



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA (CCEN)
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL (DQF)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ESTUDO QUÍMICO-QUÂNTICO DO POTENCIAL
CARCINOGENICO DE AGROTÓXICOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Karina Anunciada Barros
Orientador: Antonio Carlos Pavão

Recife, 2010

**ESTUDO QUÍMICO-QUÂNTICO DO POTENCIAL
CARCINOGENÉTICO DE AGROTÓXICOS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos à obtenção do grau de Mestre em Química pela Universidade Federal De Pernambuco.

Recife, 2010

Barros, Karina Anunciada.
Estudo químico-quântico do potencial
carcinogênico de agrotóxicos / Karina Anunciada
Barros. - Recife: O Autor, 2010.
vii, 74 folhas : il. fig. tab.

Orientador: Antonio Carlos Pavão
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de
Pernambuco. CCEN. Química, 2010.

Inclui bibliografia.

1. Físico-química. 2. Câncer – aspectos moleculares
Produtos químicos agrícolas. 4. Método semi-empírico
Título.

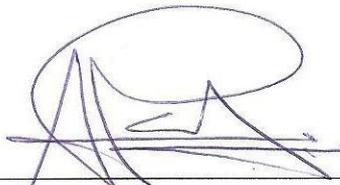
541.3

(22.ed.)

FQ 2010-065

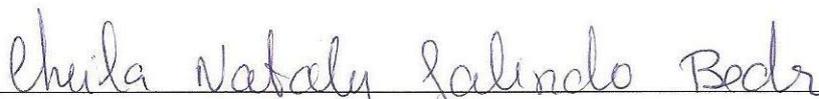
Dissertação submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Química.

Aprovada:



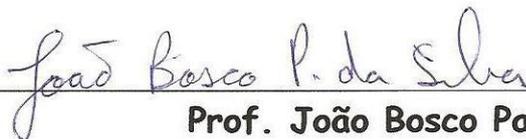
Prof. Antonio Carlos Pavão
(Orientador)

Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco



Profa. Cheila Nataly Galindo Bedor

Fundação Universidade Federal do Vale do São Francisco



Prof. João Bosco Paraíso da Silva
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

"Estudo Químico-Quântico do Potencial Carcinogênico de Agrotóxicos"

Por

Karina Anunciada Barros

Departamento de Química Fundamental
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Universidade Federal de Pernambuco
Recife-PE-Brasil
24 de Setembro de 2010

Dedico este trabalho, aos meus pais
Terezinha Anunciada de França e José Julio de França
 Às minhas irmãs
 Ercilia e Karla,
Ao meu namorado
 Jason Kleyton
E á minha tia Marlene.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que me concedeu a oportunidade de realizar este trabalho.

Aos meus pais por tudo o que fizeram e fazem por mim.

Às minhas irmãs por compartilharem comigo os bons e maus momentos da minha vida.

Ao meu namorado por estar sempre ao meu lado me ajudando e compreendendo quando precisei estudar. E como também fez química estudando comigo muitas vezes.

À minha tia Marlene por me ajudar em casa em diversas atividades.

Ao meu orientador professor Antonio Carlos Pavão pela oportunidade de trabalhar com ele numa linha de pesquisa que muito me cativou.

Aos amigos do meu grupo de pesquisa, orientador Profesor Pavão: Marconi, Cristiano, Ribamar, Zé Carlos, Tibúrcio, Priscila e Guilherme.

Aos amigos do LQTC: Carol, Victor, Miguel, Juliana, Daniela, Flavinha, Ramon, Carlos Henrique “Charles”, Ênio, Renaldo “pequeno”, José Brito, Giam, Thiago Stefan, Gabriel, Diego e Eduardo Castro que muito contribuíram para realização deste trabalho.

Aos amigos do DQF: Humberto, Lívia Euzébio, Ana Paula (BSTR), Ana Rosa, Ana Cláudia, Jéssica, Ester, Rogério, Eduardo, Patrícia (BSTR),

Aos amigos pelos calorosos encontros na copa do DQF para tomar café, momentos maravilhosos.

À professora da Universidade Federal do Vale do São Francisco, Cheila Nataly Galindo Bedor por ter me ajudado com as análises de PCA.

Aos professores do DQF que contribuíram para minha formação, em especial aos professores Pavão, Arnaldo, Fernando, Paulo, Simone e Severino Junior.

Aos funcionários do DQF: Senhor Welligton o faz tudo do DQF, Patrícia e Maurílio secretários da pós-graduação, por nos ajudar na burocracia, Joana e Ana as bibliotecárias do CCEN, Marta e Elizabeth as funcionárias do setor financeiro e aos funcionários da limpeza por sempre manter em ordem nosso local de trabalho.

Ao órgão financiador da minha bolsa a FACEPE.

RESUMO

Neste trabalho verificamos o potencial carcinogênico de alguns agrotóxicos utilizados na agricultura. Para a previsão da carcinogenicidade foram realizados cálculos computacionais semi-empíricos RM1 de parâmetros eletrônicos como afinidade eletrônica (EA), energia de interação (ΔE_{H-L}), momento dipolo (μ), atração eletrostática (Δq) e calor de formação (ΔH_f). Utilizamos o modelo proposto por Pavão e Leão para descrever a interação carcinógeno-DNA. Seguindo a teoria da ressonância não sincronizada das ligações de valência (RVB) de L. Pauling, a ligação carcinógeno-DNA é descrita como resultado de uma reação de transferência de elétrons entre orbitais de fronteira das espécies envolvidas. Utilizando uma técnica multivariada, a Análise de Componentes Principais (ACP), foi possível correlacionar os parâmetros eletrônicos com o potencial carcinogênico.

Palavras chaves: cálculos semi-empírico; potencial carcinogênico; agrotóxicos.

ABSTRACT

In this work we have studied the carcinogenic potential of some agrototoxic used in agriculture. Semi-empirical calculations were performed to calculate the carcinogenicity electronic parameters as electron affinity (EA), interaction energy (ΔE_{H-L}), dipole moment (μ), electrostatic attraction (Δq) and heat of formation (Hf). We follow the model proposed by Pavão and Leão to describe the interaction carcinogen-DNA. Following the unsynchronized resonance valence bond theory (RVB) of L. Pauling, the carcinogen-DNA bond is described as an electron transfer between the frontier orbitals of the species involved. Using the multivariate technique, analysis Principal Components Analysis, it was possible to correlate the electronic parameters with the carcinogen potential.

Keywords: semi-empirical calculations; carcinogenic potential; agrototoxic.

SUMÁRIO

Resumo.....	II
Abstract.....	III
1. Introdução.....	1
1.1 Genética e a estrutura do DNA.....	1
1.2 Câncer.....	6
1.3 Carcinogênese Química.....	10
1.4 Agrotóxicos.....	14
1.5 Trabalhos químico quânticos computacionais no estudo do potencial carcinogênico	19
1.6 Objetivo e Justificativa.....	21
2. Metodologia.....	22
2.1 Modelo RVB.....	24
2.2 Modelo RVB de interação carcinógeno-DNA.....	26
2.3 Métodos Computacionais.....	29
2.4 Análise de Componentes Principais.....	34
2.5 Programas Computacionais.....	36
3. Resultados e discussões.....	37
4. Conclusões e perspectivas.....	59
Referências.....	61

1. Introdução

Iniciaremos este capítulo com uma discussão sobre a descoberta e o entendimento do sistema celular dos seres vivos que proporcionaram descobertas científicas de extrema importância para a compreensão sobre a hereditariedade dos seres vivos, bem como a origem das doenças causadas ou adquiridas pela humanidade (seção 1.1). Em seguida apresentamos uma discussão geral sobre o câncer (seção 1.2) e outra mais particular sobre a carcinogênese química (seção 1.3) e o papel dos agrotóxicos (seção 1.4). Por fim, apresentamos um levantamento sobre a utilização de modelos teóricos para explicar a reatividade química e potencial carcinogênico de diversas substâncias (seção 1.5) com o objetivo de avaliar o potencial carcinogênico de uma série de agrotóxicos comerciais utilizando métodos computacionais de química quântica (seção 1.6).

1.1 Genética e a estrutura do DNA

Em 1831 o botânico Robert Brown¹ (figura 1) descobriu o núcleo celular e em 1860 o monge Gregor Mendel² (figura 2) iniciou seus trabalhos sobre genética realizando experimentos de botânica. Com estas pesquisas ele propôs as leis da hereditariedade (“Leis de Mendel”) e em 1865 os seus trabalhos foram publicados³. Suas pesquisas sugeriram que as características hereditárias eram transmitidas em pequenas unidades de moléculas. Contudo, seus trabalhos foram ignorados durante 35 anos, mas depois foram reconhecidos como sendo a base para compreender a hereditariedade. Ao ser analisada a importância de suas pesquisas para a compreensão da genética, Mendel passou a ser considerado o pai da genética⁴.

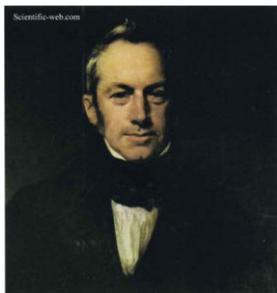


Figura 1: Robert Brown
1773 – 1858



Figura 2 Gregor Mendel
1822 – 1884

¹ Adaptada do site: <http://www.scientific-web.com/en/Biology/Biographies/RobertBrown01.html>, acessado em julho (2009).

² Adaptada do site: <http://cientistamendel1b.blogspot.com>, acessado em julho (2009).

³ Ricardo Ferreira; Bates, Darwin, Wallace e a Teoria da Evolução; 1ª Edição Editora Unb (1990).

⁴ Brian, J Ford, *The Microscope*; **40**, 235 (1992).

Em 1869 o bacteriologista Johann Friedrich Miescher (figura 3) ⁵ descobriu o ácido desoxirribonucléico (DNA) ao isolar uma substância com elevado teor de fósforo a partir de pus humano e do esperma do salmão. Inicialmente, Miescher deu o nome a esta substância de “nucleína” e posteriormente a nomeou de ácido desoxirribonucléico (DNA). Contudo, a estrutura molecular deste ácido era desconhecida⁶. Em 1927, o geneticista norte-americano, Hermann Joseph Muller (figura 4) ⁷ estudando o efeito da incidência de raios-X nas moscas das frutas (*Drosophila melanogaster*), descobriu que eles induziam mutações no material genético. Por esta descoberta e outras pesquisas sobre mutações genéticas, Muller ganhou o Nobel de medicina em 1946⁸.



Figura 3: Johann Friedrich Miescher
(1844 - 1895)



Figura 4: Hermann Joseph Muller
(1890 - 1967)

Em 1929 Phoebus Aaron Levene ao estudar a estrutura química dos ácidos nucleicos conseguiu identificar seus componentes básicos, as quatro bases nitrogenadas adenina e guanina (as purinas), citosina e timina (as pirimidinas) ⁹. Em 1938 William Astbury obtém a primeira ilustração gerada por um instrumento de difração de raios-X do DNA e sugere que esta molécula tem uma estrutura periódica regular⁶. Em 1944 o físico Erwin Shrödinger (figura 5) ¹⁰ escreveu um livro intitulado *What is life?* (O que é a vida?), onde sugere que as informações genéticas estariam armazenadas numa estrutura molecular estável¹¹.

⁵ Adaptada do artigo, R. Dahm, *Developmental Biology*, **278**, 274 (2005).

⁶ Lehninger, *Principles of Biochemistry*, 4ª edição, Editora Freeman.

⁷ Adaptada do site: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1946/muller-bio.html, acessado em julho (2009).

⁸ National academy of sciences; A Biographical Memoir of Herman Josep Muller by Elof Axel Carls (2009).

⁹ Charles H. Calisher, *Croat Med J*, **48**, 103 (2007).

¹⁰ Adaptada do site: http://nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1933/schrodinger-bio.html, acessado em julho (2009).

¹¹ Ricardo Ferreira, *Watson e Crick; A História da Descoberta da Estrutura do DNA*; 1ª Edição, Editora Odysseus, (2003).



Figura 5: Erwin Schrödinger
(1887-1961)

Em 1950 Linus Pauling e Robert Corey (figura 6)¹² identificaram a estrutura básica das proteínas (o modelo alfa-hélice). Dois anos depois, eles propõem uma estrutura para o DNA que se mostraria equivocada com três cadeias helicoidais entrelaçadas (o modelo da tripla hélice)⁹.

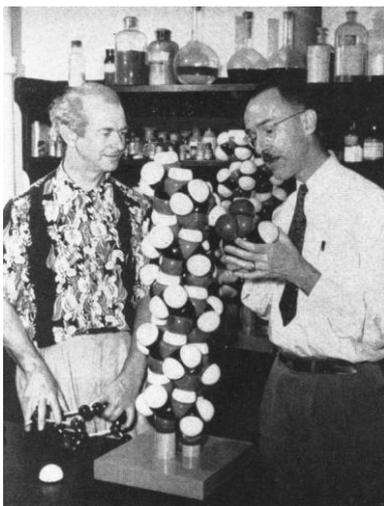


Figura 6: Linus Pauling (1901-1994) (à esquerda) e Robert Corey (1897 – 1971)

Em 1951 através de pesquisas com difração de raios-X realizadas por Rosalind Franklin e Maurice Wilkins (figura 7)¹³, foram descobertas informações que indicavam que a molécula de DNA poderia ter a estrutura geométrica semelhante a uma hélice gigante¹⁴.

¹² Adaptada do artigo: Eisenberg D, PNAS, **100**, 11207 (2003).

¹³ Adaptada do site: http://undsci.berkeley.edu/article/dna_checklist acessada em agosto (2009).

¹⁴ Rosalind, E.; Franklin, R. G. Gosling., *Nature*, **171**, 156 (1953).



Figura 7: Maurice Wilkins (1916-2004) e Rosalind Franklin (1920-1958)

Então em 1953 os pesquisadores James D. Watson, um biólogo, e Francis H. Crick, um físico (figura 8)¹⁵, propuseram uma estrutura molecular para representar o ácido desoxirribonucléico (DNA) através de uma dupla hélice¹⁶.



Figura 8: James D. Watson (1928-) (à esquerda) e Francis H. Crick (1916-2004)

James D. Watson e Francis H. Crick elucidaram os detalhes da estrutura do DNA utilizando a técnica de difração de raios – X. Por meio desta técnica eles demonstraram que a estrutura do DNA (figura 9)¹⁷ seria formada por duas cadeias de fosfato-desoxirribose da hélice, no exterior, unidas por duas bases nitrogenadas no interior. Na constituição do ácido nucléico observa-se que as bases nitrogenadas estão unidas por ligações de hidrogênio (figura 10)¹⁸.

¹⁵ Adaptada do site: <http://www.sciencemuseum.org.uk/broughttolife/people/franciscrick.aspx>, acessada em setembro (2010).

¹⁶ Lehninger, Principles of Biochemistry, 4ª edição, Editora freeman.

¹⁷ Adaptada do site: <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/101396/cell/37404/Genetic-organization-of-the-nucleus>, acessado em julho (2010).

¹⁸ Adaptada do artigo: Willian R. Rocha, *Química Nova na Escola*, 4, 31 (2001).

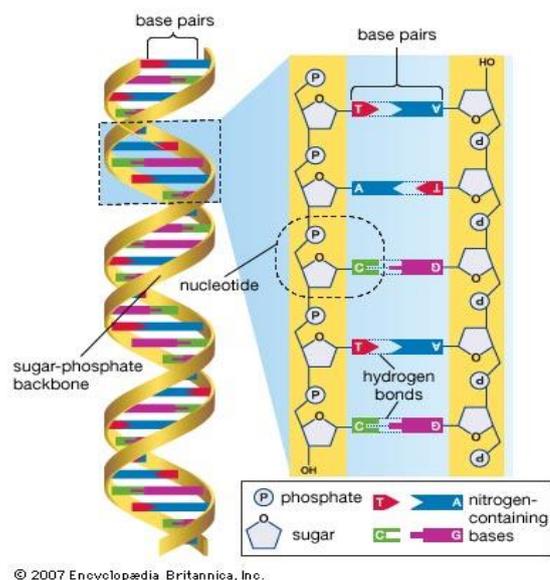


Figura 9: Estrutura do DNA proposta por James Watson e Francis Crick

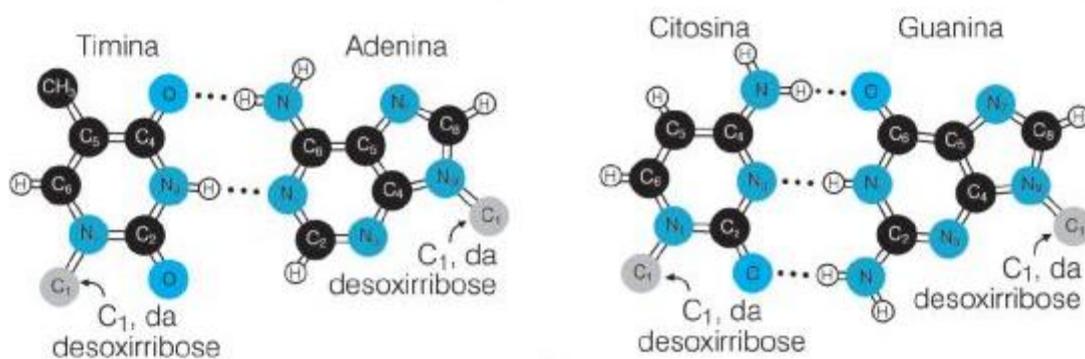


Figura 10: Estrutura da interação por ligações de hidrogênio entre as bases do DNA

A idéia de construir um modelo para o DNA foi inspirada no trabalho do Pauling, quando em 1950, provou que algumas proteínas teriam a forma de um espiral ou hélice e que esta estrutura helicoidal ou espiralada seria mantida por ligações de hidrogênio entre as sucessivas voltas da hélice¹⁹. Também foi inspirada nos trabalhos de difração de raios-X dos pesquisadores Rosalind Franklin e Maurice Wilkins.

Posteriormente, ficou evidente que toda a informação genética estava contida no DNA. Esta macromolécula, conhecida como ácido desoxirribonucléico, organiza as informações genéticas em pequenas unidades denominadas genes.

A genética define gene como a unidade fundamental da hereditariedade. Cada gene é formado por uma seqüência específica de ácidos nucléicos. Existem dois tipos de ácidos nucléicos: ácido desoxirribonucléico (DNA) e ácido ribonucléico (RNA).

¹⁹ Tom Hager, Linus Pauling And the Chemistry of Life, Oxford University Press (1998).

Sendo que cada gene é constituído por tripletos de bases do DNA, (Guanina, Adenina, Citosina e Timina)^{20,21}.

Modificações nestas seqüências de bases são as responsáveis pelo processo de mutação genética, que pode trazer como conseqüências, entre outras coisas, a ocorrência de neoplasias, já que os agentes mutagênicos têm a capacidade de atingir de forma específica a certa base do DNA pela formação de complexos denominados de adutos. Portanto, neste trabalho, o estudo sobre o câncer ficará bastante centrado no estudo de agentes mutagênicos capazes de realizar modificações em uma base específica do DNA, a guanina^{22,23}.

1.2 Câncer

A palavra *câncer* deriva do latim e significa *caranguejo*. Embora Hipócrates (figura 11)²⁴, médico e filósofo grego, tenha comprovado a existência da doença, sua compreensão estava muito longe de ser elucidada. As mais antigas descrições do câncer estão em sete papiros do Egito antigo. Em um deles, o chamado “papiro de Edwin Smith”, conta-se a realização de uma mastectomia²⁵. O “papiro de George Elbers” relata um tratamento à base de mel e ervas que não funcionou. Os papiros são datados de 1600 a.C, mas acredita-se que sejam cópias de documentos mais antigos, de 2500 a.C. Hipócrates (460-370 a.C), eternizado como o pai da medicina. Outros filósofos da Grécia antiga acreditavam que todas as doenças eram provocadas pelo desequilíbrio entre os quatro líquidos do corpo; as biles: vermelha, branca, amarela e negra²¹.

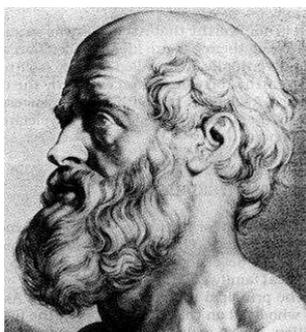


Figura 11: Hipocrates
(460 a.C -337 a.C)

²⁰ Fundamentos de toxicologia, Seizi Oga, Márcia Maria de Almeida Camargo, José Antonio de Oliveira Batistuzzo, 3.ed., São Paulo, Editora Atheneu, (2008).

²¹ Ricardo Ferreira, Watson e Crick; A História da Descoberta da Estrutura do DNA; 1ª Edição, Editora Odysseus, (2003).

²² Fundamentos de toxicologia, Seizi Oga, Márcia Maria de Almeida Camargo, José Antonio de Oliveira Batistuzzo, 3.ed., São Paulo, Editora Atheneu, (2008).

²³ Ricardo Ferreira, Watson e Crick; A História da Descoberta da Estrutura do DNA; 1ª Edição, Editora Odysseus, (2003).

²⁴ Adaptada do site: <http://www.editorial.com.br/medicinaeidade/hipocrates.jpg>, acessado em agosto (2010).

²⁵ The History of cancer, American Cancer Society, www.cancer.org, acessado em agosto (2010).

O câncer, segundo Hipócrates, seria causado pelo excesso de bile negra, uma substância produzida no baço e no estômago. Galeno (129-200 a.C), um dos mais influentes médicos do Império Romano, autor de cerca de 500 tratados, realizou inúmeras cirurgias para retirada de tumores. Somente no século XVII foi provada que afirmação de Hipócrates sobre a bile negra como responsável da formação do câncer era falsa^{26,27}.

O desenvolvimento de instrumentos cirúrgicos, das técnicas cirúrgicas, e a descoberta do microscópio auxiliaram bastante aos médicos a descobrir não somente as causas, mas também alguns mecanismos envolvidos na formação destes tumores. Ainda no século XVII o médico italiano Gaspare Aselli (1581-1626) ensinava que a principal causa do câncer estava relacionada com anormalidades nos vasos linfáticos²⁸.

Devido à contribuição da descoberta da radioatividade pela polonesa Marie Curie (figura 12)²⁹ e colaboradores, no final do século XIX foi idealizada a radioterapia, sendo esta o primeiro tratamento capaz de matar células cancerosas. Nesta época não havia sido descoberta nenhuma droga que combatesse a doença.



Figura 12: Marie Curie
(1867-1934)

Por volta de 1915, um experimento com ratos comprovou que o câncer poderia ser induzido por agentes químicos. Era a comprovação da teoria de Percival Pott, que ainda no século XVIII, havia observado que limpadores de chaminés da Inglaterra, em comparação a outras pessoas, tinham mais chances de adquirir câncer³⁰.

Em 1955, o Instituto Nacional do Câncer dos EUA deu início ao seu programa de pesquisa em busca de medicamentos capazes de combater o câncer. Desde então, mais de 500 mil diferentes substâncias foram testadas em animais. Em meados dos anos 60 foi descoberto que o tabaco seria um agente causador de câncer²².

²⁶ Tubino P, Alves E. *Medicina na Idade Moderna*, 2008.

²⁷ Viviane Matos Galvão, dissertação de mestrado, Um modelo para a neoplasia utilizando redes complexas (2006).

²⁸ Tubino P, Alves E. *Medicina na Idade Moderna*, 2008.

²⁹ http://nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1903/marie-curie-bio.html, acessado em agosto (2010).

³⁰ Lyria Mori, *Ciência Hoje*, 30, 33 (2002).

Em 1970, os oncogenes foram identificados como genes causadores de tumores malignos. Posteriormente, foram descobertos os genes supressores de tumores (genes com a capacidade de combater o câncer)²⁵. Desde 1990, a biologia molecular tem sido uma ferramenta de extrema importância para melhor entendimento desta doença³¹.

O Dia Nacional de Combate ao Câncer foi criado em 27 de novembro 1988³² para ampliar o conhecimento da população sobre o tratamento e, principalmente, sobre a prevenção da doença.

O câncer é definido como um conjunto de mais de cem doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células malignas que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se para outras regiões do corpo, processo este denominado de metástase (figura 13)³³.

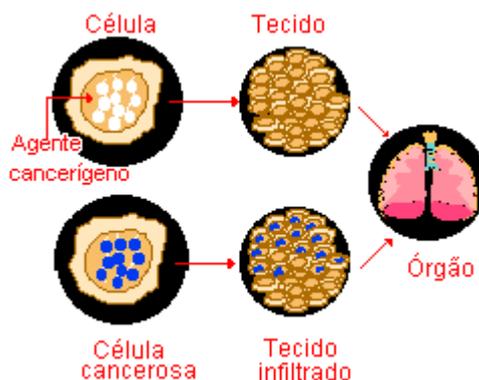


Figura 13: Desenvolvimento do câncer por meio da ação de células cancerígenas em tecidos e órgãos

Os diversos tipos de câncer estão associados aos diferentes tipos de células que compõem o corpo humano. As alterações genéticas que promovem o desenvolvimento de câncer ocorrem em duas classes de genes reguladores do crescimento, que estão presentes em células normais: os proto-oncogenes, que promovem o crescimento e os genes supressores de tumor, que inibem o crescimento celular. As alterações nos proto-oncogenes e nos genes supressores de tumor podem provocar desenvolvimento de células com crescimento descontrolado, sendo este o fator primordial para o desenvolvimento de neoplasias malignas³⁴.

³¹ Molecular Biology of human cancers an advanced students textbook, Wolfgang Arthur Schuz, Springer (2007).

³² Situação do câncer no Brasil, Radis Publicação em saúde-FIOCRUZ, N° 52 • Dezembro (2006).

³³ Adaptada do site <http://www.inca.org.br/cancer>, acessado em agosto (2009).

³⁴ Paula A. Oliveira; Aura Colaço; Raquel Chaves; Henrique Guedes Pinto; Luis F. De La Cruz P; Carlos Lopes, *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, **79**, 593 (2007).

Caso o câncer tenha iniciado em tecidos epiteliais como pele ou mucosas ele é denominado **carcinoma**. Se tiver início em tecidos conjuntivos como osso, músculo ou cartilagem é denominado de **sarcoma**. Outras características que diferenciam os diversos tipos de câncer entre si são a velocidade de multiplicação das células e a capacidade de invadir tecidos e órgãos vizinhos ou distantes²⁶. O câncer pode surgir de forma espontânea (genética) ou ser provocado pela ação de agentes carcinogênicos (químicos, físicos ou biológicos). Em ambos os casos, verifica-se a indução de alterações mutagênicas e não mutagênicas ou epigenéticas nas células. As mutações epigenéticas estão associadas às alterações reversíveis e herdáveis no genoma funcional, mas que não alteram a sequência de nucleotídeos do DNA³⁵. Nestas mutações é possível a ocorrência de alterações na cromatina e no DNA. Os efeitos mutagênicos relacionados às mutações epigenéticas incluem a metilação do DNA, a metilação de histonas, a reposição de nucleossomas, a remodelagem dos níveis de organização superiores da cromatina, o silenciamento de porções gênicas, além de estar associado à estabilidade genômica³⁶. Durante os processos de oncogênese, existe uma grande influência dos mecanismos epigenéticos, devido a estes serem capazes de realizar modificações nos genes durante a oncogênese. Existem suposições de que a mutação epigenética seja o mecanismo iniciador responsável pelo desenvolvimento inicial do câncer, visto que este processo é capaz de causar uma instabilidade no genoma, permitindo a ocorrência de outras mutações necessárias na formação de um tumor³⁷. As causas do câncer podem ser de origem externa ou interna ao organismo. As causas externas relacionam-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de um ambiente social e cultural. As causas internas são, na maioria das vezes, geneticamente pré-determinadas, estão ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas. Esses fatores causais podem interagir de várias formas, aumentando a probabilidade de transformações malignas nas células normais. A maioria dos casos de câncer está associada a fatores ambientais. Os fatores de risco ambientais de câncer são denominados agentes cancerígenos ou carcinógenos. Esses fatores atuam alterando a estrutura genética (DNA) das células. Entende-se por ambiente o meio em geral (água, terra e ar), o ambiente ocupacional (indústrias químicas e afins) o ambiente de consumo (alimentos, medicamentos) o ambiente social e cultural (estilo e hábitos de vida). Alguns dos fatores bem conhecidos são: o

³⁵ Manel Esteller, James G. Herman, *J Pathol*, **196**, 1 (2002).

³⁶ Manel Esteller, James G. Herman, *J Pathol*, **196**, 1 (2002).

³⁷ Andrew P. Feinberg, Mitsuo Oshimura, J. Carl Barrett, *Cancer Research*, **62**, 6784 (2002).

cigarro que pode provocar câncer de pulmão e a exposição excessiva ao sol que pode causar câncer de pele. O risco de adquirir câncer através da exposição a radiações depende da dose, da duração da exposição, do sexo, da idade em que se deu a exposição e de outros fatores como, por exemplo, a sensibilidade dos tecidos frente aos efeitos carcinogênicos da radiação³⁸.

De acordo com o relatório de 2009 descrito pelo INCA, as estimativas para o ano de 2010, que serão válidas também para o ano de 2011, apontam para a ocorrência de 489.270 casos novos de câncer em homens e mulheres para todo no Brasil. Destes em 2010, são esperados 236.240 casos novos para o sexo masculino e 253.030 para sexo feminino. Estima-se que o câncer de pele do tipo não melanoma (114 mil casos novos) será o mais incidente na população brasileira, seguido pelos tumores de próstata (52 mil), mama feminina (49 mil), cólon e reto (28 mil), pulmão (28 mil), estômago (21 mil) e colo do útero (18 mil)²⁹. E no estado de Pernambuco seria um total de 196.700 novos casos de câncer. E ainda segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) e o Centro Internacional de Pesquisas contra o Câncer (IARC), esta enfermidade deverá superar as doenças cardiovasculares como primeira causa de mortalidade no mundo em 2010. A OMS relata que no ano de 2030, o câncer poderá matar cerca de 17 milhões de pessoas, contra os 7,6 milhões de óbitos ocorridos no ano de 2007³⁹. Os tipos mais incidentes serão os cânceres de próstata e de pulmão no sexo masculino e os cânceres de mama e do colo do útero no sexo feminino.

1.3 Carcinogênese Química

A carcinogênese refere-se ao desenvolvimento de tumores malignos, estudada com base nos fatores e mecanismos a ela relacionados. O processo responsável pela formação das neoplasias malignas ocorre por meio de três etapas definidas: **Iniciação (1°), Promoção (2°) e Progressão (3° etapa)**⁴⁰. As etapas de desenvolvimento do câncer podem ser observadas na figura 14⁴¹.

³⁸ Nigel J. Gooderham; Paul L. Carmichael, *The Cancer Handbook*, 2ª Edição, Ed. John Wiley & Sons, (2007).

³⁹ Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro: INCA, (2009).

⁴⁰ Rodrigo Franco, Onard Schoneveld, Alexandros G. Georgakilas, Mihalis I. Panayiotidis, *Cancer Letters*, **266**, 6 (2008).

⁴¹ Figura 13 adaptada do artigo: Paula A. Oliveira; Aura Colaço; Raquel Chaves; Henrique Guedes Pinto; Luis F. De La Cruz P; Carlos Lopes, *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, **79**, 593 (2007).

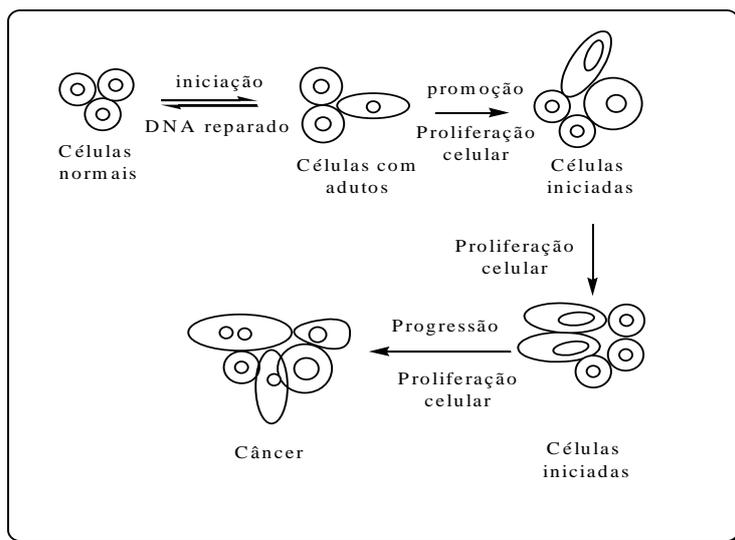


Figura 14: Etapas de desenvolvimento do câncer

Adaptada do artigo Rodrigo Franco et al, *Cancer Letters*, **266**, 6 (2008).

Na etapa de iniciação as células sofrem o efeito dos agentes cancerígenos ou carcinógenos que provocam modificações em alguns de seus genes. A célula apenas iniciada não origina um tumor. Na promoção as células são geneticamente alteradas, ou seja, “iniciadas”, sofrem o efeito dos agentes cancerígenos classificados como oncopromotores. A célula iniciada é transformada em célula maligna, de forma lenta e gradual. Na progressão ocorre a multiplicação descontrolada e irreversível das células alteradas. Neste estágio o câncer já está instalado, evoluindo até o surgimento das primeiras manifestações da doença. Estas etapas estão diretamente relacionadas com o acúmulo de mutações no DNA, em especial nos genes que promovem e mantêm o estado de diferenciação celular, os oncogenes, sendo estes genes também responsáveis pelo crescimento celular. Cada uma das etapas apresenta transformações morfológicas e bioquímicas, que trazem como conseqüências alterações genéticas e/ou epigenéticas. No grupo das alterações genéticas incluem-se mutações nos genes que controlam a proliferação celular, a morte celular e a reparação do DNA, isto é mutações nos proto-oncogenes e genes supressores de tumor^{30, 31}.

O processo de mutagênese e carcinogênese é complexo devido à grande quantidade de fatores que contribuem para realização dos mesmos, tais como: lesões do DNA, reparo do DNA, divisão celular, instabilidade clonal, apoptose e p53 (gene do ciclo celular que é alterado em metade dos tumores humanos)⁴². Doses elevadas de produtos químicos são responsáveis por inflamações nos tecidos, além de realizar a

⁴² Gomes Carneiro M. R.; Ribeiro Pinto, L. F.; Paumgartten, F. J. R, *Cad. Saúde Públ.*, Rio de Janeiro, **13**, 27 (1997).

ativação de glóbulos brancos levando desta forma a morte das células⁴³. A deficiência de dados epidemiológicos que correlacionem os resíduos de agrotóxicos a incidência de câncer, bem como as limitações dos bioensaios para estimar os riscos de câncer para os seres humanos são fatos que fazem dos testes computacionais uma ferramenta importante para obtenção do potencial carcinogênico de compostos químicos como os agrotóxicos⁴⁴.

A ingestão de substâncias químicas com potencial carcinogênico é um dos fatores responsáveis pela formação do tumor maligno, devido os agentes carcinogênicos serem capazes de realizar alterações no material genético celular (DNA), favorecendo a formação de células cancerígenas, ou seja, células neoplásicas malignas. O principal mecanismo de ação dos carcinógenos químicos é a formação de compostos covalentes com o DNA, favorecendo a ocorrência de erros durante a replicação⁴⁵. O potencial carcinogênico de um determinado composto químico para o homem é avaliado por meio de estudos experimentais e epidemiológicos. A IARC (International Agency for research on câncer) classifica os compostos químicos por grupos⁴⁶. No grupo (I) estão agrupados os que apresentam evidências de risco de câncer que incluem o homem. No grupo (II) compreende dois subgrupos. No primeiro subgrupo estão os compostos que apresentam provável risco de carcinogenicidade para o homem com evidências experimentais satisfatórias, enquanto que os compostos classificados no segundo subgrupo possuem evidências experimentais em animais de laboratório pouco satisfatórias. No grupo (III) estão agrupados os compostos que não podem ser classificados como carcinogênico ou não carcinogênico em função da ausência de informações ou pela invalidação dos testes realizados. E no último grupo o (IV) estão os não carcinogênicos ao homem, existindo evidências que sugerem a ausência de efeito em relação ao homem e animais de laboratório^{38,47}.

Carcinógenos químicos são substâncias químicas mutagênicas capazes de induzir alterações nas células somáticas tendo como conseqüências a formação de tumores malignos. Em 1966 James Miller e Elizabeth Miller foram os primeiros a estudar os mecanismos envolvidos durante a carcinogênese química⁴⁸. Estes

⁴³ Paula A. Oliveira; Aura Colaço; Raquel Chaves; Henrique Guedes Pinto; Luis F. De La Cruz P; Carlos Lopes, *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, **79**, 593 (2007).

⁴⁴ Gold, L.S., Slone, T.H., Ames, B.N., and Manley, N.B. Pesticide Residues in Food and Cancer Risk: A Critical Analysis. In: *Handbook of Pesticide Toxicology*, Second Edition (R. Krieger, ed.), San Diego, CA: Academic Press, pp. 799-843 (2001).

⁴⁵ Elizabeth K. Weisburger, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **18**, 395 (1978).

⁴⁶ www.iarc.fr/ acessado em outubro de 2009.

⁴⁷ Gary M. Williams, *Toxicology*, **166**, 3 (2001).

⁴⁸ Elizabeth C. Miller; James A. Miller, *Cancer*, **47**, 1055 (1981).

pesquisadores descobriram a importância da ativação metabólica na formação dos adutos covalentes envolvendo macromoléculas como ácidos nucleicos e proteínas. Elizabeth Miller e James Miller descobriram em suas pesquisas que toda substância química carcinogênica é um reagente eletrofílico ou será metabolizada em um, onde estes exercem efeitos biológicos por interações intramoleculares do tipo covalente com macromoléculas como DNA, RNA ou proteínas⁴⁹.

Ao atacar as células do corpo humano os carcinógenos químicos podem interagir com diversas macromoléculas (DNA, RNA e proteínas), mas o que justificaria a sua preferência pela guanina do DNA? Primeiramente porque a preferência pelo DNA e não outra macromolécula? A primeira explicação está no fato de que o DNA é uma macromolécula com diversos locais ricos em elétrons, o que a torna suscetível a ataques eletrofílicos. E qual a razão da guanina ser a base preferida? Pavão, Leão e Longo⁵⁰, realizaram cálculos dos orbitais moleculares para os 35 tautômeros das quatro bases de DNA com o propósito de verificar do ponto de vista energético qual das bases de DNA seria mais suscetível ao ataque de espécies químicas pobre em elétrons. Os cálculos obtidos por estes pesquisadores foram comparados com dados experimentais e como resultado deste trabalho obtiveram que dentre as bases do DNA a guanina seria a base mais suscetível ao ataque do carcinógeno químico, sendo o N7 ou o O6 os sítios de maior probabilidade de ocorrer o ataque do carcinógeno químico nesta base⁵¹.

Os carcinógenos químicos são classificados em diretos (carcinógenos) e indiretos (pré-carcinógeno), os diretos são aqueles que reagem diretamente com o material genético sem necessitar de qualquer tipo de reação enzimática, já os indiretos são aqueles que não reagem diretamente com o material genético, antes passando por um processo metabólico⁵². A maioria dos carcinógenos químicos sofre processo de metabolismo para então formar o chamado carcinógeno efetivo, este ao se ligar covalentemente ao DNA resultando nos adutos, denominado o produto responsável pela formação do câncer⁵³.

Existem diversos tipos de carcinógenos químicos: orgânicos, inorgânicos, até mesmo moléculas químicas com atividade biológica como os hormônios. Alguns dos compostos químicos que podem induzir a formação de câncer são: hidrocarbonetos

⁴⁹ Elizabeth C. Miller; James A. Miller, *Cancer*, **47**, 1055 (1981).

⁵⁰ M.C.B. Leão; R.L. Longo; A.C. Pavão, *J. Mol. Structure*, **490**, 145 (1999).

⁵¹ M.C.B. Leão; R.L. Longo; A.C. Pavão, *J. Mol. Structure*, **490**, 145 (1999).

⁵² M.C.B. Leão; A.C. Pavão, *J. Mol. Structure*, **593**, 297 (2001).

⁵³ Andreas Luch, *Nature Reviews*, **5**, 113 (2005).

poli-aromáticos (PAHs) tais como benzopireno, dibenzilantraceno, 3-metilcloantraceno e 7,12-dimetilbenzilantraceno, benzidina, etil carbamato, dimetilnitrosamina, 2-naftilamina, propilactona, 1-nitropireno, aflatoxinas, hidrazina, etenilestradiol^{54,55}, acrilamida e poliacrilamida. Estudos realizados pela FDA (Food and Drug Administration) também confirmam que uma variedade de agrotóxicos de uso comum, como DDE, TCDD, estragol, carbaril, dicofol, captana, folpete e clorotalonil, dimetilnitrosamina, apresentam riscos de incidência câncer em bioensaios realizado com roedores. Nosso trabalho será focado neste último grupo de carcinógenos.

1.4 Agrotóxicos

A utilização de compostos químicos no controle de pragas na agricultura data do período clássico de Grécia e Roma, contudo o registro mais antigo da utilização de agrotóxicos foi atribuído aos sumérios, que, em 2500 a.C., utilizavam enxofre para combater insetos. Posteriormente os romanos modificaram a fórmula com a adição de óleo ao enxofre, utilizando a mistura como repelente de insetos⁵⁶.

Por mais bizarro que pareça na idade Média, eram realizados julgamentos por tribunais eclesiásticos, para realizar a retirada de pragas e parasitas das plantações agrícolas. Documentos registram que ocorreram cerca de aproximadamente 90 julgamentos de pragas e animais entre os séculos (XII – XVII)⁵⁷. A estrutura de tais julgamentos era tal que permitia que aos acusados tivessem um representante para defendê-los. A estrutura de um julgamento pode ser observada na figura 15⁴⁸.

⁵⁴ Pelucchi et al, *Int. J. Cancer*, **118**, 467 (2006).

⁵⁵ James E. Klaunig†; *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 5984 (2008).

⁵⁶ Isabel Cristina Sales Fontes Jardim; Juliano de Almeida Andrade; Sonia Claudia do Nascimento de Queiroz, *Quim. Nova*, **32**, 996 (2009).

⁵⁷ Figura 14, adaptada do livro: Os Pesticidas, o homem e o meio ambiente, Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, Ed.UFV (2004).



Figura 15: O típico julgamento religioso de pragas durante a Idade Média

A utilização de agrotóxicos na agricultura teve início na década de 1920, época em que era pouco conhecido o efeito nocivo destes compostos sobre a saúde humana e ao meio ambiente. Durante a Segunda Guerra Mundial estes foram utilizados como armas químicas, tendo seu uso ampliado a partir de então⁴⁶. No Brasil, foram inicialmente utilizados em programas de saúde pública, no combate de doenças, passando a ser utilizados mais intensivamente na agricultura a partir da década de 1960. Em 1975, o Plano Nacional de Desenvolvimento (PND), responsável pela abertura do Brasil ao comércio de agrotóxicos, condiciona o agricultor a comprar o veneno com recursos do crédito rural, ao instituir a inclusão de uma cota definida de agrotóxico para cada financiamento requerido⁵².

O termo agrotóxico, ao invés de defensivo agrícola, passou a ser utilizado no Brasil a partir da Constituição Federal de 1988. Os agrotóxicos possuem ainda diversas denominações genéricas, como “pesticidas”, “praguicidas”, “remédios de planta” e “veneno”. De acordo com o Decreto Federal nº 4.074 de 04 de janeiro de 2002, os materiais agrotóxicos e afins são definidos como sendo 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 plantadas, e de outros ecossistemas e 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, bem como as

substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento⁵⁸.

O uso de agrotóxicos na agricultura pode trazer prejuízos para a saúde humana. As intoxicações resultantes da exposição aos agrotóxicos acarretam em danos a saúde humana que podem resultar entre uma leve intoxicação como levar a uma morte imediata. A utilização e manipulação inadequada de agrotóxicos durante a aplicação na agricultura ou doméstica no controle de fungos e parasitas têm sido alvo de preocupação no âmbito da saúde pública, pois a intoxicação por estes produtos químicos pode trazer conseqüências trágicas para o meio ambiente e para a saúde do homem⁵⁹.

Os agrotóxicos são potencialmente tóxicos ao homem, podendo causar efeitos adversos ao sistema nervoso central e periférico, ter ação mutagênica, imunodepressora e até mesmo teratogênica⁶⁰. Determinados agrotóxicos utilizados na agricultura possuem propriedades mutagênicas incluindo mutações, alterações cromossômicas e danos ao DNA^{61,62}.

A exposição de pessoas aos agrotóxicos pode ser atribuída ao consumo de alimentos da produção agropecuária, ao contato direto, no caso dos aplicadores rurais e/ou manipuladores, ou ainda ao contato indireto, como no caso das populações que estão sujeitas à aplicação de agrotóxicos para controle de pestes. A manipulação inadequada dos agrotóxicos por parte dos trabalhadores rurais é uma das principais causas de contaminação⁶³.

A Agência de Proteção ao Meio Ambiente dos Estados Unidos (EPA) realizando pesquisas sobre a toxicologia do endossulfan comprovou que este agrotóxico é bastante nocivo para a saúde humana, dos animais e do meio ambiente, e por este motivo solicitam a proibição de uso nos Estados Unidos. Em julho 2010, em uma reunião com alguns empresários do setor agrícola dos Estados Unidos, a EPA assinou um memorando favorável a proibição deste agrotóxico. Nesta reunião foi discutida a possibilidade da proibição voluntária, já que alguns dos empresários concordaram em

⁵⁸ Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos, Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância Sanitária; Departamento Técnico-Normativo; Divisão de Meio Ambiente e Ecologia Humana; Brasília Organização Pan-Americana da Saúde Representação no Brasil; (1997).

⁵⁹ Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); *Rev Saúde Pública* **40**, 361 (2006).

⁶⁰ Neal J.J., WU D. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **50**, 43 (1994).

⁶¹ Sérgio Marcos Sanches; Carlos Henrique Tomich de Paula da Silva; Sandro Xavier de Campos; Eny Maria Vieira, *Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente*, **13**, 53 (2003).

⁶² Fernanda V. Almeida; Alberto J. Centeno; Márcia Cristina Bisinoti; Wilson F. Jardim, *Quim. Nova*, **30**, 1976 (2007).

⁶³ Vigilância do Câncer relacionado ao trabalho e ao meio ambiente, Ministério da Saúde; Instituto Nacional do Câncer (INCA), Rio de Janeiro, (2006).

banir o uso do endosulfam na agricultura. De acordo com o memorando daqui a dois anos o endosulfam será banido de aproximadamente 30 tipos de culturas⁶⁴. O Endosulfam é um inseticida organoclorado que pode ser usado em culturas de: legumes, frutas, algodão e plantas ornamentais. Não é utilizado em residências⁵³.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) (1990) estima que ocorram no mundo cerca de três milhões de intoxicações agudas por agrotóxicos com 220 mil mortes por ano. Segundo a OMS, deve ocorrer a cada ano, cerca de 30 mil a 40 mil mortes devido a intoxicações por agrotóxicos^{65,66}.

O número de intoxicações por uso de agrotóxicos pode ser observado a partir de dados do Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas (SINITOX). No ano de 2002, foram notificados no Brasil 7.838 casos de intoxicação humana por agrotóxicos, respondendo por aproximadamente 10,4% de todos os casos de intoxicação notificados no país. Do total de intoxicações por agrotóxicos, 71% referiam-se a intoxicações por produtos de uso agrícola e 29% por produtos de uso doméstico⁶⁷.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA/MS), o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz do Ministério da Saúde (INCQS/FIOCRUZ/MS) e a Secretaria de Saúde do Paraná iniciaram em 2001 o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos (PARA) em alimentos. Este programa tem como objetivo realizar o rastreamento de substâncias que possuam a quantidade de resíduos nos alimentos fora do padrão proposto pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Os agrotóxicos são classificados, segundo classe, ingrediente ativo, grupo químico, classificação toxicológica, classificação ambiental e cultura indicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Essas informações são fornecidas pelo Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT) do Ministério da Agricultura e o Sistema de Informação sobre Agrotóxicos (SIA) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)⁶⁸.

O câncer é uma doença que, em geral, demora muito para ser observada. Ou seja, o tempo que procede entre a exposição ao agente cancerígeno e o início dos

⁶⁴ <http://www.epa.gov/pesticides/health/cancerfs.htm>, acessado em agosto (2010).

⁶⁵ <http://www.who.int/en/>, acessado em maio (2009).

⁶⁶ Manual de Vigilância da saúde de populações Sanitárias expostas a agrotóxicos (1997).

⁶⁷ www.fiocruz.br, acessado em agosto (2010).

⁶⁸ www.anvisa.gov.br/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária, acessado em novembro (2009).

sintomas clínicos costumam ser de anos. Por isso, estabelecer uma relação entre a exposição aos agrotóxicos com potencial carcinogênico e o desenvolvimento do câncer nem sempre é possível e, em muitos casos, a doença instalada pode simplesmente não estar relacionada ao agente causador no momento do diagnóstico⁶⁹. Além disso, o câncer caracteriza-se por ser de origem multifatorial, e os mecanismos que interferem na formação do câncer são muitos. Dentre estes fatores, a exposição aos agrotóxicos pode ser considerada como uma das condições associadas ao desenvolvimento da doença. A avaliação toxicológica tem como fim analisar as informações referentes à toxidez de uma substância ou composto químico para desta forma classificá-lo toxicologicamente, fornecer informações a respeito de suas aplicações, e medidas preventivas quanto ao uso inadequado^{70, 71}. A intoxicação esta relacionada com a manifestação (clínica\ou laboratorial) de efeitos adversos que se revelam num estado patológico ocasionados pela interação de um agente químico com o organismo⁷².

O consumo de agrotóxicos pela população é realizado por meio da ingestão dos resíduos destas substâncias contidos nos alimentos e/ou por meio do contato através da pele ao manusear tais substâncias no intuito de combater pragas, insetos ou parasitas. Os agrotóxicos podem ser absorvidos através das vias dérmica, gastrointestinal e respiratória, podendo ocasionar intoxicações do tipo aguda, subcrônica ou crônica⁷³. Na **intoxicação aguda**, os sintomas surgem rapidamente, após a exposição excessiva a curto período de tempo. A **intoxicação subcrônica** ocorre por exposição moderada ou pequena a produtos altamente tóxicos ou medianamente tóxicos. Os sintomas são subjetivos e vagos, tais como dor de cabeça, fraqueza, mal-estar, dor de estômago e sonolência, entre outros. E na **intoxicação crônica**, o surgimento dos sintomas é tardio, podendo levar meses ou anos, este tipo de intoxicação caracteriza-se por pequenas ou moderadas exposições a um ou a diversos produtos, podendo causar danos irreversíveis, como paralisias e neoplasias⁷⁴. A Lei de Agrotóxicos e Afins nº 7.802, de 11 de julho de 1989, estabelece que os agrotóxicos só possam ser utilizados no país se forem registrados em órgão federal competente, de acordo com as diretrizes

⁶⁹ Cheila Nataly Galindo Bedor, estudo do potencial carcinogênico dos agrotóxicos empregados na fruticultura e sua aplicação para a vigilância da saúde, tese de doutorado, Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães(FIOCRUZ),2008.

⁷⁰ Cheila Nataly Galindo Bedor, Lara Oliveira Ramos, Paulo José Pereira, Marco Antônio Vasconcelos Rego, Antonio Carlos Pavão, Lia Giraldo da Silva Augusto, *Rev. Bras Epidemiol.*,12,39 (2009).

⁷¹ Cheila Nataly Galindo Bedor, estudo do potencial carcinogênico dos agrotóxicos empregados na fruticultura e sua aplicação para a vigilância da saúde, tese de doutorado, Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães(FIOCRUZ),2008.

⁷² Toxicologia, Lourival Larini, Segunda edição, Ed.Manole LTDA (1995).

⁷³ www.oms.org/Organização Mundial de Saúde, acessado em abril (2009).

⁷⁴ www.anvisa.gov.br/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária, acessado em abril (2009).

e exigências dos órgãos responsáveis pelos setores da saúde, do meio ambiente e da agricultura. O Ministério da Saúde através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável, dentre outras competências, pela avaliação e classificação toxicológica de agrotóxicos, e junto com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, no âmbito de suas respectivas áreas de competência, pelo monitoramento dos resíduos de agrotóxicos e afins em produtos de origem vegetal⁶⁰.

1.5 Trabalhos químico quânticos computacionais no estudo do potencial carcinogênico

A utilização de modelos teóricos para explicar fenômenos químicos e biológicos, tais como reatividade química e potencial carcinogênico pelo uso de parâmetros eletrônicos e energéticos obtidos por cálculos teóricos computacionais já vem sendo utilizado há bastante tempo^{75,76,77,78,79}. Dentre estes modelos destacamos os trabalhos de Pavão, Leão, Soares Neto e Ferreira Neto, que inicialmente realizaram cálculos computacionais a nível semi-empírico das propriedades eletrônicas e estruturais das aflatoxinas do tipo B e G, no intuito de determinar o potencial carcinogênico destas espécies⁸⁰. Posteriormente, Leão, Pavão, Espinoza, Taft e Bulnes realizaram cálculos químicos quânticos computacionais para obtenção dos parâmetros eletrônicos de diversos compostos químicos⁸¹. Neste trabalho os pesquisadores utilizaram a análise de componentes de principais (ACP) e o modelo de interação carcinógeno-DNA proposto por Leão e Pavão, como ferramentas para identificar o potencial carcinogênico das várias substâncias químicas investigadas neste trabalho.

No trabalho intitulado “Study of carcinogenic potential of pesticides used in fruit production by a quantic chemical model, apresentado por BEDOR no IX Congresso Brasileiro de mutagênese, carcinogênese e teratogênese ambiental e publicado nos Anais do IX Congresso Brasileiro da SBMCTA 2009, a pesquisadora utilizou o modelo químico quântico desenvolvido por Pavão e Leão, o mesmo que utilizo em minha pesquisa para avaliar o potencial carcinogênico de produtos químicos utilizados na agricultura.

⁷⁵ J. G. Heathcote, J. R. Hibbert, Br. J. Cancer, **29**,470 (1974).

⁷⁶ Michael B. Sullivan; Christopher J. Cramer, J. Am. Chem. Soc., **122**,5588 (2000).

⁷⁷ Urban Bren, F. Peter Guengerich, Janez Mavri, Chem. Res. Toxicol., **20**,1134 (2007).

⁷⁸ Kaufman JJ, Hariharan PC, Koski WS, Balasubramanian K, Prog Clin Biol Res. **172A**, 263 (1985).

⁷⁹ Gabriela L. Borosky, J. Org. Chem., **64**, 7738 (1999).

⁸⁰ A.C. Pavão; M.B.C. Leão; L.A. Soares Neto; J. Ferreira, J. Mol. Structure, **337**,57 (1995).

⁸¹ M.B.C. Leão; A.C. Pavão; V.A.A. Espinoza; C.A. Taft; E.P. Bulnes, J. Mol. Structure, **719**, 129 (2005).

Existem, porém outros trabalhos importantes que também utilizaremos no presente estudo. Há cinquenta anos Hammet já sugeria uma correlação entre a resposta biológica e parâmetros eletrônicos⁷⁷. Yang e colaboradores estudaram o mecanismo de formação de carcinógenos adutos de amins heterocíclicas e arilaminas ao formarem seus respectivos íons e atacarem o C8 da guanina⁸². Ford também abordou a carcinogênese química através da análise de parâmetros eletrônicos e energéticos obtidos por meio de cálculos semi-empíricos⁸³. Galesa e colaboradores realizaram um estudo do potencial carcinogênico da acrilamida através de cálculos químicos computacionais⁸⁴. Neste trabalho estes pesquisadores obtiveram as propriedades termodinâmicas e eletrônicas da acrilamida realizando cálculos químicos computacionais com a inclusão do efeito solvente. Eles ainda propuseram um mecanismo de reação entre o carcinógeno efetivo da acrilamida com a guanina, sugerindo que o sítio ativo onde ocorreria a ligação acrilamida-guanina seria no N7 da guanina⁶⁵. Kržana e Mavri estudaram a carcinogenicidade e a reatividade química do 7,8-óxido estireno com o DNA através da análise de parâmetros termodinâmicos e eletrônicos obtidos pelos métodos computacionais Hartree-Fock (HF) e pela teoria do funcional de densidade (DFT)⁸⁵. Picazo e Salcedo estudaram a possibilidade de compostos de estronas, um hormônio feminino e seus derivados apresentarem propriedades carcinogênicas avaliando dados eletrônicos obtidos por cálculos teóricos computacionais⁸⁶. P. K. Shukla e P. C. Mishra realizaram um estudo químico-quântico descrevendo as reações envolvidas, bem como os estados de transição da interação das bases de DNA guanina e adenina com o gás mostarda, um poderoso agente mutagênico e carcinogênico⁸⁷. Cálculos *ab initio* e semi-empírico foram realizados para obtenção do potencial de ionização vertical e adiabático para 22 radicais hidroxilas de bases purinas e pirimidinas e a interação de um grupo químico carcinogênico o metilmetoxi com as bases purinas e pirimidinas⁸⁸. Pavel N. e colaboradores realizaram um estudo químico quântico computacional com a finalidade de avaliar o potencial carcinogênico de benzenos e derivados⁸⁹. Todos estes estudos

⁸² Zhong-Zhi Yang; Shi-Fei Qi; Dong-Xia Zhao; Li-Dong Gong, *J. Phys. Chem. B*, **113**, 254 (2009).

⁸³ George P. Ford, *J. Mol. Structure*, **401**, 253 (1997).

⁸⁴ Katja Galesa; Urban Bren; Agata Kranj; Janez Mavri, *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 8720 (2008).

⁸⁵ Mojca Kržana e Janez Mavri, *Croat. Chem. Acta*, **82**, 317 (2009).

⁸⁶ Alejandra Picazo; Roberto Salcedo, *J. Mol. Structure*, **624**, 29 (2003).

⁸⁷ P. K. Shukla e P. C. Mishra, *Theor Chem Acc*, **125**, 269 (2010).

⁸⁸ Piotr Cysewski, *J. Mol. Structure*, **863**, 16 (2008).

⁸⁹ Pavel N. D'Yachkov; Nina V. Kharchevnikova; Zoya I. Zholdakova; Nathalia Fjodorova; Mariana Novich; Marian Vrachko, *International Journal of Quantum Chemistry*, **110**, 1402 (2010).

reforçam nossa proposta de que a carcinogenicidade de compostos químicos pode ser analisada através da caracterização de parâmetros eletrônicos.

1.5 Objetivo deste trabalho

Avaliar o potencial carcinogênico de ingredientes ativos de agrotóxicos comerciais através da análise dos parâmetros eletrônicos obtidos por cálculos computacionais. Para caracterizar a carcinogenicidade, utilizamos o modelo desenvolvido por Pavão e Leão⁹⁰, que descreve a interação carcinógeno-DNA através da teoria da ressonância não sincronizada das ligações covalentes (RVB) e da teoria dos orbitais moleculares de fronteira. Ao aplicar este modelo em nossa pesquisa demonstramos que de fato a interação carcinógeno-DNA ocorre por meio de uma reação de transferência de elétrons.

1.5.1 Justificativa

Os trabalhos com consistência química e teórica de pesquisadores renomados sobre o tema desta dissertação foram uma das nossas grandes motivações para realização deste estudo. Os estudos publicados demonstraram que a utilização dos parâmetros eletrônicos e energéticos obtidos por meio de cálculos químicos computacionais para avaliar o potencial carcinogênico de substâncias químicas apresenta coerência. A opção de estudar o potencial carcinogênico dos agrotóxicos se deve ao fato de serem substâncias que fazem parte de nossa alimentação diária e do cotidiano ao realizar o controle de pragas e pestes em nossos domicílios através do uso de “venenos” agrícolas, como por exemplo, raticidas, inseticidas, herbicidas, etc.

A escolha da metodologia aplicada nesta pesquisa foi devida ao fato dos cálculos não necessitarem de uma estrutura computacional robusta e reproduzirem de maneira satisfatória os parâmetros eletrônicos investigados nesta pesquisa. Os objetos de análise foram os ingredientes ativos de alguns agrotóxicos, que apresentam estruturas moleculares bastante diferentes. Por isso, o fator estrutural não pode ser utilizado para avaliar seu comportamento toxicológico. Isto justifica nosso estudo baseado na análise de parâmetros eletrônicos destas espécies.

⁹⁰ M.B.C. Leão, R.L. Longo, A.C. Pavão, *J. Mol. Structure*, **490**, 145 (1999).

2. Metodologia

No início deste capítulo faremos uma breve abordagem sobre os agrotóxicos investigados neste trabalho. Prosseguiremos com uma discussão sobre a teoria da ressonância não sincronizada das ligações de valência (RVB), proposta por Linus Pauling, e suas aplicações (seção 2.2). Prosseguimos explicando como a RVB é utilizada para descrever o modelo de interação carcinógeno-DNA (seção 2.3). Na próxima seção descrevemos o método computacional utilizado para a realização dos cálculos desta pesquisa. Apresentamos alternativas para a resolução da equação de Schrödinger independente do tempo para sistemas multieletrônicos fazendo uso de métodos aproximados. Descrevemos de maneira sucinta a aproximação Hartree-Fock-Roothaan empregada nos cálculos computacionais, para então discorrer sobre a análise estatística utilizada na análise das propriedades eletrônicas obtidas por cálculos computacionais (seção 2.5). Finalizaremos este capítulo com uma descrição resumida dos programas utilizados nesta dissertação (seção 2.6).

2.1 Os Agrotóxicos investigados

Os agrotóxicos investigados nesta pesquisa foram classificados, segundo a classe, o ingrediente ativo, o grupo químico e a classificação toxicológica. Estas informações foram obtidas mediante consulta ao Sistema de Informação sobre Agrotóxicos (SIA) da ANVISA⁹¹. Dentre as classes existentes de agrotóxicos, estudamos alguns compostos das classes dos inseticidas, fungicidas e herbicidas.

De cada classe foi estudada uma variedade de grupos químicos. Neste trabalho foi avaliado um total de 37 ingredientes ativos. (Sendo representados por 11 inseticidas, 13 herbicidas e 13 fungicidas). Não foi utilizado nenhum padrão com relação à escolha aos princípios ativos dos agrotóxicos investigados, sobretudo sobre as classes sim, as classes foram escolhidas devido ao fato de serem as mais utilizadas na agricultura, segundo dados estatísticos do Instituto de Economia Agrícola (IEA), vendas de defensivos agrícolas, de São Paulo⁹².

⁹¹ www.anvisa.gov.br, acessado em novembro de 2009.

⁹² WWW.iea.sp.gov.br, acessado em março de 2010.

Inseticidas (Grupos Químicos: organofosforado, metilcarbamato de fenila, neonicotinoide, piridina azometrina, piretróide e neonicotinóide). Os inseticidas são: clopirifos, etiona, fenclorfós, fosmete, iodofenfos, metamidofos, fluvalinato, imidacloprido, metiocarbe, pimetozina e tiametoxam.

Herbicidas (Grupos Químicos: cloroacetanilida, éter difenílico, triazina, ácido benzenodioxibenzóico, uréia, ácido piridiniloxianoico, triazinona, alcanamida e anilida. Os herbicidas são: acetocloro, aclonifem, amicarbazona, cianazina, clortal dimetílico, diuron, fluroxipir, hexazinona, metamitrona, napropamida, propanil, tebutiuram e oxifluorfem.

Fungicidas (Grupos Químicos: anilida triazol, triazinilnilina, dicarboximida, amida, anilinopirimidina, cloroaromático, isoftlonitrila, ftalida e quinoxalina). Os fungicidas são: anilazina, bitertenaol, boscalida, captana, carbendazim, ciproconazol, diclorana, clorotalonil, folpete, ftalida, quinometionato, bromocunazol e quintozeno.

A classificação toxicológica e ambiental dos agrotóxicos estudados nesta pesquisa segundo dados da ANVISA estão discriminados no gráfico 1.

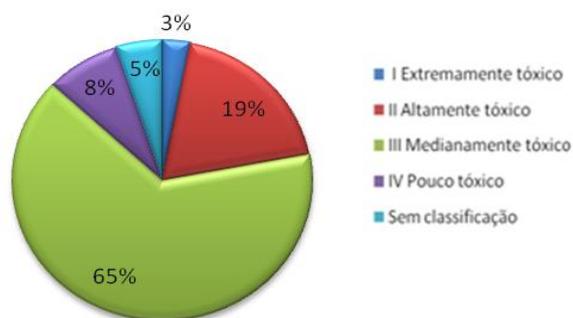


Gráfico 1: Classificação dos agrotóxicos segundo toxicidade humana.

Foram realizados cálculos para os compostos acima relacionados, bem como também para substâncias com propriedades carcinogênicas (tetracloreto de carbono, benzopireno, dibenzilantraceno, bis(2-cloroetil)sulfeto “gás mostarda”, cloroetano e dimetilnitrosamina) não carcinogênicas (água e etanol) e protetoras (vitamina C e ácido acetil salicílico “AAS”) já conhecidas. Também foram realizados cálculos computacionais das propriedades eletrônicas das aflatoxinas (B1, B2, M1, M2, G1, G2, B1 epóxido e B1 adut) compostos naturais com propriedades carcinogênicas já comprovadas, o trans resveratrol e mais duas estruturas geométricas distintas do fenolato trans resveratrol, compostos identificados na literatura como protetores.

Os controles, e as aflatoxinas, bem como o resveratrol e análogos, ou seja, substâncias com propriedades já definidas pela literatura têm a função de servir como padrões para identificar o potencial carcinogênico dos agrotóxicos investigados. As propriedades eletrônicas calculadas e analisadas para cada classe de agrotóxicos foram: afinidade eletrônica (adiabática) do carcinógeno (EA), permeabilidade da membrana celular (considerando apenas o momento dipolo do carcinógeno, μ), o calor de formação do carcinógeno (ΔH_f), a energia de interação carcinógeno-DNA (ΔE_{H-L}) e a atração eletrostática (Δq).

2.2 Modelo RVB

Nesta seção apresentamos os conceitos relacionados à teoria da ressonância não sincronizada da ligação covalente (RVB), desenvolvida por Linus Pauling. Para descrever sua teoria, Pauling (figura 16)⁹³ utilizou argumentos empíricos⁹⁴ e um simples tratamento estatístico⁹⁵. Mas ele também mostrou que a RVB pode ser comprovada através de cálculos ab initio⁹⁶. Pauling dedicou uma atenção especial ao estudo das propriedades elétricas e térmicas dos metais. Estudava com grande interesse e entusiasmo a natureza das forças interatômicas nestes materiais.

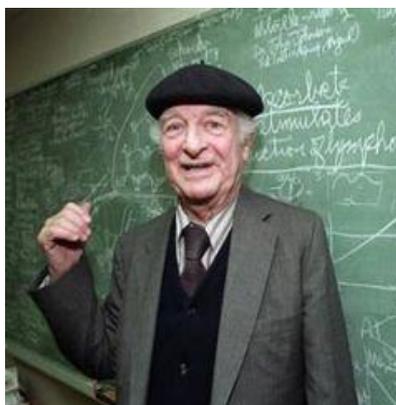


Figura 16: Linus Pauling
1901-1994

Em 1938, ao analisar a estrutura eletrônica de metais e compostos intermetálicos, Pauling percebeu que dos orbitais da camada de valência que constituíam os metais, cerca de aproximadamente 0,72 da combinação linear dos nove

⁹³ Adaptada do site: http://documentaryspeakers.com/Science_Chemistry_Study.html, acessada em agosto (2010).

⁹⁴ Linus Pauling, *Pure & App. Chem.*, **61**, 2171 (1989).

⁹⁵ Linus Pauling, *J. of Solid State Chemistry*, **54**, 297 (1984).

⁹⁶ Linus Pauling, *Physic XV*, **1**, 23 (1949).

orbitais s, p e d de cada átomo de metal de transição permaneciam desocupados por elétrons ligantes, elétrons ferromagnéticos desemparelhados ou por pares de elétrons não compartilhados⁹⁷. Ao prosseguir com suas pesquisas, dez anos mais tarde, em 1948, Pauling descobre que estes 0,72 orbitais desocupados eram responsáveis pela ressonância não sincronizada das ligações covalentes. Ao aplicar um campo elétrico num metal se observa o movimento dos elétrons que formam as ligações neste composto e que este movimento é realizado em direções apropriadas, de átomo para átomo, através de uma sucessão de deslocamentos de ligações simples, onde a carga negativa segue em direção ao ânodo e a positiva em direção ao cátodo (figura 16)⁹⁸. Portanto com esta teoria é possível explicar a capacidade dos metais em conduzir corrente elétrica, pois desta forma observamos o processo de separação de cargas nos metais, conforme visto na figura 17⁸⁰.

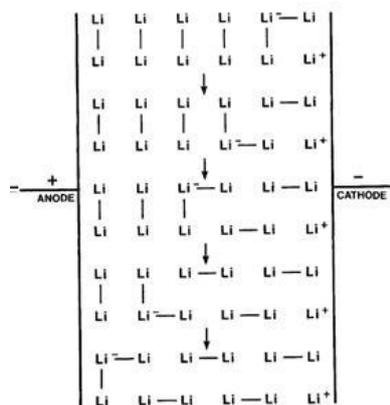


Figura 17: Diagrama ilustrando a separação de cargas no metal estando o mesmo sob influencia de um campo eletromagnético

Segundo Pauling, a RVB é limitada pelo princípio da eletroneutralidade, que permite formar ligações somente em número de $v-1$, v ou $v+1$, sendo v a valência metálica⁹⁹ que obedece a formação de cargas do tipo M^+ , M^0 e M^- para cada átomo. Ao realizar cálculos estatísticos, Pauling obteve a quantidade de estruturas formadas pelas ressonâncias sincronizada e não-sincronizada, observando que as estruturas formadas pelas ressonâncias não-sincronizadas eram maiores em proporção, o que define uma menor energia para o sistema e desta forma sua maior estabilidade¹⁰⁰. Pauling descreve que a ligação metálica é semelhante a uma ligação covalente comum. De acordo com ele alguns dos elétrons de cada átomo de um metal interagem com os

⁹⁷ Linus Pauling, *J. of Solid State Chemistry*, **54**, 297 (1984).

⁹⁸ Linus Pauling, *Physica XV*, **1**, 23 (1949).

⁹⁹ Linus Pauling, *Pure & App. Chem.*, **61**, 2171 (1989).

¹⁰⁰ Linus Pauling, *J. of Solid State Chemistry*, **54**, 297 (1984).

elétrons pertencentes a átomos vizinhos semelhantemente à formação de uma ligação covalente. As ligações provenientes da interação desses elétrons pulam (ressoam) entre posições disponíveis¹⁰¹. Pauling ainda sugere métodos de mecânica quântica apropriados para descrever a estrutura eletrônica de metais e compostos intermetálicos: o método do orbital molecular e o método valence bond (VB)¹⁰². De fato, Pavão e colaboradores têm usado a RVB associada a cálculos de orbitais moleculares para explicar com sucesso fenômenos variados como carcinogênese química, condutividade elétrica, supercondutividade, fotocondutividade, magnetismo, cinética química, reações de absorção, dissociação de moléculas e reações químicas em geral utilizando a teoria da RVB¹⁰³.

2.3 Modelo RVB de interação carcinógeno-DNA

Para explicar a interação entre o carcinógeno e o DNA utilizamos o modelo proposto pelo nosso próprio grupo de pesquisa, que combina os princípios da Teoria do Orbital Molecular de Fronteira (FMO) e da RVB associados com cálculos de orbitais moleculares. A formação da ligação entre o composto químico e o DNA é tratada como sendo uma reação de transferência de elétrons ocorrendo entre orbitais de fronteira. Desta maneira o orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO) do DNA fornece elétrons ao orbital molecular desocupado de mais baixa energia (LUMO) do carcinógeno (figura 18)¹⁰⁴.

¹⁰¹ Linus Pauling, *Journal of Solid State Chemistry* **54**, 297 (1984).

¹⁰² Linus Pauling, *Physic XV*, **1-2**, 23 (1949).

¹⁰³ Antonio C. Pavão; Carlton A. Taft; Tereza C. F. Guimarães; Marcelo B. C. Leão; José R. Mohallem; William A. Lester, Jr., *J. Phys. Chem. A*, **105**, 5 (2001).

¹⁰⁴ Adaptada do artigo: M.C.B.Leão; R.L. Longo; A.C.Pavão, *J.Mol.Structure*, **490**, 145 (1999).

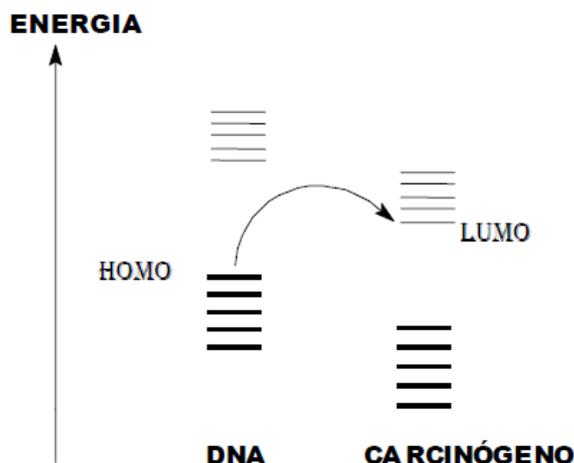


Figura 18: Transferência de elétron do DNA para o carcinógeno por meio dos orbitais atômicos de fronteira.
Fonte: Pavão e Leão (2005)

A transferência de elétrons ocorre de algum centro nucleofílico do DNA, no caso nos referimos à guanina, para o carcinógeno, um eletrófilo. Quanto maior o valor da energia do HOMO mais facilmente o elétron será doado. Por outro lado a energia do LUMO expressa à tendência da molécula em receber elétrons. Logo quanto menor o seu valor mais facilmente a molécula tende a receber elétrons.

A RVB explica a transferência de elétrons através do deslocamento, ou seja, a mudança de posição das ligações covalentes no material, as ligações covalentes elas “pivotam”. Portanto, neste modelo a interação é racionalizada em termos da formação de uma ligação covalente entre o carcinógeno e o DNA (figura19) ¹⁰⁵.

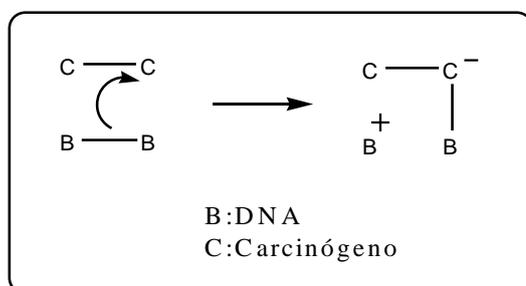


Figura 19: Transferência de elétron e formação da ligação covalente entre o carcinógeno e o DNA

¹⁰⁵ J.R. Mohallem; R.O. Vianna; A.D. Quintão; A.C. Pavão; R. McWeeny, *Z. Phys. D*, **42**, 135 (1997).

Para que ocorra a transferência de elétron é necessário que a espécie que vai receber o elétron possua um orbital vazio para receber este elétron. É o que denominamos de orbital metálico. Sua função é receber o elétron para que ocorra a formação da nova ligação química. Este modelo, proposto por Antonio Carlos Pavão (figura 20) e Marcelo Brito Carneiro Leão (figura 21), já foi testado com sucesso para diversos compostos¹⁰⁶.

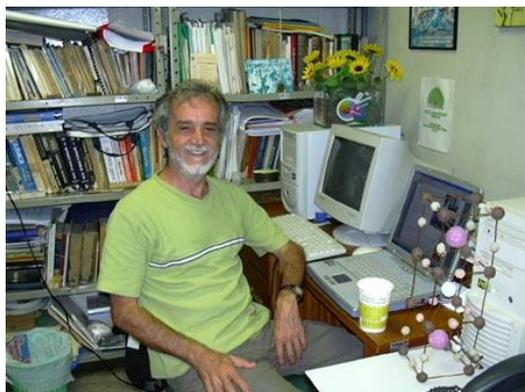


Figura 20: Antonio Carlos Pavão



Figura 21: Marcelo Brito Carneiro Leão

2.4 Métodos Computacionais

As propriedades eletrônicas dos compostos investigados nesta pesquisa, foram calculadas através do método Hartree-Fock implementado no programa MOPAC2009^{107,108}. A otimização das geometrias foi realizada utilizando o hamiltoniano AM1 (*Austin Model 1*) e RM1 (*Recife Model 1*) para os sistemas padrões e somente o RM1 (*Recife Model 1*) para os compostos investigados na pesquisa. Os cálculos para todos os sistemas moleculares estudados foram realizados em uma máquina Windows, processador Pentium T3400, memória 2G com HD sata de 160G.

¹⁰⁶ M.C.B.Leão; R.L. Longo; A.C.Pavão, *J.Mol.Structure*, **490**, 145 (1999).

¹⁰⁷ www.cacheresearch.com/brochures/MOPACbrochures.pdf.

¹⁰⁸ J.J.P. Stewart, MOPAC 93.00 Manual, Fujitsu Limited, Tokyo, Japan, 1993.

2.4.1 Método Hartree-Fock

Os métodos de química quântica têm como objetivo obter as propriedades moleculares através da resolução da equação de Schrödinger independente do tempo:

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

Onde \hat{H} é o operador hamiltoniano, ψ é a função de onda e E é o autovalor da energia total do sistema em estudo.

O operador hamiltoniano é formado pelos operadores de energia cinética dos núcleos (T_N), energia cinética dos elétrons (T_E), energia potencial de atração elétron-núcleo (V_{EN}), energia potencial de repulsão elétron-elétron (V_{EE}) e energia potencial de repulsão núcleo-núcleo (V_{NN})¹⁰⁹.

$$\hat{H} = T_n + T_e + V_{en} + V_{ee} + V_{nn} \quad (2)$$

Para sistemas com muitos elétrons não é possível obter a solução da equação de Schrödinger sem a utilização de métodos de aproximação. A primeira a ser considerada é a de Born-Oppenheimer que trata separadamente a energia cinética dos núcleos da energia cinética dos elétrons. Como resultado a equação de Schrödinger fica dividida em duas partes, uma eletrônica e outra nuclear. Desta maneira o hamiltoniano será descrito assim:

$$\bar{H} = \hat{H}_{(núcleos)} + \hat{H}_{(elétrons)} \quad (3)$$

Mesmo com esta aproximação só é possível encontrar solução exata para equação de Schrödinger para sistemas monoelétrônicos. Para sistemas multieletrônicos as interações elétron-elétron não tornavam possível a resolução da equação. Porém, os pesquisadores Douglas Rayner Hartree¹¹⁰(figura 22A)¹¹¹, em 1930, e Vladimir

¹⁰⁹ Química: Um curso Universitário, Bruce M. Mahan, Rolie J. Myers, Ed. Edgarda Blücher LTDA, 4ª edição (1995).

¹¹⁰ <http://www-history.mcs.stand.ac.uk/Thumbnails/Hartree.jpg>, acessado em julho de 2010.

¹¹¹ Figura 21 A, adaptada do site: <http://www.mathsoc.spb.ru/pantheon/>, e Figura 21 B, adaptada do site: http://www.reunion.iufm.fr/dep/mathematiques/calculsavant/Textes/planimetres_angleterre.html, acessados em julho de 2010.

Aleksandrovich Fock (figura 22B)¹¹² em 1931, propuseram um modelo matemático utilizado para representar a estrutura eletrônica de sistemas multieletrônicos e por aproximação tornar possível a resolução da equação de Schrödinger para tais sistemas.



Figura 22 A: Douglas Rayner Hartree
1897 - 1958



Figura 22 B : Vladimir Aleksandrovich Fock
1898 - 1974

O objetivo do método Hartree-Fock é solucionar de forma aproximada a equação de Schrödinger utilizando um determinante de Slater. As equações propostas pelo método de Hartree-Fock fazem uso do método matemático variacional e baseiam-se no modelo das partículas independentes¹¹³. O maior desafio era o de selecionar quais seriam as funções matemáticas adequadas para representar os orbitais de Hartree-Fock⁹⁸. Então o pesquisador J. J. Roothaan sugeriu que cada orbital, atômico ou molecular poderia ser descrito como uma combinação linear de um conjunto de funções de base obtidas através do procedimento do campo autoconsistente (HF-SCF-LCAO-MO), o que levou ao chamado método de Hartree-Fock-Roothaan. A combinação linear de orbitais atômicos

$$\phi_i = \sum_{k=1}^m c_{ik} \chi_k$$

representa os orbitais moleculares como misturas de m funções de base χ_k . Os coeficientes C_{ik} são determinados através da desigualdade:

¹¹²Figura 21 A, adaptada do site: <http://www.mathsoc.spb.ru/pantheon/>, e Figura 21 B, adaptada do site: http://www.reunion.iufm.fr/dep/mathematiques/calculsavant/Textes/planimetres_angleterre.html, acessados em julho de 2010 .

¹¹³Rogério Custódio e colaboradores; www.chemkeys.com; material didático.

$$\frac{\langle \psi | H \psi \rangle}{\langle \psi | \psi \rangle} \geq E_0$$

onde E_0 é a energia do estado fundamental. A aplicação do princípio variacional implica em escrever a função ψ_i como uma expansão de um conjunto de funções com coeficientes otimizados para minimizar o lado esquerdo da equação. Para isso se resolve a equação secular:

$$|H - \epsilon S| = 0$$

onde S é a matriz de recobrimento.

2.4.2 Métodos semi-empíricos

Os métodos de cálculos semi-empíricos têm por objetivo solucionar, de forma autoconsistente e aproximada, as equações de Hartree-Fock-Roothaan. Para isto são utilizados ajustes matemáticos e parâmetros empíricos em suas formulações tornando possível o cálculo das integrais propostas pelas equações. A utilização de parâmetros experimentais reduz o número de equações a serem resolvidas para obtenção das propriedades desejadas, ganhando assim um precioso tempo computacional. São cálculos mais lentos em relação aos de mecânica molecular, porém mais rápidos que os *ab initio* e apresentam resultados eficientes. Portanto, podem ser considerados métodos de qualidade¹¹⁴.

Os métodos semi-empíricos são classificados conforme a abordagem teórica, as aproximações matemáticas e experimentais utilizadas para resolução das equações propostas pelo método utilizado e por fim ao procedimento de parametrizações. Em sua maioria, os métodos semi-empíricos utilizam um conjunto de base mínima de valência formado por funções do tipo Slater¹¹⁵. Nestes métodos a função de onda total eletrônica é representada por apenas um único determinante de Slater. As principais diferenças entre os diversos métodos semi-empíricos se encontram nas integrais que são adicionadas e/ou omitidas na resolução das equações de Hartree-Fock-Roothaan,

¹¹⁴ Química Quântica, Fundamentos e Aplicações; Milan Trsic, Melissa F.Siqueira Pinto, Ed. Manole – Barueri, SP (2009).

¹¹⁵ Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular, Eds. Nelson H. Morgon e Kaline Coutinho, Ed. Livraria da Física - São Paulo (2007).

no conjunto de funções de base empregada e nos parâmetros experimentais utilizados⁹¹.

Inicialmente os métodos semi-empíricos foram criados com o intuito de realizar estudos mecânico-quânticos de sistemas que apresentavam elétrons π (π). Os cálculos realizados somente levavam em consideração os elétrons π , portanto limitavam os tipos de sistemas que podiam ser investigados e, por considerar apenas estes elétrons, apresentavam erros em seus resultados pois outros elétrons que influenciavam nas propriedades dos sistemas não eram considerados⁹¹. Por conta da imprecisão inicial dos cálculos realizados por este método, John A. Pople (figura 23)¹¹⁶ e colaboradores propõem novos métodos que levavam em consideração não apenas os elétrons π , mas todos os elétrons da camada de valência.



Figura 23: John A. Pople
1925-2004

O primeiro método semi-empírico foi o de Huckel, tendo sido desenvolvido em 1930 no intuito de explicar o comportamento de hidrocarbonetos aromáticos e insaturados. Com a realização de algumas modificações neste método surgiu o Huckel Estendido, onde alguns efeitos das interações elétron-elétron foram incluídos através de parametrizações. Em 1953 os pesquisadores Pariser, Parr e Pople, baseados no método Huckel, desenvolveram o método Pariser-Parr-Pople (PPP). Uma das principais contribuições deste método foi a retirada de algumas integrais de repulsão eletrônica (as integrais de overlap), ficando esta aproximação conhecida como ZDO (*Zero-Differential Overlap*)¹¹⁷.

¹¹⁶ Adaptada do site: <http://chicagoacs.net/inMemory/inmemory.html>, acessada em julho de 2010.

¹¹⁷ James J. P. Stewart, *J Mol Model*, 13, 1173 (2007).

Anos mais tarde em 1965, Pople e colaboradores partindo do método PPP, desenvolveram o CNDO (*Complete Neglect of Differential*). Neste novo método as equações de Roothaan são resolvidas iterativamente utilizando funções do tipo Slater (STO) por orbital de valência. Em 1967, Pople, Beveridge e Dobosh modificaram o formalismo do método CNDO e obtiveram o INDO (*Intermediate Neglect of Differential Overlap*). Esta aproximação considera a sobreposição diferencial monoatômica, contudo somente para as integrais de um único centro. Posteriormente os pesquisadores Ridley e Zerner através de parametrizações no formalismo do INDO especialmente para os cálculos de espectros eletrônicos criaram o INDO/S (*Intermediate Neglect of Differential Overlap/ Spectroscopy*), onde anos mais tarde foi novamente reparametrizado para realização de cálculos para sistemas contendo átomos mais pesados⁹⁴.

Em 1965 os pesquisadores Pople, Santry e Segal, após realizarem algumas modificações no INDO instituíram o NDDO (*Neglect of Diatomic Differential Overlap*). As modificações realizadas foram: a omissão das integrais de recobrimento (ou sobreposição) para moléculas diatômicas que possuíssem orbitais atômicos distintos e a inclusão das integrais para a retenção de interações dipolo-dipolo. Atualmente o NDDO é o método base para todos os métodos semi-empíricos⁹⁴. Contudo, ainda em 1977, através de modificações no NDDO, Thiel e Dewar criaram o MNDO (*Modified Neglect of Diatomic Overlap*), sendo este basicamente um aperfeiçoamento do método NDDO⁹⁴.

2.4.3 Austin Model 1

O método semi-empírico *Austin Model 1* (AM1) foi criado em 1985 por Dewar e colaboradores¹¹⁸ e tem como proposta modificar a função de repulsão do caroço (CRF) do método MNDO para minimização do erro de superestimar as repulsões entre átomos quando estão a distâncias próximas de Van der Waals. Neste método ainda foram adicionadas uma função de repulsão do caroço (CRF), funções gaussianas atrativas e repulsivas. Porém as integrais de repulsão eletrônica de um único centro permanecem sem modificações em relação ao método MNDO. Essas mudanças produziram previsões mais precisas de barreiras de ativação para muitas

¹¹⁸ M.J.S. Dewar, E.G. Zoebisch, E.F. Healy, J.J.P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 3902 (1985).

reações, bem como uma melhoria de 40% nas previsões do calor de formação de moléculas, se comparadas ao MNDO. Os elementos contidos na versão reparametrizada do método AM1 são: C, N, O, H, B, F, Al, Si, P, S, Cl, Zn, Ge, Se, Br, Sn, Sb, Te, I, Hg, As.

2.3.4 Recife Model 1

O método RM1 (Recife Model 1) foi obtido pelo grupo do pesquisador SIMAS¹¹⁹ através da reparametrização do código computacional Austin Model 1 (AM1). O intuito deste Grupo foi o de corrigir algumas deficiências apresentadas pelo método AM1 realizando uma comparação do RM1 com os métodos PM3, PM5 e AM1 e analisando a variação de erro para as seguintes propriedades: entalpia de formação, momento dipolo, potencial de ionização, ligação e ângulo diedro e distâncias interatômicas reparametrizadas para os átomos de H, C, N, O, P, S, F, Cl, Br, e I. Neste estudo comparativo observou-se que a nova metodologia RM1 tinha o menor desvio de erros para todas as propriedades, exceto para o comprimento de ligação e ângulo diedro. Por esta razão é que optamos por usar o RM1 em nosso trabalho.

2.5 Análise de Componentes Principais

A análise das componentes principais (ACP) é uma técnica estatística multivariada que permite interpretar a estrutura de um conjunto de dados diversos a partir das respectivas matrizes de variâncias-covariâncias ou de correlações entre os parâmetros considerados. Matematicamente, a ACP consiste no cálculo dos autovalores e correspondentes autovetores de uma matriz de variâncias-covariâncias ou de uma matriz de coeficientes de correlação entre variáveis. Os cálculos matemáticos são realizados a partir de uma transformação linear de todas as variáveis originais em novas variáveis, de tal maneira que o primeiro autovalor a ser determinado corresponderá a maior porcentagem da variabilidade total presente e assim sucessivamente.

Portanto a ACP é considerada como uma técnica de transformação de variáveis¹²⁰. Correspondendo assim a uma fatoração da matriz X de dados originais

¹¹⁹ Gerd B. Rocha; Ricardo O. Freire; Alfredo M. Simas; James J. P. Stewart, *J. Comput Chem* **27**, 1101 (2006).

¹²⁰ Análise Estatística, com utilização de SPSS, Moroco, João, Edições Silabo, Lisboa (2003).

com “n” carcinógenos e “p” descritores. Este procedimento requer a diagonalização da matriz de covariância X^tX , onde X^t é a transposta da matriz X . Os elementos dos autovetores, que na ACP são chamados de pesos, representam a contribuição com que cada um dos eixos originais entra na composição dos novos eixos, chamados de componentes principais. Os autovalores representam a quantidade de variância original explicada pelos respectivos autovetores. Em resumo, PC1 (primeira componente principal) descreve o eixo de maior variância, sendo neste eixo onde os pontos se encontram mais espalhados. PC2 (segunda componente principal), ortogonal a PC1, representa o segundo eixo de maior variância residual, e assim por diante. Geometricamente, a ACP procura rotacionar os eixos originais para a obtenção de um novo conjunto de eixos de menor dimensão que concentre o máximo das informações de partida. Na figura gerada pela projeção dos n objetos nas PC'S espera-se encontrar um certo padrão que permita a relação destes descritores com a atividade estudada (LEÃO et al., 2005).

As componentes principais vão ser escritas como uma combinação linear das antigas variáveis, sendo os *loadings* os pesos que cada variável tem para uma determinada componente principal e os *scores* as coordenadas que cada objeto possui ao longo de cada componente principal. Tem-se, então, que

$$t_1 = X_a l_1, t_2 = X_a l_2, \dots$$

onde t_i são os scores para i -ésima componente principal, X_a é a matriz autoescalada (pré-processamento que deixa as variáveis todas adimensionais e dentro de um mesmo intervalo) de dados e l_i são os loadings de cada variável em relação à i -ésima componente principal.

Existem vários métodos estatísticos que descrevem bem o potencial carcinogênico de compostos químicos. Contudo, a maioria destes métodos leva em consideração semelhanças entre as estruturas das moléculas investigadas, como por exemplo, nos estudos de QSAR. Contudo, através da Análise de Componentes Principais (ACP) é possível realizar uma relação entre determinados descritores com a propriedade que se deseja avaliar, sem necessariamente ter que levar em consideração as características estruturais dos compostos investigados. Sendo desta forma uma vantagem muito importante desta técnica, quando se quer descrever uma determinada propriedade para um conjunto de moléculas que não apresentam semelhanças em suas estruturas geométricas. Como é o caso dos agrotóxicos investigados nesta pesquisa. Além disso,

ainda define quais são os descritores que mais influenciam na propriedade que se quer determinar.

2.6 Programas Computacionais

2.5.1 MOPAC

Programa implementado com métodos semi-empíricos. Consiste em um código computacional aberto e possui versões que podem ser utilizadas tanto em ambiente Linux como em Windows. Possui versões comerciais e gratuitas. Este programa pode ser utilizado para estimar diversas propriedades moleculares e reações químicas.

2.5.2 MOLDEN

Este programa pode ser utilizado tanto para criação de arquivos de entrada com os dados iniciais das moléculas, como também para visualização de resultados dos cálculos realizados pelos programas: MOPAC, AMPC, GUAUSSIAN e GAMESS.

2.5.3 HYPERCHEM

É um programa utilizado para a construção de moléculas, realização de cálculos e visualização de resultados. Possui os métodos: ab initio, semi-empírico e mecânica molecular implementados em seu pacote computacional. Ele foi criado pela empresa Hypercube e pode ser utilizado apenas em ambiente Windows e Mac.

2.5.4 STATISTICA

É um programa utilizado para realização de cálculos matemáticos de estatística. Possibilita a realização de uma análise mais refinada do problema estudado. É uma ferramenta bastante abrangente, pois fornece análise, gerenciamento e visualização de processos de dados. Algumas das principais funções oferecidas pelo programa são: estatística descritiva, análise de dados exploratória, correlações, probabilidade, Análise de resposta múltipla, métodos de regressão múltipla e estatística não-paramétrica. Pode ser utilizado apenas em ambiente Windows e Mac.

2.5.5 CHEMCRAFT

É um programa utilizado para desenhar estruturas moleculares de *outputs* dos sistemas que se esteja estudando. Consegue visualizar o *output* dos programas: gaussian, gamess, moldraw e hyperchem.

2.5.6 MOLDRAW

É um programa utilizado obter ângulos e distâncias de ligação. Realiza alguns cálculos como energia eletrostática e repulsão nuclear, como também é utilizado para visualizar *outputs* de cálculos para então gerar as estruturas otimizadas dos sistemas investigados, para caso que se queira abrir em outro programa. No caso do MOPAC, este abre o output do MOPAC e salva em uma versão que pode ser lida no chemcraft. O programa pode ser utilizado apenas em ambiente Windows e Mac.

3. Resultados e Discussões

Elizabeth e James Miller em suas pesquisas identificaram que substâncias químicas carcinogênicas são ávidas por elétrons. Em termos de propriedades eletrônicas são substâncias que apresentam elevada afinidade eletrônica. As substâncias carcinogênicas padrões apresentaram valores altos para a afinidade eletrônica, bem como os agrotóxicos investigados nesta pesquisa. De maneira que apresentam a característica principal de um potencial carcinógeno.

A afinidade eletrônica adiabática calculada neste trabalho foi obtida fazendo-se a diferença entre a energia total da molécula neutra com a energia total da molécula aniônica ($E_{\text{total}} \text{ molécula neutra} - E_{\text{total}} \text{ molécula aniônica}$), estando ambas as geometrias otimizadas. A energia de interação carcinógeno-DNA ($\Delta E_{\text{H-L}}$) foi obtida pela diferença de energia do LUMO (espécie a ser analisada) pelo HOMO da guanina). E o termo de atração eletrostática obtivemos pela subtração da (carga do O6 da guanina pela carga do carbono mais positivo do composto a ser analisado). O DNA é representado pela guanina, que é a base que apresenta o menor valor para o potencial de ionização dentre as bases do DNA, fato que justifica a preferência dos carcinógeno por esta base¹²¹.

Porém o potencial carcinogênico não leva em conta apenas a afinidade eletrônica (EA), outras propriedades eletrônicas, também foram levadas em consideração. Considerando que a maioria dos agrotóxicos possui características lipossolúveis, sendo o que os definem como substâncias de caráter apolar, ou seja, que possuem baixo momento dipolo. Com o valor do momento dipolo μ dos agrotóxicos podemos avaliar parcialmente sua interação com as membranas lipídicas do organismo. Compostos de mesma polaridade tendem interagir melhor entre si, e como as membranas celulares possuem baixo grau de polaridade, quanto mais baixo o momento dipolo dos agrotóxicos mais facilmente ocorrerá a interação destes com as membranas celulares, favorecendo o processo de carcinogênese, contudo para uma análise mais criteriosa faz se necessário a obtenção do coeficiente de partição, onde realizaremos nos próximos trabalhos. A atração eletrostática carcinógeno-DNA (Δq) define a facilidade de

¹²¹ M.C.B.Leão;R.L. Longo; A.C.Pavão, *J.Mol.Structure*, **490**, 145 (1999).

aproximação carcinógeno-DNA para ocorrência da transferência de elétrons, quanto mais baixo seu valor maior a possibilidade de interação entre as duas espécies. A energia de interação carcinógeno-DNA (ΔE_{H-L}) se refere a probabilidade de interação entre as espécies envolvidas, conforme o modelo descrito nesta pesquisa quanto menor o valor desta variação energética maior a possibilidade de interação entre as espécies envolvidas.

3.1 Padrões

As estruturas moleculares dos compostos padrões podem ser observadas na figura 23.

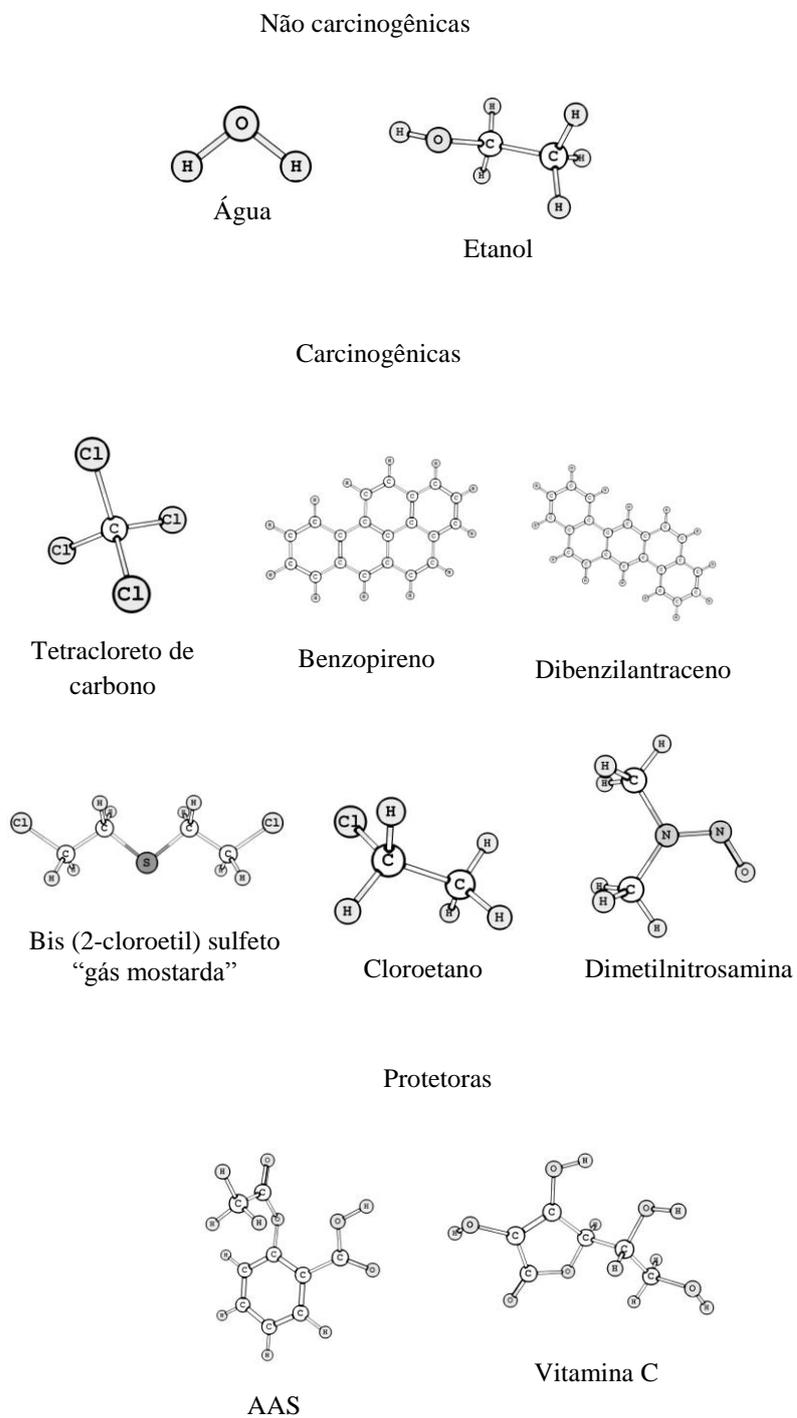


Figura 23: Estruturas moleculares otimizadas das substâncias padrões

Tabela1: Propriedades eletrônicas, RM1, das substâncias controles

Substâncias	H _f (Kcal/mol)	μ (D)	EA (eV)	ΔH _{H-L} (eV)	Δq (u.a)
Carcinógenos padrões					
Tetracloroeto de carbono	-20,48	0,00	2,91	7,45	0,63
Benzopireno	72,10	0,04	1,63	7,80	0,33
Dibenzilantraceno	-38,23	0,00	1,38	8,09	0,32
Bis (2-cloroetil) sulfeto "Gás mostarda"	79,97	1,26	1,31	8,22	0,39
Cloroetano	5,97	1,82	2,91	9,46	0,32
Dimetilnitrosamina	1,57	3,45	0,51	9,12	0,34
Não carcinógenos padrões					
Água	-57,85	1,87	-3,30	12,46	0,52
Etanol	-55,81	1,52	-2,46	11,99	0,38
Protetores padrões					
AAS	-148,92	5,09	1,45	8,03	0,70
Vitamina C	-238,99	3,86	1,34	8,39	0,68

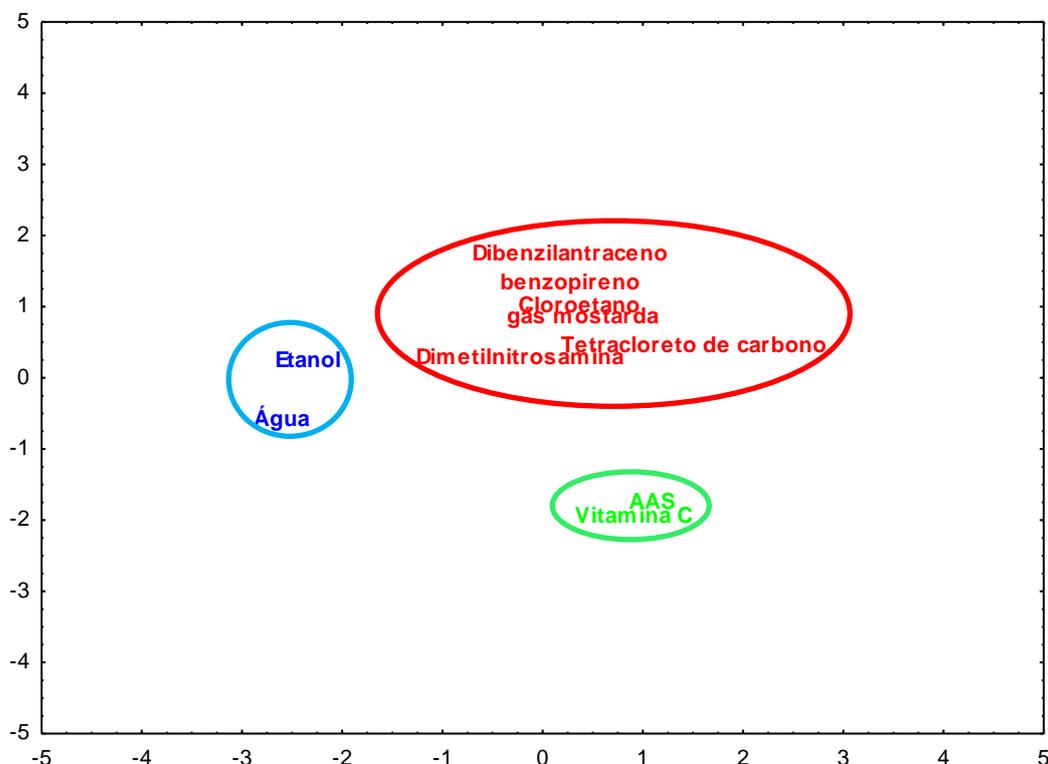
Conforme pode ser observado na tabela 1, os compostos carcinogênicos padrões apresentam valores elevados para a afinidade eletrônica, enquanto que para o momento dipolo, atração eletrostática e energia de interação carcinógeno-DNA, demonstraram valores mais baixos ao compararmos com os valores dos compostos não carcinogênicos e protetores padrões. Segundo, Leão et al, (2005)¹²², a afinidade eletrônica é o descritor mais importante da carcinogênese química. Estando esta afirmação em concordância com os resultados da pesquisadora Elizabeth Miller, que identificou a natureza eletrofílica dos carcinógenos químicos.

Os gráficos 2 e 3 representam os compostos padrões, que tiveram suas propriedades eletrônicas calculadas pelos hamiltonianos RM1 e AM1 respectivamente. Em ambos os gráficos, as substâncias com propriedades carcinogênicas estão representadas em vermelho, as não-carcinógenas em azul e as protetoras em verde.

De acordo com o resultado da ACP dos compostos padrões (gráficos: 2 e 3), fica evidente que tanto os métodos (RM1 e AM1), quanto as propriedades eletrônicas descreveram de maneira satisfatória as características de cada classe de compostos, visto que nos gráfico 2 e 3 cada classe de substâncias se distribuiu em regiões diferentes.

¹²² M.B.C. Leão; A.C. Pavão; V.A.A. Espinoza; C.A. Taftic; E.P. Bulnes, *J. Mol. Structure*, **719**, 129 (2005).

Gráfico 2: Gráfico dos escores das substâncias padrões: carcinogênicas, não carcinogênicas e protetoras.
Método RM1.



Equações escores padrões RM1

$$PC1 = 0,89 \mu - 0,11EA - 0,04 \Delta E_{H-L} - 0,97 H_f + 0,86 \Delta q$$

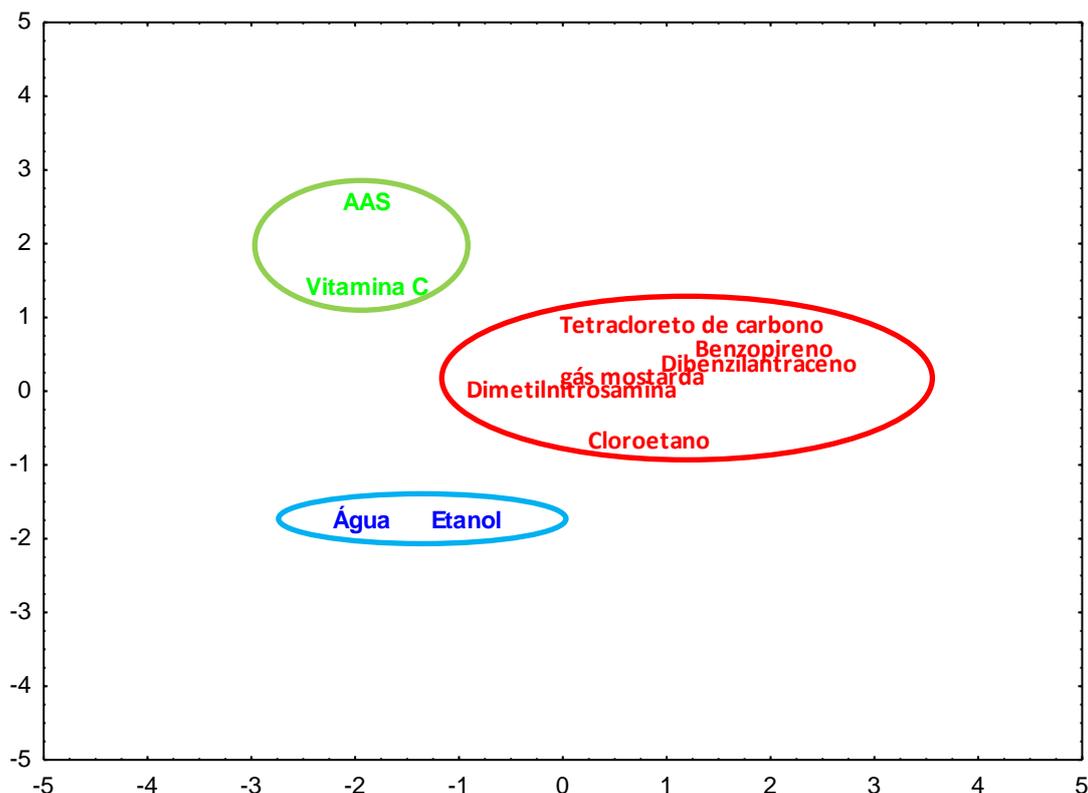
$$PC2 = -0,01 \mu + 0,96EA + 0,97 \Delta E_{H-L} - 0,04H_f - 0,20\Delta q$$

O gráfico 2 representa os compostos padrões com as propriedades eletrônicas calculadas pelo método RM1. Neste gráfico descrevemos as propriedades de três substâncias diferentes (carcinogênicas, não carcinogênicas e protetoras). Com este gráfico concluímos que as propriedades eletrônicas escolhidas e o método estatístico ACP são adequados para realizar a análise do potencial carcinogênico dos agrotóxicos visto que obtivemos a separação de cada tipo de substância no gráfico. As propriedades eletrônicas foram incluídas na ACP (gráfico 2) e a primeira componente principal resultou da combinação linear das cinco variáveis (as propriedades eletrônicas estudadas) e foi composta por 51,53% da variância total, enquanto a segunda componente principal foi composta por 38,32% da variância total, totalizando para as duas componentes principais 89,85% da variância total. Como mais de 50% dos resultados foi elucidado pelo 1° e 2° eixos, a análise foi bem explicada.

Para melhor definir as propriedades eletrônicas que mais influenciam nas características dos compostos carcinogênicos realizamos uma ACP somente para os carcinogênicos padrões (gráfico 4).

Gráfico 3: Gráfico dos escores das substâncias padrões: carcinogênicas, não carcinogênicas e protetoras.

Método AM1.



Equações escores padrões AM1

$$PC1 = -0,74 \mu - 0,55EA - 0,49 \Delta E_{H-L} - 0,56H_f - 0,75 \Delta q$$

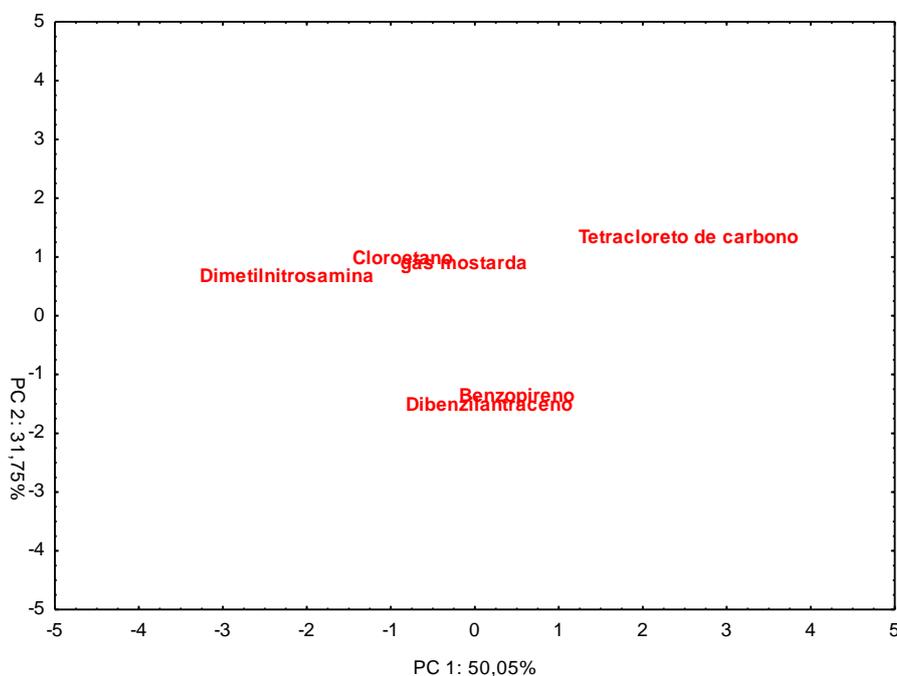
$$PC2 = 0,35 \mu + 0,81EA - 0,80 \Delta E_{H-L} - 0,31H_f + 0,50\Delta q$$

O gráfico 3 representa os compostos padrões com as propriedades eletrônicas calculadas pelo método AM1. As propriedades eletrônicas foram incluídas na ACP (gráfico 2) e a primeira componente principal resultou da combinação linear das cinco variáveis (as propriedades eletrônicas estudadas) e foi composta por 49,94% da variância total, enquanto a segunda componente principal foi composta por 38,42% da variância total, totalizando para as duas componentes principais 88,36%.% da variância total. Como mais de 50% dos resultados foi elucidado pelo 1° e 2° eixos a análise foi bem explicada.

As equações apresentadas pelos escores representados para os compostos padrões utilizando os parâmetros eletrônicos calculados pelos métodos AM1 e RM1 apresentaram o mesmo padrão com relação à separação de cada tipo de substância. Nesta análise tanto a PC1 quanto a PC2 foram importantes para realizar a classificação dos compostos investigados nesta pesquisa. Conforme as equações dos escores representadas junto aos gráficos dos escores dos compostos padrões, pelos métodos RM1 e AM1, respectivamente, observamos que na PC1 as variáveis de maiores pesos foram o momento dipolo e calor de formação e para a PC2 a afinidade eletrônica e a interação carcinógeno–DNA para ambos os métodos.

Dos resultados obtidos com a análise de componentes principais (ACP) das substâncias carcinogênicas padrões (gráfico 4) podemos tirar algumas conclusões: PC1, tem como variáveis de maior peso afinidade eletrônica EA, energia de interação carcinógeno-DNA (ΔE_{H-L}) e a atração eletrostática (Δq), e PC2 que tem variável como maior peso calor de formação. Sendo, portanto as variáveis afinidade eletrônica, energia de interação carcinógeno-DNA (ΔE_{H-L}) e a atração eletrostática (Δq) que mais influenciaram no potencial carcinogênico dos agrotóxicos investigados neste trabalho.

Gráfico 4: Gráfico dos escores das substâncias padrões carcinogênicas (Método RM1).



Equações escores padrões AM1

$$PC1 = 0,84 \mu - 0,82EA - 0,94 \Delta E_{H-L} - 0,51H_f - 0,87 \Delta q$$

$$PC2 = 0,10 \mu + 0,40EA - 0,13 \Delta E_{H-L} - 0,80H_f + 0,34\Delta q$$

3.2 Inseticidas

Os inseticidas são compostos químicos utilizados na agricultura com a finalidade de combater insetos e larvas nocivos as plantações. A tabela 2 apresenta algumas das características dos inseticidas avaliados neste trabalho. As propriedades são: ingrediente ativo, a fórmula molecular e o grupo químico.

Tabela 2: Propriedades dos inseticidas

Ingrediente Ativo	Fórmula Molecular	Grupo Químico
Clopirifos	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$	Organofosforado
Etiona	$C_9H_{22}O_4P_2S_4$	Organofosforado
Fenclorfós	$C_8H_8Cl_3O_3PS$	Organofosforado
Fluvalinato	$C_{26}H_{22}ClF_3N_2O_3$	Piretróide
Fosmete	$C_{11}H_{12}NO_4PS_2$	Organofosforado
Imidacloprido	$C_9H_{10}ClN_5O_2$	Neonicotinóide
Iodofenfos	$C_8H_8ClIO_3PS$	Organofosforado
Metamidofos	$C_2H_8NO_2PS$	Organofosforado
Metiocarbe	$C_{11}H_{15}NO_2S$	Metilcarbamato de fenila
Pimetrozina	$C_{10}H_{11}N_5O$	piridina azometina
Tiametoxam	$C_8H_{10}ClN_5O_3S$	Neonicotinóide

Na tabela 3 estão descritas as propriedades eletrônicas dos inseticidas avaliados neste trabalho.

Tabela 3: propriedades eletrônicas dos inseticidas

Ingrediente ativo	H_f (kcal/mol)	μ (D)	EA (adiabático) (eV)	ΔE_{H-L} (eV)	Δq (u.a)
Clopirifos	-75,02	7,41	2,15	7,57	0,64
Etiona	-231,28	6,52	3,33	6,42	0,57
Fenclorfós	-228,97	3,49	1,82	7,91	0,57
Fluvalinato	-194,62	7,45	1,26	8,10	0,99
Fosmete	-149,52	7,12	2,88	6,76	0,77
Imidacloprido	56,79	8,24	1,40	8,09	0,79
Iodofenfos	-41,96	4,89	2,86	7,26	0,56
Metamidofos	-142,63	0,74	1,64	7,93	0,38
Metiocarbe	-76,43	3,71	1,03	8,54	0,80
Pimetrozina	51,94	3,96	1,40	8,46	0,42
Tiametoxam	37,41	5,37	2,07	7,45	0,73

Na figura 24 podem ser observadas as estruturas moleculares otimizadas dos inseticidas avaliados neste trabalho.

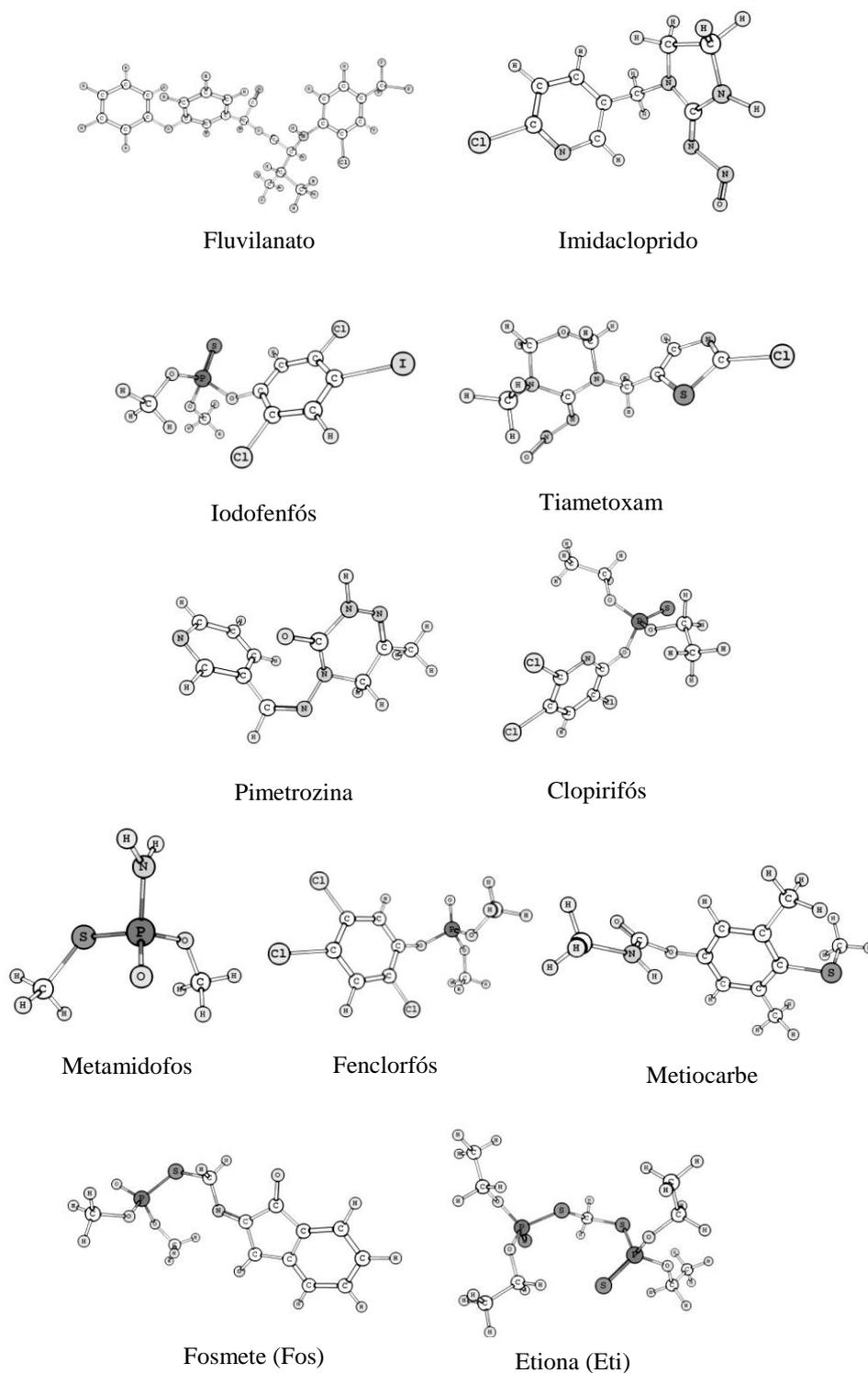
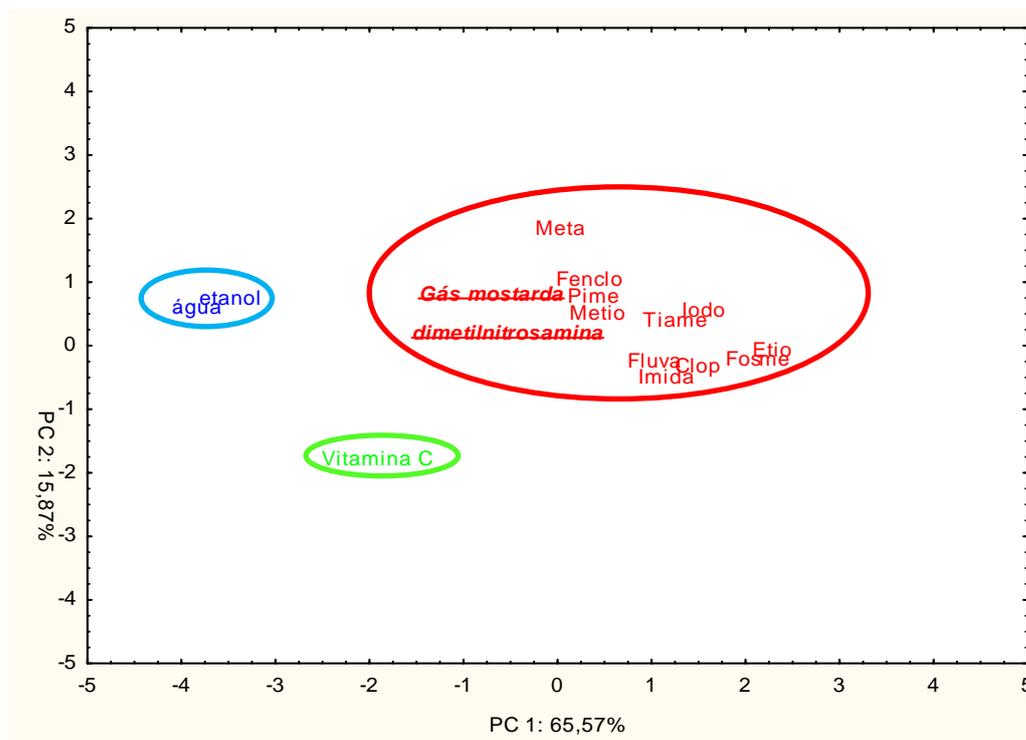


Figura 26: Estruturas moleculares dos inseticidas avaliados no gráfico

O gráfico 5 corresponde a ACP dos inseticidas investigados neste trabalho, clopirifos (clop), etiona(etio), fenclorfós(fenclo), fosmete(fosme), iodofenfos(iodo), metamidofos(meta), fluvalinato(fluva), imidacloprido(imida), metiocarbe(metio), pimetozina (pime) e tiametoxam (tiame).

Gráfico 5: Gráfico dos escores dos inseticidas



Equações escores padrões RM1

$$PC1 = 0,764 \mu - 0,83EA - 0,87 \Delta E_{H-L} + 0,76H_f + 0,91 \Delta q$$

$$PC2 = -0,66 \mu + 0,07EA - 0,21 \Delta E_{H-L} - 0,54H_f + 0,15\Delta q$$

De acordo com as equações da ACP dos inseticidas investigados observamos que na PC1 as variáveis de maior peso são: afinidade eletrônica (EA), energia de interação carcinógeno-DNA ΔE_{H-L} e o termo de atração eletrostática (Δq), e na PC2, o momento dipolo e o calor de formação. Conforme pode ser observado no gráfico 5, todos os inseticidas apresentaram semelhanças com relação as propriedades eletrônicas dos compostos carcinógenos padrões, portanto foram classificados como sendo potencialmente carcinogênicos. De acordo os gráficos e equações dos compostos carcinogênicos padrões o resultado descreveu de maneira satisfatória o potencial carcinogênico dos inseticidas investigados. A separação não homogênea dos

inseticidas no gráfico da ACP sugere que para obtenção de resultados mais detalhados seja realizado um estudo mais detalhado dos metabólitos de cada inseticida analisado.

3.3 Fungicidas

Os fungicidas são compostos químicos utilizados na agricultura com a finalidade de combater os fungos presentes nas plantações. A tabela 4 apresenta algumas das características dos fungicidas avaliados neste trabalho. As propriedades são: ingrediente ativo, a fórmula molecular e o grupo químico.

Tabela 4: Propriedades dos fungicidas investigados

Ingrediente ativo	Fórmula molecular	Grupo Químico
Anilazina	$C_9H_5Cl_3N_4$	Triazinilanilina
Bitertanol	$C_{20}H_{23}N_3O_2$	Triazol
Boscalida	$C_{18}H_{12}Cl_2N_2O$	Anilida
Captana	$C_9H_8NO_2S$	Dicarboximida
Carbendazim	$C_9H_9N_3O_2$	Benzimidazol
Ciproconazol	$C_{15}H_{18}ClN_3O$	Amida
Diclorana	$C_6H_4Cl_2N_2O_2$	Triazol
Clorotalonil	$C_8H_4N_2$	Anilinopirimidina
Folpete	$C_9H_4Cl_3NO_2S$	Cloroaromático
Ftalida	$C_8H_2Cl_4O_2$	Isoftalonitrila
Quinometionato	$C_{10}H_6ON_2S_2$	Dicarboximida
Bromuconazol	$C_{13}H_{12}BrCl_2N_3$	Ftalida
Quintozeno	$C_6H_5NO_2$	Quinoxalina

Na tabela 5 estão descritas as propriedades eletrônicas dos fungicidas avaliados neste trabalho.

Tabela 5: Propriedades eletrônicas dos fungicidas

Ingrediente ativo	H_f (kcal/mol)	μ (D)	EA (adiabático) (eV)	ΔH_{H-L} (eV)	Δq (u.a)
Anilazina	53,13	4,96	1,93	7,82	0,71
Bitertanol	-3,75	3,67	0,69	8,45	0,55
Boscalida	21,014	4,70	1,45	7,98	0,77
Ciproconazol	36,67	2,17	1,00	8,60	0,50
Diclorana	-7,95	6,09	1,50	7,62	0,61
Clorotalonil	29,123	2,34	2,47	7,03	0,37
Folpete	-54,49	5,33	2,92	7,43	0,76
Ftalida	-71,03	3,22	2,39	7,13	0,73
Quinometionato	34,19	4,08	2,17	7,56	0,38
Quintozeno	-2,06	2,92	2,69	6,98	0,39

O gráfico 6 corresponde a ACP dos fungicidas estudados neste trabalho. Na figura 27 podem ser observadas as estruturas moleculares otimizadas dos fungicidas avaliados no gráfico 6. Na figura 28 podem ser observadas as estruturas moleculares otimizadas dos fungicidas avaliados neste trabalho.

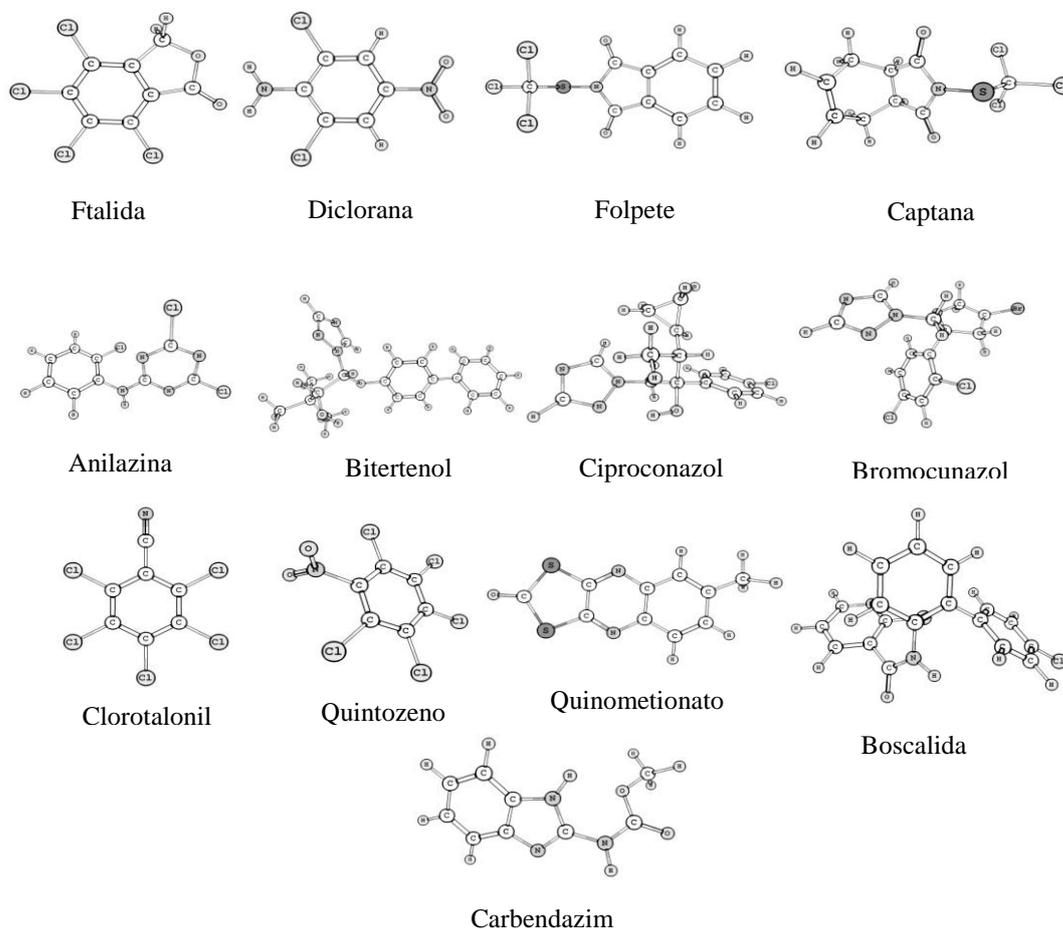
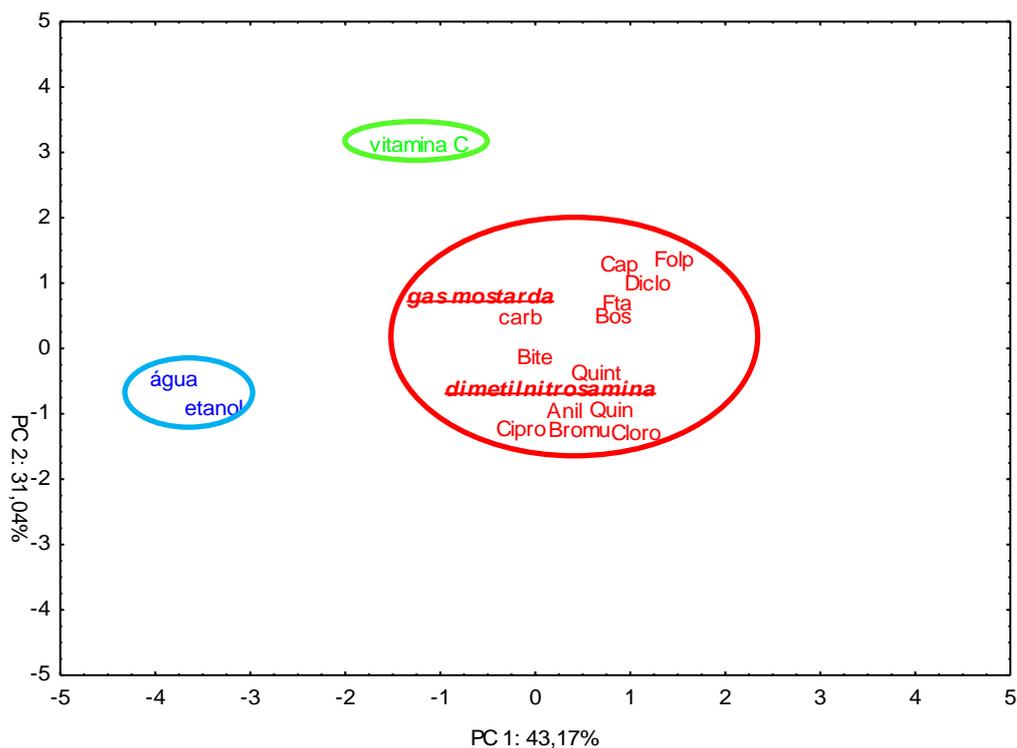


Figura 27: Estruturas moleculares dos fungicidas avaliados no gráfico 6

No gráfico 6 estão os todos os fungicidas investigados nesta pesquisa. Anilazina(anil), bitertenaol(bite), boscalida(bos), captna(cap), carbendazim(carb), ciproconazol(cipro), diclorana(diclo), clorotalonil(cloro), folpete(folp), ftalida(fta), quinometionato(quin), bromocunazol(bromu) e quintozeno (quint).

Gráfico 6: Gráfico dos escores dos fungicidas



Equações escores padrões RM1

$$PC1 = 0,45 \mu - 0,95EA - 0,93 \Delta E_{H-L} + 0,40H_f + 0,05 \Delta q$$

$$PC2 = -0,67 \mu - 0,16EA - 0,17 \Delta E_{H-L} - 0,84H_f + 0,58 \Delta q$$

De acordo com as equações da ACP dos fungicidas investigados observamos que na PC1 as variáveis de maior peso são: afinidade eletrônica (EA) e a energia de interação carcinógeno-DNA ΔE_{H-L} , e na PC2, o momento dipolo e o calor de formação. Conforme pode ser observado na ACP do gráfico 6, todos fungicidas têm semelhanças com relação as propriedades eletrônicas dos compostos carcinógenos padrões, portanto foram classificados como sendo potencialmente carcinogênicos. De acordo os gráficos e equações dos compostos carcinogênicos padrões o resultado descreveu de maneira satisfatória o potencial carcinogênico dos inseticidas investigados. A separação um pouco dispersa de alguns fungicidas no gráfico da ACP sugere que seja realizado um estudo mais detalhado dos metabólitos de cada fungicida.

3.4 Herbicidas

Os herbicidas são compostos químicos utilizados na agricultura com a finalidade de combater as ervas daninhas presentes nas plantações. A tabela 6 apresenta algumas das características dos herbicidas avaliados neste trabalho. As propriedades são: ingrediente ativo, a fórmula molecular e o grupo químico.

Tabela 6: Propriedades dos herbicidas investigados

Ingrediente ativo	Fórmula molecular	Grupo Químico
Acetocloro	$C_{14}H_{20}ClNO_2$	Cloroacetanilida
Aclonifem	$C_{12}H_9ClN_2O_3$	Éter Difênlico
Amicarbazona	$C_{10}H_{19}N_5O_2$	Triazina
Cianazina	$C_9H_{13}ClN_6$	Triazolinona
ClortalDimetilico	$C_{10}H_6Cl_4O_4$	Ácido benzenodicarboxílico substituído
Diurom	$C_9H_{10}Cl_2N_2O$	Uréia
Fluroxipir	$C_7H_5Cl_2FN_2O_3$	Ácido piridiniloxiacanóico
Hexazinona	$C_{12}H_{20}N_4O_2$	Triazinona
Metamitrona	$C_{10}H_{10}N_4O$	Triazinona
Napropamida	$C_{17}H_{21}NO_2$	Alcanamida
Propanil	$C_9H_9Cl_2NO$	Anilida
Tebutiurum	$C_9H_{16}N_4OS$	Uréia

Na tabela 7 estão descritas as propriedades eletrônicas dos herbicidas avaliados neste trabalho.

Tabela 7: Propriedades eletrônicas dos herbicidas investigados

Ingrediente ativo	H_f (kcal/mol)	μ (D)	EA (adiabático) (eV)	ΔH_{H-L} (eV)	Δq (u.a)
Acetocloro	771,01	3,88	1,49	8,60	0,71
Aclonifem	-12,27	4,60	2,01	7,64	0,68
Amicarbazona	-55,55	2,25	1,17	8,49	0,86
Cianazina	43,04	5,23	1,51	8,42	0,72
Clortal_Dimetilico	-161,27	0,00	2,38	7,30	0,73
Diurom	-35,14	5,76	1,03	8,47	0,82
Fluroxipir	-165,85	2,50	1,30	8,18	0,76
Hexazinona	-87,10	4,09	1,46	8,44	0,84
Metamitrona	45,35	2,93	1,98	7,74	0,69
Napropamida	-54,72	3,23	0,93	8,44	0,71
Propanil	-45,65	1,60	1,32	8,18	0,72
Tebutiurum	-11,72	3,40	1,67	8,00	0,84

Na figura 30 estão os herbicidas avaliados no gráfico 7. Os herbicidas estudados, acetocloro(Ace), aclonifem(Aclo), amicarbazona(Ami), cianazina(Cia), clortal dimetílico(Clo), diuron(Diu), fluroxipir(Flu), hexazinona(Hexa), metamitrona(Meta), napropamida(Napro), propanil(Prop), e tebutiurum (Tebu)

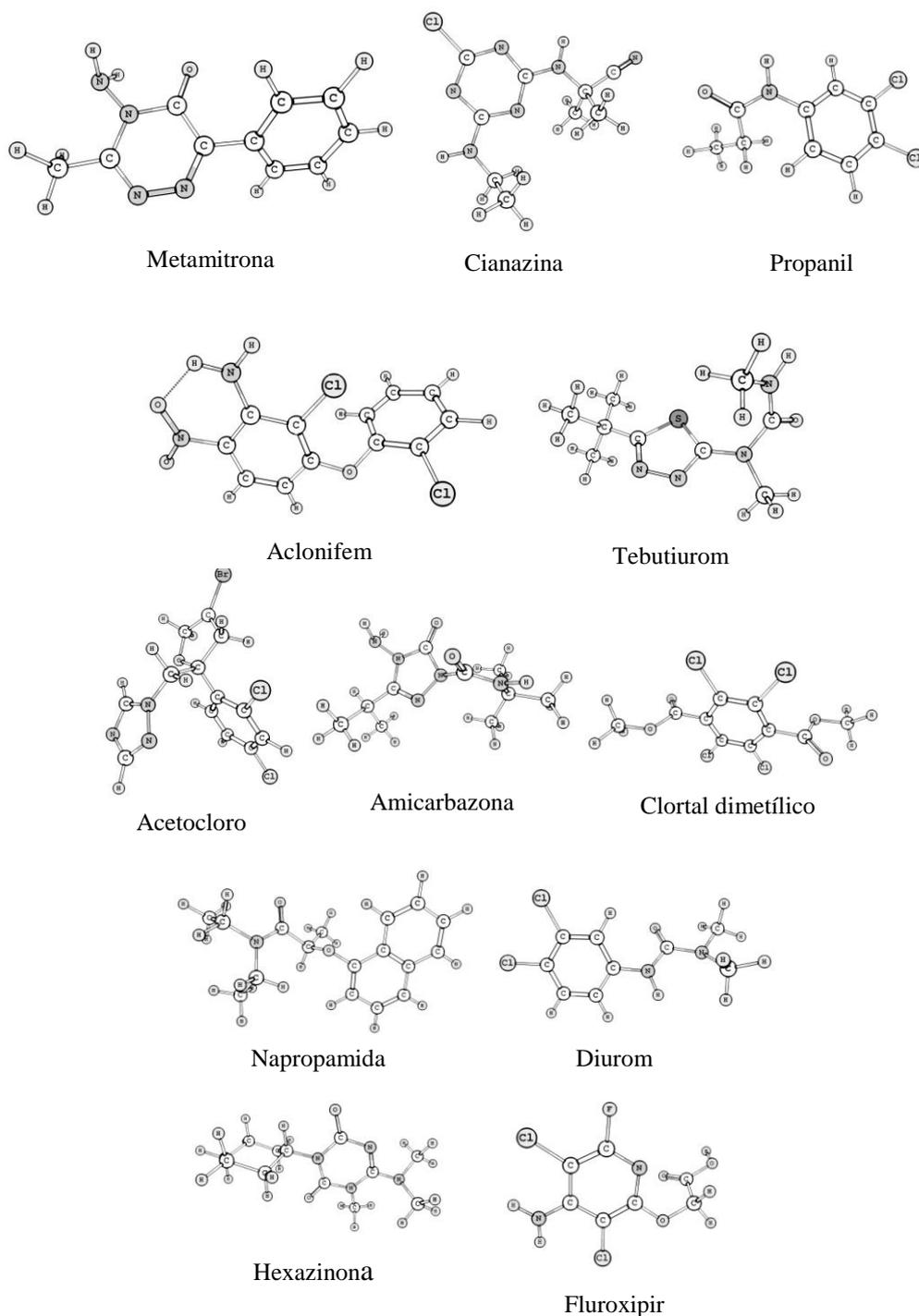
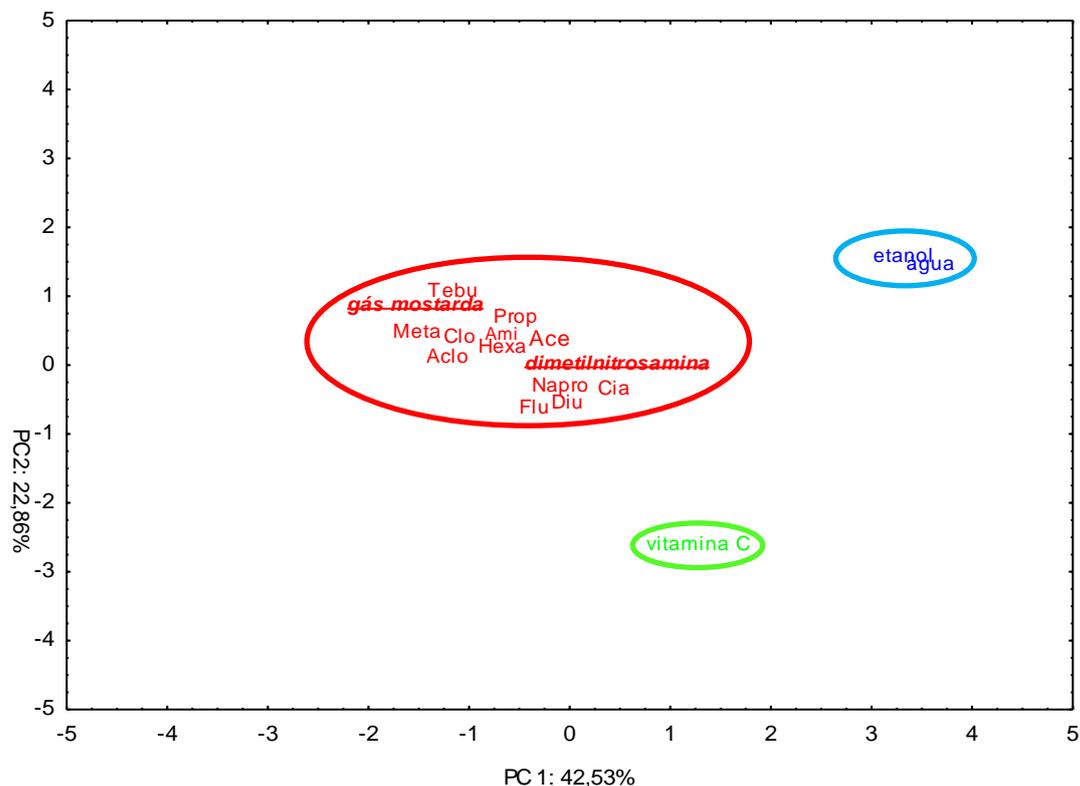


Figura 32: Estruturas moleculares dos herbicidas avaliados no gráfico 11

Segundo a ACP do Gráfico 7, todos os herbicidas foram classificados como potencialmente carcinógenos, por apresentarem semelhanças com relação as propriedades eletrônicas dos compostos carcinógenos padrões.

Gráfico 7: Gráfico dos escores dos herbicidas



Equações escores padrões RM1

$$PC1 = 0,18 \mu - 0,93EA - 0,87 \Delta E_{H-L} - 0,21H_f - 0,65 \Delta q$$

$$PC2 = -0,78 \mu + 0,09EA + 0,40 \Delta E_{H-L} + 0,60H_f - 0,02\Delta q$$

De acordo com as equações obtidas pela ACP, as variáveis de maior peso na PC1 são afinidade eletrônica e interação carcinógeno-DNA e na PC2 momento dipolo e calor de formação.

Como pode ser observado nos gráficos e equações dos compostos carcinogênicos padrões o resultado descreveu de maneira satisfatória o potencial carcinogênico dos herbicidas investigados.

Embora a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), tenha determinado proibição de uso de certos agrotóxicos, muitos continuam a ser utilizados de maneira indiscriminada. Como muitos trabalhadores rurais são analfabetos, não fazem idéia dos riscos que correm ao manusear estas substâncias de maneira inadequada, utilizando além do que é permitido nas culturas. São agravantes muito sérios, que devem ser levados em consideração pelos órgãos responsáveis pela fiscalização do controle de uso destes compostos. Muitas vezes o agricultor sabe que o material é perigoso para sua saúde, mas por falta de orientação não toma as medidas corretas. Até por que a maioria dos empresários rurais não fornece equipamentos de proteção ao trabalhador, nem instruções de manuseio e armazenamentos dos frascos já utilizados, de maneira que rios e outros mananciais também sofrem com a contaminação. Estatísticas mostram que o Brasil é classificado pelas Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) como o principal país no consumo de agrotóxicos de maneira demasiada.

Todos os escores dos agrotóxicos, (inseticidas, fungicidas e herbicidas), investigados nesta pesquisa seguiram o mesmo padrão que os compostos padrões. E todos os agrotóxicos apresentaram comportamento similar aos carcinógenos padrões de maneira que foram classificados todos como potencialmente carcinogênicos.

3.5 Aflatoxinas e Resveratróis

A literatura classifica as aflatoxinas¹²³ como carcinogênicas, enquanto que o resveratrol¹²⁴ é classificado como substância antioxidante com propriedades protetoras. As aflatoxinas, produzidas pelo fungo *Aspergillus flavus*, são encontradas em cereais, sementes e outros alimentos mofados. O resveratrol é característico do vinho. Os cálculos das propriedades eletrônicas das aflatoxinas e dos resveratros descreveram com sucesso os potenciais carcinogênicos e protetores conforme pode ser observado nos resultados das tabelas 8 e 9 e no gráfico 8 da ACP. As estruturas moleculares otimizadas das aflatoxinas (figura 33) e dos resveratrol e análogos (figura 34). No gráfico 8 as aflatoxinas, resveratrol e análogos receberam a seguinte terminologia; Aflatoxina B1 (Afla B1), Aflatoxina B2 (Afla B2), Aflatoxina M1 (Afla M1), Aflatoxina M2 (Afla M2), Aflatoxina G1 (Afla G1), Aflatoxina G2 (Afla G2), Aflatoxina B1 epóxido (Afla B1epo), Aflatoxina B1 addut (Afla B1 add), Trans Resveratrol (TRes), Trans Resveratrol 1 (TRes1) e Trans Resveratrol 2 (TRes2).

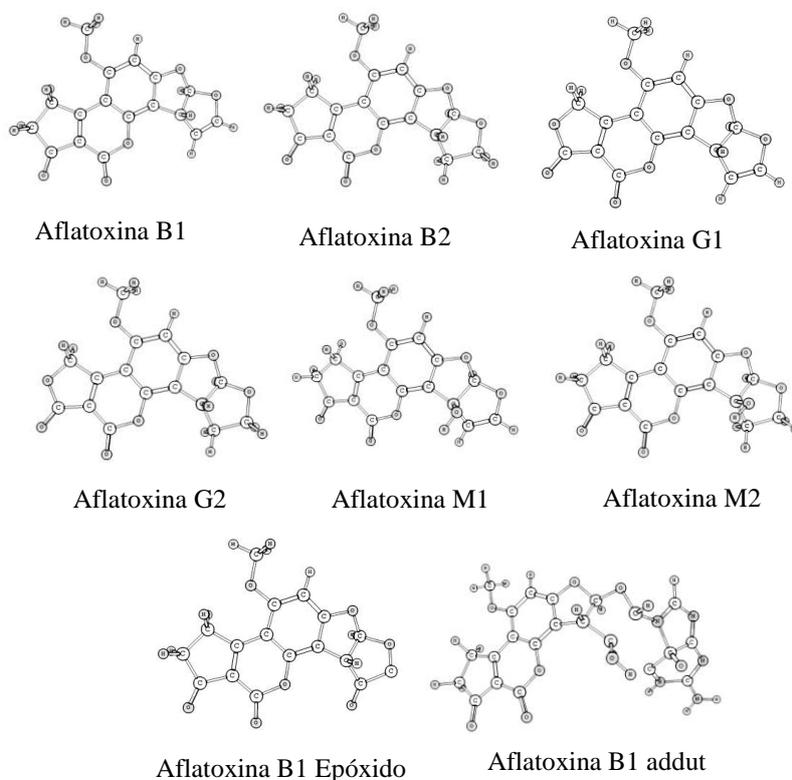


Figura 33: Estruturas moleculares das aflatoxinas

¹²³ A.C .Pavão, L.A.Soares Neto,J.Ferreira Neto,M.C.B Leão, J.Molecular Structure., **37**, 57 (1995).

¹²⁴Ilhami Gülçin, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* ,**11**,210 (2010).

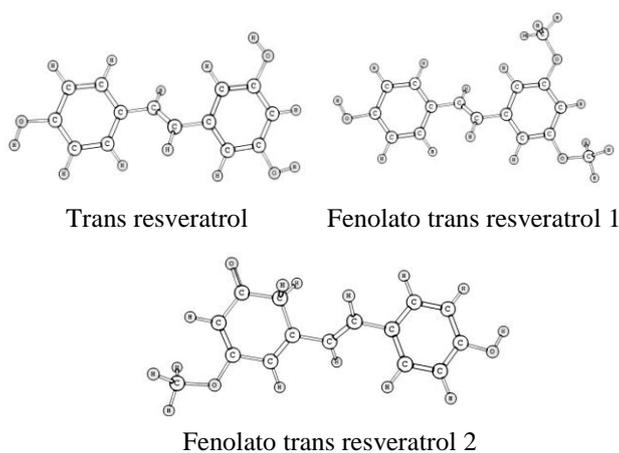


Figura 34: Estruturas moleculares resveratrol e análogos.

Tabela 9: Propriedades eletrônicas das aflatoxinas e seus metabólitos.

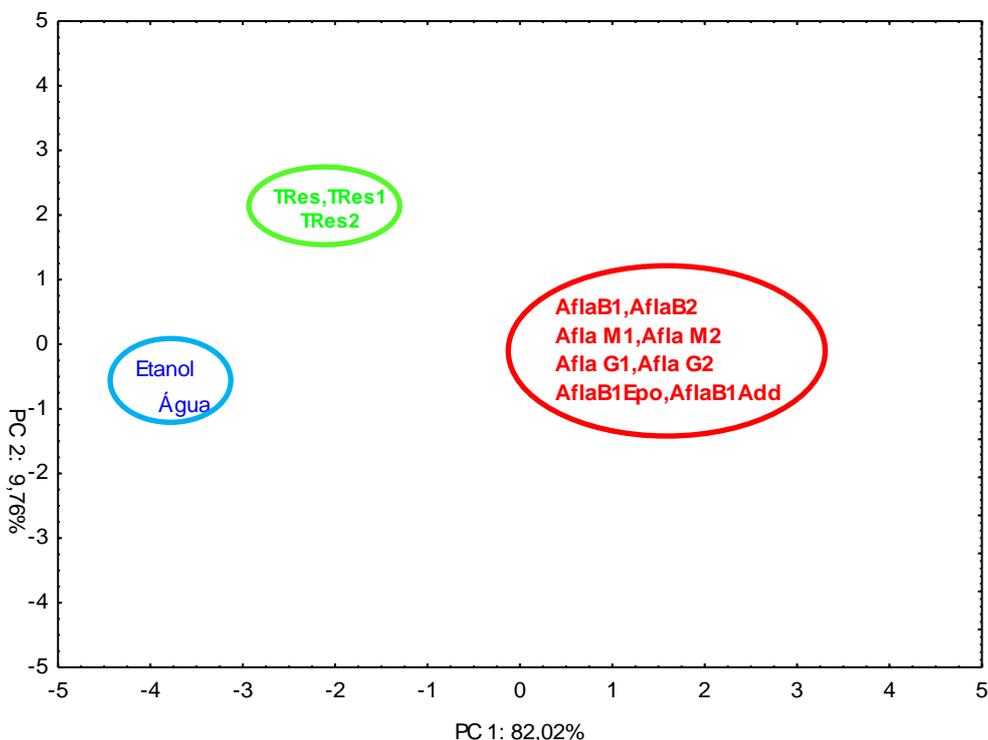
Aflatoxinas	Hf (Kcal/mol)	μ (D)	EA (adiabático) (eV)	ΔH_{H-L} (eV)	Δq (u.a)
Aflatoxina B1	-129,29	7,44	2,33	7,45	0,78
Aflatoxina B2	-165,54	6,95	2,29	7,49	0,78
Aflatoxina M1	-172,10	6,87	2,44	7,43	0,78
Aflatoxina M2	-208,43	6,56	2,44	7,43	0,78
Aflatoxina G1	-159,76	8,15	2,66	7,09	0,79
Aflatoxina G2	-196,07	7,75	2,62	7,14	0,79
Aflatoxina B1 Epoxido	-117,84	10,82	1,78	7,23	0,77
Aflatoxina B1 addut	-108,86	9,38	2,79	7,30	0,78

Tabela 10: Propriedades eletrônicas resveratrol e análogos.

Resveratrol e análogos	Hf (Kcal/mol)	μ (D)	EA (adiabático) (eV)	ΔH_{H-L} (eV)	Δq
trans_resveratrol	-184,0	1,38	0,29	9,20	0,50
Fenolato_trans_resveratrol_1	-176,5	2,61	0,31	9,17	0,49
Fenolato_trans_resveratrol_2	-175,7	1,55	0,33	9,16	0,50

Nas tabelas 8 e 9 estão descritas as propriedades eletrônicas das aflatoxinas e do resveratrol e análogos respectivamente.

Gráfico 8: Gráfico dos escores aflatoxinas e resveratrol



Equações escores padrões AM1

$$PC1 = 0,85 \mu - 0,92EA - 0,94 \Delta E_{H-L} + 0,84H_f - 0,96 \Delta q$$

$$PC2 = -0,35 \mu + 0,38EA - 0,32 \Delta E_{H-L} + 0,32H_f - 0,080\Delta q$$

De acordo com as equações obtidas da ACP das aflatoxinas (carcinogênicos) e resveratrol (protetor). As variáveis de maior peso na primeira componente principal (PC1) foram a afinidade eletrônica (EA) e a interação carcinogeno-DNA (ΔE_{H-L}), seguida da segunda componente principal de maior valor (PC2) com a variável da atração eletrostática (Δq). Conforme os valores apresentados na tabela 9, e pela ACP quanto maior o valor da afinidade eletrônica, e mais baixo os valores da energia carcinogeno-DNA (ΔE_{H-L}), momento dipolo (μ), atração eletrostática (Δq) e calor de formação maior o potencial carcinogênico do composto.

Como observamos no Gráfico 8, há uma nítida separação entre as três classes de compostos: não-carcinógenos, carcinógenos e protetores. Okajima e colaboradores estudaram a interação do óxido da aflatoxina B1 com o resíduo de DNA. Nesta pesquisa propuseram que a interação entre o óxido da aflatoxina e o DNA que a interação ocorre com preferência nos sítios N2 e N7 da guanina através da formação

de uma ligação covalente. Através de cálculos computacionais sugerem que esta interação ocorre por meio de uma reação nucleofílica de segunda ordem (SN₂)¹²⁵.

3.5 Guanina

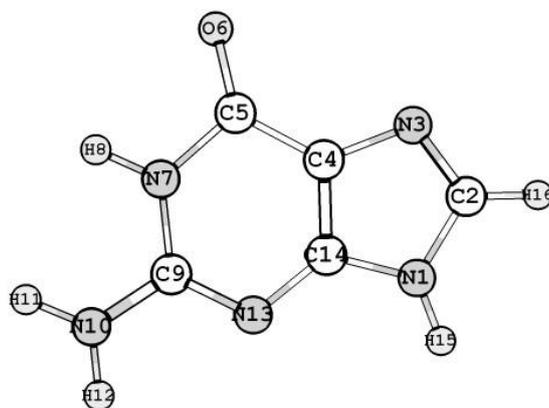


Figura 35: Estrutura otimizada da guanina

Cálculos computacionais de cargas atômicas de Mulliken sugere que os sítios de preferência para ocorrência da interação carcinógeno-DNA sejam N1, O6, N7 e N10. A proposta é baseada no fato de que os carcinógenos são espécies químicas ávidas por elétrons e estes são os sítios de maior densidade eletrônica na guanina. Na tabela 11 estão descritas as cargas atômicas de Mulliken obtidas por cálculos computacionais para o resíduo da guanina.

¹²⁵ Toshiya Okajima, Yoko Shirakawa, Akane Hashikawa, *J. Molecular Structure*, **00**, 1 (2001).

Tabela 11: Cargas atômicas de Mulliken da guanina

Posição	Tipo de átomo	Cargas atômicas de Mulliken (u.a)
1	N	-1,0
2	C	0,3
3	N	-0,5
4	C	-0,1
5	C	0,8
6	O	-0,6
7	N	-1,0
8	H	0,4
9	C	1,0
10	N	-1,0
11	H	0,4
12	H	0,4
13	N	-0,6
14	C	0,7
15	H	0,4
16	H	0,2

Todos os compostos analisados neste trabalho puderam ser corretamente separados através da análise ACP. Está aí o valor do procedimento teórico que descrevemos nesta monografia de mestrado.

4. Conclusões e Perspectivas

Neste trabalho utilizamos o modelo químico quântico desenvolvido por Pavão e Leão para prever o potencial carcinogênico de diversos inseticidas, fungicidas, herbicidas, além de aflatoxinas. Basicamente o modelo propõe que a interação carcinógeno-DNA ocorre através da transferência de elétrons entre os orbitais moleculares de fronteira, sendo que fatores como afinidade eletrônica e estabilidade do carcinógeno, permeabilidade da membrana celular, atração eletrostática carcinógeno-DNA são tratados por análise estatística multivariada. Os resultados obtidos nesta pesquisa confirmam mais uma vez a eficiência deste modelo na previsão do potencial carcinogênico de compostos químicos. Trata-se de um procedimento efetivo, mas, no entanto simples, pois consegue avaliar pontualmente a interação entre duas espécies químicas, não sendo necessário considerar, por exemplo, representações mais complexas da molécula de DNA. Por meio da distribuição de cargas atômicas das espécies envolvidas podemos identificar o sítio em que o carcinógeno se ligaria ao DNA. Na molécula de DNA a base de maior caráter nucleofílico será a preferida pelo carcinógeno, pois este é um eletrófilo, ávido por elétrons. Dentre as bases do DNA a guanina possui o menor potencial de ionização e por isso doa elétrons mais facilmente. Além disso, os cálculos computacionais também indicam os sítios N1, O6, N7 e N10 da guanina como os de maior possibilidade de interação com o carcinógeno.

A análise multivariada das propriedades eletrônicas separou adequadamente os compostos escolhidos como padrões de acordo com suas atividades. Os gráficos da ACP para todas as classes químicas dos agrotóxicos analisados nesta pesquisa seguiram o comportamento dos compostos padrões. Todas as classes dos agrotóxicos investigados nesta pesquisa apresentaram compostos com um forte caráter eletrofílico (elevada afinidade eletrônica), uma das principais características de compostos químicos carcinogênicos. Com a análise estatística multivariada provamos que elevados valores para a afinidade eletrônica, bem como os baixos valores para o momento dipolo, atração eletrostática e energia de interação carcinógeno-DNA, caracterizam bem o potencial carcinogênico de cada classe dos agrotóxicos investigados. De acordo com esta análise observamos todos os inseticidas, herbicidas e fungicidas investigados nesta pesquisa têm atividade potencialmente carcinogênica por

apresentarem propriedades eletrônicas comparáveis às dos carcinógenos conhecidos, como dimetilnitrosamina e gás mostarda.

Conforme a literatura as aflatoxinas são reconhecidamente identificados como carcinógenos e os resveratróis como protetores. A ACP das propriedades eletrônicas das aflatoxinas e dos resveratrol(s) os classificou também como carcinógenos e protetores.

Toda esta concordância com os compostos padrões fortalece o modelo utilizado e os cálculos computacionais. Mesmo assim, destacamos que um estudo mais detalhado das rotas metabólicas dos agrotóxicos investigados nesta pesquisa é de fundamental importância no esclarecimento do potencial carcinogênico destes compostos. De toda forma, a análise aqui apresentada serve de alerta e pode ser muito útil aos órgãos de vigilância sanitária. O princípio da precaução é um princípio moral e político, onde é tido como a garantia contra os riscos potenciais que, não podem ser ainda identificados por métodos científicos. Sua definição abrange qualquer ação que pode causar danos irreversíveis a saúde pública ou ambiental. Ao analisar exclusivamente a questão da saúde, ele está associado à noção de dano. Quando era entendida apenas como a ausência de doença, a saúde era tida como o estado onde o indivíduo estava livre de danos que estariam ocorrendo naquele momento. Conforme foi esclarecido sobre o princípio da precaução. Este princípio indica que seria recomendável controlar o uso de tais substâncias potencialmente perigosas, tanto na agricultura como em domicílios.

Conforme já alertamos, é necessário um estudo das rotas metabólicas dos agrotóxicos classificados como potencialmente carcinogênicos, bem como o estudo dos compostos gerados por estas reações metabólicas, a fim de obtermos uma caracterização mais completa da atividade dos compostos aqui analisados. Além deste estudo, pretendemos também estender os cálculos das propriedades eletrônicas incluindo o efeito do solvente para termos uma descrição mais realista do meio em que estes compostos agem no corpo humano. Outra perspectiva que se abre é a implementação de métodos computacionais mais sofisticados nos cálculos das propriedades eletrônicas. Também pretendemos divulgar o método teórico aqui utilizado para agências como ANVISA, FAO, SINTOX, etc. para oferecer esta alternativa simples, barata, mas eficiente para identificação de carcinógenos.

Referências

- Andreas Luch, *Nature Reviews*, 5, 113 (2005).
- Alejandra Picazo; Roberto Salcedo, *J. Mol. Structure*, 624, 29 (2003).
- A. C. Pavão; M. B. C. Leão; L. A. Soares Neto; J. Ferreira, *J. Mol. Structure*, 337,57 (1995).
- A. C. Pavão; Carlton A. Taft; Tereza C. F. Guimarães; Marcelo B. C. Leão; José R. Mohallem; William A. Lester, Jr., *J. Phys. Chem. A*, 105, 5 (2001).
- Antonio de Oliveira Batistuzzo, 3.ed, São Paulo, Editora Atheneu, (2008).
- Antônio Vasconcelos Rego, Antonio C. Pavão, Lia Giraldo da Silva Augusto, *Rev. Bras. Epidemiol.*,12,39 (2009).
- www.anvisa.gov.br/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária, acessado em novembro (2009).
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); *Rev Saúde Pública* 40, 361 (2006).
- Análise Estatística, com utilização de SPSS, Moroco, João, Edições Silabo, Lisboa (2003).
- B. Singer I, J. T. Kumierek, *Ann Rev. Biochem*, 52, 655 (1982).
- Charles H. Calisher, *Croat. Med. J.*, 48, 103 (2007).
- Cheila Nataly Galindo Bedor, Lara Oliveira Ramos, Marco Antônio Vasconcelos Rego, Antonio C. Pavão, Lia Giraldo da Silva Augusto, *Revista Baiana de Saúde Pública*, 31,68 (2007).
- Cheila Nataly Galindo Bedor, Lara Oliveira Ramos, Paulo José Pereira, Marco Toxicologia, Lourival Larini, Segunda edição, Ed.Manole LTDA (1995).
- www.cacheresearch.com/brochures/MOPACbrochures.pdf.
- Gary M. Williams, *Toxicology*, 166, 3 (2001).
- Divisão de Meio Ambiente a Ecologia Humana; Brasília Organização Pan-Americana da Saúde Representação no Brasil; (1997).
- Elizabeth K. Weisburger, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*18, 395 (1978).
- Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro: INCA, (2009).
- Elizabeth C. Miller; James A. Miller, *Cancer*, 47, 1055 (1981).
- <http://www.epa.gov/pesticides/health/cancerfs.htm>, acessado em agosto (2010).

Fernanda V. Almeida; Alberto J. Centeno; Márcia Cristina Bisinoti; Wilson F.Jardim, *Quim.Nova*,30,1976 (2007).

www.fiocruz.br, acessado em agosto (2010).

Fundamentos de toxicologia, Seizi Oga, Márcia Maria de Almeida Camargo, José The History of cancer, American Cancer Society, www.cancer.org,acessado em agosto (2010).

Gomes Carneiro M. R.; Ribeiro Pinto, L. F.; Paumgarttem, F. J. R, *Cad. Saúde Públ.*, Rio de Janeiro, 13, 27 (1997).

L. S. Gold, T.H. Slone, Ames, B.N., and Manley, N.B. Pesticide Residues in Food and Cancer Risk: A Critical Analysis. In: Handbook of Pesticide Toxicology, Second Edition (R. Krieger, ed.), San Diego, CA: Academic Press, pp. 799-843 (2001).

Gabriela L. Borosky, *J. Org. Chem.*, 64, 7738 (1999).

George P. Ford, *J. Mol. Structure*, 401, 253 (1997).

Isabel Cristina Sales Fontes Jardim; Juliano de Almeida Andrade; Sonia Claudia do Nascimento de Queiroz, *Quim. Nova*, 32, 996 (2009).

<http://www.inca.org.br/cancer>, acessado em agosto (2009).

James E. Klaunig; *J. Agric. Food Chem.*, 56, 5984 (2008).

J. G. Heathcote, J. R. Hibbert, *Br. J. Cancer*, 29, 470 (1974).

Kaufman J. J., Hariharan P. C., Koski W. S., Balasubramanian K., *Prog Clin Biol Res.* 172A, 263 (1985).

Nelson, D. L.; Cox, M. M., **Lehninger Principles of Biochemistry**. 5th ed. W. H. Freeman: New York, 2008.

Lawrence A. Loeb; Curtis C. Harris, *Cancer Res*, 68, 6863(2008).

Linus Pauling and the Chemistry of Life, Tom Hager, Oxford University New York (1998).

Linus Pauling, *Pure & App.Chem.*, 61,2171 (1989).

Linus Pauling, *Physic XV*, 1-2, 23 (1949).

Linus Pauling, *J. Solid State Chem.*,54,297 (1984).

Lyria Mori, *Ciência Hoje*, 30, 33 (2002).

M. C. B. Leão; R. L. Longo; A. C. Pavão, *J.Mol.Structure*, 490, 145 (1999).

M.C.B.Leão; A. C. Pavão, *J.Mol.Structure*, 593, 297 (2001).

M.B.C. Leão; A.C. Pavão; V.A.A. Espinoza; C.A. Taftc; E.P. Bulnes, *J. Mol. Structure*, 719, 129 (2005).

Molecular Biology of human cancers an advanced students textbook, Wolfgang Arthur Schuz, Springer (2007).

Mojca Kržana e Janez Mavri, *Croat. Chem. Acta*, 82, 317 (2009).

Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos, Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância Sanitária; Departamento Técnico-Normativo;

Manual de Vigilância da saúde de populações Sanitária expostas a agrotóxicos (1997).

Michael B. Sullivan; Christopher J. Cramer, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 5588 (2000).

Urban Bren, F. Peter Guengerich, Janez Mavri, *Chem. Res. Toxicol.*, 20, 1134 (2007).

Neal J.J., WU D. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 50, 43 (1994).

Nigel J. Gooderham; Paul L. Carmichael, *The Cancer Handbook*, 2ª Edição, Ed. John Wiley & Sons, (2007).

www.oms.org/Organização Mundial de Saúde, acessado em abril (2009).

Os Pesticidas, o homem e o meio ambiente, Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, Ed. UFV (2004).

Paula A. Oliveira; Aura Colaço; Raquel Chaves; Henrique Guedes Pinto; Luis F. De La Cruz P; Carlos Lopes, *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 79, 593 (2007).

P. K. Shukla & P. C. Mishra, *Theor Chem Acc*, 125, 269 (2010).

Piotr Cysewski, *J. Mol. Structure*, 863, 16 (2008).

Panayiotidis, *Cancer Letters*, 266, 6 (2008).

Pelucchi et al, *Int. J. Cancer*, 118, 467 (2006).

Ricardo Ferreira; Bates Darwin, Wallace e a Teoria da Evolução; 1ª Edição Editora Unb (1990).

Ricardo Ferreira, Watson e Crick; A História da Descoberta da Estrutura do DNA; 1ª Edição, Editora Odysseus, (2003).

Rosalind, E.; Franklin, R. G. Gosling., *Nature*, 171, 156 (1953).

Revista Super Interessante, edição 206, novembro (2004).

Rodrigo Franco, Onard Schoneveld, Alexandros G. Georgakilas, Mihalis I.

Situação do câncer no Brasil, Radis Publicação em saúde-FIOCRUZ, Nº 52 • Dezembro (2006).

Sérgio Marcos Sanches; Carlos Henrique Tomich de Paula da Silva; Sandro Xavier de Campos; Eny Maria Vieira, *Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente*, 13, 53 (2003).

Vigilância do Câncer relacionado ao trabalho e ao meio ambiente, Ministério da Saúde; Instituto Nacional do Câncer (INCA), Rio de Janeiro, (2006).

<http://www.who.int/en/>, acessado em maio (2009).

Zhong-Zhi Yang; Shi-Fei Qi; Dong-Xia Zhao; Li-Dong Gong, *J. Phys. Chem. B*, 113, 254 (2009).

Pavel N. D'Yachkov; Nina V. Kharchevnikova; Zoya I. Zholdakova; Nathalia Fjodorova; Mariana Novich; Marian Vrachko, *International Journal of Quantum Chemistry*, 110, 1402 (2010).

J.R. Mohallem; R.O. Vianna; A.D. Quintão; A.C. Pavão; R. McWeeny, *Z. J. Phys. Chem. D*, 42, 135 (1997).

J.J.P. Stewart, MOPAC 93.00 Manual, Fujitsu Limited, Tokyo, Japan (1993).

Química: Um curso Universitário, Bruce M. Mahan, Rolie J. Myers, Ed. Edgarda Blücher LTDA, 4a edição (1995).

<http://www-history.mcs.stand.ac.uk/Thumbnails/Hartree.jpg>, acessado em julho de (2010).

<http://www.mathsoc.spb.ru/pantheon/fock>, acessado em julho (2010).

Rogério Custodio e colaboradores; www.chemkeys.com; material didático, acessado em setembro (2009).

Química Quântica, Fundamentos e Aplicações; Milan Trsic, Melissa F. Siqueira Pinto, Ed. Manole – Barueri, SP (2009).

Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular, Eds. Nelson H. Morgon e Kaline Coutinho, Ed. Livraria da Física - São Paulo (2007).

<http://chicagoacs.net/inMemory/inmemory.html>, acessada em julho (2010).

James J. P. Stewart, *J Mol Model*, 13, 1173 (2007).

M.J.S. Dewar, E.G. Zoebisch, E.F. Healy, J.J.P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.*, 107, 3902 (1985).

Gerd B. Rocha; Ricardo O. Freire; Alfredo M. Simas; James J. P. Stewart, *J. Comput Chem* 27, 1101 (2006).

Toshiya Okajima, Yoko Shirakawa, Akane Hashikawa, *J. Molecular Structure*, 00, 1 (2001).