

Propriedades estruturais, eletrônicas e vibracionais da molécula do herbicida Glifosato.

Ana Alice da Silva Câmara* (Graduanda em Ciência e Tecnologia na Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA)

Erlania Lima de Oliveira (Prof. Ad. do DCEN na Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA);

Roner Ferreira da Costa (Prof. Ad. do DCEN na Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA);

Francisco Franciné Maia Júnior (Prof. Ad. do DCEN na Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA);

Eveline Matias Bezerra (Bolsista Pós-Doc do DBF na Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN);

Valder Nogueira Freire (Prof. Assoc. do DF na Universidade Federal do Ceará - UFC).

* Email: anaalice_26@hotmail.com

Resumo:

O glifosato [n-(fosfonometil) glicina] é um herbicida não-seletivo cuja fórmula molecular é $C_3H_8NO_5P$ e é utilizado para controlar plantas daninhas (anuais ou perenes). Ele é absorvido pela folhagem e transportado por toda a planta, assim nenhuma parte da planta sobrevive. Atualmente, representa 60% do mercado mundial de herbicidas não seletivos, contabilizando um total de US\$1,2 bilhão/ano em vendas, e é uma das melhores relações custo / benefício para o produtor rural, quando comparado aos outros métodos de controle de plantas daninhas. O glifosato atua inibindo a enzima EPSPS (5-enolpiruvato-chiquimato-3-fosfato sintase) que sintetiza os aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano, essenciais ao crescimento das plantas e não presente em mamíferos. Portanto, dependendo da dose, não é tóxico para esses seres. Além disso, o glyphosate possui propriedades favoráveis para o meio ambiente. Ele se liga firmemente ao solo, desta forma possui pouca mobilidade no solo, não atingindo águas subterrâneas. Também possui biodegradação microbiana em solo e água, alta solubilidade em água e é não volátil, portanto, não há contaminação atmosférica. Por outro lado, há evidências de efeitos deletérios no meio ambiente após o uso prolongado deste herbicida, principalmente devido à resistência ao glifosato adquirida por algumas espécies de ervas. Neste trabalho, utilizamos simulações computacionais para investigar as propriedades estrutural, eletrônica e vibracional do herbicida glifosato, pois é extremamente importante compreender como este herbicida funciona em nível molecular e como desencadeia os efeitos deletérios. Em particular, comparamos a teoria e os experimentos das propriedades vibracional e conformacional do glifosato com a variação do pH. Aqui, estudamos duas estruturas protonadas do glifosato: Gly^{-1} (pH=4.8) e Gly^{-2} (pH=8.0). Apresentamos os espectros infravermelho (IR) e o Raman que tornou possível a identificação dos conformeros para cada estado de protonação. Cálculos *Ab initio* foram feitos através da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) com o funcional híbrido da densidade, o B3LYP, aplicando o conjunto de base 3-21G no vácuo e no meio aquoso, utilizando o modelo contínuo de solvatação (PCM, *Polarizable Continuum Model*). Os resultados mostraram a eficiência da metodologia RPES para uma busca racional de conformeros para o glifosato (Gly^{-1} e Gly^{-2}), pois as conformações mais estáveis no modelo PCM são C_1 e D_1 e na fase gasosa são C_2 e D_3 . O modelo PCM demonstrou ser importante para a estabilidade relativa da conformação C_1 . Foram obtidos os espectros teóricos para o Gly^{-1} e Gly^{-2} . Os modos foram designados para todas as bandas entre 0 e 3600 cm^{-1} .

Palavras-chave:

Glifosato; DFT; Propriedades estruturais; Propriedades eletrônicas.

1. Introdução

As plantas daninhas constituem um sério problema na agricultura mundial, acarretando grandes prejuízos na produtividade agrícola. No entanto, com o desenvolvimento da indústria de herbicidas houve um aumento expressivo do controle dessas plantas utilizando produtos químicos. A preferência por este método de controle justifica-se por ser prático, rápido e eficaz. Sendo assim, a utilização de plantas geneticamente modificadas com tolerância a herbicidas não seletivos, passa a ser uma nova ferramenta dentro deste contexto, pois os mesmos podem ser aplicados sobre a planta durante sua fase de desenvolvimento vegetativo sem causar danos. Um destes herbicidas não seletivos é o glifosato [n-(fosfonometil) glicina], cujo nome comercial é Roundup e sua fórmula molecular é $C_3H_8NO_5P$ (SIKORSKI, 1997). Este herbicida é utilizado para controlar plantas daninhas (anuais ou perenes). Ele é absorvido pela folhagem e transportado por toda a planta, assim nenhuma parte da planta sobrevive. Atualmente, representa 60% do mercado mundial de herbicidas não seletivos, contabilizando um total de US\$1,2 bilhão/ano em vendas, e é uma das melhores relações custo / benefício para o produtor rural, quando comparado aos outros métodos de controle de plantas daninhas espécies (POLLEGIONI, 2011).

O glifosato atua inibindo a enzima EPSP (5-enolpiruvato-chiquimato-3-fosfato sintase) que sintetiza os aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano, essenciais ao crescimento plantas e não presente em mamíferos (SIKORSKI, 1997; KALIANNAN, 2002). Portanto, dependendo da dose, não é tóxico para esses seres (BAYLIS, 2000). Além disso, o glifosato possui propriedades favoráveis para o meio ambiente. Ele se liga firmemente ao solo, desta forma possui pouca mobilidade no solo, não atingindo águas subterrâneas (DUKE, 2008). Também possui biodegradação microbiana em solo e água (RUEPPEL, 1977), alta solubilidade em água (PIRIYAPITTAYA, 2008). Apesar de todas estas propriedades favoráveis, aspectos importantes como os custos ambientais e sociais decorrentes do uso de pesticidas devem ser considerados, pois há evidências de efeitos deletérios no ambiente, após o uso prolongado deste herbicida, principalmente devido à resistência adquirida por algumas espécies de plantas (BAYLIS, 2000). A aplicação de glifosato pode resultar na presença de resíduos tanto na colheita quanto em animais usados na alimentação humana. Na literatura há resultados bastante controversos sobre o efeito do glifosato na saúde humana.

De acordo com um estudo realizado por Hardell *et al.* (1999) há uma associação da exposição prolongada ao glifosato com o linfoma non-Hodgkin, uma forma de câncer. Todavia, Mink *et al.* (2012) não encontraram nenhuma associação entre o risco de desenvolver câncer em seres humanos e a exposição ao glifosato. Outros trabalhos já relacionam a exposição ao glifosato com o mal de Parkinson (WANG, 2011) e recentemente Negga *et al.* (2011) observaram que a exposição ao glifosato pode resultar em neurodegeneração em *Caenorhabditis elegans*. Com isso, podemos verificar que a enorme e generalizada utilização de pesticidas é preocupante devido aos efeitos prejudiciais dos mesmos para o meio ambiente e para a saúde humana.

O objetivo deste trabalho é utilizar simulações computacionais para estudar as propriedades complexantes do glifosato, pois é de extrema importância compreender o comportamento deste herbicida nas plantas e no solo visando avaliar formas de minimizar os efeitos deletérios do mesmo. Para isto, é preciso entender o funcionamento a nível molecular do glifosato. Em particular, faremos uma comparação entre o estudo teórico e experimental das propriedades vibracionais e conformacionais de duas estruturas protonadas do glifosato: Gly^{-1} (pH=4.0) e Gly^{-2} (pH=8.0) (ver Fig. 1). Também obtivemos os espectros infravermelho (IR) e Raman que tornam possível a identificação dos conformeros para cada estado de protonação.

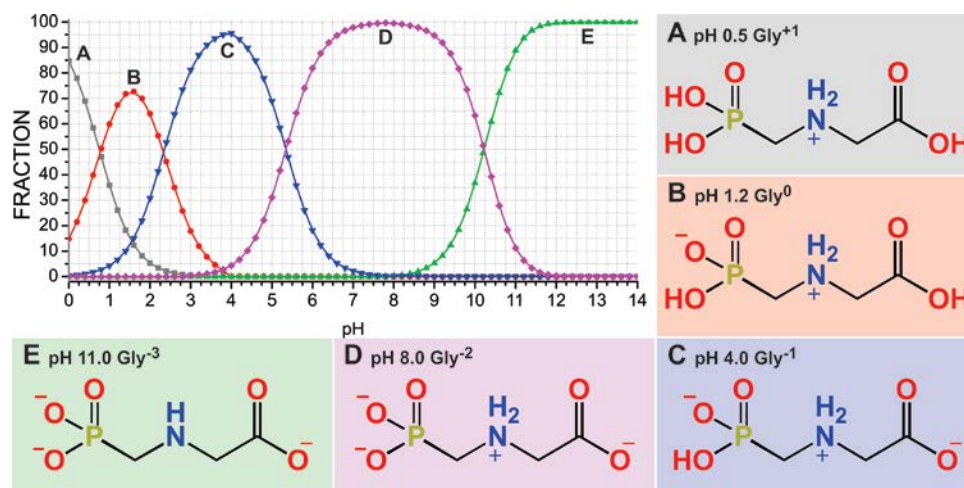


Figura 1: Estrutura de espécies de dissociação da molécula de glifosato.
Fonte: Autoria própria

1.1 Cálculos teóricos

Uma vez, que a retenção e a degradação de herbicidas em solos e nos alimentos são afetadas por várias propriedades físico-químicas, incluindo o pH. O primeiro passo de nossos cálculos foi realizar um estudo conformacional das estruturas protonadas do Glifosato (Gly⁻¹ e Gly⁻²). Para cada uma dessas estruturas definimos o ângulo diédrico por ϕ (C2-C3-N4-C5) e ψ (C3-N4-C5-P6) e então realizamos um cálculo do scan relaxado na superfície de energia potencial (RPES, "Relaxed Potential Energy Surface Scan") através da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) com o funcional híbrido da densidade o B3LYP aplicando-se o conjunto de base 3-21G no vácuo e no meio aquoso, utilizando-se o modelo contínuo de solvatação (PCM, *Polarizable Continuum Model*). As energias foram calculadas a partir da variação torcional dos ângulos ϕ e ψ de -180° a $+180^\circ$ com o passo de 20° deixando a estrutura relaxada. As estruturas mais estáveis encontradas foram reotimizadas e a partir destas os espectros infravermelho e Raman o Glifosato em diferentes pHs foram obtidos. Todos os cálculos foram realizados utilizando o Gaussian 09 code (FRISCH, 2009) implementados no supercomputador do CENAPAD-UFC.

1.2 Resultados e Discussões

A energia conformacional gerada por Gly⁻¹ e Gly⁻² é mostrada nos Gráficos 1 e 2, respectivamente. No Gráfico 1 pode-se notar que para o Gly⁻¹ o mínimo ocorre a 94(229) no vácuo (PCM) e as estruturas protonadas de menor energia correspondentes são mostradas nas Figuras 2a e 2b. Enquanto para o Gly⁻² (Gráfico 2) o mínimo ocorre a 125(66) para o vácuo (PCM) e as estruturas protonadas de menor energia correspondentes ao Gly⁻² são mostradas nas Figura 2c e 2e. Outro mínimo também foi observado a 229(142) para o vácuo (PCM) com energia relativa de 0.169 kcal/mol (0.389 kcal/mol).

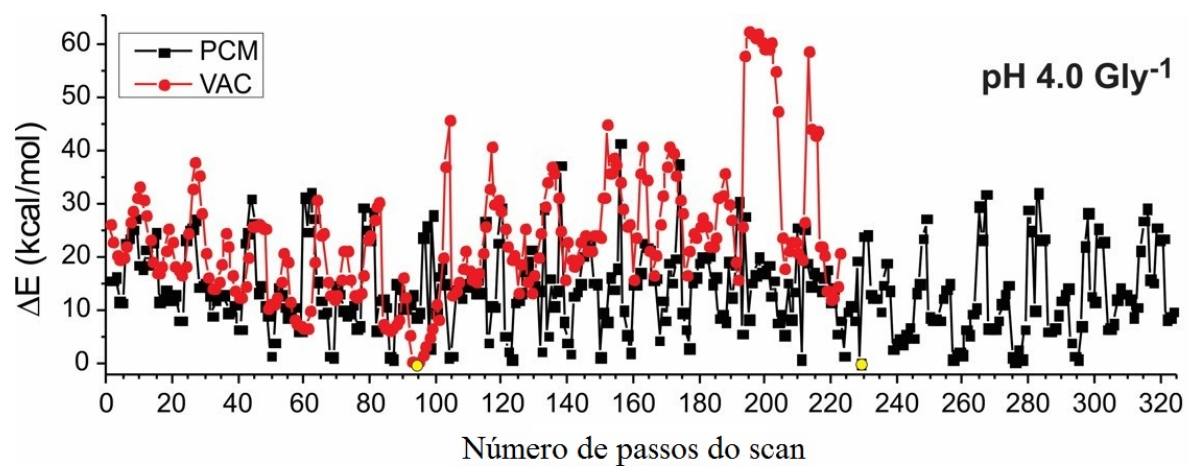


Gráfico 1: Energia conformacional gerada por Gly⁻¹
 Fonte: Autoria própria

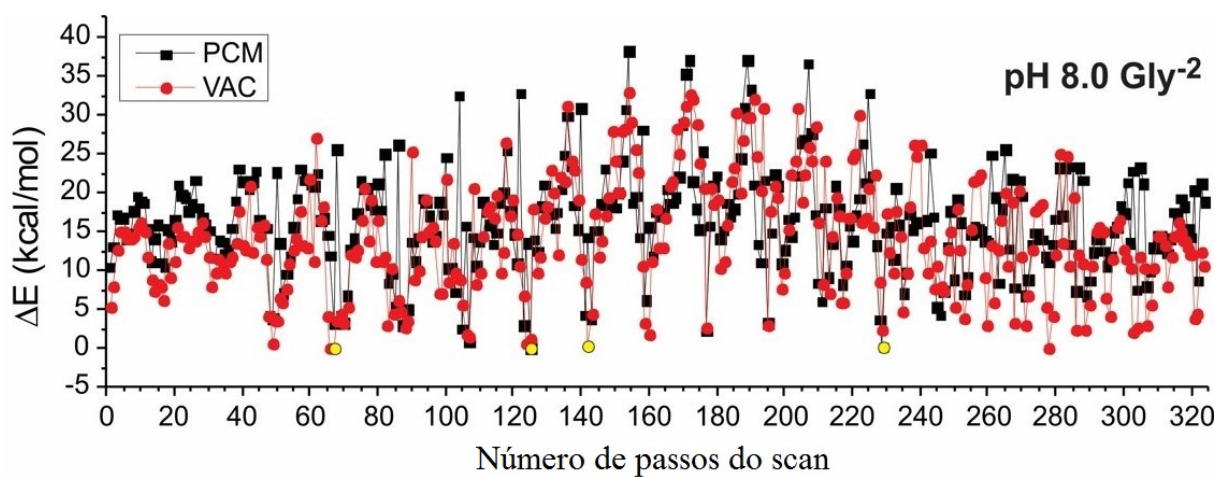


Gráfico 2: Energia conformacional gerada por Gly⁻².
 Fonte: Autoria própria

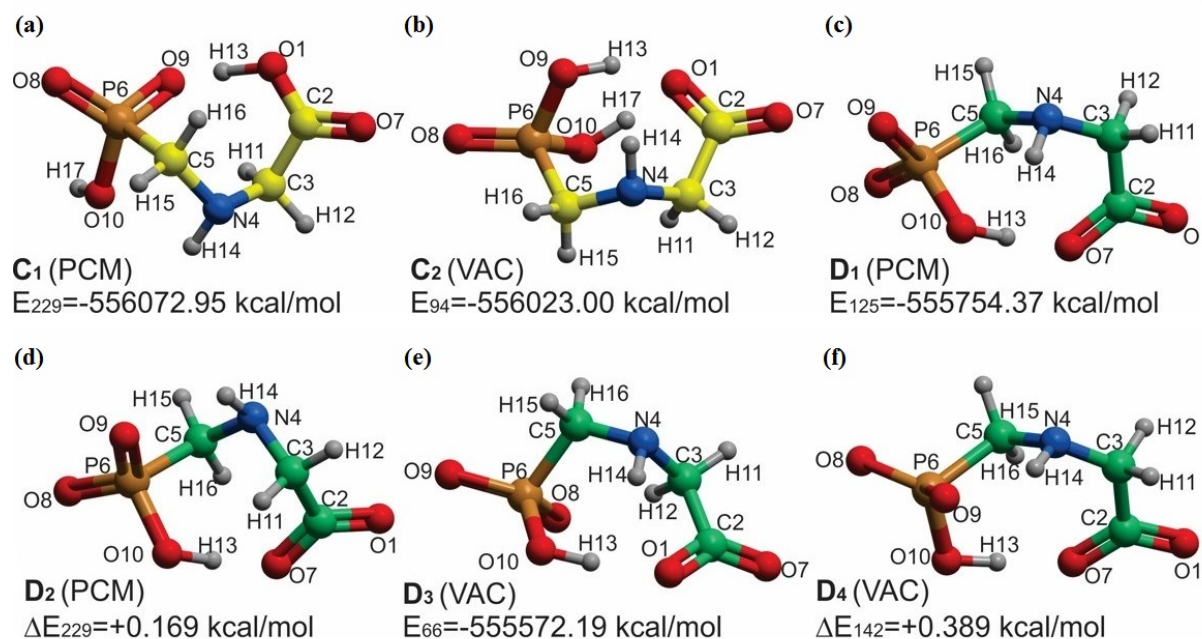


Figura 2: Estruturas protonadas de menor energia do Gly⁻¹ para PCM (a) e vácuo(b); Estruturas protonadas de menor energia do Gly⁻² para PCM (c-d) e vácuo (e-f).
Fonte: Autoria própria

A partir da estrutura otimizada, o espectro infravermelho e Ramam do glifosato (Gly⁻¹ e Gly⁻²) foram calculados na faixa espectral 0-3600 cm⁻¹ (Figura 3).

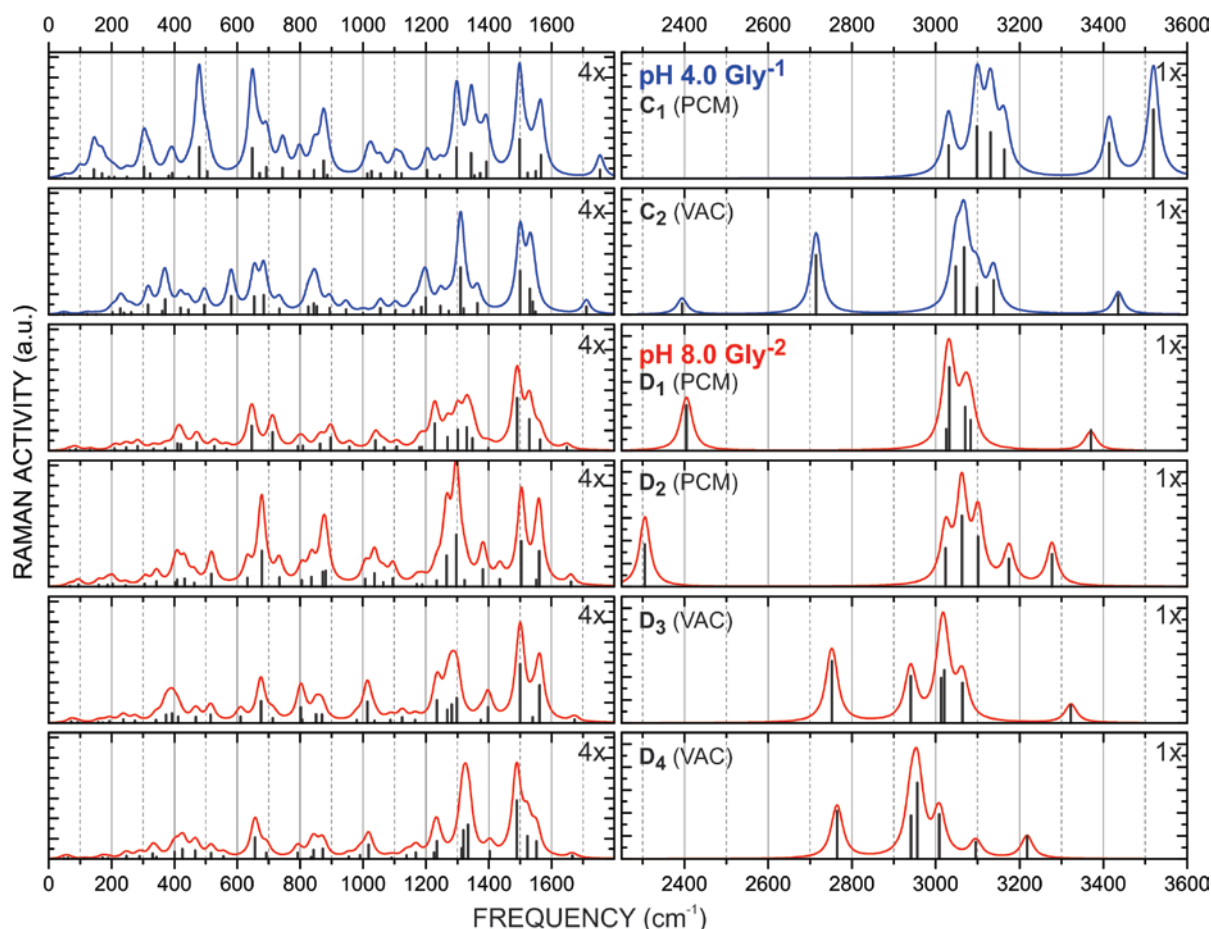


Figura 3: Intensidade do espectro infravermelho e do espectro Ramam do glifosato (Gly^{-1} e Gly^{-2}).
Fonte: Autoria própria

1.3 Conclusão

Nesse estudo, otimizamos a geometria molecular do glifosato e os números de onda com o Gaussian09, que foi calculado usando a base DFT/3-21G em fase gasosa e nível PCM (água). A eficiência da metodologia RPESS para uma busca racional de conformeros para o glifosato (Gly^{-1} e Gly^{-2}) é demonstrada, pois as conformações mais estáveis no modelo PCM são C1 e D1 e na fase gasosa são C2 e D3. O modelo PCM demonstrou ser importante para a estabilidade relativa da conformação C1. Foram obtidos os espectros teóricos para o Gly^{-1} e Gly^{-2} . Os modos foram designados para todas as bandas entre 0 e 3600 cm^{-1} . Este trabalho será benéfico para a natureza do aprofundamento da molécula de glifosato e promover a investigação da molécula de glifosato no campo de resíduos de pesticidas.

Approaching the Glyphosate Herbicide: Structural, Electronic, and Vibrational Properties

Abstract: The Glyphosate [n-(Phosphometil) Glycine] is a non-selective herbicide, which the molecular form is $\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P}$ and it has been utilized to control the weeds (yearly or perennial). It is absorbed by the foliage and it is transported to all the plant, in this way none part of the plant survives. Currently, represents 60% of the world market of non-selective herbicides, with a total of US\$1.2 billion/year in

the sales, and it is one of the best cost benefit relation for the rural producer, when compared to the other methods of weed control. The Glyphosate act restraining the EPSPS enzyme (5-enolpyruvate-chiquimate-3-phosphate synthase) that synthesize the aromatic amino acids known as Phenylalanine, tyrosine, tryptophan, essential for the plant growing and absent in mammals. Therefore, depending on the dose, is not toxic for these beings. Beyond that, the Glyphosate has many favorable proprieties to the environment. It links firmly on the soil, and because of this, it has low mobility on it, without achieving the sub terrain water reserves. It has also microbial biodegradation in the soil, and also in the water, high water solubility and it is nonvolatile, that is why it has no environment contamination. On the other hand, there are evidences of the damaging effect on the environment, when this compound is utilized for a long time, mainly because of the glyphosate resistance acquired by some herbal species. In this project, we are using computational simulations to investigate the structural, electronic and vibrational proprieties of the glyphosate herbicide, because its extremely important to comprehend how this herbicide works at a molecular level and how it trigs the damaging effects. In particular, we compare the theory and the experiments of the vibrational and conformational proprieties of the glyphosate with the pH variation. Here, we studied two glyphosate protonated structures: Gly⁻¹ (pH=4.8), Gly⁻² (pH=8.0). We presented the infrared (IR) spectra and Raman that makes possible the identification of the conformers to the protonation state. *Ab initio* Calculations were made by the Density Functional Theory (DFT) with the hybrid functional of density, the B3LYP, applying the 3-21G base set in the vacuum and in the water, utilizing the Polarized Continuum Model (PCM). The results showed efficiency of a RPES methodology for a rational search of conformers for the glyphosate (Gly⁻¹ and Gly⁻²) is demonstrated, since the most stable C₁ and D₁ conformations in PCM model and C₂ and D₃ conformations in gas phase were found using this protocol. The PCM model demonstrated to be important for the relative stabilities of the conformation C₁. The theoretical spectra of the glyphosate with the Gly⁻¹ and Gly⁻² were obtained. Modes were assigned to all bands between 0 and 3600 cm⁻¹.

Keywords: Glyphosate; DFT; Herbicide; Structural proprieties; Eletronic proprieties.

Referências bibliográficas

- SIKORDKI, J. A.; GRUYS, K. Understanding Glyphosate's molecular mode of action with EPSP synthase: evidence favoring an allosteric inhibitor model. **Accounts of Chemical Research**, v. 30, n.1, 1997.
- POLLEGIONI, L., SCHONBRUNN, E. e SIEHL, D., Molecular basis of glyphosate resistance – different approaches through protein engineering. **FEBS Journal**, v. 278, 2011.
- KALIANNAN, P. *et al.*, Electronic structure and conformational of glyphosate: an ab initio MO study. **Journal of Molecular Structure**, 2002.
- BAYLIS, A. D., Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects. **Pest Management Science**, v.56, 2000.
- DUKE, S. O. e POWLES, S. B., Glyphosate-Resistant Weeds and Crops. **Pest Management Science**, v. 64, 2008.
- RUEPPEL, M. L., *et al.*, Metabolism and degradation of glyphosphate in soil and water. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 25, n. 3, 1977.
- PIRIYAPITTAYA, M., *et al.*, Micro-scale membrane extraction of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water followed by high-performance liquid chromatography and post-column derivatization with fluorescence detector. **Journal of Chromatography A**, v. 1189, 2008.

HARDELL, L. e Eriksson, M., A case-control study of non-Hodgkin lymphoma and exposure to pesticides. **American Cancer Society**, v. 85, n.6, 1999.

MINK, P. J., *et al.*, Epidemiologic studies of glyphosate and cancer: A review. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.63, 2012.

WANG, G., *et al.*, Parkinsonism after chronic occupational exposure to glyphosate. **Parkinsonism & Related Disorders**, v. 17, n. 6, 2011.

FRISCH, M. J., TRUCKS, G.W., e SCHLEGEL, H. B. *et al.*, Gaussian 09 Revision A.1, Gaussian Inc. Wallingford CT, 2009.

JIN, M., SONG, W., LIU, Y., GUO, M., TAN, Y., LIU, L., LI, C. Raman Spectrum Calculation and Analysis of glyphosate. **International Conference on Manipulation, Manufacturing and Measurement on the Nanoscale**. 2012.

FILHO, E. B. A., VENTURA, E., DO MONTE, S. A., OLIVEIRA, B. G., JUNIOR, C. G. L., ROCHA, G. B., VASCONCELLOS, M. L.A.A. Synthesis and conformational study of a new class of highly bioactive compounds. **Chemical Physics Letters**, v.449, 2007.

MARTIN, M.J.S, *et al.*, Glyphosate-hydrotalcite interaction as influenced by pH. **Clays and Clay Minerals**, v. 47, n. 6, 1999.