

INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
MESTRADO EM TECNOLOGIAS SUSTENTÁVEIS

ISIS DE CASTRO SOUZA

**PLANEJAMENTO COMPUTACIONAL DE DERIVADOS DE FULERENOS
CAPTADORES DE PESTICIDAS**

Vitória
2018

ISIS DE CASTRO SOUZA

**PLANEJAMENTO COMPUTACIONAL DE DERIVADOS DE FULLERENOS
CAPTADORES DE PESTICIDAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Tecnologias Sustentáveis do Instituto Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologias Sustentáveis.

Orientador: Prof. Dr. Arlan da Silva Gonçalves

Vitória

2018

(Biblioteca Nilo Peçanha do Instituto Federal do Espírito Santo)

S729p Souza, Isis de Castro.

Planejamento computacional de derivados de fulerenos captadores de pesticidas / Isis de Castro Souza. – 2018.
146 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Arlan da Silva Gonçalves

Dissertação (mestrado) – Instituto Federal do Espírito Santo, Programa de Pós-graduação em Tecnologias Sustentáveis, Vitória, 2018.

1. Pesticidas - Aspectos ambientais. 2. Produtos químicos agrícolas. 3. Agrotóxicos. 4. Química agrícola 5. Compostos organosforados. 6. Fulerenos. I. Gonçalves, Arlan da Silva. II. Instituto Federal do Espírito Santo. III. Título.

CDD: 363.1792

ISIS DE CASTRO SOUZA

**PLANEJAMENTO COMPUTACIONAL DE DERIVADOS DE FULERENOS
CAPTADORES DE PESTICIDAS
IFES – CAMPUS VITÓRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Tecnologias Sustentáveis do Instituto Federal do Espírito
Santo, como requisito parcial para obtenção de título de
Mestre em Tecnologias Sustentáveis.

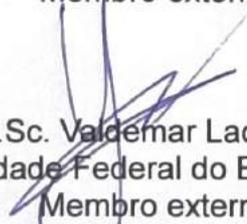
Aprovado em 11 de abril de 2018

COMISSÃO EXAMINADORA


Prof. D.Sc. Arlan da Silva Gonçalves
Instituto Federal do Espírito Santo
Orientador


Prof. D.Sc. Kinglston Soares
Instituto Federal do Espírito Santo
Membro interno


Prof. D.Sc. Eloi Alves da Silva Filho
Universidade Federal do Espírito Santo
Membro externo


Prof. D.Sc. Valdemar Lacerda Junior
Universidade Federal do Espírito Santo
Membro externo


Prof. D.Sc. Paulo José Pereira de Oliveira
Instituto Federal do Espírito Santo
Membro externo

AGRADECIMENTOS

- À Deus, pela proteção e condução de sempre;
- Aos meus pais e irmão, pelo amor, carinho paciência e suporte de sempre;
- Ao Ifes Vitória pela oferta do curso, pelo auxílio na participação em eventos, pela disponibilidade da equipe do DPPG em auxiliar os alunos e pela prontidão dos professores tanto nas disciplinas como nas ajudas fora de sala;
- Ao Ifes Vila Velha, pela cessão de espaço e equipamentos para o desenvolvimento da pesquisa;
- À coordenação do PPGTECS pelo empenho no desenvolvimento de todo o curso;
- À FAPES, pelo auxílio financeiro para aquisição do computador objeto de estudo;
- Ao professor orientador, doutor ARLAN DA SILVA GONÇALVES, por toda a paciência e dedicação, pela amizade e sábias orientações, meu imenso respeito, admiração e gratidão;
- Aos professores doutores KINGLSTON SOARES, ELOI ALVES DA SILVA FILHO e TANOS CELMAR COSTA FRANÇA por aceitarem fazer parte da banca de minha tese e pelas contribuições para o enriquecimento do trabalho;
- Aos amigos de sempre BRUNO BARRETO, LUCELIA DOS SANTOS, ÉRICA REBOUÇAS, LEO COIMBRA, MARCELLO TOMICH, THATY LORENA, VÂNIA KLIPPEL e demais amigos presentes pelo companheirismo, carinho e suporte de sempre;
- Ao amigo RODRIGO MENDES CAVALINI do IDAF, pela amizade, paciência e suporte em diversas questões de informática;
- Ao chefe do Escritório Regional Cariacica do IDAF na época do início do curso, CARLOS NOGUERAS MARTINS, pelo apoio aos estudos e ao desenvolvimento pessoal;
- Às meninas do licenciamento do Escritório Regional Cariacica do IDAF, pela compreensão e apoio de sempre, meu sincero agradecimento;
- Aos amigos do PPGTECS pela amizade, força e troca de ideias úteis e construtivas;
- Ao meu amor, pelo carinho e compreensão de sempre;
- A todos os meus familiares por acreditarem em mim e, antes de tudo, pelo amor e carinho que é, sem dúvida, reciprocamente compartilhado.

A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou
sobre aquilo que todo mundo vê”.

Arthur Schopenhauer

RESUMO

A utilização de pesticidas no Brasil, país de economia baseada na agricultura e no agronegócio, é uma prática que tem crescido nos últimos anos mas resulta em números alarmantes de doenças e mortes aos usuários, bem como poluição da água, solo e ar. Considerando o risco potencial associado ao uso desses compostos e a dificuldade de detecção de seus resíduos instantaneamente em campo, neste trabalho foram planejadas, usando técnicas de edição e modelagem molecular, seis moléculas derivadas de fulerenos com o propósito de se compreender, em nível estrutural eletrônico, o potencial destes como adsorventes de pesticidas agrícolas, pertencentes à classe de maior toxidez, que são os organofosforados (Ops). Deste modo, para o desenho tridimensional, além das otimizações clássicas, foi utilizado o programa GHEMICAL. Posteriormente a geometria das moléculas foi melhorada utilizando o método semiempírico PM7, no programa MOPAC e, finalmente, para calcular as energias de interação e os melhores modos de interações entre os Ops e os derivados de fulerenos, os programas *AutoDock Tools* e *AutoDock Vina* foram utilizados. Os organofosforados selecionados foram acefato, cadusafós, clorpirifós, dimetoato, fenitrothion, fentoato, malaoxon, malation, parationa metílica e terbufós. Os resultados mostraram que a proposta 4 teve os melhores resultados. Quanto aos Ops, a fenitrothion apresentou os melhores resultados de distância de ligação, energia de *docking*, calor de formação dos complexos e energia de adsorção, seguida do malation, malaoxon, fentoato e parationa metílica. Deste modo, concluiu-se que a proposta número 4 pode ser utilizada como potencial nanomaterial captador de pesticidas.

Palavras-chave: Derivados de fulerenos. Pesticidas. Organofosforados. Modelagem molecular. *Docking* molecular.

ABSTRACT

The pesticides use in Brazil, a country of economy based on agriculture and agribusiness, is a practice that has grown in recent years but results in an alarming diseases number and manipulators deaths, as well as pollution of water, soil and air. Considering the potential risk associated to these compounds use and the difficulty on detecting their residues instantaneously in the field, six molecular fullerenes derivatives were planned using molecular modeling and modeling edition techniques to understand, at an electronic structural level, their potential as adsorbents of agricultural pesticides belonging to the higher toxicity class, the organophosphates (Ops). Thus, for the three-dimensional design, besides the classic optimizations, the GHEMICAL program was used. Subsequently, the molecules geometry were improved using the semi-empirical method PM7, in the MOPAC program and, finally, to measure the interaction energies and the best interactions modes between the Ops and the fullerenes derivatives, the programs AutoDock Tools and AutoDock Vina were used. The organophosphates selected were acephate, cadusafos, chlorpyrifos, dimethoate, fenitrothion, phenthoate, malaoxon, malathion, methyl-parathion and terbufos. The results showed that fullerene derivative proposal number 4 had the best results. Regarding the Ops, fenitrothion presented the best results of binding distance, docking energy, complexes heat of formation and adsoption energy, followed by malathion, malaoxon, fentoate and methyl-parathion. Therefore, it can be concluded that derivative proposal number 4 can be used as a potential nanomaterial for pesticides capture.

Key words: Fullerene derivatives. Pesticides. Organophosphorus. Molecular modeling. Molecular docking.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Primeiros compostos organofosforados de uso industrial, a) Sharardan e b) tetraetilpírofosfato (TEPP)	21
Figura 02 – Distribuição da intoxicação por agrotóxicos, por circunstância e por estado brasileiro de 2001 a 2006.....	27
Figura 03 – Distribuição da intoxicação por agrotóxicos, por circunstância e por estado brasileiro de 2007 a 2013.....	27
Figura 04 – Hidrólise da ACh pela AChE.....	31
Figura 05 – Papel da acetilcolina no sistema nervoso central e periférico.....	32
Figura 06 – Esquema de transmissão do impulso nervoso mediado pela ACh.....	33
Figura 07 – Esquema da inibição e envelhecimento da AChE por Ops.....	35
Figura 08 – Configuração ‘R’ do esteroisômero de maior atividade para inibição acetilcolinesterase.....	41
Figura 09 – Componentes do cálculo da energia de dipolo.....	44
Figura 10 – Esquema comparativo entre os métodos de modelagem molecular.....	48
Figura 11 – Representação de <i>molecular docking</i>	50
Figura 12 – Fluxograma das etapas da metodologia aplicada.....	56
Figura 13 – Base dos derivados de fulerenos desenvolvidos nesta pesquisa.....	57
Figura 14 – Propostas de derivados de fulerenos.....	58
Figura 15 – Conversão de malation a malaaxon.....	59
Figura 16 – Imagem 2D dos pesticidas Ops em estudo.....	60
Figura 17 – Imagem 3D dos pesticidas Ops em estudo.....	61
Figura 18 – Calor de formação dos complexos.....	74
Figura 19 – Gráfico das energias de adsorção dos complexos.....	75
Figura 20 – Resultados da energia de <i>docking</i> entre os Ops e os derivados de fulereno.....	77
Figura 21 – Imagens dos complexos com menores energias de <i>docking</i>	78
Figura 22 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 0.....	80
Figura 23 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 1.....	81
Figura 24 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 2.....	83
Figura 25 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 3.....	84
Figura 26 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 4.....	86
Figura 27 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 5.....	87
Figura 28 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 6.....	89

Figura 29 – Menores distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ para cada proposta de derivado de fulereno.....	92
Figura 30 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 0, com as distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ e energias de <i>docking</i>	93
Figura 31 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 1, com as distâncias $O_{Ser} - P_{Op}$ e energias de <i>docking</i>	95
Figura 32 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 2, com as distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ e energias de <i>docking</i>	96
Figura 33 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 3, com as distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ e energias de <i>docking</i>	98
Figura 34 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 4, com as distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ e energias de <i>docking</i>	99
Figura 35 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 5, com as distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ e energias de <i>docking</i>	100
Figura 36 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 6, com as distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ e energias de <i>docking</i>	102
Figura 37 – Volume dos complexos entre propostas de derivados de fulerenos e pesticidas Ops.....	104
Figura 38 – Constante de inibição teórica (K_i) a partir da energia de <i>docking</i> entre pesticidas Ops e derivados de fulereno.....	108
Figura 39 – Valores de DL_{50} para pesticidas Ops.....	110
Figura 40 – Valores de DL_{50} para pesticidas Ops em estudo, exceto o malation...	110
Figura 41 – Correlação entre dados de DL_{50} oral dos Ops do artigo de Hamadache <i>et al.</i> (2015) e do sítio eletrônico PubChem.....	111
Figura 42 – Correlação entre dados de DL_{50} oral dos Ops do artigo de Hamadache <i>et al.</i> (2015) e do sítio eletrônico PubChem, com exceção do malation..	111
Figura 43 – Correlação entre valores de energia de <i>bandgap</i> dos Ops e DL_{50} experimental.....	113
Figura 44 – Comparação entre correlações de energia de <i>bandgap</i> x DL_{50} experimental e energia de <i>bandgap</i> x K_i teórico.....	114
Figura 45 – Comparação entre correlações de volume dos complexos x DL_{50} experimental e volume dos complexos x K_i teórico.....	115

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Classificação toxicológica de agrotóxicos baseada na DL ₅₀ e CL ₅₀ de formulações líquidas e sólidas.....	26
Tabela 02 – Resultados das propriedades estruturais eletrônicas dos pesticidas Ops em estudo.....	67
Tabela 03 – Resultados das propriedades estruturais eletrônicas dos derivados de fulerenos propostos.....	68
Tabela 04 – Propriedades estruturais eletrônicas dos complexos.....	70
Tabela 05 – Calor de formação dos complexos.....	73
Tabela 06 – Energias de adsorção dos complexos.....	75
Tabela 07 – Resultados das energias de <i>docking</i> entre os derivados de fulerenos propostos e os organofosforados em estudo.....	76
Tabela 08 – Distância entre oxigênio da serina das propostas de derivados de fulereno e o fósforo dos pesticidas Ops.....	91
Tabela 09 – Volume dos complexos.....	104
Tabela 10 – Valores das constantes de inibição (K _i) das propostas de derivados de fulerenos para cada organofosforado, a partir das energias de <i>docking</i>	106
Tabela 11 – Comparação de valores de DL ₅₀ experimental do artigo de Hamadache <i>et al.</i> (2015), DL ₅₀ das bulas dos produtos formulados, DL ₅₀ do sítio eletrônico PubChem e do sítio eletrônico EXTOWNET.....	109
Tabela 12 – Coeficientes de correlação entre a o valor de <i>bandgap</i> e o DL ₅₀ experimental, <i>bandgap</i> e o K _i teórico, volume dos complexos e DL ₅₀ experimental e volume dos complexos e K _i teórico.....	114

LISTA DE QUADROS

Quadro 01 – Ordem do desenvolvimento de inseticidas por gerações.....	20
Quadro 02 – Breve histórico do desenvolvimento de pesticidas organofosforados e sua relação com o desenvolvimento de armas de guerra química.....	23
Quadro 03 – Princípio ativo, fórmula bruta e nomenclatura IUPAC de algumas formulações de organofosforados.....	30
Quadro 04 – Resumo de propriedades físicas e números de identificação em bases de dados globais dos Ops em estudo.....	36
Quadro 05 – Características biológicas dos Ops em estudo.....	38
Quadro 06 – Resumo dos resultados teóricos sobre propriedades biológicas dos Ops em estudo.....	40
Quadro 07 – Resumo das etapas pré- <i>docking</i> para os derivados de fulereno.....	62
Quadro 08 – Resumo das etapas pré- <i>docking</i> para os pesticidas.....	63
Quadro 09 – Resumo das etapas de <i>docking</i> , geração de imagens e extração de propriedades estruturais eletrônicas.....	64
Quadro 10 – Resumo das etapas de geração de imagens e extração de propriedades estruturais eletrônicas dos complexos.....	65
Quadro 11 – Resumo dos resultados estruturais e eletrônicos para as propostas de derivados de fulereno.....	116
Quadro 12 – Resumo dos resultados estruturais e eletrônicos para os Ops.....	117

LISTA DE SIGLAS

- ACh – Acetilcolina
- AChE – Acetilcolinesterase
- AM1 – *Austin Model 1*
- BHE – Barreira hematoencefálica
- CAS – Código de uma molécula no *Chemical Abstracts Service*
- CL₅₀ – Concentração letal 50%
- DDT – Diclorodifeniltricloroetano
- DL₅₀ – Dose letal 50%
- EUA – Estados Unidos da América
- GA – Oetil- N,N-dimetil-fosforamido-cianidato
- GB – O-isopropil-metil-fosfono-fluoridato
- GD – Soman ou o-pinacolil-metil-fosfonofluoridato
- GI – Gastrintestinal
- Glu – Glutamato
- His – Histidina
- IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry*
- L.ha⁻¹ – Litros por hectare
- Log Po/w – Logaritmo do coeficiente de partição óleo/água
- mg.kg⁻¹ – Miligrama por quilograma
- mg.L⁻¹ – Miligrama por litro
- mmHg – Milímetros de mercúrio
- Op – Organofosforado
- PM7 – Parametric Method 7
- Ser – Serina
- SMILE – Tipo de código de identificação de moléculas
- SNC – Sistema Nervoso Central
- TEEP – Tetraetilpirofosfato
- TPSA – Área de superfície polar topológica
- VX – O-etil-S-[2- (diisopropilamino)etil]-metil-fosfonotioato

MARCAS E PROPRIEDADES

Há marcas comerciais e suas respectivas propriedades citadas no texto do trabalho. A ausência de algum nome caracteriza apenas uma falha não intencional pela qual nos desculpamos antecipadamente. As seguintes marcas comerciais são propriedades de seus respectivos detentores:

Agritoato 400 [®]	Marca registrada de NUFARM INDÚSTRIA QUÍMICA E FARMACÊUTICA S/A
Dimetoato 500 [®]	Marca registrada de NORTOX S.A.
Dimexion [®]	Marca registrada de Cheminova Brasil Ltda.
Perfekthion [®]	Marca registrada de BASF S.A.
Tiomet [®]	Marca registrada de Sipcam Nichino Brasil S.A.
Pirephos EC [®]	Marca registrada de Sumitomo Chemical do Brasil Representações Ltda.
CapatazBR [®]	Marca registrada de Ourofino Agrociência.
Clorpirifós Sabero 480C [®]	Marca registrada de Sabero Organics América S.A.
Nufos 480 EC [®]	Marca registrada de Cheminova Brasil Ltda.
Pitcher 480EC [®]	Marca registrada de Cheminova Brasil Ltda.
Pyrinex 480 EC [®]	Marca registrada de MILENIA AGROCIÊNCIAS S.A.
Record [®]	Marca registrada de Helm do Brasil.
Sabre [®]	Marca registrada de Dow AgroSciences Industrial Ltda.
Elsan [®]	Marca registrada de MITSUBISHI CORPORATION DO BRASIL S.A.
Acefato Nortox [®]	Marca registrada de NORTOX S.A.
Aquila [®]	Marca registrada de Cheminova Brasil Ltda.
Axor [®]	Marca registrada de Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.
Curyom [®]	Marca registrada de Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.
Malathion 1000 [®]	Marca registrada de Cheminova Brasil Ltda.
MALAOXON PESTANAL [®]	Marca registrada de Sigma-Aldrich Co. LLC.

SUMÁRIO

1	POSICIONAMENTO E ABORDAGEM DO PROBLEMA	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL.....	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3	ESTADO DA ARTE	19
3.1	DEFINIÇÃO DE AGROTÓXICOS.....	19
3.2	HISTÓRICO DO DESENVOLVIMENTO DOS AGROTÓXICOS.....	19
3.3	REVOLUÇÃO VERDE.....	24
3.4	CLASSIFICAÇÃO DOS PESTICIDAS QUANTO À TOXIDEZ A HUMANOS.....	25
3.5	ESTRUTURA DOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS.....	28
3.6	A ACETILCOLINA.....	31
3.7	A ACETILCOLINESTERASE.....	32
3.7.1	Inibição da acetilcolinesterase pelos organofosforados	34
3.8	PROPRIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DOS PESTICIDAS Ops.....	35
3.8.1	Discussão sobre propriedades físicas dos pesticidas Ops	37
3.9	PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DOS PESTICIDAS Ops.....	37
3.9.1	Isomeria e quiralidade	40
3.10	PROPRIEDADES ESTRUTURAIS ELETRÔNICAS.....	41
3.10.1	Energia de HOMO e LUMO	42
3.10.2	Potencial químico e dureza química	42
3.10.3	Energia de <i>bandgap</i> ou <i>gap</i> eletrônico	43
3.10.4	Energia de dipolo	43
3.10.5	Energia de adsorção	44
3.11	ALÓTROPOS DE CARBONO.....	45
3.11.1	Fulerenos	46
3.11.2	Derivados de fulerenos	46
3.12	QUÍMICA COMPUTACIONAL.....	47
3.12.1	Modelagem Molecular	47
3.12.1.1	Métodos semiempíricos.....	49
3.12.2	<i>Molecular docking</i>	50
3.13	CONSTANTE DE INIBIÇÃO (K_i)	51

3.14	ESTUDOS NA ÁREA.....	52
3.15	A MODELAGEM MOLECULAR COMO TECNOLOGIA SUSTENTÁVEL	53
4	METODOLOGIA.....	55
4.1	MONTAGEM DAS PROPOSTAS DE DERIVADOS DE FULLERENOS	57
4.2	SELEÇÃO DOS PESTICIDAS.....	58
4.3	OTIMIZAÇÃO SEMIEMPÍRICA.....	61
4.4	<i>MOLECULAR DOCKING</i>	63
4.5	IMAGENS DOS COMPLEXOS.....	65
4.6	DL ₅₀ e ENERGIA DE ADSORÇÃO.....	66
4.7	RECURSOS COMPUTACIONAIS.....	66
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
5.1	RESULTADOS DAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS ELETRÔNICAS DOS PESTICIDAS E DAS PROPOSTAS ISOLADAMENTE.....	67
5.1.1	O malation e a parationa metílica.....	69
5.2	RESULTADOS DAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS ELETRÔNICAS DOS COMPLEXOS.....	70
5.3	RESULTADOS DOS CALORES DE FORMAÇÃO.....	73
5.4	RESULTADOS DAS ENERGIAS DE ADSORÇÃO.....	74
5.5	RESULTADOS DAS ENERGIAS DE <i>MOLECULAR DOCKING</i>	76
5.5.1	Distância entre o oxigênio da serina e o fósforo do Op.....	90
5.5.2	Volume dos complexos.....	103
5.6	ESTIMATIVA TEÓRICA DA CONSTANTE DE INIBIÇÃO (K _i)	105
5.7	CORRELAÇÃO K _i X DL ₅₀	108
6	CONCLUSÕES.....	118
7	PERSPECTIVAS.....	120
	REFERÊNCIAS.....	121
	APÊNDICE A - Etapas pré-docking – preparo de receptor e ligante	128
	APÊNDICE B - Guia de criação do GRID.....	130
	APÊNDICE C - Etapas de Docking Molecular Utilizando o software AutoDock Tools.....	131
	APÊNDICE D - Guia de geração das imagens dos complexos com o software PyMOL.....	133
	APÊNDICE E - Algoritmo do arquivo ‘script.sh’.....	134
	APÊNDICE F - Algoritmo do arquivo ‘conf.txt’.....	135
	APÊNDICE G - Algoritmo do arquivo ‘vinscreengettop’.....	136

ANEXO A - DL ₅₀ oral e dérmica e CL ₅₀ de formulações dos pesticidas organofosforados em estudo.....	137
ANEXO B - Gráficos de correlações.....	140

1 POSICIONAMENTO E ABORDAGEM DO PROBLEMA

A utilização de pesticidas no Brasil, país de economia baseada na agricultura e no agronegócio, tem crescido nos últimos anos, mas gera números alarmantes de doenças e mortes aos usuários, bem como poluição de água, solo e ar. O Brasil está entre as dez maiores economias do mundo, sendo um grande produtor e exportador de mercadorias, principalmente *commodities* minerais, agrícolas e manufaturados. Todavia, atrelado à alta produtividade, o acentuado consumo de agrotóxicos foi o que transformou o Brasil em um dos líderes no mercado agrícola (CAVALCANTI, 2016).

No Brasil são utilizadas várias classes de agrotóxicos ou pesticidas, dentre elas a de compostos com um átomo de fósforo central, os organofosforados (Ops) (Santos *et al.*, 2007). Os Ops ou agentes dos nervos têm ação com impactos sérios à saúde humana, sendo seu principal alvo a enzima acetilcolinesterase (AChE), que controla as ações centrais e periféricas do neurotransmissor acetilcolina (ACh). Os Ops inibem irreversivelmente a AChE, que deixa de hidrolisar a ACh e leva a um acúmulo desta última nas sinapses, o que promove hiperestimulação colinérgica e resulta em perda do controle muscular, batimentos cardíacos irregulares, convulsões, depressão respiratória e morte (CAVALCANTI, 2016).

As contaminações ou 'envenenamentos' por pesticidas vêm sendo cada vez mais monitorados e estudados. Estima-se que existam mais de três milhões de casos de intoxicações por Ops e mais de 250.000 mortes por ano a partir de autointoxicações intencionais, o que representa 30% dos suicídios no mundo. A maioria das exposições ocorre em sociedades agrárias, onde os Ops estão facilmente disponíveis e a exposição tóxica pode ocorrer por inalação, via transdérmica ou por ingestão (CAVALCANTI, 2016).

Considerando o problema do extensivo uso de pesticidas no nosso país e o risco potencial associado a esse uso, bem como a dificuldade de captura de seus resíduos instantaneamente em campo, observou-se a demanda pelo desenvolvimento de uma tecnologia sustentável direcionada à captura de pesticidas no meio agrícola.

Com as facilidades computacionais e avanços tecnológicos disponíveis atualmente tornou-se possível simular o comportamento de moléculas em computador mais realisticamente, suas interações inter e intramoleculares, além das reações químicas envolvidas. Isso pode ser feito através de técnicas de modelagem molecular empregando métodos quânticos, semiempíricos e de mecânica molecular (GONÇALVES, 2009).

No desenvolvimento deste trabalho foram empregadas técnicas de edição de moléculas tridimensionais e otimização estrutural utilizando métodos semiempíricos (PM7), modelagem comparativa e atracamento molecular para prever *in silico* a energia de interação entre pesticidas Ops e moléculas cujo sítio ativo mimetiza o alvo no corpo humano dos organofosforados: o da AChE, visando o desenvolvimento de potenciais sensores, de alta afinidade e especificidade. Desta forma, pretende-se descrever em nível molecular a interação de alguns Ops com as moléculas propostas, derivadas de fulerenos, captadoras de pesticidas, para que futuros trabalhos de pesquisa possibilitem sintetizá-las e testá-las no meio agrícola.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter, computacionalmente, derivados de fulerenos com grande potencial retentor de pesticidas organofosforados para que futuros trabalhos de pesquisa possam sintetizá-los e testá-los no meio agrícola.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Construir, em programas de edição molecular, derivados de fulerenos com valências aromáticas substituídas por cadeias laterais de aminoácidos específicos da tríade catalítica da enzima acetilcolinesterase;
- Construir, utilizando programas de edição molecular, alguns dos pesticidas mais nocivos usados pelos agricultores em nosso país;
- Obter, computacionalmente, utilizando programas de modelagem molecular, propriedades termodinâmicas dos derivados de fulerenos, planejados neste trabalho, além dos pesticidas, por métodos semiempíricos;
- Calcular as energias de interação entre os pesticidas e os derivados de fulerenos, pela técnica de atracamento molecular ou *molecular docking*, utilizando os programas *AutoDock Tools* e *AutoDock Vina*;
- Obter, por métodos semiempíricos, propriedades estruturais eletrônicas dos complexos formados pelos derivados de fulerenos mais os pesticidas, que se correlacionem com os valores experimentais da dose letal/massa corpórea dos pesticidas;
- Estimar os valores de constante de inibição (K_i) dos pesticidas a partir dos valores de calor de interação por *molecular docking*;
- Estimar a energia de adsorção entre os derivados de fulerenos e os pesticidas, utilizando métodos semiempíricos.

3 ESTADO DA ARTE

3.1 DEFINIÇÃO DE AGROTÓXICOS

De acordo com a lei brasileira nº 7802/89 a definição de agrotóxicos é dada por:

Produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos.

Segundo informações contidas no sítio eletrônico da Anvisa (2017), os termos *pesticida*, *praguicida* e *defensivos agrícolas* também são utilizados. “A palavra está associada ao setor que a emprega: por exemplo, as empresas de agrotóxicos preferem utilizar *defensivos agrícolas* já que na visão deles os produtos são utilizados com o objetivo de proteger a produção agrícola”. A Anvisa usa a palavra *agrotóxicos*, que traduz bem os riscos potenciais do produto e alerta os trabalhadores e a população. *Praguicida* é derivado de *plaguicida*, denominação utilizada pelos países de língua espanhola e *pesticida* tem como equivalente o termo *pesticide*, utilizado na língua inglesa.

3.2 HISTÓRICO DO DESENVOLVIMENTO DOS AGROTÓXICOS

O surgimento dos agrotóxicos tem relação direta com as pesquisas de armas de guerra química. De forma didática o histórico do desenvolvimento dos agrotóxicos pode ser dividido em gerações. A primeira geração tem registros de utilização de compostos como ácido arsênico e o cianeto de hidrogênio em 1860, para o controle de pragas como fungos, insetos e bactérias. A segunda geração envolveu o uso de compostos orgânicos sintéticos (ZACHARIA, 2011) como o DDT (diclorodifeniltricloroetano), Sharardan, permetrina, dentre outros. Na sequência, a terceira geração foi a de inseticidas biológicos e feromônios, e então a quarta e quinta, com hormônios e anti-hormônios. Um breve resumo está no quadro 01.

Quadro 01 – Ordem do desenvolvimento de inseticidas por gerações

INSETICIDAS DE PRIMEIRA GERAÇÃO	
Inorgânicos	Enxofre, arsênico, fluoreto e ácido bórico
Orgânicos vegetais	Nicotina, piretrinas naturais, rotenona
Orgânico minerais	Óleos minerais
INSETICIDAS DE SEGUNDA GERAÇÃO – orgânicos sintéticos	
Clorados	DDT, aldrin, dodecacloro, BHC
Fosforados*	Diazinon, dichlorvos, DDPV, Sharardan
Carbamatos (não sistêmicos)	Propoxur, bendiocarb, etc.
Piretróides	Deltametrina, permetrina, cypermctrina, cyfluthrin, etc.
INSETICIDAS DE TERCEIRA GERAÇÃO	
Biológicos	Fungos, bactérias e vírus
Feromônios	Goosyplure, grandlure, muscanone
INSETICIDAS DE QUARTA GERAÇÃO	
Hormônios e inibidores de crescimento	Diflubenzuron, methoprene, ciromazina, hydroprene e juvabiona
INSETICIDAS DE QUINTA GERAÇÃO	
Anti-hormônios	Vegetal – precocenos e microorganismos lactonas (avermectin)

* Precusores dos pesticidas em estudo.

Fonte: Elaborado pelo autor adaptado de Carneiro (2015)

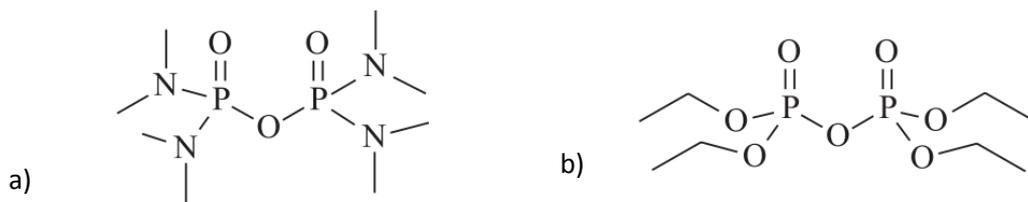
O primeiro pesticida orgânico sintético importante foi o DDT, produzido pelo cientista alemão Ziedler, em 1873, e seu efeito inseticida descoberto por um químico suíço, Paul Muller, em 1939. Nos seus primeiros dias o DDT foi saudado como um milagre devido à sua atividade de amplo espectro, persistência, insolubilidade, baixo custo e facilidade de aplicação. Após o sucesso, outros produtos químicos foram sintetizados para tornar esta era o que Rachel Carson, em seu livro *The Silent Spring*, descreveu como a era de "chuva de produtos químicos" (ZACHARIA, 2011). Assim como o DDT, os compostos organofosforados (Ops) também são da segunda geração, e constituem uma grande e diversificada classe de produtos químicos.

Os ésteres de Op foram descobertos como tóxicos para as pessoas em 1932, quando Lange e Kruger descreveram a síntese de fosfluoridrato de dimetil e dietil e relataram que a inalação de seus vapores produziram escuridão da visão e uma sensação de sufocamento (MANGAS *et al.*, 2016).

Ainda na década de 30, devido à necessidade de aumentar a produção de alimentos estimulou a pesquisa de novos compostos com ação inseticida. Em particular, o cientista alemão Gerhard Schrader, do laboratório I.G. Farben, sintetizou em 1936 o oetil- N,N-dimetil-fosforamido-cianidato (conhecido como Tabun ou pelo código GA), que apresentava uma toxidez aos mamíferos alta demais para permitir o seu emprego comercial como pesticida. Dois anos depois, Schrader sintetizou o o-isopropil-metil-fosfono-fluoridato (conhecido como Sarin ou pelo código GB), ainda mais tóxico que o Tabun. O interesse pela síntese destes agentes foi tão grande que em 1944 o alemão Richard Kuhn sintetizou o o-pinacolil-metil-fosfonofluoridato (soman ou GD), com toxidez relativa ainda mais alta que o Sarin (GONÇALVES, 2009).

A aplicação industrial e comercial de compostos Ops na agricultura começou com Schrader e colaboradores que descobriram, em 1941, o inseticida octametilpirofosforamida, chamado de Sharardan (figura 01). Depois deste, um grande número de inseticidas ésteres organofosforados também foram descobertos, incluindo o primeiro com práticas inseticidas chamado de Bladan, que continha tetraetilpirofosfato, ou TEEP, cuja fórmula segue também na figura 01 (Santos *et al.*, 2007).

Figura 01 – Primeiros compostos organofosforados de uso industrial, a) Sharardan e b) tetraetilpirofosfato (TEPP)



Fonte: Santos *et al.* (2007)

Na década de 50 mais um composto organofosforado foi desenvolvido pelos ingleses para uso como pesticida. Conhecido como Amilton, revelou-se tóxico demais para emprego comercial, mas uma modificação química dele levou à descoberta do primeiro agente da chamada série V, o VX (o-etil-S-[2-(diisopropilamino) etil]-metil-fosfonotioato). Os agentes da série V apresentavam, ao contrário da série G (Tabun, Sarin e soman), baixa volatilidade e uma toxidez por absorção cutânea quase igual à toxidez por inalação. Dessa forma, a produção de agrotóxicos se mistura com a pesquisa por armas de guerra química. Sarin e VX eram os agentes neurotóxicos padrões dos EUA para guerras. A produção se tornou atraente para países que pretendiam iniciar um programa de desenvolvimento de armas químicas (GONÇALVES, 2009).

No decorrer do tempo os agentes neurotóxicos da série G continuaram a ser padronizados para uso em munições químicas e estocados em grandes quantidades por vários países (GONÇALVES, 2009). O quadro 02 resume alguns eventos históricos de uso de armas de guerra química, cujo desenvolvimento foi atrelado aos pesticidas organofosforados.

Quadro 02 – Breve histórico do desenvolvimento de pesticidas organofosforados e sua relação com o desenvolvimento de armas de guerra química

ANO	EVENTO
1820	Início dos estudos dos pesticidas organofosforados, por Lassaigne, com a esterificação do ácido fosfórico (Santos <i>et al.</i> , 2007).
1854	Síntese do primeiro composto organofosforado, tetraetilpirofosfato (TEPP) (Nurulain, 2011).
1873	Síntese do DDT, pesticida orgânico sintético, por Ziedler. Seu efeito inseticida foi descoberto em 1939 por Paul Muller (Zacharia, 2011).
1915	Utilização de armas químicas na 1ª Guerra Mundial (Colasso e Azevedo, 2011).
1932	Lange e Kruger descreveram a síntese de ésteres de fosfato, tóxicos para humanos (Mangas <i>et al.</i> , 2016).
1936	Primeiro agente dos nervos organofosforado produzido: Tabun. (Nurulain, 2011).
1938	Outro agente dos nervos do grupo dos organofosforados foi desenvolvido: Sarin (Nurulain, 2011).
1941	Schrader e colaboradores descobriram o inseticida octametilpirofosforamida, ou sharardan. (Santos <i>et al.</i> , 2007).
1944	O terceiro composto neurotóxico foi desenvolvido na Alemanha, nomeado soman (Nurulain, 2011).
1957	VX, outro agente dos nervos, do mesmo grupo é desenvolvido no Reino Unido e tornado arma pelos americanos (Nurulain, 2011).
1983-84	Tropas iraquianas usam o Tabun contra soldados iranianos durante a guerra (Nurulain, 2011).
1988	Sarin foi usado no Iraque, por tropas iraquianas contra os Curdos (Nurulain, 2011).
1991	Acredita-se que tropas aliadas foram expostas ao Sarin na Guerra do Golfo (Nurulain, 2011).
1994	Em Matsumono (Japão) um ataque terrorista com Sarin foi relatado causando sete mortes e mais de 300 feridos (Nurulain, 2011).
1994-95	Tentativa de assassinato com VX em Osaka, no Japão (Nurulain, 2011).
1995	Um ataque terrorista de Sarin foi reportado no metrô de Tóquio, no Japão, causando 12 mortes e milhares de feridos (Nurulain, 2011).
2013	Uso de Sarin em ataque na Síria, que resultou em inúmeras mortes (BBC, 2013).
2017	O agente químico gás Sarin foi usado em um ataque na cidade de Khan Sheikhun, na Síria (O Globo, 2017).
2017	Morte do irmão do imperador norte coreano em um aeroporto da Malásia por um ataque utilizando o agente VX (O Globo, 2017).
2017	Ataque químico na Síria com uso de Sarin matou pelo menos 86 pessoas e feriu mais de 550 vítimas (O Globo, 2017).

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

A vertente da indústria química não foi a única que impulsionou o desenvolvimento dos agrotóxicos, também a Revolução Verde, pela preocupação com a demanda mundial por alimentos.

3.3 REVOLUÇÃO VERDE

A Revolução Verde foi um movimento agrícola mundial que começou no México, em 1944, com objetivo primário de aumentar a produção de grãos no mundo. Ela envolveu três aspectos principais das práticas agrícolas, entre elas o uso de pesticidas. Após o sucesso no México, a Revolução Verde espalhou-se pelo mundo. Conforme Vocke (1986 apud ZACHARIA, 2011). O controle de pragas sempre foi importante na agricultura, mas este movimento em particular precisou de mais insumos de pesticidas do que os sistemas agrícolas tradicionais, porque a maioria das variedades de alto rendimento não eram amplamente resistentes a pragas e doenças e, em parte, devido ao sistema de monocultura.

No Brasil, para efetivação do movimento teve papel fundamental o Sistema Nacional de Crédito Rural, em 1965, que vinculava a obtenção de crédito agrícola à obrigatoriedade da compra de insumos químicos. Também a criação do II Programa Nacional de Desenvolvimento em 1975, que disponibilizou recursos financeiros para a criação de empresas nacionais produtoras de agrotóxicos e instalação de subsidiárias de empresas transnacionais de insumos agrícolas (LONDRES, 2011).

Sobre a venda de agrotóxicos deve-se destacar o impacto da liberação de sementes de transgênicos no Brasil, pois a maioria dessas sementes é adaptada ao uso de algum agrotóxico. O país hoje tem a segunda maior área cultivada com transgênicos no mundo (CARNEIRO, 2015).

Considerando o peso da indústria química, da Revolução Verde e a resistência criada pelos insetos pelo uso contínuo em monoculturas, os números do crescimento do mercado de agroquímicos tornam-se justificáveis. Desde 2008 o Brasil ocupa o lugar de maior consumidor de agrotóxicos do mundo (CARNEIRO, 2015), com 19% do consumo mundial (MANGAS *et al.*, 2016). O uso de pesticidas vem aumentando em relação à área plantada, passou de 10,5 litros por hectare ($L \cdot ha^{-1}$) em média em 2002 para 12,0 $L \cdot ha^{-1}$ em 2011 (ABRASCO, 2012), um crescimento médio de 20%.

No cenário brasileiro, o Espírito Santo tem representatividade quanto ao uso de pesticidas por área, visto ser um estado de espaço territorial reduzido comparado a grandes consumidores como Paraná, São Paulo e Minas Gerais.

Os pesticidas englobam grande gama de produtos e formulações, então é importante classificá-los para a sistematização do estudo.

3.4 CLASSIFICAÇÃO DOS PESTICIDAS QUANTO À TOXIDEX A HUMANOS

Os tipos de intoxicação por agrotóxicos a humanos variam de acordo com a forma de contato, dosagem, tempo de exposição, tipo de produto, dentre outros (VALENTE, 2012). A toxidez pode ser medida por absorção cutânea, ingestão ou inalação. As vias respiratória e cutânea são as formas mais comuns nos casos acidentais. A via digestiva é mais comum nos casos de tentativa de suicídio, e na ingestão de água e alimentos contaminados (BARTH e BIAZON, 2010).

Algumas propriedades facilitam a predição da velocidade de absorção dos produtos, como a alta volatilidade e lipofilicidade, que facilitam a rápida penetração de pesticidas pelas vias aérea e tópica. Além disso, a lipofilicidade os torna aptos a atravessarem a barreira hematoencefálica (BHE) e produzirem toxidez também no sistema nervoso central (MANGAS *et al.*, 2016). Quando ingeridos, são comuns taxas de absorção na ordem dos 70% ou ainda superiores e já foram encontrados em fluídos como soro, mucosas cervicais, esperma e leite materno. Se forem aplicados ou ingeridos juntamente com solventes orgânicos a absorção é ainda mais rápida (VALENTE, 2012).

A medida de periculosidade utilizada para doses orais ou dérmicas é o DL₅₀, que corresponde à dose capaz de matar 50% da população exposta a determinado produto. Para a verificação da toxidez por inalação usa-se um parâmetro análogo, a concentração letal 50% (CL₅₀, em mg.L⁻¹) após a exposição por um período de 4 horas. Contudo DL₅₀ e CL₅₀ são limitados no seu significado, pois a extrapolação para humanos permitem apenas ter noção da segurança e toxidez do agente tóxico (VALENTE, 2012). A tabela 01 detalha a classificação toxicológica de agrotóxicos de acordo com as quantidades, as vias de contato e a forma física do produto.

Tabela 01 – Classificação toxicológica de agrotóxicos baseada na DL₅₀ e CL₅₀ de formulações líquidas e sólidas

CLASSE	TOXIDEZ	DL ₅₀ oral (mg.kg ⁻¹)		DL ₅₀ dérmica (mg.kg ⁻¹)		CL ₅₀ inalatória (mg.L ⁻¹)
		Líquido	Sólido	Líquido	Sólido	
I	Extremamente	≤ 20	≤ 5	≤ 40	≤ 10	≤ 0,2
II	Altamente	20-200	5-50	40-400	10-100	0,2-2,0
III	Medianamente	200-2000	50-500	400-4000	100-1000	2,0-20,0
IV	Pouco tóxico	>2000	>500	>4000	>1000	>20

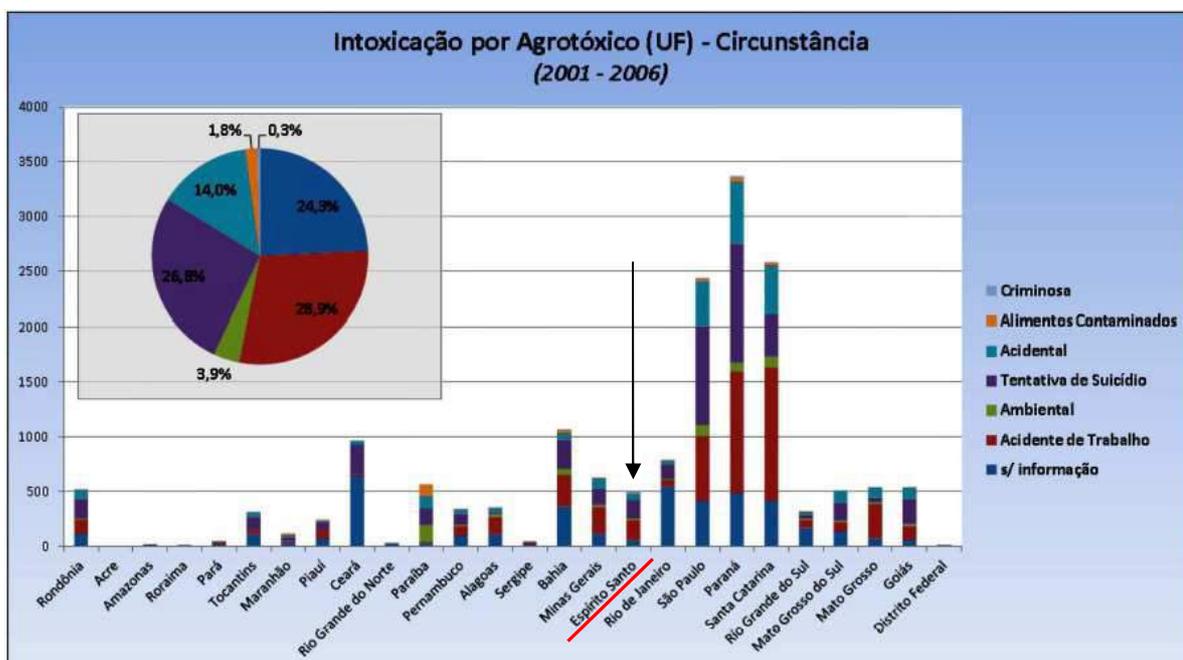
Sendo: DL= dose letal; CL= concentração letal. DL₅₀ oral e dérmica em mg.kg⁻¹

Fonte: AMARAL (2007)

Com base na tabela 01 é possível classificar os Ops como classe I ou extremamente tóxicos. Atualmente os pesticidas estão disponíveis no mercado com concentrações diversas. O anexo A detalha algumas formulações, com as concentrações e valores de DL₅₀ e CL₅₀ disponíveis nas bulas dos produtos e nas bases de dados PubChem (<https://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov/>), vinculada ao NIH, que é a Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA, e EXTOKNET (<http://extoknet.orst.edu/>), base de dados de cooperação de algumas universidades americanas, mas é mantida e arquivada na Universidade do Estado do Oregon – EUA.

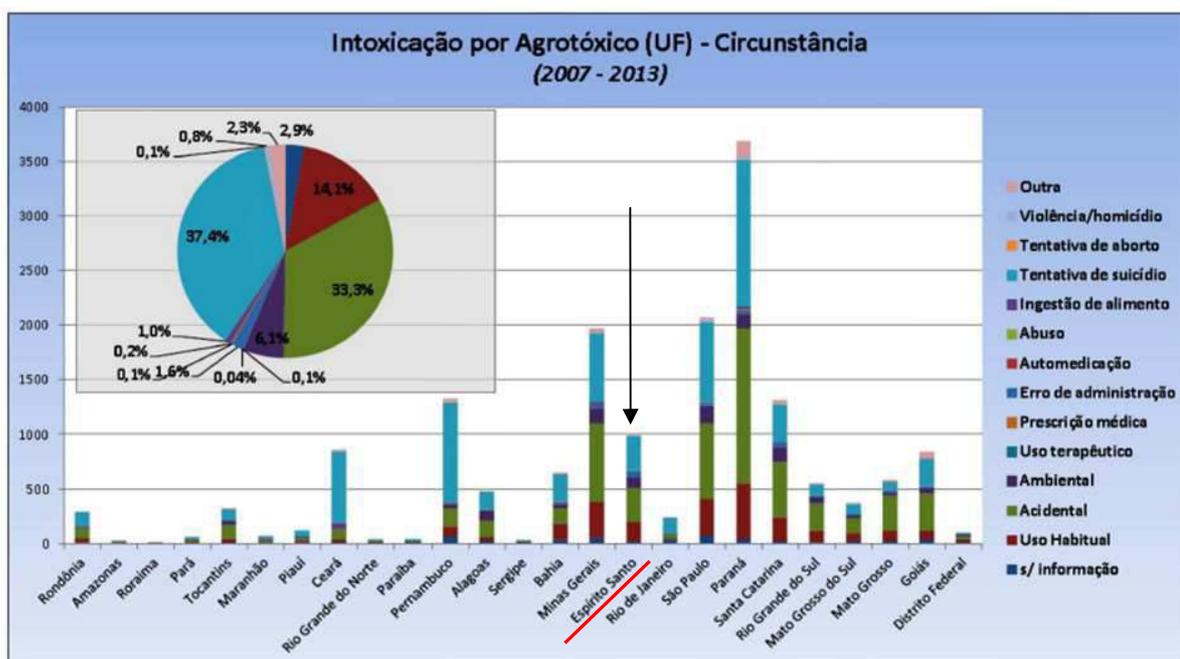
Em um levantamento divulgado pelo Ministério da Saúde foi possível compreender a distribuição de intoxicações por agrotóxico e por estado brasileiro até o ano de 2013, conforme figuras 02 e 03.

Figura 02 – Distribuição da intoxicação por agrotóxicos, por circunstância e por estado brasileiro de 2001 a 2006



Fonte: BOMBARDI (2016). Grifo da autora.

Figura 03 – Distribuição da intoxicação por agrotóxicos, por circunstância e por estado brasileiro de 2007 a 2013



Fonte: BOMBARDI (2016). Grifo da autora.

Diante dos dados das figuras 02 e 03 é possível identificar um aumento de cerca de 100% no número de intoxicações no estado do Espírito Santo do primeiro período (2001 a 2006) para o segundo (até 2013). Sobre os demais estados, Ceará, Minas Gerais e Pernambuco também tiveram um aumento significativo. São Paulo e Paraná em ambos os períodos apresentam números altos de intoxicações. Vale destacar que o fator 'área geográfica' é bem diferente dentre os estados e interfere na taxa por habitante. Dentre os estados que tiveram aumento no número de intoxicações, o Espírito Santo é o menor, geograficamente, com área correspondente à metade da área de Pernambuco, um quarto (1/4) da área do Paraná, um quinto (1/5) da área de São Paulo e um doze avos (1/12) da área de Minas Gerais.

No período de 2001 a 2013 foram contabilizados mais de 25 mil intoxicações por agrotóxicos, o que significa uma média de 3125 por ano, ou 8 intoxicações diárias. Cabe esclarecer que para cada caso notificado, estima-se 50 não notificados (BOMBARDI, 2017). Além do que, os casos crônicos originados pela exposição em longo prazo a estes compostos dificilmente são divulgados (MANGAS *et al.*, 2016).

É importante frisar que após 2006 o detalhamento no tipo de notificações permitiu identificar com mais nitidez o número de casos de suicídios por uso de agrotóxicos. Como a classe não existia antes desse ano os casos não eram evidenciados. Apenas no ano de 2013 o Ministério da Saúde contabilizou 1796 casos de tentativas de suicídio com agrotóxicos agrícolas no Brasil (BOMBARDI, 2017), o que demonstra a importância de estudos sobre os agrotóxicos e o desenvolvimento de tecnologias e soluções na prevenção de óbitos dessa natureza. Quando comparado ao número total de notificações, as tentativas de suicídio chegam a cerca de 40% no Paraná e, em estados como Ceará e Pernambuco, esse número sobe para mais de 70% (BOMBARDI, 2017).

3.5 ESTRUTURA DOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS

Há uma extraordinária variedade de cadeias laterais que podem ser ligadas ao átomo de fósforo dos Ops (DELFINO, RIBEIRO e FIGUEROA-VILLAR, 2009). Esses pesticidas consistem em ésteres ou tióis derivados do ácido fosfórico, fosfônico,

fosfínico ou fosforamídico, com um átomo central de fósforo pentavalente e grupos arila ou alquila ligados diretamente a este, formando fosfinatos, ou através de um átomo de oxigênio ou de enxofre, formando fosfatos, fosforotioatos, fosfonotioatos e fosfonatos (PETRONILHO, PINTO e VILLAR, 2011).

Alguns exemplos de pesticidas Ops em comercialização incluem o acefato, cadusafós, clorpirifós, dimetoato, fenitrotona, fentoato, malation, malaixon, parationa metílica e terbufós, bem como combinações entre eles. O quadro 03 traz alguns Ops que são princípio ativo de produtos agrícolas, com suas fórmulas químicas e código de identificação no sistema do PubChem.

Quadro 03 – Princípio ativo, fórmula bruta e nomenclatura IUPAC de algumas formulações de organofosforados

	PRINCÍPIO ATIVO	PubChem CID	Nomenclatura IUPAC	FÓRMULA BRUTA
1	Acefato	1982	O,S-dimetil acetilfosforamidotioato	C ₄ H ₁₀ NO ₃ PS
2	Cadusafós	91752	2-[butano-2-ilsulfanil(etoxi)fosforil]sulfanilbutano	C ₁₀ H ₂₃ O ₂ PS ₂
3	Clorpirifós	2730	O,O-dietil O-3,5,6-tricloro-2-piridil fosforotioato	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS
4	Dimetoato	3082	O,O-dimetil S-metilcarbamilmetil fosforotioato	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂
5	Esfenvalerato+ fenitrotiona	10342051 e 31200	Esfenvalerato (GRUPO QUIMICO: piretróide) (S)-alfa-ciano-3-fenoxibenzil (S)-2-(4clorofenil)-3-metilbutirato Fenitrotiona (GRUPO QUIMICO: organofosforado) O,O-dimetil O-4-nitro-m-toluil fosforotioato	C ₂₅ H ₂₂ CINO ₃ + C ₉ H ₁₂ NO ₅ PS
6	Fenitrotiona	31200	O,O-dimetil O-4-nitro-m-toluil fosforotioato	C ₉ H ₁₂ NO ₅ PS
7	Fentoato	17435	S-alfa-etoxicarbonilbenzil O,O-dimetil fosforoditioato ou etil dimetoxifosfinotioiltio(fenil)acetato	C ₁₂ H ₁₇ O ₄ PS ₂
8	Malation	4004	dietil (dimetoxitiofosforil)tiosuccinato	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂
9	Malaoxon	15415	dietil 2-dimetoxifosforilsulfanilbutanodioato	C ₁₀ H ₁₉ O ₇ PS
10	Parationa Metílica	4130	O,O-dimetil O-4-nitrofenil fosforotioato	C ₈ H ₁₀ NO ₅ PS
11	Terbufós	25670	S-tert-butiltiometil O,O-dietil fosforoditioato	C ₉ H ₂₁ O ₂ PS ₃

Fonte: Elaborado pela autora adaptado de Pubchem (2017)

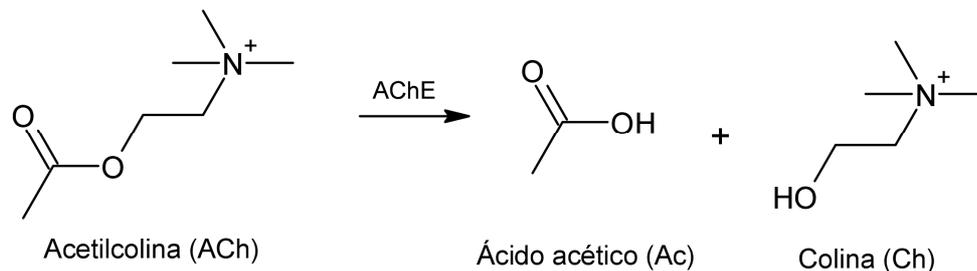
Os organofosforados são inibidores irreversíveis da acetilcolinesterase e provocam efeitos tóxicos sobre os diferentes sistemas dos seres vivos expostos (ABRASCO, 2012).

3.6 A ACETILCOLINA

A acetilcolina (ACh) é um mediador químico necessário para transmissão de impulsos nervosos tanto no sistema nervoso central como no periférico (CALDAS, 2000).

Para que a ACh exerça sua função corretamente ela deve ser removida ou inativada de acordo com as demandas de tempo para cada resposta sináptica específica. A enzima acetilcolinesterase (AChE) recolhe a ACh e realiza uma forte modificação na sua estrutura molecular convertendo-a em colina (Ch), um processo de hidrólise conforme equação da figura 04. A colina é reabsorvida pelo neurônio para ser reconvertida em ACh (PETRONILHO, PINTO e VILLAR, 2011).

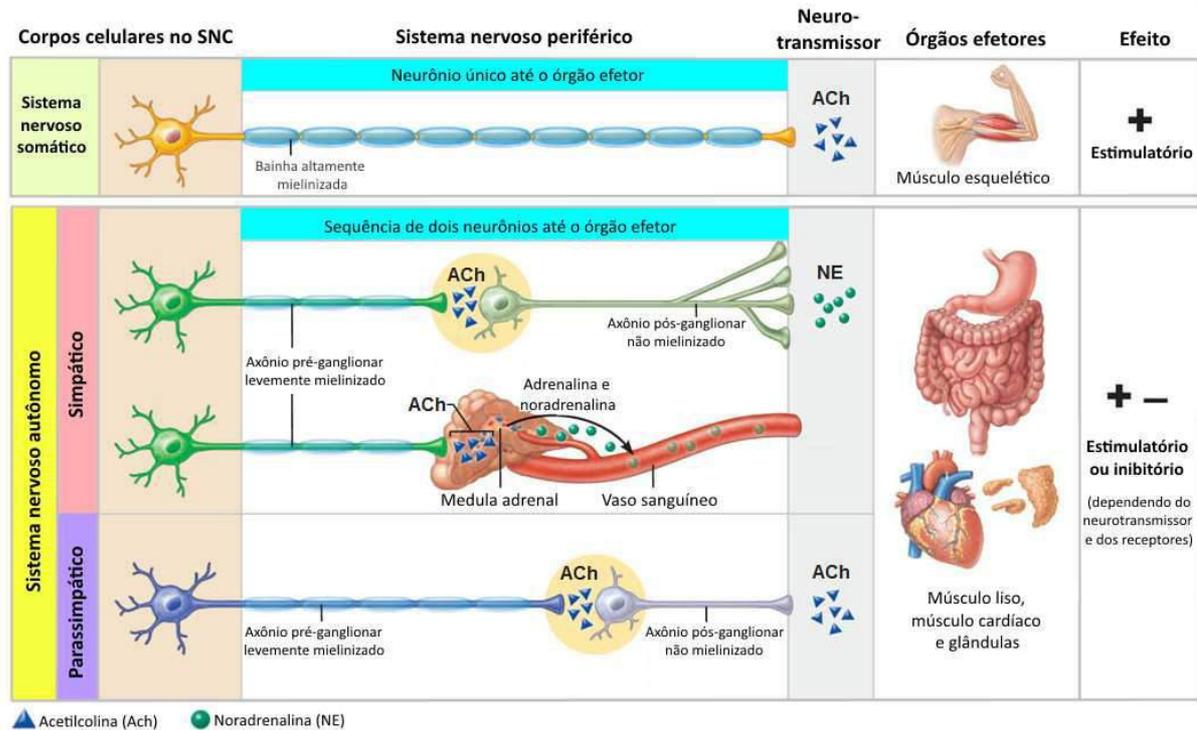
Figura 04 – Hidrólise da ACh pela AChE



Fonte: Elaborado pelo autor (2018)

A ACh é sintetizada em uma reação de única etapa pela enzima colina acetiltransferase (COLOVIC *et al.*, 2013). No corpo humano ela atua em todas as fibras pré-ganglionares do sistema nervoso autônomo (SNA), todas as fibras parassimpáticas pós-ganglionares, algumas fibras simpáticas pós-ganglionares, é também o transmissor neuro-humoral do nervo motor do músculo estriado (placa mioneural) e algumas sinapses interneurais do sistema nervoso central (SNC) (CALDAS, 2000), conforme resumo da figura 05.

Figura 05 – Papel da acetilcolina no sistema nervoso central e periférico



Fonte: Elaborado pelo autor adaptado de LAMOREA (2013).

A ACh é formada na região terminal dos neurônios, chamada de axônio terminal, conforme representado na figura 05. Ela vem armazenada em vesículas, é liberada para a região sináptica, onde é atraída pelos receptores colinérgicos, que estão localizados no próximo neurônio. (PETRONILHO, PINTO e VILLAR, 2011). Quando a ACh interage com os receptores deve ser removida para haver pausa na transmissão. Isso é possível pela ação da AChE.

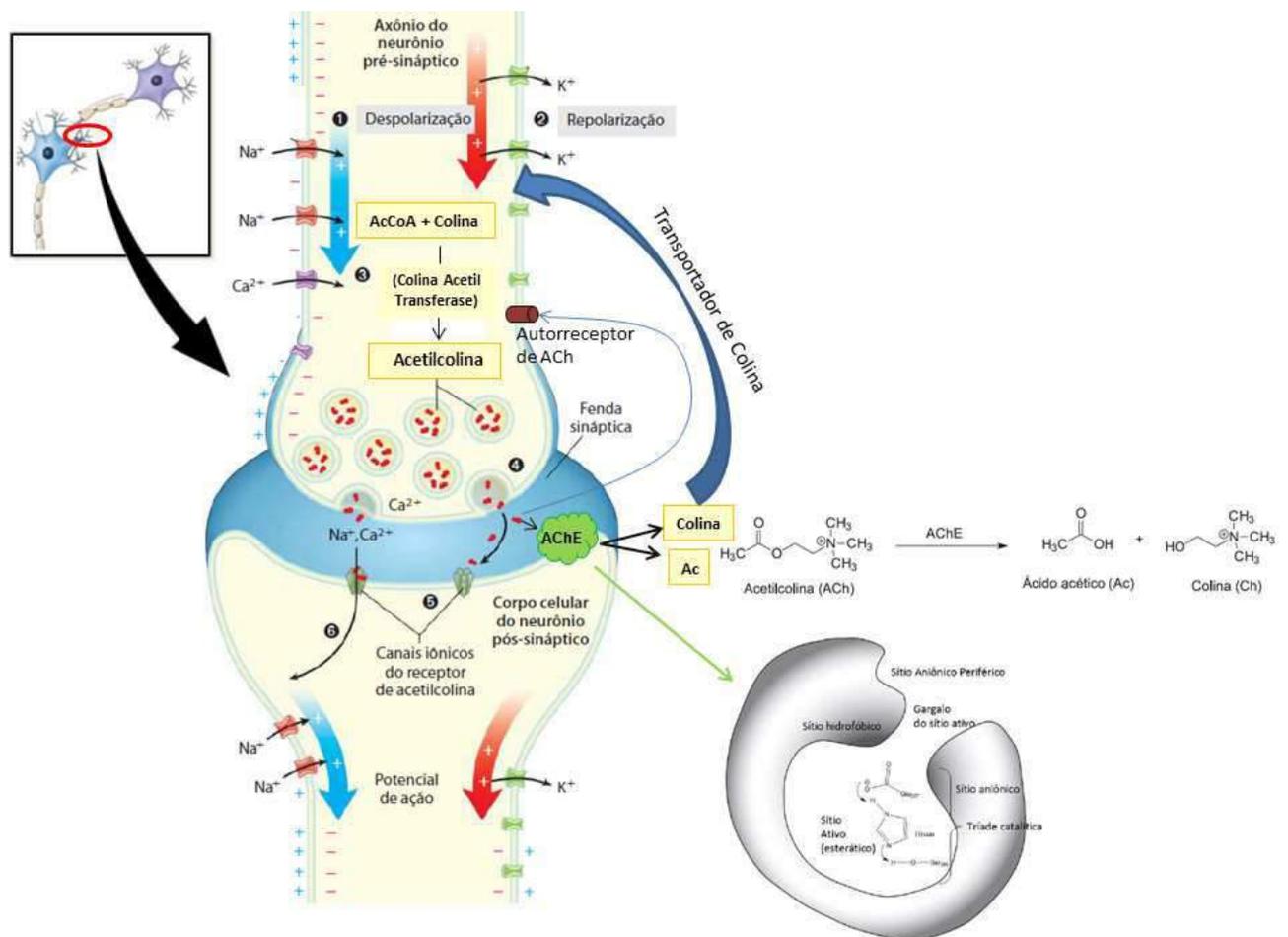
3.7 A ACETILCOLINESTERASE

A acetilcolinesterase, por sua função chave de hidrólise da ACh, é alvo molecular em contaminações por agentes neurotóxicos, pesticidas, venenos de cobras e também no tratamento com fármacos antiParkinson (GONÇALVES, 2009).

Em escala celular, a transmissão do impulso nervoso ocorre quando um estímulo a um neurônio pré-sináptico produz um potencial de ação que se move ao longo do axônio, distante do corpo celular. Quando a onda de despolarização alcança a extremidade do axônio, os canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem se abrem, o

que desencadeia a liberação de acetilcolina na fenda sináptica. A ACh interage então com os receptores colinérgicos. O sinal elétrico passa, dessa forma, para o corpo celular do neurônio pós-sináptico (NELSON, 2014). Neste momento, a AChE hidrolisa rapidamente a ACh e interrompe a transmissão do impulso nervoso (DELFINO, RIBEIRO e FIGUEROA-VILLAR, 2009) e este mecanismo foi esquematizado na figura 06.

Figura 06 – Esquema de transmissão do impulso nervoso mediado pela ACh



Fonte: Elaborado pelo autor adaptado de Valente (2012), Petronilho, Pinto e Villar (2011) e Nelson (2014).

É importante destacar que se não houver uma pausa da transmissão nervosa em determinados instantes poder-se-á ter uma super transmissão de impulsos nervosos, gerando uma hiperestimulação colinérgica ou síndrome colinérgica, com consequências drásticas como batimento cardíaco e respiração irregulares até uma

parada respiratória central, levando o indivíduo à morte devido à síndrome colinérgica (GONÇALVES, 2005).

O detalhamento do sítio alvo dos pesticidas Ops e o mecanismo de ação que é bloqueado pela intoxicação é importante para a predição de uma estrutura que seja capaz de interromper esse efeito.

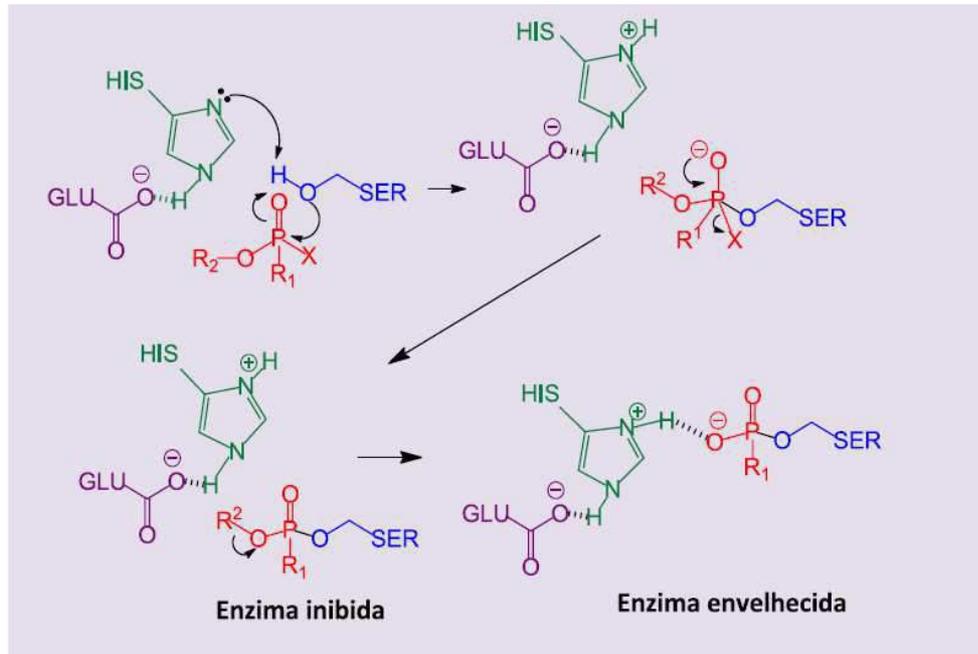
3.7.1 Inibição da acetilcolinesterase pelos organofosforados

Os Ops têm grande afinidade pela enzima AChE (Ordentlich 2004 apud PETRONILHO, PINTO e VILLAR, 2011). Estes, quando presentes, mimetizam a acetilcolina e ligam-se ao centro esteárico (ativo) da acetilcolinesterase e envolvem-se numa reação idêntica à sofrida pela ACh (VALENTE, 2012).

Em termos químicos, o acúmulo de acetilcolina é devido à inibição irreversível da enzima AChE, cuja tríade catalítica é composta por resíduos dos aminoácidos serina, glutamato e histidina (AChE humana: Ser203, Glu334 e His447; AChE *Torpedo californica*: Ser200, Glu327 e His440), a qual é reconhecida como a principal unidade funcional. A inibição pelo Op no sítio esteárico ocorre com a ligação covalente do átomo de oxigênio da serina ao átomo de fósforo do Op (MANGAS *et al.*, 2016). O passo da hidrólise de acetilcolina ocorre muito rapidamente, cerca de 25000 moléculas degradadas por segundo, mas quando a enzima se encontra fosforilada a hidrólise pode demorar dias (VALENTE, 2012), devido à formação de ligações covalentes.

A inibição da AChE pelo Op pode conduzir também ao envelhecimento da enzima devido a uma reação de desalquilação do Op ligado à enzima, conforme figura 07. Esta etapa resulta da ligação hidrogênio entre o resíduo da histidina da tríade catalítica protonado e o átomo de oxigênio do inibidor, produzindo uma inibição irreversível (MANGAS *et al.*, 2016). A velocidade do envelhecimento varia de Op para Op e a janela terapêutica é determinada pelo tempo de meia vida de envelhecimento (Worek *et al.* apud GONÇALVES, 2009).

Figura 07 – Esquema da inibição e envelhecimento da AChE por Ops



Fonte: MANGAS *et al.* (2016)

Para reativar a enzima inibida, geralmente empregam-se substâncias conhecidas como oximas, que conseguem retirar o grupo organofosforado da Ser203. Essa reação somente é possível se ainda não tiver ocorrido o envelhecimento. Uma das principais oximas e a mais utilizada é a pralidoxima (Eddleston *et al.* Kuca *et al.* apud GONÇALVES, 2009).

3.8 PROPRIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DOS PESTICIDAS Ops

Dentre as principais propriedades físicas dos Ops estão o ponto de ebulição, pressão de vapor, densidade, viscosidade e solubilidade em água. Sobre as propriedades químicas destes, merecem destaque a dose letal por contato (com a pele e por ingestão) e a inalatória, DL_{50} e CL_{50} respectivamente. Os dados de literatura sobre os organofosforados em estudo, disponíveis na tabela 01, foram utilizados para comparação com valores de energias obtidas neste trabalho, compilados no quadro 04. Ainda neste foi feita a referência com o número de registro do sistema 'CAS', que é um banco de dados do *Chemical Abstracts Service* (<https://www.cas.org/>), uma divisão da Sociedade americana de Química, e número de registro EC, relativo à *European Chemicals Agency* (<https://echa.europa.eu/>).

Quadro 04 – Resumo de propriedades físicas e números de identificação em bases de dados globais dos Ops em estudo

Pesticida Op	Número CAS	Número EC	Peso molecular (g.mol ⁻¹)	Solubilidade em água (mg.L ⁻¹)	Ponto de fusão (°C)	PRESSÃO DE VAPOR (mmHg)
Acefato	30560-19-1	250-241-2	183,162	818,0 *	92 a 93	1,7x10 ⁻⁶ *
Cadusafós	95465-99-9	619-129-4	270,386	245,0 *	> -65	9,0x10 ⁻⁴ *
Clorpirifós	2921-88-2	220-864-4	350,575	2,0 *	42 a 43	1,87x10 ⁻⁶ *
Dimetoato	60-51-5	200-480-3	229,249	2,5x10 ⁴ *	52 a 52,5	8,5x10 ⁻⁶ *
Fenitrotona	122-14-5	204-524-2	277,231	38,0 *	0,3	6,0x10 ⁻⁶ *
Fentoato	2597-03-7	219-997-0	320,358	11,0 (a 24° C) 5x10 ³ a 1x10 ⁴ (a 22°C)	17-18	2,6x10 ⁻⁶ * 9,8x10 ⁻⁶ (a 20°C)
Malaoxon	1634-78-2	n.a.	314,289		> 20	4,0x10 ⁻⁵ (a 30°C)
Malation	121-75-5	204-497-7	330,350	143,0 (a 20°C)	2,8	9,7x10 ⁻⁶ (a 20°C)
Parationa metílica	298-00-0	206-050-1	263,204	37,7 (a 20°C)	37,2 a 37,7	
Terbufós	13071-79-9	235-963-8	288,419	5,07 *	-29,2	3,0x10 ⁻⁴ *

CAS = ChemIDplus (da EPA DSStox); EC = European Chemicals (da ECHA -European Chemicals Agency); * (a 25°C)

n.a.= *not available*

Fonte: Elaborado pelo autor adaptado de PubChem (2017)

O sítio eletrônico do PubChem traz diversas outras propriedades fisicoquímicas dos Ops, como tempo de meia-vida, taxa de biodegradação, bioconcentração, adsorção/mobilidade no solo, volatilização de água/solo, concentração em águas, etc. O EPA – U.S. *Environmental Protection Agency* (<https://www.epa.gov/>) também conta com material vasto sobre produtos registrados nos EUA, bem como a comunidade europeia.

O volume é uma propriedade física não descrita na tabela 04, mas de acordo com o peso molecular da molécula é possível prever o grau de empacotamento ou compactação das moléculas, que permite estimar a facilidade de aproximação de átomos centrais em reações, como é o caso do fósforo em Ops.

3.8.1 Discussão sobre propriedades físicas dos pesticidas Ops

Quanto às propriedades citadas no quadro 04 observa-se que os Ops têm peso molecular que varia de 183 g.mol^{-1} relativo ao acefato, até 351 g.mol^{-1} para o clorpirifós, um aumento de quase 100%.

A solubilidade em água é fator importante visto que, em sua maioria, o modo de utilização dos pesticidas é diluído em meio aquoso. Observou-se que os dados são bem distantes entre eles e que se referem a temperaturas diferentes, na faixa de 20°C a 25°C . Os pesticidas mais solúveis dentro os estudados foram o dimetoato e o malaoxon, e os mais insolúveis o terbufós e clorpirifós.

O ponto de fusão é uma propriedade que permite avaliar condições de segurança na estocagem dos produtos e contaminação ambiental, pois muitas vezes ocorre em galpões com pouca ventilação, sem solo impermeabilizado e em embalagens que podem não ser as originais de venda. Os Ops com menores temperaturas de fusão foram cadusafós e terbufós.

A pressão de vapor é uma medida interessante visto que o Brasil ainda permite a aspersão de pesticidas em lavouras. Considerando a média elevada de temperatura no nosso país, então a dispersão dos Ops pode se afetada pelo calor frequente. Os Ops com menores valores para este parâmetro foram acefato, clorpirifós e fentoato.

3.9 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DOS PESTICIDAS Ops

O comportamento em meio biológico de moléculas pode ser estimado em sítios eletrônicos como no *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch/index.php>) e no *Lazar Toxicity Prediction* (<http://lazar.in-silico.de>), em ambos por meio do desenho da estrutura molecular ou inserção do código SMILE da estrutura química. No primeiro é possível obter o radar de biodisponibilidade da estrutura (esquema gráfico que integra parâmetros e demonstra a velocidade e extensão de absorção de uma molécula), bem como propriedades fisicoquímicas, lipofilicidade, solubilidade em água, características farmacocinéticas, similaridade com fármacos e acessibilidade sintética. No site *Lazar Toxicity Prediction* a pesquisa inicia-se pela seleção da área investigada, como toxicidade aguda, penetração na barreira hematoencefálica

(BHE), carcinogenicidade, dose diária máxima recomendada e mutagenicidade. Algumas das características dos Ops, retiradas dessas fontes, estão listadas no quadro 05.

Quadro 05 – Características biológicas dos Ops em estudo

Pesticida OP	Radar de biodisponibilidade - SwissADME			LAZAR Toxicity Prediction	
	TPSA (Å ²)	Log Po/w	Absorção GI	penetração na BHE humana	Carcinogenicidade para ratos
Acefato	90,51	0,09	alta	Penetrante: 0,118. Não penetrante: 0,0	Sim. Carcinogênico: 0,084 Não-carcinogênico:0,082
Cadusafós	86,71	3,52	alta	Sem dados disponíveis	Sim. Carcinogênico:0,071 Não-carcinogênico:0,063
Clorpirifós	82,48	4,12	alta	Sem dados disponíveis	Não. Carcinogênico:0,051 Não-carcinogênico:0,210
Dimetoato	114,76	0,90	alta	Sem dados disponíveis	Não. Carcinogênico: 0,000 Não-carcinogênico:0,312
Fenitrotiona	115,41	2,05	alta	Penetrante: 0,118. Não penetrante: 0,0	Não. Carcinogênico:0,300 Não-carcinogênico:0,387
Fentoato	111,96	3,13	alta	Penetrante: 0,203. Não penetrante: 0,082	Não. Carcinogênico:0,120 Não-carcinogênico:0,301
Malation	138,26	2,14	baixa	Penetrante: 0,0714. Não penetrante: 0,11	Não. Carcinogênico:0,163 Não-carcinogênico:0,366
Malaoxon	123,24	1,27	alta	Penetrante: 0,0714. Não penetrante: 0,12	Não. Carcinogênico: 0,206 Não-carcinogênico:0,324
Parationa metílica	115,41	1,71	alta	Penetrante: 0,167. Não penetrante: 0,0	Não. Carcinogênico: 0,278 Não-carcinogênico:0,388
Terbufós	110,96	3,72	alta	Sem dados disponíveis	Não. Carcinogênico: 0,056 Não-carcinogênico:0,302

Sendo: GI=GASTRINTESTINAL; Log Po/w = logaritmo do coeficiente de partição óleo/água;

TPSA= Área de superfície polar topológica, medida em Angstroms; BHE= barreira hematoencefálica

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Os valores de TPSA, ou área de superfície polar topológica, indica quanto da parte externa da molécula apresenta resíduos polares. Este parâmetro apresentou a seguinte ordem decrescente: malation> malaoxon> fenitrotiona> parationa metílica> dimetoato> fentoato> terbufós> acefato> cadusafós> clorpirifós. Esta propriedade sugere, para sistemas biológicos, a facilidade de interação com meios líquidos polares como a água. Logo, serão mais facilmente distribuídos pelo sangue o malation, malaoxon, fenitrotiona e parationa metílica.

O Log Po/w indica o grau de lipofilicidade das moléculas. Há diversos valores no sítio eletrônico *swissADME*, porém foi tabulado apenas o valor consensual. A lipofilicidade vai indicar a facilidade de um composto em penetrar na pele. Em

associação a esta, o estudo do valor de TPSA vai indicar a porcentagem de interface óleo-água prevista, o que é importante para prever a distribuição pelo sangue dessas moléculas. O coeficiente de partição óleo/água, de acordo com o sítio eletrônico foi decrescente no sentido: clorpirifós> terbufós> cadusafós> fentoato> malation> fenitrotiona> parationa metílica> malaaxon> dimetoato> acefato.

Quanto à 'penetração na barreira hematoencefálica', indicativo da toxidez ao sistema nervoso central, o malation e o malaaxon apresentaram baixa probabilidade de penetração. Não há dados disponíveis para o cadusafós, clorpirifós, dimetoato e terbufós. Foram considerados penetrantes ou maíes perigosos o acefato, o fentoato, a fenitrotiona e a parationa metílica.

A carcinogenicidade predita pelo sítio eletrônico pode trazer apenas uma inferência quanto à reação no corpo humano, pois os dados disponíveis eram para ratos brancos de laboratório. Apenas acefato e cadusafós foram considerados carcinogênicos. O acefato foi retirado da lista de produtos permitidos para venda no Brasil, apesar do seu principal metabólito, o metamidofós, ser um produto formulado e que permanece à venda. O cadusafós não é amplamente comercializado, o que reduz o risco de abrangência do produto.

A absorção gastrintestinal dos Ops em estudo são todas consideradas 'altas', exceto para o malation. Este parâmetro é importante visto que muitos casos de suicídio ocorrem por ingestão oral do produto e por indicar a dificuldade na remediação em casos de socorro tardio.

Então, em resumo, os parâmetros biológicos teóricos foram agrupados no quadro 06 e indicam o risco no caso de intoxicação para cada pesticida, com detalhamento sobre a absorção de acordo com a forma de contato e facilidade de distribuição no corpo.

Quadro 06 – Resumo dos resultados teóricos sobre propriedades biológicas dos Ops em estudo

Pesticida Op	Parâmetro				
	A	B	C	D	E
Acefato	+	+			+
Cadusafós	+	+		+	
Clorpirifós	+			+	
Dimetoato	+				
Fenitrothion	+		+		+
Fentoato	+				+
Malation			+		
Malaoxon	+		+		
Parat. metílica	+		+		+
Terbufós	+			+	

Parâmetros: A: Absorção gastrointestinal; B: Carcinogenicidade; C: TPSA; D: K_{ow} ; E: Penetração na barreira hematoencefálica.

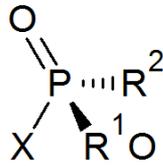
Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

3.9.1 Isomeria e quiralidade

A conformação das moléculas pode afetar significativamente seu comportamento biológico. Pesticidas estereoisoméricos, por exemplo, partilham pesos moleculares semelhantes, mas diferem nas orientações espaciais em determinados centros quirais (ZACHARIA, 2011). São moléculas que não podem ser sobrepostas às suas imagens especulares. O arranjo ou configuração real de átomos/grupos ligados ao carbono quiral é chamado de *configuração* de um composto. No sistema R e S (também conhecido como sistema de Cahn-Ingold-Prelog) os enantiômeros têm propriedades físicas e químicas iguais, no entanto diferem em seus efeitos sobre a luz plano-polarizada e também em suas ações farmacológicas (SARKER, 2011).

Para os agentes dos nervos, o estereoisômero com a configuração 'R' é usualmente o inibidor de AChE mais ativo, uma vez que o grupo R^1O é maior do que o grupo R^2 , conforme figura 08 (DELFINO, RIBEIRO e FIGUEROA-VILLAR, 2009).

Figura 08 – Configuração ‘R’ do estereoisômero de maior atividade para inibição da acetilcolinesterase



Fonte: Elaborado pelo autor (2018)

Os agentes dos nervos da família V, por exemplo Tabun, Sarin, ciclosarina e VX, apresentam isomeria óptica. Os estereoisômeros reagem com a AChE a velocidades diferentes e possuem propriedades toxicológicas distintas devido a estereoquímica do sítio ativo de AChE, o que favorece a acomodação de um enantiômero no local ativo em detrimento da ligação de outro (DELFINO, RIBEIRO e FIGUEROA-VILLAR, 2009).

Os Ops foram estudados considerando a configuração ‘R’ porque após a reação com a serina da tríade catalítica ocorre a inversão de quiralidade, favorece o ataque do Op e leva à melhor complexação.

3.10 PROPRIEDADES ESTRUTURAIS ELETRÔNICAS

As propriedades estruturais eletrônicas são parâmetros de reatividade, obtidos por métodos de química computacional, diretamente relacionadas às forças intermoleculares envolvidas na interação receptor-ligante. Elas representam uma importante ferramenta para prever as propriedades das substâncias, classificar estruturas químicas ou procurar similaridades entre elas e podem fornecer subsídios sobre a natureza físicoquímica da atividade/propriedade em estudo (ARROIO, HONÓRIO & SILVA, 2010).

De posse das estruturas, a propriedade mais importante para ser calculada é a energia da molécula ou do complexo. Exceto para moléculas completamente rígidas, a estrutura está distribuída em modos configuracionais. Então, para calcular qualquer propriedade, primeiro deve-se saber a energia relativa das conformações, além de qual delas é a mais estável (Wiest 2012 apud ORTOLAN, 2014). Dentre as

energias citam-se a de HOMO e de LUMO, de *bandgap*, de dipolo, de potencial químico e de adsorção.

3.10.1 Energia de HOMO e LUMO

Estes parâmetros estão relacionados com as regiões em que a estrutura química pode ser atraída por pontos específicos do receptor, como regiões ricas ou deficientes em elétrons, que contribuem para uma maior compreensão das características de um candidato a ligante em um conjunto de moléculas em estudo (Korolkovas 1982 apud VALE, 2011).

A energia do orbital molecular ocupado de maior energia ou HOMO (do inglês *Highest Occupied Molecular Orbital*) está relacionada com o potencial de ionização de uma molécula e com sua reatividade como nucleófilo ou elétron-doador, ou seja, característica de base de Lewis.

A energia do orbital molecular desocupado de menor energia ou LUMO (do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) representa a afinidade eletrônica de uma molécula, a sua reatividade como eletrófilo (Sant'anna 2002 apud VALE, 2011). Quanto menor a energia de LUMO, menor a resistência para aceitar elétrons (ARROIO, HONÓRIO & SILVA, 2010).

3.10.2 Potencial químico e dureza química

O potencial químico (μ) mede a tendência ao escape de um elétron de um determinado campo. A dureza química (η) mede a resistência da densidade eletrônica a ser modificada (FERRARI e GONÇALVES, 2016). Os teóricos sugerem que a estrutura mais estável E com alta dureza possui o maior espaço de energia HOMO-LUMO (PEARSON, 1993).

O potencial e a dureza química são descritos, conforme Oliveira *et al.* (2015) pelas equações 1 e 2.

$$\mu = \frac{1}{2}(\varepsilon_{LUMO} + \varepsilon_{HOMO}) \quad (1)$$

$$\eta = \frac{1}{2}(\varepsilon_{LUMO} - \varepsilon_{HOMO}) \quad (2)$$

O conceito de dureza molecular foi formulado de acordo com o conceito de ácidos e bases de Lewis. Para uma base “mole” (ou macia), o átomo doador possui elevada polarizabilidade e baixa eletronegatividade e pode ser facilmente oxidada, ou seja, está relacionada com orbitais ocupados (HOMO) de alta energia, o que torna mais efetiva a interação com o LUMO de ácidos macios (a diferença de energia entre orbitais HOMO e LUMO é pequena). Na interação entre uma base “dura” e um ácido “duro” observa-se uma grande diferença de energia entre os orbitais de fronteira HOMO e LUMO, dificultando a transição eletrônica (ARROIO, HONÓRIO & SILVA, 2010).

3.10.3 Energia de *bandgap* ou *gap* eletrônico

Em materiais semicondutores, à medida que a temperatura aumenta os elétrons absorvem energia e passam para a banda de condução. Esta “quantidade” de energia necessária para que o elétron efetue essa transição é chamada de *bandgap* (FRUETT, 2011). Um grande intervalo de energia significa uma grande diferença de *bandgap* entre o estado fundamental e o excitado (PEARSON, 1993).

A diferença de energia entre HOMO e LUMO também é conhecida como *bandgap*. Esta propriedade determina as propriedades de condutividade do sistema (AMADOR, 2006) e é descrito conforme equação 3.

$$E_{bg} = |\varepsilon_{LUMO} - \varepsilon_{HOMO}| \quad (3)$$

3.10.4 Energia de dipolo

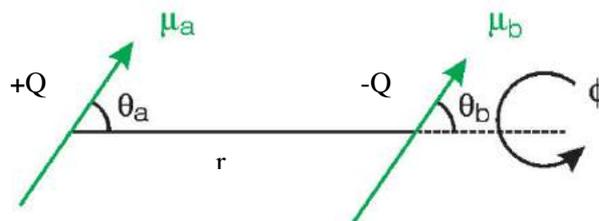
O momento dipolo é uma propriedade que mede a magnitude da carga deslocada quando átomos de eletronegatividade diferentes são interligados. A presença de substituintes com eletronegatividade diferentes altera propriedades moleculares como acidez e basicidade, de forma que o momento dipolo pode esclarecer dúvidas

sobre reatividade de compostos (ARROIO, HONÓRIO & SILVA, 2010). Moléculas mais polares apresentam maiores dipolos elétricos (ROCHA, 2001). A expressão matemática que define a energia de dipolo segue na equação 4.

$$E_{\text{dipolo-dipolo}} = -\frac{1}{4\pi\epsilon} \mu_a \mu_b (2 \cos \theta_a \cos \theta_b - \text{sen } \theta_a \text{sen } \theta_b) \frac{1}{r^3} \quad (4)$$

Um dipolo elétrico (vetor μ) consiste em duas cargas elétricas, $+Q$ e $-Q$ separadas por uma distância r , com unidade Coulomb-metro ($C \cdot m$). A energia de interação dipolo-dipolo depende então da orientação entre os dois dipolos (dados pelos ângulos θ_a e θ_b) e varia com o inverso da terceira potência da separação intermolecular, $1/r^3$ como mostra a equação 4. Uma vez que dipolos são propriedades vetoriais, a estrutura tridimensional da molécula é crucial para a determinação da distribuição de cargas na molécula e, por conseguinte, do momento de dipolo resultante (ROCHA, 2001). Na figura 09 há um arranjo de vetores e ângulos componentes da energia de dipolo.

Figura 09 – Componentes do cálculo da energia de dipolo



Fonte: ROCHA (2001).

3.10.5 Energia de adsorção

A adsorção é um fenômeno físicoquímico em que um componente é transferido para a superfície de outro. Segundo Letterman (1999, apud ANDIA, TEIXEIRA e YOKOYAMA, 2009). A energia de adsorção do derivado ao Op foi calculada utilizando a lógica das equações 5 e 6.



$$\Delta H_{\text{int}} = \Delta H_{\text{PROP-OP}} - (\Delta H_{\text{PROP}} + \Delta H_{\text{OP}}) \quad (6)$$

Sendo: int= interação; PROP= proposta de derivado de fulereno; OP= pesticida organofosforado.

Na fórmula 5 o produto é a ligação entre PROP e OP, o traço indica ligação.

Os compostos permanecem adsorvidos pela ação de diversos tipos de forças, como ligações hidrogênio, interações dipolo e forças de van der Waals. Quando as moléculas do adsorvato atingem a superfície do adsorvente, a força residual, resultante do desequilíbrio das forças de van der Waals, criam um campo de forças que atrai e aprisiona a molécula. O tempo que a molécula de adsorvato fica ligada à superfície do adsorvente depende diretamente da energia com que foi adsorvida (Brunch 1997 apud ANDIA, TEIXEIRA e YOKOYAMA, 2009). Todas essas energias podem ser calculadas em *softwares* de química computacional, para prever a viabilidade de uma reação.

Com os parâmetros físicos, químicos e estruturais-eletrônicos definidos, a viabilização da captura de pesticidas necessitou de um bloco construtor suporte para o carregamento dos aminoácidos (que mimetizam os da AChE) para permitir a interação desejada. Exemplos de base suporte em uso na atualidade são os alótropos de carbono.

3.11 ALÓTROPOS DE CARBONO

Os alótropos do carbono representam uma classe de nanomateriais mais investigados na atualidade por sua ampla aplicabilidade nas áreas médica e tecnológica. A hibridização específica do carbono, as ligações estabelecidas entre os átomos e a conformação irão determinar a natureza do alótropo, podendo este ser um nanotubo de carbono, fulereno, grafeno, grafite ou diamante (FERNANDES e WAISSMANN, 2013).

3.11.1 Fullerenos

Os fullerenos são um grupo de nanomoléculas esferoidais constituídas apenas por átomos de carbono, sendo considerados a terceira forma alotrópica mais estável deste elemento (Aldersey-Williams 1995, apud RODRIGUES, 2011). Possuem uma estrutura esférica oca, de forma que os átomos de carbono estão organizados em anéis policíclicos. Diferentes tipos de fullerenos podem ser gerados de acordo com o radical presente na sua superfície, o processo de síntese e o número de átomos de carbono utilizados (FERNANDES e WAISSMANN, 2013). O fullereno C_{60} (CAS nº 99685-96-8) é o membro mais abundante da série.

O fullereno é ideal e promissor na criação de novas moléculas com aplicações biológicas, devido às suas propriedades únicas e originais, como por exemplo um tamanho muito próximo de uma unidade nanodimensional, uma topologia tridimensional de gaiola, hidrofobicidade, alta capacidade de absorção de radiação eletromagnética, dentre outros efeitos eletrônicos (GREISCH e PAUW, 2007).

Devido à diferença de energia entre os orbitais HOMO e LUMO de seis dos seus orbitais moleculares, inclusive na região do visível está entre 410 e 620 nanômetros, suas soluções apresentam coloração bem intensa (RODRIGUES, 2011). Em razão de seu enorme potencial, novos híbridos moleculares têm sido sintetizados, pelo acoplamento de moléculas de potencial biológico à superfície do C_{60} para criação de novas pró-drogas (RODRIGUES, 2011).

3.11.2 Derivados de fullerenos

Ao aproveitar as propriedades fisicoquímicas e eletrônicas do fragmento unido ao fullereno C_{60} dá-se lugar a híbridos com surpreendentes estruturas moleculares, para aplicação em diversas áreas (HERNÁNDEZ-CALVA, ARROYO e RAMÍREZ-MONROY, 2017). Os fullerenos no campo da nanotecnologia funcionam como alternativa versátil, inclusive na área ambiental. Um exemplo é o uso como base para nanocompósitos captadores e detectores de pesticidas.

Neste trabalho o fulereno C₆₀ foi a base escolhida para sustentar fisicamente a tríade catalítica da AChE humana de ligação aos Ops. Para a descrição das interações entre as propostas moléculas derivadas de fulereno, a química computacional surge como chave para a descrição em nível molecular dos valores de energias e propriedades espectroscópicas e elucida a viabilidade de desenvolvimento, no futuro, de sensores e captadores de pesticidas Ops no meio agrícola.

3.12 QUÍMICA COMPUTACIONAL

A química computacional é o estudo *in silico* (expressão utilizada para indicar algo ocorrido em ambiente computacional) de estruturas e propriedades químicas de moléculas. Compreende técnicas que abrangem desde mecânica quântica à dinâmica de grandes agregados moleculares e se inicia pela modelagem molecular.

A química teórica já chegou a um ponto em seu desenvolvimento no qual cálculos teóricos têm, em muitas situações, o *status* de experimento, dada a sua precisão. A química teórica tem sido utilizada intensamente no auxílio da interpretação de resultados experimentais, na avaliação da viabilidade de determinadas rotas sintéticas, na compreensão de fenômenos nos quais as técnicas experimentais não podem ainda ser diretamente utilizadas (DUARTE, 2001).

Além de fornecer dados estruturais, os cálculos teóricos são usados também na computação de índices de interesse químico e farmacológico, como calores de formação, energias eletrônicas, energias de ionização, densidades eletrônicas atômicas, cargas atômicas líquidas, densidades eletrônicas dos orbitais de fronteira (HOMO e LUMO), ordens de ligação e momentos de dipolo, entre outros (BARREIRO *et al.*, 1996).

3.12.1 Modelagem Molecular

Modelagem molecular é o processo geral de descrição de sistemas químicos complexos em termos de modelos atomísticos realísticos, com o objetivo de entender e prever propriedades macroscópicas baseadas no conhecimento detalhado em escala atômica (ABRAHAM *et al.*, 2015).

A modelagem de uma estrutura permite isolá-la e “congelá-la”. Estruturas com tempos de vida muito curtos, tais como intermediários de reação ou estados de transição hipotéticos podem ser modelados e suas propriedades “medidas” com relativa facilidade. A possibilidade do estudo das conformações e propriedades de uma molécula isolada, simulando o estado gasoso, ou da molécula solvatada, ainda que por um número pequeno de moléculas de solvente, permite prever as conformações preferenciais em cada caso particular (BARREIRO *et al.*, 1996).

Existem muitas opções quanto ao método de cálculo a ser aplicado em uma determinada estratégia de modelagem molecular. Eles basicamente diferem quanto à natureza do campo de força, ou seja, do conjunto de funções de energia e parâmetros numéricos associados. Os campos podem ser totalmente empíricos, como os utilizados em mecânica molecular, ou, no outro extremo, puramente teóricos, passando pelos chamados métodos semiempíricos (BARREIRO *et al.*, 1996).

Como resumo dos métodos em química computacional, é possível distribuir os métodos em *ab initio*, semiempíricos e mecânica molecular, conforme figura 10, que considera a exatidão do resultado e o número de átomos do sistema. Deve-se destacar que nenhum método de cálculo é ideal para todas as aplicações (Gonçalves 2005 *apud* HEHRE, 1998).

Figura 10 – Esquema comparativo entre os métodos de modelagem molecular



Fonte: ROCHA (2010)

O método de escolha neste estudo foi o semiempírico.

3.12.1.1 Métodos semiempíricos

Conhecidos também como ‘métodos dos orbitais moleculares’, a modelagem desta classe está baseada inteiramente na análise por similaridade de dados estruturais e químicos já conhecidos (GONÇALVES, 2005). Neste método os núcleos são assumidos em sucessivas posições estacionárias, sobre as quais a distribuição espacial ótima dos elétrons é calculada pela resolução da equação de Schrödinger. O processo é repetido até que a energia não mais varie dentro de um limite escolhido, ou seja, até se alcançar um ponto estacionário da superfície de energia (BARREIRO, 1996). Os métodos semiempíricos apenas consideram os elétrons da camada de valência em seus cálculos, pois são os envolvidos numa ligação química e outros fenômenos que se deseja investigar (Leach apud BELLO, 2014).

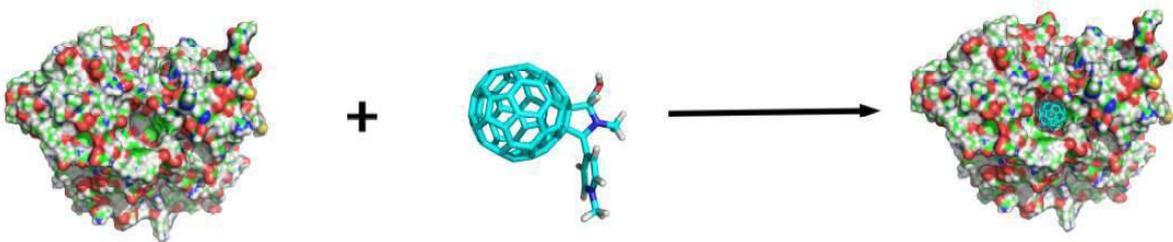
A busca por um estado estacionário da geometria calculada no espaço multidimensional é o equivalente computacional à purificação experimental de uma amostra antes de se avaliar suas características físicoquímicas. Este tipo de cálculo tem dados energéticos que variam na faixa de $1,0 \text{ kcal.mol}^{-1}$ dos dados experimentais (BARREIRO, 1996), podem ser aplicados a moléculas compreendendo até 500 átomos e têm tido muito sucesso no cálculo da geometria de equilíbrio, incluindo as geometrias dos compostos que contêm metais de transição e compostos organometálicos (GONÇALVES, 2009).

Diante da escolha do método, o seguimento do estudo foi sobre interações, para entender o comportamento da aproximação e ligações que ocorrem entre os pesticidas e as moléculas captadoras. Para isso há o campo da química computacional dos cálculos de energia de *molecular docking*.

3.12.2 Molecular docking

O *docking* ou atracamento molecular é um método da modelagem molecular que determina se há interação energética favorável entre duas moléculas, no intuito de elucidar as razões moleculares da afinidade entre ligantes e sítio ativo do receptor (FERREIRA, 2013). A figura 11 ilustra um encaixe do *docking* genérico.

Figura 11 – Representação de *molecular docking*



Fonte: Elaborado pelo autor (2018)

Os programas de *docking* são capazes de avaliar as melhores conformações em termos de energia e posicionamento, a fim de otimizar as interações dentro do sítio ativo de um alvo molecular (FRANÇA *et al.*, 2013). Conformações estáveis de uma molécula correspondem a mínimos locais de energia, onde a conformação de menor energia corresponde ao mínimo global que, computacionalmente e dependendo do sistema, é muito difícil de ser alcançado (Leach 2001 apud BELLO, 2014).

O procedimento de *docking* busca pela posição e orientação que maximiza as interações intermoleculares. Assim, o ligante e o receptor formam um complexo por complementaridade estrutural e por estabilização energética (FERREIRA, 2013). Para avaliar se o atracamento molecular está satisfatório é utilizada a equação geral da energia de *docking*, conforme fórmula da equação 7.

$$E_{docking} = E_{inter} + E_{intra} \quad (7)$$

O primeiro termo dessa equação (E_{inter}) refere-se à energia de interação entre o receptor e o ligante e, baseado nas interações de van der Waals e eletrostáticas. Já

o segundo (E_{intra}) está relacionado principalmente com os graus de liberdade dos ligantes. Deste modo, quanto menor a energia de *docking*, melhor será o atracamento molecular (PIETRALONGA *et al.*, 2015).

Há programas de *docking* que utilizam uma função de pontuação (*score*) baseada em campos de força (*force field*), como é o caso do *AutoDock Tools* e *AutoDock Vina*. Neles a estabilidade da ligação é medida pela intensidade das forças intermoleculares e quanto menor a energia de interação, maior é a estabilidade do complexo 'receptor-ligante' (FERREIRA, 2013).

Antes de iniciar o processo do *docking* gera-se uma rede tridimensional (*grid*) centrada no alvo molecular em investigação, que discretiza o espaço (Leach 2001 apud BELLO, 2014).

Além da necessidade de previsão da viabilidade de acoplamento, como os ligantes em estudo são pesticidas, apresentam potencial tóxico ao ser humano. Então, o trabalho complementa-se pela análise de parâmetros que indiquem o grau de periculosidade em caso de contato com esses produtos. Uma das formas de prever o grau de risco é pela constante de inibição (K_i), que indica o potencial letal de cada composto.

3.13 CONSTANTE DE INIBIÇÃO (K_i)

Definida como uma função de estado que representa a afinidade absoluta de um inibidor por sua enzima alvo, a constante de inibição de uma enzima (K_i), determinada experimentalmente, é amplamente utilizada para classificar as afinidades de ligação da ordem de diferentes inibidores para uma enzima e nas abordagens computacionais para prever a afinidade de ligação. Ao contrário da concentração de inibidores que causa 50% de inibição enzimática (IC_{50}), K_i é função fixa, independente da concentração da enzima utilizada para sua determinação. Portanto ela pode, teoricamente, ser utilizada para predição *in silico* da afinidade de ligação de inibidores (DARRAS e PANG, 2017).

Pelos métodos computacionais disponíveis atualmente é possível estimar, por meio da energia de *docking*, os valores da constante de inibição da enzima AChE para cada organofosforado a que for exposta e, por deduções matemáticas é possível chegar à constante de inibição conforme equação 09.

$$K_i = e^{\frac{\Delta G}{RT}} \quad (8)$$

Onde: K_i = constante de inibição; ΔG = energia livre de Gibbs; R = constante universal dos gases perfeitos (1,987 cal/mol.K ou 8,314 J/mol.K); T = temperatura (310K, que equivale à temperatura fisiológica de 37°C).

Vale ressaltar que a entropia num processo de mistura é sempre positiva, que misturas ideais formam-se sem qualquer variação de volume e não há efeito de calor associado com o processo de mistura de gases ideais. A força responsável pela produção da mistura é um efeito inteiramente da entropia (BENDASSOLI e VICTORIA, 1995).

3.14 ESTUDOS NA ÁREA

A química computacional aplicada a soluções ambientais já possui diversas frentes de pesquisa. Sobre águas há estudos como, por exemplo, o de Worrall e Thomsen (2004), intitulado “Descritores quânticos vs. Topológicos no desenvolvimento de modelos moleculares de poluição das águas subterrâneas por pesticidas”, que avaliou, *in silico*, o potencial de mobilidade de pesticidas principalmente para a contaminação de águas subsuperficiais. Ainda na área de águas há o estudo “Aplicabilidade e modelagem de nanofiltração e osmose reversa para remediação de águas subterrâneas poluídas com pesticidas e produtos de transformação”, de Madsen e Søgaaard (2014), que descreve as práticas atuais em testes de bancada com membranas de filtração, seus resíduos e descarte, dentre outros.

As soluções sobre pesticidas constituem um campo em franca expansão. Acerca da pesquisa sobre sensores, até a década passada exploravam biossensores baseados no processo de inibição enzimática (MARQUES & YAMANAKA, 2008), ou seja, investigações em bancada com gasto de reagentes e geração de subprodutos. No

campo da modelagem molecular a investigação de pesticidas é mais recente, um exemplo é o estudo de Suganthi e Kuppanagounder (2017), com título ‘Ligação de inseticidas organofosforados com albumina sérica: investigações multiespectroscópicas e de modelos moleculares’, que utiliza a *expertise* de estudos sobre saúde humana para a área ambiental. Também há o de Balasubramanian *et al.* (2013) intitulado “Simulação de dinâmica molecular e estudos de modificação molecular sobre o domínio inseticida de urease de feijão”.

No Brasil os maiores centros de pesquisa em química computacional estão nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Pernambuco atualmente, com laboratórios nas Universidades Federais. No Espírito Santo um grupo recentemente formado, liderado pelo professor Arlan Gonçalves do Instituto federal do Espírito Santo – Ifes – trabalha com a área de química computacional e modelagem molecular, em pesquisas com a enzima acetilcolinesterase associada à depressão, Parkinson e Alzheimer prioritariamente. Estas têm impulsionado o desenvolvimento científico do Espírito Santo e aumenta sua expressividade no cenário nacional.

3.15 A MODELAGEM MOLECULAR COMO TECNOLOGIA SUSTENTÁVEL

As técnicas *in silico* de modelagem molecular fornecem resultados rápidos e permitem produzir computacionalmente as estruturas de vários novos compostos para o trabalho experimental adicional, poupando, desta forma, anos de pesquisa (FRANÇA *et al.*, 2013).

Estima-se que a utilização de métodos *in silico* no planejamento de fármacos pode reduzir os custos e o tempo de desenvolvimento de um novo fármaco em até 50% (Geldenhuis *et al.* e Mcgee 2005 apud FERREIRA, 2013). Isto ocorre porque muitas vezes o número de moléculas que precisam ser sintetizadas e testadas experimentalmente passa a ser drasticamente reduzido devido à alta preditividade e confiabilidade dos métodos computacionais, abreviando assim o tempo de desenvolvimento de um novo fármaco (FERREIRA, 2013). Vale ressaltar também a diminuição no uso de animais em testes.

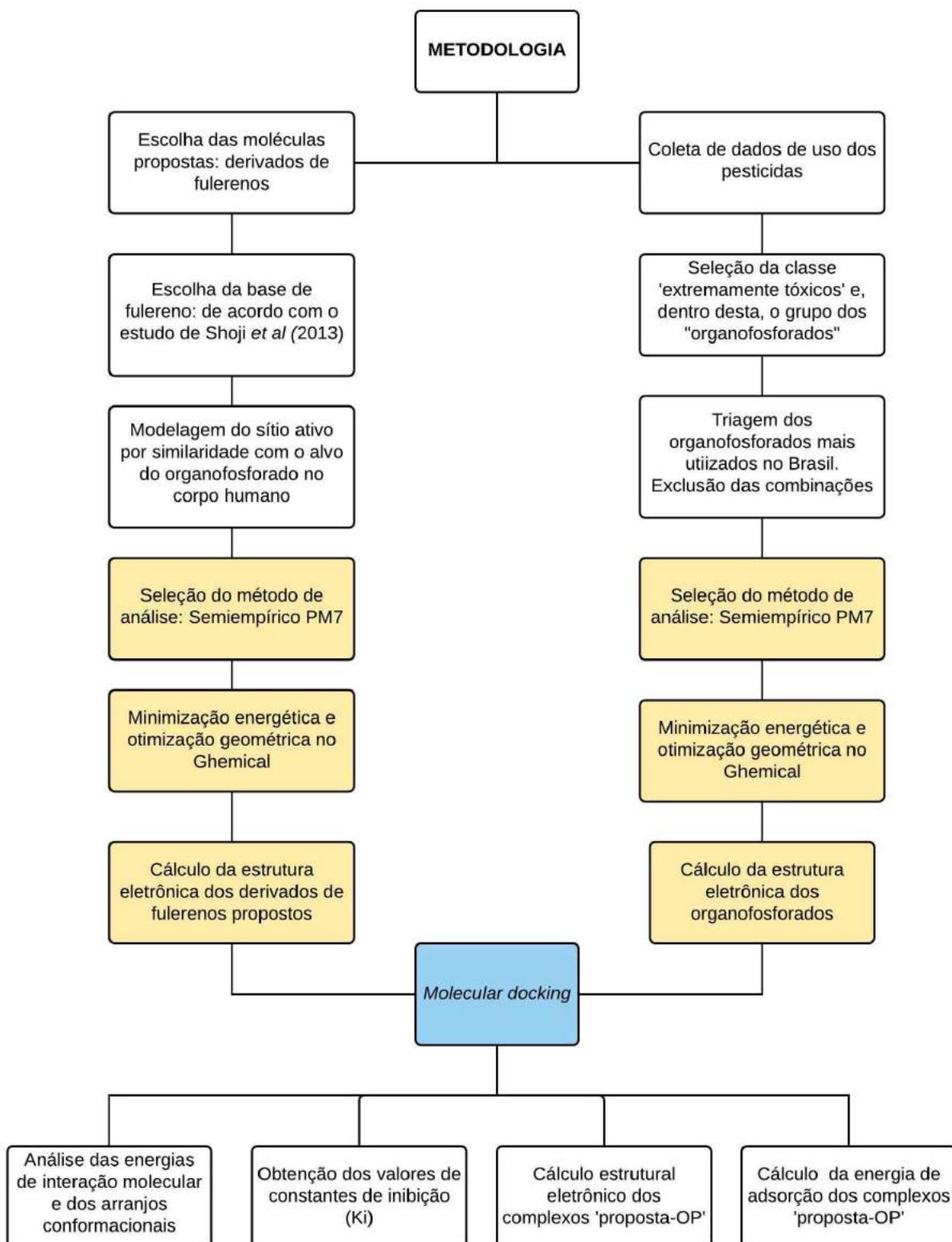
Considerando a redução em gastos de reagentes e a não geração de subprodutos de testes em laboratório, a predição de estruturas *in silico* enquadra-se como uma

tecnologia sustentável para o desenvolvimento de eficientes detectores de poluentes agrícolas. O campo de estudo é promissor também para diversas outras áreas ambientais.

4 METODOLOGIA

O desenvolvimento da pesquisa ocorreu em etapas para a obtenção de propriedades estruturais e eletrônicas dos pesticidas Ops, das propostas de derivados de fulerenos e dos complexos entre eles, bem como valores de energias de *docking* e estimativa de constante de inibição (K_i) de cada Op. No caso particular deste trabalho a sequência de etapas após a revisão de literatura ocorreu conforme fluxograma da figura 12.

Figura 12 – Fluxograma das etapas da metodologia aplicada



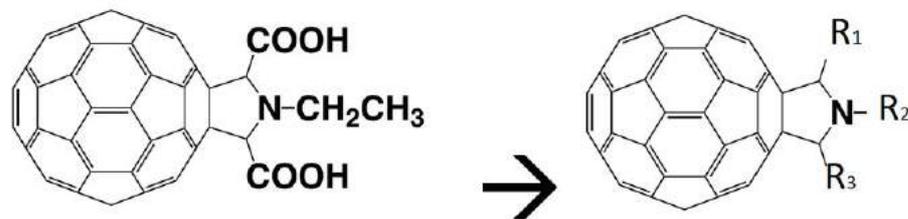
Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

4.1 MONTAGEM DAS PROPOSTAS DE DERIVADOS DE FULERENOS

A escolha do desenvolvimento de moléculas com fulerenos como suporte do nanocomposto foi o ponto inicial do delineamento experimental. Foi feito o download das coordenadas tridimensionais do fulereno C₆₀, do sítio eletrônico Nanotube <<http://www.nanotube.msu.edu/fullerene/fullerene.php?C=60>>.

Diante do sistema suporte selecionado, a etapa seguinte foi a obtenção das propriedades que permitem a adsorção aos Ops, daí a proposta de uma cadeia lateral análoga à dos aminoácidos da tríade catalítica da AChE humana. A disposição desses aminoácidos foi testada conforme modelo utilizado por Gonçalves, França e Oliveira (2015), que citam o artigo “*Anti-Influenza Activity of C₆₀ Fullerene Derivatives*”, de Shoji *et al.* (2013), conforme figura 13.

Figura 13 – Base dos derivados de fulerenos desenvolvidos nesta pesquisa



Fonte: Elaborado pelo autor adaptado de SHOJI (2013)

A partir dos protótipos dos trabalhos supracitados fez-se a proposta de, nos locais de R₁, R₂ e R₃, conforme figura 13, serem substituídos pelas cadeias laterais dos aminoácidos serina (Ser), glutamato (Glu) e histidina (His). O estudo em tela propôs a mudança de posição entre os grupos com o seguinte esquema de organização:

Proposta 0: R₁=R₂= R₃=H (controle ou branco)

Proposta 1: R₁=R₂=H; R₃=Ser

Proposta 2: R₁= His; R₂=Ser; R₃=H

Proposta 3: R₁= Glu; R₂=Ser; R₃=H

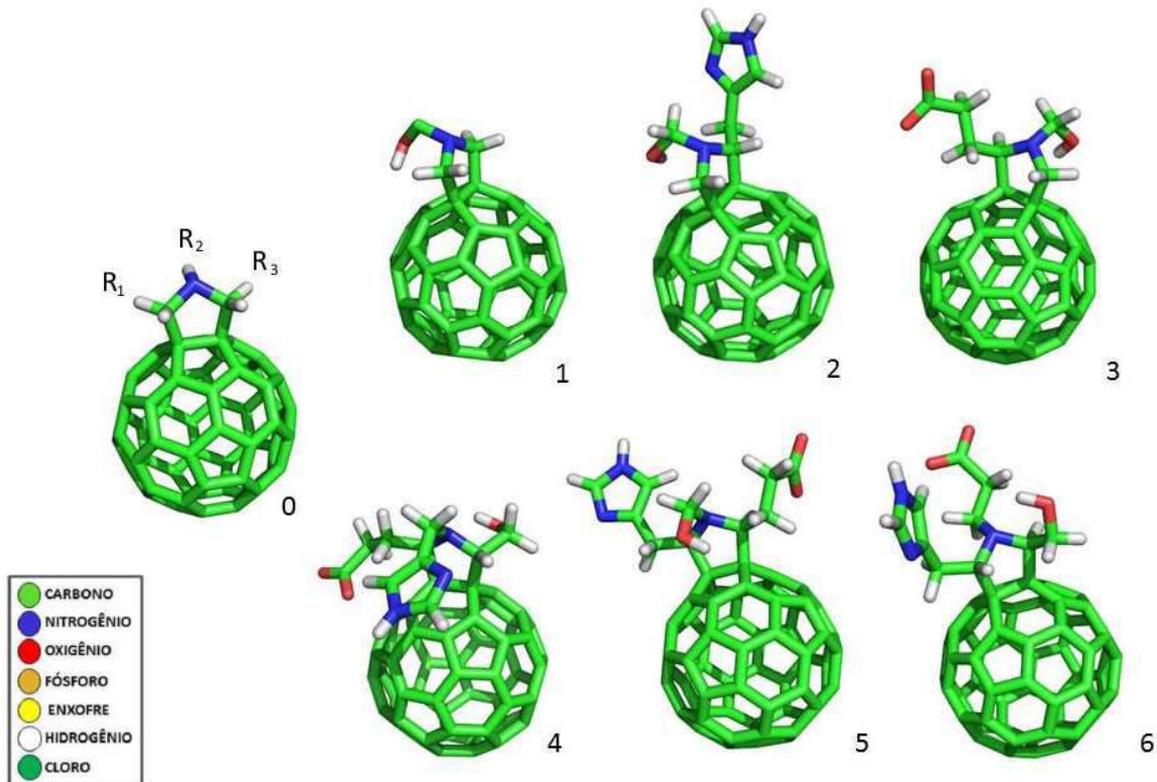
Proposta 4: R₁=Ser; R₂=His; R₃=Glu

Proposta 5: R₁=His; R₂=Ser; R₃=Glu

Proposta 6: R₁=Ser; R₂=Glu; R₃=His

Todos os aminoácidos foram utilizados na forma ‘R’ pois favorece o ataque do Op. As imagens finais das moléculas foram geradas pelo *software* PyMOL, conforme figura 14.

Figura 14 – Propostas de derivados de fulerenos



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

4.2 SELEÇÃO DOS PESTICIDAS

Na busca por um alvo de estudo, os pesticidas surgiram como opção devido ao alto consumo no Brasil e à dificuldade de detecção das intoxicações em campo. Os organofosforados foram selecionados a partir da lista dos agrotóxicos em uso no Brasil em 2016, conforme dados disponíveis no sítio eletrônico do MAPA, onde há o sistema oficial de cadastro de produtos agrotóxicos autorizados no país.

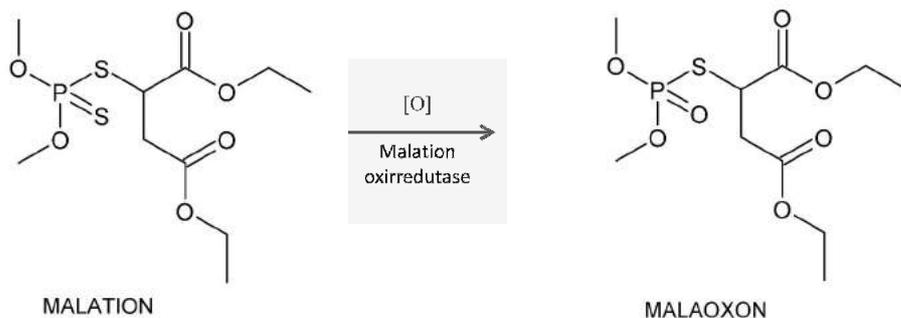
Após a seleção da classe, eles foram agrupados e os que contemplavam combinações de substâncias foram eliminados pela dificuldade em modelar computacionalmente estruturas em associação. Então, como Ops de escolha foram

selecionados: acefato, cadusafós, clorpirifós, dimetoato, fentoato, fenitrotiona, malation, parationa metílica e terbufós.

Durante os cálculos foi difícil a convergência de resultados para o malation por uma barreira de energia potencial alta. Em outras palavras, antes da otimização a molécula se rompia nos cálculos semiempíricos. Então foi encontrado na literatura que a forma oxidada do produto é o malaixon, que tem apenas um enxofre substituído por um oxigênio. Considerando que o malaixon também é vendido como produto formulado em países do hemisfério norte, optou-se por seguir as pesquisas incluindo esta forma, para comparações de reatividade.

De acordo com Caldas (2000) a dessulfuração constitui uma das principais vias de biotransformação dos organofosforados. A transformação da ligação P=S em P=O, com a formação da forma “OXON” resulta sempre num aumento acentuado da toxidez do inseticida e o malation é um dos casos, conforme figura 15.

Figura 15 – Conversão de malation a malaixon



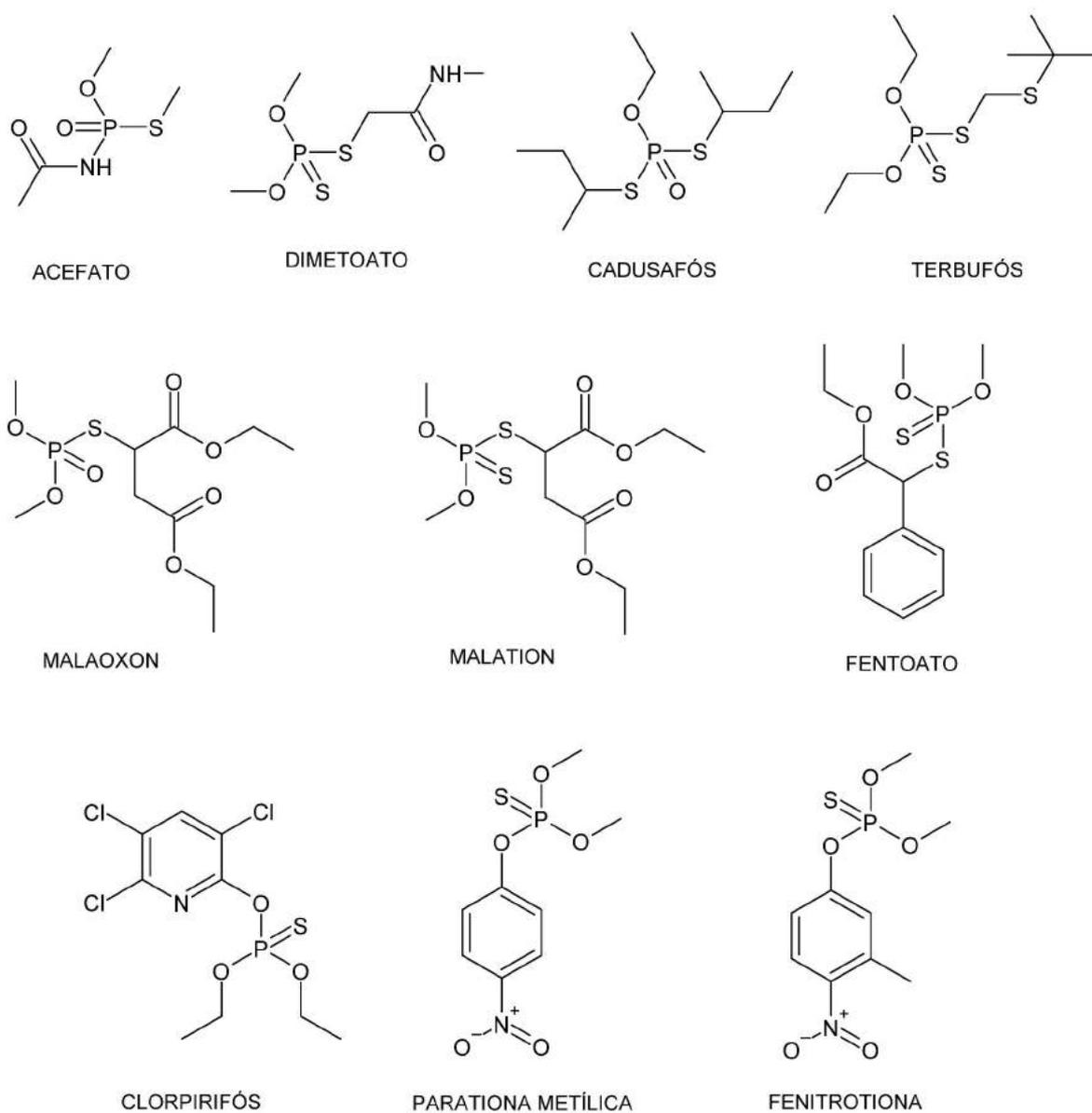
Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Assim como o malation, a parationa metílica também possui um análogo estrutural em estudo, a fenitrotiona, apenas com a diferença da adição de um grupamento metil.

O registro de comercialização de produtos a base de fentoato foi proibida no Brasil a partir de 10/06/2016 e o da parationa metílica a partir de 12/09/2016, mas como a

escolha dos Ops ocorreu meses antes dessas determinações, optou-se por seguir com as pesquisas. Os pesticidas em perspectiva 2D podem ser observados na figura 16.

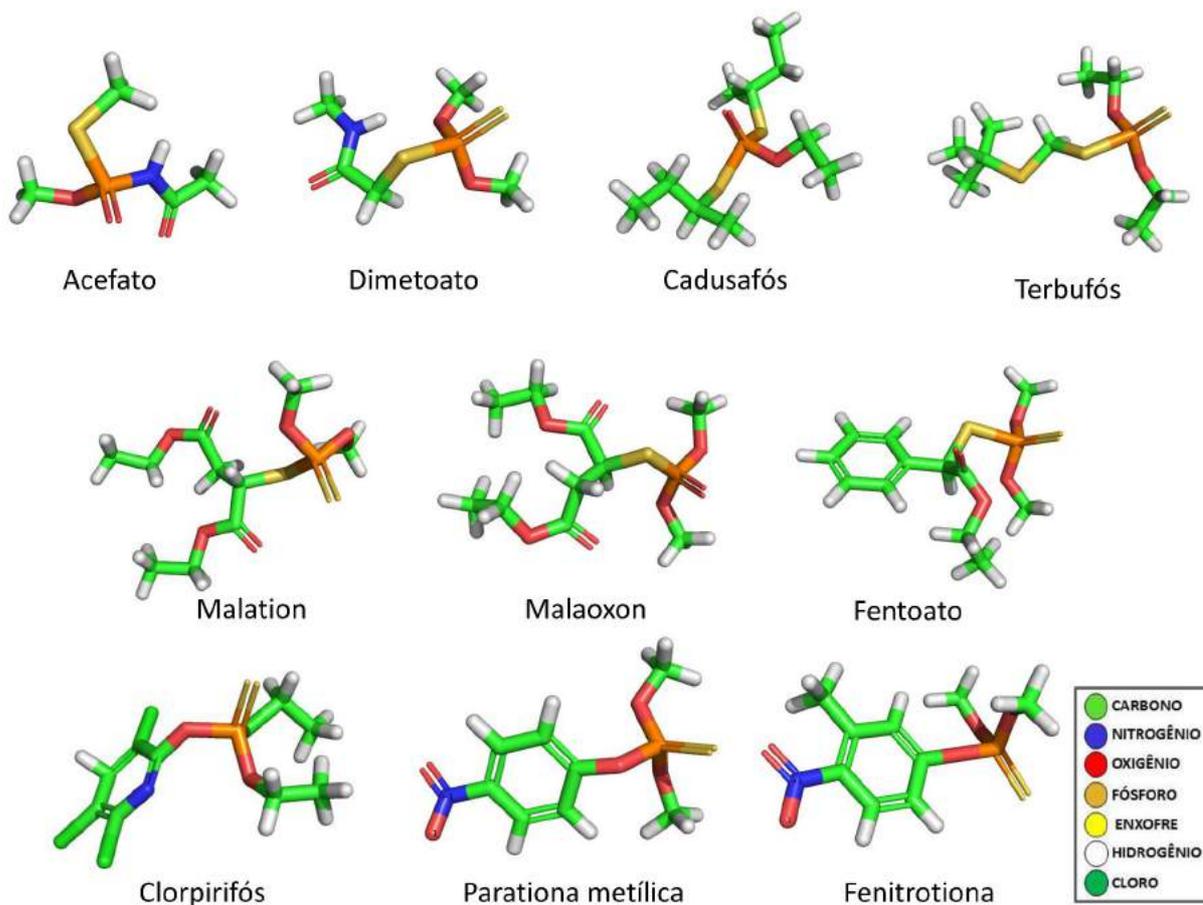
Figura 16 – Imagem 2D dos pesticidas Ops em estudo



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Através do programa PyMOL foram geradas imagens dos mesmos pesticidas em 3D, conforme figura 17.

Figura 17 – Imagem 3D dos pesticidas Ops em estudo



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

4.3 OTIMIZAÇÃO SEMIEMPÍRICA

Com a utilização do programa GHEMICAL foram feitos os desenhos das propostas de derivados de fulereno e dos pesticidas selecionados. As propostas que continham o aminoácido glutamato foram calculadas desprotonadas. Os arquivos foram minimizados com o campo de força TRIPOS 5.2 (SHIH *et al.*, 1995) e em seguida realizadas análises conformacionais randômicas, através da função disponível no GHEMICAL. Logo após as estruturas foram otimizadas, utilizando o hamiltoniano semiempírico PM7, conforme implementado no pacote MOPAC e os

cálculos realizados considerando o vácuo. Foi estimado pH 7,0 da água, pois muitos dos pesticidas são utilizados diluídos.

Com o auxílio do programa Babel foi feita a conversão de arquivos no formato *.gpr* para o formato *.mop*, para possibilitar o cálculo pelo MOPAC. Tanto as moléculas propostas quanto os Ops isoladamente passaram por otimizações semiempíricas usando o método PM7 no programa MOPAC. Nos apêndices A e C estão os tutoriais incluindo as palavras-chave do cabeçalho utilizado e o detalhamento das etapas.

Foram calculadas as propriedades estruturais eletrônicas das propostas e dos organofosforados, em que o calor de formação, energia total, dipolo, ϵ_{HOMO} e ϵ_{LUMO} foram extraídos do arquivo *.arc*. Os dados de *bandgap* (E_{bg}), potencial químico (μ) e dureza química (η) foram calculados a partir dos dados extraídos.

Em seguida as cargas foram conferidas, utilizando o programa ACPYPE, pelo método AM1-BCC e o arquivo desejado é o de extensão *bcc_gaff.mol2*, em que a extensão *'bcc'* significa *'bond charge correction'* e *gaff* *'general amber force field'*. Os arquivos *.mol2* além de conterem informações sobre as coordenadas XYZ de cada átomo, também contêm os valores das cargas atômicas, ou seja, conjunto de informações úteis para o posterior cálculo de ancoramento molecular ou *docking*. As etapas descritas seguem resumidas nos quadros 07 e 08.

Quadro 07 – Resumo das etapas pré-*docking* para os derivados de fulereno

ETAPAS PRÉ-DOCKING	1	2	3	4	5
DESCRIÇÃO	Desenhar a molécula no GHEMICAL para a otimização geométrica	Conferir cargas com o ACPYPE	Converter o arquivo <i>.gpr</i> para <i>.mop</i> para ser reconhecido pelo MOPAC	Calcular as propriedades estruturais eletrônicas com o MOPAC	Obter os valores das propriedades estruturais eletrônicas no arquivo <i>.arc</i>
ARQUIVO GERADO	<i>.gpr</i> *	<i>.mol2</i> (e mais arquivos)	<i>.mop</i>	<i>.arc</i> (e mais arquivos)	-

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Quadro 08 – Resumo das etapas pré-*docking* para os pesticidas

ETAPAS PRÉ-DOCKING	1	2	3	4	5	6
DESCRIÇÃO	Fazer o download do arquivo .sdf do sítio eletrônico PubChem	Converter, com o Babel, o arquivo para .pdb e conferir a molécula com o PyMOL	Conferir cargas com o ACPYPE	Converter o arquivo .gpr para .mop para ser reconhecido pelo MOPAC	Calcular as propriedades estruturais eletrônicas com o MOPAC	Obter os valores das propriedades estruturais eletrônicas no arquivo .arc
ARQUIVO GERADO	.sdf	.pdb	.mol2 (e mais arquivos)	.mop	.arc (e mais arquivos)	-

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

4.4 MOLECULAR DOCKING

Para a realização do *docking* é necessário converter o arquivo '.arc' gerado para '.pdb', com o auxílio do programa Gmolden e conferir as cargas novamente, utilizando o ACPYPE, para então converter o arquivo '.mol2' gerado para o formato '.pdbqt', pelo programa *AutoDock Tools*. É importante conferir os graus de liberdade (eixos de rotação) dos ligantes, ainda com o programa *AutoDock Tools*, para então montar as pastas com os arquivos 'script.sh', 'conf.txt', cujos scripts estão nos apêndices E e F, retirados da página eletrônica do *AutoDock Vina*.

Os *grids* foram desenhados considerando toda a área molecular de receptor e ligante e não apenas o sítio ativo de interação, visto que possíveis cofatores, que possam se ligar em áreas diferentes da farmacofórica podem influenciar a energia total de ligação e espontaneidade ou não do encaixe. Os parâmetros e dimensões de escolha foram: receptor=(nome_OP).pdbqt; coordenadas tridimensionais do centro do *grid* : center_x=0,902; center_y=3,352; center_z=0,634; tamanho do *grid*: size_x=18; size_y=18; size_z=18; espaçamento: 1,000; cpu=4; num_modes=10.

O item *cpu= 4* significa que o cálculo roda em paralelo utilizando quatro processadores do computador e *num_modes=10* indica que os 10 melhores resultados dos atracamentos ou “poses” serão extraídas. Para analisar as estruturas

geradas após os cálculos de *docking* foram utilizados os programas VMD, PyMOL e *AutoDock Tools*.

De posse do arquivo *output* do MOPAC pela menor energia de *docking* foi possível identificar o melhor complexo gerado dentre os *runs*. A busca por esse menor valor, que indica as melhores conformações de *docking*, foram comparadas com o programa *vinascreengettop*, cujo script está no apêndice G. O resumo das etapas de *docking* segue no quadro 09.

Quadro 09 – Resumo das etapas de *docking*, geração de imagens e extração de propriedades estruturais eletrônicas

ETAPAS <i>DOCKING</i>	1	2	3	4	5
DESCRIÇÃO	Converter o arquivo do complexo .arc para .pdb com o programa Gmolten	Conferir visualmente as moléculas com o PyMOL e conferir as cargas do complexo com o ACPYPE	Converter o arquivo .mol2 para .pdbqt com o programa <i>AutoDock Tools</i>	Conferir os graus de liberdade e os hidrogênios das moléculas com o <i>AutoDock Tools</i>	Definir dimensões do <i>grid</i>
ARQUIVO GERADO	.pdb	.mol2 (e mais arquivos)	.pdbqt	-	-

ETAPAS <i>DOCKING</i>	6	7	8	9
DESCRIÇÃO	Montar as pastas de cada <i>docking</i> com os arquivos <i>conf.txt</i> , <i>script.sh</i> e <i>vinascreengettop</i> , (<i>ligante</i>). <i>pdbqt</i> e (<i>receptor</i>). <i>pdbqt</i>	Fazer 10 cópias do (<i>ligante</i>). <i>pdbqt</i>	Executar o script	Verificar a menor energia de interação com o <i>vinascreengettop</i>
ARQUIVO GERADO	-	.pdbqt	10 pastas, uma de cada ligante	-

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Quanto às etapas de *docking*, deve-se proceder as etapas 1 a 4 para receptores e ligantes, individualmente.

4.5 IMAGENS DOS COMPLEXOS

Após as etapas de desenho e otimização, as coordenadas tridimensionais das propostas de derivados e dos Ops foram inseridas simultaneamente no programa *AutoDock Vina* para calcular a energia de interação entre Ops e propostas. Após os *runs* dos *dockings* verificou-se o de menor energia através do *software* 'vinascreengettop'.

As imagens dos complexos, em 3D, salvas no formato '*.sdf*' foram transformadas em '*.pdb*' com o auxílio do *software AutoDock Tools* para, então, serem visualizadas no programa PyMOL e geradas as imagens dos melhores complexos.

Com o *software* BABEL os arquivos foram convertidos do formato '*.pdb*' para o '*.mop*', como feito para as moléculas isoladas, para obtenção das propriedades estruturais eletrônicas dos complexos. No quadro 10 está o resumo das etapas e no apêndice D há o guia de geração de imagens dos complexos com maior detalhamento.

Quadro 10 – Resumo das etapas de geração de imagens e extração de propriedades estruturais eletrônicas dos complexos

IMAGENS E PROPRIEDADES DOS COMPLEXOS	1	2	3	4	5
DESCRIÇÃO	Converter o arquivo de menor energia, identificado pelo <i>vinascreengettop</i> para <i>.pdb</i> com o <i>AutoDock Tools</i>	Conferência de hidrogênios de receptor e ligante e geração da imagem única de receptor e ligante com o PyMOL	Conversão do arquivo <i>.pdb</i> para <i>.mop</i> com o BABEL para ser reconhecido pelo MOPAC	Conferência da conformação, carga total e do cabeçalho do arquivo <i>.mop</i>	Cálculo das propriedades estruturais eletrônicas com o MOPAC
ARQUIVO GERADO	.pdb	.pdb	.mop	-	.arc (e mais arquivos)

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

4.6 DL₅₀ e ENERGIA DE ADSORÇÃO

A partir dos valores de energia de *docking* foram estimados os valores de DL₅₀ experimental dos pesticidas. Esses valores foram confrontados com dados teóricos, do artigo “*A quantitative Structure Activity Relationship for acute oral toxicity for pesticides on rats: Validation, domain of application and prediction*”, de Hamadache *et al.* (2015).

As energias de adsorção foram calculadas a partir das energias de *docking* obtidas, através das equações descritas na seção 3.16.6. Não foram utilizados programas, apenas cálculos matemáticos.

4.7 RECURSOS COMPUTACIONAIS

Para a realização dos cálculos, todos em softwares livres, foi utilizado um computador AMD X8, com 32 GB de memória RAM, 1 TB de HD, placa de vídeo PCI-E GForce GTX970 4 GB GDDR5 1664 CUDA cores e um computador pessoal HP com 3 GB de memória RAM, processador Intel Core i5, 320 GB HD para a realização de cálculos mais leves. O computador principal utilizado para os cálculos foi obtido através do Edital FAPES 006/2014.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RESULTADOS DAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS ELETRÔNICAS DOS PESTICIDAS E DAS PROPOSTAS ISOLADAMENTE

Os resultados dos cálculos das propriedades estruturais eletrônicas e de atracamento molecular foram realizados para explorar interações entre os derivados de fulereno C₆₀ e os dez pesticidas Ops selecionados para estudos. Utilizou-se o método semiempírico PM7 para obter as estruturas iniciais e os resultados de menor energia dos Ops foram compilados na tabela 02.

Tabela 02 – Resultados das propriedades estruturais eletrônicas dos pesticidas Ops em estudo

Pesticida Op	$\Delta H_f /$ kcal.mol ⁻¹	Energia total / e.V	Dipolo / D	$\epsilon_{Homo} /$ e.V	$\epsilon_{Lumo} /$ e.V	$E_{bg} /$ e.V	$\mu /$ e.V	$\eta /$ e.V
Acefato	-186,509	-2053,655	1,799	-8,782	-0,110	8,672	-4,446	4,336
Cadusafós	-177,183	-2661,928	0,828	-8,765	-0,446	8,319	-4,606	4,160
Clorpirifós	-199,079	-3482,225	1,712	-9,138	-0,843	8,295	-4,991	4,148
Dimetoato	-180,623	-2380,121	3,114	-9,074	-0,837	8,237	-4,956	4,119
Fenitrotiona	-170,993	-3282,024	7,506	-9,235	-1,046	8,189	-5,141	4,095
Fentoato	-201,007	-3416,087	4,395	-8,937	-0,857	8,080	-4,897	4,040
Malation	-119,862	-3780,047	4,553	-7,225	-0,958	6,267	-4,092	3,134
Malaoxon	-285,889	-3903,742	2,637	-8,441	-0,440	8,001	-4,441	4,001
Parat. metílica	-170,445	-3132,266	6,349	-9,404	-1,137	8,267	-5,271	4,134
Terbufós	-170,181	-2688,834	4,932	-8,376	-0,569	7,807	-4,473	3,904

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

O valor da entalpia de formação (ΔH_f) da maioria dos pesticidas variou entre -170kcal.mol⁻¹ e -200kcal.mol⁻¹, apenas o fentoato e malaoxon apresentaram valores maiores. A energia total variou entre -3904eV e -2054eV, valores relativos ao malaoxon e acefato respectivamente. O valor de dipolo apresentou crescimento significativo do menor valor (0,82818D), do cadusafós, para o maior (7,50611D), relativo à fenitrotiona.

As energias de HOMO variaram entre -7,225 e -9,404eV e de LUMO entre -0,110 e -1,137eV. Os maiores valores para ambos foi o da parationa metílica. A energia de *bandgap* (E_{bg}) da maioria variou em torno de 8eV, exceto para o malation e terbufós,

com valores abaixo. Quanto à conversão de malation a malaoxon, observou-se que a baixa E_{bg} do malation explica a instabilidade da molécula à temperatura ambiente. Essa hipótese foi comprovada por dados de literatura, conforme Caldas (2000) e Stopelli (2005), visto que o malation realmente converte-se em malaoxon em condições ambientais.

A fenitrotona e a parationa metílica tiveram maiores valores de μ e, no geral, observou-se baixa diferença entre μ e η (*bandgap*), o que confere pouca variação de estabilidade entre eles ou de comportamento sobre transferência de elétrons. Dentre os Ops a parationa metílica e a fenitrotona apresentaram os resultados mais satisfatórios de reatividade. Não foram encontrados na literatura especializada dados experimentais de comparação de reatividade entre pesticidas organofosforados para que fossem confrontados com os resultados obtidos.

Quanto aos derivados de fulereno, os resultados de propriedades estruturais eletrônicas foram compilados na tabela 03.

Tabela 03 – Resultados das propriedades estruturais eletrônicas dos derivados de fulerenos propostos

Derivados de fulereno	$\Delta H_f /$ kcal.mol ⁻¹	Energia total/ e.V	Dipolo / D	$\epsilon_{HOMO}/$ e.V	$\epsilon_{LUMO}/$ e.V	$\epsilon_{bg}/$ e.V	$\mu /$ e.V	$\eta /$ e.V
Derivado 0	816,327	-7847,417	1,430	-8,999	-2,998	6,001	-5,999	3,001
Derivado 1	768,972	-8292,644	2,139	-8,991	-2,993	5,998	-5,992	2,999
Derivado 2	802,273	-9209,827	5,726	-8,947	-2,941	6,006	-5,944	3,003
Derivado 3	637,439	-9294,474	30,315	-4,861	-1,251	3,610	-3,056	1,805
Derivado 4	671,743	-10211,448	27,826	-4,988	-1,044	3,944	-3,016	1,972
Derivado 5	661,611	-10212,008	20,252	-5,217	-0,997	4,220	-3,107	2,110
Derivado 6	664,013	-10211,857	27,145	-5,374	-1,325	4,049	-3,350	2,025

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Os resultados para todas as propriedades apresentaram diferença significativa do primeiro bloco - propostas de derivado 0 a 2 - para o segundo bloco, das propostas 3 a 6. Acredita-se que a adição de grupos pesados às propostas de cadeias laterais completas teve influência nos resultados e gerou valores marcadamente distantes de energia de dipolo, por exemplo. O aumento da superfície molecular devido ao

aumento da quantidade de átomos favoreceu a ocorrência de interações apolares, que foram as predominantes. Além disso, os átomos adicionados possibilitaram a formação de ligações hidrogênio, visto que as cadeias laterais de serina e glutamato contêm hidroxilas e da histidina contém um átomo de nitrogênio.

Quanto ao calor de formação houve queda de cerca de 150 kcal por mol em média do primeiro bloco para o segundo e a energia total ficou ainda mais negativa para o segundo bloco. Por meio dos valores de momento dipolo verificou-se que todas as moléculas propostas são polares, porém as de número 3 a 6 são expressivamente mais polares. Sobre os pesticidas, o cadusafós, o clorpirifós e o acefato são os menos polares, logo devem se ligar bem às propostas 3 a 6.

Para a predição da interação viável deve-se calcular a ligação entre o HOMO_{fulereno} que atua como base de Lewis, e o LUMO_{Op}, que atua como ácido de Lewis. As propostas com maior valor de HOMO são as de número 1 e 2, seguidas pelas propostas 4, 5 e 6. Sobre os valores de LUMO dos Ops, o da parationa metílica e fenitrothion são pronunciadamente maiores que dos demais pesticidas estudados. Considerando que as propostas 1 e 2 não têm a tríade catalítica completa, sugere-se que a ligação entre as propostas 4 a 6 a esses dois Ops citados seria viável para a captura do pesticida.

Sobre a energia de *bandgap*, observou-se que os derivados de fulerenos 0,1 e 2 são mais estáveis, ou seja, com menor probabilidade de se ligarem aos Ops e os derivados 3 a 6 são mais reativos.

5.1.1 O malation e a parationa metílica

O malation e a parationa metílica na simulação *in silico* geraram um arquivo '*den*'. e durante os cálculos, no momento da convergência, as moléculas rompiam. Então observou-se que os métodos semiempíricos não conseguiram descrever bem a dupla ligação entre enxofre e fósforo do malation e a ressonância na ponta da cadeia da parationa metílica, devido a uma barreira potencial nessas ligações. Provavelmente a parametrização para esses casos não sejam tão acurados, então a correção proposta foi a otimização pelo *software* MOPAC e não pelo GHEMICAL,

como feito para os demais pesticidas. Logo, essas moléculas de pesticidas tiveram essa etapa extra em relação ao tutorial apresentado na metodologia (figura 12).

5.2 RESULTADOS DAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS ELETRÔNICAS DOS COMPLEXOS

Os dados de propriedades estruturais eletrônicas dos complexos 'proposta de derivado de fulereno–pesticida Op' foram obtidos utilizando o método semiempírico PM7, assim como feito para as moléculas individualmente, e os resultados obtidos foram agrupados na tabela 04.

Tabela 04 – Propriedades estruturais eletrônicas dos complexos

(continua)

PROPRIEDADES ESTRUTURAIS ELETRÔNICAS DOS COMPLEXOS								
	$\Delta H_f /$ kcal.mol ⁻¹	Energia total / e.V	Dipolo / D	$\epsilon_{Homo}/$ e.V	$\epsilon_{Lumo}/$ e.V	$E_{bg}/$ e.V	$\mu /$ e.V	$\eta /$ e.V
Acefato - p0	613,166	-9901,059	4,435	-8,936	-3,008	5,928	-5,972	2,964
Cadusafós- p0	617,504	-10509,356	6,632	-8,424	-3,138	5,286	-5,781	2,643
Clorpirifós - p0	625,934	-11444,706	3,788	-8,516	-2,765	5,751	-5,641	2,876
Dimetoato - p0	616,200	-10227,561	4,203	-9,067	-3,089	5,978	-6,078	2,989
Fenitrotiona - p0	648,492	-11128,415	7,852	-8,839	-2,856	5,983	-5,848	2,992
Fentoato - p0	591,291	-11263,519	2,867	-8,954	-2,969	5,985	-5,962	2,993
Malaoxon - p0	429,838	-11754,532	5,442	-8,827	-2,855	5,972	-5,841	2,986
Malation - p0	471,554	-11636,106	3,542	-8,831	-2,904	5,927	-5,868	2,964
Parat. metílica - p0	632,793	-10979,350	5,076	-8,902	-2,907	5,995	-5,905	2,998
Terbufós - p0	633,393	-10535,919	2,984	-8,455	-2,918	5,537	-5,687	2,769
Acefato - p1	565,818	-10346,121	6,307	-8,955	-3,017	5,938	-5,986	2,969
Cadusafós - p1	566,930	-10954,687	1,380	-8,698	-2,969	5,729	-5,834	2,865
Clorpirifós - p1	536,843	-11775,130	2,388	-8,833	-2,857	5,976	-5,845	2,988
Dimetoato - p1	574,439	-10672,564	3,641	-8,807	-2,833	5,974	-5,820	2,987
Fenitrotiona - p1	606,684	-11573,498	7,070	-8,916	-2,918	5,998	-5,917	2,999
Fentoato - p1	584,385	-11707,122	2,729	-8,736	-2,966	5,770	-5,851	2,885
Malaoxon - p1	847,473	-12195,318	7,321	-8,160	-2,958	5,202	-5,559	2,601
Malation - p1	421,502	-12081,643	3,844	-8,857	-2,879	5,978	-5,868	2,989
Parat. metílica - p1	720,753	-11338,868	5,478	-8,866	-2,922	5,944	-5,894	2,972
Terbufós - p1	570,454	-10981,814	8,157	-7,859	-2,496	5,363	-5,178	2,682
Acefato - p2	594,831	-11263,628	4,917	-8,774	-2,907	5,867	-5,841	2,934
Cadusafós - p2	592,325	-11872,130	4,016	-8,673	-2,878	5,795	-5,776	2,898
Clorpirifós - p2	569,373	-12692,356	6,318	-8,848	-2,869	5,979	-5,859	2,990

Dimetoato - p2	594,187	-11590,278	7,474	-8,723	-2,762	5,961	-5,743	2,981
Fenitrotiona - p2	636,805	-12490,751	9,089	-8,841	-2,835	6,006	-5,838	3,003
Fentoato - p2	573,040	-12626,083	6,503	-8,770	-2,793	5,977	-5,782	2,989
Malaoxon - p2	394,928	-13117,542	7,5674	-8,745	-2,784	5,961	-5,765	2,981
Malation - p2	453,054	-12998,629	9,652	-8,842	-2,875	5,967	-5,859	2,984
Parat. metílica - p2	604,481	-12342,308	4,816	-8,919	-2,941	5,978	-5,930	2,989
Terbufós - p2	609,866	-11898,736	7,128	-8,329	-2,873	5,456	-5,601	2,728
Acefato - p3	418,633	-11348,715	23,984	-5,549	-1,151	4,398	-3,350	2,199
Cadusafós - p3	426,590	-11956,862	26,242	-5,206	-1,263	3,943	-3,235	1,972
Clorpirifós - p3	402,765	-12777,143	26,251	-4,962	-1,195	3,767	-3,079	1,884
Dimetoato - p3	426,429	-11674,968	26,341	-5,219	-1,165	4,054	-3,192	2,027
Fenitrotiona - p3	469,003	-12575,539	29,826	-5,009	-1,218	3,791	-3,114	1,896
Fentoato - p3	402,980	-12710,965	27,881	-5,230	-1,311	3,919	-3,271	1,960
Malaoxon - p3	255,011	-13201,434	27,141	-4,850	-1,115	3,735	-2,983	1,868
Malation - p3	291,865	-13083,311	26,556	-4,931	-1,171	3,760	-3,051	1,880
Parat. metílica - p3	429,792	-12427,395	24,032	-5,549	-1,206	4,343	-3,378	2,172
Terbufós - p3	445,999	-11983,259	29,692	-4,849	-1,170	3,679	-3,010	1,840
Acefato - p4	419,054	-12267,085	8,658	-5,415	-0,087	5,328	-2,751	2,664
Cadusafós - p4	417,681	-12875,546	0,942	-5,445	-0,174	5,271	-2,810	2,636
Clorpirifós - p4	392,175	-13695,893	5,084	-5,163	0,055	5,218	-2,554	2,609
Dimetoato - p4	415,621	-12593,679	7,088	-5,398	-0,063	5,335	-2,731	2,668
Fenitrotiona - p4	497,117	-13492,608	16,412	-5,844	-0,317	5,527	-3,081	2,764
Fentoato - p4	395,144	-13629,471	9,208	-5,231	0,047	5,278	-2,592	2,639
Malaoxon - p4	229,106	-14120,670	2,119	-5,248	0,003	5,251	-2,623	2,626
Malation - p4	278,451	-14002,110	3,167	-5,398	-0,103	5,295	-2,751	2,648
Parat. metílica - p4	430,752	-13345,761	11,065	-5,263	-0,040	5,223	-2,652	2,612
Terbufós - p4	430,535	-12902,255	4,971	-5,237	0,045	5,282	-2,596	2,641
Acefato - p5	450,335	-12265,922	17,880	-5,401	-1,118	4,283	-3,260	2,142
Cadusafós- p5	449,852	-12874,334	17,085	-5,582	-1,130	4,452	-3,356	2,226
Clorpirifós - p5	427,588	-13694,647	23,635	-5,218	-0,947	4,271	-3,083	2,136
Dimetoato - p5	460,310	-12592,148	17,891	-5,185	-1,007	4,178	-3,096	2,089
Fenitrotiona - p5	492,884	-13493,064	21,099	-5,326	-0,960	4,366	-3,143	2,183
Fentoato - p5	420,252	-13628,598	16,191	-5,793	-0,990	4,803	-3,392	2,402
Malaoxon - p5	224,413	-14120,985	9,813	-4,915	0,142	5,057	-2,387	2,529
Malation - p5	320,837	-14000,655	24,253	-5,194	-1,016	4,178	-3,105	2,089
Parat. metílica - p5	455,932	-13344,854	13,454	-5,757	-1,097	4,660	-3,427	2,330
Terbufós - p5	469,792	-12900,758	15,270	-5,438	-0,910	4,528	-3,174	2,264
Acefato - p6	446,248	-12265,985	21,292	-5,581	-1,281	4,300	-3,431	2,150
Cadusafós - p6	449,852	-12874,334	17,085	-5,582	-1,130	4,452	-3,356	2,226
Clorpirifós - p6	419,928	-13694,818	21,148	-5,794	-1,235	4,559	-3,515	2,280
Dimetoato - p6	439,644	-12592,765	18,461	-6,117	-1,205	4,912	-3,661	2,456
Fenitrotiona - p6	489,099	-13493,078	22,204	-5,585	-1,272	4,313	-3,429	2,157
Fentoato - p6	429,269	-13628,291	20,122	-5,836	-1,274	4,562	-3,555	2,281

Malaoxon - p6	254,106	-14119,957	17,073	-5,911	-1,174	4,737	-3,543	2,369
Malation - p6	305,076	-14001,234	23,938	-5,662	-1,426	4,236	-3,544	2,118
Parat. metilica - p6	451,522	-13344,879	13,606	-6,182	-1,142	5,040	-3,662	2,520
Terbufós - p6	465,253	-12900,963	19,534	-5,711	-1,261	4,450	-3,486	2,225

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Algumas propriedades tiveram mudanças significativas de comportamento a partir da proposta 3, como o calor de formação, momento dipolo, energia de HOMO e potencial químico. Outras tiveram uma transição gradual, como energia total, energia de LUMO e dureza química.

O calor de formação (ΔH_f) foi positivo para todos os complexos e observou-se que a partir da proposta 3 houve redução nos valores médios por proposta, o que indica menor demanda de energia para formação do complexo. Isso é positivo para a pesquisa visto que as moléculas investigadas de maior interesse são as de tríade catalítica completa (proposta 4 a 6). Sobre os pesticidas, o malation e o malaoxon apresentaram a menor média geral de valores.

Podemos prever a direção de uma variação espontânea em uma reação em razão das probabilidades de estado inicial e final e a entropia é diretamente proporcional a essa probabilidade. Os valores da entropia global, que incluem a entropia da vizinhança de uma reação, são geralmente menores que os da entalpia (relacionados ao balanço energético). (CHANG, 2008). A energia total de um sistema ou energia de Gibbs (G) conta com contribuição da energia entálpica (ΔH) e entrópica (ΔS), de acordo com $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ e depende de temperatura e pressão. O ΔG será favorável se a entropia conformacional for muito alta. Os valores oscilaram entre -9901eV (complexo acefato-proposta0) a -14120eV (complexos malaoxon-propostas 5 e 6), com destaque para os valores do malation e do malaoxon, especialmente nas propostas de tríade completa.

Houve mudança considerável no valor do momento dipolo dos complexos, especialmente para as propostas 4 (0,94247D a 16,41164D), comparado ao valor de dipolo do derivado de fulereno isoladamente (27,82601D). Considerando que o fulereno sem as cadeias laterais dos aminoácidos associados tem momento dipolo

mais alto, ou seja, é mais polar, então o derivado 4 pode atuar como agente precipitante do pesticida em água, pois reduziu consideravelmente a solubilidade em água.

A energia de *bandgap* apresentou menores valores para a proposta 3, seguida das propostas 5 e 6, o que sugere maior reatividade. Logo, sob esse aspecto, a proposta 4 apresenta desvantagem dentre as que têm a tríade de aminoácidos completa. Sobre os Ops os resultados foram bem distribuídos, com menores valores para o terbufós, malation e clorpirifós, seguidos de cadusafós e malaixon. Sobre a dureza química (η) as propostas 3, 4 e 5 destacaram-se com os menores valores, o que sugere serem as propostas mais reativas ou polarizáveis dentre as testadas.

5.3 RESULTADOS DOS CALORES DE FORMAÇÃO

Foram calculados os calores de formação dos complexos com o método PM7 pelo software MOPAC. O conjunto de dados gerados foram agrupados na tabela 04 mas para análise individualizada deste parâmetro, seguem os valores apenas de calor de formação na tabela 05.

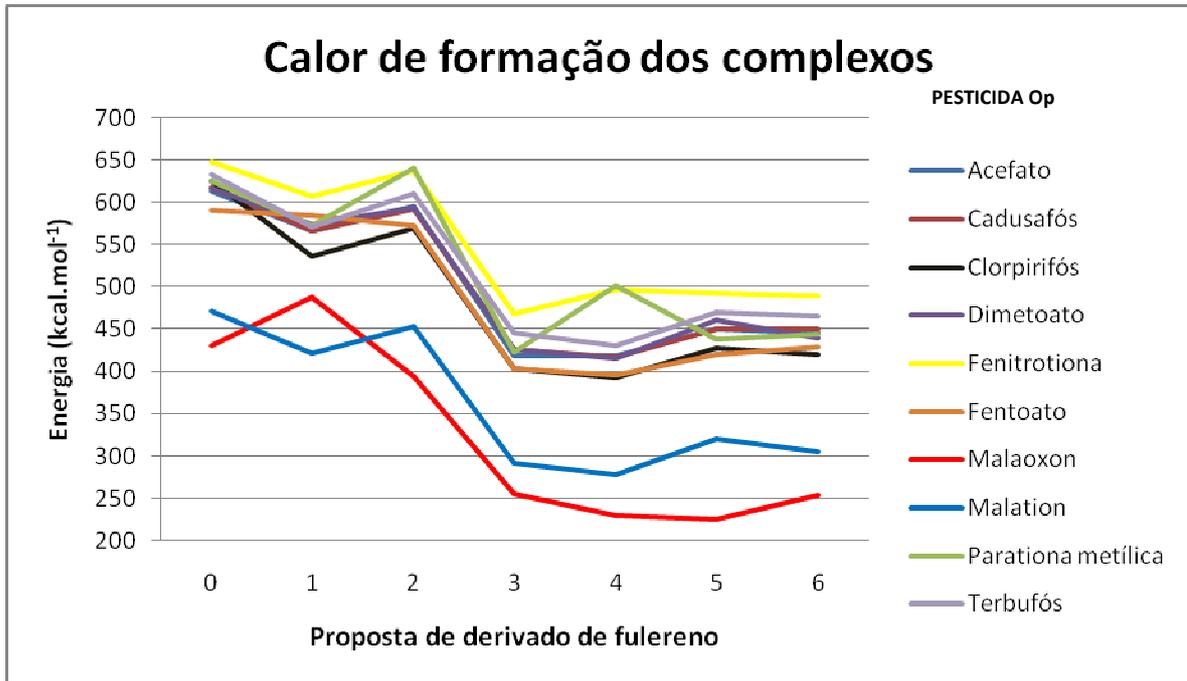
Tabela 05 – Calor de formação dos complexos

CALOR DE FORMAÇÃO DOS COMPLEXOS (kcal.mol ⁻¹)							
Pesticida Op	Proposta de derivado de fulereno						
	0	1	2	3	4	5	6
Acefato	613,166	565,818	594,831	418,633	419,054	450,334	446,248
Cadusafós	617,504	566,930	592,325	426,590	417,681	449,852	449,852
Clorpirifós	625,934	536,843	569,373	402,765	392,175	427,588	419,928
Dimetoato	616,200	574,439	594,187	426,429	415,621	460,309	439,644
Fenitrotiona	648,492	606,684	636,805	469,003	497,117	492,884	489,099
Fentoato	591,291	584,385	573,040	402,980	395,144	420,252	429,269
Malaixon	429,838	487,473	394,928	255,011	229,106	224,413	254,106
Malation	471,554	421,502	453,054	291,865	278,451	320,837	305,076
Parat. metílica	625,145	573,309	641,239	422,764	501,749	437,648	443,577
Terbufós	633,393	570,453	609,866	445,999	430,535	469,792	465,253

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Os dados da tabela 05 foram transformados em gráfico, que segue na figura 18.

Figura 18 – Calor de formação dos complexos



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Os calores de formação dos complexos, positivos, sugerem que as reações de formação sejam desfavoráveis, porém o perfil do gráfico da figura 18 explicitou que as propostas 3 a 6 - com mais cadeias laterais de aminoácidos – apresentaram os menores valores, com destaque para as propostas 4 e 5, o que indica serem mais favoráveis à formação. O malation e malaoxon tiveram os resultados mais satisfatórios entre os pesticidas.

5.4 RESULTADOS DAS ENERGIAS DE ADSORÇÃO

As energias de adsorção dos derivados de fulereno aos Ops foram obtidas por cálculos matemáticos de diferença entre o calor de formação do complexo e os calores de formação de receptor e ligante individualmente. Os dados obtidos seguem na tabela 06.

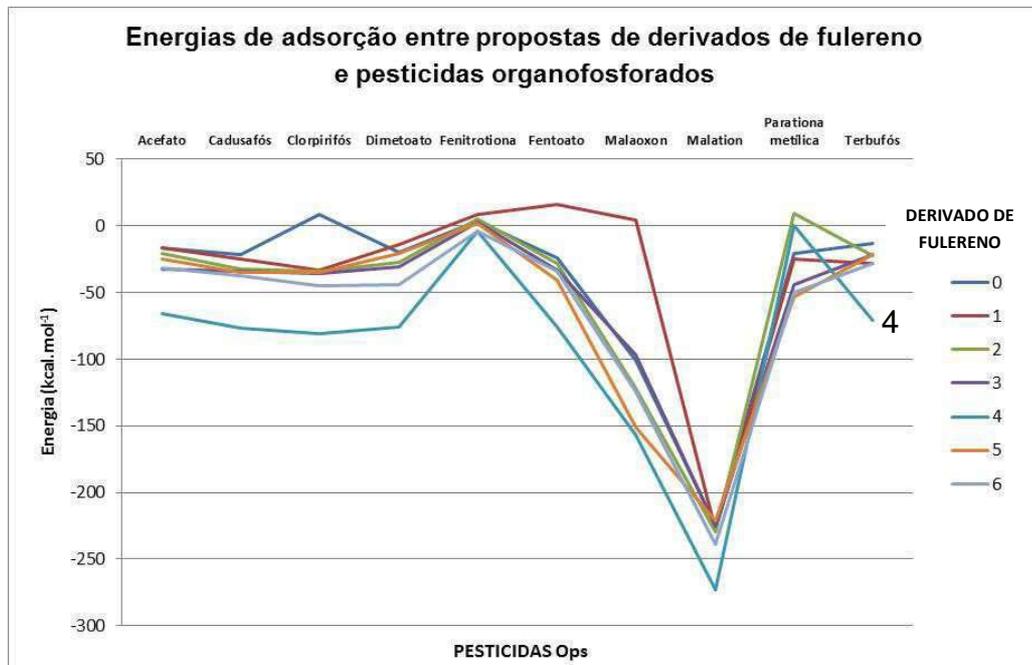
Tabela 06 – Energias de adsorção dos complexos

ENERGIAS DE ADSORÇÃO DOS COMPLEXOS (kcal.mol ⁻¹)							
Pesticida Op	Proposta de derivado de fulereno						
	0	1	2	3	4	5	6
Acefato	-16,653	-16,645	-20,934	-32,297	-66,180	-24,768	-31,257
Cadusafós	-21,641	-24,859	-32,765	-33,666	-76,879	-34,576	-36,978
Clorpirifós	8,685	-33,051	-33,822	-35,596	-80,490	-34,945	-45,007
Dimetoato	-19,504	-13,910	-27,464	-30,387	-75,499	-20,679	-43,746
Fenitrotiona	3,158	8,706	5,525	2,558	-3,632	2,267	-3,921
Fentoato	-24,029	16,420	-28,226	-33,452	-75,592	-40,351	-33,737
Malaoxon	-100,601	4,390	-121,456	-96,539	-156,748	-151,309	-124,018
Malation	-224,911	-227,608	-229,357	-225,712	-273,430	-220,912	-239,075
Parat. metílica	-20,737	-25,218	9,411	-44,230	0,451	-53,518	-49,991
Terbufós	-12,753	-28,338	-22,227	-21,260	-71,027	-21,639	-28,579

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Os valores das energias de adsorção foram trabalhados graficamente e seguem na figura 19.

Figura 19 – Gráfico das energias de adsorção dos complexos



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Os resultados mostraram que apesar das energias de formação dos complexos serem positivas (figura 18), o processo de adsorção (figura 19) é favorável ou exotérmico para a maioria das reações. A proposta 4 de derivado de fulereno apresentou os menores valores de energia de adsorção e dentre os Ops, o malation, seguido do malaoxon, tiveram pronunciadamente os melhores valores.

Observou-se que os valores de energia de adsorção obtidos não se correlacionaram com as energias de *bandgap* dos complexos (tabela 05), o que sugere que a maior contribuição para o processo seja entrópica.

5.5 RESULTADOS DAS ENERGIAS DE MOLECULAR DOCKING

Após a conclusão dos cálculos de *docking*, com o *software* MOPAC, foram transcritos apenas os resultados de menor energia para cada conformação dentre os 20 *runs* de cada interação, e os dados estão na tabela 07.

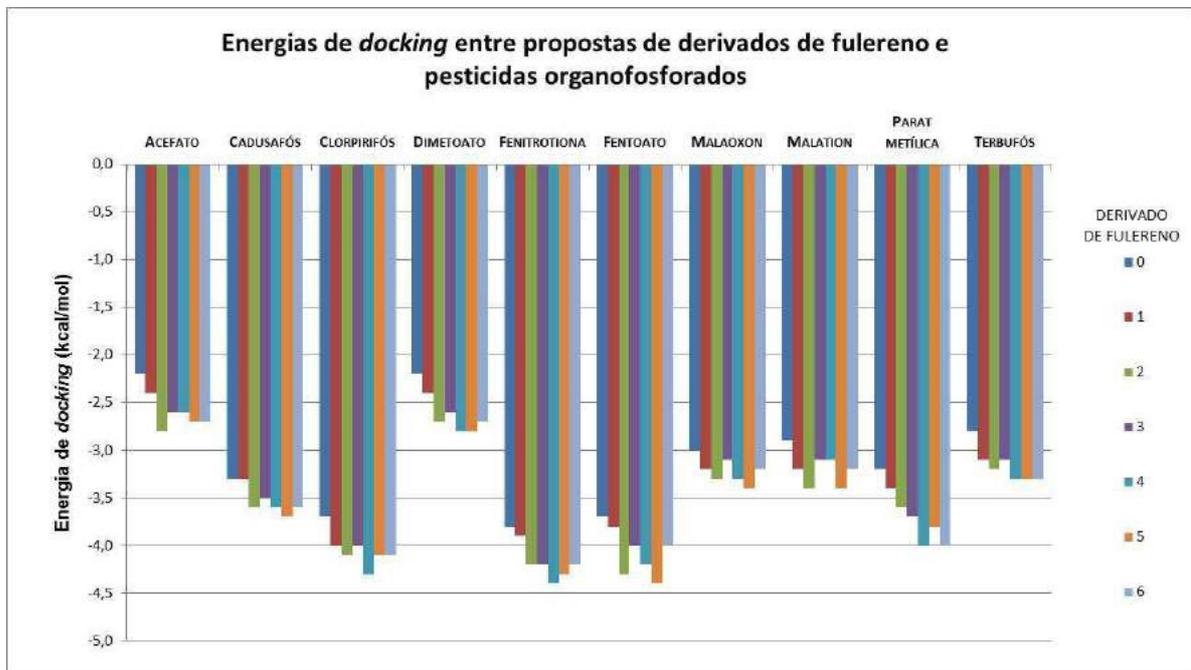
Tabela 07 – Resultados das energias de *docking* entre os derivados de fulerenos propostos e os organofosforados em estudo

Pesticida Op	ENERGIAS DE DOCKING (kcal.mol ⁻¹)						
	PROPOSTA DE DERIVADO DE FULERENO						
	0	1	2	3	4	5	6
Acefato	-2,2	-2,4	-2,8	-2,6	-2,6	-2,7	-2,7
Cadusafós	-3,3	-3,3	-3,6	-3,5	-3,6	-3,7	-3,6
Clorpirifós	-3,7	-4,0	-4,1	-4,0	-4,3	-4,1	-4,1
Dimetoato	-2,2	-2,4	-2,7	-2,6	-2,8	-2,8	-2,7
Fenitrotona	-3,8	-3,9	-4,2	-4,2	-4,4	-4,3	-4,2
Fentoato	-3,7	-3,8	-4,3	-4,0	-4,2	-4,4	-4,0
Malaoxon	-3,0	-3,2	-3,3	-3,1	-3,3	-3,4	-3,2
Malation	-2,9	-3,2	-3,4	-3,1	-3,1	-3,4	-3,2
Parat. metílica	-3,2	-3,4	-3,6	-3,7	-4,0	-3,8	-4,0
Terbufós	-2,8	-3,1	-3,2	-3,1	-3,3	-3,3	-3,3

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Os dados da tabela 07 foram transformados em gráfico, conforme figura 20.

Figura 20 – Resultados da energia de *docking* entre os Ops e os derivados de fulereno



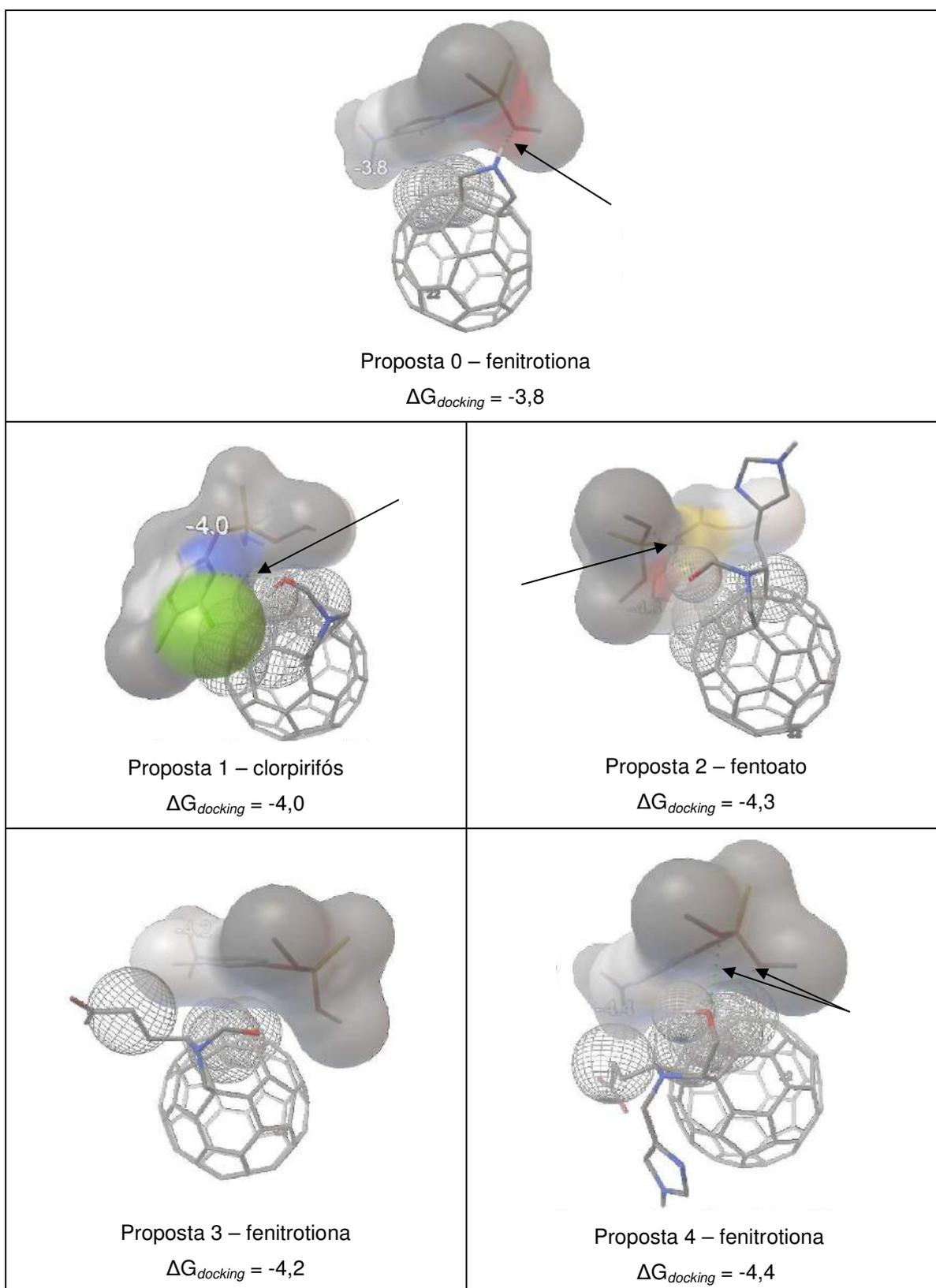
Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

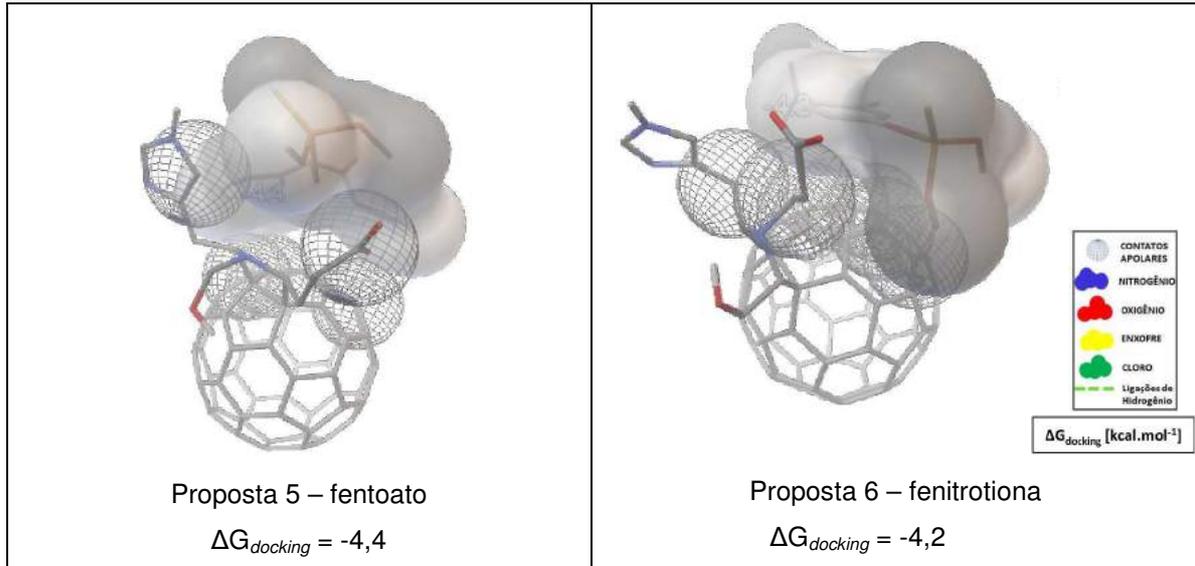
Diante dos resultados de energia de *docking* os valores mais baixos foram para as propostas de derivados de fulereno 4 e 5. Adotando-se $-4,0 \text{ kcal.mol}^{-1}$ como limite referência para *dockings* favoráveis, dentre os Ops o clorpirifós, a fenitrotiona, o fentoato e a parationa metílica apresentaram os valores mais negativos.

São apresentadas na figura 21 as conformações relativas aos menores valores de $\Delta G_{\text{docking}}$ para cada proposta, com apresentação de contatos apolares e ligações hidrogênio destacadas com setas, que podem auxiliar no esclarecimento dos melhores atracamentos. No apêndice D há o tutorial com as etapas para geração das imagens.

Figura 21 – Imagens dos complexos com menores energias de *docking*

(continua)



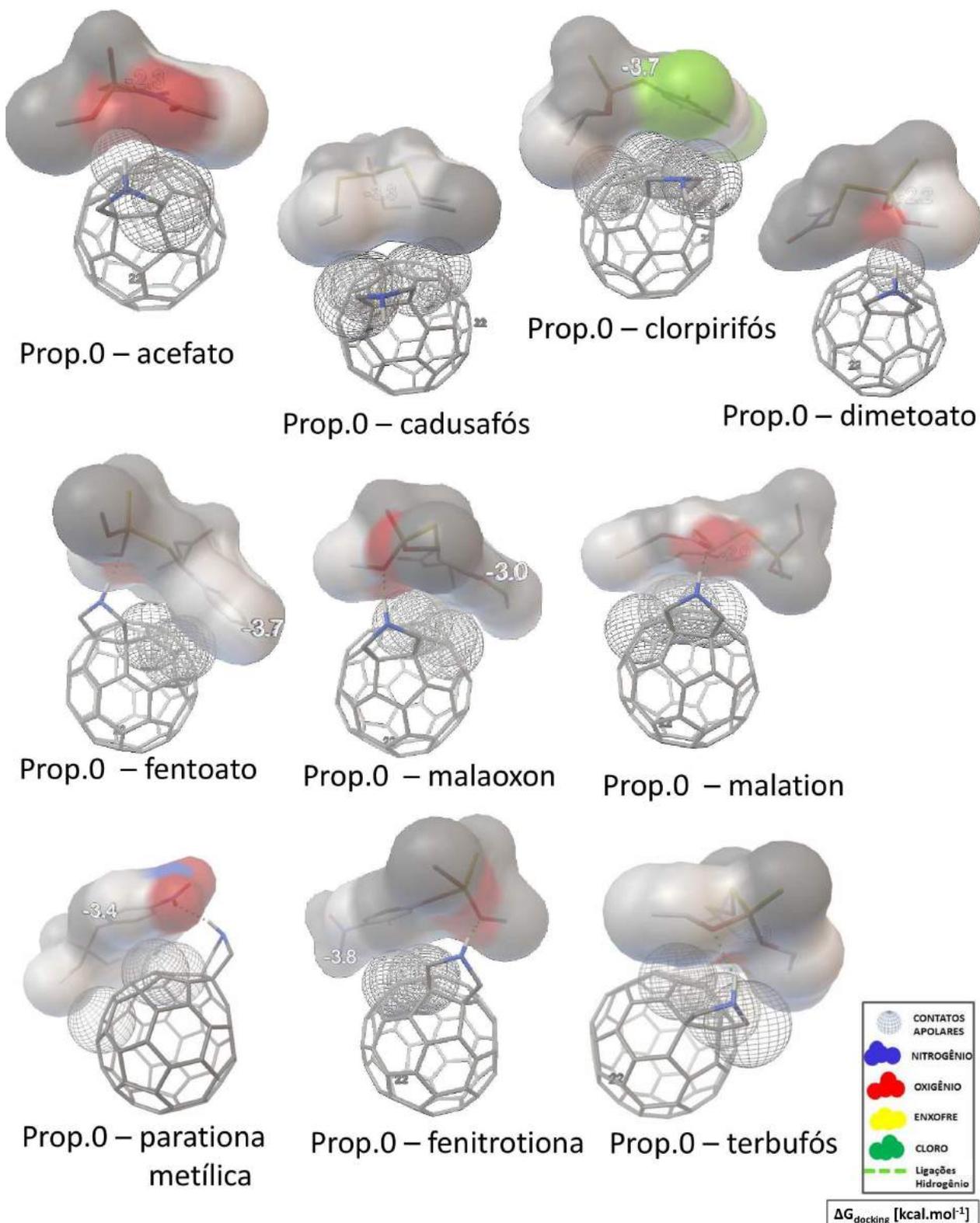


OBS: As setas indicam as ligações hidrogênio formadas.

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

A energia de *docking* é uma importante ferramenta para análise de estabilidade do complexo substrato-ligante, de maneira que quanto menor o valor da energia, mais estável será o complexo, conseqüentemente, mais favorável é o processo de captura e adsorção do organofosforado nas moléculas propostas. É imprescindível uma análise conformacional concomitante à análise energética, uma vez que diferentes tipos de interações intermoleculares conduzem à estabilidade ou não do complexo. Assim, a quantidade de interações intermoleculares e os tipos e intensidades das mesmas terão profunda influência sobre a estabilidade de interação calculada entre o ligante e o receptor de interesse. Pelos dados e imagens foi possível depreender que a fenitrotiona e o fentoato tiveram melhores resultados. As imagens dos complexos entre os derivados de fulerenos e os pesticidas Op, geradas pelo *software AutoDock Tools*, são apresentadas nas figuras 22 a 28.

Figura 22 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 0

Proposta 0

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

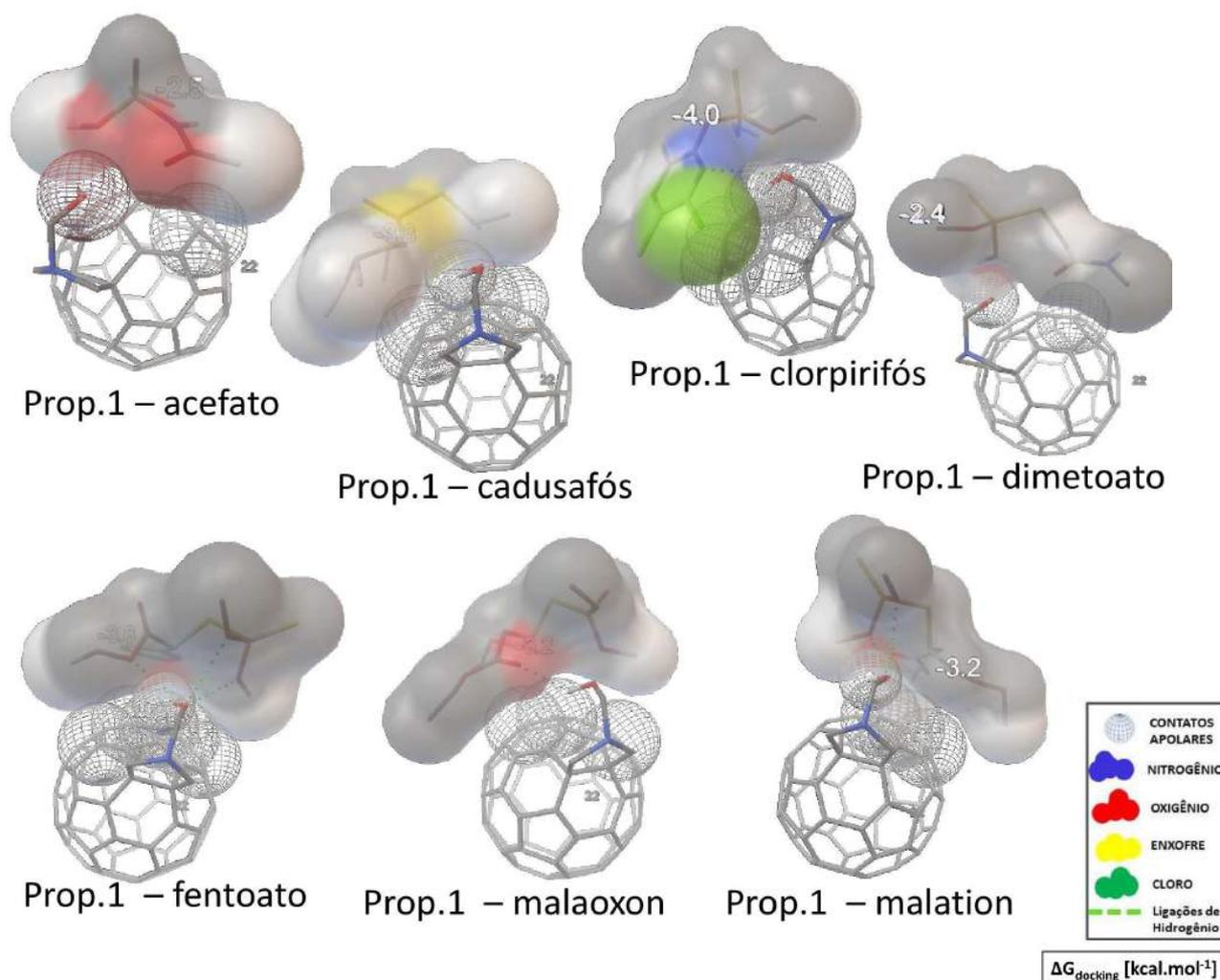
Quanto à proposta 0 (figura 22) observou-se que o pouco impedimento estérico favoreceu a aproximação com o pesticida. O acefato, mesmo sendo o menor deles, com menos limitações de arranjo estrutural, ainda assim não formou ligação hidrogênio.

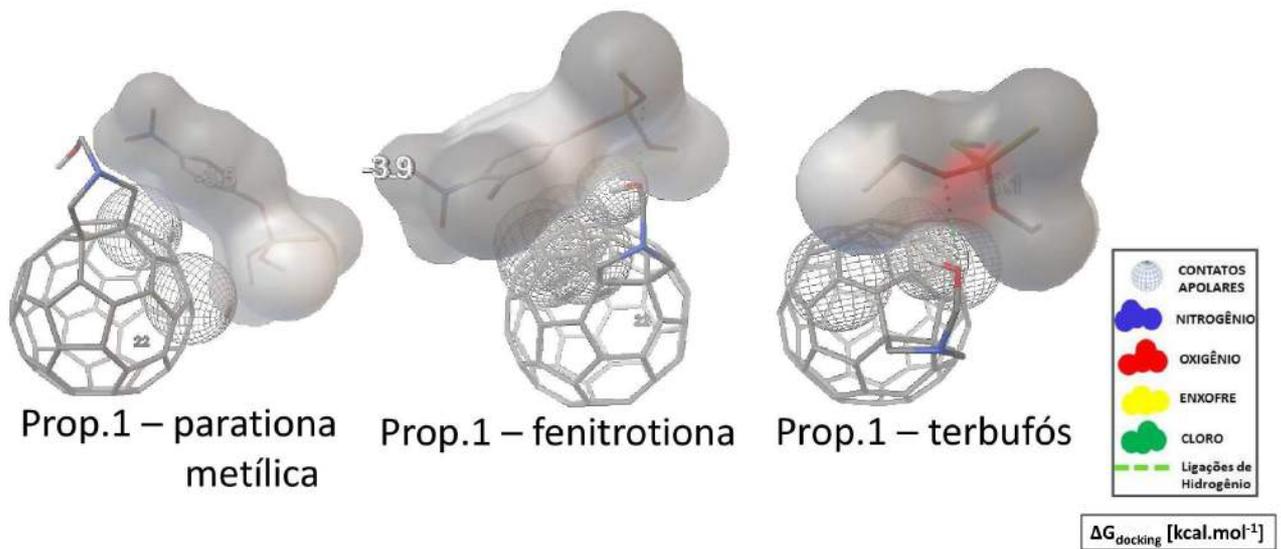
A magnitude das forças de van de Waals depende da área de contato entre moléculas, logo, pelo tamanho reduzido da cadeia lateral e maior aproximação do fulereno ao pesticida, houve interações apolares em todos os complexos. A ligação com a fenitrotona apresentou o valor de *docking* mais negativo e houve formação de uma ligação hidrogênio com esta molécula além do fentoato, malaoxon, malation, parationa metílica e terbufós.

Figura 23 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 1

(continua)

Proposta 1



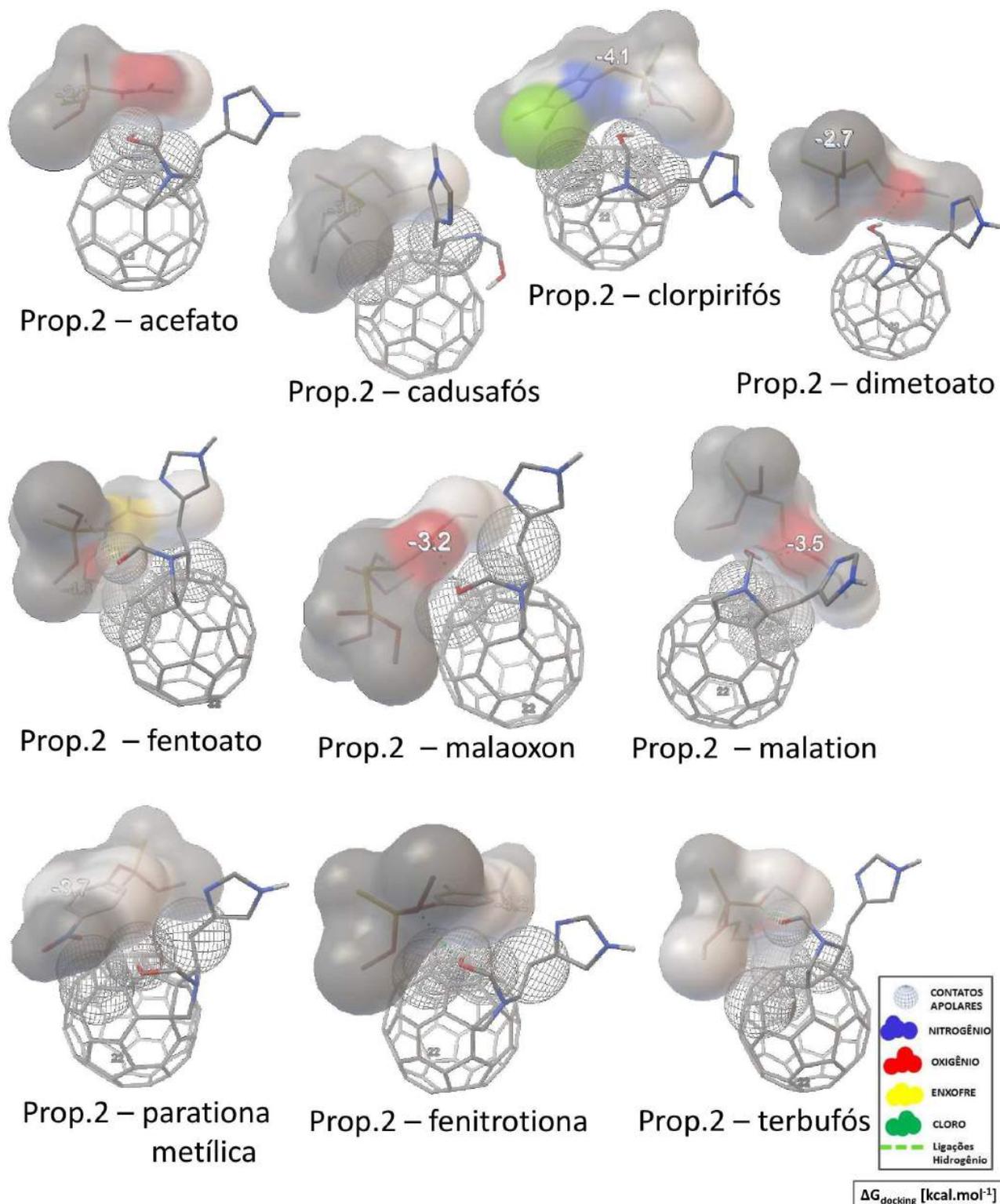


Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Na proposta 1 (figura 23), por não ter a cadeia lateral completa, a aproximação ainda estava facilitada. Houve interação apolar em todos os complexos, além de formação de uma ligação hidrogênio com o clorpirifós, fenitrotiona, malaoxon e terbufós, duas ligações hidrogênio com o malation e três ligações com o fentoato, o que pode favorecer um acoplamento mais estável.

Destaca-se que a fenitrotiona e parationa metílica, análogos estruturais, têm comportamentos distintos mesmo sendo sutil a diferença estrutural entre as moléculas, apenas com a adição de um grupamento metil na fenitrotiona. A energia de *docking* mais negativa foi com o clorpirifós, seguido da fenitrotiona.

Figura 24 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 2

Proposta 2

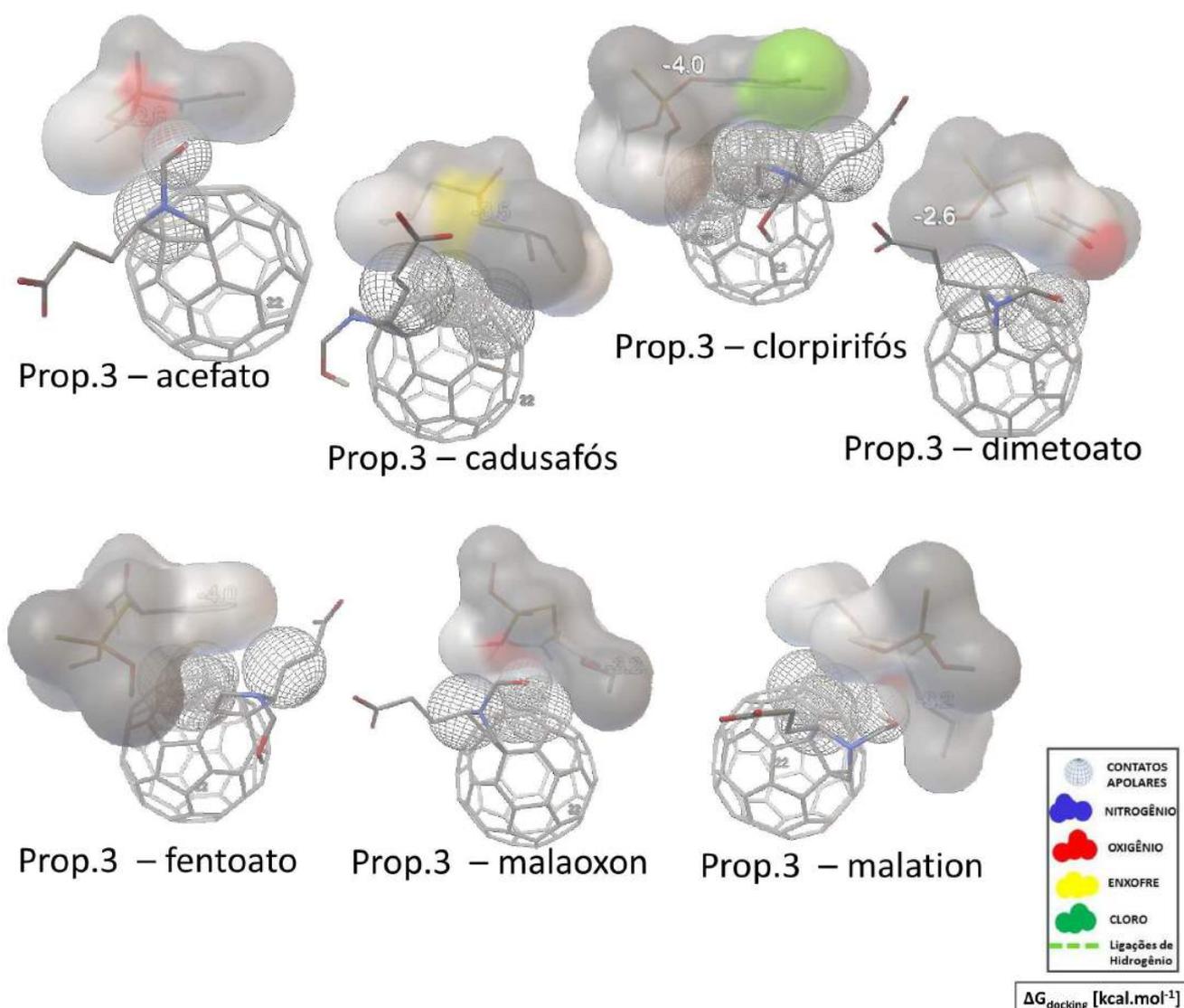
Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

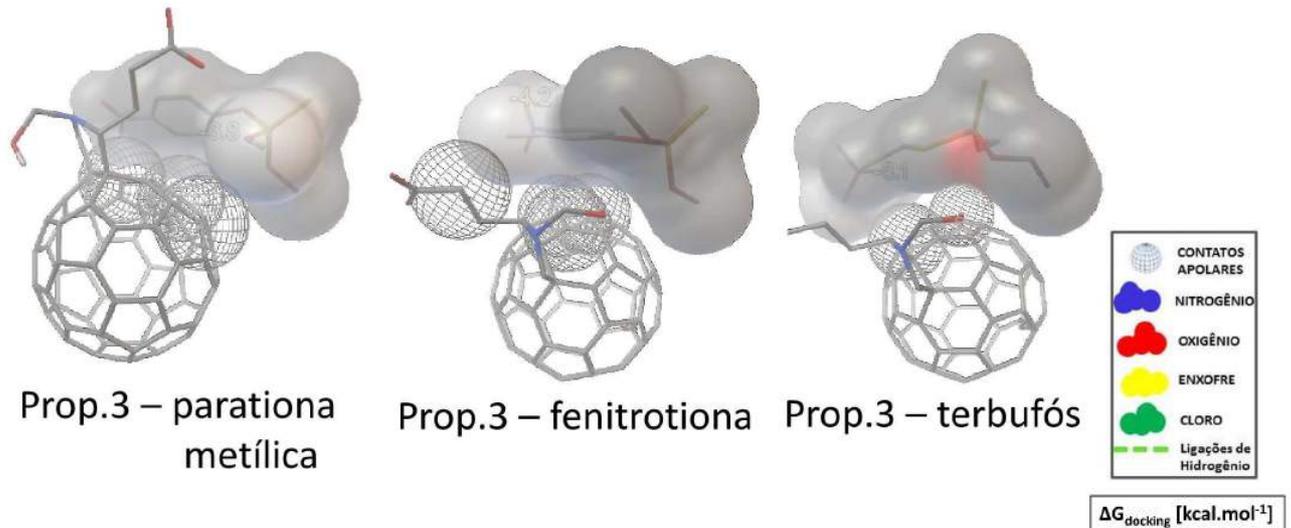
Para a proposta 2 (figura 24), ainda sem a tríade de aminoácidos na cadeia lateral, houve menos impedimento estérico que nas propostas de derivados de fulereno 4 a 6. Houve interação apolar em todos os complexos e foi identificada uma ligação hidrogênio com cada Op, exceto no complexo com a parationa metílica. A menor energia de *docking* ocorreu na ligação com o fentoato, seguido de fenitrotona e clorpirifós.

Figura 25 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 3

(continua)

Proposta 3



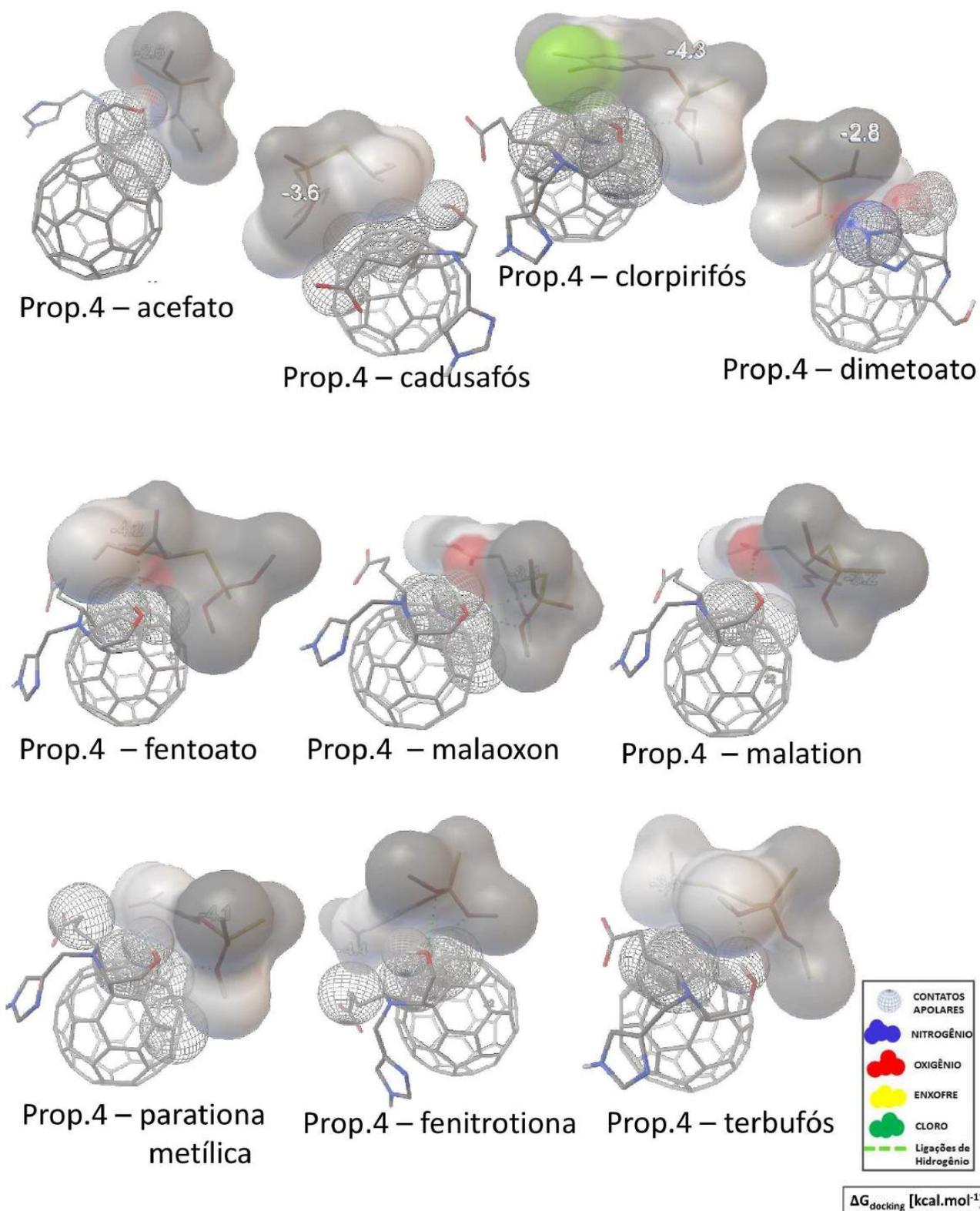


Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

A proposta 3 (figura 25), apesar dos valores mais favoráveis para a energia de *bandgap*, não gerou ligações hidrogênio em nenhuma das interações. Os contatos apolares foram responsáveis pelo acoplamento. A energia de *docking* foi mais favorável na ligação com a fenitrotiona, combinada com baixa distância O_{Ser}-P_{Op}. Na sequência, as menores energias foram no complexo com o fentoato e o clorpirifós.

Para a parationa metílica o encaixe ocorreu distante da serina, bem como para o cadusafós e clorpirifós. Considerando este parâmetro ser o de similaridade de comportamento ao que pode ocorrer em sistemas biológicos, o resultado indica então pouca chance de acoplamento *in vivo*. O comportamento do malation e malaoxon foi similar entre si.

Figura 26 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 4

Proposta 4

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

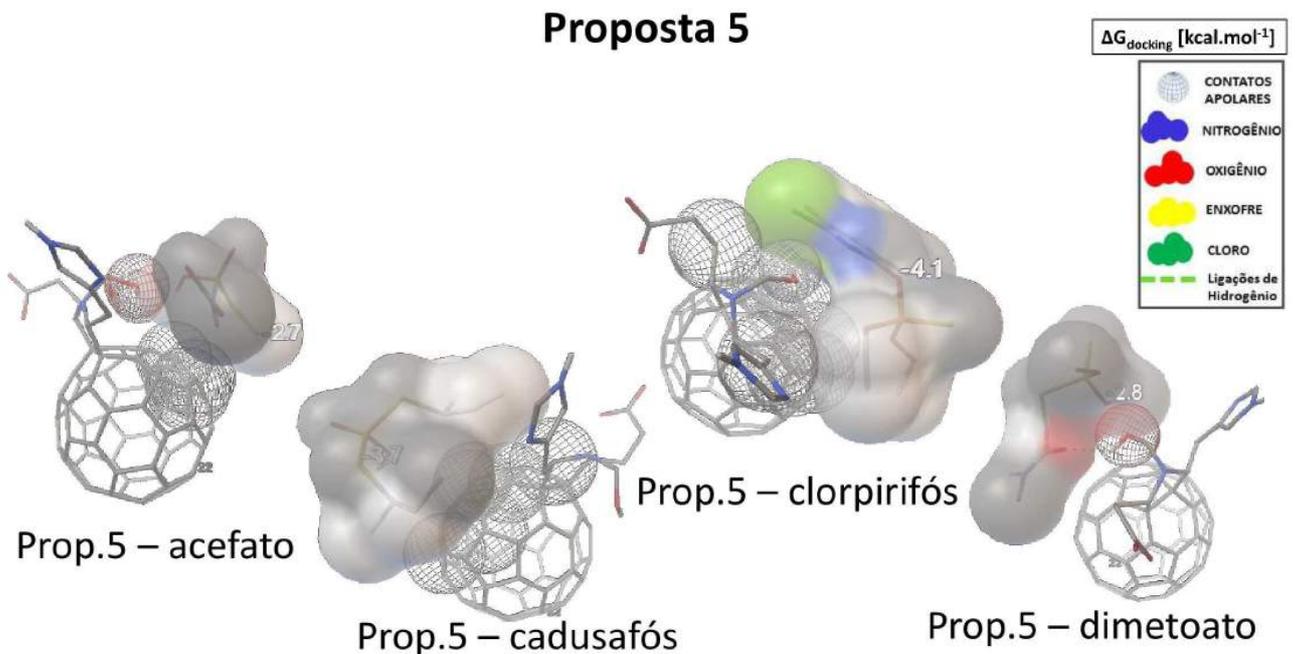
As propostas 4 a 6 foram planejadas e desenhadas contendo fragmentos similares aos das cadeias laterais dos três aminoácidos de teste: serina, histidina e glutamato.

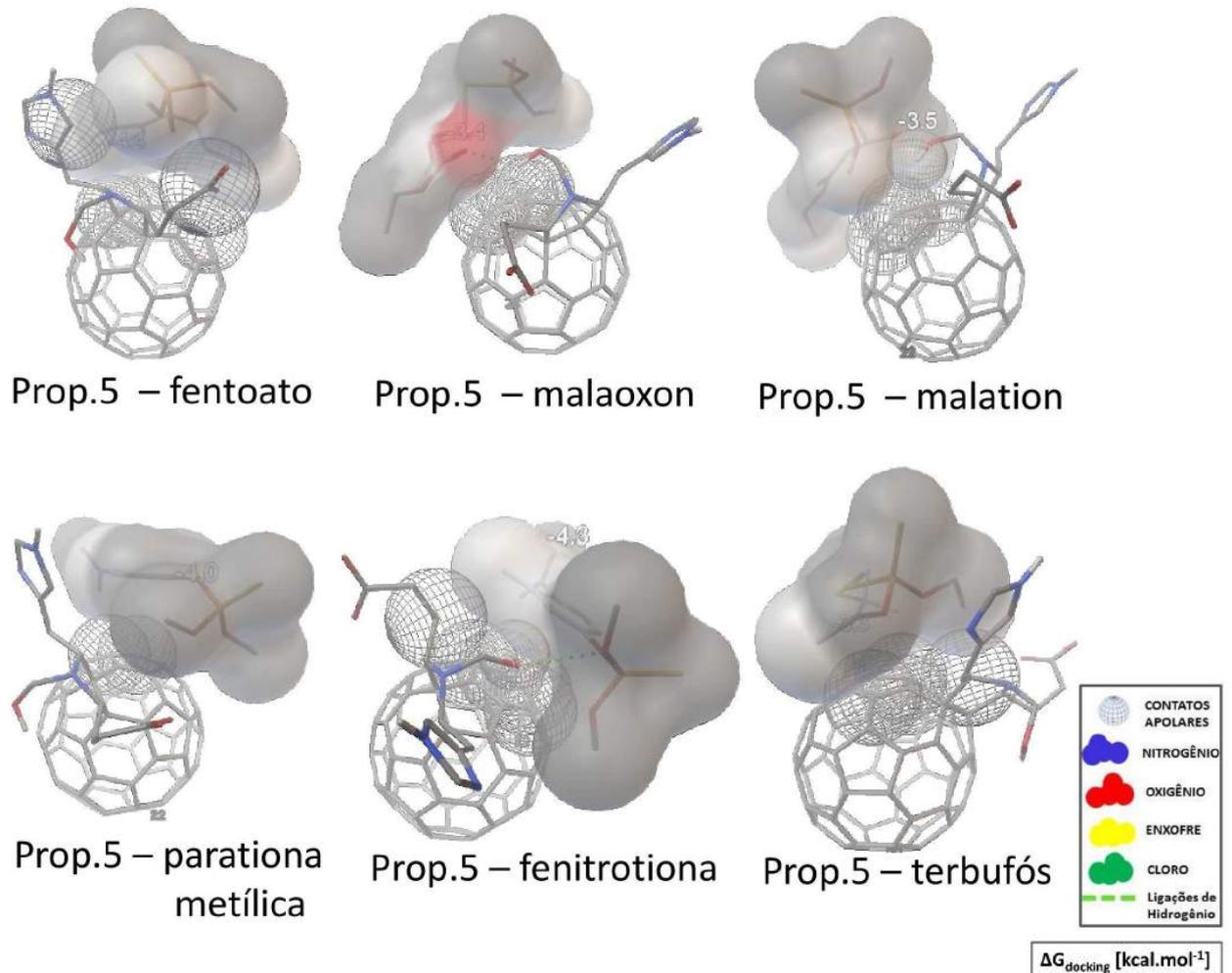
A proposta 4 (figura 26) apresentou as menores energias de *docking* na média geral dos Ops e o menor valor foi na ligação com a fenitrotona, dentre todos os 60 *dockings*. Com esta molécula formaram-se duas ligações hidrogênio, assim como com o malaoxon, já com a parationa metílica e malation, seus análogos, ocorreu a formação de apenas uma ligação hidrogênio. Só não houve formação dessa ligação com o acefato e cadusafós.

Destaca-se que para o malation e fentoato a ligação hidrogênio ocorreu com o lado oposto da molécula, que não favoreceu a aproximação do fósforo do Op com a serina do derivado de fulereno. Houve formação de contatos apolares com todos os pesticidas.

Figura 27 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 5

(continua)





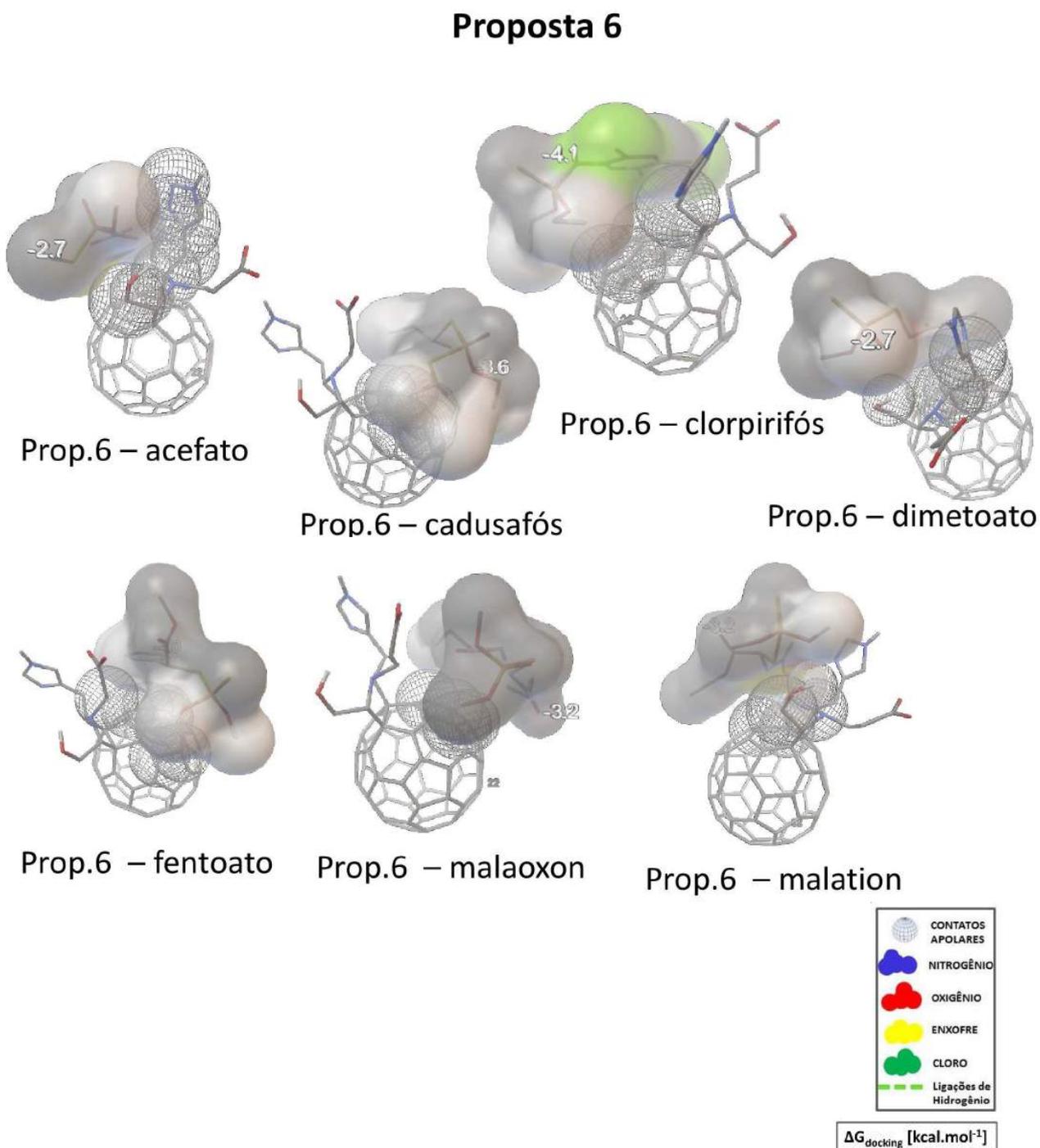
Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

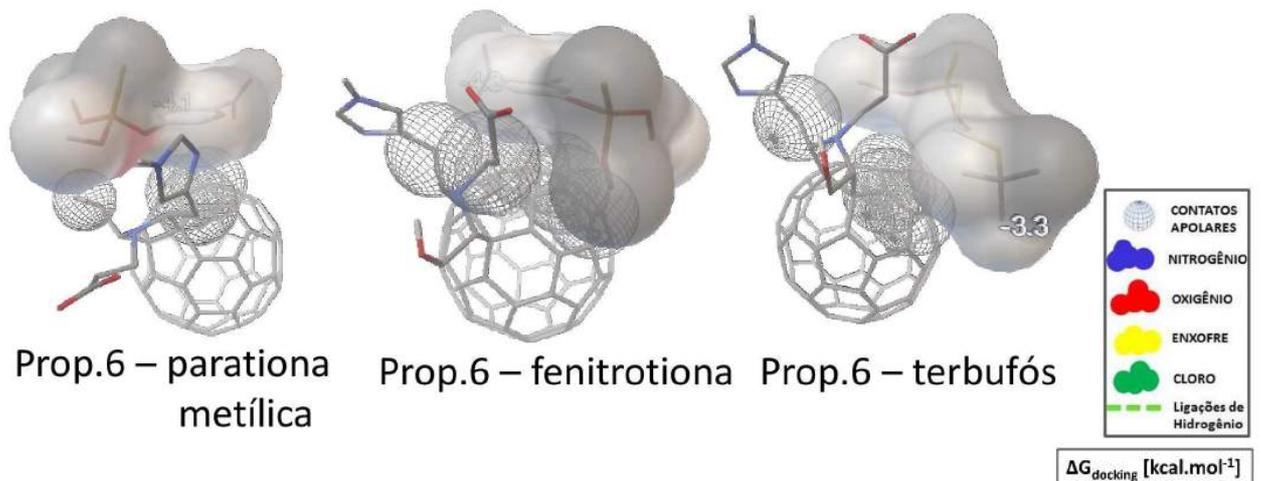
A proposta 5 (figura 27) apresentou interações com uma ligação hidrogênio apenas para o dimetoato, fenitrotiona e malaoxon.

O malation e malaoxon, mesmo sendo análogos estruturais, apenas com a substituição do enxofre por oxigênio para o malaoxon, têm comportamentos bastante distintos na ligação. Na interação com esta proposta de derivado de fulereno, considerando os 20 *runs* para cada formação de complexo, que pode ter sido um limitador, houve formação de uma ligação hidrogênio com o lado oposto da cadeia do malaoxon, então mesmo tendo menor energia de *docking* que na ligação com o malation, a distância $O_{\text{Ser}}-P_{\text{Op}}$ foi maior, logo o encaixe não foi interessante. A mesma distinção de comportamento em análogos se observou na parationa metílica, que não formou ligações de hidrogênio, enquanto com a fenitrotiona formou.

Observaram-se contatos apolares em todos os complexos e a ligação mais favorável foi com o fentoato, mesmo sem formação de ligação hidrogênio, seguido da fenitrotona.

Figura 28 – Imagens dos complexos dos pesticidas com a proposta 6





Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

A proposta 6 (figura 28) apresentou uma disposição desfavorável de cadeia lateral ao encaixe. Não foram identificadas ligações hidrogênio com nenhum dos pesticidas.

O valor mais baixo de energia de atracamento foi com a fenitrotiona, como para a maioria das propostas. A aproximação com o aminoácido serina ocorreu para este Op, diferente da interação com a parationa metílica que foi mais favorável.

5.5.1 Distância entre o oxigênio da serina e o fósforo do Op

O *docking* pode ter como parâmetro de análise de encaixe favorável a distância entre o oxigênio da serina do derivado de fulereno e o átomo de fósforo do pesticida Op, visto que esta é a interação central nas reações em sistemas biológicos.

As distâncias $O_{\text{Ser}}-P_{\text{OP}}$ foram estimadas com o auxílio do *software* PyMOL e os valores obtidos foram compilados na tabela 08.

Tabela 08 – Distância entre oxigênio da serina das propostas de derivados de fulereno e o fósforo dos pesticidas Op

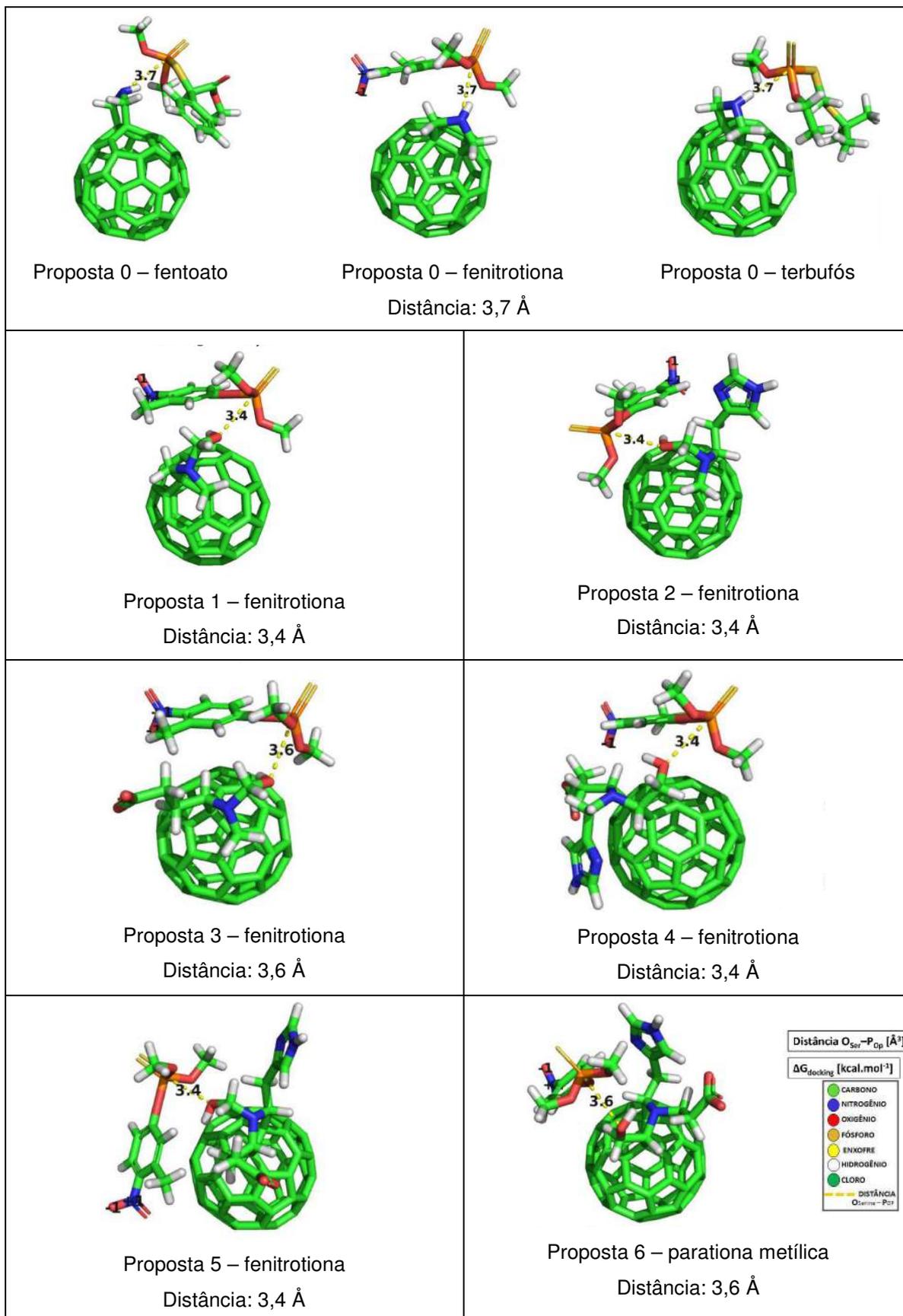
DISTÂNCIA ENTRE OXIGÊNIO DA SERINA E O FÓSFORO DO Op / Å							
Pesticida Op	PROPOSTA DE DERIVADO DE FULERENO						
	0	1	2	3	4	5	6
Acefato	4,3	3,9	4,0	4,1	3,8	3,7	4,5
Cadusafós	8,2	5,7	9,2	10,0	7,3	10,4	8,7
Clorpirifós	5,8	4,3	4,2	7,1	4,4	4,5	10,8
Dimetoato	4,8	3,7	3,7	6,5	10,3	3,7	3,8
Fenitrotiona	3,7	3,4	3,4	3,6	3,4	3,4	7,8
Fentoato	3,7	3,7	3,7	7,5	4,6	7,0	8,2
Malation	6,5	3,7	3,7	3,7	3,7	3,7	3,8
Malaoxon	3,8	3,6	4,0	3,7	3,7	3,5	8,3
Parationa metílica	8,4	3,6	3,7	9,6	3,4	8,3	3,6
Terbufós	3,7	3,6	3,6	4,2	3,3	7,4	8,7

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

As oscilações de distância ocorreram ou como um encaixe favorável, que aproximou os átomos de interesse, assumido como 3,0Å a 4,0Å, ou como ligação com o lado oposto do Op (acima de 7,0Å), arranjos com distância de ligação intermediários não foram obtidos.

Considerando a quantidade de valores abaixo de 4,0Å, as propostas 1, 2 e 4 apresentaram a melhor média geral de distâncias $O_{Ser}-P_{OP}$. Adotando-se 7,0Å como valor de referência para valores altos ou encaixes desfavoráveis, observou-se que a proposta 6 teve o pior desempenho, seguida da 3 e 5. Quanto aos Ops, a fenitrotiona apresentou os melhores resultados, em contrapartida o cadusafós formou ligações maiores que os demais pesticidas. As imagens das menores distâncias para cada proposta de derivado, geradas com o programa PyMOL, seguem na figura 29.

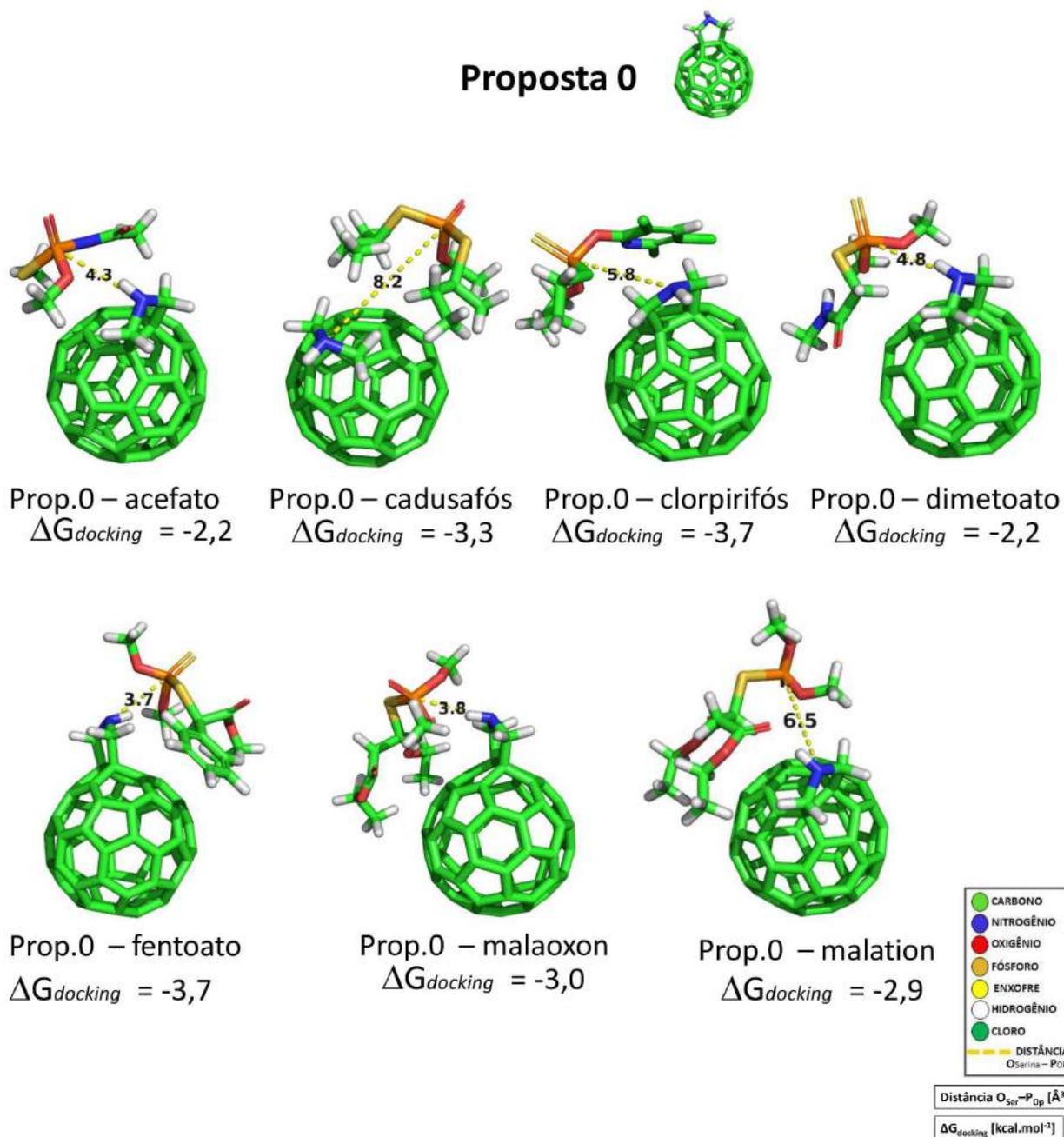
Figura 29 – Menores distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ para as proposta de derivado de fullereno

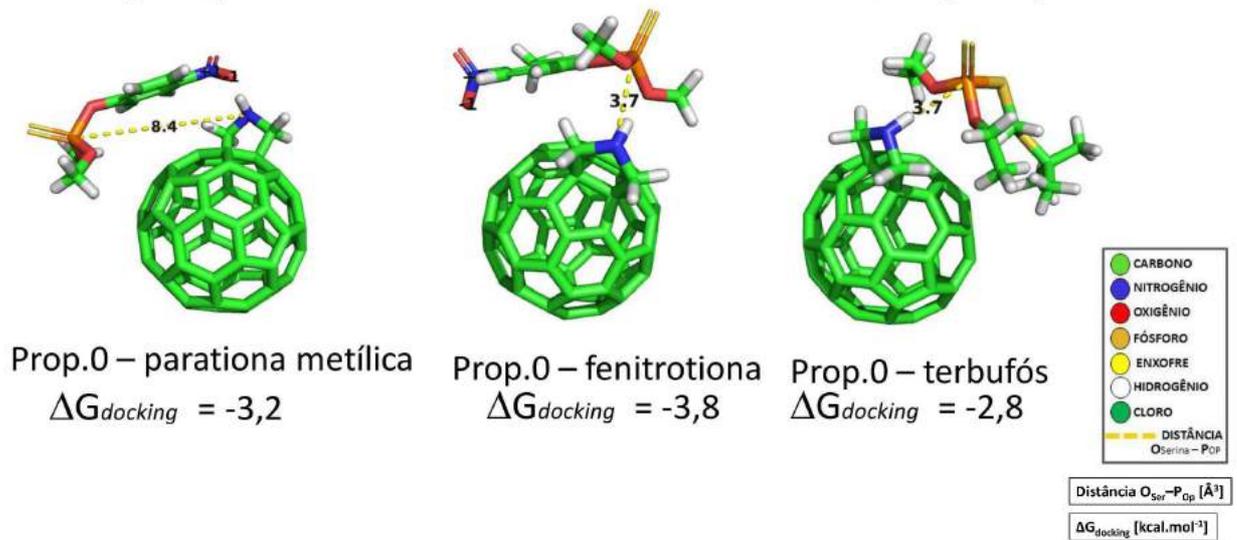


De acordo com a figura 29 a fenitrotona apresentou melhores resultados quanto à distância de ligação para a maioria das propostas. As imagens dos complexos entre os derivados de fulerenos e os pesticidas Op em estudo, geradas pelo *software* PyMOL seguem nas figuras 30 a 36.

Figura 30 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 0, com as distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ e energias de *docking*

(continua)



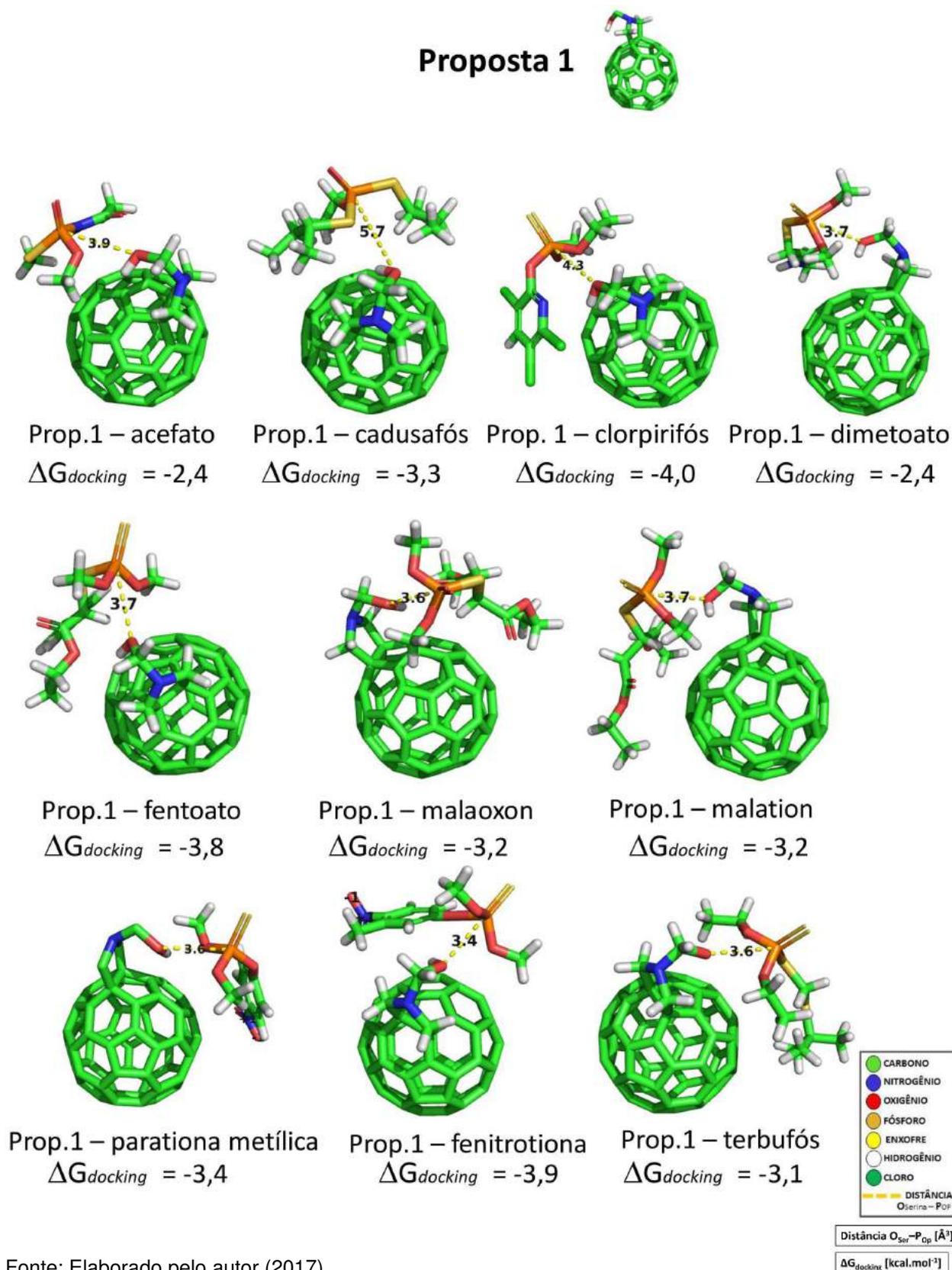


Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

A proposta 0 (figura 30) apresentou, como esperado, pouco impedimento estérico. A menor distância foi na ligação com o fentoato, fenitrotiona e terbufós, mas dentre eles o valor de *docking* mais baixo foi com a fenitrotiona.

Observou-se que, nas análises randômicas de encaixe, as ligações com o cadusafós e com a parationa metílica ocorreram do lado oposto do Op e a distância de ligação foi superior a 7,0 Å – limite estabelecido para este trabalho como encaixe não favorável. A ligação com o malation também não foi satisfatória, apesar da ligação com o malaixon, seu análogo, ter apresentado a segunda menor distância O_{Ser}–P_{Op}. A mesma discrepância ocorreu para a parationa metílica em comparação à fenitrotiona.

Figura 31 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 1, com as distâncias $O_{Ser} - P_{Op}$ e energias de *docking*



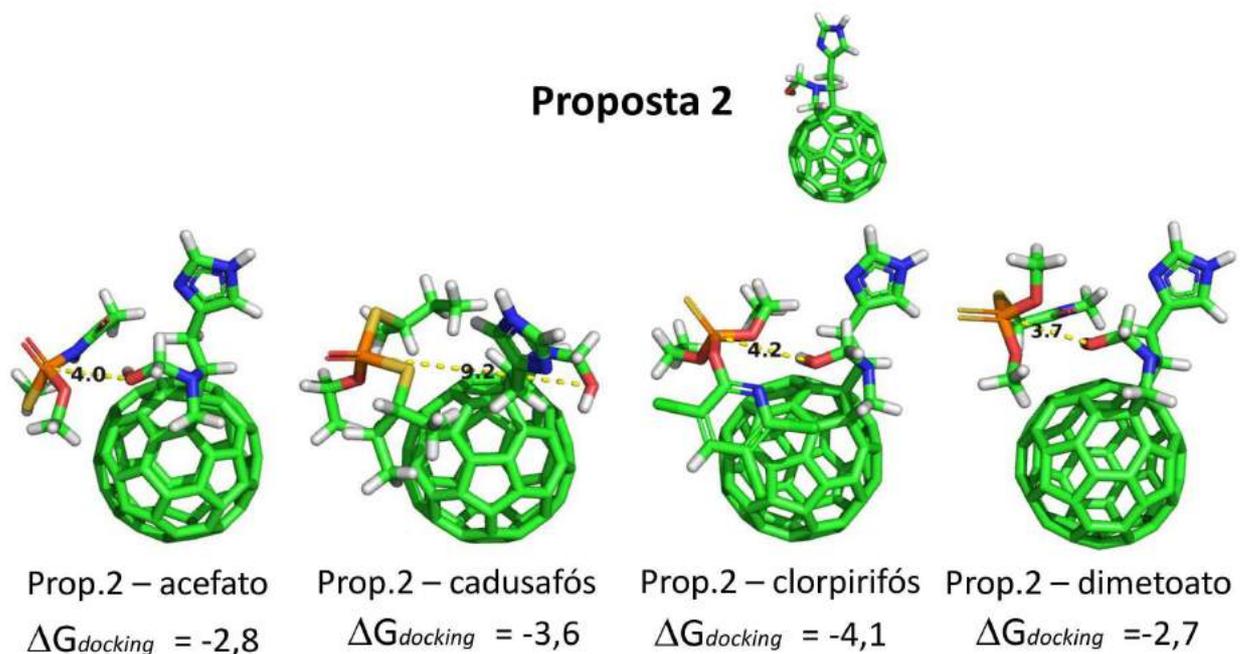
Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

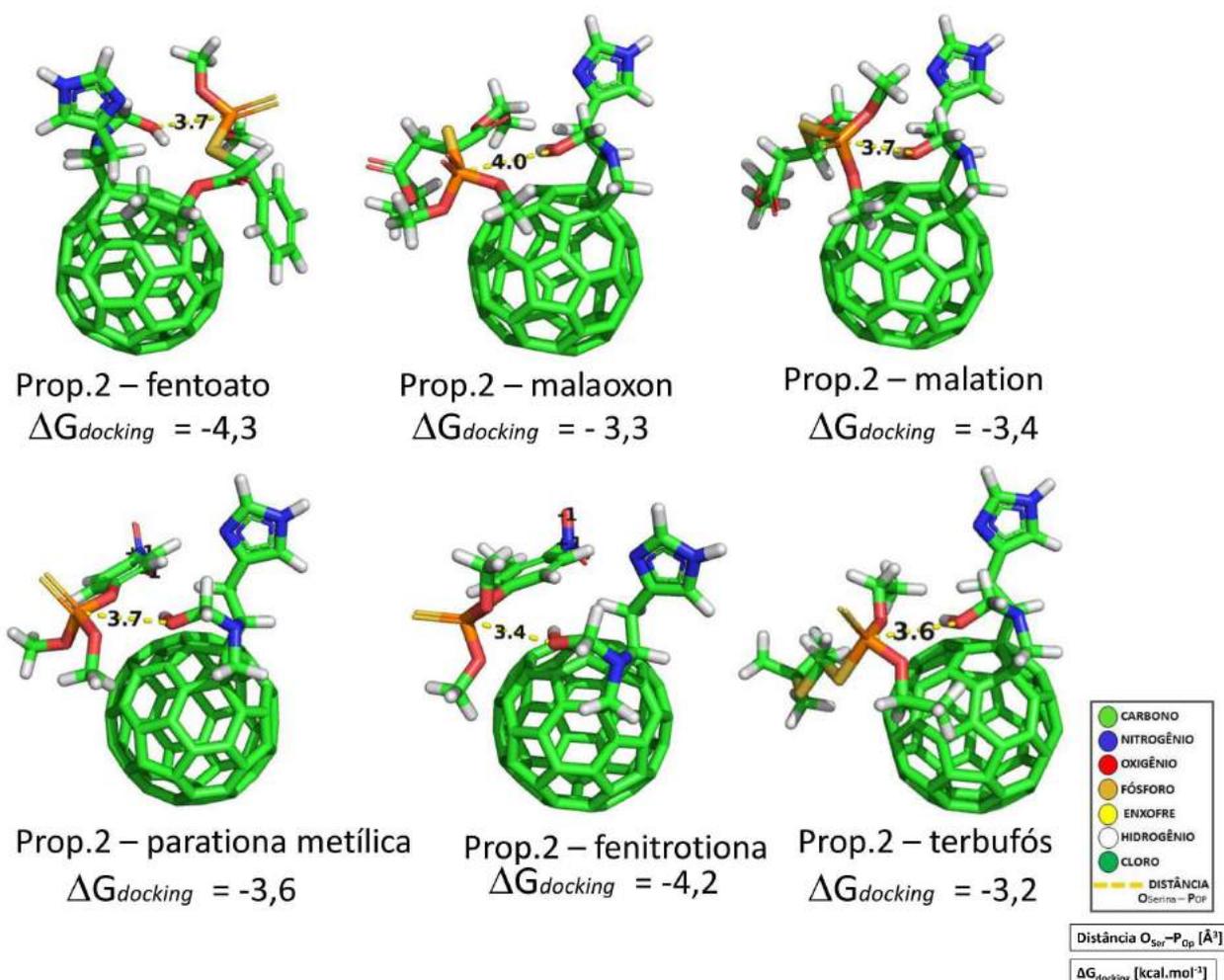
A proposta 1 (figura 31) apresentou menor distância $O_{Ser}-P_{Op}$ com a fenitrotriona, seguida pela parationa metílica e malaoxon. Esta proposta ainda tem pouco impedimento estérico, pois só tem como cadeia lateral um aminoácido. A maioria dos encaixes foi no arranjo favorável à aproximação com o fósforo do Op e as distâncias médias baixas, chegando ao máximo de 5,7Å para o cadusafós, ainda abaixo do limite estabelecido neste trabalho, de 7,0Å .

O acefato, que mesmo com o tamanho reduzido não se destacou na performance de ligação, apresentou a mais alta energia de *docking*, comportamento que desfavorece o acoplamento com esse Op.

Figura 32 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 2, com as distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ e energias de *docking*

(continua)



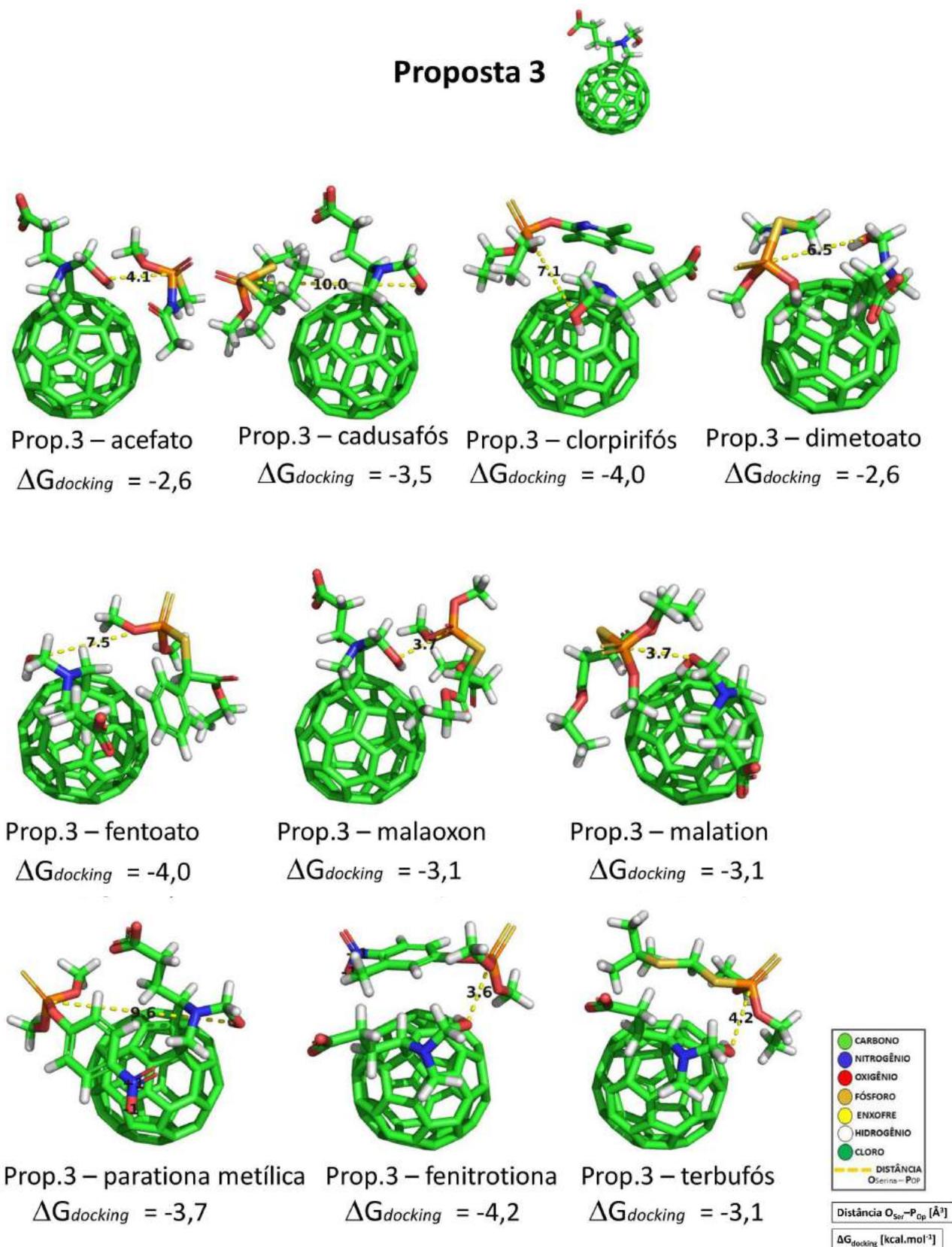


Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

A proposta 2 (figura 32), ainda sem a tríade catalítica completa na cadeia lateral, para nove dos dez pesticidas apresentou valores de distância baixos, apenas para o cadusafós houve a ligação com o lado inverso do Op, com distância de 9,2Å. O encaixe de menor distância foi com a fenitrotiona, seguido do terbufós.

O encaixe foi similar para o malation e malaoxon, inclusive com valores próximos de energia de *docking*. Quanto à parationa metílica, houve ligeira diferença com relação à distância feita no complexo com a fenitrotiona, porém a energia de *docking* variou mais significativamente.

Figura 33 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 3, com as distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ e energias de *docking*

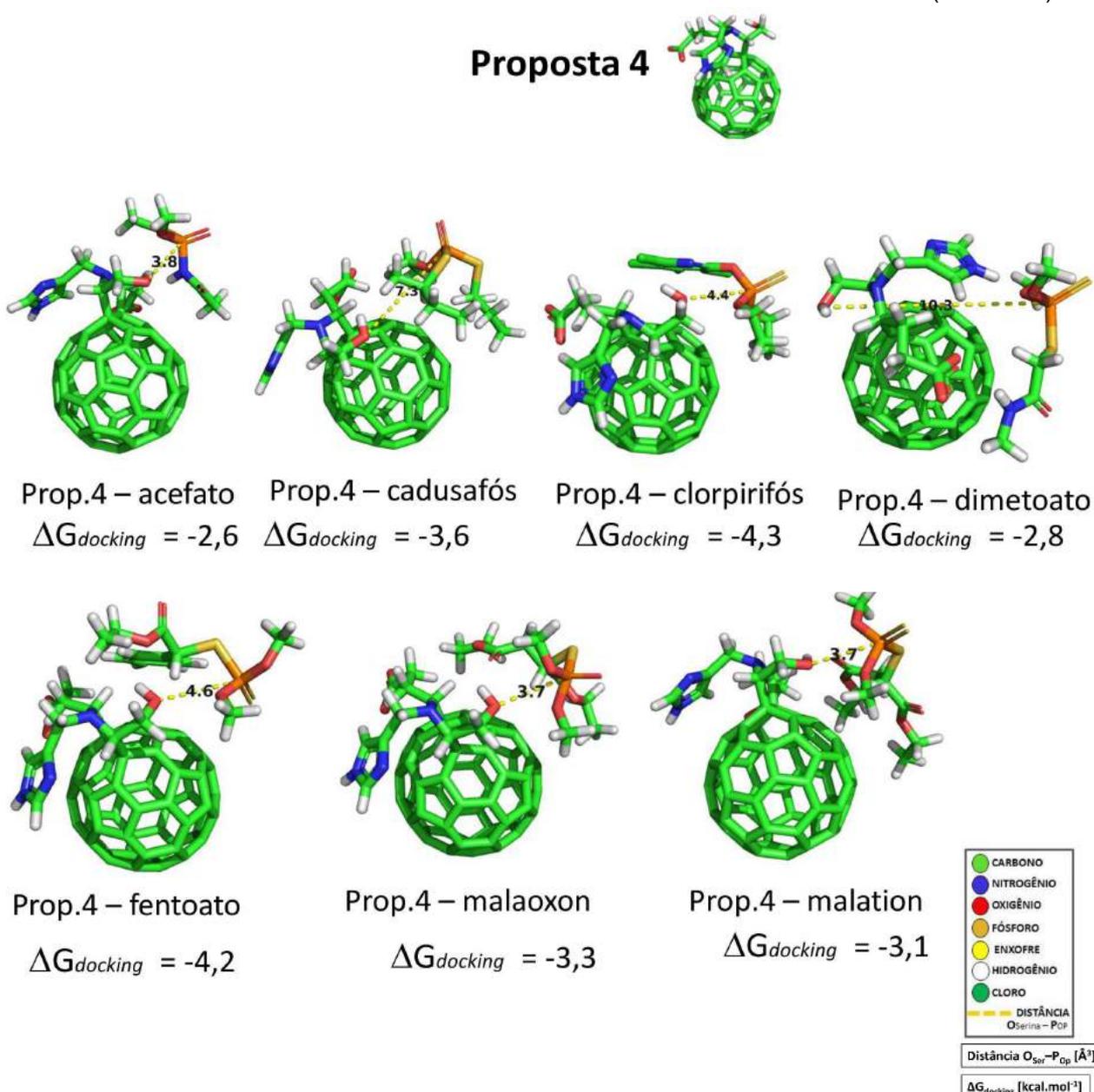


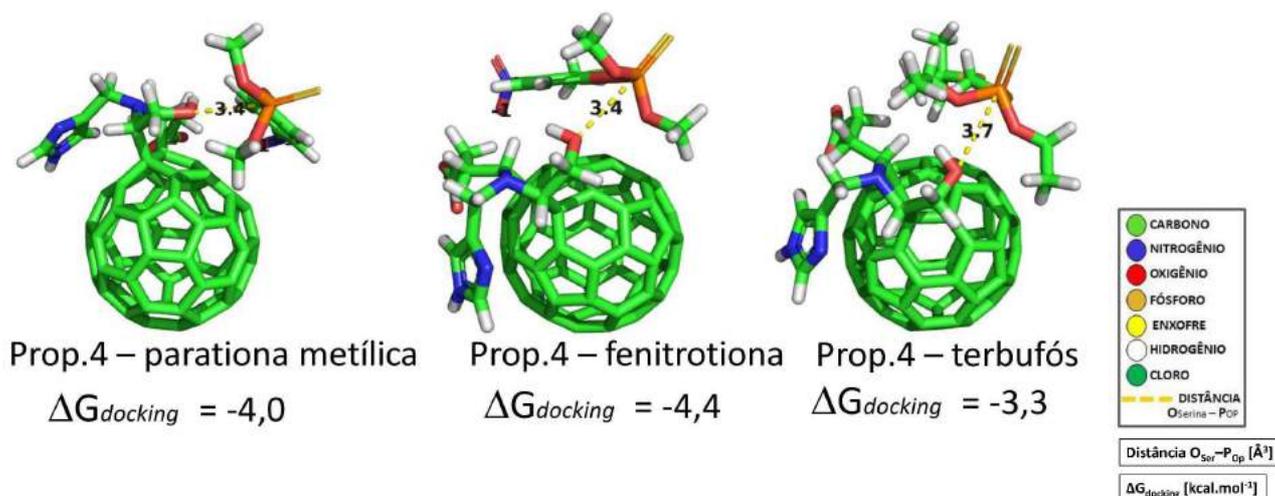
Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

A proposta 3 (figura 33) formou a maior quantidade de ligações com $O_{Ser}-P_{Op}$ distantes, observado para o cadusafós, clorpirifós, fentoato e parationa metílica. O melhor encaixe foi com a fenitrotiona, com distância de 3,6Å, seguida do malation e malaaxon, com 3,7Å.

Figura 34 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 4, com as distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ e energias de *docking*

(continua)

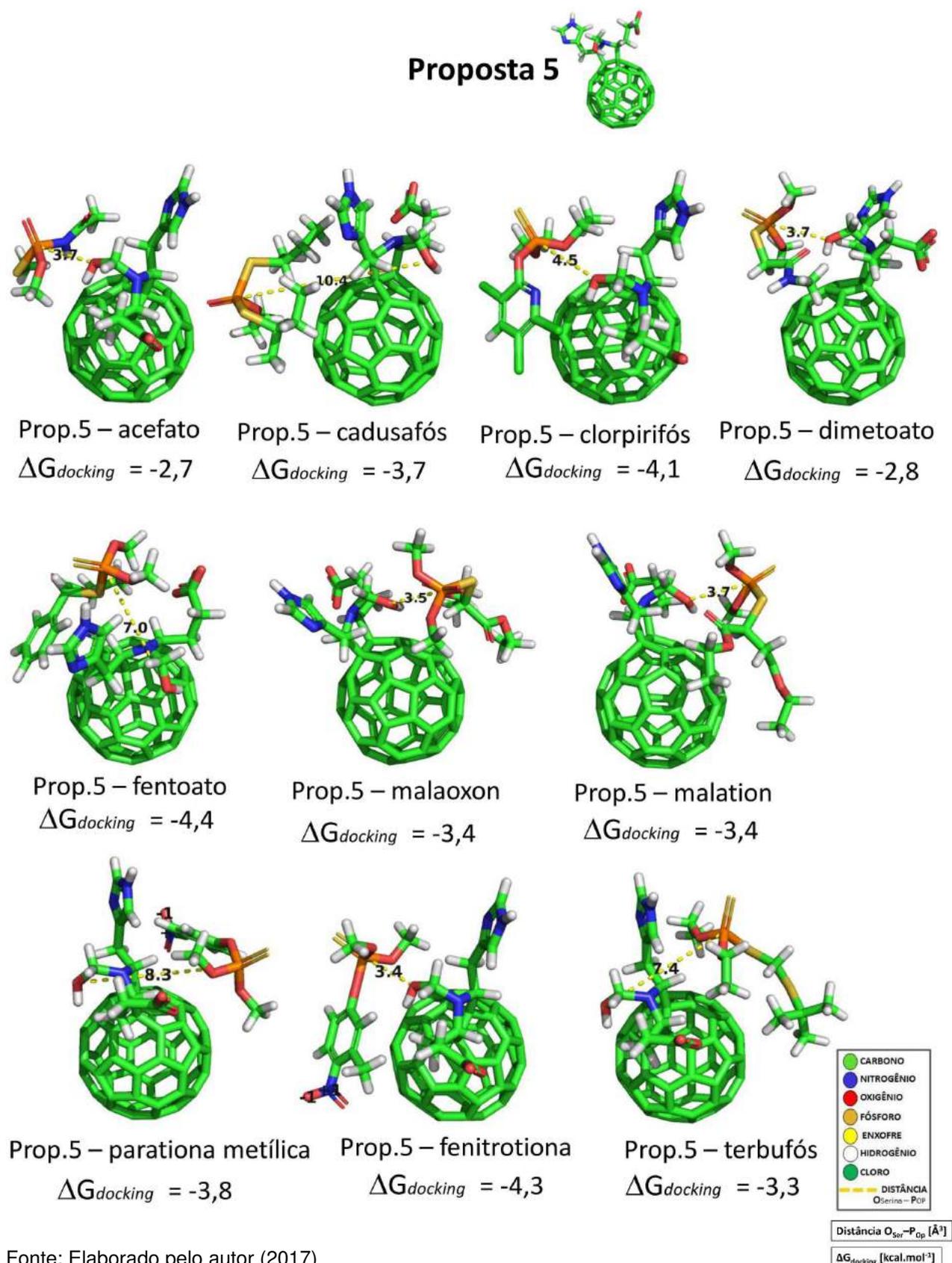




Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

A propostas 4 (figura 34) apresentou a menor média geral de distâncias O_{Ser}-P_{Op}, e os valores mais expressivos foram da fenitrotiona e da parationa metílica, com 3,4Å, além do menor valor geral de energia entre todos os *dockings*, para o complexo formado com a fenitrotiona (-4,4 kcal.mol⁻¹). Já o cadusafós e o dimetoato apresentaram encaixe oposto, com valores acima de 7,0Å. Vale ressaltar que a ligação do cadusafós com todas as propostas resultou em valores de distância acima do limite determinado.

Figura 35 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 5, com as distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ e energias de *docking*

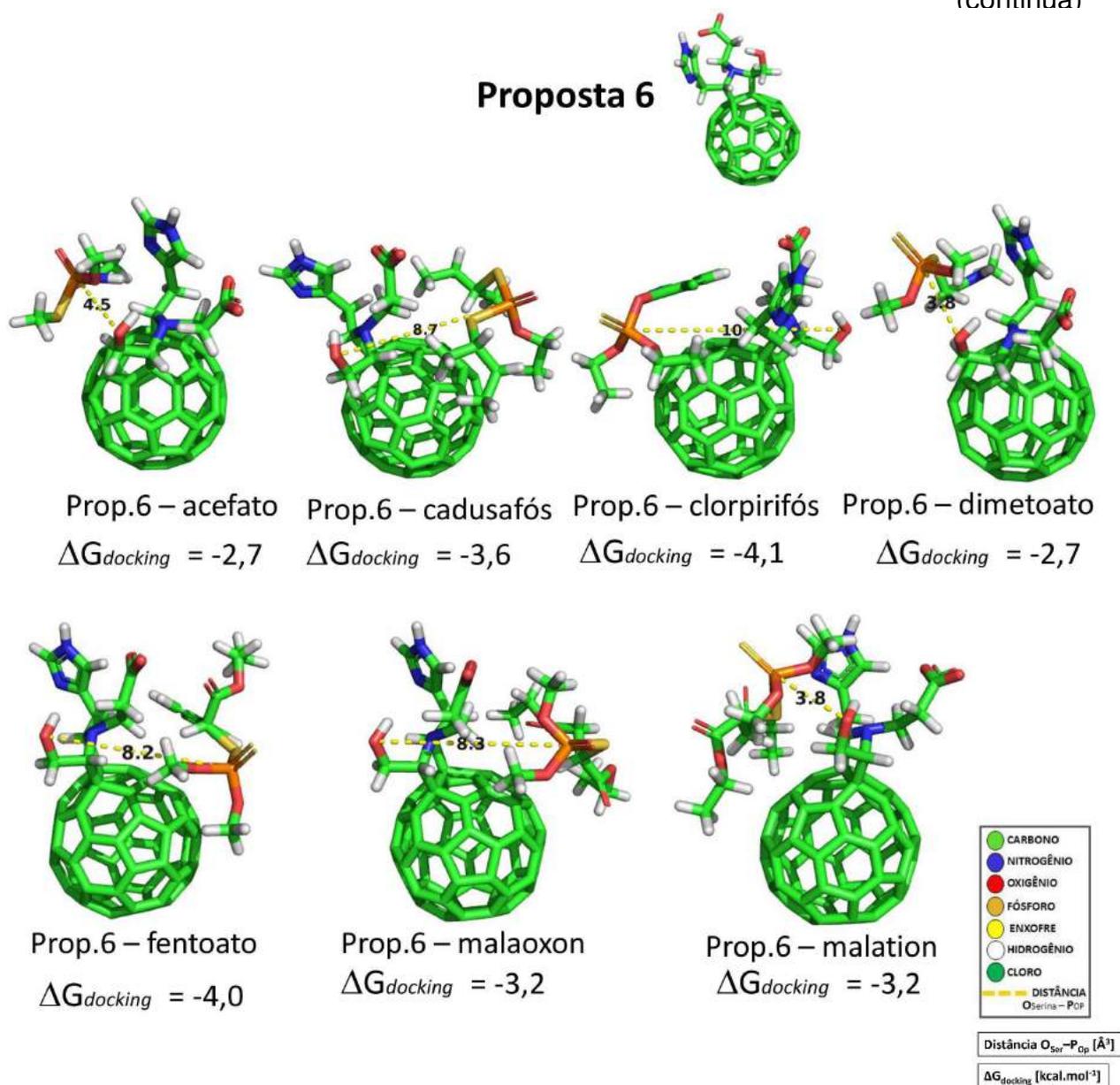


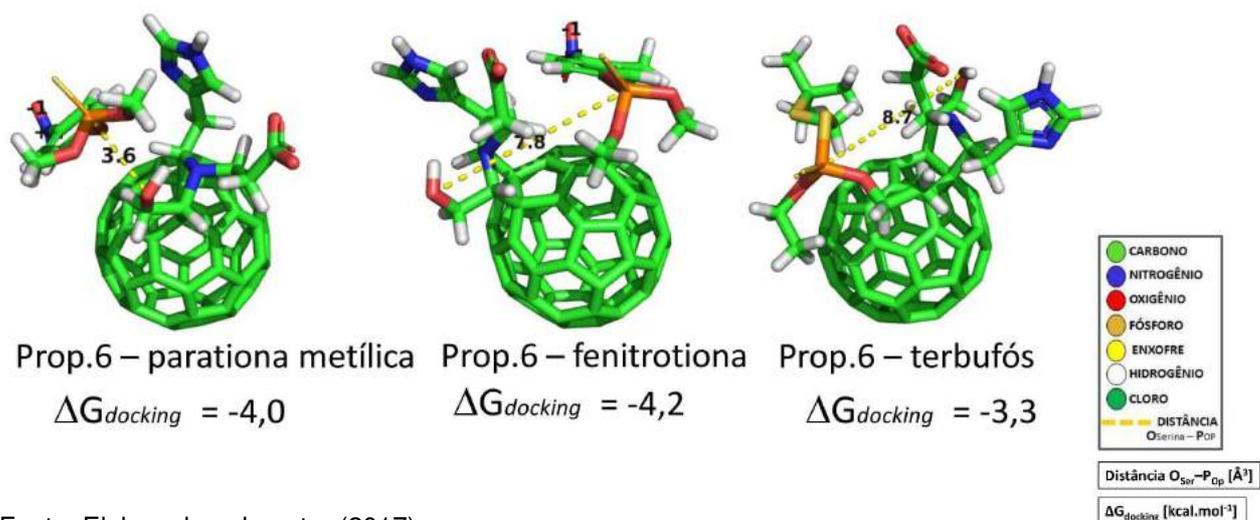
Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

A proposta 5 (figura 35) apresentou a menor distância de ligação $O_{Ser}-P_{Op}$ também com a fenitrotiona, com o segundo melhor valor de energia de *docking* entre todos os complexos analisados ($4,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$). As ligações com distância acima do limite de $7,0 \text{ \AA}$, ou ligação do lado oposto ao biologicamente favorável, ocorreram com o cadusafós ($10,4 \text{ \AA}$), parationa metílica ($8,3 \text{ \AA}$) e terbufós ($7,4 \text{ \AA}$).

Figura 36 – Imagens dos complexos entre pesticidas e a proposta 6, com as distâncias $O_{Ser}-P_{Op}$ e energias de *docking*

(continua)





Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Na proposta 6 (figura 36) o menor valor foi para o complexo com a parationa metílica (3,6Å) sendo que a energia de *docking* (-4,0 kcal.mol⁻¹) apresentou diferença significativa para segunda menor, com o malation (-3,2 kcal.mol⁻¹). Assim como a proposta 3, diversas ligações ocorreram com distância superiores a 7,0Å, com foi o caso do cadusafós, clorpirifós, fentoato, malaixon, fenitrotiona e terbufós.

5.5.2 Volume dos complexos

Os volumes dos complexos têm relação com a distância $O_{Ser}-P_{Op}$, pois caso o encaixe de *docking* ocorra no lado biologicamente favorável, menor a distância $O_{Ser}-P_{Op}$ e, conseqüentemente, menor será o volume do complexo.

Os valores de volumes dos complexos foram extraídos dos arquivos '.arc' do MOPAC e seguem na tabela 09.

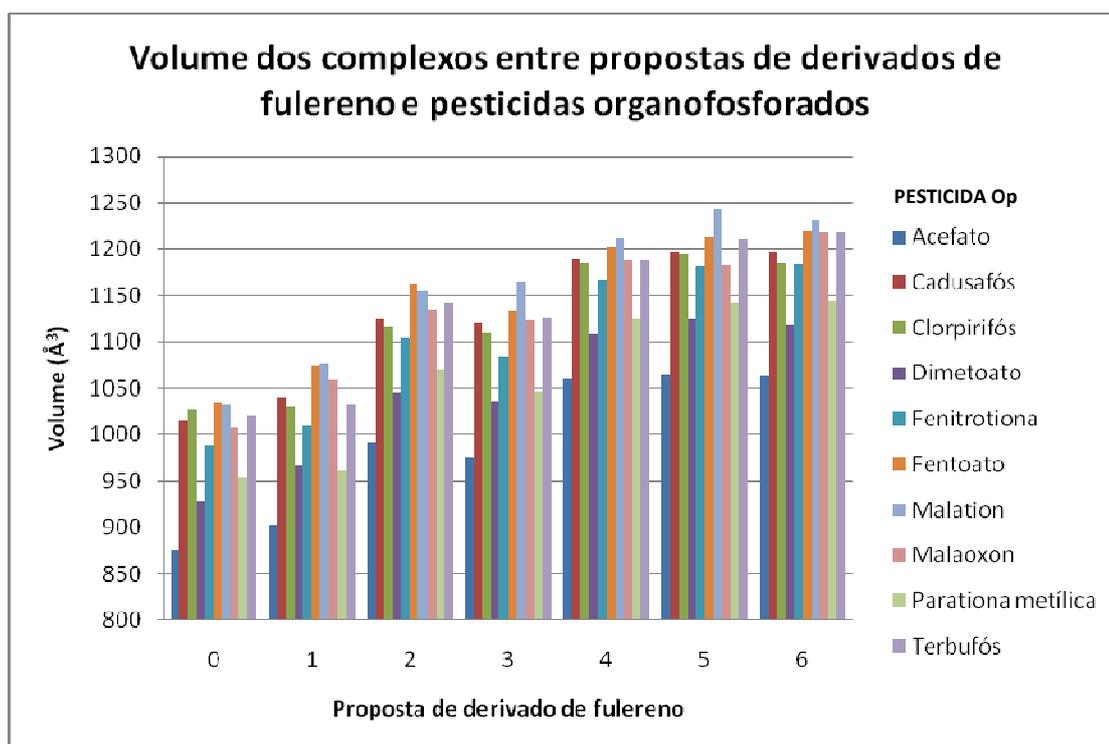
Tabela 09 – Volume dos complexos

VOLUME DOS COMPLEXOS/ Å ³							
Pesticida Op	PROPOSTA DE DERIVADO DE FULERENO						
	0	1	2	3	4	5	6
Acefato	875	903	991	975	1060	1065	1063
Cadusafós	1014	1040	1125	1120	1190	1196	1196
Clorpirifós	1028	1030	1117	1110	1186	1195	1186
Dimetoato	928	967	1046	1035	1107	1124	1118
Fenitrotiona	988	1010	1104	1083	1167	1182	1184
Fentoato	1034	1074	1162	1132	1203	1214	1220
Malation	1032	1076	1155	1165	1211	1243	1231
Malaoxon	1008	1058	1136	1124	1188	1183	1218
Parationa metílica	955	960	1070	1046	1125	1142	1144
Terbufós	1021	1033	1141	1126	1188	1210	1219

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Os dados da tabela 09 podem ser interpretados graficamente conforme figura 37.

Figura 37 – Volume dos complexos entre propostas de derivados de fulerenos e pesticidas Ops



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

A análise do volume dos complexos ocorreu para avaliar se o grau de compactação afetaria a afinidade de ligação. Uma variável a se considerar é o tamanho da molécula de Op individualmente, uma vez que o acefato possui número de átomos consideravelmente menor que o clorpirifós, por exemplo. Outro fator que influenciou no volume total foram as cadeias laterais dos derivados de fulerenos, pois as propostas 0 a 2, com menos cadeia lateral, têm menores volumes que as de número 3 a 6. Observou-se que as propostas 0 e 1 apresentaram os menores volumes, até 1076 \AA^3 , as de número 2 e 3 com valores intermediários e também próximos entre si (até 1165 \AA^3) e as propostas de derivados 4 a 6 obtiveram os maiores volumes, chegaram a 1243 \AA^3 . O malaoxon e o fentoato apresentaram os maiores volumes de complexos para todas as propostas e o acefato, por ser a menor molécula, os menores resultados.

Logo, observou-se que o parâmetro volume não revelou informação a complementar os estudos de afinidade de ligação.

5.6 ESTIMATIVA TEÓRICA DA CONSTANTE DE INIBIÇÃO (K_i)

Sabe-se que energia de *docking* e K_i são diretamente proporcionais. Como forma de correlacionar os dados teóricos com experimentais para validação do método de investigação, a K_i teórica foi estimada a partir dos valores de *docking* e os cálculos de conversão de unidades foram agrupados na tabela 10.

Tabela 10 – Valores das constantes de inibição (Ki) das propostas de derivados de fulerenos para cada organofosforado, a partir das energias de *docking*

(continua)

Proposta de Derivados de fulereno	Pesticidas Ops	Energia de <i>docking</i> (kcal.mol ⁻¹)	Energia de <i>docking</i> (J.mol ⁻¹)	Ki (M) (T=310K)	Ki (µM) (T=310K)
0	Acefato	-2,2	-9196	0,028	28212
	Cadusafós	-3,3	-13794	0,005	4739
	Clorpirifós	-3,7	-15466	0,003	2477
	Dimetoato	-2,2	-9196	0,028	28212
	Fenitrotiona	-3,8	-15884	0,002	2106
	Fentoato	-3,7	-15466	0,002	2477
	Malaoxon	-3,0	-12540	0,008	7708
	Malation	-2,9	-12122	0,009	9065
	Parat. metílica	-3,3	-13794	0,005	4739
	Terbufós	-2,8	-11704	0,011	10662
1	Acefato	-2,4	-10032	0,020	20397
	Cadusafós	-3,3	-13794	0,005	4739
	Clorpirifós	-4,0	-16720	0,002	1523
	Dimetoato	-2,4	-10032	0,020	20397
	Fenitrotiona	-3,9	-16302	0,002	1791
	Fentoato	-3,8	-15884	0,002	2106
	Malaoxon	-3,2	-13376	0,006	5573
	Malation	-3,2	-13376	0,006	5573
	Parat.metílica	-3,4	-14212	0,004	4029
	Terbufós	-3,1	-12958	0,007	6554
2	Acefato	-2,8	-11704	0,011	10662
	Cadusafós	-3,6	-15048	0,003	2913
	Clorpirifós	-4,1	-17138	0,001	1295
	Dimetoato	-2,7	-11286	0,013	12539
	Fenitrotiona	-4,2	-17556	0,001	1101
	Fentoato	-4,3	-17974	0,001	936
	Malaoxon	-3,3	-13794	0,005	4739
	Malation	-3,4	-14212	0,004	4029
	Parat. metílica	-3,6	-15048	0,003	2913
	Terbufós	-3,2	-13376	0,006	5573
3	Acefato	-2,6	-10868	0,015	14746
	Cadusafós	-3,5	-14630	0,003	3426
	Clorpirifós	-4,0	-16720	0,002	1523
	Dimetoato	-2,6	-10868	0,015	14746
	Fenitrotiona	-4,2	-17556	0,001	1101

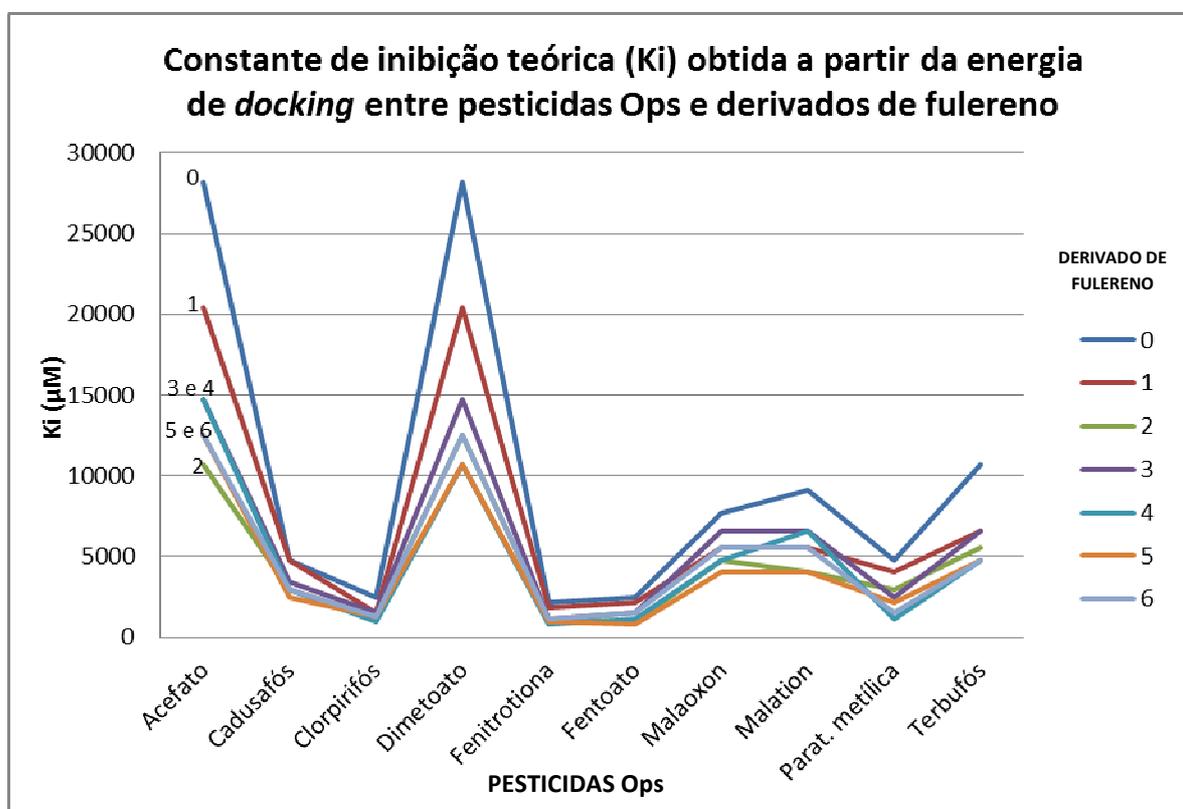
	Fentoato	-4,0	-16720	0,002	1523
	Malaoxon	-3,1	-12958	0,007	6554
	Malation	-3,1	-12958	0,007	6554
	Parat. metílica	-3,7	-15466	0,002	2477
	Terbufós	-3,1	-12958	0,007	6554
4	Acefato	-2,6	-10868	0,015	14746
	Cadusafós	-3,6	-15048	0,003	2913
	Clorpirifós	-4,3	-17974	0,001	936
	Dimetoato	-2,8	-11704	0,011	10662
	Fenitrotiona	-4,4	-18392	0,001	796
	Fentoato	-4,2	-17556	0,001	1101
	Malaoxon	-3,3	-13794	0,005	4739
	Malation	-3,1	-12958	0,007	6554
	Parat. metílica	-4,2	-17556	0,001	1101
	Terbufós	-3,3	-13794	0,005	4739
5	Acefato	-2,7	-11286	0,013	12539
	Cadusafós	-3,7	-15466	0,002	2477
	Clorpirifós	-4,1	-17138	0,001	1295
	Dimetoato	-2,8	-11704	0,011	10662
	Fenitrotiona	-4,3	-17974	0,001	936
	Fentoato	-4,4	-18392	0,001	796
	Malaoxon	-3,4	-14212	0,004	4029
	Malation	-3,4	-14212	0,004	4029
	Parat. metílica	-3,8	-15884	0,002	2106
	Terbufós	-3,3	-13794	0,005	4739
6	Acefato	-2,7	-11286	0,013	12539
	Cadusafós	-3,6	-15048	0,003	2913
	Clorpirifós	-4,1	-17138	0,001	1295
	Dimetoato	-2,7	-11286	0,013	12539
	Fenitrotiona	-4,2	-17556	0,001	1101
	Fentoato	-4,0	-16720	0,002	1523
	Malaoxon	-3,2	-13376	0,006	5573
	Malation	-3,2	-13376	0,006	5573
	Parat. metílica	-4,0	-16720	0,002	1523
	Terbufós	-3,3	-13794	0,005	4739

Obs: 310K= 37°C

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Os dados da tabela 10 foram transformados em gráfico, conforme figura 38.

Figura 38 – Constante de inibição teórica (Ki) a partir da energia de *docking* entre pesticidas Ops e derivados de fulereno



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Considerando que K_i é um indicador da toxidez do composto e que baixa dose letal indica alta toxidez, então os mais perigosos ou tóxicos dentre os estudados foram fenitrotona, clorpirifós, fentoato e parationa metílica. O comportamento das propostas de derivados seguiu um padrão geral para cada Op, conforme gráfico da figura 38.

5.7 CORRELAÇÃO K_i X DL_{50}

Os dados da tabela 10 foram comparados com os valores descritos nas bulas dos produtos (anexo A). Os casos de dados sobre diferentes animais não foram descritos neste trabalho, utilizou-se apenas os relativos a ratos brancos machos de laboratório, por via oral.

Os dados de DL₅₀ para Ops compilados do sítio eletrônico PubChem, em mg.kg⁻¹, e os diferentes valores observados foram: Acefato (866,0 e 945,0); Cadusafós (679,0); Clorpirifós (82,0; 151,0; 276,0 e 320,0); Dimetoato (290,0; 358,0 e 500,0-680,0); Fenitrotiona (500,0 e 1700,0); Malation (290,0; 1375,0 e 5843,0); Parationa metílica (14,0) e Terbufós (2,0). Esta fonte de dados traz resultados experimentais de diversas pesquisas, descrita por trabalho e autor. Observou-se que os dados variam entre si e há intervalos de valores, então, como caminho metodológico neste trabalho, foram utilizados apenas os menores valores para cada Op, conforme tabela 11.

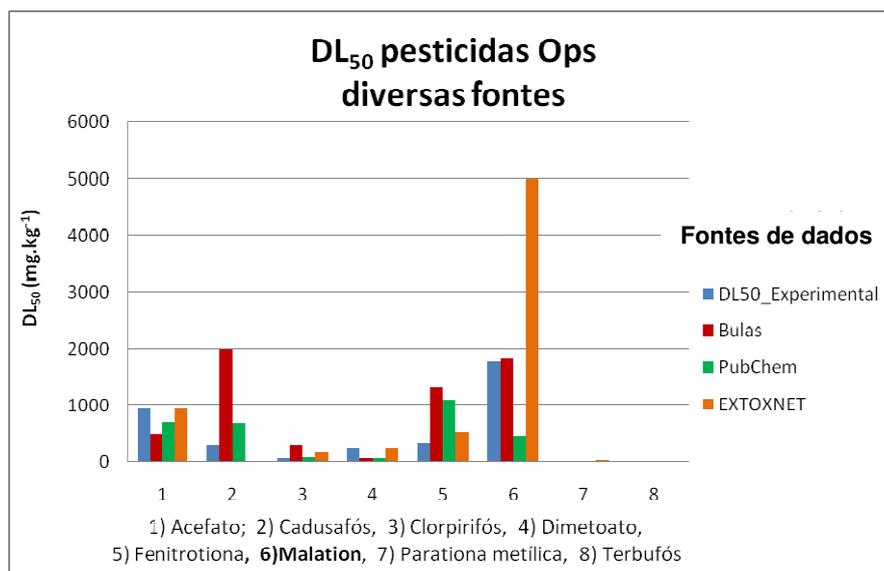
Tabela 11 – Comparação de valores de DL₅₀ experimental do artigo de Hamadache *et al.* (2015), DL₅₀ das bulas dos produtos formulados, DL₅₀ do sítio eletrônico PubChem e do sítio eletrônico EXTOUNET

Pesticida Op	DL ₅₀ exp / mg.kg ⁻¹	DL ₅₀ bula (média) / mg.kg ⁻¹	DL ₅₀ PubChem / mg.kg ⁻¹	DL ₅₀ EXTOUNET (média) / mg.kg ⁻¹
Acefato	939,4	500,0	866,0	945,0
Cadusafós	303,4	2000,0	679,0	n.a.
Clorpirifós	63,8	300,0	82,0	182,5
Dimetoato	245,7	60,0	290,0	255,0
Fenitrotiona	333,3	1325,0	500,0	525,0
Malation	1774,1	1825,0	290,0	5000,0
Parat. metílica	3,0	n.a.	14,0	28,0
Terbufós	1,6	n.a.	2,0	1,7

n.a. = *not available*, ou dados não disponíveis.

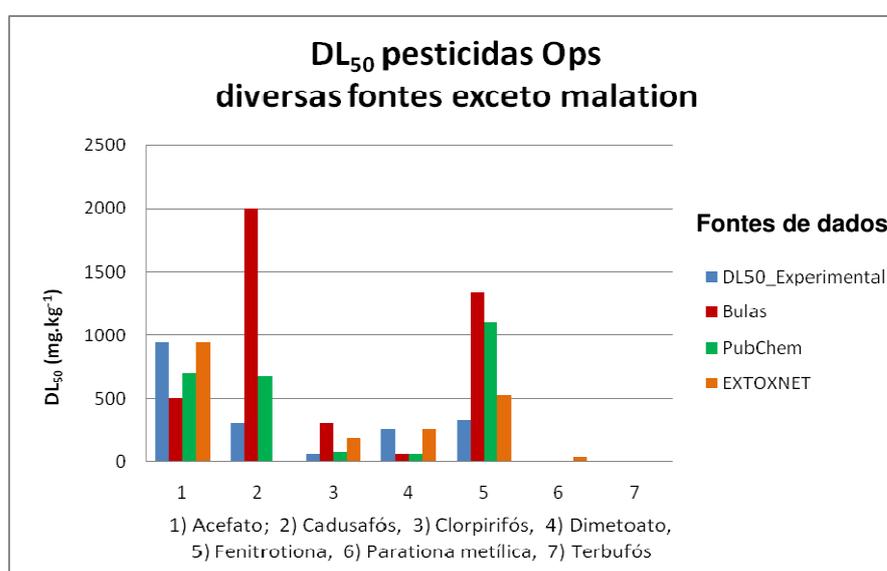
Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Os resultados de Ki calculados à partir do *docking* foram comparados a dados de literatura (discrepantes) para sistemas biológicos. O anexo A traz os valores encontrados e as médias relativas a cada fonte. Esses dados também foram agrupados no gráfico da figura 39.

Figura 39 – Valores de DL₅₀ para pesticidas Ops

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

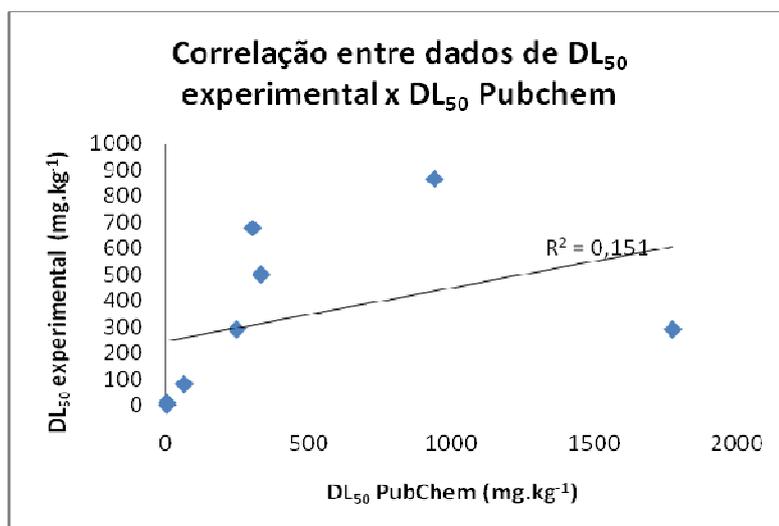
Vale destacar que o fentoato e o malaoxon não constavam no artigo de Hamadache *et al.* (2015), por isso não estão presentes na figura 38 e que os valores relativos a parationa metílica e terbufós, números 7 e 8 no gráfico, têm valores significativamente menores que os demais pesticidas, mas não são nulos. Considerando os valores discrepantes do malation, optou-se pela exclusão deste Op, conforme figura 40, para a análise de viabilidade de uso de dados como referência em correlações.

Figura 40 – Valores de DL₅₀ para pesticidas Ops em estudo, exceto o malation

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

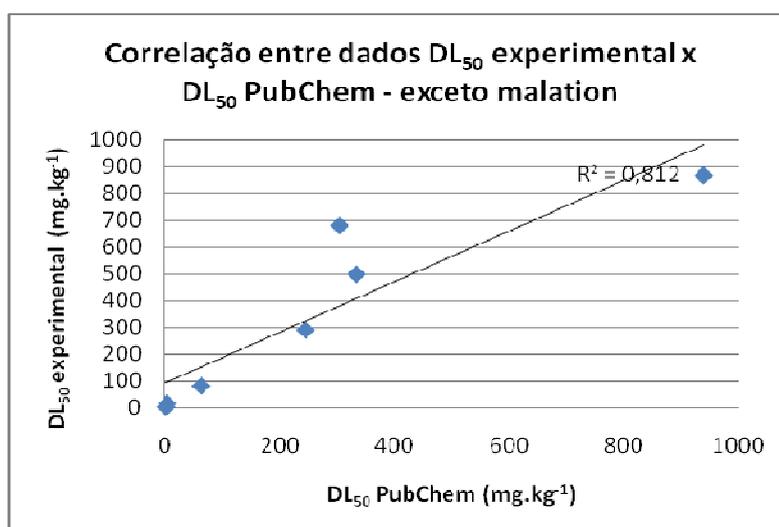
Com o refinamento dos dados, dentre as fontes citadas nas figuras 38 e 39, foi feita a comparação apenas entre os dados do sítio eletrônico do PubChem e do artigo de Hamadache *et al.* (2015). Na figura 41 consideram-se todos os Ops em estudo presentes no referido artigo, já na figura 42 o malation foi excluído, para mostrar a dificuldade em utilizar dados do malation como parâmetro de pesquisa.

Figura 41 – Correlação entre dados de DL₅₀ oral dos Ops do artigo de Hamadache *et al.* (2015) e do sítio eletrônico PubChem



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Figura 42 – Correlação entre dados de DL₅₀ oral dos Ops do artigo de Hamadache *et al.* (2015) e do sítio eletrônico PubChem, com exceção do malation



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

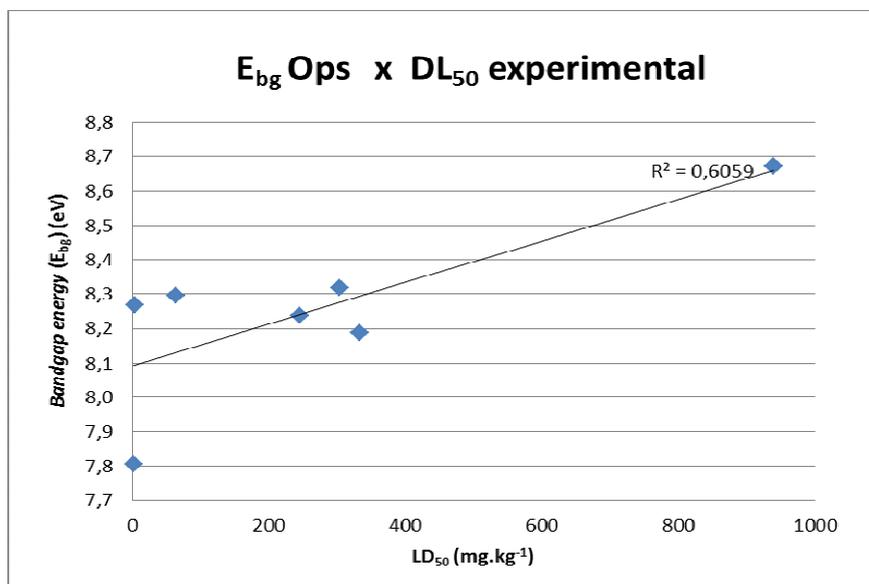
Os dados de K_i do artigo supracitado são experimentais, logo, mais precisos que dados teóricos, mas ainda assim a correlação com os valores do PubChem foi da ordem de 0,8.

Nos cálculos de correlação entre os dados de DL_{50} teóricos e os dados obtidos nesta pesquisa, tanto de propriedades estruturais e eletrônicas como de K_i teórico, as melhores correlações foram as da proposta 4, com resultados da ordem de 0,4. Sugere-se que a imprecisão de cálculos semiempíricos, que oscilam até $1,0\text{kcal.mol}^{-1}$, e o número limitado de *runs*, 20 para cada complexo, podem ter dificultado a chegada a uma correlação mais próxima do artigo de Hamadache *et al.* (2015). Destaca-se ainda a falta de convergência nos valores disponíveis nas bases de dados sobre pesticidas, que possivelmente contribuíram para a dificuldade de correlação mais favorável. Sugere-se ainda que os menores valores de energia de atracamentos encontrados correspondam a mínimos locais e não mínimos globais.

Como sequência foram calculados os coeficientes de correlação das propriedades dos Ops isoladamente e dos complexos formados para cada propriedade estrutural eletrônica, DL_{50} teórico e experimental e K_i teórico. Os melhores valores obtidos foram os de energia de *bandgap* e volume.

O gráfico de correlação entre valores de energia de *bandgap* dos Ops isoladamente e DL_{50} experimental apresentou o resultado mais satisfatório, com R^2 de 0,6059, conforme figura 43.

Figura 43 – Correlação entre valores de energia de *bandgap* dos Ops e DL₅₀ experimental



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Foram feitas correlações entre a o valor de energia de *bandgap* dos complexos e o DL₅₀ do artigo de Hamadache *et al.* (2015) para cada Op, *bandgap* dos complexos e o Ki obtido neste trabalho para cada complexo, bem como do volume dos complexos comparado ao mesmo DL₅₀ e Ki, para cada proposta. Os dados de coeficientes de correlação (R^2) obtidos foram agrupados na tabela 12. No anexo B estão os gráficos que geraram os valores da tabela.

Tabela 12 – Coeficientes de correlação entre a o valor de *bandgap* e o DL₅₀ experimental, *bandgap* e o Ki teórico, volume dos complexos e DL₅₀ experimental e volume dos complexos e Ki teórico

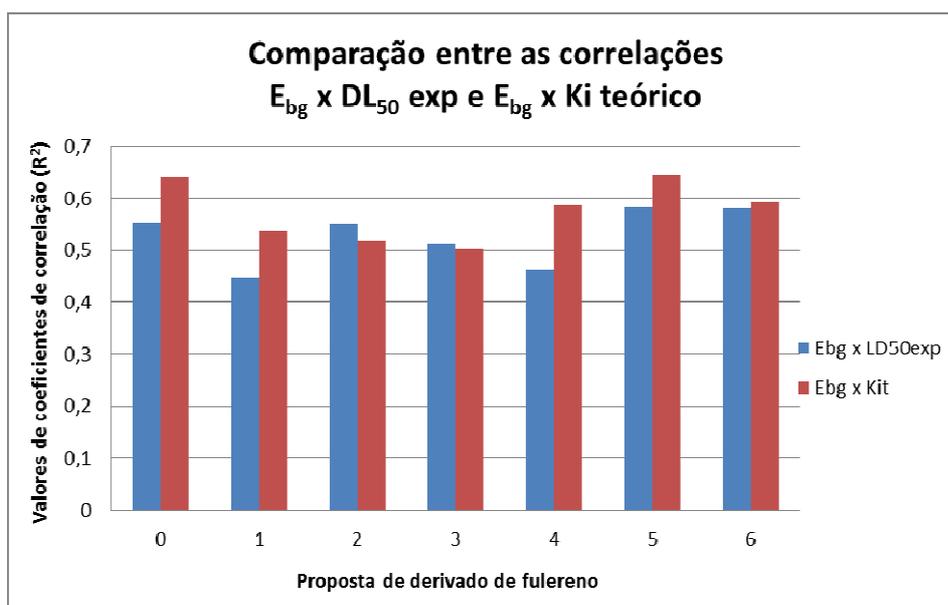
PROPOSTA	Coeficientes de correlação (R ²)			
	E _{bg} x DL ₅₀ exp	E _{bg} x Ki teórico	Volume x DL ₅₀ exp	Volume x Ki teórico
0	0,554	0,641	0,544	0,660
1	0,448	0,537	0,454	0,547
2	0,551	0,518	0,554	0,513
3	0,513	0,504	0,506	0,497
4	0,465	0,587	0,478	0,647
5	0,583	0,647	0,559	0,655
6	0,580	0,595	0,547	0,584

Sendo: DL₅₀ exp = valor do artigo de Hamadache *et al.* (2015); Ki teórico= valor obtido neste trabalho para cada complexo 'Derivado de fulereno- pesticida Op'; Volume= volume dos complexos, obtidos neste trabalho.

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

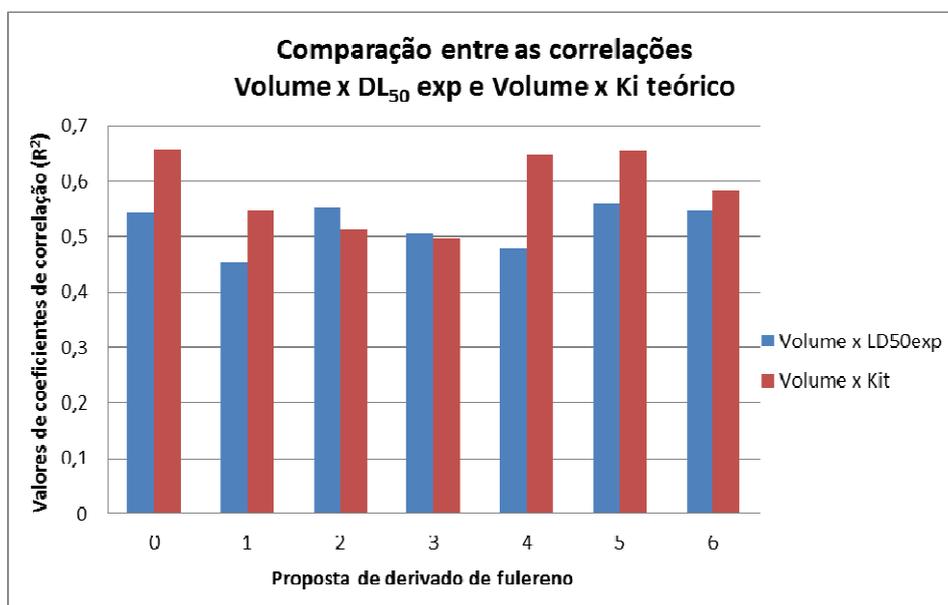
Os dados da tabela 12 em forma de gráfico seguem nas figuras 44 e 45.

Figura 44 – Comparação entre correlações de energia de *bandgap* x DL₅₀ experimental e energia de *bandgap* x Ki teórico



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Figura 45 – Comparação entre correlações de volume dos complexos x DL₅₀ experimental e volume dos complexos x Ki teórico



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

A proposta 4, melhor molécula em teste nas análises dos parâmetros estruturais eletrônicos, teve desempenho de correlação 'Volume dos complexos x Ki teórico' de 0,647, superior em relação à dos Ops isoladamente, que foi de 0,6 (figura 43).

Os valores de correlação médios na tabela 12, em torno de 0,5, são compreensíveis diante das limitações da pesquisa, como a imprecisão de cálculos semiempíricos, da ordem de 1,0 kcal.mol⁻¹ e o número limitado de corridas de *docking*, 20 para cada complexo, que podem ter dificultado a chegada a um dado mais próximo da correlação ideal. Para o refinamento de dados e aproximação de uma correção mais satisfatória sugere-se que os cálculos sejam feitos, em trabalhos futuros, por métodos *Ab initio*.

Como forma de síntese geral foram feitos os quadros 11 e 12 dos resultados das propriedades discutidas, tanto para os derivados de fulerenos quanto para os Ops.

Quadro 11 – Resumo dos resultados estruturais e eletrônicos para as propostas de derivados de fulereno

Derivado de fulereno	Parâmetro							
	F	G	H	I	J	K	L	M
0								
1								+
2							+	+
3	+			+	+			
4	+	+	+		+	+	+	+
5	+	+		+			+	
6	+	+		+				

Parâmetros:

F: Menores calores de formação dos complexos; G: Menores energias totais para complexos;

H: Variação de energia de dipolo do complexo para a proposta isolada; I: Energia de *bandgap* do complexo; J: Baixa dureza; K: Menores valores de energia de adsorção; L: Menores valores de energia de $\Delta G_{docking}$; M: Menores distâncias $O_{Ser}-P_{OP}$.

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Sobre as propostas derivados de fulerenos, a maioria dos parâmetros foi favorável à proposta 4. Adotaram-se os mesmos parâmetros para o quadro resumo de parâmetros quanto aos Ops.

Quadro 12 – Resumo dos resultados estruturais e eletrônicos para os Ops

Pesticida Op	Parâmetro								
	F	G	H	I	J	K	L	M	N
Acefato			+						
Cadusafós			+						
Clorpirifós			+	+					+
Dimetoato									
Fenitrothiona			+				+	+	+
Fentoato							+		+
Malation	+	+	+	+	+	+			
Malaoxon	+	+			+	+			
Parat.metílica									+
Terbufós				+	+				

Parâmetros:

F-M: Como do quadro 11

N: Baixo Ki (toxidez estimada por cálculos deste trabalho)

Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Considerando que:

- O malation é instável e se decompõe facilmente nas temperaturas médias brasileiras, além de ter apresentado valores discrepantes na literatura sobre toxidez, que dificultaram o referenciamento de dados;
- O malaoxon não é comercializado no Brasil;
- O fentoato foi suspenso de circulação, então seu uso está limitado no Brasil desde 2016;
- O terbufós não apresentou periculosidade significativa;

Sugere-se que a pesquisa com fins comerciais de maior interesse seja com a fenitrothiona.

6 CONCLUSÕES

No presente trabalho utilizaram-se métodos de química computacional para estudar derivados de fulereno captadores de pesticidas.

Sobre as propriedades estruturais eletrônicas, com base nos valores de potencial químico e dureza química, a fenitrotona e a parationa metílica apresentaram maior reatividade. Quanto à energia de *docking*, os valores mais favoráveis de ligação foram da fenitrotona e do fentoato e, dentre as propostas, os melhores resultados foram para a de número 4, ou seja, derivado de fulereno com grupos laterais de substituição $R_1=\text{Ser}$; $R_2=\text{His}$; $R_3=\text{Glu}$.

Os demais resultados obtidos neste trabalho mostraram que:

- Quanto à distância $O_{\text{PROP}}-P_{\text{OP}}$, que indica o encaixe mais próximo do biologicamente favorável, a proposta 4 apresentou as menores distâncias. Quanto aos Ops, a fenitrotona foi a molécula de destaque, seguida da parationa metílica.
- Sobre a energia de adsorção, apesar da energia de formação dos complexos serem positivas, o processo é exotérmico para a maioria. A proposta 4 de derivado de fulereno apresentou os melhores resultados e dentre os Ops, o malation, seguido do malaoxon foram destaque.
- A respeito do K_i teórico, são mais perigosos ou tóxicos o clorpirifós, fenitrotona, fentoato e parationa metílica e esses Ops são justamente os de melhor encaixe de *docking*.
- Na busca por uma correlação observou-se grande discrepância nas diversas fontes de dados da literatura acadêmica, sem um referencial único de valores de DL_{50} para os pesticidas.

Então, diante dos resultados conclui-se que a proposta de derivado de fulereno número 4 foi a melhor para a captura dos Ops e que a fenitrotona apresentou o melhor desempenho dentre os pesticidas estudados, seguida do malation, malaoxon, fentoato e parationa metílica.

Não foi possível o teste experimental das moléculas, pois no Brasil não há laboratório com nível de segurança compatível com compostos organofosforados, além da dificuldade com testes *in vivo* por motivos éticos.

Conclui-se, portanto, que a modelagem molecular, incluindo a análise conformacional, o cálculo de propriedades e parâmetros estereoelétrônicos e estudos de *docking* molecular, é uma ferramenta promissora no desenvolvimento de alternativas sustentáveis no campo da nanotecnologia ambiental.

7 PERSPECTIVAS

Como continuação deste trabalho sugere-se que sejam feitas parcerias com laboratórios de referência na área de organofosforados neurotóxicos, para geração de dados experimentais.

Adicionalmente, sugere-se que:

- Os testes sejam feitos em uma gama maior de compostos, para um resultado estatístico mais consistente.
- Seja feita a extração de propriedades estruturais eletrônicas utilizando métodos *ab initio*, de forma a refinar os resultados.
- Seja feita a simulação por dinâmica molecular dos complexos em diferentes solventes, para obtenção de resultados mais próximos da realidade.

Sugere-se ainda que haja uma iniciativa governamental quanto à regulamentação da obrigatoriedade do dado de dose letal (DL_{50}) em bulas de produtos agrotóxicos/pesticidas, visto a dificuldade no acesso à informação pelo usuário em geral.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, M. J.; *et al.* **GROMACS user manual version 5.0.7**. Departamento of Biophysical Chemistry, university of Groninger e Royal Institute of Technology and Uppsala University. Suécia, 2015. Disponível em: <www.gromacs.org>. Acesso em: 18 mai. 2017.
- AMADOR, C. H. dos S. **Sistemas de fulereno C₆₀ dopados com diferentes átomos covalentes e metais de transição**: uma investigação computacional. 2006, 153f. Dissertação (Mestrado em Física) - Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, Rio de Janeiro, 2006.
- AMARAL, E. H. **Resíduos de agrotóxicos organofosforados**: validação de método de cromatografia a gás e quantificação em produtos agrícolas. 2007, 127 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.
- ANDIA, J. P. M. TEIXEIRA, L. A. C. YOKOYAMA, L. **Remoção de boro de águas e efluentes de petróleo por adsorção**. 2009, 138f. Tese de Doutorado (Doutorado em Engenharia de Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos) – Pontifícia Universidade Católica, Rio de Janeiro, 2009.
- ARROIO, A.; HONÓRIO, K. M.; SILVA, A. B. F. Propriedades químico-quânticas empregadas em estudos das relações estrutura atividade. **Quim. Nova**, v. 33, n. 3, 694-699, São Paulo, 2010.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SAÚDE COLETIVA. **Dossiê ABRASCO**: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro: ABRASCO, 2012. 140p. (parte 1 – Agrotóxicos, Saúde, Ambiente e Sustentabilidade). Disponível em: <https://www.abrasco.org.br/site/wp-content/uploads/2015/03/Dossie_Abrasco_01.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2017.
- Ataque químico na Síria**: o que é o gás Sarin? Perigoso asfixiante da 2ª Guerra Mundial pode ter sido usado para matar civis. Rio de Janeiro: O GLOBO, 2017. Disponível em: <<https://oglobo.globo.com/mundo/ataque-quimico-na-siria-que-o-gas-Sarin-21170440>>. Acesso em: 02 nov. 2017.
- BALASUBRAMANIAN, A.; *et al.* Molecular dynamics simulation and molecular modeling studies on the insecticidal domain from jack bean urease. **Molecular Simulation**, 2013, v.39, n. 5, p. 357-367.
- BARREIRO, E. J.; *et al.* Modelagem molecular: uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal. **Química Nova**, v. 20, n. 1, p. 1-11, 1997.
- BARTH, V. G., BIAZON, A. C. B. Complicações decorrentes da intoxicação por organofosforados. SaBios: **Rev. Saúde e Biol.**, v.5, n.2, p. 27-33, 2010. Disponível em: <<http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios2/article/view/566/33>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

BELLO, M. L. **Montmorilonita como excipiente farmacêutico para carreadores de fármacos**: modelagem e dinâmica molecular de sistemas formados por Na-montmorilonita/fármaco. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

BENDASSOLI, J. A.; VICTORIA, R. L. Aspectos termodinâmicos no processo de síntese da uréia, a partir de amônia (NH₃), monóxido de carbono (CO) e enxofre (S). **Química Nova**, n. 18, 1995.

BOMBARDI, L. M. **Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Européia**. São Paulo: FFLCH –USP, 2017, 1. ed. 296p.

BOMBARDI, L. M. **Pequeno ensaio cartográfico sobre o uso de agrotóxicos no Brasil**. São Paulo: Laboratório de Geografia Agrária – USP, 2016. Disponível em: <<http://www.larissabombardi.blog.br/#livros/snxz6>>. Acesso em: 05 mai. 2016.

BRASIL. Lei no 7.802, de 11 de Julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 11 jul. 1989.

BRASIL . MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 12 dez. 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria Nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Agrotóxicos**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotóxicos>>. Acesso em: 03 jul. 2016.

CALDAS, L. Q. A (Coord.). **Intoxicações exógenas agudas por carbamatos, organofosforados, compostos bupiridílicos e piretróides**. Niterói: CCIN/UFF, 2000. Disponível em: <<http://www.cvs.saude.sp.gov.br/zip/intoxicacoes%20agudas%20-%20carbamatos%20e%20organoclorados.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2016.

CARNEIRO, F. F.; *et al.* **Dossiê ABRASCO**: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015. Disponível em: <http://www.abrasco.org.br/dossieagrototoxicos/wp-content/uploads/2013/10/DossieAbrasco_2015_web.pdf>. Acesso em: 07 ago. 2017.

CARSON, R. **Primavera silenciosa**. São Paulo: Melhoramentos, 1962. 305p.

CAVALCANTI, L. P. A. N.; *et al.* Intoxicação por Organofosforados: tratamento e metodologias analíticas empregadas na avaliação da reativação e inibição da acetilcolinesterase. **Rev. Virtual Quim.** v. 8, n. 3, 2016. Disponível em: <<http://rvq.sbq.org.br/imagebank/pdf/v8n3a15.pdf>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

CHANG, R. **Físico-química: para as ciências químicas e biológicas**. Tradução: Elizabeth P.G. Arêas, Fernando R. Ornellas. McGraw-Hill. São Paulo, 2008. v.1.

COLASSO, C.; AZEVEDO, F. A. Riscos da utilização de armas químicas. Parte I – Histórico. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n.3, p. 137-172, 2011.

COLOVIC, M. B.; *et al.* **Acetylcholinesterase inhibithors**: pharmacology and toxicology. University of Belgrade. Current Neuropharmacology, Belgrado, Sérvia, 2013.

Coordenadas tridimensionais do fulereno C60. Disponível em: <<http://www.nanotube.msu.edu/fullerene/fullerene.php?C=60>>. Acesso em: 08 mar. 2016.

DARRAS, F. H.; PANG, Y. P. On the use of the experimentally determined enzyme inhibition constant as a measure of absolute binding affinity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 489, p. 451-454, 2017.

DELFINO, R. T.; RIBEIRO, T. S.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Organophosphorus compounds as chemical warfare agents: a review. Seção de Engenharia Química, Instituto Militar de Engenharia. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 20, n. 3, p. 407-428, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532009000300003>. Acesso em: 13 set. 2016.

DUARTE, H. A. Índices de reatividade química a partir da teoria do funcional de densidade: formalismo e perspectivas. **Quim. Nova**, v. 24, n. 4, 501-508, Belo Horizonte: UFMG, 2001.

Entenda como atua a arma química VX, que matou irmão de Kin Jong-un. Uma pequena dosagem da arma de destruição em massa causa morte em poucos minutos. Rio de Janeiro: O GLOBO, 2017. Disponível em: <<https://oglobo.globo.com/mundo/entenda-como-atua-arma-quimica-vx-que-matou-irmao-de-kim-jong-un-20974542> >. Acesso em: 10 dez. 2017.

FERNANDES, A.L.C.; WAISSMANN, W. Interações de nanotubos de carbono e fulerenos com o sistema imune da pele e as possíveis implicações relacionadas à nanotoxicidade cutânea. **Vigilância Sanitária em Debate**, p. 92-103, 2013.

FERRARI, B., GONÇALVES, A. S. **Computational study of hybrid fullerenes captors of glycerol**. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo. Vila Velha, 2016.

FERREIRA, L. F. G. R. **Desenvolvimento e implementação de software para aplicação de grids computacionais em modelagem para inovação terapêutica**. Recife: UFPE, 2013. Disponível em: <<http://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/13193>>. Acesso em: 23 mai. 2016.

FRANÇA, T. C. C.; *et al.* **Applications of docking and molecular dynamic studies on the search for new drugs against the biological warfare agents *Bacillus***

anthracis and Yersinia pestis. Maryland: NIH, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24341424>>. Acesso em: 17 abr. 2016.

FRUETT, F. **Introdução aos semicondutores**. São Paulo: Unicamp, 2011. Disponível em: <<http://www.dsif.fee.unicamp.br/~fabiano/EE530/PDF/Texto%20-%20F%EDsica%20dos%20Semicondutores.pdf>> Acesso em: 06 mar. 2017.

Gás Sarin foi usado em ataque na Síria em abril, diz organização. Agente químico foi encontrado na cidade de Khan Sheikhu. Rio de Janeiro: O GLOBO, 2017. Disponível em: <<https://oglobo.globo.com/mundo/gas-Sarin-foi-usado-em-ataque-na-siria-em-abril-diz-organizacao-21538128>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

GONÇALVES, A. S., FRANÇA, T. C. C., OLIVEIRA, O. V. Computational studies of acetylcholinesterase complexed with fullerene derivatives: a new insight for Alzheimer disease treatment. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 34, n. 6. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/07391102.2015.1077345>>. Acesso em: 20 mar. 2017.

GONÇALVES, A. S. **Estudo da reativação da acetilcolinesterase humana inibida pelo organofosforado Tabun através de métodos híbridos clássicos quanto-mecânicos**. 2009, 207 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

GONÇALVES, A. S. **Estudo por dinâmica molecular das interações da pralidoxima e da deazapralidoxima com a Acetilcolinesterase humana inibida pelo agente neurotóxico Tabun**. 2005, 125f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 2005.

HAMADACHE, M.; *et al.* A quantitative structure activity relationship for acute toxicity of pesticides on rats: validation, domain of application and prediction. **Journal of Hazardous Materials**, n. 303, 2015.

HASSINEN, T.; PERÄKYLÄ, M. New energy terms for reduced protein models implemented in an off-lattice force field. **J. Comput Chem**, v. 22, n. 1229, 2001.

HERNÁNDEZ, D. B. **Optical and electrochemical sensing methods for the detection of food contaminants**. 2016, 246f. Tese de Doutorado em Engenharia Elétrica. Université de Perpignan, Perpignan, 2016.

HERNÁNDEZ-CALVA, A., ARROYO, M., RAMÍREZ-MONROY, A. **Covalent functionalization of fullerene C60 bearing fulleren [60] isoxazolines as potential ligands to transition metals**. Boletín del Grupo Español del Carbón. n. 44, 2017.

LAMOREA, M. S. **Diferenças farmacológicas do sistema nervoso autônomo**. 2013. Disponível em: <<http://lamoreabio2.blogspot.com.br/2013/06/diferencas-farmacologicas-do-sistema.html>>. Acesso em: 02 set. 2017.

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil**. Um guia para ação em defesa da vida. Rio de Janeiro: AS-PTA, 2011. Disponível em: <http://www4.planalto.gov.br/consea/eventos/mesa_de_controversias/mesa-de-controversias-sobre-agrotoxicos-2013/agrotoxicos-no-brasil-um-guia-para-acao-em-defesa-da-vida.pdf/view>. Acesso em: 02 mai. 2016.

MADSEN, H. T.; SØGAARD, E. G.. **Applicability and modelling of nanofiltration and reverse osmosis for remediation of groundwater polluted with pesticides and pesticide transformation products**. Separation and Purification Technology 125. Denmark, 2014.

MANGAS, I., *et al.* Neurotoxic effects associated with current uses of Organophosphorus Compounds. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 27, n. 5, p. 809-825, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532016000500809>. Acesso em: 13 jan. 2017.

MARQUES, C. V. C. O.; MARQUES, P. R. B. de O.; NUNES, G. S. Biossensor amperométrico para detecção screening de inseticidas carbamatos em águas de abastecimento. **Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente**. Curitiba, v.16, p. 81-92, 2006.

MARQUES, P. R. B. de O.; YAMANAKA, H. Biossensores baseados no processo de inibição enzimática. **Quim. Nova**, v. 31, n. 7, 2008.

MORRIS, G. M.; *et al.* AutoDock4 and AutoDockTolls4: automated docking with selective receptor flexibility. **J. Comput Chem**, v. 30, n. 16, p. 2785-2791, 2010.

NELSON, D. L. **Princípios de bioquímica de Lehninger** [recurso eletrônico] / David L. Nelson, Michael M. Cox ; Tradução: Ana Beatriz Gorini da Veiga. *et al.* Revisão técnica: Carlos Termignoni ... *et al.* – 6. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre : Artmed, 2014.

NIH. **TOXNET Databases**. Maryland: NIH, 2017. Disponível em: <<https://toxnet.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 18. jul. 2017.

NURULAIN, S. M. Efficacious Oxime for organophosphorus poisoning: a minireview. Department of Pharmacology and Therapeutics, Faculty of Medicine and Health Sciences, United Arab Emirates University. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, United Arab Emirate, 2011. Disponível em: <<http://www.bioline.org.br/pdf?pr11044>>. Acesso em: 04 set. 2016.

OLIVEIRA, O. V., *et al.* **Computational studies of the Ca₁₂O₁₂, Ti₁₂O₁₂, Fe₁₂O₁₂ and Zn₁₂O₁₂ nanocage clusters**. Chemical Physics Letters, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25158148>>. Acesso em: 14 ago. 2016.

ONU confirma gás Sarin na Síria e busca consenso para resolução. São Paulo: BBC, 2013. Disponível em: <http://www.bbc.com/portuguese/noticias/2013/09/130916_siria_onu_dt>. Acesso em: 03 nov. 2017.

ORTOLAN, A. O. **Apostila de práticas de química computacional**. Monografia (Curso de Licenciatura em Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014.

OUJJI, N. B.; *et al.* **Acetylcholinesterase immobilized on magnetic beads for pesticides detection**: application to olive oil analysis. University of Perpignan, France. June 2012. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3436006/>>. Acesso em: 11 ago. 2016.

PEARSON, R. G. The principle of maximum hardness. **Acc. Chem. Res**, v. 26. n. 5, 1993.

PETRONILHO, E. C.; PINTO, A.C.; VILLAR, J.D.F. Acetilcolinesterase: Alzheimer e Guerra Química. **Revista Militar de Ciência e Tecnologia**, 2011. Disponível em: <http://rmct.ime.eb.br/arquivos/RMCT_3_tri_2011/RMCT_067_E5A_11.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2016.

PIETRALONGA, T. C., *et al.* Estudo computacional de reativadores da acetilcolinesterase inibida pelo pesticida agrícola fenamifós. **Revista Ifes Ciência**, v. 1, n. 2, 2015.

PMEP. **Exttoxnet**. A pesticide information project of Cooperative Extension Offices of Cornell University, Michigan State University, Oregon State University, and University of California at Davis. Major support and funding was provided by the USDA/Extension Service/National Agricultural Pesticide Impact Assessment Program. New York: PMEP, [s.d]. Disponível em: <<http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/exttoxnet/>>. Acesso em: 18 jul. 2017.

ROCHA, G. B. Métodos semiempíricos para o tratamento de sistemas macromoleculares: de compostos de coordenação à proteínas. In: **V Escola de Modelagem Molecular de Sistemas Biológicos**. Petrópolis, 2010. Disponível em: <http://www.emmsb.Incc.br/vemmsb/vemmsb_teorico/Gerd.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2016.

ROCHA, W. R. Interações intermoleculares. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**. 2001. Disponível em: <<http://qnesc.sbq.org.br/online/cadernos/04/interac.pdf>>. Acesso em: 03 mar. 2017.

RODRIGUES, S. B. de V. **Quimeras moleculares: síntese de novas moléculas híbridas contendo fulereno C60**. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

SANTOS, V. M. R.; *et al.* Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Quim. Nova**, v. 30, n. 1, p. 159-170, 2007. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=1773>. Acesso em: 12 mar. 2017.

SARKER, S. D. **Química para estudantes de farmácia: química geral, orgânica e de produtos naturais**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2011.

SHIH, J. H.; CHEN, C. L. Molecular dynamics simulation of bisphenol a polycarbonate. **Macromolecules**, v. 28, p. 4509-4515, 1995.

SHOJI, M.; *et al.* Anti-Influenza Activity of C₆₀ Fullerene Derivatives. **PLOS one**, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23785493>>. Acesso em: 14 mar. 2017.

SUGANTHI, M.; ELANGO, K. P. Binding of organophosphate insecticides with serum albumin: multispectroscopic and molecular modelling investigations. **Physics & Chemistry of Liquids**, v.55, n. 2, p.165-179, 2017.

VALE, J. K. L. **Estudo do mecanismo do nitrofeniletano na prostaglandina-endoperóxido sintase e relação estrutura-propriedade de nitroderivados**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2011. Disponível em: <<http://www.ufpa.br/ppgcf/arquivos/dissertacoes/dissertacaoAno2011-JoyceKarenLimaVale.pdf>>. Acesso em: 16 out. 2016.

VALENTE, N. I. P. **Análise de pesticidas organofosforados em Toxicologia Forense**. 2012. 148 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Aveiro, 2012. Disponível em: <http://ria.ua.pt/bitstream/10773/10150/1/tese_nuno_valente.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2016.

WORRALL, F.; THOMSEN, M. Quantum vs. topological descriptors in the development of molecular models of groundwater pollution by pesticides. **Chemosphere**, v. 54, p. 585–596, 2004.

ZACHARIA, J. T. Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides. Stoytcheva, M. (org). In: Pesticides in the Modern World – Trends in Pesticides Analysis. **InTech**, 2011.

APÊNDICE A - Etapas pré-docking – preparo de receptor e ligante

Guia de desenho otimizado das moléculas e extração de propriedades estruturais e eletrônicas das moléculas isoladas

PARA OS RECEPTORES (derivados de fulereno)

1° Abrir o programa Ghemical e desenhar a molécula. Ao fim, executar:
 Botão secundario do mouse → Build → Hydrogens → Add
 Botão secundario do mouse → Compute → Geometry Optmization → Ok
 Botão secundario do mouse → Compute → Randon Conformational Search >
 Execute
 Save → arquivo_opt (o arquivo será salvo com extensão .gpr)

2° Conferir a carga executando o acpype, via linha de terminal
 acpype -i arquivo_opt.gpr -n 0

Caso o arquivo contenha o aminoácido glutamato a carga será -1 no lugar do zero ao fim da linha de comando.

3° Transformar o arquivo .gpr para .mop para reconhecimento pelo MOPAC. Via linha de terminal:
 babel -igpr arquivo_opt.gpr -omopin arquivo.mop

4° Editar os arquivos com extensão *.mop. Via terminal abrir os arquivos:
 nedit *.mop

5° Substituir as palavras KEY MORDS pelo cabeçalho:
 PM7 CHARGE=0 PRNT=2 EF GEO -OK NOXYZ COMPFG GRAPHF

Nos casos que a proposta tem o aminoácido glutamato a carga formal é -1, então
 CHARGE= -1

6° Executar o programa MOPAC para otimização semiempírica. Via linha do terminal:
 mopac arquivo.mop

Serão formados os arquivos *.out e *.arc.

7° Extrair os resultados
 Todos os resultados dos calores de formação estarão com extensão *.arc

PARA OS LIGANTES (pesticidas Ops)

1° No site PubChem fazer o download dos Ops buscando pelos nomes.

2° Salvar os arquivos em formato .sdf

Download Files > sdf file

3° Converter os arquivos para o formato .pdb com o programa

babel -isdf (arquivo).sdf -omopin (arquivo).pdb

4° Via linha de terminal abrir com o programa PyMOL para conferência de cargas

OBS: Utilizando o "&" ao fim da linha de comando é possível rodar o programa sem travar o terminal.

5° Conferir a carga executando o acpype, via linha de terminal

acpype -i (nome do OP).pdb -n 0

Em que o zero ao fim da linha de comando significa a carga formal da molécula.

Executar os passos 3° a 7° de "PARA OS RECEPTORES".

APÊNDICE B - Guia de criação do *GRID*

1° Abrir o *AutoDock Tools* no terminal.

2° Abrir o arquivo do complexo receptor-ligante em formato .pdb.
File → read molecule → (arquivo).pdb

3° Salvar o arquivo em formato .pdbqt.
Grid → macromolecule → choose → (arquivo).pdbqt

3° Dimensionar o *grid*
Grid → gridbox → space 0,375 para 1,000. X=18; Y=18; Z=18

4° Salvar os valores definidos de dimensões do *grid*
Output → grid → dimension file → digitar "grid.txt"

APÊNDICE C - Etapas de *Docking* Molecular Utilizando o *software AutoDock Tools*

1° Criar uma pasta para o *docking* de cada derivado de fulereno

mkdir → derivado3 (o mesmo para cada derivado)

2° Criar as pastas de cada OP dentro da pasta do derivado de fulereno

mkdir → docking_acefato (repetir o procedimento para cada OP)

3° Adicionar o arquivo script.sh, conf.txt, vinascreengettop.py a cada pasta

a) Conferir o script para cada organofosforado: trocar o campo do nome do OP para o nome do respectivo organofosforado

nedit → script.sh

4° Converter os arquivos para o formato .pdb

Gmolden → Read → (pesticida_OP).out

write → pdb → with hidrogens

Salvar como (pesticida_OP)_opt.pdb

5° Conferir visualmente as moléculas com o PyMOL

PyMOL (pesticida_OP)_opt.pdb

6° Conferir a carga das moléculas executando o acpype via terminal

acpype -i (pesticida_OP).pdb -n 0

Na pasta acpype serão gerados arquivos, dentre eles o .mol2.

7° Copiar, da pasta criada pelo acpype para cada derivado de fulereno, o arquivo (arc_bcc).mol2 para a respectiva pasta *docking* de cada um.

8° Converter o arquivo .mol2 para .pdbqt com o *AutoDock tools*, para a leitura pelo *AutoDock Vina*

Ligand → input → open

Ligant → output →seleciona 'pqbqt' → save

9° Conferir os graus de liberdade para preparo da molécula como .pdbqt

Ligand → input → open → ligand.pdb

Ligand → Torsion tree → detect root

Ligand → torsion tree → Ligand → torsion tree →set number of torsions
(verde gira, magenta e vermelho não giram)

Ligand → Output → Save as PDBQT → save

10° Selecionar o tamanho do *grid* de acordo com o tamanho da molécula

Grid → macromolecule → choose → protein.pdb → save as PDBQT

Grid → Set map types → open ligand

Grid → Grid box (18 x 18 x 18) → file → close saving currently

Grid → output → save gpf

11° Conferir os hidrogênios das moléculas

Editing → hidrogens → add → ok

Edit → hidrogens → merge non polar

12° Conferir o arquivo script.sh de acordo com cada *docking*

Cada pasta deve conter então os arquivos: script.sh, conf.txt, vinascreengettop.py, (pesticida_OP).pdbqt e (derivado_de_fulereno).pdbqt

13° Copiar os arquivos .pdbqt dos derivados de fulereno para aumentar o número de rodadas, logo, aumentar a confiabilidade do cálculo.

cp (derivado_de_fulereno).pdbqt (derivado_de_fulereno)_001.pdbqt

cp (derivado_de_fulereno).pdbqt (derivado_de_fulereno)_002.pdbqt

cp (derivado_de_fulereno).pdbqt (derivado_de_fulereno)_003.pdbqt

(repetir até o 010)

14° Executar o script de *docking*, com o comando no terminal

./script.sh <enter>

Aguardar o cálculo da energia de ligação de cada OP com a proposta de derivado de fulereno nas 10 conformações propostas (10 *runs*)

15° Verificar o melhor valor de energia de ligação (a menor). Via terminal:

./vinascreengettop.py 1

Obs: esse "1" mostra o melhor resultado

16° Verificar o valor dessa menor energia de ligação. Via terminal:

more (nome do OP_007)/log.txt

17° Visualizar o resultado, no *AutoDock Tools*

Analyze → docking → open AutoDockVina result

(selecionar "single molecule with multiple conformations")

Analyze → macromolecule → open → proposta_5.pdbqt

Analyze → macromolecule → open → (nome do OP).pdbqt

Analyze → docking → show interactions

APÊNDICE D - Guia de geração das imagens dos complexos com o *software* PyMOL

1° Obter o melhor valor de energia de *docking*, com o programa *vinascreengettop*.

Via terminal:

```
./vinascreengettop 1
```

Será mostrado o número do arquivo gerado com o menor valor.

Para obter o valor da energia, via terminal novamente:

```
more ./arquivo/log.txt
```

2° Converter o arquivo para o formato *.pdb com o programa *AutoDockTools*.

Analyze → docking → open AutoDock Vina Result

Salva como arquivo.pdb

3° Salvar uma imagem única com receptor e ligante, no PyMOL. Via terminal:

```
PyMOL (derivado_fulereno).pdb (pesticida).pdb
```

No PyMOL: File → save molecule

4° Conferir os hidrogênios das moléculas com o *software* PyMOL e adicionar conferindo os estados de protonação.

5° Converter para abrir no MOPAC e preparação para o cálculo do complexo

Via terminal:

```
babel -ipdb (complexo).pdb -omopin (complexo).mop
```

Conferir a conformação e a carga total para não gerar artefatos.

6° Substituir as palavras KEY MORDS pelo cabeçalho:

```
PM7 CHARGE=0 PRNT=2 EF GEO -OK NOXYZ COMPFG GRAPHF
```

Obs: Nos casos dos derivados 3 a 6, que contêm o glutamato em sua cadeia lateral, a carga é -1. Então, CHARGE=-1

7° Calcular as propriedades dos complexos com o MOPAC. Via terminal:

```
mopac (complexo).mop
```

8° Visualizar os resultados. Via terminal:

```
more (complexo).arc
```

APÊNDICE E - Algoritmo do arquivo 'script.sh'

(Fonte: <http://vina.scripps.edu/>)

```
for f in acefato_*.pdbqt; do
  b=`basename $f .pdbqt`
  echo Processing ligand $b
  mkdir -p $b
  vina --config conf.txt --ligand $f --out ${b}/out.pdbqt --log ${b}/log.txt
done
```

APÊNDICE F - Algoritmo do arquivo 'conf.txt'

(Fonte: <http://vina.scripps.edu/>)

receptor = proposta2.pdbqt

center_x = -1.003

center_y = 3.246

center_z = 0.525

size_x = 18

size_y = 18

size_z = 18

cpu = 4

num_modes = 20

exhaustiveness = 8

APÊNDICE G - Algoritmo do arquivo 'vinscreengettop'

```
#!/usr/bin/env python

import sys
import glob

def doit(n):
    file_names = glob.glob('*/*.pdbqt')
    everything = []
    failures = []
    print 'Found', len(file_names), 'pdbqt files'
    for file_name in file_names:
        file = open(file_name)
        lines = file.readlines()
        file.close()
        try:
            line = lines[1]
            result = float(line.split(':')[1].split())[0]
            everything.append([result, file_name])
        except:
            failures.append(file_name)
    everything.sort(lambda x,y: cmp(x[0], y[0]))
    part = everything[:n]
    for p in part:
```

ANEXO A - DL₅₀ oral e dérmica e CL₅₀ de formulações dos pesticidas organofosforados em estudo

Princípio ativo	Nome comercial e concentração	BULAS			PubChem			EXTOXNET		
		DL ₅₀ oral mg.kg ⁻¹	DL ₅₀ dérmica mg.kg ⁻¹	CL ₅₀ inalatória mg.L ⁻¹ (4h)	DL ₅₀ oral mg.kg ⁻¹	DL ₅₀ dérmica mg.kg ⁻¹	CL ₅₀ inalatória mg.L ⁻¹ (4h)	DL ₅₀ oral mg.kg ⁻¹	DL ₅₀ dérmica mg.kg ⁻¹	CL ₅₀ inalatória mg.L ⁻¹ (4h)
Acefato	Acefato® (750 g.kg ⁻¹)	500,0	>2000,0	>0,86	945,0 e 866,0	*	*	945	*	*
	Aquila® (750 g.kg ⁻¹)	*	*	*						
Cadusafós	Rugbi 200CS (200 g.L ⁻¹)	>2000,0	6008,0	3,87	679	*	0,026	*	*	*
Clorpirifós	CapatazBR® (480 g.L ⁻¹)	>300,0	>2000,0	*	151,0, 276,0 e 82,0	202,0 e >2000,0	>36,0	95,0 a 270,0	>2000,0	>0,2
	Clorpirifós Sabero 480 EC® (480 g.L ⁻¹)	500,0	4006,0	1,53						
	Nufos 480 EC® (480 g.L ⁻¹)	293,0	>4000,0	*						
	Clorpirifós Fersol 480 EC® (480 g.L ⁻¹)	322	*	*						
	Pitcher 480EC® (480 g.L ⁻¹)	293	>4000,0	*						
	Pyrinex 480 EC® (480 g.L ⁻¹)	50,0 a 300,0	*	1,85						
	Record® (489,8 g.L ⁻¹)	*	*	*						
	Sabre® (450 g/L ⁻¹)	275	1444	*						

Princípio ativo	Nome comercial e concentração	BULAS			PubChem			EXTOXNET		
		DL ₅₀ oral mg.kg ⁻¹	DL ₅₀ dérmica mg.kg ⁻¹	CL ₅₀ inalatória mg.L ⁻¹ (4h)	DL ₅₀ oral mg.kg ⁻¹	DL ₅₀ dérmica mg.kg ⁻¹	CL ₅₀ inalatória mg.L ⁻¹ (4h)	DL ₅₀ oral mg.kg ⁻¹	DL ₅₀ dérmica mg.kg ⁻¹	CL ₅₀ inalatória mg.L ⁻¹ (4h)
Dimetoato	Agritoato 400 [®] (400 g.L ⁻¹)	60,0	1000,0	*	500 a 680, 290, 358	*	>1553	180-330	100 a 600	>2,0
	Dimetoato 500 EC [®] (500 g.L ⁻¹)	*	*	*						
	Dimexion [®] (400 g.L ⁻¹)	*	*	*						
	Perfekthion [®] (400 g.L ⁻¹)	*	*	*						
	Tiomet [®] (400 g.L ⁻¹)	*	*	*						
Fenitrotona	Sumigran 500 ec (500 g.L ⁻¹)	1325,0	2100,0	0,83	500,0 e 1700,0	3000,0 e 890,0	*	250,0 e 800,0	890,0	5,0
	Sumithion 500 EC (500 g.L ⁻¹)	1325,0	2100,0	0,83						
Fentoato	Elsan [®] (500 g.L ⁻¹)	410,0 (produto técnico) e 348,0 (produto formulado)	> 5000,0 (produto técnico) e 1715,0 (produto formulado)	*	77,7, 118,0 e 246,0	4498,0	*	*	*	*
Malation	Malathion 1000 EC [®] (1000 g.L ⁻¹)	1650,0	8000,0	*	5843,0, 1375,0 e 290,0	*	43,79	1x10 ³ a 1x10 ⁴	>4.10 ³	*
	Malathion 500 EC [®] (500 g.L ⁻¹)	2000,0	>4000,0	*						
Malaoxon	Malaoxon [®]	158,0	*	*	158,0	*	*	*	*	*

Princípio ativo	Nome comercial e concentração	BULAS			PubChem			EXTOXNET		
		DL ₅₀ oral mg.kg ⁻¹	DL ₅₀ dérmica mg.kg ⁻¹	CL ₅₀ inalatória mg.L ⁻¹ (4h)	DL ₅₀ oral mg.kg ⁻¹	DL ₅₀ dérmica mg.kg ⁻¹	CL ₅₀ inalatória mg.L ⁻¹ (4h)	DL ₅₀ oral mg.kg ⁻¹	DL ₅₀ dérmica mg.kg ⁻¹	CL ₅₀ inalatória mg.L ⁻¹ (4h)
Parationa metílica	Folisuper 600BR [®] (600 g/L)	*	*	*	14,0	*	34,0	6,0 a 50,0	67,0	0,24 (1 h)
Terbufós	Terbufos [®] (150 g/kg)	*	*	*	1,6 a 9,0	*	*	1,60 a 1,74	*	*
	Counter 150G [®] (150 g/kg)	*	*	*						

Fonte: Bulas dos produtos formulados (2017). Organizado pela autora.

Dados relativos a testes em ratos, machos, dos quais se pode inferir valores para a toxicidade humana.

* (sem dados disponíveis)

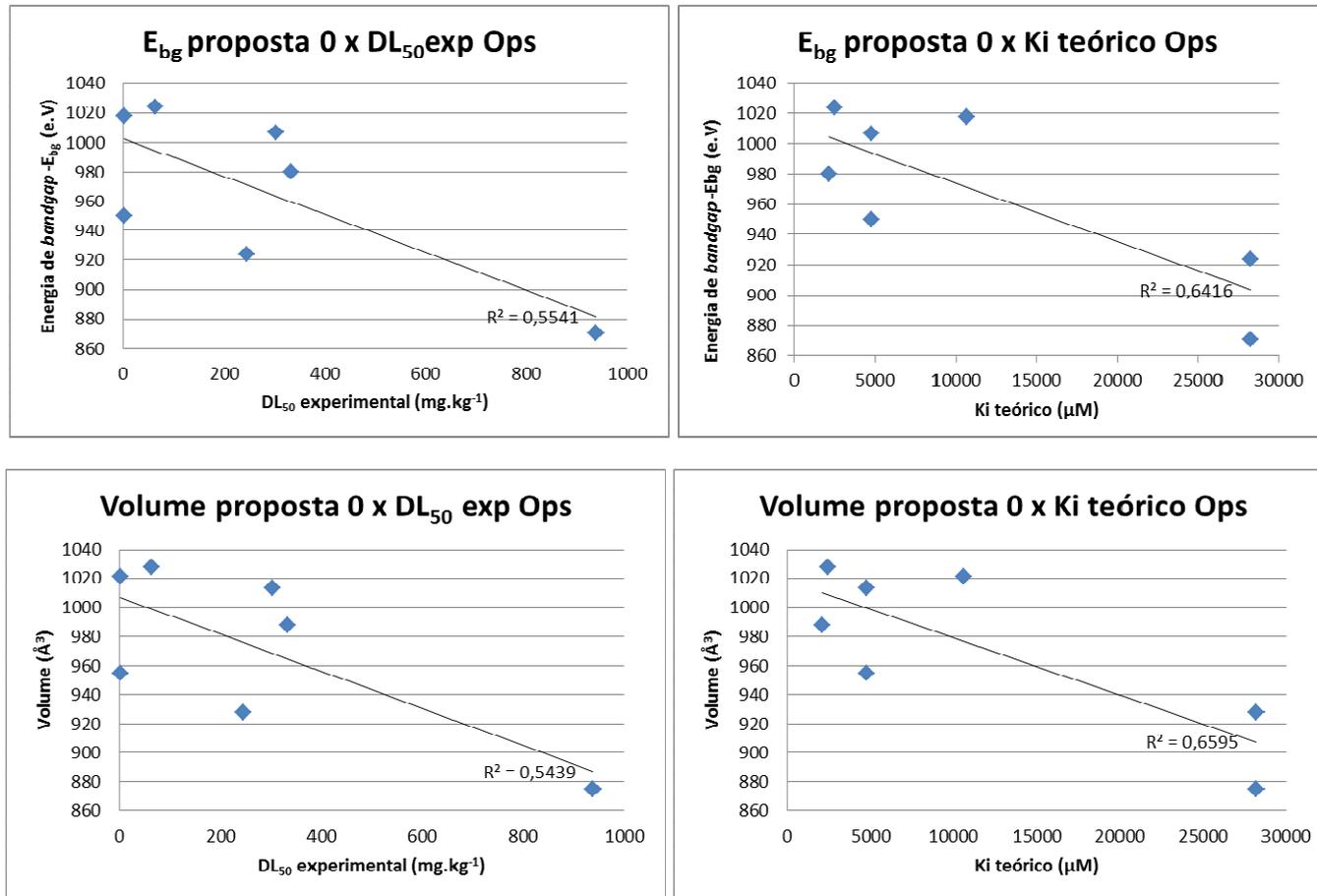
OBS: Os dados da fonte PubChem são de fontes diversas pois referencia vários arquivos.

ANEXO B - Gráficos de correlações

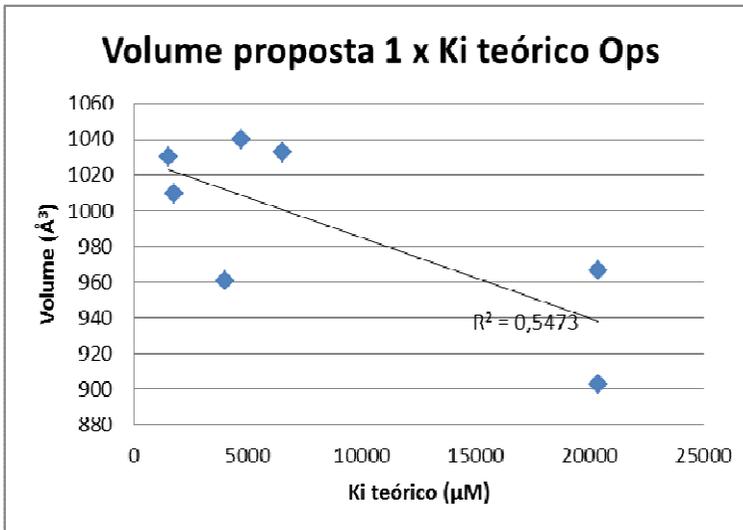
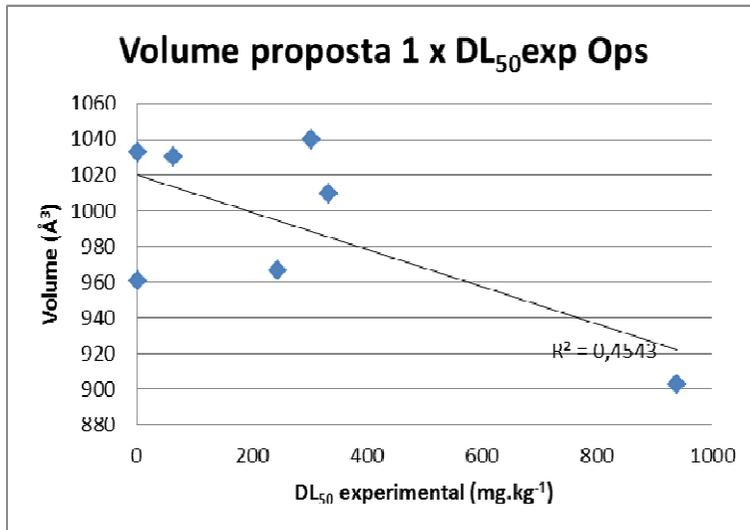
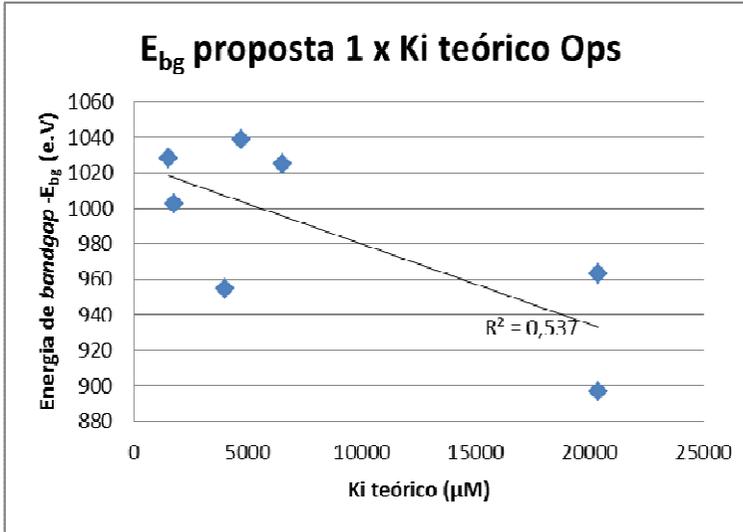
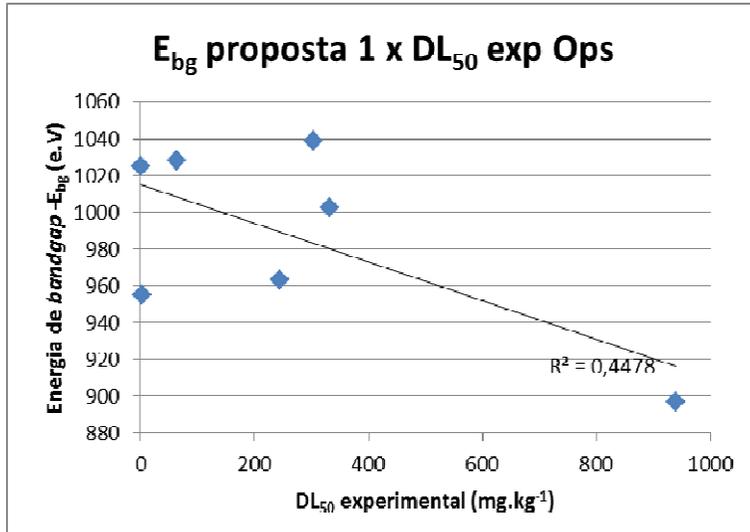
Correlações entre energia de bandgap (E_{bg}) e DL_{50} experimental (do artigo de Hamadache *et al.* 2015); energia de bandgap (E_{bg}) e K_i teórico (obtido nesta pesquisa); volume das propostas de derivados de fulereno e DL_{50} experimental; volume das propostas e K_i teórico.

Pesticidas analisados: acefato, cadusafós, clorpirifós, dimetoato, fenitrotiona, parationa metílica e terbufós.

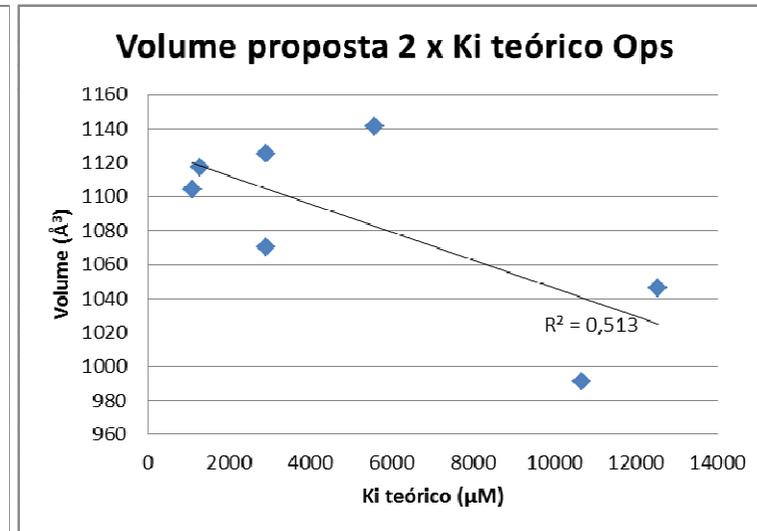
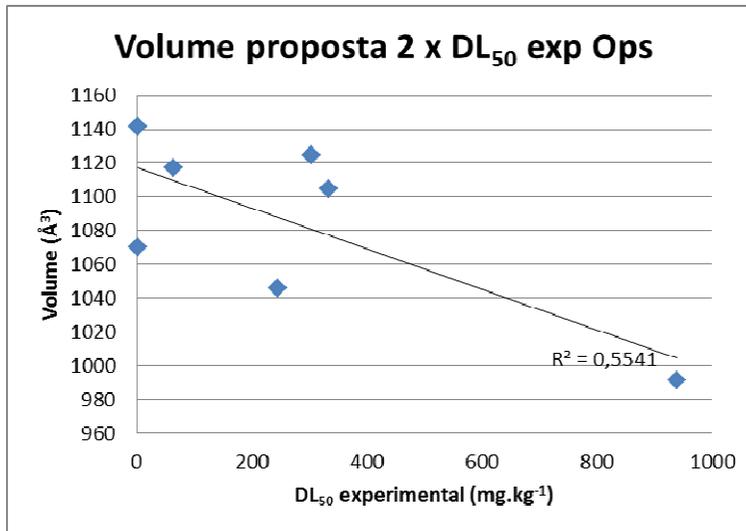
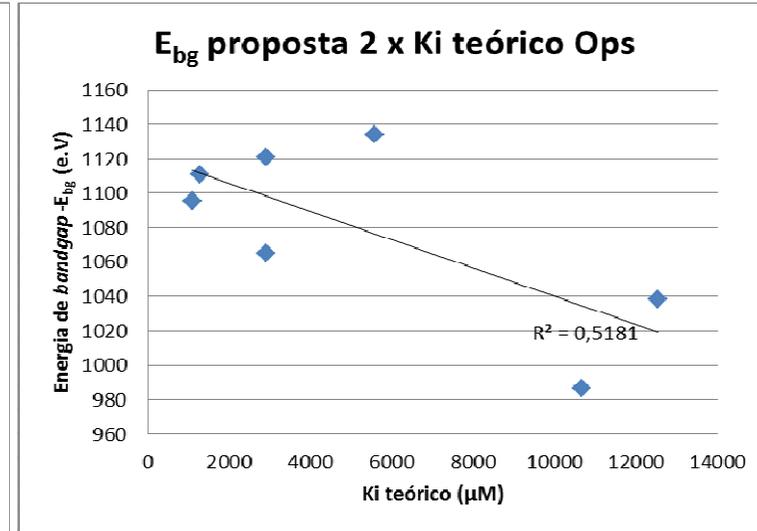
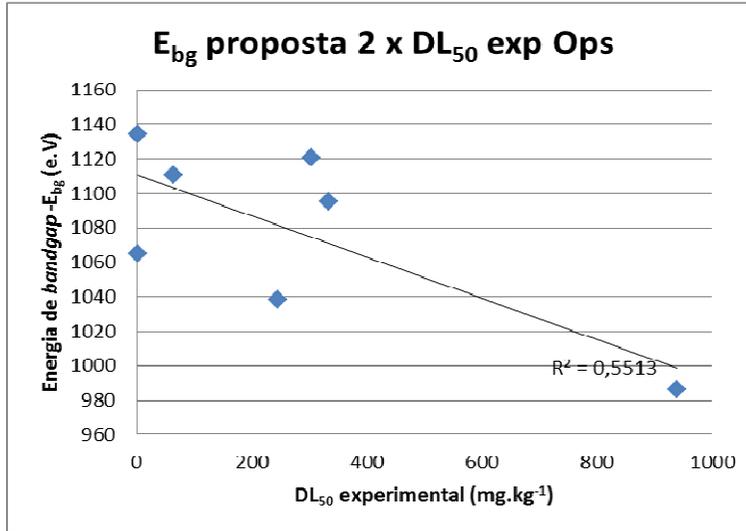
PROPOSTA 0



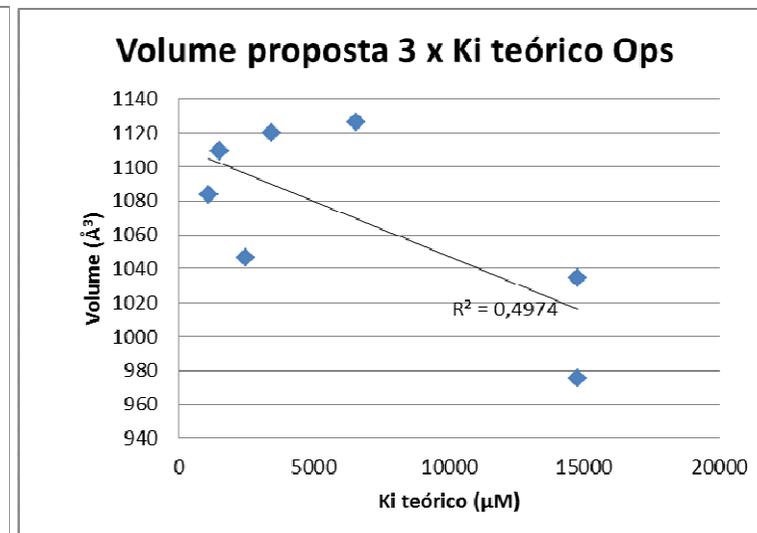
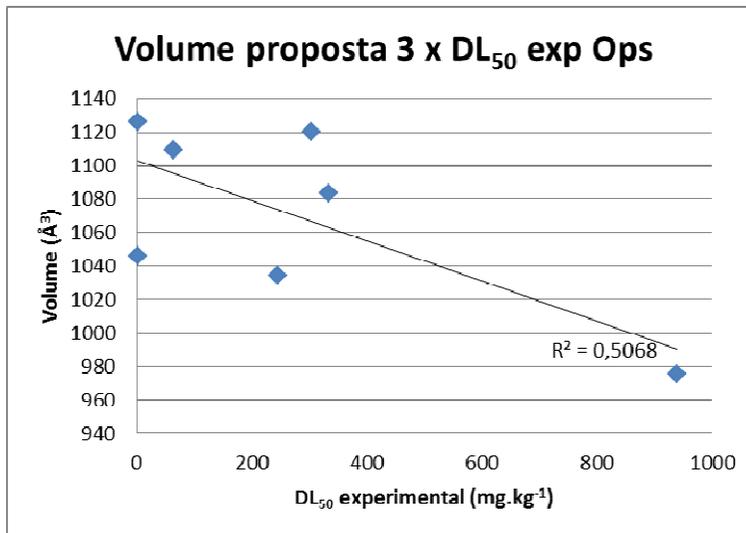
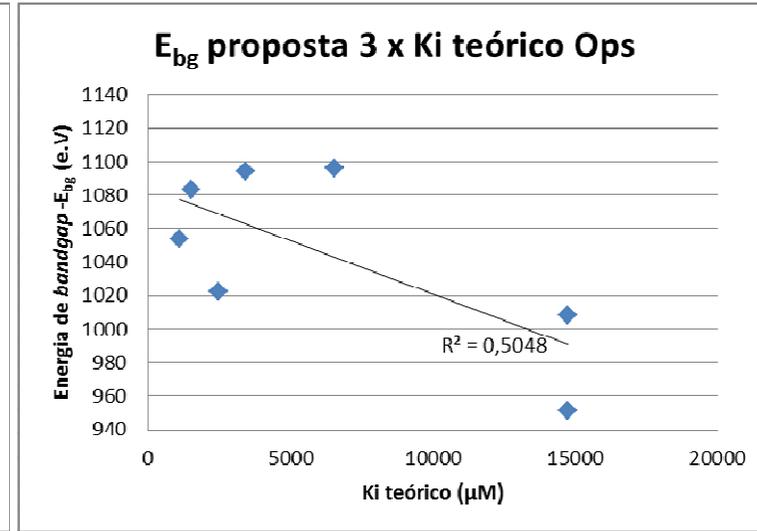
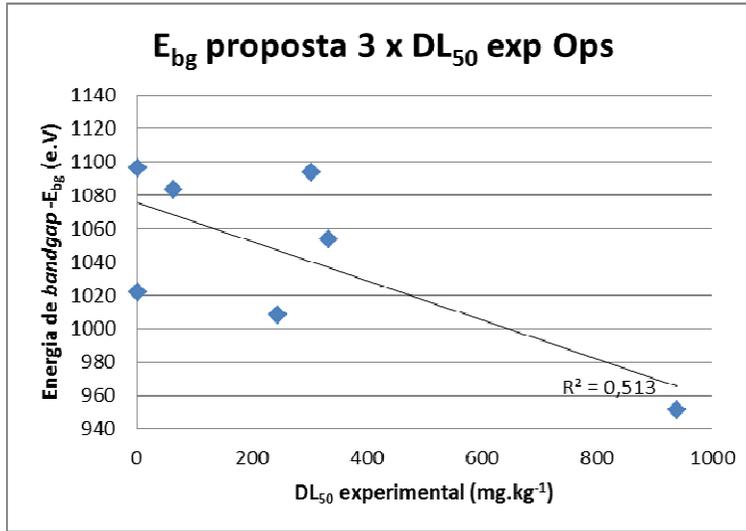
PROPOSTA 1



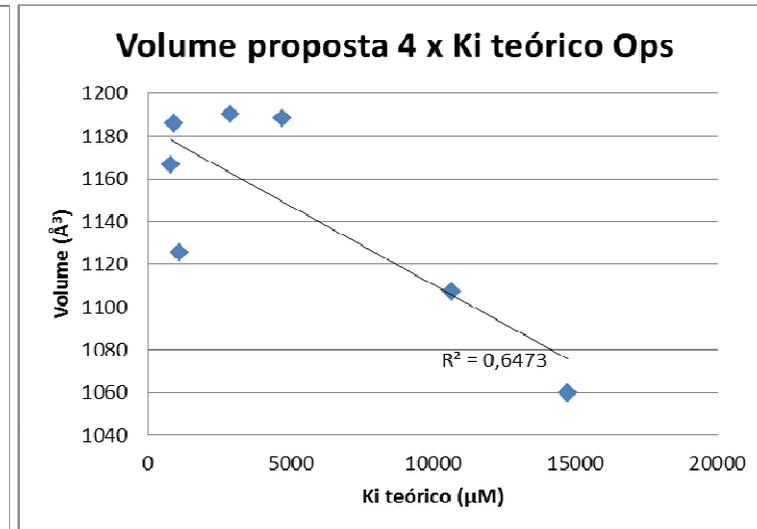
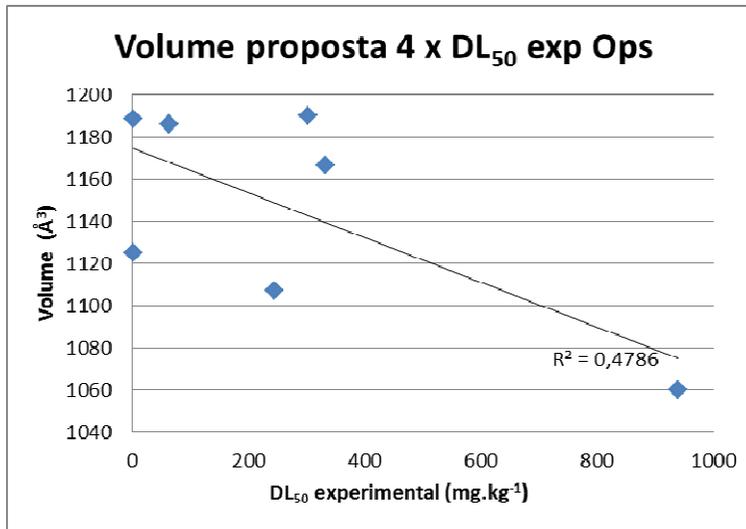
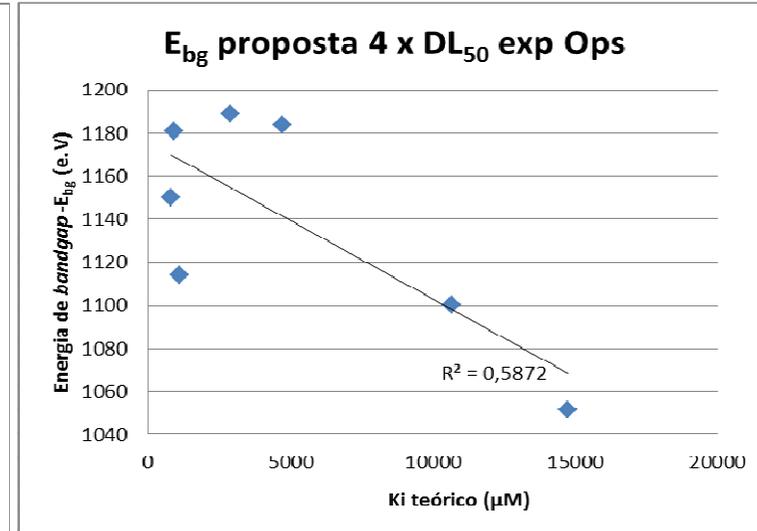
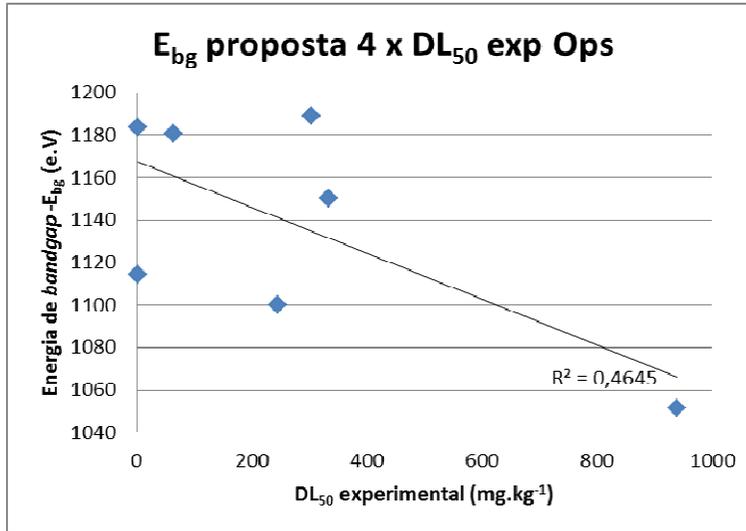
PROPOSTA 2



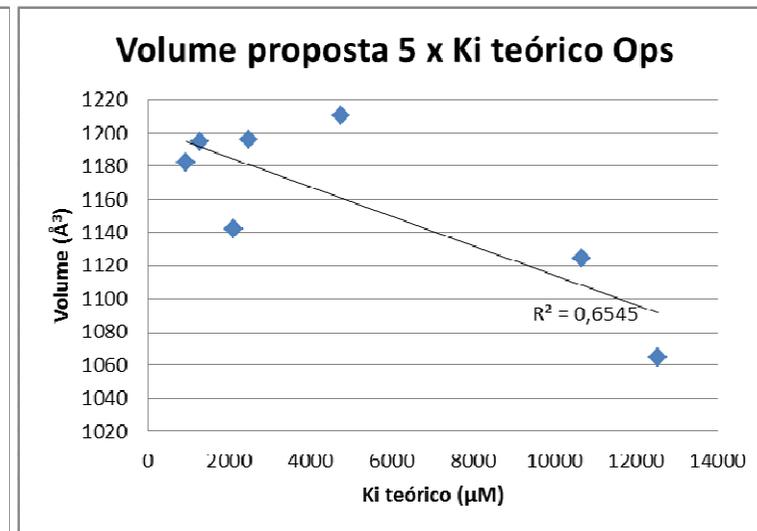
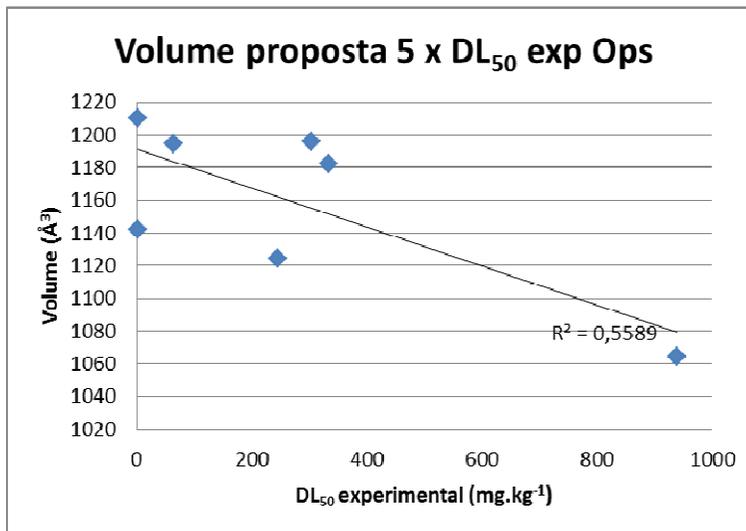
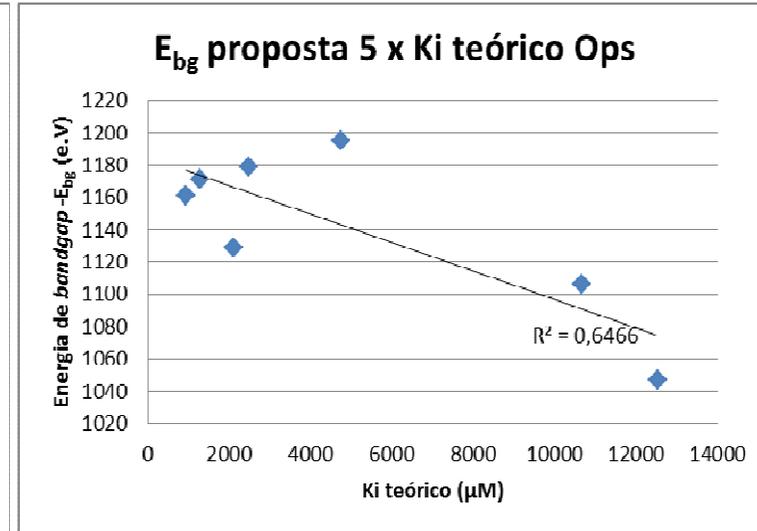
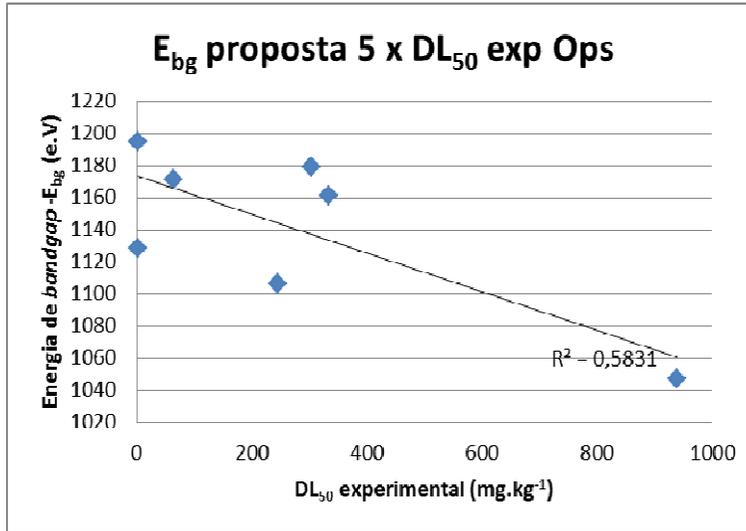
PROPOSTA 3



PROPOSTA 4



PROPOSTA 5



PROPOSTA 6

