamental é a equação de Schrödinger. Entretanto, a solução para ela ocorre de forma exata apenas para sistemas extremamente simples, *e.g.* em uma partícula sujeita a um potencial conhecido. Assim, sistemas com mais elétrons que átomos hidrogenóides ou o átomo de hélio não apresentam solução analítica exata. Métodos aproximados e soluções numéricas são as saídas inevitáveis para resolver os problemas mais complexos, e o fazem, em geral, de maneira satisfatória.

Dado o Hamiltoniano para sistemas multi-eletrônicos, a equação de Schrödinger não-relativística dependente do tempo será:

$$i\hbar \frac{\partial \Psi(\{\vec{r}_i\}; t)}{\partial t} = \hat{H} \Psi(\{\vec{r}_i\}; t) \quad (\text{A.1})$$

onde, de forma a simplificar a notação, definimos $\Psi(\{\vec{r}_i\}; t) \equiv \Psi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N; t)$, em que as coordenadas de spin da i -ésima partícula estão inseridas no conjunto de coordenadas denotada por \vec{r}_i . Um hamiltoniano adequado para sistemas multi-eletrônicos e multi-nucleares pode ser escrito no sistema de unidades atômicas, em que $\hbar = m_e = e = 4\pi/\epsilon_0 = 1$, da seguinte forma:

$$\hat{H} = \hat{T}_e + \hat{V}_{Ne} + \hat{V}_e + \hat{T}_N + \hat{V}_N$$

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_{i,I} \frac{Z_I}{|\vec{r}_i - \vec{R}_I|} + \frac{1}{2} \sum_{i \neq j} \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} - \sum_I \frac{1}{2M_I} \nabla_I^2 + \sum_{I \neq J} \frac{Z_I Z_J}{|\vec{R}_I - \vec{R}_J|} \quad (\text{A.2})$$

onde usamos as letras minúsculas para variáveis relativas aos elétrons e as maiúsculas,

para os núcleos. De forma a buscar correlações eletrônicas descritas satisfatoriamente, as interações coulombianas elétron-elétron são os termos de muitos corpos em que reside boa parte das aproximações hoje utilizadas. Para um sistema atômico, podemos separar esse hamiltoniano em duas partes: uma, levando em consideração a parte eletrônica e a outra, a nuclear. Se levarmos em conta que a massa do núcleo é muito maior que a do elétron, então o único termo suficientemente pequeno de (Eq. A.2) para $M_I \rightarrow \infty$, e que pode ser considerado como uma perturbação, é o termo de energia cinética. Assim,

$$\hat{H} = \hat{H}_{ele} + \hat{V}_N, \quad (\text{A.3})$$

onde,

$$\hat{H}_{ele} = \hat{T}_e + \hat{V}_{Ne} + \hat{V}_e \quad (\text{A.4})$$

A interpretação física dessa aproximação, conhecida como *Aproximação de Born - Oppenheimer*, é de que ao menor movimento nuclear, os elétrons instantaneamente se rearranjam de forma a recuperar a estrutura eletrônica para a nova configuração nuclear. Por outro lado, as variações sentidas pelos núcleos devido o movimento eletrônico podem ser negligenciadas, de modo que podemos considerar os núcleos “fixos” e desacoplar o movimento eletrônico do nuclear. Dessa forma, resolve-se a equação de Schrödinger para o hamiltoniano eletrônico, dada uma configuração nuclear nuclear, e se obtém um potencial efetivo, que seria utilizado no cálculo do movimento nuclear, de maneira iterativa.

Em geral, sistemas quânticos ordinários se apresentam em estados estacionários, de forma que a função de onda pode ser separada em duas partes, uma dependente das coordenadas; e a outra, do tempo:

$$\Psi(\{\vec{r}_i\}; t) = \varphi(\{\vec{r}_i\})e^{-i(E/\hbar)t}$$

De acordo com o princípio variacional, a energia do sistema é um mínimo variacional para a classe de funções $|\varphi\rangle$ escolhida, assim $E = E[\varphi]$, que é o limite superior para a energia exata. Assim, para qualquer estado dinâmico, onde E_0 é a energia do estado fundamental teremos:

$$E[\varphi] \geq E_0 \quad (\text{A.5})$$

em que a energia do sistema será dado pelo valor esperado do Hamiltoniano,

$$E[\varphi] \equiv \langle \hat{H} \rangle = \frac{\langle \Psi | \hat{H} | \Psi \rangle}{\langle \Psi | \Psi \rangle} \quad (\text{A.6})$$

e que o princípio variacional leva à equação de auto-valor, que é a equação de Schrödinger independente do tempo dada na notação de Dirac

$$\hat{H} |\Psi\rangle = E |\Psi\rangle \quad (\text{A.7})$$

Dada a impossibilidade de se resolver analiticamente e de forma exata sistemas multi-elétrônicos, *e.g.* moleculares, recorre-se constantemente a aproximações. Para o nosso objetivo, a primeira aproximação geralmente usada para resolver a equação de Schrödinger baseia-se na idéia de que a densidade eletrônica espacial dos átomos é muito baixa, ou seja, o raio atômico é compreendido em sua maior parte por regiões sem ocupação eletrônica, de forma que esse fato é utilizado para justificar a aproximação e considerar as partículas independentemente. Essa aproximação prevê que a função de onda do sistema de N elétrons pode ser descrita como um produto de N funções de um elétron, construídas de forma que o princípio de exclusão de Pauli seja satisfeito, o que ocorre pela construção de uma função de onda totalmente anti-simétrica nas coordenadas eletrônicas $\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N$, devido ao spin. Essas aproximações podem ser classificadas, basicamente, em *não-interagentes* (Hartree) e *Hartree-Fock*, que se diferenciam pelo fato de a segunda levar em consideração explicitamente termos da interação coulombiana elétron-elétron na energia, enquanto que o primeiro faz a correção a partir de um potencial efetivo.

A.2 Método de Hartree-Fock Restrito

Na aproximação de Hartree-Fock, a função de onda anti-simétrica é escrita como um determinante formado por funções de estado de uma partícula, *e.g.* orbital molecular e spin (chamada aqui de spin-orbital molecular), que minimiza a energia total para o hamiltoniano (Eq. A.2), usando o método variacional. A principal consideração feita para o Método de Hartree-Fock restrito, se deve ao fato de que o número de elétrons é par e a camada orbital molecular é “fechada”. Nos casos em que não há interação spin-órbita, o determinante função de onda Φ pode ser escrito como o determinante de Slater:

$$\Phi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \phi_1(\mathbf{r}_1, \sigma_1) & \phi_1(\mathbf{r}_2, \sigma_2) & \phi_1(\mathbf{r}_3, \sigma_3) & \dots \\ \phi_2(\mathbf{r}_1, \sigma_1) & \phi_2(\mathbf{r}_2, \sigma_2) & \phi_2(\mathbf{r}_3, \sigma_3) & \dots \\ \phi_3(\mathbf{r}_1, \sigma_1) & \phi_3(\mathbf{r}_2, \sigma_2) & \phi_3(\mathbf{r}_3, \sigma_3) & \dots \\ \cdot & \cdot & \cdot & \dots \\ \cdot & \cdot & \cdot & \dots \end{vmatrix} \quad (\text{A.8})$$

em que $\phi_i(\mathbf{r}_j, \sigma_j)$ são funções dos orbitais dependente de spin, onde cada partícula é um produto da função da posição $\psi_i^\sigma(\mathbf{r}_j)$ e da função da variável de spin $\xi_i(\sigma_j)$.

$$\xi_i(\sigma_j) = \begin{cases} \alpha(j) & \uparrow \\ \beta(j) & \downarrow \end{cases} \quad (\text{A.9})$$

Dado o operador anti-simetrizador \hat{A} , a função de onda Φ pode ser escrita como

$$\Phi = (N!)^{1/2} \hat{A} \{ \phi_1^{(1)} \phi_2^{(2)} \dots \phi_N^{(N)} \}, \quad (\text{A.10})$$

$$\hat{A} = \frac{1}{N!} \sum_P \lambda_P \hat{P} \quad (\text{A.11})$$

onde o índice inferior se refere ao estado eletrônico e o superior à partícula em questão. \hat{P} é o operador permutação e $\lambda_P = (-1)^{\epsilon_P}$, com ϵ_P o número de permutações de \hat{P} . A energia do sistema é dada por

$$E = \langle \hat{H} \rangle = \int \Phi^* \hat{H} \Phi d\tau \equiv E[\Phi],$$

onde o operador hamiltoniano é dado pela Eq. (A.4). A equação acima resulta em:

$$E = 2 \sum_i h_i + \sum_{i,j} (2J_{ij} - K_{ij}), \quad (\text{A.12})$$

onde h_i é a parte do hamiltoniano eletrônico relativo à energia cinética e à interação elétron-núcleo. Os termos J_{ij} e K_{ij} são termos de muitos corpos relacionados com a interação elétron-elétron e são dados por:

$$J_{ij} = \int \int \phi_i^{*\mu} \phi_j^{*\nu} \phi_i^\mu \phi_j^\nu \frac{1}{r^{\mu\nu}} d\vartheta^{\mu\nu} \quad (\text{A.13})$$

$$K_{ij} = \int \int \phi_i^{*\mu} \phi_j^{*\nu} \phi_j^\mu \phi_i^\nu \frac{1}{r^{\mu\nu}} d\vartheta^{\mu\nu} \quad (\text{A.14})$$

em que φ_i^μ representa a função de spin-orbital molecular para o estado eletrônico i do elétron μ . A Eq. (A.13) representa a interação coulombiana entre as densidades $|\phi_i|^2$ e $|\phi_j|^2$, enquanto que o termo K_{ij} não tem análogo clássico, e é conhecido como energia de *troca*, devido ao desacordo entre os estados eletrônicos da mesma partícula, ou seja temos o produto $\phi_i^{*\nu} \phi_i^\nu$. Podemos definir um operador de Coulomb \hat{J}_i e um operador de Troca \hat{K}_i dados por:

$$\hat{J}_i^\mu \phi^\mu = \left(\int \frac{\phi_i^{*\nu} \phi_i^\nu}{r^{\mu\nu}} d\vartheta^\nu \right) \phi^\mu \quad (\text{A.15})$$

$$\hat{K}_i^\mu \phi^\mu = \left(\int \frac{\phi_i^{*\nu} \phi_i^\nu}{r^{\mu\nu}} d\vartheta^\nu \right) \phi_i^\mu, \quad (\text{A.16})$$

onde

$$J_{ij} = \int \phi_i^{*\mu} \hat{J}_j^\mu \phi_i^\mu d\vartheta^{\mu\nu}$$

$$K_{ij} = \int \phi_i^{*\mu} \hat{K}_j^\mu \phi_i^\mu d\vartheta^{\mu\nu}$$

Se definirmos o operador de interação eletrônica total \hat{G} e o operador de Fock \hat{F} por

$$\hat{F} = \hat{h} + \hat{G}$$

$$\hat{G} = \sum_i \left(2\hat{J}_i - \hat{K}_i \right)$$

teremos que a equação a ser resolvida passa a ser

$$\hat{F} \phi_i = \sum_j \phi_j \epsilon_{ji} \quad (\text{A.17})$$

ou em notação matricial

$$\hat{F}\bar{\phi} = \bar{\phi}\bar{\epsilon} \quad (\text{A.18})$$

notemos que a equação acima deve ser resolvida de maneira auto-consistente, uma vez que o operador de Fock definido em termos dos operadores de Coulomb e de Troca (Eqs. (A.15) e (A.16)) depende da própria função de onda que se está buscando saber. A Eq. (A.18), também mostra que o problema de N elétrons se transformou em N problemas de um elétron.

Embora tenhamos descrito apenas para o método de Hartree-Fock restrito, podemos ter uma idéia de como o método se desenvolve para os casos não-restritos, que é uma generalização do primeiro. A principal consideração que fizemos no caso restrito, foi devido ao fato de o número de elétrons ser par e a camada orbital molecular ser “fechada”, assim a permutação de linhas ou colunas no determinante de Slater considerado (Eq. (A.8)) gera o mesmo resultado. No caso não-restrito devemos buscar uma formulação em que a classe de funções de onda Φ é formada por monodeterminantes sem que haja qualquer relação entre as partes espaciais dos spin-orbitais e as funções de spin α e β , de forma que permutações nas linhas ou colunas desses determinantes levem a diferentes resultados. O principal problema das aproximações do tipo Hartree-Fock é devido à consideração inicial de que os elétrons são não-interagentes dada pela independência das funções de estado spin-orbitais de cada elemento. Dessa forma, em princípio, a energia de Hartree-Fock (E_{HF}) diferencia-se da energia exata (E_{exata}), pela ausência da correlação eletrônica (E_{corr}), assim

$$E_{exata} = E_{HF} + E_{corr}$$

A.3 Teoria do Funcional da Densidade

Na seção anterior descrevemos o método de Hartree-Fock restrito para resolução de sistemas multi-eletrônicos a partir da equação de Schrödinger (Eq. (A.7)). O método consistia, basicamente, em resolver um problema de N partículas em N problemas de uma partícula, resultando em $4N$ equações a ser resolvidas, onde $3N$ se referiam às variáveis espaciais e N , à variável de spin, para o caso não-restrito. Resolver o problema por esse método consiste, portanto, em tarefa árdua, onde o acréscimo no número de partículas (elétrons) o torna praticamente proibitivo quando esse número é “grande” o suficiente (algo que pode ser em torno de 30 átomos de carbono), embora os avanços tecnológicos

no poder computacional tenha permitido que o método de Hartree-Fock seja utilizado em sistemas com até centenas de átomos.

Nessa seção, mostraremos uma outra maneira de resolver o problema multi-eletrônico, chamado de *Teoria do Funcional da Densidade* (DFT, na sigla em inglês de *Density Functional Theory*), que tem como objeto fundamental a densidade eletrônica $\rho(r)$. Basicamente, o método consiste em dada uma configuração nuclear encontrar a densidade eletrônica que minimiza a energia do sistema. Dessa forma, em vez de resolvermos um problema de N elétrons utilizando-se de $3N$ coordenadas espaciais e portanto obtendo $3N$ equações, resolvemos a densidade eletrônica com dependência em 3 coordenadas espaciais! Dessa forma, a teoria do funcional da densidade é atualmente o método escolhido para o estudo de propriedades estruturais, eletrônicas e dinâmicas em ciência dos materiais, pois fornece a possibilidade de que sistemas relativamente grandes (com 100 átomos ou mais) sejam abordados em detrimento de outros métodos de primeiros princípios, além de fazê-lo em um grau de precisão que pode ser alcançado para diversos sistemas de maneira sistemática [71].

Em 1964, Pierre Hohenberg e Walter Kohn publicaram o artigo intitulado “*Inhomogeneous Electron Gas*” [77] que lançou os alicerces da DFT e fez com que Walter Kohn fosse agraciado com o Prêmio Nobel de Química de 1998 [78]. Nesse trabalho, foi apresentado dois teoremas que são os alicerces para o desenvolvimento da DFT.

Teorema A.1 *O potencial externo $v(\mathbf{r})$ sentido pelos elétrons é um funcional único da densidade eletrônica $\rho(\mathbf{r})$*

Demonstração: A demonstração desse teorema é baseada na indução por absurdo. Imaginemos dois potenciais externos $v(\mathbf{r})$ e $v'(\mathbf{r})$ que levem à mesma densidade eletrônica $\rho(\mathbf{r})$. Assim, sejam ψ e ψ' os estado fundamental para sistema sem estados degenerado caracterizados pelos hamiltonianos \hat{H} e \hat{H}' , que apresentam a forma geral: $\hat{H} = \hat{T} + \hat{U} + \hat{V}$ (onde \hat{U} e \hat{V} são as enegias de interação elétron-elétron e potencial, respectivamente) relacionados com os potenciais externos acima citados.

Então, pelo princípio variacional (Eq. (A.5)), temos que para o sistema caracterizado pelo potencial externo $v(\mathbf{r})$, a energia do sistema será dada por $E_0 = \langle \hat{H} \rangle \equiv \langle \hat{T} + \hat{U} + \hat{V} \rangle$. Se buscarmos o mínimo de energia para a classe de funções ψ' , teremos:

$$E[\psi'] \geq E_0,$$

onde a igualdade só será satisfeita caso ψ' seja a função de onda do estado fundamental, o que contraria a nossa hipótese. Repetindo o procedimento que levou à equação acima para o sistema caracterizado pelo potencial externo $v'(\mathbf{r})$, teremos que a energia do estado fundamental para a classe de funções ψ resultará na seguinte desigualdade:

$$E'[\psi] \geq E'_0$$

assim, para $\hat{H} = \hat{H}' + \hat{V} - \hat{V}'$ chegaremos à seguinte relação:

$$E = \langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle < \langle \psi' | \hat{H} | \psi' \rangle = \langle \psi' | \hat{H}' | \psi' \rangle + \langle \psi' | \hat{V} - \hat{V}' | \psi' \rangle \quad (\text{A.19})$$

de maneira análoga, teremos

$$E' = \langle \psi' | \hat{H}' | \psi' \rangle < \langle \psi | \hat{H}' | \psi \rangle = \langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle + \langle \psi | \hat{V}' - \hat{V} | \psi \rangle \quad (\text{A.20})$$

Se definirmos a densidade eletrônica $\rho(\mathbf{r})$ e o potencial \hat{V} , de maneira usual, tendo as formas:

$$\rho(\mathbf{r}) = \langle \psi | \sum_{i=1}^N \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) | \psi \rangle \quad (\text{A.21})$$

e

$$\hat{V} = \sum_{i=1}^N v(\mathbf{r}_i) \quad (\text{A.22})$$

então, teremos

$$\langle \psi | \hat{V} | \psi \rangle = \sum_{i=1}^N \int d^3r_1 \dots \int d^3r_N \psi^*(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) v(\mathbf{r}_i) \psi(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N)$$

considerando,

$$v(\mathbf{r}_i) = \int d^3r v(\mathbf{r}) \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i)$$

resultará em:

$$\langle \psi | \hat{V} | \psi \rangle = \sum_{i=1}^N \int d^3r \int d^3r_1 \dots \int d^3r_i \psi^* v(\mathbf{r}) \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) \psi \int d^3r_{i+1} \dots \int d^3r_N$$

$$\langle \psi | \hat{V} | \psi \rangle = \int \rho(\mathbf{r}) v(\mathbf{r}) d^3r \quad (\text{A.23})$$

Substituindo Eq. (A.23) de maneira sistemática nas Eqs. A.19 e A.20, chegaremos aos seguintes resultados:

$$E < E' + \int [v(\mathbf{r}) - v'(\mathbf{r})] \rho(\mathbf{r}) d^3r$$

e

$$E' < E + \int [v'(\mathbf{r}) - v(\mathbf{r})] \rho(\mathbf{r}) d^3r,$$

já que por hipótese, nós consideramos ambos potenciais $v(\mathbf{r})$ e $v'(\mathbf{r})$ levam à mesma densidade $\rho(\mathbf{r})$. Somando as duas últimas equações, chegaremos à conclusão que:

$$E + E' < E' + E \quad (\text{A.24})$$

que é o absurdo que havíamos previsto que ocorreria, de acordo com a nossa hipótese inicial, devido ao fato que $\psi \neq \psi'$. Assim, esse teorema revela que a densidade $\rho(\mathbf{r})$ do estado fundamental deve conter as mesmas informações que a função de onda em questão. ■

De forma geral, podemos escrever a Eq. (A.21) na forma de um operador

$$\hat{\rho} \equiv \sum_i |\psi_i\rangle \rho_{ii} \langle \psi_i|, \quad (\text{A.25})$$

onde ρ_{ii} é um “peso” que caracteriza a densidade dado pela medida de um observável O , definido a partir do operador \hat{O} , tal que a média, ou o valor esperado, desse operador para funções de onda normalizadas, será:

$$\langle \hat{O} \rangle = \sum_i \rho_{ii} \langle \psi_i | \hat{O} | \psi_i \rangle$$

recorrendo à relação de fechamento $\sum_{b'} |b'\rangle \langle b'| = 1$, teremos:

$$\begin{aligned} \langle \hat{O} \rangle &= \sum_i \rho_{ii} \sum_{b''} \sum_{b'} \langle \psi_i | b' \rangle \langle b' | \hat{O} | b'' \rangle \langle b'' | \psi_i \rangle \\ \langle \hat{O} \rangle &= \sum_{b''} \sum_{b'} \left[\sum_i \langle b'' | \psi_i \rangle \rho_{ii} \langle \psi_i | b' \rangle \right] \langle b' | \hat{O} | b'' \rangle \\ \langle \hat{O} \rangle &= \sum_{b''} \sum_{b'} \langle b'' | \hat{\rho} | b' \rangle \langle b' | \hat{O} | b'' \rangle \\ \langle \hat{O} \rangle &= \sum_{b''} \langle b'' | \hat{\rho} \hat{O} | b'' \rangle \rightarrow \langle \hat{O} \rangle = Tr \left(\hat{\rho} \hat{O} \right), \end{aligned} \quad (\text{A.26})$$

em que $Tr \left(\hat{\rho} \hat{O} \right)$ é o traço da matriz formada pelo operador densidade $\hat{\rho}$ aplicado no operador \hat{O} , relativo ao observável O . Dessa forma, teremos que $O = O[\rho(\mathbf{r})]$, que é uma das grandes vantagens em se elaborar um formalismo baseado na densidade, pois a medida do observável é um funcional da densidade

Teorema A.2 *A energia do estado fundamental $E_0[\rho]$ é mínima para a densidade $\rho(\mathbf{r})$ exata,*

$$E[\rho] = \langle \psi | \hat{T} + \hat{U} + \hat{V} | \psi \rangle \quad (\text{A.27})$$

Demonstração: A prova desse teorema é razoavelmente simples e está ancorada no princípio variacional. De acordo com a Eq. (A.26), temos que a energia é um funcional da densidade, uma vez que E é o valor esperado do operador hamiltoniano \hat{H} , onde $E = E[\rho] = Tr \left(\hat{\rho} \hat{H} \right)$. Pelo princípio variacional (Eq. (A.5)), temos para o estado fundamental que

$$E[\rho] \geq E[\rho_0], \quad (\text{A.28})$$

onde a igualdade é satisfeita quando $\rho = \rho_0$ que leva a $\psi = \psi_0$, em que ρ_0 e ψ_0 são a densidade exata e a função de onda do estado fundamental, reciprocamente.

■

Os teoremas acima apresentados constituem o arcabouço fundamental para a DFT,

uma vez que eles estabelecem: primeiro, a energia é um funcional da densidade, cujo mínimo de energia do estado fundamental é dado quando a densidade $\rho(\mathbf{r})$ equivale à exata; segundo, o potencial externo $v(\mathbf{r})$ é funcional único da densidade eletrônica $\rho(\mathbf{r})$, ou seja, o potencial externo em questão determina a densidade. Assim, para um sistema multi-atômico, a solução eletrônica - de acordo com a aproximação de Born-Oppenheimer - será dada considerando um potencial “externo” gerado pela configuração nuclear. Portanto, se unirmos os dois teoremas, temos que dada a relação única entre esse potencial “externo” e a densidade $\rho(\mathbf{r})$, que deve ser a densidade exata, conseqüentemente, encontraremos a energia mínima do sistema, ou seja a densidade eletrônica para um dado arranjo nuclear que gera um mínimo de energia será a densidade exata. O grande problema da DFT consiste justamente no fato de que não se sabe como construir *ab initio* a dependência do funcional da energia com a densidade $\rho(\mathbf{r})$ exata, portanto recorreremos a métodos aproximados a saber os mais importantes: Aproximação Local da Densidade (LDA, do inglês *Local Density Approximation*); e Aproximação do Gradiente Generalizado (GGA, do inglês *Generalized Gradient Approximation*).

Para resolver o problema de encontrar a densidade para o sistema de muitos elétrons interagentes, em 1965, Kohn e Sham [79] demonstraram que existe uma equivalência entre as densidades eletrônicas do sistema real e de um sistema *modelo* de elétrons não-interagentes submetidos ao potencial efetivo, V_{ef} . Dessa forma, obtém-se a densidade eletrônica desse sistema não-interagente e a correlacionamos com o sistema real. A densidade pode ser expressa em termos dos orbitais $\psi_i(\vec{r})$ para um elétron, que são conhecidos com os orbitais de Kohn-Sham (KS),

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_i^N |\psi_i(\mathbf{r})|^2, \quad (\text{A.29})$$

em que a soma é realizada para todos os N elétrons. Como não sabemos a densidade $\rho(\mathbf{r})$ exata, de acordo com o segundo teorema de Hohenberg e Kohn apresentado acima (Eq. (A.28)), a energia será

$$E^{DFT} = \min_{\rho(\mathbf{r})} E[\rho(\mathbf{r})] \quad (\text{A.30})$$

Além de expressarmos o funcional da energia em termos da densidade (Eq. (A.30)), podemos fazê-lo em termos dos orbitais de um elétron, devido à Eq. (A.29):

$$E^{DFT} = \min_{\{\psi_i\}} E^{KS}[\{\psi_i(\mathbf{r})\}, \{\vec{R}_N\}], \quad (\text{A.31})$$

em que E^{KS} pode ser escrito como

$$E^{KS} = \sum_i^N \int \psi_i^*(\vec{r}) \left(\frac{-\nabla^2}{2} \right) \psi_i(\vec{r}) d^3r + \int V(\vec{r}) \rho(\vec{r}) d^3r + \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\vec{r}) \rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d^3r d^3r' + E_{xc}[\rho(\vec{r})] \quad (\text{A.32})$$

em que $E_{xc}[\rho(\vec{r})]$ contém as energias de *troca* e *correlação* de um sistema interagente com densidade $[\rho(\vec{r})]$. Esse termo não é universal, dependendo portanto do sistema em questão, e sua forma funcional exata não é conhecida. Reescrevamos a Eq. (A.32), considerando o funcional de energia da seguinte forma:

$$E^{DFT}[\rho(\vec{r})] = \int V(\vec{r}) \rho(\vec{r}) d^3r + T_0[\rho] + \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\vec{r}) \rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d^3r d^3r' + \int \rho(\vec{r}) E_{xc}[\rho(\vec{r})] d^3r \quad (\text{A.33})$$

e usemos o princípio variacional, tomando a variação de $E[\rho(\vec{r})]$, com o vínculo da conservação da carga total do sistema

$$\int \rho(\vec{r}) d^3r = N$$

De acordo com nossa proposição Eq. (A.30), de que a energia deve ser um mínimo e tomando o vínculo acima, teremos:

$$\delta \left(E^{DFT}[\rho] - \lambda \left[\int \rho(\vec{r}) d^3r - N \right] \right) = 0 \quad (\text{A.34})$$

que resulta em

$$\int \delta\rho(\vec{r}) \left\{ \frac{\delta T_0}{\delta\rho} + \frac{\delta V(\vec{r})}{\delta\rho} + V(\vec{r}) + \frac{\delta E_{xc}}{\delta\rho} - \lambda \right\} d^3r = 0$$

$$\int \delta\rho(\vec{r}) \left\{ \frac{\delta T_0}{\delta\rho} + \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d^3r' + V(\vec{r}) + v_{xc}[\rho] - \lambda \right\} d^3r = 0, \quad (\text{A.35})$$

para o funcional dado por Eq. (A.33). $v_{xc}[\rho]$ é o potencial de troca-correlação, dado por

$$v_{xc}[\rho] = \frac{\delta E_{xc}}{\delta \rho} \quad (\text{A.36})$$

Para uma variação arbitrária da densidade dada por Eq. (A.29), a solução da Eq. (A.35) pode ser obtida resolvendo a equação de Schrödinger para uma partícula submetida ao potencial efetivo de Kohn-Sham (v^{KS}):

$$\hat{h}^{KS} \psi_i(\vec{r}) = \epsilon_i \psi_i(\vec{r}) \rightarrow \left(-\frac{1}{2} \nabla^2 + \hat{v}^{KS}[\rho] \right) \psi_i(\vec{r}) = \epsilon_i \psi_i(\vec{r}), \quad (\text{A.37})$$

ou

$$\left(-\frac{1}{2} \nabla^2 + \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d^3 r' + V(\vec{r}) + v_{xc}[\rho] \right) \psi_i(\vec{r}) = \epsilon_i \psi_i(\vec{r}) \quad (\text{A.38})$$

Vemos das Eqs. (A.37) e (A.38) que v^{KS} depende da densidade ρ e esta, por sua vez, depende do potencial v^{KS} , devido à definição da densidade dada por Eq. (A.29). Dessa forma, a solução da equação de Kohn-Sham se apresenta como um esquema autoconsistente, que pode ser resumido pelo fluxograma mostrado na Figura 57. Além dessa autoconsistência, temos que v^{KS} depende do potencial de troca-correlação v_{xc} (Eq. (A.36)). Todos os termos da Eq. (A.38) podem ser calculados de forma exata, exceto $v_{xc}[\rho(\mathbf{r})]$ obtido a partir de Eq. (A.36) para o qual a DFT não fornece uma forma explícita, demonstrando apenas que existe uma expressão universal para a energia de troca-correlação E_{xc}

$$E_{xc}[\rho(\vec{r})] = \int \rho(\vec{r}) \epsilon_{xc}[\rho(\vec{r})] d^3 r \quad (\text{A.39})$$

e é para a determinação desse termo que entram os métodos aproximados que serão discutidos a seguir, *e.g.* LDA e GGA.

Para obtermos o valor da energia total do sistema em função dos autovalores ϵ_i , faremos uso das equações de KS (A.37), de forma que multiplicando à esquerda da Eq. (A.38) por ψ_i^* , integrando em todo espaço e somando sobre todos os orbitais ocupados, teremos para função de onda normalizada ($\int \psi_i^* \psi_i d^3 r = 1$):

$$\sum_i^N \int \psi_i^*(\vec{r}) \left(-\frac{1}{2} \nabla^2 + \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d^3 r' + V(\vec{r}) + v_{xc}[\rho] \right) \psi_i(\vec{r}) = \sum_i^N \int \epsilon_i \psi_i^*(\vec{r}) \psi_i(\vec{r}) d^3 r \quad (\text{A.40})$$

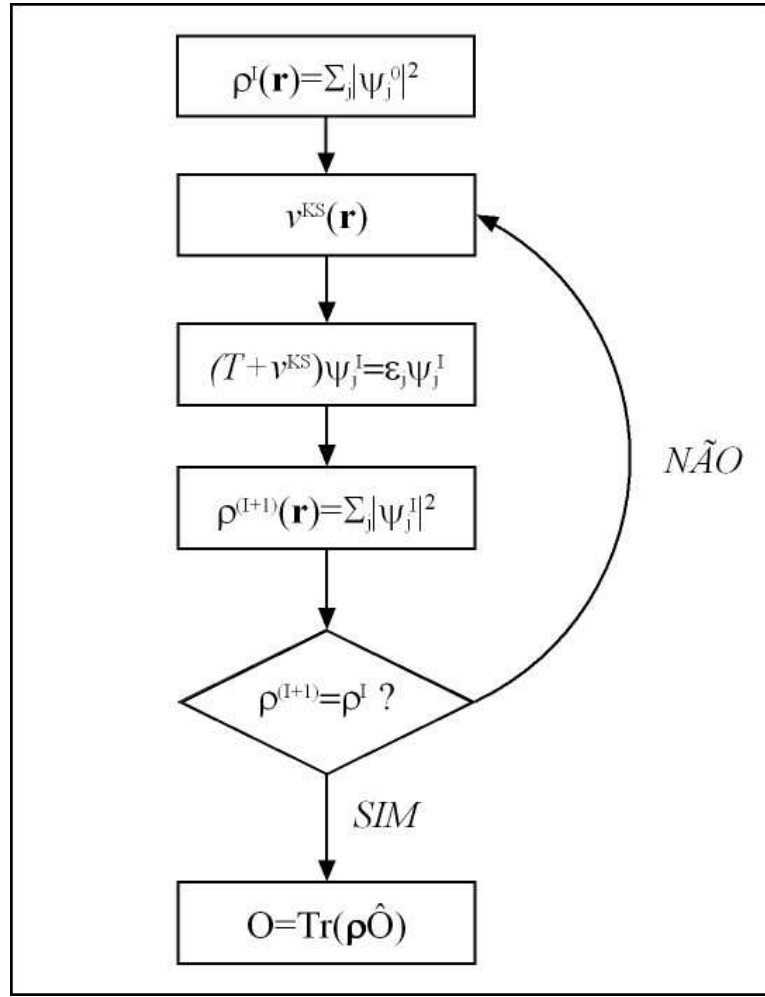


Figura 57: Demonstração do ciclo autoconsistente para resolver a equação de Kohn-Sham (A.37) até o cálculo dos observáveis $O = O[\rho]$. (Adaptado de [80])

que resulta em

$$T_0[\rho(\vec{r})] + \int V(\vec{r})\rho(\vec{r})d^3r + \int \int \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|}d^3rd^3r' + \int v_{xc}[\rho]\rho(\vec{r})d^3r = \sum_i^N \epsilon_i d^3r \quad (\text{A.41})$$

Se compararmos a equação acima com o funcional de energia semelhante à Eq. (A.33):

$$E[\rho] = \int V(\vec{r})\rho(\vec{r})d^3r + T_0[\rho] + \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|}d^3rd^3r' + \int \rho(\vec{r})\epsilon_{xc}[\rho]d^3r \quad (\text{A.42})$$

obteremos que a energia escrita em função dos autovalores ϵ_i será dada por:

$$E[\rho] = \sum_i^N \varepsilon_i - \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d^3r d^3r' + \int \rho(\vec{r}) \{ \varepsilon_{xc}[\rho] - v_{xc}[\rho] \} d^3r \quad (\text{A.43})$$

A.3.1 Aproximação da Densidade Local

A base da LDA, está em considerar a energia de troca-correlação E_{xc} para um sistema de densidade $\rho(\vec{r})$ como sendo a energia de troca-correlação para um gás de elétrons uniforme com a mesma densidade, que é conhecida de forma precisa. Ainda, ela supõe que a densidade $\rho(\vec{r})$ varia suavemente nas proximidades de \vec{r} , ou seja, a energia de troca-correlação de um elétron em um dado ponto depende da densidade eletrônica nesse ponto, em vez de depender da densidade eletrônica em todos os pontos do espaço. Dessa forma, sistemas fracamente interagentes são mal descritos por essa aproximação, como interações de van de Waals, por exemplo [72]. Dessa forma, a energia de troca-correlação será escrita como:

$$E_{xc}[\rho(\vec{r})] = \int \rho(\vec{r}) \varepsilon_{xc}^h[\rho(\vec{r})] d^3r \quad (\text{A.44})$$

e o potencial v_{xc}

$$v_{xc}[\rho(\vec{r})] = \frac{d}{d\rho(\vec{r})} (\rho(\vec{r}) \varepsilon_{xc}^h[\rho(\vec{r})]) \quad (\text{A.45})$$

Uma das sugestões para o cálculo da E_{xc} , é separar os termos de troca (que para o caso do gás homogêneo pode ser obtido facilmente) e de correlação, e assim teremos

$$E_{xc}[\rho(\vec{r})] \approx E_{xc}^{LDA}[\rho(\vec{r})] = \int \rho(\vec{r}) \{ \varepsilon_x[\rho(\vec{r})] + \varepsilon_c[\rho(\vec{r})] \} d^3r \quad (\text{A.46})$$

Uma extensão da LDA para casos não restritos ou para sistemas de camadas abertas (ou seja, sistemas em que a configuração eletrônica apresenta elétrons não emparelhados) leva à Aproximação da Densidade de Spin Local (LSDA, do inglês *Local Spin-Density Approximation*). Para incluir esse efeito, consideraremos a função do spin $\xi(\sigma)$, que pode ser escrita como de forma semelhante à Eq. (A.9). Assim, a Eq. (A.44) fica:

$$E_{xc}^{LSDA}[\rho_\alpha(\vec{r}), \rho_\beta(\vec{r})] = \int \rho(\vec{r}) \varepsilon_{xc}[\rho_\alpha(\vec{r}), \rho_\beta(\vec{r})] d^3r \quad (\text{A.47})$$

em que uma correção análoga a Eq. (A.46) pode ser feita. Ainda, pode-se usar a distribuição de densidade de spin para descrever onde elétrons α (\uparrow) e β (\downarrow) estão localizados em um dado sistema, ou seja, calcular a diferença $\rho_\alpha(\vec{r}) - \rho_\beta(\vec{r})$. Assim, em um sistema em que todos os elétrons estão emparelhados, a densidade de spin é zero em todos os pontos no espaço, enquanto que qualquer sistema que contenha elétrons desemparelhados irá mostrar regiões de densidade de spin não nulas. A integral da densidade de spin em todo o espaço

$$\int [\rho_\alpha - \rho_\beta] d^3r$$

fornece o número total de elétrons desemparelhados (*e.g.* zero para o estado singleto, um para o dubleto, dois para o tripleto, e assim por diante).

A.3.2 Aproximação do Gradiente Generalizado

Em sistemas que apresentam inomogeneidades significativas na densidade eletrônica ρ (*e.g.* ligações ressonantes), métodos baseados na aproximação local da densidade (LDA e LSDA) não oferecem a precisão desejada (como ocorre para a maior parte das aplicações na química e na biologia), levando a erros de forma não sistemática, por exemplo, no comprimento e nas energias de ligação. Um avanço no sentido de resolver essas pendências que a LDA deixa consiste em introduzir a dependência com o gradiente da densidade ($\nabla\rho(\vec{r})$) na expressão do funcional dado pela Eq. (A.39). Para um sistema de camada aberta, esse funcional pode ser genericamente escrito da seguinte forma:

$$E_{xc}^{GGA}[\rho_\alpha, \rho_\beta] = \int f(\rho_\alpha, \rho_\beta, \nabla\rho_\alpha, \nabla\rho_\beta) d^3r \quad (\text{A.48})$$

Também no formalismo da GGA, o funcional E_{xc}^{GGA} é geralmente dividido em duas partes, uma contendo os termos do funcional de troca E_x^{GGA} e a outra, do funcional de correlação E_c^{GGA} . No artigo de Filippi *et. al.* [81] é feita uma comparação entre funcionais de densidade exatos e aproximados para um modelo que pode ser resolvido exatamente, usando alguns dos funcionais mais utilizados.

Existem também os chamados funcionais híbridos, que são formados a partir de uma mistura de uma fração do termo de troca de Hartree-Fock no funcional de troca da DFT, a partir de dados experimentais para sistemas moleculares conhecidos, contendo parâmetros ajustáveis. O uso desses funcionais faz com que alguns autores questionem a DFT como

sendo uma teoria de primeiros princípios ou *ab initio*. Para referência, podemos citar alguns dos funcionais mais conhecidos:

- **PBE** - baseado nos trabalhos de Perdew, Burke e Erzenhof [18, 51];
- **BLYP** - combinação do termo de troca desenvolvido por Becke [82] com o de correlação, por Lee-Yang-Parr [83];
- **BP86** - combinação do termo de troca de Becke [82] e o de correlação dado por Perdew [84];
- **B3LYP** - termo de troca exato desenvolvido por Becke [85].
- **PW91** - aproximação do gradiente generalizado desenvolvido por Perdew-Wang [86]

Embora o uso da GGA melhore consideravelmente a descrição de ligações (principalmente ligações de hidrogênio) quando comparado com a LDA sem que haja um aumento proibitivo do custo computacional, a descrição de ligações fracas (*e.g.* interações de van der Waals) permanece problemática.

A.4 Conjuntos de Base

Nas seções anteriores, mostramos que os métodos aproximativos para solução do problema de um sistema multi-eletrônico e multi-nuclear levam a equações que são resolvidas de forma autoconsistente, Eqs. (A.17), (A.18), (A.37), (A.38) e Fig. 57. Uma lacuna, entretanto, ficou aberta até aqui, pois o processo autoconsistente reside também no fato de que os operadores (no caso do Hartree-Fock) e dos funcionais (no caso da DFT) apresentam dependência com a função de onda, de forma que a situação é de que para construirmos esses operadores e funcionais para encontrarmos a função de onda, precisamos conhecê-la de antemão. A autoconsistência também serve, então, para otimizarmos a função de onda na medida em que se minimiza a energia, ou a densidade, no caso da DFT.

Em geral, supõe-se que a função de onda para um dado sistema apresente alguma simetria que possa facilitar os cálculos, de acordo com a simetria do próprio sistema. É desejável, principalmente, que se possa escolher a função de onda com parâmetros que sejam ajustáveis durante a autoconsistência. De acordo com cada metodologia, existem, por exemplo para a DFT, duas formas de se estimar a função de onda: (*i*) *Orbitais*

Numéricos, em que se calcula previamente as funções de onda para os orbitais atômicos e os utiliza para construir os orbitais moleculares, *e.g.* construção da densidade a partir dos orbitais em Eq. (A.29); *(ii) Conjuntos de Bases*, em que as funções de onda $\psi_i(\vec{r})$ (ou os orbitais de Kohn-Sham) são expandidas em um conjunto de base $\phi_{ij}(\vec{r})$,

$$\psi_i(\vec{r}) = \sum_j c_j \phi_{ij}(\vec{r}) \quad (\text{A.49})$$

A expansão acima deve ser, em princípio, realizada até o infinito, mas ela é sempre truncada, de forma que apenas um conjunto limitado de funções de base é usado. Uma das funções mais utilizadas em expansões desse tipo, são funções gaussianas, de forma que a expansão (A.49) será dada por:

$$\psi_i(\vec{r}) = \sum_j c_j e^{-\alpha_j r^2} \quad (\text{A.50})$$

A precisão do cálculo dada pela expansão para um determinado conjunto de base, *e.g.* a base gaussiana (A.50) depende do número de funções que são usadas para representar cada *momentum* angular atômico e do “espalhamento” da função gaussiana, dado pelo valor do expoente α (valores grandes/pequenos de α resultam em funções compactas/difusas). Várias notações são utilizadas para especificar um conjunto particular funções atômicas gaussianas, tais como o conjunto de base de valência dividida de Pople (*e.g.*, 3-21G, 6-31G* ou 6-311++G(2d, 2p)) ou os conjuntos de base *N-zeta valência polarizada consistente-correlacionada* de Dunning (N=duplo, triplo, etc., *e.g.*, cc-pVDZ, cc-pVTZ) dentre outros.

Outra forma de se determinar os orbitais de KS, está no conjunto de base obtido com a expansão em ondas planas (OP) para sistemas periódicos (cristais),

$$\psi_i(\vec{r}) = \frac{1}{\Omega^{1/2}} \sum_G^{G_{\max}} G e^{i\vec{G}\cdot\vec{R}}, \quad (\text{A.51})$$

onde Ω é o volume da célula e G é o *momentum* de ondas. Conjuntos de bases de OP são denotadas por um valor de energia E_{cut} relacionado com o máximo valor de G da expansão (A.51).

As ondas planas, diferentemente das funções gaussianas, não são centralizadas nos átomos, mas se estendem por todo o espaço. De maneira a reduzir o grande número de ondas planas necessárias para encontrar uma descrição confiável dos orbitais de KS,

os efeitos dos elétrons de caroço são usualmente descritos em termos de *pseudopotenciais* [87]. Com o uso de pseudopotenciais, as funções de onda são analisadas de forma diferente, em que os átomos são descritos por elétrons de valência ligados a um núcleo iônico e nesse formalismo é considerado que as propriedades de moléculas e sólidos são calculados partindo do princípio que os núcleos iônicos não estão envolvidos em ligações químicas e não se modificam com mudanças estruturais.

De forma a contornar o fato de que o conjunto de base aumenta consideravelmente quando todos os elétrons são tratados explicitamente, a aproximação por pseudopotenciais substitui os elétrons de caroço e o potencial Coulombiano forte por um pseudopotencial fraco que atua em um conjunto de pseudo funções de onda, e que podem ser representados por um número baixo de coeficientes de Fourier. Na realidade, pseudopotenciais são construídos de forma a reproduzir com alta fidelidade as propriedades de espalhamento do potencial iônico completo. De forma geral, os pseudopotenciais podem ser descritos na forma:

$$V_{NL} = \sum |lm\rangle V_l \langle lm| \quad (\text{A.52})$$

onde $|lm\rangle$ são os harmônicos esféricos e V_l é o pseudopotencial para o momento angular l . Pseudopotenciais são usualmente classificados quanto à *dureza*, relacionado com o número de componentes de Fourier são necessários para descrevê-los, de forma que quanto menor for esse número mais “macio” é considerado o pseudopotencial. De forma geral, espera-se que esse tipo de aproximação reproduzam a densidade de cargas associada com ligações químicas exatamente e, para isso é necessário que as funções de onda tanto pseudo quanto para todos os elétrons sejam idênticas a partir de um raio de corte (relacionado com o “tamanho” do núcleo iônico). Para isso é necessário que as integrais de amplitude quadrada das duas funções sejam as mesmas, ou seja, a norma da pseudo função de onda seja conservada. Na linha contrária a essa abordagem, Vanderbilt [50] sugeriu um formalismo em que a condição de conservação da norma seja relaxada de forma a se obter pseudopotenciais bem mais macios. Nesse esquema, as pseudo funções de onda são permitidas de serem as mais macias possíveis, resultando em uma diminuição dramática nas energias de corte necessárias. Essas são basicamente as duas abordagens de pseudopotenciais que serão utilizadas nessa dissertação.

A precisão da DFT não depende, em princípio, do tipo de conjunto de base utilizado (gaussiana, ondas planas, ou qualquer outra), uma vez que a expansão é suficientemente completa para descrever as propriedades relevantes do sistema sob investigação.

Referências

- [1] WATSON, J. D.; CRICK, F. H. C. Molecular structure of nucleic acids - a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, v. 171, n. 4356, p. 737–738, 1953.
- [2] WATSON, J. D.; CRICK, F. H. C. Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature*, v. 171, n. 4361, p. 964–967, 1953.
- [3] COLLINS, F. S.; MORGAN, M.; PATRINOS, A. The human genome project: Lessons from large-scale biology. *Science*, v. 300, n. 5617, p. 286–290, 2003.
- [4] LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Principles of Biochemistry*. 4th. ed. New York: W.H. Freeman, 2005. David L. Nelson, Michael M. Cox. Principles of biochemistry ill. (some col.) ; 29 cm.
- [5] RAJENDRA, S.; LYNCH, J. W.; SCHOFIELD, P. R. The glycine receptor. *Pharmacology and Therapeutics*, v. 73, n. 2, p. 121–146, 1997.
- [6] DAHAN, M.; LEVI, S.; LUCCARDINI, C.; ROSTAING, P.; RIVEAU, B.; TRILLER, A. Diffusion dynamics of glycine receptors revealed by single-quantum dot tracking. *Science*, v. 302, n. 49, p. 442–445, 2003.
- [7] LYNCH, J. W.; RAJENDRA, S.; PIERCE, K. D.; HANDFORD, C. A.; BARRY, P. H.; SCHOFIELD, P. R. Identification of intracellular and extracellular domains mediating signal transduction in the inhibitory glycine receptor chloride channel. *Embo Journal*, v. 16, n. 1, p. 110–120, 1997.
- [8] LESKOWITZ, G. M.; GHADERI, N.; OLSEN, R. A.; MUELLER, L. J. Three-qubit nuclear magnetic resonance quantum information processing with a single-crystal solid. *Journal of Chemical Physics*, v. 119, n. 4, p. 1643–1649, 2003.
- [9] BLACK, S. N.; DAVEY, R. J. Crystallization of amino-acids. *Journal of Crystal Growth*, v. 90, n. 2, p. 136–144, 1988.
- [10] SWENSON, M.; LANGUELL, M.; GOLDEN, J. *Modeling and simulation: The return on investment in materials science (IDC white paper)*. [S.l.], Julho 2004.
- [11] WIKIPEDIA: THE FREE ENCICLOPEDIA. *Glycine*. Disponível em: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Glycine>>. Acesso em: 21 fev. 2007.
- [12] CHAKRABORTY, D.; MANOGARAN, S. Vibrational analysis of glycine zwitterion - an ab initio study. *Chemical Physics Letters*, v. 294, n. 1, p. 56–64, 1998.
- [13] GODFREY, P. D.; BROWN, R. D. Shape of glycine. *Journal of the American Chemical Society*, v. 117, n. 20, p. 2019–2023, 1995.

- [14] REVA, I. D.; PLOKHOTNICHENKO, A. M.; STEPANIAN, S. G.; IVANOV, A. Y.; RADCHENKO, E. D.; SHEINA, G. G.; BLAGOI, Y. P. The rotamerization of conformers of glycine isolated in inert-gas matrices - an infrared spectroscopic study. *Chemical Physics Letters*, v. 232, n. 11, p. 141–148, 1995.
- [15] STEPANIAN, S. G.; REVA, I. D.; RADCHENKO, E. D.; ROSADO, M. T. S.; DUARTE, M. L. T. S.; FAUSTO, R.; ADAMOWICZ, L. Matrix-isolation infrared and theoretical studies of the glycine conformers. *Journal of Physical Chemistry A*, v. 102, n. 1-3, p. 1041–1054, 1998.
- [16] FISCHER, G.; CAO, X. L.; COX, N.; FRANCIS, M. The ft-ir spectra of glycine and glycyglycine zwitterions isolated in alkali halide matrices. *Chemical Physics*, v. 313, n. 1-3, p. 39–49, 2005.
- [17] MESSER, B. M.; CAPP, C. D.; SMITH, J. D.; WILSON, K. R.; GILLES, M. K.; COHEN, R. C.; SAYKALLY, R. J. pH dependence of the electronic structure of glycine. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 109, n. 1, p. 5375–5382, 2005.
- [18] PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized gradient approximation made simple. *Physical Review Letters*, v. 77, n. 18, p. 3865–3868, 1996.
- [19] HASSELSTROM, J.; KARIS, O.; WEINELT, M.; WASSDAHL, N.; NILSSON, A.; NYBERG, M.; PETTERSSON, L. G. M.; SAMANT, M. G.; STOHR, J. The adsorption structure of glycine adsorbed on cu(110); comparison with formate and acetate/cu(110). *Surface Science*, v. 407, n. 1-3, p. 221–236, 1998.
- [20] TZVETKOV, G.; KOLLER, G.; ZUBAVICHUS, Y.; FUCHS, O.; CASU, M. B.; HESKE, C.; UMBACH, E.; GRUNZE, M.; RAMSEY, M. G.; NETZER, F. P. Bonding and structure of glycine on ordered al₂o₃ film surfaces. *Langmuir*, v. 20, n. 24, p. 10551–10559, 2004.
- [21] BOESE, J.; OSANNA, A.; JACOBSEN, C.; KIRZ, J. Carbon edge xanes spectroscopy of amino acids and peptides. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, v. 85, n. 1-2, p. 9–15, 1997.
- [22] GORDON, M. L.; COOPER, G.; MORIN, C.; ARAKI, T.; TURCI, C. C.; KAZNATCHEEV, K.; HITCHCOCK, A. P. Inner-shell excitation spectroscopy of the peptide bond: Comparison of the c 1s, n 1s, and o 1s spectra of glycine, glycyglycine, and glycyglycyglycine. *Journal of Physical Chemistry A*, v. 107, n. 32, p. 6144–6159, 2003.
- [23] ZUBAVICHUS, Y.; ZHARNIKOV, M.; SCHAPORENKO, A.; GRUNZE, M. Ni xafs study of glycine and glycine-based oligopeptides. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, v. 134, n. 1, p. 25–33, 2004.
- [24] PERLOVICH, G. L.; HANSEN, L. K.; BAUER-BRANDL, A. The polymorphism of glycine - thermochemical and structural aspects. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 66, n. 8, p. 699–715, 2001.
- [25] ALBRECHT, G.; COREY, R. B. The crystal structure of glycine. *Journal of the American Chemical Society*, v. 61, n. 5, p. 1087–1103, 1939.

- [26] KVICK, A.; KOETZLE, T. F.; STEVENS, E. D. Deformation electron-density of alpha-glycylglycine at 82-k .2. x-ray-diffraction study. *Journal of Chemical Physics*, v. 71, n. 2, p. 173–179, 1979.
- [27] IITAKA, Y. The crystal structure of γ -glycine. *Acta Crystallographica*, v. 11, n. 24, p. 225–226, 1958.
- [28] IITAKA, Y. Crystal structure of γ -glycine. *Acta Crystallographica*, v. 14, n. 13, p. 1, 1961.
- [29] DAWSON, A.; ALLAN, D. R.; BELMONTE, S. A.; CLARK, S. J.; DAVID, W. I. F.; MCGREGOR, P. A.; PARSONS, S.; PULHAM, C. R.; SAWYER, L. Effect of high pressure on the crystal structures of polymorphs of glycine. *Crystal Growth and Design*, v. 5, n. 4, p. 1415–1427, 2005.
- [30] IITAKA, Y. Crystal structure of β -glycine. *Nature*, v. 183, n. 24, p. 390–391, 1959.
- [31] IITAKA, Y. The crystal structure of β -glycine. *Acta Crystallographica*, v. 13, n. 11, p. 35–45, 1960.
- [32] FERRARI, E. S.; DAVEY, R. J.; CROSS, W. I.; GILLON, A. L.; TOWLER, C. S. Crystallization in polymorphic systems: The solution-mediated transformation beta to alpha glycine. *Crystal Growth and Design*, v. 3, n. 1, p. 53–60, 2003.
- [33] MARSH, R. E. A refinement of the crystal structure of glycine. *Acta Crystallographica*, v. 11, n. 9, p. 654–663, 1958.
- [34] ALMLOF, J.; KVICK, A.; THOMAS, J. O. Hydrogen-bond studies .77. electron-density distribution in α -glycine - x-n difference fourier synthesis vs ab-initio calculations. *Journal of Chemical Physics*, v. 59, n. 8, p. 3901–3906, 1973.
- [35] LEGROS, J. P.; KVICK, A. Hydrogen-bond studies .140. deformation electron-density of α -glycine at 120-k. *Acta Crystallographica Section B-Structural Science*, v. 36, n. 5727, p. 3052–3059, 1980.
- [36] PEETERS, A.; VANALSENOY, C.; LENSTRA, A. T. H.; GEISE, H. J. Solids modeled by ab-initio crystal-field methods .10. structure of α -glycine, β -glycine, and γ -glycine using a 15-molecule cluster. *Journal of Chemical Physics*, v. 103, n. 3, p. 6608–6616, 1995.
- [37] DOVBESHKO, G.; BEREZHINSKY, L. Low frequency vibrational spectra of some amino acids. *Journal of Molecular Structure*, v. 450, n. 10, p. 121–128, 1998.
- [38] MURLI, C.; SHARMA, S. M.; KARMAKAR, S.; SIKKA, S. K. α -glycine under high pressures: a raman scattering study. *Physica B-Condensed Matter*, v. 339, n. 1, p. 23–30, 2003.
- [39] SHI, Y. L.; WANG, L. Collective vibrational spectra of alpha- and gamma-glycine studied by terahertz and raman spectroscopy. *Journal of Physics D-Applied Physics*, v. 38, n. 19, p. 3741–3745, 2005.

- [40] BOEK, E. S.; FEIL, D.; BRIELS, W. J.; BENNEMA, P. From wave-function to crystal morphology - application to urea and alpha-glycine. *Journal of Crystal Growth*, v. 114, n. 5, p. 389–410, 1991.
- [41] LIN, C. H.; GABAS, N.; CANSELIER, J. P.; PEPE, G. Prediction of the growth morphology of aminoacid crystals in solution i. alpha-glycine. *Journal of Crystal Growth*, v. 191, n. 11, p. 791–802, 1998.
- [42] LIN, C. H.; GABAS, N.; CANSELIER, J. P. Prediction of the growth morphology of aminoacid crystals in solution ii. gamma-aminobutyric acid. *Journal of Crystal Growth*, v. 191, n. 1-4, p. 803–810, 1998.
- [43] BISKER-LEIB, V.; DOHERTY, M. F. Modeling crystal shape of polar organic materials: Applications to amino acids. *Crystal Growth and Design*, v. 3, n. 1-3, p. 221–237, 2003.
- [44] CHISHOLM, J. A.; MOTHERWELL, S.; TULIP, P. R.; PARSONS, S.; CLARK, S. J. An ab initio study of observed and hypothetical polymorphs of glycine. *Crystal Growth and Design*, v. 5, n. 4, p. 1437–1442, 2005.
- [45] WILLETT, R. L.; BALDWIN, K. W.; WEST, K. W.; PFEIFFER, L. N. Differential adhesion of amino acids to inorganic surfaces. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 102, p. 7817–7822, 2005.
- [46] STROSCIO, M. A.; DUTTA, M. Integrated biological-semiconductor devices. *Proceedings of the Ieee*, v. 93, n. 19, p. 1772–1783, 2005.
- [47] CAETANO, E. W. S.; PINHEIRO, J. R.; FLORES, M. Z. S.; FREIRE, V. N.; FARIAS, G. A.; BEZERRA, G. A.; CAVADA, B. S.; FERNANDEZ, J. R. L.; LEITE, J. R.; OLIVEIRA, M. C. F. de; PINHEIRO, J. A.; FILHO, J. L. de L.; ALVES, H. W. L. Molecular Signature in the Photoluminescence of α -Glycine, L-Alanine and L-Asparagine Crystals: Detection, ab initio Calculations, and Bio-sensor Applications. In: MENÉNDEZ, J.; WALLE, C. van de (Ed.). *AIP Conf. Proc. 772: Physics of Semiconductors*. [S.l.: s.n.], 2005. p. 1095–1096.
- [48] TULIP, P. R.; CLARK, S. J. Structural and electronic properties of l-amino acids. *Physical Review B*, v. 71, n. 22, p. –, 2005.
- [49] SEGALL, M. D.; LINDAN, P. J. D.; PROBERT, M. J.; PICKARD, C. J.; HASNIP, P. J.; CLARK, S. J.; PAYNE, M. C. First-principles simulation: ideas, illustrations and the castep code. *Journal of Physics: Condensed Matter*, v. 14, n. 11, p. 2717–2743, 2002.
- [50] VANDERBILT, D. Correction. *Physical Review B*, v. 42, n. 21, p. 11373–11373, 1990.
- [51] PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized gradient approximation made simple (vol 77, pg 3865, 1996). *Physical Review Letters*, v. 78, n. 7, p. 1396–1396, 1997.
- [52] MONKHORST, H. J.; PACK, J. D. Special points for brillouin-zone integrations. *Physical Review B*, v. 13, n. 15, p. 5188–5192, 1976.

- [53] PFROMMER, B. G.; COTE, M.; G., L. S.; COHEN, M. L. Relaxation of crystals with the quasi-newton method. *Journal of Computational Physics*, v. 131, p. 133–140, 1997.
- [54] DELLEY, B. An all-electron numerical-method for solving the local density functional for polyatomic-molecules. *Journal of Chemical Physics*, v. 92, n. 1, p. 508–517, 1990.
- [55] DELLEY, B. From molecules to solids with the dmol(3) approach. *Journal of Chemical Physics*, v. 113, n. 18, p. 7756–7764, 2000.
- [56] BEAMSON, D.; BRIGGS, D. *High resolution XPS of organic polymers: The scientia ESCA 3000 database*. New York: Wiley, 1992.
- [57] BUTCHER, D. J.; SNEDDON, J. *A practical guide to graphite furnace atomic absorption spectrometry*. New York: Wiley, 1998. (Chemical analysis ; v. 149). David J. Butcher, Joseph Sneddon. ill. ; 24 cm. "A Wiley-Interscience publication."
- [58] KADANTSEV, E. S.; STOTT, M. J.; RUBIO, A. Electronic structure and excitations in oligoacenes from ab initio calculations. *Journal of Chemical Physics*, v. 124, n. 3-4, p. -, 2006.
- [59] FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; JR., J. A. M.; VREVEN, T.; KUDIN, K. N.; BURANT, J. C.; MILLAM, J. M.; IYENGAR, S. S.; TOMASI, J.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; COSSI, M.; SCALMANI, G.; REGA, N.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; ASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; KLENE, M.; LI, X.; KNOX, J. E.; HRATCHIAN, H. P.; CROSS, J. B.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERTS, R.; STRATMANN, R. E.; YAZYEV, O.; AUSTIN, A. J.; CAMMI, R.; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J. W.; AYALA, P. Y.; MOROKUMA, K.; VOTH, G. A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J. J.; ZAKRZEWSKI, V. G.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A. D.; STRAIN, M. C.; FARKAS, O.; MALICK, D. K.; RABUCK, A. D.; RAGHAVACHARI, K.; FORESMAN, J. B.; ORTIZ, J. V.; CUI, Q.; BABOUL, A. G.; CLIFFORD, S.; CIOSLOWSKI, J.; STEFANOV, B. B.; LIU, G.; LIASHENKO, A.; PISKORZ, P.; KOMAROMI, I.; MARTIN, R. L.; FOX, D. J.; KEITH, T.; AL-LAHAM, M. A.; PENG, C. Y.; NANAYAKKARA, A.; CHALLACOMBE, M.; GILL, P. M. W.; JOHNSON, B.; CHEN, W.; WONG, M. W.; GONZALEZ, C.; POPLE, J. A. *Gaussian03*. [S.l.]: Gaussian, Inc, 2003.
- [60] CHOPRA, I.; HAWKEY, P. M.; HINTON, M. Tetracyclines, molecular and clinical aspects. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 29, n. 3, p. 245–277, 1992.
- [61] SCHNAPPINGER, D.; HILLEN, W. Tetracyclines: Antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms. *Archives of Microbiology*, v. 165, n. 6, p. 359–369, 1996.
- [62] CHOPRA, I.; ROBERTS, M. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 65, n. 9, p. 232–260, 2001.
- [63] KANEKO, M.; YAMAGUCHI, A.; SAWAI, T. Energetics of tetracycline efflux system encoded by tn10 in escherichia-coli. *Febs Letters*, v. 193, n. 2, p. 194–198, 1985.

- [64] YAMAGUCHI, A.; UDAGAWA, T.; SAWAI, T. Transport of divalent-cations with tetracycline as mediated by the transposon tn10-encoded tetracycline resistance protein. *Journal of Biological Chemistry*, v. 265, n. 9, p. 4809–4813, 1990.
- [65] BERENS, C.; HILLEN, W. Gene regulation by tetracyclines - constraints of resistance regulation in bacteria shape tetr for application in eukaryotes. *European Journal of Biochemistry*, v. 270, n. 15, p. 3109–3121, 2003.
- [66] HINRICHS, W.; KISKER, C.; DUVEL, M.; MULLER, A.; TOVAR, K.; HILLEN, W.; SAENGER, W. Structure of the tet repressor tetracycline complex and regulation of antibiotic-resistance. *Science*, v. 264, n. 5157, p. 418–420, 1994.
- [67] KISKER, C.; HINRICHS, W.; TOVAR, K.; HILLEN, W.; SAENGER, W. The complex formed between tet repressor and tetracycline-mg²⁺ reveals mechanism of antibiotic-resistance. *Journal of Molecular Biology*, v. 247, n. Feb15, p. 260–280, 1995.
- [68] PRYTKOVA, T. R.; KURNIKOV, I. V.; BERATAN, D. V. Ab initio based calculations of electron-transfer rates in metalloproteins. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 109, p. 1618–1625, 2005.
- [69] FERNÁNDEZ, A.; COLUBRI, A.; APPIGNANESI, G.; BURASTERO, T. Coarse semiempirical solution to the protein folding problem. *Physica A*, v. 293, p. 358–384, 2001.
- [70] KHALILI, M.; SAUNDERS, J. A.; LIWO, A.; OŁDZIEJ, S.; SCHERAGA, H. A. A united residue force-field for calcium-protein interactions. *Protein Science*, v. 13, n. 10, p. 2725–2735.
- [71] ANDREONI, W.; CURIONI, A.; MORDASINI, T. Dft-based molecular dynamics as a new tool for computational biology: First applications and perspective. *Ibm Journal of Research and Development*, v. 45, n. 3-4, p. 397–407, 2001.
- [72] ROVIRA, C. Study of ligand-protein interactions by means of density functional theory and first-principles molecular dynamics. In: NIENHAUS, G. U. (Ed.). *Protein-ligand interactions : methods and applications*. Totowa, N.J.: Humana Press, 2005. p. 515–551. Edited by G. Ulrich Nienhaus. ill. ; 24 cm. *Methods in molecular biology*, 305.
- [73] OTHERSEN, O. G.; BEIERLEIN, F.; LANIG, H.; CLARK, T. Conformations and tautomers of tetracycline. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 107, n. 4, p. 13743–13749, 2003.
- [74] LANIG, H.; OTHERSEN, O. G.; BEIERLEIN, F. R.; SEIDEL, U.; CLARK, T. Molecular dynamics simulations of the tetracycline-repressor protein: The mechanism of induction. *Journal of Molecular Biology*, v. 359, n. 17, p. 1125–1136, 2006.
- [75] LANIG, H.; OTHERSEN, O. G.; SEIDEL, U.; BEIERLEIN, F. R.; EXNER, T. E.; CLARK, T. Structural changes and binding characteristics of the tetracycline-repressor binding site on induction. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 49, n. 12, p. 3444–3447. 050UR Year = 2006.
- [76] SCHOLZ, O.; SCHUBERT, P.; KINTRUP, M.; HILLEN, W. Tet repressor induction without mg²⁺. *Biochemistry*, v. 39, n. 35, p. 10914–10920, 2000.

- [77] HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. *Physical Review B*, v. 136, n. 3, p. 864–871, 1964.
- [78] KOHN, W. Nobel lecture: Electronic structure of matter - wave functions and density functionals. *Reviews of Modern Physics*, v. 71, n. 5, p. 1253–1266, 1999.
- [79] KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Physical Review A*, v. 140, n. 3-4, p. 1133–1138, 1965.
- [80] VIANNA, J. D. M.; FAZZIO, A.; CANUTO, S. *Teoria Quântica de Moléculas e Sólidos: Simulação computacional*. São Paulo: Livraria da Física, 2004.
- [81] FILIPPI, C.; UMRIGAR, C. J.; TAUT, M. Comparison of exact and approximate density functionals for an exactly soluble model. *Journal of Chemical Physics*, v. 100, n. 2, p. 1290–1296, 1994.
- [82] BECKE, A. D. Density functional calculations of molecular-bond energies. *Journal of Chemical Physics*, v. 84, n. 12, p. 4524–4529, 1986.
- [83] LEE, C. T.; YANG, W. T.; PARR, R. G. Development of the colle-salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron-density. *Physical Review B*, v. 37, n. 2, p. 785–789, 1988.
- [84] PERDEW, J. P. Density-functional approximation for the correlation-energy of the inhomogeneous electron-gas. *Physical Review B*, v. 33, n. 12, p. 8822–8824, 1986.
- [85] BECKE, A. D. A new mixing of hartree-fock and local density-functional theories. *Journal of Chemical Physics*, v. 98, p. 5648–5652, 1993.
- [86] PERDEW, J. P.; CHEVARY, J. A.; VOSKO, S. H.; JACKSON, K. A.; PEDERSON, M. R.; SINGH, D. J.; FIOLETTI, C. Atoms, molecules, solids, and surfaces: Applications of the generalized gradient approximation for exchange and correlation. *Physical Review B*, v. 46, p. 6671–6687, 1992.
- [87] PICKETT, W. E. Pseudopotential methods in condensed matter applications. *Computer Physics Reports*, v. 9, n. 3, p. 115–197, 1989.

ANEXO A – Artigos Escritos Durante o Mestrado

Durante o período de formação em nível de Mestrado, foram escritos cerca de cinco artigos, em que, no atual momento, um já está publicado, dois aceitos e dois em fase final de correções para submissão. Nem todos os artigos em que trabalhei estão discutidos nessa dissertação, que apresenta resultados inéditos na literatura. Por motivo de clareza, listarei os títulos dos artigos e indicarei o status dos mesmos e, em seguida, estarão anexados a formatação final deles:

1. Quantum mechanical *ab initio* calculations of the Raman scattering from psoralens (*publicado na Journal of Physics:Condensed Matter em 2006*);
2. Two different incorporation sites of manganese in single-crystalline monohydrated *L*-asparagine studied by electron paramagnetic resonance (*publicado em 2007 na Physical Review B*);
3. Identification of Lamivudine conformers by Raman scattering measurements and quantum chemical calculations (*publicado em 2007 na Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*);
4. Optical absorption and electronic band structure calculations of α -glycine crystals (*Aceito para publicação na Physical Review B em 2007*);
5. TetR-Tc complexes investigated by *ab initio* calculations (*em fase final de escrita*).

Quantum mechanical *ab initio* calculations of the Raman scattering from psoralens

E M Bezerra¹, M Z S Flores¹, E W S Caetano¹, V N Freire¹, V Lemos¹,
B S Cavada² and J L de Lima Filho³

¹ Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Caixa Postal 6030, Campus do Pici, 60455-670 Fortaleza, Ceará, Brazil

² Departamento de Bioquímica, Laboratório de Bioquímica Molecular, Universidade Federal do Ceará, 60455-670 Fortaleza, Ceará, Brazil

³ Laboratório de Imunopatologia Keizo Azami, Cidade Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, Pernambuco, Brazil

E-mail: volia@fisica.ufc.br

Received 10 April 2006, in final form 20 June 2006

Published 18 August 2006

Online at stacks.iop.org/JPhysCM/18/8325

Abstract

Calculations of Raman spectra were performed in the case of four furanocoumarins: psoralen, bergapten, xanthotoxin, and isopimpinellin. The Raman bands were assigned by using the results for wavevectors also obtained through these calculations. It is shown that an easy distinction between the four compounds can be obtained by the analysis of the higher wavenumber region of the spectrum where the stretching modes of atoms pertaining to the radicals appear. The use of the other spectral regions is possible for this task, but at the expense of some additional reasoning.

1. Introduction

Linear furanocoumarins, including psoralen and its modifications (xanthotoxin, bergapten, and isopimpinellin), are compounds with strong photobiological phototherapeutic activities [1–3]. In the past they were known as a powerful tool in studying the nucleic acid, DNA, structure and function [4]. Recently, they have been proposed to play an important role in pathogen reduction for the safe storage of blood supply [5, 6]. By covalently modifying DNA, psoralens act as a photosensitizer to affect cell differentiation through interaction with cell surface membranes [7]. Psoralen chemical synthesis being rather expensive, its extraction from natural sources is the usual route. The main sources are tropical plants from the rutaceae family, such as: *R. angustifolia*, with dry weight of 7.8 mg g⁻¹ psoralen, 7.2 mg g⁻¹ xanthotoxin, 0.3 mg g⁻¹ isopimpinellin, and 1.7 mg g⁻¹ bergapten; *R. chalepensis*, with dry weight of 1.1 mg g⁻¹ psoralen, 0.1 mg g⁻¹ xanthotoxin, 0.1 mg g⁻¹ isopimpinellin, and 2.6 mg g⁻¹ bergapten; *R. graveolens* (Bergamote lime), with dry weight of 1.3 mg g⁻¹ psoralen, 1.0 mg g⁻¹ xanthotoxin, 0.1 mg g⁻¹ isopimpinellin, and 1.6 mg g⁻¹ bergapten;

and *R. montana* (Rue), with dry weight of 1.4 mg g⁻¹ psoralen, 4.1 mg g⁻¹ xanthotoxin, 0.7 mg g⁻¹ isopimpinellin, and 1.1 mg g⁻¹ bergapten [8]. Other families are known to produce the same compounds but the *Ruta* species contains higher concentrations of furanocoumarins [9]. The bergapten and xanthotoxin compounds are often referred to, alternatively, as 5-methoxypsoralen (5-MOP) and 8-methoxypsoralen (8-MOP), respectively, based on their structural arrangement. Among these compounds, xanthotoxin (8-MOP) is the most used drug, although it competes well with bergapten (5-MOP) in dermatological applications. This latter was found to be better tolerated and to generate fewer side effects than 8-MOP [10]. However, interesting pharmacological applications of 5-MOP were found due to its selective action as an axolemmal potassium blocker. This action is required in a drug for the symptomatic treatment of demyelinating diseases, as in multiple sclerosis [11]. Although all psoralens have similar chemical bondings their biological functions differ considerably. Therefore, it is desirable to clearly identify them, aiming to isolate the structures, for instance by using physical methods.

Raman scattering, among other techniques, is highly appropriate for the identification of psoralen and its modifications due to its great sensitivity to structural arrangements. In order to perform assignments of the experimental modes properly, calculations of Raman spectra associating the detailed vibrational motions to atomic displacements in the molecules are called for. Raman analysis of composites that show pharmacological activity is a promising new tool for their characterization, since it offers some advantages such as the identification of raw materials, quantitative determination of active substances in different formulations, and polymorphic screening support. Vankeirsbilck *et al* [12] pointed out potential applications of Raman spectroscopy in pharmaceutical analysis, weighting the advantages and disadvantages of this technique when applied to drug molecules. It is known that Raman, rather than infrared, spectroscopy is more useful for identifying different crystalline polymorphic forms and molecular conformers, while near-infrared spectroscopy is better suited for detecting similar carbohydrate species and varying hydration states. The ability to theoretically predict physical properties in order to differentiate and/or explain molecular activity (i.e. different conformers and/or slightly different structures for molecules) is receiving attention from industry due to the cost reduction obtained with this strategy by avoiding the unnecessary use of expensive reagents and techniques. In this work we have simulated the Raman spectra of four psoralens (psoralen, bergapten, xanthotoxin, and isopimpinellin) using a first principles Hartree–Fock approach. Theoretical calculations allowed us to find distinctive features in the Raman spectra of psoralen molecules. The vibrational motions involving distinct functional groups of each molecular structure are particularly helpful in achieving such characterization.

2. Method of calculation

The use of digital computers as a tool for molecular simulation has become common. Thanks to the development of first principles methods, especially the density functional theory (DFT) approach, it has been possible to perform molecular geometry optimizations to minimize total energy, determining distances between atoms and angles between bonds, as well as the evaluation of electronic, vibrational and optical properties of systems containing hundreds of electrons and nuclei. Frequencies and intensities of infrared and Raman active modes can be predicted, and are valuable for spectroscopic studies, for instance, to perform dependable assignments by superimposing the calculated spectra of various molecular conformations in the gaseous phase. In particular, the use of *ab initio* techniques to describe the Raman spectrum of molecules is backed up by a massive number of papers published in the literature. Just to cite a few recent works in the field of organic molecules, the article by Hoffmann *et al* [13] reports the

measured frequencies of the fundamental vibrations of anisole in the S-1 state and compares these experimental results with theoretical *ab initio* predictions. Osuna *et al* [14] described the characterization of novel oligothiobenzenes with potential applications in the field of organic electronics. Conjugational properties of these materials were investigated using FT-Raman spectroscopy supplemented by DFT and time-dependent DFT (TDDFT) quantum chemical calculations at the B3LYP/6-31G** level, to obtain information concerning the minimum-energy conformation and vibrational normal modes related to the main Raman features. Palafox *et al* [15] calculated the geometry, vibrational wavenumbers, infrared and Raman spectra for the 3-aminobenzonitrile molecule using *ab initio* methods to compare with experimental results, obtaining a very low discrepancy. Characterization of some biomedical compounds with antibiotic, cardiovascular and antimycobacterial activity was performed by Cozar *et al* [16] by using Raman spectroscopy and quantum *ab initio* tools with experimental vibrational bands of Raman spectra confidently assigned on the basis of computational results.

Here, quantum chemical *ab initio* calculations within the restricted Hartree–Fock approximation were performed in two steps: (i) geometry optimization and (ii) vibrational analysis using Gaussian 03 [17]. A 6-31 + G(d) basis set was adopted in both steps, and geometry optimization was considered to be achieved when the rms force acting on all atoms was smaller than $0.3 \text{ mHa } \text{\AA}^{-1}$. An energy threshold of 10^{-6} Ha was adopted for the self-consistent field (SCF) convergence. All molecules were simulated using the vacuum as dielectric environment (solvation would contribute, at most, a shift of peaks in the Raman spectra). After the molecular geometry was minimized, which correspond to a minimum for the energy, the molecular polarizability tensor was obtained by evaluating the real part of the linear response function [18, 19]:

$$\alpha_{ij}(\omega_0) = \sum_{l>0} \left(\frac{\langle 0 | \mu^i | l \rangle \langle l | \mu^j | 0 \rangle}{\omega_0 - \omega_l} - \frac{\langle 0 | \mu^j | l \rangle \langle l | \mu^i | 0 \rangle}{\omega_0 + \omega_l} \right). \quad (1)$$

According to Placzek's polarizability theory [20], the Stokes–Raman differential cross section corresponding to the k th vibrational normal mode, measured perpendicularly to the propagation direction of the incident radiation for a gaseous molecular phase, is given by [21]

$$\perp \left(\frac{d\sigma}{d\Omega} \right)_k^n (\pi/2) = \frac{\hbar(\omega_0 - \omega_k)^4}{2c\omega_k} \frac{[45(\alpha')_k^2 + 7(\beta')_k^2]}{45}, \quad (2)$$

where α' and β' are, respectively, the mean polarizability and anisotropy. The \perp symbol denotes that the radiation is linearly polarized, its incidence direction being perpendicular to the scattering plane (which is defined as the plane containing both the incident ray and the observation line). The n index informs that the scattered radiation is measured without polarizers. ω_0 and ω_k correspond, respectively, to the wavenumber associated to the excitation and the k th normal mode of vibration. The mean polarizability α' is obtained through

$$(\alpha')_k = \frac{1}{3} \text{Tr} \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q_k} \right). \quad (3)$$

Here, $\partial \alpha / \partial q_k$ is the derivative of the polarizability tensor α with respect to the normal coordinate q_k ; Tr is the trace of the corresponding tensor. The anisotropy β' is given by

$$(\beta')_k = \frac{1}{4} \left\{ \sum_{i,j} \left(\frac{\partial [\alpha_{ii} - \alpha_{jj}]}{\partial q_k} \right)^2 + 6 \sum_{\substack{i,j \\ i \neq j}} \left(\frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial q_k} \right)^2 \right\}. \quad (4)$$

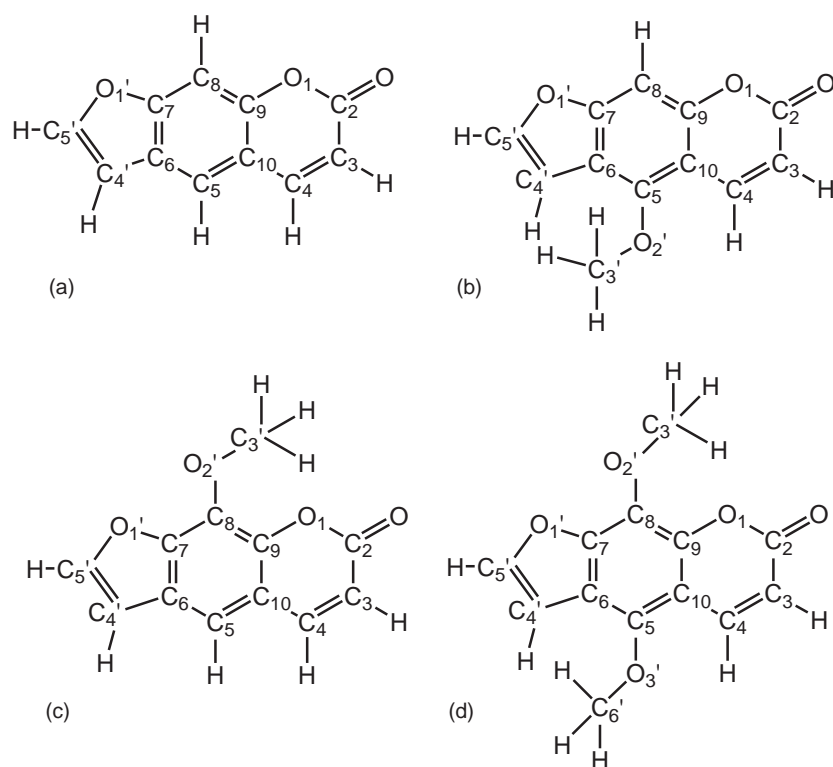


Figure 1. Structure of (a) psoralen, (b) bergapten, (c) xanthotoxin, and (d) isopimpinellin.

On the other hand, derivatives with respect to the normal coordinates q_k are related to the nuclear coordinates x_l through

$$\frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial q_k} = \sum_{l=1}^{3N} \frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial x_l} \frac{s_{lk}}{\sqrt{m_l}}, \quad (5)$$

where s_{lk} is the l th component of the k th normal mode eigenvector and m_l is the mass of the corresponding atom. Polarizabilities used in these equations should be divided by $4\pi\epsilon_0$. Derivatives are always calculated at the optimized geometry and using the method proposed by Frisch *et al* [22] and Yamaguchi *et al* [23]. The Raman spectrum was calculated for all the studied molecules using the same procedure. As an extra convergence criterion, the calculated normal modes of vibration were analysed in order to ensure that all wavenumbers were positive (if there were negative wavenumbers after achieving the convergence criterion, the computed geometry would represent a saddle point in the configuration space and not a suitable molecular geometry).

3. Results and discussion

The basic structure of the psoralen molecule is represented in figure 1(a). Figures 1(b)–(d) give the structures of the compounds bergapten, xanthotoxin, and isopimpinellin, respectively. The basic structure is formed with three rings, namely, furan-, benzene-, and pyrone-rings. The

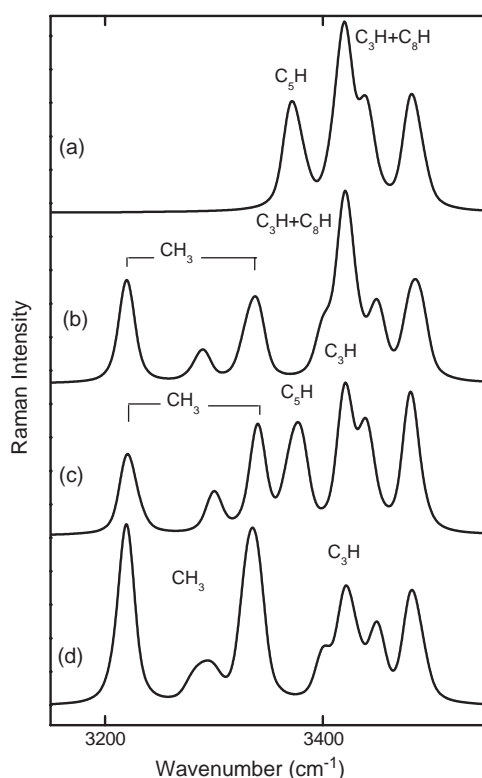


Figure 2. Raman spectrum in the range $[3150, 3350] \text{ cm}^{-1}$ from (a) psoralen, (b) bergapten, (c) xanthotoxin, and (d) isopimpinellin.

atomic numbering follows the convention with the benzene- and pyron-rings labelled with arabic numbers and the primed numbers labelling atoms out of these rings. In particular, those carbon atoms in the $-\text{OCH}_3$ radicals are numbered C'_3 and C'_6 . The bergapten structure, or 5-methoxypsoralen (5-MOP), has the hydrogen bonded to carbon 5 in psoralen substituted by a $-\text{OCH}_3$ radical. In xanthotoxin the same type of substitution occurs but at carbon 8, and it is also known as 8-methoxypsoralen (8-MOP). In isopimpinellin, two such substitutions occur at both carbon atoms, and the compound is named as 5,8-dimethoxypsoralen (5,8-MOP), accordingly.

The two hexagonal rings in psoralen comprise 15 atoms, and the pentagonal ring adds 5 more atoms, making a total of 20 atoms in the molecule. Group theory attributes 60 degrees of freedom, among which 3 count for the translational motions giving rise to the acoustic phonons and 3 for the rotational degrees. The remaining 54 degrees of freedom stand for the vibrational motions in the molecule. Psoralen belongs to the triclinic space group $P1$, the lowest symmetry group. Due to the lack of symmetry, all 54 modes comes from the totally symmetric one-dimensional representation A , and are predicted to be, simultaneously, Raman and infrared active. Similarly, 66 vibrational modes are expected for either 5-MOP or 8-MOP and 78 for isopimpinellin. The results for all psoralens are displayed in figures 2–4, separated into spectral regions for the sake of clarity. Three spectral regions were selected due to the distinctive features observed for each of the four compounds in the spectra. They will be referred to as high-, medium- and low-wavenumber regions, for the ranges $[3150\text{--}3550] \text{ cm}^{-1}$,

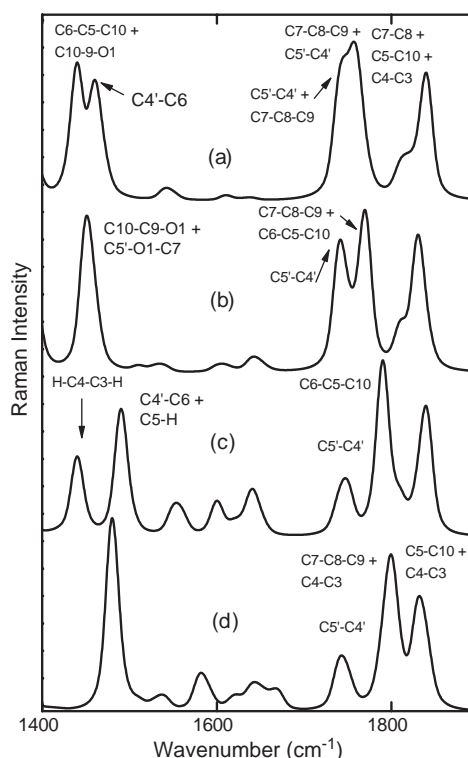


Figure 3. Raman spectrum in the range $[1400, 1890] \text{ cm}^{-1}$ from (a) psoralen, (b) bergapten, (c) xanthotoxin, and (d) isopimpinellin.

$[1400\text{--}1880] \text{ cm}^{-1}$, and $[350\text{--}750] \text{ cm}^{-1}$, respectively. The overall results, including the type of atomic motion assigned to the modes, are listed in the respective tables.

In the discussion following we focus first on the highest wavenumber region because it contains the most important clues for distinguishing the four psoralens. Figure 2 shows the high-frequency region of the spectra in the sequence: (a) psoralen; (b) bergapten (5-MOP); (c) xanthotoxin (8-MOP); (d) isopimpinellin (5,8-MOP). The three lower wavenumber peaks, marked CH_3 in the figure, are not present in the spectrum of psoralen. In curve (b) they appear at 3220 , 3288 , and 3336 cm^{-1} , and correspond to $\text{C}3'\text{H}$ stretching vibrations in the radical of the 5-MOP structure, and are listed in table 1, accordingly. The figure shows, in curve (c), that this type of motion in xanthotoxin gives rise to peaks extremely close in position, at 3222 , 3300 , and 3340 cm^{-1} . In 5,8-MOP there are two radicals, $\text{C}3'\text{H}$, and $\text{C}6'\text{H}$; the stretching type vibrations give rise to unresolved pairs in figure 2(d) calculated to peak at $[3217, 3220] \text{ cm}^{-1}$, $[3284, 3296] \text{ cm}^{-1}$, and $[3333, 3337] \text{ cm}^{-1}$. Because the wavenumbers are accidentally quasi-degenerated for the motions in the two radicals, the bands in the spectra are stronger than those for 5- and 8-MOP. Next in position, two bands are distinguished, appearing selectively in the spectra for psoralen and xanthotoxin, curves (a) and (c) in figure 2. They are due to the unresolved pair $[3369, 3374] \text{ cm}^{-1}$ in the first, and $[3371, 3376] \text{ cm}^{-1}$ in 8-MOP. Table 1 lists a series of C–H anti-symmetric stretchings involving the carbon atoms C_5 , C_4 , and C_3 , corresponding to these positions. However, these bands, marked C_5H in the figure, are not seen in the spectra for the other two compounds, bergapten and isopimpinellin. These strong

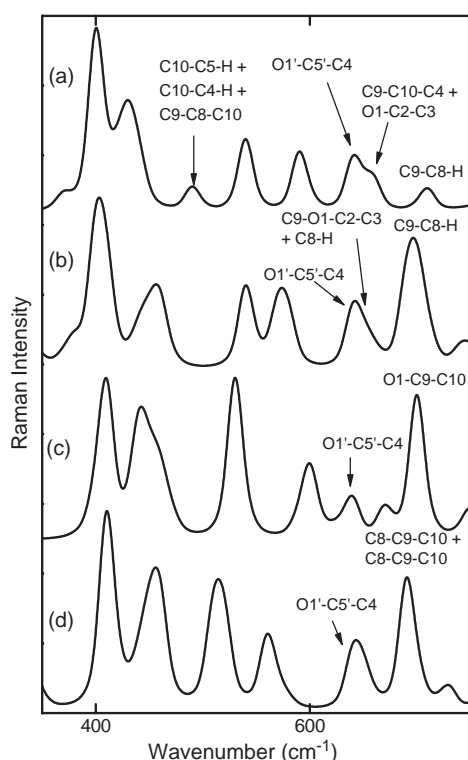


Figure 4. Raman spectrum in the range $[350, 750]$ cm^{-1} from (a) psoralen, (b) bergapten, (c) xanthotoxin, and (d) isopimpinellin.

structures occurring in psoralen and 8-MOP spectra, exclusively, have a particular reason: the dominant type of motion is the $\text{C}_5\text{-H}$ anti-symmetric stretching, which is possible in both compounds but impossible in 5-MOP or 5,8-MOP.

We next analyse strong features appearing in the psoralen and bergapten spectra due to the unresolved pairs of peaks $[3415, 3423]$ cm^{-1} and $[3419, 3423]$ cm^{-1} , respectively. These lines, labelled $\text{C}_3\text{H} + \text{C}_8\text{H}$ in figure 2, correspond to the anti-symmetric stretching $\text{C}_8\text{-H}$ and $\text{C}_3\text{-H}$, according to our assignments as listed in table 1. The $\text{C}_8\text{-H}$ anti-symmetric stretching does not contribute to the 8-MOP or 5,8-MOP spectra due to C_8 bonds with radicals. Therefore, the peaks at 3421 cm^{-1} , 3423 cm^{-1} in the 8-MOP and 5,8-MOP spectra are mainly related to the C_3H stretching. A distinction between the latter can be noted in figure 2: in curve (d), this peak is preceded by a shoulder related to a C_4H stretching motion. This shoulder appears also in the case of 5-MOP, as can be checked in the assignment of the 3401 cm^{-1} peak listed in table 1. The remaining structures, corresponding to the CH-stretching type of motion in the furan-ring, are practically the same, as expected, since this ring is equal in all structures. The remaining structures in the spectra of figure 2 are due to vibrations involving carbon atoms of the furan-ring. As the furan-ring is common to all four compounds, the related motions should not generate distinguished features in the spectra. Figure 2 shows that this is, actually, the case for the highest wavenumber peaks present in the four spectra.

It should be reinforced that the analysis of the $3100\text{--}3600$ cm^{-1} region of the spectrum alone allows for a distinction between the four compounds to be made. Psoralen is exclusive

Table 1. Calculated wavenumbers in units of cm^{-1} , and corresponding vibration assignment. The asterisk is for the stronger amplitudes and the letters R, W, T, Sc, A, and S, stand for rocking, wagging, twisting, scissoring, anti-symmetric stretching, and symmetric stretching, respectively.

Psoralen		Bergapten (5-MOP)		Xanthotoxin (8-MOP)		Isopimpinellin (5,8-MOP)	
ω	Assignment	ω	Assignment	ω	Assignment	ω	Assignment
						3217	*S C6'H S C3'H
		3220	*S C3'H	3222	*S C3'H	3220	*S C6'H S C3'H
		3288	A C3'H			3284	A C6'H
				3300	A C3'H	3296	A C3'H
		3336	A C3'H	3340	A C3'H	3333	A C6'H
3369	*A C5-H *A C4-H A C3-H			3371	*A C5-H *A C4-H A C3-H	3337	A C3'H
3374	*A C5-H *A C4-H A C3-H			3376	*A C5-H *A C4-H A C3-H		
		3401	*A C4-H A C3-H			3402	*A C4-H A C3-H
3415	*A C8-H	3419	*A C8-H				
3423	*A C3-H A C4-H	3423	*A C3-H A C4-H	3421	*A C3-H A C4-H	3423	*A C3-H A C4-H
3441	*A C4'-H A C5'-H	3449	*A C4'-H A C5'-H	3441	*A C4'-H A C5'-H	3449	*A C4'-H A C5'-H
3483	A C4'-H *A C5'-H	3485	A C4'-H *A C5'-H	3482	A C4'-H *A C5'-H	3484	A C4'-H *A C5'-H

because there is no CH_3 stretching related peak in its spectrum. Among the radical contained compounds, just the xanthotoxin Raman spectrum has a C_5H band. The remaining 5-MOP and 5,8-MOP can be distinguished because the C_3H stretching related vibrations generate bands twice as strong in the latter. Although the distinction is accomplished by performing just a partial analysis, a detailed discussion should be performed in order to have a more complete picture. In this sense, we include the lower wavenumber spectral regions as follows.

The medium wavenumber region spectra in figure 3 are displayed for (a) psoralen, (b) 5-MOP, (c) 8-MOP, and (d) 5,8-MOP, showing distinguished features around 1450 cm^{-1} . For psoralen, two peaks appear at 1439 and 1463 cm^{-1} , respectively. Two peaks appear also in the spectrum for 8-MOP, at 1441 and 1491 cm^{-1} , respectively. In the case of 5-MOP and 5,8-MOP, just one peak is present at the corresponding spectrum, positioned at 1453 and 1481 cm^{-1} , respectively. Therefore, inspection of the Raman spectra in this region can help in the task of identification. The vibrations are complex combinations of the several types of motion (see table 2), making it difficult to perform an easy labelling. However, it can be seen that they involve atoms belonging to the rings, but not atoms from the radicals. The peak appearing at about 1440 cm^{-1} in psoralen and xanthotoxin, for instance, has very similar contributions of a symmetrical stretching among carbon atoms (S C6-C5-C10), three anti-symmetrical stretching motions (A C10-C9-O1, A O1'-C7, A C6-C4') and two wagging motions (W H-C4-C3-H, W C4'-H or W C5'-H). The psoralen peak is more intense than the related xanthotoxin peak, probably due to the stretching motions being stronger in the first compound. We label the peaks in figure 3 according to the assignments listed in table 2, selecting only the strongest

Table 2. Calculated wavenumbers in units of cm^{-1} , and corresponding vibration assignment. The asterisk is for the stronger amplitudes and the letters R, W, T, Sc, A, and S, stand for rocking, wagging, twisting, scissoring, anti-symmetric stretching, and symmetric stretching, respectively.

Psoralen		Bergapten (5-MOP)		Xanthotoxin (8-MOP)		Isopimpinellin (5,8-MOP)	
ω	Assignment	ω	Assignment	ω	Assignment	ω	Assignment
1439	*S C6–C5–C10 *A C10–C9–O1 A O1'–C7 A C6–C4' W H–C4–C3–H A C10–C4 W C4'–H			1441	S C6–C5–C10 A C10–C9–O1 A O1'–C7 A C6–C4' *W H–C4–C3–H W C5'–H		
1463	A C10–C9–O1 S C5'–O1' *S C4'–C6 W C5'–H S C7–C8	1453	*A C10–C9–O1 *A C5'–O1'–C7 A C4'–C6 W C5'–H W H–C4–C3–H	1491	*S C4'–C6 W H–C4–C3–H Sc C6–C5–C10 *W C5–H A C4'–C6–C7 S C5'–O1'	1481	A C4'–C6 W H–C4–C3–H A O1–C5–C10 A O1'–C7–C6 S C8–O2'
1744	*S C5'–C4' A C6–C5–C10 *S C7–C8–C9 W C8–H, W C5–H	1743	*S C5'–C4' A C6–C5–C10 S C7–C8–C9 A C4–C3 W C8–H	1746	*S C5'–C4' A C6–C5–C10 S C7–C8–C9 A C4–C3 W C5–H	1744	*S C5'–C4' A C6–C5–C10 S C7–C8–C9 A C4–C3
1762	*S C7–C8–C9 *S C6–C5–C10 A C5'–C4' A C4–C3	1768	*S C7–C8–C9 *S C6–C5–C10 A C5'–C4' S C4–C3 Sc C3'H	1790	S C7–C8–C9 *S C6–C5–C10 A C5'–C4' A C4–C3 Sc C3'–H	1797	*S C7–C8–C9 A C6–C5–C10 S C5'–C4' *S C4–C3 Sc C3'–H
1815	*S C5–C6 *A C7–C8–C9 S C4–C3 A C7–O1' W C5–H W C4'–H W C4–H	1811	*S C5–C6 *A C7–C8–C9 S C4–C3 A C7–O1' W C5–H W C4'–H Sc C3'–H	1807	*A C6–C5 *S C3–C4 *A C7–C8–C9 W C5–H	1805	*S C6–C5 *S C8–C9 A C4–C10 A C7–O1' W C4'–H Sc C3'–H
1838	*S C7–C8 *S C5–C10 *S C4–C3 A C9–O1 W C5–H, W C8–H	1832	*S C7–C8 *S C5–C10 *S C4–C3 A C9–O1 W C8–H	1838	*S C7–C8 *S C5–C10 *S C4–C3 A C9–O1 W C5–H Sc C3'–H	1834	S C7–C8 *S C5–C10 *S C4–C3 A C9–O1 Sc C3'–H

components for the display. Also, in curves (b) and (c) of figure 3 the last peak was not labelled because its identification is the same as in (a). The features around 1800 cm^{-1} in figure 3 constitute another key for distinction of the compounds. The reason is the following: the feature at about 1750 cm^{-1} is an unresolved pair of peaks in psoralen, a well resolved pair in bergapten, and single peaks in the remaining compounds. For the distinction between 8- and 5,8-MOP, the separation between the two bands following the single peak has to be analysed. The smaller separation occurs in the spectrum for 5,8-MOP. We describe next the wavevectors corresponding to these features aiming at a more complete assignment, by using the results listed in table 2. In the psoralen spectrum, the strong unresolved structure corresponds to the positions listed as 1744 and 1762 cm^{-1} in table 2. For 5-MOP the well resolved features peak at 1743 and 1768 cm^{-1} , as listed in the table. The first peak (at about 1744 cm^{-1}) has a strong contribution from a stretching $C5'-C4'$ in all four compounds. The second component, which is unresolved in psoralen but well resolved in bergapten, has strong contributions from symmetric stretching motions of carbon atoms from the rings. In the other two compounds this type of motion generates the 1790 and 1797 cm^{-1} peaks. Stretching among carbon atoms causes the appearance of the peak at about 1835 cm^{-1} for all psoralens and the preceding shoulders in the first two compounds.

Finally, we analyse the low wavenumber region chosen as the $[350-750]\text{ cm}^{-1}$ range. The Raman spectra are shown in figure 4 following the usual order for the display. This region comprises rocking, scissoring, twisting and wagging motions, as detailed in table 3. The vibration amplitudes are smaller than those of stretching motions, and the peak intensities in this region are about one order of magnitude weaker. The first two strong features comprise a single mode peaking between 401 and 440 cm^{-1} , followed by an accidentally doubly degenerate mode. These features being quite similar in all compounds, their use should not be attempted as a distinguishing key. A not so strong peak, appearing exclusively for psoralen at 491 cm^{-1} , could be used as a selective tool. It corresponds to the combined twisting motions $C10-C5-H$, $C10-C4-H$, and $C9-C8-C10$, according to the assignments listed in table 3. Therefore, this peak is labelled in figure 4, even though the motions are not strong. The following pair of peaks appearing between 515 and 598 cm^{-1} are distinguished only through small differences in relative intensities and small separations. Because of these similarities they should not be used to identify any of the four compounds. The end of region features are interesting for this task due to sizable differences. The last peak, positioned at about 700 cm^{-1} , is weak only in the psoralen spectrum. It is a wide-band only in the bergapten spectrum, due to an accidental degeneracy between the 692 and 703 cm^{-1} modes. In the remaining two compounds, the preceding features are two well resolved peaks appearing at 637 and 670 cm^{-1} in the xanthotoxin spectrum, against an unresolved doublet in the isopimpinellin spectrum. Therefore, these features are also reasonable tools in distinguishing between the psoralens. In figure 4 these structures are labelled according to the corresponding wavevector as described in table 3. It should be reinforced once again that the best tools, however, are found in the higher wavenumber region.

4. Conclusions

Raman spectra were calculated for psoralen, bergapten, xanthotoxin, and isopimpinellin. The calculated wavevectors allowed for the assignment to be made for all Raman active modes predicted. The results are helpful in distinguishing between the four compounds. This task is readily performed by the analysis of the higher wavenumber region of the spectrum. This is the region where stretching modes of atoms pertaining to the radicals appear. The remaining regions

Table 3. Calculated wavenumbers in units of cm^{-1} , and corresponding vibration assignment. The asterisk is for the stronger amplitudes and the letters R, W, T, Sc, A, and S, stand for rocking, wagging, twisting, scissoring, anti-symmetric stretching, and symmetric stretching, respectively.

Psoralen		Bergapten (5-MOP)		Xanthotoxin (8-MOP)		Isopimpinellin (5,8-MOP)		
ω	Assignment	ω	Assignment	ω	Assignment	ω	Assignment	
440	T C5–C10–C4 T C4'–C5'–H	446	Sc O3'–C5–C10 Sc C2–C3–C4 W O1–C2–C3 W C7–C8–H	446	*R C10–C4–C3 T O1'–C5'–H R C8–C9–O1	446	*R C10–C4–C3 T O1'–C5'–H R C8–C9–O1	
		461	*R C10–C4–C3 T C9–C8–H W C4'–H Sc C8–O2'–C3'H	463	R C8–C9–O1 R C10–C4–C3 T C10–C5–H	459	W C6'H W O1–C2–O Sc C10–C4–C3	
491	T C10–C5–H T C10–C4–H T C9–C8–C10					515	W C8–O2'–C3'H W C5–O3'–C6'H T C10–C4–H W C3–H	
540	Sc H–C3–C2–H W C8–H Sc C9–C10–C5 W C4–H	541	*Sc H–C3–C2–O W C8–H Sc C9–C10–C5 W C4–H Sc C9–O1–C2	531	W C3'H T C10–C5–H W C4–H Sc H–C3–C2–O		562	Sc C7–C6–C5 R O3'–C6'H R O2'–C3'H
		575	Sc C7–C6–C5 R O3–C3'H T C7–C8–C9			576	*T C10–C4–H Sc C8–O2'–C3'H W C3–H R C7–C8–C9	
592	Sc C5–C6–C4'–H W C9–C8–C2 Sc C4–C3–C2			598	R O3'–C3'H T C10–C5–H W H–C4–C3–H			
643	*R O1'–C5'–C4' T C7–C8–H T C6–C5–H	641	*R O1'–C5'–C4'	637	*R O1'–C5'–C4' T C10–C4–H W C3–H	641	*R O1'–C5'–C4'	
658	*W C9–C10–C4 *W O1–C2–C3 Sc C7–C8–C9	654	*Sc C9–O1–C2–C3 W C5'–C4'–H *W C8–H			652	R C8–O2'–C3' R C5–O3'–C6' Sc C4'–C6–C5 W O1'–C5'–H	
				670	R C5'–C4'–C6' T C6–C5–H T C10–C4–H T C2–C30H W C8–O2'–C3'			
		692	*T C9–C8–H T C10–C4–H T C3–C4–H Sc O1–C2–O			692	Sc O1–C2–O S C8–C9–C10	
708	*T C9–C8–H T C10–C4–H T C2–C3–H	703	*T C9–C8–H T C10–C3–H W O2'–C3'H	700	T C10–C5–H *Sc O1–C9–C10 T C4–C3–H W O2'–C3'H			

of the spectrum are also suitable, but their analyses are complicated due to the combination of several different types of motion for each wavenumber.

Acknowledgments

The authors are indebted to Professor S Canuto for the use of the Gaussian software. This work was stimulated by the life work of Professor Dr F J Abreu Matos on biological properties of Brazilian medicinal plants developed at the Organic Chemistry Department, Universidade Federal do Ceará. Financial support was received from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, and Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico, FUNCAP. VNF and BSC are senior researchers from CNPq and acknowledge the grant for Rede NanoBioestruturas 555183/2005-0. VL acknowledges grant CNPq–DCR 303818/04-5. MZSF is sponsored by a graduate fellowship from CNPq.

References

- [1] Yurkow E and Laskin J 1990 *Toxicology* **65** 33
- [2] Zarebska Z, Waszkowska E, Caffieri S and Dall'Acqua F 1990 *Farmaco* **55** 515
- [3] Peters B, Weissman F G and Gill M A 1990 *Am. J. Health-Syst. Pharm.* **57** 645
- [4] Cimino G, Dna H G, Isaacs S T and Hearst J 1985 *Annu. Rev. Biochem.* **54** 1151
- [5] Margolis Nunno H *et al* 1997 *Transfusion* **37** 889
- [6] Wu Y and Snyder E 2003 *Blood Rev.* **17** 111
- [7] Lanskin J 1994 *Food Chem. Toxicol.* **32** 119
- [8] Bourgaud F, Allard N, Guckert A and Forlot P 1989 *Natural Sources of Furocoumarins* (Paris: Libbey Eurotext) pp 219–30
- [9] Milesi S, Massot B, Gontier E, Bourgaud F and Guckert A 2001 *Plant Sci.* **161** 189
- [10] Berg M and Ros A 1993 *Life Sci.* **53** 355
- [11] Bohuslavizki K *et al* 1994 *Eur. J. Pharmacol.* **46** 375
- [12] Vankeirsbilck T *et al* 2002 *Trends Anal. Chem.* **21** 869
- [13] Hoffmann L J H, Marquardt S, Gemechu A S and Baumgartel H 2006 *Phys. Chem. Chem. Phys.* **8** 2360
- [14] Osuna R M, Zhang X N, Matzger A J, Hernandez V and Navarrete J T L 2006 *J. Phys. Chem. A* **110** 5058
- [15] Palafox M A, Rastogi V K, Mittal L, Kiefer W and Mital H P 2006 *Int. J. Quantum Chem.* **106** 1885
- [16] Cozar O, Chris V, David L and Baias M 2006 *J. Optoelectron. Adv. Mater.* **8** 164
- [17] Frisch M *et al* 2003 *Gaussian 03*, Revision A.1 (Pittsburgh, PA: Gaussian)
- [18] Olsen J and Jorgensen P 1985 *J. Chem. Phys.* **82** 3235
- [19] Vidal L N and Vazquez P A M 2003 *Quim. Nova* **26** 507
- [20] Placzek G 1959 *The Rayleigh and Raman Scattering* United States Atomic Energy Commission: Lawrence Radiation Laboratory, University of California, Livermore, California, UCRL Translation n. 526 (L), Physics
- [21] Long D A 2002 *The Raman Effect, A Unified Treatment of the Theory of Raman Scattering by Molecules* (England: Wiley)
- [22] Frisch M J, Yamaguchi Y, Gaw J F, Schaefer H F and Binkley J S 1986 *J. Chem. Phys.* **84** 531
- [23] Yamaguchi Y, Frisch M, Gaw J, Schaeffer H F and Binkley J S 1986 *J. Chem. Phys.* **84** 2262

Two different incorporation sites of manganese in single-crystalline monohydrated *L*-asparagine studied by electron paramagnetic resonance

K. Krambrock, K. J. Guedes, and L. O. Ladeira

Departamento de Física, ICEx, Universidade Federal de Minas Gerais, Caixa Postal 702, 30123 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

M. J. B. Bezerra, T. M. Oliveira, G. A. Bezerra, and B. S. Cavada

Laboratório de Bioquímica Molecular, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, 60455-900 Fortaleza, Ceará, Brazil

M. C. F. de Oliveira

Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, 60455-900 Fortaleza, Ceará, Brazil

M. Z. S. Flores, G. A. Farias, and V. N. Freire*

Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Caixa Postal 6030, Campus do Pici, 60455-900 Fortaleza, Ceará, Brazil

(Received 23 June 2006; revised manuscript received 10 December 2006; published 21 March 2007)

Single crystals of monohydrated *L*-asparagine have been grown from aqueous solutions using MnCl_2 as doping material. Electron paramagnetic resonance (EPR) was used to determine the incorporation sites of Mn^{2+} ions in the crystal structure. Depending on small *pH* changes and crystal growth kinetics in the aqueous solutions, Mn^{2+} ions are incorporated in two chemically distinct sites in asparagine crystals. The first shows isotropic six-line hyperfine-split EPR spectra, whereas the second shows anisotropic multiple line splitting due to Mn^{2+} fine structure ($S=5/2$) and hyperfine interaction ($I=5/2$). Angular dependencies of the Mn^{2+} EPR spectra in three mutually perpendicular crystal planes were measured and analyzed. The results are discussed in terms of the metal incorporation site symmetry in the crystal structure of monohydrated *L*-asparagine.

DOI: [10.1103/PhysRevB.75.104205](https://doi.org/10.1103/PhysRevB.75.104205)

PACS number(s): 71.20.Rv, 78.20.-e, 78.40.Me, 78.55.Kz

I. INTRODUCTION

About half of all proteins contains metal ions, which perform a wide variety of specific functions associated with life processes. In particular, transition metals such as Fe, Cu, and Mn are involved in many redox processes requiring electron transfer, and play an important role in the folding and bio-functionality of proteins, taking part of many enzymes and being indispensable in several catalytic reactions.¹ For example, the interaction between a tetranuclear Mn cluster and its protein ligand has a central role in photosystem II,² while the manganese ion in the vicinity of the saccharide-binding site in native Dguia lectin interacts with the asparagine residue Asn 14, contributing to the stabilization of the binding pocket.³ The growth of amino acid crystals from aqueous solutions containing transition-metal ions allows us to study in the solid state the transition metal—amino acid interaction, helping to provide a solid foundation for the understanding of the role of transition metals in proteins.

To understand basic aspects of the role of metal in proteins, amino acid crystals doped with transition metals are appropriate model systems. Several works were published on different aspects of these crystals. Windsch and co-workers⁴ investigated copper(II)-doped single crystals of glycine and triglycine sulfate, showing that each copper(II) ion is coordinated with two amino acid molecules. Takeda *et al.*⁵ studied single crystals of copper(II)-doped *L*-alanine, demonstrating the existence of four chemically identical but magnetically nonequivalent sites through electron paramagnetic resonance (EPR) measurements. Winkler *et al.*⁶ presented a study of low-concentration Fe(III) doping in crystalline *L*-alanine by means of EPR, Raman scattering, and

photoluminescence, showing that Fe(III) occupies two inequivalent sites of rhombic symmetry in the *L*-alanine crystal. Other Fe(III)-related centers with isotropic EPR spectrum were mentioned; however, they were not analyzed. Calvo and co-workers⁷⁻⁹ performed EPR studies of copper ion dopants in several amino acid crystals. For example, Dalosto *et al.*⁷ performed EPR studies of copper ion dopants and Zn(*D,L*-histidine),⁷ interpreting their experimental results with a model where the copper atoms hop randomly between different states, relating this dynamics to the fluctuating disorder in He lattices. Zeeman and hyperfine coupling tensors were determined for *L*-arginine phosphate monohydrate single crystals by Santana *et al.*,⁸ who suggested that Cu impurities have three N ligands in this case. EPR was also used by Santana *et al.*⁹ to study Cu(II) dopant ions in single crystals of bis(*L*-asparaginato)Zn(II), indicating that the Cu(II) impurities replace Zn(II) ions in the host crystal. Recently, Pinheiro *et al.*¹⁰ performed EPR detection and first-principles calculations of manganese clusters in highly doped *L*-alanine crystals, demonstrating that manganese is incorporated into *L*-alanine crystals as Mn^{2+} ions at magnetically equivalent single interstitial sites in the unit cell for crystals grown with MnCl_2 concentrations smaller than 3.0% in the mother solutions, and at two or more neighboring interstitial sites in the case of higher MnCl_2 concentrations, which gives rise to manganese clusters in the doped *L*-alanine crystals. First-principles quantum mechanics and force field calculations suggested four interstitial sites for the manganese atoms in the *L*-alanine unit cell, and a high spin configuration (sextet with $S=5/2$) for the manganese electronic state.

Asparagine ($\text{C}_4\text{N}_2\text{O}_3\text{H}_8$) is one of the 20 natural amino acids, having an important role in the metabolic control of

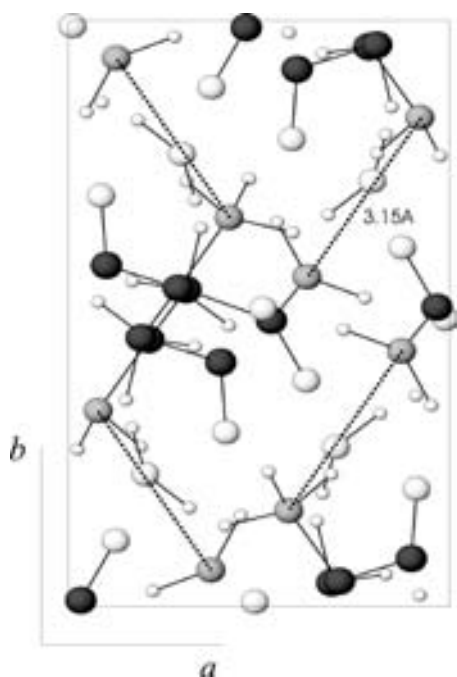


FIG. 1. Projection of the *L*-asparagine monohydrated structure on the *ab* plane. Atoms are nitrogen (gray), oxygen (white big), carbon (dark gray), and hydrogen (white small). The dashed lines indicate the distance of 3.15 Å between two nitrogen atoms.

some cell functions in nerve and brain tissues, playing important structural roles in proteins because their side-chain amide groups can act as both hydrogen bond acceptors and donors. In the solid state, the *L*-asparagine amino acid crystals are monohydrated, presenting orthorhombic structure, space group $P2_12_12_1$ (D_2^4), four molecules in the unit cell, and lattice parameters $a=5.593$ Å, $b=9.827$ Å, and $c=11.808$ Å.^{11,12} Figure 1 shows the projection of the crystal structure on the *ab* plane. The asparagine molecules are in the zwitterionic state in monohydrated *L*-asparagine (MLASN) crystals, which are stabilized by several hydrogen bonds involving the water molecules, as demonstrated by infrared and Raman scattering studies of undoped MLASN crystals and deuterated derivatives.^{13,14} Finally, three pressure-induced phase transitions in undoped MLASN crystals have been studied by Raman spectroscopy.¹⁵

The purpose of this work is to study how manganese is incorporated in monohydrated *L*-asparagine crystals. The focus is on EPR measurements and data analysis of Mn-doped single crystals of monohydrated *L*-asparagine. Angular dependencies of different samples were measured at room and low temperatures for three mutually perpendicular crystal planes. Two types of Mn^{2+} -related EPR spectra were observed: the first type shows isotropic six-line hyperfine-split EPR spectra that collapse to a broad line with some hyperfine structure for high doping levels, whereas the second type shows well-resolved anisotropic multiple EPR line spectra. Angular dependencies are calculated, taking into account electron Zeeman, hyperfine, and fine structure interactions due to the high electron spin $S=5/2$ and nuclear spin of $I=5/2$ of Mn^{2+} with 100% natural abundance. One magnetic site for Mn was observed with orientation of the magnetic

field B along the crystal axes *a*, *b*, or *c*, two inequivalent Mn sites occurs for B in the crystal planes *ab*, *bc*, or *ac*, and four inequivalent sites were observed for arbitrary B directions, consistent with an orthorhombic crystal structure for Mn-doped MLASN crystal. The local site symmetry and the origin of the two types of Mn^{2+} -related EPR spectra are discussed.

II. CRYSTAL GROWTH AND EXPERIMENTAL SETUP

Manganese-doped MLASN crystals were grown by slow evaporation of aqueous *L*-asparagine solutions containing $MnCl_2$ concentrations from 0.5–7 % in mass. At least 50 different single crystals with well-formed natural faces and sizes of about $5 \times 3 \times 10$ mm³ were obtained. The evaporation rate of the mother solutions and the existence of impurities and contaminants, which influence the tax of the growth of crystal planes, favor the incorporation of Mn^{2+} ions in chemically distinct sites in *L*-asparagine crystals. Very small dynamical variations in the *pH* of the mother solutions (due to the metal incorporation) and in the kinetic of growth are important factors that change the way the manganese ions are incorporated in the *L*-asparagine crystals, allowing different sites for incorporation. For the EPR measurements, samples were cut to pieces of about $3 \times 3 \times 3$ mm³ taking advantage of the well-formed crystal faces for orientation of the samples. EPR spectra were recorded on a homemade heterodyn spectrometer with a 500 mW klystron (Varian), a commercial cylindrical resonance cavity (Bruker), an electromagnet (Varian) with maximum field amplitudes of 800 mT, and a He flux cryosystem (Oxford) for low-temperature measurements. For the angular variations, the sample holder was rotated with a goniometer in steps of 5° with a precision of about 0.2°. Microwave frequency was stabilized by an automatic frequency control and measured with high precision frequency meter (PTS). For *g*-factor calibration, the 2,2-Diphenyl-1-pikryl-hydrazil (DPPH) standard has been used ($g=2.0037$). Spectra were recorded as first derivatives using common 100 kHz field modulation and lock-in technique (EG & G Princeton).

III. EXPERIMENTAL RESULTS

EPR measurements were performed in the as-grown 50 manganese-doped asparagine crystals, showing the existence of two different types of metal incorporation that give rise to two distinct EPR features. Three EPR spectra are shown in Fig. 2, [(a) and (b)] resulting from measurements at room temperature on typical *L*-asparagine crystals with manganese incorporated in two different sites, and (c) depicting a simulated EPR spectrum with the parameters shown in Table I. For one set of samples, the EPR spectra are isotropic with respect to crystal and magnetic field orientations since Fig. 2(a) reveals a six-line hyperfine split EPR spectrum, typical for Mn^{2+} with very weak fine structure interaction (Mn^{2+} has electronic spin $S=5/2$ and $I=5/2$ with 100% natural abundance). On the other hand, Fig 2(b) shows a multiple fine structure and hyperfine structure split anisotropic EPR spectrum of Mn^{2+} ions in intermediate crystal fields.¹⁵ It consists

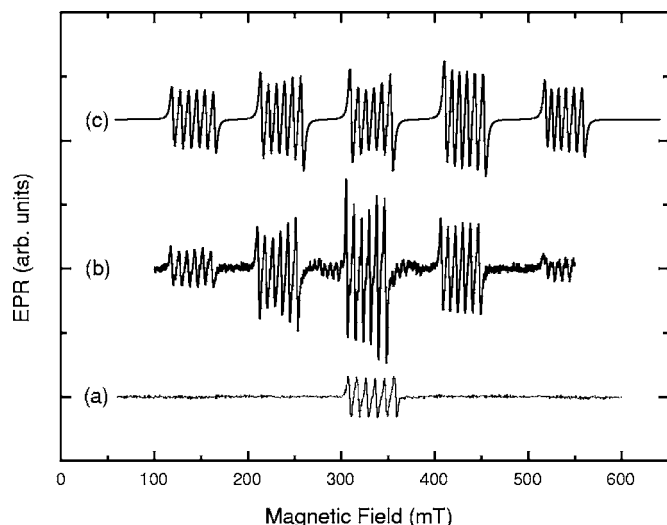


FIG. 2. EPR spectra measured at room temperature in two different *L*-asparagine monocrystals: (a) isotropic six-line hyperfine split spectrum of Mn^{2+} , (b) multiple line spectrum of Mn^{2+} split by the electronic fine structure and hyperfine interaction of Mn^{2+} , and (c) calculated EPR spectrum for situation (b).

of five packets due to electronic fine structure interaction split into six lines by the central hyperfine interaction.

EPR angular dependencies were measured in three mutually perpendicular crystal planes. The EPR spectra and angular dependencies are complicated due to the multiple line superposition. Figure 3 shows the rotational pattern of the EPR spectra of the anisotropic Mn^{2+} spectrum in the *ab* plane with perpendicular rotation axis along *c*. The Mn^{2+} -related EPR spectra are characterized by two magnetically inequivalent sites for rotation in the crystal planes *ab*, *ac*, and *bc*. In case of misalignment of samples, the two inequivalent sites spectra are further split into four inequivalent sites. It is interesting to note that the intensity of EPR lines due to the two inequivalent sites is not equally distributed, presenting an intensity ratio of about 5:1. Similar intensity ratios were also observed for Cu^{2+} -doped *L*-alanine samples,¹⁶ which was explained as due to the *g* factor anisotropy they had measured. It was found that the site distribution is strongly dependent on concentration of the dopant ions. At low concentrations, the copper ions populate both

TABLE I. Parameters for the Mn^{2+} spin Hamiltonian in monohydrated *L*-asparagine. *g* is the Zeeman interaction and *D* the fine structure interaction (GHz).

	g_{xx}	g_{yy}	g_{zz}
	2.025(5)	2.017(5)	1.992(5)
θ	47°	113°	128°
φ	105°	39°	148°
	D_{xx}	D_{yy}	D_{zz}
	0.95(1)	0.02(1)	-0.97(1)
θ	94°	56°	146°
φ	44°	316°	309°

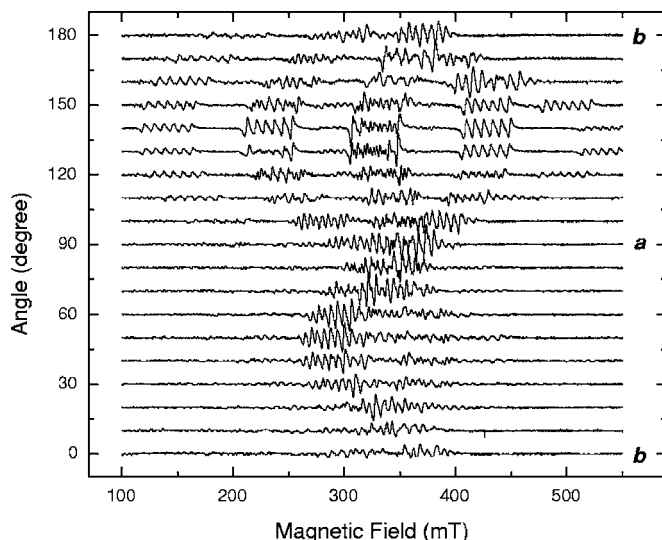


FIG. 3. EPR angular dependence of a monohydrated *L*-asparagine monocrystal doped with Mn^{2+} measured at room temperature. The magnetic field is applied in the *ab* plane, and *c* is the rotation axis.

sites equally, whereas for higher concentrations one site is preferred because of mutual interactions between the dopant ions. A small distortion may be induced lowering the energy of one of the both sites. In Sec. IV, we present data on the *g* factor anisotropy in our Mn^{2+} -doped asparagine crystals explaining the different intensities.^{16,17}

The EPR angular dependencies are dominated by the electron Zeeman and fine structure interaction due to the Mn^{2+} electronic spin $S=5/2$. Since hyperfine interaction due to the interaction with the Mn^{2+} nuclear spin $I=5/2$ is small, it is omitted in the first analysis. Figure 4 shows the EPR angular dependence in the *ab* plane, in which the line positions were determined from the center position of each of the five electronic fine structure line packets (shown as dots).

IV. DISCUSSION

The EPR spectra and angular dependencies of the Mn^{2+} centers are analyzed using the following spin Hamiltonian in orthorhombic symmetry:

$$H = \beta \mathbf{S} \mathbf{g} \mathbf{B} + \mathbf{S} \mathbf{D} \mathbf{S} + \mathbf{S} \mathbf{A} \mathbf{I} + \sum_{m=0, \pm 2, \pm 4} B_4^m O_4^m. \quad (1)$$

The first term in Eq. (1) represents the electronic Zeeman interaction, the second the electronic fine structure interaction, the third the hyperfine interaction, and the fourth term is due to fourth order terms in Stevens notation.¹⁷ The parameters of Eq. (1) have their usual meaning.¹⁷

The parameters of the spin Hamiltonian of the anisotropic Mn^{2+} -related EPR spectra were evaluated by fitting simultaneously all line positions in the three mutually perpendicular crystal planes (shown in Figs. 3 and 4 for the *ab* plane) using exact diagonalization of the spin Hamiltonian of Eq. (1) for the orthorhombic symmetry and omitting hyperfine interaction. In the analysis, 256 line positions were taken into ac-

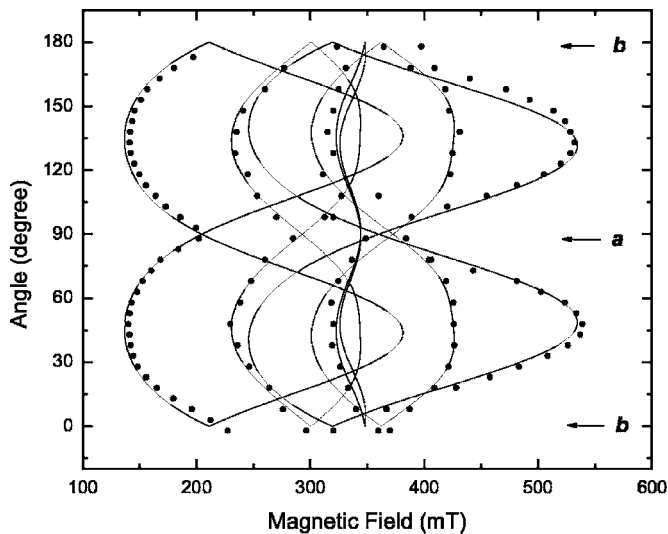


FIG. 4. Rotational pattern of EPR angular dependencies in the ab plane. The dots correspond to the center line positions and the solid lines to the calculated pattern.

count. The anisotropy of the EPR spectrum is dominated by the electronic fine structure. The line positions with large fine structure splitting are more weighted than lines in regions of multiple superpositions. Parameters from the fitting routines are shown in Table I. From the analysis, it is found that the g tensor has orthorhombic symmetry with only a small anisotropy, and that the axial and rhombic parts of the electronic fine structure tensor, D and E , have different signs. In the principal axis system of the fine structure tensor D , the parameters are determined: $|D|=1.47(1)$ GHz and $|E|=0.467(5)$ GHz, with a high $\sim E/D=-0.32$ asymmetry ratio. The principal axis lies nearly in the diagonal of the ab plane perpendicular to the c axis. The inclusion of the fourth degree Stevens parameters, the fourth term in Eq. (1), decreases only the total error weakly in the adjusted line positions.

The EPR absorption intensity depends generally on the g anisotropy. The theory is well established and described in standard references.¹⁷ The EPR intensity for an allowed transition is proportional to the intensity factor g_1 , which is related to g through its principal values and the direction cosines of the vector $\mathbf{u} \times \mathbf{u}_1$, where \mathbf{u} and \mathbf{u}_1 are the unit vectors along the applied static and oscillating magnetic fields, respectively.^{16,17} The expression for the intensity factor (and consequently the EPR absorption) g_1 depends on the principal g values and the angle between the static field and the principal axis, in such a way that the intensity ratio between two directions presents a fourth power dependence on the reason between g_x , g_y , and g_z , the principal g values. Consequently, the g anisotropy explains the intensity ratio of about 5:1 we have presented in Fig. 3. As already mentioned before, similar intensity ratios were also observed for Cu^{2+} -doped L -alanine samples,¹⁶ which was one of the first particular evidence that the EPR absorption intensity is related directly to the g anisotropy.

The absolute sign of the parameters of the fine structure tensor is determined from the temperature dependence of the EPR spectra along the principal direction of the tensor. Fig-

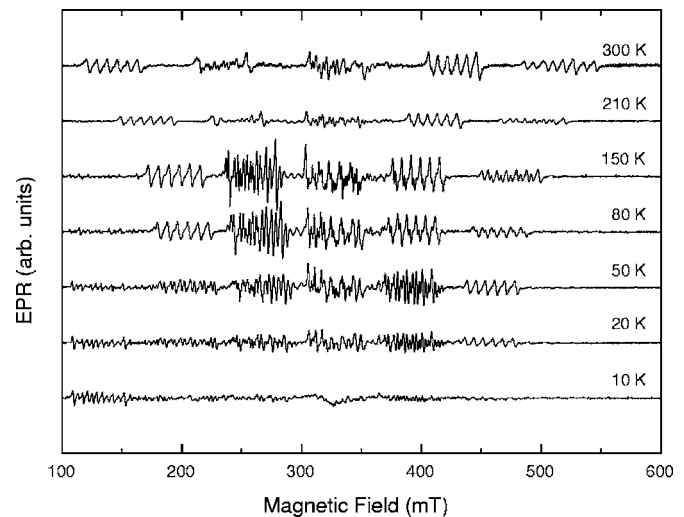


FIG. 5. Temperature dependence of the EPR spectra for orientation of the magnetic field near the diagonal of the ab plane of a monohydrated L -asparagine crystal.

ure 5 shows the temperature dependence of the Mn^{2+} -related EPR spectra for orientation of the magnetic field near the diagonal of the ab plane. From Fig. 5, it can be observed that the high field line packet increases in intensity when the temperature is lower, contrary to the low field line packet. This means that D is negative.¹³ At very low temperatures, the EPR spectra start to saturate. The EPR angular dependencies measured at 50 K indicate a strong reduction in the amplitude of the fine structure parameters and also of the asymmetry parameter. However, the point symmetry of the Mn^{2+} site is basically the same. D and E are reduced at 50 K to -1.20 and 0.26 GHz, respectively, producing an asymmetry ratio $E/D=0.22$.

The hyperfine interaction of Mn^{2+} , which has nuclear spin $I=5/2$, could not be analyzed in detail because of several line superpositions due to the two magnetically inequivalent sites, as well as misalignment effects. However, from the spectra some estimates were done. The hyperfine interaction is strongly anisotropic varying from 5.5(5) to 9.5(5) mT with the principal tensor axis nearly along c , perpendicular to the fine structure tensor axis. Such hyperfine values are expected for octahedral rather than tetrahedral coordination.¹⁷

Nitrogen superhyperfine interaction is mostly hidden in the linewidth of the Mn^{2+} hyperfine lines with individual line width $\Delta B_{pp} \approx 1.4$ mT. However, for some orientations, nitrogen superhyperfine interaction is poorly resolved, indicating at least interaction from two nitrogen neighbors. If we take into account also the D tensor orientation, then we conclude that Mn^{2+} ions are located between two amino groups, which belong to two different molecule distances of 3.15 Å, as shown in Fig. 1. Such geometry also implies that two nearest carboxyl groups from the same two asparagine molecules are close to the Mn^{2+} ions. The two nitrogen atoms bounded to the Mn^{2+} ions are situated nearly in the diagonal of the ab plane, more precisely making angles of 58° and 32° with the a and b axes, respectively. A small rearrangement may occur when Mn^{2+} enters between them. To determine the exact symmetry position, electron nuclear double resonance mea-

measurements of the nitrogen superhyperfine interaction is required. A similar bonding site was also suggested for Cu^{2+} ions in dimethylalanine and α -glycine,¹⁸ somewhat different for the case of Cu^{2+} incorporation in *L*-alanine, which is bound to three alanine molecules.⁵ The EPR analysis of Fe^{3+} in *L*-alanine by Winkler *et al.*⁶ should be taken with care because the fine structure parameters of Fe^{3+} were not determined. An isotropic Fe^{3+} -related EPR spectrum was reported; however, it was not analyzed.

The isotropic six-line hyperfine-split EPR spectrum of Mn^{2+} ions in monohydrated *L*-asparagine is described by an isotropic g factor of 2.002(1) and hyperfine interaction of 9.8(2) mT, taking into account the first and third terms of Eq. (1). The individual EPR line width $\Delta B_{pp} \sim 3.5$ mT is explained by unresolved superhyperfine interactions. The isotropic Mn^{2+} EPR spectrum in some of the samples is attributed to a variation of the $p\text{H}$ and the velocity of crystal growth. In this case, Mn^{2+} can either be included in the asparagine structure near the water molecules with no well-defined symmetry site or incorporated as liquid or solid inclusions. The first possibility is discarded because at the lowest measurement temperatures (about 10 K), the EPR spectrum is still isotropic. One should imagine that at least at low temperatures, a special configuration site would be frozen in, while the site symmetry is not well defined at higher temperature due to rotation of the water molecules in the structure, causing some disorder.

As in the well known case of the growth of protein crystals, there are many factors that give rise to the growth of amino acid crystals as a subtle phase transition. The purity of the water and reagents, the temperature of the ambient and of the water bath, the evaporation rate of the mother solutions, the flux of mother solution in the beakers, the dynamical small changes of the $p\text{H}$ of the mother solutions during the growth process (principally due to the metal incorporation), and contaminations are the factors that can change the way

manganese is incorporated in asparagine crystals. In particular, impurities and contamination of the order or below 1% (which are difficult to control) can favor planes of growth of the crystals and, consequently, the sites for metal incorporation. Further studies on the growth parameters are still necessary in order to distinguish what kind of growth parameters has the main influence on the type of manganese incorporation site.

V. SUMMARY

The detailed analysis of the Mn^{2+} EPR spectra in doped monohydrated *L*-asparagine monocrystals allow us to conclude that Mn^{2+} ions enter in two chemically nonequivalent positions in interstitial sites. The first is related to the isotropic EPR spectra with suppressed fine structure interaction. This site is only loosely bound to water molecules or manganese enters as solid or liquid inclusions during growth. The anisotropic Mn^{2+} -related center is more strongly bound to the crystal lattice maintaining the orthorhombic crystal symmetry. It shows intermediate zero-field splitting with strong asymmetry ratio E/D of -0.32 and -0.22 at 300 and 50 K, respectively. The incorporation site of Mn^{2+} occurs between two amino and two carboxyl groups belonging to two different asparagine molecules.

ACKNOWLEDGMENTS

K.K., B.S.C., and V.N.F. are senior researchers of the Conselho Nacional de Pesquisa Científica e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) in Brazil. B.S.C. and V.N.F. received financial support from project CNPq-Rede Nano-Bioestruturas, No. 555183/2005-0. K.K. acknowledges financial support from the Brazilian agencies FAPEMIG, FINEP, CNPq, and CAPES. T.M.O., G.A.B., and M.Z.S.F. received support from CNPq during the development of this work.

*Corresponding author. Email address: valder@fisica.ufc.br

¹T. Dudev and C. Lim, Chem. Rev. (Washington, D.C.) **103**, 773 (2003).

²N. Mizusawa, T. Tamanari, Y. Kimura, A. Ishii, S. Nakazawa, and T. Ono, Biochemistry **43**, 15644 (2004).

³D. A. Wah, A. Romero, F. G. del Sol, B. S. Cavada, M. V. Ramos, T. B. Grangeiro, A. H. Sampaio, and J. J. Calvete, J. Mol. Biol. **310**, 885 (2001).

⁴A. Lösche and W. Windsch, Phys. Status Solidi **11**, K55 (1965); M. Welter and W. Windsch, Wiss. Z.-Karl-Marx-Univ. Leipzig, Math.-Naturwiss. Reihe **15**, 309 (1966); W. Windsch and M. Welter, Z. Naturforsch. A **22A**, 1 (1967).

⁵K. Takeda, Y. Arata, and S. Fujiwara, J. Chem. Phys. **53**, 854 (1970).

⁶E. Winkler, A. Fainstein, P. Etchegoin, and C. Fainstein, Phys. Rev. B **59**, 1255 (1999).

⁷S. D. Dalosto, R. Calvo, J. L. Pizarro, and M. I. Arriortua, J. Phys. Chem. A **105**, 1074 (2001).

⁸R. C. Santana, J. F. Carvalho, S. R. Amaral, I. Vencatto, F. Pellegrini, M. C. Terrile, A. C. Hernandez, and R. Calvo, J. Phys. Chem. Solids **63**, 1857 (2002).

⁹R. C. Santana, M. G. Santos, R. O. Cunha, K. D. Ferreira, J. F.

Carvalho, and R. Calvo, J. Phys. Chem. Solids **67**, 745 (2006).

¹⁰J. R. Pinheiro, E. W. S. Caetano, V. N. Freire, G. A. Farias, K. Krambrock, M. C. F. de Oliveira, J. A. Pinheiro, B. S. Cavada, and J. L. de Lima Filho, Appl. Phys. Lett. (submitted).

¹¹J. L. Wang, Z. Berkovitch-Yellin, and L. Leiserowitz, Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci. **B41**, 341 (1985).

¹²W. D. Arnold, L. K. Sanders, M. T. McMahon, A. V. Volkov, G. Wu, P. Coppens, S. R. Wilson, N. Godbout, and E. Oldfield, J. Am. Chem. Soc. **122**, 4708 (2000).

¹³J. Casado, J. T. López Navarrete, and F. J. Ramírez, J. Raman Spectrosc. **26**, 1003 (1995).

¹⁴J. Casado, J. T. López Navarrete, and F. J. Ramírez, J. Mol. Struct. **349**, 57 (1995).

¹⁵A. J. D. Moreno, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, M. A. Araújo Silva, I. Guedes, and J. Mendes Filho, Solid State Commun. **103**, 655 (1997).

¹⁶M. Fujimoto and Y. Tomkiewicz, J. Chem. Phys. **56**, 749 (1972).

¹⁷A. Abragam and B. Bleaney, *Electron Paramagnetic Resonance of Transition Ions* (Dover, New York, 1986).

¹⁸K. Takeda, Y. Arata, and S. Fujiwara, J. Chem. Phys. **55**, 1152 (1971).

Short communication

Identification of lamivudine conformers by Raman scattering measurements and quantum chemical calculations

B.G. Pereira^a, C.D. Vianna-Soares^a, A. Righi^b, M.V.B. Pinheiro^b, M.Z.S. Flores^c,
E.M. Bezerra^c, V.N. Freire^{c,*}, V. Lemos^c, E.W.S. Caetano^c, B.S. Cavada^d

^a Escola de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, Campus Pampulha, 30123-970 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

^b Departamento de Física, ICEX, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, 30123-970 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

^c Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Caixa Postal 6030, Campus do Pici, 60455-900 Fortaleza, Ceará, Brazil

^d Departamento de Bioquímica, Laboratório e Bioquímica Molecular, Campus do Pici, Universidade Federal do Ceará, 60455-760 Fortaleza, Ceará, Brazil

Received 28 August 2006; received in revised form 6 January 2007; accepted 8 January 2007

Available online 16 January 2007

Abstract

Characterization of nucleoside and non-nucleoside human immunodeficiency virus (HIV) reverse transcriptase inhibitors conformers, NRTIs and NNRTIs, respectively, is fundamental for an improved treatment of infected individuals. Three conformers in lamivudine I powder are quickly identified in this work by assignment of some Raman peaks to their vibrational frequencies, as obtained by first principles quantum chemical calculations. The method is proposed as a practical procedure for non-destructive identification, analysis, and process monitoring of NRTIs and NNRTIs conformers.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

PACS: 31.15.Ew; 33.15.Bh; 33.20.Fb; 33.20.Tp; 26.20.Ey; 36.20.Ng

Keywords: Lamivudine; Raman spectrum; Conformers; Vibrational modes; Density functional theory; Human immunodeficiency virus; *cis*-1[2'-Hydroxymethyl-5'-(1,3-oxathiolanyl)]cytosine

1. Introduction

In the treatment of individuals infected with human immunodeficiency virus (HIV), the key case of antiretroviral therapy failing is the emergence of drug-resistance mutations. Conformational flexibility and adaptability are important in the design of nucleoside and non-nucleoside HIV reverse transcriptase inhibitors, NRTIs and NNRTIs, respectively [1]. They have a lot of sites forming inter and intramolecular hydrogen bonds, presenting conformations strongly dependent on the solvent characteristics and experimental conditions. Accurate knowledge of the conformational properties of NRTIs and NNRTIs would be important for the interpretation of drug-target interactions since adaptation to the binding pocket changes due to HIV mutations involves a combination of conformational adjustments, and rotational and translational shifts of the inhibitor

within the binding pocket. Improvement of antiretroviral therapy for the human immunodeficiency virus is related to conformational adjustment of drugs to the binding pocket. Consequently, it is important to have information on NRTIs and NNRTIs conformers, and to develop practical procedures for their non-destructive identification, analysis, and process monitoring.

The conformation analysis of several anti-HIV nucleoside analogues shows that the preferred sugar-ring orientation is based on C3'-exo conformations [2,3]. Fisher et al. [4] proposed 144 potentially bioactive conformations (due to relevant torsional angles φ_1 , φ_2 , φ_3) for the important compound 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine (AZT), the first clinically successful drug for acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) as well for AIDS-related diseases. The structural flexibility of 9-CI TIBO was investigated using high level of calculations, ab initio, and density functional theory (DFT), demonstrating the existence of eight pronounced local minima within an energy difference of less than 10 kJ/mol [5]. Finally, a molecular modeling study of the mechanism of tenofovir against 3TC- and AZT-resistance mutant HIV-1 reverse transcriptase [6] has indicated

* Corresponding author. Tel.: +55 85 3366 9937; fax: +55 85 3366 9450.
E-mail address: valder@fisica.ufc.br (V.N. Freire).

clearly that the conformational flexibility of acyclic natures of TFV provides energetically indistinguishable multiple conformations, which do not experience the cross-resistance conferred by mutants RTs.

The focus of this work is on lamivudine (3TC), 2(1H)-pyrimidinone,4-amino-1-((2*R*, 5*S*)-2(hydroxymethyl)1,3-oxathiolan-5-yl), one of the almost 40 compounds that have been officially approved for clinical use, having activity spectrum against HIV (types 1 and 2) and hepatitis B virus (HBV). It is indicated in combination with other anti-HIV agents such as zidovudine and abacavir [7], acting as a chain terminator, following intracellular phosphorylation to 3TC 5'-triphosphate, and, after removal of the diphosphate group, incorporation of 3TC 5'-monophosphate at the 3'-end of the viral DNA chain.

2. Lamivudine conformers

Lamivudine crystals are found in two polymorphic modifications: form I ($C_8H_{11}N_3O_3S \cdot 0.2H_2O$) has an orthorhombic asymmetric unit ($P2_12_12_1$) containing five non-equivalent molecules (with some disorder) and a bonded water associated to one of them, with lattice parameters $a = 10.427 \text{ \AA}$, $b = 14.327 \text{ \AA}$, $c = 34.851 \text{ \AA}$ [8]; form II ($C_8H_{11}N_3O_3S$) has a highly symmetrical tetragonal ($P4_32_12$) crystal lattice with one molecule in the unit cell with lattice parameters $a = b = 8.7490 \text{ \AA}$, $c = 26.523 \text{ \AA}$ [8]. Solution-state infrared (IR) and neutron magnetic resonance (NMR) spectra of the two forms are identical, while the only difference (a peak at 3545 cm^{-1} due to a single molecule of bonded water) in the solid-state IR spectra of the two forms do not, however, adequately reflect the fundamental differences in symmetry between them [8]. Whatsoever, it is not an easy task to identify the existence of lamivudine conformers in samples with IR and NMR standard techniques.

An exploratory conformational study of the molecule lamivudine in vacuum was performed by Fidanza et al. [9] using an ab initio method at the HF/3-21G level. The existence of four low-energy conformers was pointed out, as probably the most favorable structures for biological activity [9]. The choice of the conformers was based on the stabilization by intramolecular hydrogen bonding interactions of the C–H...O and O–H...O types between the rings. The conformers, labeled A, B, C, and D in Fidanza's et al. work [9], were classified as *anti* (A, B) or *syn* (C, D), according with the relative orientation of the two rings around the C–N bond (optimized structural parameters for such conformers are listed in the mentioned report). *Anti* conformations A and B contain the pyrimidine ring and the sugar analogue residue nearly perpendicular to each other [9]. In the first one the C–H...O is a hydrogen bond between the C₆–H aromatic bond and the oxygen atom in the hydroxymethyl group. In the other it is the C_{5'}–H...O(=C₂) interaction involving the C_{5'}–H at the modified sugar and the carbonyl oxygen of the thymine. On the other hand, *syn* conformations C and D exhibit C–H...O and O–H...O hydrogen bonding that involves the C=O group of thymine [9]. The C conformer shows hydrogen bonding interactions between the C=O of the pyrimidine ring and two hydrogen atoms, and the D conformer shows three hydrogen bonding interactions involving the oxygen atom of the

thymine carbonyl group. Arissawa et al. [10] have calculated the vibrational frequencies and have investigated the effects of solvents, Mulliken, and natural bond orbital charge distribution, as well as HB effects in nucleoside analogs with anti-HIV activity such as AZT, d4T, ddI, 3TC, and ddC. They tried to correlate very low and very high anti-HIV activity with charges, vibrational stretching frequencies, interatomic distances, and the effect of solvents. Yekeler [11] have studied conformational properties and the energy barriers between the *anti* and the *syn* configurations of 3TC, ddC, AZT and d4T using the density functional theory and taking into account the solute-solvent interaction via the self-consistent reaction field. However, no comparison with measurements was performed in the above mentioned works.

The purpose of this short communication is to show that Raman spectroscopy can be used for the detection of lamivudine conformers. This is accomplished through assignment of some Raman peaks to the vibrational modes of lamivudine conformers A, B, C, and D as obtained by quantum chemical calculations. Raman analysis of composites that show pharmacological activity is a promising new tool for their characterization, since it offers some advantages, such as the identification of raw materials, quantitative determination of active substances in different formulations, and polymorphic screening support. Vankeirsbilck et al. [12] pointed out potential applications of Raman spectroscopy in pharmaceutical analysis, weighting the advantages and disadvantages of this technique when applied to drug molecules. It is known that Raman, rather than infrared, is more useful to identify different crystalline polymorphic forms and molecular conformers, while near-infrared is better suited to detect similar carbohydrate species and varying hydration states. Raman spectroscopy moved out of the shadow of IR spectroscopy, providing real-time, multi-component chemical analysis for process monitoring and control for industrial liquid and solid process applications. Several pharmaceutical forms have already been studied by Raman spectroscopy [12]. The ability to theoretically predict physical properties in order to differentiate and/or explain molecular activity (i.e. different conformers and/or slightly different structures for molecules) is receiving attention from industry due to the cost reduction obtained with this strategy by avoiding the unnecessary use of expensive reagents and techniques.

The basic structure of the lamivudine molecule is depicted in the left side of Fig. 1. The atomic numbering follows the convention, with the hexagonal ring labeled with arabic numbers and the primed numbers labeling atoms out of this ring. The hexagonal ring comprises 12 atoms, the pentagonal ring is formed with 9 atoms and the OHCH₂-radical has 5 atoms, summing up a total of 26 atoms in the molecule. Lamivudine is a flexible molecule, which means that it can adopt a variety of dynamically-interconverting conformations, as shown in the right side of Fig. 1 for the A, B, C and D most relevant conformers according to the work of Fidanza et al. [9] Moreover, Harris et al. [8] have shown that form I of lamivudine crystals can host five different conformers in the unit cell, leading us to infer that the Raman spectra of lamivudine crystals may have contributions from different molecular geometries. As suitable conformations that may explain the Raman spec-

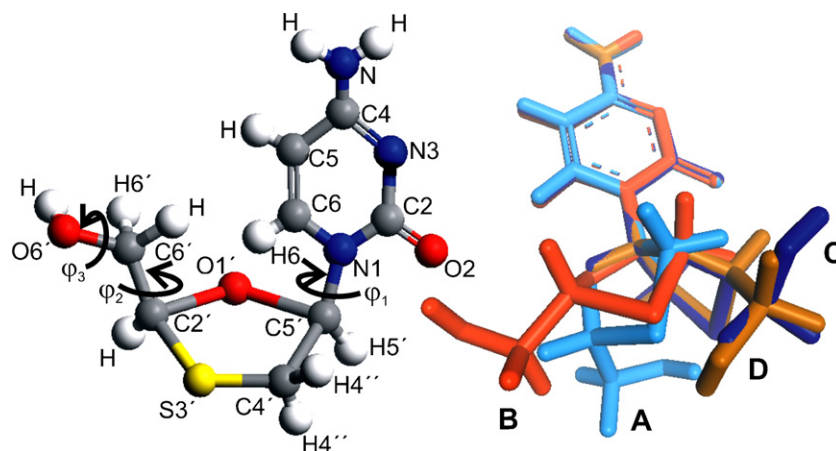


Fig. 1. *Left*: the structure of the lamivudine molecule showing the torsional angles φ_1 , φ_2 , φ_3 . *Right*: superimposed spatial profiles of the lamivudine conformers A, B, C, and D.

trum, we selected four minimum energy conformers which are very similar to those described by Fidanza et al. [9].

3. Raman scattering and vibrational modes assignment

Lamivudine is a white crystalline solid with melting point in the range of 160–162 °C and solubility of 70 mg/ml in water at 20 °C [15]. Its pK_a is equal to 4.3 and it is sufficiently stable in visible light and at room temperature in the solid state and water solution. There are two polymorphs of lamivudine in the crystalline phase, one partially hydrated (form I, orthorhombic, $P2_12_12_1$) and one anhydrous (form II, tetragonal, $P4_32_12_1$) [8]. X-ray measurements suggested a surprisingly large unit cell ($a = 10.427(2)$ Å, $b = 14.327(3)$ Å, $c = 34.851(7)$ Å) for the lamivudine form I, empirical formula $C_8H_{11}N_3O_3S \cdot 0.2H_2O$, with ~ 0.2 Å inter-molecular hydrogen bonds. This is consistent with five independent molecules being accommodated within the asymmetric unit, each showing a different conformation [8]. On the other hand, the lamivudine form II, empirical formula $C_8H_{11}N_3O_3S$, shows only one molecule in the crystallographic asymmetric unit ($a = b = 8.7490(12)$ Å, $c = 26.523(5)$ Å), with ~ 2.5 Å inter-molecular hydrogen bonds [8]. Lamivudine can be obtained as acicular crystals (form I, 0.2 hydrate) from water or methanol and as bipyramidal crystals (form II, non-solvated) from many nonaqueous solvents. Form II is thermodynamically favored in the solid state (higher melting point and greater density than form I) at ambient relative humidities. Solution calorimetry data indicated that form I is favored (less soluble) in all solvents studied on the basis of enthalpy alone. In higher alcohols and other organic solvents,

form I has a larger entropy of solution than form II, which compensates for the enthalpic factors and results in physical stability for form II in these systems [16]. The infrared spectra of both lamivudine forms are remarkably similar, but the hydrated form I reveals a peak at 3545 cm^{-1} which is due to a single molecule of bonded water associated with one of the five molecules in the asymmetric unit.

The Raman spectrum of lamivudine form I powder was measured with a LAB-RAM single spectrometer (Jobin-Yvon) equipped with a Charged Coupled Device (CCD) detection apparatus. As exciting radiation the 647.0 nm line from a He–Ne laser was employed. The laser beam was focused by an OLYMPUS microscope with a 100× objective. All measurements were performed in the back-scattering geometry and at room temperature. The spectral resolution imposed by the equipment was better than 2 cm^{-1} . In order to analyze the measured Raman spectrum, we performed first principles quantum chemical calculations for all the four lamivudine conformers A, B, C, and D. This calculation used the Gaussian 03 software [13] within the density functional formalism with the Becke's hybrid functional (DFT/B3LYP). A 6-31+G(d) basis set was adopted and geometry optimization was carried out for all selected conformations. The equilibrium configuration was considered, as the structure for which the rms force acting on all atoms was smaller than $0.3\text{ mHartree}/\text{Å}$. An energy threshold of 10^{-6} Hartree was adopted for the quadratically self-consistent field (SCF) convergence, and after energy minimization the energies obtained for the lamivudine conformers A, B, C, and D are listed Table 1. All molecules were simulated using the vacuum as dielectric environment. After molecular geometry optimization was achieved

Table 1
Angles φ_1 , φ_2 , φ_3 (in °) and calculated energies of the stable lamivudine conformers A, B, C, and D obtained after geometry optimization

	A	B	C	D
φ_1 [C6–N1–C5'–O1']	17.73	0.67	–109.88	–109.64
φ_2 [O1'–C2'–C6'–O6']	64.55	–69.00	–65.59	57.32
φ_3 [C2'–C6'–O6'–H]	61.28	–77.42	–60.25	47.60
Energy (a.u., Hartree)	–1099.58069	–1099.57336	–1099.57716	–1099.57918

through the search of a minimum for the total energy, the molecular polarizability tensor was calculated from the response theory. Table 1 lists the angles φ_1 , φ_2 , φ_3 of the lamivudine conformers A, B, C, and D obtained after geometry optimization, which agree very well with those obtained by Fidanza et al. [9]. The gradients for both the mean polarizability and anisotropy were calculated allowing to obtain the Raman differential cross section for each normal mode of vibration [14]. In this way, the Raman spectra for all the four lamivudine conformers A, B, C, and D were calculated. As an extra convergence criterion, the calculated normal modes of vibration were analyzed in order to ensure that all frequencies were positive. When a negative eigenvalue was found, this minimum would represent a saddle point and the corresponding molecular geometry was not suitable, even though the energy cutoff criterion was achieved. Finally, in order to allow theoretical comparison with the experimental results, we have scaled the computed frequencies by a factor of 0.9614 according to the work of Scott and Radom [17]. It is important to remark that a drawback of our work is that we have not simulated the Raman spectrum considering the orthorhombic cell with five independent lamivudine molecules accommodated within the asymmetric unit, which is a formidable computational task due to the number of atoms involved. However, the X-ray data of Harris et al. [8] shows that the lamivudine molecules are quiet far apart in the orthorhombic crystal, with inter-molecular hydrogen bond pairs with bond lengths in the 1.950–2.296 Å range. This suggest that our approach is a good approximation.

The Raman peaks of lamivudine I powder in the [260–660] cm^{-1} and [960–1360] cm^{-1} ranges assigned to the calculated vibrational frequencies of the lamivudine conformers are depicted in Figs. 2 and 3, respectively. Analysis of these data together with eigenvectors determination, allowed us to select a region in the spectra where the B and D lamivudine conformers give distinct contributions. This is the region between 360 and 660 cm^{-1} , that will be detailed next. Within the aforementioned region, the peak observed at 276 cm^{-1} is probably due to the rocking $\text{C6}'\text{-H2}$ + wagging NH_2 + wagging

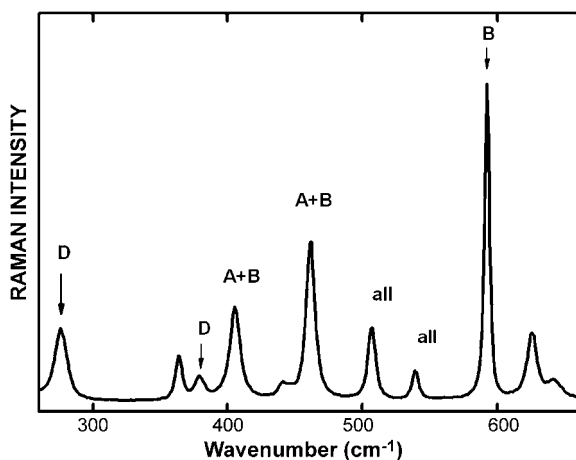


Fig. 2. The Raman spectrum of the lamivudine powder in the [260–660] cm^{-1} frequency range. The arrows indicate first-principles calculated vibrational frequencies of selected lamivudine conformers.

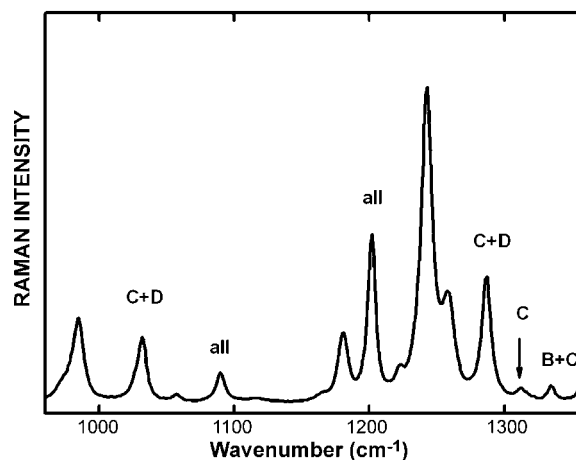


Fig. 3. The Raman spectrum of the lamivudine powder in the [960–1360] cm^{-1} frequency range. The arrows indicate first-principles calculated vibrational frequencies of selected lamivudine conformers.

$\text{N1-C5'O1}'$ of the lamivudine D conformer. The lamivudine D conformer can be identified by the peak at 380 cm^{-1} as well, which is assigned to NH_2 twisting + $\text{C2}'\text{-C6}'\text{-O6}'$ bending + N1-C6-C5 wagging + $\text{C4}'\text{H2}$ rocking. The strong peak at 592 cm^{-1} can be identified with the lamivudine B conformer asymmetric stretching $\text{C2}'\text{-S3}'\text{-C4}'$ + bending $\text{C2}'\text{-O1}'\text{-C5}'$, C5-C4-N3 , and C6-N1-C2 + rocking NH_2 . There are other bands that can be reasonably well attributed as isolated conformations, as will be shown next. In the region comprised between 960 and 1360 cm^{-1} , we can assign the peak at 1310 cm^{-1} as being an isolated contribution from the C conformation (although its intensity being small) related to $\text{C5}'\text{-C4}'$ stretching + $\text{H-C2}'\text{-O1}'$ bending and $\text{H-C6}'\text{-O6}'$ bending.

The remaining Raman lines cannot be attributed to a single conformation, safely, due to the overlap of bands closely positioned. Moreover, it is possible to define the superposition from two conformers modes appearing as single bands in the spectrum. In this category, the band at 406 cm^{-1} may be due to lamivudine conformer A (bending along C2-C5 + twisting NH_2 + $\text{C6}'\text{H2}$ and C2-N1-C6 rocking vibrations) and lamivudine conformer B (twisting NH_2 + torsion in φ_3 + wagging N1-C6-C5). Moreover the peak at 462 cm^{-1} can also be attributed to the contribution from both lamivudine conformers A (torsion in φ_3 + bending $\text{S3}'\text{-C2}'\text{-O1}'$ + rocking $\text{C4}'\text{H2}$) and B (torsion in φ_3 + rocking $\text{C4}'\text{H2}$ and $\text{C6}'\text{H2}$ + bending $\text{C2}'\text{-S3}'\text{-C4}'$ + wagging $\text{C5-N1-C5}'$). Likewise, the band at 1031 cm^{-1} can be assigned as a contribution from both lamivudine conformers C (asymmetric stretching $\text{O1}'\text{-C5}'\text{-C4}'$ and $\text{O6}'\text{-C6}'\text{-C2}'$ + bending N1-C6-C5 + rocking NH_2) and D (symmetric stretching $\text{O1}'\text{-C5}'\text{-N1}$ + stretching $\text{C5}'\text{-C4}'$ + rocking $\text{C6}'\text{H2}$ + twisting $\text{C4}'\text{H2}$ + bending $\text{H-O6}'\text{-C6}'$, C6-N1-C2 and C5-C4-N3). Furthermore, the peak at 1287 cm^{-1} can also be assigned as contributions from both C (stretching N1-C6 + bending $\text{C1-C5}'\text{-H5}'$ + wagging $\text{C4}'\text{H2}$ + stretching C2-N3 and C4-NH_2) and D (twisting $\text{C6}'\text{H2}$ + wagging $\text{C4}'\text{H2}$ + stretching N1-C6 + bending $\text{C2-N1-C5}'$ and $\text{H-C2}'\text{-C6}'$ + rocking NH_2) lamivu-

dine conformations. Finally, within the 960–1360 cm^{-1} spectra range, we can assign the small peak at 1334 cm^{-1} as being related to the double contribution from B (bending C4–NH₂, C2–N3–C4 and C2'–C6'–H + symmetric stretching N1–C5–C6 + rocking C6' and C5') and C (stretching C5'–C4' and O1'–C2' + bending H–C6'–O6') lamivudine conformations. The complete Raman spectra of lamivudine I in the frequency range 100–3600 cm^{-1} , as well as the modes assignment will be presented elsewhere [18].

4. Concluding remarks

In conclusion, the comparison of the first-principles calculated vibrational frequencies of the lamivudine conformers A, B, C, and D with the Raman spectrum of the lamivudine I powder allows to identify the existence of the conformers A, B, C, and D in the sample: the conformer D can be identified by the peaks at 276 cm^{-1} and at 380 cm^{-1} ; the conformer B can be identified by the peak at 592 cm^{-1} ; the conformer C can be identified by the peak at 1310 cm^{-1} ; finally, the conformer A could not be identified by an isolated peak using this procedure. A similar scheme, e.g. comparison of Raman scattering measurements of actual samples with quantum chemical calculated vibrational modes of conformers, can also be used for conformers identification in samples of others NRTIs and NNRTIs. In this sense, Raman scattering can be very useful for non-destructive identification, analysis, and process monitoring of NRTIs and NNRTIs conformers. This identification can lead to a practical monitoring process of the existence of conformers in the development of drugs for the treatment of HIV infected individuals.

References

- [1] K. Das, P.J. Lewi, S.H. Hughes, E. Arnold, *Prog. Bioph. Mol. Biol.* 88 (2005) 209–231.
- [2] E.W. Taylor, P. Van Roey, R.F. Schinazi, C.K. Chu, *Antiviral Chem. Chemother.* 1 (1990) 163–173.
- [3] P. Van Roey, E.W. Taylor, C.K. Chu, R.F. Schinazi, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 616 (1990) 29–40.
- [4] M.A. Fisher, P.N.S. Yadav, D. Kristol, E. Arnold, M.J. Modak, *J. Mol. Rec.* 7 (1994) 211–214.
- [5] S. Saen-oon, S. Hannongbua, P. Wolschann, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 43 (2003) 1412–1422.
- [6] Y. Chong, N. Akula, C.K. Chu, *Bio. Mol. Chem. Lett.* 13 (2003) 4019–4022.
- [7] E. De Clercq, *J. Clin. Vir.* 30 (2004) 115–133.
- [8] R.K. Harris, R.R. Yeung, R.B. Lamont, R.W. Lancaster, S.M. Lynn, S.E. Staniforth, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* (1997) 2653–2659.
- [9] N. Fidanza, F.D. Suvire, G.L. Sosa, R.M. Lobayan, R.D. Enriz, N.M. Peruchena, *J. Mol. Struct. THEOCHEM* 543 (2001) 185–193.
- [10] M. Arissawa, C.A. Taft, J. Felcman, *Int. J. Quant. Chem.* 93 (2003) 422–432.
- [11] H. Yekeler, *J. Mol. Struct.* 684 (2004) 223–230.
- [12] T. Vankeirsbilck, A. Vercauteren, W. Baeyens, G. Van der Weken, F. Verpoort, G. Vergoten, J.P. Remon, *Trends Anal. Chem.* 21 (2002) 869–877.
- [13] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, J.A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K.N. Kudin, J.C. Burant, J.M. Millam, S.S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J.E. Knox, H.P. Hratchian, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, P.Y. Ayala, K. Morokuma, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, V.G. Zakrzewski, S. Dapprich, A.D. Daniels, M.C. Strain, O. Farkas, D.K. Malick, A.D. Rabuck, K. Raghavachari, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, Q. Cui, A.G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B.B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R.L. Martin, D.J. Fox, T. Keith, M.A. Al-Laham, C.Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P.M.W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M.W. Wong, C. Gonzalez, J.A. Pople, *Gaussian 03, Revision C.02*, Gaussian Inc., Wallingford CT, 2004.
- [14] L.N. Vidal, P.A.M. Vazquez, *Quimica Nova* 26 (2003) 507–511.
- [15] S. Budawari, *The Merck index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*, 12th ed., Rahway, 1996.
- [16] M.J. Jozwiakowski, N.-A.T. Nguyen, J.M. Sisco, C.W. Spancake, *J. Pharm. Sci.* 85 (1996) 193–199.
- [17] A.P. Scott, L. Radom, *J. Phys. Chem.* 100 (1996) 16502–16513.
- [18] B.G. Pereira, C.D. Vianna-Soares, A. Righi, M.V.B. Pinheiro, M.Z.S. Flores, E.M. Bezerra, V.N. Freire, V. Lemos, E.W.S. Caetano, *J. Phys.: Condens. Matter*, submitted for publication.

1 Optical absorption and electronic band structure first-principles calculations of α -glycine crystals

2 M. Z. S. Flores, V. N. Freire, R. P. dos Santos, and G. A. Farias
3 *Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Caixa Postal 6030, 60455-900 Fortaleza, Ceará, Brazil*

4 E. W. S. Caetano
5 *Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará, Avenida 13 de Maio, 2081, Benfica, 60040-531 Fortaleza, Ceará, Brazil*

6 M. C. F. de Oliveira
7 *Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, 60451-970 Fortaleza, Ceará, Brazil*

8 J. R. L. Fernandez and L. M. R. Scolfaro
9 *Instituto de Física, Universidade de São Paulo, Caixa Postal 66318, 05315-970 São Paulo, São Paulo, Brazil*

10 M. J. B. Bezerra, T. M. Oliveira, G. A. Bezerra, and B. S. Cavada
11 *Departamento de Bioquímica, Laboratório de Bioquímica Molecular, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, 60455-900*
12 *Fortaleza, Ceará, Brazil*

13 H. W. Leite Alves
14 *Departamento de Ciências Naturais, UFSJ, Caixa Postal 110, 36300-000 São João Del Rei, Minas Gerais, Brazil*
15 (Received 26 March 2007; revised manuscript received 8 October 2007)

16 Light absorption of α -glycine crystals grown by slow evaporation at room temperature was measured,
17 indicating a 5.11 ± 0.02 eV energy band gap. Structural, electronic, and optical absorption properties of
18 α -glycine crystals were obtained by first-principles quantum mechanical calculations using density functional
19 theory within the generalized gradient approximation in order to understand this result. To take into account the
20 contribution of core electrons, ultrasoft and norm-conserving pseudopotentials, as well as an all electron
21 approach were considered to compute the electronic density of states and band structure of α -glycine crystals.
22 They exhibit three indirect energy band gaps and one direct Γ - Γ energy gap around 4.95 eV. The optical
23 absorption related to transitions between the top of the valence band and the bottom of the conduction band
24 involves O $2p$ valence states and C, O $2p$ conduction states, with the carboxyl group contributing significantly
25 to the origin of the energy band gap. The calculated optical absorption is highly dependent on the polarization
26 of the incident radiation due to the spatial arrangement of the dipolar glycine molecules; in the case of a
27 polycrystalline sample, the first-principles calculated optical absorption is in good agreement with the mea-
28 surement when a rigid energy shift is applied.

29 DOI: XXXX

PACS number(s): 71.20.Rv, 78.20.-e, 78.40.Me, 78.55.Kz

31 I. INTRODUCTION

32 The crystals formed from the 20 natural amino acids are
33 interesting structures, being intermediary between molecules
34 and the conventional solid state. These amino acid crystals
35 are stabilized by hydrogen bonds and dipolar electrostatic
36 interactions (known as salt bridges).¹ Since the hydrogen
37 bonds determine the spatial arrangement of the amino acid
38 molecules in their crystalline form, they can also have an
39 important role in the structural, electronic, and optical prop-
40 erties of amino acid crystals. There are efforts to take advan-
41 tage of amino acid films in biosensors and optoelectronic
42 devices,² and the adhesion of amino acids on a series of
43 inorganic surfaces including insulators and semiconductors
44 was already investigated.³ Oda and Nakayama^{4,5} have pro-
45 posed to control electrically the amino acid ionization and
46 the conformation of proteins arranged on semiconductor sur-
47 faces, which might produce new types of biodevices. Stros-
48 cio and Dutta⁶ have described advances in man-made nano-
49 structures integrated with biological molecules and systems,
50 their properties, characteristics, and functions. Consequently,
51 it is of paramount importance to understand fundamental as-

pects (in particular, electronic and optical characteristics) of
52 amino acid crystals and films for the future development of
53 bio-optoelectronic devices. 54

55 The crystal structures of several amino acids have been
56 widely studied by x-ray diffraction and their vibrational (in-
57 frared and Raman) properties have also been measured. 58
59 However, their luminescence and light absorption properties
60 were not investigated in general, and information concerning
61 electronic and optical properties of amino acid crystals is
62 very limited. The unique exceptions are the pioneer lumines-
63 cence and optical transmission studies below 3.5 eV in crys-
64 talline L-alanine, irradiated or doped with Cu and Fe per-
65 formed by Winkler *et al.*⁷⁻⁹ In the case of Cu-doped
66 L-alanine crystals, they have used nine Ar⁺-laser lines
67 (514.5–454.5 nm) to show a broad luminescence in the vis-
68 ible region ($\hbar\omega > 3.0$ eV), which was attributed to defect
69 states in the L-alanine crystal gap, but without any calcula-
70 tion of the band structure to strengthen such interpretation. 69
71 Winkler *et al.*⁹ have also observed intense absorption in the
72 ultraviolet range ($\hbar\omega > 3.4$ eV), and two other weaker ab-
73 sorptions in the visible region ($\hbar\omega \sim 2.0$ eV, 3.25 eV). Their
results suggested that the L-alanine crystal is an insulator, 73

74 with energy gap in the ultraviolet energy range (E_g
 75 >4.0 eV). This suggestion was confirmed by the light ab-
 76 sorption and/or ultraviolet photoluminescence measurements
 77 and density functional theory calculations of Caetano *et al.*,²
 78 which have demonstrated that the L-alanine crystal is a wide
 79 direct gap material with $E_{g(\Gamma-\Gamma)}=5.02$ eV. Later, Tulip and
 80 Clark¹ have investigated the structural and electronic proper-
 81 ties of alanine, leucine, isoleucine, and valine crystals using
 82 density functional theory (DFT) within the generalized gra-
 83 dient approximation (GGA), finding energy band gaps of the
 84 order of 5.0 eV. In the case of L-alanine crystals, the calcu-
 85 lations of Tulip and Clark¹ agree with both the experimental
 86 and theoretical results of Caetano *et al.*² However, their re-
 87 sults could not be confirmed for leucine, isoleucine, and va-
 88 line crystals due to lack of experimental data. Tulip and
 89 Clark¹ found that (i) the electrons are highly localized at the
 90 amino acid molecules in their crystals, (ii) the main mecha-
 91 nisms behind amino acid crystal formation and stabilization
 92 are dipolar electrostatic interactions and hydrogen bonding,
 93 and (iii) amine and carboxyl functional groups are crucial to
 94 determine the electronic band structure.

95 With the exception of L-alanine, leucine, isoleucine, and
 96 valine crystals,^{1,2} the electronic and optical properties of
 97 other amino acid crystals, to the best of our knowledge, were
 98 not investigated using *ab initio* methods. In particular, the
 99 optical properties of glycine crystalline polymorphs were not
 100 measured nor estimated by calculations. The theoretical
 101 study of observed and hypothetical polymorphs of glycine
 102 recently published by Chisholm *et al.*¹⁰ aimed to investigate
 103 the merits of crystal structure prediction using first-principles
 104 methods, and has focused only on their structural character-
 105 istics, without presenting data on their electronic structure
 106 and interactions with electromagnetic waves. Perlovich *et*
 107 *al.*¹¹ carried out x-ray, differential scanning calorimetry, and
 108 solution calorimetric investigations for α , β , and γ modifi-
 109 cations of glycine, also presenting a survey of lattice param-
 110 eters measured by several groups. Experimental results on
 111 the electronic and optical properties of glycine polymorph
 112 crystals are absent in the literature.

113 Although being the simplest amino acid, glycine [see the
 114 molecule in Fig. 1(a)] is essential for the biosynthesis of
 115 nucleic acids,¹² and acts as inhibitory neurotransmitter in the
 116 brain and/or spinal cord.^{13,14} It has no stereoisomers, but
 117 eight neutral minimum-energy conformers in the gas phase
 118 were predicted by theoretical studies,¹⁵ three of which being
 119 confirmed experimentally.^{16,17} In the solid state, glycine as-
 120 sumes the zwitterionic form $\text{NH}_3^+\text{CH}_2\text{COO}^-$, with three poly-
 121 morphs α (monoclinic, $P2_1/n$), β (monoclinic, $P2_1$), and γ
 122 (hexagonal, $P3_2/P3_1$). While γ is more stable at room
 123 temperature,^{18,19} the α polymorph grows spontaneously from
 124 aqueous solutions and it is the most studied. In the α struc-
 125 ture, layers of dipolar glycine molecules occur parallel to the
 126 *ac* plane due to two $\text{N-H}\cdots\text{O}$ hydrogen bonds. These layers
 127 are linked by much weaker bifurcated $\text{N-H}\cdots\text{O}$ hydrogen
 128 bonds and very weak interlayer $\text{C-H}\cdots\text{O}$ hydrogen bonds
 129 [see Figs. 1(b) and 1(c)], giving rise to antiparallel double
 130 layers.^{20,21}

131 The purpose of this work is to present light absorption
 132 experimental data for α -glycine crystals, as well as first-

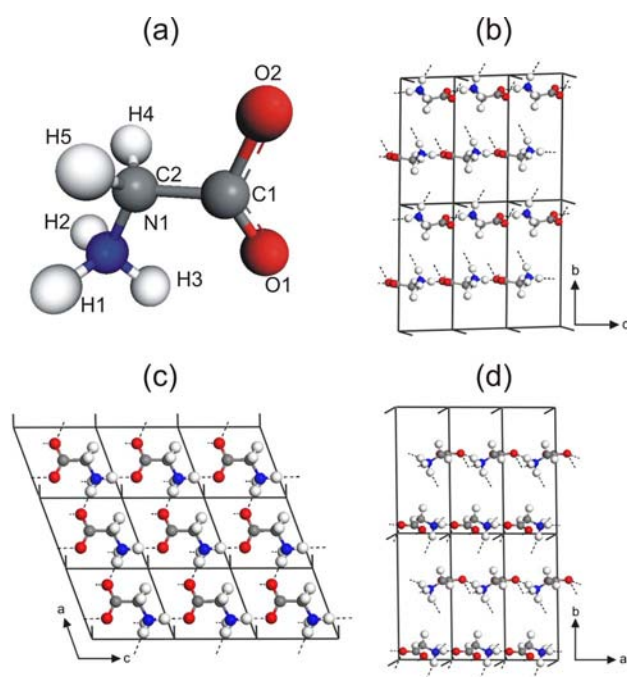


FIG. 1. (Color online) (a) The zwitterionic glycine molecule: C2 is the α -carbon; (b) hydrogen bonds in a α -glycine crystal depicted along the axis *a*; (c) hydrogen bonds in a α -glycine crystal depicted along the axis *b*; (d) hydrogen bonds in a α -glycine crystal depicted along the axis *b*. The amine and carboxyl groups are aligned along the $[001]$ axis.

principles quantum mechanical calculations of the electronic
 band structure, density of states, and optical absorption
 within the DFT-GGA in order to interpret the measurements.
 α -glycine crystals were grown by slow evaporation, and the
 best samples were used to perform the experiments. Experi-
 mental optical absorption indicates the existence of an inter-
 band energy gap of 5.11 ± 0.02 eV, which is close to the cal-
 culated electronic band structure of α -glycine crystals. An all
 electron (AE) approach, as well as ultrasoft pseudopotential
 (USP) and norm-conserving (NC) pseudopotential were used
 to compute the electronic band structure and density of states
 of α -glycine crystals, the former exhibiting three principal
 indirect gaps at different symmetry points, and one direct
 gap. Considering the all electron approach, the indirect en-
 ergy gaps are 4.89, 4.94, and 4.96 eV, and the direct Γ - Γ
 energy gap is 4.95 eV. The optical absorption regime for
 energies below 5.3 eV is demonstrated to be ruled by transi-
 tions involving O $2p$ valence states and C, O $2p$ conduction
 states. The DFT-GGA estimated optical absorption is shown
 to be highly dependent on the polarization of the incident
 radiation due to the spatial arrangement of the zwitterionic
 (dipolar) glycine molecules.

The paper is organized as follows: in Sec. II, the growth
 and optical absorption measurements of α -glycine crystals
 are described; details of the quantum mechanical DFT-GGA
 calculations are presented in Sec. III, together with the elec-
 tronic band structure obtained using ultrasoft and norm-
 conserved pseudopotentials, and an all electron framework;
 in Sec. IV, the theoretical optical absorption (which is com-
 pared with our measurements) for α -glycine crystals is cal-

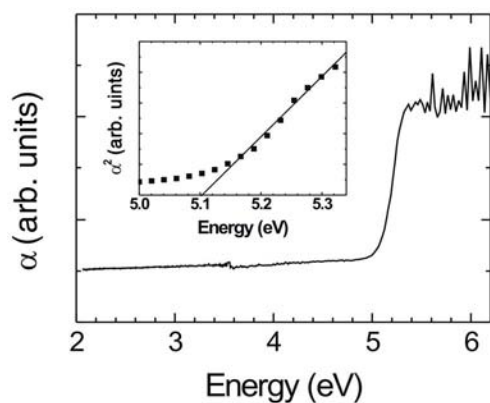


FIG. 2. (Color online) Optical absorption of α -glycine crystals measured at 300 K with nonpolarized incident radiation. In the inset, the experimental data are depicted by squares, and the straight line points to the estimated energy gap.

III. BAND STRUCTURE OF α -GLYCINE CRYSTALS 201

In order to interpret the light absorption obtained experimentally, quantum mechanical first-principles calculations were carried out by using the density functional theory within the generalized gradient-corrected approximation (CASTEP code)²⁵ to obtain the lattice parameters and atomic internal coordinates of α -glycine crystals that minimize the unit cell total energy. The unit cell geometry and atomic positions of the α -glycine crystal were optimized using experimental x-ray data¹¹ as input for our calculations. The Perdew-Burke-Ernzerhof (PBE) exchange-correlation functional²⁶ was used in the GGA approach, while Vanderbilt ultrasoft pseudopotentials were adopted to represent core electrons. Evaluation of integrals in the reciprocal space was achieved using a (5,2,5) Monkhorst-Pack grid,²⁷ which corresponds to a k -point separation of about 0.04 \AA^{-1} . The Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno optimization scheme was adopted and a plane-wave basis set was used to represent the electronic states. In order to obtain an atomic geometry that minimizes the unit cell total energy, lattice parameters, unit cell angles, and atomic positions were converged obeying the following criteria: (i) total energy variation smaller than $5 \times 10^{-6} \text{ eV}$, (ii) maximum force on any atom smaller than 0.01 eV/\AA , (iii) stress smaller than 0.02 GPa , and (iv) atomic displacements smaller than $5 \times 10^{-4} \text{ \AA}$. The converged lattice parameters calculated with cutoff energy $E_{cut}=560 \text{ eV}$ are in good agreement with those obtained by Chisholm *et al.*,¹⁰ as well as with the experimental values of Legros and Kvik, and Perlovich *et al.*¹¹

After geometry optimization with $E_{cut}=560 \text{ eV}$ and always adopting the PBE exchange-correlation functional, the electronic band structure and the density of states (total, partial, and the relative contribution of each atom) of α -glycine crystals were evaluated in three different ways using (i) the same ultrasoft pseudopotentials and plane-wave basis set of the geometry optimization, with cutoff energy 560 eV ; (ii) norm-conserved pseudopotentials²⁸ with cutoff energy of 770 eV for the plane-wave basis set; and (iii) double numerical plus polarization orbitals,^{29,30} considering explicitly all electrons (core+valence) with a cutoff radius of 5 \AA , and a self-consistent total energy convergence threshold of 10^{-6} eV/at . The choice of norm-conserved pseudopotentials for the optical property calculations was made because ultrasoft pseudopotentials produce a contribution to optical matrix elements that is not included in the CASTEP code (however, ultrasoft calculated optical properties are generally in good agreement with the results obtained using norm-conserving potentials).

The atomic and functional group contributions to the density of states are shown in Fig. 3. There are four energy bands close to -20 eV originating mainly from O $2s$ orbitals, but with a contribution of C $2s$ orbitals; 8 bands near -17.5 eV with main contributions from O $2s$ and N $2s$ orbitals (known as lone pairs); and 4 bands near -12.0 eV with main contribution from C $2s$ orbitals. In the energy region between -8.0 and -2.5 eV there are 32 valence bands with contributions from O $2p$, C $2p$, and N $2p$ orbitals. The 12 uppermost valence bands in the -1.3 to 0.0 eV range result mostly from O $2p$ orbitals. For the lowest conduction bands

culated within the pseudopotential scheme and taking into account the core electrons; the last section contains our concluding remarks.

II. OPTICAL ABSORPTION MEASUREMENT IN α -GLYCINE CRYSTALS 166

There are four glycine molecules (40 atoms) per unit cell in α -glycine crystals. The lattice parameters were obtained from x-ray diffraction by Perlovich *et al.*,¹¹ and Legros and Kvik.²² We have used the standard slow evaporation method to grow monoclinic ($P2_1/n$) α -glycine crystals at room temperature from saturated aqueous mother solutions of glycine (commercial, 99% pure, Sigma-Aldrich Corporation). The crystals of better optical quality were chosen for the measurements.

Light absorption measurements on five glycine crystal samples at 300 K were performed using a Carry 500 scan-Varian UV-vis-NIR photospectrometer, which has a 0.1 nm tolerance in the UV-visible spectrum. Figure 2 depicts a typical light absorption spectrum of α -glycine crystals, while the inset shows the optical absorption data evaluated over five samples. The light absorption of glycine crystals increases strongly around 5.11 eV , which is an estimate of the energy gap E_g of α -glycine crystals. The onset of the absorption coefficient α as a function of the energy for a direct band gap material is related to the incident photon energy by $\alpha = C(h\nu - E_g)^{1/2}$, where C is a constant.^{23,24} As the optical absorption in a direct optical transition is much stronger, we assume that the onset of the measured optical absorption spectrum is better described by using the formula for the optical absorption of a direct band gap material since the theoretical indirect and direct energy band gaps for glycine are very close, as demonstrated in the next section. In the region where the light absorption of α -glycine crystals increases strongly, a linear fit of the high energy side of the square of the absorbance presented in Fig. 2 indicates an energy gap of $5.11 \pm 0.02 \text{ eV}$. The estimated error is related to the inhomogeneity and defects of the crystals due to the growth process.

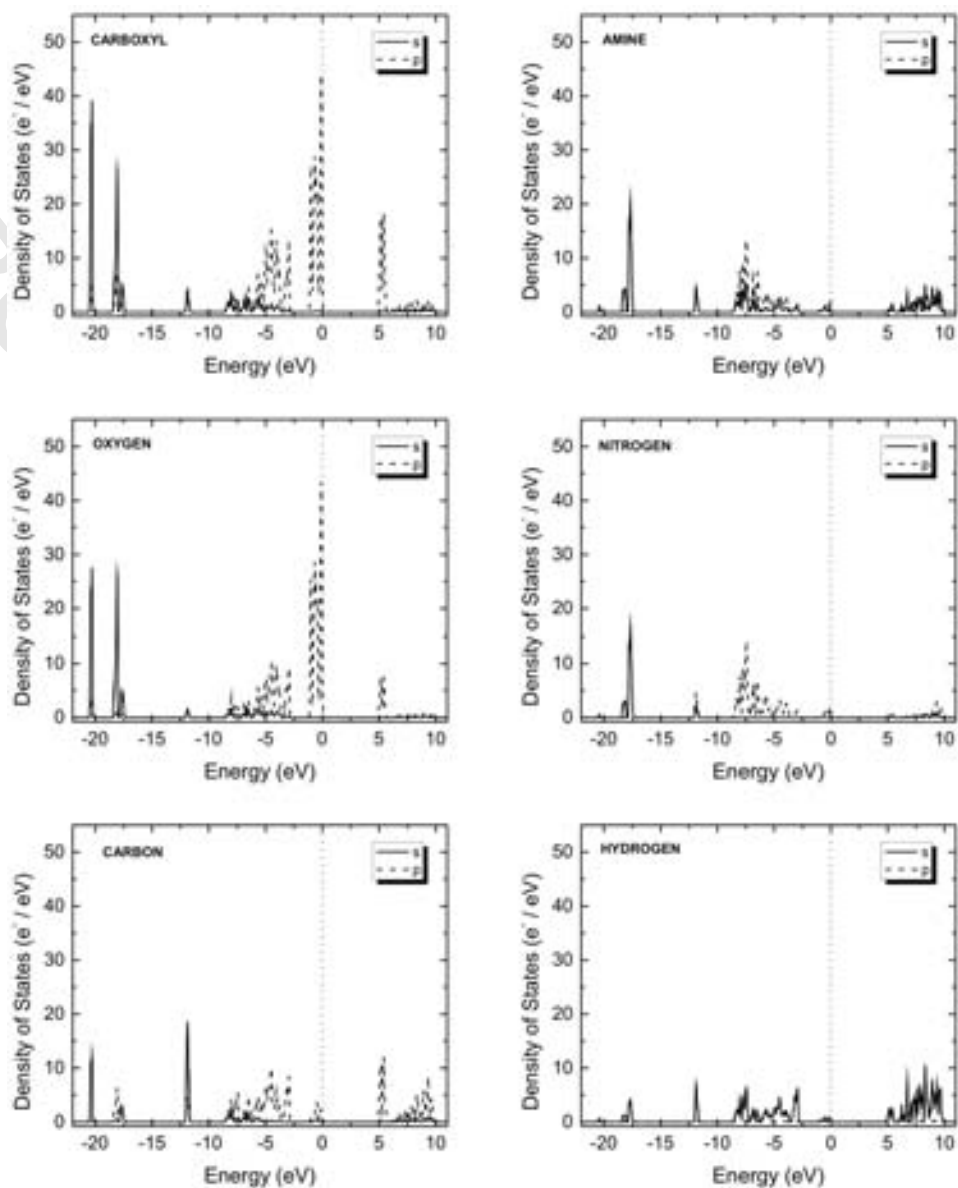


FIG. 3. Atomic and functional group contributions to the density of states of α -glycine monoclinic crystals calculated within the all electron approach.

260 around 5.11 eV, the main contributions are from C 2*p* and
 261 O 2*p* orbitals, but there is a slight contribution of the H 1*s*
 262 states from the amine site. Finally, the most important con-
 263 tribution for the partial density of state above 6.0 eV comes
 264 from unoccupied H 1*s* states. In terms of functional groups,
 265 it is the carboxyl one that contributes more significantly to
 266 the highest valence and lowest conduction bands which give
 267 rise to the 5.11 eV main energy gap, as shown clearly at the
 268 top, left side panel of Fig. 3. This result contrasts with the
 269 suggestion of Tulip and Clark¹ that the carboxyl and amine
 270 functional groups are dominant in determining the band
 271 structure of L-alanine, -leucine, -isoleucine, and -valine crys-
 272 tals. Such difference is, however, too small and must be ac-
 273 counted for due to numerical fluctuations during the compu-
 274 tations carried out by us and those of Tulip and Clark.¹ We
 275 also suppose that the existence of quasidegenerated bands

and the small size of the plane wave basis set adopted in both
 works help us to explain this difference.

The full electronic band structure of α -glycine crystals is
 shown in Fig. 4, which was obtained using the all electron
 approach. Details of the band structure close to the main gap
 are shown in Fig. 5. In the case of the valence band, all
 approaches (AE, NC, and USP) lead to practically the same
 band structure (differences smaller than 10 meV). This oc-
 curs because DFT is well suited to describe ground state
 properties. There are three valence band maxima located be-
 tween the symmetry points Z and Γ , Y and A, and B and D.
 Their energies calculated within the different approaches are
 shown in Table I. Figure 5 shows that the AE (solid lines),
 USP (dotted lines), and NC calculations (dashed lines) pre-
 dict decreasing values for the conduction band minimum. A
 rigid vertical energy shift of 0.31 eV for $E_{NC} \rightarrow E_{AE}$ and

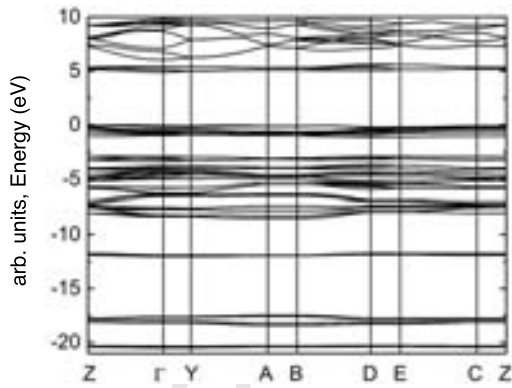


FIG. 4. Band structure of α -glycine monoclinic crystals in the -20.0 to 10 eV range calculated within the all electron approach.

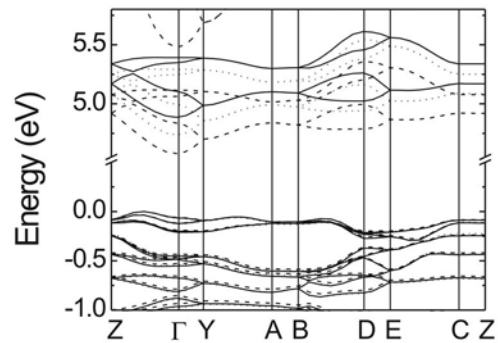


FIG. 5. (Color online) Detail of the band structure of α -glycine near the Fermi energy level. The curves were obtained from calculations considering the all electron approach (solid lines), and ultrasoft (dotted lines) and norm-conserving pseudopotentials (dashed lines).

292 0.17 eV for $E_{US} \rightarrow E_{AE}$ leaves all three approaches with quite
 293 approximately the same conduction band curves. Through
 294 our calculations, we find that α -glycine crystals have three
 295 close indirect energy gaps in different symmetry points
 296 whose values are shown in Table I. When double numerical
 297 plus polarization orbitals are considered to obtain the elec-
 298 tronic band structure, the indirect gaps are 4.89 eV ($[Z, \Gamma]$
 299 $\rightarrow \Gamma$), 4.94 eV ($[Y, A] \rightarrow \Gamma$), and 4.96 eV ($[B, D] \rightarrow \Gamma$), while
 300 the direct gap ($\Gamma \rightarrow \Gamma$) is 4.95 eV. Both valence band
 301 maxima and conduction band minima are originated for the
 302 most part from O $2p$ orbitals of the carboxyl group $-\text{COOH}$,
 303 as shown by the density of states depicted in Fig. 3.

304 Due to the well known underestimation of band gaps in
 305 DFT calculations, the α -glycine crystal must have an insula-
 306 tor character with a band gap larger than 4.95 eV, which is in
 307 close agreement with the 5.11 ± 0.02 eV obtained from the
 308 optical absorption measurements (see Fig. 2). The difference
 309 between theoretical calculations and the experimental value
 310 is of the order of -10% for the band structure calculated
 311 within the norm-conserved approach, and of the order of
 312 -3% for the band structure calculated using the all electron
 313 approach, an unexpected level of agreement for DFT calcu-
 314 lations, which usually underestimate the band gap by 30% –
 315 50% .

TABLE I. Valence band maxima (three first lines of the table) and band gap energies (four remaining lines) for α -glycine crystal calculated within the all electron, ultrasoft, and norm-conserving pseudopotential approaches.

	AE (eV)	US (eV)	NC (eV)
$[Z, \Gamma]$	0.000	0.000	0.000
$[Y, A]$	-0.056	-0.062	-0.055
$[B, D]$	-0.073	-0.076	-0.074
$[Z, \Gamma] \rightarrow \Gamma$	4.89	4.74	4.58
$[Y, A] \rightarrow \Gamma$	4.94	4.80	4.63
$[B, D] \rightarrow \Gamma$	4.96	4.81	4.65
$\Gamma \rightarrow \Gamma$	4.95	4.81	4.64

IV. CALCULATED OPTICAL ABSORPTION OF α -GLYCINE CRYSTALS

The optical absorption was calculated from the oscillator strengths computed for interband transitions involving the norm-conserved pseudopotential electronic wave functions, and considering incident light polarized along the $[001]$, $[100]$, and $[010]$ crystalline axes and a polycrystalline sample. The optical absorption was obtained from the imaginary part of the complex dielectric function, given by

$$\varepsilon_2(\omega) = \frac{2e^2\pi}{\Omega\varepsilon_0} \sum_{\mathbf{k}, v, c} |\langle \psi_{\mathbf{k}}^c | \hat{\mathbf{u}} \cdot \mathbf{r} | \psi_{\mathbf{k}}^v \rangle|^2 \delta(E_{\mathbf{k}}^c - E_{\mathbf{k}}^v - \hbar\omega), \quad (1)$$

where ω is the light frequency, and $\psi_{\mathbf{k}}^c$ and $\psi_{\mathbf{k}}^v$ are, respectively, the conduction and valence band wave functions at \mathbf{k} calculated within the DFT-GGA approach. The vector $\hat{\mathbf{u}}$ points along the polarization of the incident electric field. The real part ε_1 of the dielectric function is obtained from the imaginary part ε_2 using the Kramers-Kronig relationship.^{31,32} The imaginary and real parts of the refraction index (k and n , respectively) are related to ε_1 and ε_2 through

$$\varepsilon_1 = n^2 - k^2, \quad (2)$$

$$\varepsilon_2 = 2nk. \quad (3)$$

Finally, the optical absorption has the following expression:

$$I(\omega) = \frac{2k\omega}{c}. \quad (4)$$

Looking at Fig. 6, the optical absorption for light polarized along $[100]$ is much more pronounced within the 4.5–7.5 eV energy range. On the other hand, the absorption regime for energies below 5.3 eV, which includes indirect and direct electronic transitions assigned in the band structure shown in Fig. 5, has small peaks. Looking at the partial density of states, we note that this regime is ruled by transitions involving O $2p$ valence and conduction states. These transitions are precluded due to the orbital angular momen-

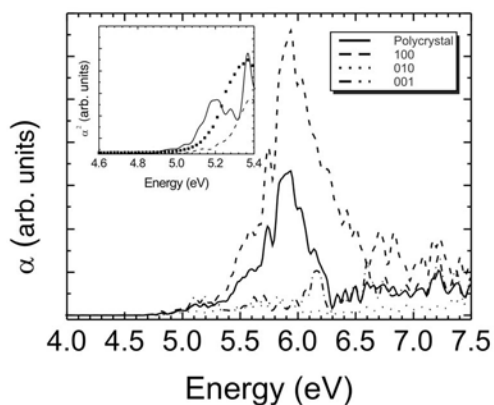


FIG. 6. (Color online) Optical absorption calculated with norm-conserving pseudopotentials for different polarization planes ([100]—dashed; [010]—dotted; [001]—dash dotted) and a polycrystalline sample (solid). The inset shows a comparison between the square of the experimental absorbance (squares), and the squared optical absorption calculated for polycrystalline samples using ultrasoft (solid) and norm-conserved (dashed) pseudopotentials.

349 tum selection rule. Indeed, the optical absorption is due to
350 the coupling of electronic states via an electric dipole inter-
351 action term, which is small when electronic states originated
352 from atomic orbitals with the same angular quantum number
353 are considered.

354 For energies in the 5.3–6.3 eV range, there is a strong
355 peak for absorption along the [100] direction in comparison
356 with absorption along the [010] and [001] directions. The
357 partial density of states reveals a strong contribution from
358 N $2p$ levels to the electronic wave functions therein. To ex-
359 plain this, we remember that oxygen atoms are situated in
360 one side of the glycine molecule, at the carboxyl group,
361 while nitrogen is part of the amine group on the opposite
362 side. In the α -glycine crystal, amine and carboxyl groups in
363 a same molecule are almost aligned to the [001] axis, as
364 shown in Fig. 1(b). However, there is some interaction be-
365 tween neighbor molecules. Looking at one positively
366 charged amine group and its three negatively charged car-
367 boxyl nearest neighbors in the ac plane, it can be seen that
368 the electric dipole that results by adding the dipole compo-
369 nents along the lines connecting the amine to the carboxyl
370 radicals has a dominating component along [100]. So, for
371 incident light polarized along the [100] crystal axis a strong
372 electric dipole coupling emerges that transfers charge from
373 carboxyl groups to amine groups, strengthening the absorp-
374 tion peak we observe in our theoretical calculations. A direct
375 electronic transition, on the other hand, explains the energy
376 value where the strongest absorption peak takes place, as
377 commented below. Therefore, absorption for a polycrystal-
378 line sample will be mainly due to the [100] contribution.

379 For energies larger than 6.3 eV, the absorption intensity
380 decreases for all polarization directions because O $2p$ levels
381 contribute more intensely to the conduction states above this
382 energy. The main polycrystalline absorption peaks occur for
383 5.3, 5.5, 5.8, 5.9 (strongest), and 6.1 eV. The first two peaks

are related to indirect transitions from the top of the valence
band to the two conduction bands above 5.2 eV. The stron-
gest peak is related to direct transitions ($\Gamma \rightarrow \Gamma$) involving the
minimum of the conduction band near 5.9 eV (see Fig. 5).
The inset of Fig. 6 shows a direct comparison between the
square of the experimental absorbance and the calculated
square of the absorption coefficient. It is a well known fact
that in a direct band gap solid, the squared absorbance in-
creases linearly for energies close to the energy gap. As we
have shown, indirect and direct energy gaps in glycine are
too close, and therefore the smaller indirect gap must be
masked when one looks at the onset of optical absorption,²⁴
which is practically dominated by $\Gamma \rightarrow \Gamma$ transitions for en-
ergies a few tenths of meV larger than the minimum indirect
energy gap. The curves were scaled independently to be
compared. We can see clearly that the rise of the optical
absorption occurs for smaller energies in the theoretical
curve in comparison to the experimental data, which is due
to the underestimate of the energy gap in DFT computations.

V. CONCLUDING REMARKS

Our first-principles DFT-GGA calculations indicate that
the α -glycine crystal is an indirect gap material, with an
energy gap of 5.11 ± 0.02 eV as measured in this work by
optical absorption. However, α -glycine crystals present three
very close indirect and one direct energy gap, as demon-
strated by our first-principles calculations. This result can be
compared, for example, with the direct energy gap suggested
for L-alanine crystals,^{1,2} indicating that not only the spatial
arrangement of the amino acid molecules in the crystal, but
also the type of lateral chain is important to determine
whether the energy gap of an amino acid crystal is direct or
indirect. Two absorption regimes, for energies smaller than
5.3 eV and in the 5.3–6.3 eV range, were obtained in our
calculations. In the first regime, which involves transitions
mainly from O $2p$ valence to O $2p$ conduction states, selec-
tion rules related to the wave function angular momentum
preclude optical absorption, which exhibits only small peaks
for light with different incident polarizations. In the second
regime, O $2p$ valence to N $2s$ conduction states are involved,
and a strong electric dipole coupling with carboxyl and
amine groups along the [100] direction, which explains the
strong absorption for incident radiation with that polariza-
tion. The strong absorption peak at 5.9 eV is due to a direct
transition ($\Gamma \rightarrow \Gamma$) from the valence band to the minimum of
the fifth conduction band close to 5.9 eV.

ACKNOWLEDGMENTS

V.N.F., G.A.F., L.M.R.S., B.S.C., and H.W.L.A. are senior
researchers of the Conselho Nacional de Pesquisa Científica
e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) in Brazil. V.N.F.,
G.A.F., and B.S.C. received financial support from project
CNPq-Rede NanoBioestruturas, No. 555183/2005-0. T.M.O.,
G.A.B., R.P.d.S., and M.Z.S.F. received support from CNPq
during the development of this work.

- 437 ¹P. R. Tulip and S. J. Clark, Phys. Rev. B **71**, 195117 (2005). 467
- 438 ²E. W. S. Caetano, M. Z. S. Flores, G. A. Bezerra, J. R. Pinheiro, 468
- 439 V. N. Freire, G. A. Farias, J. R. L. Fernandez, J. R. Leite, M. C. 469
- 440 F. de Oliveira, J. A. Pinheiro, B. S. Cavada, J. L. de Lima Filho, 470
- 441 and H. W. Leite Alves, AIP Conf. Proc. **772**, 1095 (2005). 471
- 442 ³R. L. Willett, K. W. Baldwin, K. W. West, and L. N. Pfeiffer, 472
- 443 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **102**, 7817 (2005). 473
- 444 ⁴M. Oda and T. Nakayama, Appl. Surf. Sci. **244**, 627 (2005). 474
- 445 ⁵M. Oda and T. Nakayama, Jpn. J. Appl. Phys., Part 1 **45**, 8939 475
- 446 (2006). 476
- 447 ⁶M. A. Stroschio and M. Dutta, Proc. IEEE **93**, 1772 (2005). 477
- 448 ⁷E. Winkler, P. Etchegoin, A. Fainstein, and C. Fainstein, Phys. 478
- 449 Rev. B **57**, 13477 (1998). 479
- 450 ⁸E. Winkler, A. Fainstein, P. Etchegoin, and C. Fainstein, Phys. 480
- 451 Rev. B **59**, 1255 (1999). 481
- 452 ⁹E. Winkler, P. Etchegoin, A. Fainstein, and C. Fainstein, Phys. 482
- 453 Rev. B **61**, 15756 (2000). 483
- AQ: #54 ¹⁰J. A. Chisholm, S. Motherwell, P. R. Tulip, S. Parsons, and S. J. 484
- 2 455 Clark, Cryst. Growth Des. **5**, 1437 (2005). 485
- 456 ¹¹G. L. Perlovich, L. K. Hansen, and A. Bauer-Brandl, J. Therm 486
- 457 Anal. Calorim. **66**, 699 (2001). 487
- 458 ¹²Molecular expression: The Amino Acid Colection, in [http://](http://micro.magnet.fsu.edu/aminoacids/pages/glycine.html) 488
- 459 micro.magnet.fsu.edu/aminoacids/pages/glycine.html 489
- AQ: #60 ¹³S. M. Paul, Gaba, and Glycine, in *Psychopharmacology: The* 490
- 3 461 *Fourth Generation of Progress*, edited by K. L. Davis, D. Char- 491
- 462 ney, J. T. Coyle, and C. Nemeroff, 4th rev. ed. (Lippincott Wil- 492
- 463 liams & Wilkins, ■, 2005). 493
- 464 ¹⁴R. A. Davidoff, R. P. Shank, L. T. Graham, Jr., M. H. Aprison, 494
- 465 and R. Werman, Nature (London) **214**, 680 (1967). 495
- 466 ¹⁵G. M. Chaban, J. O. Jung, and R. B. Gerber, J. Phys. Chem. A 496
- 104**, 10035 (2000). 467
- ¹⁶K. Iijima, K. Tanaka, and S. Onuma, J. Mol. Struct. **246**, 257 468
- (1991). 469
- ¹⁷P. D. Godfrey and R. D. Brown, J. Am. Chem. Soc. **117**, 2019 470
- (1995). 471
- ¹⁸H. Sakai, H. Hosogai, T. Kawakita, K. Onuma, and K. Tsuka- 472
- moto, J. Cryst. Growth **116**, 421 (1992). 473
- ¹⁹N. Doki, M. Yokota, K. Kido, S. Sasaki, and N. Kubota, Cryst. 474
- Growth Des. **4**, 103 (2004). 475
- ²⁰E. S. Boek, D. Feil, W. J. Briels, and P. Bennema, J. Cryst. 476
- Growth **114**, 389 (1991). 477
- ²¹C. Murli, S. M. Sharma, S. Karmakar, and S. K. Sikka, Physica B 478
- 233**, 339 (2003). 479
- ²²J. O. Legros, and Å. Kvik, Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. 480
- Crystallogr. Cryst. Chem. **36**, 3052 (1980). 481
- ²³H. Y. Fan, Rep. Prog. Phys. **19**, 107 (1956). 482
- ²⁴A. M. Fox, *Optical Properties of Solids*, 1st ed. (Oxford Univer- 483
- sity Press, Oxford, 2001), p. 58–60. 484
- ²⁵M. D. Segall, P. J. D. Lindan, M. J. Probert, C. J. Pickard, P. J. 485
- Hasnip, S. J. Clark, and M. C. Payne, J. Phys.: Condens. Matter 486
- 14**, 2717 (2002). 487
- ²⁶J. P. Perdew, K. Burke, and M. Ernzerhof, Phys. Rev. Lett. **77**, 488
- 3865 (1996). 489
- ²⁷H. J. Monkhorst and J. D. Pack, Phys. Rev. B **13**, 5188 (1976). 490
- ²⁸G. J. Ackland, Phys. Rev. Lett. **80**, 2233 (1998). 491
- ²⁹B. Delley, J. Chem. Phys. **92**, 508 (1990). 492
- ³⁰B. Delley, J. Chem. Phys. **113**, 7756 (2000). 493
- ³¹H. A. Kramers, Nature (London) **117**, 775 (1926). 494
- ³²R. de L. Kronig, J. Opt. Soc. Am. **12**, 547 (1926). 495