

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

Mariana Yoshinaga

**Estudo Teórico da Fotofísica do Composto 4,5-dibromorodamina metil éster
(TH9402) Utilizado como Fotossensibilizador em Terapia Fotodinâmica**

Belo Horizonte

2021

UFMG/ICEX/DQ. 1.453

D. 790

Mariana Yoshinaga

Estudo Teórico da Fotofísica do Composto 4,5-dibromorodamina metil éster (TH9402)
Utilizado como Fotossensibilizador em Terapia Fotodinâmica

Dissertação apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientador: Prof.º Dr. Willian Ricardo Rocha

Belo Horizonte

2021

Ficha Catalográfica

Y657e Yoshinaga, Mariana
2021 Estudo teórico da fotofísica do composto 4,5-
D dibromorodamina metil éster (TH9402) utilizado como
fotossensibilizador em terapia fotodinâmica
[manuscrito] / Mariana Yoshinaga. 2021.
80 f. : il.

Orientador: Willian Ricardo Rocha.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Minas Gerais - Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

1. Físico-química - Teses. 2. Fotoquimioterapia -
Teses. 3. Funcionais de densidade - Teses. 4.
Termodinâmica - Teses. I. Rocha, Willian Ricardo,
Orientador. II. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



"Estudo Teórico da Fotofísica do Composto 4,5-dibromorodamina metil éster (TH9402) Utilizado como Fotossensibilizador em Terapia Fotodinâmica"

Mariana Yoshinaga

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Prof. Willian Ricardo Rocha - Orientador
UFMG

Profa. Dayse Carvalho da Silva Martins
UFMG

Prof. Guilherme Ferreira de Lima
UFMG

Belo Horizonte, 16 de julho de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Willian Ricardo Rocha, Membro de comissão**, em 16/07/2021, às 14:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Dayse Carvalho da Silva Martins, Professora do Magistério Superior**, em 16/07/2021, às 14:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamentono art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Ferreira de Lima, Professor do Magistério Superior**, em 16/07/2021, às 14:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5ºdo [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0 informando o código verificador **0834176** e o código CRC **6D39FD50**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora, por sempre me abençoarem e me ajudarem, em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais, Silvania Lino Yoshinaga e Claudio Seiki Yoshinaga, por me incentivarem e me darem todo o suporte que precisei para conseguir me dedicar aos estudos.

Ao meu orientador Dr. Willian Ricardo Rocha pela oportunidade de fazer parte de seu grupo de pesquisa e por tudo o que me ensinou, sempre com muita paciência e dedicação.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES). Agradecimento também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Catálise (INCT) e ao Programa de Pós-Graduação em química da Universidade Federal de Minas Gerais.

RESUMO

O TH9402 é um fotossensibilizador (PS) que pode ser empregado em terapia fotodinâmica. Estudos da fotofísica desse composto, bem como a análise da termodinâmica de reações, envolvendo seu primeiro estado excitado tripleto, foram realizados. Cálculos em nível TPSSh/def2-TZVP/CPCM(água) mostraram que a absorção de maior intensidade do PS é referente a transição $S_0 \rightarrow S_1$, cuja energia foi de 2,33 eV. A constante de fluorescência calculada, empregando-se a teoria de Marcus em combinação com a regra de ouro de Fermi, foi de $4,18 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$. O cálculo da constante de cruzamento entre sistemas, envolvendo o primeiro estado excitado singleto (S_1) e os estados excitados tripletos, T_2 e T_1 , resultou em $27,5 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$. Outra abordagem utilizada no cálculo das propriedades fotofísicas foi o formalismo de integral de caminho. Esse método retornou valores de constante de fluorescência e constante de cruzamento entre sistemas iguais a $5,40 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ e $10,1 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$, respectivamente. A partir dos resultados, de ambas as abordagens, o caminho de desexcitação $S_1 \rightarrow T_2 \rightarrow T_1$ foi determinado como o mais provável de acontecer. O estudo da termodinâmica das reações foi realizado em nível M06-2X/def2-TZVP/SMD(água)//B3LYP/def2-TZVP. As reações de transferência de energia do TH9402, no estado excitado tripleto, para a guanosina monofosfato (GMP^{2-}) ($\Delta G = -24,0 \text{ kcal/mol}$), bem como para o oxigênio molecular ($\Delta G = -2,0 \text{ kcal/mol}$), foram exergônicas. As reações de transferência de carga, da GMP^{2-} e da HGMP^- para o PS, também apresentaram energia livre negativa ($\Delta G = -129,1 \text{ kcal/mol}$ e $\Delta G = -11,1 \text{ kcal/mol}$, respectivamente), sendo termodinamicamente favoráveis de acontecer. Além disso, estudou-se a influência, da interação entre o TH9402 e a molécula do octanucleotídeo $d(\text{AGACGTCT})_2$, sobre espectro de absorção do fotossensibilizador. Os resultados dos cálculos de *docking* mostraram que, o PS pode se intercalar entre os pares de base $d(\text{GpC})$ - $d(\text{CpG})$ de três maneiras diferentes. Os espectros de absorção dos complexos mostraram que, para tais configurações, a intercalação resulta no deslocamento batocrômico do comprimento de onda de absorção máxima, referente à transição principal. Esse deslocamento foi de cerca de 90 nm para um dos casos e observaram-se diminuições, superiores a 60%, nas intensidades de absorção das bandas principais, para algumas conformações. Com o PS interagindo como *groove binder*, observou-se um deslocamento batocrômico de 52,2 nm e uma redução de 56 % na intensidade da banda de absorção máxima, em comparação com o espectro do PS isolado. Trabalhos futuros poderão empregar as metodologias utilizadas no presente trabalho para estudar propriedades fotofísicas de compostos inéditos. Este trabalho poderá ser, também, um material de referência para os estudos sobre os efeitos da interação entre PS e DNA nas propriedades espectroscópicas do PS. Palavras-chave: Terapia fotodinâmica. TH9402. TD-DFT. Fotofísica. *Docking* Molecular.

ABSTRACT

The TH9402 is a photosensitizer (PS) that can be applied to photodynamic therapy. Photophysics studies about this compound as well as the analysis of the thermodynamic reactions involving its first triplet excited state, were carried out. Calculations on TPSSh/def2-TZVP/CPCM(water) level showed that the transition energy related to the main absorption was 2.33 eV. The fluorescence rate calculated employing the Marcus theory combined with Fermi's golden rule was $4.18 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$. The total intersystem crossing rate between the first singlet excited state and the triplets excited states T_2 and T_1 was $27.5 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$. Path integral formalism was another approach used in calculating photophysical properties. This method resulted in values of fluorescence rate and intersystem crossing constant of $5.40 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ and $10.1 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$, respectively. From the results, the de-excitation pathway $S_1 \rightarrow T_2 \rightarrow T_1$ is the most likely to happen. The thermodynamic study of reactions was carried out in M06-2X/def2-TZVP/SMD(water)//B3LYP/def2-TZVP level. The free energy values of the transfer reactions from the TH9402 triplet excited state to monophosphate guanosine (GMP^{2-}) ($\Delta G = -24.0 \text{ kcal/mol}$) as well as to molecular oxygen ($\Delta G = -2.0 \text{ kcal/mol}$) were negative. The charge transfer reactions from GMP^{2-} and HGMP^- to PS also present negative free energy ($\Delta G = -129.1 \text{ kcal/mol}$ and $\Delta G = -11.1 \text{ kcal/mol}$, respectively), proving to be thermodynamically favorable to happen. Furthermore, the influence of the interaction between TH9402 and the octanucleotide molecule $d(\text{AGAGTCT})_2$ on the absorption spectrum of the photosensitizer was studied. The docking calculation demonstrated that the PS can be intercalated between $d(\text{GpC})$ - $d(\text{CpG})$ base pairs in three different ways. The absorption spectrums showed that the intercalation leads to bathochromic shifts, of the bright state bands. The bands were shifted up to 90 nm. Furthermore, there were decreases greater than 60% in the absorption intensities of the main bands for some of the conformations. The spectrum of the complex in which the photosensitizer interacts as a groove binder showed a bathochromic shift of 52.2 nm and a 56% reduction in the intensity of the maximum absorption band compared to the spectrum of PS isolated. Futures works can use the methodologies applied in the present work to study photophysical properties of unpublished compounds. This work also can be a reference material for the studies about the effects of the interaction between PS and DNA in the spectroscopy properties of PS.

Keywords: Photodynamic Therapy. TH9402. TD-DFT. Photophysics. Molecular Docking.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da 4,5-dibromorodamina metil éster.....	15
Figura 2. Diagrama de Jablonsky.....	20
Figura 3. Esquema do processo auto consistente.....	29
Figura 4. Formas de interação entre moléculas de ligantes e o DNA (a) interação por intercalação (b) interação do tipo <i>groove binding</i>	42
Figura 5. Compostos que interagem com o DNA (a) moléculas que são <i>groove binders</i> (à esquerda) (b) moléculas que são intercaladoras (à direita).....	42
Figura 6. Geometria otimizada do TH9402 no estado fundamental (S_0), calculado em nível B3LYP/Def2-TZVP.....	47
Figura 7. Principais parâmetros estruturais calculados para os estados fundamental e excitados do TH9402 ^a	48
Figura 8. Resultados dos cálculos TD-DFT, referentes à principal transição ($S_0 \rightarrow S_1$) do espectro de absorção do 4,5-dibromorodamina metil éster (TH9402), em solução aquosa.....	50
Figura 9. Orbitais moleculares envolvidos na transição principal ($S_0 \rightarrow S_1$) do TH9402, calculado em solução aquosa em nível TPSSh/def2-TZVP.....	52
Figura 10. Diagrama de energia referente ao TH9402, mostrando as energias dos estados excitados otimizados, singletos e tripletos, em relação à energia do estado fundamental S_0	53
Figura 11. Esquema do ciclo termodinâmico.....	57
Figura 12. Modos de interação do fotossensibilizador e a estrutura do octanucleotídeo d(AGACGTCT) ₂	62
Figura 13. À esquerda, apresenta-se a estrutura advinda do <i>docking</i> , com os oito pares de base d(AGACGTCT) ₂ . À direita, tem-se a estrutura reduzida do complexo TH9402-DNA, com os quatro pares de base d(ApT)-d(CpG)-d(GpC)-d(TpA), otimizada em nível PBE/SV(P).....	63
Figura 14. Estruturas do TH9402, nas geometrias otimizadas, nas diferentes configurações do complexo (I, II, III, IV) ^a e isolada (V) ^b	64
Figura 15. À esquerda, estrutura do complexo TH9402-DNA otimizada em nível PBE/SV(P). À direita, a estrutura reduzida com dois pares de base d(CpG)-d(GpC), a ser empregada no cálculo do espectro de absorção.....	65

Figura 16. Principais transições dos espectros de absorção dos complexos TH9402@DNA nas diferentes configurações^a66

Cont. Figura 16. Principais transições dos espectros de absorção dos complexos TH9402@DNA nas diferentes configurações^a67

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Resultados referentes ao estudo da fosforescência do 4,5-dibromorodamina metil éster (TH9402) em nível TPSSh/def2-TZVP//B3LYP/def2-TZVP, em solução aquosa.....54
- Tabela 2. Resultados em nível TPSSh/def2-TZVP para a fluorescência ($S_1 \rightarrow S_0$) do 4,5-dibromorodamina metil éster (TH9402) em solução aquosa.....56
- Tabela 3. Termoquímica das reações envolvendo o primeiro estado excitado tripleto do 4,5-dibromorodamina metil éster (TH9402) em solução aquosa.....59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CIS	<i>Configuration Interaction Singles</i>
CIS(D)	<i>Configuration Interaction Singles with double corrections</i>
CPCM	Modelo contínuo polarizável do tipo condutor
DFT	Teoria do Funcional da Densidade
ESD	Dinâmica de estados excitados
PS	Fotossensibilizador
GGA	Aproximação do gradiente generalizado
GMP	Guanosina monofosfato
HF	Hartree Fock
ISC	Conversão entre sistemas
LCGTO	Combinação Linear de Funções Gaussianas
LDA	Aproximação de densidade local
LED	Diodo emissor de luz
LSDA	Aproximação de densidade de <i>spin</i> local
RG	Runge-Gross
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SCF	Campo alto consistente
STEOM-DLPNO-CCSD	<i>Similarity Transformed Equation Of Motion Domain-based Local</i>
	<i>Pair Natural Orbital Coupled Cluster Single and Double perturbation</i>
TAM	Macrófagos associados ao tumor
TDDFT	Teoria do Funcional da Densidade dependente do tempo
TFD	Terapia fotodinâmica
UKS	Kohn-Sham não restrito
WFT	Wave Function Theory

LISTA DE SÍMBOLOS

\hat{H}	Operador Hamiltoniano
\hat{h}^{ks}	Hamiltoniano Kohn-Sham
Ψ	Função de onda
∇^2	Laplaciano
ρ	Densidade eletrônica
$\tilde{\rho}$	Densidade eletrônica não exata
ρ_s	Densidade eletrônica para sistema hipotético, com elétrons não interagentes
\hat{T}	Operador energia cinética
\hat{V}_e	Operador de repulsão elétron-elétron
u_{ef}	Potencial efetivo
δ_{ij}	Delta de Kronecker
\mathcal{E}_{xc}	Energia de troca-correlação
$\nabla\rho(\vec{r})$	Gradiente da densidade eletrônica
α	Spin alfa
β	Spin beta
χ_μ	Orbitais do tipo gaussianas contraídos
ϕ_p	Gaussiana
λ_M	Energia de reorganização
$\chi(t)$	Função de correlação
μ	Momento de dipolo
π	Orbitais ligantes do tipo pi
π^*	Orbitais antiligantes do tipo pi
τ_F	Tempo de vida de fluorescência

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1	Câncer e formas de tratamento.....	15
2.2	Terapia fotodinâmica.....	16
2.3	Fenômenos envolvidos na Terapia Fotodinâmica.....	19
2.4	A Terapia Fotodinâmica e o DNA.....	21
2.5	4,5-dibromorodamina metil éster.....	22
2.6	Métodos computacionais.....	23
2.6.1	Mecânica Quântica.....	23
2.6.2	Teoria do funcional da densidade independente do tempo.....	25
2.6.2.1	<i>Teorema de Hohenberg e Kohn.....</i>	<i>25</i>
2.6.2.2	<i>Método de Kohn-Sham.....</i>	<i>27</i>
2.6.2.3	<i>Aproximação da densidade local.....</i>	<i>29</i>
2.6.2.4	<i>Aproximação do gradiente generalizado.....</i>	<i>30</i>
2.6.2.5	<i>Conjunto de funções de base.....</i>	<i>32</i>
2.6.3	Teoria do funcional da densidade dependente do tempo.....	34
2.6.3.1	<i>Teoremas de Runge-Gross.....</i>	<i>34</i>
2.6.3.2	<i>Equações de Kohn-Sham dependentes do tempo.....</i>	<i>35</i>
2.7	Fotofísica.....	36
2.8	<i>Docking</i> molecular.....	40
3	METODOLOGIA.....	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4.1	Estrutura do fotossensibilizador.....	47
4.2	Espectro de absorção do fotossensibilizador isolado.....	49
4.3	Termodinâmica das reações do fotossensibilizador no estado tripleto.....	57
4.4	Resultados do docking molecular.....	60
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68
6	PERSPECTIVAS.....	71
	REFERÊNCIAS.....	72
A-	PUBLICAÇÃO.....	80

1 INTRODUÇÃO

A terapia fotodinâmica (TFD) é uma técnica que promove reações fotoquímicas pela interação entre radiação, agente fotossensibilizador (PS) e oxigênio molecular. Essa metodologia, conhecida desde o início de século XX, mostrou-se aplicável no combate a bactérias (GHORBANI *et al.*, 2018) e no diagnóstico de lesões teciduais na área oncológica. Também é utilizada na localização de tumores (WAGNIÈRES; STAR; WILSON, 1998) e, principalmente, em tratamentos de câncer. Existem estudos sobre a eficiência da terapia fotodinâmica no tratamento de diversos tipos de câncer como o de pele (DOUGHERTY *et al.*, 1978), carcinoma basocelular (DOUGHERTY *et al.*, 1978), mama (DOUGHERTY *et al.*, 1978), bexiga (KELLY; SNELL, 1976), por exemplo.

O tratamento com terapia fotodinâmica consiste na administração do fotossensibilizador, cuja absorção máxima esteja dentro da faixa terapêutica 650-850 nm, com posterior incidência de radiação eletromagnética de comprimento de onda específico, também dentro da faixa terapêutica, preferencialmente correspondente à absorção máxima do composto (DOUGHERTY *et al.*, 1978)(HENDERSON; DOUGHERTY, 1992). Entre a administração do fotossensibilizador e a exposição à luz, aguarda-se um intervalo de tempo, que varia entre os tratamentos, destinado à acumulação do composto em células doentes. Esse acúmulo tem relação direta com o aumento da eficiência da ação contra as células alvo e com a diminuição dos efeitos adversos, decorrentes da ação sobre tecidos normais circundantes aos tecidos doentes (BALDES, 1960)(DOUGHERTY *et al.*, 1978). A dose utilizada de fotossensibilizador, o tempo de exposição e a dimensão da região exposta no tratamento são variáveis que necessitam ser otimizadas para cada caso (BALDES, 1960). Após a incidência da radiação, processos fotoquímicos podem ocorrer, formando espécies reativas de oxigênio, do inglês *reactive oxygen species* (ROS), por exemplo, que levam à morte da célula na qual são geradas (HENDERSON; DOUGHERTY, 1992).

Muitos tratamentos convencionais utilizados contra cânceres, como quimioterapia, radioterapia e cirurgia por exemplo, embora aceitos por entidades reguladoras, podem ser, algumas vezes, invasivos e apresentam falhas em relação à seletividade das células alvo. Por isso, podem causar efeitos adversos aos pacientes e ser menos eficientes do que o desejável, em alguns momentos. Nesse contexto, a terapia fotodinâmica pode se tornar atrativa perante a tais tratamentos, visto que não é invasiva, apresenta boa seletividade e efeitos adversos amenos, geralmente fotossensibilidade da pele (HENDERSON; DOUGHERTY, 1992), quando comparados com os dos tratamentos convencionais. Por isso, cada vez mais, novos

medicamentos são desenvolvidos, assim como realizam-se melhorias nos que já estão em uso pela medicina.

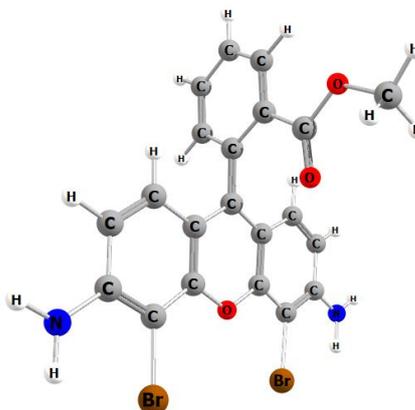
No trabalho realizado por NAPELA e colaboradores, por exemplo, apresentou-se uma rota de síntese para um nano composto de fulereno, solúvel em água, conjugado com Gencitabina, um fármaco já empregado como quimioterápico. As modificações na estrutura do composto, conferiram-lhe propriedades fotoquímicas e, ao ser irradiado com diodo emissor de luz (LED), observou-se a geração de espécies reativas de oxigênio, melhorando os efeitos citotóxicos do composto na ação contra células de câncer de pâncreas (NALEPA *et al.*, 2020).

Devido à aplicabilidade e eficiência da TFD, o entendimento acerca dos mecanismos envolvidos nessa técnica, bem como aprimoramentos pertinentes à mesma, tornaram-se alvos da comunidade científica. Sabe-se que os fotossensibilizadores podem interagir com o DNA de diversas maneiras, ligando-se diretamente a estrutura ou por meio de interações intermoleculares. A partir dessas interações, o composto pode causar danos à estrutura do DNA, bem como promover processos de transferência de carga ou de energia. Sendo assim, é interessante avaliar as diferentes formas de interação de fotossensibilizadores com o DNA e os resultados advindos dessas interações (WANG *et al.*, 2019).

Estudos experimentais voltados à aplicação do 4,5-dibromorodamina metil éster, também denominado TH9402, em terapia fotodinâmica são realizados desde a década de 90. Os resultados a respeito das características fotofísicas, baixa toxicidade e estabilidade de tal composto corroboraram para que este seja caracterizado como um bom fotossensibilizador para ser utilizado em TFD (PAL, 1996). Além disso, apresenta bons rendimentos de produção de oxigênio singleto durante o processo fotoquímico. O composto também se mostrou eficiente no tratamento de tumores sólidos, bem como pode ser empregado em tratamentos com transplantes autólogos de células tronco (BRASSEUR *et al.*, 2000).

O presente trabalho teve como objetivo geral realizar o estudo teórico computacional das propriedades fotofísicas do TH9402 (Figura 1), bem como avaliar a influência que a interação do composto com o DNA apresenta sobre as propriedades espectroscópicas do PS.

Figura 1. Estrutura da 4,5-dibromorodamina metil éster



Fonte: Própria autora. Imagem gerada utilizando-se o programa ChemCraft.

Como objetivos específicos destacam-se a otimização da geometria do fotossensibilizador isolado, nos estados fundamental e excitados; o cálculo das constantes de fluorescência e de cruzamento entre sistemas, para os estudos fotofísicos; a análise da termodinâmica de reações de transferência de carga e energia, com a formação de espécies reativas, envolvendo o primeiro estado excitado tripleto do TH9402; a otimização da geometria do complexo, formado a partir da interação do PS com o DNA e, por fim, a obtenção dos espectros de absorção, do fotossensibilizador isolado e do complexo, de modo a compará-los. Para o alcance de tais objetivos, empregaram-se cálculos de mecânica quântica, de estrutura eletrônica, que fizeram uso da teoria do funcional da densidade, dependente (TDDFT) e independente do tempo (DFT). Também foram realizados cálculos de *docking* molecular. Todos os resultados descritos no presente trabalho, foram obtidos no laboratório de Estudos Computacionais em Sistemas Moleculares, eCsMo^{lab}, da Universidade Federal de Minas Gerais, liderado pelo professor Dr. Willian Ricardo Rocha.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nessa seção, abordam-se conceitos relacionados à terapia fotodinâmica e seu mecanismo de ação. Além disso, introduzem-se conceitos teóricos relacionados à mecânica quântica.

2.1 Câncer e formas de tratamento

O termo câncer designa uma série de doenças provenientes do crescimento desordenado de células no organismo. O número de casos de pessoas diagnosticadas com tais tipos de enfermidades tem aumentado ao longo dos anos. De acordo com dados divulgados pela

organização mundial da saúde, em todo o mundo cerca de 10 milhões de pacientes com câncer faleceram no ano de 2020 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021). No Brasil, mais de 600 mil novos casos surgiram no ano de 2020 (INCA, 2021). Devido a isso, o desenvolvimento e aprimoramento de formas de tratamento de tais doenças são de extrema importância.

Os principais métodos empregados no tratamento dos mais diferentes tipos de cânceres, sejam eles no sistema hematológico ou tumores sólidos, são a quimioterapia, a radioterapia e o procedimento cirúrgico. A quimioterapia consiste na administração de medicamentos por via oral ou venosa no paciente, que pode estar internado durante o tratamento ou pode fazê-lo de maneira ambulatorial, ou seja, receber a medicação no centro de tratamento e retornar para sua residência. Os efeitos adversos associados à quimioterapia, dentre outros, podem ser a queda de cabelo e o aparecimento de doenças, como anemia, ocasionadas pela ação do medicamento no ataque às células saudáveis do organismo durante o combate às células neoplásicas (INCA, 2020).

O procedimento cirúrgico é realizado com o intuito de retirar totalmente o tumor. Em casos iniciais, a cura pode ser alcançada por meio dessa remoção, além disso, o tratamento pode ser associado a outros procedimentos. Uma das dificuldades apresentadas por essa metodologia se relaciona à condição física do paciente a ser submetido ao tratamento cirúrgico. Além disso, a acessibilidade ao tumor, a adesão do mesmo em órgãos, pelo estágio em que se encontra o câncer, são empecilhos à realização dessa forma de tratamento.

A radioterapia utiliza radiação ionizante com o intuito de inibir o crescimento de células neoplásicas. É empregada, muitas vezes, em associação com algum outro procedimento e também apresenta efeitos adversos ao paciente, como perda de apetite e cansaço (INCA, 2020).

Como descrito, existem atualmente técnicas consolidadas e empregadas amplamente no tratamento do câncer, no entanto ainda apresentam aspectos a serem melhorados, como seletividade e diminuição dos efeitos adversos no paciente. Isso justifica o estudo e desenvolvimento de novas técnicas para tratamento oncológico.

Nesse sentido a terapia fotodinâmica apresenta-se como um método alternativo interessante a ser empregado no combate às células neoplásicas.

2.2 Terapia fotodinâmica

A terapia fotodinâmica apresenta-se atualmente como uma opção de tratamento para diversas doenças de pele e de vários tipos de cânceres. Os fotossensibilizadores aplicados apresentam baixa toxicidade no escuro, ou seja, antes que a radiação seja incidida, os compostos não causam danos no organismo. Além disso, a terapia fotodinâmica apresenta baixos efeitos

adversos, pelo fato de ser mais seletiva que muitos dos tratamentos convencionais (LIU *et al.*, 2017).

Os efeitos indesejados causados a partir do tratamento com a fototerapia podem ser edemas e eritemas que duram, na maioria dos casos, de uma a duas semanas após o tratamento. Há relatos também de mudança de coloração da pele na região do tratamento, tanto por hipo quanto por hiper pigmentação (LIU *et al.*, 2017). Em contrapartida, efeitos adversos mais comuns da quimioterapia, forma de tratamento para cânceres amplamente empregada, são a queda de cabelo, anemia, tendência a sangramentos dentre outros (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2021).

A maior seletividade da terapia fotodinâmica está relacionada com a baixa toxicidade do fotossensibilizador no escuro, bem como ao acúmulo preferencial do composto em células neoplásicas em relação às células saudáveis. O motivo para tal acúmulo seletivo ainda não é totalmente entendido, mas existem linhas de pesquisas, voltadas ao assunto, que abordam algumas explicações.

Uma possível razão para o acúmulo, seria a incorporação dos fotossensibilizadores, carregados pelas lipoproteínas do plasma, pelos macrófagos associados ao tumor (TAM). Os TAM podem englobar as estruturas dos fotossensibilizadores por meio de fagocitose (KORBELIK; HAMBLIN, 2015). O aumento da permeabilidade de proteínas plasmáticas, juntamente com o baixo teor de drenagem linfática dos tumores, são explicações, em estudo, para o acúmulo seletivo de fotossensibilizadores em células neoplásicas (KORBELIK, 1992).

Para que o fotossensibilizador tenha tempo para se acumular nas células de tumor, um intervalo de tempo, que varia de acordo com o PS empregado, é respeitado entre a administração do composto e a incidência da radiação.

A incidência de radiação não ionizante, com comprimento de onda na faixa do visível, e localizada apenas na região do tumor, também é responsável pela seletividade da terapia fotodinâmica (HOPPER, 2000). Por fim, uma das principais causas responsáveis pela seletividade da técnica é o curto tempo de vida e baixo raio de ação das espécies reativas geradas durante o processo (DOUGHERTY, *et al.*, 1998). Tais características fazem com que as espécies reativas, responsáveis por causar danos celulares, atuem precisamente no local onde foram geradas, diminuindo o risco de deslocamento dessas espécies pelo organismo, o que afetaria áreas adjacentes.

A eficiência do tratamento por terapia fotodinâmica está condicionada às características do fotossensibilizador. É interessante que o composto seja capaz de se acumular nas células de tumor rapidamente, de modo que o tempo entre a administração do composto e a incidência de

radiação seja o mais curto possível. A capacidade de produção de espécies reativas, por meio de processos fotoquímicos, também é desejável nos PS (ISSA; MANELA-AZULAY, 2010). Além disso, sabe-se que os compostos PS devem ter baixa toxicidade no escuro (ABRAHAMSE; HAMBLIN, 2016), o que significa dizer que só devem começar a causar danos foto oxidativos quando se incidir radiação no local alvo do tratamento. Devem também apresentar absorção máxima, preferencialmente, na chamada faixa terapêutica entre 650 e 850 nm (DOUGHERTY *et al.*, 2009). Isso porque, acima de 850 nm, a radiação incidida pode não apresentar energia adequada para promover processos de excitação eletrônica e abaixo de 650 nm, pode não atingir regiões profundas dos tecidos, podendo apresentar, porém, eficiência no alcance das áreas mais superficiais (ABRAHAMSE; HAMBLIN, 2016). Sabe-se que a presença de ligações duplas conjugadas, nas estruturas dos compostos, aumenta o comprimento de onda de absorção máxima dos mesmos. Sendo assim, é interessante que as estruturas dos fotossensibilizadores apresentem insaturações conjugadas.

A aplicação dos fotossensibilizadores pode ser feita de forma tópica, por via oral ou endovenosa e a dose aplicada também varia de acordo com o PS empregado (CASTANO; DEMIDOVA; HAMBLIN, 2004). É desejável que o composto apresente alta intensidade de absorção no comprimento de onda de absorção máxima, de modo a diminuir a dose necessária para se conseguir a ação que se espera (CASTANO; DEMIDOVA; HAMBLIN, 2004). A distribuição do fotossensibilizador pelo organismo depende de sua estrutura e lipofilicidade. Órgãos com bexiga, pulmão, fígado, são exemplos de locais que o PS pode alcançar. O composto pode ser excretado na bile ou pelas fezes (CASTANO; DEMIDOVA; HAMBLIN, 2005).

Após a administração do PS, a próxima etapa do processo de terapia fotodinâmica é a incidência de radiação. As principais fontes empregadas na emissão dessa radiação são lasers de diodo (CASTANO; DEMIDOVA; HAMBLIN, 2004). A explicação detalhada sobre os tipos de fontes luminosas que podem ser empregadas na TFD, bem como o estudo robusto da propagação da radiação pelos diferentes tipos de tecidos do organismo humano, fogem do objetivo do presente trabalho, mas deixa-se entendido que são temas nos quais empregam-se muitas pesquisas para o entendimento.

A incidência da radiação promove reações fotoquímicas, que apresentam função primordial no tratamento por terapia fotodinâmica.

2.3 Fenômenos envolvidos na Terapia Fotodinâmica

Moléculas no estado fundamental ao interagirem com radiação eletromagnética, absorvem fótons e passam ao estado excitado. A energia absorvida pode ser dissipada pela emissão de energia térmica, na forma de calor, ou na forma de radiação eletromagnética. O tempo de permanência da molécula no estado excitado singleto, que é instável, é bastante curto na faixa de 10^{-15} a 10^{-3} segundos, dependendo do processo pelo qual o composto retorna ao estado fundamental (STOCKEL *et al.*, 2009).

Processos fotofísicos são aqueles em que um composto passa de um estado para outro, fundamental para excitado ou vice-versa por exemplo, sem que ocorram alterações químicas em tal composto. Os processos fotofísicos podem ser radiativos, caso envolvam absorção ou emissão de fótons, ou não radiativos, relaxação vibracional, transição interna e cruzamento entre sistemas, por exemplo.

A transferência de energia intermolecular radiativa envolve a espécie que doa energia na forma de radiação eletromagnética e uma espécie receptora de tal energia. A diferença de energia entre os compostos doadores e receptores associa-se ao comprimento de onda da radiação que foi absorvida. A eficiência do processo de transferência energética dependerá da correspondência entre os espectros de emissão do composto doador e o espectro de absorção do composto receptor. A energia emitida pelo composto doador deve estar associada a um comprimento de onda de absorção máxima do receptor, para uma maior eficiência do processo (SOUZA; SIGOLI, 2012).

A emissão de radiação espontânea de um composto no estado excitado que não se encontra em equilíbrio térmico com o ambiente é denominada luminescência e pode ocorrer de duas maneiras. Caso a emissão leve o composto a um novo estado de mesma multiplicidade o evento é denominado fluorescência. No entanto, se o composto ocupar um estado de multiplicidade diferente o evento denomina-se fosforescência.

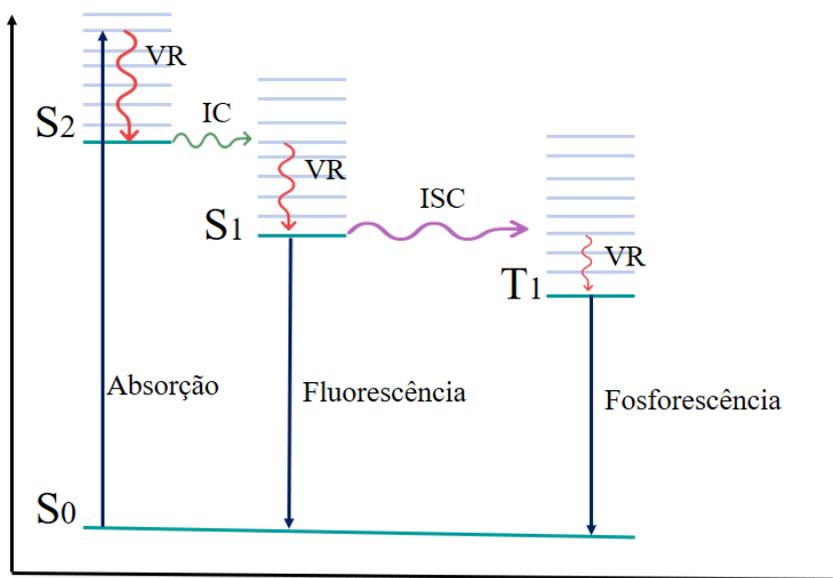
Se a espécie apresentar um tempo de vida de fluorescência baixo e, associado a isso, apresentar uma taxa de transição singleto-triplete, cruzamento entre sistemas, também baixa, a chance de que o processo de fluorescência ocorra em detrimento do de fosforescência é grande (SOUZA; SIGOLI, 2012).

Como dito anteriormente, existem três agentes principais em reações fotodinâmicas, são eles: o composto fotossensibilizador, a radiação eletromagnética e o oxigênio molecular. A primeira etapa do mecanismo reacional é a absorção de fóton, proveniente da radiação eletromagnética, pelo composto fotossensibilizador. Este, normalmente, é uma espécie singleto no seu estado fundamental, ou seja, não apresenta elétrons desemparelhados.

Com a absorção do fóton, o composto pode ser excitado do estado fundamental para estados singletos mais energéticos (S_1 , S_2 , S_3 ...). Caso a excitação seja realizada para o segundo estado excitado singlete ou algum superior, o composto pode, por um processo não radiativo denominado conversão interna, retornar para o primeiro estado excitado singlete. Nesse contexto pode acontecer o retorno do composto ao estado fundamental, a partir do primeiro estado singlete, por um processo radiativo denominado fluorescência. A outra possibilidade é que o composto em um estado singlete excitado passe a um estado tripleto, por meio de um processo não radiativo denominado conversão entre sistemas (ISC). Esse processo, envolve uma transição que parte de um estado singlete e termina em um estado tripleto, ou seja, proibida por *spin* e, que, portanto, só é possível devido ao acoplamento *spin* órbita, que será explicado na seção 2.7 (p.36) deste trabalho.

A Figura 2 apresenta o diagrama de Jablonsky, no qual podem ser observados os processos mencionados.

Figura 2. Diagrama de Jablonsky



Onde VR: relaxação vibracional; IC: conversão interna e ISC: cruzamento entre sistemas.
Fonte: (PLAETZER *et al.*, 2009), adaptada

Estando no estado tripleto, o composto pode retornar ao estado fundamental por um processo denominado fosforescência. Entretanto sabe-se que o estado tripleto apresenta tempo de vida relativamente longo, na escala de segundos (PLAETZER *et al.*, 2009). Sendo assim, reações entre o fotossensibilizador e espécies presentes no meio podem ocorrer durante o tempo de vida do composto nesse estado excitado, por meio de dois mecanismos.

No mecanismo de reação denominado tipo I, o PS no estado tripleto pode transferir elétrons diretamente para a molécula de O₂, formando as chamadas espécies reativas de oxigênio, como os ânions superóxidos (O₂^{•-}) e o radical hidroxila (HO[•]), por exemplo. O PS pode, também, transferir elétrons para moléculas orgânicas, como as do ácido desoxirribonucleico (DNA), lipídeos ou membrana celular, por exemplo, e, então, as espécies resultantes podem reagir com o oxigênio molecular.

Uma segunda possibilidade, é a ocorrência do mecanismo reacional do tipo II. Sabe-se que a energia envolvida na excitação do oxigênio do estado tripleto, fundamental, para o estado excitado singleto é cerca de 94,5 kJmol⁻¹ (PLAETZER *et al.*, 2009). No mecanismo tipo II, ocorre a transferência direta de energia do fotossensibilizador no estado tripleto, para uma molécula de O₂. Caso a energia transferida seja maior ou igual a 94,5 kJmol⁻¹, o oxigênio molecular passa do seu estado fundamental tripleto (³O₂), com dois elétrons desemparelhados e de mesmo *spin*, para o estado reativo singleto (¹O₂). O oxigênio singleto gerado é um agente oxidante e pode reagir com moléculas biológicas, resíduos de aminoácidos em proteínas, por exemplo (CASTANO; DEMIDOVA; HAMBLIN, 2004). Ambos os mecanismos reacionais I e II podem levar à morte das células por apoptose (ZAIDI *et al.*, 1993) (WEBBER *et al.*, 1996).

Outro alvo biológico das espécies reativas geradas tanto pelo mecanismo tipo I quanto pelo II é a molécula de DNA. A estrutura pode ser oxidada tanto nas bases nitrogenadas quanto nas regiões dos açúcares. Os danos oxidativos podem provocar desde mutações, à morte celular (CASTANO; DEMIDOVA; HAMBLIN, 2004).

2.4 A Terapia Fotodinâmica e o DNA

O DNA pode ser considerado um importante alvo no tratamento contra o câncer, tendo em vista que contém a informação genética necessária para a replicação da célula neoplásica. A estrutura do DNA pode sofrer danos, pela ação das espécies reativas geradas no processo fotoquímico, como por exemplo o rompimento da dupla fita, devido à atividade oxidativa (KUMAR; BUTCHER; PATRA, 2020). O trabalho de Yan e colaboradores, relata a clivagem do DNA de tumor, por ação da espécie reativa hidroxila radicalar (HO[•]), promovida pela terapia fotodinâmica (YAN *et al.*, 2020).

Outro possível cenário é a ocorrência da intercalação do fotossensibilizador entre os pares de base do DNA. Os compostos que apresentam porções planares aromáticas, podem se intercalar entre os pares de bases do DNA, sendo o complexo estabilizado por interações

atrativas não covalentes. Essa intercalação pode distorcer a dupla fita de DNA e ser prejudicial aos processos de replicação da célula associada àquele DNA (TAYLOR, 2005).

Sabe-se que as interações de empilhamento π - π entre os pares de base do DNA e a porção planar aromática do PS podem alterar o comprimento de onda de absorção máxima do composto, de modo que o ligante complexado ao DNA pode absorver em um comprimento de onda maior (efeito batocrômico) ou menor (efeito hipsocrômico) (KUMAR; BUTCHER; PATRA, 2020) do que o PS isolado. É importante, portanto, o estudo sobre os efeitos causados por tais interações entre o fotossensibilizador e o DNA.

2.5 4,5-dibromorodamina metil éster

Um método bastante empregado no tratamento de cânceres relacionados, principalmente, ao sistema hematológico é o transplante de medula óssea. Tal transplante pode ser do tipo autólogo ou alogênico. O primeiro refere-se ao transplante, no qual faz-se a extração de células tronco do próprio paciente, antes da realização de procedimentos quimioterápicos e radioterápicos por exemplo, seguida da inoculação de tais células no indivíduo, após a realização dos procedimentos. Já no transplante alogênico, células tronco de um doador são transferidas ao paciente (MASSUMOTO; MIZUKAMI, 2000).

O transplante autólogo é vantajoso em relação ao alogênico no sentido de apresentar menos efeitos adversos, por fazer infusões de células proveniente do próprio paciente. Entretanto um dos grandes problemas, que o tratamento pelo transplante autólogo pode apresentar, é a reincidência do câncer, devido à presença de células doentes no chamado enxerto, material inoculado no paciente (BRASSEUR *et al.*, 2000).

Uma das maneiras de se evitar tal problema é a realização da purificação do enxerto, utilizando-se a terapia fotodinâmica para a depleção de células doentes. Tal processo pode ser realizado empregando-se o TH9402 como fotossensibilizador. Nesse contexto, o PS pode ser utilizado no tratamento de doenças hematológicas como leucemia e mieloma múltiplo (BRASSEUR *et al.*, 2000).

Uma característica favorável do composto TH9402, à sua aplicação como fotossensibilizador, é o fato de ser eficiente na produção de oxigênio singleto, sendo o rendimento quântico de $^1\text{O}_2$ igual a 0,30 em meio aquoso (PAL *et al.*, 1996). A presença de átomos de bromo na estrutura do PS é interessante, pois é esperado grande acoplamento *spin* órbita em sistemas com átomos pesados. Um maior acoplamento *spin* órbita favorece a transição do composto no estado excitado singleto para o estado excitado tripleto, no qual o PS pode reagir com moléculas do meio.

Outra vantagem, é ser solúvel em água. Compostos insolúveis em meio aquoso podem não conseguir alcançar os tecidos alvo, durante a realização da terapia fotodinâmica. Nesses casos, faz-se necessária a utilização dos chamados compostos transportadores, que auxiliam na distribuição do PS hidrofóbico, de modo que o composto alcance as células alvo (ZHANG *et al.*, 2020). Além disso, o TH9402 apresenta baixa toxicidade no escuro e alta estabilidade (BRASSEUR *et al.*, 2000). Portanto, o composto é um potencial agente fotossensibilizador, para o tratamento de leucemias e tumores sólidos.

Como mencionado, o composto TH9402 é um fotossensibilizador que vem sendo estudado desde a década de 90. Algumas constantes fotofísicas, como a constante de cruzamento entre sistemas e o tempo de fluorescência, por exemplo, são conhecidas experimentalmente. O que motivou a avaliação teórica da fotofísica do composto, no presente trabalho, foi a construção de conhecimento sobre as diferentes metodologias que podem ser aplicadas para a obtenção de tais propriedades fotofísicas mencionadas de maneira eficiente.

A comparação dos resultados obtidos, por meio de métodos teóricos, com os dados experimentais é importante para que se consiga avaliar a eficiência de tais métodos. Além disso, os resultados teóricos fornecem informações adicionais, como o detalhamento em nível molecular dos caminhos de excitação e desexcitação, que não são obtidos em resultados experimentais.

Sabe-se que, frequentemente, modificações estruturais são realizadas nos compostos fotossensibilizadores, de modo a se melhorar a biodisponibilidade dos mesmos no organismo. Além disso, tais modificações podem dar origem a compostos que apresentem absorção máxima em valores de comprimento de onda mais altos, o que possibilita que sejam empregados em tratamentos em órgãos mais profundos. Nesse contexto, é importante conhecer metodologias eficientes, para se avaliar as propriedades fotofísicas de compostos inéditos.

2.6 Métodos computacionais

2.6.1 Mecânica Quântica

Cálculos *ab initio* tradicionais são bastante conhecidos pela comunidade acadêmica e empregados em grande escala, quando se deseja realizar cálculos computacionais de estrutura eletrônica, otimização de geometria e estudos de propriedades de compostos, por exemplo. Nesse contexto a equação de Schrödinger, que na sua forma independente do tempo pode ser expressa como na Equação 1, apresenta profunda importância, pois por meio de sua resolução é possível encontrar a função de onda que descreve o sistema.

A partir de procedimentos sequenciais, conhecidos como método SCF, do inglês *Self Consistent Field*, a resolução da equação retorna o chamado autovalor, que é o valor de energia do sistema, e o autovetor, que é a função de onda. Nesse contexto, a função de onda, contém toda a informação que descreve o sistema em estudo (LEVINE, 2014).

$$\hat{H}\psi = E\psi \quad (\text{Equação 1})$$

onde \hat{H} é o operador Hamiltoniano; ψ é a função de onda e E é a energia.

Durante a resolução da equação de Schrödinger, o termo que representa a energia cinética dos núcleos, no operador Hamiltoniano, pode ser desconsiderado, devido à aproximação de Born-Oppenheimer. Tal aproximação considera que os núcleos dos átomos tenham movimento desprezível, isso porque são da ordem de 200 vezes mais pesados que os elétrons, que se adaptam facilmente às conformações nucleares. Por essa razão, os núcleos podem ser considerados fixos, sem que a aproximação leve a erros que comprometam os resultados dos cálculos (LEVINE, 2014).

O termo de repulsão núcleo-núcleo é considerado constante. Então, o operador Hamiltoniano, pode ser descrito, resumidamente, em função dos termos eletrônicos (Equação 2).

$$\hat{H}_{el} = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{\vec{r}_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N \frac{1}{\vec{r}_{ij}} \quad (\text{Equação 2})$$

onde ∇^2 é o laplaciano; \vec{r}_{ij} é a distância entre os elétrons i e j ; \vec{r}_{iA} é a distância entre o elétron i e o núcleo A ; Z é o número atômico do átomo.

Como pode ser observado, o operador Hamiltoniano eletrônico (\hat{H}_{el}) é composto por um primeiro termo referente à energia cinética dos elétrons, um segundo devido à atração entre os elétrons e os núcleos e uma parcela proveniente da repulsão elétron-elétron (SZABO; OSTLUND, 1989). Devido a esse último termo citado, a resolução da equação de Schrödinger, para sistemas de muitos elétrons, pode se tornar bastante complexa.

Para tentar solucionar tal problema, de se considerar a interação intereletrônica, métodos foram desenvolvidos e aprimorados. Um dos mais conhecidos, baseados na função de onda do sistema, é o método Hartree-Fock (HF), no qual se considera a interação do elétron com o campo eletrônico gerado pelos demais elétrons do sistema.

A obtenção da função de onda que descreve o sistema é possível com o emprego do método de campo auto consistente (SCF), o que levou o método Hartree-Fock ser conhecido como método de campo auto consistente em literaturas mais antigas. O detalhamento do método HF, foge do escopo do presente trabalho, mas é válido adiantar, que o método SCF empregado na teoria do funcional da densidade e descrito na seção 2.6.2.2 do presente trabalho, é bastante similar ao implementado no método HF, porém baseado na densidade eletrônica do sistema.

De um modo geral, embora eficientes, abordagens baseadas em função de onda são dispendiosas computacionalmente. Nesse sentido, métodos baseados na densidade eletrônica foram desenvolvidos.

2.6.2 Teoria do funcional da densidade independente do tempo

Sabendo-se que cálculos *ab initio* que envolvem a resolução da equação de Schrödinger podem ter custos computacionais altos, novas metodologias e teorias, com aplicação em cálculos computacionais, envolvendo sistemas de muitos elétrons foram desenvolvidas. A Teoria do Funcional da Densidade, do inglês *Density Functional Theory* (DFT) é uma delas. Para que a compreensão da DFT seja mais eficiente, é importante que se conheça os teoremas que são suporte para tal teoria.

2.6.2.1 Teorema de Hohenberg e Kohn

Enquanto no método Hartree-Fock a função de onda é a variável que apresenta toda a informação sobre o sistema eletrônico, a proposta na DFT é que tal sistema seja descrito pela densidade eletrônica, $\rho(\mathbf{r})$, (Equação 3) (DUARTE; ROCHA, 2007).

$$\rho(\mathbf{r}) = \int \dots \int \psi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N) * \psi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N) d\vec{r}_2 d\vec{r}_3 \dots d\vec{r}_N \quad (\text{Equação 3})$$

onde a função de onda (ψ) é solução do Hamiltoniano apresentado na Equação 2, para o estado fundamental.

Na densidade eletrônica há toda a informação que se precisa, para se descrever um sistema. A vantagem é que, enquanto os métodos que descrevem o sistema baseando-se na função de onda tratam problemas de $3N$ variáveis (sendo N o número de elétrons, cada qual tendo suas posições descritas por três variáveis) a DFT utiliza apenas as três coordenadas da densidade eletrônica para descrever o sistema. Utilizando-se funcionais da densidade, as propriedades do sistema de muitos elétrons podem ser determinadas (CAPELLE, 2006).

Os teoremas de Hohenberg e Kohn foram fundamentais para o desenvolvimento da DFT. Sabe-se, pelos estudos desenvolvidos por Thomas e Fermi, que na ausência de perturbação externa, o potencial externo pode ser descrito como o termo de interação elétron núcleo (Equação 4) (LEVINE, 2014).

$$\hat{U} = - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} = \sum_{i=1}^N v(\vec{r}_i)$$

(Equação 4)

O primeiro teorema de Hohenberg e Kohn estabelece que o potencial externo está associado a uma única densidade eletrônica (CANUTO; FAZZIO; VIANNA, 2004)

$$\langle \psi | \hat{U} | \psi \rangle = \int \rho(\vec{r}) v(\vec{r}) d\vec{r} \quad (\text{Equação 5})$$

A partir desse teorema, estabelece-se que, conhecendo a densidade eletrônica do estado fundamental de um sistema, é possível determinar a energia exata de tal estado (Equação 6) (DUARTE; ROCHA, 2007).

$$E(\rho) = \langle \psi | \hat{T} + \hat{V}_e | \psi \rangle + \int \rho(\vec{r}) v(\vec{r}) d\vec{r} \quad (\text{Equação 6})$$

onde \hat{T} e \hat{V}_e são, respectivamente, o operador energia cinética e operador de repulsão elétron-elétron que compõe o operador Hamiltoniano (Equação 2).

O segundo teorema de Hohenberg e Kohn permite utilizar o princípio variacional para se encontrar a densidade eletrônica do estado fundamental. Toda densidade eletrônica ($\tilde{\rho}$), diferente da exata referente ao estado fundamental, terá, associado a ela, valor de energia maior, do que a energia do estado fundamental, que é a mínima (Equação 7). Ao se encontrar a densidade eletrônica que minimiza o valor de energia, portanto, encontra-se a densidade eletrônica do estado fundamental do sistema (ρ).

$$E[\tilde{\rho}] \geq E[\rho] = E_0 \quad (\text{Equação 7})$$

onde E_0 é a energia do estado fundamental do sistema.

Os teoremas de Hohenberg e Kohn consideram que a energia é um funcional da densidade, de modo que para cada densidade específica tem-se associado um único valor de energia e tal valor será mínimo à medida que a densidade que descreve o sistema seja próxima

ou igual à do estado fundamental. Conhecendo-se, então, a densidade eletrônica, seria possível conhecer todas as propriedades de um sistema. Entretanto era um desafio obter tais propriedades, para sistemas com muitas partículas. A solução para o empasse foi proposta por Kohn e Sham (DUARTE; ROCHA, 2007).

2.6.2.2 Método de Kohn-Sham

O sistema proposto por Kohn e Sham apresentava elétrons que supostamente não interagem entre si, mas que poderiam ser descritos pela mesma densidade eletrônica de um sistema real (Equação 8) e estariam sujeitos a um mesmo potencial externo ($v_s(\mathbf{r}_i)$) (DUARTE; ROCHA, 2007).

$$\rho_s(\vec{r}) = \rho_0(\vec{r}) \quad (\text{Equação 8})$$

onde $\rho_s(\vec{r})$ é a densidade eletrônica do sistema hipotético e $\rho_0(\vec{r})$ a densidade eletrônica do sistema real.

Nesse contexto, a energia cinética do sistema não interagente é descrita pela Equação 9,

$$\bar{T}_s[\rho_s] = \sum_i^N \langle \psi_i^{KS} | -\frac{1}{2} \nabla_i^2 | \psi_i^{KS} \rangle \quad (\text{Equação 9})$$

Pensando-se na correção entre os termos energia cinética ($\Delta\bar{T}[\rho]$) e energia potencial de repulsão intereletrônica ($\Delta\bar{V}_{ee}[\rho]$), entre os sistemas, real e o não interagente, tem-se as relações apresentadas nas Equações 10 e 11, respectivamente (LEVINE, 2014).

$$\Delta\bar{T}[\rho] \equiv \bar{T}[\rho_0] - \bar{T}_s[\rho_s] \quad (\text{Equação 10})$$

$$\Delta\bar{V}_{ee}[\rho] \equiv \bar{V}_{ee}[\rho_0] - \frac{1}{2} \iint \frac{\rho_s(\vec{r}_1)\rho_s(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 \quad (\text{Equação 11})$$

Aplicando-se tais equações na Equação 6 tem-se,

$$E = \int \rho(\vec{r})v(\vec{r})dr + \bar{T}_s[\rho_s] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho_s(\vec{r}_1)\rho_s(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 + \Delta\bar{T}[\rho] + \Delta\bar{V}_{ee}[\rho] \quad (\text{Equação 12})$$

Os três primeiros termos apresentados na Equação 12 podem ser obtidos a partir do conhecimento da densidade eletrônica do sistema. Por outro lado, os dois últimos são funcionais desconhecidos e juntos definem o funcional de troca-correlação (Equação 13),

$$E_{xc}(\rho) = \Delta\bar{T}(\rho) + \Delta\bar{V}_{ee}(\rho) \quad (\text{Equação 13})$$

Minimizando-se a energia da Equação 12, é possível calcular o potencial efetivo (Equação 14) (DUARTE; ROCHA, 2007).

$$v_{ef}(\vec{r}) = v(\vec{r}) + \int \frac{\rho(\vec{r}_1)}{|\vec{r}-\vec{r}_1|} d\vec{r}_1 + v_{xc}(\vec{r}) \quad (\text{Equação 14})$$

sendo,

$$v_{xc}(\vec{r}) = \frac{\delta E_{xc}(\rho)}{\delta \rho(\vec{r})} \quad (\text{Equação 15})$$

Como no sistema idealizado não existe interação intereletrônica, o operador Hamiltoniano passa a ser descrito pela Equação 16 (LEVINE, 2014).

$$\hat{H}_s = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 + \sum_{i=1}^N v_{ef}(\vec{r}_i) \quad (\text{Equação 16})$$

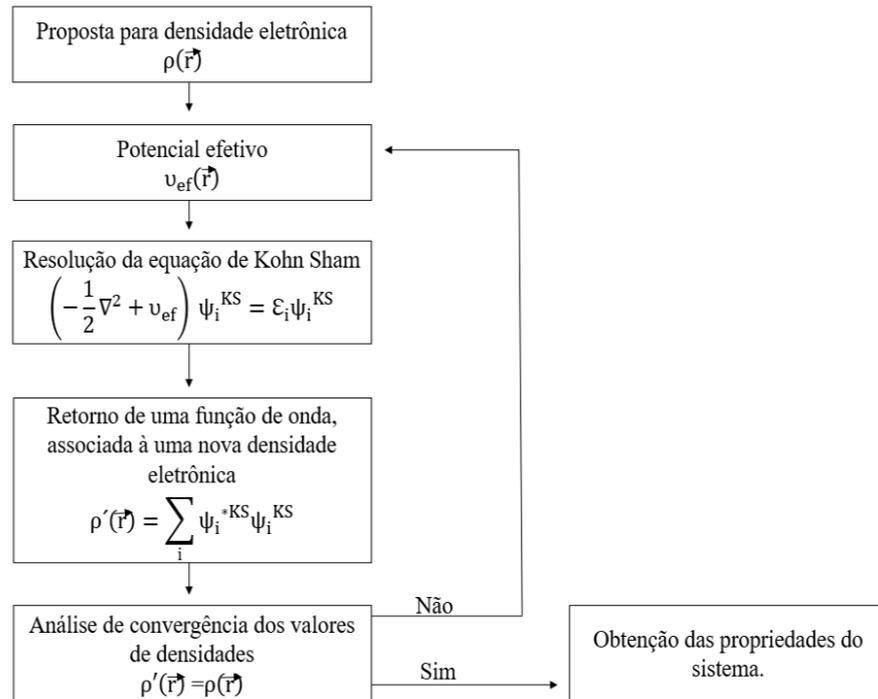
Aplicando-se o Hamiltoniano (Equação 16) na equação de Schrödinger de um elétron é possível obter as funções de onda que descrevem os orbitais Kohn-Sham (ψ_i^{KS}), bem como os valores de energia (ϵ_i) associados a eles. Tais funções de onda devem ser ortonormais de modo que $\langle \psi_i^{KS} | \psi_j^{KS} \rangle = \delta_{ij}$.

$$\left(-\frac{1}{2} \nabla^2 + v_{ef} \right) \psi_i^{KS} = \epsilon_i \psi_i^{KS} \quad (\text{Equação 17})$$

A Equação 17 é conhecida como equação de Kohn-Sham e $\hat{h}^{KS} = -\frac{1}{2} \nabla^2 + v_{ef}$ é o Hamiltoniano de Kohn-Sham (LEVINE, 2014). Em um processo auto consistente, SCF, primeiramente escolhe-se uma densidade eletrônica arbitrária. Como visto no primeiro teorema de Hohenberg e Kohn, essa densidade está associada a um potencial efetivo. Aplica-se tal potencial na equação de Kohn-Sham, que retorna uma função de onda que está associada a uma

densidade eletrônica. O processo se repete, até que se obtenha a densidade eletrônica mais próxima possível da densidade eletrônica que descreve o estado fundamental do sistema. Conhecendo-se a densidade que minimiza a energia do sistema, como explicado pelo teorema variacional, pode-se calcular as propriedades desejadas do sistema (CANUTO; FAZZIO; VIANNA, 2004).

Figura 3. Esquema do processo auto consistente



Fonte: (CANUTO; FAZZIO; VIANNA, 2004), adaptada.

O funcional de troca-correlação (Equação 13) é aproximado, já que não é conhecido. Desta forma, a precisão dos resultados obtidos a partir do método de Kohn e Sham depende da qualidade de tal aproximação. Um dos métodos aproximativos empregados em DFT é a aproximação de densidade local.

2.6.2.3 Aproximação da densidade local

É possível calcular o funcional de troca-correlação pela Equação 18 (KOHN; BECKE; PARR, 1996), considerando-se que a densidade eletrônica do sistema apresenta pouca variação com a posição (LEVINE, 2014).

$$E_{xc}^{LDA}[\rho] = \int \rho(\vec{r}) \varepsilon_{xc}(\rho(\vec{r})) d\vec{r} \quad (\text{Equação 18})$$

onde \mathcal{E}_{xc} é a energia de troca-correlação de um elétron em um gás de elétrons homogêneo com densidade ρ . A partir do funcional de troca-correlação, é possível calcular o potencial descrito na Equação 19,

$$v_{xc}^{\text{LDA}}(\vec{r}) = \frac{\delta E_{xc}^{\text{LDA}}(\rho)}{\delta \rho(\vec{r})} = \mathcal{E}_{xc}(\rho(\vec{r})) + \rho(\vec{r}) \frac{\partial \mathcal{E}_{xc}(\rho)}{\partial \rho} \quad (\text{Equação 19})$$

Aplicando-se os termos do funcional e do potencial de troca-correlação, descritos pelas Equações 18 e 19 respectivamente, na resolução da equação de Kohn-Sham, tem-se a aproximação de densidade local (LDA).

Nesse procedimento considera-se o sistema como um gás uniforme de elétrons que apresenta, portanto, uma densidade uniforme por todo o espaço *Jellium*, uma suposta região eletricamente neutra, de volume infinito, na qual os elétrons estão distribuídos uniformemente (LEVINE, 2014).

Além de se admitir a densidade constante, é possível considerar a polarização de *spin* do sistema, para a obtenção dos termos de troca-correlação a serem empregados na resolução da equação de Kohn-Sham. Nesse caso, tem-se a aproximação de densidade de *spin* local (LSDA). Ambas as aproximações descritas, LDA e LSDA, tratam sistemas não homogêneos como se apresentassem a mesma densidade eletrônica de um sistema homogêneo, o que não é totalmente correto. Uma maneira de corrigir tal problema, é considerar o gradiente da densidade eletrônica no cálculo do funcional de troca-correlação. Isso leva à aproximação do gradiente generalizado.

2.6.2.4 Aproximação do gradiente generalizado

Para sistemas reais, nos quais a densidade eletrônica varia com a posição, ou seja, sistemas não homogêneos, é importante que se considere o gradiente da densidade eletrônica ($\nabla \rho(\vec{r})$) na descrição do funcional de troca-correlação.

Nesse contexto, define-se um parâmetro (s), Equação 20, que considera o caráter não homogêneo do sistema, e que, portanto, depende do gradiente da densidade eletrônica (DUARTE; ROCHA, 2007).

$$s = \frac{|\nabla \rho(\vec{r})|}{2k\rho} \quad (\text{Equação 20})$$

onde $k = (3\pi^2\rho)^{\frac{1}{3}}$. A partir do parâmetro definido, é possível descrever o funcional de troca, em termos de um funcional $F(s)$ (Equação 21),

$$E_x^{\text{GGA}}(\rho) = -\frac{3}{4} \left(\frac{3}{\pi}\right)^{\frac{1}{3}} \int (\rho)^{\frac{4}{3}} F(s) d\vec{r} \quad (\text{Equação 21})$$

O funcional $F(s)$ pode apresentar diferentes formas e o conjunto delas é denominado aproximação do gradiente generalizado (GGA). De acordo com as diferentes possibilidades de apresentação do funcional $F(s)$, definir-se-ão os diferentes funcionais de troca (E_x^{GGA}) (DUARTE; ROCHA, 2007) e, por consequência, funcionais de troca-correlação (E_{xc}^{GGA}) do sistema (KOHN; BECKE; PARR, 1996).

$$E_{xc}^{\text{GGA}} = \int f(\rho(\vec{r}), |\nabla\rho(\vec{r})|) d\vec{r} \quad (\text{Equação 22})$$

Uma maneira de melhorar os funcionais de troca-correlação, obtidos pelo método GGA, é propor funcionais que consideram a segunda derivada da densidade eletrônica, de modo a expandir o gradiente generalizado para gradientes de segunda ordem. Nesse contexto, considera-se a densidade da energia cinética no cálculo do funcional de troca-correlação (Equação 23) (LEVINE, 2014).

$$E_x^{\text{MGGA}}(\rho^\alpha, \rho^\beta) = \int f(\rho^\alpha, \rho^\beta, \nabla\rho^\alpha, \nabla\rho^\beta, \nabla^2\rho^\alpha, \nabla^2\rho^\beta, \tau_\alpha, \tau_\beta) d\vec{r} \quad (\text{Equação 23})$$

sendo τ_α a densidade da energia cinética para os elétrons de spin α definida por

$$\tau_\alpha = \frac{1}{2} \sum_i |\nabla\Psi_{i\alpha}^{\text{KS}}|^2 \quad (\text{Equação 24})$$

O conjunto de funcionais obtidos a partir da Equação 23 são denominados de funcionais meta-GGA. Além dos funcionais meta-GGA, existem os chamados funcionais híbridos. Esses são obtidos pela soma dos funcionais de troca-correlação dos métodos GGA ou meta-GGA, porém uma parcela do funcional de troca é obtida pelo método Hartree-Fock. Essa parcela é exata, e o percentual de contribuição da mesma no cálculo do funcional de troca varia e determina os diferentes tipos de funcionais híbridos.

2.6.2.5 Conjunto de funções de base

Como visto, os funcionais de troca-correlação diferem-se uns dos outros. As modificações feitas na forma de se obtê-los têm por objetivo alcançar melhores aproximações, que forneçam resultados mais precisos da equação de Kohn-Sham.

Outro fator importante a ser considerado, durante a resolução da equação de Kohn-Sham, é o conjunto de funções de base que se utiliza. Tal conjunto de funções de base, é obtido a partir da expansão de orbitais Kohn-Sham. Essa expansão pode ser realizada usando-se, principalmente, funções do tipo Slater ou Gaussiana. No presente trabalho, os cálculos realizados utilizaram conjunto de função de base proveniente da Combinação Linear de Funções Gaussianas (LCGTO) (Equação 25) (DUARTE; ROCHA, 2007).

$$\psi_i^{\text{KS}} = \sum_{\mu} C_{\mu i} \chi_{\mu}(\vec{r}) \quad (\text{Equação 25})$$

onde $C_{\mu i}$ são os coeficientes dos orbitais moleculares e $\chi_{\mu}(\vec{r})$ são os orbitais do tipo gaussiana contraídos, ou simplesmente orbitais atômicos,

$$\chi_{\mu}(\vec{r}) = \sum_{p=1}^L d_{p\mu} \phi_p(\alpha_{p\mu}, \vec{r} - \vec{R}_A) \quad (\text{Equação 26})$$

Cada termo $\phi_p(\alpha_{p\mu}, \vec{r} - \vec{R}_A)$ é uma gaussiana centrada na coordenada \vec{R}_A , cujo expoente é $\alpha_{p\mu}$. O termo $d_{p\mu}$ é denominado coeficiente de contração.

Nesse contexto, apresenta-se a equação Kohn-Sham reescrita em termos de orbitais atômicos (Equação 27),

$$F^{\text{KS}}C = S_{\mu\nu}CE \quad (\text{Equação 27})$$

sendo $S_{\mu\nu} = \langle \chi_{\mu} | \chi_{\nu} \rangle$ a matriz sobreposição e F^{KS} a matriz de Fock (Equação 28)

$$F_{\mu\nu}^{\text{KS}} = h_{\mu\nu} + \left\langle \chi_{\mu} \left| \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r}-\vec{r}'|} d\vec{r}' + v_{\text{xc}}(\vec{r}) \right| \chi_{\nu} \right\rangle \quad (\text{Equação 28})$$

onde $h_{\mu\nu}$ é chamada matriz de caroço e pode ser calculada de forma analítica

$$h_{\mu\nu} = \left\langle \chi_\mu \left| -\frac{1}{2} \nabla^2 - \sum_A \frac{Z_A}{|\vec{r} - \vec{R}_A|} \right| \chi_\nu \right\rangle \quad (\text{Equação 29})$$

O termo de Coulomb presente na Equação 28, pode ser reescrito como o elemento de matriz $J_{\mu\nu}$ apresentado na Equação 30

$$J_{\mu\nu} = \left\langle \chi_\mu \left| \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' \right| \chi_\nu \right\rangle \quad (\text{Equação 30})$$

sendo a densidade eletrônica descrita pela matriz de densidade (Equação 31).

$$P(\vec{r}) = \sum_i n_i |\psi_i(\vec{r})|^2 = \sum_{\mu\nu} P_{\mu\nu} \chi_\mu \chi_\nu \quad (\text{Equação 31})$$

Ao substituir a Equação 31 na Equação 30, vê-se que o cálculo da matriz referente ao termo de Coulomb envolve integrais de quatro centros (Equação 32).

$$J_{\mu\nu} = \sum_{lk} P_{lk} \iint \frac{\chi_\mu(\vec{r}) \chi_l(\vec{r}') \chi_k(\vec{r}') \chi_\nu(\vec{r})}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' d\vec{r} \quad (\text{Equação 32})$$

A resolução de tais integrais apresenta um custo computacional proporcional a N^4 , sendo N o tamanho do conjunto de funções de base. Uma maneira de se reduzir esse custo é utilizar um conjunto de funções de base auxiliares na descrição da densidade eletrônica. Reescrevendo, portanto, a densidade eletrônica em termos das funções auxiliares $f_i(r)$ a matriz do termo de Coulomb passa a ser descrita pela Equação 33 (DUARTE; ROCHA, 2007),

$$J_{\mu\nu} = \sum_i a_i \iint \frac{\chi_\mu(\vec{r}) f_i(\vec{r}') \chi_\nu(\vec{r})}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' d\vec{r} \quad (\text{Equação 33})$$

onde a_i é o coeficiente de ajuste. Pode ser observado que a integral passa a ser de três centros. Nesse contexto, o custo computacional passa a ser proporcional a N^2M , sendo M o tamanho do conjunto de funções de base auxiliares.

O conjunto de função de base mínimo é descrito como sendo aquele em que existe uma função que descreve cada um dos orbitais atômicos do sistema. Pode-se utilizar conjunto de bases que apresentem duas funções para descrever cada um dos orbitais atômicos (Doble Zeta), ou três funções (Triple Zeta) e assim sucessivamente. Métodos que descrevem os sistemas em

termos da função de onda, geralmente utilizam conjuntos de bases mais robustos, o que torna os resultados mais precisos. Isso porque, as funções abrangem a maior parte do espaço possível, que pode estar ocupado pelo elétron. Entretanto, o aumento no conjunto de base apresenta a desvantagem de maior demanda computacional (LEVINE, 2014).

A DFT baseia-se na densidade eletrônica, de modo que o tamanho do conjunto de funções de base não apresenta tanta influência nos resultados, como em alguns outros métodos *ab initio*. Na DFT até mesmo o conjunto de bases pequenos podem fornecer bons resultados (LEVINE, 2014).

Para uma melhor descrição de um sistema que apresente distorções em orbitais, devido à ocorrência de ligações químicas, por exemplo, é possível a utilização das chamadas funções polarizadas. Já para sistemas nos quais exista densidade eletrônica, mesmo a longas distâncias do núcleo, como em caso de ânions, por exemplo, é possível a utilização das funções difusas.

Os conceitos apresentados até o momento consideraram a teoria do funcional da densidade independente do tempo. Entretanto, existe também a vertente da DFT dependente do tempo (TDDFT) aplicável, por exemplo, em estudos de estados excitados.

2.6.3 Teoria do funcional da densidade dependente do tempo

Para estudo de problemas envolvendo estados excitados, obtenção de espectros, dentre outras propriedades que dependem do tempo, é importante que se aplique, em tal resolução, a TDDFT. Para isso, conceitos da DFT foram reformulados, de modo a considerar a variável tempo. Nesse contexto, as equações Kohn-Sham passam a ser derivadas da equação Hartree-Fock dependente do tempo (Equação 34) (RUNGE; GROSS, 1984).

$$\hat{H}(\vec{r}, t)\psi(\vec{r}, t) = i \frac{\partial \psi(\vec{r}, t)}{\partial t} \quad (\text{Equação 34})$$

sendo $\hat{H}(\vec{r}, t) = \hat{T}(\vec{r}) + \hat{V}(\vec{r}) + \hat{U}(\vec{r}, t)$ o operador Hamiltoniano dependente do tempo, descrito pela soma do operador energia cinética, operador de Coulomb e potencial externo.

Conceitualmente, os teoremas de Hohenberg e Kohn, utilizados no desenvolvimento da DFT, foram reformulados para serem aplicados à TDDFT e são conhecidos como teorema de Runge-Gross (RG), em homenagem aos pesquisadores que os desenvolveram.

2.6.3.1 Teoremas de Runge-Gross

Os teoremas de RG apresentam a ideia de que, ao contrário de sistemas independentes do tempo, para os quais aplica-se o princípio variacional na estimativa dos valores de energia,

no estudo de sistemas dependentes do tempo a energia total não é conservada. O que se conserva é uma grandeza energética $A[\psi]$ descrita na Equação 35 (RUNGE; GROSS, 1984).

$$A[\psi] = \int_{t_0}^{t_f} dt \left\langle \psi(t) \left| i \frac{\partial}{\partial t} - \hat{H}(t) \right| \psi(t) \right\rangle \quad (\text{Equação 35})$$

sendo $\psi(t)$ uma função de onda de N-corpos, observa-se que é possível obter a equação de Schrödinger dependente do tempo a partir da Equação 35, igualando-se a derivada em relação a $\psi^*(t)$ à zero. Nesse contexto, é possível resolver a equação de Schrödinger pelo método estacionário. Sendo uma determinada função $\psi(t)$ considerada a solução da equação quando a mesma torna o funcional estacionário. Quando a função de onda exata é aplicada no cálculo do funcional de energia $A[\psi]$, o valor deste funcional é igual a zero, mostrando que o mesmo é estacionário (RUNGE; GROSS, 1984)

Nos sistemas dependentes do tempo a relação unívoca entre o potencial externo e a densidade eletrônica, continua sendo verdadeira, ou seja, para cada potencial externo dependente do tempo existe apenas uma densidade eletrônica que descreve o sistema associado.

2.6.3.2 Equações de Kohn-Sham dependentes do tempo

A densidade eletrônica que descreve sistemas dinâmicos é descrita pela Equação 36 (ULLRICH; YANG, 2014).

$$\rho(\vec{r}, t) = \sum_i |\psi_i^{KS}(\vec{r}, t)|^2 \quad (\text{Equação 36})$$

A função de onda dependente do tempo que aparece na Equação 36, pode ser obtida resolvendo-se a equação de Kohn-Sham para sistemas dependentes do tempo (Equação 37) (ULLRICH; YANG, 2014).

$$\left(-\frac{1}{2} \nabla^2 + v_{ef}(\vec{r}, t) \right) \psi_i^{KS}(\vec{r}, t) = i \frac{\partial \psi_i^{KS}(\vec{r}, t)}{\partial t} \quad (\text{Equação 37})$$

onde $v_{ef}(\vec{r}, t)$ é o potencial efetivo dependente do tempo que pode ser descrito pela Equação 38, de maneira análoga à apresentada na seção 2.6.2.2, do presente trabalho, para o potencial efetivo independente do tempo (RUNGE; GROSS, 1984).

$$v_{ef}(\vec{r}, t) = v(\vec{r}, t) + \int \frac{\rho(\vec{r}_1, t_0)}{|\vec{r} - \vec{r}_1|} d\vec{r}_1 + v_{xc}(\vec{r}, t) \quad (\text{Equação 38})$$

Sendo $v_{xc}(\vec{r}, t)$ o potencial de troca e correlação dependente do tempo e $v(\vec{r}, t)$ o potencial externo dependente do tempo. O potencial de troca e correlação descrito para DFT (Equação

14), foi obtido por meio da minimização da energia total, o que, como visto pelo teorema de Runge e Gross, não é possível ser realizado na TDDFT, visto que a energia total não se conserva. Desse modo, uma descrição análoga do potencial de troca e correlação aplicando-se, porém, a parcela de troca e correlação da grandeza de energia (A) obtida pelo método de estacionário, é apresentada na Equação 39 (RUNGE; GROSS, 1984).

$$v_{xc}(\vec{r}) = \frac{\delta A_{xc}}{\delta \rho(\vec{r}, t)} \quad (\text{Equação 39})$$

Portanto, a partir da resolução da equação de Kohn-Sham para sistemas dependentes do tempo é possível descrever a dinâmica dos objetos de estudo.

Além disso, a TDDFT pode ser aplicada no estudo da fotofísica de compostos, que envolvem cálculos das espécies nos estados excitados.

2.7 Fotofísica

Viu-se, em seções anteriores, que o mecanismo da terapia fotodinâmica envolve a excitação, promovida por radiação externa, do fotossensibilizador, no estado fundamental, para algum dos estados excitados singletos. Posteriormente, é possível que o composto passe ao estado tripleto, fenômeno chamado cruzamento entre sistemas.

Normalmente é esperado que as transições ocorram entre estados com a mesma multiplicidade de *spin*. As transições decorrentes da passagem de um estado para outro, com multiplicidades diferentes, são consideradas proibidas por *spin*. O dipolo de transição, em uma transição eletrônica, pode ser descrito simplificada pela Equação 40 (HARRIS; BERTOLUCCI, 1989),

$$M = \int \Psi_v^* \Psi_v d\tau_n \int \Psi_e^* \widehat{\mu}_e \Psi_e d\tau_e \int \Psi_s^* \Psi_s d\tau_s \quad (\text{Equação 40})$$

o primeiro termo é um componente vibracional, o segundo orbital e o terceiro de *spin*. Pelo princípio da ortogonalidade das funções de onda de *spin*, quando os estados apresentam multiplicidade diferentes o valor de $\int \Psi_s^* \Psi_s d\tau = 0$, sendo, então, a transição proibida (HARRIS; BERTOLUCCI, 1989).

O que explica a possibilidade da ocorrência de conversão entre sistemas é o acoplamento *spin* orbita. De acordo com o trabalho de Russell e Saunders, para sistemas multieletrônicos, os momentos angulares orbitais, individuais dos elétrons, podem ser acoplados, de modo a resultar em um momento angular orbital total, L. De modo análogo, os momentos angulares de *spin*, individuais dos elétrons, podem ser acoplados de modo a resultar

em um momento angular total de spin, S. A combinação dos momentos angulares totais, orbital e de *spin*, resulta no momento angular total, J (RUSSELL; SAUNDERS, 1925). Nesse contexto, mesmo que uma transição eletrônica altere os momentos angulares S e L, o momento angular total J é conservado.

Uma maneira de compreender a transição entre estados de multiplicidade diferentes, é assumir que tais estados não se apresentam de forma pura, mas sim misturados, de modo que o estado singleto seja dotado de um caráter tripleto e o tripleto de um caráter singleto, como resultado do acoplamento *spin* órbita (TURRO, 1969).

O Hamiltoniano do sistema, considerando-se o efeito relativístico de acoplamento *spin* órbita, pode ser descrito como na Equação 41,

$$\hat{H}_{rel} = \hat{H}_{BO} + \hat{H}_{SOC} \quad (\text{Equação 41})$$

onde \hat{H}_{BO} é o Hamiltoniano Born-Oppenheimer e \hat{H}_{SOC} é o Hamiltoniano de acoplamento *spin* órbita, que para estudos envolvendo um elétron pode ser descrito pela Equação 42 (BELJONNE *et al.*, 2001)

$$\hat{H}_{SOC} = \alpha^2 \sum_{\mu}^N \sum_i^n \frac{Z_{\mu}}{r_{i\mu}^3} \vec{L}_i \vec{S}_i \quad (\text{Equação 42})$$

onde α é a constante de Sommerfeld; Z é a carga nuclear efetiva do núcleo μ ; L e S são os momentos angulares, orbital e de *spin*, respectivamente.

Embora exista a possibilidade da ocorrência de transição entre estados de multiplicidade de *spin* distintas, essa transição é menos favorável do que a envolvendo estados de mesma multiplicidade. O processo de cruzamento entre sistemas é considerado lento, com tempo de 10^{-8} s, comparados com processos de conversão interna que ocorrem geralmente com 10^{-12} s. Desse modo, o tempo de vida do estado excitado tripleto formado é, normalmente, maior que o tempo de vida do estado excitado singleto (OMARY; PATTERSON, 2016).

Como visto em seções anteriores, os mecanismos que descrevem processos fotoquímicos dependem das espécies excitadas geradas. É interessante, portanto, a determinação da taxa de cruzamento entre sistemas, de modo a conseguir estimar o tempo de ocorrência dos processos fotofísicos que darão origem às espécies excitadas (MARIAN, 2012).

A teoria de Marcus (MARCUS, 1956) tem aplicação no cálculo da taxa de cruzamento entre sistemas, importante nos estudos dos processos fotofísicos. Nesse contexto, a transferência de elétron, de um estado doador para um estado receptor, ocorre seguindo-se o princípio de Franck-Condon.

Considerando-se que o movimento do elétron em uma transição eletrônica é muito mais rápido do que o movimento dos núcleos dos átomos do composto, o princípio de Franck-Condon permite considerar que, durante a excitação, os núcleos permanecem nas mesmas posições em que estavam no estado de origem. Nesse contexto, a excitação é considerada como sendo vertical (FRANCK, 1925)(CONDON, 1926).

Combinando-se a regra de ouro de Fermi (FERMI, 1950) com a teoria de Marcus (MARCUS, 1956), tem-se a expressão para a taxa de cruzamento entre sistemas descrita pela Equação 43 (V. LAWETZ, G. ORLANDI, 1972) (OU; SUBOTNIK, 2013).

$$k_{ISC}^{nm} = \frac{2\pi}{\hbar} \rho_{FC} \left| \langle S_n | \hat{H}_{SOC} | T_m \rangle \right|^2 \quad (\text{Equação 43})$$

sendo,

$$\rho_{FC} = \frac{1}{\sqrt{4\pi\lambda_M kT}} \exp \left[-\frac{(\Delta E_{ST} + \lambda_M)^2}{4\lambda_M kT} \right] \quad (\text{Equação 44})$$

onde λ_M é a energia de reorganização e ΔE_{ST} a variação adiabática de energia entre os estados tripleto e singleto.

A energia de reorganização, presente na Equação 44, apresenta uma componente interna, que se relaciona com as alterações no comprimento das ligações e com as modificações estruturais do composto, a partir da ocorrência da transição. Apresenta também uma componente externa, que se relaciona com as modificações que a transição promove no ambiente do solvente. Nesse contexto, uma aproximação válida, durante o cálculo da energia de reorganização, é considerar apenas a sua contribuição intramolecular (LÓPEZ-ESTRADA *et al.*, 2018). Tal valor pode ser calculado utilizando-se a aproximação dos quatro pontos, como descrito na Equação 45 (NELSEN; BLACKSTOCK; KIM, 1987)

$$\lambda_M \approx \lambda_{mtra} = E(T_m) @ S_1 - E(T_m) @ T_m \quad (\text{Equação 45})$$

onde $E(T_m)@S_1$ é a energia do estado tripleto T_m na geometria otimizada do estado singleto S_1 e $E(T_m)@T_m$ é a energia do estado tripleto T_m na geometria otimizada do próprio estado T_m .

O cálculo das taxas de transição entre sistemas, que é um evento dinâmico, utilizando a regra de ouro de Fermi na forma da Equação 43, apresenta a característica de utilizar energias,

e outras propriedades, advindas de cálculos não dinâmicos, empregando-se métodos já implementados nos principais programas de cálculo de estrutura eletrônica.

Outra maneira de se calcular a taxa de cruzamento entre sistemas ($k(f)$) é a abordagem da integral de caminho. Em casos nos quais as transições envolvam transferência de fótons, a expressão da constante de cruzamento entre sistemas pode ser desenvolvida a partir de conceitos da eletrodinâmica quântica, aplicados à regra de ouro de Fermi, e ser escrita na forma da Equação 46.

$$k(f) = \frac{4f^3 \eta^2}{3 \hbar c^3} |\langle \Psi_i | \hat{\mu} | \Psi_F \rangle|^2 \delta(E_i - E_F \pm \hbar f) \quad (\text{Equação 46})$$

onde $\hbar f$ é a energia do fóton; μ operador de dipolo e η o índice de refração do solvente.

Em trabalho realizado por de Souza e colaboradores, desenvolveu-se uma expressão, para a resolução da Equação 46. O termo delta de Dirac foi escrito na forma de transformada de Fourier e considerou-se a ocupação dos estados, pela distribuição de Boltzmann. Após manipulações algébricas, o problema foi reduzido à resolução da transformada de Fourier da chamada função de correlação ($\chi(t)$) (Equação 47) (DE SOUZA; NEESE; IZSÁK, 2018).

$$k(f) = A \int_0^{\infty} \chi(t) e^{-ift} dt \quad (\text{Equação 47})$$

Nesse contexto, a função de correlação ($\chi(t)$) apresenta termos calculados a partir das coordenadas normais do sistema, que por sua vez, podem ser obtidas de autovetores da hessiana de energia (DE SOUZA; NEESE; IZSÁK, 2018). A matriz de rotação de Duschinsky e o vetor de deslocamento são empregados durante o processo de obtenção do conjunto de coordenadas normais. Isso permite considerar o efeito do movimento vibracional nuclear, envolvido no alcance da nova geometria de equilíbrio durante a transição, que está diretamente relacionado à energia de reorganização.

O emprego da abordagem da integral de caminho requer, principalmente, as geometrias dos estados finais e iniciais, envolvidos na transição, e as hessianas de energia associadas a eles. Entretanto a otimização de geometria de estados excitados pode ser difícil de ser realizada, principalmente em casos onde há cruzamento entre superfícies de energia potencial. Da mesma forma, os cálculos das hessianas para estados excitados são custosos computacionalmente, por serem obtidos, muitas vezes, de maneira numérica (DE SOUZA; NEESE; IZSÁK, 2018).

Sendo assim, aproximações podem ser feitas, de modo a facilitar o emprego da abordagem da integral de caminho. Uma delas é realizar o cálculo das hessianas dos estados excitados na geometria do estado fundamental. Outra opção é considerar que as hessianas dos estados, fundamental e excitados, sejam iguais. As aproximações precisam ser avaliadas de modo particular para cada sistema em estudo, com o intuito de retornarem resultados confiáveis. Por outro lado, quando possível, a metodologia pode ser utilizada sem nenhuma aproximação, realizando-se a otimização de ambos os estados envolvidos na transição, seguida do cálculo da hessiana de energia, no ponto mínimo de cada um dos estados (DE SOUZA; NEESE; IZSÁK, 2018).

Além dos estudos fotofísicos e fotoquímicos envolvendo o fotossensibilizador, o presente trabalho também estudou a influência que a interação do composto com o DNA apresenta sobre a espectroscopia do PS. A fim de se obter a estrutura do TH9402 intercalado ao DNA (TH9402@DNA), realizou-se o *docking* molecular.

2.8 *Docking* molecular

O *docking* molecular é um método computacional, que propõe modelos de interação entre o composto ligante e a molécula alvo, de modo a se obter a configuração estrutural do sistema.

Muito aplicado no estudo de novos medicamentos, o *docking* é realizado entre a molécula do ligante, que nesse contexto pode ser um novo composto a ser aplicado no tratamento de alguma doença, e a molécula alvo, que pode ser uma proteína, DNA ou RNA (MORRIS,2008). A partir do *docking* molecular é possível obter as conformações mais prováveis para o sistema. Essas podem ser utilizadas como ponto de partida para a realização de cálculos computacionais mais refinados de otimização de geometria e de estrutura eletrônica.

Existem atualmente muitos programas, amplamente empregados em pesquisas, que realizam *docking*. As variações entre esses programas apresentam-se nos algoritmos que eles utilizam para a geração das conformações do sistema (CHAUDHARY; MISHRA, 2016) e nas funções *score* que aplicam, para fazer o ranqueamento de tais conformações (LIEBESCHUETZ; COLE; KORB, 2012).

As diferenças, entre as funções *score*, se relacionam com as propriedades que tais funções consideram, para realizar o ranqueamento das estruturas obtidas durante o *docking*. Existem funções que analisam a variação de energia livre, ocasionada pela interação, outras que comparam moléculas advindas do *docking* com as de bancos de dados e avaliam parâmetros como distâncias de ligação, por exemplo, para se fazer o ranqueamento. A função GoldScore é

a função *score* original do programa Gold e considera parâmetros como energia de ligação de hidrogênio, energia de van der Waals e energia torcional do ligante (JONES *et al.*,1997). Nesse contexto, estruturas com maior pontuação no ranqueamento são as que melhor representam o encaixe do ligante na molécula alvo.

Os cálculos de *docking* podem variar entre si, considerando-se a flexibilidade das moléculas participantes. O *docking* rígido, por exemplo, é realizado mantendo-se rígidos tanto o receptor quanto o ligante (CHAUDHARY; MISHRA, 2016). Metodologias para a realização de *docking*, considerando a flexibilidade do ligante e do receptor, vêm sendo desenvolvidas, uma delas é o *ensemble docking* (AMARO *et al.*, 2018). Um dos métodos de *docking* mais empregado, no entanto, considera o ligante flexível e o receptor rígido.

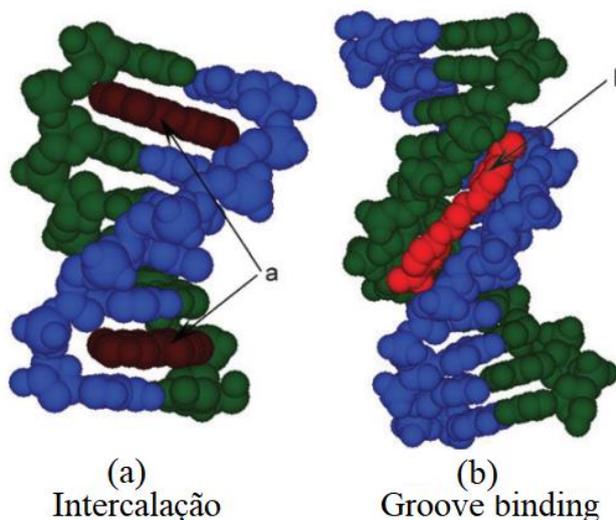
Como dito, diferentes programas podem utilizar diferentes algoritmos de busca, para propor as conformações dos complexos formados pelos ligantes e moléculas alvo. Os mais comuns são os que utilizam o método Monte Carlo, ajuste de forma e algoritmo genético (CHAUDHARY; MISHRA, 2016).

O método do algoritmo genético, que é o empregado pelo programa Gold, utilizado no presente trabalho, se baseia no modelo evolucionário biológico, no qual os indivíduos, melhor adaptados, são os que se reproduzem, passando seus genes adiante para as próximas gerações. Durante o cálculo do *docking*, as estruturas vão sendo geradas e classificadas pela função *score*. As melhores são selecionadas e podem ser combinadas entre si, em um processo de cruzamento, de modo a gerar novas estruturas, que são novamente submetidas ao ranqueamento. O que também pode ocorrer, é o processo de mutação, no qual pequenas modificações, rotações de ligações por exemplo, são realizadas em uma estrutura selecionada, de modo a gerar uma nova.

Não existe um método que seja melhor que outro em todos os sistemas. É preciso encontrar o que melhor descreva o sistema específico em estudo. Além disso, grande parte dos programas atuais foram desenvolvidos para o estudo de *docking* entre proteínas e ligantes, podendo haver variações da eficiência dos mesmos quando a molécula alvo é um DNA, por exemplo.

Em *docking* envolvendo moléculas de DNA como alvo, sabe-se que as moléculas ligantes podem interagir como *groove binders*, ou seja, se encaixando ao longo dos espaços gerados pelo entrelaçamento das hélices do DNA. Podem, também, interagir como intercaladores. Nesse caso, o composto ligante se acomoda paralelamente entre dois pares de bases nitrogenadas da macromolécula (ALEKSIC; KAPETANOVIC, 2014). A Figura 4 representa as interações de *groove binders* e intercaladores com a molécula de DNA.

Figura 4. Formas de interação entre moléculas de ligantes e o DNA (a) interação por intercalação (b) interação do tipo *groove binding*

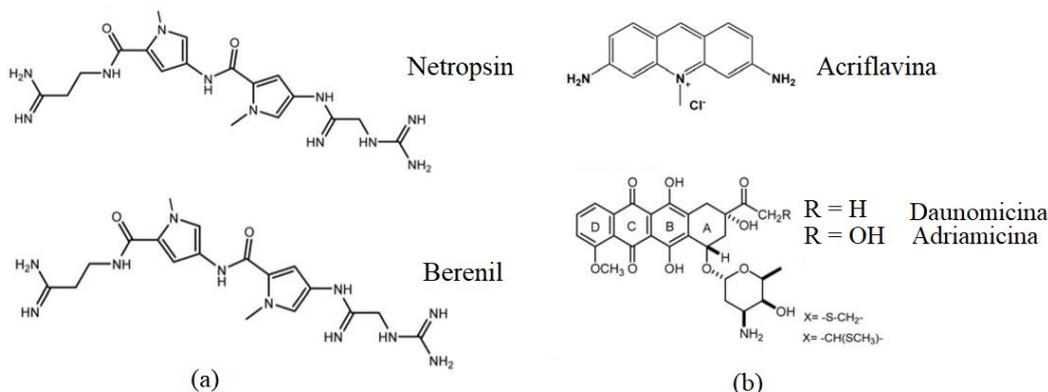


Fonte: (LIU, 2008), adaptada

Em ambos os casos, as interações, mostradas na Figura 4, ocorrem sem estabelecimento de ligações químicas, sendo realizadas por interação eletrostática, forças de London e ligação de hidrogênio, por exemplo (ALEKSIC; KAPETANOVIC, 2014).

Moléculas que se comportam como *groove binders* geralmente apresentam estruturas flexíveis, com ligações rotacionáveis, que permitem que se acomodem ao longo dos espaços das hélices do DNA. Por outro lado, moléculas que se intercalam com DNA, costumam ser rígidas, apresentando estruturas com sequências de anéis aromáticos. Exemplos de *groove binders* e intercaladores já conhecidos são mostrados na Figura 5.

Figura 5. Compostos que interagem com o DNA (a) moléculas que são *groove binders* (à esquerda) (b) moléculas que são intercaladoras (à direita)



Fonte: (ALEKSIC; KAPETANOVIC, 2014), adaptada

Sabendo-se das características que são comumente apresentadas por moléculas que se comportam como *groove binders* e intercaladoras, é importante identificar a que grupo possivelmente o composto que se deseja estudar pertence. Isso porque, tal definição apresenta influência sobre a escolha do modelo de DNA a ser empregado no *docking*.

Pesquisas mostram que, para o estudo de moléculas que se comportam como intercaladores, é importante que o modelo de DNA escolhido apresente *gaps* de intercalação (RASHIDA, 2015). Por outro lado, quando se estudam possíveis *groove binders* deve-se utilizar um modelo de DNA que não apresente *gap* de intercalação. Desse modo, evita-se que as interações sejam descritas erroneamente pelo *docking*, ou seja, diminuem-se as chances de o cálculo apresentar conformações de *groove binders* para compostos intercaladores e vice-versa (RASHIDA, 2015).

3 METODOLOGIA

Nesse trabalho, a fotofísica do fotossensibilizador TH9402 foi estudada. Empregou-se, para isso, a teoria do funcional da densidade (DFT) (KOHN; BECKE; PARR, 1996) na otimização de geometria do estado fundamental do PS. As geometrias dos estados excitados foram obtidas utilizando-se a teoria do funcional da densidade dependente do tempo (TDDFT) (RUNGE; GROSS, 1984), dez raízes e empregando-se a aproximação Tamm-Dancoff (TAMM, 1945)(DANCOFF, 1950). A geometria do TH9402 foi otimizada para o estado fundamental (S_0), para os estados excitados primeiro singleto (S_1), segundo singleto (S_2) e para os estados tripletos com energia inferior à do estado S_2 , que foram o primeiro triplete (T_1), segundo triplete (T_2) e terceiro triplete (T_3).

Estudaram-se também as reações do fotossensibilizador, no primeiro estado excitado triplete, com o oxigênio molecular, óxido nítrico, guanina e com a guanosina monofosfato (GMP). Realizaram-se, para isso, as otimizações de geometria dessas espécies no estado fundamental e nos estados excitados.

Todas as otimizações mencionadas até o momento empregaram o funcional GGA híbrido, B3LYP, de troca-correlação (BECKE, 1993). A função de base def2-TZVP de Ahlrichs, que considera todos os elétrons, foi aplicada para todos os átomos (WEIGEND; AHLRICHS, 2005). A fim de aumentar a velocidade dos cálculos, a aproximação *chain of sphere* (IZSÁK; NEESE; KLOPPER, 2013) foi aplicada na parte de troca da matriz de Fock, fazendo-se o uso da base auxiliar def2/J em conjunto com o uso da resolução de identidade (RI) (BUROW; SIERKA; MOHAMED, 2009) na matriz de Coulomb. Além disso, as otimizações foram realizadas em fase gasosa e com as estruturas totalmente livres. Foram calculadas as

frequências harmônicas vibracionais, nas geometrias otimizadas, para caracterizar a natureza do ponto estacionário.

Após a obtenção das geometrias otimizadas em fase gasosa, energias no ponto foram calculadas em fase aquosa, empregando-se o modelo contínuo polarizável do tipo condutor (CPCM) (TAKANO; HOUK, 2005). As espécies de camada aberta foram otimizadas com o formalismo Kohn-Sham não restrito (UKS) (KOHN, 1965) e a contaminação de *spin* em todos os casos ficou abaixo de 5%.

Para investigar o espectro de absorção e emissão do TH9402, foi realizado um *benchmark* com cinco funcionais de troca-correlação. O funcional híbrido B3LYP (BECKE, 1993), dois funcionais híbridos com correção de longo alcance, sendo eles o CAM-B3LYP (YANAI; TEW; HANDY, 2004) e WB97X (CHAI; HEAD-GORDON, 2008), e dois funcionais meta-GGA: o TPSSh (ALLOUCHE, 2012) e M06-2X (ZHAO; TRUHLAR, 2008). O funcional WB97X foi utilizado com a inclusão de correção dispersão D3, proposta por Grimme e colaboradores (GRIMME *et al.*, 2010), juntamente com o amortecimento Becke-Johnson (BJ) (GRIMME, S. EHRlich, 2011) D3BJ.

Por ter sido o que apresentou um melhor resultado, na descrição do espectro de absorção experimental, o funcional meta-GGA TPSSh foi empregado nos cálculos de energia no ponto, envolvidos nos estudos da fotofísica, e nos cálculos de espectro, nos estudos da interação do DNA com o fotossensibilizador. Em contrapartida, os cálculos de energia livre, com consideração do solvente, envolvidos no estudo da termodinâmica das reações do fotossensibilizador no estado excitado tripleto, utilizaram o funcional M06-2X (ZHAO; TRUHLAR, 2008), que pela literatura é mais adequado para esse propósito (MARDIROSSIAN; HEAD-GORDON, 2016).

A fotofísica do TH9402 foi investigada, calculando-se o tempo de vida de fluorescência e a taxa de cruzamento entre sistemas (k_{isc}). Como visto na sessão 2.7, a obtenção da k_{isc} envolve o cálculo do acoplamento *spin* órbita. Como sugerido e implementado por De Souza e colaboradores (DE SOUZA *et al.*, 2019), o operador de acoplamento *spin* órbita, SOC, foi avaliado, usando-se a teoria de perturbação quase-degenerada (QDPT) (SUZUKI; OKAMOTO, 1984) para calcular a mistura entre os singletos e tripletos obtidos dos cálculos TDDFT. A matriz de elementos de acoplamento *spin* órbita foi calculada empregando-se a função de base def2-TZVP, para todos os átomos e considerando todos os elétrons. O formalismo da aproximação regular de ordem zero (ZORA) foi aplicado para tratar os efeitos escalares relativísticos (SNIJDERS, 1996). Além disso, os efeitos do solvente foram incluídos com a

utilização do modelo contínuo CPCM. A constante de cruzamento entre sistemas foi calculada utilizando-se as Equações 43 e 44, descrita na seção 2.7, p.38.

O tempo de vida de fluorescência foi calculado, primeiramente, assumindo-se uma cinética de primeira ordem, para o processo de emissão espontânea do estado n para o estado m , de acordo com a Equação 48 (V. LAWETZ, G. ORLANDI, 1972)

$$\frac{dN_n}{dt} = -N_n A_{nm} \quad (\text{Equação 48})$$

onde A_{nm} é o coeficiente de Einstein e N_n é a população no estado n . O coeficiente de Einstein está relacionado com o momento de dipolo da transição de acordo com a Equação 49 (V. LAWETZ, G. ORLANDI, 1972)

$$A_{nm} = \frac{(E_n - E_m)^3 \eta^2}{3\epsilon_0 \pi \hbar^4 c^3} |\mu_{nm}|^2 \quad (\text{Equação 49})$$

E_n e E_m são as energias do estado excitado n e do estado de referência m , respectivamente. μ_{nm} é o momento de dipolo da transição envolvendo os dois estados e η é o índice de refração do meio (HOLLAS, 2010). O tempo de vida de fluorescência é obtido como o inverso da constante de taxa de fluorescência (coeficiente de Einstein).

Além disso, as constantes de fluorescência e de cruzamento entre sistemas também foram calculadas empregando-se o método de integral de caminho, implementado no programa ORCA. As Hessianas foram calculadas em nível B3LYP/def2-SVP, partindo-se das geometrias otimizadas das espécies em nível B3LYP/def2-TZVP. As constantes de fluorescência e de cruzamento entre sistemas foram obtidas em nível TPSSH/def2-TZVP.

Os estudos de interação entre o fotossensibilizador e o DNA fizeram uso de *docking* molecular. O objetivo do presente trabalho foi realizar um estudo, preliminar, sobre efeitos locais que a intercalação do TH9402, entre pares de bases do DNA, pode ocasionar, caso ocorra.

A estrutura do DNA escolhida para o *docking* foi o octanucleotídeo d(AGACGTCT)₂. Tal estrutura foi obtida do *protein data base* (PDB), na forma B-DNA, (PDB ID: 1n37), sendo proveniente de estudos de ressonância magnética nuclear (RMN) (SEARLE; MAYNARD; WILLIAMS, 2003). Admitiu-se a estrutura inicial do DNA como equilibrada. Após a remoção do ligante Antraciclina Respinomicina D, presente no sistema advindo do PBD, realizou-se o *docking* da estrutura do DNA com a estrutura otimizada do TH9402 no estado fundamental, resultante dos cálculos em nível B3LYP/def2-TZVP.

O *docking* foi realizado utilizando-se o *software* GOLD 5.8.1 e empregou a *Gold Score function* (JONES *et al.*, 1997), que em outros estudos apresentou boas previsões de estruturas de complexos envolvendo ligantes e DNA. No cálculo, empregaram-se os parâmetros padrão do programa. Durante o cálculo, o ligante foi considerado totalmente flexível, sendo livre para explorar todas as formas de interação com o DNA, e a estrutura da macromolécula manteve-se fixa, na ausência de solvente.

O sítio de ligação foi definido como a região esférica com raio de 20 Å, a partir do centro, definido no átomo N110. Foram geradas 100 poses. Dentre elas, observaram-se intercalações do TH9402 no DNA de três maneiras distintas. Escolheram-se, então, as estruturas mais estáveis de cada um dos três grupos para serem empregadas nos cálculos posteriores.

Com o intuito de se diminuir o custo computacional da otimização de geometria dos complexos TH9402@DNA, os cálculos foram feitos empregando-se quatro pares de base do DNA d(ApT)-d(CpG)-d(GpC)-d(TpA), os dois envolvidos na intercalação e os pares diretamente acima e abaixo deles. Átomos de hidrogênio foram adicionados, completando a valência das ligações rompidas no processo de deleção das bases não utilizadas.

Foram colocados seis átomos isolados de lítio, com a função de contra íons, para neutralizar os seis grupos fosfatos da estrutura do DNA. Escolheu-se o lítio, visto que apresenta menor quantidade de elétrons do que outros íons metálicos monovalentes. Os átomos de lítio foram colocados inicialmente em posições próximas aos grupos fosfatos, em distâncias entre 7 a 12 Å do centro do complexo. Essa disposição foi baseada no estudo de distribuição de contra íons, obtida por cálculos de dinâmica do complexo de Antraquinona/DNA, realizado por Cárdenas e Nogueira (CÁRDENAS; NOGUEIRA, 2020). Os átomos de lítio participaram da otimização de geometria do complexo realizada.

O sistema resultante foi otimizado em nível PBE/SV(P) (PERDEW; BURKE; ERNZERHOF, 1996), empregando-se a abordagem de resolução de identidade, com inclusão de correção de dispersão D3 (GRIMME *et al.*, 2010) e amortecimento (BJ) (GRIMME, S. EHRLICH, 2011), D3BJ. Na otimização de geometria, mantiveram-se fixas as cadeias de açúcares e fosfatos do DNA, de modo a facilitar a convergência do cálculo. Os demais átomos da estrutura do DNA, presentes nas bases nitrogenadas, e da estrutura do ligante permaneceram livres. Os efeitos eletrostáticos do solvente foram considerados, durante a otimização, pelo emprego do modelo CPCM contínuo.

As estruturas dos complexos otimizados foram empregadas nos cálculos de espectro de absorção em nível TPSSh/def2-SVP. Os cálculos foram realizados utilizando-se uma estrutura

reduzida, com dois pares de bases d(CpG)-d(GpC), apenas os envolvidos na intercalação, de modo a se avaliar os efeitos locais da interação do fotossensibilizador com o DNA, tendo um menor custo computacional.

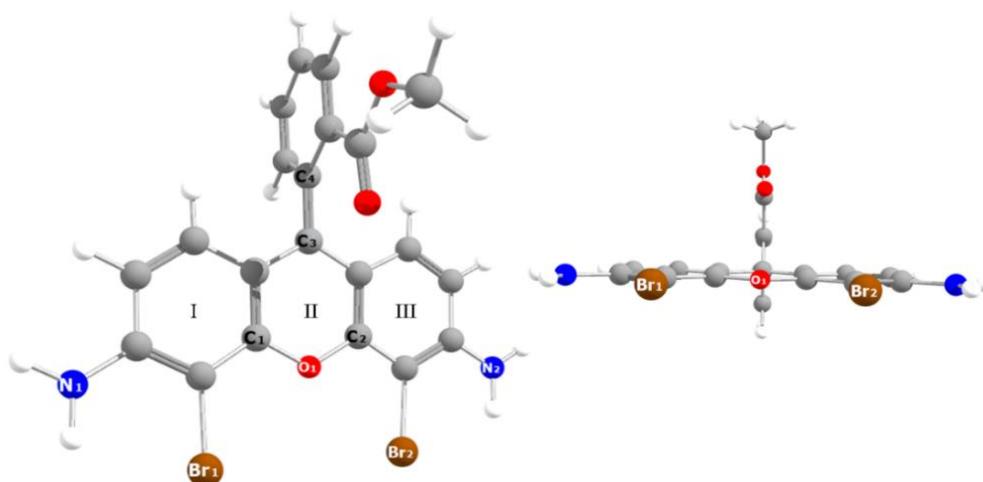
Todos os cálculos de mecânica quântica realizados nesse trabalho utilizaram os pacotes do programa ORCA 4.2.1(NEESE, 2012).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estrutura do fotossensibilizador

O estado fundamental do TH9402 foi otimizado em fase gasosa em nível B3LYP/def2-TZVP. A estrutura obtida é mostrada na Figura 6.

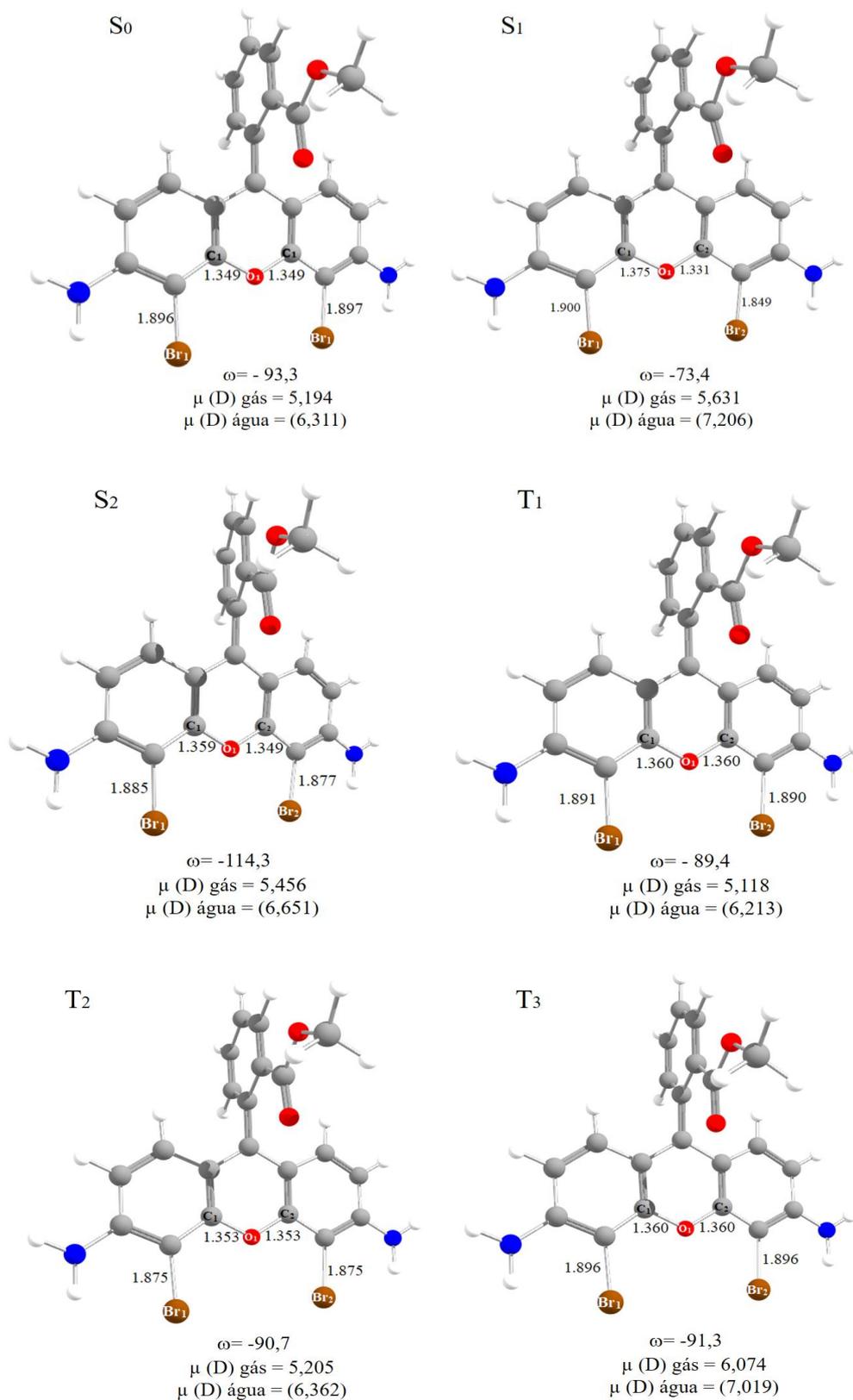
Figura 6. Geometria otimizada do TH9402 no estado fundamental (S_0), calculado em nível B3LYP/def2-TZVP



^aPara fins de simplificação, a porção da molécula formada pelos anéis identificados como I, II e III será denominada xanteno ao longo do texto. O outro anel, no qual se liga o grupo éster, será denominado metil benzoato. Fonte: Própria autora. Imagem gerada utilizando-se o programa ChemCraft.

Compararam-se as estruturas otimizadas, em nível TDA/B3LYP/def2-TZVP, do fotossensibilizador nos estados excitados (S_1 , S_2 , T_1 , T_2 e T_3) e no estado fundamental. Avaliaram-se as modificações das distâncias de ligações, as alterações no ângulo diedro (ω) entre os anéis do grupo xanteno e metil benzoato, bem como possíveis mudanças no momento de dipolo (μ) das estruturas. Os resultados foram expressos na Figura 7.

Figura 7. Principais parâmetros estruturais calculados para os estados fundamental e excitados do TH9402^a



^aCalculado em fase gasosa em nível B3LYP/def2-TZVP. ^bValores entre parênteses foram obtidos em solução aquosa usando modelo contínuo, CPCM, em nível TPSSh/def2-TZVP. As distâncias de ligação estão expressas em Å e os ângulos das ligações em graus.

Fonte: Própria autora. Imagem gerada utilizando-se o programa ChemCraft.

Analisando-se os dados da Figura 7, foi possível perceber que a estrutura do TH9402 não sofreu grandes alterações ao passar do estado fundamental para os excitados, sendo, portanto, relativamente rígida. As principais alterações estruturais ocorreram nos valores dos ângulos diedros entre os planos dos anéis do grupo xanteno e do grupo metil benzoato.

Para o S_0 , T_1 , T_2 e T_3 têm-se $\omega = -93.3^\circ$, -89.4° , -90.7° -91.3° , respectivamente. Nessas espécies, os planos entre os anéis são praticamente perpendiculares um ao outro. Para o estado S_1 , entretanto, a orientação relativa do anel ($\omega = -73.4^\circ$) é aproximadamente 20° mais fechada do que o S_0 . Já para o S_2 observou-se que a orientação ($\omega = -114.3^\circ$) é 21° mais aberta que a do estado fundamental.

Avaliando-se os dados dos estados S_1 e S_2 , observou-se que os comprimentos das duas ligações C-O diferem entre si, bem como os das duas ligações C-Br. Houve, portanto, uma ligeira quebra de simetria na estrutura do TH9402 nesses dois estados excitados.

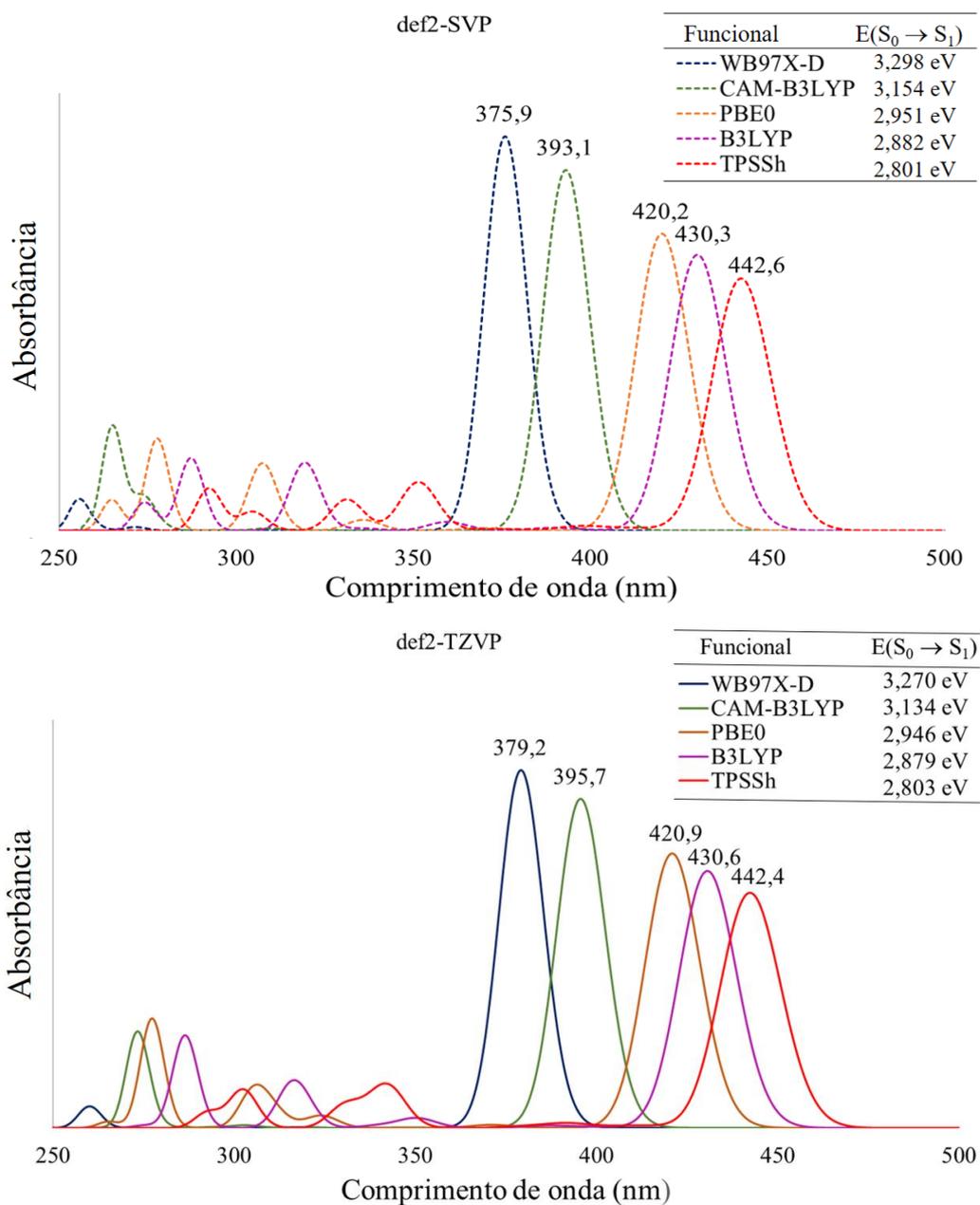
Quando se observou os valores de momento de dipolo, percebeu-se que eles não variaram expressivamente. Isso significa dizer que, apesar das alterações estruturais mencionadas terem sido observadas, elas não afetaram a polarizabilidade da molécula nos diferentes estados eletrônicos.

4.2 Espectro de absorção do fotossensibilizador isolado

Um estudo comparativo, com cinco funcionais de troca-correlação foi realizado com o intuito de se encontrar a melhor metodologia para se reproduzir o espectro de absorção do fotossensibilizador.

Como pode ser visto na Figura 8, os cálculos empregaram duas funções de base distintas, def2-SV(P) e def2-TZVP. Um dos objetivos do trabalho foi investigar tanto o espectro de absorção do fotossensibilizador isolado, quanto o do composto interagindo com o DNA. Tendo-se em mente que o complexo TH9402@DNA apresenta um número elevado de átomos, tornou-se interessante avaliar se cálculos utilizando uma função de base menor retornariam resultados comparáveis aos que utilizam uma base maior.

Figura 8. Resultados dos cálculos TD-DFT, referentes à principal transição ($S_0 \rightarrow S_1$) do espectro de absorção do 4,5-dibromorodamina metil éster (TH9402), em solução aquosa.



Fonte: Própria autora. Imagem gerada utilizando-se o programa Excel 2016.

Os dados apresentados na Figura 8 mostraram que, comparando-se os cálculos feitos com um mesmo funcional, o emprego das bases def2-SV(P) e def2-TZVP, retornou resultados muito próximos, com uma diferença menor que 1% em todos os casos. A partir de tais resultados, portanto, a base def2-SV(P) foi considerada adequada para ser aplicada no cálculo do espectro de absorção do complexo TH9402@DNA, reduzindo os custos computacionais do procedimento.

Os valores experimentais de energia de transição e comprimento de onda de absorção máxima (504,0 nm) foram obtidos do trabalho realizado por Pal e colaboradores (PAL *et al.*, 1996). Em relação às energias envolvidas na transição principal $S_0 \rightarrow S_1$, os valores calculados foram superestimados em relação ao valor experimental de 2,460 eV. Esse desacordo foi atribuído à não inclusão de excitações duplas nos cálculos.

A fim de se verificar tal afirmação, realizaram-se os cálculos de espectros de absorção do TH9402, partindo-se da geometria otimizada do estado fundamental, empregando-se o método CIS do inglês (*Configuration Interaction Singles*) (FORESMAN *et al.*, 1992), CIS(D) (*Configuration Interaction Singles with double corrections*) (SHERRILL; SCHAEFER, 1999) e o STEOM-DLPNO-CCSD (*Similarity Transformed Equation Of Motion Domain-based Local Pair Natural Orbital Coupled Cluster Single and Double perturbation*) (BERRAUD-PACHE *et al.*, 2020). Avaliaram-se os valores de energia de transição obtidos para cada um dos casos.

O cálculo CIS, empregando a base def2-TZVP, retornou o valor 3,966 eV como energia envolvida na transição principal. Obteve-se com o CIS(D), utilizando-se o mesmo conjunto de função de base, o valor de 2,683 eV. Já o cálculo realizado empregando-se STEOM-DLPNO-CCSD retornou 2,363 eV, este utilizando a base def2-SV(P). O cálculo STEOM-DLPNO-CCSD apresenta bastante demanda computacional e, por esse motivo, foi realizado com a base def2-SV(P).

Sabendo-se que o valor experimental de energia da transição principal é 2,460 eV, pode-se dizer que o resultado, proveniente do cálculo CIS, foi o que mais diferiu do experimental, sendo 1,506 eV maior. A inserção de excitações duplas, no caso do CIS(D) melhorou o resultado, que foi apenas 0,223 eV maior. Observou-se, portanto, uma redução de 85% na diferença de energia em relação ao valor experimental, ao se trocar o método CIS pelo CIS(D). O resultado advindo do cálculo empregando STEOM-DLPNO-CCSD foi o que mais se aproximou do valor experimental, diferindo em apenas 0,097 eV.

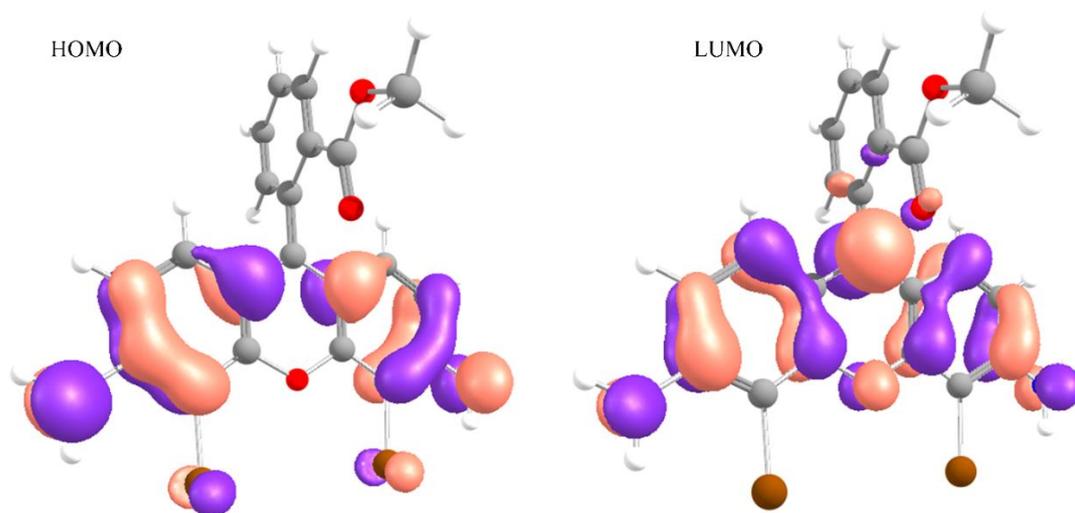
A partir de tais resultados, pode-se concluir que os métodos, que incluem excitações duplas reproduzem melhor, os dados experimentais da energia de excitação, do que os métodos com excitações simples. Sendo assim, os valores de energia de transição superestimados, descritos na Figura 8, podem ser justificados pela falta de inclusão de excitações duplas.

Nesse sentido, funcionais de troca-correlação com correções perturbativas de segunda ordem para a correlação eletrônica, poderiam melhorar a concordância dos resultados. Porém, devido ao tamanho do sistema estudado, complexo TH9402@DNA, o uso de tais métodos tornou-se computacionalmente inviável.

Seguindo, portanto, com a metodologia que emprega excitações simples, a Figura 8 mostrou que os cálculos, nos quais foram utilizados os funcionais com correção de dispersão WB97X-D e CAM-B3LYP, apresentaram a pior concordância com o valor de comprimento de onda de absorção máxima experimental. Nesse contexto, os cálculos com o funcional híbrido meta-GGA TPSSh foram os que retornaram valores mais próximos aos da literatura. Sendo assim, o funcional TPSSh foi selecionado para ser utilizado nos cálculos dos estudos espectroscópicos.

A transição principal, que apresenta maior intensidade, no espectro de absorção do TH9402 é a $S_0 \rightarrow S_1$ e envolve os orbitais HOMO e LUMO (Figura 9).

Figura 9. Orbitais moleculares envolvidos na transição principal ($S_0 \rightarrow S_1$) do TH9402, calculado em solução aquosa em nível TPSSh/Def2-TZVP .

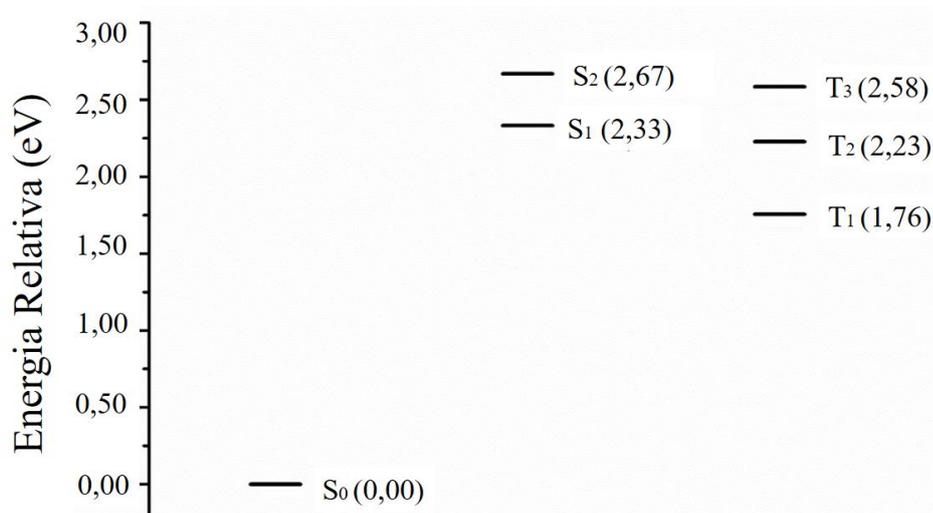


Fonte: Própria autora. Imagem gerada utilizando-se o programa ChemCraft.

Como pode ser observado na Figura 9, o orbital HOMO é composto por orbitais do tipo π localizados nos anéis da região xanteno da molécula e orbitais não ligantes localizados nos átomos de bromo e nitrogênio. Já o orbital LUMO é formado por orbitais antiligantes do tipo π^* , localizados na região xanteno.

Antes da realização dos cálculos dos estudos fotofísicos, analisou-se o diagrama de energia dos estados, obtidas por meio de cálculos no ponto em nível TPSSh/def2-TZVP, em solução aquosa, na geometria otimizada das estruturas em nível B3LYP/def2-TZVP (Figura 10).

Figura 10. Diagrama de energia referente ao TH9402, mostrando as energias dos estados excitados otimizados, singletos e tripletos, em relação à energia do estado fundamental S_0^a



^aAs energias relativas foram expressas em unidade de eV e foram calculadas em solução aquosa em nível TPSSh/Def2-TZVP// B3LYP/Def2-TZVP. A energia total do estado S_0 é -171240,65749 eV.

Fonte: Própria autora. Imagem gerada utilizando-se o programa Excel 2016.

Os espectros de absorção mostraram que a transição $S_0 \rightarrow S_1$ é a mais favorável de se ocorrer. O estado S_1 é, portanto, denominado *bright state*, já que é o mais favorável de ser ocupado. Entretanto a possibilidade de ocorrência de transição eletrônica do estado S_1 para o S_2 existe.

Como pode ser visto na Figura 10, a diferença de energia entre os estados S_2 e S_1 é de 0,34 eV. Na região de Franck Condon o *gap* de energia entre os estados S_2 e S_1 é de apenas 0,031 eV. Essa diferença é menor do que a de alguns casos descritos na literatura, nos quais a transição $S_1 \rightarrow S_2$ foi observada. Francés-Monerris e colaboradores, por exemplo, em estudo com 5-formiluracila, observaram uma pequena transferência eletrônica do estado S_1 para o S_2 , em um contexto no qual a diferença energética entre os estados era maior que 1 eV (FRANCÉS-MONERRIS *et al.*, 2020). Isso corrobora a possibilidade de ocupação do estado S_2 , que foi considerada nos cálculos referentes à fotofísica do composto.

O diagrama da Figura 10 mostra, também, que os estados tripletos (T_1, T_2) apresentaram energias inferiores ao primeiro estado excitado singlete (S_1) e o terceiro estado tripleto apresentou energia inferior à do segundo estado singlete (S_2). Desse modo, tornou-se interessante a investigação do cruzamento entre sistemas relacionados às transições $S_1 \rightarrow T_1$, $S_1 \rightarrow T_2$, $S_2 \rightarrow T_1$, $S_2 \rightarrow T_2$ e $S_2 \rightarrow T_3$.

A Tabela 1 mostra os resultados obtidos, por meios dos cálculos em nível TPSSh/def2-TZVP//B3LYP-def2-TZVP, para a constante de cruzamento entre sistemas k_{ISC} .

Tabela 1. Resultados referentes ao estudo da fosforescência do 4,5-dibromorodamina metil éster (TH9402) em nível TPSSh/def2-TZVP//B3LYP/def2-TZVP, em solução aquosa.

	S_1		S_2		
	T_1	T_2	T_1	T_2	T_3
λ_M (eV)	0,168	0,145	0,036	-0,415	0,128
SOC (cm^{-1})	0,270	0,673	0,224	0,678	1,300
ΔE_{S-T} (eV)	-0,576	-0,105	-0,911	-0,441	-0,083
ρ_{FC} (eV^{-1})	$2,95 \times 10^{-4}$	4,141	$\sim 0,0$	-	4,208
k_{ISC} (s^{-1})	$3,16 \times 10^3$	$27,5 \times 10^7$	$\sim 0,0$	-	$1,04 \times 10^9$
	$(2,28 \times 10^6)^a$	$(9,87 \times 10^7)$	$(1,18 \times 10^5)$	$(2,93 \times 10^8)$	$(5,99 \times 10^8)$
k_{ISC} total (s^{-1})	$27,5 \times 10^7$			$1,04 \times 10^9$	
	$(10,1 \times 10^7)$			$(0,89 \times 10^9)$	
			$(16 \times 10^7)^b$		

^aResultados entre parênteses foram obtidos empregando-se o formalismo de integral de caminho. ^bValor experimental obtido do trabalho de Pal e colaboradores (PAL *et al.*, 1996)

Fonte: Própria autora

Analisando-se os resultados das constantes totais de cruzamento entre sistemas, apresentadas na Tabela 1, observou-se que, independentemente da abordagem empregada, as constantes totais envolvendo o primeiro estado singleto, apresentam valores mais próximos do dado experimental, do que as constantes totais envolvendo o segundo estado singleto. Desse modo, entende-se que a transição mais provável de ocorrer terá origem no estado S_1 . O cálculo empregando a regra de Fermi combinada com a teoria de Marcus resultou em uma constante de cruzamento total entre sistemas, envolvendo o estado S_1 , igual a $27,5 \times 10^7 s^{-1}$. O cálculo análogo, realizado utilizando-se a abordagem da integral de caminho obteve, um valor de $10,1 \times 10^7 s^{-1}$ para a constante de cruzamento total. Portanto, a abordagem de integral de caminho é a que resultou em um valor de constante total que descreveu melhor o dado experimental. Sendo assim, as discussões serão realizadas a partir dos resultados obtidos com o emprego dessa abordagem.

Embora mais distante do valor experimental, a constante total de cruzamento com origem no S_2 ($0,89 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$) apresenta valor aproximadamente 10 vezes maior do que a com origem no estado S_1 ($10,1 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$). Com isso, entende-se que o cruzamento entre sistemas, com origem no estado S_1 , é o que se observa experimentalmente. Entretanto na situação em que o estado S_2 seja populado, o cruzamento com os estados tripletos será bastante provável.

As constantes totais de cruzamento entre sistemas foram obtidas pela soma das constantes de cruzamento entre cada um dos estados singletos com cada um dos estados tripletos. Observou-se na Tabela 1 que o cruzamento direto do estado S_2 com o estado T_1 é menos provável do que com os demais estados tripletos. Isso porque, a constante de cruzamento entre esses estados é na ordem de 10^3 vezes menor que as demais. A constante de cruzamento do segundo estado singlete com os estados T_2 e T_3 apresentam valores bastante próximos, $2,93 \times 10^8$ e $5,99 \times 10^8$, respectivamente. A partir desses resultados, porém, é possível estimar um favorecimento ao cruzamento com o estado T_3 . Sendo assim, espera-se que as transições com origem no estado S_2 passem pelo estado T_3 .

Em relação às transições com origem no estado S_1 , viu-se na Tabela 1 que o valor de k_{ISC} entre os estados S_1 e T_1 ($2,28 \times 10^6$) é menor que a constante de cruzamento entre os estados S_1 e T_2 ($9,87 \times 10^7$). Considerando os resultados obtidos, o caminho de desexcitação envolvendo a transição $S_1 \rightarrow T_2$ foi identificado como o de ocorrência mais provável.

Outro processo fotofísico estudado foi a fluorescência. Os resultados obtidos para a transição $S_1 \rightarrow S_0$, estudada em nível TPSSh/CPCM(água)/def2-TZVP, estão mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados em nível TPSSh/def2-TZVP para a fluorescência ($S_1 \rightarrow S_0$) do 4,5-dibromorodamina metil éster (TH9402), em solução aquosa

	TPSSh(CPCM)/Def2-TZVP	Experimental ^a
$\Delta E_{S_0-S_1}$ (eV)	2,332	-
$\lambda_{em.}$ (nm)	635,2	531,1
$f_{osc.}$ (a.u)	0,084092	-
$\mu^2(S_1 \rightarrow S_0)$ (a.u)	1,75846	-
k_F (s^{-1})	4,18 x 10 ⁷ (5,40 x 10 ⁷) ^b	21 x 10 ⁷
τ_F (ns)	23,9	1,6

^aValor experimental obtido do trabalho de Pal e colaboradores (PAL *et al.*, 1996). ^bCalculado utilizando-se o formalismo da integral de caminho.

Observa-se na Tabela 2, que o valor de k_F calculado foi $4,18 \times 10^7 s^{-1}$, empregando-se a regra de Fermi em combinação com a teoria de Marcus (Equação 49, seção 3, p.33). O valor de constante de fluorescência calculado utilizando-se a integral de caminho foi de $5,40 \times 10^7 s^{-1}$, valor bastante próximo ao obtido pela primeira abordagem mencionada.

O tempo de vida de fluorescência (τ_F) pôde ser calculado como o inverso da k_F . Sendo assim, o valor obtido para τ_F foi igual a 23,9 ns. Desejando-se, porém, comparar o tempo de vida de fluorescência teórico com o experimental, foi necessário considerar processos não radiativos (nr) e de conversões internas (ic) no cálculo da τ_F , já que tais processos são concorrentes ao de fluorescência em um contexto real. A constante experimental referente aos processos não radiativos é $40,2 \times 10^7 s^{-1}$ (PAL *et al.*, 1996). O tempo de vida de fluorescência foi calculado como sendo,

$$\tau_F = \frac{1}{k_F + k_{nr}} \quad (\text{Equação 50})$$

o valor calculado para τ_F foi de 2,2 ns, para ambas as abordagens. Esse valor apresentou boa concordância com o valor experimental, de 1,6 ns.

Nesse contexto, as duas abordagens descritas permitiram a obtenção das propriedades fotofísicas do fotossensibilizador. Nos cálculos das constantes de fluorescência, ambas resultaram em valores bastante próximos. Por outro lado, o método empregando a integral de caminho apresentou melhor desempenho, no cálculo das constantes de cruzamento entre

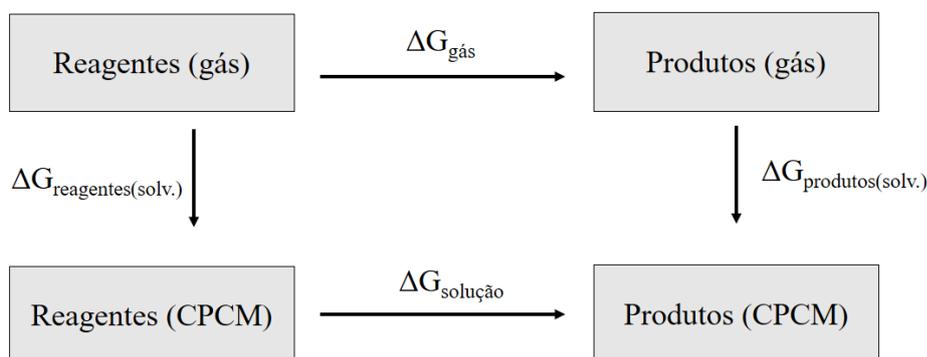
sistemas, do que a regra de ouro de Fermi combinada com a teoria de Marcus. Uma possível justificativa para isso, é o emprego da aproximação de quatro pontos, menos precisa, na obtenção da energia de reorganização, Equação 45, empregada nesta segunda abordagem.

4.3 Termodinâmica das reações do fotossensibilizador no estado tripleto

Como explicado na seção 2.3 do presente trabalho, uma vez estando no estado excitado tripleto, o fotossensibilizador pode reagir, pelos mecanismos do Tipo I e II, com o oxigênio molecular e demais moléculas do meio.

Nesse contexto, decidiu-se estudar reações entre o TH9402, no estado tripleto, com diferentes compostos, para avaliar quais delas seriam termodinamicamente favoráveis de acontecer. Para isso, calcularam-se os valores de energia livre das reações, levando-se em consideração a solvatação das espécies pelo modelo contínuo CPCM, utilizando-se o conceito de ciclo termodinâmico (Figura 11).

Figura 11. Esquema do ciclo termodinâmico



Fonte: Própria autora

Desse modo, o valor de energia livre em solução ($\Delta G_{\text{solução}}$) das reações foi calculado utilizando-se a Equação 51,

$$\Delta G_{\text{solução}} = \Delta G_{\text{gás}} + \Delta \Delta G_{\text{solv.}} \quad (\text{Equação 51})$$

onde $\Delta G_{\text{gás}}$ é a variação da energia livre da reação em fase gasosa obtida para as geometrias otimizadas dos compostos em nível B3LYP/def2-TZVP, por meio do cálculo de frequência harmônica, aplicando-se a aproximação oscilador harmônico-rotor rígido. Já o termo $\Delta \Delta G_{\text{solv.}}$, representa a variação da energia livre de solvatação entre os produtos e reagentes. Esses valores foram obtidos de cálculos de energia no ponto em fase aquosa, nas geometrias otimizadas

advindas dos cálculos em fase gasosa. O valor de variação de energia livre em solução ($\Delta G_{solução}$), portanto, pode ser calculado a partir da energia livre do sistema em fase gasosa ($\Delta G_{gás}$) somada à parcela de energia livre envolvida na solvatação ($\Delta\Delta G_{solv.}$).

Os cálculos foram feitos em solução aquosa utilizando-se o modelo contínuo SMD (*solvation model density*). O SMD é considerado universal, pois pode ser aplicado para solutos neutros ou carregados e em qualquer solvente ou meio líquido para os quais se conheça descritores como: constante dielétrica, índice de refração, acidez e basicidade, por exemplo. Os cálculos de energia no ponto, em solução aquosa, empregaram o funcional M06-2X.

Estudaram-se reações de transferência de carga e transferência de energia entre o fotossensibilizador no primeiro estado excitado tripleto ($^3PS^+$) e os demais compostos. Como moléculas alvos, utilizaram-se o oxigênio molecular (3O_2), óxido nítrico ($^2NO^\bullet$), guanina (*GUA*) e guanosina monofosfato (*GMP*). Nesse contexto, vale a pena ser dito que se utilizou a estrutura negativa e duplamente carregada (GMP^{2-}), visto que, em pH biológico, o grupo fosfato do composto encontra-se completamente desprotonado (GARCÍA *et al.*, 2015). Apesar disso, realizaram-se cálculos considerando, também, a estrutura monoprotonada da guanosina monofosfato ($HGMP^-$) de modo a simular a carga formal, monovalente negativa, do grupo fosfato na estrutura de dupla fita do DNA.

Um total de treze reações foram avaliadas. As primeiras sete reações, descritas na Tabela 3, envolvem a transferência de elétron. O fotossensibilizador no estado excitado tripleto doa elétron para as moléculas alvo, formando a espécie ($^2PS^{\bullet 2+}$). As reações 8 e 9 também são reações de transferência de elétron, porém que ocorrem das espécies de *GMP* para o $^3PS^+$, resultando na formação da espécie duplete $^2PS^0$. As quatro últimas reações, descritas na Tabela 3, são de transferência de energia do tipo tripleto-triplete, nas quais o fotossensibilizador é desativado e retorna para o estado fundamental $^1PS^+(S_0)$.

Analisando-se os resultados apresentados na Tabela 3, viu-se que apenas as reações 8, 9, 10 e 12 foram termodinamicamente favoráveis, visto que os valores negativos de energia livre podem ser interpretados como processos espontâneos. Pela avaliação da termodinâmica, a ocorrência das demais reações mostrou-se desfavorável. Uma justificativa para isso é o fato da espécie duplete do fotossensibilizador ($^2PS^{\bullet 2+}$) ser bastante instável em água.

Tabela 3. Resultados da termoquímica das reações envolvendo o primeiro estado excitado tripleto do 4,5-dibromorodamina metil éster (TH9402) em solução aquosa

	Reação	ΔG_{sol} (kcal.mol ⁻¹) ^a
1	${}^3PS^+ + {}^3O_2 \rightarrow {}^2PS^{*2+} + {}^2O_2^{\bullet-}$	52,0
2	${}^3PS^+ + {}^2NO^{\bullet} \rightarrow {}^2PS^{*2+} + {}^3NO^-$	20,8
3	${}^3PS^+ + {}^2NO^{\bullet} \rightarrow {}^2PS^{*2+} + {}^1NO^-$	95,6
4	${}^3PS^+ + GUA \rightarrow {}^2PS^{*2+} + {}^2GUA^{\bullet-}$	65,2
5	${}^3PS^+ + GMP^{2-} \rightarrow {}^2PS^{*2+} + {}^2GMP^{3-}$	70,5
6	${}^3PS^+ + {}^1PS^+(S_0) \rightarrow {}^2PS^{*2+} + {}^2PS^{\bullet}$	13,9
7	${}^3PS^+ + HGMP^- \rightarrow {}^2PS^{*2+} + {}^2HGMP^{\bullet 2-}$	66,5
8	${}^3PS^+ + GMP^{2-} \rightarrow {}^2GMP^- + {}^2PS^0$	-129,1
9	${}^3PS^+ + HGMP^- \rightarrow {}^2HGMP^{\bullet} + {}^2PS^0$	-11,1
10	${}^3PS^+ + {}^3O_2 \rightarrow {}^1PS^+(S_0) + {}^1O_2$	-2,0
11	${}^3PS^+ + GUA \rightarrow {}^1PS^+(S_0) + {}^3GUA$	34,5
12	${}^3PS^+ + GMP^{2-} \rightarrow {}^1PS^+(S_0) + {}^3GMP^{2-}$	-24,0
13	${}^3PS^+ + HGMP^- \rightarrow {}^3HGMP^- + {}^1PS^+(S_0)$	36,1

^a ΔG_{sol} é a energia livre da reação em solução obtida em nível M06-2X-D3/Def2-TZVP/SMD(água)//B3LYP/Def2-TZVP. Todas as espécies de camada aberta foram tratadas com o formalismo não restrito de Kohn-Sham.

As reações 8 e 9 representam a transferência de carga do nucleotídeo Guanosina 5' monofosfato, totalmente desprotonado (GMP^{2-}) e monoprotonado ($HGMP^-$), respectivamente, para o fotossensibilizador no estado tripleto (${}^3PS^+$). Ambas as reações apresentaram valores de energia livre negativos, sendo o da reação 8, $\Delta G_{\text{sol}} = -129,1$ kcal/mol e o da reação 9, $\Delta G_{\text{sol}} = -11,1$ kcal/mol. Tais resultados indicam, que o processo foto-oxidação do DNA, promovido pela reação com o fotossensibilizador, pode ser uma possível forma de atuação do TH9402 na terapia fotodinâmica, pelo mecanismo do Tipo I.

As reações 10 e 12 representaram processos de transferência de energia que ocorrem pelo mecanismo Tipo II. Para a reação 10, que forma oxigênio singleto (1O_2) a energia livre encontrada foi -2,0 kcal/mol. A reação 12, apresentou energia livre ainda mais negativa (-24,0 kcal/mol), indicando que a reação de transferência de energia para a GMP^{2-} é ainda mais favorável. Entretanto a transferência de energia do ${}^3PS^+$ para a espécie $HGMP^-$ não foi termodinamicamente favorável, sugerindo que esse processo não ocorre, quando se considera a dupla fita do DNA.

O estudo termodinâmico realizado, analisando-se os valores de energia livre, permitiu inferir a respeito da espontaneidade das reações apresentadas. Entretanto, não contemplou a análise da cinética de tais reações. As reações podem, portanto, ocorrer, ou não, de maneira favorável cineticamente.

Os resultados mostraram, portanto, que o fotossensibilizador pode participar de reações de formação de oxigênio singlete, por processo de transferência de energia do tipo tripleto-triplete, bem como pode ser envolvido em processo foto-oxidativo do DNA, durante a terapia fotodinâmica.

Mostrou-se interessante a investigação dos efeitos que interação entre o TH9402 e o DNA pode ter na espectroscopia do PS. Os resultados encontram-se na próxima seção.

4.4 Resultados do docking molecular

Não houve a intenção de se classificar o fotossensibilizador quanto às formas de interação com o DNA (*groove binder*, intercalador ou *mixed*, no qual o ligante é parcialmente intercalado no DNA e as demais partes da estrutura interagem como *groove binders*), para isso precisariam ser realizados estudos adicionais, que fogem do escopo do presente trabalho. Como não há na literatura estudos definindo a interação do TH9402 com o DNA, escolheu-se estudar os efeitos locais no modo de interação intercalado, baseando-se nas características do fotossensibilizador.

Compostos intercaladores são bem descritos na literatura. Uma de suas principais características estruturais é a presença de heterociclo, em grupos cíclicos condensados planares. Tais grupos se intercalam entre os pares de bases do DNA e se mantêm estáveis por interações do tipo π - π *stacking* (ALEKSIĆ; KAPETANOVIĆ, 2014). Compostos com grupos tricíclicos catiônicos planares são potenciais ligantes intercaladores (WAINWRIGHT, 2015). Exemplos bastante conhecidos desses compostos são a Acridina (RUPAR *et al.*, 2018) e seus derivados, como a Amsacrine (FERGUSON; DENNY, 2007), que apresentam estrutura plana rígida composta por poli ciclos aromáticos condensados. Isso serviu como argumento inicial para a escolha do modo de interação a ser utilizado no presente trabalho.

Estudos realizados por McKnight e colaboradores (MCKNIGHT *et al.*, 2008) mostraram que fotossensibilizadores xantenos com heteroátomo calcogênio, podem interagir com o DNA como intercaladores, como *mixed* e como *groove binder*. O trabalho de Masum e colaboradores (MASUM *et al.*, 2014), apontou que a Rhodamine 123 interage com o DNA como *groove binder*, entretanto apresentaram resultados termodinâmicos compatíveis com os de compostos intercaladores. Por não haver estudo sobre os modos de interação do TH9402

com o DNA descritos na literatura e por haver trabalhos envolvendo compostos de estruturas similares que atuam como intercaladores, é razoável supor que o TH9402 possa se intercalar, mesmo que parcialmente, ao DNA. Sendo assim, assumiu-se o fotossensibilizador como ligante intercalador para a realização do *docking*.

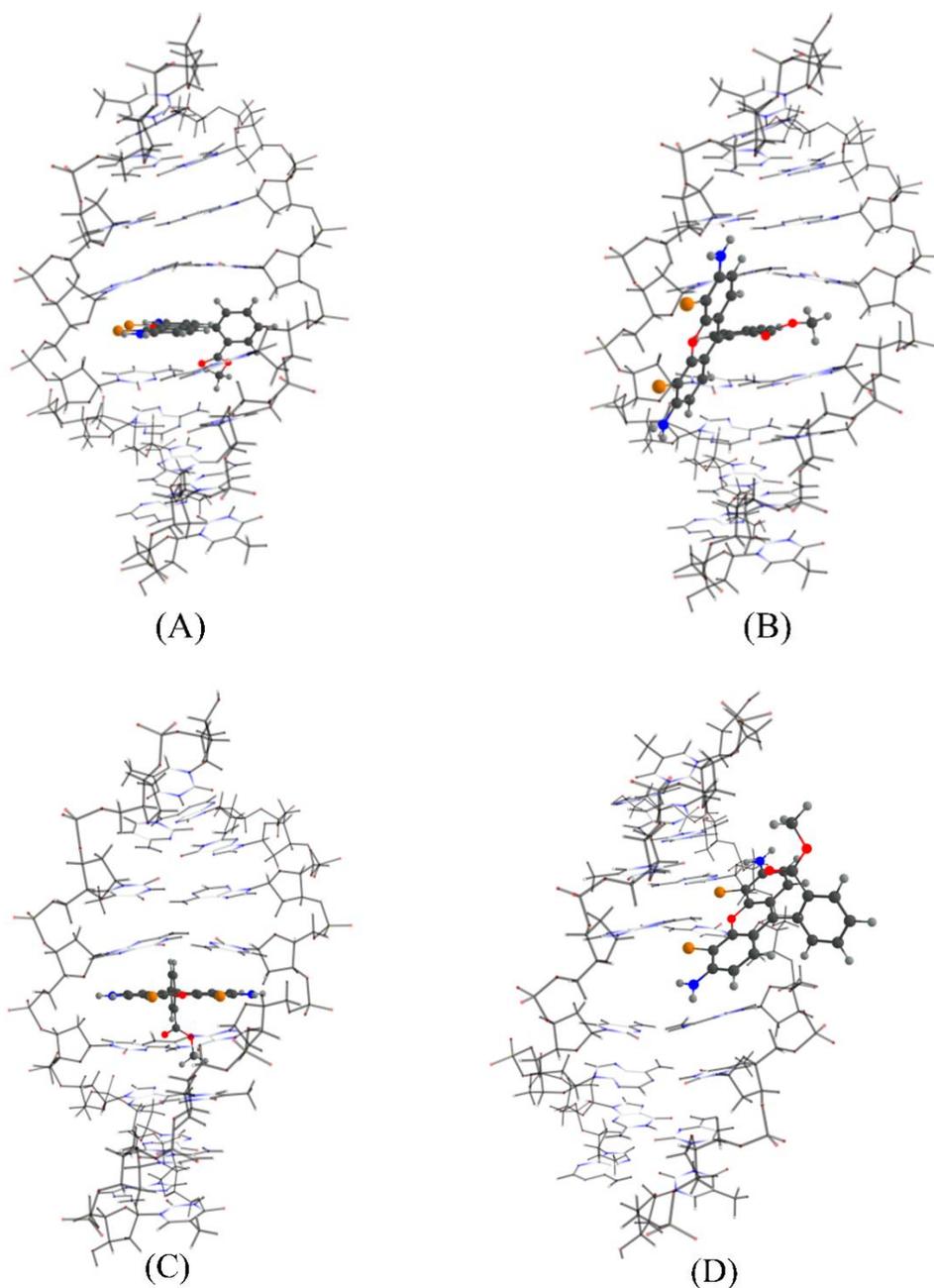
O *docking* realizado retornou estruturas possíveis para o complexo TH9402@DNA, as chamadas poses. Os resultados mostraram três configurações possíveis para o complexo. Foram geradas 100 poses durante o cálculo, sendo que em 45 delas o fotossensibilizador se intercala perpendicularmente às bases do DNA, pela porção xanteno de sua estrutura; em 39 das poses, a intercalação é feita pelo anel metil benzoato e em 16 delas a intercalação ocorre paralelamente, pela porção xanteno da estrutura.

Mesmo sem nenhuma restrição à busca por todos os modos de interação, inclusive no *groove* do DNA, o cálculo de *docking* retornou apenas estruturas intercaladas do TH9402 entre os pares de base d(GpC)-d(CpG) da macromolécula. Isso era esperado, visto que o espaço deixado pelo ligante, excluído do arquivo PDB, favorece a intercalação do fotossensibilizador.

O objetivo inicial, nessa etapa do trabalho, foi estudar os efeitos espectroscópicos ocasionados pela intercalação do TH9402 no DNA. Entretanto, no decorrer do trabalho, foi decidido realizar um teste preliminar, também, com uma estrutura do complexo TH9402@DNA, na qual o PS se apresentasse como *groove binder*, utilizando-se a mesma estrutura da macromolécula.

Como visto, o *docking* molecular resultou em conformações intercaladas. Sendo assim, para a realização do teste preliminar mencionado, alocou-se manualmente, considerando-se a posição de interação descrita por Masum e colaboradores, a molécula do TH9402 como *groove binder* na estrutura do octanucleotídeo d(AGACGTCT)₂. Os modos de interação obtidos a partir do *docking* molecular e também a configuração do TH9402 como *groove binder*, estão mostrados na Figura 12.

Figura 12. Modos de interação do fotossensibilizador e a estrutura do octanucleotídeo d(AGACGTCT)₂.



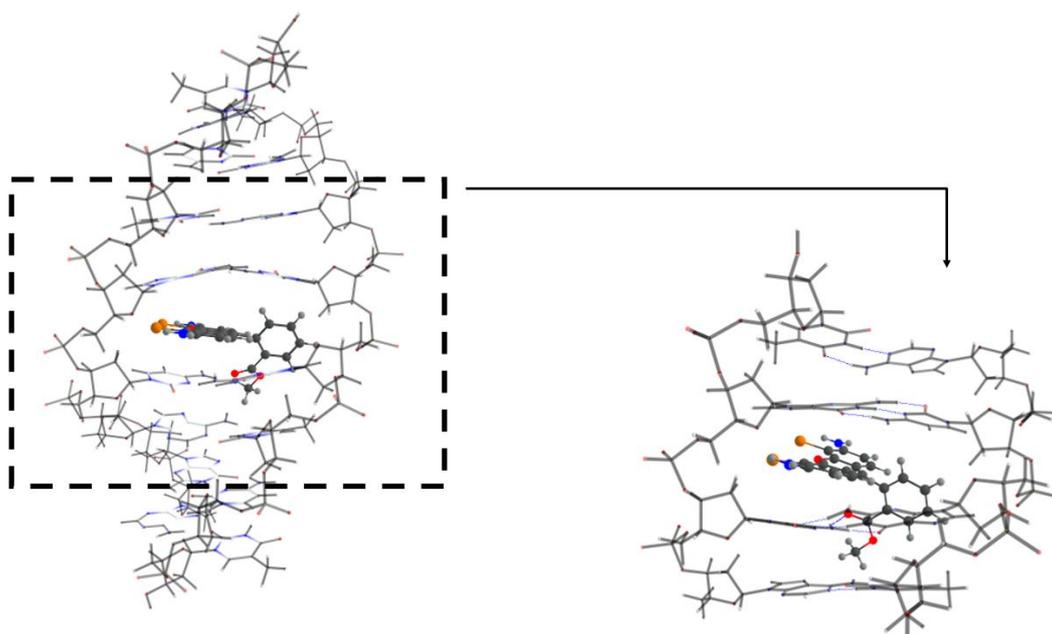
As estruturas mostradas de (A)-(C) foram obtidas a partir de cálculos de *docking* molecular. (A) intercalação do grupo xanteno do PS, perpendicularmente às bases do DNA. (B) intercalação do anel metil benzoato do PS, paralelamente às bases do DNA. (C) intercalação do grupo xanteno do PS, paralelamente às bases do DNA. (D) Estrutura com o TH9402 alocado como *groove binder*.

Fonte: Própria autora. Imagem gerada utilizando-se os programas Gold 5.8.1 e ChemCraft.

Dentre cada um dos três tipos de configuração obtidos com o *docking*, escolheram-se as estruturas mais estáveis, de acordo com o ranqueamento realizado pela função de *scoring*, para a realização dos cálculos de otimização. A estrutura com *groove binder* também foi otimizada em nível DFT.

A fim de se diminuir o custo computacional da otimização da geometria, os cálculos foram feitos utilizando-se uma estrutura reduzida, com quatro pares de bases do DNA, d(ApT)-d(CpG)-d(GpC)-d(TpA). Átomos de hidrogênio foram adicionados para completar as valências das ligações, que foram rompidas durante o corte das estruturas dos complexos. A Figura 13 mostra o esquema para a obtenção da estrutura, a ser utilizada no cálculo de otimização de geometria.

Figura 13. À esquerda, apresenta-se a estrutura advinda do *docking*, com os oito pares de base d(AGACGTCT)₂. À direita, tem-se a estrutura reduzida do complexo TH9402-DNA, com os quatro pares de base d(ApT)-d(CpG)-d(GpC)-d(TpA), otimizada em nível PBE/SV(P).



Fonte: Própria autora. Imagem gerada utilizando-se os programas Gold 5.8.1 e ChemCraft.

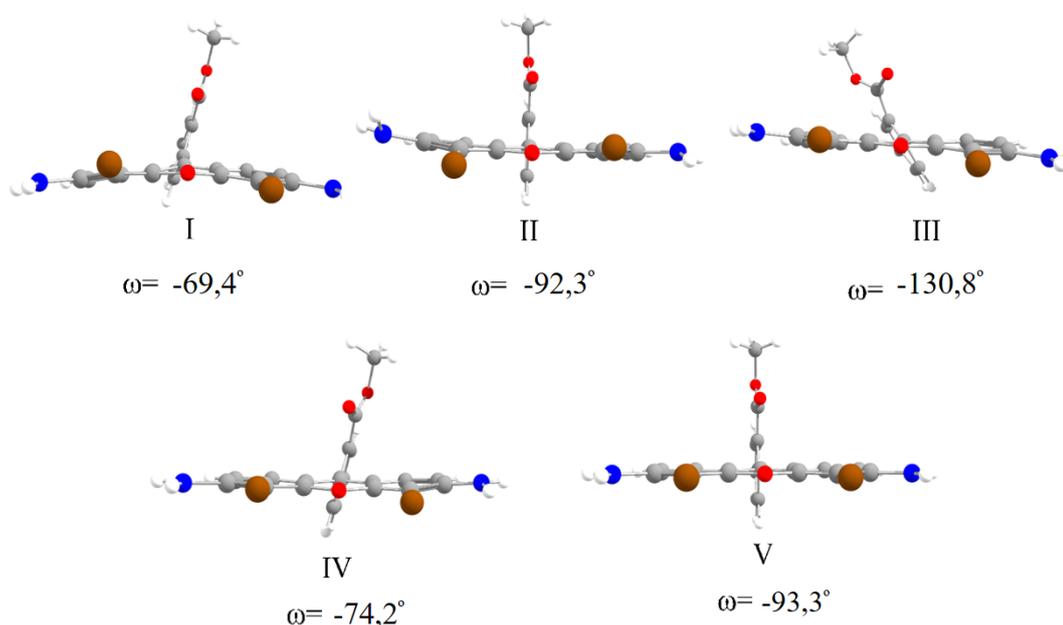
Ainda no preparo das estruturas para os cálculos de otimização de geometria, após o corte, foram adicionados átomos de lítio, com a função de contra íons, para neutralizar cada um dos seis grupos fosfatos.

Cálculos de otimização envolvendo DNA e complexos ligante@DNA não são triviais, visto que o sistema apresenta um grande número de átomos, uma cadeia de grupos fosfatos negativamente carregados, além da necessidade de se considerar o meio aquoso no qual o sistema está envolto. Nesse contexto, cálculos empregando a DFT ou WFT, do inglês (*Wave Function Theory*), são utilizados na otimização da estrutura do B-DNA (RILEY *et al.*, 2010)(HOHENSTEIN; SHERRILL, 2012). Para isso, necessitam ser incluídas, de alguma maneira nos cálculos, interações de dispersão e é preciso se fazer a eletroneutralização do

sistema, usando metais alcalinos como contra íons, de modo a estabilizar a dupla hélice (ZACCARIA; PARAGI; FONSECA GUERRA, 2016)(BARONE; FONSECA GUERRA; BICKELHAUPT, 2013)(RILEY; HOBZA, 2011). O trabalho de Churchill e Wetmore mostrou que a inclusão de contra íons, para neutralizar cada um dos grupos fosfatos do DNA, é mais importante do que a inclusão explícita de moléculas de água ao sistema (CHURCHILL; WETMORE, 2011).

Após a otimização dos complexos de TH9402@DNA, observou-se para todos os casos, a aproximação dos íons de lítio à cadeia de fosfatos, como era esperado. Além disso, as estruturas do PS intercalado nas três configurações, perpendicularmente pelo xanteno (I), paralelamente pelo xanteno (II) e paralelamente pelo anel metil benzoato (III), bem como a estrutura na qual o PS encontra-se como *groove binder* (IV), foram comparadas com a estrutura do TH9402 isolado (V). Analisaram-se os ângulos diedros (ω), entre os planos dos anéis do PS, os resultados foram apresentados na Figura 14.

Figura 14. Estruturas do TH9402, nas geometrias otimizadas, nas diferentes configurações do complexo (I, II, III, IV)^a e isolada (V)^b



^aCalculado em nível PBE/SV(P) em solução aquosa. ^bCalculado em nível B3LYP/def2-tzvp em fase gasosa. O ângulo entre o grupo xanteno e o anel metil benzoato, ω , está em graus.

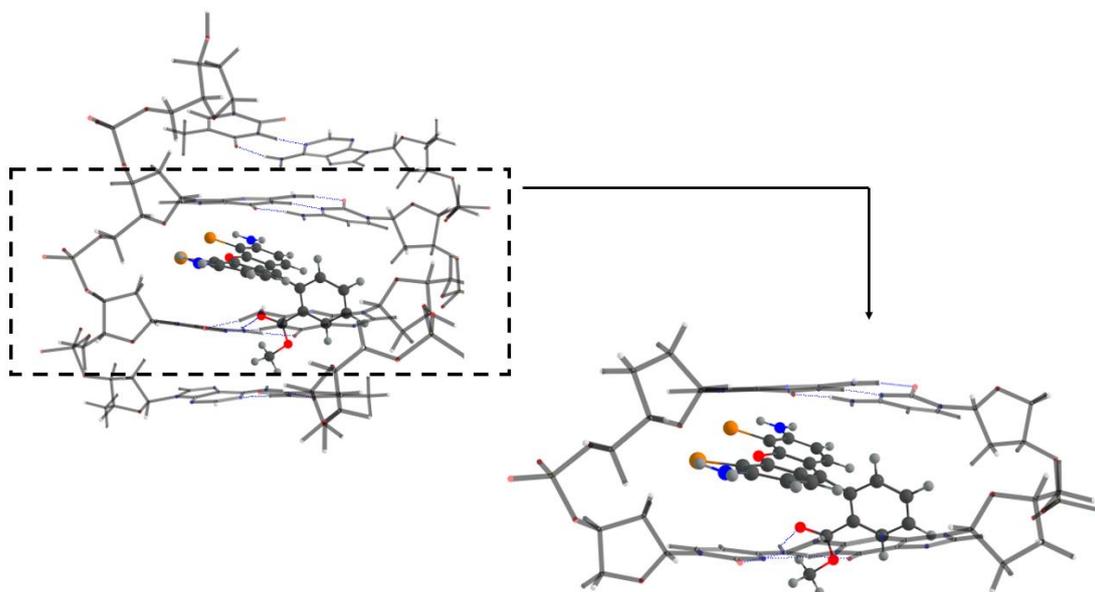
Fonte: Própria autora. Imagem gerada utilizando-se o programa ChemCraft.

Em termos gerais, observou-se que a interação com o DNA distorceu a planaridade do grupo xanteno para todas as configurações. Na configuração III, além da alteração de planaridade, observa-se a maior modificação da orientação relativa entre os anéis do PS. Tal

configuração apresentou uma variação do ângulo diedro de $-37,5^\circ$, em relação à estrutura do composto isolado, a maior entre todas.

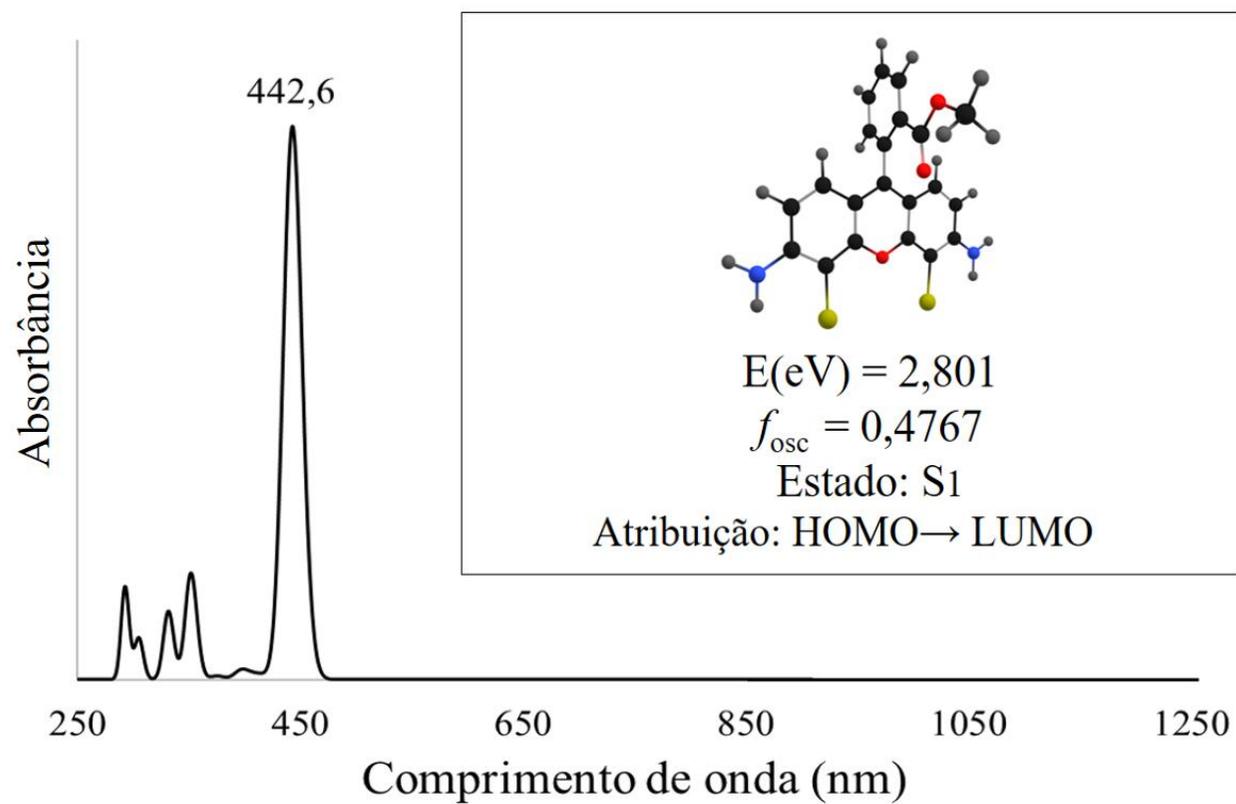
O espectro de absorção do complexo TH9402@DNA, para as três configurações, foi calculado com a estrutura do PS e os dois pares de bases, d(CpG)-d(GpC), envolvidos na intercalação. Antes do espectro ser calculado, então, foi feito um corte na estrutura proveniente do cálculo de otimização e as ligações rompidas foram substituídas por ligações com o átomo de hidrogênio. A Figura 15 mostra o esquema para a obtenção da estrutura, a ser utilizada no cálculo do espectro de absorção.

Figura 15. À esquerda, estrutura do complexo TH9402@DNA otimizada em nível PBE/SV(P). À direita, a estrutura reduzida com dois pares de base d(CpG)-d(GpC), a ser empregada no cálculo do espectro de absorção

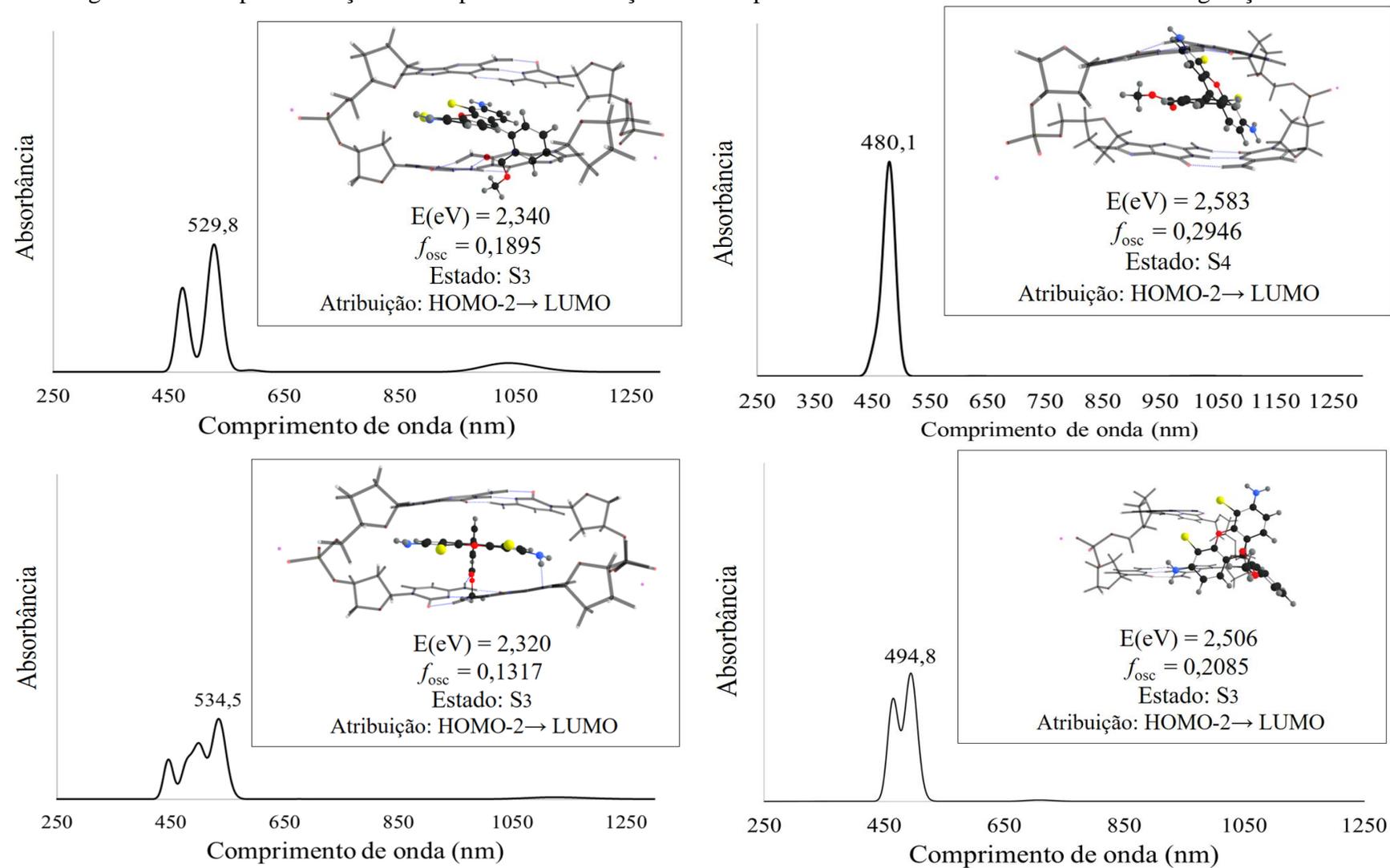


Fonte: Próprio autor. Imagem gerada utilizando-se o programa ChemCraft.

Foram calculados os espectros dos complexos, nas três configurações de intercalação e na conformação com o PS como *groove binder*. Os resultados referentes à transição de maior intensidade de cada um deles estão expressos na Figura 16.

Figura 16. Principais transições dos espectros de absorção dos complexos TH9402@DNA nas diferentes configurações ^a.

Cont. Figura 16. Principais transições dos espectros de absorção dos complexos TH9402@DNA nas diferentes configurações ^a.



^a Os cálculos foram feitos em nível TPSSh/def2-SV(P), em solução aquosa.
Fonte: Própria autora. Imagem gerada utilizando-se o programa Excel 2016.

Os resultados mostraram que o PS isolado apresenta comprimento de onda de absorção máxima em 442,6 nm. Com a ocorrência da intercalação perpendicular do composto, pelo grupo xanteno, observou-se um deslocamento batocrômico, de 87,2 nm, do comprimento de onda de absorção máxima, que passou a ser 529,8 nm. Ainda para essa configuração, observou-se uma redução de 60% na intensidade da banda absorção.

A intercalação pelo anel metil benzoato resultou em um deslocamento batocrômico de 37,5 nm e em uma redução de 38% na intensidade da absorção. Os dados da Figura 15 mostram, também, que a intercalação paralela, pelo grupo xanteno, resultou em um deslocamento batocrômico de 91,9 nm, do comprimento de onda de absorção máxima, que ocorreu em 534,5 nm. Bem como houve uma redução de 72% na intensidade da absorção.

Por fim, observou-se que o espectro do complexo, no qual o TH9402 atua como *groove binder*, apresenta banda de absorção máxima em 494,8 nm, houve, então, um deslocamento batocrômico de 52,2 nm. Além disso, observou-se uma redução de 56% na intensidade da banda, quando comparada com a do PS isolado.

O TH9402 intercalado perpendicularmente às bases do DNA pelo grupo xanteno, foi a conformação sugerida pelo *docking* com a maior recorrência. O espectro do complexo nessa configuração, mostrado na Figura 16, apresentou uma absorção no comprimento de onda 1038,5 nm, referente à transição para o estado S_1 , com força do oscilador de 0.0144. Analisando-se os orbitais envolvidos nessa transição, observou-se uma possível transferência de carga do DNA para o PS.

Sabe-se, porém, que devido à deslocalização eletrônica, processos de transferência de carga, não verdadeiros, podem aparecer. Desse modo, para avaliar o resultado obtido repetiu-se o cálculo do espectro do complexo TH9402@DNA, utilizando-se o potencial híbrido CAM-B3LYP. Esse funcional, apresenta correção de longo alcance e é do tipo *range separated*, o que significa dizer que a contribuição HF no termo de troca varia com a distância (NELSON *et al.*, 2020). Neste contexto, a transferência de carga não foi mais observada.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho realizado teve como objetivo estudar a fotofísica do TH9402, a termodinâmica das reações envolvendo o estado excitado tripleto do composto, bem como os efeitos espectroscópicos ocasionados pela interação do PS com a molécula de DNA, utilizando-se cálculos computacionais. Nesse contexto, foram realizados cálculos, baseados na DFT e TDDFT, de otimização das espécies no estado fundamental e nos estados excitados, respectivamente.

Analisando-se os espectros de absorção, os resultados obtidos com o estudo comparativo mostraram que os funcionais com correção de dispersão, WB97X-D e CAM-B3LYP, apresentaram a pior concordância com os resultados experimentais. Já o funcional híbrido meta-GGA, TPSSh, foi o que melhor descreveu o comprimento de onda de absorção máxima obtido experimentalmente. Testes adicionais permitiram observar que o emprego de métodos com excitação dupla, como o CIS(D) e STEOM-DLPNO-CCSD, resultou em uma maior concordância com os dados experimentais. Sendo assim, verificou-se que excitações duplas são importantes para se descrever o espectro eletrônico do sistema estudado. Porém tais métodos apresentam um custo computacional elevado, o que tornou seu uso proibitivo para grandes sistemas. Dentre os funcionais de troca-correlação empregados, o TPSSh apresentou menor desvio ($\sim 0,3$ eV) em relação à energia de excitação $\pi \rightarrow \pi^*$ experimental.

A análise do espectro de absorção do estado fundamental do TH9402 em nível TPSSh/def2-TZVP, mostrou que a transição $S_0 \rightarrow S_1$ foi a de maior intensidade, ocorrendo em 442,4 nm. A análise dos orbitais moleculares envolvidos em tal transição a caracterizou como sendo do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, envolvendo a porção xanteno da estrutura do PS.

As propriedades fotofísicas foram calculadas aplicando-se duas abordagens. A primeira, utilizando a combinação da regra de ouro de Fermi com a teoria de Marcus. A segunda, empregando o formalismo de integral de caminho. A constante de fluorescência, calculada pela primeira abordagem, foi $4,18 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$. O emprego do segundo método, retornou um valor de constante igual a $5,40 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$. Os resultados mostraram, portanto, que ambas as metodologias possibilitaram o cálculo da constante de fluorescência e resultaram em valores bastante semelhantes.

Foram calculadas as constantes de cruzamento entre sistemas, envolvendo o estado S_1 e os dois estados tripletos de energia inferior, T_2 e T_1 . O emprego da regra de ouro de Fermi combinada com a teoria de Marcus, resultou em uma constante de cruzamento total igual a $27,5 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$. Por outro lado, o emprego do formalismo de integral de caminho, resultou em um valor, para essa constante, igual a $10,1 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$, mais próximo ao experimental ($16 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$). Calcularam-se também, as constantes de cruzamento totais, envolvendo o segundo estado singlete e os estados tripleto de energia inferior, T_3 , T_2 e T_1 . Nesse contexto, a primeira abordagem retornou um valor de $1,04 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$, enquanto a segunda abordagem resultou em um valor de $0,89 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ para a constante de cruzamento.

A partir dos resultados foi possível inferir que o principal caminho de desexcitação envolve a transição $S_1 \rightarrow T_2$. Entretanto uma vez que o estado S_2 seja populado, o cruzamento entre o estado S_2 e T_3 é favorável. Observou-se também, que, como esperado, o uso do

formalismo de integral de caminho, resultou em valores de constante de cruzamento entre sistemas mais próximos ao experimental. Ainda assim, a abordagem da regra de ouro de Fermi combinada à teoria de Marcus para transferência de elétrons, apresentou resultados bastante razoáveis, quando comparados aos valores experimentais.

O estudo da termodinâmica das reações, de transferência de energia e de carga, entre primeiro estado tripleto excitado do fotossensibilizador e as moléculas alvo, pôde ser realizado. Os cálculos de otimização de geometria em fase gasosa, em nível B3LYP/def2-TZVP, juntamente com cálculos de energia no ponto, em nível M06-2X/def2-TZVP/SMD(água), permitiram determinar quais reações eram termodinamicamente favoráveis de acontecer, analisando-se os valores de energia livre calculados para cada uma delas.

Nesse contexto, verificou-se que a reação de transferência de energia do PS, no estado excitado tripleto, para o oxigênio molecular foi favorável termodinamicamente (apresentou energia livre negativa) promovendo, dessa forma, a geração de oxigênio singleto. Além disso, verificaram-se que as transferências de carga, das espécies de GMP , GMP^{2-} e $HGMP^{\cdot-}$, para o PS no estado tripleto, também foram termodinamicamente favoráveis. Dessa forma, entendeu-se, a partir da análise restrita dos valores de energia livre das reações, que o TH9402 pode participar de reações de transferência de energia e de carga, pelos mecanismos do tipo I e tipo II, ao ser aplicado em terapia fotodinâmica.

Os efeitos da interação do TH9402 com o DNA, na espectroscopia do PS foram estudados. Foi possível obter as configurações de interação entre o TH9402 e o octanucleotídeo d(AGACGTCT)₂, por meio de cálculos de *docking* molecular. Observou-se que o composto se intercalou entre as bases d(GpC)-d(CpG) da macromolécula de três maneiras distintas, sendo elas: paralelamente pelo grupo xanteno e pelo anel metil benzoato, e, de maneira majoritária, perpendicularmente pelo grupo xanteno.

Os espectros de absorção dos complexos TH9402@DNA mostraram que a intercalação, para todas as configurações, promove um deslocamento batocrômico no comprimento de onda de absorção máxima, em relação ao do PS isolado. Esse deslocamento variou de 37,5 a 91,9 nm entre as configurações. Além disso, a interação entre o PS e as bases do DNA resultou em um decréscimo na intensidade da absorção, chegando a uma redução de 72% em um dos casos.

A alocação do fotossensibilizador como *groove binder*, promoveu um deslocamento batocrômico de 52,2 nm no comprimento de onda de absorção máxima e uma diminuição de 56% na intensidade da absorção.

A princípio, portanto, o deslocamento batocrômico e a diminuição da intensidade da banda referente à transição principal no espectro indicam a interação do PS com o DNA.

Entretanto tais observações não podem ser utilizadas para especificar qual o tipo de interação ocorrida.

Com isso, foi possível estudar as propriedades fotofísicas do TH9402, a termodinâmica de reações envolvendo o primeiro estado excitado tripleto do composto, bem como avaliar os efeitos espectroscópicos da interação do PS com o DNA, empregando-se cálculos computacionais. Pode-se afirmar, então, que os objetivos desse trabalho foram alcançados com sucesso, por meio de métodos reprodutíveis em demais laboratórios.

6 PERSPECTIVAS

Espera-se propor novos compostos, candidatos à fotossensibilizadores, realizando-se modificações estruturais em PS existentes, com o objetivo de melhorar a biodisponibilidade das substâncias no organismo; obter moléculas, que tenham absorção máxima em comprimentos de onda maiores, que possam ser empregadas em tratamentos de órgãos mais profundos.

O presente trabalho possibilitou aprender a teoria, relacionada às transições eletrônicas envolvendo estados excitados, e os procedimentos para a realização das diversas etapas dos cálculos computacionais destinados à obtenção das propriedades fotofísicas. Além disso, proporcionou o aprimoramento do conhecimento sobre *docking* molecular, suas especificidades, vantagens e limitações. Todo o aprendizado adquirido será empregado nos futuros trabalhos, de desenvolvimento de compostos inéditos, candidatos a fotossensibilizadores.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAMSE, H.; HAMBLIN, M. R. New photosensitizers for photodynamic therapy. **Biochemical Journal**, v. 473, n. 4, p. 347–364, 2016. doi:10.1042/BJ20150942
- ALEKSIC, M. M.; KAPETANOVIĆ, V. An overview of the optical and electrochemical methods for detection of DNA - Drug interactions. **Acta Chimica Slovenica**, v. 61, n. 3, p. 555–573, 2014. PMID: 25286211
- ALLOUCHE, A. Software News and Updates Gabedit — A Graphical User Interface for Computational Chemistry Softwares. **Journal of computational chemistry**, v. 32, n. 858, p. 174–182, 2012. DOI 10.1002/jcc.21759
- AMARO, R. E. et al. Ensemble Docking in Drug Discovery. **Biophysical Journal**, v. 114, n. 10, p. 2271–2278, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2018.02.038>
- BALDES, E. J. The Photodynamic Properties of a Particular Hematoporphyrin Derivative. **Archives of Dermatology**, v. 82, n. 4, p. 508–516, 1960.
- BARONE, G.; FONSECA GUERRA, C.; BICKELHAUPT, F. M. B-DNA structure and stability as function of nucleic acid composition: Dispersion-corrected DFT study of dinucleoside monophosphate single and double strands. **ChemistryOpen**, v. 2, n. 5–6, p. 186–193, 2013. DOI: 10.1002/open.201300019
- BAUMEISTER, S. H. C. *et al.* Key Aspects of the Immunobiology of Haploidentical Hematopoietic Cell Transplantation. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 1–26, 2020. doi: 10.3389/fimmu.2020.00191
- BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, 1993. <https://doi.org/10.1063/1.464913>
- BERRAUD-PACHE, R. *et al.* Unveiling the Photophysical Properties of Boron-dipyrrromethene Dyes Using a New Accurate Excited State Coupled Cluster Method. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 16, n. 1, p. 564–575, 2020. DOI: 10.1021/acs.jctc.9b00559
- BRASSEUR, N. *et al.* Eradication of Multiple Myeloma and Breast Cancer Cells by TH9402-mediated Photodynamic Therapy: Implication for Clinical Ex Vivo Purging of Autologous Stem Cell Transplants. **Photochemistry and Photobiology**, v. 72, n. 6, p. 780, 2000. doi: 10.1562/0031-8655(2000)072<0780:eommab>2.0.co;2.
- BUROW, A. M.; SIERKA, M.; MOHAMED, F. Resolution of identity approximation for the Coulomb term in molecular and periodic systems. **Journal of Chemical Physics**, v. 131, n. 21, 2009. doi:10.1063/1.3267858
- CANUTO, S.; ADALBERTO FAZZIO; VIANNA, J. A. M. Teoria do funcional da densidade. In: **Teoria Quântica de Moléculas e Sólidos: simulação computacional**. ed. 1, Livraria da física, 2004. p. 213–238.

CAPELLE, K. A Bird's-Eye View of Density-Functional Theory. v. 36, n. 4, p. 1318–1343, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0103-97332006000700035>

CÁRDENAS, G.; NOGUEIRA, J. J. Stacking Effects on Anthraquinone/DNA Charge-Transfer Electronically Excited State. **Molecules**, v. 25, p. 1–16, 2020. doi:10.3390/molecules25245927

CASTANO, A. P.; DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R. Mechanisms in photodynamic therapy: Part one - Photosensitizers, photochemistry and cellular localization. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 1, n. 4, p. 279–293, 2004. doi:10.1016/S1572-1000(05)00007-4

CASTANO, A. P.; DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R. Mechanisms in photodynamic therapy: Part three - Photosensitizer pharmacokinetics, biodistribution, tumor localization and modes of tumor destruction. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 2, n. 2, p. 91–106, 2005. doi:10.1016/S1572-1000(05)00060-8

CHAI, J. Da; HEAD-GORDON, M. Long-range corrected hybrid density functionals with damped atom-atom dispersion corrections. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 10, n. 44, p. 6615–6620, 2008. DOI: 10.1039/b810189b

CHAUDHARY, K. K.; MISHRA, N. A Review on Molecular Docking: Novel Tool for Drug Discovery. **JSM Chem**, v. 4, n. 3, p. 1029, 2016. ISSN: 2333-6633

CHURCHILL, C. D. M.; WETMORE, S. D. Developing a computational model that accurately reproduces the structural features of a dinucleoside monophosphate unit within B-DNA. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, n. 36, p. 16373–16383, 2011. DOI: 10.1039/c1cp21689a

CONDON, E. A Theory of intensity distribution in band system. **Physical Review**, v. 28, p. 1182–1201, 1926. DOI:<https://doi.org/10.1103/PhysRev.28.1182>

BELJONNE, D.; SHUAI, Z.; POURTOIS, G. and BREDAS, J. L. Spin-Orbit Coupling and Intersystem Crossing in Conjugated Polymers: A Configuration Interaction Description. **J. Phys. Chem**, v. 105, p. 3899–3907, 2001. DOI: 10.1021/jp010187w

DANCOFF, S. M. Non-Adiabatic Meson Theory of Nuclear Forces. **Physical Review**, v. 78, n. 4, p. 382–385, 1950. DOI:<https://doi.org/10.1103/PhysRev.78.382>

DE SOUZA, B. *et al.* Predicting Phosphorescence Rates of Light Organic Molecules Using Time-Dependent Density Functional Theory and the Path Integral Approach to Dynamics. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 15, n. 3, p. 1896–1904, 2019. DOI: 10.1021/acs.jctc.8b00841

DE SOUZA, B.; NEESE, F.; IZSÁK, R. On the theoretical prediction of fluorescence rates from first principles using the path integral approach. **Journal of Chemical Physics**, v. 148, n. 3, 2018. <https://doi.org/10.1063/1.5010895> View

DOUGHERTY, T. J. *et al.* Photoradiation Therapy for the Treatment of Malignant Tumors. **Cancer Research**, v. 38, n. 8, p. 2628–2635, 1978. PMID: 667856.

DOUGHERTY, T. J.; GOMER, C. J.; HENDERSON, B. W.; JORI, G.; KESSEL, D.; KORBELIK, M.; MOAN, J.; PENG, Q. Photodynamic Therapy. **J. Natl. Cancer Inst.** v. 90,

n. 12, p. 889-905, 2009. doi: 10.1093/jnci/90.12.889.

DUARTE, H. A.; ROCHA, W. R. Teoria do Funcional da Densidade. In: **Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular**. ed. 1. Livraria da Física, 2007. p. 73–111.

ERNESTO R. SOUZA E FERNANDO A. SIGOLI. Princípios Fundamentais e modelos de transferência de energia inter e intramolecular. **Quim. Nova**, v. 35, n. 9, p. 1841–1847, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000900024>

FERGUSON, L. R.; DENNY, W. A. Genotoxicity of non-covalent interactions: DNA intercalators. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 623, n. 1–2, p. 14–23, 2007. doi:10.1016/j.mrfmmm.2007.03.014

FERMI, E. **Nuclear Physics**. University of Chicago Press, 1974. p.258.

FORESMAN, J. B. *et al.* Toward a systematic molecular orbital theory for excited states. **Journal of Physical Chemistry**, v. 96, n. 1, p. 135–149, 1992. <https://doi.org/10.1021/j100180a030>

FRANCÉS-MONERRIS, A. *et al.* Photoinduced intersystem crossing in DNA oxidative lesions and epigenetic intermediates. **Chemical Communications**, v. 56, n. 32, p. 4404–4407, 2020. DOI: 10.1039/d0cc01132k

FRANCK, J. Elementary Processes of Photochemical Reactions. **Trans. Faraday Soc.**, v. 21, p. 536–542, 1925. <https://doi.org/10.1039/TF9262100536>

GHORBANI, J. *et al.* Photosensitizers in antibacterial photodynamic therapy: An overview. **Laser Therapy**, v. 27, n. 4, p. 293–302, 2018. doi: 10.5978/islsm.27_18-RA-01

GONZÁLEZ-GARCÍA, J. *et al.* Aryl-bis-(scorpiand)-aza receptors differentiate between nucleotide monophosphates by a combination of aromatic, hydrogen bond and electrostatic interactions. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 13, n. 6, p. 1732–1740, 2015. <https://doi.org/10.1039/C4OB02084G>

GRIMME, S. *et al.* A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu. **Journal of Chemical Physics**, v. 132, n. 15, 2010. <https://doi.org/10.1063/1.3382344>

HARRIS, D. C.; BERTOLUCCI, M. D. **Symmetry and spectroscopy: An introduction to vibrational and electronical spectroscopy**. Dover Publications, 1989. p. 566.

HENDERSON, B. W.; DOUGHERTY, T. J. How Does Photodynamic Therapy Work? **Photochemistry and Photobiology**, v. 55, n. 1, p. 145–157, 1992.

HOHENSTEIN, E. G.; SHERRILL, C. D. Wavefunction methods for noncovalent interactions. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 2, n. 2, p. 304–326, 2012. doi: 10.1002/wcms.84

HOLLAS, J. M. **Modern Spectroscopy**. 4. ed. John Wiley & Sons, Ltd, 2010.

HOPPER, C. Photodynamic therapy: A clinical reality in the treatment of cancer. **Lancet Oncology**, v. 1, n. 4, p. 212–219, 2000. doi: 10.1016/s1470-2045(00)00166-2.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2021. Disponível em: < <https://www.inca.gov.br/>>. Acesso em: 8 jun. 2021.

ISSA, M. C. A.; MANELA-AZULAY, M. Photodynamic therapy: A review of the literature and image documentation. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 4, p. 501–511, 2010. doi: 10.1590/s0365-05962010000400011.

IZSÁK, R.; NEESE, F.; KLOPPER, W. Robust fitting techniques in the chain of spheres approximation to the Fock exchange: The role of the complementary space. **Journal of Chemical Physics**, v. 139, n. 9, 2013. doi: 10.1063/1.4819264

JONES G.; WILLETT, P.; GLEN, R. C.; LEACH, A. R.; TAYLOR, R. Development and Validation of a Genetic Algorithm for Flexible Docking. **J. Mol. Biol**, v. 267, p. 727–748, 1997. DOI: 10.1006/jmbi.1996.0897

KELLY, J. F.; SNELL, M. E. Hematoporphyrin derivative: a possible aid in the diagnosis and therapy of carcinoma of the bladder. **Journal of Urology**, v. 115, n. 2, p. 150–151, 1976. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)59108-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347(17)59108-9).

KOHN, W. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Physical Review**, v. 140, n. 4, p. 1134–1138, 1965. DOI:<https://doi.org/10.1103/PhysRev.140.A1133>

KOHN, W.; BECKE, A. D.; PARR, R. G. Density functional theory of electronic structure. **Journal of Physical Chemistry**, v. 100, n. 31, p. 12974–12980, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp9606691>

KORBELIK, M. Low density lipoprotein receptor pathway in the delivery of Photofrin: How much is it relevant for selective accumulation of the photosensitizer in tumors? **Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology**, v. 12, n. 1, p. 107–109, 1992. doi: 10.1016/1011-1344(92)85022-m.

KORBELIK, M.; HAMBLIN, M. R. The Impact of Macrophage-Cancer Cell Interaction on the Efficacy of Photodynamic Therapy. **Photochemical & photobiological sciences : Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology**, v. 14, n. 8, p. 1403–1409, 2015. doi: 10.1039/c4pp00451e.

KUMAR, P.; BUTCHER, R. J.; PATRA, A. K. Ternary Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes containing dipyrrophenazine and saccharin: Structures, reactivity, binding interactions with biomolecules and DNA damage activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 506, n. December 2019, p. 119532, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.119532>.

LAWETZ, V.; ORLANDI, G.; SIEBRAND, W. Theory of Intersystem Crossing in Aromatic Hydrocarbons. **Journal of Chemical Physics**, v. 56, n. 8, p. 4058–4072, 1972. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.1677816>

LEVINE, I. N. **Quantum Chemistry**. ed. 7. Pearson advanced chemistry series, 2013. p. 720.

LIEBESCHUETZ, J. W.; COLE, J. C.; KORB, O. Pose prediction and virtual screening performance of GOLD scoring functions in a standardized test. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 26, n. 6, p. 737–748, 2012. doi: 10.1007/s10822-012-9551-4.

LIU, J. *et al.* Comparison of nanomedicine-based chemotherapy, photodynamic therapy and

photothermal therapy using reduced graphene oxide for the model system. **Biomaterials Science**, v. 5, n. 2, p. 331–340, 2017. doi: 10.1039/c6bm00526h.

LÓPEZ-ESTRADA, O. *et al.* Reassessment of the Four-Point Approach to the Electron-Transfer Marcus-Hush Theory. **ACS Omega**, v. 3, n. 2, p. 2130–2140, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01425>

MARCUS, R. A. On the theory of oxidation-reduction reactions involving electron transfer. I. **The Journal of Chemical Physics**, v. 24, n. 5, p. 966–978, 1956. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.1742723>

MARDIROSSIAN, N.; HEAD-GORDON, M. How Accurate Are the Minnesota Density Functionals for Noncovalent Interactions, Isomerization Energies, Thermochemistry, and Barrier Heights Involving Molecules Composed of Main-Group Elements? **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 12, n. 9, p. 4303–4325, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.6b00637>.

MARIAN, C. M. Spin-orbit coupling and intersystem crossing in molecules. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 2, n. 2, p. 187–203, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/wcms.83>

MASUM, A. *et al.* Thermodynamic study of rhodamine 123-calf thymus DNA interaction: Determination of calorimetric enthalpy by optical melting study. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 118, n. 46, p. 13151–13161, 2014. doi: 10.1021/jp509326r.

MASSUMOTO, C.; MIZUKAMI, S. Transplante autólogo de médula óssea e imunoterapia pós transplante. *Medicina, Ribeirão Preto, Simpósio: TRANSPLANTE DE MEDULA OSSEA - 2º PARTE 33: 405-414, out./dez., 2000.* DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v33i4p405-414>

MCKNIGHT, R. E. *et al.* Substituent control of DNA binding modes in a series of chalcogenoxanthylum photosensitizers as determined by isothermal titration calorimetry and topoisomerase I DNA unwinding assay. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 24, p. 10221–10227, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2008.10.051>.

NALEPA, P. *et al.* A fullerene nanoconjugate with gemcitabine: Synthesis, biophysical properties and biological evaluation for treating pancreatic cancer. **Cancer Nanotechnology**, v. 11, n. 1, p. 1–21, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12645-020-00058-4>.

NEESE, F. The ORCA program system. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 2, n. 1, p. 73–78, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/wcms.81>

NELSEN, S. F.; BLACKSTOCK, S. C.; KIM, Y. Estimation of Inner Shell Marcus Terms for Amino Nitrogen Compounds by Molecular Orbital Calculations. **Journal of the American Chemical Society**, v. 109, n. 3, p. 677–682, 1987. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja00237a007>

NELSON, T. R. *et al.* Non-adiabatic Excited-State Molecular Dynamics: Theory and Applications for Modeling Photophysics in Extended Molecular Materials. **Chemical Reviews**, v. 120, n. 4, p. 2215–2287, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00447>

OMARY, M. A.; PATTERSON, H. H. **Luminescence, theory**. 3. ed. Elsevier Ltd., 2016.

OU, Q.; SUBOTNIK, J. E. Electronic relaxation in benzaldehyde evaluated via TD-DFT and localized diabaticization: Intersystem crossings, conical intersections, and phosphorescence. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 117, n. 39, p. 19839–19849, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp405574q>

PAL, P. *et al.* Phototoxicity of some bromine-substituted rhodamine dyes: Synthesis, photophysical properties and application as photosensitizers. **Photochemistry and Photobiology**, v. 63, n. 2, p. 161–168, 1996. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1996.tb03008.x

PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized gradient approximation made simple. **Physical Review Letters**, v. 77, n. 18, p. 3865–3868, 1996. DOI: 10.1103/PhysRevLett.77.3865

PLAETZER, K. *et al.* Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: Fundamental aspects. **Lasers in Medical Science**, v. 24, n. 2, p. 259–268, 2009. DOI: 10.1007/s10103-008-0539-1

RILEY, K. E. *et al.* Stabilization and structure calculations for noncovalent interactions in extended molecular systems based on wave function and density functional theories. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 9, p. 5023–5063, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr1000173>

RILEY, K. E.; HOBZA, P. Noncovalent interactions in biochemistry. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 1, n. 1, p. 3–17, 2011. DOI: 10.1002/wcms.8

RUNGE, E.; GROSS, E. K. U. Density-Functional Theory for Time-Dependent Systems. **Physical Review Letters**, v. 52, n. 12, p. 997–1000, 1984. DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.52.997>

RUPAR, J. *et al.* A review of published data on acridine derivatives with different biological activities. **Kragujevac Journal of Science**, v. 40, n. 40, p. 83–101, 2018. DOI: 10.5937/KgJSci1840083R

RUSSELL, H. N.; SAUNDERS, F. A. New Regularities in the Spectra of the Alkaline Earths. **Astrophysical Journal**, v. 61, p. 38, 1925. DOI: 10.1086/142872

S. GRIMME, S. EHRLICH, L. G. Effect of the Damping Function in Dispersion Corrected Density Functional Theory. **Journal of Computational Chemistry**, v. 32, p. 1456–1465, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.21759>

SEARLE, M. S.; MAYNARD, A. J.; WILLIAMS, H. E. L. DNA recognition by the anthracycline antibiotic respinomycin D: NMR structure of the intercalation complex with d(AGACGTCT)₂. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 60–66, 2003. DOI: 10.1039/B208622K

SHERRILL, C. D.; SCHAEFER, H. F. The Configuration Interaction Method: Advances in Highly Correlated Approaches. **Advances in Quantum Chemistry**, v. 34, n. C, p. 143–269, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0065-3276\(08\)60532-8](https://doi.org/10.1016/S0065-3276(08)60532-8)

SNIJDERS, E. van L. R. van L. E. J. B. J. G. Relativistic regular two-component Hamiltonians. **Int. J. Quantum Chem**, v. 57, p. 281–293, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.466059>

STOCKEL ET AL. **Bioinorganic Photochemistry**. 1. ed. Poland: Wiley, 2009.

SUZUKI, K.; OKAMOTO, R. Perturbation Theory for Quasidegenerate System in Quantum Mechanics. **Progress of Theoretical Physics**, v. 72, n. 3, p. 534–548, 1984. DOI: <https://doi.org/10.1143/PTP.72.534>

TAKANO, Y.; HOUK, K. N. Benchmarking the conductor-like polarizable continuum model (CPCM) for aqueous solvation free energies of neutral and ionic organic molecules. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 1, n. 1, p. 70–77, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1021/ct049977a>

TAMM, I. E. Relativistic Interaction of Elementary Particles. **J. Phys. USSR**, v. 9, p. 449–460, 1945.

TAYLOR, J.-S. Structure and Properties of DNA Photoproducts. **DNA Damage Recognition**, p. 275–286, 2005. DOI: 10.1201/9780849352683.pt2

TURRO, N. J. The Triplet State. **Journal of Chemical Education**, v. 46, n. 1, 1969.

ULLRICH, C. A.; YANG, Z. hui. A Brief Compendium of Time-Dependent Density Functional Theory. **Brazilian Journal of Physics**, v. 44, n. 1, p. 154–188, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13538-013-0141-2>

WAGNIÈRES, G. A.; STAR, W. M.; WILSON, B. C. In Vivo Fluorescence Spectroscopy and Imaging for Oncological Applications. **Photochemistry and Photobiology**, v. 68, n. 5, p. 603–632, 1998. PMID: 9825692.

WAINWRIGHT, M. Tricyclic cationic chromophores as models for new photoantimicrobials. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 12, p. 2390–2404, 2015. DOI: <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150188>

WANG, Y. *et al.* DNA-modulated photosensitization: current status and future aspects in biosensing and environmental monitoring. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 411, n. 19, p. 4415–4423, 2019. DOI: 10.1007/s00216-019-01605-8.

WEBBER, J. *et al.* An apoptotic response to photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin in vivo. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 35, n. 3, p. 209–211, 1996. DOI: 10.1016/s1011-1344(96)07291-0

WEIGEND, F.; AHLRICHS, R. Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy Electronic supplementary information (ESI). **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 7, p. 3297–3305, 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/b508541a>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021. Disponível em: < <https://www.who.int/health-topics/cancer>>. Acesso em: 8 jun. 2021.

YAN, S. *et al.* Effects of hydroxyl radicals produced by a zinc phthalocyanine photosensitizer on tumor DNA. **Dyes and Pigments**, v. 173, n. June 2019, p. 107894, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.107894>>.

YANAI, T.; TEW, D. P.; HANDY, N. C. A new hybrid exchange-correlation functional using

the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP). **Chemical Physics Letters**, v. 393, n. 1–3, p. 51–57, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2004.06.011>

ZACCARIA, F.; PARAGI, G.; FONSECA GUERRA, C. The role of alkali metal cations in the stabilization of guanine quadruplexes: Why K⁺ is the best. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, n. 31, p. 20895–20904, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/c6cp01030j>.

ZAIDI, S. I. A. *et al.* Apoptosis During Photodynamic Therapy-Induced Ablation of RIF-1 Tumors in C3H Mice: Electron Microscopic, Histopathologic and Biochemical Evidence. **Photochemistry and Photobiology**. v. 58, n. 6, 1993. doi: 10.1111/j.1751-1097.1993.tb04969.x

ZHANG, Y. *et al.* Multifunctional nanoparticles as photosensitizer delivery carriers for enhanced photodynamic cancer therapy. **Materials Science and Engineering C**, v. 115, n. September 2019, p. 111099, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111099>.

ZHAO, Y.; TRUHLAR, D. G. Density functionals with broad applicability in chemistry. **Accounts of Chemical Research**, v. 41, n. 2, p. 157–167, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/ar700111a>

A – PUBLICAÇÃO

YOSHINAGA, M.; ROCHA, W. R. Theoretical Investigation of the 4,5-Dibromorodamine Methyl Ester (TH9402) Photosensitizer Used in Photodynamic Therapy: Photophysics, Reactions in the Excited State, and Interactions with DNA. **The Journal of Physical Chemistry B** *Article ASAP*. DOI: 10.1021/acs.jpcc.1c05463

Theoretical Investigation of the 4,5-Dibromorodamine Methyl Ester (TH9402) Photosensitizer Used in Photodynamic Therapy: Photophysics, Reactions in the Excited State, and Interactions with DNA

Mariana Yoshinaga and Willian R. Rocha*

Cite This: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c05463>

Read Online

ACCESS |

Metrics & More

Article Recommendations

Supporting Information

ABSTRACT: Photosensitizer (PS) molecules play a critical role in photodynamic therapy of cancer and the understanding of the molecular mechanism involved in the photophysics of these compounds, and their reactions in the excited state are, therefore, of great interest for the development of this technique. In this article, the photophysics of the cationic PS 4,5-dibromorodamine methyl ester (TH9402), its electron- and energy-transfer reactions in the excited triplet state, with molecular oxygen, nitric oxide, guanosine-5'-monophosphate (GMP), and guanine, and the interaction with DNA were evaluated. Time-dependent density functional theory calculations at the TPSSH/Def2-TZVP//B3LYP/Def2-TZVP level of theory in water solution reveals that the PS has a bright S_1 state 2.33 eV above the ground state that produces a fluorescent rate constant of $5.40 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$, calculated using Fermi's golden rule within a path integral formalism. Once excited to the bright state, the main intersystem crossing (ISC) channel involves the coupling with the T_2 state just below S_1 ($S_1 \rightarrow T_2 \rightarrow T_1$) with an overall ISC rate constant of $10.1 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$, in good agreement with the experimental data. Excited-state reaction thermodynamics, computed at the M06-2X/Def2-TZVP//B3LYP/Def2-TZVP level of theory in water, showed that from all the excited-state electron-transfer reactions studied, only the transfer from GMP to the PS is thermodynamically favorable, independent of the protonation state of guanosine, which indicates a possible DNA photo-oxidation mechanism for the PS. Triplet-triplet energy-transfer reactions from TH9402 to molecular oxygen, producing reactive singlet oxygen, and to the deprotonated guanosine, producing $^3\text{GMP}^{2-}$, are also thermodynamically favorable, with $\Delta G = -2.0$ and -24.0 kcal/mol , respectively. However, the energy transfer to the monoprotonated guanosine is not favorable, ($\Delta G = 36.1$), suggesting that in the DNA double-strand environment, this energy-transfer process may not be observed. The results show that the PS can act through electron transfer and triplet-triplet energy-transfer reactions involved in mechanism types I and II in photodynamic therapy. Interactions of TH9402 with the $d(\text{AGACGTCT})_2$ octanucleotide revealed that the PS can intercalate between the $d(\text{GpC})-d(\text{CpG})$ base pairs in three different orientations and, upon intercalation, the $\pi \rightarrow \pi^*$ transition of the PS shows a bathochromic shift up to 90 nm and up to 60% decrease in intensity. Interactions through groove binding showed a smaller bathochromic shift of 52.2 nm and a 56% decrease in intensity of the main transition band.

