



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

**CENTRO DE CIÊNCIAS**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ANTÔNIO AURÉLIO GOMES MOREIRA**

**QUÍMICA E BIOQUÍMICA QUÂNTICA DO AGROTÓXICO IMIDACLOPRIDO: O  
MATADOR DE ABELHAS**

**FORTALEZA**

**2017**

ANTÔNIO AURÉLIO GOMES MOREIRA

QUÍMICA E BIOQUÍMICA QUÂNTICA DO AGROTÓXICO IMIDACLOPRIDO: O  
MATADOR DE ABELHAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química. Área de concentração: Química computacional.

Orientador: Prof. D.r Pedro de Lima-Neto.

Coorientador: Prof. D.r Valder Nogueira Freire.

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- M836q Moreira, Antônio Aurélio Gomes.  
Química e bioquímica quântica do agrotóxico imidacloprido : o matador de abelhas / Antônio Aurélio Gomes Moreira. – 2017.  
258 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2017.  
Orientação: Prof. Dr. Pedro de Lima-Neto.  
Coorientação: Prof. Dr. Valder Nogueira Freire.
1. Neonicotinóides. 2. Imidacloprido. 3. Abelha. 4. MFCC. 5. receptor nAChR. I. Título.

CDD 540

---

ANTÔNIO AURÉLIO GOMES MOREIRA

QUÍMICA E BIOQUÍMICA QUÂNTICA DO AGROTÓXICO IMIDACLOPRIDO: O  
MATADOR DE ABELHAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química. Área de concentração: Química computacional.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. D.r Pedro de Lima-Neto (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. D.r Valder Nogueira Freire  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. D.r Paulo de Tarso Cavalcante Freire  
Universidade Estadual do Ceará (UFC)

---

Prof. D.r Paulo Naftali da Silva Casciano  
Universidade Estadual do Ceará (UFC)

---

Prof. D.r Emmanuel Silva Marinho  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

À minha família... Ao meu pai, Antônio, símbolo da esperança e do amor. À minha mãe, Adelina, símbolo da fé e do amor. Às minhas irmãs: Eliane, Cristina, Francisca, Cristiane e Cleane, símbolo da união. À minha esposa, Jacilene, símbolo da amizade e da agregação.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, D.r Pedro de Lima-Neto e D.r Valder Nogueira Freire, por terem me acolhido em seus grupos de pesquisa, pela confiança em mim depositada, pela orientação direta e específica ao trabalho, e pela orientação profissional e pessoal, ou seja, por terem me guiado, aconselhado, ... me ajudado. Agradeço aos meus orientadores pela participação que tiveram no meu despertar para a importância da autonomia profissional e da escrita científica, essa última, muitas vezes, torna-se uma barreira intransponível nos cursos de Pós-Graduação no Brasil.

Agradeço ao colaborador, o professor D.r Ewerton Wagner Santos Caetano, pelo empenho na correção dos trabalhos, por estar aberto a ajudar diante das dúvidas, principalmente com relação aos conceitos, fundamentos e princípios da físico-química computacional. Agradeço pelo empenho e contribuição dada ao grupo de pesquisa, pois a todos beneficia.

Também agradeço de forma especial ao D.r Ito Liberato Barroso-Neto, por ter sido um amigo e companheiro de trabalho, aberto às discussões, perspectivas e questionamentos, uma figura importante no meu aprendizado da escrita científica, que apenas começou. Agradeço por sugerir, muitas vezes, ideias para solução de problemas, principalmente sobre a temática da bioquímica de proteínas e interações.

Àqueles que contribuíram de forma indireta, minha esposa Antônia Jacilene Silva de Maria, por seu apoio, confiança, fé em mim depositada, estímulo, carinho, respeito, paciência e amor... À minha irmã, D.ra Cleane Gomes Moreira, por compartilhar comigo as vivências da Pós-Graduação, por nossas conversas, pelo amor, carinho e afetividade... Ao meu cunhado, M.e Lineker Costa Passos, por nossas conversas instigantes, filosóficas, políticas, conversas de descobrimento e de autoconhecimento, agradeço pelo incentivo, pelo respeito.

Aos amigos do grupo de Química teórica (GQT) do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da UFC, e aos amigos do grupo (Labinítio) de modelagem molecular do Departamento de Física da UFC: D.r Ricardo Pires dos Santos, D.r Agmael Mendonça Silva, D.r Bruno Lopes de Sousa, D.r Eduardo Henrique Salviano Bezerra, D.r Geancarlo Zanatta, M.e Bruno Poti e Silva, D.r Roner Ferreira da Costa, D.ra Eveline Matias Bezerra, M.e Stefane Nunes Costa; agradeço aos amigos D.r Thiago dos Santos Francisco e D.r Francisco Adilson Matos Sales, pelas medidas experimentais realizadas; às alunas de iniciação científica Thais Martins Oliveira Mesquita, Letícia de Oliveira Santos,

Letícia de Castro Viana e Rebeca de Araújo Silva. Agradeço a esses amigos pelos momentos de descontração e pelas importantes contribuições dadas por todos, desde as discussões profissionais até as discussões mais simples e pessoais.

Em especial, agradeço à D.ra Ana Caroline Vasconcelos Martins e ao D.r Glaydson Leandro Farias Mendonça, pela receptividade quando entrei no grupo de química teórica (GQT). À Caroline Martins por ter me ajudado no desenvolvimento do trabalho sobre proteínas e interações.

Agradeço ao amigo, M.e Mauricélio Bezerra da Silva, pelas diversas vezes que esteve disponível a ajudar no que diz respeito ao trabalho de modelagem de cristais. Agradeço ao amigo pelos momentos de descontração.

Agradeço aos amigos M.e Lute Rafael de Souza e M.e Leonardo Farias Serafim, pelo companheirismo. Por termos iniciado o trabalho juntos, ambos tivemos o importante papel de ajudar, sustentar, aconselhar e conversar. Agradeço aos amigos pelos momentos de descontração.

Agradeço ao amigo M.e Adailton Azevêdo Araújo Filho, jovem e potencial cientista. Agradeço pelo respeito, admiração, receptividade e momentos de descontração.

Ao D.r Francisco Tiago Leitão Muniz, amigo aventureiro..., parceiro desde os tempos de graduação na Universidade Estadual Vale do Acaraú, tempos de “descobrimento”.

Ao professor D.r Alejandro Pedro Ayala, por ceder sua equipe técnica e disponibilizar seus equipamentos para as medidas de infravermelho e Raman; agradeço à Maria Silmara Alves de Santana, pelas medidas experimentais realizadas.

Ao Departamento de Química Analítica e Físico-Química da UFC. Ao empenho dos coordenadores do programa de Pós-Graduação neste período em que estive presente, os professores D.r Marcos Carlos de Mattos e D.r Luiz Gonzaga de França Lopes. Aos secretários do curso de Pós-Graduação, Célia Regina Xavier de Sena e José Orlando Soares de Oliveira.

Ao CENAPAD-UFC, por fornecer os recursos computacionais necessários para a execução do projeto; à equipe CENAPAD-UFC, exemplo de cooperativismo e profissionalismo.

À CAPES, pelo apoio financeiro sem o qual este projeto não teria sido desenvolvido.

Ao manifesto e ao não manifesto (a intenção, a ideia, a palavra, a força, o verbo, o equilíbrio, ...).

“A universidade precisa ajudar o Brasil a entrar em uma nova visão da ciência, tecnologia e inovação que é o fato de que nós precisamos transformar as pesquisas nas universidades em solução para os problemas brasileiros e em geração de riqueza para o país” (Mario Neto Borges, presidente do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq; 5ª Jornada UnB de Inovação).



## RESUMO

Danos causados por insetos na agricultura são um problema reconhecido historicamente. O desenvolvimento de áreas da ciência tornou possível a fabricação de produtos eficientes no controle de pragas. O imidacloprido, primeiro inseticida neonicotinóide, está entre os produtos mais consumidos no mercado mundial de agroquímicos. No entanto, estudos mostram que há relação entre o uso do imidacloprido e a morte das abelhas, importantes polinizadores. As características estruturais e eletrônicas do imidacloprido são essenciais para o entendimento de sua interação com aminoácidos dos receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChRs). Neste trabalho, o estudo conformacional da molécula isolada do imidacloprido foi realizado no escopo da teoria do funcional da densidade (DFT), funcionais M06-2X e B3LYP (solvatação PCM e vácuo), no código Gaussian 09. A energia da célula unitária do cristal foi minimizada utilizando as parametrizações LDA-CAPZ e GGA-PBE-TS, implementadas no código CASTEP. As propriedades estruturais, eletrônicas, ópticas e vibracionais da molécula e do cristal foram calculadas e comparadas aos dados experimentais. Além disso, realizou-se o estudo da interação entre o imidacloprido e resíduos do domínio de ligação AChBP da *Aplysia californica*, homólogo aos receptores nAChRs. As energias de interação foram calculadas aplicando a parametrização DFT fornecida pelos funcionais GGA-PW91-OBS (modelo de solvatação COSMO), no código Dmol<sup>3</sup>. O sistema proteico foi dividido em partes menores, empregando o método de fragmentação com capas conjugadas (MFCC). No cálculo das energias de interação, utilizou-se a constante dielétrica variável (inomogênea) e fixa. A análise conformacional com o funcional M06-2X forneceu quatro estruturas (uma na fase gás e três no modelo PCM); já com o funcional B3LYP foram encontrados dois confôrmeros na fase gás e dois no modelo PCM. A análise populacional de Hirshfeld mostra que o nitrogênio imina tem maior carga negativa, enquanto a análise NPA indica que o nitrogênio secundário do imidazole tem maior carga negativa. Observou-se que o nitrogênio terciário do imidazole, considerado um sítio de carga positiva, tem carga -0,04e (Hirshfeld) e -0,48e (NPA). Os comprimentos das ligações nos grupos nitro e guanidina são uma indicação da deslocalização eletrônica nesses grupos. O orbital HOMO (LUMO) localiza-se no anel imidazole e cloropiridíneo (grupo nitro e guanidina). O perfil das curvas dos espectros de infravermelho e Raman calculados com os funcionais M06-2X e B3LYP tornou possível identificar diversas bandas dos espectros experimentais. A deconvolução do espectro de absorção óptica sugere que a primeira energia de excitação ocorre em 4,11 eV; à essa linha de absorção, atribuiu-se as transições eletrônicas H<sub>8</sub> -> L<sub>0</sub> (M06-2X) e H<sub>0</sub> -> L<sub>0</sub> (B3LYP). A principal linha de absorção experimental, em

4,56 eV, ocorre devido à transição  $H_0 \rightarrow L_0$  (M06-2X) e  $H_2 \rightarrow L_0$  (B3LYP). A análise da estrutura de bandas do cristal mostrou que os níveis de energia do topo da banda de valência e da região inferior da banda de condução são constituídos pelos orbitais  $p$  dos átomos de nitrogênio; a lacuna de energia entre essas bandas é de 2,72 eV (*gap* direto). A extrapolação linear da curva de absorção óptica (método de Tauc) indica que a transição da banda fundamental de absorção é direta e vale 3,50 eV. O gráfico da função dielétrica complexa mostra que a transição eletrônica que forma a banda fundamental de absorção inicia-se a partir de 2,62 eV. As bandas experimentais de infravermelho e Raman foram identificadas pela comparação com as linhas espectrais calculadas para o cristal. As energias de interação encontradas pelo método MFCC sugerem que os resíduos mais relevantes na interação com o imidacloprido são Trp147 (-19,16 kcal mol<sup>-1</sup>) e Tyr188 (-14,02 kcal mol<sup>-1</sup>), ambos pertencentes à cadeia B; enquanto na cadeia A, tem-se os resíduos Ile118 (-16,97 kcal mol<sup>-1</sup>) e Tyr55 (-5,34 kcal mol<sup>-1</sup>). Outros resíduos importantes para a interação também foram identificados (por exemplo, Ser189, Val148, Cys190, Cys191, Ile106). A blindagem promovida pelos resíduos laterais (capas) influencia a interação, logo, o método MFCC mostra-se uma ferramenta viável e de baixo custo computacional.

**Palavras-chave:** Neonicotinóides. Imidacloprido. Abelha. MFCC. Receptor. nAChR.

## ABSTRACT

Insect pest damage in agriculture are a historical problem. The development of science fields enabled the manufacture of efficient products to the pest control. Imidacloprid, the first insecticide from neonicotinoid class, is one of the largest chemical consumed on the global crop protection market. However, the imidacloprid has been blamed to cause the death of beneficial insects such as pollinator bees. The structural and electronic properties of imidacloprid are essential for understanding the interaction mechanism with amino acids residues from nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs). In this work, the conformational analysis of the imidacloprid molecule was carried out within the Density Functional Theory (DFT) approach employing either M06-2X and B3LYP functional (gas phase and PCM solvation model), in Gaussian 09 code. The energy of the crystalline unit cell was minimized using the LDA-CAPZ and GGA-PBE-TS parametrizations, implemented in the CASTEP code. The structural, electronic, optical and vibrational properties of either imidacloprid molecule and crystal were calculated and compared to the experimental data. Besides, we have assessed the interaction between imidacloprid molecule and the amino acids residues from the acetylcholine binding protein (AChBP) of freshwater *Aplysia californica* (AChBP), which is homologous to the nAChRs receptors. The interaction energies were carried out within the DFT framework by applying the GGA-PW91-OBS parameterization implemented in Dmol<sup>3</sup> code; we have used the COSMO solvation model. The binding domain AChBP was split according to the molecular fragmentation with conjugated caps (MFCC) scheme. The interaction energies calculations were performed considering a fixed value of dielectric constant and a variable value as well. The conformational analysis performed with the M06-2X functional provided four structures (one gas phase structure and three in the PCM model); otherwise, we have obtained two conformers in the gas phase and two in the PCM model as a result from B3LYP functional. The Hirshfeld population analysis (HPA) showed that imine nitrogen atom to presents the largest negative charge; while natural population analysis (NPA) has indicated that the secondary nitrogen from the imidazole ring possesses the largest negative charge. Some researchers have assumed that the tertiary nitrogen from the imidazole ring is partially positive charged, however, we have found the charges -0.04e, according to the HPA, and 0,48e as a result from NPA. The bond lengths from the guanidine and nitro moieties were all inferior to the usual bond lengths, suggesting a high degree of electron delocalization. The HOMO (LUMO) orbital is located in the imidazole and chloropyridine rings (nitro and guanidine groups). The theoretical infrared and Raman spectra obtained from either M06-2X and B3LYP functionals were helpful

to the assign the most intense experimental bands. The deconvolution of optical absorption spectrum suggests that the first excitation energy occurs at 4.11 eV; the theoretical calculations predicted that this absorption line is related to the orbital transition  $H_{-8} \rightarrow L_0$  (M06-2X) and  $H_0 \rightarrow L_0$  (B3LYP). The main experimental absorption line, at 4.56 eV, occurs owing the transition between the orbitals  $H_0 \rightarrow L_0$  (M06 2X) and  $H_2 \rightarrow L_0$  (B3LYP). The analysis of band structure showed that the energy levels at the top of the valence band and the lower region of the conduction band are originated from the nitrogen  $p$  orbitals; the direct band gap is 2.72 eV. Using the Tauc model, the absorption spectrum fitting method was employed to estimate the optical direct band gap (3.50 eV). The complex dielectric function showed that the fundamental absorption edge starts at 2.62 eV. Infrared and Raman experimental bands were assigned by comparing the experimental spectra with the vibrational lines calculated to the crystal. According to the MFCC method, the most relevant residues from chain B that interact with imidacloprid are Trp147 (-19.16 kcal mol<sup>-1</sup>) and Tyr188 (-14.02 kcal mol<sup>-1</sup>); while the most relevant residues from chain A are Ile118 (-16.97 kcal mol<sup>-1</sup>) and Tyr55 (-5.34 kcal mol<sup>-1</sup>); other relevant residues to the imidacloprid interaction encompasses Ser189, Val148, Cys190, Cys191, Ile106. The shielding promoted by the side residues (caps) significantly influence the interaction energy, hence the MFCC method is a feasible low-cost computational tool.

**Keywords:** Neonicotinoids. Imidacloprid. Bee. MFCC. Receptor. nAChR.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Precusores dos neonicotinóides: nicotina e nitiazina. Neonicotinóides de primeira geração: imidacloprido, tiacloprido, acetamiprido e nitenpiram; neonicotinóides de segunda geração: tiametoxam e clotianidina; neonicotinóide de terceira geração: dinotefurano. Grupos funcionais do imidacloprido: nitro (a), guanidina (b), anel imidazólico (c), metileno (d) e anel cloropiridíneo (e)..... 30
- Figura 2.1 – Ilustração da estrutura de receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChR) e demais receptores da família da alça cys. O símbolo N faz referência a cadeia N-terminal e C a C-terminal. As duas subunidades na cor cinza escuro são subunidades  $\alpha$  porque possuem as duas cisteínas vicinais (representadas por duas esferas). As três subunidades na cor cinza claro são subunidades não  $\alpha$  (em receptores heterômeros) ou  $\alpha$  (em receptores homômeros). As cisteínas que definem a família de receptores da alça cys são representadas por esferas ligadas por duas linhas contínuas. Os símbolos A, B e C ilustram as alças da face principal do sítio de ligação; enquanto D, E e F identificam as alças da face complementar do sítio de ligação. O ligante exógeno (dos receptores AChRs) acetilcolina (ACh) é destacado no sítio de ligação. TM1-TM4 são as cadeias transmembrana..... 45
- Figura 2.2 – Representação esquemática dos três estados conformacionais do receptor de acetilcolina (AChR) pertencente ao músculo do organismo *Torpedo californica*. Estado fechado ou em repouso: na ausência do agonista e sem condução do pulso elétrico; dessensibilizado: na presença do agonista, mas sem condução do pulso; aberto ou ativo: na presença do agonista e com condução do pulso..... 47
- Figura 2.3 – Estrutura das subunidades dos receptores AChRs e do receptor protótipo de receptores AChRs de insetos (AChBP). (a) subunidade A ou cadeia A (direita) e B (esquerda) do domínio de ligação (representação em *cartoon*) da lesma de água salgada *Aplysia californica*: o domínio é o protótipo da porção extracelular dos

receptores AChRs de insetos; o imidacloprido é mostrado no sítio de ligação (modelo de bolas e bastões). (b) ilustração da sequência das cadeias do domínio de ligação de receptores AChRs e receptores protótipos (AChBP). (c) Subunidade  $\alpha 1$  do receptor AChR da raia elétrica *Torpedo marmorata*: região extracelular (EXTRA), transmembrana (TM) e intracelular (INTRA).....

50

Figura 2.4 – Ilustração dos receptores de acetilcolina (visualização em *cartoon*). (a) visão frontal do receptor de acetilcolina do organismo *Torpedo californica*: região extracelular (EXTRA) ou domínio de ligação, região transmembrana (TM) e região intracelular (INTRA); cadeia A: verde; cadeia B: laranja; cadeia C: ciano; cadeia D: amarelo; cadeia E: cinza). (b) visão frontal do domínio de ligação AChBP da lesma de água salgada (organismo *Aplysia californica*) complexado com o imidacloprido (cadeia A: verde; cadeia B: laranja; cadeia C: verde escuro; cadeia D: amarelo; cadeia E: vermelho); apenas uma molécula do imidacloprido é mostrada, entre as cadeias A e B. (c) visão do topo do receptor AChR do *Torpedo*. (d) visão do topo do receptor AChBP da *Aplysia*; o imidacloprido encontra-se nas interfaces das cadeias A e B, B e C, C e D, e cadeias E e A, enquanto a interface entre as cadeias D e E é inativa.....

53

Figura 2.5 – Ilustração do percurso da nicotina (ou outro nicotínóide) e imidacloprido (ou outro neonicotínóide) até o sistema nervoso central dos insetos, e mecanismo de interação com receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChRs) de insetos.....

57

Figura 2.6 – Ilustração do percurso da nicotina (ou outro nicotínóide) e imidacloprido (ou outro neonicotínóide) até o sistema nervoso central e periférico de vertebrados, e mecanismo de interação com receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChRs) de vertebrados.....

58

Figura 2.7 – Mecanismos de interação da acetilcolina (ligante endógeno), nicotínóides (exemplo, nicotina) e neonicotínóides (exemplo, imidacloprido) com resíduos de aminoácidos do receptor de acetilcolina nicotínico (nAChR). (a) interação da acetilcolina (topo) e nicotina

(meio); mecanismo 1: interação do imidacloprido por meio do nitrogênio imidazólico e nitrogênio do grupo cloropiridíneo. (b) mecanismo 2: interação do imidacloprido (ou composto análogo) por meio do nitrogênio imidazólico e oxigênio (nitrogênio) do grupo nitro (ciano).....

59

Figura 2.8 – Representação esquemática da interação entre o oxigênio do grupo nitro do imidacloprido e subsítio catiônico de nAChRs de insetos (a); o mesmo modo de interação ocorre com os demais neonicotinóides. Reconhecimento molecular do nicotinóide desnitroimidacloprido por subsítios aniônicos em nAChRs de vertebrados: interação cátion-ânion (b) e cátion- $\pi$  (c); esse mesmo modo de interação ocorre com os demais nicotinóides.....

61

Figura 3.1 – Ilustração da metodologia utilizada para calcular as constantes dielétricas ( $\epsilon$ ) em torno de cada par imidacloprido-resíduo de interesse do domínio de ligação AChBP da *Aplysia californica*. (a) cadeias A (cor verde) e B (cor laranja). O domínio de ligação encontra-se imerso no meio aquoso ( $\epsilon \sim 80$ ). O círculo na cor preta delimita a região do domínio de ligação de 8 Å, considerada para estudo. O símbolo  $r_i$  é o raio, que tem início no centro de massa (CM) do par IMI-Ri (imidacloprido-resíduo de interesse i) e extremidade no átomo mais distante do resíduo Ri. Os círculos nas cores azul, ciano e amarelo referem-se aos volumes  $V_i$  do resíduo Ile118, do imidacloprido e da molécula de água wt419, respectivamente.....

73

Figura 3.2 – Volume da esfera que foi considerado para avaliar a constante dielétrica média da interação entre o resíduo isoleucina na posição 118 da cadeia A e o ligante imidacloprido. Em (a) são mostrados: o resíduo de interesse (Ile118), o ligante IMI (imidacloprido), moléculas de água (wt419 e wt416) e resíduos no entorno do par IMI-Ile118. Em (b) são mostrados o resíduo Ile118, IMI, uma molécula de água (wt419) e resíduos no entorno do par IMI-Ile118 que têm pelo menos um átomo dentro da esfera. As estruturas dentro da esfera são representadas no

	modelo de bolas e bastões; as estruturas fora da esfera são representadas no modelo de bastões.....	74
Figura 3.3	– Ilustração do esquema para obtenção da energia de interação resíduo de interesse (Ri)-ligante: (a) interação entre todas as moléculas do sistema; (b) interação entre o resíduo de interesse (Ri) e as capas laterais ( $C_{i-1}$ e $C_{i+1}$ ) e interação entre as capas; (c) interação entre o ligante imidacloprido e as capas laterais ( $C_{i-1}$ e $C_{i+1}$ ) e interação entre as capas; (d) interação entre as capas ( $C_{i-1}$ e $C_{i+1}$ ).....	76
Figura 3.4	– Divisão topológica do imidacloprido nas regiões: (i) grupo nitro; (ii) guanidina e anel imidazólico; (iii): grupo metileno; (iv) anel cloropiridíneo. As regiões (i), (ii), (iii) e (iv) interagem com os resíduos de aminoácidos do domínio de ligação AChBP.....	77
Figura 4.1	– Estados de protonação do imidacloprido e mapa de potencial eletrostático ( <i>Electrostatic Potential - ESP</i> ). (a) distribuição dos estados de protonação do imidacloprido em função do pH; (b) estados de protonação do imidacloprido $\alpha 1$ (pH fisiológico), $\alpha 2$ (baixo pH) e $\alpha 3$ (alto pH). (c) mapa de potencial eletrostático para a estrutura $\alpha 1$ do imidacloprido.....	79
Figura 4.2	– Energia de Gibbs dos confôrmeros do imidacloprido em função dos ângulos diedros ( $\phi 1$ , $\phi 2$ ), modelo M06-2X-PCM (a), M06-2X-vácuo (b), B3LYP-PCM (c) e B3LYP-Vácuo (d).....	80
Figura 4.3	– Confôrmeros do imidacloprido obtidos com o funcional M06-2X: IMI1-MP (a), IMI2-MP (b), IMI3-MP (c) e IMI1-MV (d); confôrmeros obtidos com o funcional B3LYP: IMI1-BP (e), IMI2-BP (f), IMI1-BV (g) e IMI2-BV (h). Energia de Gibbs ( $\text{kcal mol}^{-1}$ ) para os confôrmeros do imidacloprido obtidos após a etapa de otimização que sucede o <i>scan</i> .	81
Figura 4.4	– Ilustração dos confôrmeros do imidacloprido que podem existir com a mesma energia. Os confôrmeros em (a) e (b) são obtidos por uma operação de reflexão devido ao plano de simetria no grupo metilênico que liga os anéis cloropiridíneo e imidazole. (c) superposição dos confôrmeros mostrados em (a) e (b). Os confôrmeros são isômeros	



	pro-quirais: a substituição de quaisquer dos hidrogênios do grupo metilênico produz enantiômeros.....	82
Figura 4.5	– Representação tridimensional dos confôrmeros: (a) IMI1-MV, (b) IMI1-MP, (c) IMI2-MP e (d) IMI3-MP, ambos encontrados neste trabalho pelo procedimento de <i>scan</i> e otimização de geometria. Comparação estrutural desses confôrmeros com outros já discutidos na literatura: (e) 3C79-MV versus 3C79 não otimizado; (f) 3C79, CR1, CR2 e CR3, não otimizados; (g) 3C79-MP versus 3C79 não otimizado, (h) IMI1-MV versus 3C79-MV otimizados; (i) IMI1-MP, IMI2-MP, IMI3-MP e 3C79-MP otimizados; (j) IMI1-MP versus 3C79-MP otimizados.....	88
Figura 4.6	– Ilustração da distribuição dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO dos confôrmeros do imidacloprido; energia dos orbitais e lacuna de energia (Eg).....	99
Figura 4.7	– Espectros de infravermelho (lado esquerdo) e Raman (lado direito), na faixa de 400-1200 cm <sup>-1</sup> , dos confôrmeros do imidacloprido. Espectros experimentais (EXP) no topo, seguidos pelos espectros obtidos pelo funcional M06-2X no modelo PCM (IMI1-MP), B3LYP no modelo PCM (IMI1-BP), M06-2X no modelo vácuo (IMI1-MV) e por último, B3LYP no modelo vácuo (IMI1-BV).....	103
Figura 4.8	– Ilustração de algumas vibrações dos modos normais de vibração relacionados aos espectros de infravermelho e Raman (400-1200 cm <sup>-1</sup> ) para os confôrmeros do imidacloprido IMI1-MP (setas na cor verde) e IMI1-BP (setas na cor marrom).....	106
Figura 4.9	– Espectros de infravermelho (lado esquerdo) e Raman (lado direito), na faixa de 1200-2000 cm <sup>-1</sup> , dos confôrmeros do imidacloprido. Espectros experimentais (EXP) no topo, seguidos pelos espectros obtidos pelo funcional M06-2X no modelo PCM (IMI1-MP), B3LYP no modelo PCM (IMI1-BP), M06-2X no modelo vácuo (IMI1-MV) e por último, B3LYP no modelo vácuo (IMI1-BV)	108

Figura 4.10 – Ilustração de algumas vibrações dos modos normais de vibração relacionados ao espectro de infravermelho (1200-2000 $\text{cm}^{-1}$ ) dos confômeros do imidacloprido IMI1-MP (setas na cor verde) e IMI1-BP (setas na cor marrom).....	110
Figura 4.11 – Ilustração de algumas vibrações dos modos normais de vibração relacionados ao espectro Raman (1200-2000 $\text{cm}^{-1}$ ) dos confômeros do imidacloprido IMI1-MP (setas na cor verde) e IMI1-BP (setas na cor marrom)	111
Figura 4.12 – Espectros de infravermelho (lado esquerdo) e Raman (lado direito), na faixa de 2800-3800 $\text{cm}^{-1}$ , para os confômeros do imidacloprido; espectros experimentais no topo da Figura, seguidos pelos espectros obtidos por M06-2X no modelo PCM (IMI1-MP), B3LYP no modelo PCM (IMI1-BP), M06-2X no modelo vácuo (IMI1-MV) e por último, B3LYP no modelo vácuo (IMI1 BV).....	112
Figura 4.13 – Espectros de absorção UV-VIS do imidacloprido medidos nas concentrações ( $\text{mol L}^{-1}$ ): $5,15 \times 10^{-5}$ ; $5,42 \times 10^{-5}$ ; $5,61 \times 10^{-5}$ ; $5,81 \times 10^{-5}$ ; $6,02 \times 10^{-5}$ ; $6,25 \times 10^{-5}$ ; $6,5 \times 10^{-5}$ ; $6,78 \times 10^{-5}$ ; $7,09 \times 10^{-5}$ ; $7,39 \times 10^{-5}$ ; $7,74 \times 10^{-5}$ ; $8,13 \times 10^{-5}$ .....	116
Figura 4.14 – Espectros teóricos de absorção óptica e valor da primeira linha de absorção. Espectros teóricos obtidos pela combinação dos funcionais M06-2X, B3LYP, CAM-B3LYP e wb97XD com o conjunto de base 6-311++G (d, p), cc-pVTZ e aug-cc-pVTZ; espectros teóricos obtidos pela combinação dos funcionais EOM-CCSD e CIS com o conjunto de base 6-311++G (d, p) e aug-cc-pVTZ.....	117
Figura 4.15 – Absorções teóricas de acordo com o funcional M06-2X, conjunto de base aug-cc-pVTZ (topo da figura), deconvolução do espectro de absorção experimental (meio da figura) e comparação das absorções teóricas e experimentais (base da figura).....	121
Figura 4.16 – Absorções teóricas de acordo com o funcional B3LYP, conjunto de base aug-cc-pVTZ (topo da figura), deconvolução do espectro de	

	absorção experimental (meio da figura) e comparação das absorções teóricas e experimentais (base da figura).....	122
Figura 4.17	– Estados eletrônicos obtidos com o funcional M06-2X, conjunto de base aug-cc-pVTZ: energias de excitação do estado eletrônico, orbitais envolvidos na principal transição eletrônica de cada estado eletrônico e lacuna de energia entre os orbitais envolvidos nas transições.....	124
Figura 4.18	– Estados eletrônicos obtidos com o funcional B3LYP, conjunto de base aug-cc-pVTZ: energias de excitação do estado eletrônico, orbitais envolvidos na principal transição eletrônica de cada estado eletrônico e lacuna de energia entre os orbitais envolvidos nas transições.....	125
Figura 5.1	– Imidacloprido: (a) molécula isolada com as designações dos átomos. Cristal: representação da célula unitária do polimorfo I (b), II (c) e III (d). Linhas tracejadas: cor preta são ligações de hidrogênio; cor magenta são interações entre oxigênio (ou nitrogênio) e hidrogênios ligados à carbono; cor verde são interações entre átomos de cloro (interações de halogênio). A distância das interações de halogênio são 3,56 Å (c) e 3,63 Å (d); as demais interações possuem uma distância de até 2,5 Å. Modelo de bola e bastões em (a), (b) e (c). Modelo de bastões em (d): carbonos em cinza indicam moléculas na frente e carbonos em ciano indicam moléculas atrás.....	130
Figura 5.2	– Imidacloprido: molécula isolada (a). Cristal: (b) e (c) célula unitária e interações intra e intermoleculares; (d) interações na célula entre os planos (100) ou plano bc (ao longo do eixo <b>a</b> ) e (001) ou plano ac (ao longo do eixo <b>b</b> ou eixo de empilhamento); (e) interações na célula e entre células ao longo do eixo <b>a</b> ou plano bc ou plano (100). As setas em cada célula unitária apontam para a origem do sistema de coordenadas.....	133
Figura 5.3	– Energia total calculada do polimorfo II do imidacloprido na posição de equilíbrio ( $a_0$ , $b_0$ e $c_0$ ) e energias calculadas para diferentes estruturas derivadas do polimorfo II, cujos parâmetros de rede <b>a</b> , <b>b</b> e <b>c</b> foram variados com relação aos valores da posição de equilíbrio. Partiu-se da estrutura mais estável obtida a 830 eV, com a parametrização	

GGA-PBE+TS. A variação (coordenada  $x$ ) são os valores de  $\Delta a/a_0$ ,  $\Delta b/b_0$  e  $\Delta c/c_0$ ..... 138

Figura 5.4 – Célula unitária do imidacloprido (cor preta), primeira zona de Brillouin (cor azul claro) e pontos de alta simetria na zona de Brillouin ( $Z$ ,  $\Gamma$ ,  $Y$ ,  $A$ ,  $B$ ,  $D$ ,  $E$ ,  $C$ ). O caminho traçado na zona de Brillouin foi  $Z \rightarrow \Gamma \rightarrow Y \rightarrow A \rightarrow B \rightarrow D \rightarrow E \rightarrow C$ . Os eixos  $x$ ,  $y$  e  $z$  determinam a orientação no espaço real e os eixos  $g_1$ ,  $g_2$  e  $g_3$  no espaço recíproco..... 139

Figura 5.5 – Estrutura de bandas e densidade de estados eletrônicos do polimorfo II do imidacloprido. Estrutura de bandas na faixa de -26 a 8 eV (a); densidade de estados total (TDOS) dos orbitais  $s$  (b) e  $p$  (b), e densidade de estados total de  $s + p$  (c). Estrutura de bandas na faixa de -1,3 a 6,8 eV, em torno da lacuna de energia (d); densidade de estados parcial (PDOS) dos orbitais  $s$  ( $s_N$ ,  $s_O$ ,  $s_C$ ,  $s_{Cl}$ ,  $s_H$ ) (e); PDOS dos orbitais  $p$  ( $p_N$ ,  $p_O$ ,  $p_C$ ,  $p_{Cl}$ ,  $p_H$ ) (f). As setas na cor vermelha, azul e laranja indicam transições diretas entre a banda de valência e a banda de condução, e setas na cor cinza são transições indiretas (d)..... 141

Figura 5.6 – Estrutura de bandas e densidade de estados parcial do polimorfo II do imidacloprido. Estrutura de bandas na faixa de -1,3 a 6,8 eV, em torno da lacuna de energia (a); as setas na cor vermelha, azul e laranja indicam transições diretas entre a banda de valência e a banda de condução, e as setas na cor cinza são transições indiretas. Densidade de estados parcial dos orbitais  $p$  dos átomos de nitrogênio (b), oxigênio e cloro (c), e carbono (d)..... 144

Figura 5.7 – Estimativa dos valores de lacuna de energia do imidacloprido em pó por meio da extrapolação linear (método de Tauc) da curva de absorção óptica. (a) transição permitida direta; (b) transição permitida indireta..... 148

Figura 5.8 – Função dielétrica complexa  $\hat{\epsilon}_r(\omega) = \epsilon_1(\omega) + i\epsilon_2(\omega)$ , calculada para o cristal do imidacloprido, considerando a incidência da luz polarizada ao longo dos planos (001), (010), (100) e na amostra policristalina (POLI).  $\epsilon_1(\omega)$ : parte real;  $\epsilon_2(\omega)$ : parte imaginária..... 151

Figura 5.9 – Superposição da parte real (gráfico superior) e imaginária (gráfico inferior) da função dielétrica complexa, $\hat{\epsilon}_r(\omega) = \epsilon_1(\omega) + i\epsilon_2(\omega)$ , calculada para o cristal do imidacloprido considerando a incidência da luz polarizada ao longo dos planos (001), (010), (100) e amostra policristalina (POLI).....	153
Figura 5.10 – Absorbância calculada para o cristal do imidacloprido, considerando a incidência de luz polarizada ao longo dos planos do cristal (001), (010), (100) e amostra policristalina.....	155
Figura 5.11 – Coeficiente de absorção ( $\alpha$ ) calculado para o cristal do imidacloprido, considerando a luz polarizada incidente nos planos (001), (010), (100) e amostra policristalina.....	156
Figura 5.12 – Espectros vibracionais do imidacloprido na faixa de 400-1200 $\text{cm}^{-1}$ : infravermelho experimental (IR: E); infravermelho teórico do cristal (IR: C); Raman experimental (RAM: E) e Raman teórico do cristal (RAM: C).....	158
Figura 5.13 – Ilustração das vibrações de infravermelho calculadas para o cristal do imidacloprido. As vibrações calculadas foram atribuídas às bandas experimentais de absorção, medidas na faixa de 400-1200 $\text{cm}^{-1}$ .....	161
Figura 5.14 – Ilustração das vibrações Raman calculadas para o cristal do imidacloprido. As vibrações calculadas foram atribuídas às bandas experimentais de espalhamento, medidas na faixa de 400-1200 $\text{cm}^{-1}$ .....	162
Figura 5.15 – Espectros vibracionais do imidacloprido na faixa de 400-1200 $\text{cm}^{-1}$ : infravermelho experimental (IR: E); infravermelho teórico do cristal (IR: C); Raman experimental (RAM: E) e Raman teórico do cristal (RAM: C).....	164
Figura 5.16 – Ilustração das vibrações de infravermelho calculadas para o cristal do imidacloprido. As vibrações calculadas foram atribuídas às bandas experimentais de absorção, medidas na faixa de 1200-2000 $\text{cm}^{-1}$ .....	167

Figura 5.17 – Ilustração das vibrações Raman calculadas para o cristal do imidacloprido. As vibrações calculadas foram atribuídas às bandas experimentais de espalhamento, medidas na faixa de 1200-2000 $\text{cm}^{-1}$ ....	168
Figura 5.18 – Espectros vibracionais do imidacloprido na faixa de 2800-3600 $\text{cm}^{-1}$ : infravermelho experimental (IR: E); infravermelho teórico do cristal (IR: C); Raman experimental (RAM: E) e Raman teórico do cristal (RAM: C).....	170
Figura 5.19 – Ilustração das vibrações Raman calculadas para o cristal do imidacloprido. As vibrações calculadas foram atribuídas às bandas experimentais de espalhamento, medidas na faixa de 2800-3600 $\text{cm}^{-1}$ ....	171
Figura 6.1 – Distribuição dos valores de constante dielétrica nas diferentes regiões do receptor AChBP do organismo <i>Aplysia californica</i> , a uma distância de até 8 Å a partir do imidacloprido. (a) representação esquemática do receptor na membrana; (b) vista superior do receptor mostrado; (c) distribuição dos resíduos no receptor e distribuição da permissividade em escala de cores (em função da distância); (d) escala decimal da distância dos resíduos localizados entre duas esferas concêntricas (delimitadas por raios inteiros).....	174
Figura 6.2 – Energias de interação entre o imidacloprido e resíduos de aminoácidos do receptor AChBP do organismo <i>Aplysia californica</i> . As interações foram calculadas a partir do imidacloprido, localizado no sítio de ligação do receptor, até um raio de 8 Å. Gráfico superior: sistema de teste para vários funcionais e aproximações no escopo da teoria DFT; utilizou-se um valor fixo de $\epsilon$ ( $\epsilon=40$ ); Gráfico inferior: interações para valores de constante dielétrica variáveis, ou seja, constante dielétrica inhomogênea $\epsilon = \epsilon(r)$ .....	176
Figura 6.3 – Resíduos da cadeia B do receptor AChBP (organismo <i>Aplysia californica</i> ) que interagem com o imidacloprido com energia no intervalo $-1 \leq E \text{ (kcal mol}^{-1}) \leq 1$ . A região do imidacloprido que se situa mais próxima de cada resíduo foi identificada por i, ii, iii ou iv. Também	

são indicadas as distâncias de interação e moléculas de água próximas aos resíduos..... 179

Figura 6.4 – Imidacloprido e resíduos da cadeia B do receptor AChBP (organismo *Aplysia californica*) com energia no intervalo  $-1 \leq E \text{ (kcal mol}^{-1}) \leq 1$ . (a) resíduos mais relevantes da alça C para a interação com o imidacloprido (Cys190 e Cys191 são as cisteínas vicinais); (b) resíduos mais relevantes nas alças A e B; (c) resíduos menos relevantes ou de baixa contribuição energética (alças B e C); (d) ilustração da topologia das cadeias A e B do receptor. Apenas Pro192 e Ser150 possuem interação desfavorável (interação repulsiva)..... 181

Figura 6.5 – Resíduos da cadeia A do receptor AChBP (organismo *Aplysia californica*) que interagem com o imidacloprido com energia no intervalo  $-1 \leq E \text{ (kcal mol}^{-1}) \leq 1$ . A região do imidacloprido que se situa mais próxima de cada resíduo foi identificada por i, ii, iii ou iv. Também são indicadas as distâncias de interação e moléculas de água próximas aos resíduos..... 187

Figura 6.6 – Imidacloprido e resíduos da cadeia A do receptor AChBP (organismo *Aplysia californica*) com energia no intervalo  $-1 \leq E \text{ (kcal mol}^{-1}) \leq 1$ . (a) e (b) resíduos com interação atrativa com o imidacloprido (alças D e E, e cadeias  $\beta 2$ ,  $\beta 5$  e  $\beta 5'$ ); (c) e (d) resíduos com interação repulsiva com o imidacloprido (alças D, E e F, e cadeias  $\beta 2$ ,  $\beta 3$ ,  $\beta 5$  e  $\beta 5'$ )..... 190

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Toxicidade e inibição dos neonicotinóides imidacloprido (IMI), tiacloprido (TIA) e nicotinóides nicotina (NIC), epibatidina (EPI), desnitroimidacloprido (DNIMI) e descianotiacloprido (DCTIA) em receptores de insetos e vertebrados, e seus respectivos protótipos AChBP da lesma <i>Aplysia californica</i> e do caracol <i>Lymnaea stagnalis</i> .....	63
Tabela 4.1 – Valores RMSD dos parâmetros estruturais teóricos (comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedros) dos confôrmeros do imidacloprido de menor energia; os desvios foram calculados com relação aos valores dos parâmetros experimentais do cristal.....	84
Tabela 4.2 – Energia de Gibbs (kcal mol <sup>-1</sup> ) para os confôrmeros do imidacloprido encontrados neste trabalho após as etapas de <i>scan</i> e otimização de geometria e energia de Gibbs para as estruturas dos confôrmeros extraídos de cristais.....	87
Tabela 4.3 – Ângulos diedros teóricos (ABCD) para os confôrmeros do imidacloprido IMI1-MV, 3C79-MV, IMI1-MP, IMI2-MP, IMI3-MP e 3C79-MP.....	89
Tabela 4.4 – Ângulos diedros $\phi_1$ - $\phi_4$ para os confôrmeros obtidos neste trabalho IMI1-MV, 3C79-MV, IMI1-MP, 3C79-MP e para os confôrmeros 3C79 <sup>a</sup> e 3C79 <sup>b</sup> .....	90
Tabela 4.5 – Comprimentos de ligação teóricos (Å) para os confôrmeros do imidacloprido obtidos com o funcional M06-2X: IMI1-MV, 3C79-MV, IMI1-MP, IMI2-MP, IMI3-MP e 3C79 MP.....	92
Tabela 4.6 – Cargas de Hirshfeld (HPA) e análise populacional natural ( <i>Natural Population Analysis - NPA</i> ) para os confôrmeros do imidacloprido calculados no modelo vácuo.....	93
Tabela 4.7 – Cargas de Hirshfeld (HPA) e análise populacional natural ( <i>Natural Population Analysis - NPA</i> ) para os confôrmeros do imidacloprido calculados no modelo PCM.....	94



Tabela 4.8 – Valores de energia dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO, lacuna de energia ( $E_g$ ) e valores de dureza dos confôrmeros do imidacloprido obtidos com o funcional M06-2X.....	100
Tabela 4.9 – Atribuição das bandas experimentais de maior intensidade nos espectros de infravermelho e Raman, na faixa de 400-1200 $\text{cm}^{-1}$ . A atribuição foi baseada nos espectros teóricos de infravermelho e Raman dos confôrmeros mais estáveis do imidacloprido que foram calculados com os funcionais M06-2X (IMI1-MP) e B3LYP (IMI1-BP), ambos no modelo de solvatação PCM.....	104
Tabela 4.10 – Atribuição das bandas experimentais de maior intensidade dos espectros de infravermelho e Raman, na faixa de 1200-3800 $\text{cm}^{-1}$ . A atribuição foi baseada nos espectros teóricos dos confôrmeros mais estáveis do imidacloprido que foram calculados com os funcionais M06-2X (IMI1-MP) e B3LYP (IMI1-BP), ambos no modelo de solvatação PCM.....	109
Tabela 4.11 – Valores dos desvios estimados (RMSD) das frequências teóricas de infravermelho e Raman com relação aos valores experimentais das frequências no infravermelho e Raman medidos para o imidacloprido em pó.....	115
Tabela 4.12 – Estados eletrônicos teóricos da molécula do imidacloprido obtidos com o conjunto de base aug-cc-pVTZ e funcional M06-2X: energias de excitação, transições eletrônicas, porcentagem das transições e força do oscilador.....	119
Tabela 4.13 – Estados eletrônicos teóricos da molécula do imidacloprido obtidos com o conjunto de base aug-cc-pVTZ e funcional B3LYP: energias de excitação, transições eletrônicas, porcentagem das transições e força do oscilador.....	120
Tabela 5.1 – Cristais do imidacloprido: parâmetros de rede, número de moléculas na célula unitária e confôrmeros.....	131
Tabela 5.2 – Parâmetros experimentais do cristal monoclinico do imidacloprido e parâmetros calculados no escopo da teoria DFT, com a parametrização:	

LDA, GGA-PBE e GGA-PBE+TS. Os valores de **a**, **b** e **c** correspondem as arestas (unidade em Å) do cristal,  $V$  é o volume (Å<sup>3</sup>). Os ângulos  $\alpha$  e  $\gamma$  são iguais a 90° e o ângulo  $\beta$  difere de 90°. Os desvios dos parâmetros calculados com relação aos valores experimentais são  $\Delta a$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta c$ ,  $\Delta V$  e  $\Delta\beta$

137

- Tabela 5.3 – Atribuição das bandas experimentais de absorção (espalhamento) no infravermelho (Raman), na faixa de 400-1200 cm<sup>-1</sup>, de acordo com os espectros do imidacloprido calculados com o funcional GGA e PBE mais a correção de dispersão TS, modelo de solvatação COSMO..... 159
- Tabela 5.4 – Atribuição das bandas experimentais de absorção (espalhamento) no infravermelho (Raman), na faixa de 1200-2000 cm<sup>-1</sup>, de acordo com os espectros do imidacloprido calculados com o funcional GGA e PBE mais a correção de dispersão TS, modelo de solvatação COSMO..... 165
- Tabela 5.5 – Atribuição das bandas experimentais de absorção (espalhamento) no infravermelho (Raman), na faixa de 2800-3600 cm<sup>-1</sup>, de acordo com os espectros do imidacloprido calculados com o funcional GGA e PBE mais a correção de dispersão TS, modelo de solvatação COSMO..... 169
- Tabela 6.1 – Sistema de teste: conjunto de aproximações utilizadas no escopo da teoria do funcional de densidade (DFT) para calcular a a energia de interação imidacloprido-AChBP..... 175
- Tabela 6.2 – Energias de interação (E/kcal mol<sup>-1</sup>) entre o imidacloprido e resíduos de aminoácidos da cadeia B do receptor AChBP (Organismo *Aplysia californica*). Foram considerados apenas os resíduos distribuídos a uma distância de até 8 Å a partir do imidacloprido. Também são mostrados os valores de constante dielétrica calculados para cada resíduo ( $\epsilon(r)$ ), a região do imidacloprido (i: azul; ii: laranja; iii: verde; iv: vermelha) mais próxima de cada resíduo, e a distância entre essa região e o imidacloprido..... 180
- Tabela 6.3 – Energias de interação (E/kcal mol<sup>-1</sup>) entre o imidacloprido e resíduos de aminoácidos da cadeia A do receptor AChBP (Organismo *Aplysia californica*). Foram considerados apenas os resíduos distribuídos a uma distância de até 8 Å a partir do imidacloprido. Também são mostrados os valores de constante dielétrica calculados para cada resíduo ( $\epsilon(r)$ ), a região

do imidacloprido (i, ii, iii e iv) mais próxima de cada resíduo, e a distância entre essas regiões e o imidacloprido..... 188

Tabela 6.4 – Energias de interação entre o imidacloprido e os resíduos mais relevantes das cadeias A e B do domínio de ligação AChBP. Também são mostradas as energias de interação imidacloprido-resíduos, calculadas por Cerón-Carrasco et al. (2013)..... 195

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>29</b>
<b>1.1</b>	<b>Objetivos.....</b>	<b>31</b>
<i>1.1.1</i>	<i>Objetivo Geral.....</i>	<i>31</i>
<i>1.1.2</i>	<i>Objetivos específicos.....</i>	<i>31</i>
<b>1.2</b>	<b>Justificativa.....</b>	<b>33</b>
<b>2</b>	<b>IMIDACLOPRIDO E O POTENCIAL RISCO ÀS ABELHAS.....</b>	<b>34</b>
<b>2.1</b>	<b>Imidacloprido, neonicotinóides e a contaminação ambiental.....</b>	<b>34</b>
<b>2.2</b>	<b>Métodos para detecção e análise do imidacloprido.....</b>	<b>35</b>
<b>2.3</b>	<b>Medidas adotadas no Brasil para a proteção das abelhas.....</b>	<b>37</b>
<b>2.4</b>	<b>Receptores de acetilcolina AChRs e receptores homólogos.....</b>	<b>42</b>
<i>2.4.1</i>	<i>Mecanismos de interação do imidacloprido com nAChRs.....</i>	<i>54</i>
<i>2.4.2</i>	<i>Afinidade e toxicidade dos nicotinóides e neonicotinóides em nAChRs.....</i>	<i>62</i>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>65</b>
<b>3.1</b>	<b>Seção Experimental.....</b>	<b>65</b>
<i>3.1.1</i>	<i>Espectros de infravermelho e Raman.....</i>	<i>65</i>
<i>3.1.2</i>	<i>Medidas no ultravioleta-visível (UV-VIS).....</i>	<i>65</i>
<b>3.2</b>	<b>Seção Computacional.....</b>	<b>66</b>
<i>3.2.1</i>	<i>Confôrmeros do imidacloprido.....</i>	<i>66</i>
<i>3.2.2</i>	<i>Espectroscopia vibracional da molécula do imidacloprido.....</i>	<i>67</i>
<i>3.2.3</i>	<i>Espectroscopia no ultravioleta-visível (UV-VIS) da molécula do imidacloprido.....</i>	<i>67</i>
<i>3.2.4</i>	<i>Cristal do imidacloprido.....</i>	<i>68</i>
<i>3.2.5</i>	<i>Interação entre o imidacloprido e o domínio de ligação AChBP da Aplysia californica.....</i>	<i>69</i>
<i>3.2.5.1</i>	<i>Dados estruturais.....</i>	<i>69</i>
<i>3.2.5.2</i>	<i>Ajustes das estruturas e minimização da energia do sistema.....</i>	<i>70</i>
<i>3.2.5.3</i>	<i>Determinação das constantes dielétricas.....</i>	<i>70</i>
<i>3.2.5.4</i>	<i>Energias de interação entre o imidacloprido e resíduos do domínio AChBP.....</i>	<i>74</i>
<i>3.2.5.5</i>	<i>Fracionamento molecular com capas conjugadas - MFCC.....</i>	<i>75</i>
<i>3.2.5.6</i>	<i>Gráfico do sítio de ligação, energias de interação e resíduos do domínio.....</i>	<i>76</i>

<b>4</b>	<b>A MOLÉCULA DO IMIDACLOPRIDO.....</b>	<b>78</b>
<b>4.1</b>	<b>Estruturas dos estados de protonação do imidacloprido.....</b>	<b>78</b>
<b>4.2</b>	<b>Confômeros do imidacloprido.....</b>	<b>81</b>
<b>4.2.1</b>	<i>Desvios estruturais dos confômeros: desvio quadrático médio (RMSD).....</i>	<b>83</b>
<b>4.2.2</b>	<i>Confômeros obtidos com o funcional M06-2X: estrutura e energia.....</i>	<b>84</b>
4.2.2.1	Análise populacional.....	92
4.2.2.2	Orbitais HOMO-LUMO.....	97
<b>4.3</b>	<b>Espectroscopia vibracional.....</b>	<b>100</b>
<b>4.3.1</b>	<i>Breve descrição das vibrações identificadas.....</i>	<b>101</b>
<b>4.3.2</b>	<i>Espectros vibracionais na faixa de 400-1200 cm<sup>-1</sup>.....</i>	<b>102</b>
<b>4.3.3</b>	<i>Espectros vibracionais na faixa de 1200-2000 cm<sup>-1</sup>.....</i>	<b>107</b>
<b>4.3.4</b>	<i>Espectros vibracionais na faixa de 2800-3800 cm<sup>-1</sup>.....</i>	<b>112</b>
<b>4.3.5</b>	<i>Desvio das frequências teóricas.....</i>	<b>114</b>
<b>4.4</b>	<b>Espectroscopia no ultravioleta e visível (UV-VIS).....</b>	<b>115</b>
<b>5</b>	<b>CRISTAL DO IMIDACLOPRIDO.....</b>	<b>127</b>
<b>5.1</b>	<b>Conceitos gerais.....</b>	<b>127</b>
<b>5.2</b>	<b>Estrutura dos cristais experimentais do imidacloprido e interações.....</b>	<b>129</b>
<b>5.2.1</b>	<i>Cristal experimental do imidacloprido: polimorfo II.....</i>	<b>132</b>
<b>5.3</b>	<b>Otimização da célula unitária do polimorfo II e propriedades estruturais.....</b>	<b>135</b>
<b>5.4</b>	<b>Estrutura eletrônica.....</b>	<b>139</b>
<b>5.5</b>	<b>Propriedades ópticas.....</b>	<b>146</b>
<b>5.5.1</b>	<i>Absorção óptica experimental e gap de energia.....</i>	<b>146</b>
<b>5.5.2</b>	<i>Função dielétrica complexa.....</i>	<b>148</b>
<b>5.5.3</b>	<i>Absorção óptica.....</i>	<b>154</b>
<b>5.6</b>	<b>Propriedades vibracionais.....</b>	<b>156</b>
<b>5.6.1</b>	<i>Espectros vibracionais na faixa de 400-1200 cm<sup>-1</sup>.....</i>	<b>157</b>
<b>5.6.2</b>	<i>Espectros vibracionais na faixa de 1200-2000 cm<sup>-1</sup>.....</i>	<b>163</b>
<b>5.6.3</b>	<i>Espectros vibracionais na faixa de 2800-3600 cm<sup>-1</sup>.....</i>	<b>169</b>
<b>6</b>	<b>BIOQUÍMICA ESTRUTURAL DO IMIDACLOPRIDO.....</b>	<b>173</b>
<b>6.1</b>	<b>Energia total de interação entre o imidacloprido e o domínio AChBP.....</b>	<b>173</b>
<b>6.2</b>	<b>6.2 Energias individuais de interação entre o imidacloprido e resíduos do domínio AChBP.....</b>	<b>178</b>

<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>197</b>
<b>7.1</b>	<b>A molécula do imidacloprido.....</b>	<b>197</b>
<b>7.2</b>	<b>Cristal do imidacloprido.....</b>	<b>199</b>
<b>7.3</b>	<b>Bioquímica estrutural do imidacloprido.....</b>	<b>200</b>
	<b>PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>202</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>203</b>
	<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>220</b>
	<b>A1 Parâmetros estruturais.....</b>	<b>220</b>
	<b>A2 Tabelas das atribuições dos modos normais de vibração.....</b>	<b>224</b>
	<b>A3 Espectros vibracionais.....</b>	<b>243</b>
	<b>APÊNDICE B.....</b>	<b>250</b>
	<b>B1 Fundamentos da teoria do funcional da densidade.....</b>	<b>250</b>
	<i>B1.1 Breve histórico.....</i>	<i>250</i>
	<i>B1.2 O formalismo Kohn-Sham.....</i>	<i>251</i>
	B1.2.1 Funcionais de troca e correlação.....	253
	<b>APÊNDICE C.....</b>	<b>256</b>
	<b>C1 Publicações.....</b>	<b>256</b>

## 1 INTRODUÇÃO

*“Procuro a verdade pela qual nenhum homem jamais foi ferido” (Marco Aurélio).*

Durante muitas décadas, até a metade do século 20, o controle de insetos era realizado pelo uso de inseticidas inorgânicos e por inseticidas extraídos de plantas (botânicos). No entanto, esses inseticidas eram pouco eficientes. Isso induziu os pesquisadores a desenvolverem as classes dos organoclorados, organofosfatos, metilcarbamatos e piretróides. Contudo, a efetividade desses grupos de inseticidas diminuiu devido à resistência adquirida pelos insetos. A busca por um inseticida mais eficiente levou a descoberta dos neonicotinóides (Figura 1), que possuem atividade biológica similar ao neurotransmissor nicotina, ou seja, agem como agonistas dos receptores de acetilcolina nicotínicos (*Nicotine Acetylcholine Receptors - nAChRs*). Os nAChRs são importantes receptores de neurotransmissores em insetos e mamíferos.<sup>1,2</sup>

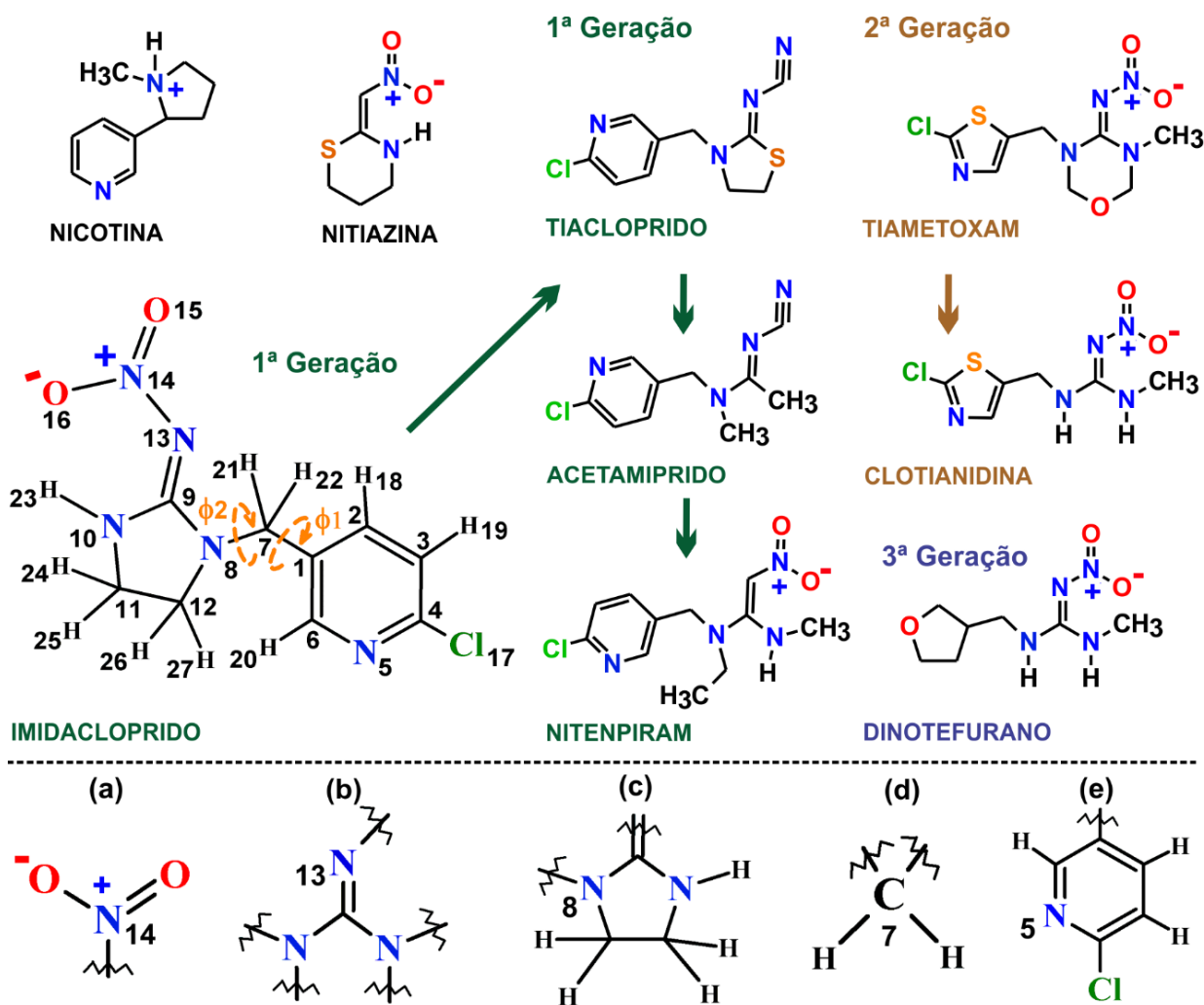
O uso indiscriminado dos neonicotinóides tem sido associado ao fenômeno de **Desordem do Colapso da Colônia** (*Colony Collapse Disorder - CCD*), que afeta as variadas espécies de abelhas (por exemplo, *Apis mellifera L.*, *Osmia bicornis L.* e *Bombus terrestris L.*). As abelhas são insetos benéficos, promovem a polinização e contribuem para o equilíbrio do ecossistema. Estima-se que as abelhas são responsáveis por cerca de 80% da polinização promovida por insetos.<sup>3,4</sup> O CCD é caracterizado pelo desaparecimento súbito das abelhas na colmeia.<sup>5-9</sup> Embora doses subletais de neonicotinóides não causem a morte das abelhas de uma forma direta, promovem desordens na aprendizagem e memória, isso dificulta a capacidade navegacional das abelhas e o retorno para a colônia.<sup>8</sup>

O inseticida neonicotinóide de fórmula  $C_9H_{10}ClN_5O_2$  e nome IUPAC 1-(cloro-3-piridilmetil)-N-nitroimidazolidin-2-ilidenoamina é conhecido no Brasil pelo nome imidacloprido (Figura 1). Esse inseticida, precursor dos neonicotinóides, foi lançado em 1991 pela empresa Bayer CropScience.<sup>10</sup> O imidacloprido é considerado um dos inseticidas mais importantes no mercado mundial de produtos utilizados na proteção de lavouras, sendo usado em mais de 120 países e em mais de 140 tipos de culturas; alguns exemplos de sua aplicação são em lavouras de arroz, algodão, trigo, cevada, sorgo, canola, milho e beterraba.<sup>11,12</sup>

O desenvolvimento do imidacloprido foi baseado na estrutura do composto nitiazina (Figura 1), que foi lançado no mercado de inseticidas em 1978 pela empresa Shell;<sup>13</sup> a nitiazina age de uma forma similar à nicotina nos receptores nAChRs. No entanto, a nitiazina mostrou-se

inviável para aplicações comerciais porque não possui estabilidade à luz solar, apesar de ser efetiva no controle de insetos.<sup>1,14</sup>

Figura 1 - Precursores dos neonicotinóides: nicotina e nitiazina. Neonicotinóides de primeira geração: imidacloprido, tiacloprido, acetamiprido e nitenpiram; neonicotinóides de segunda geração: tiametoxam e clotianidina; neonicotinóide de terceira geração: dinotefurano. Grupos funcionais do imidacloprido: nitro (a), guanidina (b), anel imidazólico (c), metileno (d) e anel cloropiridíneo (e).



Fonte: elaborada pelo autor.

O imidacloprido é considerado um neonicotinóide de primeira geração porque foi o primeiro a ser desenvolvido e comercializado. Outros inseticidas foram projetados com estrutura semelhante ao imidacloprido - possuem o grupo cloropiridínil - e também são classificados como neonicotinóides de primeira geração: o tiacloprido, lançado em 2000 pela empresa Bayer CropScience, acetamiprido (1995; empresa Nippon Soda) e nitenpiram (1995; SumiTake). O primeiro neonicotinóides de segunda geração desenvolvido foi o tiametoxam, lançado no



mercado em 1998 pela empresa Syngenta. Os neonicotinóides de segunda geração contêm em sua estrutura o grupo clorotiazolil. Além do tiametoxam, pertence a essa subclasse o inseticida clotianidina, comercializado desde 2001, por SumiTake e Bayer CropScience. O dinotefurano é um neonicotinóide de terceira geração, caracterizado pela presença do grupo tetraidrofuril em sua estrutura; o inseticida foi lançado em 2002 por Mitsui Chemical (Figura 1).<sup>15-21</sup>

Antes do lançamento do imidacloprido, em 1990, o mercado mundial (7,942 bilhões de euros) de produtos utilizados na proteção de lavouras foi dominado pelas classes de inseticidas organofosfatos (43%), piretróides (18%) e carbamatos (16%). Em 1998, os neonicotinóides compartilhavam 28% do mercado, isto é, representavam o equivalente a 6,330 bilhões de euros. Esse aumento das vendas dos neonicotinóides ocorreu, principalmente, pela diminuição do uso dos organofosfatos (13,6%) e carbamatos (10,8%). Em 2009, o imidacloprido tornou-se o inseticida mais vendido no mundo, equivalendo a 41,5% das vendas dos neonicotinóides em um mercado de 2,63 bilhões de dólares, ou seja, representaram o montante de 1,09 bilhões de dólares.<sup>11,18</sup> Em 2011, o mercado mundial de inseticidas (12,750 milhões de dólares) era formado por 28,5% de neonicotinóides, ao passo que organofosfatos e carbamatos somavam 18,2%, e piretróides 15,9%.<sup>14</sup> O imidacloprido e demais inseticidas da classe dos neonicotinóides também tiveram uma maior atuação no mercado de produtos utilizados para o tratamento de sementes. Por exemplo, em 1990, os carbamatos somaram 77,4% das vendas, em um mercado mundial de 155 milhões de euros; em 2008, os neonicotinóides atingiram 80% das vendas, em um mercado total de 957 milhões de euros.<sup>11</sup>

## **1.1 Objetivos**

### ***1.1.1 Objetivo Geral***

Objetiva-se investigar a estrutura e propriedades (eletrônicas, vibracionais, ópticas) do imidacloprido e as interações que ocorrem entre o imidacloprido e o domínio de ligação AChBP (*Acetylcholine Binding Protein*) da lesma de água salgada *Aplysia californica*. O domínio de ligação é o protótipo da região extracelular dos receptores de acetilcolina de insetos (nAChR).

### ***1.1.2 Objetivos específicos***

- Calcular os estados de protonação do inseticida neonicotinóide imidacloprido (estruturas em função do pH) e determinar a estrutura preponderante em pH fisiológico;

- Obter, no escopo da teoria do funcional da densidade e utilizando os funcionais M06-2X e B3LYP, os confôrmeros (cálculos de *scan* e otimização de geometria) mais estáveis da molécula do imidacloprido, tanto em meio aquoso (modelo de solvatação PCM) quanto no vácuo, considerando a estrutura do pH fisiológico e a temperatura ambiente;
- Calcular, utilizando a teoria DFT, as propriedades estruturais (comprimentos de ligação, ângulos e diedros), eletrônicas (energia de Gibbs, mapa de potencial eletrostático, orbitais HOMO-LUMO), ópticas (espectros no UV-VIS) e vibracionais (espectros de infravermelho e Raman) do confôrmero (molécula) mais estável do imidacloprido obtido após os cálculos de *scan* e otimização de geometria (funcionais M06-2X e B3LYP; solvatação PCM e vácuo);
- Calcular, no âmbito da DFT, as propriedades estruturais (comprimentos de ligação, ângulos diedros, parâmetros de rede), eletrônicas (estrutura de bandas, densidades de estados, lacuna de energia), vibracionais (espectros de infravermelho e Raman), ópticas (função dielétrica complexa, absorção óptica) do cristal do imidacloprido (funcionais LDA e GGA);
- Obter os espectros vibracionais (infravermelho e Raman) e de absorção óptica (UV-IS) do imidacloprido em pó;
- Fazer as atribuições das bandas experimentais de infravermelho e Raman por meio da comparação entre essas bandas e as linhas calculadas para o confôrmero mais estável (funcionais M06-2X e B3LYP; solvatação PCM e vácuo);
- Fazer as atribuições das bandas experimentais de infravermelho e Raman por meio da comparação entre essas bandas e as linhas calculadas para o cristal do imidacloprido (funcional GGA; modelo de solvatação COSMO);
- Fazer as atribuições das bandas experimentais de UV-VIS por meio da comparação entre essas bandas e as linhas de absorção calculadas para o confôrmero mais estável do imidacloprido (funcionais M06-2X, B3LYP; solvatação PCM e vácuo);
- Obter, no escopo da bioquímica quântica, as energias das interações entre o ligante imidacloprido e os resíduos de aminoácidos do domínio de ligação AChBP do organismo *Aplysia californica*. As energias serão calculadas utilizando valores fixos de constante dielétrica ( $\epsilon_4$ ,  $\epsilon_{20}$ ,  $\epsilon_{40}$ ) e também valores variáveis; os valores variáveis de constante dielétrica serão determinados de acordo com o meio proteico, ou seja, o resíduo de interesse e os resíduos no entorno do resíduo de interesse.

## 1.2 Justificativa

Danos causados por insetos e pestes na agricultura são um problema reconhecido historicamente. No passado, foram utilizados produtos naturais para o controle de insetos, mas esses produtos se mostraram ineficientes para garantir a produção agrícola necessária para a crescente população mundial. O desenvolvimento de áreas da ciência tornou possível a fabricação de produtos sintéticos para controlar e matar os insetos, mas essas substâncias são tóxicas para os humanos e para outras espécies não alvo. Há indícios de que o inseticida sintético imidacloprido é responsável pela morte das abelhas, polinizadores indispensáveis para o equilíbrio do ecossistema. A físico-química computacional pode auxiliar na compreensão das propriedades da molécula e do cristal do imidacloprido, e dos mecanismos de interação entre o imidacloprido e os resíduos de aminoácidos da macromolécula receptora, o receptor de acetilcolina nicotínico (nAChR). A compreensão das propriedades e mecanismos de interação torna possível o desenvolvimento de inseticidas mais seguros e específicos/seletivos a espécies não alvo. O desenvolvimento de moléculas mais efetivas possibilita o gerenciamento da resistência adquirida pelos insetos.

## 2 IMIDACLOPRIDO E O POTENCIAL RISCO ÀS ABELHAS

### 2.1 Imidacloprido, neonicotinóides e a contaminação ambiental

Há indicações de que solos, água, grãos, frutas e vegetais em geral em ambiente de cultivo e nas vizinhanças são contaminados com variados níveis de neonicotinóides.<sup>9,22</sup> O tempo de meia vida dos neonicotinóides em solo pode exceder 1.000 dias. Quando usado repetidamente, seu acúmulo possibilita múltiplas rotas para exposição às espécies não alvo, por exemplo, os polinizadores (abelhas, pássaros, etc.).<sup>9</sup>

Alguns estudos de recuperação dos neonicotinóides aplicados no tratamento de sementes sugerem que apenas de 6 a 20% do composto ativo na formulação é absorvido pela lavoura.<sup>23,24</sup> Trabalhos demonstraram que a presença e persistência do imidacloprido no subsolo é devido principalmente ao longo tempo de meia-vida do processo de fotólise (26,5-229 dias) e alta solubilidade (514 mg ml<sup>-1</sup>, 293K).<sup>25</sup>

Por causa dos riscos que podem ser causados pelos neonicotinóides aos seres humanos e a outras espécies, a União Europeia (*European Union - EU*) aplicou, em 1º de dezembro de 2013, restrições quanto ao uso dos três neonicotinóides imidacloprido, clotianidina e tiametoxam no tratamento de sementes.<sup>26</sup> Após isso, França, Alemanha, Itália e Eslovênia concordaram com o banimento dos pesticidas. No mesmo sentido, manifestaram-se na América do Norte o Canadá e os Estados Unidos.<sup>26,27</sup> Portanto, devido aos efeitos negativos que esses pesticidas podem causar às abelhas e a outros polinizadores, a saúde humana e ao ecossistema em geral, monitorar os níveis dos pesticidas e resíduos de degradação é crucial.

Alguns pesquisadores não estão convencidos sobre a alta toxicidade do imidacloprido para abelhas e argumentam que muitos ensaios foram realizados usando alta dosagem do composto e ainda que as abelhas podem evitar lavouras que foram submetidas ao tratamento.<sup>5,28</sup> No entanto, Kessler et al. (2015) consideraram, em seu trabalho, dosagem realística do imidacloprido, tiametoxam e clotianidina. As dosagens consideradas pelos autores foram comparáveis as encontradas em néctar e pólen em culturas tratadas. Os autores concluíram que as abelhas do gênero *Apis mellifera* - conhecidas no inglês pelo nome *honey bee* -, e *Bombus terrestris* (do inglês, *bumblebee*), tendem a preferir culturas tratadas.<sup>29</sup>

Rundlöf et al. (2015) estudaram os efeitos da clotianidina sob condição de campo, ou seja, em culturas reais. Os pesquisadores verificaram uma redução da densidade de abelhas selvagens do gênero *Bombus terrestris* e *Osmia bicornes* L. (no inglês, *bumblebee* e *solitary bee*, respectivamente), redução da nidificação (formação ninhos) das abelhas *Osmia bicornes*

*L. (solitary bee)* e diminuição da reprodução e crescimento das colônias das abelhas da espécie *Bombus terrestris*.<sup>5</sup>

Em seu trabalho, Dively et al. (2015) mostraram que a exposição das abelhas a altas dosagens do imidacloprido sob condições de campo ( $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ ;  $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) não provocam significativa perda da capacidade navegacional na busca por comida durante o forrageamento - termo em inglês conhecido por *foraging*. Dively et al. (2015) também verificaram que não houve perda no desenvolvimento das colônias das abelhas do tipo *Apis mellifera*, isso quando o tempo de exposição foi de até 12 semanas.<sup>30</sup> No entanto, os autores afirmam que a resiliência das abelhas do gênero *Apis mellifera* pode ser devido ao grande tamanho de suas colônias.<sup>5,31</sup>

Alguns pesquisadores defendem que o efeito prejudicial gerado pelos neonicotinóides nas abelhas pode estar associado a outros fatores e não somente a toxicidade desses inseticidas; por exemplo, ácaros do tipo *Varroa destructor*, vírus, fungos, nutrição pobre e ainda perda de fontes de alimentação. Diante dessa divergência de perspectivas sobre a toxicidade dos neonicotinóides para as abelhas, mais estudos são necessários com o objetivo de verificar se os neonicotinóides são os únicos causadores do fenômeno CCD.<sup>26,31</sup>

## 2.2 Métodos para detecção e análise do imidacloprido

Atualmente, muitos métodos analíticos são usados para monitorar o imidacloprido em amostras de solo, água, vegetais, formulações comerciais e mel de abelha. Para fins quantitativos, os pesquisadores têm empregado principalmente a cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography - HPLC*) acoplada a espectrometria de massas (*Mass Spectrometry - MS*) ou detector de absorção no ultravioleta.<sup>9,32-36</sup> Já a cromatografia gasosa (*Gas Chromatography - GC*) é pouco usada porque o imidacloprido possui baixa estabilidade térmica.<sup>37,38</sup> As principais desvantagens das técnicas cromatográficas são o tempo de análise, o consumo de solventes, os processos de extração das amostras, pré-concentração, e o consumo de materiais com a limpeza.<sup>39,40</sup> Outros métodos laboratoriais menos usados são eletroforese capilar,<sup>41</sup> o ensaio de imunoabsorção enzimática (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assays - ELISAs*),<sup>42</sup> e também métodos mais simples e de baixo custo, tais como a sorção, fotólise e hidrólise.<sup>23,37,38,42</sup>

Embora menos explorados, métodos eletroanalíticos também foram propostos para monitorar o imidacloprido e outros inseticidas. Guiberteau et al. (2001) aplicaram voltametria adsorptiva de redissolução em amostras de água de rios para determinar o conteúdo de imidacloprido. Eles chegaram a limites de detecção similares aos limites proporcionados pelas

técnicas cromatográficas.<sup>43</sup> Papp et al. (2009) conduziram o primeiro trabalho de voltametria na construção de eletrodos de pasta de carbono para a detecção do imidacloprido. O estudo foi conduzido em regime voltamétrico de pulso diferencial em amostras de água. Segundo os autores, esse método é rápido, barato e de menor risco ambiental.<sup>44</sup>

A tendência atual de desenvolver e adaptar técnicas, métodos, equipamentos, etc., e a aplicação dessas novas tecnologias no gerenciamento das lavouras é denominada **agricultura de precisão**. Essa tendência representa um novo campo de pesquisa científica multidisciplinar, importante para o equilíbrio do ecossistema e para garantir a produção de alimentos para a crescente população mundial, estimada em 9 bilhões de pessoas em 2050.<sup>45,46</sup>

Conforme afirmam Lamberth et al. (2013), a agricultura continuará a expandir-se para suprir a demanda por alimentos, e atrelado a isso, a produção de inseticidas e outros pesticidas também deve aumentar, visando garantir a produção agrícola com o mínimo de custo. Sem dúvida, há a necessidade de pensarmos no desenvolvimento e implementação de novas tecnologias na agricultura (agricultura de precisão), mais precisamente, o melhoramento de agroquímicos, sementes, fertilizantes mecanização e técnicas mais eficientes e seguras nos processos de produção, por exemplo, sistemas de entrega segura dos inseticidas e dispositivos portáteis de baixo custo para acompanhar os níveis de resíduos e agrotóxicos.<sup>46</sup>

As técnicas de espectroscopia no infravermelho e Raman podem ser adaptadas para uso em dispositivos portáteis, proporcionando baixo custo de operação no monitoramento de pesticidas e outras substâncias em campo.<sup>39,40,47</sup> Além de proporcionar a caracterização e quantificação dos inseticidas e outros agroquímicos, os métodos de espectroscopia vibracional podem fornecer compreensão da estrutura eletrônica desses compostos, por exemplo, qual modo vibracional está associado a uma determinada frequência de vibração, a energia da ligação, o tipo de ligação e o efeito da funcionalização na estrutura eletrônica.<sup>32</sup>

A determinação e quantificação de compostos químicos de interesse em ambientes da agricultura (ou em outras condições de campo) é, sem dúvida, uma tarefa prática e que pode trazer muitas vantagens na área de monitoramento de lavouras tratadas com pesticidas. Ma et al. (2006) mediram a fração do imidacloprido em formulação comercial por meio da análise quantitativa do espectro de infravermelho; os autores usaram a banda de absorção em torno de  $939,2\text{ cm}^{-1}$  como banda de referência para a determinação quantitativa.<sup>40</sup> Quintás et al. (2004) avaliaram a curva espectral de infravermelho para estimar a quantidade de imidacloprido em formulação comercial. A quantificação foi feita pelo monitoramento da área da banda de absorção localizada entre  $1557\text{ cm}^{-1}$  a  $1567\text{ cm}^{-1}$  e também da altura da banda por volta de  $1572\text{ cm}^{-1}$ . Os autores concluíram que a reprodutibilidade da espectroscopia no infravermelho

é comparável à reprodutibilidade da técnica HPLC, embora essa técnica possa determinar os analito em menores concentrações.<sup>32</sup>

Hou, Pang e He (2015) fizeram uma análise *in-situ* por espectroscopia Raman amplificada por superfície (*Surface Enhanced Raman Spectroscopy - SERS*). Segundo os autores, essa é uma proposta simples, rápida e sensível para a detecção do imidacloprido e outros pesticidas na superfície de plantas ou em alimentos de forma direta, ou seja, sem a necessidade de extração do analito das amostras.<sup>39</sup> Os autores usaram as bandas centradas em  $1174\text{ cm}^{-1}$  e  $1049\text{ cm}^{-1}$  como bandas de referência. Uma grande vantagem do método SERS é que bandas Raman fracas, comumente encontradas na região de impressão digital do espectro ( $1500\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ ),<sup>48</sup> podem ser ampliadas para que se possa determinar menores concentrações do analito. Hou, Pang e He (2015) também afirmam que é possível adaptar o método SERS em dispositivos portáteis, inclusive, para aplicação no campo.<sup>39</sup> Em outro trabalho, Zhang et al. (2016) adaptaram o método SERS para detecção do imidacloprido em águas residuais. Os pesquisadores monitoraram as bandas em torno de  $829$ ,  $959$ ,  $993$  e  $1106\text{ cm}^{-1}$ . Segundo os autores, esse método se mostrou simples, rápido e de baixo custo.<sup>49</sup>

A espectroscopia vibracional também tem sido utilizada no desenvolvimento de formulações de entrega segura e controlada - em inglês, *Controlled Release Formulation, CRF*. Por exemplo, Li, Huang e Wu (2011) desenvolveram partículas em escala submicro feitas do imidacloprido, quitosana e do composto D, L - lactídeo. Os autores mostraram que as partículas reduziram o efeito prejudicial do imidacloprido em organismos não alvo; os autores caracterizaram as partículas por espectroscopia no infravermelho. Em outro trabalho, Flores-Céspedes et al. (2012) obtiveram uma matriz polimérica de lignina e polietileno glicol (PEG) para entrega controlada do imidacloprido. O imidacloprido pôde ser identificado no nanocompósito polimérico devido às bandas de absorção detectadas no infravermelho, em torno de  $1278\text{ cm}^{-1}$  e  $1567\text{ cm}^{-1}$ .<sup>50</sup> Adak et al. (2012) sintetizaram um nanopolímero anfifílico com polietileno glicol e diácidos alifáticos (ácido glutárico, ácido adípico, ácido pimélico e ácido subérico); na formulação, o polímero poli[poli(oxietileno-1000)-oxi suberoil] (S10) foi usado como agente de encapsulamento do imidacloprido. Os autores caracterizaram a formulação PEG-S10-imidacloprido usando espectroscopia no infravermelho.<sup>51</sup>

### **2.3 Medidas adotadas no Brasil para a proteção das abelhas**

Desde o ano de 2012, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama) começou a utilizar os conceitos e ferramentas que já foram desenvolvidos

em outros países e que são aplicados na avaliação ambiental dos agrotóxicos.<sup>52</sup> Ainda em 2012, foi publicado o livro *Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil: proposta metodológica de acompanhamento*, de autoria de Lima e Rocha.<sup>53</sup>

Lima e Rocha (2012, p.5) alertam para a intensificação da agricultura e o crescente uso de agrotóxicos (e outros produtos) na agricultura nos últimos anos, medidas necessárias para suprir a demanda pela alimentação:

A intensificação da agricultura, o uso de fertilizantes e de agrotóxicos, e a irrigação têm contribuído substancialmente para o aumento da produção de alimentos nos últimos 50 anos. Entretanto, muitas dessas contribuições e práticas ocorrem em detrimento da saúde humana e ambiental, e da manutenção da biodiversidade.<sup>53</sup>

Os autores também destacam a necessidade da criação de programas e ações que minimizem os efeitos causados pelo homem no ecossistema:

Elevar os níveis de qualidade ambiental por meio da implementação de programas e ações voltados para a redução do impacto negativo das atividades humanas sobre os meios físico, biológico e socioeconômico, com consequente melhora da qualidade de vida, constitui um dos maiores desafios do desenvolvimento brasileiro.<sup>53</sup>

Lima e Rocha afirmam que uma importante ferramenta de proteção, controle e conhecimento dos principais usos e destinos dessas substâncias no território brasileiro foi a Lei nº 7.802 de 1989.<sup>53</sup> Entre as ferramentas de controle, Lima e Rocha destacam a necessidade de apresentação de estudos (por exemplo, ecotoxicológico) para a obtenção da concessão e do registro dos produtos.<sup>53</sup> Outras medidas citadas por Lima e Rocha em 2012 e que atualmente estão sendo executadas pelo Ibama foram: a revisão e atualização dos estudos após o processo de registro - isso para que os avanços do conhecimento científico sejam incorporados pelo órgão ambiental -, o fortalecimento das ações de monitoramento ambiental e da implementação de atividades de análise de risco ambiental de agrotóxicos, a elaboração de manuais com procedimentos adequados e transparentes que possam ajudar na determinação e no acompanhamento dos efeitos causados por agrotóxicos nas abelhas silvestres e nos ecossistemas brasileiros.<sup>53</sup>

Em uma matéria publicada em sua página, em janeiro de 2017, o Ibama divulga que foi representado pela analista ambiental Rafaela Maciel Rebelo no *16th International Fresenius Ecotox Conference - Aquatic and Terrestrial Ecotoxicology and Risk Management*, realizado em dezembro de 2016, na cidade de Mainz, Alemanha. O *Fresenius Ecotox Conference* reúne representantes da comunidade científica, do setor regulado e da Agência Europeia de Segurança Alimentar (EFSA), com o objetivo de debater os aspectos científicos e regulatórios de temas



como a segurança química, ecotoxicologia aquática e terrestre, assuntos relacionados com a saúde ambiental e proteção do consumidor.<sup>52</sup>

No *16th Fresenius Ecotox Conference*, Rebelo apresentou os últimos avanços de dois grupos técnicos de trabalho (GTTs) que discutem a avaliação de riscos do uso de agrotóxicos no Brasil com o objetivo de produzir normas gerais sobre o tema. Além disso, os GTTs também tiveram o papel de analisar as legislações internacionais, em especial a legislação europeia e norte-americana, com o objetivo de propor normas brasileiras sobre o risco do uso de agrotóxicos para organismos não alvo, e também com o objetivo de elaborar um manual que oriente a aplicação das normas.<sup>52</sup>

Segundo o Ibama, um dos GTTs, coordenado pela analista Rafaela Maciel Rebelo, é responsável por acompanhar os danos causados por agrotóxicos aos organismos aquáticos. O segundo grupo trata dos danos causados por agrotóxicos às abelhas. Esse grupo é coordenado pela analista Karina de Oliveira Cham, que participou do *International Fresenius Ecotox Conference* em 2015.<sup>52</sup> Quanto a proteção aos polinizadores, o órgão regulador diz que já existe uma proposta de norma que foi submetida à consulta pública e que em breve será publicada.

O Ibama destaca que embora os agrotóxicos sejam amplamente utilizados para proteger áreas cultivadas e prevenir pragas e doenças, podem causar poluição ambiental e efeitos adversos em organismos vivos. O instituto também reconhece que no caso de novos produtos a avaliação de riscos é feita durante a fase inicial de autorização para a comercialização. Contudo, para os neonicotinóides (por exemplo, o imidacloprido, a clotianidina e o tiametoxam) a avaliação de riscos também é feita na reavaliação dos ingredientes ativos das formulações. Os resultados até então obtidos permitiram que o Ibama encomendasse diversos estudos de campo para avaliar o efeito dos neonicotinóides na população de abelhas.<sup>52</sup>

Em 2017, o Ibama lançou o livro intitulado *manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para as abelhas*.<sup>54</sup> Cham et al. (2017) esclarecem que a avaliação de risco é o processo que busca avaliar a probabilidade de um efeito ecológico adverso ocorrer ou estar ocorrendo como resultado da exposição a um ou mais agentes estressores. O agente estressor é o ingrediente ativo ou seu (s) resíduo(s) de degradação que potencialmente possa (m) causar o efeito adverso. Já o efeito adverso é a consequência da ação do agente estressor, por exemplo, a mudança na fisiologia, morfologia, crescimento, desenvolvimento, reprodução ou tempo de vida de um organismo, sistema ou população. Quando há o efeito adverso, as mudanças anteriormente descritas resultam na incapacidade funcional, ou incapacidade em compensar o estresse adicional, ou aumento na susceptibilidade a outras influências.<sup>54,55</sup> Por exemplo, ao se

considerar os agrotóxicos como agentes estressores e as abelhas como organismos não alvo, um efeito adverso que pode ser verificado é a perda da capacidade navegacional, essa mudança gera dificuldade de alimentação, retorno para a colônia e conseqüentemente a morte do organismo.

O processo de avaliação do risco ambiental de agrotóxicos é usado para avaliar e organizar sistematicamente os dados, informações, pressupostos e incertezas que ajudem a entender e prever quais as relações entre um estressor e seus efeitos ecológicos, possibilitando tomar as decisões necessárias a correção do problema.<sup>54</sup>

Cham et al. (2017) orientam sobre as etapas a serem consideradas no processo de avaliação do risco. Segundo os autores, essas etapas são divididas da seguinte maneira: (a) formulação do problema ou admissão da hipótese do risco; (b) caracterização da exposição ou a quantidade do agente estressor presente no ambiente que esteja disponível para entrar em contato com organismos não alvo; (c) caracterização dos efeitos ou toxicidade. Por exemplo, ensaios experimentais (laboratoriais, semicampo e campo) em que se analisa a concentração do agrotóxico em um meio específico ( $CL_{50}$ ), ou então a dose letal ( $LD_{50}$ ) administrada, suficientes para matar 50% da população testada; (d) caracterização do risco, que pode ser quantificada pelo quociente de risco, ou seja, a razão entre a concentração ambiental estimada e o parâmetro de toxicidade ( $LD_{50}$ , etc.). A concentração ambiental estimada pode ser obtida por cálculos ou modelos que simulam a quantidade de substância disponível após a aplicação por um método específico; (e) gerenciamento do risco, isto é, as medidas adotadas para minimizar o risco identificado na etapa de avaliação do risco. Exemplos de medidas que podem ser adotadas são redução da dosagem dos agrotóxicos, recomendações específicas de uso, restrição, aplicação por pessoal especializado, etc.<sup>54</sup>

A etapa de formulação do problema é o primeiro passo necessário para a estruturação do processo de avaliação do risco gerado pelos agrotóxicos. Nessa etapa, são definidos os objetivos de proteção gerais, isto é, o que se pretende proteger quando o uso de um agrotóxico é avaliado no meio ambiente. Conforme Cham et al. (2017), a definição dos objetivos gerais de proteção é uma etapa crítica na avaliação de risco ambiental. A partir dos objetivos gerais, que são genéricos e abrangentes, são derivados os objetivos de proteção específicos, os quais definem com maior precisão aquilo que se pretende proteger.<sup>54</sup> Em suma, os objetivos específicos estão diretamente ligados aos procedimentos do processo de avaliação de risco, por exemplo, “a definição do que seja inaceitável quando se considera que há risco ou se o impacto vai ser significativo ou não, entre outras situações” (CHAM et al., 2017, p.22).<sup>54</sup>

No início de 2015, foi formado no Brasil um grupo técnico de trabalho (GTT) constituído por representantes da academia e do setor regulado com o objetivo de discutir os procedimentos a serem adotados para a avaliação do risco ambiental de agrotóxicos às abelhas. Esse grupo foi coordenado pelo Ibama e teve o apoio financeiro da Associação Nacional de Defesa Vegetal (Andef).<sup>54</sup> O primeiro documento produzido pelo GTT propôs os objetivos de proteção gerais, embasados na legislação brasileira. Segundo Cham et al. (2017), o documento final ainda está em processo de publicação.

O artigo 225 da Constituição Federal de 1988 traz a seguinte garantia<sup>56</sup>:

“Todos têm direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as presentes e futuras gerações”. Os parágrafos 1º ao 6º complementam o artigo 225. Quanto à temática em questão, destaca-se neste trabalho algumas especificidades que foram enumerados pelos incisos I, V e VII do parágrafo 1º do artigo 225 da Constituição Federal de 1988:

§ 1º Para assegurar a efetividade desse direito, incumbe ao Poder Público: I - preservar e restaurar os processos ecológicos essenciais e prover o manejo ecológico das espécies e ecossistemas; V - controlar a produção, a comercialização e o emprego de técnicas, métodos e substâncias que comportem risco para a vida, a qualidade de vida e o meio ambiente; VII - proteger a fauna e a flora, vedadas, na forma da lei, as práticas que coloquem em risco sua função ecológica, provoquem a extinção de espécies ou submetam os animais a crueldade (BRASIL, 1988).<sup>56</sup>

Cham et al. (2017) afirmam que o GTT considerou o Artigo 225 da Constituição Federal de 1988 e diversas leis ambientais federais relacionadas com esse tema, e concluíram que:

[...] a conservação da biodiversidade, a manutenção da função dos ecossistemas e seus processos ecológicos e a garantia dos serviços ambientais mantidos pela biodiversidade são objetivos gerais a serem perseguidos por ocasião da avaliação de risco ambiental do uso de produtos agrotóxicos no meio ambiente. Esses objetivos independem de qual organismo está sendo utilizado como indicador na avaliação de risco, ou seja, referem-se ao processo de avaliação de risco como um todo (CHAM et al., 2017, p.22).<sup>54</sup>

Visto que a Constituição Federal de 1988 e demais normas legais não mencionam de maneira específica a proteção aos organismos polinizadores, o GTT definiu a partir da análise da legislação ambiental brasileira o conceito de **serviço ecossistêmico** e propôs os objetivos de proteção gerais: “[...] (1) proteger os polinizadores e sua biodiversidade; (2) garantir os serviços ecossistêmicos fornecidos por eles, incluindo o serviço de polinização, a produção de produtos da colônia (mel, própolis, cera, etc.) e a provisão de recursos genéticos.”<sup>54</sup> A partir dos objetivos gerais, o GTT descreve os objetivos de proteção específicos; para mais detalhes sobre esses

objetivos, consultar a obra *manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para as abelhas*.<sup>54</sup>

Cham et al. (2017) trazem no *manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para as abelhas* dois esquemas em forma de fluxograma que podem ser utilizados durante a etapa de avaliação de risco.<sup>54</sup> Um dos esquemas foi organizado para orientar o avaliador no processo de análise de risco mediante a aplicação de agrotóxicos nas folhas; o segundo, quando a aplicação do agrotóxico é feita no solo, tronco ou em tratamento de sementes. Além disso, diversas informações e orientações técnicas que são necessárias para a adequada avaliação do risco foram abordadas no manual.<sup>54</sup>

Em julho de 2017, o Ibama realizou em sua sede, em Brasília, o seminário **interpretação da instrução normativa Ibama nº 02/17**. O objetivo do evento foi divulgar e esclarecer os conceitos de avaliação de risco e quais os novos procedimentos de avaliação dos agrotóxicos alterados pela instrução normativa. O seminário teve aproximadamente sete horas de duração e encontra-se disponível na página do Ibama.<sup>57</sup>

## **2.4 Receptores de acetilcolina AChRs e receptores homólogos**

Receptores de acetilcolina (*Acetylcholine Receptors, AChR*) são receptores transmembrana formados por cinco subunidades proteicas arranjadas em forma de um canal. Quando ativadas pelo neurotransmissor acetilcolina - o neurotransmissor endógeno desses receptores - as subunidades proteicas mudam de conformação. Isso gera a abertura do canal e o transporte de cátions para dentro da célula, tais como cátions dos metais sódio, potássio e cálcio. Por permitirem o fluxo de íons quando interagem com moléculas ligantes ou agonistas, os receptores são denominados de canais iônicos dependentes de ligação (*Ligand-Gated Ion Chanel - LGICs*).<sup>58,59</sup>

Os AChRs são classificados em duas categorias, dependendo dos compostos que se ligam a eles (além do ligante endógeno acetilcolina), e também do modo de sinalização. Por exemplo, os receptores que possuem afinidade pela muscarina, são conhecidos como receptores de acetilcolina muscarínicos (*Muscarinic Acetylcholine Receptors - mAChRs*) ou metabotrópicos, e os receptores que têm afinidade por nicotina são chamados de receptores de acetilcolina nicotínicos (*Nicotinic Acetylcholine Receptors - nAChRs*) ou ionotrópicos. Os receptores muscarínicos são predominantes nos organismos de vertebrados, enquanto os nicotínicos (nAChRs) são predominantes em insetos.<sup>60,61</sup>

Pelo fato de existirem receptores de acetilcolina que possuem afinidade por nicotina em diferentes concentrações desse neurotransmissor exógeno, e por existirem AChRs sensitivos e não sensitivos a proteína  $\alpha$ -bungaratoxina ( $\alpha$ -Bgtx), alguns autores adotam outra subdivisão; a  $\alpha$ Bgtx é uma proteína que faz parte do veneno da serpente *Bungarus multicinctus*. Todos os receptores de acetilcolina que possuem afinidade por nicotina, independente da concentração de nicotina, são denominados receptores de acetilcolina neuronais (NACHRs),<sup>61</sup> por terem sido clonados, pela primeira vez, do DNA proveniente dos tecidos do cérebro.<sup>62,63</sup> Já os NACHRs que se subdividem nos receptores nAChRs e nos receptores que possuem maior afinidade por  $\alpha$ -bungaratoxina ( $\alpha$ Bgtx), os receptores  $\alpha$ Bgtx-nAChRs. Os receptores NACHRs que possuem afinidade por nicotina em concentração nanomolar (nM) e não se ligam a  $\alpha$ -bungaratoxina ( $\alpha$ Bgtx) é que são denominados de receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChRs). Por sua vez, os receptores NACHRs que ligam-se a nicotina em concentração micromolar e  $\alpha$ Bgtx em concentração nanomolar são denominados de  $\alpha$ Bgtx-nAChRs.<sup>61,64</sup>

Os receptores de acetilcolina neuronais (NACHRs) localizam-se nas regiões pré-sinápticas, pós-sinápticas e na região perisináptica (situada entre a pré-sináptica e pós-sináptica) do sistema nervoso central e periférico. No entanto, outras células não neuronais também possuem receptores NACHRs, tais como linfócitos, macrófagos, células dendríticas, adipócitos, queratinócitos, células endoteliais e células epiteliais de intestino e pulmão.<sup>61,62,65,66</sup>

Segundo Gotti e Clementi (2004), em mamíferos, os nAChRs são encontrados no sistema nervoso central (*Central Nervous System - CNS*); os  $\alpha$ Bgtx-nAChRs localizam-se no SNC e na região pós-sináptica da junção neuromuscular do sistema nervoso periférico (*Peripheral Nervous System - PNS*). A sensibilidade dos receptores nAChRs e  $\alpha$ Bgtx-nAChRs é similar ao se ligarem a acetilcolina, mas conforme afirmado anteriormente, os receptores  $\alpha$ Bgtx-nAChRs são menos sensitivos a nicotina.<sup>62</sup>

As subunidades que compõem os receptores de acetilcolina AChRs determinam as propriedades farmacológicas e funcionais. As subunidades são classificadas em  $\alpha$  ( $\alpha 1$ - $\alpha 10$ ),  $\beta$  ( $\beta 1$ - $\beta 4$ ),  $\delta$ ,  $\gamma$  e  $\epsilon$ .<sup>61,67,68</sup> As subunidades  $\alpha 1$ ,  $\beta 1$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$  e  $\epsilon$  constituem o receptor de acetilcolina AChR do músculo esquelético do organismo raia elétrica (*Torpedo*). Essas subunidades formam o receptor heterômero ( $\alpha 1$ )<sub>2</sub> $\gamma$ (ou  $\epsilon$ , em adultos) $\delta\beta 1$ , considerado o protótipo de todos os receptores LGIC. A subunidade  $\alpha 8$  é encontrada apenas em frango e a subunidade  $\alpha 9$  é encontrada em limitadas regiões do sistema nervoso de ratos.<sup>61,68</sup>

Kenneth e Xiao (2007) afirmam que as diferentes maneiras em que as subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$  e  $\epsilon$  combinam-se para estruturar os AChRs ainda não são completamente conhecidas,

mas algumas regularidades foram identificadas.<sup>59</sup> Os receptores do tipo  $\alpha$ Bgtx-nAChRs podem formar homopentâmeros (homômeros) de subunidade  $\alpha 7$ - $\alpha 9$ , neste caso, as cinco subunidades que formam o receptor são todas iguais, por exemplo,  $(\alpha 7)_5$ .<sup>58,59,61,69</sup> Receptores  $\alpha$ Bgtx-nAChRs também formam heteropentâmeros (heterômeros) de subunidades  $\alpha 7$  e  $\alpha 8$  ou  $\alpha 9$  e  $\alpha 10$ .<sup>61</sup> Os nAChRs formam somente heteropentâmeros de subunidades  $\alpha 2$ - $\alpha 6$  e  $\beta 2$ - $\beta 4$ , mas existem restrições funcionais quanto a participação das subunidades  $\alpha 5$  e  $\beta 3$ .<sup>61,70</sup> Para que os nAChRs sejam funcionais, as subunidades  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$  e  $\alpha 6$  precisam estar combinadas com as subunidades  $\beta 2$  ou  $\beta 4$  e o receptor deve ter pelo menos duas subunidades  $\alpha$ .<sup>58,59</sup> Os receptores heterômeros de subunidades  $\alpha 4\beta 2$  são mais abundantes no cérebro, assim como os homômeros de subunidades  $\alpha 7$ .<sup>68</sup> A subunidade  $\alpha 5$  precisa estar associada a outras subunidades  $\alpha$ , bem como a  $\beta 2$  e  $\beta 4$  para que o receptor seja funcional.<sup>59,61,71,72</sup> A subunidade  $\beta 3$  deve estar associada tanto a outras subunidades  $\beta$  quanto a outras subunidades tipo  $\alpha$  para que o receptor seja funcional.<sup>59,61,73</sup>

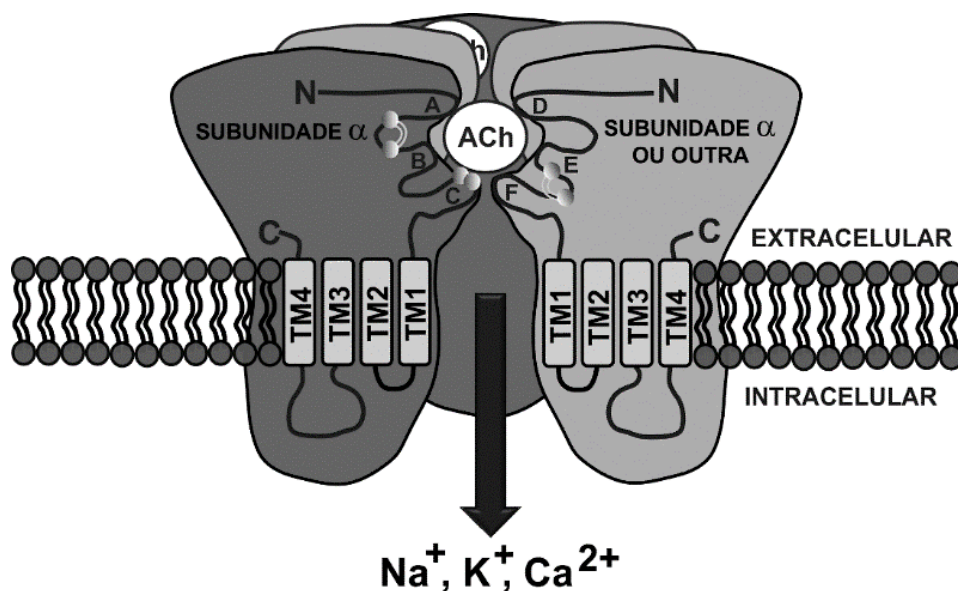
Ressalta-se que, no restante deste trabalho, a sigla nAChRs será usada para se referir tanto aos receptores que possuem maior afinidade por nicotina (nAChRs) quanto por  $\alpha$ Bgtx (receptores  $\alpha$ Bgtx-nAChRs), conseqüentemente, a sigla nAChRs será usada no lugar da sigla NACHRs, isso porque aquela é mais amplamente utilizada em detrimento desta para se referir a ambos os tipos de receptores de acetilcolina.

O sítio de ligação dos nAChRs localiza-se entre duas subunidades proteicas (estruturas terciárias), ou seja, na interface de duas subunidades. Em receptores heterômeros, as subunidades  $\alpha 2$ - $\alpha 4$  e  $\alpha 6$  formam a chamada **face principal** ou face (+) do receptor; essa face contribui com as alças A, B e C para o sítio de ligação. As subunidades  $\beta 2$  e  $\beta 4$  formam a **face complementar** ou face (-), isto é, a face que contribui com as alças D, E e F para o sítio de ligação. As subunidades  $\alpha 5$  e  $\beta 3$  são auxiliares ou estruturais, apenas. Isso porque não há sítio de ligação na interface envolvendo essas subunidades.<sup>61</sup> Os receptores homômeros têm estequiometria  $(\alpha_x)_5$ , em que  $x=7,8$  ou  $9$ ; esses receptores possuem cinco sítios de ligação nas interfaces das subunidades. Receptores heterólogos possuem estequiometria  $(\alpha_x)_2(\beta_y)_3$ , com apenas dois sítios de ligação, na interface envolvendo as subunidades  $\alpha$ .

As subunidades que constituem o sítio de ligação dos AChRs são cadeias polipeptídicas extracelulares e hidrofílicas com um grupo amino terminal ou N-terminal em uma das extremidades e um grupo carboxila terminal ou C-terminal na outra extremidade da região extracelular (Figura 2.1). Cada cadeia extracelular é ligada a quatro domínios proteicos

hidrofóbicos (TM1-TM4) que se localizam na região transmembrana. Entre os domínios transmembrana TM3 e TM4 existe uma alça que ocupa a porção intracelular. Essa alça possui a sequência de aminoácidos que mais varia entre os diferentes tipos de subunidades. A cadeia N-terminal extracelular possui uma ligação dissulfeto entre duas cisteínas que são separadas por treze resíduos. As subunidades  $\alpha$  possuem uma ligação dissulfeto entre duas cisteínas vicinais localizadas na alça C. Por exemplo, no caso da primeira subunidade  $\alpha$  isolada ou  $\alpha 1$  do organismo *Torpedo californica*, as cisteínas localizam-se nas posições 192 e 193.<sup>59,61,74</sup> Vários trabalhos mencionam que a ligação dissulfeto vicinal exerce bastante influência no sítio de ligação dos nAChRs.<sup>59,75-78</sup>

Figura 2.1 - Ilustração da estrutura de receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChR) e demais receptores da família da alça cys. O símbolo N faz referência a cadeia N-terminal e C a C-terminal. As duas subunidades na cor cinza escuro são subunidades  $\alpha$  porque possuem as duas cisteínas vicinais (representadas por duas esferas). As três subunidades na cor cinza claro são subunidades não  $\alpha$  (em receptores heterômeros) ou  $\alpha$  (em receptores homômeros). As cisteínas que definem a família de receptores da alça cys são representadas por esferas ligadas por duas linhas contínuas. Os símbolos A, B e C ilustram as alças da face principal do sítio de ligação; enquanto D, E e F identificam as alças da face complementar do sítio de ligação. O ligante exógeno (dos receptores AChRs) acetilcolina (ACh) é destacado no sítio de ligação. TM1-TM4 são as cadeias transmembrana.



Fonte: Adaptado de Sattelle e Andrew (2010).<sup>67</sup>

A presença de treze resíduos intercalados entre duas cisteínas é uma característica de uma classe maior de receptores. Essa classe, denominada **a família da alça cys**, inclui os receptores do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA<sub>A</sub> e GABA<sub>C</sub>), glicina e receptores 5-HT<sub>3</sub> ou

receptores de serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT<sub>3</sub>), além dos receptores de acetilcolina (AChRs).<sup>58,59</sup> A Figura 2.1 é uma ilustração genérica da família da alça cys. Outros detalhes serão explorados considerando receptores específicos, tais como o receptor de acetilcolina do peixe *Torpedo marmorata* e o domínio de ligação extracelular do caracol *Aplysia californica*.

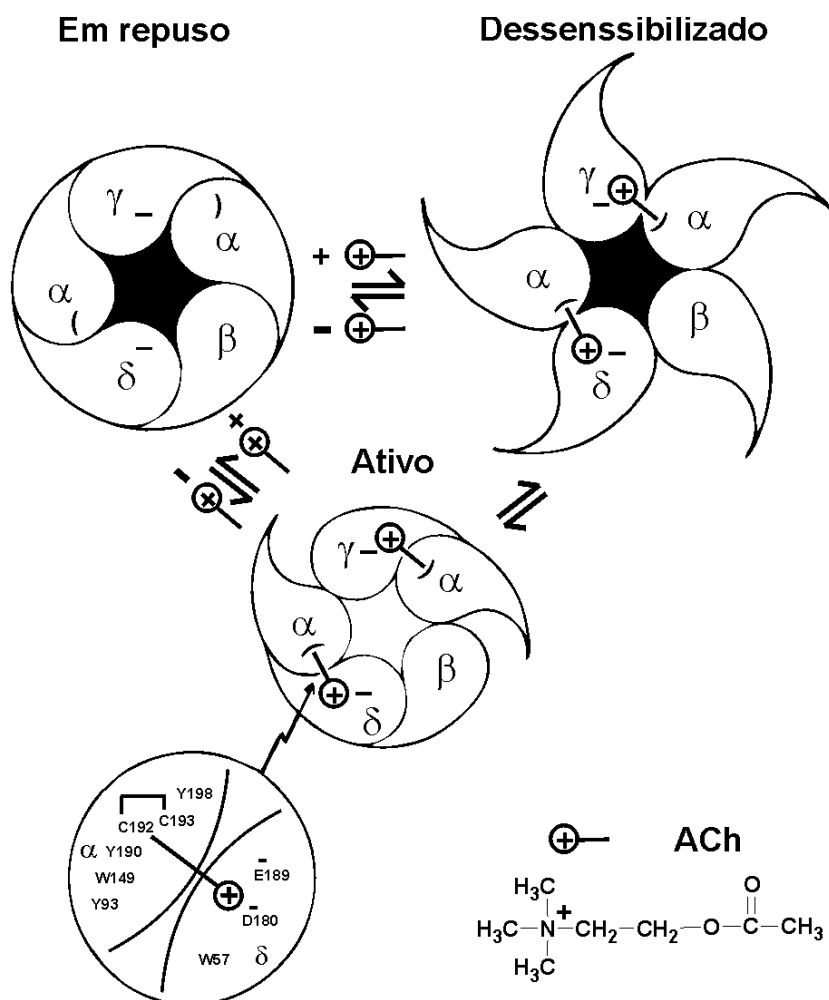
Os AChR e demais receptores homólogos são estruturas proteicas quaternárias susceptíveis a mudanças conformacionais (efeito alostérico) devido às interações entre os resíduos do receptor e moléculas ligantes; as interações ocorrem por meio de ligações não covalentes ou intermoleculares (ligações de hidrogênio e ligações de van der Waals). Karlin e Akabas (1995) descrevem três estados conformacionais dos AChRs: fechado ou estado de repouso, dessensibilizado e por último, aberto ou ativo.<sup>79</sup>

A Figura 2.2 mostra a ilustração dos três estados conformacionais do AChR pertencente ao músculo do organismo *Torpedo californica*.<sup>80</sup> O sítio da acetilcolina é limitado por um sinal de menos em uma extremidade e por um parêntese na outra extremidade e se estende entre  $\alpha$  e  $\delta$  e entre  $\alpha$  e  $\gamma$ . O agonista é representado por um sinal de mais (+) dentro de um círculo com uma cauda (linha reta). Os resíduos que interagem com o agonista estão indicados pela seta que aponta para o sítio de ligação, na interface das subunidades  $\alpha$  e  $\delta$ . Os resíduos da subunidade  $\alpha$  na interface das subunidades  $\alpha$  e  $\gamma$  responsáveis pela interação são os mesmos resíduos da subunidade  $\alpha$  na interface  $\alpha$  e  $\delta$ . Enquanto que os resíduos da subunidade  $\gamma$  na interface  $\alpha$  e  $\gamma$  responsáveis pela interação são os que se alinham com os resíduos da subunidade  $\delta$  na interface  $\alpha$  e  $\delta$ . A ordem das subunidades conforme mostrado na ilustração da Figura 2.2, isto é, uma subunidade  $\gamma$  entre duas subunidades  $\alpha$ , foi determinada pela técnica de microscopia eletrônica a partir dos receptores de acetilcolina do músculo do organismo *Torpedo californica*; para mais detalhes, consultar o trabalho de Karlin et al. (1983) e Karlin e Akabas (1995).<sup>79,80</sup>

Quando os nAChRs estão no estado conformacional fechado ou estado de repouso (Figura 2.2), a afinidade pelo agonista é baixa e não há a condução do impulso elétrico. Esse estado possui a menor energia livre na ausência do agonista. No estado dessensibilizado o receptor tem alta afinidade por agonistas, mas não há condução do impulso elétrico. O estado dessensibilizado tem um arranjo simétrico das subunidades (Figura 2.2). Esse é o estado de menor energia livre na presença do ligante. Por sua vez, o estado aberto ou ativo apresenta alta afinidade pelo agonista. É nele que ocorre o fluxo de íons e a condução do impulso elétrico. Esse estado ativo é transitório entre o fechado e o dessensibilizado. No estado ativo as subunidades são arranjas assimetricamente (Figura 2.2).<sup>74,79</sup>



Figura 2.2 - Representação esquemática dos três estados conformacionais do receptor de acetilcolina (AChR) pertencente ao músculo do organismo *Torpedo californica*. Estado fechado ou em repouso: na ausência do agonista e sem condução do pulso elétrico; dessensibilizado: na presença do agonista, mas sem condução do pulso; aberto ou ativo: na presença do agonista e com condução do pulso.



Fonte: adaptada de Karlin e Akabas (1995).<sup>79</sup>

A mudança conformacional do estado de repouso para o estado ativo ocorre por meio da exposição do receptor ao agonista. Contudo, quando a exposição ao agonista é prolongada, o receptor passa para o estado dessensibilizado, a partir deste momento, ocorre a interrupção do fluxo de íons cálcio e também do pulso elétrico. Na ausência do agonista, o receptor retorna do estado dessensibilizado para o estado de repouso.<sup>74</sup>

Muitos receptores homólogos aos receptores de acetilcolina foram estudados por cristalografia de raios-x e outras técnicas. Por exemplo, Brejc et al. (2001) determinaram o domínio de ligação AChBP (*Acetylcholine Binding Protein*) do caracol de água doce *Lymnaea stagnalis*.<sup>81</sup> Esse receptor é uma estrutura proteica quaternária com cinco subunidades idênticas

(receptor homopentâmero), cada subunidade contém 210 resíduos de aminoácidos. Os dados de cristalografia de raios-x demonstraram que o domínio de ligação AChBP tem altura e diâmetro do cilindro de 62 e 80 Å, respectivamente, mas o diâmetro do poro central do cilindro é de 18 Å.<sup>74,81</sup> Quando alinhados com o domínio de ligação extracelular dos receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChRs), os AChBP mostram similaridade acima de 24%.<sup>74</sup> Pode-se dizer que os receptores AChBP do caracol de água doce *Lymnaea stagnalis* são protótipos funcionais e estruturais do domínio de ligação dos receptores nAChRs de vertebrados, portanto, servem como um modelo para estudo e compreensão dos receptores nicotínicos.<sup>81</sup>

No sistema nervoso do caracol, o receptor AChBP tem função de modular o impulso elétrico. Isso ocorre quando há o acúmulo do neurotransmissor acetilcolina na fenda sináptica, em seguida, ocorre a secreção dos receptores AChBP pelas células da glia perisináptica.<sup>74</sup> Os receptores AChBP são solúveis em água, isto é, são hidrofílicos. Pesquisadores consideram que o trabalho de Brejc et al. (2001) é o primeiro marco histórico na compreensão da estrutura atômica dos receptores.<sup>74,81</sup>

Bouzat et al. (2004) fizeram um receptor funcional quimera utilizando o domínio de ligação AChBP do organismo *Lymnaea stagnalis* e o poro do receptor 5-HT<sub>3A</sub> de rato.<sup>82</sup> Contudo, o segundo marco histórico nesse campo de pesquisa foi o trabalho de Unwin (2005), que desvendou a estrutura do receptor de acetilcolina (AChR) pertencente à raia elétrica (*Torpedo marmorata*).<sup>74,83</sup> O receptor de acetilcolina da raia elétrica possui as três regiões proteicas, isto é, o domínio de ligação extracelular, a região transmembrana e a região intracelular. Já os pesquisadores Dellisanti, Yao e Stroud (2007) determinaram a cadeia N-terminal extracelular da subunidade  $\alpha 1$  (complexada com  $\alpha$ -bungaratoxina) do tecido muscular de camundongo.<sup>84</sup> Hilf e Dutzler (2008) obtiveram o canal iônico dependente de ligação (LGIC) da bactéria *Erwinia chrysanthemi*, uma espécie de bactéria pertencente ao reino procarionte.<sup>85</sup> Ihara et al. (2007) obtiveram o receptor AChBP da lesma de água doce (*Lymnaea stagnalis*) complexado com os inseticidas imidacloprido e clotianidina.<sup>86</sup> Talley et al. (2008) resolveram a estrutura do receptor AChBP da lesma-do-mar (*Aplysia californica*), complexado com os inseticidas imidacloprido e tiacloprido.<sup>87</sup> Esse receptor é considerado o protótipo do domínio de ligação dos receptores nicotínicos de insetos. Mais recentemente, Claudio et al. (2016) publicaram a estrutura completa do receptor mais abundante no cérebro de humanos, ou seja,  $\alpha 4\beta 2$ , nas estequiometrias  $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$  e  $(\alpha 4)_3(\beta 2)_2$ .

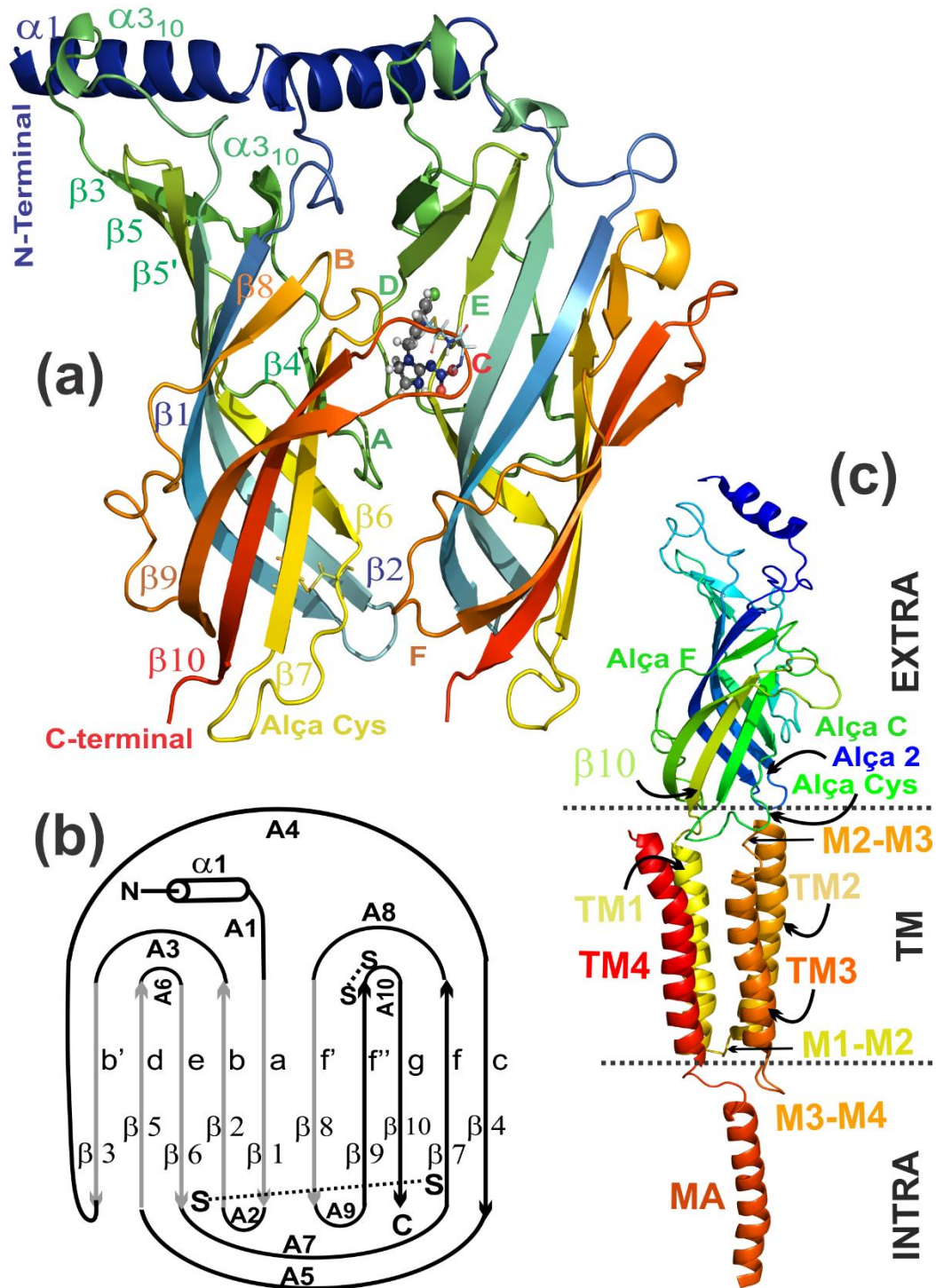
É de fundamental importância compreender os mecanismos de interação entre moléculas ligantes e o domínio de ligação AChBP dos organismos *Aplysia californica* - protótipo do domínio de ligação de nAChRs de insetos - e *Lymnaea stagnalis* - protótipo do

domínio de ligação de nAChRs de vertebrados -, visando o desenvolvimento de inseticidas com maior seletividade aos insetos (segurança a espécies não alvo) e maior efetividade na interação com receptores nicotínicos de insetos (gerenciamento da resistência adquirida pelos insetos). Muitos outros autores elucidaram as estruturas dos receptores AChBP da *Aplysia californica* e *Lymnaea stagnalis* complexados com diferentes ligantes.<sup>81,88-94</sup> Anteriormente foi mencionado que os receptores nAChR, junto a outros receptores, fazem parte da família de *alça cys*. Embora os receptores AChBP da *Aplysia* e *Lymnaea* sejam protótipos do domínio de ligação dos receptores nAChRs, estes possuem 13 resíduos de aminoácidos intercalados entre as duas cisteínas da *alça cys*, aqueles possuem um resíduo a menos.<sup>74</sup>

O domínio de ligação AChBP da *Aplysia californica* é constituído por cinco subunidades idênticas, ou seja, as subunidades de A a F, nomeadas no sentido horário quando se considera a visão do topo do domínio.<sup>87</sup> Para facilitar a visualização, apenas as subunidades A e B (ou cadeias A e B) do domínio de ligação AChBP da *Aplysia* são mostradas na Figura 2.3 (a), no modelo de visualização *cartoon*. A subunidade A está situada à direita (Figura 2.3, a), na orientação do leitor, enquanto a subunidade B localiza-se à esquerda. O imidacloprido (modelo de bola e bastões) é destacado no sítio de ligação que se localiza na interface, entre as subunidades A e B. Também são destacadas as cisteínas vicinais na alça C (Cys190, Cys191) e na *alça cys* (Cys127, Cys140), em modelo de bastões. Na porção (b) da Figura 2.3, tem-se a ilustração das estruturas secundárias ( $\alpha$ -hélices, folhas  $\beta$  e alças) que compõem as subunidades.

O domínio de ligação da *Aplysia* inicia-se com uma pequena cadeia de estrutura secundária  $\alpha$ -hélice, denominada  $\alpha 1$  (Figura 2.3, a). Essa cadeia (secundária) possui a extremidade N-terminal e não deve ser confundida com a subunidade  $\alpha 1$  (terciária) encontrada no receptor de acetilcolina do organismo *Torpedo californica*. A cadeia  $\alpha 1$  é seguida pela alça 1 e depois pela cadeia secundária  $\beta$  pregueada, nomeada  $\beta 1$ . A cadeia  $\beta 1$  é seguida por mais 9 cadeias  $\beta$  pregueadas ( $\beta 2$ - $\beta 10$ ), cada uma antecedida pelas respectivas alças (alça 2-10). A cadeia  $\beta 5$  é constituída de duas pequenas cadeias  $\beta$ , a  $\beta 5$  (sentido da seta de baixo para cima) e a  $\beta 5'$  (sentido da seta de cima para baixo), ligadas por uma pequena alça. Duas pequenas  $\alpha$ -hélices ( $3_{10}$ ) encontram-se no topo do domínio de ligação, uma na alça 3 e a outra na alça 4. As alças que compõem o sítio de ligação e envolvem o ligante são a alça A (ou alça 5 da subunidade B), a alça B (alça 8 da subunidade B), alça C (alça 10 da subunidade B), alça D (alça 5 da subunidade A), alça E (alça 6 da subunidade A) e alça F (alça 9 da subunidade A) (Figura 2.3, a).

Figura 2.3 - Estrutura das subunidades dos receptores AChRs e do receptor protótipo de receptores AChRs de insetos (AChBP). (a) subunidade A ou cadeia A (direita) e B (esquerda) do domínio de ligação (representação em *cartoon*) da lesma de água salgada *Aplysia californica*: o domínio é o protótipo da porção extracelular dos receptores AChRs de insetos; o imidacloprido é mostrado no sítio de ligação (modelo de bolas e bastões). (b) ilustração da sequência das cadeias do domínio de ligação de receptores AChRs e receptores protótipos (AChBP). (c) Subunidade  $\alpha 1$  do receptor AChR da raia elétrica *Torpedo marmorata*: região extracelular (EXTRA), transmembrana (TM) e intracelular (INTRA).



Fonte: elaborada pelo autor.

As cadeias  $\beta$ -pregueadas formam duas folhas  $\beta$  do tipo antiparalelas, ou seja, enquanto uma cadeia  $\beta$  que constitui a folha inicia-se com o grupo carboxila de um resíduo (início da seta) e termina com um grupo amino de outro resíduo (fim da seta), a estrutura  $\beta$  adjacente na mesma folha inicia-se com o grupo amino e termina com o grupo carboxila. Cada folha  $\beta$  pode ser considerada como um motivo - união de estruturas secundárias que não possuem função biológica independente - do tipo chave grega (*greek key motif*). O primeiro motivo é formado pelas cadeias  $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 5 e  $\beta$ 6 (Figura 2.3; a, b), e a cadeia  $\beta$ 3 é adicional, portanto, pode-se dizer que seja um motivo chave grega modificado.

O segundo motivo é formado pelas cadeias  $\beta$ 4,  $\beta$ 7,  $\beta$ 9 e  $\beta$ 10 (com a cadeia adicional  $\beta$ 8). As duas folhas  $\beta$  ou motivos estão arrançados formando o domínio  $\beta$ -sanduíche ( *$\beta$ -sandwich*), ou seja, estão arrançados como duas folhas  $\beta$  opostas (Figura 2.3; a, b).<sup>74,83</sup>

Na porção (c) da Figura 2.3, apenas a subunidade A do receptor AChR do organismo *Torpedo marmorata* é mostrada, incluindo as três regiões que compõem a subunidade: o domínio de ligação extracelular, a região transmembrana e a região intracelular.<sup>83</sup> A região transmembrana é formada por quatro cadeias  $\alpha$ -hélices, isto é, as cadeias transmembrana de 1 a 4 (TM1, TM2, TM3 E TM4).<sup>81,83</sup> A cadeia transmembrana TM1 é o prolongamento da cadeia extracelular  $\beta$ 10, por meio da alça C-terminal. As cadeias transmembrana TM1 e TM2 são ligadas pela alça M1-M2, e as cadeias transmembrana TM2 e TM3 são unidas pela alça M2-M3 (Figura 2.3, c). Não há ligação direta entre o domínio TM3 e o domínio TM4. Na região intracelular, cada subunidade contribui com uma cadeia  $\alpha$ -hélice, denominada MA na Figura 2.3 (c). Essa cadeia é o prolongamento do domínio transmembrana TM4. A alça M3-M4 é o prolongamento do domínio TM3 da região transmembrana em direção ao citoplasma (região intracelular). Essa alça é muitas vezes referida como a *longa alça citoplasmática*, sua sequência é única em cada subunidade, por isso, pode ser considerada como a impressão digital das diferentes subunidades.<sup>74,83</sup>

As mudanças conformacionais da estrutura quaternária do receptor AChR promovem a abertura do canal iônico para o fluxo de íons. Essas mudanças conformacionais da proteína envolvem, provavelmente, o contato entre alças e cadeias secundárias nas interfaces entre as regiões extracelular e transmembrana, e entre transmembrana e intracelular.

Zouridakis et al. (2009) traz uma discussão das interações entre as alças que podem estar por trás das mudanças conformacionais nos receptores de acetilcolina.<sup>74</sup> Com relação às interações que se propagam entre as regiões extracelular e transmembrana, a cadeia C-terminal que liga a cadeia  $\beta$ 10 da região extracelular a cadeia TM1 é antecedida pela alça 10 (ou alça C)

que contém as duas cisteínas vicinais (Cys190 e Cys191) e que sofre grandes mudanças conformacionais devido à interação com o ligante (Figura 2.3, c).<sup>74</sup> A alça M2-M3 que liga a cadeia TM2 à cadeia TM3 é afetada por mudanças na conformação da alça 2 (que liga  $\beta 1$  a  $\beta 2$ ) e também da *alça cys*, isto é, a alça 7. A alça 9 ou alça F, que liga  $\beta 8$  a  $\beta 9$  na região extracelular, faz contato com a alça C-terminal ligada a cadeia TM1 da região transmembrana (Figura 2.3, c).<sup>74</sup> As mudanças conformacionais na interface entre a região transmembrana e intracelular podem ser desencadeadas pela longa alça citoplasmática M3-M4 porque resíduos dessa alça se localizam próximos ao final da cadeia secundária TM4.<sup>74</sup>

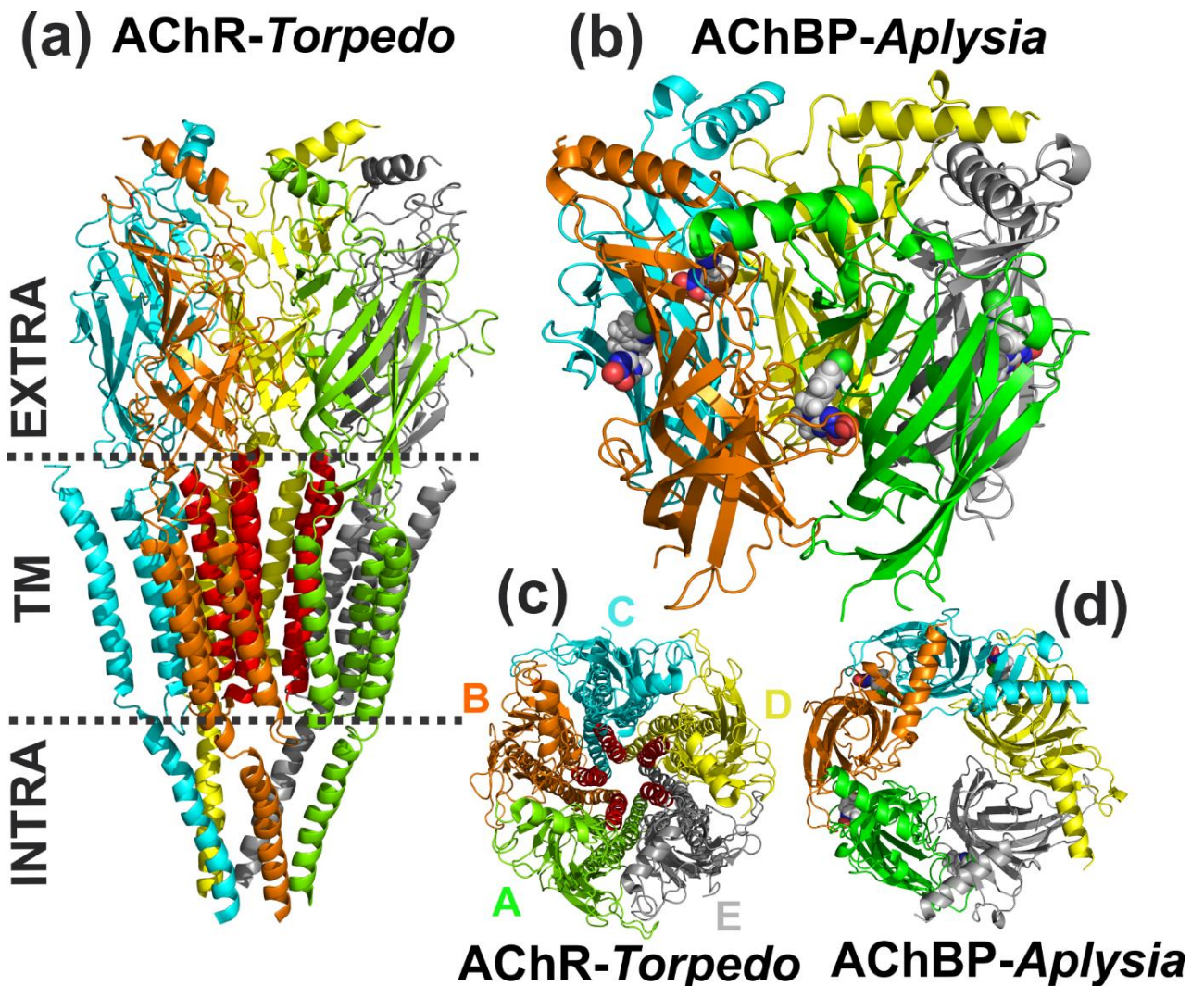
A Figura 2.4 (a) mostra a visão frontal, em formato *cartoon*, da estrutura completa do receptor de acetilcolina (AChR) da raia elétrica (organismo *Torpedo californica*) resolvido por Unwin (2005) através da técnica de cristalografia de raios-x com resolução de 4 Å.<sup>83</sup> Segundo Unwin (2005), o receptor AChR se encontra no estado fechado (em repouso), sem nenhum ligante no sítio de ligação.<sup>83</sup> A interação entre duas subunidades, na interface, é favorecida pela presença de aminoácidos com cargas opostas. Também foi observado que as paredes internas do domínio de ligação extracelular possuem diversos aminoácidos com carga negativa que, provavelmente, facilitam a difusão de cátion através do poro do canal iônico.<sup>74,83</sup> Por exemplo, as subunidades  $\alpha$  tem os resíduos Glu13, Asp44, Glu51 e Asp91, a subunidade  $\beta$  integra os resíduos Asp (nas posições 84, 89 e 97) e Glu (nas posições 45, 82 e 100), na subunidade  $\gamma$  foram identificados os resíduos Glu (nas posições 82 e 100), e Asp49 na subunidade  $\delta$ . Esses resíduos têm o papel de proporcionar um meio que estabilize os cátions. A porção extracelular tem altura e diâmetro do poro de aproximadamente 60 Å e 20 Å, respectivamente.<sup>74</sup>

As cadeias TM2 das cinco subunidades do receptor AChR do *Torpedo marmorata* moldam um cilindro interno (cor vermelha) com comprimento de 40 Å, constituindo o caminho para o fluxo de cátions na região transmembrana (Figura 2.4, a, c). Um cilindro mais externo é formado pelas cadeias TM1, TM3 e TM4 de cada subunidade (cores verde, laranja, ciano, amarelo e cinza, na região transmembrana), isolando o cilindro interno dos lipídeos da membrana.<sup>74</sup> Segundo Zouridakis et al. (2009), os resíduos que mantêm o contato entre as subunidades são hidrofóbicos e a maioria dos resíduos que moldam o cilindro interno de cadeias TM2 também são de natureza hidrofóbica.

No entanto, alguns resíduos com carga, isto é, o resíduo Glu262 da subunidade  $\alpha$ , localizado no final da hélice TM2, Ser266 também da subunidade  $\alpha$ , Arg77 da subunidade  $\delta$  e Lys271 da subunidade  $\gamma$ , moldam anéis ao longo da região transmembrana, um pouco mais

externo que o cilindro de cadeias TM2. Esses anéis de resíduos carregados podem estar ligados ao fluxo de cátions na região transmembrana quando o canal está aberto (estado ativo).

Figura 2.4 - Ilustração dos receptores de acetilcolina (visualização em *cartoon*). (a) visão frontal do receptor de acetilcolina do organismo *Torpedo californica*: região extracelular (EXTRA) ou domínio de ligação, região transmembrana (TM) e região intracelular (INTRA); cadeia A: verde; cadeia B: laranja; cadeia C: ciano; cadeia D: amarelo; cadeia E: cinza). (b) visão frontal do domínio de ligação AChBP da lesma de água salgada (organismo *Aplysia californica*) complexado com o imidacloprido (cadeia A: verde; cadeia B: laranja; cadeia C: verde escuro; cadeia D: amarelo; cadeia E: vermelho); apenas uma molécula do imidacloprido é mostrada, entre as cadeias A e B. (c) visão do topo do receptor AChR do *Torpedo*. (d) visão do topo do receptor AChBP da *Aplysia*; o imidacloprido encontra-se nas interfaces das cadeias A e B, B e C, C e D, e cadeias E e A, enquanto a interface entre as cadeias D e E é inativa.



Fonte: elaborada pelo autor.

O resíduo com carga negativa Glu241 de cada cadeia TM2 da subunidade  $\alpha$  também moldam um anel, já na região intracelular, logo após a região transmembrana. Provavelmente, esse anel

tem a função de conduzir os cátions do final da região transmembrana para o início da região intracelular.<sup>74</sup> No estado fechado, as cadeias TM2 se deslocam em direção ao centro do canal (ou cilindro), onde se unem, formando um poro hidrofóbico de  $\sim 6 \text{ \AA}$  que constitui uma barreira energética para a passagem de íons sódio e potássio hidratados.

Conforme pode ser observado na Figura 2.4 (a), as cinco cadeias de  $\alpha$ -hélices denominadas MA, que se localizam na região intracelular (INTRA), estruturam uma espécie de cone no citoplasma. O poro mais aberto desse cone tem diâmetro similar ao poro extracelular, que é de aproximadamente  $20 \text{ \AA}$ . Além disso, assim como ocorre para o cilindro extracelular, as paredes internas do canal intracelular contêm resíduos carregados, por exemplo, Glu (nas posições 390, 397 e 398) da subunidade  $\alpha$ , Glu423 e Asp427 da subunidade  $\beta$ , Glu437 na subunidade  $\gamma$ ; ambos têm o papel de promover um ambiente de estabilização dos cátions.

Na porção (b) da Figura 2.4 tem-se o domínio de ligação AChBP da lesma de água salgada *Aplysia californica* complexado com o imidacloprid. O ligante imidacloprido é mostrado no formato CPK, na interface entre as cadeias A (verde) e B (laranja), na interface das cadeias B e C (ciano), C e D (amarelo), e entre as cadeias E (prata) e A. Essa ilustração representa a estrutura determinada por Talley et al. (2008).<sup>87</sup>

Pode-se observar que o domínio de ligação AChBP corresponde ao domínio de ligação do receptor AChR do *Torpedo* (Figura 2.4). Vale lembrar que o domínio de ligação dos receptores possui natureza hidrofílica, pois, localizam-se no meio extracelular. As porções (c) e (d) da Figura 2.4 exibem a visão do topo dos receptores do *Torpedo* e *Aplysia*, respectivamente. O anel interno na região transmembrana do receptor AChR do *Torpedo* é destacado na cor vermelha, formando uma espécie de estrela no centro do receptor (Figura 2.4, c).<sup>87</sup> No caso do receptor AChBP da *Aplysia*, Talley et al. (2008) observaram que apenas a interface entre as cadeias D e E não possui o imidacloprido complexado devido ao contato entre a subunidade E de uma célula unitária com a subunidade A de outra célula unitária - no empacotamento cristalino -, ser inferior a  $3,6 \text{ \AA}$ . Os autores também mencionam que o contato ( $< 3,6 \text{ \AA}$ ) entre as subunidades A e E de diferentes células unitárias forma uma folha  $\beta$  por meio da alça C.<sup>87</sup>

### 2.4.1 Mecanismos de interação do imidacloprido com nAChRs

Segundo Beers e Reich (1970), o reconhecimento de um agonista (ou antagonista) pelos receptores nAChRs ocorre devido a uma interação coulombiana entre um centro de carga



positiva (átomo ou grupo funcional com carga positiva) localizado no agonista ou antagonista (por exemplo, a acetilcolina) e um centro de carga negativa ou aceptor de ligação de hidrogênio, posicionado a aproximadamente 5,9 Å de distância do centro de carga positiva.<sup>95</sup>

Yamamoto et al. (1962) afirmaram que a principal característica estrutural das moléculas de nicotínicos (nicotina e estruturas semelhantes) que os possibilitam ser reconhecidos pelo sítio ativo dos receptores de acetilcolina é o nitrogênio básico que se torna positivo devido à protonação, no corpo dos insetos, isso faz com que as estruturas dos nicotínicos se tornem semelhantes à estrutura da acetilcolina.<sup>96</sup> O mecanismo de ligação dos nicotínicos está de acordo com o mecanismo genérico proposto por Beers e Reich (1970) para a acetilcolina e demais agonistas e antagonistas de nAChRs.<sup>95</sup>

Tomizawa e Yamamoto (1993) lançaram a hipótese de que o átomo de nitrogênio terciário do imidacloprido, localizado no anel imidazólico, tem carga parcial positiva devido ao efeito retirador de elétrons do grupo nitro; essa afirmativa também é válida para alguns compostos análogos ao imidacloprido, para mais detalhes, consultar o trabalho original de Tomizawa e Yamamoto, em que os autores investigam vinte compostos análogos ao imidacloprido.<sup>97</sup> O nitrogênio parcialmente positivo desempenha o mesmo papel que o nitrogênio amônio protonado nos nicotínicos, durante a interação do imidacloprido com resíduos do receptor de acetilcolina nicotínico (nAChR). No imidacloprido, esse átomo de nitrogênio liga o grupo cloropiridíneo e metileno ao anel imidazólico. Tomizawa e Yamamoto (1993) postularam que o imidacloprido e compostos análogos deveriam ser denominados de neonicotínicos, com o objetivo de diferenciá-los dos compostos pertencentes à classe dos nicotínicos; conforme já afirmado, os nicotínicos possuem o nitrogênio com carga formal positiva devido à protonação, os neonicotínicos possuem o nitrogênio com carga parcial positiva devido à deslocalização de elétrons.<sup>97</sup>

Outra hipótese lançada por Tomizawa e Yamamoto (1993) foi que o imidacloprido (e demais neonicotínicos) deve compartilhar o mesmo sítio de ligação dos nicotínicos em nAChRs porque possuem o mesmo grupo funcional que é essencial para interação e relação estrutura-atividade (*Structure-activity relationships - SAR*), ou seja, o grupo cloropiridíneo.<sup>97</sup> Os resultados de Tomizawa et al. (2005) deram mais consistência a essa hipótese porque os autores verificaram que os neonicotínicos imidacloprido, nitenpiram e acetamiprido tiveram forte interação com nAChRs de insetos, enquanto os compostos iodeto de tetrametilamônio (TMA) e o composto 2-(Nitrometileno)-tetraidro-1,3-tiazina (NMTHT) tiveram pouca interação com os nAChRs de insetos; os compostos TMA e NMTHT são semelhantes aos nicotínicos e neonicotínicos, respectivamente, mas sem o grupo cloropiridíneo.<sup>98</sup> Como será

visto mais adiante, outros trabalhos verificaram que o grupo nitro (ou análogo) e não o grupo cloropiridíneo é que tem o papel fundamental no reconhecimento molecular dos neonicotinóides, enquanto o grupo cloropiridíneo tem papel complementar.

Os resultados de Tomizawa et al. (1995) também mostraram que os nAChRs de vertebrados interagem mais efetivamente com nicotinóides do que com os neonicotinóides. Os autores concluíram que para a interação com nAChRs de insetos, é necessária a presença de um átomo doador de elétrons (por exemplo, o nitrogênio do grupo cloropiridíneo) no ligante para fazer uma ligação de hidrogênio com algum resíduo do receptor, em referência ao mecanismo geral proposto por Beers e Reich (1970).<sup>95</sup> O átomo doador de elétrons deve estar localizado a 5,9 Å de um centro de carga formalmente positiva ou parcialmente positiva do ligante.<sup>98</sup> Quanto a interação com nAChRs de vertebrados, ligantes que possuem o nitrogênio com carga formalmente positiva é preferível aos ligantes com nitrogênio com carga parcialmente positiva.<sup>98</sup>

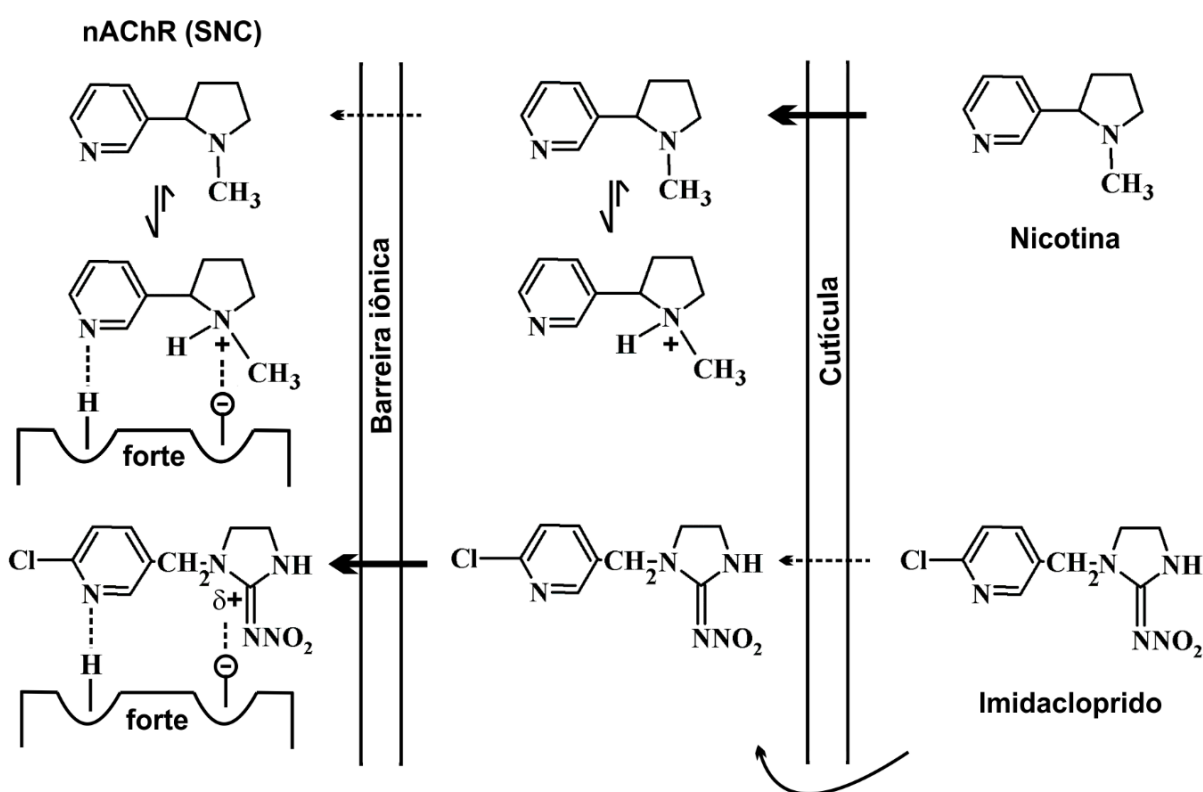
A hipótese, lançada por Tomizawa e Yamamoto em 1993, de que o nitrogênio com carga parcial positiva dos neonicotinóides comporta-se de maneira semelhante ao nitrogênio protonado dos nicotinóides implica, em princípio, que os neonicotinóides possuem o mesmo mecanismo de interação dos nicotinóides. Yamamoto et al. (1995) mostraram por meio dos valores dos deslocamentos químicos encontrados por ressonância magnética nuclear (<sup>15</sup>N RMN) que o par de elétrons não compartilhado do átomo de nitrogênio terciário dos neonicotinóides são deslocados por um forte efeito retirador de elétrons dos grupos vizinhos. Yamamoto et al. (1995) afirmam que esse resultado confirma a hipótese de que o nitrogênio terciário dos neonicotinóides possuem carga parcial positiva.<sup>97,98</sup>

A partir da análise dos dados experimentais, Yamamoto et al. (1995) puderam propor um mecanismo de interação entre os nicotinóides e neonicotinóides com os receptores nAChRs de insetos (Figura 2.5) e de vertebrados (Figura 2.6).

Conforme Yamamoto et al. (1995), em insetos, os nAChRs estão distribuídos somente no sistema nervoso central (SNC). O imidacloprido, por ter baixa hidrofobicidade, não é efetivo em atravessar a cutícula dos insetos como faz o composto iônico nicotina (Figura 2.5).<sup>98</sup> Isso explica o fato do imidacloprido ter menor atividade inseticida por aplicação tópica do que por aplicação por injeção.<sup>98,99</sup> No pH fisiológico, o imidacloprido continua no estado neutro, logo, é mais efetivo em atravessar a barreira iônica do sistema nervoso central dos insetos. Já a nicotina tem seu equilíbrio deslocado no sentido do estado protonado, no pH fisiológico. Por essa razão, a nicotina é retida apreciavelmente pela barreira iônica e o acesso ao receptor é limitado, isso resulta em baixa atividade inseticida. No SNC, um resíduo com carga negativa

do receptor nAChR interage com o nitrogênio terciário e parcialmente positivo do imidacloprido, ou com o nitrogênio positivamente carregado da nicotina. Em outra interação, forma-se uma ligação de hidrogênio que envolve o par de elétrons do nitrogênio piridíneo do imidacloprido ou da nicotina com um hidrogênio do resíduo do receptor. Uma vez no SNC, o imidacloprido e também a nicotina experimentam forte interação com o receptor nAChR (Figura 2.5).<sup>98</sup>

Figura 2.5 - Ilustração do percurso da nicotina (ou outro nicotínóide) e imidacloprido (ou outro neonicotínóide) até o sistema nervoso central dos insetos, e mecanismo de interação com receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChRs) de insetos.

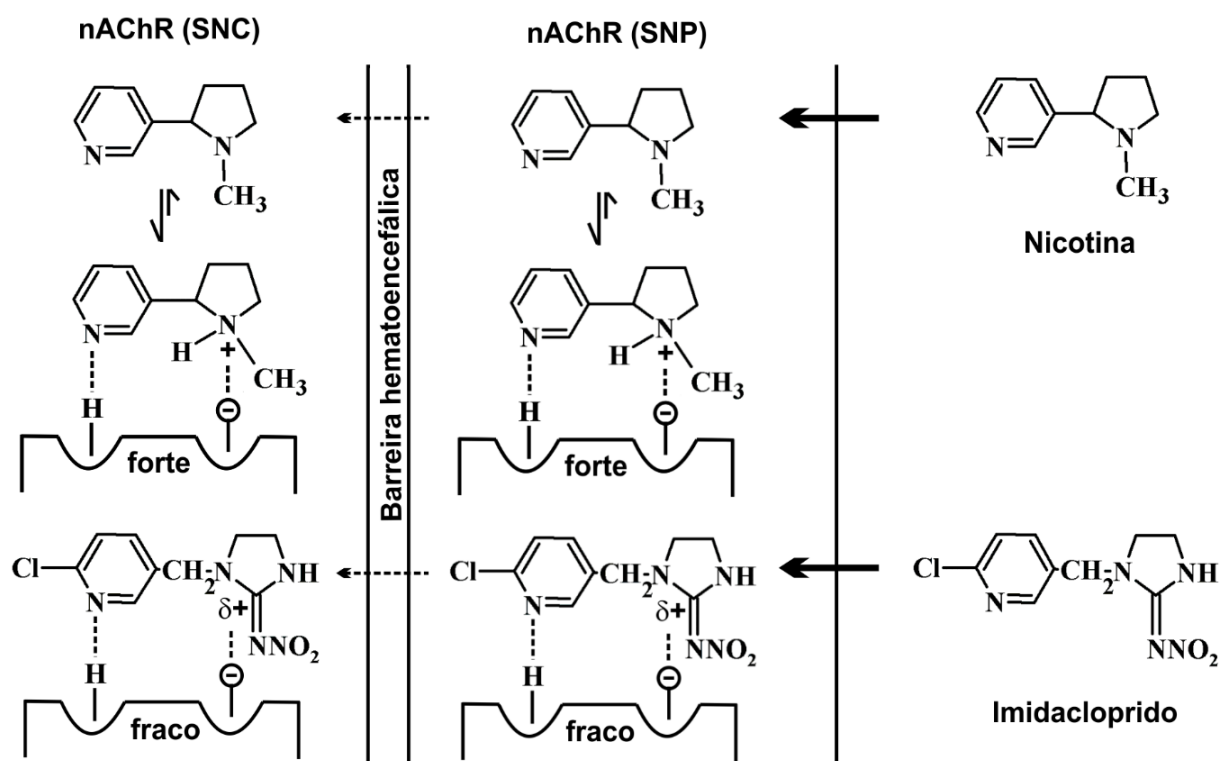


Fonte: adaptada Yamamoto et al. (1995).<sup>98</sup>

Já nos vertebrados, os receptores nicotínicos estão presentes tanto no SNC quanto no sistema nervoso periférico (SNP). Os resultados experimentais mostraram que a interação do imidacloprido com os receptores nAChRs é fraca, quando comparada com a interação da nicotina.<sup>98</sup> Tanto o imidacloprido quanto a nicotina tem acesso limitado aos nAChRs do SNC porque ambos são parcialmente retidos pela barreira hematoencefálica (Figura 2.6). Apesar disso, a nicotina tem alta toxicidade contra vertebrados porque interage fortemente com os nAChRs no sistema nervoso periférico, enquanto o imidacloprido tem interação fraca com esses

receptores.<sup>98</sup> O mecanismo de interação do imidacloprido e da nicotina com o receptor, no SNC e SNP, é igual ao descrito no parágrafo anterior.

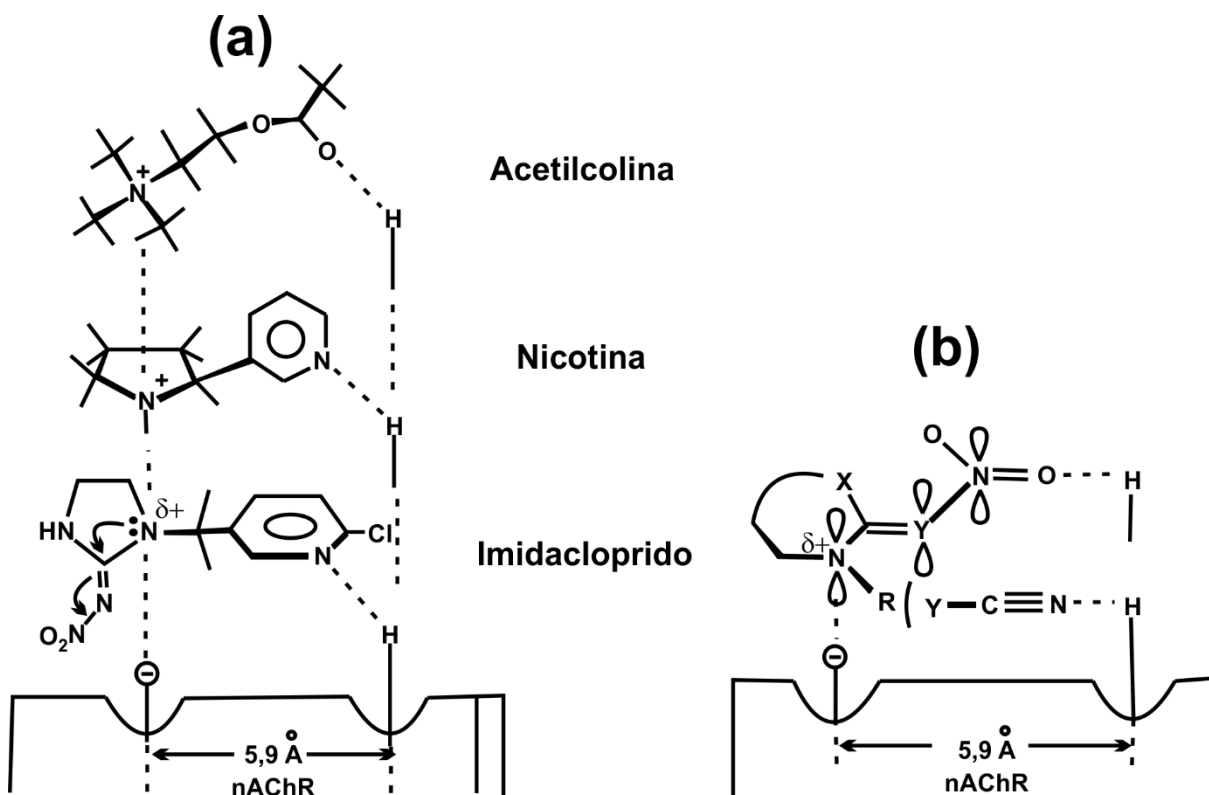
Figura 2.6 - Ilustração do percurso da nicotina (ou outro nicotínóide) e imidacloprido (ou outro neonicotínóide) até o sistema nervoso central e periférico de vertebrados, e mecanismo de interação com receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChRs) de vertebrados.



Fonte: adaptada Yamamoto et al. (1995).<sup>98</sup>

Kagabu e Matsuno (1997) realizaram medidas de difração de raios-x do cristal do imidacloprido e de alguns compostos análogos.<sup>100</sup> Ao considerar que os neonicotínóides interagem com os resíduos do receptor nAChR pelo mesmo mecanismo de interação da acetilcolina e dos nicotínóides, conforme explanado por Tomizawa et al. (1995), os autores encontraram a distância de 5,45 Å entre o centro de carga positiva (o nitrogênio terciário do anel imidazólico) e centro de carga negativa (o nitrogênio piridíneo) na estrutura do imidacloprido (Figura 2.7, a).<sup>98,100</sup> Baseado nesse mecanismo, a interação ocorre entre o centro aniônico em um resíduo de aminoácido do receptor com um centro de carga positiva no átomo de nitrogênio terciário do anel imidazólico do imidacloprido. Ainda seguindo esse mecanismo, o átomo de nitrogênio piridíneo do imidacloprido age como acceptor de ligação de hidrogênio; os autores consideraram a superfície de Van der Waals do átomo de nitrogênio piridíneo.<sup>100</sup>

Figura 2.7 - Mecanismos de interação da acetilcolina (ligante endógeno), nicotinóides (exemplo, nicotina) e neonicotinóides (exemplo, imidacloprido) com resíduos de aminoácidos do receptor de acetilcolina nicotínico (nAChR). (a) interação da acetilcolina (topo) e nicotina (meio); mecanismo 1: interação do imidacloprido por meio do nitrogênio imidazólico e nitrogênio do grupo cloropiridíneo. (b) mecanismo 2: interação do imidacloprido (ou composto análogo) por meio do nitrogênio imidazólico e oxigênio (nitrogênio) do grupo nitro (ciano).



Fonte: adaptada de Kagabu e Matsuno (1997).<sup>100</sup>

Outra possibilidade de interação entre o imidacloprido e resíduos dos nAChRs foi proposta por Kagabu e Matsuno (1997).<sup>100</sup> Nesse segundo mecanismo, a distância de 5,8 Å do centro de carga positiva do átomo de nitrogênio terciário do anel imidazólico do imidacloprido até a superfície de Van der Waals do átomo de oxigênio do grupo nitro é adequada para a interação (Figura 2.7, b).<sup>100</sup> O átomo de oxigênio do grupo nitro possui pares de elétrons isolados, por isso, pode atuar como aceptor de próton em ligação de hidrogênio. Esse novo mecanismo foi considerado mais importante porque a atividade inseticida do imidacloprido foi mantida em compostos nos quais o grupo piridíneo foi trocado por outros grupos, por exemplo, fenil e tiazolil, ou seja, o grupo cloropiridíneo exerce uma função apenas complementar na interação.<sup>100-103</sup>

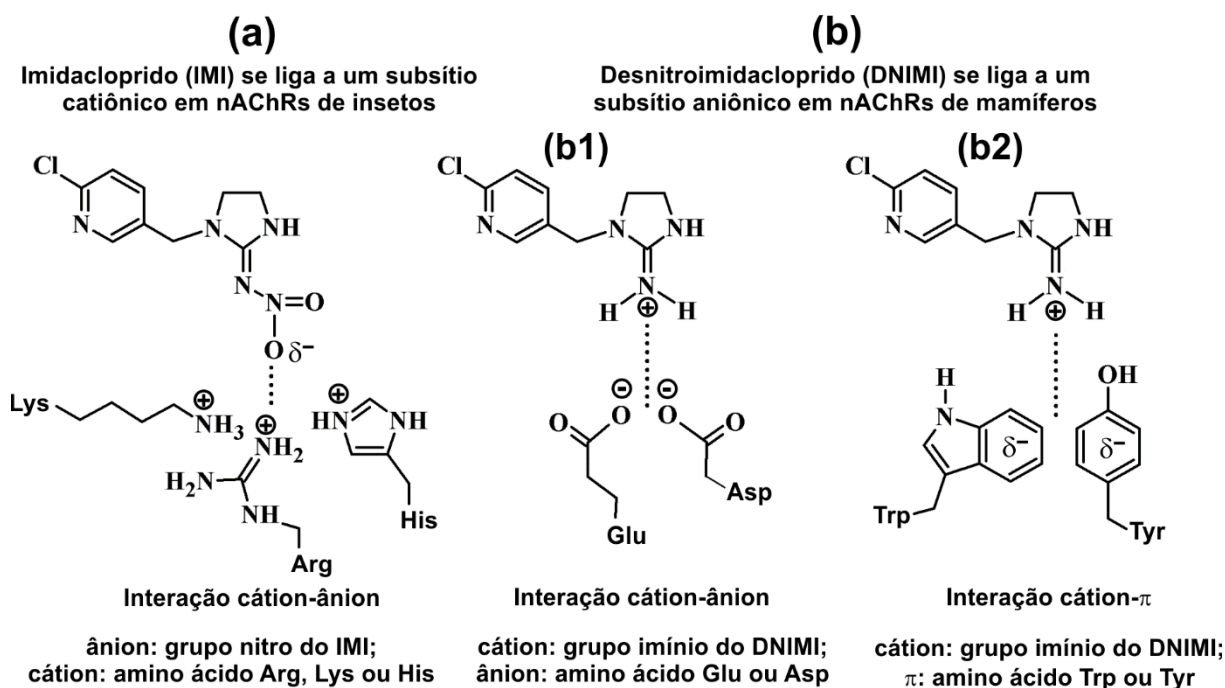
Tomizawa, Lee e Casida (2000) obtiveram por meio de ensaios experimentais que os neonicotinóides, cujas estruturas possuem os substituintes nitroimina (por exemplo, imidacloprido) ou cianoimina (exemplo, tiacloprido), são seletivos para receptores nAChRs de

insetos. Por sua vez, os nicotinóides que são estruturalmente semelhantes ao imidacloprido e tiacloprido, mas que possuem o nitrogênio não substituído, isto é, desnitroimidacloprido (DNIMI) e descianotiacloprido (DCTIA), e os nicotinóides nicotina e epibatidina são seletivos para receptores nAChRs de mamíferos; é importante lembrar que ambos os nicotinóides possuem cargas formalmente positivas.<sup>104</sup>

Tomizawa, Lee e Casida (2000) calcularam as cargas de Mulliken dos neonicotinóides imidacloprido (IMI), cianoimidacloprido (CNIMI), tiacloprido (TIA) e um análogo ao imidacloprido, denominado análogo nitrometileno (CHIMI).<sup>104</sup> Também foram calculadas as cargas de Mulliken dos nicotinóides desnitroimidacloprido e descianotiacloprido; os autores usaram o método semi-empírico MNDO-PM3. Tomizawa, Lee e Casida (2000) obtiveram que as cargas do nitrogênio terciário dos neonicotinóides são ligeiramente positivas: IMI (+0,0315), CNIMI (+0,0129), TIA (+0,0118), CHIMI (+0,0355), enquanto que as cargas dos nitrogênios dos nicotinóides desnitroimidacloprido (-0,0063) e descianotiacloprido (-0,0076) são apenas ligeiramente negativas.<sup>104</sup> Os autores concluíram que embora os grupos nitro e ciano sejam importantes para a deslocalização de elétrons por meio da conjugação dos orbitais nos grupos nitroimina ou cianoimina dos neonicotinóides, esses grupos não são suficientes para deixar a carga do nitrogênio terciário dos neonicotinóides consideravelmente positiva. Segundo os autores, não há relação entre a carga no átomo de nitrogênio terciário dos neonicotinóides e sua afinidade pelos receptores nicotínicos.<sup>104</sup>

Após a análise dos dados de afinidade dos neonicotinóides e nicotinóides por receptores nAChRs de insetos e vertebrados, e considerando os valores de cargas de Mulliken encontrados para o nitrogênio terciário de alguns neonicotinóides e nitrogênio amônio dos nicotinóides, Tomizawa, Lee e Casida (2000) propuseram um terceiro mecanismo de interação, segundo o qual a característica estrutural e eletrônica mais importante para o reconhecimento de um neonicotinóide por receptores nAChRs de insetos é a presença do grupo nitro ou grupo ciano, em vez da carga parcial positiva do nitrogênio terciário do imidacloprido (ou outro neonicotinóide).<sup>104</sup> Tomizawa, Lee e Casida (2000) afirmam que o grupo carregado negativamente (nitro ou ciano) dos neonicotinóides interage com resíduos básicos, por exemplo, arginina (Arg), lisina (Lys) ou histidina (His); os autores denominaram a região do sítio ativo que contém esses resíduos básicos de subsítio catiônico (Figura 2.8, a). Os resíduos lisina e arginina foram encontradas no domínio de ligação extracelular (cadeia N-terminal), entre as posições 149-220 de subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$ , ALS, D $\alpha$ 2, ARD e SBD de moscas-das-frutas. Também foram identificadas uma ou duas histidinas nessas subunidades.<sup>104</sup>

Figura 2.8 - Representação esquemática da interação entre o oxigênio do grupo nitro do imidacloprido e subsítio catiônico de nAChRs de insetos (a); o mesmo modo de interação ocorre com os demais neonicotinóides. Reconhecimento molecular do nicotinóide desnitroimidacloprido por subsítios aniônicos em nAChRs de vertebrados: interação cátion-ânion (b) e cátion- $\pi$  (c); esse mesmo modo de interação ocorre com os demais nicotinóides.



Fonte: adaptada de Tomizawa, Lee e Casida (2000).<sup>104</sup>

Quanto aos nicotinóides, Tomizawa, Lee e Casida (2000) relataram dois modos de interação entre o cátion imínio do inseticida desnitroimidacloprido (DNIMI) - ou o cátion amônio da nicotina ou epibatidina -, com resíduos aniônicos ou aromáticos (subsítio negativo) dos nAChRs de mamíferos (Figura 2.8, b).<sup>104</sup> No primeiro modo, foi proposto que o grupo carboxílico dos resíduos aspartato (Asp) ou glutamato (Glu) interagem com o nitrogênio formalmente positivo dos nicotinóides, portanto, ocorre uma interação do tipo cátion-ânion (Figura 2.8, b1).<sup>104,105</sup> Segundo os autores, os resíduos Asp e Glu foram encontrados em subunidade  $\gamma$  e  $\delta$ , na interface  $\alpha 1\gamma$  e  $\alpha 1\delta$  de receptores de acetilcolina do músculo.<sup>79,104</sup> O segundo modo de interação entre nicotinóides e nAChRs de mamíferos ocorre entre o cátion imínio (ou amônio) e elétrons  $\pi$  de resíduos aromáticos, por exemplo, triptofano (Trp) e tirosina (Tyr), ou seja, a interação é do tipo cátion- $\pi$  (Figura 2.8, b2); os resíduos Trp e Tyr foram encontrados em subunidades  $\alpha 1$ .<sup>104,106</sup> Os autores destacam que no caso da interação envolvendo o cátion amônio dos nicotinóides, o contato ocorre ao considerar a superfície de van der Waals.<sup>104</sup>

Matsuda et al. (2001) complementaram o mecanismo proposto por Tomizawa, Lee e Casida (2000).<sup>104,107</sup> Eles sugeriram que o efeito retirador de elétrons do grupo nitro do imidacloprido poderia ser aumentado devido às ligações de hidrogênio entre os oxigênios do grupo nitro e resíduos com carga positiva em receptores de insetos, por exemplo, arginina e lisina, como havia sido proposto por Tomizawa, Lee e Casida.<sup>104,107</sup> Os autores calcularam as cargas de Mulliken - pelo método semi-empírico PM3 - do imidacloprido, e também de resíduos com carga positiva que poderiam realizar ligações de hidrogênio com o grupo nitro. Os resultados mostram que o grupo nitro do imidacloprido se tornou 0,12e mais negativo, enquanto que os nitrogênios amina terciário (nitrogênio com carga parcial positiva) e o nitrogênio secundário do anel imidazólico se tornaram mais positivos em 0,11e e 0,05e, respectivamente.<sup>107</sup> Segundo Matsuda et al. (2001), os novos valores de carga dos nitrogênios amina são comparáveis ao valor de carga do nitrogênio catiônico da acetilcolina, que é de +0,91e.<sup>107</sup> Os autores também afirmam que outros resíduos aromáticos do receptor podem contribuir para a afinidade do imidacloprido por nAChRs de insetos, por exemplo, pela interação dos elétrons  $\pi$  desses resíduos conjugados e o nitrogênio parcialmente positivo do imidacloprido.<sup>105,107-109</sup>

#### ***2.4.2 Afinidade e toxicidade dos nicotínicos e neonicotínicos em nAChRs***

Muitos trabalhos foram publicados no intuito de verificar a afinidade e toxicidade dos nicotínicos e neonicotínicos em vertebrados e invertebrados.<sup>68,98,110-115</sup> Nesses estudos, foi verificado que os nicotínicos são tóxicos para vertebrados e os neonicotínicos são tóxicos para invertebrados. Um resumo de alguns dos trabalhos é mostrado na Tabela 2.1, extraída do trabalho de Tomizawa (2013).<sup>116</sup>

No que diz respeito à afinidade, os neonicotínicos possuem uma baixa concentração de inibição ( $IC_{50}$ ) nos receptores de mosca das frutas (Tabela 2.1);<sup>116</sup> por exemplo, o valor de  $IC_{50}$  para o imidacloprido é 4,3 nM e para tiacloprido é de 2,7 nM. Por outro lado, são necessárias elevadas concentrações dos neonicotínicos para inibição nos receptores de vertebrados, receptor  $\alpha 4\beta 2$  de frango, com  $IC_{50}$  de 2600 nM (imidacloprido) e 900 nM (tiacloprido). O perfil inverso foi notado para os nicotínicos nicotina e epibatidina, ou seja, altas concentrações para inibição em receptores de insetos e baixa concentração em receptores de vertebrados. Por exemplo, o valor do  $IC_{50}$  da nicotina (epibatidina) vale 4000 nM (430 nM) em receptores de insetos, ao passo que para vertebrados, o  $IC_{50}$  da nicotina (epibatidina) vale 7,0 nM (0,04 nM). Os nicotínicos desnitroimidacloprido (DNIMI) e descianotiacloprido (DCTIA) - derivados dos neonicotínicos



imidacloprido e tiacloprido - aumentam drasticamente a concentração de inibição em receptores de insetos, isso com relação aos valores dos respectivos neonicotinóides. Os nicotinóides DNIMI e DCTIA reduzem a concentração de inibição em receptores de vertebrados (Tabela 2.1).<sup>116</sup>

Tabela 2.1 - Toxicidade e inibição dos neonicotinóides imidacloprido (IMI), tiacloprido (TIA) e nicotinóides nicotina (NIC), epibatidina (EPI), desnitroimidacloprido (DNIMI) e descianotiacloprido (DCTIA) em receptores de insetos e vertebrados, e seus respectivos protótipos AChBP da lesma *Aplysia californica* e do caracol *Lymnaea stagnalis*.

Composto	Toxicidade intrínseca,		Afinidade de ligação, IC <sub>50</sub> (nM)			
	LD <sub>50</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )		nAChR <sup>c</sup>		AChBP <sup>d</sup>	
	Inseto <sup>a</sup>	Camundongo <sup>b</sup>	inseto <sup>c1</sup>	α4β2 <sup>c2</sup>	<i>Aplysia</i> <sup>d1</sup>	<i>Lymnaea</i> <sup>d2</sup>
<b>Neonicotinóides</b>						
IMI	0,02	45	4,3	2600	19	1000
TIA	0,03	28	2,7	900	3,9	220
<b>Nicotinóides</b>						
DN-IMI	>5	8,0	1500	8,2	15	18
DCTIA	>5	1,1	200	4,4	1,0	16
(±)-EPI	>25	0,08	430	0,04	1,0	0,3
(-)-NIC	>50	7,0	4000	7,0	30	100

Fonte: extraída de Tomizawa (2013).<sup>116</sup>

Notas: <sup>a</sup> Injeção intratorácica em moscas domésticas pré-tratadas com um inibidor do citocromo P450; <sup>b</sup> Injeção intraperitoneal; <sup>c1</sup> Mosca das frutas, ensaiado com [<sup>3</sup>H]IMI; <sup>c2</sup> α4β2 de frango (recombinante) ensaiados com [<sup>3</sup>H]NIC. <sup>d</sup> K<sub>D</sub> Determinado por uma adaptação de um ensaio de proximidade por cintilação; <sup>d1</sup> Y55W avaliado com [<sup>3</sup>H]acetamiprido; <sup>d2</sup> Ensaiado com [<sup>3</sup>H] EPI.

Com relação à toxicidade, os neonicotinóides imidacloprido e tiacloprido tiveram maior efeito letal (LD<sub>50</sub>) para o representante dos invertebrados (mosca das frutas), com valores de 0,02 e 0,03 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente; para o camundongo os valores foram 45 (imidacloprido) e 28 mg kg<sup>-1</sup> (tiacloprido).<sup>116</sup> Nicotina e o nicotinóide epibatidina tiveram maior efeito letal para os mamíferos (camundongo), enquanto que os nicotinóides DCTIA e DN-IMI mostraram uma menor diferença de toxicidade entre as classes dos mamíferos e invertebrados (Tabela 2.1).<sup>116</sup>

Os receptores nicotínicos em insetos estão distribuídos preponderantemente no sistema nervoso central.<sup>116</sup> Por causa da barreira iônica que envolve o SNC de insetos, os compostos protonados (por exemplo, a nicotina) são filtrados, passando principalmente a fração não protonada dessa classe de compostos (ver Figura 2.5 da seção 2.5). Contudo, a protonação do nitrogênio com hibridização *sp*<sup>3</sup> é um requisito necessário para a atividade dos nicotinóides em

nAChRs de insetos. Por outro lado, os neonicotinóides não são apreciavelmente protonados no pH fisiológico, por isso, a hidrofobicidade dessa classe de compostos permite a passagem pela barreira iônica no SNC dos insetos, conseqüentemente, os neonicotinóides possuem ótima atividade inseticida, como foi verificado pelos valores de afinidade e toxicidade na Tabela 2.1.<sup>116</sup>

Outra peculiaridade torna a atividade dos neonicotinóides mais efetiva em nAChRs de insetos. Foi verificado que os neonicotinóides ocupam o sítio ativo dos receptores homólogos aos receptores nAChRs de insetos - AChBP da lesma do mar *Aplysia californica* - em uma única orientação, e na mesma orientação dos nicotinóides.<sup>116</sup> Quanto aos receptores homólogos aos receptores nAChRs de vertebrados - AChBP do caracol de água doce *Lymnaea stagnalis* -, os neonicotinóides acomodam-se em duas conformações, uma na mesma orientação encontrada para o receptor da *Aplysia* (esta conformação foi denominada conformação comum) e a outra conformação está em uma posição invertida com relação à conformação comum. No receptor homólogo AChBP do organismo *Lymnaea stagnalis*, os nicotinóides possuem a orientação comum. Portanto, a existência de duas conformações para os neonicotinóides em AChBP do organismo *Lymnaea stagnalis* confere uma menor ação dos neonicotinóides no receptor protótipo dos vertebrados e em receptores de vertebrados. O modo de ligação dos neonicotinóides aos protótipos de receptores de insetos e de vertebrados conferem afinidade e seletividade aos receptores de insetos.<sup>116,117</sup>

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo serão descritos os métodos experimentais e teóricos utilizados no desenvolvimento do trabalho. Na descrição dos métodos experimentais são mencionados os materiais, substâncias, e equipamentos utilizados. Os cálculos teóricos foram realizados em código proprietário (Gaussian 09, Materials Studio, Discovery), e também em código de uso gratuito (VMD, PyMOL educacional, Marvin, VEDA). A metodologia empregada para realizar as simulações computacionais é baseada na experiência dos grupos de Química teórica do Departamento de Química Analítica e Físico-Química (GQT) e Departamento de Física (Labinitio) da Universidade Federal do Ceará.

#### 3.1 Seção Experimental

##### 3.1.1 Espectros de infravermelho e Raman

Imidacloprido com grau de pureza de 99% foi comprado da Sigma-Aldrich. Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foram medidos em pastilhas de brometo de potássio (KBr), 120 mg (1% m/m), com 120 varreduras (*scans*), resolução de 2 cm<sup>-1</sup>. A faixa espectral considerada foi 400-4000 cm<sup>-1</sup>. As medidas foram feitas em equipamento *FTLA 2000 series laboratory, ABB Bomem*. Realizou-se correções da linha de base dos espectros experimentais para permitir uma melhor comparação com os resultados DFT teóricos. As medidas Raman com transformada de Fourier (FT-Raman) foram registradas em um equipamento *Bruker Vertex 70 RAM II*, equipado com laser Nd-YAG (excitando com a linha 1064 nm) e detector de germânio (Ge) resfriado com nitrogênio líquido e alinhado com a fonte de excitação. A região de medida foi de 400-4000 cm<sup>-1</sup>. Executou-se 1024 varreduras, com a potência do laser de 150 mW e resolução de 2 cm<sup>-1</sup>.

##### 3.1.2 Medidas no ultravioleta-visível (UV-VIS)

Os espectros no ultravioleta-visível (UV-VIS) do imidacloprido foram medidos em solução aquosa nas seguintes concentrações: 5,15x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; 5,42 x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; 5,61 x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; 5,81 x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; 6,02 x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; 6,25 x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; 6,5 x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; 6,78 x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; 7,09 x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; 7,39 x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; 7,74 x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; 8,13 x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>. As medidas foram realizadas em espectrofotômetro *Varian Cary 5000 (Varian Inc., Palo Alto, CA, EUA)*.

Utilizou-se a janela espectral de 200-800 nm e caminho óptico de 1 cm. Os dados espectrais do imidacloprido foram expressos como absorvância ( $A$ ) em função da energia (eV). A deconvolução espectral do imidacloprido foi realizada no código OriginLab, empregando seis curvas do tipo gaussianas, ajustadas na faixa de 2 a 6 eV.

## 3.2 Seção Computacional

### 3.2.1 *Confôrmers do imidacloprido*

O procedimento adotado para encontrar os confôrmers de menor energia da molécula do imidacloprido foi realizado em duas etapas, empregando o código Gaussian 09.<sup>118</sup> Na primeira etapa, variou-se os ângulos diedros  $\phi_1$ -C9N8C7C1 e  $\phi_2$ -N8C7C1C6 (Figura 1) em 11 passos de 30° a partir da estrutura inicial, gerando 144 estruturas (12x12). Utilizou-se os funcionais M06-2X e B3LYP, no contexto da teoria DFT, mantendo constante o conjunto de base 6-311++G (d, p). Ambos os cálculos foram realizados sem modelo de solvatação (vácuo) e com o modelo de solvatação implícita conhecido como modelo de polarização contínua (*Polarizable Continuum Model - PCM*). O confômero de menor energia foi usado como referência para determinar a energia relativa dos demais confôrmers de energia superior.

Na segunda etapa procedeu-se a otimização das geometrias para a minimização das energias dos confôrmers. Para isso, utilizou-se como arquivos de entrada (input) as estruturas obtidas na primeira etapa que tiveram energia até 0,59 kcal mol<sup>-1</sup> e mais 20 estruturas com energia superior a 0,59 kcal mol<sup>-1</sup>. O valor de 0,59 é proveniente da distribuição de Boltzmann a uma dada temperatura ( $E = kT$ ), neste caso, foi considerada a temperatura ambiente, isto é, 300 K.

As posições atômicas de mais quatro estruturas do imidacloprido foram extraídas dos correspondentes arquivos *CIF* (*Crystallographic Information File*) de cristais resolvidos por cristalografia de raios-x: uma estrutura proveniente do cristal revelado por Kagabu et al., em 1997 (polimorfo I),<sup>100</sup> duas estruturas extraídas do cristal determinado por Le Questel et al., em 2011 (polimorfo III),<sup>119</sup> e mais uma estrutura que foi encontrada no domínio de ligação AChBP (banco de dados *Protein Data Bank*: arquivo PDB 3C79);<sup>87</sup> mais sobre os polimorfos do imidacloprido será discutido posteriormente. As estruturas obtidas das coordenadas dos cristais foram otimizadas no escopo da teoria DFT, utilizando o funcional M06-2X, conjunto de base 6-311++G (d, p); as estruturas foram otimizadas na fase gás e no modelo de solvatação implícita PCM. As estruturas foram denominadas de CR1 e CR2,<sup>119</sup> CR3,<sup>100</sup> e 3C79.<sup>87</sup>

Vale lembrar que apesar da busca conformacional ter sido realizada utilizando os funcionais M06-2X e B3LYP, com o conjunto de base 6-311++G (d, p), apenas os resultados provenientes do funcional M06-2X foram utilizados na discussão das propriedades estruturais, análise populacional de Hirshfeld (HPA), análise populacional natural (NPA), e orbitais HOMO-LUMO do estado fundamental. O confômero de menor energia obtido com o funcional M06-2X e com o funcional B3LYP foram utilizados para calcular os espectros de infravermelho, Raman e espectros de absorção óptica (UV-VIS).

### ***3.2.2 Espectroscopia vibracional da molécula do imidacloprido***

Para calcular os espectros vibracionais de infravermelho e Raman, utilizou-se a estrutura do confômero de menor energia que foi obtido após a etapa de otimização de geometria (etapa 2 da seção 3.2.1). Os espectros foram calculados usando os mesmos parâmetros teóricos da etapa de otimização da geometria, ou seja, funcionais M06-2X e B3LYP, conjunto de base 6-311++G (d, p), sem solvatação (vácuo) e com o modelo PCM; os cálculos foram realizados no código Gaussian 09. Calculou-se a distribuição de energia potencial (*Potential energy distribution - PED*) de cada modo normal de vibração com o uso do código VEDA. Nesse tipo de cálculo, os arquivos de saída (*output*) do código Gaussian 09 são empregados como arquivos de entrada (*input*) para o código VEDA; para mais detalhes, ver o trabalho de Jamróz (2013).<sup>120</sup>

### ***3.2.3 Espectroscopia no ultravioleta-visível (UV-VIS) da molécula do imidacloprido***

Os espectros de absorção óptica na região do ultravioleta e visível (UV-VIS) foram calculados a partir da estrutura do confômero de menor energia que foi obtido após a etapa de otimização de geometria (etapa 2 da seção 3.2.1). No cálculo dos espectros de UV-VIS utilizou-se os funcionais M06-2X, B3LYP, CAM-B3LYP e WB97XD, no escopo da teoria DFT. Para cada um desses funcionais, empregou-se os conjuntos de bases 6-311++G (d, p), cc-pVTZ e aug-cc-pVTZ, totalizando 12 sistemas de cálculo (4x3). Entretanto, os espectros de UV-VIS foram computados apenas com o uso do modelo de solvatação PCM.

Além da teoria DFT, utilizou-se os métodos pós-Hartree-Fock conhecidos como configuração de interação (*Configuration Interaction Singles - CIS*) e equação do movimento (*Equation of Motion Coupled Cluster Singles and Doubles - EOM - CCSD*). Nesses métodos,

considerou-se os conjuntos de bases 6-311++G (d, p) e aug-cc-pVTZ, portanto, um total de 4 sistemas (2x2).

Os sistemas que proporcionaram resultados mais próximos dos dados obtidos a partir das medidas experimentais foram selecionados para serem explorados na seção de discussão, ou seja, os sistemas simulados com os funcionais M06-2X e B3LYP com o conjunto de base aug-cc-pVTZ.

### 3.2.4 Cristal do imidacloprido

A célula unitária do cristal do imidacloprido teve sua geometria otimizada (processo de minimização de energia) utilizando código CASTEP,<sup>121</sup> implementado na suíte Materials Studio. Todos os cálculos foram realizados no escopo da teoria do funcional da densidade, com duas aproximações do potencial de troca e correlação: (1) a aproximação da densidade local (*Local Density Approximation - LDA*), com a parametrização proposta por Ceperley, Alder, Perdew e Zunger (CAPZ);<sup>122,123</sup> (2) a aproximação do gradiente generalizado (*Generalized Gradiente Aproximation - GGA*), com a inclusão da parametrização de Perdew, Burke e Ernzerhof (PBE),<sup>124</sup> que é similar ao funcional PW91.<sup>125</sup> O esquema de correção das dispersões de Tkatchenko e Scheffler (TS) foi considerado nos cálculos com o funcional GGA mais a parametrização PBE.<sup>126</sup> A correção TS inclui as forças de van der Waals (interações não covalentes) que surgem devido às flutuações da densidade eletrônica.<sup>127</sup> Pseudopotenciais não-conservativos foram utilizados para substituir os elétrons das camadas internas de átomos multieletrônicos com as seguintes configurações da camada de valência:  $2s^22p^2$ (C),  $2s^22p^3$ (N),  $2s^22p^4$ (O),  $3s^23p^5$ (Cl). A célula unitária do imidacloprido tem 528 elétrons (360 elétrons nas camadas internas e 168 elétrons nas camadas de valência).

Para garantir a adequada convergência da célula unitária, utilizou-se um conjunto de base de ondas planas que representam os orbitais de Kohn-Sham nas seguintes energias de corte: 830 e 1100 eV (funcionais LDA e GGA), e nas energias de corte de 830, 1100, 1200, 1300, e 1400 eV (funcional GGA-PBE-TS). Os seguintes parâmetros foram adotados, em todas as etapas sucessivas do campo autoconsistente durante o processo de otimização de geometria: variação total da energia menor do que  $0,50 \times 10^{-5}$  eV/átomo, força máxima por átomo menor que 0,01 eV/Å, pressão menor que 0,02 GPa e máximo deslocamento atômico menor do que  $0,5 \times 10^{-3}$  Å. O algoritmo BFGS (dos autores Broyden, Fletcher, Goldfarb, e Shanno) foi empregado para otimizar a célula unitária.<sup>128</sup> O método BFGS faz uso de um Hessiano (matriz de derivadas parciais de segunda ordem em relação às coordenadas espaciais) inicial que é atualizado recursivamente. A convergência do campo autoconsistente foi considerada

satisfatória quando os seguintes critérios foram alcançados: energia total por átomo com variação abaixo de  $0,5 \times 10^{-6}$  eV e energia eletrônica variando abaixo de  $0,3 \times 10^{-6}$  eV em uma janela de convergência de três ciclos. A precisão da convergência da geometria da célula unitária foi confirmada pela ausência de frequências vibracionais imaginárias. A integral no espaço recíproco foi avaliada pelo método de Monkhorst-Pack, para isso, definiu-se na parametrização do cálculo a grade  $1 \times 3 \times 1$ .<sup>129</sup>

A estrutura de bandas de Kohn-Sham e a densidade de estados foram avaliadas para a célula unitária obtida no cálculo parametrizado com o funcional GGA-PBE mais a correção TS, cuja energia de corte da onda plana empregada foi de 830 eV. A estrutura obtida da parametrização GGA-PBE-TS a 830 eV também foi utilizada para calcular as propriedades ópticas, ou seja, a função dielétrica complexa e absorção óptica, tanto para a luz polarizada ao longo dos diferentes planos do cristal quanto para o material policristalino. Já as propriedades vibracionais foram calculadas a partir da célula unitária otimizada com o funcional GGA-PBE na energia de corte de 1100 eV. Os demais parâmetros utilizados no cálculo das propriedades eletrônicas (estrutura de bandas, densidades de estados), ópticas (função dielétrica e absorção óptica) e vibracionais (infravermelho e Raman) são os mesmos usados no cálculo de otimização de geometria da célula unitária.

### **3.2.5 Interação entre o imidacloprido e o domínio de ligação AChBP da *Aplysia californica***

#### **3.2.5.1 Dados estruturais**

O domínio de ligação AChBP da lesma de água salgada *Aplysia californica* é excretado por células da glia. Talley et al. (2008) obtiveram o cocrystal do domínio de ligação AChBP da *Aplysia californica* complexado com o imidacloprido (e outros neonicotinóides e também nicotinóides). Os autores determinaram as posições atômicas pela técnica de difração de raios-x com resolução de 2,48 Å (código PDB 3C79).<sup>87</sup> Neste trabalho, o cocrystal do domínio de ligação AChBP da *Aplysia*, complexado com o imidacloprido, foi usado para calcular as energias de interação entre o imidacloprido e os resíduos de aminoácidos que se localizam a uma distância de até 8 Å a partir do imidacloprido. O domínio de ligação AChBP é homólogo a região extracelular dos receptores nicotínicos (nAChRs) e é considerado o protótipo de receptores nicotínicos de insetos. O domínio AChBP é formado por cinco subunidades ou cadeias (A-F) iguais (homômero ou homopentâmero). O sítio de ligação do receptor AChBP está localizado na interface, entre duas cadeias, mas a interface entre as cadeia

D e E não apresentou o ligante porque essa região está envolvida na interação entre as células unitárias que compõem o cocristal.<sup>87</sup> Vale lembrar que o domínio de ligação AChBP da *Aplysia* que foi resolvido por Talley et al. (2008) não possui as coordenadas atômicas dos hidrogênios devido às limitações da técnica empregada, por isso, os átomos de hidrogênio foram adicionados e a energia do sistema foi minimizada, conforme descrito na próxima seção.

### 3.2.5.2 Ajustes das estruturas e minimização da energia do sistema

As posições atômicas dos átomos multieletrônicos do imidacloprido e do domínio de ligação AChBP da *Aplysia* foram “congeladas” usando o código VMD (*Visual Molecular dynamics*).<sup>130</sup> Em seguida, a estrutura do imidacloprido foi ajustada para a estrutura do pH fisiológico e a carga foi corrigida: carga +1 para N14 e -0,5 para os átomos O15 e O16, ambos no grupo nitro (Figura 1).<sup>131,132</sup> Os átomos de hidrogênio foram adicionados ao imidacloprido (no anel cloropiridíneo, no grupo metileno e no átomo N10 do anel imidazólico). Ainda com os átomos multieletrônicos congelados, os átomos de hidrogênio foram adicionados nos resíduos de aminoácidos do receptor. Após isso, a energia do sistema imidacloprido-AChBP foi minimizada (otimização de geometria) usando o campo de força de mecânica molecular CHARMM (*Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics*),<sup>133</sup> implementado no código NAMD.<sup>134</sup> Os parâmetros de convergência foram  $2.0 \times 10^{-5}$  kcal mol<sup>-1</sup> para a variação de energia, força por átomo de  $0.001$  kcal mol<sup>-1</sup>Å<sup>-1</sup> e máximo deslocamento atômico de  $1.0 \times 10^{-5}$  Å. Após a minimização da energia do sistema, o estado de protonação do domínio de ligação AChBP foi calculado usando a ferramenta disponível no servidor web PROPKA.<sup>135-137</sup> O sistema, otimizado classicamente, foi usado para estimar as constantes dielétricas e para calcular a energia de interação de cada combinação resíduo-imidacloprido pela técnica de fragmentação molecular com capas conjugadas (*Molecular Fractionation With Conjugated Capes - MFCC*), no escopo da teoria DFT.

### 3.2.5.3 Determinação das constantes dielétricas

O método de fragmentação com capas conjugadas foi utilizado para calcular as energias de interação envolvendo o imidacloprido e cada resíduo localizado em até 8 Å de distância do imidacloprido.<sup>138</sup> Para isso, foram consideradas várias constantes dielétricas para simular o meio de solvatação em torno dos pares resíduo-imidacloprido.



As energias de interação entre os resíduos de interesse (Ri) e o imidacloprido (IMI) foram calculadas adotando duas estratégias de constante dielétrica ( $\epsilon$ ): (1) considerando o mesmo valor de  $\epsilon$  (por exemplo,  $\epsilon=4$ ,  $\epsilon=20$  e  $\epsilon=40$ ) para as energias de interação de todas as combinações IMI-Ri; (2) variando a constante dielétrica para cada combinação IMI-Ri, ou seja, o método da constante dielétrica inhomogênea  $\epsilon(r)$ . Nesse método, a constante dielétrica foi calculada considerando o par IMI-Ri e todos os resíduos dentro de uma esfera delimitada pelo raio da seguinte maneira: o início do raio é o centro de massa do sistema IMI-Ri e a extremidade do raio foi definida pela distância do centro de massa até o átomo mais distante, ou do ligante ou do resíduo de interesse.

O método da constante dielétrica inhomogênea visa representar de maneira mais realística a condição experimental porque a constante dielétrica varia de acordo com o ambiente em que os resíduos de interesse se encontram. Diferentes valores de constante dielétrica foram empregados em diferentes estudos para mimetizar a proteína no meio biológico, desde valores mais baixos (por exemplo,  $\epsilon=1$  e  $\epsilon=2$ ),<sup>139-142</sup> passando por valores intermediários ( $\epsilon=8$ ,  $\epsilon=10$ ,  $\epsilon=11$ ,  $\epsilon=20$ ),<sup>143-146</sup> até valores mais altos ( $\epsilon=40$ ).<sup>142,147</sup> Contudo, o valor  $\epsilon=4$  é mais comumente utilizado.<sup>142,146</sup> Segundo Li et al. (2013), a porção constituída somente por moléculas de água é melhor representada por uma constante dielétrica em torno de 80.<sup>142</sup> Regiões da proteína constituídas principalmente por resíduos carregados e não carregados são melhores descritas por  $\epsilon$  na faixa de 8 a 20, enquanto que cavidades na proteína com resíduos hidrofóbicos possuem  $\epsilon$  em torno de 4. Vale destacar que para estimar a constante dielétrica de cada combinação resíduo-imidacloprido, considerou-se os resíduos das cadeias A e B, as moléculas de água localizadas próximas a esses resíduos e o imidacloprido localizado no sítio de ligação (interface) das cadeias A e B.

Certamente, a inclusão da variação da constante dielétrica possibilita descrever as interações do sistema de uma maneira mais realística porque leva em consideração as moléculas que estão nas vizinhanças do par imidacloprido-resíduo de interesse. Esse método é uma adaptação do método apresentado por Pecharroman, Carreño e Iglesias (1993).<sup>148</sup> A adaptação foi feita pelos grupos de química teórica do Departamento de Química Analítica e Físico-Química (grupo GQT) e do Departamento de Física (grupo Labinítio) da Universidade Federal do Ceará. Recentemente, o primeiro trabalho descrevendo o método da constante dielétrica inhomogênea foi publicado, de autoria de Martins et al. (2017).<sup>149</sup>

O método de Pecharroman, Carreño e Iglesias (1993) consiste em obter a constante dielétrica média para cada combinação resíduo-ligante. Para isso, considera-se a imediata

vizinhança do resíduo de interesse e do ligante, em que as diferentes moléculas desse sistema são representadas por pequenas esferas de volumes  $V_i$  e constante dielétrica  $\epsilon_i$ . Todas as moléculas formam a matriz de constante dielétrica  $\epsilon_m$ .

Neste trabalho, a matriz é uma esfera imaginária de volume  $V$ , contendo o ligante e o resíduo de interesse ( $R_i$ ), podendo conter também outras moléculas, por exemplo, água e outros resíduos. Cada resíduo ou molécula de água são tratados como uma pequena esfera dentro da esfera maior ou matriz. Uma molécula foi considerada como contida na matriz quando pelo menos a maior parte de sua estrutura está contida na matriz. Cada resíduo (ou molécula de água) na matriz possui volume  $V_i$  (ou  $V_w$ ) e constante dielétrica  $\epsilon_i$  (ou  $\epsilon_w$ ).<sup>148</sup> A constante dielétrica de cada resíduo foi obtida do trabalho de Li et al. (2013).<sup>142</sup> A constante dielétrica adotada para a água foi de  $\epsilon_w = 78,54$ .

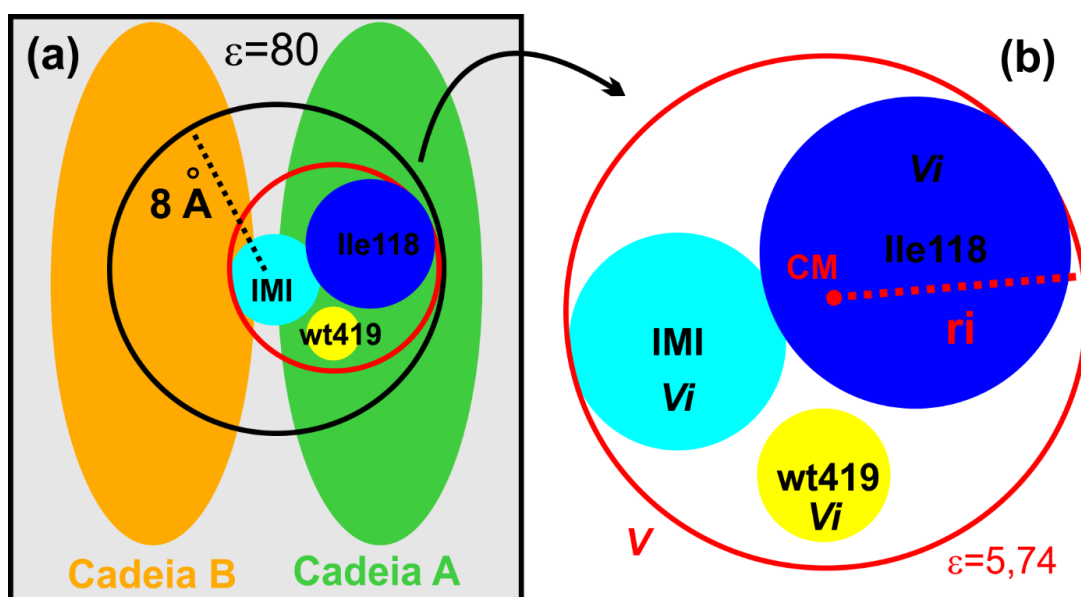
A constante dielétrica média de cada combinação imidacloprido-resíduo de interesse foi calculada seguindo a Equação 3.1.<sup>148</sup> Na Equação 3.1,  $f_i$ , é a razão entre o volume  $V_i$  de cada resíduo  $i$  e o volume da matriz  $V$ ; os volumes  $V_i$  de cada resíduo foram determinados experimentalmente por Zamyathnin (1984).<sup>150</sup> Portanto,  $f_i$  é a fração volumétrica do resíduo  $i$ . O termo  $V_w$  é a fração volumétrica da água com relação ao volume  $V$  da matriz (o volume da água utilizado foi de  $30,01 \text{ \AA}^3$ ), enquanto que  $f_m$  é a fração volumétrica vazia da matriz. O volume do imidacloprido ( $204,42 \text{ \AA}^3$ ) foi calculado pelo código *Materials Studio*.

$$\epsilon(R) = \frac{f_m \epsilon_m + 3 \epsilon_m \frac{f_w \epsilon_w}{(\epsilon_w + 2 \epsilon_m)} + 3 \epsilon_m \sum_i \frac{f_i \epsilon_i}{(\epsilon_i + 2 \epsilon_m)}}{f_m + 3 \epsilon_m \frac{f_w}{(\epsilon_w + 2 \epsilon_m)} + 3 \epsilon_m \sum_i \frac{f_i}{(\epsilon_i + 2 \epsilon_m)}} \quad \text{Eq. 3.1}$$

A Figura 3.1 é uma ilustração do método empregado para calcular a constante dielétrica do par IMI-Ile118. Pretende-se facilitar a compreensão do procedimento adotado para delimitar a região a ser considerada no cálculo da constante dielétrica inhomogênea ao longo do domínio de ligação AChBP. A porção (a) da Figura 3.1 mostra a ilustração das cadeias A (verde) e B (laranja) do domínio de ligação proteico AChBP, o meio em que o domínio de ligação está inserido, hipoteticamente, ou seja, a região onde prevalecem moléculas de água ( $\epsilon \sim 80$ ), e a região da proteína que foi considerada para calcular as energias de interação, isto é, a região delimitada por um raio de  $8 \text{ \AA}$  a partir do imidacloprido (IMI). Dentro da região do sistema de interesse ( $8 \text{ \AA}$ ), várias regiões foram delimitadas para o cálculo da constante dielétrica, por exemplo, a região entre o imidacloprido (IMI) e o resíduo de interesse  $R_i$  (cor

vermelha); essa região foi delimitada pelo raio  $r_i$ , que tem início no centro de massa (CM) do par IMI- $R_i$  e extremidade no átomo mais distante do resíduo  $R_i$ . A porção (b) da Figura 3.1 mostra a matriz considerada para definir a constante dielétrica do par IMI-Ile118 (em escala ampliada); de acordo com a Equação 3.1, a constante dielétrica na matriz vale 5,74 ( $\epsilon=5,74$ ). Os círculos  $V_i$  referem-se aos volumes do resíduo Ile118 (azul), do imidacloprido (ciano) e da molécula de água wt419 (amarelo). A matriz é constituída pelo volume total delimitado pelo raio  $r_i$ , enquanto que as regiões não preenchidas são o volume excluído, ou seja, o volume da matriz menos o volume que resulta da soma dos volumes dos resíduos  $R_i$  (neste caso, Ile118), do imidacloprido e das moléculas de água presentes (neste caso, wt419).

Figura 3.1 - Ilustração da metodologia utilizada para calcular as constantes dielétricas ( $\epsilon$ ) em torno de cada par imidacloprido-resíduo de interesse do domínio de ligação AChBP da *Aplysia californica*. (a) cadeias A (cor verde) e B (cor laranja). O domínio de ligação encontra-se imerso no meio aquoso ( $\epsilon\sim 80$ ). O círculo na cor preta delimita a região do domínio de ligação de 8 Å, considerada para estudo. O símbolo  $r_i$  é o raio, que tem início no centro de massa (CM) do par IMI- $R_i$  (imidacloprido-resíduo de interesse  $i$ ) e extremidade no átomo mais distante do resíduo  $R_i$ . Os círculos nas cores azul, ciano e amarelo referem-se aos volumes  $V_i$  do resíduo Ile118, do imidacloprido e da molécula de água wt419, respectivamente.

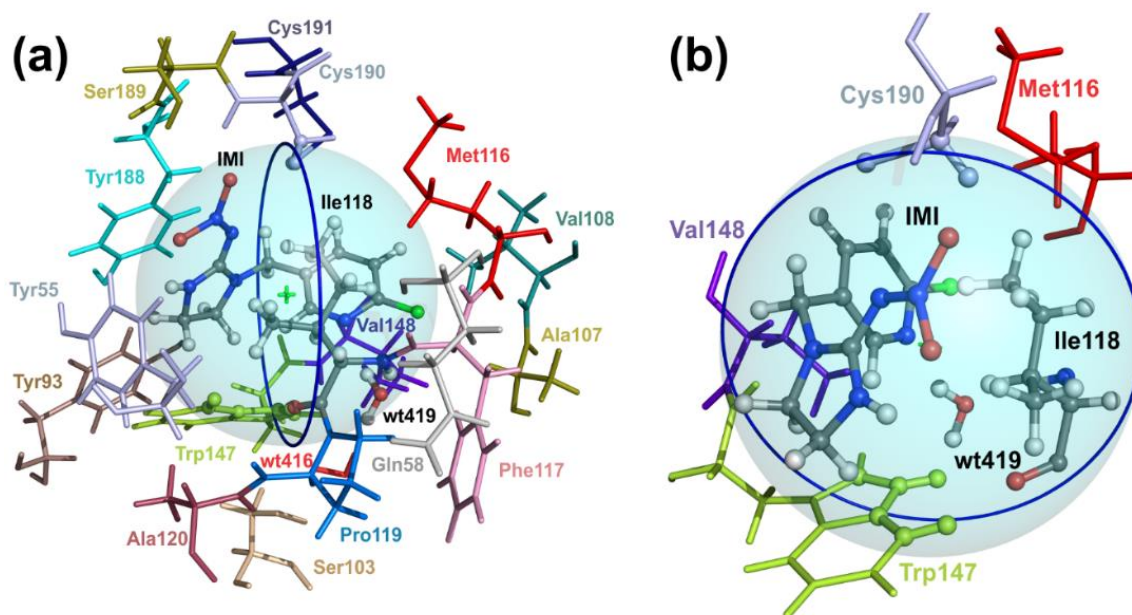


Fonte: elaborada pelo autor.

A Figura 3.2 mostra a região do domínio de ligação AChBP nas vizinhanças do imidacloprido e do resíduo de interesse Ile118. A Figura 3.2 (a) destaca as estruturas contidas dentro da matriz (esfera) no modelo de bolas e bastões: o imidacloprido (IMI), o resíduo de interesse Ile118, a molécula de água (wt419), e uma porção do resíduo Trp147. Os resíduos que

situam-se fora da matriz são representados no modelo de bastões. Para simplificar a visualização, a porção (b) da Figura 3.2 exibe apenas o resíduo Ile118, o ligante IMI, a molécula de água wt419 e resíduos com pelo menos um átomo dentro da matriz; apenas as estruturas ou parte das estruturas moleculares que se situam dentro da matriz são representadas no modelo de bolas e bastões. Nesse exemplo, Ile118, IMI e wt419 foram considerados no cálculo de  $\epsilon$  porque são as estruturas que se encontram inteiramente dentro da matriz. A região delimitada pela matriz foi definida pelo raio que tem início no centro de massa do par IMI-Ile118 e extremidade igual a distância entre o centro de massa e o átomo mais distante do resíduo Ile118.

Figura 3.2 - Volume da esfera que foi considerado para avaliar a constante dielétrica média da interação entre o resíduo isoleucina na posição 118 da cadeia A e o ligante imidacloprido. Em (a) são mostrados: o resíduo de interesse (Ile118), o ligante IMI (imidacloprido), moléculas de água (wt419 e wt416) e resíduos no entorno do par IMI-Ile118. Em (b) são mostrados o resíduo Ile118, IMI, uma molécula de água (wt419) e resíduos no entorno do par IMI-Ile118 que têm pelo menos um átomo dentro da esfera. As estruturas dentro da esfera são representadas no modelo de bolas e bastões; as estruturas fora da esfera são representadas no modelo de bastões.



Fonte: elaborada pelo autor.

#### 3.2.5.4 Energias de interação entre o imidacloprido e resíduos do domínio AChBP

As energias de interação foram calculadas no escopo da teoria do funcional da densidade, utilizando os funcionais de troca e correlação definido pela aproximação do gradiente generalizado GGA (*Generalized gradiente approximation*) e PBE (*Perdew-Burke-Ernzerhof*),<sup>124</sup> implementados no código Dmol<sup>3</sup>.<sup>151,152</sup> A correção TS (*Tkatchenko and*

*Scheffler*) foi incluída no cálculo para considerar as interações de dispersão do sistema.<sup>126</sup> Foi usado o conjunto de base numérica TNP (*Triple-Numerical Plus Polarization*) para expandir os orbitais Kohn-Sham, considerando todos os elétrons explicitamente. A tolerância para a convergência do campo autoconsistente foi ajustada para  $10^{-6}$  Ha. O modelo de solvatação contínua COSMO (*Conductor-Like Screening Model*) foi utilizado para simular a solvatação,<sup>153</sup> entretanto, para cada energia de interação imidacloprido-resíduo, o valor da constante dielétrica foi definido conforme descrito anteriormente (subitem 3.2.5.3).

### 3.2.5.5 Fracionamento molecular com capas conjugadas - MFCC

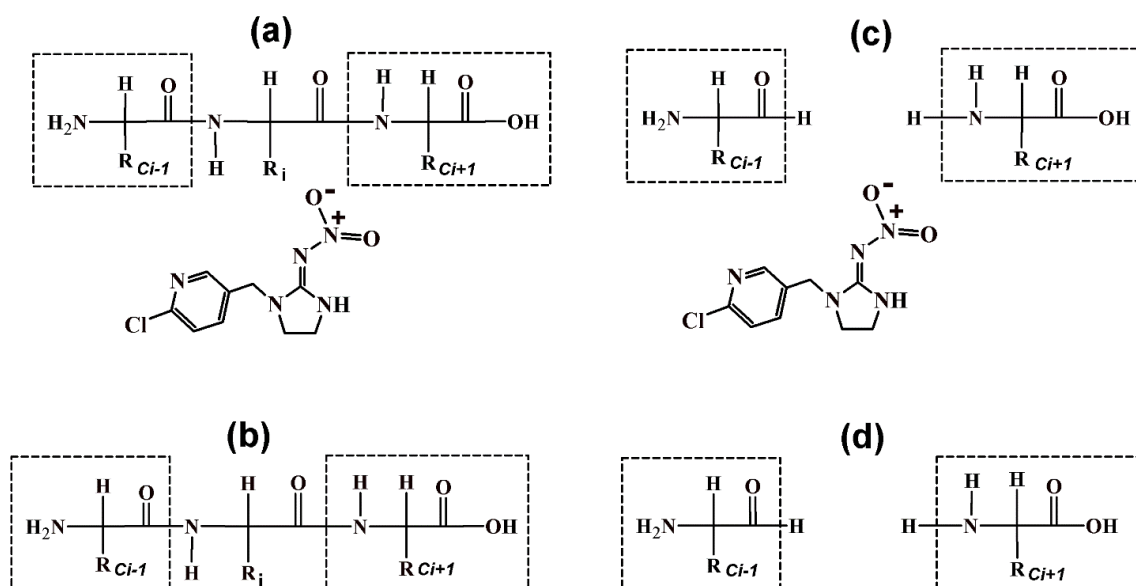
A interação entre o imidacloprido e os resíduos do domínio de ligação AChBP da *Aplysia californica* foi quantificada pelo cálculo das interações individuais entre o ligante imidacloprido (L) e os resíduos de interesse ( $R_i$ ). Os resíduos de interesse são todos os resíduos individuais ( $i$ -ésimo resíduo) que estão localizados em até 8 Å a partir do imidacloprido. Essa distância é suficiente para englobar os resíduos que mais contribuem para a interação total.<sup>154</sup> Os resíduos foram agrupados de acordo com suas distâncias, a partir de 2 Å do centro de massa do imidacloprido, de 0,5 em 0,5 Å. A maneira mais simples de pensar sobre essa divisão é por meio de um esquema de esferas concêntricas e imaginárias, distantes 0,5 Å uma da outra. Por exemplo, até 2 Å há somente o imidacloprido (primeira esfera), os próximos resíduos estão a uma distância aproximada de 2,5 Å (segunda esfera), 3,0 Å (terceira esfera), etc.

As energias de interação individuais de cada par ligante-resíduo de interesse (L- $R_i$ ) foram calculadas para pequenos sistemas construídos da seguinte maneira: foi realizado um corte na cadeia original do domínio de ligação AChBP, isolando o resíduo de interesse e mais cinco resíduos laterais aos grupos amino e carboxila pertencentes ao resíduo de interesse. Portanto, cada sistema menor é constituído do resíduo de interesse, dez resíduos laterais (cinco em cada lateral do resíduo de interesse), o imidacloprido e moléculas de água que formam ligações de hidrogênio com o imidacloprido ou com algum dos resíduos. Os resíduos laterais são denominados “capas”, que promovem uma certa “blindagem” do  $R_i$ , diminuindo a intensidade de interação L- $R_i$ . As capas são adicionadas para aproximar a energia do sistema teórico da energia do sistema real. As duas primeiras capas laterais são simbolizadas por  $R_iC_{i-1}$  e  $R_iC_{i+1}$ , as duas últimas por  $R_iC_{i-5}$  e  $R_iC_{i+5}$ . As valências dos dois últimos resíduos (capas) foram corrigidas pela adição de hidrogênio aos grupos amina e carboxila. A energia de interação L- $R_i$  foi calculada de acordo com a Equação 3.2, expressa para uma capa apenas; a equação para cinco capas envolve mais termos, mas o princípio é o mesmo.

$$E(L - R_i) = E(L - C_{i-1}R_iC_{i+1}) - E(C_{i-1}R_iC_{i+1}) - E(L - C_{i-1}C_{i+1}) + E(C_{i-1}C_{i+1}) \quad (3.2)$$

O termo no lado esquerdo da Equação 3.2,  $E(L - R_i)$ , representa a energia de interação entre o resíduo de interesse e o ligante. O primeiro termo do lado direito da equação 3.2,  $E(L - C_{i-1}R_iC_{i+1})$ , é a energia total do sistema: (1) a energia de interação entre o imidacloprido e o resíduo de interesse; (2) a energia de interação entre o imidacloprido e as capas; (3) a energia de interação entre o resíduo de interesse e as capas; (4) a energia de interação entre as capas (Figura 3.3). O segundo termo do lado direito da Equação 3.2,  $E(C_{i-1}R_iC_{i+1})$ , é a energia de interação entre o resíduo de interesse e as capas e a energia de interação entre as capas. O terceiro termo da Equação 3.2,  $E(L - C_{i-1}C_{i+1})$ , é a energia de interação entre o imidacloprido e as capas e a energia de interação entre as capas. Por último, o quarto termo,  $E(C_{i-1}C_{i+1})$ , é a energia de interação entre as capas (Figura 3.3).

Figura 3.3 - Ilustração do esquema para obtenção da energia de interação resíduo de interesse ( $R_i$ )-ligante: (a) interação entre todas as moléculas do sistema; (b) interação entre o resíduo de interesse ( $R_i$ ) e as capas laterais ( $C_{i-1}$  e  $C_{i+1}$ ) e interação entre as capas; (c) interação entre o ligante imidacloprido e as capas laterais ( $C_{i-1}$  e  $C_{i+1}$ ) e interação entre as capas; (d) interação entre as capas ( $C_{i-1}$  e  $C_{i+1}$ ).



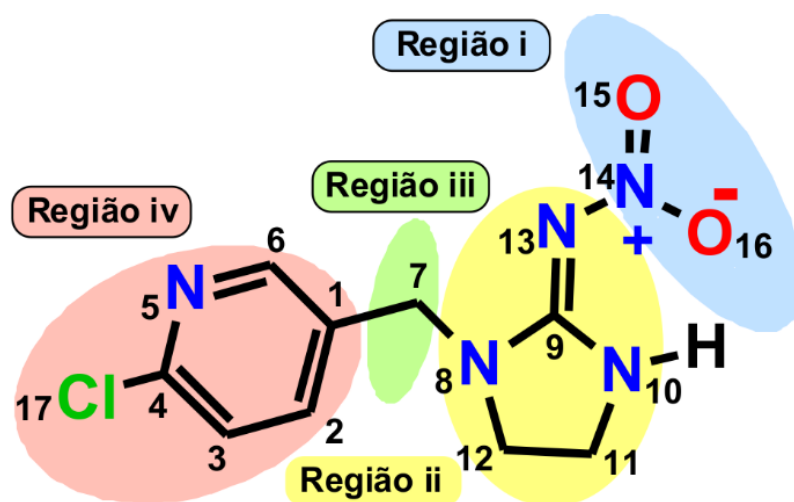
Fonte: elaborada pelo autor.

### 3.2.5.6 Gráfico do sítio de ligação, energias de interação e resíduos do domínio

O gráfico dos dados do sítio de ligação, energias de interação e resíduos do domínio (*Binding Site, Interaction energy and Residues Domain - BIRD*) foi proposto pelos

pesquisadores Costa et al. (2012),<sup>155</sup> Barroso-Neto et al. (2012),<sup>156</sup> e Zanatta et al. (2012),<sup>157</sup> como uma proposta de ferramenta útil e rápida para analisar as interações mais importantes entre um ligante qualquer e resíduos de aminoácidos em um sítio de ligação.<sup>158</sup> Em um dos eixos laterais e verticais (por exemplo, eixo no lado esquerdo) do gráfico são identificados os principais resíduos de aminoácidos que contribuem para a interação com o ligante. No segundo eixo lateral e vertical (eixo direito) são identificadas as distâncias (Å) entre o imidacloprido e os resíduos que mais contribuem para a interação. No centro do gráfico, as energias de interação (kcal mol<sup>-1</sup>) entre o ligante e os resíduos de interesse são plotadas no modelo de barras horizontais, fornecendo uma visualização direta do tipo de interação: se atrativa ou repulsiva, a intensidade da interação. Além disso, são destacadas as moléculas de água que formam ligações de hidrogênio com os resíduos e também as regiões do ligante que se localizam mais próximas dos resíduos de interesse. O ligante é dividido em regiões, de acordo com a natureza, tais como regiões aniônicas (ou catiônicas), hidrofóbicas, aromáticas, etc. Considerando o ligante imidacloprido, as regiões destacadas foram i, ii, iii e iv (Figura 3.4): a região (i) refere-se ao grupo aniônico nitro, a região (ii) representa o grupo guanidina e anel imidazólico, a região (iii) é constituída pelo grupo metileno, e a região (iv) é definida pelo anel aromático cloropiridíneo (Figura 3.4).

Figura 3.4 - Divisão topológica do imidacloprido nas regiões: (i) grupo nitro; (ii) guanidina e anel imidazólico; (iii): grupo metileno; (iv) anel cloropiridíneo. As regiões (i), (ii), (iii) e (iv) interagem com os resíduos de aminoácidos do domínio de ligação AChBP.



Fonte: elaborada pelo autor.

## 4 A MOLÉCULA DO IMIDACLOPRIDO

Neste capítulo, pretende-se fornecer os resultados teóricos e experimentais da caracterização estrutural (comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedros), eletrônica (energia de Gibbs ou  $\Delta G$ , cargas de Hirshfeld, NBO, orbitais HOMO-LUMO, *gap* de energia), absorção óptica (espectro no UV-VIS) e vibracional (espectros de infravermelho e Raman) da molécula do imidacloprido. A maior parte do capítulo é dedicada à discussão das propriedades do confôrmero mais estável do imidacloprido, ou seja, a estrutura no mínimo global de energia, mas também foram apresentados os confôrmeros no mínimo de energia local.

A motivação para este tema surgiu devido ao interesse da comunidade científica do Brasil e do mundo no estudo de agrotóxicos, em especial, o inseticida neonicotinóide imidacloprido. A compreensão das propriedades do imidacloprido (e demais neonicotinóides) pode ser útil no desenvolvimento racional de novas estruturas (na farmacologia, *Drug Design*) com maior seletividade e eficácia, em estudos de interação, tais como a interação do imidacloprido com proteínas alvo (o receptor de acetilcolina nicotínico nAChR), e a interação com nanoestruturas: nanobiossensores para detecção do imidacloprido e nanopartículas para entrega segura e controlada.

Além disso, as linhas dos espectros vibracionais e as linhas de absorção óptica calculadas a partir de métodos *ab initio* constitui uma ferramenta útil na caracterização das bandas experimentais de infravermelho e Raman e na identificação das bandas experimentais de absorção óptica e transições eletrônicas no ultravioleta e visível. Pesquisadores propuseram que os métodos de análise vibracional podem ser empregados no desenvolvimento de dispositivos portáteis para caracterização e quantificação do imidacloprido em campo.

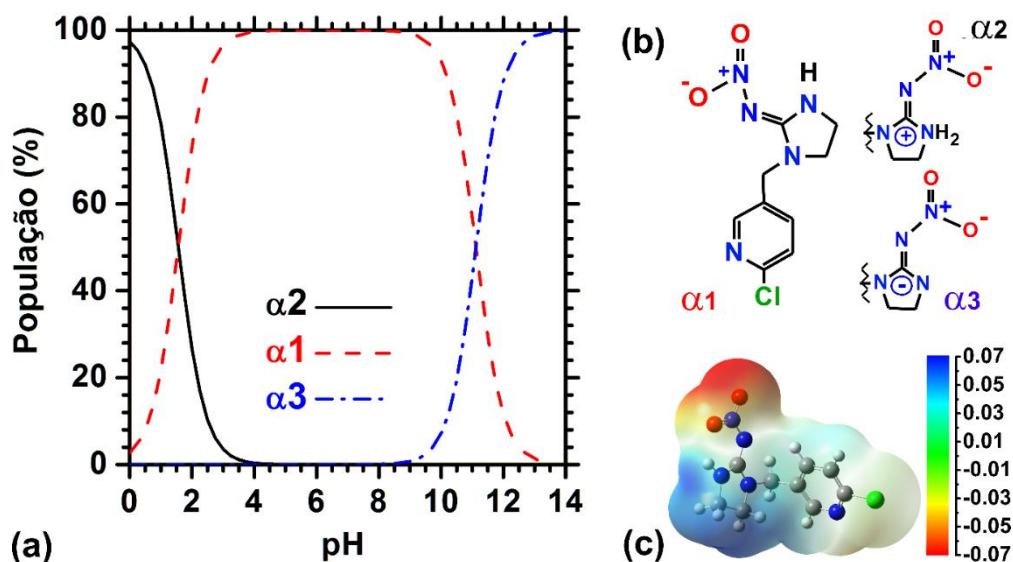
### 4.1 Estruturas dos estados de protonação do imidacloprido

Os estados de protonação do imidacloprido é bioquimicamente importante porque influencia a estrutura do composto e suas propriedades. Keith, Evans e Bromilow (1996), determinaram experimentalmente as constantes de equilíbrio para as estruturas dos estados de protonação do imidacloprido que surgem com a variação do potencial hidrogeniônico ou pH. A primeira constante de protonação ( $pK_1$ ), relativa ao meio ácido, vale 1,56; enquanto que a segunda constante de protonação ( $pK_2$ ), relativa ao meio básico, tem valor 11,12.<sup>132</sup> Em pH



fisiológico (pH=7,4), a estrutura neutra ( $\alpha 1$ ) é preponderante e a fração do imidacloprido protonado ( $\alpha 2$ ) está abaixo de 0,0002% (Figura 4.1).<sup>131,132</sup>

Figura 4.1 - Estados de protonação do imidacloprido e mapa de potencial eletrostático (*Electrostatic Potential - ESP*). (a) distribuição dos estados de protonação do imidacloprido em função do pH; (b) estados de protonação do imidacloprido  $\alpha 1$  (pH fisiológico),  $\alpha 2$  (baixo pH) e  $\alpha 3$  (alto pH). (c) mapa de potencial eletrostático para a estrutura  $\alpha 1$  do imidacloprido.

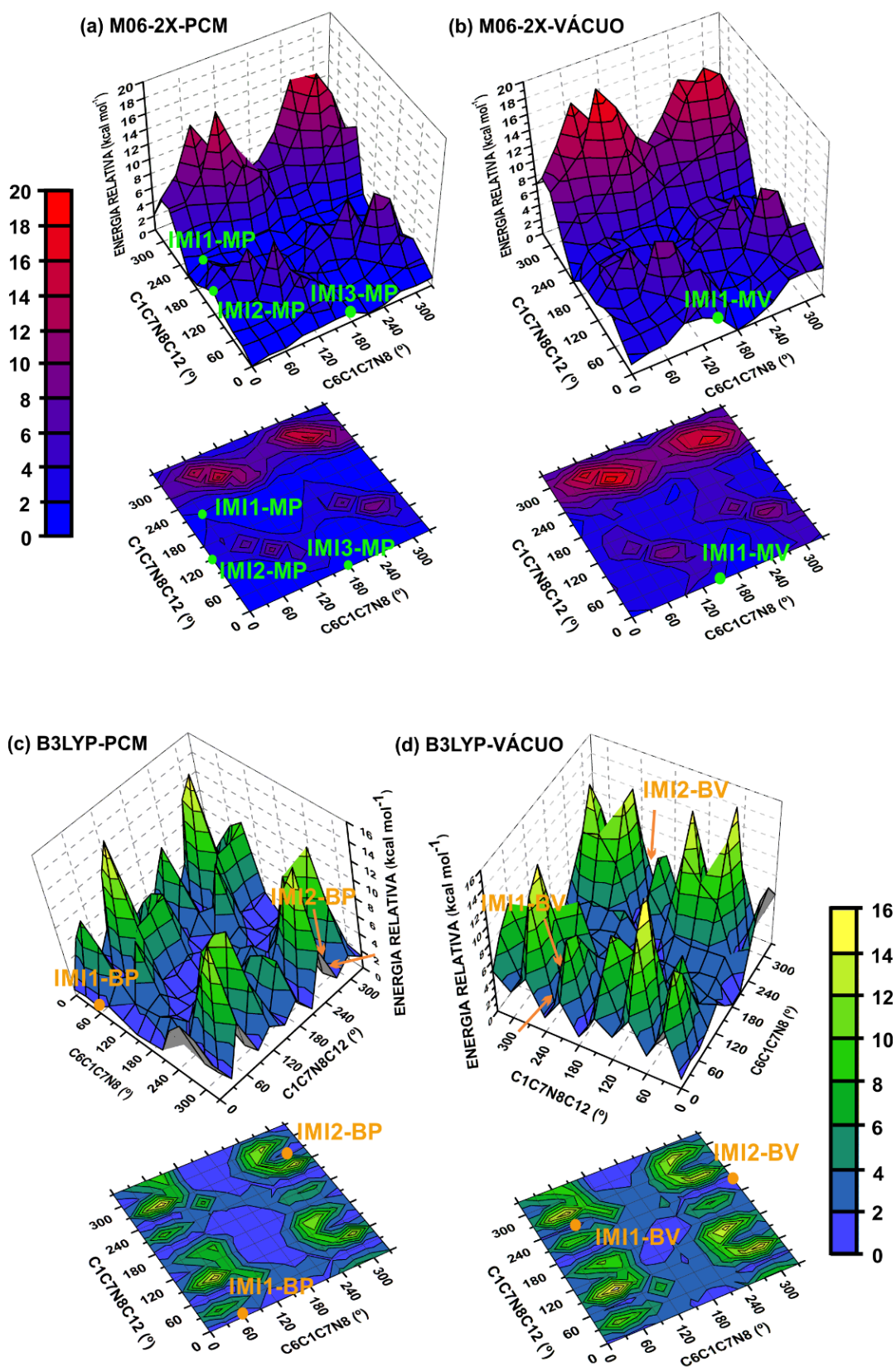


Fonte: elaborada pelo autor.

Tomizawa et al. (2003) propuseram as estruturas dos estados de protonação (Figura 4.1).<sup>131</sup> O mapa de potencial eletrostático (*Electrostatic Potential - ESP*) para a estrutura  $\alpha 1$  foi simulada por cálculos quânticos, no escopo da teoria DFT, funcional de troca e correlação M06-2X e conjunto de base 6-311++G(d,p) (Figura 4.1, c). As regiões que apresentam cor vermelha (azul) indicam a existência de carga negativa (positiva), de acordo com a escala de cores da barra localizada na Figura 4.1 (c). Nota-se que a estrutura  $\alpha 1$  possui pronunciada carga negativa no grupo funcional nitro, em comparação com as demais regiões da molécula. Uma redução da carga negativa pode ser notada no anel cloropiridíneo, enquanto que a carga positiva é mais notável no anel imidazólico.

Certamente, seguindo os mecanismos de interação - propostos por Beers e Reich (1970), Kagabu et al. (1997) e Tomizawa et al. (2003) - entre o imidacloprido e resíduos dos receptores nAChRs, a estrutura  $\alpha 1$  possui uma distribuição de carga mais adequada para a interação com os resíduos porque a estrutura  $\alpha 2$  implicaria em perda de carga negativa no grupo nitro devido à protonação no anel imidazólico, enquanto  $\alpha 3$  forneceria carga negativa no átomo de nitrogênio terciário do anel imidazólico.

Figura 4.2 - Energia de Gibbs dos confôrmeros do imidacloprido em função dos ângulos diedros ( $\phi_1$ ,  $\phi_2$ ), modelo M06-2X-PCM (a), M06-2X-vácuo (b), B3LYP-PCM (c) e B3LYP-Vácuo (d).



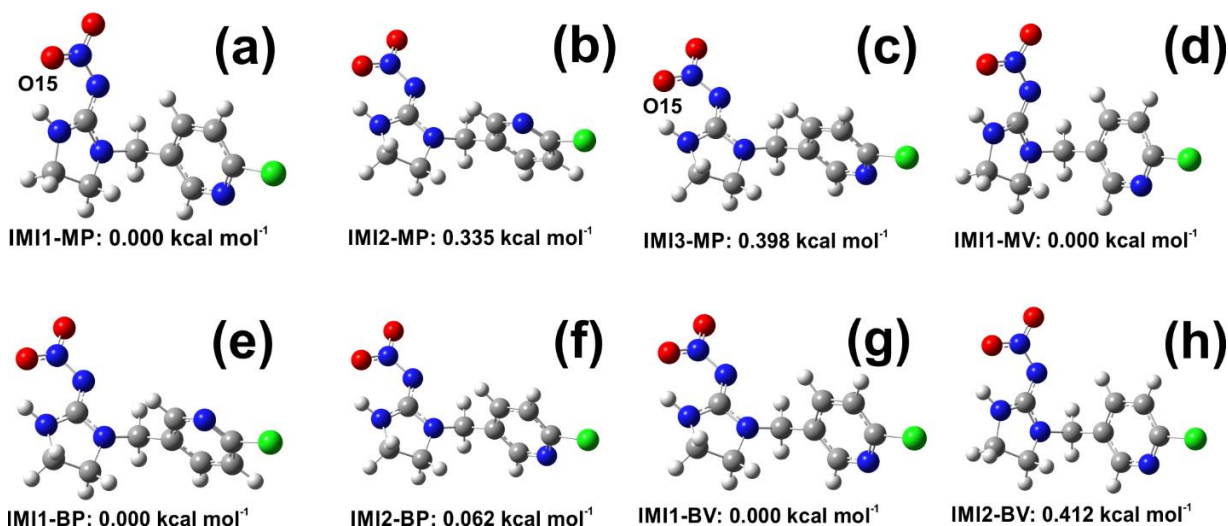
Fonte: elaborada pelo autor.

## 4.2 Confômeros do imidacloprido

Os confômeros do imidacloprido foram gerados a partir da rotação nos diedros  $\phi_1$ :C6C1C7N8 e  $\phi_2$ :C1C7N8C12 (ver diedros na Figura 1 do capítulo 1) por meio do cálculo *scan* implementado no código Gaussian 09.<sup>118</sup> Os cálculos foram realizados utilizando o conjunto de base 6-311++G (d, p) e os funcionais M06-2X e B3LYP, ambos com modelo de solvatação PCM e vácuo. As energias de Gibbs (em kcal mol<sup>-1</sup>) dos confômeros do imidacloprido obtidos no cálculo *scan* foram ajustadas em relação a energia do confômero mais estável ou confômero de menor energia. Na Figura 4.2 foram plotadas as curvas de energia para as estruturas do *scan*. Pode-se dizer que o cálculo *scan* constitui uma primeira aproximação ou etapa inicial da busca conformacional. Na segunda etapa da busca conformacional, as estruturas da primeira etapa (*scan*) com valores de energia de até 0,59 kcal mol<sup>-1</sup> e as primeiras 20 estruturas com energia superior a 0,59 kcal mol<sup>-1</sup> foram submetidas ao cálculo de otimização de geometria.<sup>118</sup>

Após a segunda etapa (otimização de geometria), as energias foram reavaliadas considerando novamente o limite de 0,59 kcal mol<sup>-1</sup>. Com isso, encontrou-se um confômero no modelo vácuo, denominado IMI1-MV, em que o termo IMI1-MV significa o primeiro confômero de menor energia do imidacloprido obtido com o funcional M06-2X, conjunto de base 6-311++G (d, p), no vácuo (Figura 4.3).

Figura 4.3 - Confômeros do imidacloprido obtidos com o funcional M06-2X: IMI1-MP (a), IMI2-MP (b), IMI3-MP (c) e IMI1-MV (d); confômeros obtidos com o funcional B3LYP: IMI1-BP (e), IMI2-BP (f), IMI1-BV (g) e IMI2-BV (h). Energia de Gibbs (kcal mol<sup>-1</sup>) para os confômeros do imidacloprido obtidos após a etapa de otimização que sucede o *scan*.

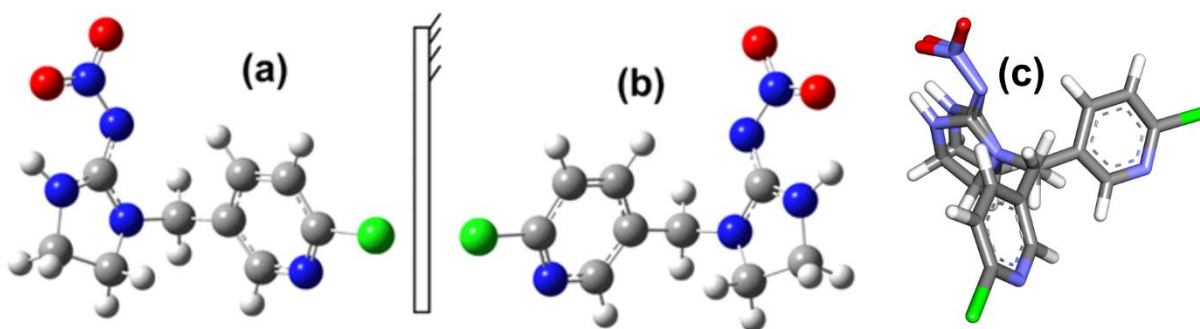


Fonte: elaborada pelo autor.

No modelo PCM foram obtidos três confôrmeros, denominados IMI1-MP, IMI2-MP e IMI3-MP, em que o termo IMI1-MP é o primeiro confôrmero de menor energia, no funcional M06-2X, conjunto de base 6-311++G (d, p), modelo de solvatação PCM. A mesma terminologia usada para IMI1-MV e IMI1-MP se aplica aos demais confôrmeros IMI2-MP e IM3-MP. Com o funcional B3LYP, obteve-se os confôrmeros IMI1-BP e IMI2-BP (BP significa B3LYP, PCM), e os confôrmeros IMI1-BV e IMI2-BV (BV significa B3LYP, vácuo). As estruturas e energias de ambos os confôrmeros são mostradas na Figura 4.3. Vale lembrar que todos os confôrmeros estão no mínimo de energia porque não foram encontradas frequências negativas no cálculo de frequências vibracionais que sucede a otimização de geometria. Para facilitar as futuras discussões no decorrer deste trabalho, o conjunto de confôrmeros obtidos pelo procedimento de *scan* e otimização de geometria será identificado pela expressão *os confôrmeros do scan*, cabendo ao leitor lembrar que a expressão se refere a esses confôrmeros e que os mesmos foram otimizados.

Observou-se que o cálculo do *scan* é menos preciso porque ele estima somente as energias do tipo *single point*, ou seja, sem ajustar as posições atômicas até o mínimo de energia. Na segunda etapa, o procedimento de otimização da geometria melhora o sistema, relaxando as posições atômicas para as proximidades do mínimo de energia.<sup>159</sup> Então, estruturas que estão em um mínimo local na etapa do *scan* (Figura 4.2) podem mover-se, após a otimização de geometria, para um mínimo global. Nessa visão, notou-se que ambos os confôrmeros possuem energias situadas em mínimos locais no cálculo do *scan* (Figura 4.2), porém, mudando para o mínimo global depois da otimização de geometria.

Figura 4.4 - Ilustração dos confôrmeros do imidacloprido que podem existir com a mesma energia. Os confôrmeros em (a) e (b) são obtidos por uma operação de reflexão devido ao plano de simetria no grupo metilênico que liga os anéis cloropiridíneo e imidazole. (c) superposição dos confôrmeros mostrados em (a) e (b). Os confôrmeros são isômeros pro-quirais: a substituição de quaisquer dos hidrogênios do grupo metilênico produz enantiômeros.



Fonte: elaborada pelo autor.

Vale destacar que analisou-se neste trabalho somente uma das duas possibilidades de cada confôrmero que pode existir com a mesma energia, isso porque há um plano de simetria no grupo metileno que liga o anel cloropiridíneo ao anel imidazólico (Figura 4.4);<sup>119</sup> os dois confôrmeros são isômeros pro-quirais, ou seja, embora não tenham carbono quiral, a substituição de qualquer dos hidrogênio no grupo metileno produz isômeros quirais (enantiômeros).

#### **4.2.1 Desvios estruturais dos confôrmeros: desvio quadrático médio (RMSD)**

Os parâmetros estruturais (comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedros) dos confôrmeros encontrados por cálculos teóricos com o funcional M06-2X e B3LYP (PCM e vácuo) foram comparados aos parâmetros estruturais obtidos por difração de raios-x por Chopra et al. (2004).<sup>160</sup> A comparação entre os parâmetros estruturais teóricos da molécula do imidacloprido com os parâmetros experimentais da estrutura do cristal foi realizada pelo mesmo procedimento seguido por outros autores, isto é, pelo desvio médio quadrático (MRSD).<sup>161,162</sup>

Alguns trabalhos mostraram que cálculos com o funcional M06-2X forneceram os menores desvios de comprimentos de ligação e ângulos de ligação de moléculas com relação aos parâmetros obtidos experimentalmente por cristalografia de raios-x.<sup>163-165</sup> Outros trabalhos indicaram que o funcional B3LYP forneceu os menores desvios dos parâmetros estruturais teóricos de moléculas com relação às medidas experimentais de cristais.<sup>166-168</sup> O trabalho de Sert et al. (2014) destacou que o funcional M06-2X previu ângulos de ligação de estruturas moleculares mais precisamente, enquanto que o funcional B3LYP foi superior na estimativa dos valores dos comprimentos das ligações.<sup>169</sup> Shu-Gui, Hao e Ong-Zhong (2015) fizeram um estudo das interações não covalentes e ligações de hidrogênio em estruturas de dupla-hélice de  $\beta$ -DNA com até 10 pares de bases. Nesse estudo, os parâmetros estruturais obtidos com os funcionais M06-2X, B3LYP (além de outros), ambos na fase gás, foram comparados aos dados cristalográficos.<sup>170</sup> Os autores concluíram que o funcional M06-2X teve o menor desvio médio com relação aos valores experimentais, por exemplo, a distância média entre os pares de bases. Além disso, o funcional M06-2X descreveu o efeito  $\pi$ -stacking melhor do que os demais funcionais, enquanto B3LYP forneceu uma melhor descrição das ligações de hidrogênio.

O desvio quadrático médio é uma ferramenta estatística que tem sido usada em muitos trabalhos para verificar as diferenças entre dados teóricos estruturais e dados experimentais; alguns trabalhos também têm usado o RMSD para estimar as diferenças entre frequências vibracionais teóricas e experimentais.<sup>166-179</sup> A Tabela 4.1 mostra os valores do RMSD para

comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedros obtidos por cálculos teóricos neste trabalho. Os valores do RMSD são relativos aos confôrmeros mais estáveis, ou seja, IMI1-MP, IMI1-MV, IMI1-BP e IMI1-BV, e foram calculados com relação à estrutura cristalina resolvida por Chopra et al. (2004).<sup>160</sup> Nota-se que entre os modelos teóricos que tiveram a inclusão da solvatação (PCM), o funcional M06-2X proporcionou o menor desvio dos valores de comprimento de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedros (confôrmero IMI1-MP). Já ao considerar o modelo vácuo, o funcional M06-2X forneceu o menor desvio dos valores de comprimento de ligação e ângulos diedros (confôrmero IMI1-MV).

Tabela 4.1 - Valores RMSD dos parâmetros estruturais teóricos (comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedros) dos confôrmeros do imidacloprido de menor energia; os desvios foram calculados com relação aos valores dos parâmetros experimentais do cristal.

<b>RMSD dos confôrmeros do imidacloprido</b>				
<b>Parâmetro</b>	<b>IMI1-MP</b>	<b>IMI1-BP</b>	<b>IMI1-MV</b>	<b>IMI1-BV</b>
Comprimento de ligação	9,14	9,26	9,26	9,39
Ângulo de ligação	16,84	17,19	19,93	19,66
Ângulo diedro	136,67	146,07	127,50	156,33

Notas: comprimento de ligação, (RMSD)x100; ângulos, (RMSD)x10; diedros, RMSD.

Para facilitar a discussão a partir deste momento, os parâmetros estruturais teóricos e as propriedades eletrônicas e ópticas da molécula do imidacloprido serão discutidos somente para os confôrmeros obtidos com o funcional M06-2X. Isso porque esse funcional proporcionou os menores desvios dos parâmetros estruturais teóricos com relação aos parâmetros experimentais. Além disso, os confôrmeros encontrados com o funcional M06-2X serão comparados a outros confôrmeros já discutidos anteriormente por outros autores.<sup>119,154</sup>

No entanto, devido à dificuldade em se identificar as bandas experimentais nos espectros de infravermelho e Raman a partir dos modos normais de vibração calculados por métodos *ab initio*, ambos os funcionais M06-2X e B3LYP serão empregados no cálculo das propriedades vibracionais. Além disso, algumas vezes, um determinado funcional descreve melhor uma região do espectro, enquanto outro funcional consegue descrever melhor outra região.

#### **4.2.2 Confôrmeros obtidos com o funcional M06-2X: estrutura e energia**

Le Questel et al. (2011) fizeram um estudo dos confôrmeros do imidacloprido contidos em cristais polimorfos.<sup>119</sup> Os autores não realizaram o procedimento de *scan* para verificar os

diversos confôrmeros que podem existir devido à rotação das ligações simples C1C7 (diedro  $\phi_1$ :C6C1C7N8) e C7N8 (diedro  $\phi_2$ :C1C7N8C12) (ver Figura 1). Uma breve discussão sobre as moléculas encontradas nos polimorfos do imidacloprido será feita na sequência deste texto.

Kagabu et al. (1997) resolveram, por cristalografia de raios-x, o cristal polimorfo I.<sup>100</sup> O cristal possui duas moléculas do imidacloprido ( $z=2$ ) idênticas. Já o cristal polimorfo II, revelado por Chopra et al. (2004),<sup>160</sup> tem quatro moléculas do imidacloprido que equivalem a dois pares idênticos de confôrmeros, ou seja, quatro moléculas ( $z=4$ ), mas apenas dois confôrmeros. Um dos confôrmeros revelados por Chopra et al. (2004) é idêntico ao encontrado por Kagabu et al. (1997). Os dois confôrmeros do polimorfo II divergem por serem imagens especulares um do outro, isso ocorre devido ao plano de simetria do grupo metilênico que liga os anéis cloropiridíneo e imidazole. Contudo, esses confôrmeros não são enantiômeros porque o carbono do grupo metilênico não é quiral. Le Questel et al. (2011) consideram que esses confôrmeros são isômeros pro-quirais, ou seja, tornam-se isômeros quirais após a substituição de quaisquer dos hidrogênios do grupo metilênico por outro átomo de maior número atômico.<sup>119</sup>

O polimorfo III do imidacloprido foi revelado por Le Questel et al. (2011). A célula unitária do cristal contém oito moléculas que consistem em quatro pares idênticos de confôrmeros, mas dois dos pares são iguais aos encontrados por Chopra et al. (2004).<sup>119</sup> Portanto, no polimorfo III foram encontrados dois pares de confôrmeros que diferem dos demais até então identificados. Os autores também verificaram que os dois confôrmeros que constituem cada par do polimorfo III são imagens especulares um do outro. Pode-se dizer que, até o momento, três pares de confôrmeros foram identificados: um par no cristal revelado por Chopra et al. (2004) e dois pares no cristal de Le Questel et al. (2011).

Le Questel et al. (2011) extraíram as posições atômicas dos confôrmeros dos polimorfos II e III, e submeteu esses confôrmeros ao processo de otimização de geometria no código Gaussian 09. O modelo teórico utilizado foi a teoria DFT, com o funcional MPWB1K, conjunto de base 6-31+G (d, p), na fase gás. É esperado que os confôrmeros que são imagens especulares um do outro tenham a mesma energia, isso foi constatado por Le Questel et al. (2011).<sup>119</sup>

Le Questel et al. (2011) também extraíram as posições atômicas da molécula do imidacloprido encontrada no domínio de ligação AChBP do organismo *Aplysia californica* e submeteram a estrutura à otimização de geometria, nas mesmas condições empregadas para os demais confôrmeros encontrados nos polimorfos II e III.<sup>119</sup> O domínio de ligação AChBP foi publicado por Talley et al. (2008) e está disponível no banco de dados PDB (*Protein Data Bank*), com a identificação 3C79.<sup>87</sup> Essa estrutura é um confôrmero que difere dos demais confôrmeros encontrados nos polimorfos I, II e III. Além disso, os autores também

consideraram a imagem especular desse confôrmere. Portanto, Le Questel et al. (2011) estudaram um total de quatro pares de confôrmers do imidacloprido que foram extraídos de células unitárias de cristais polimorfos e do cristal do domínio de ligação AChBP da *Aplysia*. Além disso, cada par é formado por confôrmers que são imagens especulares um do outro.

Neste trabalho, também se considerou os confôrmers que foram estudados por Le Questel et al. (2011) a partir dos cristais polimorfos II e III, e do confôrmere encontrado no domínio de ligação AChBP. No entanto, como as estruturas que são imagens especulares possuem a mesma energia, considerou-se apenas uma estrutura de cada par. Os dois confôrmers do cristal revelado por Le Questel et al. (2011) foram nomeados, neste trabalho, de CR1 e CR2, o confôrmere do cristal de Chopra et al. (2004) denominou-se CR3, e o confôrmere do domínio de ligação AChBP foi designado de 3C79, em referência ao código que identifica essa estrutura no banco de dados PDB.

Embora Le Questel et al. (2011) tenham feito uma breve discussão teórica dos confôrmers em seu trabalho, os autores focaram na determinação das estruturas por cristalografia de raios-x (estruturas CR1 e CR2). Os autores fizeram o cálculo de minimização da energia (otimização da geometria) das moléculas, mas não fizeram uma busca conformacional pelo método do *scan*. Le Questel et al. (2011) apresentaram as estruturas teóricas e as respectivas energias, mas não discutiram os parâmetros topológicos das estruturas (comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedros), nem as propriedades eletrônicas (cargas, orbitais HOMO-LUMO, etc.). A ausência desses dados justifica um estudo mais abrangente e detalhado da estrutura e propriedade dos confôrmers do imidacloprido.

Outro estudo dos confôrmers do inseticida imidacloprido foi realizado por Cerón-Carrasco et al. (2013), também no escopo da teoria DFT.<sup>154</sup> Os autores exploraram as estruturas dos confôrmers que foram geradas pelo método *scan*, pela rotação dos diedros  $\phi_1$ (C6C1C7N8) e  $\phi_2$ (C1C7N8C12). Com relação à parametrização do cálculo, eles utilizaram o funcional M06-2X e conjunto de base 6-311++G (d), modelo vácuo.<sup>154</sup> Nesse estudo, Cerón-Carrasco et al. (2013) deram ênfase ao estudo da interação entre o imidacloprido e resíduos do domínio de ligação AChBP da *Aplysia californica*.<sup>87,154</sup> Os autores apresentaram em seu estudo uma breve discussão sobre os ângulos diedros no anel imidazólico ( $\phi_3$ :N8C12C11N10 e  $\phi_4$ :C12C11N10C9), além dos diedros  $\phi_1$  e  $\phi_2$  já mencionados.

Neste trabalho, as posições atômicas dos confôrmers CR1, CR2,<sup>154</sup> CR3,<sup>100,160</sup> e 3C79<sup>87</sup> foram extraídas dos respectivos arquivos *CIF* (*Crystallographic Information File*) e levadas para arquivos de entrada do código Gaussian 09. Após isso, cada molécula (confôrmere) foi otimizada no escopo da teoria DFT, empregando o funcional M06-2X e



conjunto de base 6-311++G (d, p), no modelo de solvatação PCM e vácuo. Vale lembrar que, neste trabalho, utilizou-se um conjunto de base com mais funções gaussianas (6-311++G (d, p)) do que o conjunto de base empregado por outros autores,<sup>119,154</sup> além disso, também foi considerado o modelo de solvatação aquoso (PCM), além do modelo vácuo.

Os confôrmeros extraídos dos cristais e otimizados com o funcional M06-2X e solvatação PCM foram nomeados CR1-MP, CR2-MP, CR3-MP e 3C79-MP. Os confôrmeros dos cristais que foram otimizados com o funcional M06-2X e modelo vácuo foram nomeados CR1-MV, CR2-MV, CR3-MV e 3C79-MV (Tabela 4.2). Para facilitar a comunicação daqui para frente, essas estruturas serão referidas pela expressão **os confôrmeros dos cristais**, cabendo ao leitor entender que não se trata de estruturas cristalinas, mas de **estruturas moleculares isoladas** que foram extraídas das posições atômicas de cristais e que foram otimizadas. De maneira similar, a expressão **os confôrmeros obtidos pelo método do scan e otimização de geometria** será substituída pelo termo **os confôrmeros do scan**.

Tabela 4.2 - Energia de Gibbs (kcal mol<sup>-1</sup>) para os confôrmeros do imidacloprido encontrados neste trabalho após as etapas de *scan* e otimização de geometria e energia de Gibbs para as estruturas dos confôrmeros extraídos de cristais.

Modelo Vácuo			Modelo PCM		
Confôrmero	$\Delta G$ (kcal mol <sup>-1</sup> )	%	Confôrmero	$\Delta G$ (kcal mol <sup>-1</sup> )	%
IMI1-MV	0,00	23,7	IMI1-MP	0,00	16,9
CR2-MV	0,41	11,9	IMI2-MP	0,34	9,6
3C79-MV	0,44	11,4	IMI3-MP	0,40	8,7
CR3-MV	1,59	1,6	3C79-MP	0,62	6,0
CR1-MV	1,70	1,4	CR2-MP	0,79	4,5
			CR1-MP	1,11	2,6
			CR3-MP	1,41	1,6

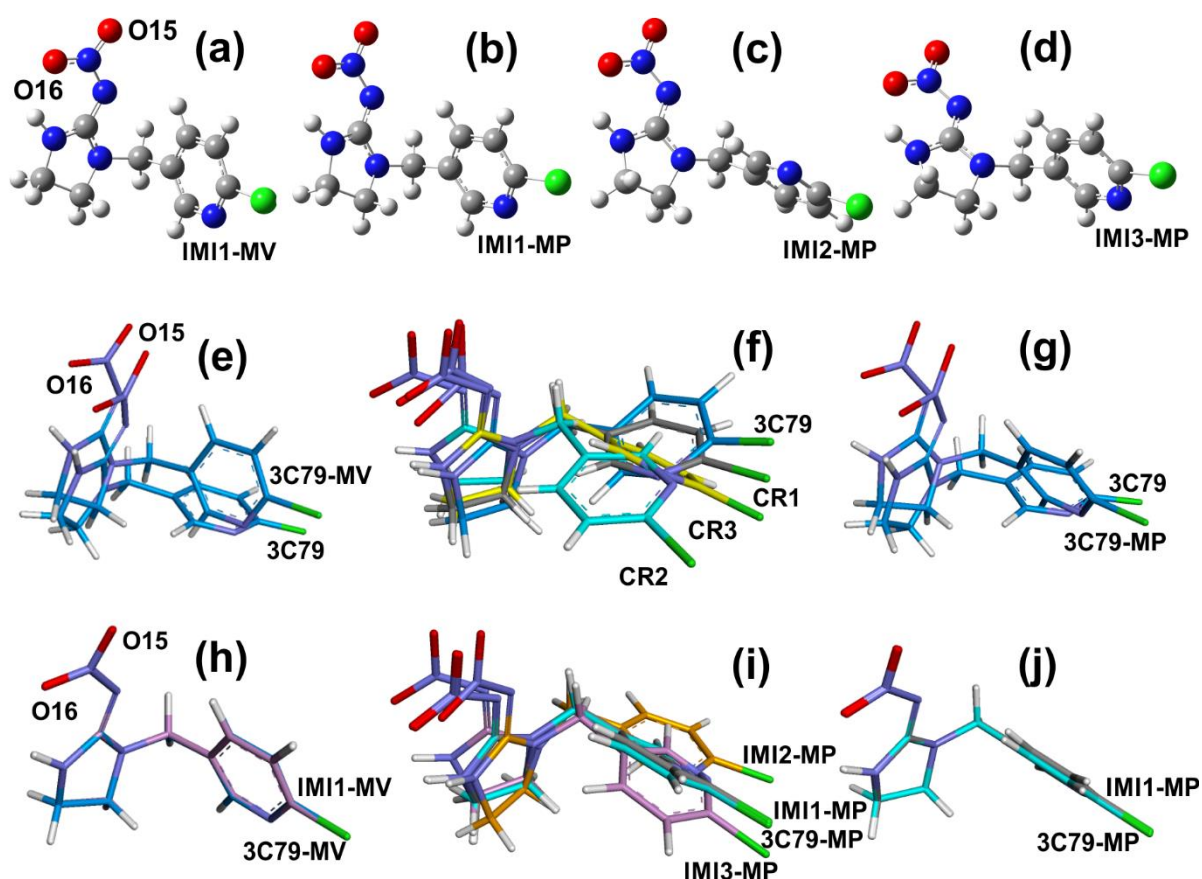
Fonte: elaborada pelo autor.

$$P_i = (e^{-\frac{\Delta G_i}{RT}}) / (\sum_{i=1}^n e^{-\frac{\Delta G_i}{RT}}) \quad (\text{Equação 4.1})$$

As energias e estruturas dos confôrmeros do *scan* foram comparadas às energias e estruturas dos confôrmeros dos cristais. Embora as estruturas dos cristais (CR1, CR2, CR3 e 3C79) não tenham apresentado frequências negativas, ambas estão em um mínimo local de energia com relação às estruturas dos confôrmeros do *scan* IMI1-MV e IMI1-MP (Tabela 4.2). Por exemplo, no modelo vácuo (PCM), o confôrmero CR1-MV (CR1-MP) tem energia de

Gibbs  $1,70 \text{ kcal mol}^{-1}$  ( $1,11 \text{ kcal mol}^{-1}$ ), enquanto IMI1-MV (IMI-MP) são os confôrmeros do mínimo global de energia relativa ( $0,00 \text{ kcal mol}^{-1}$ ). A população percentual de cada confôrmero foi estimada de acordo com a distribuição de Boltzmann (Equação 4.1).

Figura 4.5 - Representação tridimensional dos confôrmeros: (a) IMI1-MV, (b) IMI1-MP, (c) IMI2-MP e (d) IMI3-MP, ambos encontrado neste trabalho pelo procedimento de *scan* e otimização de geometria. Comparação estrutural desses confôrmeros com outros já discutidos na literatura: (e) 3C79-MV versus 3C79 não otimizado; (f) 3C79, CR1, CR2 e CR3, não otimizados; (g) 3C79-MP versus 3C79 não otimizado, (h) IMI1-MV versus 3C79-MV otimizados; (i) IMI1-MP, IMI2-MP, IMI3-MP e 3C79-MP otimizados; (j) IMI1-MP versus 3C79-MP otimizados.



Fonte: elaborada pelo autor.

A porção superior da Figura 4.5 mostra as estruturas tridimensionais dos confôrmeros do *scan*: IMI1-MV (a), IMI1-MP (b), IMI2-MP (c) e IMI3-MP (d). No meio da Figura 4.5, está a superposição da estrutura do confôrmero 3C79 (**estrutura não otimizada**), com a estrutura do confôrmero 3C79-MV, otimizada com o funcional M06-2X no vácuo (e); nota-se a mudança estrutural do confôrmero após o processo de otimização de geometria. A porção (f) da Figura 4.5 mostra a superposição das estruturas **não otimizadas** dos confôrmeros do polimorfo II (CR3), e polimorfo III (CR1 e CR2) e do domínio de ligação AChBP (3C79). A

estrutura do confômero 3C79 (**não otimizada**) e 3C79-MP são exibidas em (g), onde é possível perceber as mudanças estruturais que ocorreram com a minimização da energia. Na porção inferior da Figura 4.5, os confômeros do *scan* são contrastados com as estruturas mais similares dos cristais (h e j). Enquanto a porção (i) da Figura 4.5 mostra a superposição dos confômeros do *scan* e do domínio de ligação AChBP otimizados no modelo PCM.

Tabela 4.3 - Ângulos diedros teóricos (ABCD) para os confômeros do imidacloprido IMI1-MV, 3C79-MV, IMI1-MP, IMI2-MP, IMI3-MP e 3C79-MP.

Diedro (°)	Confômero Vácuo		Confômero PCM			
	IMI1-MV	3C79-MV	IMI1-MP	IMI2-MP	IMI3-MP	3C79-MP
C1C2C3C4	-0,2	-0,2	-0,1	0,3	0,0	0,0
C6C1C2C3	-0,4	-0,4	0,1	-0,5	0,4	0,3
C4N5C6C1	-0,3	-0,4	0,1	0,1	0,3	0,3
N5C6C1C2	0,7	0,7	-0,2	0,3	-0,6	-0,4
C7C1C2C3	178,1	178,1	178,7	178,0	-178,9	179,3
C7C1C6N5	-177,9	-177,8	-178,7	-178,2	178,7	-179,5
C2C3C4N5	0,5	0,6	0,1	0,1	-0,3	-0,1
C2C3C4C117	-179,7	-179,6	180,0	179,8	180,0	179,9
C3C4N5C6	-0,3	-0,3	-0,1	-0,3	0,1	0,0
C117C4N5C6	179,9	179,9	180,0	180,0	179,9	180,0
C2C1C7N8	-84,1	-84,1	-71,1	145,9	-49,9	-65,1
C6C1C7N8	94,4	94,3	107,4	-35,7	130,9	113,9
C1C7N8C9	77,7	77,5	87,1	130,6	132,6	89,7
C1C7N8C12	-67,2	-67,3	-64,8	-72,8	-71,3	-63,8
C7N8C12C11	174,7	174,6	177,7	-179,7	-179,4	178,7
C9N8C12C11	25,9	25,8	22,1	-20,0	-20,1	21,7
C7N8C9N10	-161,2	-161,1	-164,6	166,6	166,3	-165,6
C7N8C9N13	16,5	16,6	14,0	-12,4	-12,7	12,8
C12N8C9N10	-12,6	-12,6	-10,0	8,0	8,1	-9,6
C12N8C9N13	165,0	165,0	168,6	-171,1	-170,9	168,9
C9N10C11C12	22,8	22,8	20,7	-20,5	-20,4	20,8
N8C9N10C11	-7,4	-7,4	-7,6	8,8	8,6	-8,0
C11N10C9N13	175,4	175,4	174,0	-172,3	-172,5	173,9
C9N13N14O15	168,8	168,8	177,5	-178,2	-178,3	177,3
C9N13N14O16	-12,0	-12,0	-2,7	2,1	2,0	-2,9
N8C9N13N14	176,5	176,6	176,1	-176,2	-175,9	175,9
N10C9N13N14	-6,5	-6,4	-5,6	4,9	5,3	-6,1
N8C12C11N10	-28,0	-28,0	-24,4	23,1	23,1	-24,3

Notas: ângulos diedros para o “esqueleto” da molécula do imidacloprido, ou seja, foram excluídos os ângulos envolvendo átomos de hidrogênio. A Tabela completa está disponível no apêndice A1.

O confômero IMI1-MV é praticamente idêntico ao 3C79-MV (Figura 4.5, h), enquanto o confômero 3C79-MV tem energia total maior do que o correspondente valor para

CR2-MV e menor do que CR1-MV e CR3-MV (Tabela 4.2). Os ângulos diedros são  $\phi_1=94,4^\circ$  e  $\phi_2=-67,2^\circ$  para IMI1-MV;  $\phi_1=94,3^\circ$  e  $\phi_2=-67,3^\circ$  para 3C79-MV (Tabela 4.3). No modelo PCM, o confômero IMI1-MP é similar ao 3C79-MP (Figura 4.5, j), enquanto 3C79-MP tem maior energia do que IMI2-MP e IMI3-MP, e menor energia do que CR1-MP, CR2-MP e CR3-MP (Tabela 4.2). Os ângulos diedros são  $\phi_1=107,4^\circ$  e  $\phi_2=-64,8^\circ$  para IMI1-MP;  $\phi_1=113,9^\circ$  e  $\phi_2=-63,8^\circ$  para 3C79-MP (Tabela 4.3). De maneira geral, embora os pares de confômeros IMI1-MV/3C79-MV e IMI1-MP/3C79-MP sejam muito similares, supõe-se que 3C79-MV e 3C79-MP estão em um mínimo local, enquanto IMI1-MV e IMI1-MP estão em um mínimo global, isso considerando os valores de energia de Gibbs da Tabela 4.2.

Cerón-Carrasco et al. (2013) observaram que o confômero no mínimo de energia que resultou do método do *scan* e otimização de geometria, em seu trabalho, é idêntico ao confômero do domínio de ligação AChBP após otimização;<sup>154</sup> esse confômero será referido neste trabalho por 3C79<sup>a</sup>. Comparando os confômeros do *scan* no mínimo de energia obtidos neste trabalho ao confômero no mínimo de energia encontrado por Cerón-Carrasco,<sup>154</sup> ou seja, o confômero 3C79<sup>a</sup>, nota-se que os ângulos diedros  $\phi_1(\text{C6C1C7N8})$  e  $\phi_2(\text{C1C7N8C12})$  dos confômeros IMI1-MV, 3C79-MV, IMI1-MP e 3C79-MP sofrem um desvio em direção oposta ao desvio ocorrido no confômero 3C79<sup>a</sup> (Tabela 4.4). Por exemplo,  $\phi_1=94,4^\circ$  para IMI1-MV,  $107,4^\circ$  para IMI1-MP e  $-94,0^\circ$  para 3C79<sup>a</sup>. Essa divergência na orientação não afeta a energia devido à pro-quiralidade do grupo metileno se o valor absoluto do ângulo diedro é o mesmo. Por outro lado, os confômeros encontrados neste trabalho possuem um desvio na mesma orientação do confômero 3C79<sup>b</sup> (estrutura não otimizada), encontrado por Talley et al. (2008) no domínio de ligação AChBP da *Aplysia* (Tabela 4.4).<sup>87</sup>

Tabela 4.4 - Ângulos diedros  $\phi_1$ - $\phi_4$  para os confômeros obtidos neste trabalho IMI1-MV, 3C79-MV, IMI1-MP, 3C79-MP e para os confômeros 3C79<sup>a</sup> e 3C79<sup>b</sup>.

Diedro	Confômeros					
	IMI1-MV	3C79-MV	IMI1-MP	3C79-MP	3C79 <sup>b</sup>	3C79 <sup>a</sup>
$\phi_1$ -C6C1C7N8	94,4	94,3	107,4	113,9	24,8	-94,0
$\phi_2$ -C1C7N8C12	-67,2	-67,3	-64,8	-63,8	-99,7	68,6
$\phi_3$ -N8C12C11N10	-28,0	-28,0	-24,4	-24,3	1,0	28,5
$\phi_4$ -C12C11N10C9	22,8	22,8	20,7	20,8	-1,5	-23,1

Notas: <sup>a</sup> Cerón-Carrasco et al. (2013);<sup>154</sup> <sup>b</sup> Talley et al. (2008).<sup>87</sup>

Cerón-carrasco et al. (2013) também analisaram os ângulos diedros  $\phi_3$ (N8C12C11N10) e  $\phi_4$  (C12C11N10C9), além dos diedros  $\phi_1$  e  $\phi_2$  já mencionados.<sup>154</sup> Os diedros  $\phi_3$  e  $\phi_4$  estão relacionados à distorção do anel imidazólico. No confôrmere 3C79, o anel imidazólico é aproximadamente planar, com pequenos ângulos ( $\phi_3=1,0$  e  $\phi_4=-1,5$ );<sup>87</sup> sem dúvida, as cadeias de aminoácidos do domínio de ligação AChBP restringem a liberdade conformacional do imidacloprido. No entanto, fora do sítio de ligação do domínio AChBP, o confôrmere 3C79<sup>a</sup> se desvia da planaridade, por exemplo,  $\phi_3=28,5^\circ$  e  $\phi_4=-23,1^\circ$ .<sup>154</sup> O anel imidazólico dos confôrmere obtidos neste trabalho tanto no vácuo quanto no modelo PCM sofrem um desvio nos diedros em uma orientação oposta:  $\phi_3=-28,0^\circ$  para o par IMI1-MV/3C79-MV;  $\phi_4=20,7^\circ$  para IMI1-MP e  $20,8^\circ$  para 3C79-MP (Tabela 4.4). Certamente, as diferentes condições teóricas usadas neste trabalho (por exemplo, funcional e conjunto de base) em comparação as usadas por Cerón-Carrasco et al. (2013) são responsáveis pelas diferenças observadas na estrutura e propriedade dos confôrmere.

O grupo nitroguanidina tem papel fundamental no reconhecimento molecular do imidacloprido pelos receptores nicotínicos, principalmente devido à carga que flui de N8 em direção aos oxigênios do grupo nitro.<sup>97,100,104</sup> Kagabu et al. (1997) comparou, em seu trabalho, os comprimentos das ligações do grupo guanidina do imidacloprido cristalino (polimorfo I) aos comprimentos das ligação simples e duplas análogas; com isso, os autores inferiram haver deslocalização de carga eletrônica no grupo nitroguanidina. Por exemplo, os comprimentos das ligações C9N8, C9N10 e C9N13 (ver Figura 1 do capítulo 1) do polimorfo I são, respectivamente, 1,34 Å, 1,32 Å e 1,34 Å; esses valores são mais próximos de uma ligação imina típica N=C (1,33 Å) do que de uma ligação amina C-N (1,47 Å). Ressalta-se que o confôrmere do polimorfo I discutido neste parágrafo é o confôrmere original do cristal (estrutura não otimizada). O comprimento da ligação N13N14 do confôrmere do polimorfo I é 1,34 Å, valor menor do que uma ligação simples do tipo N-NO2 (1,43 Å).

Ao analisar os comprimentos das ligações C9N8 (1,35-1,36 Å), C9N10 (1,34-1,35 Å), C9N13 (1,32-1,35 Å) e N13N14 (1,34-1,35 Å) estimados para os confôrmere calculados com o funcional M06-2X (Tabela 4.5), observou-se que os valores são próximos aos valores de uma ligação imina. Portanto, as ligações que constituem o grupo guanidina têm comprimentos que são sempre menores do que os observados para ligações simples, isso indica um certo grau de deslocalização eletrônica no grupo nitroguanidina. As diferenças nos valores dos comprimentos das ligações entre os confôrmere encontrados neste trabalho e o confôrmere no polimorfo I são, provavelmente, uma consequência do empacotamento cristalino.

Tabela 4.5 - Comprimentos de ligação teóricos (Å) para os confôrmeros do imidacloprido obtidos com o funcional M06-2X: IMI1-MV, 3C79-MV, IMI1-MP, IMI2-MP, IMI3-MP e 3C79-MP.

Ligação (Å)	Confôrmeros					
	IMI1-MV	3C79-MV	IMI1-MP	IMI2-MP	IMI3-MP	3C79-MP
C1C2	1,399	1,399	1,397	1,393	1,395	1,398
C2C3	1,384	1,383	1,384	1,386	1,384	1,384
C3C4	1,394	1,395	1,393	1,390	1,393	1,393
C4C117	1,746	1,745	1,753	1,754	1,753	1,753
C4N5	1,313	1,313	1,313	1,314	1,313	1,312
N5C6	1,336	1,335	1,339	1,338	1,339	1,339
C6C1	1,390	1,390	1,389	1,391	1,388	1,388
C1C7	1,510	1,510	1,511	1,512	1,511	1,512
C7N8	1,460	1,460	1,455	1,449	1,451	1,454
C9N8	1,364	1,364	1,350	1,350	1,349	1,351
C9N10	1,348	1,349	1,338	1,339	1,338	1,338
N10C11	1,459	1,460	1,465	1,465	1,465	1,465
C11C12	1,531	1,532	1,531	1,531	1,532	1,532
C12N8	1,461	1,461	1,465	1,465	1,465	1,465
C9N13	1,319	1,318	1,340	1,339	1,340	1,351
N13N14	1,373	1,372	1,344	1,343	1,343	1,344
N14O15	1,208	1,207	1,222	1,222	1,223	1,223
N14O16	1,231	1,231	1,236	1,236	1,236	1,235
H18C2	1,085	1,085	1,085	1,084	1,085	1,085
H19C3	1,082	1,081	1,081	1,081	1,082	1,080
H20C6	1,088	1,088	1,086	1,085	1,086	1,086
H21C7	1,093	1,092	1,091	1,091	1,094	1,091
H22C7	1,090	1,089	1,089	1,095	1,089	1,090
H23N10	1,010	1,010	1,009	1,008	1,009	1,008
H24C11	1,095	1,094	1,092	1,087	1,086	1,092
H25C11	1,088	1,088	1,087	1,092	1,092	1,087
H26C12	1,091	1,090	1,089	1,095	1,095	1,089
H27C12	1,098	1,097	1,095	1,089	1,089	1,095

Fonte: elaborada pelo autor.

#### 4.2.2.1 Análise populacional

Técnicas de análise populacional tentam prever a distribuição de carga elétrica em uma molécula. Para esse propósito, os principais procedimentos conhecidos são a análise populacional de Mulliken (*Mulliken Population Analysis - MPA*),<sup>180</sup> análise populacional de Hirshfeld (*Hirshfeld Population Analysis - HPA*),<sup>181</sup> e análise populacional natural (*Natural Population Analysis, NPA*).<sup>182,183</sup> Embora o método MPA seja mais amplamente aplicado, Weinhold, Reed e Weinstock (1985) relataram que o método MPA falha em muitos casos, por

isso, os autores desenvolveram o método NPA baseado nos orbitais naturais atômicos (*Natural Atomic Orbital - NAO*).<sup>182,184</sup> Já o método HPA minimiza a perda de informação devido à formação de ligações químicas.<sup>185,186</sup> Pesquisadores afirmaram que HPA é mais preciso, por exemplo, sendo capaz de prever sítios reativos dentro de uma molécula melhor do que os métodos MPA e NPA, além de outras propriedades.<sup>182,187,188</sup>

Tabela 4.6 - Cargas de Hirshfeld (HPA) e análise populacional natural (*Natural Population Analysis - NPA*) para os confôrmeros do imidacloprido calculados no modelo vácuo.

Átomo	Cargas de Hirshfeld		Cargas NPA	
	IMI1-MV	3C79-MV	IMI1-MV	3C79-MV
C1	-0,02	-0,02	-0,11	-0,11
C2	-0,02	-0,02	-0,14	-0,14
C3	-0,04	-0,04	-0,25	-0,25
C4	0,11	0,11	0,20	0,20
C6	0,02	0,02	0,06	0,06
C7	0,00	0,00	-0,19	-0,19
C9	0,17	0,17	0,68	0,68
C11	0,01	0,01	-0,18	-0,18
C12	0,00	0,00	-0,18	-0,18
N5	-0,16	-0,16	-0,47	-0,47
N8	-0,05	-0,05	-0,50	-0,50
N10	-0,10	-0,10	-0,64	-0,64
N13	-0,19	-0,19	-0,48	-0,48
N14	0,29	0,29	0,64	0,64
O15	-0,24	-0,24	-0,38	-0,38
O16	-0,26	-0,26	-0,49	-0,49
Cl17	-0,09	-0,09	0,01	0,01
H18	0,05	0,05	0,25	0,25
H19	0,06	0,06	0,24	0,24
H20	0,05	0,05	0,19	0,19
H21	0,05	0,05	0,25	0,25
H22	0,05	0,05	0,21	0,21
H23	0,13	0,13	0,45	0,45
H24	0,04	0,04	0,20	0,20
H25	0,05	0,05	0,21	0,21
H26	0,05	0,05	0,21	0,21
H27	0,04	0,04	0,20	0,20
Nit	-0,21	-0,21	-0,23	-0,23
Gua	-0,17	-0,17	-0,94	-0,94
NitGua	-0,38	-0,38	-1,17	-1,17
ClPr	-0,04	-0,04	-0,02	-0,02

Fonte: elaborada pelo autor.

As cargas obtidas neste trabalho pelos métodos de análise populacional HPA e NPA para os confôrmeros do imidacloprido são exibidas nas Tabela 4.6 (modelo vácuo) e Tabela 4.7

(modelo PCM). Com relação aos resultados do método HPA, os confôrmeros IMI1-MV e 3C79-MV apresentam os mesmos valores de cargas (Tabela 4.6). Essa afirmação também é verdadeira para os confôrmeros IMI1-MP e 3C79-MP, e não há diferenças significativas entre os confôrmeros obtidos no modelo PCM (Tabela 4.7).

Tabela 4.7 - Cargas de Hirshfeld (HPA) e análise populacional natural (*Natural Population Analysis - NPA*) para os confôrmeros do imidacloprido calculados no modelo PCM.

Átomo	Cargas Hirshfeld				Cargas NPA			
	IMI1-MP	IMI2-MP	IMI3-MP	3C79-MP	IMI1-MP	IMI2-MP	IMI3-MP	3C79-MP
C1	-0,01	-0,01	-0,01	-0,01	-0,10	-0,09	-0,09	-0,10
C2	-0,01	-0,01	-0,01	-0,01	-0,14	-0,14	-0,14	-0,14
C3	-0,04	-0,04	-0,04	-0,04	-0,25	-0,25	-0,25	-0,25
C4	0,10	0,10	0,10	0,10	0,20	0,19	0,20	0,20
C6	0,03	0,02	0,03	0,03	0,07	0,07	0,07	0,07
C7	0,01	0,01	0,01	0,01	-0,19	-0,19	-0,19	-0,19
C9	0,18	0,18	0,18	0,18	0,69	0,69	0,69	0,69
C11	0,02	0,02	0,02	0,02	-0,18	-0,18	-0,18	-0,18
C12	0,01	0,01	0,01	0,01	-0,18	-0,17	-0,17	-0,18
N5	-0,18	-0,18	-0,18	-0,18	-0,49	-0,49	-0,49	-0,49
N8	-0,04	-0,03	-0,03	-0,04	-0,48	-0,49	-0,49	-0,48
N10	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,61	-0,61	-0,61	-0,61
N13	-0,19	-0,21	-0,21	-0,20	-0,48	-0,47	-0,47	-0,49
N14	0,28	0,28	0,28	0,28	0,64	0,64	0,64	0,64
O15	-0,32	-0,32	-0,32	-0,32	-0,46	-0,46	-0,46	-0,46
O16	-0,29	-0,29	-0,29	-0,29	-0,51	-0,51	-0,51	-0,51
Cl17	-0,11	-0,11	-0,11	-0,11	-0,01	-0,01	-0,01	-0,01
H18	0,05	0,07	0,06	0,05	0,24	0,23	0,24	0,24
H19	0,07	0,07	0,07	0,07	0,25	0,25	0,25	0,25
H20	0,06	0,05	0,06	0,06	0,21	0,21	0,21	0,21
H21	0,05	0,06	0,06	0,05	0,25	0,26	0,26	0,25
H22	0,06	0,05	0,05	0,06	0,23	0,22	0,22	0,23
H23	0,13	0,13	0,13	0,13	0,46	0,46	0,46	0,46
H24	0,06	0,06	0,06	0,06	0,21	0,22	0,22	0,21
H25	0,06	0,06	0,06	0,06	0,22	0,21	0,21	0,22
H26	0,06	0,06	0,06	0,06	0,23	0,21	0,21	0,23
H27	0,04	0,05	0,05	0,04	0,21	0,23	0,23	0,21
Nit	-0,32	-0,33	-0,33	-0,32	-0,34	-0,34	-0,34	-0,34
Gua	-0,14	-0,15	-0,15	-0,14	-0,89	-0,89	-0,89	-0,89
NitGua	-0,46	-0,48	-0,48	-0,46	-1,23	-1,23	-1,23	-1,23
ClPr	-0,04	-0,04	-0,03	-0,04	-0,03	-0,03	-0,03	-0,03

Fonte: elaborada pelo autor.

Estudos demonstraram que os átomos do imidacloprido mais relevantes para a interação com os receptores de acetilcolina nicotínicos são os oxigênios do grupo nitro (Nit), o



nitrogênio terciário do anel imidazólico e o nitrogênio do anel cloropiridíneo (ClPr); enquanto o grupo guanidina (Gua) possibilita a deslocalização de carga em direção aos oxigênios do grupo nitro.<sup>95,97,100,104</sup> A análise da distribuição de cargas HPA mostra que os confôrmeros IMI1-MP e 3C79-MP possuem o grupo nitro com carga ligeiramente menos negativa (-0,32e) em comparação a IMI2-MP e IMI3-MP (-0,33e); a mesma observação pode ser notada para o grupo guanidina. O átomo N14 (Figura 1 do capítulo 1) do grupo nitroguanidina possui carga positiva (PCM e vácuo), provavelmente, devido à deslocalização eletrônica promovida pelos átomos O15 e O16 do grupo nitro, que são mais eletronegativos.

O átomo de nitrogênio com a maior carga negativa é o N13. No anel cloropiridíneo, o átomo de nitrogênio N5 contribui na interação imidacloprido-nAChRs por meio de uma ligação de hidrogênio. Talley et al. (2008) observaram que uma molécula de água estabelece uma “ponte” na interação entre o átomo N5 e o resíduo isoleucina na posição 118 (Ile118) do domínio de ligação AChBP da *Aplysia*.<sup>87</sup> Observou-se que o N5 tem uma carga negativa maior do que o átomo de cloro, apesar deste ser mais eletronegativo do que aquele; por estar localizado no anel aromático piridíneo, o N5 situa-se em uma região de deslocalização de carga.

Com relação ao método de análise da população natural, os confôrmeros IMI1-MV e 3C79-MV possuem a mesma carga, isso quando se considera a mesma posição atômica em diferentes confôrmeros. As cargas naturais (NPA) dos confôrmeros obtidos no modelo PCM (IMI1-MP, IMI2-MP, IMI3-MP e 3C79-MP) são iguais, na maioria dos átomos. Por exemplo, o grupo nitroguanidina e o anel cloropiridíneo possuem -1,23e e -0,03e, respectivamente. O átomo N14 do grupo nitro possui carga positiva e o átomo N10 apresenta a maior quantidade de carga negativa. Quando se utilizou o método HPA, o átomo N13 é que apresentou a maior carga negativa, contudo, não há razões para N13 possuir uma carga negativa maior do que N10 porque N13 está ligado ao grupo nitro, retirador de elétrons.

Alguns trabalhos mencionaram a importância da carga parcial positiva no átomo de nitrogênio terciário (N8) do anel imidazólico do imidacloprido para a interação com o receptor de acetilcolina.<sup>97,98,100,104</sup> Os resultados dos métodos HPA e NPA obtidos neste trabalho mostram que o átomo N8 possui carga negativa, considerando ambos os modelos teóricos (PCM e vácuo). Kozmutza & Picó (2009) calcularam as cargas do imidacloprido pelo método MPA, utilizando a teoria DFT, funcional B3LYP e conjunto de base 3-21G\*. Eles encontraram carga positiva somente no átomo N14 do imidacloprido.<sup>189</sup> Tomizawa e Casida (2000) encontraram que a carga de Mulliken (MPA) do N8 é ligeiramente positiva (0,0315e); porém, os autores usaram o método semi-empírico MNDO-PM3.<sup>104</sup> No mesmo trabalho, Tomizawa e Casida (2000) encontraram que o inseticida desnitroimidacloprido apresentou uma carga

ligeiramente negativa no átomo N8 (-0,0063e). Os autores concluíram que o grupo nitro não é suficiente para induzir uma forte carga negativa no N8, de outra forma, o N8 do composto desnitroimidacloprido teria uma pronunciada carga negativa.

Uma segunda evidência de que o grupo nitro não exerce grande influência na carga do átomo N8 do imidacloprido são os resultados do deslocamento químico verificado pela técnica de ressonância magnética nuclear ( $N^{15}$  NMR). Yamamoto et al. (1995) determinaram os deslocamentos químicos de vários nicotinóides e neonicotinóides pela técnica  $N^{15}$  NMR. Após analisar os deslocamentos químicos do nitrogênio protonado dos nicotinóides e do nitrogênio terciário (na posição análoga ao nitrogênio catiônico dos nicotinóides) dos neonicotinóides os autores concluíram que esse átomo de nitrogênio (por exemplo, o N8 no imidacloprido) devia ter carga parcial positiva, devido ao fluxo de elétrons em direção ao grupo nitro.<sup>98</sup> Mais tarde, Tomizawa et al. (2000) estudaram os neonicotinóides (nicotinóides) imidacloprido (desnitroimidacloprido) e tiacloprido (descianotiacloprido), além de outros nicotinóides e neonicotinóides. Ao analisar os valores dos deslocamentos químicos obtidos pela técnica  $N^{15}$  NMR do átomo N8 do imidacloprido (desnitroimidacloprido) e tiacloprido (descianotiacloprido), os autores concluíram que o grupo nitro (ciano) não é suficiente para promover um forte efeito retirador de elétrons.<sup>104</sup> Portanto, a carga negativa no grupo nitro é mais importante para uma efetiva interação com os receptores nicotínicos de insetos do que a carga no N8.<sup>104</sup> Ademais, significativa atividade inseticida foi obtida para o análogo do imidacloprido em que o átomo N8 foi trocado por um átomo de carbono, portanto, o N8 desempenha um papel secundário na interação entre o imidacloprido e os receptores nicotínicos em insetos.<sup>131,190</sup>

Embora o N8 possua uma pequena carga negativa, de acordo com os métodos empregados neste trabalho, ele pode agir como um aceptor de elétrons por meio de uma interação entre o orbital 2p não compartilhado e elétrons  $\pi$  de um centro de carga negativa, por exemplo, um resíduo triptofano ou outro resíduo de aminoácido aromático (interação do tipo  $p-\pi$ ) localizado no receptor; o N8 tem hibridização  $sp^2$  e é perpendicular ao plano de ligação.<sup>131,191</sup>

Segundo Tomizawa, Lee e Casida (2000),<sup>104</sup> o grupo nitro desempenha um papel fundamental no reconhecimento molecular do imidacloprido, isso porque os átomos de oxigênio do grupo nitro interagem com resíduos de carga positiva (por exemplo, arginina, lisina e histidina) dos receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChRs), ou receptores análogos, tais como o domínio de ligação AChBP dos organismo *Aplysia californica* e *Lymnaea stagnalis*.<sup>104,131,192</sup>

Como já mencionado anteriormente, Matsuda et al. (2001) propuseram que o efeito retirador de elétrons induzido pelo grupo nitro do imidacloprido sobre o átomo N8 é ampliado pela interação entre os átomos de oxigênio do grupo nitro e os resíduos de aminoácidos carregados positivamente no receptor (arginina, lisina e histidina). Os autores calcularam as cargas de Mulliken - pelo método semi-empírico PM3 - do complexo imidacloprido-resíduos positivos (arginina e lisina); os resíduos foram ajustados para fazer ligação de hidrogênio com os oxigênios do grupo nitro. Matsuda et al. (2001) verificaram que a carga positiva no N8 foi aumentada, os autores dizem que o nitrogênio N8 adquiriu carga comparável a carga do nitrogênio amônio do agonista endógeno dos receptores nAChRs, ou seja, a acetilcolina.<sup>107</sup>

Levando em consideração os resultados de ressonância magnética nuclear e cargas de Mulliken calculadas para a molécula do imidacloprido no trabalho de Tomizawa et al. (2000),<sup>104</sup> e também os resultados de cargas de Mulliken calculadas para o complexo imidacloprido-resíduos positivos (arginina ou lisina) no trabalho de Matsuda et al. (2001),<sup>107</sup> afirma-se que a carga negativa do átomo N8 encontrada neste trabalho no escopo da teoria DFT não invalida o mecanismo genérico de interação entre agonistas/antagonistas e receptores nicotínicos apresentado por Beers e Reich (1970), nem os mecanismos derivados sugeridos por Tomizawa et al. (1993), Kagabu et al. (1997) e Tomizawa et al. (2000).<sup>95,97,100,104</sup> Nesses mecanismos, admite-se a hipótese de que deve haver interação entre um centro de carga negativa no receptor e o átomo N8 parcialmente positivo do imidacloprido. Entretanto, embora o N8 na molécula isolada tenha mostrado carga negativa, esse átomo pode adquirir uma carga parcialmente positiva **mediante interação com os receptores nicotínicos**. Mais estudos de carga e interação devem ser realizados, envolvendo o imidacloprido e resíduos dos receptores de acetilcolina nicotínicos.

#### 4.2.2.2 Orbitais HOMO-LUMO

Os orbitais atômicos e moleculares são quantizados energeticamente. Graficamente, os orbitais são representados em diagramas de níveis de energia, em que cada nível no diagrama representa a quantização energética do orbital. Sabe-se que quando ocorre a formação da ligação química envolvendo N orbitais atômicos, formam-se N orbitais moleculares. A metade dos orbitais moleculares que são formados são denominados de orbitais ligantes, e a outra metade são os orbitais antiligantes. O orbital ligante de mais alta energia é denominado HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*); ao orbital molecular antiligante de mais baixa energia é atribuído o termo LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*); esses orbitais são

geralmente referidos pelo termo **orbitais de fronteira**. A diferença de energia entre os orbitais HOMO e LUMO denomina-se lacuna de energia; nos trabalhos redigidos na língua inglesa, são comumente usados os termos *bandgap* ou *gap* ou o símbolo  $E_g$  (energia do *gap*). Neste trabalho, será usado o termo lacuna de energia e também o termo  $E_g$ .

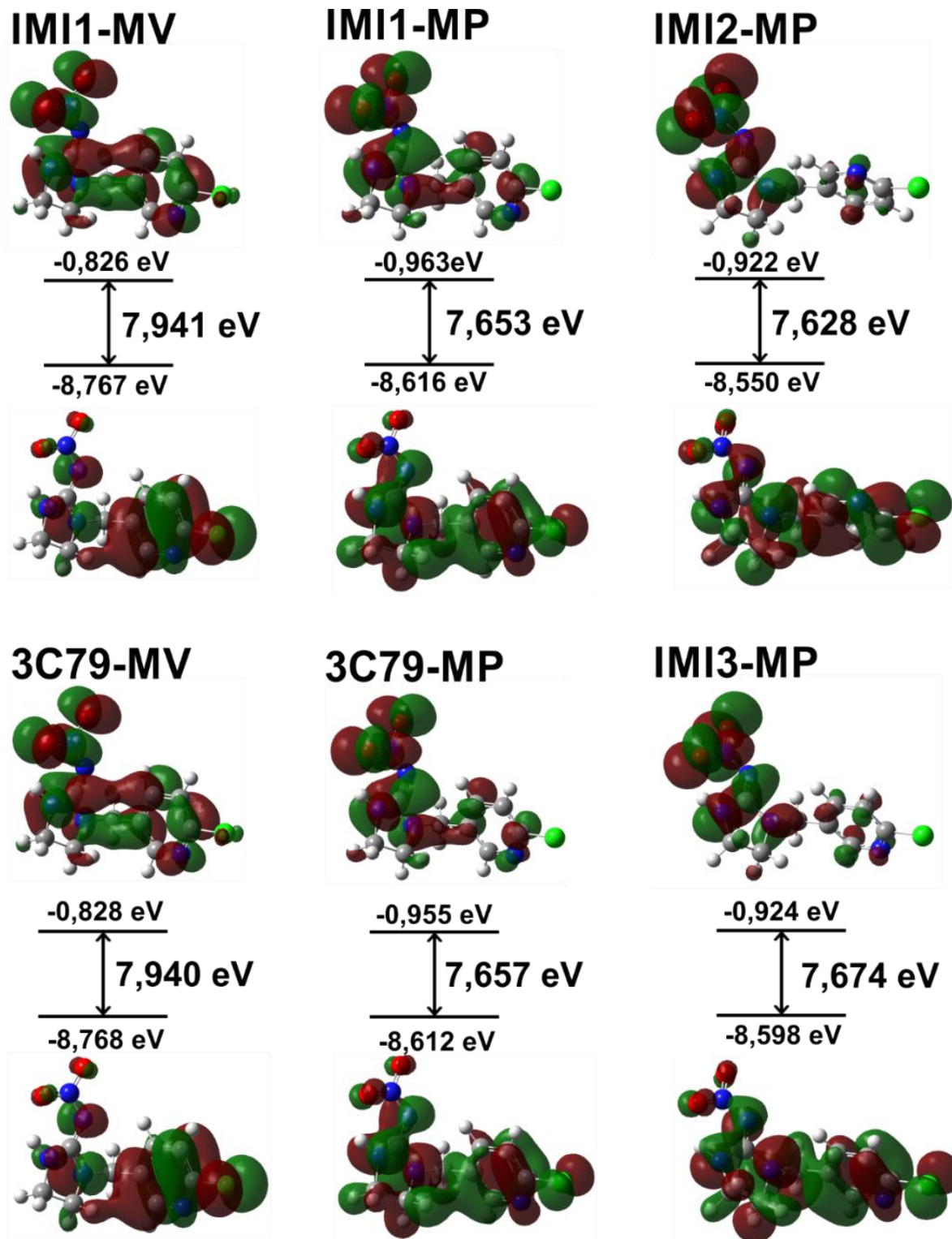
A análise dos orbitais moleculares permite estimar a reatividade relativa entre confôrmers, por exemplo, moléculas com uma maior lacuna de energia ( $E_g$ ) entre os orbitais HOMO e LUMO possuem maior estabilidade do que moléculas com um menor valor de  $E_g$ . O valor da lacuna de energia geralmente está associado ao conceito de ácidos ou bases duros e moles de Pearson.<sup>193,194</sup> A dureza ( $\eta$ ) de uma molécula é o valor  $E_g/2$  e a moleza ( $\sigma$ ) de uma molécula é o inverso da dureza, ou seja  $1/\eta$ .<sup>194</sup>

Na Figura 4.6, os orbitais de fronteira HOMO-LUMO do estado fundamental dos confôrmers do imidacloprido, os valores de energia e de lacuna de energia são mostrados; os cálculos foram executados com o funcional M06-2X, modelo de solvatação PCM e vácuo. Observa-se que os valores de energia dos orbitais HOMO (LUMO) dos confôrmers obtidos no modelo vácuo são iguais quando se considera até duas casas decimais (Tabela 4.8), o mesmo foi observado para os valores da lacuna de energia e dureza (Tabela 4.8). No sistema PCM, o confômero IMI3-MP tem o maior valor da lacuna de energia ( $E_g=7,67$ ) e dureza ( $\eta=3,84$ ), portanto, ele é menos reativo. Em seguida, na ordem de menor reatividade para maior, tem-se os confôrmers 3C79-MP ( $7,66$ ;  $\eta=3,83$ ) e IMI1-MP e ( $7,65$ ;  $\eta=3,83$ ), e por último, o confômero IMI2-MP ( $7,63$ ;  $\eta=3,81$ ) (Tabela 4.8).

Os confôrmers possuem valores dos parâmetros energéticos (por exemplo,  $E_g$ , dureza, etc.) muito próximos. Por se tratar de confôrmers, o ambiente químico (tipo de átomos, grupos funcionais, etc.) não muda e as interações variam pouco. Segundo Kagabu et al. (1997), as diferenças energéticas em confôrmers são pequenas, geralmente variando de 0-3 kcal mol<sup>-1</sup>.<sup>100</sup> As pequenas diferenças dos parâmetros energéticos observados neste trabalho são originadas, provavelmente, das diferentes interações que surgem com a rotação das ligações simples C1C7 e C7N8. Além disso, os graus de liberdade são restringidos pela presença de grupos rígidos: os anéis cloropiridíneo e imidazólico, e o grupo guanidina (constituído por ligações deslocalizadas). Por sua vez, a ligação de hidrogênio intramolecular entre o átomo de oxigênio O16 do grupo nitro com o hidrogênio H23 (Figura 1 do capítulo 1) do anel imidazólico também contribui para a restrição de rotações do grupo nitro. No entanto esses parâmetros energéticos podem ser úteis ao serem comparados aos parâmetros de outros neonicotinóides já

existentes, e também no desenvolvimento de novos neonicotinóides (na farmacologia, usa-se o termo *Drug Design*), visando maior seletividade e segurança, sem perda de atividade.

Figura 4.6 - Ilustração da distribuição dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO dos conformêros do imidacloprido; energia dos orbitais e lacuna de energia ( $E_g$ ).



Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 4.8 - Valores de energia dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO, lacuna de energia (Eg) e valores de dureza dos confôrmeros do imidacloprido obtidos com o funcional M06-2X.

Confôrmero	E <sub>HOMO</sub> /eV	E <sub>LUMO</sub> /eV	E <sub>g</sub> /eV	η/eV
IMI1-MV	-8,77	-0,83	7,94	3,97
3C79-MV	-8,77	-0,83	7,94	3,97
IMI3-MP	-8,60	-0,92	7,67	3,84
3C79-MP	-8,61	-0,96	7,66	3,83
IMI1-MP	-8,62	-0,96	7,65	3,83
IMI2-MP	-8,55	-0,92	7,63	3,81

Fonte: elaborada pelo autor.

Observa-se que os orbitais HOMO de todos os confôrmeros estão concentrados nos anéis piridíneo e imidazólico, embora apresentem pequenos **lobos (regiões onde há densidade eletrônica)** no átomo N13 e nos átomos de oxigênio do grupo nitro. Os orbitais LUMO localizam-se nos grupos nitro e guanidina, principalmente nos átomos O15, O16 e N14 do grupo nitro; mas também mostram pequenos lobos no grupo metileno e anel piridíneo. O fato de o orbital de fronteira HOMO localizar-se no anel imidazole e o orbital de fronteira LUMO situar-se principalmente no grupo nitro, mas também possuir densidade eletrônica no grupo guanidina, indica que a menor lacuna de energia (lacuna HOMO-LUMO) gera deslocalização de carga que parte do anel imidazole em direção ao grupo nitro. Provavelmente, por essa razão, o grupo nitro concentra grande parte da carga negativa necessária para a efetiva interação com os resíduos positivos dos receptores nAChR e receptores análogos, conforme proposto por Tomizawa, Lee e Casida (2000).<sup>104</sup>

### 4.3 Espectroscopia vibracional

O suporte de cálculos teóricos é muito útil na identificação das atribuições vibracionais, superando limitações de suposições experimentais.<sup>120</sup> A análise dos dados simulados pode ser feita pela visualização direta de cada vibração ou pelo cálculo da distribuição de energia potencial (*Potential Energy Distribution - PED*) das vibrações. Nesse último caso, o valor PED das coordenadas internas que pertencem a um dado modo normal de vibração teórico é utilizado para fazer a atribuição da vibração experimental e a estimativa da contribuição dessa vibração para o modo normal de vibração experimental (quantificação). A quantificação da contribuição de cada vibração para o modo é útil para evitar erros que podem ser cometidos pela visualização direta dos movimentos (ou deslocamentos) dos átomos, por

exemplo, superestimar a contribuição dos átomos de hidrogênio. Os hidrogênios possuem pequena massa molar, por isso, um grande deslocamento atômico não quer dizer, necessariamente, que contribuam para a vibração de maneira preponderante.<sup>120</sup> Neste trabalho, utilizou-se o código VEDA (*Vibrational Energy Distribution Analysis*) para quantificar a contribuição da energia de cada vibração do modo normal de vibração.

A atribuição das bandas experimentais com base nos modos de vibração obtidos teoricamente pode variar quando se muda a condição teórica de cálculo, por exemplo, ao trocar o funcional ou ao incluir a solvatação. Por isso, em cada modo de vibração, assinalou-se as vibrações que são comuns, ou seja, que foram computadas independente do funcional utilizado (M06-2X ou B3LYP) e, ao mesmo tempo, que representam a maior contribuição para o modo (maior valor de PED). Geralmente, o modo de vibração é formado por várias vibrações (estiramentos de ligação, dobramentos em ângulos e diedros, etc.). Quando os diferentes funcionais não previram vibrações comuns, considerou-se ambas as vibrações de cada modelo teórico utilizado.

Os espectros obtidos com o modelo PCM se adequaram melhor aos resultados experimentais, portanto, destacou-se nas tabelas das atribuições no texto somente as vibrações obtidas com esse modelo de solvatação; as atribuições das vibrações previstas pelo modelo vácuo foram colocadas no **Apêndice A2** (Tabela A2.1). Apesar disso, as figuras dos espectros foram construídas para todos os sistemas teóricos, PCM e vácuo. As Tabelas com todas as vibrações calculadas, independente das vibrações serem comuns entre os funcionais M06-2X e B3LYP e independente do modelo de solvatação utilizado, são apresentadas no **Apêndice A2** (Tabelas A2.6-A2.11).

Com a finalidade de decidir quais picos teóricos estão relacionados às bandas experimentais, utilizou-se ambos os espectros de infravermelho e Raman calculados, conforme colocado no **Apêndice A3**. O espectro Raman experimental é muito útil para ajudar nas atribuições das bandas de infravermelho experimental, pois, a vibração de um grupo funcional está associada a frequências muito próximas em ambas as técnicas, mas as bandas experimentais no Raman são finas e bem resolvidas em comparação as bandas experimentais de infravermelho.

#### **4.3.1 Breve descrição das vibrações identificadas**

As vibrações mais simples, envolvendo poucos átomos em uma molécula, são os estiramentos das ligações, ou seja, a variação do comprimento da ligação devido à absorção de energia. O estiramento que ocorre apenas na ligação entre dois núcleos atômicos é identificado

pela letra grega  $\nu$ . Quando o estiramento envolve mais de dois núcleos atômicos, tem-se duas situações: (1) as ligações variam de comprimento (se alongam e se reduzem) de maneira sincronizada, nesse caso, denomina-se estiramento simétrico, símbolo  $\nu_s$ ; (2) as ligações variam de comprimento desordenadamente, ou seja, enquanto algumas ligações se alongam, outras se reduzem, caracterizando o estiramento antissimétrico, símbolo  $\nu_a$ .

Existem quatro tipos de dobramentos ou deformações angulares, dois deles são movimentos no plano e os outros dois ocorrem para fora do plano. Esses dobramentos são identificados, principalmente, em moléculas pequenas, isto é, moléculas de três a quatro átomos. Contudo, quando se trata de moléculas maiores, divide-se hipoteticamente a estrutura em fragmentos menores (de três a quatro átomos) para que se possa identificar qual tipo de dobramento ocorre. Os dobramentos que ocorrem no plano são o movimento **tesoura** (do inglês, *scissoring*) e **oscilação** (do inglês, *rocking*). Os dobramentos fora do plano são o **balanço** (do inglês, *wagging*) e **torção** (do inglês, *twisting*), nesse caso, a torção é para três átomos, mas também há a torção para quatro átomos, ou seja, a torção envolvendo um diedro. Algumas vezes ocorre a sobreposição dessas vibrações, o que dificulta a identificação. Em trabalhos na língua inglesa, quando não é claro o tipo de dobramento, utiliza-se o termo ***bend*** ou ***bending***.

Neste trabalho, usou-se a seguinte simbologia para identificar os dobramentos: tesoura ( $\sigma$ ); oscilação ( $\rho$ ), balanço ( $\omega$ ), torção de três átomos ( $\tau$ ), torção no diedro ( $\tau$ ); quando se tratar de um dobramento não identificado, será usado o termo ***bending*** (símbolo  $\beta$ ). Outros tipos de vibrações serão descritos somente no decorrer do texto, isso por causa de suas especificidades.

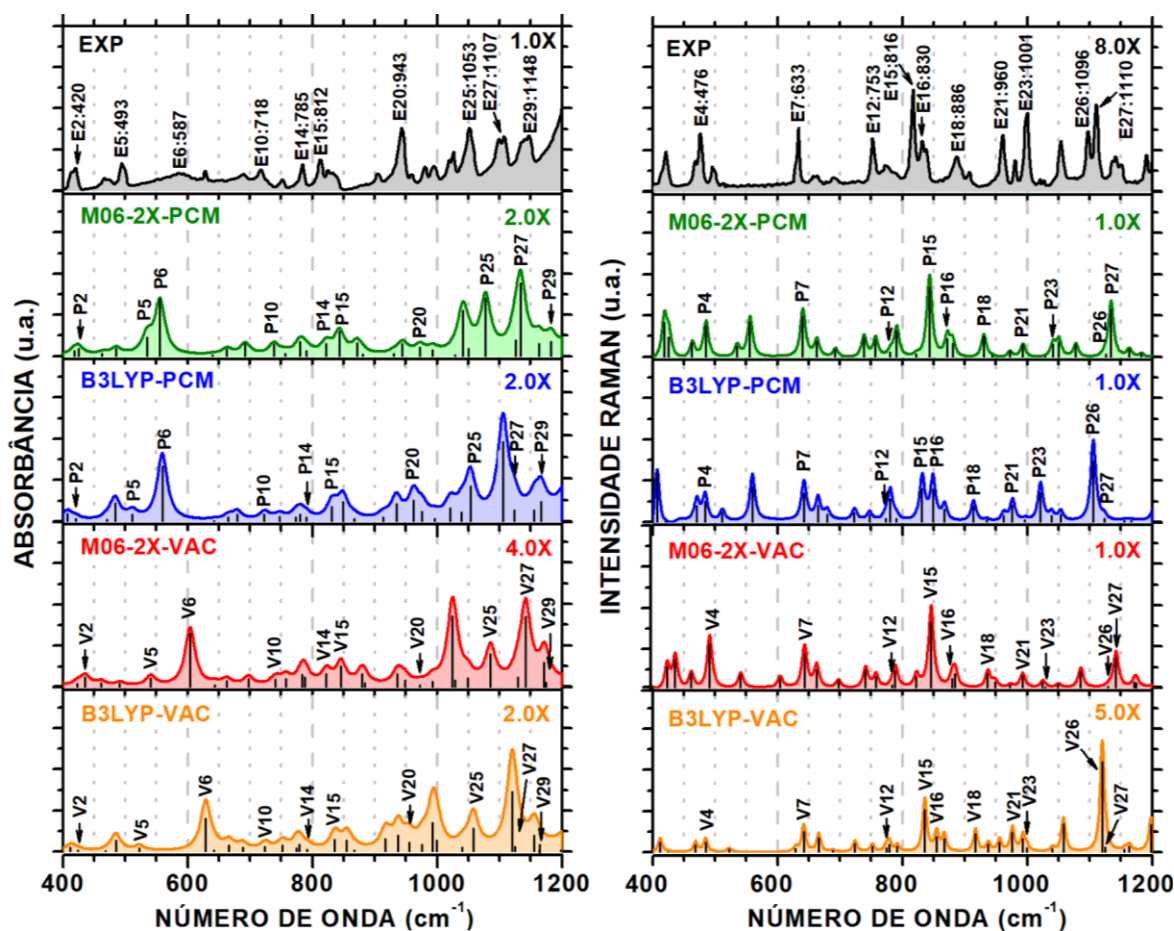
#### ***4.3.2 Espectros vibracionais na faixa de 400-1200 cm<sup>-1</sup>***

A Figura 4.7 mostra os espectros experimentais e os espectros calculados de infravermelho (lado esquerdo) e Raman (lado direito) do imidacloprido, na faixa que vai de 400 a 1200 cm<sup>-1</sup>. Do topo para a base da Figura 4.7, tem-se os espectros experimentais, seguidos pelos espectros calculados usando o funcional M06-2X no modelo de solvatação PCM, espectros obtidos com o funcional B3LYP no modelo de solvatação PCM, espectros resultantes do sistema M06-2X no vácuo e por último, os espectros provenientes do funcional B3LYP no vácuo. As bandas experimentais de absorção (espalhamento) no infravermelho (Raman) foram identificadas a partir das linhas espectrais calculadas, contudo, apenas as principais bandas experimentais, ou seja, as bandas de maior intensidade, foram destacadas na Figura 4.7.



Já a Tabela 4.9 traz a atribuição das principais bandas experimentais de absorção (espalhamento) no infravermelho (Raman). Conforme afirmado anteriormente, as vibrações descritas são aquelas que são comuns, independente do funcional utilizado, M06-2X ou B3LYP, mas apenas os resultados do modelo de solvatação PCM é que são destacados no texto; para mais detalhes sobre os demais modelos teóricos, consultar o **Apêndice A2**.

Figura 4.7 - Espectros de infravermelho (lado esquerdo) e Raman (lado direito), na faixa de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ , dos confômeros do imidacloprido. Espectros experimentais (EXP) no topo, seguidos pelos espectros obtidos pelo funcional M06-2X no modelo PCM (IMI1-MP), B3LYP no modelo PCM (IMI1-BP), M06-2X no modelo vácuo (IMI1-MV) e por último, B3LYP no modelo vácuo (IMI1-BV).



Fonte: elaborada pelo autor.

No espectro experimental de infravermelho, as principais bandas de absorção são E2, E5, E6, E10, E14, E15, E20, E25, E27 e E29 (Figura 4.7). Cada banda experimental - por exemplo, a banda E2 - foi associada a uma linha espectral obtida com base em cálculos teóricos, por exemplo, a linha P2, relacionada ao modelo PCM (funcional M06-2X e B3LYP) e a linha V2, relativa ao modelo vácuo (funcional M06-2X e B3LYP).

A banda experimental E2:420  $\text{cm}^{-1}$  pode ser associada ao movimento de dobramento fora do plano do anel piridíneo (*CCC out-of-plane bending-16a*, Tabela 4.9); as vibrações no anel piridíneo foram feitas seguindo a nomenclatura proposta por Varsanyi (1969).<sup>195</sup> A banda E5:493  $\text{cm}^{-1}$  está relacionada ao dobramento, também no anel piridíneo, designado por *CCC out-of-plane bending-16b*.

Tabela 4.9 - Atribuição das bandas experimentais de maior intensidade nos espectros de infravermelho e Raman, na faixa de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ . A atribuição foi baseada nos espectros teóricos de infravermelho e Raman dos conformeros mais estáveis do imidacloprido que foram calculados com os funcionais M06-2X (IMI1-MP) e B3LYP (IMI1-BP), ambos no modelo de solvatação PCM.

M	EXP		M06-2X	B3LYP	Atribuição
	$\omega_{\text{IR}}$	$\omega_{\text{R}}$	$\omega_{\text{T}}$	$\omega_{\text{T}}$	M06-2X and B3LYP <sup>(1)</sup> ou M06-2X/B3LYP <sup>(2)</sup>
02	420	421	425,57	420,79	<i>CCC out-of-plane bending-16a</i> (M:24;B:93)
04	475	476	485,05	483,49	$[\beta\text{C7C9N8}, \beta\text{C9N8N10}, \beta\text{N13N14O15}$ (M:40)]/ $[\beta\text{C7C9N8}, \beta\text{C9N8N13}$ (B:30)]
05	493	495	534,91	511,28	<i>CCC out-of-plane bending-16b</i> (M:43;B:62)
06	587	587	555,64	559,35	$\delta_{\text{out}}\text{H23N10}$ (M:60;B:87)
07	628	633	640,24	641,94	<i>CCC in-plane bending-6b</i> (M:79;B:82)
10	718	718	738,19	722,85	$\phi\text{C9N8N10N13}$ (M:83;B:80)
12	753	753	780,30	772,83	<i>CCC puckering-4</i> (M:55;B:ver A2.6)
14	785	791	821,64	790,05	$\phi\text{N13N14O15O16}$ (M:93;B:87)
15	812	816	843,09	831,42	$[\text{CCC in-plane bending-6a}, \tau\text{H18H19C2C3}$ (M:67;B:50)]
16	826	830	871,59	848,62	$\tau\text{H18H19C2C3}$ (M:66;B:38)
18	885	886	930,09	913,59	$[\beta\text{C9C12N8}, \beta\text{C11C12N10}, \beta\text{C11C12N8},$ $\beta\text{H26H27C12}, \beta\text{H24H25C11}, \beta\text{C9N13N14},$ $\beta\text{N13N14O16}, \beta\text{C9C11N10}$ (M:29;B:75)]
20	943	945	971,83	962,06	$\tau\text{H20C1C6C7}$ (M:69;B:38)
21	958	960	992,68	976,05	$\text{vsC11C12N10}$ (M:54;B:ver A2.6)
23	995	1001	1041,05	1020,94	$[\text{vC12N8}, \text{vN13N14}, \text{vsN14O15O16}$ (M:A2.6;B:A2.6)]
24	1025	1022	1050,42	1038,47	<i>CCC trigonal bending-12</i> (M:ver A2.6;B:84)
25	1053	1053	1077,55	1053,16	$\text{vaC11C12N10}$ (M:ver A2.6;B:54)
26	1097	1096	1125,33	1105,53	$[\beta\text{H24H25C11}, \beta\text{H26H27C12}$ (M:77)]/ <i>Breathing-1</i> (B:64)
27	1107	1110	1133,96	1123,06	<i>Breathing-1</i> (M:63)]/ $[\beta\text{H24H25C11}, \beta\text{H26H27C12}$ (B:88)]
29	1148	1151	1182,44	1166,55	$[\text{vaC9C12N8}, \text{vsC9N8N10}, \text{vsN13N14O15O16}$ (M:49;B:47)]

Notas: v: estiramento;  $\beta$ : *bending*;  $\tau$ : torsão (dobramento de três átomos);  $\tau$ : torção no diedro;  $\phi$ : out; s: simétrico a: antissimétrico;  $\delta_{\text{out}}$ : deformação fora do plano;  $\omega_{\text{IR}}$ : frequência experimental no infravermelho;  $\omega_{\text{R}}$ : frequência experimental no Raman;  $\omega_{\text{T}}$ : frequência teórica; (M: PED): valor PED da(s) vibração(ões) obtidas com o funcional M06-2X; (B: PED): valor PED da(s) vibração(ões) com o funcional B3LYP; [Vibração1, vibração2, ... (M: PED; B: PED)]: o valor PED foi calculado para todas as vibrações dentro dos colchetes; (M ou B: ver A2.6): consultar o valor de PED no Apêndice A2 (Tabela A2.6).

(1) As vibrações são comuns a ambos os modos calculados com os funcionais M06-2X e B3LYP.

(2) A vibração calculada com o funcional M06-2X é diferente da calculada com o funcional B3LYP.

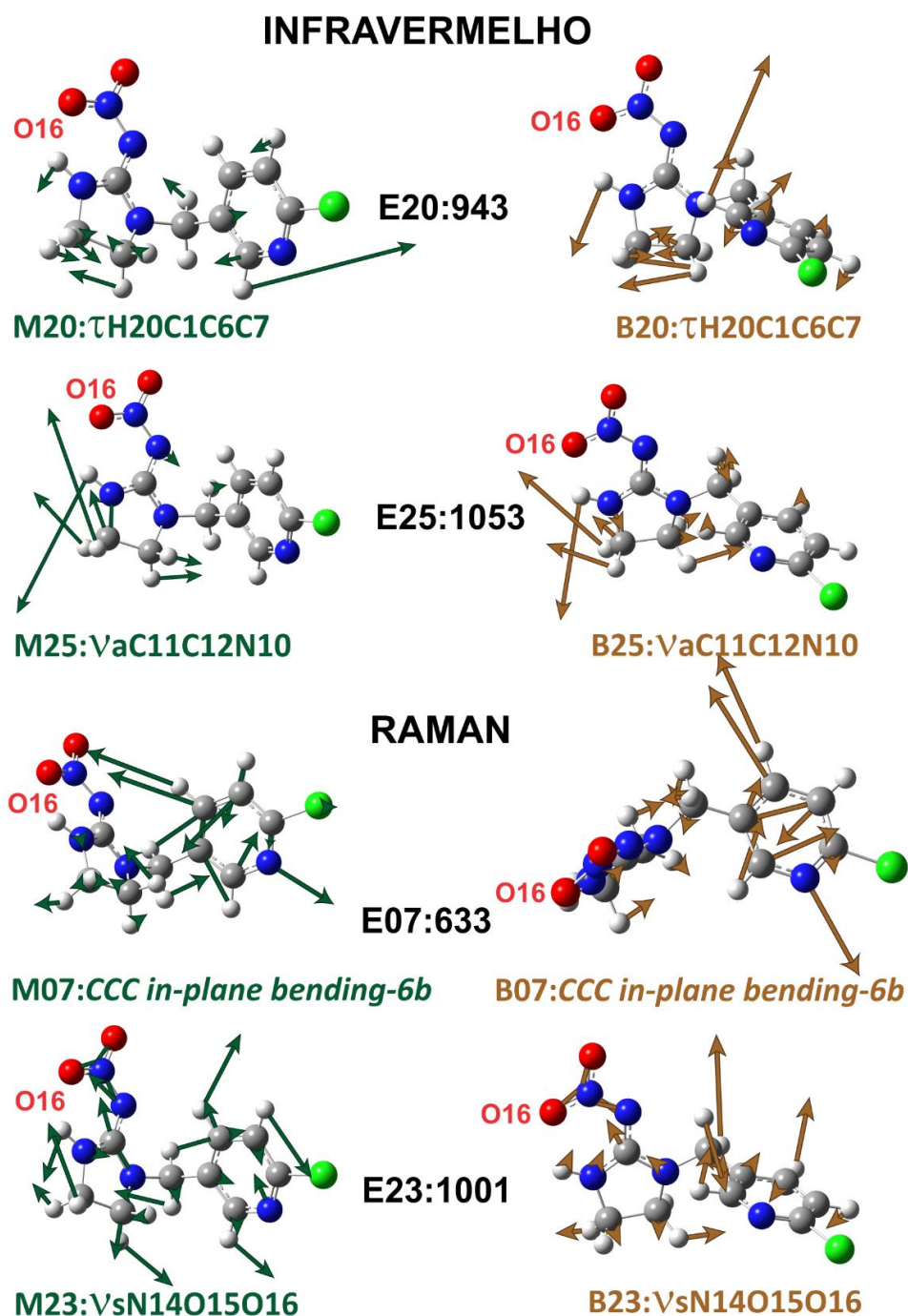
Ao modo E6:587 cm<sup>-1</sup>, atribuiu-se a deformação angular fora do plano ( $\delta_{out}$ ) do átomo de hidrogênio H23 do grupo H23N10 ( $\delta_{outH23N10}$ ). Provavelmente, essa banda experimental é larga devido à formação de ligações de hidrogênio entre as moléculas do imidacloprido. O modo E10:718 cm<sup>-1</sup> corresponde a uma deformação fora do plano devido aos grupos C9N8N10N13, denominada *out* ( $\phi$ ); nesse tipo de vibração, três átomos (por exemplo, N8N10N13) circundantes a um átomo central (por exemplo, C9) se deslocam do plano para fora do plano em uma direção, enquanto que o átomo central (C9) se desloca do plano para fora do plano em uma direção oposta à direção dos deslocamentos dos átomos circundantes. O modo experimental E14:785 cm<sup>-1</sup> foi associado ao movimento *out* do grupo N13N14O15O16 ( $\phi_{N13N14O15O16}$ ). O modo E15:812 cm<sup>-1</sup> foi descrito como um dobramento no plano do anel piridíneo (*CCC in-plane bending-6a*) e a uma torção do grupo H18H19C2C3 ( $\tau_{H18H19C2C3}$ ).

Na faixa de 400-1200 cm<sup>-1</sup>, o modo mais intenso é o E20:943 cm<sup>-1</sup>. A esse modo foi atribuído o movimento de torção do diedro H20C1C6C7. A ilustração da vibração do modo E20 é mostrada na Figura 4.8, em que as setas na cor verde e marrom indicam os deslocamentos atômicos calculados com os funcionais M06-2X (IMI1-MP) e B3LYP (IMI1-BP), respectivamente. Embora o modo E20 seja formado por um conjunto de vibrações, o movimento  $\tau_{H20C1C6C7}$  prevalece. Essa vibração tem um valor PED de 69%, relativo ao confômero IMI1-MP, e 38% para o confômero IMI1-BP (Tabela 4.9). A animação do modo E20 no formato de vídeo pode ser visualizada no trabalho de Moreira et al. (2017).<sup>196</sup>

A segunda banda de absorção experimental mais intensa é a E25:1053 cm<sup>-1</sup>, que foi identificada como estiramento antissimétrico do grupo C11C12N10 (Ilustração na Figura 4.8). O valor PED para a banda E25 é 54%, obtido para o confômero IMI1-BP. O código VEDA não foi capaz de separar as coordenadas internas do modo E25 do confômero IMI1-MP, por isso, o valor PED calculado é devido a uma série de vibrações além da vibração C11C12N10, comum a ambos os funcionais; para mais detalhes, deve-se consultar a tabela que possui todas as vibrações além das vibrações comuns, disponível no **Apêndice A2** (Tabela A2.6).

Já no modo E27:1107 cm<sup>-1</sup>, não existem vibrações que sejam comuns entre os modelos teóricos, neste caso, escolheu-se as vibrações de ambos os modelos e que possuem o maior valor PED. Ao modo E27, atribuiu-se a vibração no anel piridíneo denominada *Breathing-1*, isso, apenas para o confômero IMI1-MP. Os resultados alcançados para o confômero IMI1-BP sugerem que o modo E27 está associado à vibração *bending* dos grupos metilenos, ou seja,  $\beta_{H24H25C11}$  e  $\beta_{H26H27C12}$ . O modo E29:1148 cm<sup>-1</sup> foi associado aos estiramentos:  $va_{C9C12N8}$ ,  $vs_{C9N8N10}$  e  $vs_{N13N14O15O16}$  (Tabela 4.9).

Figura 4.8 - Ilustração de algumas vibrações dos modos normais de vibração relacionados aos espectros de infravermelho e Raman (400-1200  $\text{cm}^{-1}$ ) para os conformêros do imidacloprido IMI1-MP (setas na cor verde) e IMI1-BP (setas na cor marrom).



Fonte: elaborada pelo autor.

Na região que vai de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ , as bandas experimentais mais relevantes que foram medidas devido ao espalhamento Raman são E4, E7, E12, E15, E16, E18, E21, E23, E26 e E27 (Figura 4.7). Os modos E15 e E27 são os mais intensos, mas já foram identificados nos espectros de infravermelho. A banda E4:476  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a várias vibrações de dobramentos. Os

resultados obtidos para o confômero IMI1-MP sugerem que a banda E4 está relacionada a  $\beta$ C7C9N8,  $\beta$ C9N8N10 e  $\beta$ N13N14O15, enquanto que para o confômero IMI1-BP, E4 equivale as vibrações  $\beta$ C7C9N8 e  $\beta$ C9N8N13 (Tabela 4.9). O modo E7:633  $\text{cm}^{-1}$ , o segundo modo mais intenso após os modos E15 e E27 já descritos nos espectros de infravermelho, foi identificado como *CCC in-plane bending-6b* (ver ilustração na Figura 4.8). O valor PED do modo E7 é 79%, para o confômero IMI1-MP, e 82% para o confômero IMI1-BP (Tabela 4.9). Ao modo E12:753  $\text{cm}^{-1}$  foi atribuído o movimento *CCC puckering-4* do anel cloropiridíneo, e o modo E16:830  $\text{cm}^{-1}$  é uma vibração devido a torção no diedro H18H19C2C3. O modo E18:886  $\text{cm}^{-1}$  foi associado aos dobramentos:  $\beta$ C9C12N8,  $\beta$ C11C12N10,  $\beta$ H24H25C11,  $\beta$ H26H27C12,  $\beta$ C9N13N14,  $\beta$ N13N14O16,  $\beta$ C9C11N10. A banda E21:960  $\text{cm}^{-1}$  está associada ao estiramento simétrico do grupo C11C12N10 (vsC11C12N10).

A banda Raman E23:1001  $\text{cm}^{-1}$  é a mais intensa, depois das bandas E15 e E27 já discutidas nos espectros de infravermelho. Essa banda foi identificada como estiramento simétrico do grupo N14O15O16 e também estiramentos dos grupos N13N14 e C12N8 (vsN14O15O16, vN13N14, vC12N8). A ilustração da vibração da banda E23, segundo os cálculos teóricos, é mostrada na Figura 4.8. Para mais informação sobre os valores PED, deve-se consultar a tabela para todas as vibrações (além das vibrações comuns), disponível no **Apêndice A2** (Tabela A2.7). Por último, na banda E26:1096  $\text{cm}^{-1}$ , não foram identificadas vibrações comuns entre os dois modelos teóricos (M06-2X e B3LYP). Nessa banda, prevaleceram as vibrações  $\beta$ H24H25C11 e  $\beta$ H26H27C12, segundo os resultados do confômero IMI1-MP; o modo E26 foi relacionado ao movimento *Breathing-1* no anel cloropiridíneo, isso quando se considerou o confômero IMI1-BP.

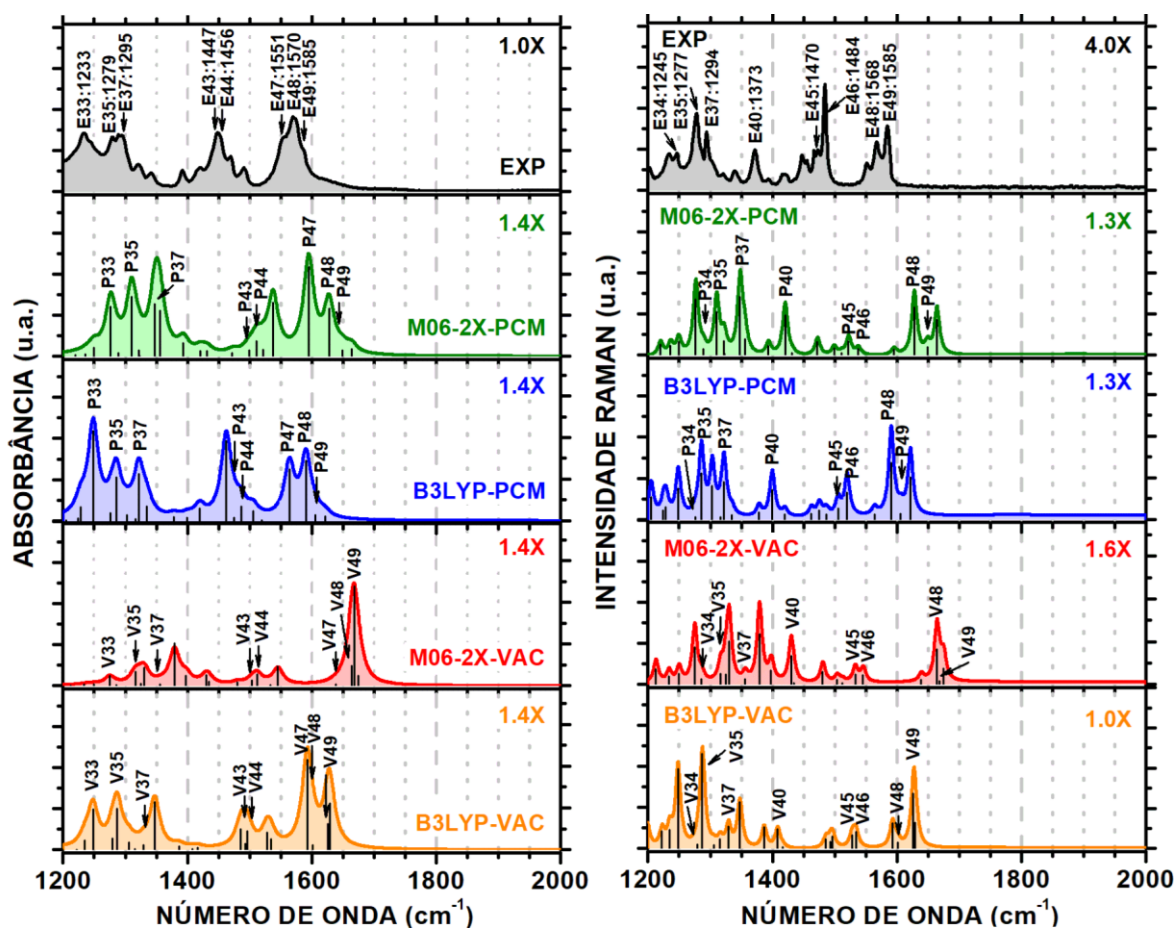
#### 4.3.3 Espectros vibracionais na faixa de 1200-2000 $\text{cm}^{-1}$

Na região de 1200-2000  $\text{cm}^{-1}$  do espectro experimental de infravermelho há muitas bandas intensas e sobrepostas. Nessa região, destacaram-se as bandas E33, E35, E37, E43, E44, E47, E48 e E49 (Figura 4.9).

O modo experimental E33:1233  $\text{cm}^{-1}$  é constituído de vários estiramentos no grupo nitroguanidina e no anel imidazólico: vaC9N10N13, vaN13N14O16, vaC1C7N8, vsC9C11N10 e vaC9N13N14 (Tabela 4.10). A ilustração dos deslocamentos atômicos do modo teórico atribuído a banda E33 é exibida na Figura 4.10. O modo E33 tem um valor PED de 56% para o confômero IMI1-MP, e 59% para o confômero IMI1-BP. Ao modo E35:1279  $\text{cm}^{-1}$  atribuiu-se

as vibrações de deformação angular dos grupos metilenos:  $\beta\text{H}24\text{H}25\text{C}11$  e  $\beta\text{H}26\text{H}27\text{C}12$ . No modo  $\text{E}37:1295\text{ cm}^{-1}$ , as vibrações comuns aos confômeros IMI1-MP e IMI2-MP são dobramentos no anel imidazólico ( $\beta\text{H}23\text{C}9\text{N}10$ ,  $\beta\text{H}24\text{H}25\text{C}11$  e  $\beta\text{H}26\text{H}27\text{C}12$ ), e também estiramentos no grupo nitro e no anel imidazólico ( $\nu\text{N}14\text{O}15$ ,  $\nu\text{aC}11\text{C}12\text{N}10$  e  $\nu\text{aC}11\text{C}12\text{N}8$ ).

Figura 4.9 - Espectros de infravermelho (lado esquerdo) e Raman (lado direito), na faixa de  $1200\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$ , dos confômeros do imidacloprido. Espectros experimentais (EXP) no topo, seguidos pelos espectros obtidos pelo funcional M06-2X no modelo PCM (IMI1-MP), B3LYP no modelo PCM (IMI1-BP), M06-2X no modelo vácuo (IMI1-MV) e por último, B3LYP no modelo vácuo (IMI1-BV).



Fonte: elaborada pelo autor.

Os próximos modos de alta intensidade são  $\text{E}43:1447\text{ cm}^{-1}$  e  $\text{E}44:1456\text{ cm}^{-1}$ , juntos formam uma única banda. Os resultados provenientes do confômero IMI1-MP indicaram que o modo E43 é constituído de deformações angulares dos grupos  $\text{H}24\text{H}25\text{C}11$  e  $\text{H}26\text{H}27\text{C}12$ . Já os resultados do confômero IMI1-BP mostraram que o modo E43 está associado à deformação angular do grupo  $\text{H}21\text{H}22\text{C}7$ . O modo E44 é gerado por vibrações de estiramentos no anel cloropiridíneo, isto é, o movimento de vibração *CC stretchings-19a*.

Tabela 4.10 - Atribuição das bandas experimentais de maior intensidade dos espectros de infravermelho e Raman, na faixa de 1200-3800  $\text{cm}^{-1}$ . A atribuição foi baseada nos espectros teóricos dos confôrmeros mais estáveis do imidacloprido que foram calculados com os funcionais M06-2X (IMI1-MP) e B3LYP (IMI1-BP), ambos no modelo de solvatação PCM.

M	EXP		M06-2X	B3LYP	Atribuição
	$\omega_{\text{IR}}$	$\omega_{\text{R}}$	$\omega_{\text{T}}$	$\omega_{\text{T}}$	M06-2X and B3LYP <sup>(1)</sup> ou M06-2X/B3LYP <sup>(2)</sup>
33	1233	1232	1276,45	1248,40	[vaC9N10N13, vaN13N14O16, vaC1C7N8, vsC9C11N10, vaC9N13N14 (M:56;B:59)]
34	1243	1245	1288,74	1276,09	[CH in-plane trigonal bending-15, vaC7C12N8 (M:75;B:47)]
35	1279	1277	1310,13	1285,58	[ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M:45;B:33)]
37	1295	1294	1347,75	1321,91	[ $\beta$ H23C9N10, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, vN14O15, vaC11C12N10, vaC11C12N8 (M: ver A2.7;B:71)]
40	1366	1373	1420,17	1399,44	[ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M: ver A2.7;B:ver A2.7)]
43	1447	1447	1498,91	1475,07	[ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M:76)]/ $\beta$ H21H22C7 (B:88)
44	1456	1456	1510,97	1486,27	CC stretching-19a (M:74;B:ver A2.8)
45	1470	1470	1522,25	1505,33	[ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M:92;B:86)]
46	1491	1484	1537,79	1519,81	[vC9N8, vaN14O15O16 (M:54)]/[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (B:86)]
47	1551	1552	1595,04	1563,89	[vaC9N8N10, vaN14O15O16 (M:66;B:60)]
48	1570	1568	1627,79	1590,78	[vaC9N8N10N13, vN14O15 (M:67;B:52)]
49	1585	1585	1648,96	1606,15	CH in-plane bending-9a (M:76;B:69)
53	2896	2899	3092,67	3049,41	vsH21H22C7 (M:94)/vsH24H25C11 (B:89)
54	2928	2931	3142,29	3109,52	vaH26H27C12(M:88)/vaH21H22C7 (B:91)
55	2944	2956	3154,49	3114,88	vaH21H22C7 (M:93)/vaH26H27C12 (B:82)
57	2987	2989	3173,28	3172,06	vsH24H25C11 (M:89)/vH20C6 (B:100)
58	3047	3058	3204,75	3178,92	vH18C2 (M:96;B:96)
59	3079	3093	3233,88	3217,95	vH19C3 (M:96;B:97)
60	3374		3651,80	3618,72	vH23N10 (M:99;B:99)

Notas: v: estiramento;  $\beta$ : bending;  $\tau$ : torção (dobramento de três átomos);  $\tau$ : torção no diedro;  $\phi$ : out; s: simétrico a: antissimétrico;  $\delta$ out: deformação fora do plano;  $\omega_{\text{IR}}$ : frequência experimental no infravermelho;  $\omega_{\text{R}}$ : frequência experimental no Raman;  $\omega_{\text{T}}$ : frequência teórica; (M: PED): valor PED da(s) vibração(ões) obtidas com o funcional M06-2X; (B: PED): valor PED da(s) vibração(ões) com o funcional B3LYP; [Vibração1, vibração2, ... (M: PED; B: PED)]: o valor PED foi calculado para todas as vibrações dentro dos colchetes; (M ou B: ver A2.6): consultar o valor de PED em Apêndice A (Tabela A2.6).

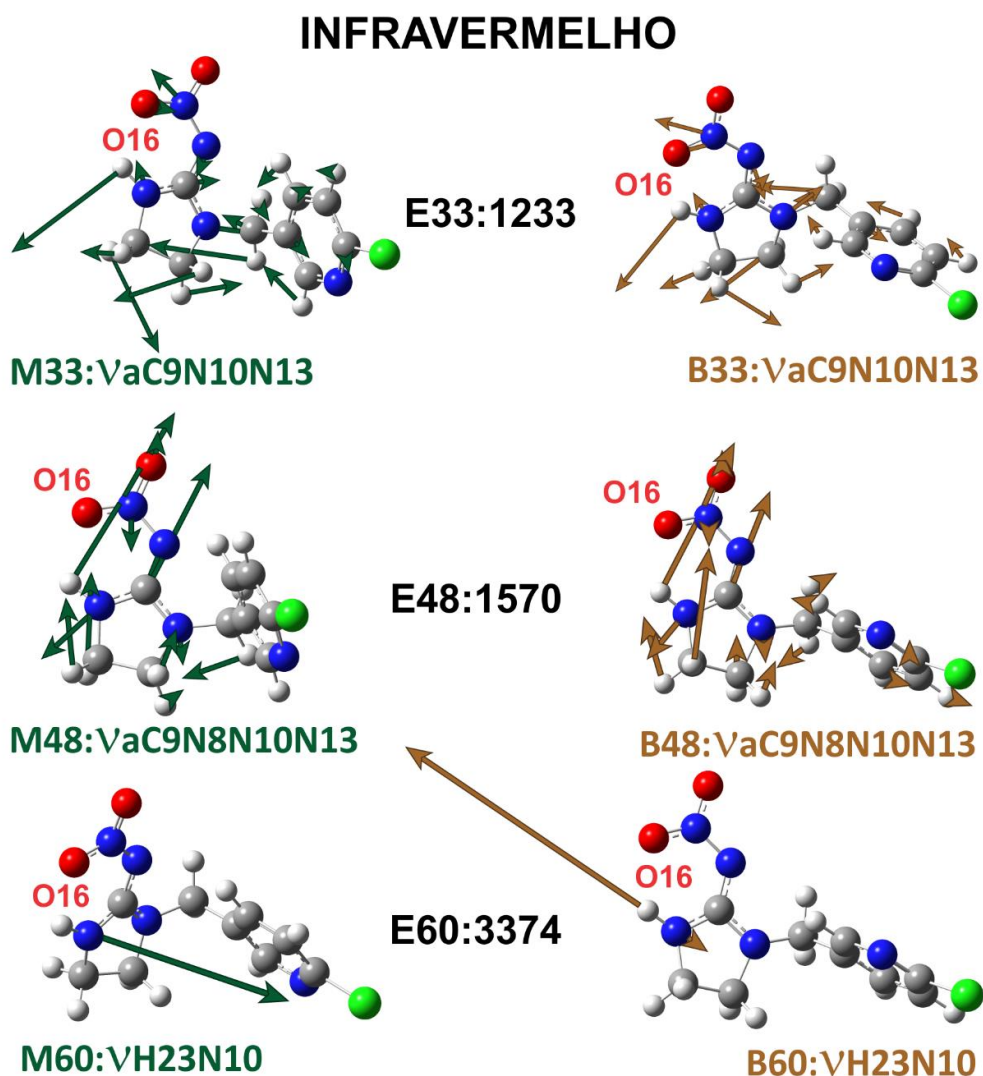
(1) As vibrações são comuns a ambos os modos calculados com os funcionais M06-2X e B3LYP.

(2) A vibração calculada com o funcional M06-2X é diferente da calculada com o funcional B3LYP.

Os modos E47:1551  $\text{cm}^{-1}$ , E48:1570  $\text{cm}^{-1}$  e E49:1585  $\text{cm}^{-1}$  formam uma banda larga. Ao modo E47 atribuiu-se os estiramentos vaN14O15O16 e vaC9N8N10. Para o modo E48, tem-se os estiramentos vaC9N8N10N13 e vN14O15 (ilustração na Figura 4.10); os estiramentos contribuem para o modo com um valor PED de 67%, calculado para o confôrmero IMI1-MP, e 52% para o confôrmero IMI1-BP (Tabela 4.10). Com relação ao modo E49,

prevaleceram as vibrações de deformação angular dos hidrogênios do anel piridíneo *CH in-plane bendings-9a*.

Figura 4.10 - Ilustração de algumas vibrações dos modos normais de vibração relacionados ao espectro de infravermelho ( $1200-2000\text{ cm}^{-1}$ ) dos conformêros do imidacloprido IMI1-MP (setas na cor verde) e IMI1-BP (setas na cor marrom).



Fonte: elaborada pelo autor.

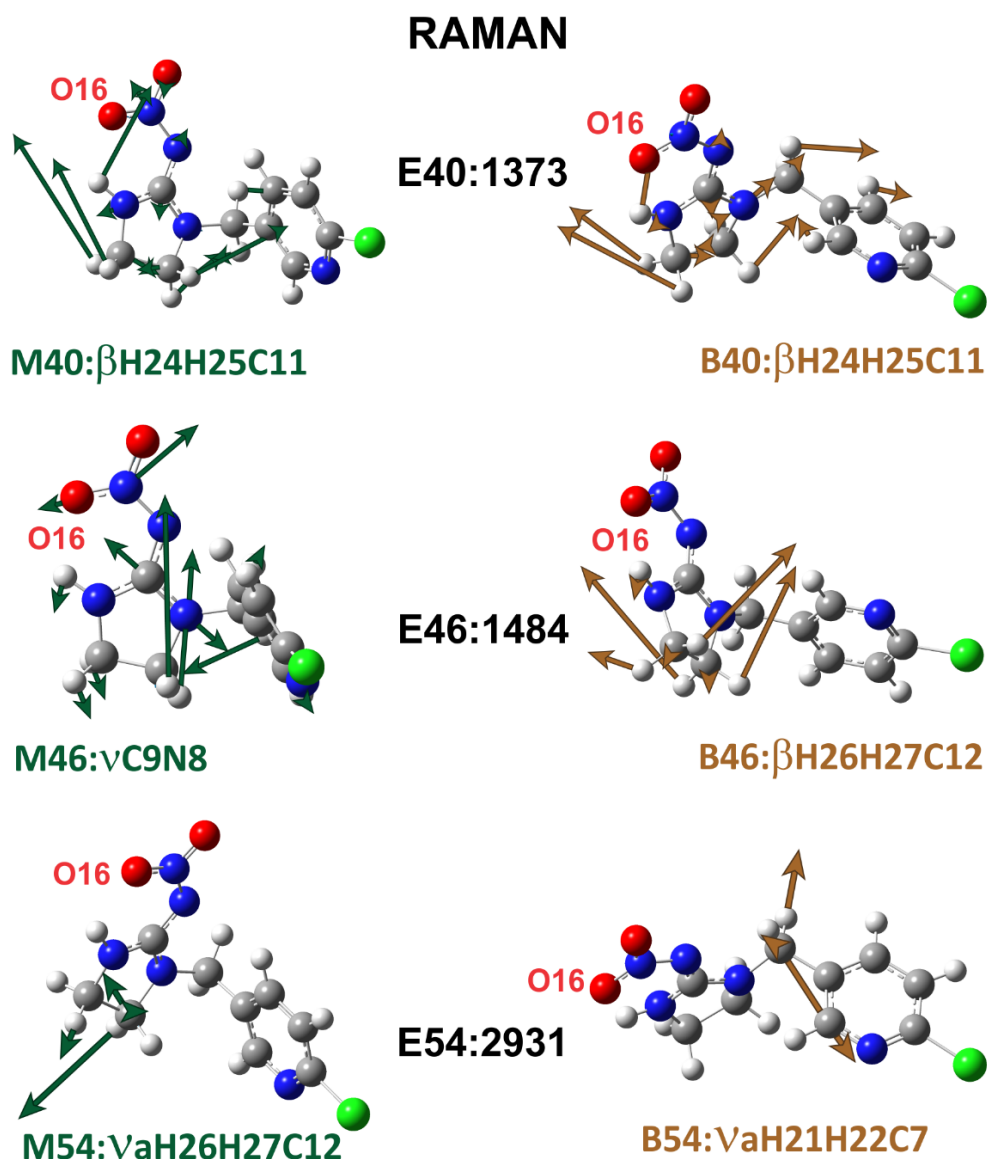
Os modos destacados no espectro Raman experimental são E34, E40, E45 e E46 (porção direita da Figura 4.9). Também foram destacados os modos E35, E37, E48 e E49 por terem alta intensidade, mas esses modos já foram discutidos nos espectros de infravermelho.

Na banda experimental identificada por  $E34:1245\text{ cm}^{-1}$  prevaleceram as vibrações *CH in-plane bending-15* do anel cloropiridíneo, e também o estiramento *vaC7C12N8* (Tabela 4.10). Ambas as bandas  $E40:1373\text{ cm}^{-1}$  e  $E45:1470\text{ cm}^{-1}$  estão associadas às vibrações



$\beta\text{H24H25C11}$  e  $\beta\text{H26H27C12}$ . Como exemplo, a ilustração da vibração do modo E40 na Figura 4.11 mostra os deslocamentos atômicos. Para mais informação sobre os valores PED, deve-se consultar a tabela completa de todas as vibrações, além das vibrações que são comuns a ambos os funcionais, no Apêndice A2 (Tabela A2.8). No modo E46:1484  $\text{cm}^{-1}$ , não foram identificadas vibrações comuns. Atribuiu-se a esse modo os estiramentos  $\nu\text{C9N8}$  e  $\nu\text{N14O15O16}$  (PED:54%), para o confômero IMI1-MP (Ilustração na Figura 4.11). Enquanto que para o confômero IMI1-BP, o modo E46 resulta dos dobramentos  $\beta\text{H24H25C11}$  e  $\beta\text{H26H27C12}$  (PED:86%).

Figura 4.11 - Ilustração de algumas vibrações dos modos normais de vibração relacionados ao espectro Raman (1200-2000  $\text{cm}^{-1}$ ) dos confômeros do imidacloprido IMI1-MP (setas na cor verde) e IMI1-BP (setas na cor marrom).

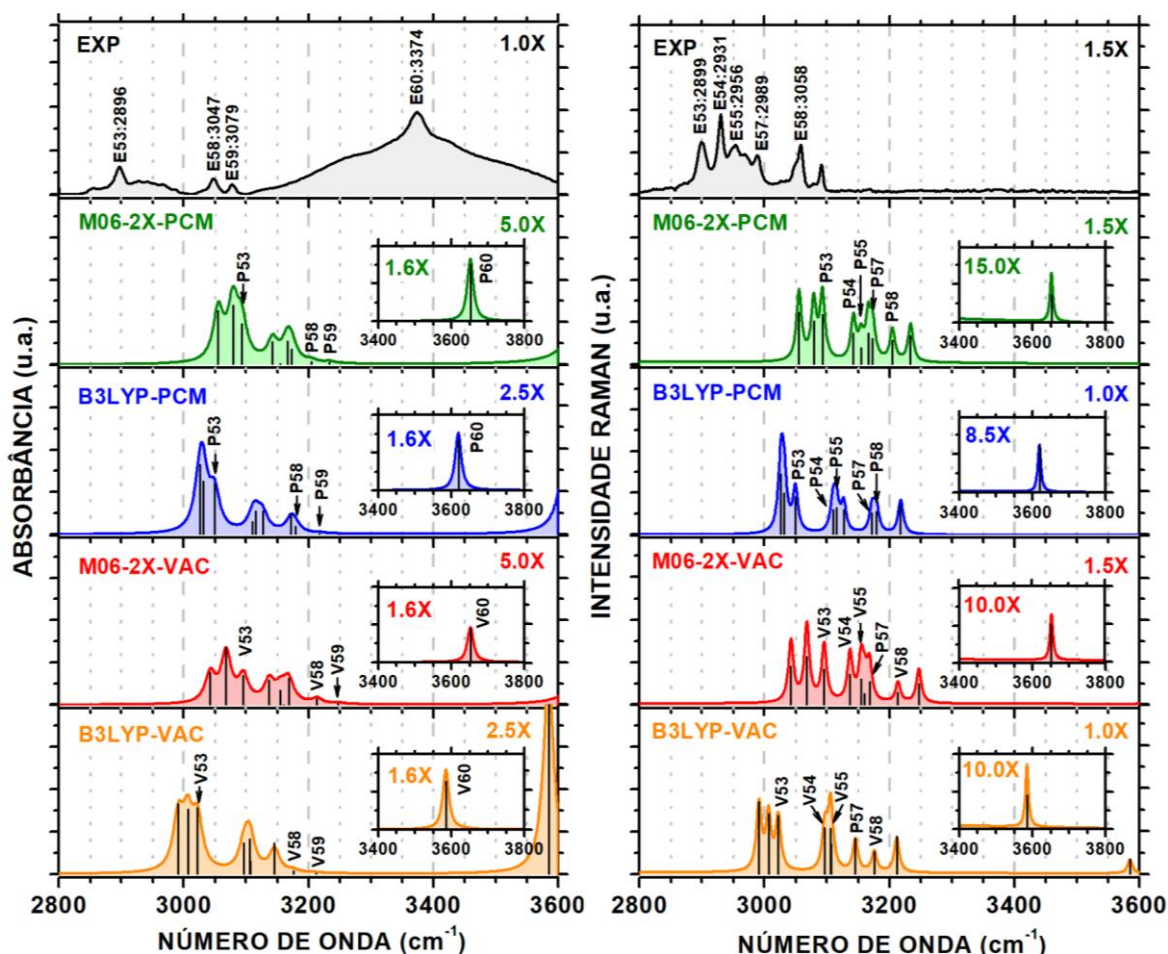


Fonte: elaborada pelo autor.

#### 4.3.4 Espectros vibracionais na faixa de 2800-3800 $\text{cm}^{-1}$

Cálculos teóricos predizem que absorções devido aos estiramentos simétricos e antissimétricos de grupos CH e CH<sub>2</sub> em carbonos saturados ocorrem na faixa de número de onda que vai de 2800  $\text{cm}^{-1}$  a 3000  $\text{cm}^{-1}$ . Enquanto as absorções geradas por estiramentos CH em carbonos insaturados (alcenos e aromáticos) acontecem na faixa de 3150-3500  $\text{cm}^{-1}$ .<sup>197</sup> Absorções na faixa de 3300-3500  $\text{cm}^{-1}$  são geradas por estiramentos do grupo NH.<sup>163</sup>

Figura 4.12 - Espectros de infravermelho (lado esquerdo) e Raman (lado direito), na faixa de 2800-3800  $\text{cm}^{-1}$ , para os confôrmeros do imidacloprido; espectros experimentais no topo da Figura, seguidos pelos espectros obtidos por M06-2X no modelo PCM (IMI1-MP), B3LYP no modelo PCM (IMI1-BP), M06-2X no modelo vácuo (IMI1-MV) e por último, B3LYP no modelo vácuo (IMI1-BV).



Fonte: elaborada pelo autor.

Na região de 2800  $\text{cm}^{-1}$  a 3800  $\text{cm}^{-1}$  do espectro de infravermelho do imidacloprido, a banda de absorção experimental 53:2896  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 4.12) foi associada ao estiramento simétrico do grupo H<sub>21</sub>H<sub>22</sub>C<sub>7</sub>, isso quando se considerou os cálculos de frequências do

confôrmero IMI1-MP. Contudo, os resultados do confôrmero IMI1-BP indicaram que a banda E53 é gerada por absorção de energia devido ao estiramento simétrico de H24H25C11 (Tabela 4.10). As bandas E58:3047  $\text{cm}^{-1}$  e E59:3079  $\text{cm}^{-1}$  são absorções atribuídas aos estiramentos dos grupos H18C2 e H19C3 do anel piridíneo, respectivamente.

A absorção E60:3374  $\text{cm}^{-1}$  está relacionada ao estiramento do grupo H23N10. A ilustração dessa vibração é exibida na Figura 4.10. A absorção E60 é um movimento não acoplado a outras vibrações na mesma molécula, como pode ser verificado pelo alto valor PED de 99% para ambos os confôrmeros IMI1-MP e IMI1-BP. No espectro experimental, a linha de absorção E60 aparece acoplada a outras absorções localizadas à direita e à esquerda, provavelmente, geradas por absorções do grupo H23N10 com energias ligeiramente diferentes, uma consequência da formação de ligações de hidrogênio por esse grupo.

O espectro experimental Raman que vai de 2800  $\text{cm}^{-1}$  a 3800  $\text{cm}^{-1}$  é mostrado na porção direita da Figura 4.12. A banda mais intensa, que é E54:2931  $\text{cm}^{-1}$ , está relacionada a um estiramento antissimétrico do grupo H26H27C12, isso para o confôrmero IMI1-MP (PED: 88%) (Ilustração na Figura 4.11). Entretanto, os resultados obtidos com o funcional B3LYP (IMI1-BP) indicam que a banda E54 ocorre devido ao estiramento antissimétrico do grupo H21H22C7, com PED de 91% (Tabela 4.10). Os diferentes modelos teóricos também previram diferentes vibrações nos modos E55 e E57. O modo E55:2957  $\text{cm}^{-1}$  foi identificado por estiramento antissimétrico do grupo H21H22C7, resultante do confôrmero IMI1-MP, e estiramento antissimétrico do grupo H26H27C12 quando se trata do confôrmero IMI1-BP. Segundo resultados obtidos para o confôrmero IMI1-MP, no modo E57:2989  $\text{cm}^{-1}$  prevaleceu o estiramento simétrico do grupo H24H25C11, enquanto que o confôrmero IMI1-BP indicou que o modo E57 está associado ao estiramento da ligação H20C6 no anel piridíneo.

O modo E60:3374  $\text{cm}^{-1}$ , atribuído ao estiramento da ligação H23N10, é ativo no espectro de infravermelho mas inativo no Raman. Singh (2008) verificou que o grupo NH do composto aminouracila é ativo nos espectros de infravermelho e Raman, mas o composto uracila é ativo no infravermelho e inativo no Raman.<sup>164</sup> Shandran et al. (2011) mediram os espectros de infravermelho e Raman experimentais do composto (E)-4-((antracên-9-ilmetileno)amino)-N-carbamimidoil-benzenosulfonamida; esse composto possui um grupo NH, similarmente ao imidacloprido.<sup>198</sup> Os autores também calcularam os espectros, no escopo da teoria do funcional da densidade, com funcional B3LYP. Os autores verificaram que as absorções experimentais no infravermelho ocorridas em 3323  $\text{cm}^{-1}$  e 3415  $\text{cm}^{-1}$  estão relacionadas aos estiramentos do grupo NH, enquanto os respectivos valores

encontrados nos espectros teóricos foram  $3355\text{ cm}^{-1}$  e  $3466\text{ cm}^{-1}$ . No entanto, os autores constataram que essas absorções encontradas no infravermelho são inativas no espectro Raman.

#### *4.3.5 Desvio das frequências teóricas*

Os valores das frequências vibracionais teóricas, calculadas neste trabalho, diferem dos valores das frequências medidas experimentalmente. Isso ocorre, geralmente, devido à ausência de correções anarmônicas nos cálculos e outros fatores tais como os funcionais de troca e correlação, o conjunto de base, etc. Resultados obtidos por J. Kim, K. Kim e Lhee (2001) demonstraram que o funcional meta-híbrido M06-2X superestimou as frequências teóricas vibracionais mais do que o funcional híbrido B3LYP. Os autores afirmam que, geralmente, funcionais híbridos fornecem melhores resultados de frequências vibracionais do que funcionais meta-híbridos.<sup>199</sup>

Muitos autores ajustam os desvios dos valores das frequências calculadas com relação aos valores de frequências experimentais por meio da aplicação de fatores de escala, isto é, multiplicam cada valor de frequência teórica por um coeficiente maior ou menor do que a unidade. Com esse procedimento, os autores objetivam facilitar a comparação entre as frequências de natureza teórica e experimental.<sup>165,177,178,200,201</sup> Mesmo assim, fatores de escala não são adequados para toda a região do espectro, por isso, alguns autores usam diferentes fatores de escala para diferentes regiões do espectro vibracional.

Neste trabalho, optou-se por não usar fatores de escala, visto que o imidacloprido é uma molécula que possui muitos modos normais de vibração e muitas vezes os modos experimentais são sobrepostos, formando bandas de absorção (espalhamento) no infravermelho (Raman). Embora os fatores de escala facilitem a comparação e identificação de algumas frequências, acabam dificultando outras. As bandas experimentais de absorção (espalhamento) foram identificadas por inspeção visual de ambos os espectros de infravermelho (Raman), teóricos e experimentais. Para mais detalhes, deve-se consultar o Apêndice A3 (Figuras A3.1 a A3.3); a análise dos espectros em conjunto facilita na identificação.

Os desvios das frequências teóricas com relação às frequências experimentais do composto imidacloprido foram estimados pelo desvio quadrático médio (RMSD). O funcional B3LYP, tanto no modelo vácuo quanto no PCM, forneceu o menor desvio das frequências teóricas de infravermelho e Raman (Tabela 4.11). Apesar disso, destaca-se que **o perfil** das curvas experimentais de infravermelho e Raman são mais próximos **do perfil** das curvas teóricas obtidas com o modelo PCM, em ambos os funcionais (M06-2X e B3LYP).

Tabela 4.11 - Valores dos desvios estimados (RMSD) das frequências teóricas de infravermelho e Raman com relação aos valores experimentais das frequências no infravermelho e Raman medidos para o imidacloprido em pó.

<b>RMSD para as frequências no infravermelho</b>				
<b>Intervalo de <math>\omega</math> (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>IMI1-MP</b>	<b>IMI1-BP</b>	<b>IMI1-MV</b>	<b>IMI1-BV</b>
400-1200	30,23	17,40	31,46	19,29
1200-2000	46,86	25,35	41,90	22,04
2800-3800	172,19	172,19	201,08	151,59

<b>RMSD para as frequências no Raman</b>				
<b>Intervalo de <math>\omega</math> (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>IMI1-MP</b>	<b>IMI1-BP</b>	<b>IMI1-MV</b>	<b>IMI1-BV</b>
400-1200	28,39	15,63	29,64	17,78
1200-2000	47,44	25,91	42,64	22,68
2800-3800	189,48	158,79	187,04	139,75

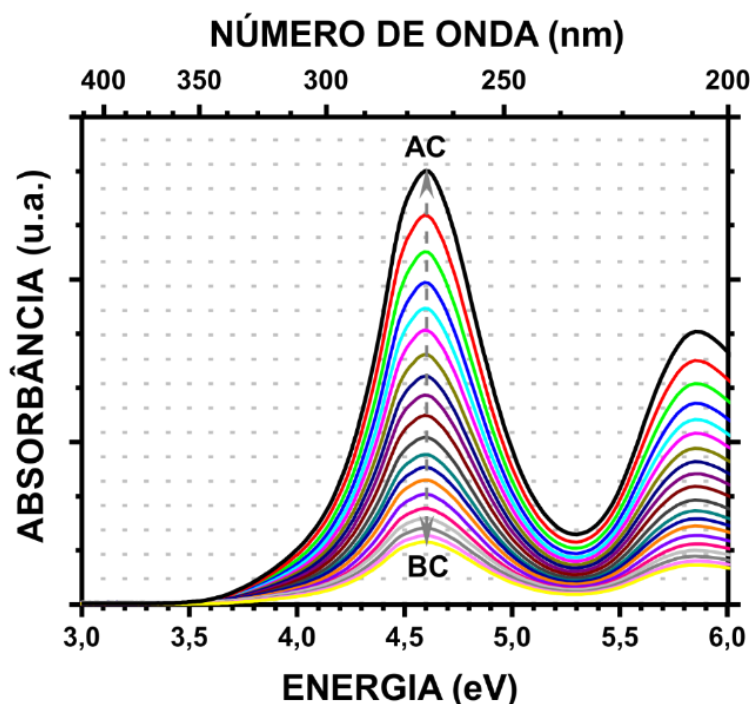
Fonte: elaborada pelo autor.

Apesar do sistema teórico parametrizado com o funcional B3LYP ter proporcionado os menores desvios das frequências, observou-se que algumas bandas experimentais são mais facilmente identificadas pelas linhas calculadas em um conjunto de condições teóricas, por exemplo, utilizando o M06-2X-PCM, enquanto outras bandas experimentais são melhores descritas por outro conjunto de condições teóricas, por exemplo, B3LYP-PCM. Novamente, destaca-se a importância da análise de ambos os espectros de infravermelho e Raman, teóricos e experimentais, na execução das atribuições das bandas experimentais a partir dos picos calculados (Apêndice A3).

#### 4.4 Espectroscopia no ultravioleta e visível (UV-VIS)

As medidas experimentais de absorção no UV-VIS foram realizadas para o imidacloprido em solução com as seguintes concentrações:  $5,15 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>;  $5,42 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>;  $5,61 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>;  $5,81 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>;  $6,02 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>;  $6,25 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>;  $6,5 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>;  $6,78 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>;  $7,09 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>;  $7,39 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>;  $7,74 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>;  $8,13 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> (Figura 4.13). As energias de absorção correspondentes aos máximos de intensidade para as duas principais bandas foram de 4,59 eV (270 nm) e 5,85 eV (212 nm). O processo de regressão linear forneceu coeficientes de correlação no valor de 0,999, obtidos a partir dos máximos das curvas de absorção provenientes das soluções nas concentrações já mencionadas. A absorvidade molar ( $\epsilon$ ) para a primeira banda de absorção foi de  $2,013 \times 10^4$  mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>, ao passo que para a segunda banda de absorção a absorvidade molar foi igual a  $1,366 \times 10^4$  mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>.

Figura 4.13 - Espectros de absorção UV-VIS do imidacloprido medidos nas concentrações ( $\text{mol L}^{-1}$ ):  $5,15 \times 10^{-5}$ ;  $5,42 \times 10^{-5}$ ;  $5,61 \times 10^{-5}$ ;  $5,81 \times 10^{-5}$ ;  $6,02 \times 10^{-5}$ ;  $6,25 \times 10^{-5}$ ;  $6,5 \times 10^{-5}$ ;  $6,78 \times 10^{-5}$ ;  $7,09 \times 10^{-5}$ ;  $7,39 \times 10^{-5}$ ;  $7,74 \times 10^{-5}$ ;  $8,13 \times 10^{-5}$ .



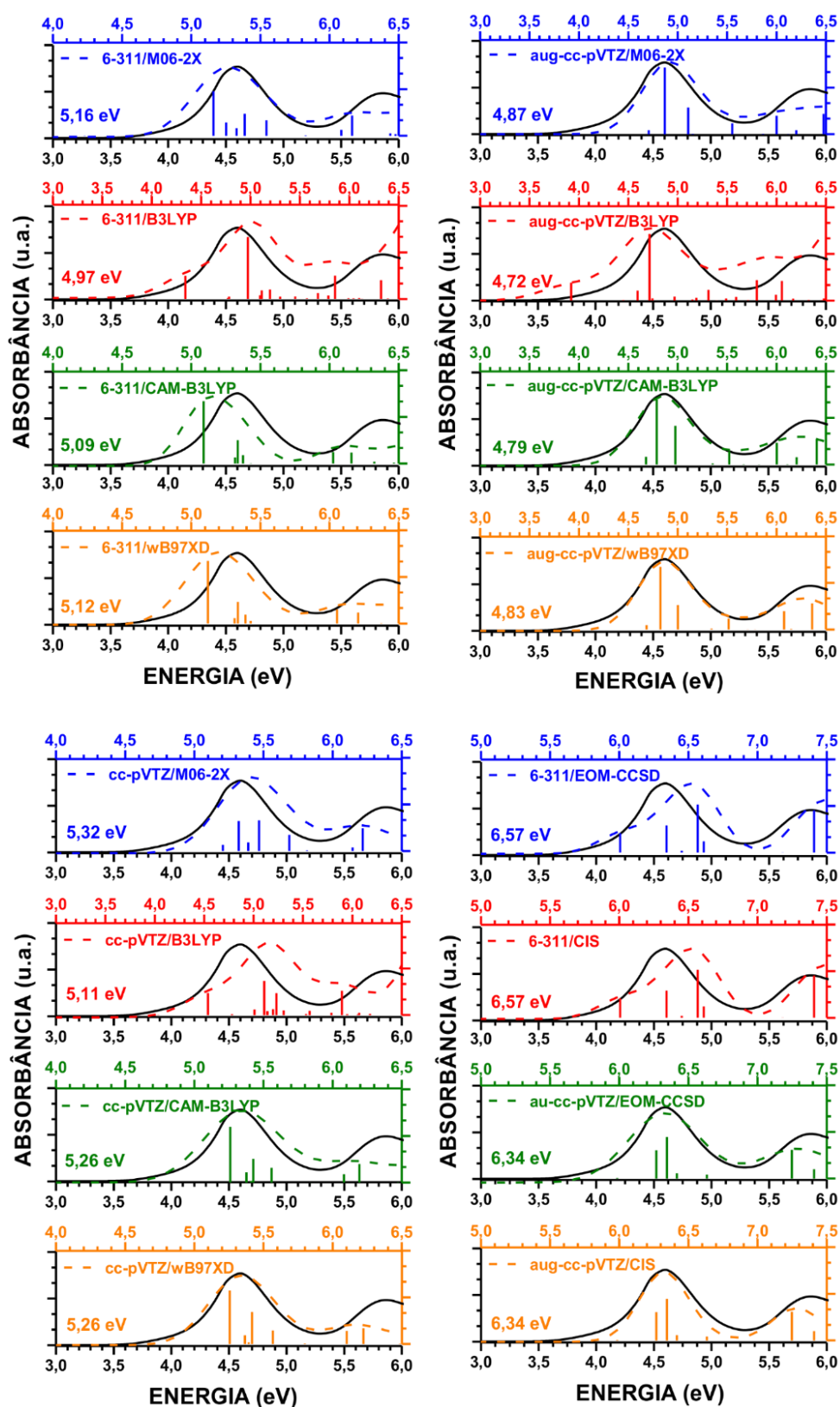
Fonte: elaborada pelo autor.

Notas: o termo AC significa alta concentração e BC significa baixa concentração.

Para calcular os espectros de absorção na região do UV-VIS, utilizou-se vários conjuntos de bases e funcionais, principalmente porque os tradicionais funcionais M06-2X e B3LYP em combinação com o conjunto de base 6-311++G (d, p) não renderam bons resultados. A absorção óptica de UV-VIS foi calculada para 16 sistemas: os funcionais M06-2X, B3LYP, CAM-B3LYP e wB97XD, cada um com o conjunto de base 6-311++G (d, p), cc-pVTZ e aug-cc-pVTZ (4x3 sistemas). Os demais 4 sistemas foram obtidos pelos métodos configuração de interação (*Configuration Interaction singles - CIS*), e equação do movimento (*Equation of Motion Coupled Cluster Singles and Doubles - EOM-CCSD*), cada um com o conjunto de base 6-311++G (d, p) e aug-cc-pVTZ (2x2 sistemas); os gráficos para todos os sistemas teóricos são mostrados na Figura 4.14. Em cada sistema de cálculo, o valor de energia (em elétron-volt) para a principal absorção do início da curva é mostrado na porção inferior e esquerda dos gráficos (Figura 4.14).

A partir da deconvolução do espectro experimental, percebeu-se que deve haver uma pequena absorção, em torno de 4,11 eV, sobreposta à banda de absorção mais intensa do espectro experimental (por volta de 4,56 eV); a deconvolução é mostrada nas Figuras 4.15 e 4.16, que serão discutidas posteriormente. Quando essa pequena absorção não foi considerada, obteve-se um coeficiente de correlação insatisfatório no ajuste das curvas deconvoluídas.

Figura 4.14 - Espectros teóricos de absorção óptica e valor da primeira linha de absorção. Espectros teóricos obtidos pela combinação dos funcionais M06-2X, B3LYP, CAM-B3LYP e wb97XD com o conjunto de base 6-311++G (d, p), cc-pVTZ e aug-cc-pVTZ; espectros teóricos obtidos pela combinação dos funcionais EOM-CCSD e CIS com o conjunto de base 6-311++G (d, p) e aug-cc-pVTZ.



A linha de absorção teórica correspondente à pequena banda de absorção experimental em 4,11 eV não foi computada pelos sistemas com os funcionais M06-2X, CAM-B3LYP e wB97XD, ambos com o conjunto de base 6-311++G (d, p), ou os funcionais CAM-B3LYP e wB97XD com o conjunto de base cc-pVTZ (Figura 4.14). Uma maior discrepância foi observada entre o sistema B3LYP e os demais, principalmente com relação à primeira banda teórica de baixa intensidade, por exemplo, o valor de 4,97 eV para o sistema B3LYP/6-311++G (d, p).

Ambos os sistemas CIS e EOM-CCSD mostraram um grande deslocamento (desvio para maiores valores de energia) horizontal dos valores de absorção teóricos com relação ao valor experimental (Figura 4.14). De maneira geral, os melhores resultados foram obtidos com o conjunto de base aug-cc-pVTZ para ambos os funcionais. Nota-se que, mantendo invariável o conjunto de base aug-cc-pVTZ, o perfil das absorções computadas com os funcionais M06-2X, B3LYP, CAM-B3LYP e wB97XD são semelhantes, sendo que a maior discrepância ocorre para o funcional B3LYP.

As Tabelas 4.12 e 4.13 mostram detalhes das absorções teóricas tais como as energias de excitação (em elétron-volt), transições eletrônicas (por exemplo, a transição HOMO-LUMO ou  $H_0 \rightarrow L_0$ ), as contribuições das transições em porcentagem (%), e a força do oscilador (F.O.); os dados foram obtidos utilizando os tradicionais funcionais M06-2X (Tabela 4.12) e B3LYP (Tabela 4.13), ambos com o conjunto de base aug-cc-pVTZ. Os principais estados eletrônicos (N), energia de excitação e a principal transição eletrônica para cada estado eletrônico de absorção são destacados em negrito. Por exemplo, para o segundo estado eletrônico de absorção (N=2), com energia de excitação de 4,71 eV, obtido com o funcional M06-2X (Tabela 4.12), há cinco transições eletrônicas, mas prevalece a contribuição da transição que ocorre entre os orbitais HOMO-8 e LUMO, ou seja, orbitais  $H_{-8}$  e  $L_0$  (71%). No terceiro estado eletrônico teórico (N=3), obtido com o funcional M06-2X, prevalece a transição HOMO-LUMO ( $H_0 \rightarrow L_0$ ), com energia de excitação 4,87 eV; essa transição equivale a 63% do estado eletrônico total (Tabela 4.12). Para o funcional B3LYP, a transição  $H_0 \rightarrow L_0$  está situada no estado eletrônico 2 (N=2), com energia de excitação de 3,92 eV; a contribuição da transição  $H_0 \rightarrow L_0$  para esse estado de absorção é de 97% (Tabela 4.13).

As Figuras 4.15 e 4.16 mostram a deconvolução do espectro experimental e a comparação com os respectivos espectros teóricos computados de acordo com o conjunto de base aug-cc-pVTZ, com os funcionais M06-2X (Figura 4.15) e B3LYP (Figura 4.16). O melhor ajuste foi obtido com seis curvas deconvoluídas, em que o coeficiente de correlação foi de 0,999.



Tabela 4.12 - Estados eletrônicos teóricos da molécula do imidacloprido obtidos com o conjunto de base aug-cc-pVTZ e funcional M06-2X: energias de excitação, transições eletrônicas, porcentagem das transições e força do oscilador.

Estados eletrônicos do 1° ao 9°						Estados eletrônicos do 10° ao 16°						
N	E/eV	Transição	Coef.	%	F. O.	N	E/eV	Transição	Coef.	%	F. O.	
1	3,756	H-8 -> L0	-0,1794	6,44	0,0001	10	6,119	H-3 -> L+1	-0,2773	15,38	0,0006	
		H-5 -> L0	-0,2590	13,42				H-3 -> L+2	0,1083	2,35		
		H-4 -> L0	0,6025	72,60				H-1 -> L+1	0,1969	7,75		
		H-4 -> L+5	0,1026	2,11				H0 -> L+1	0,5504	60,59		
2	4,706	H-10 -> L0	-0,2027	8,22	0,0266	11	6,199	H-10 -> L0	-0,2151	9,25	0,0267	
		<b>H-8 -&gt; L0</b>	<b>0,5938</b>	<b>70,52</b>				H-8 -> L0	-0,1038	2,15		
		H-8 -> L+5	0,1033	2,13				H-1 -> L0	0,6023	72,55		
		H-4 -> L0	0,1342	3,60				H0 -> L+1	-0,1472	4,33		
		H0 -> L0	0,1876	7,04				H-5 -> L+1	0,1166	2,72		0,1305
3	4,868	H-8 -> L0	-0,1721	5,92	0,4298	12	6,476	H-3 -> L+2	-0,2569	13,20		
		H-2 -> L0	0,3408	23,23				H-1 -> L0	0,1155	2,67		
		<b>H0 -&gt; L0</b>	<b>0,5600</b>	<b>62,72</b>				H-1 -> L+1	0,1359	3,69		
4	5,105	<b>H-2 -&gt; L0</b>	<b>0,5790</b>	<b>67,05</b>	0,1729	13	6,650	H-1 -> L+2	-0,2450	12,01		
		H-1 -> L0	-0,1360	3,70				H0 -> L+1	0,1277	3,26		
		H0 -> L0	-0,3454	23,86				<b>H0 -&gt; L+2</b>	<b>0,5216</b>	<b>54,41</b>		
5	5,152	H-3 -> L+1	0,5939	70,54	0,0023	14	6,873	H-5 -> L+1	-0,2266	10,27	0,0573	
		H-2 -> L+1	0,1080	2,33				H-4 -> L+1	-0,1020	2,08		
		H-1 -> L+1	0,1155	2,67				H-3 -> L+2	-0,2409	11,61		
		H0 -> L+1	0,2693	14,50				H-1 -> L+2	0,5493	60,35		
6	5,550	H-5 -> L+2	0,2468	12,18	0,0708	15	7,021	H0 -> L+2	0,2022	8,18		
		H-4 -> L+2	0,1039	2,16				H-9 -> L+3	0,1965	7,72	0,0001	
		<b>H-1 -&gt; L+1</b>	<b>0,5775</b>	<b>66,70</b>				H-1 -> L+3	0,6069	73,67		
		H0 -> L+1	-0,2565	13,16				H-1 -> L+4	-0,1159	2,69		
7	5,864	H-10 -> L0	0,4890	47,82	0,0019	16	7,086	H-1 -> L+5	0,1059	2,24		
		H-8 -> L0	0,1445	4,18				H0 -> L+3	-0,1822	6,64		
		H-3 -> L0	0,1177	2,77				H-5 -> L0	0,4981	49,62	0,0343	
		H-3 -> L+2	0,3122	19,49				H-5 -> L+2	0,1162	2,70		
		H-1 -> L0	0,2105	8,86				H-4 -> L0	0,1515	4,59		
		H0 -> L+2	0,1804	6,51				H-3 -> L0	0,4077	33,24		
8	5,878	H-10 -> L0	-0,3344	22,36	0,0003	17	7,173	H-5 -> L0	-0,3330	22,18		0,0294
		H-8 -> L0	-0,1035	2,14				H-4 -> L0	-0,2212	9,79		
		H-3 -> L+2	0,4504	40,57				H-3 -> L0	0,5105	52,12		
		H-1 -> L0	-0,1359	3,69				H-3 -> L+2	-0,1407	3,96		
		H0 -> L+2	0,3164	20,02				H-2 -> L+1	-0,1428	4,08		
9	6,000	<b>H-6 -&gt; L0</b>	<b>0,6749</b>	<b>91,10</b>	0,1192							

Notas: N: número do estado; Coef.: coeficiente; F.O.: força do oscilador.

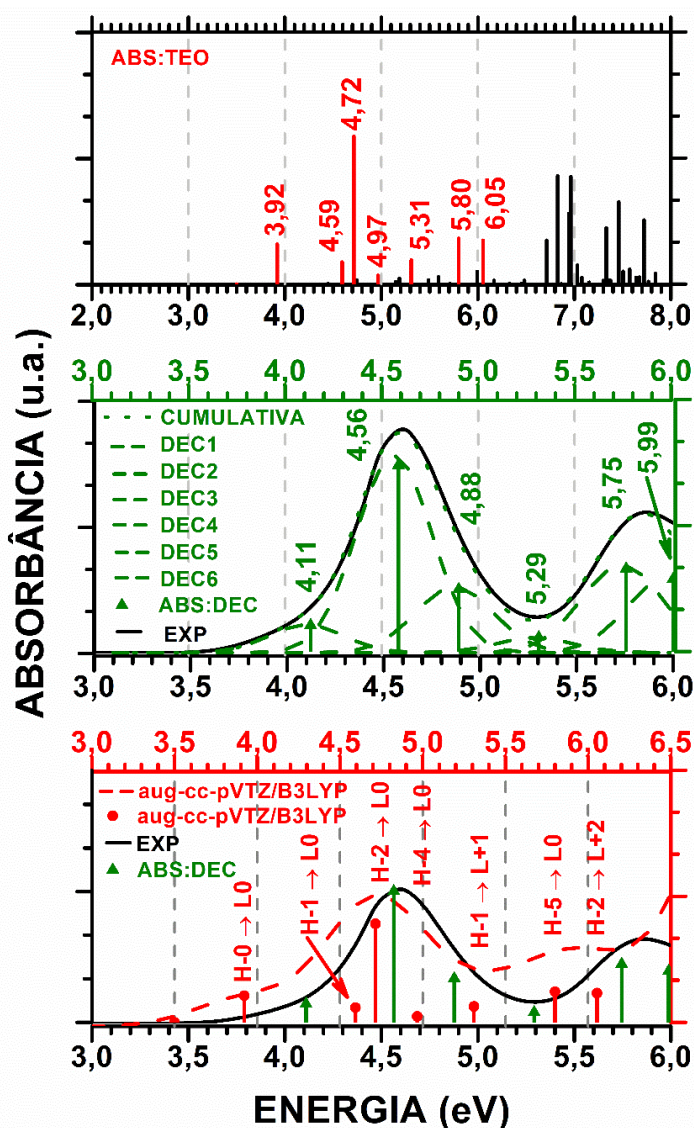
Destacou-se topo da Figura 4.15 as linhas de absorção teóricas (ABS: TEO) obtidas com o funcional M06-2X (aug-cc-pVTZ); as linhas de absorção correspondem aos valores da energia de excitação. No meio da Figura 4.15 é mostrada a curva experimental (EXP) contínua, as seis curvas deconvoluídas (DEC), e a curva resultante (CUMULATIVA); as curvas deconvoluídas e resultante são mostradas em tracejado. Ainda, no meio da Figura 4.15, são destacadas as linhas no máximo de absorção (ABS: DEC) das curvas deconvoluídas a partir da curva experimental e os respectivos valores de energia correspondentes ao máximo de absorção (energia de excitação).

Tabela 4.13 - Estados eletrônicos teóricos da molécula do imidacloprido obtidos com o conjunto de base aug-cc-pVTZ e funcional B3LYP: energias de excitação, transições eletrônicas, porcentagem das transições e força do oscilador.

Estados eletrônicos do 1° ao 10°						Estados eletrônicos do 11° ao 21°								
N	E/eV	Transição	Coef.	%	F. O.	N	E/eV	Transição	Coef.	%	F. O.			
1	3,500	H-3 -> L0	0,6139	75,38	0,0001	11	5,394	H-10 -> L0	0,4582	41,99	0,0005			
		H-2 -> L0	0,1893	7,16				H-9 -> L0	-0,4231	35,81				
		H-1 -> L0	0,2795	15,62				H-6 -> L0	0,2994	17,93				
<b>2</b>	<b>3,922</b>	<b>H0 -&gt; L0</b>	<b>0,6965</b>	<b>97,01</b>	0,0951	12	5,488	H-10 -> L0	-0,2519	12,69	0,0111			
3	4,449	<b>H-7 -&gt; L0</b>	<b>0,6009</b>	<b>72,23</b>	0,0026	13	5,564	H-9 -> L0	0,1743	6,07	0,0002			
		H-6 -> L0	0,1020	2,08				H-7 -> L0	-0,1353	3,66				
		H-3 -> L0	-0,1229	3,02				H-6 -> L0	0,6027	72,65				
		H-2 -> L0	0,1089	2,37				H-1 -> L+1	-0,1226	3,00				
		H-1 -> L0	0,3044	18,53				H-4 -> L+1	-0,1514	4,58				
4	4,593	H-7 -> L0	-0,3159	19,96	0,0525	14	5,592	H-2 -> L+1	0,6396	81,81	0,0185			
		H-3 -> L0	-0,2632	13,85				H-1 -> L+1	-0,2234	9,98				
		<b>H-1 -&gt; L0</b>	<b>0,5612</b>	<b>63,00</b>				H-4 -> L+2	0,6323	79,95				
5	4,715	H-7 -> L0	-0,1003	2,01	0,3518	15	5,712	H-2 -> L+1	-0,1113	2,48	0,0026			
		H-5 -> L0	0,1179	2,78				H-2 -> L+2	0,1588	5,04				
		H-3 -> L0	-0,1721	5,92				H0 -> L+2	-0,2039	8,31				
		<b>H-2 -&gt; L0</b>	<b>0,6431</b>	<b>82,72</b>				H-3 -> L+1	0,6624	87,74				
6	4,744	H-4 -> L+1	0,1634	5,34	0,0115	16	5,800	H-2 -> L+1	0,1306	3,41	0,1086			
		H0 -> L+1	0,6784	92,03				H-1 -> L+1	0,1828	6,68				
7	4,967	<b>H-4 -&gt; L0</b>	<b>0,6962</b>	<b>96,95</b>	0,0208	17	5,993	<b>H-5 -&gt; L0</b>	<b>0,6790</b>	<b>92,21</b>	0,1086			
8	5,149	H-4 -> L+1	-0,1354	3,67	0,0066	18	6,014	H-2 -> L0	-0,1187	2,82	0,0309			
		H-4 -> L+2	0,1454	4,23				H-6 -> L+1	-0,1034	2,14				
		H-1 -> L+1	-0,1962	7,70				H-2 -> L+2	-0,4638	43,03				
		H0 -> L+2	0,6166	76,03				H-1 -> L+2	0,5081	51,62				
9	5,187	H-4 -> L+1	0,5507	60,65	0,0153	19	6,054	H-8 -> L0	0,7039	99,09	0,0001			
		H-2 -> L+1	0,1899	7,21				H-6 -> L+1	-0,1930	7,45				
		H-1 -> L+1	0,2353	11,07				H-4 -> L+2	-0,1849	6,84				
		H0 -> L+1	-0,1494	4,47				<b>H-2 -&gt; L+2</b>	<b>0,4887</b>	<b>47,77</b>				
		H0 -> L+2	0,2340	10,95				H-1 -> L+2	0,3900	30,42				
10	5,310	H-6 -> L0	0,1678	5,63	0,0569	20	6,168	H-6 -> L+1	0,1417	4,02	0,0103			
		H-6 -> L+2	0,2073	8,60				H-3 -> L+2	0,6735	90,72				
		H-4 -> L+1	-0,3434	23,58				21	6,326	H-3 -> L+3		-0,2075	8,61	0,0032
		H-3 -> L+1	-0,1529	4,67				H-2 -> L+3	0,1546	4,78				
		<b>H-1 -&gt; L+1</b>	<b>0,4980</b>	<b>49,60</b>				<b>H-1 -&gt; L+3</b>	<b>0,4943</b>	<b>48,87</b>				
H0 -> L+2	0,1074	2,31	H0 -> L+3	-0,4129	34,09									



Figura 4.16 - Absorções teóricas de acordo com o funcional B3LYP, conjunto de base aug-cc-pVTZ (topo da figura), deconvolução do espectro de absorção experimental (meio da figura) e comparação das absorções teóricas e experimentais (base da figura).



Fonte: elaborada pelo autor.

O espectro experimental possui duas bandas de absorção mais intensas, sendo que a primeira sobrepõe uma pequena banda, localizada à esquerda, no início do espectro de absorção. De acordo com o resultado da deconvolução, a linha de absorção da primeira banda, sobreposta a primeira banda de maior intensidade, está situada em torno de 4,11 eV, e a banda de maior intensidade é definida pelas linhas de absorção em torno de 4,56 eV e 4,88 eV. A segunda banda de absorção experimental é formada principalmente pelas linhas centradas em 5,75 e 5,99 eV (Figuras 4.15 e 4.16).

Quando se analisou os resultados obtidos com o funcional M06-2X, a linha de absorção da primeira banda experimental (banda sobreposta), em 4,11 eV, foi associada à linha de absorção teórica em 4,71 eV, devido à transição  $H_{-8} \rightarrow L_0$ . Já a principal banda de absorção experimental, por volta de 4,56 eV, foi relacionada à transição  $H_0 \rightarrow L_0$ , em 4,87 eV, e à transição  $H_{-2} \rightarrow L_0$ , em 5,11 eV (Figura 4.15; Tabela 4.12). A segunda banda mais intensa do espectro experimental, definida pelas linhas de absorção experimentais em 5,75 e 5,99 eV, foi identificada com as transições  $H_{-6} \rightarrow L_0$ , em 6,00 eV, e  $H_0 \rightarrow L_{+2}$ , em 6,48 eV (Figura 4.15; Tabela 4.12). Os valores de energia de excitação dos estados eletrônicos, os orbitais envolvidos na principal transição de cada estado eletrônico e a diferença de energia (lacuna de energia ou *gap*) entre os orbitais envolvidos nas transições são mostrados na ilustração da Figura 4.17.

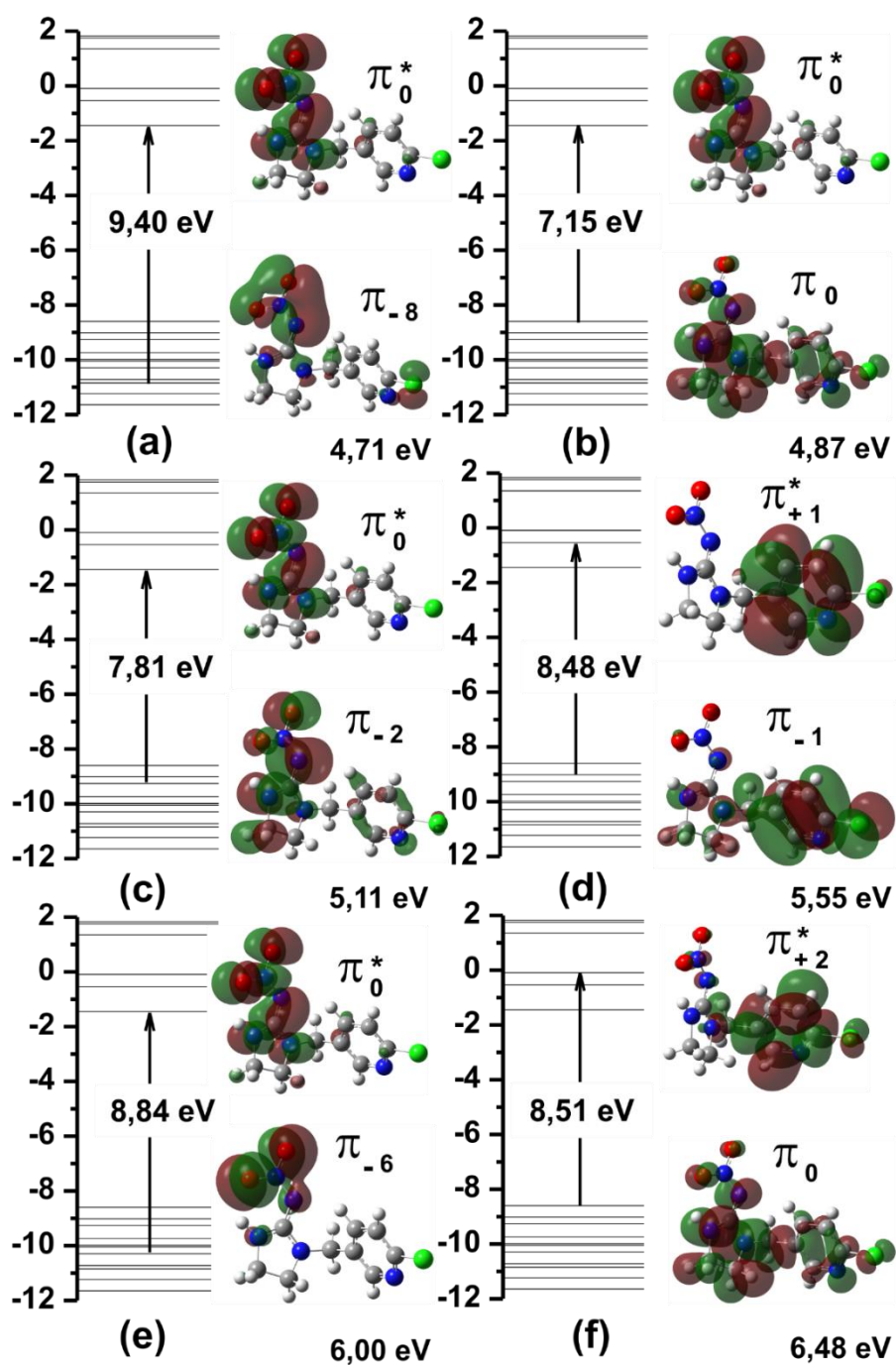
Os resultados obtidos com o funcional B3LYP indicam que a primeira linha de absorção experimental (4,11 eV) é devido à transição que parte do orbital HOMO em direção ao orbital LUMO ( $H_0 \rightarrow L_0$ ), essa transição ocorre com energia de excitação de 3,92 eV, no espectro teórico (Figura 4.16; Tabela 4.13). Por sua vez, a principal absorção experimental (centrada em 4,56 eV) está associada às transições  $H_{-2} \rightarrow L_0$  (em 4,72) e  $H_{-1} \rightarrow L_{+1}$  (em 5,31 eV). A segunda banda de absorção experimental surge das transições  $H_{-5} \rightarrow L_0$ , em 5,80 eV, e  $H_{-2} \rightarrow L_{+2}$ , em 6,05 eV (Figura 4.16; Tabela 4.13). Os valores de energia da excitação dos estados eletrônicos, os orbitais envolvidos na principal transição de cada estado eletrônico e a diferença de energia (lacuna de energia ou *gap*) entre os orbitais envolvidos nas transições são mostrados na Figura 4.18.

Os orbitais de fronteira HOMO concentram-se em maior grau na região do anel imidazólico; os orbitais LUMO situam-se na região nitro e guanidina. Essa observação é válida para ambos os funcionais M06-2X e B3LYP (Figuras 4.17 e 4.18). Nota-se que o perfil de densidade eletrônica dos orbitais HOMO e LUMO, tanto no sistema calculado com o funcional M06-2X quanto B3LYP, são muito similares; no entanto os valores das energias de excitação (Tabelas 4.12 e 4.13) e lacuna de energia ou *gap* (Figuras 4.17 e 4.18) divergem significativamente quando os funcionais são comparados.

Observou-se que o funcional M06-2X fornece valores de lacuna de energia e energia de excitação consideravelmente mais elevados do que os obtidos com o funcional B3LYP. Por exemplo, para a transição HOMO  $\rightarrow$  LUMO ou  $H_0 \rightarrow L_0$  obtida com o funcional M06-2X (B3LYP), o valor da energia de excitação é de 4,87 eV (3,92 eV); ver Figuras 4.17 e 4.18 (Tabelas 4.12 e 4.13). Já o valor da lacuna de energia entre os orbitais  $H_0 \rightarrow L_0$  (orbitais  $\pi_0 \rightarrow \pi_0^*$ ) obtido com o funcional M06-2X (B3LYP) é de 7,15 eV (4,47 eV); Figuras 4.17 e 4.18; Tabelas 4.12 e 4.13. Neste trabalho, os valores teóricos obtidos com diferentes funcionais foram

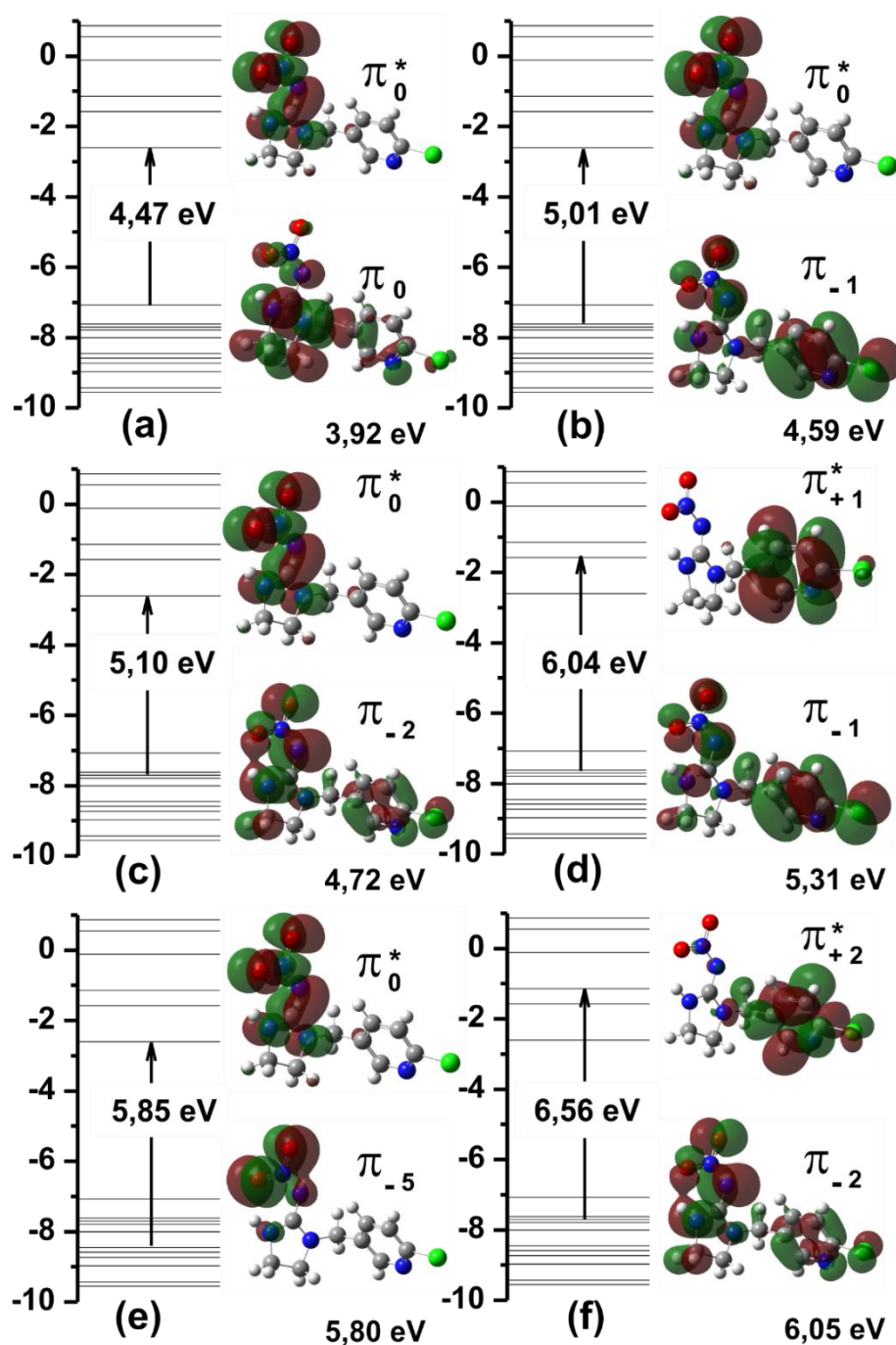
comparados, contudo, vale lembrar que as divergências nos valores de intensidade não são suficientes para definir se um determinado modelo teórico é mais realístico ou coerente do que outro modelo.

Figura 4.17 - Estados eletrônicos obtidos com o funcional M06-2X, conjunto de base aug-cc-pVTZ: energias de excitação do estado eletrônico, orbitais envolvidos na principal transição eletrônica de cada estado eletrônico e lacuna de energia entre os orbitais envolvidos nas transições.



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 4.18 - Estados eletrônicos obtidos com o funcional B3LYP, conjunto de base aug-cc-pVTZ: energias de excitação do estado eletrônico, orbitais envolvidos na principal transição eletrônica de cada estado eletrônico e lacuna de energia entre os orbitais envolvidos nas transições.



Fonte: elaborada pelo autor.

Kagabu e Akagi (1997) fizeram um estudo relacionando à fotoestabilidade às propriedades eletrônicas do imidacloprido e seus derivados. Para esse propósito, os autores usaram métodos semi-empírico e *ab initio* Hartree-Fock com o conjunto de base STO-3G, 4-31G e

6-31G.<sup>191</sup> Neste trabalho, utilizou-se vários funcionais e conjunto de base, no entanto, os melhores resultados teóricos de absorção óptica foram obtidos usando o conjunto de base aug-cc-pVTZ com os funcionais M06-2X e B3LYP.

Em conformidade com os resultados de Kagabu e Akagi (1997), os orbitais HOMO calculados neste trabalho concentram-se na região do anel imidazólico, conforme explanado anteriormente (ver Figuras 4.17 e 4.18). Os autores afirmam que os orbitais LUMO situam-se no grupo nitro.<sup>191</sup> Entretanto, neste trabalho, os resultados obtidos com os funcionais M06-2X e B3LYP (conjunto de base aug-cc-pVTZ) indicam que os orbitais LUMO também englobam o grupo guanidina, além do grupo nitro. Na seção 4.2.2.2, quando se analisou os orbitais HOMO e LUMO da molécula no estado fundamental, encontrou-se a mesma tendência; os resultados da seção 4.2.2.2 foram obtidos com o funcional M06-2X, conjunto de base 6-311++G (d, p). Verificou-se que no estado fundamental, os orbitais HOMO estão concentrados no anel imidazólico (e também no anel piridíneo), enquanto que os orbitais LUMO localizam-se nos grupos nitro e guanidina, principalmente nos átomos O15, O16 e N14 do grupo nitro.

Portanto, no estado fundamental (excitado), o deslocamento de densidade eletrônica (transição eletrônica) ocorre da região do anel imidazólico em direção ao grupo nitro, por meio dos orbitais HOMO-LUMO. Tomizawa, Lee e Casida (2000) afirmaram que o deslocamento de densidade eletrônica faz com que a interação entre o grupo nitro e resíduos positivos (Arginina, Lisina, Histidina) do receptor nAChR (e receptores análogos) seja preponderante na interação.<sup>104</sup>

Segundo Kagabu e Akagi (1997), a transição eletrônica HOMO-LUMO do imidacloprido - neste trabalho, a transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  das Figuras 4.17 e 4.18 -, é a primeira absorção de maior intensidade e portanto pode ser relacionada à fotoestabilidade do composto.<sup>191</sup> De acordo com os resultados teóricos encontrados neste trabalho utilizando o funcional M06-2X, a transição  $\pi\text{-}\pi^*$ , com energia de excitação de 4,87 eV, está associada à banda experimental de maior intensidade por volta de 4,56 eV. Os resultados obtidos com o funcional B3LYP sugerem que a transição  $\pi\text{-}\pi^*$ , com energia de excitação de 3,92 eV, está associada à absorção experimental de baixa intensidade, em torno de 4,11 eV. Assim, ao que parece, o funcional M06-2X está em maior conformidade com o resultado experimental <sup>191</sup>. O *gap* de energia HOMO-LUMO ( $\pi\text{-}\pi^*$ ) encontrado por Kagabu e Akagi (1997), usando o método semi-empírico, foi de 9,87 eV. Esse valor é mais próximo do valor de 7,15 eV encontrado neste trabalho usando o funcional M06-2X no escopo da teoria DFT.



## 5 CRISTAL DO IMIDACLOPRIDO

Anteriormente, afirmou-se que o imidacloprido tem graus de liberdade rotacionais limitados em algumas ligações. Isso porque sua estrutura é constituída pelos anéis cloropiridíneo e imidazólico, e por grupos com ligações múltiplas, isto é, os grupos nitro e guanidina (Figura 5.1, a). Além disso, a ligação de hidrogênio intramolecular entre o átomo de oxigênio (O16) do grupo nitro e o átomo de hidrogênio H23 restringe a rotação da ligação N13N14, que liga o grupo nitro ao grupo guanidina (Figura 5.1, a); devido a essa ligação de hidrogênio intramolecular, um pseudoanel de seis membros é formado. Apesar disso, as ligações C1C7 e C7N8 (Figura 5.1) dão ao imidacloprido graus de liberdade rotacionais, conseqüentemente, possibilitando a existência de confôrmeros.

Neste capítulo, serão rediscutidos os polimorfos do cristal do imidacloprido, desta vez, serão exibidas as ilustrações das células unitárias e das interações que ocorrem dentro da célula e entre células. Os polimorfos são constituídos por diferentes confôrmeros devido aos graus de liberdade rotacionais das ligações C1C7 e C7N8 (Figura 5.1, a), e também devido à estrutura do imidacloprido possibilitar a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares, necessárias para a estabilização do empacotamento do cristal; o imidacloprido possui heteroátomos de nitrogênio e oxigênio, aptos a atuarem como receptores de prótons em ligações de hidrogênio intermoleculares. Arbitrariamente, um dos polimorfos do imidacloprido foi selecionado para que suas propriedades (estruturais, eletrônicas, vibracionais e ópticas) fossem calculadas, a luz da teoria do funcional da densidade.

### 5.1 Conceitos gerais

Antes de discutir as propriedades do cristal do imidacloprido, alguns conceitos gerais utilizados na cristalografia serão abordados. Neste trabalho, não há a intenção de discutir esses conceitos de forma exaustiva, nem com profundidade. Para isso, recomenda-se consultar outros trabalhos, tais como Kittel (2006),<sup>202</sup> Williams e Carter (2009),<sup>203</sup> Srnec, Upadhyay e Madura (2016),<sup>204</sup> Ladd (1997),<sup>205</sup> etc.

Um cristal ideal consiste de uma repetição infinita de grupos idênticos de átomos. Cada um dos grupos recebe o nome de base. A rede cristalina é o conjunto de pontos matemáticos associados às bases. Os pontos matemáticos da rede cristalina coincidem com as posições das bases no cristal.<sup>202</sup> No cristal, qualquer um desses pontos tem o mesmo ambiente, por isso, se representarmos, matematicamente, um dos pontos da rede cristalina tridimensional por um

vetor do tipo  $\mathbf{r} = n_1\mathbf{a} + n_2\mathbf{b} + n_3\mathbf{c}$ , onde  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  e  $\mathbf{c}$  são os vetores associados aos eixos cartesianos  $x$ ,  $y$  e  $z$  do espaço real e  $n_1$ ,  $n_2$  e  $n_3$  são números inteiros, qualquer outro ponto da rede pode ser representado por uma operação de translação desse ponto descrito. De uma forma genérica, qualquer ponto da rede é representado pelo vetor  $\mathbf{r}' = \mathbf{r} + n_1\mathbf{a} + n_2\mathbf{b} + n_3\mathbf{c}$ .<sup>205,206</sup> O paralelepípedo definido pelos vetores  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  e  $\mathbf{c}$  é chamado de célula unitária. Uma célula é capaz de preencher todo o espaço do cristal através de operações de translação apropriadas. Quando a célula unitária possui o menor volume possível, denomina-se célula primitiva, nesse caso, os vetores  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  e  $\mathbf{c}$  são os vetores primitivos. Os vetores  $\mathbf{a}$  e  $\mathbf{b}$  definem o ângulo  $\gamma$ , os vetores  $\mathbf{b}$  e  $\mathbf{c}$  o ângulo  $\alpha$ , e os vetores  $\mathbf{a}$  e  $\mathbf{c}$  o ângulo  $\beta$ . Os vetores  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  e  $\mathbf{c}$ , os ângulos  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , e o volume ( $V$ ) da célula definem o conjunto de **parâmetros de rede**. A célula primitiva possui apenas um ponto da rede cristalina porque cada ponto no vértice do paralelepípedo que molda a célula é compartilhado por mais 7 células, ou seja, cada célula contém  $1/8$  do ponto em cada um dos vértices; o total de oito vértices do paralelepípedo equivale a um ponto ( $8 \times 1/8$ ).

No espaço real tridimensional existem 14 redes, denominadas redes Bravais, que se agrupam em sete sistemas: triclínico (1 célula unitária), monoclínico (2 células unitárias diferentes), ortorrômbico (4 células), tetragonal (2 células), cúbico (3 células), trigonal (1 célula) e hexagonal (1 célula).<sup>205</sup> As redes Bravais são identificadas de acordo com as operações de simetria na célula unitária.

Por exemplo, no sistema monoclínico, os vetores  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  e  $\mathbf{c}$  possuem intensidades diferentes, e os ângulos  $\alpha$  e  $\gamma$  são iguais a  $90^\circ$ , mas o ângulo  $\beta$ , difere de  $90^\circ$ . O sistema monoclínico possui dois tipos de células unitárias, o monoclínico simples (1 ponto da rede em cada vértice), e o monoclínico de base centrada (1 ponto adicional no plano da base e outro ponto no plano do topo).<sup>202</sup> O cristal do imidacloprido estudado neste trabalho pertence ao sistema monoclínico simples.<sup>160</sup>

Duas redes podem ser associadas a um cristal, a rede cristalina já mencionada - também conhecida como rede direta - e a rede recíproca.<sup>202</sup> O espaço real contém os vetores que definem a rede cristalina e o espaço recíproco constitui os vetores que definem a rede recíproca.<sup>207</sup> Assim como o espaço recíproco está relacionado ao espaço real, a rede recíproca está relacionada à rede cristalina. Porém, a relação entre a rede recíproca e a rede cristalina não é uma escala linear direta, mas uma escala recíproca (inversa). Se um comprimento é grande no espaço real (por exemplo, a distância entre dois átomos na rede, a distância entre dois planos atômicos ou moleculares), será pequeno no espaço recíproco.<sup>206</sup> Os pontos da rede recíproca podem ser descritos, matematicamente, pelo vetor  $\mathbf{g} = m_1\mathbf{a}^* + m_2\mathbf{b}^* + m_3\mathbf{c}^*$ , onde  $\mathbf{a}^*$ ,  $\mathbf{b}^*$  e  $\mathbf{c}^*$  são

os vetores paralelos aos eixos cartesianos do espaço recíproco  $g_1$ ,  $g_2$  e  $g_3$  que descrevem o ponto na rede recíproca, e  $m_1$ ,  $m_2$  e  $m_3$  são números inteiros. A direção da componente  $\mathbf{a}^*$  é perpendicular ao plano formado por  $\mathbf{b}$  e  $\mathbf{c}$  (plano  $\mathbf{bc}$ ),  $\mathbf{b}^*$  é perpendicular ao plano  $\mathbf{ac}$ , e  $\mathbf{c}^*$  é perpendicular ao plano  $\mathbf{ab}$ . Os vetores que definem a rede recíproca (vetores  $\mathbf{a}^*$ ,  $\mathbf{b}^*$  e  $\mathbf{c}^*$ ) têm relação recíproca, ou seja, inversa, em termos de magnitude, com os vetores que definem a rede cristalina (vetores  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  e  $\mathbf{c}$ ):  $\mathbf{a}^* = 1/\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}^* = 1/\mathbf{b}$ ,  $\mathbf{c}^* = 1/\mathbf{c}$ .<sup>205–207</sup>

A figura de difração de um cristal é um mapa da rede recíproca.<sup>202</sup> Se um cristal pudesse ser visualizado por um microscópio, a rede observada seria a rede cristalina. A simetria da rede cristalina, no espaço real, está relacionada à simetria da rede recíproca, no espaço recíproco. A estrutura da rede cristalina pode ser determinada a partir dos pontos da rede recíproca, registrados na figura de difração. A conversão entre ambas as redes é feita, matematicamente, pela série de Fourier (transformada de Fourier). A zona de Brillouin é um termo utilizado para descrever a rede recíproca, mas a primeira zona de Brillouin é a célula primitiva da rede recíproca, também chamada de célula de Wigner-Seitz.<sup>202,204,205</sup>

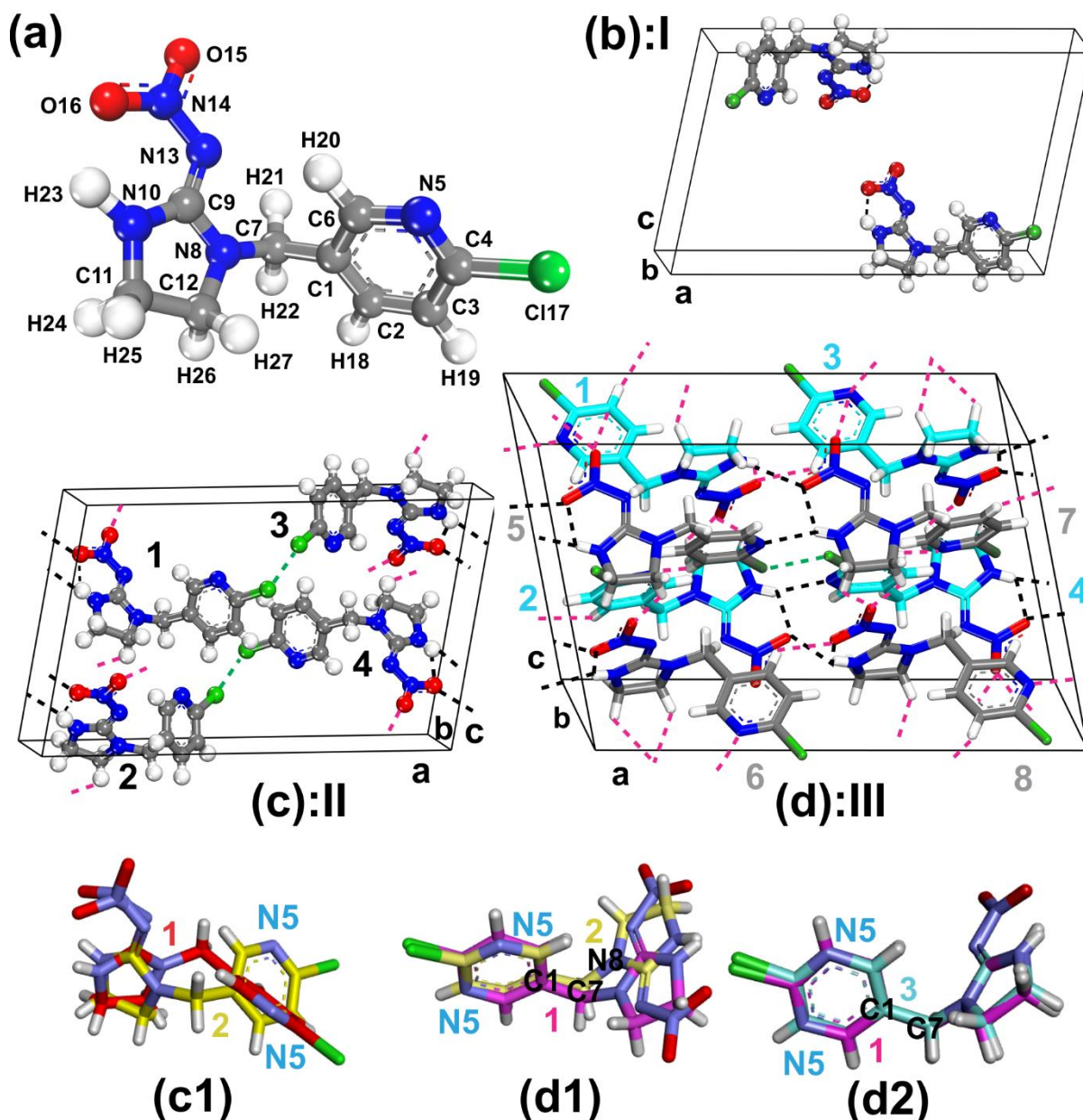
## 5.2 Estrutura dos cristais experimentais do imidacloprido e interações

O cristal do imidacloprido utilizado neste trabalho para realizar cálculos teóricos de propriedades estruturais, eletrônicas, ópticas e vibracionais foi resolvido por cristalografia de raios-x, em 2004, por Chopra et al. (2004) (polimorfo II).<sup>160</sup> Esse cristal pertence ao sistema monoclinico,  $P2_1/c$ , possui quatro moléculas ( $z=4$ ) na célula unitária e tem densidade  $\rho=1564 \text{ kg m}^{-3}$  (Figura 5.1, c; Tabela 5.1). As quatro moléculas correspondem a dois pares idênticos de isômeros pró-quirais. Conforme explorado anteriormente, no Capítulo IV, a pro-quiralidade dessas estruturas está relacionada a substituições dos hidrogênios H21 e H22 do carbono C7 (Figura 5.1, a). Também já foi mencionado que os isômeros pro-quirais ou confôrmeros existem devido a um plano de simetria no grupo metilênico C7H21H22 (ver Figura 4.4 no Capítulo IV). Por exemplo, adotando a posição das moléculas do imidacloprido na célula unitária mostrada na Figura 5.1 (c), isto é, as posições de 1 a 4, a molécula 1 é estruturalmente idêntica a molécula 3, e a molécula 2 é idêntica a 4. Já a molécula na posição 1 (3) é a imagem especular da molécula na posição 2(4) (Figura 5.1, c1).

Kagabu et al. (1997) obtiveram o polimorfo I do cristal do imidacloprido ( $\rho=1532 \text{ kg m}^{-3}$ ), também pertencente ao sistema monoclinico ( $P2_1/a$ ) (Figura 5.1, a; Tabela 5.1).<sup>100</sup> A célula unitária do cristal é constituída por duas moléculas idênticas ( $z=2$ ), que correspondem estruturalmente à molécula do imidacloprido localizada na posição 1 (ou 3) da

célula unitária do polimorfo II (Figura 5.1, c), ou seja, um dos dois confôrmeros do cristal obtido por Chopra et al. (2004).<sup>160</sup> As designações adotadas para os cristais, por exemplo, polimorfos I e II, seguem a ordem cronológica dos trabalhos.

Figura 5.1 - Imidacloprido: (a) molécula isolada com as designações dos átomos. Cristal: representação da célula unitária do polimorfo I (b), II (c) e III (d). Linhas tracejadas: cor preta são ligações de hidrogênio; cor magenta são interações entre oxigênio (ou nitrogênio) a hidrogênios ligados à carbono; cor verde são interações entre átomos de cloro (interações de halogênio). A distância das interações de halogênio são 3,56 Å (c) e 3,63 Å (d); as demais interações possuem uma distância de até 2,5 Å. Modelo de bola e bastões em (a), (b) e (c). Modelo de bastões em (d): carbonos em cinza indicam moléculas na frente e carbonos em ciano indicam moléculas atrás.



Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 5.1 - Cristais do imidacloprido: parâmetros de rede, número de moléculas na célula unitária e confôrmeros.

Autores	Polimorfo	Parâmetros de rede do cristal					Z	Conf. <sup>(1)</sup>
		a	b	c	$\beta$	V (Å <sup>3</sup> )		
Kagabu (1997) <sup>100</sup>	I	19,412	4,878	11,861	99,218	1108,7	2	1
Chopra (2004) <sup>160</sup>	II	19,290	4,839	11,784	99,220	1085,8	4	2
Le Quest. (2011) <sup>119</sup>	III	18,842	9,536	12,367	102,647	2168,1	8	4
Zhao (2013)	II	19,462	4,881	11,881	99,21		4	2
	III	18,881	9,685	12,600	102,94		8	4

Fonte: elaborada pelo autor.

Notas: Cristal monoclinico:  $\alpha = \gamma = 90^\circ$ ; o maior lado da célula unitária de cada polimorfo foi designado por **a**, o menor lado por **b** e o terceiro por **c**.

(1) Conf., significa confôrmero.

A disposição das moléculas do imidacloprido nas células unitárias dos polimorfos I e II são diferentes (Figura 5.1, b e c). No polimorfo I, o grupo nitro de ambas as moléculas estão na região do centro da célula unitária (Figura 5.1, b), enquanto que no polimorfo II (Figura 5.1, c) as moléculas interagem no centro da célula unitária por meio dos átomos de cloro (linhas tracejadas na cor verde). Apesar da divergência da quantidade de moléculas na célula unitária dos polimorfos I e II e das mudanças na orientação das moléculas dentro da célula, ambos possuem parâmetros de rede muito próximos (Tabela 5.1).

O polimorfo III do cristal do imidacloprido ( $\rho=1566 \text{ kg m}^{-3}$ ) foi revelado por Le Questel et al. (2011) (Figura 5.1, d).<sup>119</sup> Esse polimorfo possui oito moléculas do imidacloprido na célula unitária ( $z=8$ ) e também pertence ao sistema monoclinico ( $P2_1/n$ ). As quatro moléculas representadas com átomos de carbono na cor ciano (moléculas 1 a 4) situam-se no limite detrás da célula unitária, já as quatro moléculas representadas com carbonos na cor cinza (moléculas 5 a 8) localizam-se no limite frontal da célula unitária (Figura 5.1, d). Os parâmetros de rede, o número de moléculas e de confôrmeros na célula unitária do polimorfo III são exibidos na Tabela 5.1.

As oito moléculas contidas na célula unitária do cristal polimorfo III, revelado por Le Questel et al. (2011),<sup>119</sup> constituem um total de quatro confôrmeros: os confôrmeros 1, 2, 3, e 4 são iguais aos confôrmeros 5, 6, 7 e 8, respectivamente. Considerando a designação dos quatro confôrmeros apenas (1-4), observou-se que o confôrmero 1 pode ser convertido no confôrmero 2 pela rotação de ambas as ligações C1C7 e C7N8 em  $180^\circ$  (Figura 5.1, d1), enquanto o confôrmero 1 (2) pode ser convertido em 3 (4) pela rotação da ligação C1C7 em

180° (Figura 5.1, d2); para visualizar essas diferenças estruturais, o átomo de nitrogênio N5 pode ser usado como referência (Figura 5.1). Os confôrmeros dos polimorfos II e III que possuem estruturas mais próximas são: 1 (polimorfo II) ~ 2 (polimorfo III) e o 2 (polimorfo II) ~ 3 (polimorfo III); a diferença é devido à rotação da ligação C1C7 em torno de 43° (não mostrado na Figura 5.1).

Quanto ao arranjo das moléculas no polimorfo III, observou-se que o grupo nitro de quatro moléculas localiza-se próximo ao centro da célula unitária - semelhante à disposição das moléculas no polimorfo I -,<sup>100</sup> formando ligações de hidrogênio com o H23 (linhas tracejadas na cor preta) ou H18 (linhas tracejadas na cor magenta) (Figura 5.1, d). Outras duas moléculas interagem por meio dos átomos de cloro (linhas tracejadas na cor verde), semelhante às interações verificadas no polimorfo II.<sup>160</sup> Na Figura 5.1 (d), as linhas tracejadas na cor magenta indicam as interações entre átomos de oxigênio (ou nitrogênio) a hidrogênios ligados à carbono.

### 5.2.1 *Cristal experimental do imidacloprido: polimorfo II*

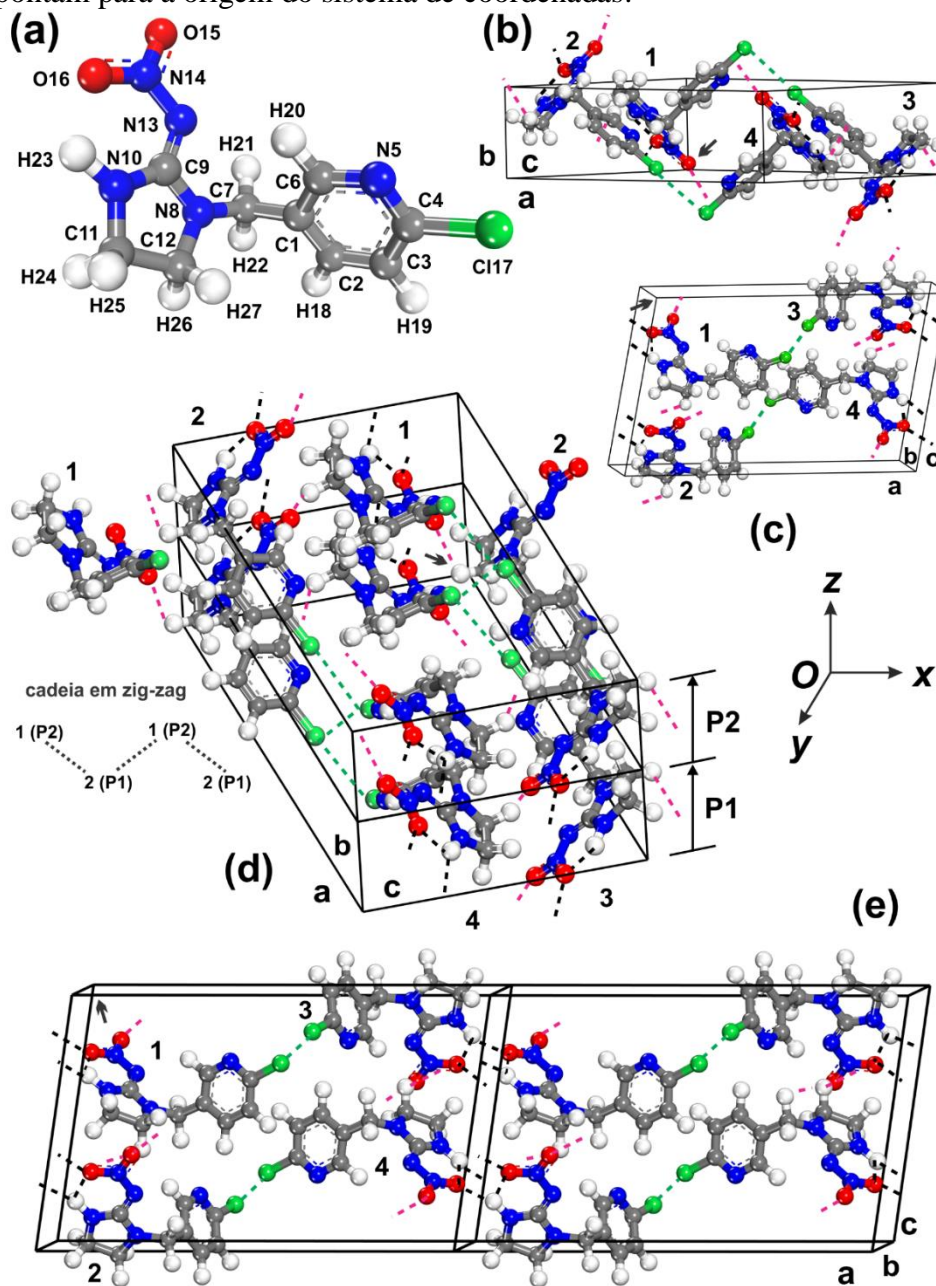
A ilustração da estrutura da molécula do imidacloprido isolada está exibida na Figura 5.2 (a), onde também são mostradas as designações dos átomos. As porções de (b) a (e) da Figura 5.2 ilustram diferentes orientações do cristal obtido por Chopra et al. (2004), ou seja, o polimorfo II.<sup>160</sup> A Figura 5.2 também mostra as interações que dão origem a estrutura ou periodicidade do cristal: linhas tracejadas na cor preta são ligações de hidrogênio; linhas na cor verde são interações de halogênio (neste caso, interações entre os átomos de cloro); e linhas em magenta são interações entre oxigênio (ou nitrogênio) e hidrogênio ligado a carbono.

Kagabu et al. (1997) e Le Questel et al. (2001) não forneceram, em seus trabalhos, uma discussão detalhada da estrutura e interações nos polimorfos I e III, respectivamente.<sup>100,119</sup> Chopra et al. (2004) explanou, de forma mais nítida, os tipos de interações que predominam entre os confôrmeros do imidacloprido no estado sólido (polimorfo II).<sup>160</sup> Na seção anterior, fez-se uma discussão geral da estrutura e interações dos polimorfos I, II e III. Nesta seção, apresenta-se uma discussão mais detalhada da estrutura da célula unitária do polimorfo II e interações dentro da célula e entre diferentes células.

Considerando a direção do eixo **b** e uma dada célula de referência na rede cristalina, por exemplo, a célula mostrada na Figura 5.2 (b), duas moléculas do imidacloprido - as moléculas nomeadas por 2 e 3 na Figura 5.2 (b) - contêm o grupo N13N14O15O16 localizado em outras duas células, por exemplo, em um nível de posição acima e abaixo da célula de

referência (não mostrado na Figura 5.2, b), e o restante das duas moléculas localizam-se dentro da célula de referência; pode-se dizer que as moléculas 2 e 3 cruzam o plano  $ac$  ou (001).

Figura 5.2 - Imidacloprido: (a) molécula isolada. Cristal: (b) e (c) célula unitária e interações intra e intermoleculares; (d) interações na célula entre os planos (100) ou plano  $bc$  (ao longo do eixo  $a$ ) e (001) ou plano  $ac$  (ao longo do eixo  $b$  ou eixo de empilhamento); (e) interações na célula e entre células ao longo do eixo  $a$  ou plano  $bc$  ou plano (100). As setas em cada célula unitária apontam para a origem do sistema de coordenadas.



Fonte: elaborada pelo autor.

Já as moléculas nas posições 1 e 4 possuem uma porção do grupo cloropiridíneo localizada em outras duas células (não mostrado na Figura 5.2, b), e o restante dessas duas

moléculas está contido integralmente na célula de referência (Figura 5.2, b); as moléculas 1 e 4 cruzam o plano **ac** ou plano (001). Portanto, os grupos cloropiridíneo e nitro ligam as células unitárias na direção do eixo **b**, e o conjunto de quatro moléculas participam de três células ao longo do eixo **b**: a célula de referência, uma célula em um nível de posição acima da célula de referência e outra célula em um nível de posição abaixo da célula de referência.

Na direção do eixo **a**, nenhuma das moléculas cruzam o plano **bc** ou (100) entre as células unitárias (Figura 5.2, e). Os grupos com baixa polaridade C2H18, C2H19, C7H22 e C12H26H27 de duas moléculas em uma célula de referência - ver moléculas 2 e 3 na Figura 5.2 (d) e (e) - cruzam o plano **ab** ou (010), participando de três células unitárias na direção do eixo **c**: a célula de referência, por exemplo, a célula no nível de posição **P1** da Figura 5.2 (d) ou qualquer célula da Figura 5.2 (e), e as células localizadas imediatamente unidas à célula de referência em cada um dos planos **ab** (não mostrado na Figura 5.2). Portanto, as duas moléculas participam de três células unitárias, considerando a direção do eixo **c**, através do plano **ab** ou (010).

As interações dentro de uma célula unitária são ligações de hidrogênio intermoleculares N10H23---O16 (melhor visualização na Figura 5.2, e), considerando uma distância de interação de até 2,5 Å. Também ocorrem interações de halogênio em moléculas de uma mesma célula, isto é, entre os átomos de cloro, distantes 3,56 Å; por exemplo, entre os pares de moléculas 1(2) e 3(4) (Figura 5.2).

Outras interações envolvem átomos de moléculas pertencentes a diferentes células, como pode ser observado na interação do átomo de cloro da molécula 1(2) na célula unitária no nível de posição P1 com o átomo de cloro da molécula 3(4) na célula unitária de posição P2 (Figura 5.2, d). As interações entre os átomos de cloro em moléculas na mesma célula e em células diferentes formam um perfil de zig-zag (Figura 5.2, d).<sup>160</sup> As ligações de hidrogênio intermoleculares N10-H23---O16 são responsáveis pela interação entre diferentes células unitárias que ocorrem no plano **bc** ou plano (100), na direção do eixo **a** (Figura 5.2, e).

No plano **ab** (010), as diferentes células unitárias são ligadas por interações C12H26---O15. Por exemplo, considerando a célula unitária de referência localizada na posição P1 (Figura 5.2, d) e a molécula do imidacloprido na posição 2 (molécula 2) dessa célula, o átomo H26 da molécula 2 interage com o O15 da molécula 1 em outra célula localizada na posição P2 e à esquerda (na orientação do leitor) da célula de referência; para simplificar a visualização, apenas a molécula 1 da célula à esquerda e no nível P2 é mostrada na Figura 5.2 (d). Ainda com relação à molécula na posição 2 da célula de referência P1, o átomo O15 dessa molécula interage com o H26 da molécula 1 na célula P2 localizada acima da célula de referência P1 (esta é uma interação que cruza o plano **ac** ou (001) ao longo do eixo **b**. Por



sua vez, o átomo O15 da molécula 1 na célula P2 interage com o H26 da molécula 2 pertencente a uma célula unitária no nível de posição P1, mas localizada à direita de P2; para simplificar a visualização, apenas uma molécula da célula à direita é mostrada na Figura 5.2 (d). As três interações descritas neste parágrafo formam cadeias de moléculas do imidacloprido em um perfil de zig-zag, ao longo do eixo *c* (Figura 5.2, d). As moléculas nas posições 3 e 4 também formam a cadeia em zig-zag, por meio das mesmas interações descritas anteriormente.<sup>160</sup>

### 5.3 Otimização da célula unitária do polimorfo II e propriedades estruturais

O polimorfo II do imidacloprido foi otimizado deixando-se relaxar as coordenadas internas dos átomos e os parâmetros de rede da célula unitária. A partir do cristal relaxado, no mínimo de energia, foram determinados os parâmetros de rede da célula unitária (ângulos, arestas e volume). Além disso, calculou-se as propriedades eletrônicas (estrutura de bandas, lacuna de energia entre a banda de valência e a banda de condução, densidades de estados), e propriedades ópticas (absorção óptica e função dielétrica).

A otimização do polimorfo II foi realizada no formalismo DFT, para isso, aplicou-se o potencial de troca e correlação da aproximação da densidade local ou LDA (*Local Density Approximation*) com o funcional CAPZ (*Cerpeley-Alder-Perdew-Zunger*).<sup>122,123</sup> Em um segundo conjunto de condições teóricas de cálculo, utilizou-se o potencial de troca e correlação com aproximação do gradiente generalizado ou GGA (*Generalized Gradient Approximation*) com o funcional PBE (*Perdew-Burke-Ernzerhof*).<sup>124</sup> Em um terceiro sistema teórico, também utilizou-se os funcionais GGA e PBE, porém, houve a inclusão da correção de interações não ligantes (ou ligações não covalentes ou ainda forças intermoleculares) TS (*Tkatchenko and Scheffler*).<sup>126</sup> O funcional PBE, conduz a resultados próximos aos do funcional PW91 (*Perdew-Wang functional*),<sup>125</sup> já a correção das dispersões (TS) evita a necessidade de se utilizar um método quântico mais robusto para descrever interações de van der Waals.

Diversos trabalhos do grupo de Química teórica do Departamento de Química Analítica e Físico-Química e do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará mostraram que os funcionais GGA e PBE com a inclusão da correção TS fornece melhores resultados (a partir da energia de corte 830 eV) do que o funcional LDA-CAPZ.<sup>208–210</sup> Silva et al. (2012) usaram o funcional LDA-CAPZ, GGA-PBE e GGA-PBE+TS para o cristal monoclinico de l-aspártico anidro.<sup>211</sup> Eles observaram que LDA-CAPZ superestimou as forças de interação no cristal monoclinico do ácido l-aspártico anidro, conduzindo a uma compressão da célula unitária com relação aos valores experimentais (arestas *a*, *b* e *c*, volume *V* e ângulo

$\beta$ ), GGA-PBE subestimou as forças de interação levando a parâmetros de rede superiores - apesar de GGA proporcionar uma melhor descrição das ligações de hidrogênio em cristais moleculares - e GGA-PBE+TS proporcionou os menores desvios dos parâmetros de rede.<sup>211</sup>

Araújo-Filho et al. (2017) fizeram um amplo estudo da convergência do cristal monoclinico trititanato de sódio ( $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ ). Os autores utilizaram o funcional LDA, GGA-PBE e GGA-PBE+TS.<sup>212</sup> Eles observaram que o funcional LDA superestimou as forças interatômicas, conduzindo a parâmetros de rede menores do que os experimentais. Embora GGA-PBE puro forneça uma boa descrição das ligações de hidrogênio, as forças interatômicas foram subestimadas, em razão disso, houve o aumento do volume da célula unitária para todas as energias de corte (500, 800 e 1200 eV). Entretanto, para a energia de corte de 800 eV, os autores chegaram a desvios menores do que 1%. Por sua vez, o funcional GGA-PBE+TS superestimaram as ligações de hidrogênio, fornecendo consideráveis desvios dos parâmetros estruturais, embora em menor grau quando comparados aos desvios encontrados com o funcional LDA-CAPZ.<sup>212</sup>

A Tabela 5.2 mostra os parâmetros de rede (arestas:  $a$ ,  $b$  e  $c$ ; volume  $V$ ; ângulo  $\beta$ ) obtidos para o polimorfo II do imidacloprido com os funcionais LDA-CAPZ, GGA-PBE e GGA-PBE+TS, em diferentes energias de corte. Também são mostrados os desvios dos parâmetros de rede teóricos com relação aos valores experimentais. A análise dos dados na Tabela 5.2 permite concluir que os menores desvios dos parâmetros teóricos com relação aos valores experimentais ocorreram para o funcional GGA-PBE com a correção de dispersão TS, em todas as energias de corte utilizadas.

A parametrização LDA-CAPZ superestimou as forças interatômicas, isso considerando as energias de corte de 800 e 1100 eV, proporcionando valores dos parâmetros estruturais sempre menores do que os valores experimentais; os desvios percentuais são positivos (Tabela 5.2). Por exemplo, a diminuição percentual de volume foi em torno de 20% para as energias de corte de 830 e 1100 eV.

Os funcionais GGA-PBE subestimaram as forças interatômicas nas energias de corte de 830 e 1100 eV, fornecendo desvios percentuais negativos; isso significa que os parâmetros estruturais obtidos com a parametrização GGA-PBE são maiores do que os dados experimentais. Para esse sistema, os desvios da aresta  $b$  da célula unitária foram maiores até mesmo do que os desvios gerados pela parametrização LDA-CAPZ ( $\Delta b = -16,6\%$  a 830 eV e  $-12,9\%$  a 1100 eV), logo, os volumes da célula unitária também foram significativamente

maiores (Tabela 5.2). Por exemplo, a 830 eV, o desvio do volume foi de -30,6%, enquanto que a 1100 eV o desvio foi de -26,5%.

Tabela 5.2 - Parâmetros experimentais do cristal monoclinico do imidacloprido e parâmetros calculados no escopo da teoria DFT, com a parametrização: LDA, GGA-PBE e GGA-PBE+TS. Os valores de  $a$ ,  $b$  e  $c$  correspondem as arestas (unidade em Å) do cristal,  $V$  é o volume (Å<sup>3</sup>). Os ângulos  $\alpha$  e  $\gamma$  são iguais a 90° e o ângulo  $\beta$  difere de 90°. Os desvios dos parâmetros calculados com relação aos valores experimentais são  $\Delta a$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta c$ ,  $\Delta V$  e  $\Delta\beta$ .

Parâmetros	$a$ \Å	$\Delta a$ \Å(%)	$b$ \Å	$\Delta b$ \Å(%)	$c$ \Å	$\Delta c$ \Å(%)
LDA-CAPZ/830Ev	17,90	1,39(7,2)	4,48	0,36(7,4)	10,86	0,93(7,9)
LDA-CAPZ/1100Ev	17,90	1,39(7,2)	4,48	0,36(7,5)	10,86	0,93(7,9)
GGA-PBE/830Ev	20,38	-1,09(-5,7)	5,64	-0,80(-16,6)	12,55	-0,77(-6,5)
GGA-PBE/1100Ev	20,49	-1,20(-6,2)	5,46	-0,63(-12,9)	12,53	-0,75(-6,4)
GGA-PBE+TS/830Ev	19,53	-0,24(-1,2)	4,82	0,02(0,3)	12,03	-0,24(-2,1)
GGA-PBE+TS/1100Ev	19,52	-0,23(-1,2)	4,82	0,02(0,3)	12,03	-0,24(-2,1)
GGA-PBE+TS/1200Ev	19,50	-0,21(-1,1)	4,82	0,02(0,3)	12,02	-0,23(-2,0)
GGA-PBE+TS/1300Ev	19,50	-0,21(-1,1)	4,82	0,02(0,3)	12,02	-0,23(-2,0)
GGA-PBE+TS/1400Ev	19,50	-0,21(-1,1)	4,82	0,02(0,3)	12,02	-0,23(-2,0)
EXP	19,29		4,84		11,78	

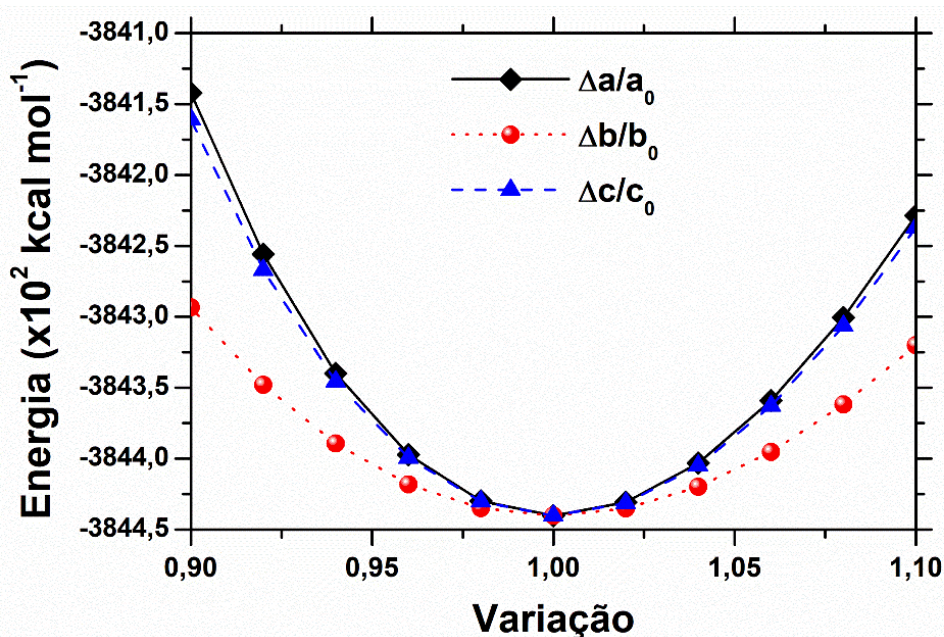
Parâmetros	$V$ \Å <sup>3</sup>	$\Delta V$ \Å <sup>3</sup> (%)	$\beta$ \°	$\Delta\beta$ \°(%)
LDA-CAPZ/830Ev	868,15	217,65(20,0)	94,11	5,11(5,1)
LDA-CAPZ/1100Ev	867,46	218,34(20,1)	94,17	5,05(5,1)
GGA-PBE/830Ev	1417,80	-332,00(-30,6)	100,65	-1,43(-1,4)
GGA-PBE/1100Ev	1374,06	-288,26(-26,5)	101,76	-2,54(-2,6)
GGA-PBE+TS/830Ev	1116,43	-30,63(-2,8)	99,80	-0,58(-0,6)
GGA-PBE+TS/1100Ev	1115,84	-30,04(-2,8)	99,80	-0,58(-0,6)
GGA-PBE+TS/1200Ev	1112,24	-26,44(-2,4)	99,80	-0,58(-0,6)
GGA-PBE+TS/1300Ev	1112,24	-26,44(-2,4)	99,80	-0,58(-0,6)
GGA-PBE+TS/1400Ev	1112,24	-26,44(-2,4)	99,80	-0,58(-0,6)
EXP	1085,80		99,22	

Fonte: elaborada pelo autor.

O sistema teórico parametrizado com os funcionais GGA-PBE+TS subestimou as forças interatômicas (desvios negativos), exceto quanto a aresta  $b$  da célula unitária, pois,  $\Delta b$  tem valor positivo ( $\Delta b=0,3\%$ ) para todas as energias de corte empregadas: 830, 1100, 1200, 1300 e 1400 eV. O melhor custo-benefício foi alcançado com o funcional GGA-PBE+TS porque esse sistema proporcionou pequenos desvios, mesmo a 830 eV. Por exemplo, o desvio  $\Delta a$  está em torno de -1%,  $\Delta b$  vale 0,3%,  $\Delta c$  está em torno de -2%,  $\Delta\beta$  vale -0,6%, e o desvio do volume ( $\Delta V$ ) é menor do que -3% (Tabela 5.2).

A rigidez do polimorfo II do imidacloprido, ao longo das diferentes direções (**a**, **b** e **c**) do cristal, foi avaliada pela observação de como a energia total ( $E$ ) variou devido à mudança dos valores dos parâmetros de rede  $a$ ,  $b$  e  $c$  em torno da posição de equilíbrio  $a_0$ ,  $b_0$  e  $c_0$ . Para tal propósito, analisou-se a estrutura mais estável obtida a 830 eV, com a parametrização GGA-PBE+TS. A energia total foi obtida em cálculos *single point* e as coordenadas fracionárias foram mantidas fixas durante as mudanças dos parâmetros de rede, isso significa que quando se altera um dos parâmetros, também são alterados, proporcionalmente, as distâncias entre os átomos e as interações intra e intermoleculares. Os parâmetros da estrutura inicial  $a_0$ ,  $b_0$  e  $c_0$  foram variados individualmente, ou seja, mantendo os demais constantes. A região escolhida para a análise foi de -10% a 10% dos valores dos parâmetros  $a_0$ ,  $b_0$  e  $c_0$ , com intervalos de 2%. A energia total das estruturas com os desvios  $\Delta a/a_0$ ,  $\Delta b/b_0$  e  $\Delta c/c_0$  são exibidas no gráfico da Figura 5.3.

Figura 5.3 - Energia total calculada do polimorfo II do imidacloprido na posição de equilíbrio ( $a_0$ ,  $b_0$  e  $c_0$ ) e energias calculadas para diferentes estruturas derivadas do polimorfo II, cujos parâmetros de rede  $a$ ,  $b$  e  $c$  foram variados com relação aos valores da posição de equilíbrio. Partiu-se da estrutura mais estável obtida a 830 eV, com a parametrização GGA-PBE+TS. A variação (coordenada  $x$ ) são os valores de  $\Delta a/a_0$ ,  $\Delta b/b_0$  e  $\Delta c/c_0$ .



Fonte: elaborada pelo autor.

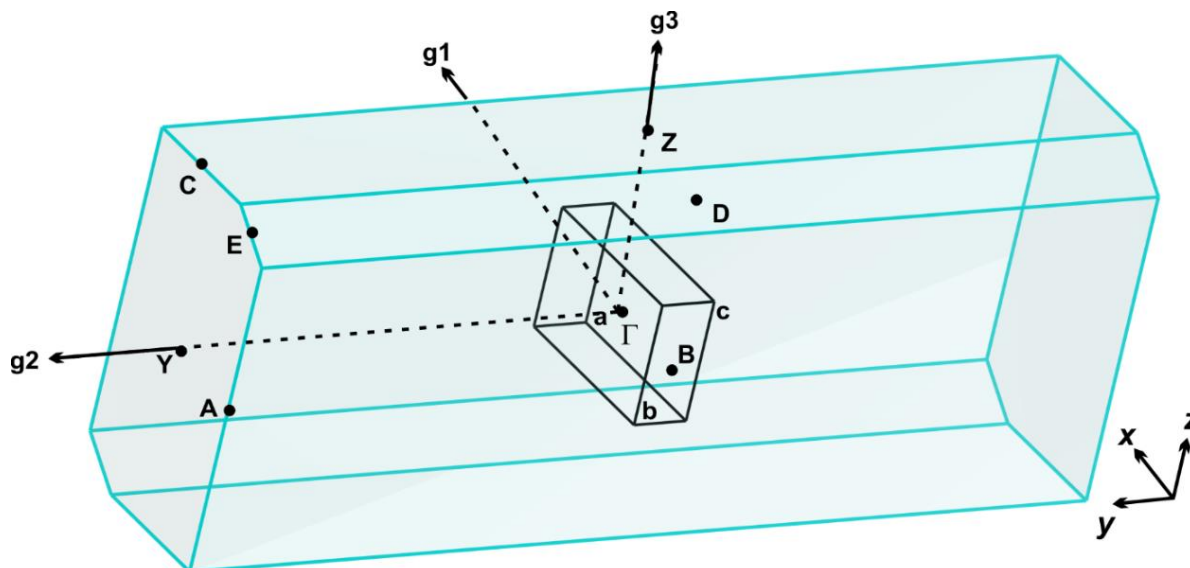
A variação da energia é maior quando se altera os parâmetros  $a_0$  e  $c_0$  (Figura 5.3). Por exemplo, pode ser observado que mais energia é necessária para gerar 10% de compressão ou 10% de expansão do cristal na direção dos eixos **a** e **c**. Pode-se concluir que o cristal é mais

rígido na direção desses dois eixos e que o plano **bc** ou (100) ao longo do eixo **a** e o plano **ab** ou (010) ao longo do eixo **c** são mais susceptíveis ao escorregamento mediante a aplicação de uma força. Também pode-se concluir que a somatória das interações ao longo do eixo **a** ou ao longo do eixo **c** é maior do que a somatória das interações na direção do eixo **b**. Como esperado, a magnitude das interações e da rigidez aumenta com o aumento do comprimento dos eixos da célula unitária, isto é, a rigidez segue a ordem:  $\mathbf{a} > \mathbf{c} > \mathbf{b}$  (Figura 5.2).

## 5.4 Estrutura eletrônica

A Figura 5.4 mostra a primeira zona de Brillouin (cor ciano), isto é, a célula primitiva no espaço recíproco relacionada à célula primitiva (cor preta) do polimorfo II do imidacloprido no espaço real. Também são mostrados os pontos de alta simetria na primeira zona de Brillouin.

Figura 5.4 - Célula unitária do imidacloprido (cor preta), primeira zona de Brillouin (cor azul-claro) e pontos de alta simetria na zona de Brillouin ( $Z$ ,  $\Gamma$ ,  $Y$ ,  $A$ ,  $B$ ,  $D$ ,  $E$ ,  $C$ ). O caminho traçado na zona de Brillouin foi  $Z \rightarrow \Gamma \rightarrow Y \rightarrow A \rightarrow B \rightarrow D \rightarrow E \rightarrow C$ . Os eixos  $x$ ,  $y$  e  $z$  determinam a orientação no espaço real e os eixos  $g_1$ ,  $g_2$  e  $g_3$  no espaço recíproco.



Fonte: elaborada pelo autor.

Através dos pontos de alta simetria, foi traçado o caminho percorrido pelo vetor de onda  $\mathbf{g} = m_1 \mathbf{a}^* + m_2 \mathbf{b}^* + m_3 \mathbf{c}^*$ , na zona de Brillouin, para mapear os níveis de energia permitidos do cristal do imidacloprido.<sup>206</sup> O caminho traçado foi:  $Z(0,0,0,0,0,5) \rightarrow \Gamma(0,0,0,0,0,0) \rightarrow Y(0,0,0,5,0,0) \rightarrow A(-0,5,0,5,0,0) \rightarrow B(-0,5,0,0,0,0) \rightarrow D(-0,5,0,0,0,5) \rightarrow E(-0,5,0,5,0,5) \rightarrow C(0,0,0,5,0,5)$ . Os símbolos  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  e  $\mathbf{c}$  identificam os vetores que constituem a célula primitiva do cristal

monoclínico do imidacloprido; os vetores **a**, **b** e **c** são paralelos aos eixos cartesianos x, z e y, respectivamente. Conforme explanado anteriormente, o vetor componente **a\***, no espaço recíproco, é normal ( $\perp$ ) ao plano **bc** no espaço real, e tem intensidade inversa com relação ao vetor **a** ( $\mathbf{a}^* = 1/\mathbf{a}$ ); o mesmo se aplica aos vetores **b\*** e **c\*** ( $\mathbf{b}^* \perp \mathbf{ac}$ ,  $\mathbf{b}^* = 1/\mathbf{b}$ ;  $\mathbf{c}^* \perp \mathbf{ab}$ ,  $\mathbf{c}^* = 1/\mathbf{c}$ ).<sup>206</sup> O vetor **g**, no espaço recíproco, tem intensidade inversa à distância interplanar da rede cristalina. O vetor de onda **g** equivale à resultante da mudança do vetor de onda que ocorre no momento da difração (no ângulo de Bragg) da onda na rede cristalina, ou seja, a mudança de **k<sub>i</sub>** (vetor de onda da onda incidente) para **k<sub>d</sub>** (vetor de onda da onda difratada).<sup>206</sup> Os eixos g<sub>1</sub>, g<sub>2</sub> e g<sub>3</sub> são a orientação no espaço recíproco.

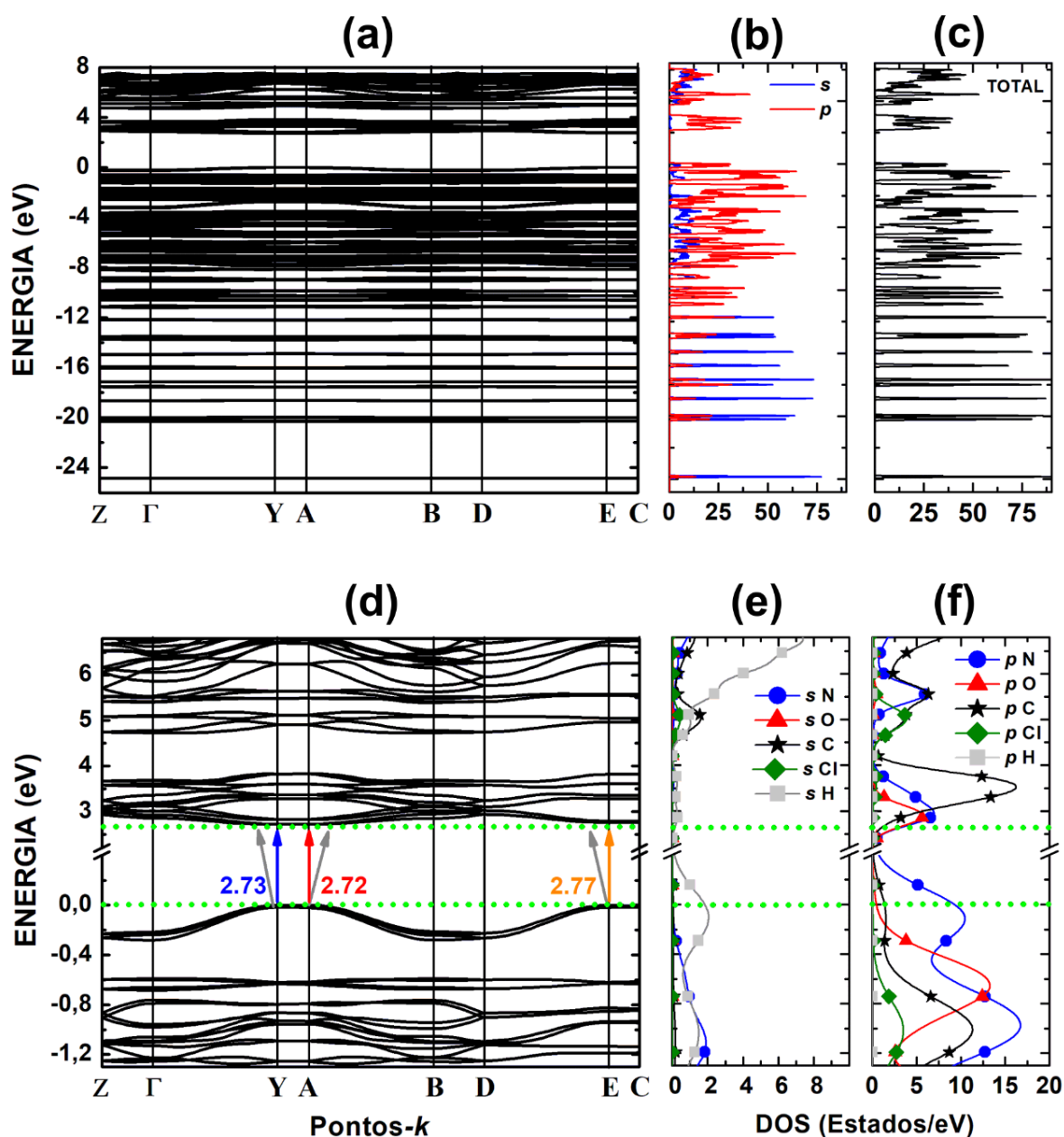
A estrutura de bandas obtida para o caminho  $Z \rightarrow \Gamma \rightarrow Y \rightarrow A \rightarrow B \rightarrow D \rightarrow E \rightarrow C$  na primeira zona de Brillouin do polimorfo II do imidacloprido é mostrada na porção (a) da Figura 5.5. A estrutura de bandas é uma representação dos níveis de energia eletrônicos em função dos pontos-**k**, ao longo do caminho traçado na primeira zona de Brillouin. Em uma estrutura de bandas, a largura das bandas está relacionada à sobreposição dos orbitais atômicos que formam a banda. Quanto mais forte é a sobreposição entre os orbitais atômicos, mais larga é a banda.

Na porção (c) da Figura 5.5 é mostrada a densidade de estados total (TDOS). A densidade de estados parcial (PDOS) dos orbitais *s* e *p* é mostrada em (b). A densidade de estados em um intervalo de energia (por exemplo, entre *E* e *E*+d*E*) é o número de níveis de energia eletrônicos no intervalo considerado.<sup>213</sup> A densidade de estados é inversamente proporcional à curva da estrutura de bandas, ou seja, à curva dos níveis de energia *E<sub>k</sub>* versus **k**. Portanto, quanto mais plana for a forma da curva dos níveis de energia *E<sub>k</sub>*, maior a densidade de estados eletrônicos. Isso é porque quando a curva *E<sub>k</sub>* é plana, a sobreposição entre os orbitais atômicos é pequena, conseqüentemente, a separação entre os orbitais gerados devido à sobreposição também é pequena, logo, há uma maior concentração de orbitais ou níveis de energia em regiões de pequena sobreposição. Curvas acentuadas indicam alta sobreposição e baixa densidade de estados dos orbitais atômicos que deram origem aos níveis de energia do cristal.<sup>213</sup>

Na Figura 5.5 (a), a estrutura de bandas é mostrada na escala de -26 a 8 eV. Abaixo do zero de energia tem-se a banda de valência. Pode-se dizer que a banda de valência do cristal do imidacloprido é formada por duas regiões. A primeira região da banda de valência, situada no intervalo de 0 até aproximadamente -11 eV, tem grande concentração de níveis de energia bem próximos; isso também pode ser observado pela análise do gráfico de densidade de estados total (Figura 5.5, c). A segunda região, que vai de -12 eV até aproximadamente -20 eV, possui os

níveis de energia mais espaçados. Acima do zero de energia, tem-se a principal lacuna de energia ( $E_g$ ) ou *gap*, seguida pela banda de condução. É possível perceber que há uma estreita lacuna de energia na banda de condução, em torno de 4 a 4,5 eV (Figura 5, a e c).

Figura 5.5 - Estrutura de bandas e densidade de estados eletrônicos do polimorfo II do imidacloprido. Estrutura de bandas na faixa de -26 a 8 eV (a); densidade de estados total (TDOS) dos orbitais *s* (b) e *p* (b), e densidade de estados total de *s* + *p* (c). Estrutura de bandas na faixa de -1,3 a 6,8 eV, em torno da lacuna de energia (d); densidade de estados parcial (PDOS) dos orbitais *s* (*s* N, *s* O, *s* C, *s* Cl, *s* H) (e); PDOS dos orbitais *p* (*p* N, *p* O, *p* C, *p* Cl, *p* H) (f). As setas na cor vermelha, azul e laranja indicam transições diretas entre a banda de valência e a banda de condução, e setas na cor cinza são transições indiretas (d).



Fonte: elaborada pelo autor.

Na Figura 5.5 (b) é possível identificar quais são os tipos de orbitais que mais contribuem para a estrutura de bandas. Por exemplo, na região correspondente aos níveis de energia mais concentrados da banda de valência (0 a -11 eV), há uma maior contribuição dos orbitais *p* (curva na cor vermelha) para a probabilidade de densidade eletrônica dos níveis de energia e uma menor contribuição dos orbitais *s* (curva na cor azul). A região de níveis de energia mais espaçados da banda de valência (abaixo de -12 eV) possui maior contribuição dos orbitais *s* para a densidade de estados e menor contribuição dos orbitais *p* (Figura 5.5, a e b).

A primeira faixa de níveis de energia concentrados na banda de condução (2,5 a 4 eV) é formada praticamente por orbitais *p* (Figura 5.5, a e b). Após a pequena lacuna de energia, tem-se outra faixa na banda de condução, entre 4,5 eV a 6 eV, a qual é formada por uma maior contribuição dos orbitais *p*, mas também possui contribuição dos orbitais *s*. Em toda a faixa estudada, de -26 a 8 eV, a contribuição dos orbitais *s* aproxima-se da contribuição dos orbitais *p* apenas na banda de condução, acima de 6 eV (Figura 5.5, a e b).

A porção inferior da Figura 5.5 mostra a região em torno da principal lacuna de energia ( $E_g$ ), em uma faixa menor e ampliada (-1,3 a 6,8 eV), tanto para a estrutura de bandas (d) quanto para a densidade de estados parcial dos orbitais *s* (e) e *p* (f) dos elementos químicos que constituem o cristal. Foi discutido anteriormente que tanto a banda de valência quanto a banda de condução são formadas principalmente pelos orbitais *p*, e em menor parte pelos orbitais *s*. De acordo com o gráfico de densidade de estados parcial (Figura 5.5, e, f), a banda de valência é constituída principalmente pelos orbitais *p* dos átomos de nitrogênio (N), e em seguida pelos átomos oxigênio (O), carbono (C) e cloro (Cl), nessa ordem, mas no topo da banda de valência predomina a contribuição dos orbitais *p* dos átomos de nitrogênio.

É esperado que os níveis de energia do topo da banda de valência e da base da banda de condução do imidacloprido no estado sólido sejam o resultado da sobreposição entre os orbitais de fronteira (orbitais HOMO, LUMO) da molécula isolada. Foi verificado que o estado sólido reflete essa característica da molécula isolada, visto que o orbital HOMO da molécula isolada, tanto no estado fundamental quanto no estado excitado (seção 4.2.4 e 4.3, respectivamente), concentra-se na região do anel imidazole e grupo guanidina. Enquanto que o orbital LUMO situa-se na região do grupo nitro (principalmente) e guanidina. Nesses grupos, encontram-se a maior parte dos átomos de nitrogênio da molécula que possuem a maior contribuição (por meio dos orbitais *p*) para o topo da banda de valência e para a base da banda de condução, de acordo com a análise da densidade de estados. Já os orbitais *p* dos átomos de oxigênio ocupam o segundo lugar em termos de contribuição para os níveis de energia da base



da banda de valência do imidacloprido no estado sólido; conforme visto nas seções 4.2.2.2 e 4.4, os átomos de oxigênio, constituem o orbital de fronteira LUMO na molécula isolada.

Considerando apenas a contribuição dos orbitais  $s$  (Figura 5.5, e), os átomos de nitrogênio e hidrogênio contribuem mais significativamente na porção inferior da banda de valência (em torno de -1,2 eV). Enquanto no topo da banda de valência, em torno de 0 eV, predomina a participação dos orbitais  $s$  dos hidrogênios.

Para facilitar a discussão sobre a densidade de estados parcial da banda de condução, duas regiões de níveis de energia serão consideradas, a primeira, de 2,5 a 3 eV, e a segunda, acima de 4,5 eV, isso devido à lacuna entre ~4 a 4,5 eV, conforme já discutido anteriormente (Figura 5.5). A primeira região dos níveis de energia na banda de valência (2,5 a 3 eV) é constituída principalmente por orbitais  $p$  do carbono, nitrogênio e oxigênio, nessa ordem, mas a contribuição dos orbitais  $p$  do carbono é aproximadamente o dobro das contribuições individuais do nitrogênio e oxigênio. Os orbitais  $s$  não contribuem de forma apreciável para a primeira região da banda de condução.

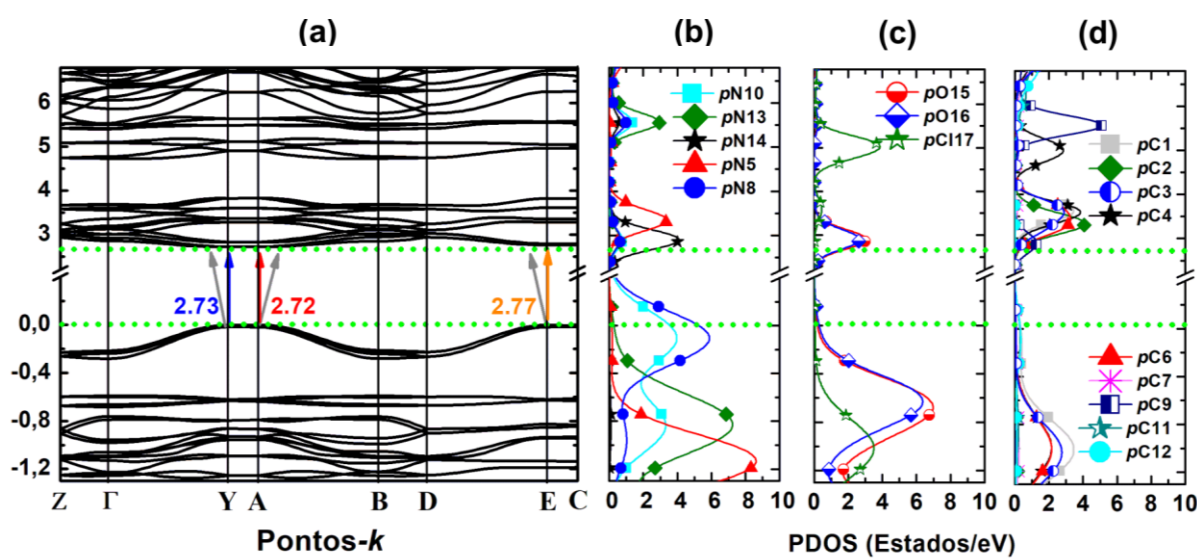
Na segunda região de níveis de energia da banda de condução (4,5 eV a 6 eV), os orbitais  $p$  do carbono e nitrogênio possuem aproximadamente a mesma contribuição (Figura 5.5, f), isso até 6 eV. A partir desse ponto, os orbitais  $p$  do carbono prevalecem. Em menor proporção, tem-se a contribuição dos orbitais  $p$  do cloro, na região de 4,5 a 5,5 eV. A contribuição dos orbitais  $s$  para a banda de condução é muito pequena até aproximadamente 4,5 eV, a partir desse ponto, a participação dos orbitais  $s$  dos hidrogênios aumenta e acima de 6 eV torna-se próxima a participação dos orbitais  $p$  do carbono.

Os níveis de energia que formam uma curva aproximadamente senoidal no topo da banda de condução indicam que há forte sobreposição entre os orbitais dos átomos que dão origem a esses níveis de energia (Figura 5.6, a). Foi visto anteriormente na Figura 5.5 (e), (f) que a maior contribuição para esses estados eletrônicos é devido aos orbitais  $p$  dos nitrogênios. Novamente, a estrutura de bandas do imidacloprido na faixa de -26 a 8 eV é mostrada (Figura 5.6). Também são mostradas as contribuições dos orbitais  $p$  dos átomos de nitrogênio (b), oxigênio e cloro (c) e átomos de carbono (d) do imidacloprido para a densidade de estados; omitiu-se os hidrogênios porque os orbitais  $s$  têm menor contribuição para a densidade de estados. A curva senoidal no topo da banda de valência tem maior contribuição dos orbitais  $p$  dos átomos de nitrogênio terciários do anel imidazólico (Figura 5.6, b), ou seja, o nitrogênio nomeado como N8 na Figura 5.2 (a). Também há uma significativa contribuição dos orbitais  $p$  dos átomos de nitrogênio nomeados por N10 (Figura 5.6, b). Foi visto anteriormente (seções 4.2.2.2 e 4.4) que o orbital HOMO da molécula isolada situa-se no anel imidazole, que contém

os átomos N8 e N10, logo, os orbitais HOMO possuem maior contribuição para o topo da banda de valência.

Os orbitais  $p$  dos átomos de nitrogênio N5 e N13 contribuem mais significativamente para os níveis de energia um pouco abaixo do topo da banda de valência, abaixo de  $-0,6$  eV. Os níveis de energia nessa região formam curvas aproximadamente planas, uma indicação de baixa sobreposição dos orbitais  $p$  dos átomos N5 e N13 (Figura 5.5, b).<sup>213</sup> Nessa região, também há a contribuição dos orbitais  $p$  dos átomos de oxigênio O15 e O16 (Figura 5.6, c), e uma menor contribuição dos orbitais  $p$  dos átomos de cloro (Figura 5.6 (c) e orbitais  $p$  dos átomos de carbono C1, C3 e C6 (Figura 5.6, d).

Figura 5.6 - Estrutura de bandas e densidade de estados parcial do polimorfo II do imidacloprido. Estrutura de bandas na faixa de  $-1,3$  a  $6,8$  eV, em torno da lacuna de energia (a); as setas na cor vermelha, azul e laranja indicam transições diretas entre a banda de valência e a banda de condução, e as setas na cor cinza são transições indiretas. Densidade de estados parcial dos orbitais  $p$  dos átomos de nitrogênio (b), oxigênio e cloro (c), e carbono (d).



Fonte: elaborada pelo autor.

Os orbitais  $p$  dos átomos de nitrogênio N14 (grupo nitro) são preponderantes nos níveis de energia mais baixos da banda de condução (Figura 5.6, b); o átomo N14 (e oxigênios do grupo nitro) constituem os orbitais LUMO da molécula isolada. Observou-se que os níveis de energia também formam curvas aproximadamente planas, uma indicação de baixa sobreposição dos orbitais.<sup>213</sup> Os orbitais  $p$  dos demais átomos do grupo nitro, átomos O15 e O16, também possuem alta probabilidade de densidade eletrônica nesta região (Figura 5.6, c).

Os orbitais  $p$  dos átomos N5 e dos átomos de carbono do anel cloropiridíneo (carbonos C1, C2, C3, C4 e C6) também contribuem para os níveis de energia mais baixos da zona de

condução, em torno de 3,4 eV (Figura 5.6, b e d). Já nos níveis de energia mais elevados da zona de condução, em torno de 5,5 eV, prevalecem os orbitais  $p$  dos átomos N13 (Figura 5.6, b), Cl17 (Figura 5.6, c), e orbitais  $p$  dos carbonos C4 e C9 (Figura 5.6, d).

Na Figura 5.6 (d) são mostrados três valores de lacuna de energia ( $E_g$ ) entre o topo da banda de valência e o mínimo da banda de condução. O menor valor da lacuna de energia foi de 2,72 eV, isso para qualquer transição direta que parte de qualquer ponto do intervalo  $Y < x \leq A$  da banda de valência para qualquer ponto do intervalo  $Y < x \leq A$  da banda de condução. Por exemplo, a transição  $A \rightarrow A$  (seta na cor vermelha). A transição direta  $Y \rightarrow Y$  tem  $E_g$  de 2,73 eV (seta azul).

Em transições diretas, tanto o máximo da banda de valência quanto o mínimo da banda de condução possuem o mesmo momento, essas são transições verticais entre as bandas. Já as transições indiretas são oblíquas, por isso, o momento da região de máximo da banda de valência é diferente do momento da região de mínimo da banda de condução. Portanto, transições indiretas necessitam de mudança de momento para ocorrerem.<sup>214</sup> A absorção (emissão) óptica envolve absorção (criação) de um fóton por um elétron, sendo que esse tem sua energia alterada por aquele. Mas como fótons praticamente não possuem momento, processos puramente ópticos só permitem transições verticais, entre a banda de valência e a banda de condução. Transições indiretas (oblíquas) podem ocorrer se houver a participação de fônons. Os fônons possuem altos valores de momento porque envolvem o movimento coletivo de átomos, mas possuem pouca energia. Portanto, transições indiretas envolvem três partículas, o elétron (a carga móvel), o fóton (que fornece a energia de transição), e o fônon (que fornece a mudança do momento). Segundo Rockett (2008), colisões envolvendo as três partículas (elétrons, fótons e fônons) são 1000 vezes menos prováveis do que as interações entre elétrons e fótons somente, em temperaturas comuns.<sup>214</sup>

Segundo Rockett (2008), elétrons que possuem o momento diferente do momento de buracos, na estrutura do cristal, se recombinam mais lentamente do que quando essas cargas possuem o mesmo momento.<sup>214</sup> Em semicondutores puros, elétrons e buracos (cargas livres) recombinam-se em um intervalo de tempo da ordem de  $10^{-8}$  s em transições diretas, enquanto que em transições indiretas o tempo de vida das cargas livres é 1000 vezes maior.<sup>214</sup> Além disso, em transições indiretas, a maior parte da energia que é liberada devido à **recombinação de cargas** (recombinação elétron-buraco) é na forma de calor, em vez de luz. Por isso, os materiais que possuem transições diretas são mais úteis na fabricação de dispositivos emissores de luz, por exemplo, os diodos emissores de luz (*Light Emitting Diode - LED*). A **geração de cargas** (elétrons e buracos) em materiais que possuem transições indiretas também é mais difícil, ou seja,

a probabilidade de geração de cargas é menor, por isso, esses materiais possuem baixos valores do coeficiente de absorção ( $\alpha$ ), pelo menos até o limite onde se inicia as transições diretas.<sup>214</sup>

A transição indireta  $A \rightarrow Y$  também vale 2,72 eV e a transição  $Y \rightarrow A$  vale 2,73 eV (não mostrado na Figura 5.6). Como pode ser observado na Figura 5.6 (a), a porção inferior da banda de condução é plana em quase toda a extensão do caminho da zona de Brillouin, logo, transições indiretas podem ocorrer, principalmente com o aumento da temperatura. Por exemplo, transições com valores acima de 2,72 eV, partindo da região em torno dos pontos Y e A da banda de valência (setas na cor cinza) em direção as regiões em torno dos pontos Y e A da banda de condução (Figura 5.6, a). Contudo, conforme afirma Rockett, transições indiretas possuem menor probabilidade de ocorrência do que as diretas.<sup>214</sup>

A terceira menor lacuna de energia ocorre para as transições diretas  $E \rightarrow E$  e  $C \rightarrow C$ , cujo valor é 2,77 eV (Figura 5.5). As transições indiretas  $E \rightarrow C$  e  $C \rightarrow E$  também têm  $E_g$  de 2,77 eV. Observou-se que qualquer transição, seja direta ou indireta, que ocorra partindo de qualquer ponto do intervalo  $E \leq x \leq C$  da banda de valência para qualquer ponto do intervalo  $E \leq x \leq C$  da banda de condução vale 2,77 eV. Devido à planaridade do topo da banda de valência e da porção inferior da banda de condução na região à direita do intervalo E-C, outras transições indiretas (seta na cor cinza) com valores próximos a 2,77 eV também podem ocorrer (Figura 5.5, a), principalmente com o aumento da temperatura; mas essas transições possuem menor probabilidade de ocorrência.

## 5.5 Propriedades ópticas

### 5.5.1 Absorção óptica experimental e gap de energia

O procedimento utilizado para determinação do valor da lacuna de energia ( $E_g$ ) do cristal do imidacloprido a partir dos dados experimentais de absorção óptica no ultravioleta-visível é conhecido como método de Tauc.<sup>215-217</sup> De acordo com esse método, a extrapolação linear da curva de  $(\alpha h\nu)^m$  versus  $h\nu$  até o ponto onde  $\alpha(h\nu)=0$  indica o valor de  $E_g$  do material (Equação 5.1). Na Equação 5.1,  $\alpha$  é o coeficiente de absorção,  $h$  é a constante de Planck,  $\nu$  é a frequência e  $B$  é uma constante. O valor de  $m$  depende do tipo de transição eletrônica considerada: transição permitida e direta,  $m=1/2$ ; transição permitida e indireta,  $m=2$ ; transição proibida e direta,  $m=3/2$ ; transição proibida e indireta,  $m=3$ .<sup>218</sup>

$$\alpha(h\nu) = B(h\nu - E_g)^m \quad \text{Equação 5.1}$$

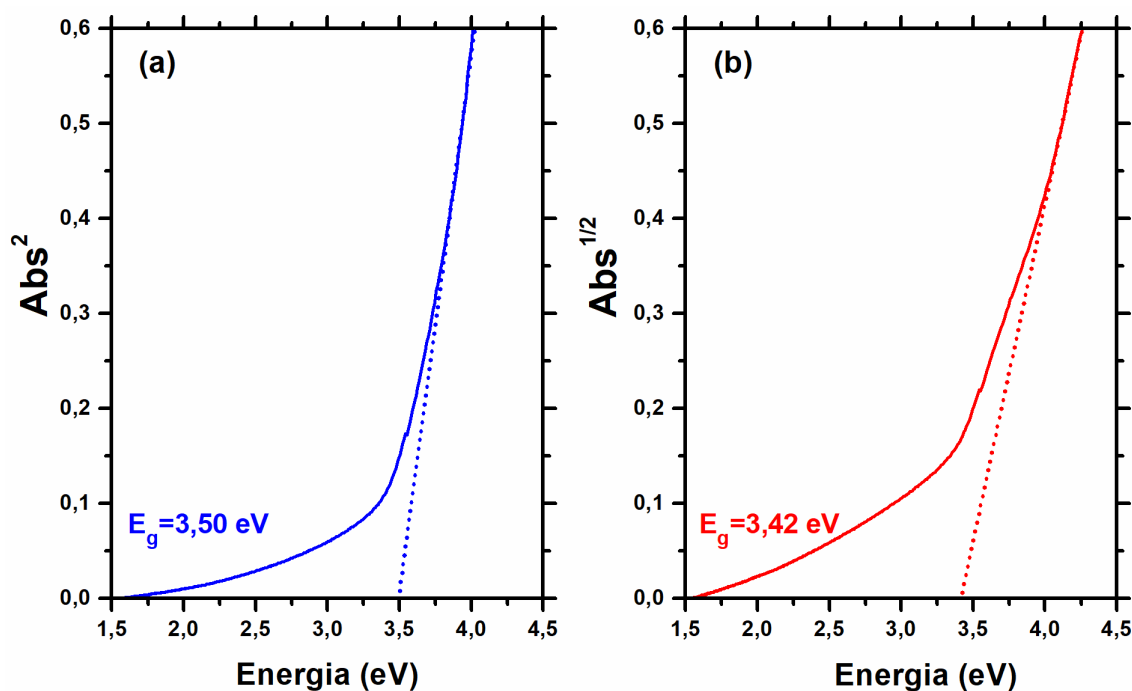
$$\alpha = (2,303A)/d \quad \text{Equação 5.2}$$

Para considerar o coeficiente de absorção, é necessário conhecer a absorbância (A) e a espessura (d) da amostra submetida à análise de absorção óptica (Equação 5.2). No entanto, como o valor de d e  $h\nu$  são constantes, pode-se usar apenas o valor de absorbância, isso altera apenas a forma da curva. Ghobadi (2013) mostrou em seu trabalho que é possível estimar o valor da lacuna de energia em um gráfico de  $(Abs/\lambda)^m$  versus  $h\nu$ , sem a necessidade de conhecer a espessura do material submetido a análise, da mesma forma que em um gráfico de  $(\alpha h\nu)^m$  em função de  $h\nu$ . O autor fez uma adaptação da equação 5.1 para eliminar a dependência da espessura e da refletância do material, mas os valores de refletância geralmente são pequenos, em torno de 5%.

A Figura 5.7 mostra a extrapolação linear dos dados experimentais de absorção óptica no UV-VIS do composto imidacloprido em pó; pastilhas de KBr foram utilizadas como suporte para as medidas. Na porção (a) da Figura 5.7 tem-se o valor estimado da lacuna de energia devido à transição direta do elétron ( $E_g=3,50$  eV), enquanto a porção (b) mostra a estimativa da transição indireta ( $E_g=3,42$  eV). Embora a transição indireta ocorra em uma energia menor do que a transição direta, esta é favorecida em detrimento daquela porque a transição direta envolve a colisão de apenas duas partículas (elétron e fóton), enquanto na transição indireta três partículas são necessárias (elétron, fóton e fônon).<sup>214</sup> A partir da análise da Figura 5.7, percebe-se que o melhor ajuste foi obtido para a estimativa da lacuna de energia na transição direta, logo, conclui-se que o imidacloprido em pó no estado de microcristais possui transição direta; a inclinação acentuada da curva é uma indicação desse tipo de transição.

O valor da lacuna de energia estimado por extrapolação linear da curva de absorção óptica ( $E_g=3,50$  eV) para a transição direta é maior do que o valor encontrado por cálculos quânticos ( $E_g=2,72$  eV), que foram realizados no escopo da teoria DFT com os funcionais GGA e PBE e com a inclusão da correção de dispersão TS. Kong e Jiang (2009) verificaram que os funcionais LDA-PW92 subestimaram o valor da lacuna de energia em 94%.<sup>219</sup> Estudos mostraram que o funcional GGA subestimaram os valores da lacuna de energia em semicondutores e os funcionais GGA-PBE com a correção TS subestimaram os valores da lacuna de energia de uma série de cristais moleculares.<sup>219-222</sup>

Figura 5.7 - Estimativa dos valores da lacuna de energia do imidacloprido em pó por meio da extrapolação linear (método de Tauc) da curva de absorção óptica. (a) transição permitida direta; (b) transição permitida indireta.



Fonte: elaborada pelo autor.

Neste trabalho, os cálculos foram realizados considerando um cristal ideal, enquanto as medidas experimentais foram executadas para o imadacloprido em pó, ou seja, as medidas foram executadas para microcristais do composto. Além da influência da natureza e do estado do material, alguns estudos mostraram que o valor da lacuna de energia de filmes finos de diversos materiais muda por fatores tais como o tempo de deposição dos filmes, a temperatura, a cristalinidade e a estequiometria.<sup>218,223–225</sup> Neste trabalho, os valores da lacuna de energia obtidos para o cristal ideal por meio de cálculos teóricos divergem dos valores estimados por extrapolação linear dos dados experimentais, provavelmente, porque as medidas experimentais foram feitas para microcristais do composto e também porque o funcional GGA-PBE mais a correção TS subestimou as forças de interação, gerando uma menor separação dos níveis de energia teóricos.

### 5.5.2 Função dielétrica complexa

A análise das propriedades ópticas de um material (molécula, cristal, etc.) é importante para entender sua natureza e verificar o potencial de aplicação no desenvolvimento de

dispositivos;<sup>222</sup> além disso, permite a síntese racional de novos compostos ou materiais a partir dos já conhecidos.

As transições eletrônicas entre níveis de estados (níveis de energia) ocupados para estados desocupados ocorre devido à ação do campo elétrico do fóton, em transições diretas.<sup>222</sup> No caso de transições indiretas, além do fóton, é necessária a colisão do elétron com fônons para que ocorra a mudança de momento, conforme já explicado.

Durante a propagação dos fótons em um meio material, se não ocorrer o espalhamento, dois fenômenos ópticos podem ocorrer: a dispersão (refração) e a absorção. O índice de refração e a absorção óptica podem ser incorporados em uma única grandeza, o índice de refração complexo ( $\hat{\eta}$ ) (Equação 5.3).<sup>226</sup> A parte real do índice de refração complexo corresponde ao índice de refração ( $\eta$ ), que é a razão entre a velocidade da luz no meio livre ( $c$ ) e a velocidade da luz em um meio material ( $v$ ); a velocidade no meio material é menor do que no espaço livre. A parte imaginária do índice de refração complexo é o coeficiente de extinção ( $\kappa$ ), também conhecido como absorvidade molar. O coeficiente de absorção ( $\alpha$ ) está diretamente relacionado ao coeficiente de extinção (Equação 5.4). A absorbância pode ser obtida a partir do coeficiente de absorção (Equação 5.2).

$$\hat{\eta}(\omega) = \eta(\omega) + i\kappa_2(\omega) \quad \text{Equação 5.3}$$

$$\alpha(\omega) = 4\pi\kappa/\lambda \quad \text{Equação 5.4}$$

O índice de refração de um meio pode ser relacionado à constante dielétrica relativa  $\epsilon_r$  (Equação 5.5), conforme derivação das equações de Maxwell. Da relação entre o índice de refração e a constante dielétrica relativa, pode-se pensar na constante dielétrica complexa,  $\hat{\epsilon}_r$  (Equação 5.6), que está relacionada ao índice de refração complexo de acordo com a Equação 5.7. Na equação 5.6,  $\epsilon_1(\omega)$  é a parte real da função dielétrica complexa e  $\epsilon_2(\omega)$  é a parte imaginária. A substituição das equações 5.3 e 5.6 na equação 5.7 conduz a relação entre as partes reais e imaginárias do índice de refração complexo e da constante dielétrica complexa (Equações 5.8 e 5.9).<sup>226</sup>

$$\eta(\omega) = \sqrt{\epsilon_r} \quad \text{Equação 5.5}$$

$$\hat{\epsilon}_r(\omega) = \epsilon_1(\omega) + i\epsilon_2(\omega) \quad \text{Equação 5.6}$$

$$\hat{\eta}(\omega) = \sqrt{\hat{\epsilon}_r} \quad \text{Equação 5.7}$$

$$\epsilon_1 = \eta^2 - \kappa^2 \quad \text{Equação 5.8}$$

$$\varepsilon_2 = 2\eta\kappa$$

Equação 5.9

A análise das equações 5.8 e 5.9 permite concluir que se a absorção óptica de um material é pequena, a parte real da conste dielétrica complexa,  $\varepsilon_1(\omega)$ , pode ser relacionada apenas ao índice de refração,  $\eta(\omega)$ . Quando a absorção é alta ( $\kappa$  e  $\alpha$  são elevados), a parte imaginária,  $\varepsilon_2(\omega)$ , pode ser diretamente associada à absorção ( $\kappa$  e  $\alpha$ ).

Segundo John e Padmavathi (2016), cálculos teóricos no escopo do formalismo DFT permitem calcular a parte imaginária e real da função dielétrica complexa a partir das transições interbanda entre os níveis de energia ocupados e desocupados da estrutura de bandas.<sup>222</sup> A partir da função dielétrica complexa, todas as demais propriedades ópticas podem ser calculadas: refletividade (R), índice de refração ( $\eta$ ), coeficiente de extinção ( $\kappa$ ), função de perda (L), coeficiente de absorção ( $\alpha$ ) e condutividade óptica ( $\sigma$ ).<sup>222</sup> Neste trabalho, apenas a função dielétrica complexa e a absorção óptica serão explorados.

Segundo Kong e Jiang (2009) e John e Padmavathi (2016), a parte real da função dielétrica complexa está relacionada a dispersão do fóton pelo material, enquanto que a parte imaginária tem grande influência no coeficiente de absorção; altos valores de  $\varepsilon_2(\omega)$  significam altos valores de absorção.<sup>219,221,222</sup>

Há duas contribuições para a função dielétrica complexa, a intrabanda e interbanda, mas a contribuição intrabanda ocorre somente para metais. Conforme visto anteriormente, a contribuição interbanda pode ser direta ou indireta, essa última envolve o espalhamento dos fônons.<sup>219,222</sup> Neste trabalho, verificou-se por meio do ajuste linear da curva de absorbância em função da energia que a transição interbanda direta prevalece no imidacloprido e a transição interbanda indireta, ou seja, que envolve o espalhamento dos fônons, não contribui significativamente para a absorção.

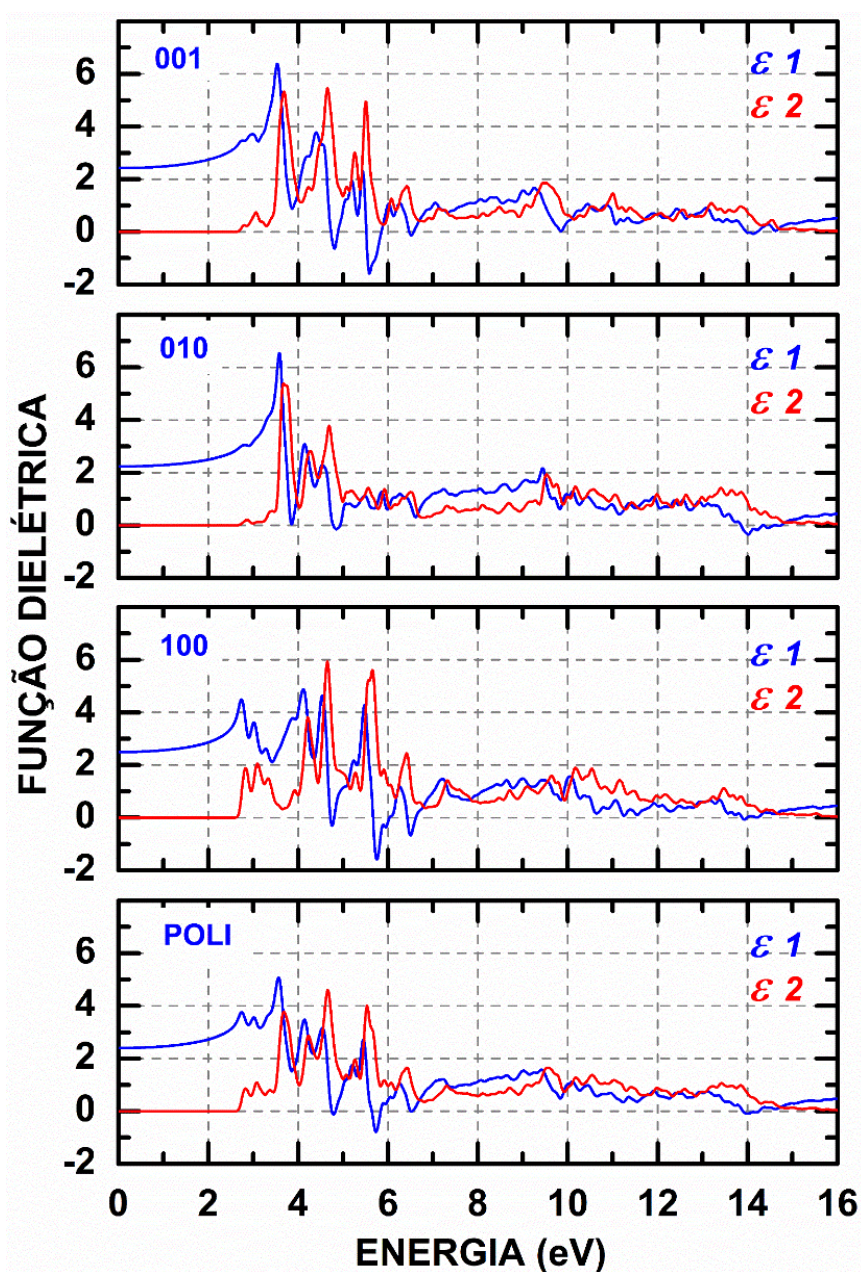
A Figura 5.8 mostra a função dielétrica complexa para o cristal do imidacloprido, considerando a incidência da luz polarizada ao longo dos três planos simetricamente distintos (001), (010) e (100), e também no material policristalino (POLI). As curvas em azul correspondem a  $\varepsilon_1(\omega)$ , isto é, a parte real da função dielétrica, enquanto que as curvas em vermelho são relativas a  $\varepsilon_2(\omega)$ , a parte imaginária.

Em baixas energias ou frequências, somente ocorre o espalhamento do fóton, como pode ser observado pela análise da curva de  $\varepsilon_1$  (Figura 5.8). Os pontos críticos que dão início a banda fundamental de absorção podem ser identificados na curva de  $\varepsilon_2$ : 2,72 eV para o plano (001), 2,67 eV (010), 2,62 eV para o plano (100) e para o material policristalino. Esses pontos



críticos são os valores de lacuna de energia devido à transição do elétron entre o máximo da banda de valência e o mínimo da banda de condução.<sup>219,220</sup> A absorção do fóton pelo cristal do imidacloprido ocorre na faixa que vai do final do visível em direção à região ultravioleta. Por exemplo, o menor valor da banda fundamental de absorção, que é de 2,62 eV para o plano (100), corresponde a um comprimento de onda de aproximadamente 473 nm (Figura 5.8); o limite da faixa ultravioleta-visível é em 400 nm.

Figura 5.8 - Função dielétrica complexa  $\epsilon_r(\omega) = \epsilon_1(\omega) + i\epsilon_2(\omega)$ , calculada para o cristal do imidacloprido, considerando a incidência de luz polarizada ao longo dos planos (001), (010), (100) e na amostra policristalina (POLI).  $\epsilon_1(\omega)$ : parte real;  $\epsilon_2(\omega)$ : parte imaginária.



Fonte: elaborada pelo autor.

A partir da análise da Figura 5.8 é possível perceber que a transição do elétron em ambos os planos e material policristalino é direta, isso porque as curvas de  $\epsilon_2$  crescem abruptamente a partir dos pontos críticos da banda fundamental de absorção. Também se percebe que após os pontos críticos da banda fundamental de absorção, o espalhamento dos fótons (curva de  $\epsilon_1$ ) cai abaixo da absorção (curva de  $\epsilon_2$ ), até aproximadamente 6,5 eV, isso para todos os planos e material policristalino. Após 6,5 eV, ambos  $\epsilon_1$  e  $\epsilon_2$  oscilam com baixa intensidade. O máximo de absorção dos fótons ocorre em 3,70 eV para os planos (001) e (010), 4,68 eV (100), e 4,63 eV para o material policristalino (Figura 5.8). Segundo Ali et al. (2013),<sup>221</sup> os vários picos de absorção que ocorrem a partir da banda fundamental de absorção - para o imidacloprido, no intervalo entre 2,60 eV até aproximadamente 6,5 eV - são devido a outras transições interbanda, entre a banda de valência e a banda de condução.

Embora a absorção predomine na região que vai de 2,6 eV a 6,5 eV, a absorção é muito pequena ( $\epsilon_2$  é pequeno) em algumas frequências (energias) do fóton incidente e a curva da parte real da função dielétrica complexa se torna negativa. Segundo Khan et al. (2012), quando os valores de  $\epsilon_1$  são negativos, significa que a onda eletromagnética é totalmente refletida pelo material, o qual apresenta caráter metálico nesses pontos, por isso, a absorção cai drasticamente. Os picos em que  $\epsilon_1$  apresenta valores negativos são, aproximadamente: 4,78 eV e 5,61 eV para o plano (001); 14 eV (010); 5,76 eV e 6,53 eV (100); 5,76 eV (POLI).

O valor da parte real da função dielétrica complexa quando a energia é zero, ou seja, o ponto  $\epsilon_1(0)$ , é denominado função dielétrica estática. Segundo John et al. (2016),<sup>222</sup> a constante dielétrica estática diminui quando a lacuna de energia aumenta. Os valores de  $\epsilon_1(0)$  do imidacloprido situam-se em torno de 2,4 eV: 2,40 eV para o plano (001), 2,23 (010), 2,47 (100) e 2,40 (POLI).

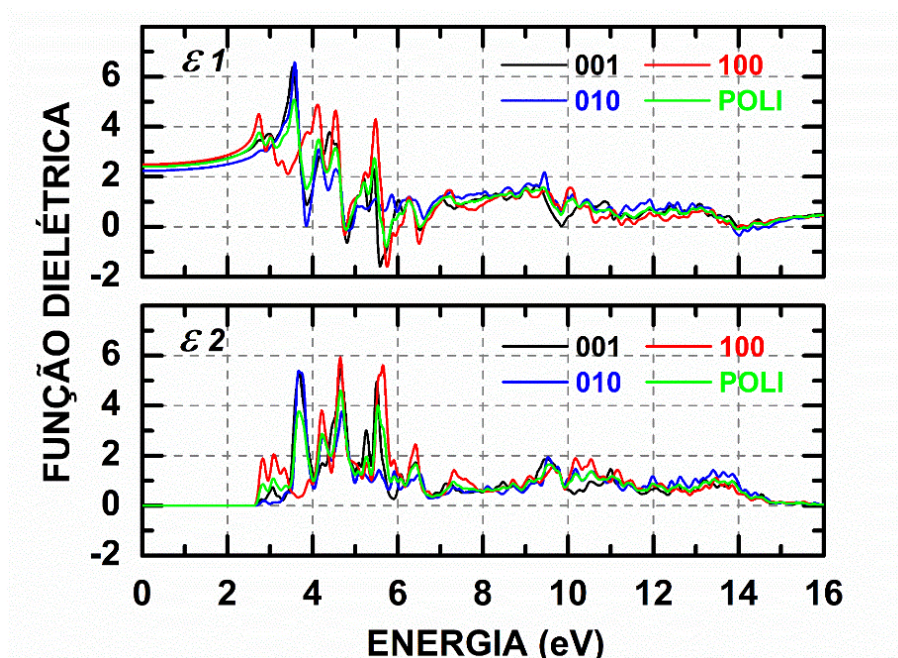
O cristal do imidacloprido pertence ao sistema monoclinico. Outra classificação surge quando se analisa as propriedades do cristal ao longo das diferentes direções. Cristais isotrópicos possuem as mesmas propriedades em quaisquer das direções analisadas; enquanto que cristais anisotrópicos tem diferentes propriedades ao longo de diferentes direções.<sup>226</sup> Também pode ocorrer de o material apresentar anisotropia ou isotropia apenas em um intervalo de frequência (energia).

Os cristais do sistema monoclinico pertencem a uma classe denominada de **cristais biaxiais**; outros exemplos são os cristais ortorrômbicos e triclinicos.<sup>226</sup> Os cristais biaxiais possuem dois eixos ópticos arbitrários diferentes (por exemplo, os eixos z e x), perpendiculares a um terceiro eixo, que também difere dos demais; por eixos diferentes pretende-se informar

que os tamanhos (ou as intensidades) dos eixos associados aos vetores que definem a célula unitária são diferentes. Isso significa que nenhuma das direções são simétricas, por isso, a luz interage de maneira diferente com cada um dos planos ao longo dos eixos. Tal propriedade é conhecida como **birrefringência**.<sup>226</sup>

A birrefringência ocorre porque diferentes planos têm diferentes arranjos, por exemplo, as distâncias interplanares e os tipos de interações entre os átomos, íons ou moléculas. Logo, os diferentes planos possuem diferentes índices de refração e a luz interage de maneira diferente.<sup>226</sup> Cristais que possuem alta simetria, como cristais do sistema cúbico, não apresentam birrefringência, são isotrópicos. A birrefringência é importante somente onde não ocorre absorção, ou seja, abaixo de  $E_g$ .<sup>219</sup> Vale lembrar que a frequência da luz incidente no cristal também influencia o fenômeno da birrefringência porque o índice de refração, assim como a constante dielétrica, dependem da frequência do fóton incidente.<sup>226</sup>

Figura 5.9 - Superposição da parte real (gráfico superior) e imaginária (gráfico inferior) da função dielétrica complexa,  $\hat{\epsilon}_r(\omega) = \epsilon_1(\omega) + i\epsilon_2(\omega)$ , calculada para o cristal do imidacloprido considerando a incidência de luz polarizada ao longo dos planos 001, 010, 100 e amostra policristalina (POLI).



Fonte: elaborada pelo autor.

A Figura 5.9 mostra a sobreposição das curvas correspondentes a parte real (porção superior) e imaginária (porção inferior) da função dielétrica complexa obtida para o cristal do

imidacloprido, considerando diferentes planos de incidência da luz polarizada: (001), (010) e (100) e amostra policristalina (POLI).

A análise das curvas da parte real ( $\epsilon_1$ ) e porção imaginária ( $\epsilon_2$ ) da função dielétrica complexa indicam que o cristal do imidacloprido possui interação anisotrópica com o campo elétrico (Figura 5.9). Isso porque as curvas divergem para ambos os planos (001), (010), (100) e material policristalino, principalmente na região onde os picos são mais intensos, isto é, entre 2,0 a 6,0 eV. O aspecto anisotrópico é comum em cristais de baixa simetria, tais como os cristais do sistema monoclinico.<sup>222</sup> Conforme afirmado anteriormente, a célula unitária de cristais monoclinicos são definidas por vetores que possuem diferentes intensidades. Isso faz com que o cristal tenha baixa simetria. Além disso, os planos, distâncias interplanares e interações entre os átomos nas diferentes direções são diferentes.

A parte real da função dielétrica complexa é predominante na determinação do índice de refração, principalmente nas regiões onde a absorção é pequena. Verificou-se, na Figura 5.9, que parte real da função dielétrica complexa se apresenta de maneira anisotrópica, logo, o índice de refração também deve seguir a mesma tendência. Isso leva a conclusão de que o cristal monoclinico do imidacloprido é birrefringente, ou seja, possui diferentes índices de refração quando a luz atravessa os diferentes planos do cristal, isso na região onde a absorção é pequena. Os valores do índice de refração quando a energia é zero - índice de refração estático  $n(0)$  - valem: 1,54 eV (001), 1,50 eV (010), 1,57 eV (100) e 1,54 eV (POLI).

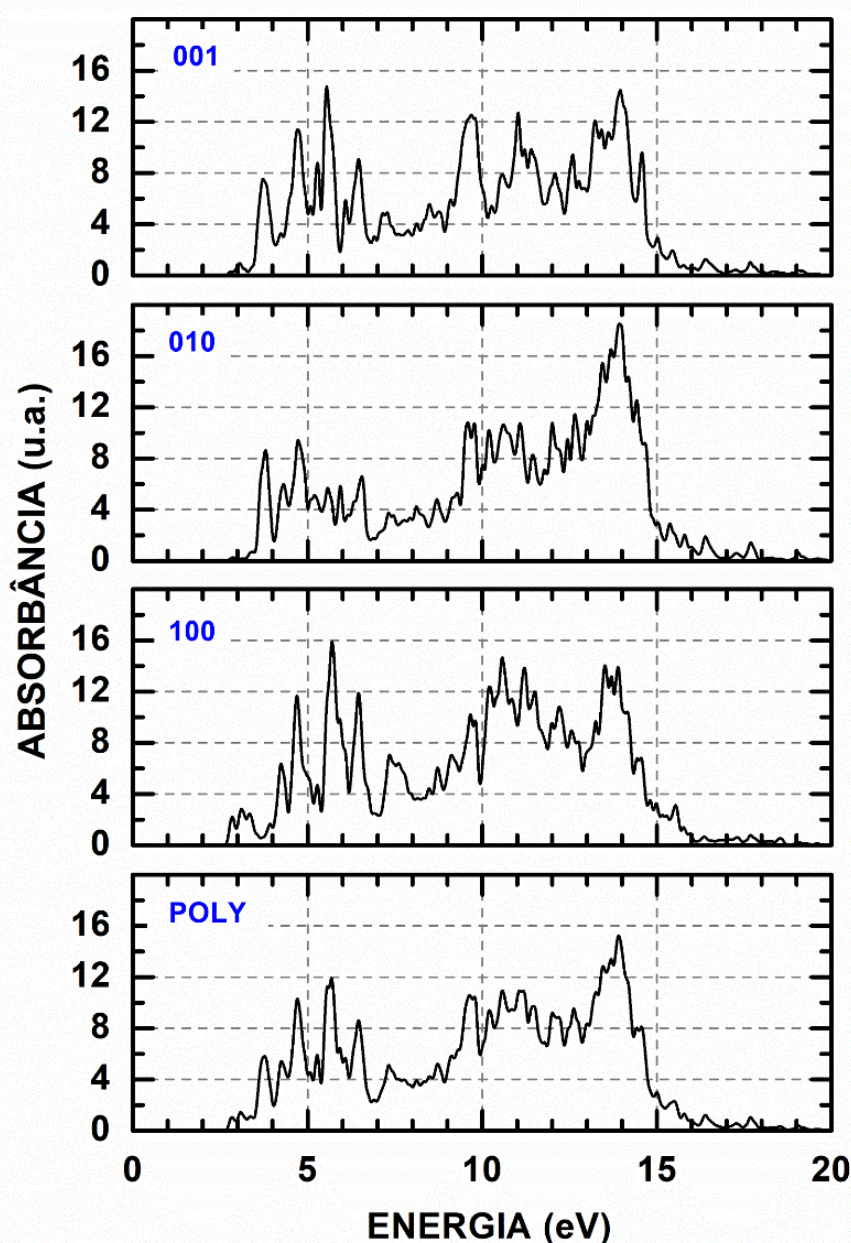
### **5.5.3 Absorção óptica**

A Figura 5.10 mostra os gráficos de absorbância da luz polarizada incidente nos planos (001), (010) e (100) do cristal do imidacloprido, e para a luz incidente no material policristalino (POLI). É notável que o imidacloprido absorve em vários valores de frequência (energia) na região do ultravioleta (acima de 3 eV) e é transparente na região do visível (1,8-3,0 eV), exceto por uma pequena banda de baixa intensidade entre 2,7 a 3,0 eV, principalmente para o plano (100). Essa faixa de frequência, que é o início da absorção óptica, coincide com os valores da lacuna de energia encontrados na estrutura de bandas, isto é 2,72, 2,73 e 2,77 eV (ver Figura 5.6) e também com as estimativas para os valores da lacuna de energia obtidos pela análise da parte imaginária da função dielétrica complexa (ver Figura 5.8).

Como pode ser observado na Figura 5.10, não há absorção da luz pelo imidacloprido na região do visível, exceto pela pequena banda em torno de 2,7 eV. O coeficiente de absorção calculado no intervalo de 0-3 eV é muito pequeno (Figura 5.11), logo, a equação do índice de

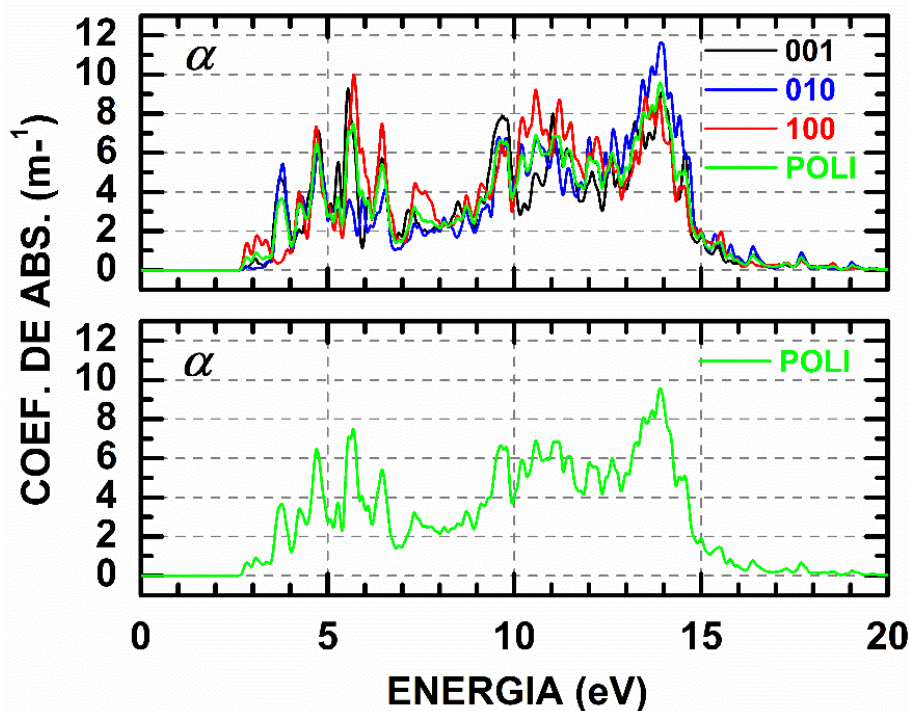
refração complexo pode ser aproximada, levando em consideração apenas a parte real ( $\hat{\eta} = \eta$ ). Além disso, pela análise dos gráficos do coeficiente de absorção (Figura 5.11), percebe-se um conjunto de picos de baixa intensidade na região entre 2,7-3,0 eV, principalmente para o plano (100). Esses picos de absorção são muito próximos e estão relacionados aos valores da lacuna de energia, encontrados no cálculo da estrutura de bandas; conforme mencionado anteriormente,  $\alpha$  é obtido a partir dos resultados da estrutura de bandas.

Figura 5.10 - Absorbância calculada para o cristal do imidacloprido, considerando a incidência de luz polarizada ao longo dos planos do cristal (001), (010), (100) e amostra policristalina.



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 5.11 - Coeficiente de absorção ( $\alpha$ ) calculado para o cristal do imidacloprido considerando a luz polarizada incidente nos planos (001), (010), (100) e amostra policristalina.



Fonte: elaborada pelo autor.

## 5.6 Propriedades vibracionais

Quando se atribuiu as vibrações dos modos normais de vibração teóricos da molécula do imidacloprido (modos calculados no escopo da teoria DFT) às bandas experimentais medidas para o imidacloprido em pó, utilizou-se o código VEDA para quantificar a contribuição da energia potencial de cada vibração que faz parte do modo vibracional.<sup>120</sup> Esse procedimento não foi possível para a quantificação das vibrações calculadas para o cristal do imidacloprido porque o código VEDA não reconhece os resultados do cálculo vibracional do cristal realizado no código CASTEP da suíte Materials Studio.

Geralmente, em moléculas grandes, cálculos teóricos preveem uma série de vibrações para cada modo normal de vibração.<sup>120</sup> Para facilitar a atribuição e discussão das bandas experimentais de absorção (espalhamento) no infravermelho (Raman), identificou-se apenas as duas vibrações mais relevantes (vibrações mais fortes). No Apêndice A3, as Tabelas A3.15, A3.16 e A3.17 descrevem todas as absorções teóricas calculadas (além das duas vibrações mais relevantes) e que foram identificadas por inspeção visual.

Para identificar a relevância de cada vibração para o modo de vibração considerou-se o tipo de átomo envolvido (número atômico), o tipo de ligação (simples, duplas) e o

deslocamento atômico dos átomos. A energia de um modo normal de vibração é proporcional à raiz quadrada da força de ligação e inversamente proporcional à raiz quadrada da massa reduzida dos elementos químicos envolvidos na vibração.

Segundo Jamróz et al. (2013), muitas vezes, os deslocamentos dos átomos de hidrogênios são superestimados por meio da inspeção visual.<sup>120</sup> Entre os elementos da tabela periódica, o elemento químico hidrogênio possui o menor número atômico, logo, fortes deslocamentos das ligações envolvendo átomos de hidrogênio não significam, necessariamente, maior contribuição para a energia total do modo.

Neste trabalho, para determinar a relevância das vibrações na análise dos modos normais de vibração calculados para o cristal do imidacloprido, considerou-se em primeiro lugar grupos funcionais que são formados por ligações duplas e ligações deslocalizadas, em segundo lugar os grupos formados por ligações simples. Quanto ao elemento químico, as vibrações de grupos envolvendo elementos mais pesados (maiores números atômicos) foram consideradas mais importantes (relevantes) do que as vibrações envolvendo átomos de hidrogênio; por vibração mais importante ou mais relevante pretende-se dizer que a vibração deve contribuir preponderantemente para a energia total do modo.

No texto, além da atribuição das principais bandas experimentais (bandas mais intensas), também foram incluídas as ilustrações das vibrações que foram obtidas por cálculos teóricos e que foram associadas às bandas experimentais mais intensas.

### **5.6.1 Espectros vibracionais na faixa de 400-1200 $\text{cm}^{-1}$**

Os espectros experimentais de infravermelho (IR:E) e Raman (RAM:E) medidos para o composto imidacloprido em pó (faixa de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ ) e os espectros teóricos de infravermelho (IR:C) e Raman (RAM:C) que foram calculados para o cristal do imidacloprido estão mostrados na Figura 5.12. Os espectros teóricos foram calculados no escopo da teoria DFT, com os funcionais GGA e PBE, utilizando o modelo de solvatação COSMO. Destacou-se nos espectros experimentais da Figura 5.12 as principais bandas experimentais (bandas de maior intensidade). Identificou-se as bandas experimentais comparando-as com as absorções teóricas calculadas (Tabela 5.3). As demais bandas experimentais, ou seja, as bandas de menor intensidade não destacadas na Figura 5.12, estão disponíveis no Apêndice A2.1 (Tabelas A2.12 a A2.17).

A banda de absorção experimental E2:420  $\text{cm}^{-1}$ , destacada no espectro de infravermelho (Figura 5.12), corresponde ao dobramento fora do plano no anel cloropiridíneo; essa vibração foi nomeada de *CCC out of plane bending-16a*, de acordo com a nomenclatura

proposta por Varsanyi (1969) (Tabela 5.3).<sup>195</sup> A banda E5:493  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a *CCC out-of-plane bending-16b*. A banda larga E6:587  $\text{cm}^{-1}$  foi associada à deformação fora do plano do grupo H23N10 ( $\delta_{\text{outH23N10}}$ ) e à vibração tesoura ( $\sigma$ ) do grupo N8C11C12 ( $\sigma_{\text{N8C11C12}}$ ). Além da linha de absorção C6:636,54  $\text{cm}^{-1}$  (associada a banda E6), três outras linhas de baixa intensidade no espectro teórico, localizadas em 634,23  $\text{cm}^{-1}$ , 649,07  $\text{cm}^{-1}$  e 653,52  $\text{cm}^{-1}$  (não destacadas na Figura 5.12) sugerem que a banda experimental E6 é constituída de quatro vibrações  $\delta_{\text{outH23N10}}$ .

Figura 5.12 - Espectros vibracionais do imidacloprido na faixa de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ : infravermelho experimental (IR: E); infravermelho teórico do cristal (IR: C); Raman experimental (RAM: E) e Raman teórico do cristal (RAM: C).

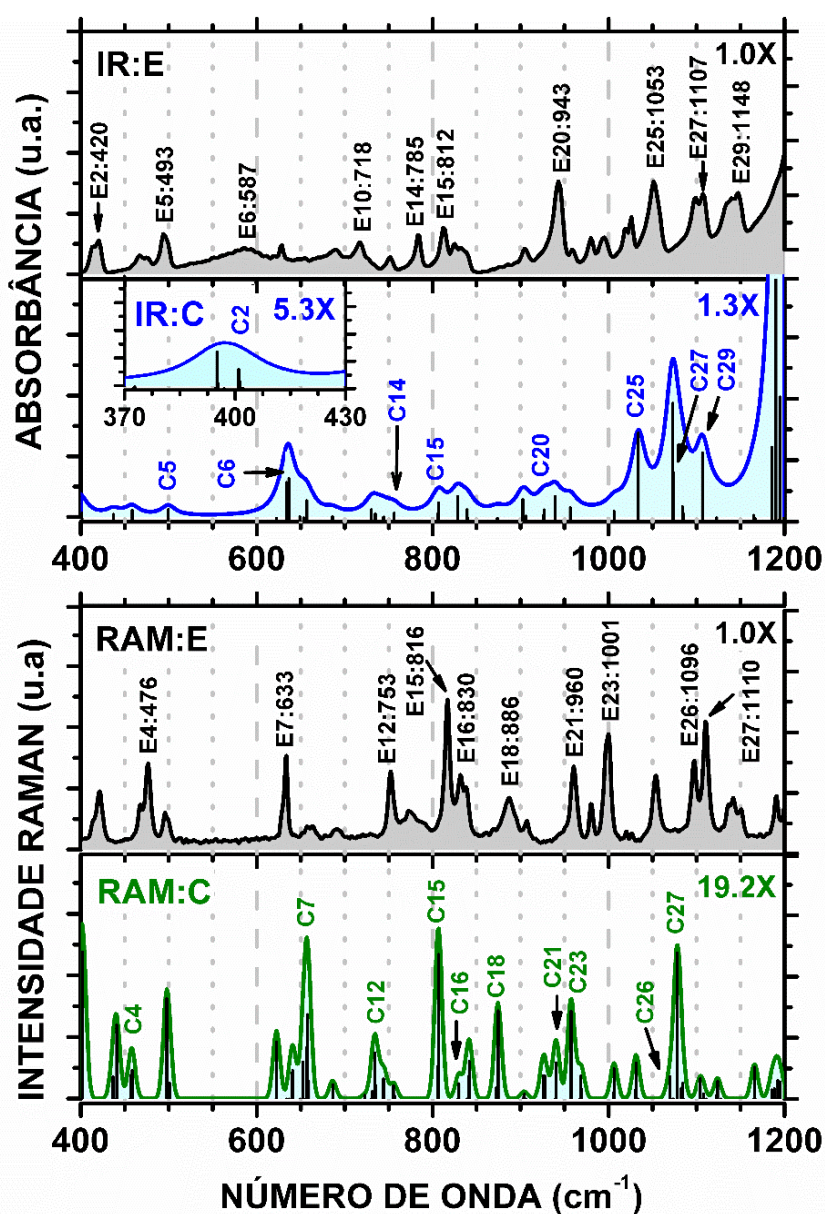




Tabela 5.3 - Atribuição das bandas experimentais de absorção (espalhamento) no infravermelho (Raman), na faixa de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ , de acordo com os espectros do imidacloprido calculados com o funcional GGA e PBE mais a correção de dispersão TS, modelo de solvatação COSMO.

M	IR/RAM	$\omega_E$	$\omega_T$	Atribuição
C2	IR	420	400,95	<i>CCC out of plane bending-16a</i> (F)
	RAM	421	402,13	<i>CCC out of plane bending-16a</i> (F)
C4	IR	475	458,40	$\rho\text{H21H22C7}$ (m), $\rho[\text{imidazole}]$ (m)
	RAM	476	458,29	$\rho\text{H21H22C7}$ (m), $\rho[\text{imidazole}]$ (m)
C5	IR	493	499,60	<i>CCC out of plane bending-16b</i> (F)
	RAM	495	497,65	<i>CCC out of plane bending-16b</i> (F)
C6	IR	587	636,54	$\delta_{\text{out}}\text{H23N19}$ (F), $\sigma\text{N8C11C12}$ (f)
	RAM	587	622,58	<i>CCC in-plane bending-6b</i> (F)
C7	IR	628	657,01	$\sigma\text{N8C1C7}$ (m), <i>CCC out of plane bending-16b</i> (m)
	RAM	633	658,01	$\sigma\text{N8C1C7}$ (m), <i>CCC out of plane bending-16b</i> (m)
C10	IR	718	686,66	$\tau\text{H23N10N13C9}$ (F), $\tau\text{H23N8N10C9}$ (F)
	RAM	718	722,77	$\sigma\text{N14O15O16}$ (F), $\rho\text{N10N13C9}$ (m)
C12	IR	753	734,66	<i>CCC puckering-4</i> (m), $\sigma\text{N10C9C11}$ (f)
	RAM	753	734,43	<i>CCC puckering-4</i> (m), $\sigma\text{N14O15O16}$ (f)
C14	IR	785	756,11	$\sigma\text{N10C9C11}$ (m), $\sigma\text{N10C11C12}$ (m)
	RAM	791	755,45	$\sigma\text{N10C9C11}$ (m), $\sigma\text{N10C11C12}$ (m)
C15	IR	812	806,86	<i>CH out-of-plane-17b</i> (F), <i>CCC in plane bending-6a</i> (f)
	RAM	816	806,84	<i>CH out-of-plane-17b</i> (F), <i>CCC in plane bending-6a</i> (f)
C16	IR	826	828,23	<i>CH out-of-plane-17b</i> (m), $\sigma\text{N10N13C9}$ (f)
	RAM	830	829,94	<i>CH out-of-plane-17b</i> (m), $\sigma\text{N10N13C9}$ (f)
C18	IR	885	873,94	$\rho\text{H24H25C11}$ (F), $\rho\text{H26H27C12}$ (F)
	RAM	886	874,41	$\rho\text{H24H25C11}$ (F), $\rho\text{H26H27C12}$ (F)
C20	IR	943	926,74	$\delta_{\text{out}}\text{C6H20}$ (F), $\nu\text{C11C12}$ (f)
	RAM	945	925,57	$\delta_{\text{out}}\text{C6H20}$ (F), $\nu\text{C11C12}$ (f)
C21	IR	958	939,39	$\nu\text{C11C12}$ (F), $\beta\text{H26H27C12}$ (F)
	RAM	960	940,38	$\nu\text{C11C12}$ (F), $\beta\text{H26H27C12}$ (F)
C23	IR	995	967,59	$\delta_{\text{out}}[\text{C2H18};\text{C3H19}]$ (m)
	RAM	1001	957,48	$\nu\text{N13N14}$ (F), $\nu\text{sN8N10C11C12}$ (m)
C25	IR	1053	1033,84	$\nu\text{aN10C11C12}$ (F), $\omega\text{H24H25C11}$ (F)
	RAM	1053	1031,48	$\nu\text{aN10C11C12}$ (F), $\omega\text{H24H25C11}$ (F)
C26	IR	1097	1072,78	<i>Breathing-1</i> (F), $\delta_{\text{in}}\text{H19C3}$ (F)
	RAM	1096	1069,59	<i>Breathing-1</i> (F), $\delta_{\text{in}}\text{H19C3}$ (F)
C27	IR	1107	1073,85	<i>Breathing-1</i> (F), $\delta_{\text{in}}\text{H19C3}$ (F)
	RAM	1110	1077,99	<i>Breathing-1</i> (F), $\delta_{\text{in}}\text{H19C3}$ (F)
C29	IR	1148	1122,78	<i>CH in-plane bending</i> [ $\text{H18C2};\text{H19C3}$ ] (F), $\tau\text{H21H22C7}$ (f)
	RAM	1151	1124,05	<i>CH in-plane bending</i> [ $\text{H18C2};\text{H19C3}$ ] (F), $\tau\text{H21H22C7}$ (f)

Notas: M: modo; IR: infravermelho; RAM: Raman; (F): forte intensidade; (m): média intensidade; (f): fraca intensidade;  $\rho$ : oscilação;  $\delta_{\text{out}}$ :deformação fora do plano;  $\sigma$ : tesoura;  $\tau$ : torção (dobramento de três átomos);  $\tau$ : torção no diedro;  $\nu$ : estiramento;  $s$ : simétrico a: antissimétrico;  $\beta$ : *bending*;  $\omega$ : balanço;  $\delta_{\text{in}}$ : deformação no plano;  $\omega_E$ : frequência experimental;  $\omega_T$ : frequência teórica.

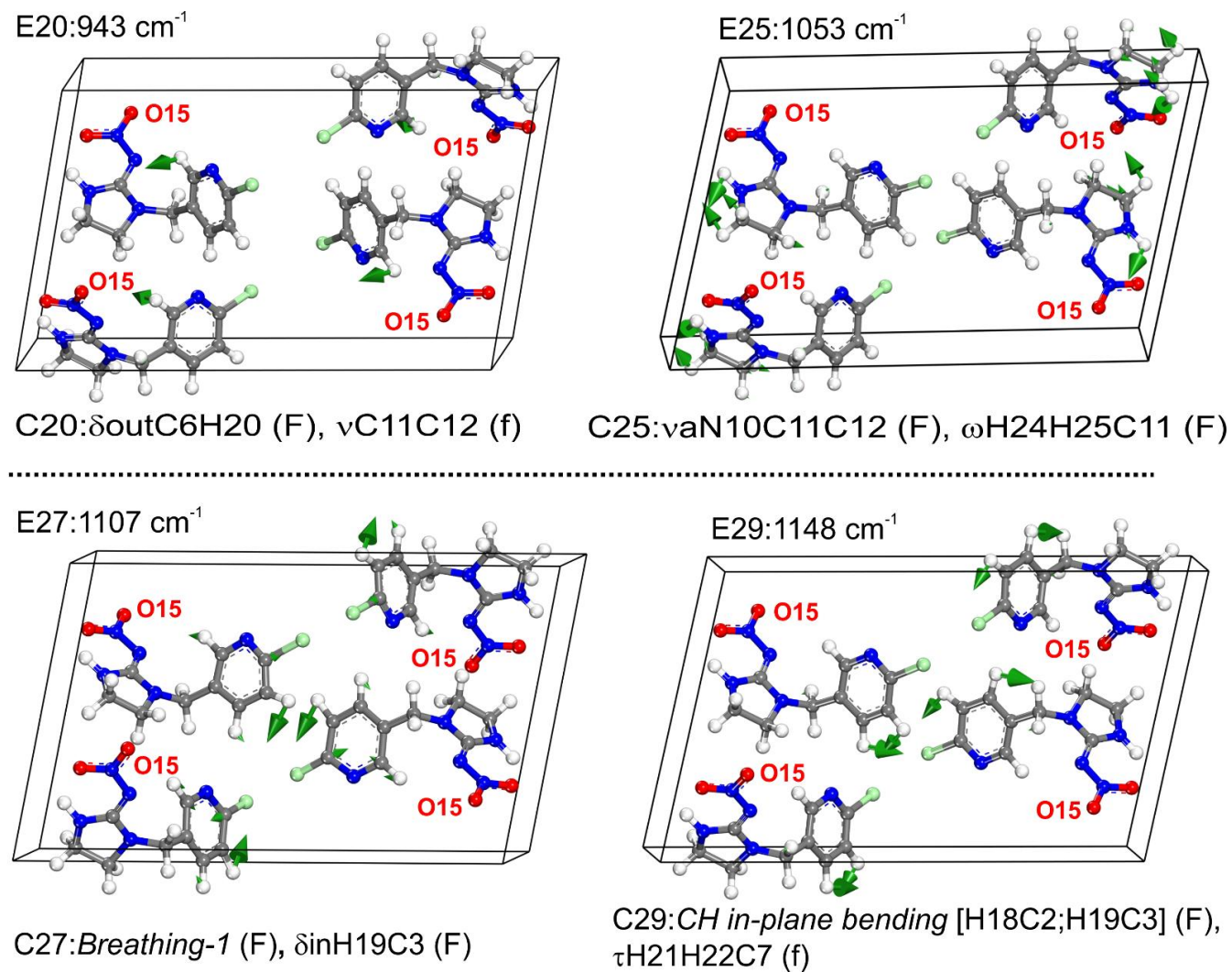
A linha de absorção teórica C10: 686,66  $\text{cm}^{-1}$ , associada à banda de absorção experimental E10:718  $\text{cm}^{-1}$ , descreve vibrações de torção em diedros:  $\tau\text{H23N10N13C9}$  e  $\tau\text{H23N8N10C9}$ ; essa linha de absorção teve intensidade muito pequena, não sendo possível visualizá-la no espectro teórico. A banda E14:785  $\text{cm}^{-1}$  está associada a vibrações de dobramento tesoura no anel imidazólico:  $\sigma\text{N10C9C11}$  e  $\sigma\text{N10C11C12}$ . Enquanto E15:812  $\text{cm}^{-1}$ , corresponde a movimentos no anel cloropiridíneo: *CH out-of-plane-17b* e *CCC in plane bending-6a*.

A banda experimental E20:943  $\text{cm}^{-1}$  é uma das mais intensas, na região de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 5.12). Essa banda foi associada às vibrações  $\delta\text{outC6H20}$  e estiramento ( $\nu$ ) de C11C12 ( $\nu\text{C11C12}$ ). A ilustração das vibrações atribuídas à banda E20 é mostrada na Figura 5.13. A banda E25:1053  $\text{cm}^{-1}$  é devido ao estiramento e balanço ( $\omega$ ) no anel imidazólico:  $\nu\text{aN10C11C12}$  e  $\omega\text{H24H25C11}$ ; ver ilustração das vibrações na Figura 5.13. As duas últimas bandas destacadas no espectro experimental em 1107  $\text{cm}^{-1}$  (E27) e 1148  $\text{cm}^{-1}$  (E29) descrevem movimentos no anel cloropiridíneo. A banda E27 corresponde aos movimentos Breathing-1 e deformação do grupo H19C3 no plano do anel cloropiridíneo ( $\delta\text{inH19C3}$ ); ilustração na Figura 5.13. No espectro teórico, a linha de absorção calculada C27 está situada à direita da banda mais intensa C26, onde aquela pode confundir-se com esta, isso porque as duas linhas de absorção estão quase que totalmente sobrepostas.

A banda experimental E29 refere-se a *CH in-plane bending*, mas apenas para os grupos H18C2 e H19C3 (Ilustração na Figura 5.13). Varsanyi (1969) descreveu as vibrações no anel benzênico e em estruturas derivadas.<sup>195</sup> Neste trabalho, quando apenas uma porção dos átomos do anel cloropiridíneo (derivado do benzeno) possui uma vibração que é semelhante as descritas no trabalho de Varsanyi, os átomos que fazem parte da vibração são destacados entre colchetes. Por exemplo, para o modo E29, a expressão *CH in-plane bending* [H18C2; H19C3] significa que apenas os grupos H12C2 e H19C3 fazem o movimento descrito por *CH in-plane bending* (Tabela 5.3). O modo E29 também apresentam a torção  $\tau\text{H21H22C7}$ .

No espectro experimental Raman que vai de 400 a 1200  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 5.12), à banda E4:476  $\text{cm}^{-1}$ , atribuiu-se às vibrações de oscilação ( $\rho$ ) do grupo H21H22C7 e anel imidazole:  $\rho\text{H21H22C7}$  e  $\rho[\text{imidazole}]$  (Tabela 5.3). À banda experimental E7:633  $\text{cm}^{-1}$ , atribuiu-se às vibrações  $\sigma\text{N8C1C7}$  e *CCC out-of-plane bending-16b* (ilustração na Figura 5.14). As bandas E12: 753  $\text{cm}^{-1}$ , E15:816  $\text{cm}^{-1}$  e E16:830  $\text{cm}^{-1}$  estão relacionadas principalmente às vibrações do anel cloropiridíneo. E12 foi identificada como *CCC puckering-4* e  $\sigma\text{N14O15O16}$ , E15 equivale a *CH out-of-plane-17b* e *CCC in plane bending-6a* (ilustração na Figura 5.14), enquanto que E16 é devido às vibrações *CH out-of-plane-17b* e  $\sigma\text{N10N13C9}$ .

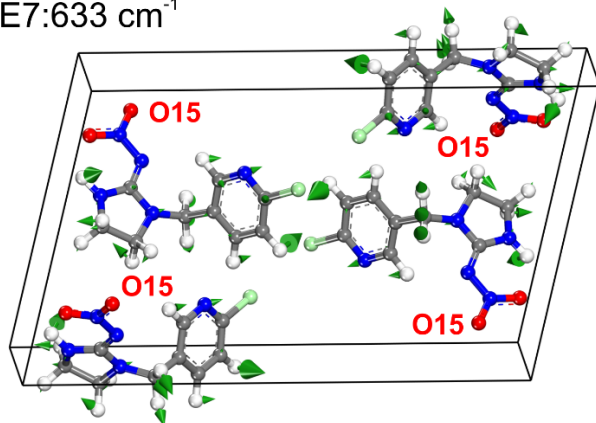
Figura 5.13 - Ilustração das vibrações de infravermelho calculadas para o cristal do imidacloprido. As vibrações calculadas foram atribuídas às bandas experimentais de absorção, medidas na faixa de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ .



Notas: (F): vibração forte; (m): vibração média; (f): vibração fraca; O15: átomo de oxigênio O15.

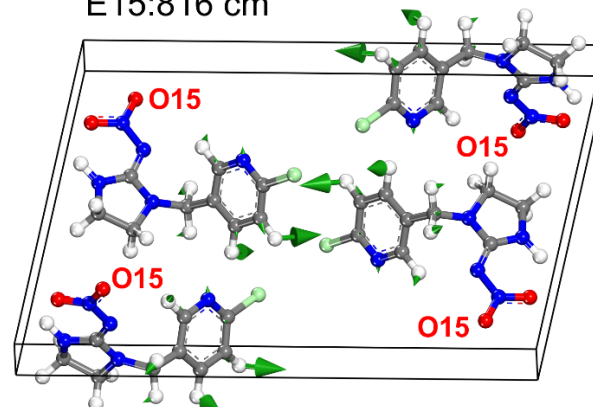
Figura 5.14 - Ilustração das vibrações Raman calculadas para o cristal do imidacloprido. As vibrações calculadas foram atribuídas às bandas experimentais de espalhamento, medidas na faixa de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ .

E7:633  $\text{cm}^{-1}$



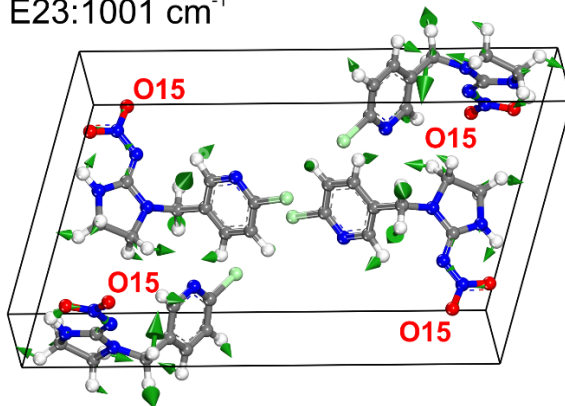
C7:CCC out of plane bending-16b (m),  
 $\sigma$ N8C1C7 (m)

E15:816  $\text{cm}^{-1}$



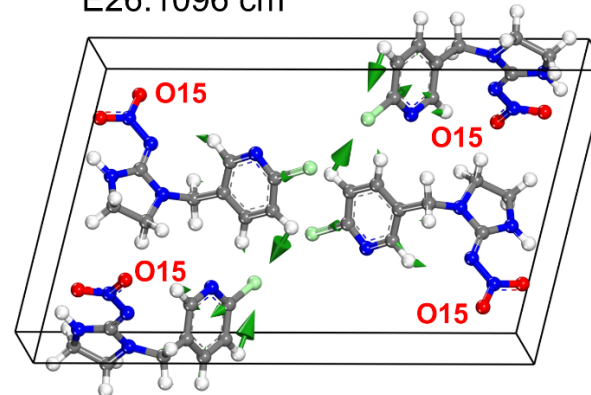
C15:CH out-of-plane-17b (F),  
CCC in plane bending-6a (f)

E23:1001  $\text{cm}^{-1}$



C23: $\nu$ N13N14 (F),  $\nu$ sN8N10C11C12 (m)

E26:1096  $\text{cm}^{-1}$



C26:Breathing-1 (F),  $\delta$ inH19C3 (F)

Notas: (F): vibração forte; (m): vibração média; (f): vibração fraca; O15: átomo de oxigênio O15.

A banda E18:886  $\text{cm}^{-1}$  está relacionada à oscilação nos grupos metilênicos do anel imidazole ( $\rho\text{H}24\text{H}25\text{C}11$  e  $\rho\text{H}26\text{H}27\text{C}12$ ). Na banda experimental E21:960  $\text{cm}^{-1}$ , predomina as vibrações  $\nu\text{C}11\text{C}12$  e o dobramento  $\beta\text{H}26\text{H}27\text{C}12$ . À banda E23:1001  $\text{cm}^{-1}$ , atribuiu-se os estiramentos  $\nu\text{N}13\text{N}14$  e  $\nu\text{S}\text{N}8\text{N}10\text{C}11\text{C}12$  (ilustração na Figura 5.14). Ambas as absorções experimentais E26:1096  $\text{cm}^{-1}$  e E27: 1110  $\text{cm}^{-1}$  foram identificadas como *Breathing-1* e  $\delta\text{inH}19\text{C}3$  (ilustração na Figura 5.14).

### 5.6.2 Espectros vibracionais na faixa de 1200-2000 $\text{cm}^{-1}$

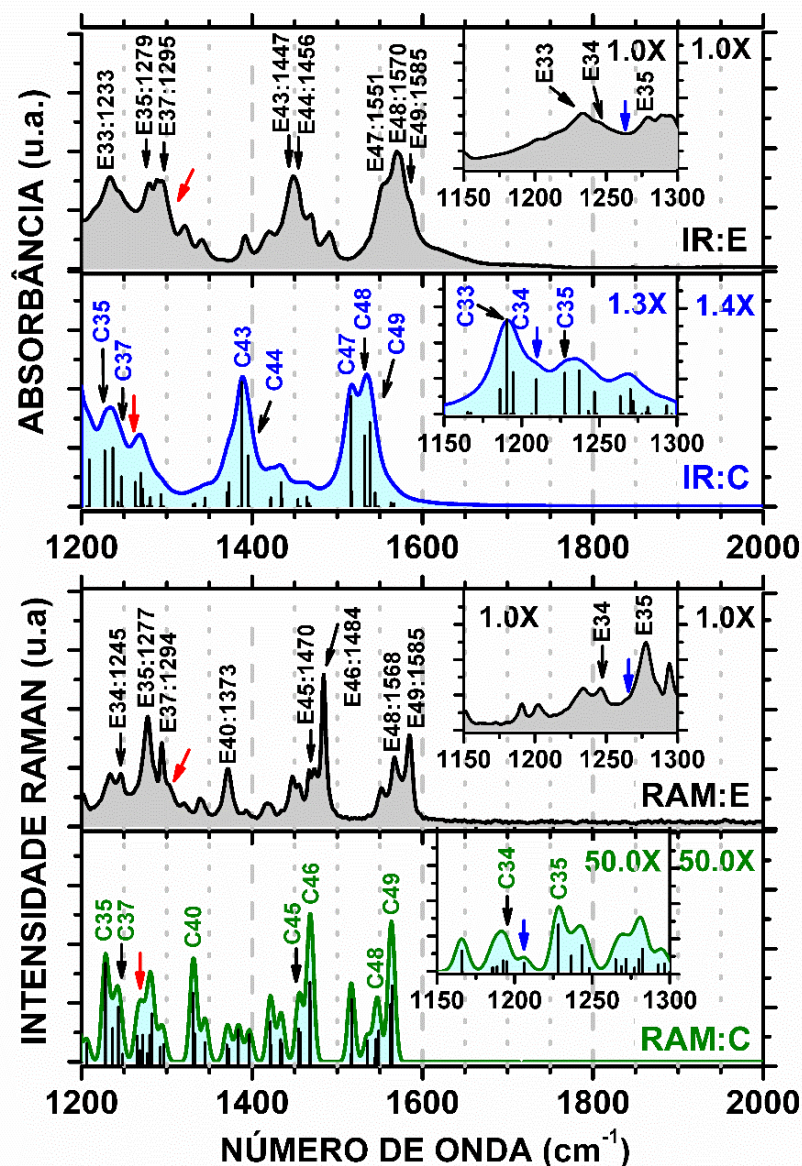
As principais bandas de absorção do espectro experimental de infravermelho (IR: E) do imidacloprido na faixa de 1200-2000  $\text{cm}^{-1}$  estão destacadas no gráfico do topo da Figura 5.15. Também são mostrados o espectro teórico de infravermelho (IR:C) e as bandas de absorção teóricas que foram relacionadas às bandas experimentais (Figura 5.15).

As principais vibrações relacionadas às bandas E33:1233  $\text{cm}^{-1}$  e E35: 1279  $\text{cm}^{-1}$  são devido aos estiramentos das ligações no grupo nitroguanidina (Tabela 5.4). À banda E33, atribuiu-se à vibração  $\nu\text{a}\text{N}13\text{N}14\text{C}9$  e  $\nu\text{C}1\text{C}7$ ; a ilustração das vibrações do modo E33 é mostrada na Figura 5.16. Já a banda E35 foi identificada pelos movimentos  $\nu\text{a}\text{N}13\text{N}14\text{O}15\text{O}16$  e  $\nu\text{N}8\text{C}7$ . Na banda de absorção experimental E37:1295  $\text{cm}^{-1}$  prevalecem as vibrações  $\tau\text{H}21\text{H}22\text{C}7$  e  $\nu\text{a}\text{N}8\text{C}7\text{C}12$  (ver ilustração na Figura 5.16). Entre as bandas E35 e E37 existe uma outra absorção intensa, nomeada por E36:1288  $\text{cm}^{-1}$ , essa absorção corresponde a  $\nu\text{a}\text{N}13\text{N}14\text{C}9$  e  $\nu\text{S}\text{N}10\text{N}13\text{C}9$  (não mostrada na Figura 5.15; ver Apêndice A3, Figura A3.5). As três bandas E35, E36 e E37 são muito próximas, com uma diferença de apenas 16  $\text{cm}^{-1}$  quando considerado o maior e o menor valor de frequência. Apesar disso, as bandas E35, E36 e E37 possuem várias vibrações diferentes. A existência de muitas vibrações em uma pequena faixa de números de onda demonstra que é inviável fazer a tentativa de atribuição de bandas experimentais sem o suporte de dados teóricos.

É possível perceber, no espectro de infravermelho (Raman) experimental da Figura 5.15, que há uma banda de absorção (espalhamento) à direita da banda E37, identificada com uma seta na cor vermelha; os espectros Raman serão discutidos posteriormente. Essa banda localiza-se aproximadamente em 1300  $\text{cm}^{-1}$  no espectro de infravermelho experimental e pode ser associada à absorção teórica situada em 1263,27  $\text{cm}^{-1}$ , denominada pelo símbolo  $\text{C}37\ddagger$  no Apêndice A2 (Tabelas A2.13 e A2.16). Na linha de absorção teórica  $\text{C}37\ddagger$ , prevalecem as vibrações  $\tau\text{H}21\text{H}22\text{C}7$  e *CCC stretching (kekulé)-14*. A absorção experimental situada à direita

de E37 não pôde ser identificada pela comparação entre o espectro experimental e o espectro calculado para a molécula isolada (seção 4.3.3).

Figura 5.15 - Espectros vibracionais do imidacloprido na faixa de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ : infravermelho experimental (IR: E); infravermelho teórico do cristal (IR: C); Raman experimental (RAM: E) e Raman teórico do cristal (RAM: C).



Fonte: elaborada pelo autor.

As bandas E43:1447  $\text{cm}^{-1}$  e E44:1456  $\text{cm}^{-1}$  são duas absorções muito próximas e sobrepostas. Na absorção E43 prevalecem os estiramentos  $\text{vaN14O15O16}$  e  $\text{vaN8N13C9}$ ; ver ilustração dessa vibração na Figura 5.16. A absorção experimental E44 foi relacionada aos estiramentos  $\text{vaN14O15O16}$  e  $\text{vaN8N10N13C9}$ . Com uma diferença de apenas 34  $\text{cm}^{-1}$ , as três

absorções E47:1551  $\text{cm}^{-1}$ , E48:1570  $\text{cm}^{-1}$  e E49:1585  $\text{cm}^{-1}$  possuem diferentes vibrações. A banda E47, atribuiu-se as vibrações  $\sigma\text{H26H27C12}$  e  $\nu\text{N8C9}$ . Em E48 prevalece as vibrações  $\sigma\text{H24H25C11}$  e  $\nu\text{N10N13C9}$  (ilustração na Figura 5.16). Já a banda E49 é constituída pelas vibrações  $\sigma\text{H24H25C11}$  e  $\nu\text{N10N13C9}$ . As vibrações descritas anteriormente para as absorções de infravermelho das bandas E47, E48 e E49 foram apenas as duas mais relevantes (para facilitar a discussão), destacadas na Tabela 5.4. No entanto, todas as vibrações que foram identificadas estão disponíveis no Apêndice A2 (Tabelas A2.15-A2.17).

Tabela 5.4 - Atribuição das bandas experimentais de absorção (espalhamento) no infravermelho (Raman), na faixa de 1200-2000  $\text{cm}^{-1}$ , de acordo com os espectros do imidacloprido calculados com o funcional GGA e PBE mais a correção de dispersão TS, modelo de solvatação COSMO.

M	IR/RAM	$\omega_E$	$\omega_T$	Atribuição
C33	IR	1233	1190,13	$\nu\text{N13N14C9}$ (m), $\nu\text{C1C7}$ (m)
	RAM	1232	1192,56	$\nu\text{N13N14C9}$ (m), $\nu\text{C1C7}$ (m)
C34	IR	1243	1194,50	$\nu\text{N8C1C7}$ (F), <i>CH in-plane bending</i> (m)
	RAM	1245	1195,03	$\nu\text{N8C1C7}$ (F), <i>CH in-plane bending</i> (m)
C35	IR	1279	1227,47	$\nu\text{N8C7}$ (F), $\nu\text{N13N14O15O16}$ (m)
	RAM	1277	1228,14	$\nu\text{N8C7}$ (F), $\nu\text{N13N14O15O16}$ (m)
C37	IR	1295	1246,56	$\tau\text{H21H22C7}$ (F), $\nu\text{N8C7C12}$ (m)
	RAM	1294	1243,33	$\tau\text{H26H27C12}$ (F), $\nu\text{N13N14C9}$ (m)
C40	IR	1366	1332,76	$\omega\text{H21H22C7}$ (F), $\nu\text{C11C12}$ (m)
	RAM	1373	1330,98	$\omega\text{H21H22C7}$ (F), $\nu\text{C11C12}$ (m)
C43	IR	1447	1388,13	$\nu\text{N14O15O16}$ (F), $\nu\text{N8N13C9}$ (m)
	RAM	1447	1421,61	$\sigma\text{H21H22C7}$ (F), <i>CC stretching-19a</i> (f)
C44	IR	1456	1395,73	$\nu\text{N14O15O16}$ (F), $\nu\text{N8N10N13C9}$ (f)
	RAM	1456	1433,68	$\sigma\text{H21H22C7}$ (F), <i>CC stretching-19a</i> (f)
C45	IR	1470	1434,37	$\sigma\text{H21H22C7}$ (F), <i>CC stretching-19a</i> (f)
	RAM	1470	1456,97	$\sigma\text{H24H25C11}$ (F), $\sigma\text{H26H27C12}$ (F)
C46	IR	1491	1464,74	$\sigma\text{H24H25C11}$ (F), $\sigma\text{H26H27C12}$ (F)
	RAM	1484	1468,04	$\sigma\text{H24H25C11}$ (F), $\nu\text{N10N13C9}$ (F)
C47	IR	1551	1515,86	$\sigma\text{H26H27C12}$ (F), $\nu\text{N8C9}$ (F)
	RAM	1552	1516,69	$\sigma\text{H26H27C12}$ (F), $\nu\text{N8N13C9}$ (F)
C48	IR	1570	1532,31	$\sigma\text{H24H25C11}$ (F), $\nu\text{N10N13C9}$ (F)
	RAM	1568	1548,79	$\sigma\text{H24H25C11}$ (F), $\nu\text{N10N13C9}$ (F)
C49	IR	1585	1538,33	$\sigma\text{H24H25C11}$ (F), $\nu\text{N10N13C9}$ (F)
	RAM	1585	1564,40	<i>CH in-plane bending-9a</i> (F)

Fonte: elaborada pelo autor.

Notas: M: modo; IR: infravermelho; RAM: Raman; (F): forte intensidade; (m): média intensidade; (f): fraca intensidade;  $\nu$ : estiramento;  $s$ : simétrico;  $a$ : antissimétrico;  $\tau$ : torção (dobramento de três átomos);  $\omega$ : balanço;  $\sigma$ : tesoura;  $\omega_E$ : frequência experimental;  $\omega_T$ : frequência teórica.

É comum o uso de tabelas que relacionam, de maneira genérica, frequências de absorção com determinadas vibrações. Por exemplo, quando há a afirmação, sem o suporte de dados teóricos, de que existe dobramento (ou estiramentos) de grupos metilênicos CH<sub>2</sub> em uma determinada frequência de absorção, subentende-se que todos os grupos metilênicos da molécula - ou de uma região quimicamente semelhante - vibrem naquela frequência. Entretanto, observou-se que na absorção E47, embora os grupos metilênicos H<sub>24</sub>H<sub>25</sub>C<sub>11</sub> e H<sub>26</sub>H<sub>27</sub>C<sub>12</sub> sejam semelhantes e próximos, o grupo H<sub>26</sub>H<sub>27</sub>C<sub>12</sub> vibra com forte deslocamento atômico, enquanto que o grupo H<sub>24</sub>H<sub>25</sub>C<sub>12</sub> vibra com pequeno deslocamento atômico (Apêndice A2; Tabela A2.17). Já na absorção E49, apenas o grupo H<sub>24</sub>H<sub>25</sub>C<sub>11</sub> vibra, entre os grupos metilênicos. Esse resultado também não pode ser previsto sem o suporte de dados teóricos. Isso demonstra a importância dos cálculos teóricos para auxiliar a identificação dos tipos de vibrações existentes nas bandas experimentais de absorção.

Os espectros Raman experimental (RAM: E) e teórico (RAM: C) do imidacloprido, na faixa de 1200-200 cm<sup>-1</sup>, são mostrados na porção inferior da Figura 5.15. As bandas experimentais mais relevantes foram destacadas no espectro experimental e identificadas de acordo com as linhas teóricas calculadas (Tabela 5.4).

Na banda experimental E34:1245 cm<sup>-1</sup>, as vibrações destacadas são  $\nu_{\text{N8C1C7}}$  e *CH in-plane bending*. A banda E35:1277 cm<sup>-1</sup> é constituída pelos estiramentos  $\nu_{\text{N8C7}}$  e  $\nu_{\text{N13N14O15O16}}$  (ilustração na Figura 5.17).

As linhas calculadas do espectro Raman teórico indicam que há, no espectro experimental, uma banda de espalhamento situada entre as bandas E34 e E35 (ver setas na cor azul na Figura 5.15). Nas Tabelas do Apêndice A2 (Tabelas A2.13 e A2.16), essa banda intercalada entre as bandas E34 e E35 foi identificada pelo símbolo C34†. As vibrações mais relevantes da banda teórica C34† foram  $\nu_{\text{N13N14C9}}$  e  $\nu_{\text{N13N14O15O16}}$ .

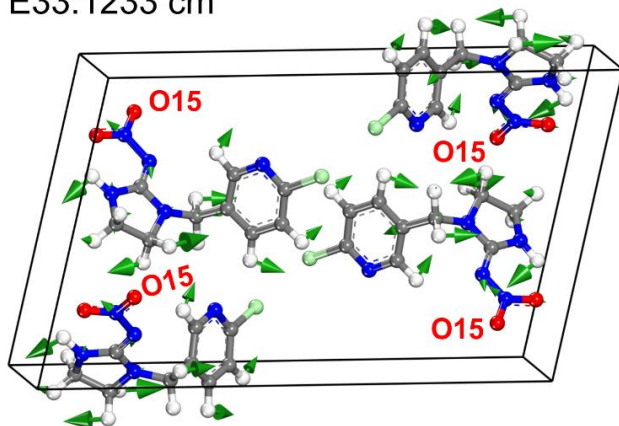
Na banda E37:1294 cm<sup>-1</sup>, prevaleceram as vibrações de torção e estiramento:  $\tau_{\text{H26H27C12}}$  e  $\nu_{\text{N13N14C9}}$ . À banda E40:1373 cm<sup>-1</sup>, atribuiu-se às vibrações  $\omega_{\text{H21H22C7}}$  e  $\nu_{\text{C11C12}}$  (ilustração na Figura 5.17).

Observou-se que o perfil das bandas E34, E35, E37 e E40 tiveram uma boa descrição pelo perfil das absorções teóricas C34, C35, C37 e C40 (Figura 5.15). Entretanto, o perfil das bandas do espectro experimental situadas entre as bandas E37 e E40 não foi bem representado pelo perfil das bandas do espectro teórico. A correlação entre as bandas teóricas e experimentais é melhor visualizada no Apêndice A3, Figura A3.5.



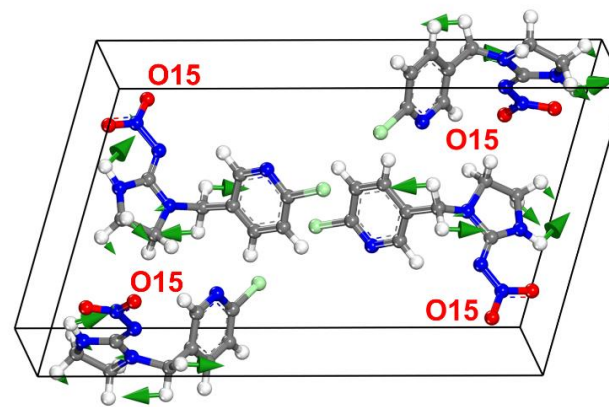
Figura 5.16 - Ilustração das vibrações de infravermelho calculadas para o cristal do imidacloprido. As vibrações calculadas foram atribuídas às bandas experimentais de absorção, medidas na faixa de 1200-2000  $\text{cm}^{-1}$ .

E33:1233  $\text{cm}^{-1}$



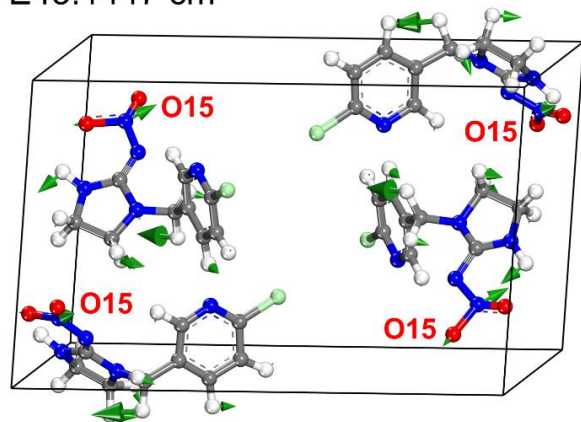
C33:vaN13N14C9 (m), vC1C7 (m)

E37:1295  $\text{cm}^{-1}$



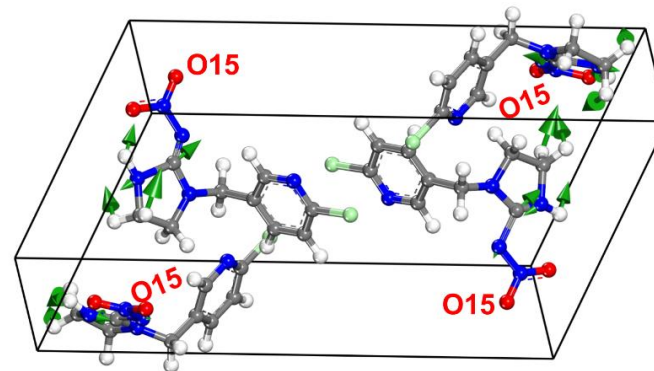
C37: $\tau$ H21H22C7 (F), vaN8C7C12 (m)

E43:1447  $\text{cm}^{-1}$



C43:vaN14O15O16 (F), vaN8N13C9 (m)

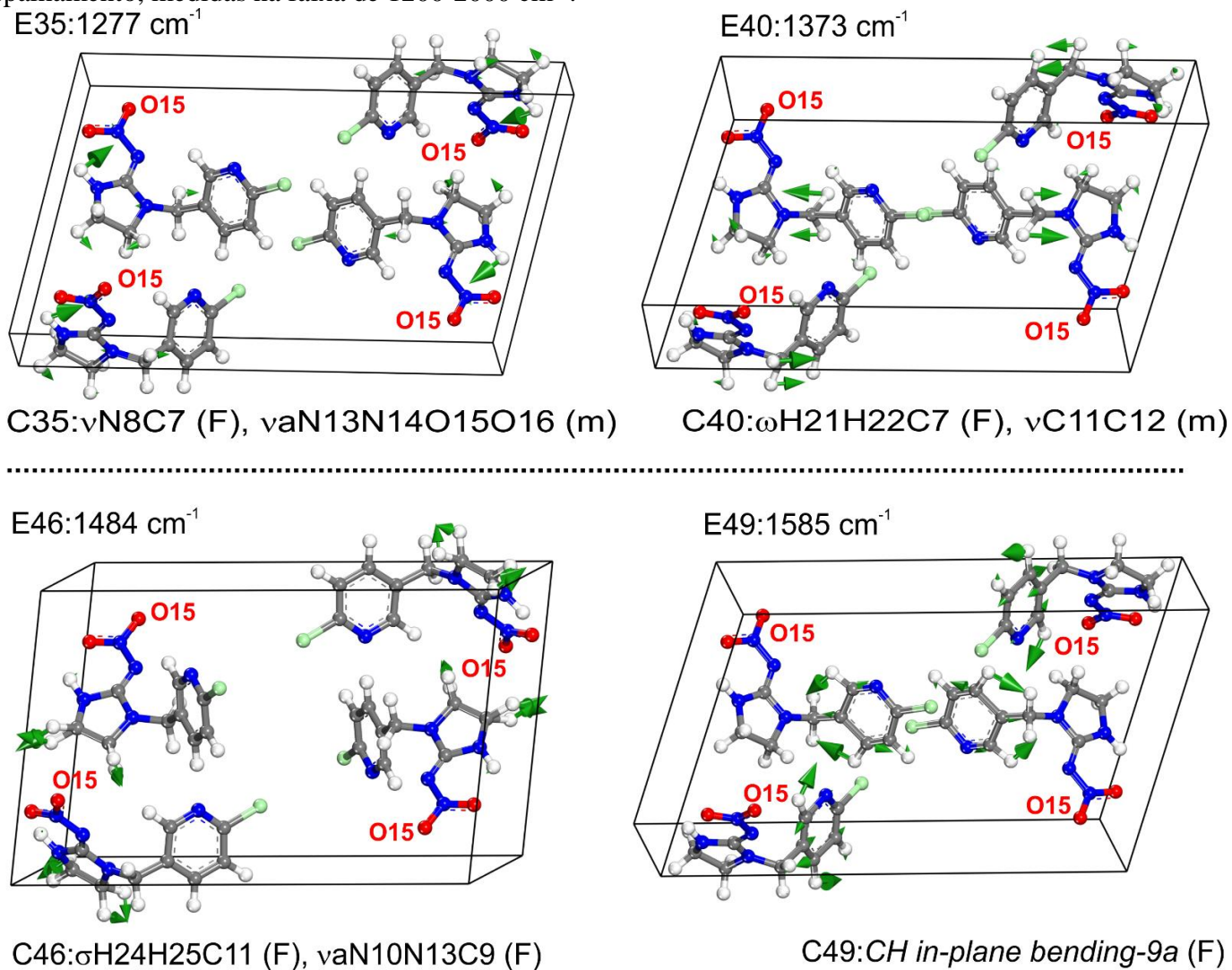
E48:1570  $\text{cm}^{-1}$



C48: $\sigma$ H24H25C11 (F), vaN10N13C9 (F)

Notas: (F): vibração forte; (m): vibração média; (f): vibração fraca; O15: átomo de oxigênio O15.

Figura 5.17 - Ilustração das vibrações Raman calculadas para o cristal do imidacloprido. As vibrações calculadas foram atribuídas às bandas experimentais de espalhamento, medidas na faixa de 1200-2000  $\text{cm}^{-1}$ .



Notas: (F): vibração forte; (m): vibração média; (f): vibração fraca; O15: átomo de oxigênio O15.

As principais vibrações relacionadas à banda experimental E45:1470  $\text{cm}^{-1}$  são os dobramentos denominados tesoura:  $\sigma\text{H24H25C11}$  e  $\sigma\text{H26H27C12}$  (Tabela 5.4). Nas bandas experimentais E46:1484  $\text{cm}^{-1}$  e E48:1568  $\text{cm}^{-1}$ , as vibrações mais relevantes são  $\sigma\text{H24H25C11}$  e  $\nu\text{aN10N13C9}$ ; a Figura 5.17 mostra a ilustração das vibrações atribuídas a E46. Na banda Raman E49: 1585  $\text{cm}^{-1}$  destacam-se os movimentos no anel cloropiridíneo, isto é, *CH in-plane bending-9a* (ver ilustração na Figura 5.17). Para cada vibração mencionada na faixa de 1200-2000  $\text{cm}^{-1}$ , existem outras vibrações menos relevantes que podem ser consultadas no Apêndice A2 (Tabelas A2.15-A2.17).

### 5.6.3 Espectros vibracionais na faixa de 2800-3600 $\text{cm}^{-1}$

Os modos de vibração mais intensos no espectro de infravermelho experimental (IR: E), na faixa de 2800-3600  $\text{cm}^{-1}$ , são mostrados no topo da Figura 5.18. Em seguida, tem-se o espectro de infravermelho teórico do cristal (IR: C), cujas linhas de absorção foram atribuídas às bandas do espectro experimental. Já a Tabela 5.5 traz a descrição das linhas espectrais que foram atribuídas às bandas experimentais.

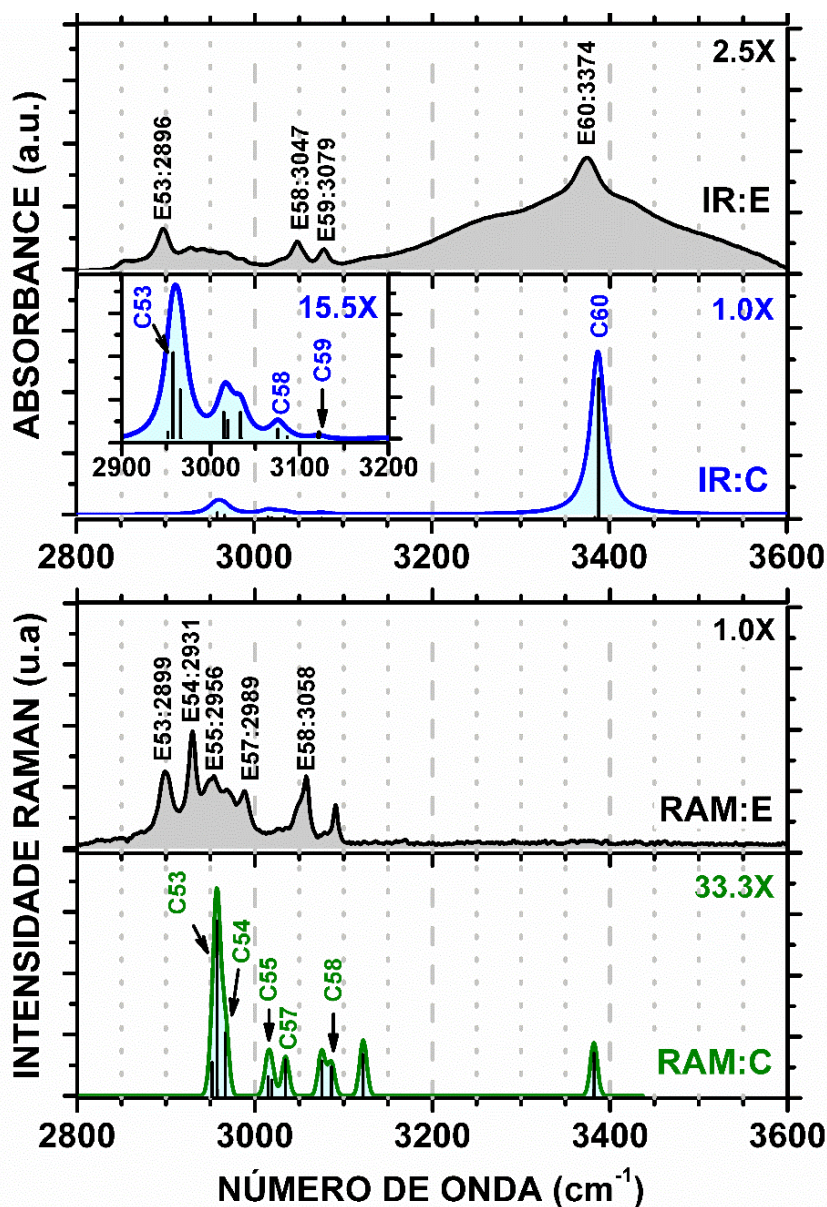
Tabela 5.5 - Atribuição das bandas experimentais de absorção (espalhamento) no infravermelho (Raman), na faixa de 2800-3600  $\text{cm}^{-1}$ , de acordo com os espectros do imidacloprido calculados com o funcional GGA e PBE mais a correção de dispersão TS, modelo de solvatação COSMO.

M	IR/RAM	$\omega_E$	$\omega_T$	Atribuição
C53	IR	2896	2957,64	$\nu\text{sH26H27C12}$ (F)
	RAM	2899	2957,66	$\nu\text{sH26H27C12}$ (F)
C54	IR	2928	2966,12	$\nu\text{sH24H25C11}$ (F), $\nu\text{sH26H27C12}$ (f)
	RAM	2931	2966,65	$\nu\text{sH24H25C11}$ (F), $\nu\text{sH26H27C12}$ (f)
C55	IR	2944	3014,69	$\nu\text{aH26H27C12}$ (F), $\nu\text{H24C11}$ (f), $\nu\text{H22C7}$ (f)
	RAM	2956	3014,83	$\nu\text{aH26H27C12}$ (F), $\nu\text{H24C11}$ (f), $\nu\text{H22C7}$ (f)
C57	IR	2987	3033,58	$\nu\text{aH24H25C11}$ (F), $\nu\text{aH26H27C12}$ (f)
	RAM	2989	3034,68	$\nu\text{aH24H25C11}$ (F), $\nu\text{aH26H27C12}$ (f)
C58	IR	3047	3075,46	$\nu\text{H20C6}$ (F)
	RAM	3058	3075,49	$\nu\text{H20C6}$ (F)
C59	IR	3079	3121,46	$\nu\text{H19C3}$ (F)
	RAM	3093	3122,22	$\nu\text{H19C3}$ (F)
C60	IR	3374	3387,19	$\nu\text{H23N10}$ (F)
	RAM	-	3382,02	$\nu\text{H23N10}$ (F)

Fonte: elaborada pelo autor.

Notas: M: modo; IR: infravermelho; RAM: Raman; (F): forte intensidade; (m): média intensidade; (f): fraca intensidade;  $\nu$ : estiramento; a: antissimétrico; s: simétrico;  $\omega_E$ : frequência experimental;  $\omega_T$ : frequência teórica.

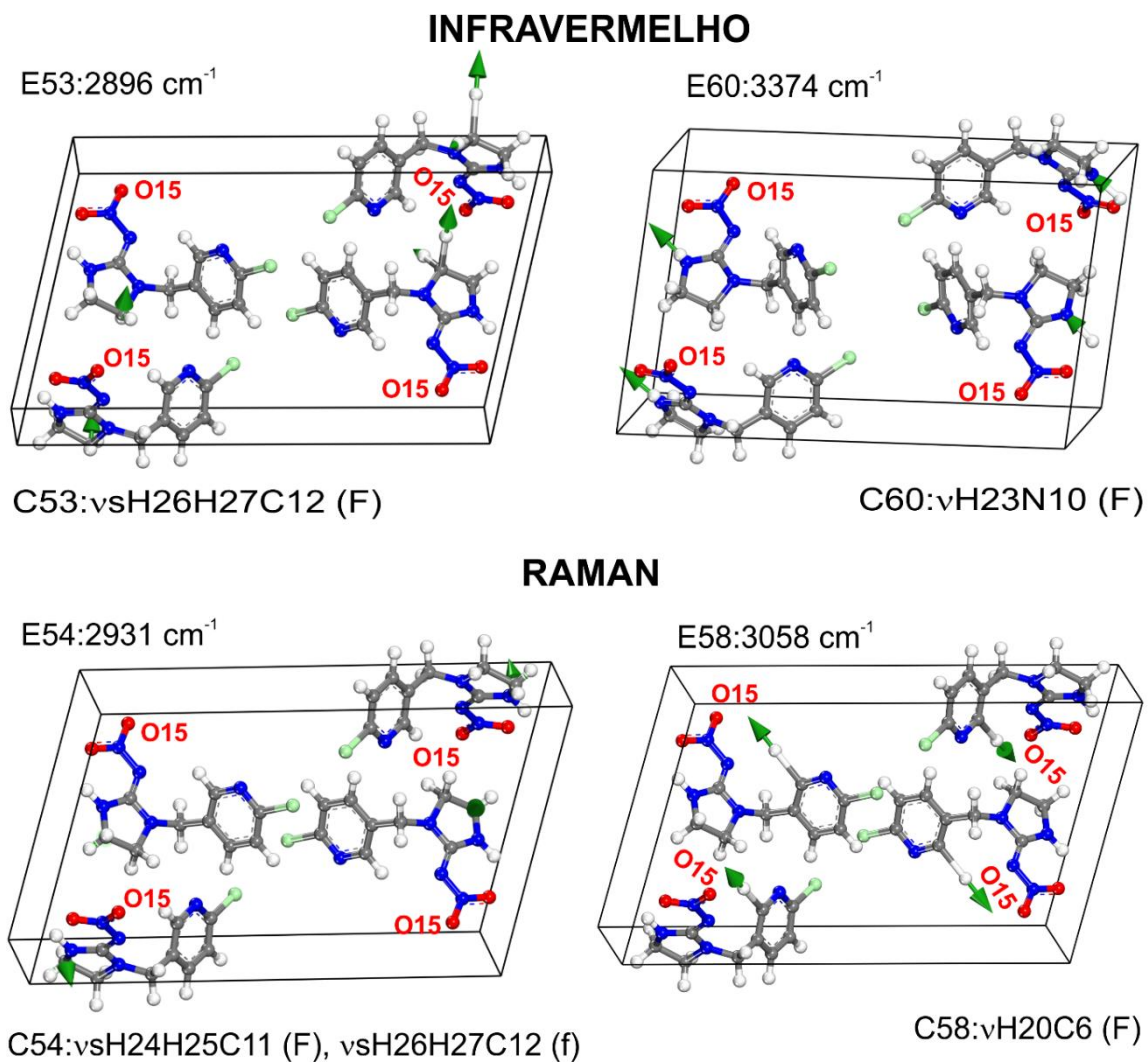
Figura 5.18 - Espectros vibracionais do imidacloprido na faixa de 2800-3600  $\text{cm}^{-1}$ : infravermelho experimental (IR: E); infravermelho teórico do cristal (IR: C); Raman experimental (RAM: E) e Raman teórico do cristal (RAM: C).



Fonte: elaborada pelo autor.

Nota-se que na região de altas frequências (maiores números de onda), as bandas de absorção experimental no infravermelho estão associadas a uma ou poucas vibrações (ver Apêndice A2, Tabelas A2.15-A2.17). Por exemplo, a banda E53:2896  $\text{cm}^{-1}$  corresponde à  $\nu\text{S}_{\text{H}26\text{H}27\text{C}12}$  (Tabela 5.5); a ilustração dessa vibração é mostrada na Figura 5.19. À banda E58:3047  $\text{cm}^{-1}$ , atribuiu-se o movimento de estiramento  $\nu\text{H}_{20\text{C}6}$ . E59:3079  $\text{cm}^{-1}$  foi associada ao estiramento  $\nu\text{H}_{19\text{C}3}$ .

Figura 5.19 - Ilustração das vibrações Raman calculadas para o cristal do imidacloprido. As vibrações calculadas foram atribuídas às bandas experimentais de espalhamento, medidas na faixa de 2800-3600  $\text{cm}^{-1}$ .



Notas: (F): vibração forte; (m): vibração média; (f): vibração fraca; O15: átomo de oxigênio O15.

A banda larga  $E_{60}:3374\text{ cm}^{-1}$  é gerada por absorção no infravermelho devido ao estiramento da ligação H23N10 (ilustração na Figura 5.19). Essa banda larga do espectro experimental é constituída, provavelmente, de uma série de absorções do grupo H23N10 com energias ligeiramente diferentes, que surgem como consequência das interações entre as moléculas do imidacloprido no composto em pó. No espectro de infravermelho teórico do cristal, apenas a linha de absorção C60 foi obtida como resultado do estiramento da ligação H23N10. Isso porque as moléculas do imidacloprido no cristal estão sujeitas a maiores restrições do que as moléculas do imidacloprido no estado de microcristais.

A porção inferior da Figura 5.18 mostra os principais modos de vibração do espectro experimental Raman (RAM: E) e os respectivos modos do espectro teórico do cristal do imidacloprido (RAM: C) que foram atribuídos aos modos experimentais. Ambos os modos experimentais  $E_{53}:2899\text{ cm}^{-1}$ ,  $E_{54}:2931\text{ cm}^{-1}$ ,  $E_{55}:2956\text{ cm}^{-1}$  e  $E_{57}:2989\text{ cm}^{-1}$  são gerados devido ao estiramento das ligações em grupos metilênicos (Tabela 5.5). Ao modo de maior intensidade, ou seja, ao modo E54, atribuiu-se às vibrações  $vsH_{24}H_{25}C_{11}$  e  $vsH_{26}H_{27}C_{12}$ . A ilustração das vibrações do modo E54 está exibida na porção inferior da Figura 5.19.

O modo E55 foi associado aos estiramentos  $vH_{24}C_{11}$ ,  $vaH_{26}H_{27}C_{12}$  e  $vH_{22}C_7$ . O modo E57 foi identificado pelas vibrações  $vaH_{24}H_{25}C_{11}$  e  $vaH_{26}H_{27}C_{12}$ . O modo  $E_{58}:3058\text{ cm}^{-1}$  é gerado pelo estiramento da ligação H20C6 (Tabela 5.5; ilustração na Figura 5.19). De acordo com o espectro Raman experimental, o modo 60 é inativo (E60), embora esse modo tenha sido calculado no espectro teórico do cristal (Figura 5.18), em  $3382,02\text{ cm}^{-1}$  (ver Tabela 5.5).

## 6 BIOQUÍMICA ESTRUTURAL DO IMIDACLOPRIDO

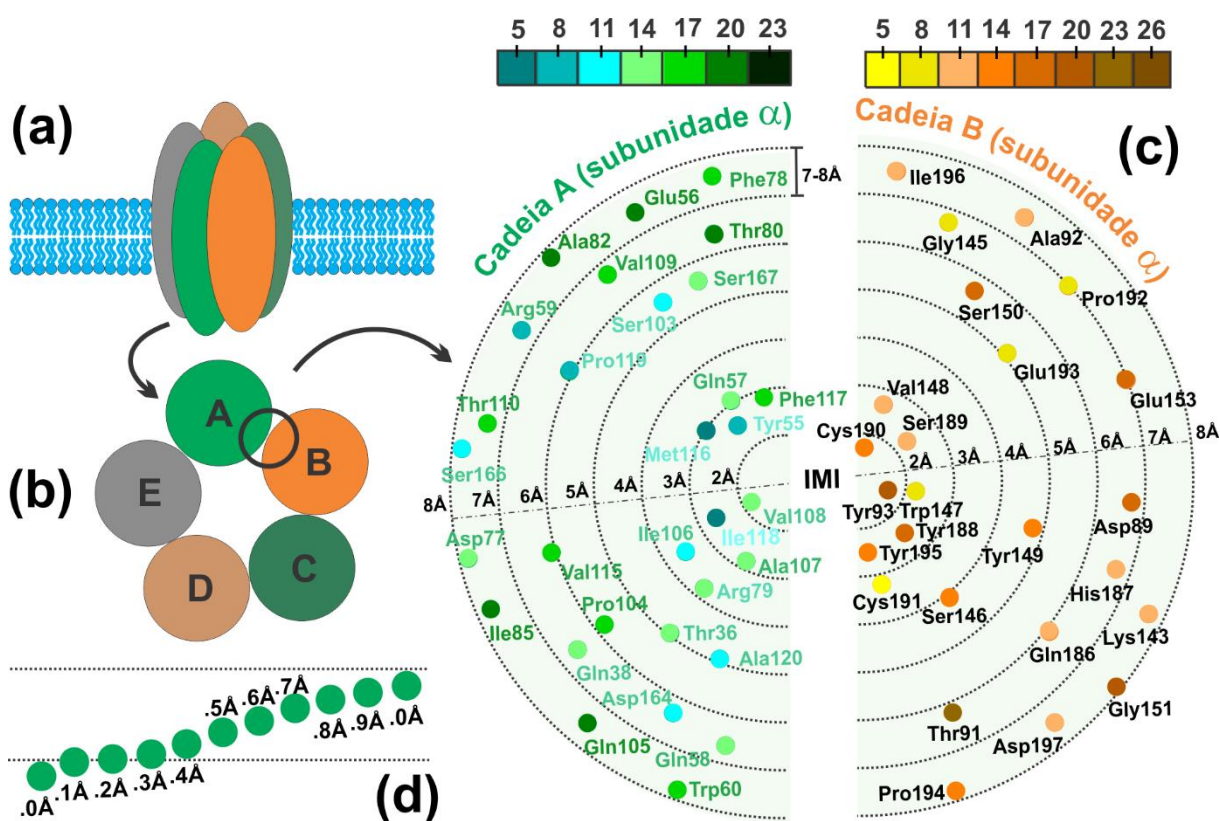
Existem limitações quanto à aplicação de métodos quânticos a sistemas constituídos por muitos átomos, por exemplo, moléculas de proteínas e ADN (ácido desoxirribonucleico). Por isso, neste trabalho, utilizou-se a técnica de fragmentação molecular com capas conjugadas para calcular a energia total de interação entre o imidacloprido e os resíduos de aminoácidos do domínio de ligação AChBP da lesma de água salgada *Aplysia californica*. Essa metodologia tem sido aplicada com eficácia em outros trabalhos.<sup>155-158,227,228</sup> No método MFCC, a energia total de interação é obtida pela soma das energias das interações individuais entre o ligante e os resíduos de aminoácidos. Isso possibilita a aplicação de métodos quânticos porque o sistema é dividido em partes menores. O método MFCC permite analisar a influência de cada resíduo na interação, por exemplo, se a interação é favorável ou não, a magnitude da interação, etc. A análise das interações individuais dos resíduos torna possível a modificação racional do ligante e o desenvolvimento de novas substâncias, visando potencializar a interação, a seletividade ou ambos; na farmacologia, esse modo de desenvolvimento de substâncias é conhecido como *Drug Design*.

### 6.1 Energia total de interação entre o imidacloprido e o domínio AChBP

As energias de interação entre ligantes e resíduos de proteínas alvo são calculadas, geralmente, utilizando um valor fixo de permissividade relativa ou constante dielétrica ( $\epsilon$ ). Diferentes valores de constante dielétrica foram usados em diferentes estudos para representar a proteína no meio da solução, isso porque  $\epsilon$  varia de acordo com o meio: natureza dos resíduos de aminoácidos, distribuição dos resíduos, solvatação, etc. Por exemplo, alguns autores utilizaram valores mais baixos ( $\epsilon=1$  e  $\epsilon=2$ ),<sup>139-142</sup> outros autores empregaram valores intermediários ( $\epsilon=8$ ,  $\epsilon=10$ ,  $\epsilon=11$ ,  $\epsilon=20$ ),<sup>143-146</sup> e também valores mais altos ( $\epsilon=40$ ).<sup>142,147</sup> Entretanto, o valor  $\epsilon=4$  é mais comumente utilizado.<sup>142,146</sup> Li et al. (2013) afirmam que a porção constituída somente por moléculas de água é melhor representada por uma constante dielétrica em torno de 80.<sup>142</sup> Regiões da proteína que possuem resíduos carregados e não carregados são melhor descritas por  $\epsilon=8$  a  $\epsilon=20$ , já as cavidades da proteína com resíduos hidrofóbicos são melhor reproduzidas por  $\epsilon=4$ . Neste trabalho, o valor da constante dielétrica foi calculado levando em consideração os resíduos de aminoácidos - desde o ligante imidacloprido até uma extensão de 8 Å a partir do ligante -, a distribuição dos resíduos e o meio de solvatação; utilizou-se o modelo COSMO de solvatação

implícita (*Conductor-like Screening Model*),<sup>153</sup> implementado no código Dmol<sup>3</sup> da suíte Materials Studio.

Figura 6.1 - Distribuição dos valores da constante dielétrica nas diferentes regiões do receptor AChBP do organismo *Aplysia californica*, a uma distância de até 8 Å a partir do imidacloprido. (a) representação esquemática do receptor na membrana; (b) vista superior do receptor mostrado; (c) distribuição dos resíduos no receptor e distribuição da permissividade em escala de cores (em função da distância); (d) escala decimal da distância dos resíduos localizados entre duas esferas concêntricas (delimitadas por raios inteiros).



Fonte: elaborada pelo autor.

A Figura 6.1 (a) mostra uma ilustração do receptor AChBP - do organismo *Aplysia californica* - na membrana celular; cada subunidade ou cadeia proteica é representada por uma cor, por exemplo, a cadeia A na cor verde e a cadeia B na cor laranja. Na Figura 6.1 (b) tem-se a ilustração da vista superior do receptor e do sítio de ligação (círculo na cor preta). Na porção (c) da Figura 6.1, a ilustração do receptor AChBP mostra o imidacloprido (IMI), no centro do sítio de ligação, a distribuição dos resíduos de aminoácidos - dentro da região delimitada por um raio de 8 Å a partir do imidacloprido -, e a distribuição da constante dielétrica inhomogênea  $\epsilon(r)$ , de acordo com o painel superior da escala de cores. Por exemplo, a cadeia A tem escala de cor que varia da cor ciano ( $\epsilon=5$ ) até a cor verde escura ( $\epsilon=23$ ) e constante dielétrica variando de



5,74 a 21,86 ( $\epsilon=5,74$ - $\epsilon=21,86$ ); a cadeia B tem escala de cor que vai da cor amarela ( $\epsilon=5$ ) até a cor laranja ( $\epsilon=26$ ) e constante dielétrica de 7,90 a 25,84 ( $\epsilon=7,90$ - $\epsilon=25,84$ ). A porção (d) da Figura 6.1 é a ilustração para a estimativa do valor decimal da distância de cada resíduo localizado entre duas esferas concêntricas, que são delimitadas por raios inteiros.

A variação da energia de interação entre o imidacloprido e os resíduos de aminoácidos do receptor AChBP - localizados na região delimitada por um raio de até 8 Å partir do imidacloprido -, é exibida na Figura 6.2. Em um primeiro momento, foram feitos cálculos das energias de interação em um **sistema de teste**, com o objetivo de encontrar qual sistema teórico representaria adequadamente o sistema real. Para isso, foram utilizados alguns funcionais e correções no escopo da teoria do funcional da densidade (Tabela 6.1): (1) GGA-PBE-TS-DNP; (2) GGA-PBE-GRIME-DNP; (3) GGA-PBE-GRIME-DNP+; (4) GGA-PBE-TS-TNP; (5) GGA-PW91-OBS-TNP; (6) LDA-PWC-OBS-DNP+. Nesse sistema de teste, considerou-se um valor fixo para a constante dielétrica, ou seja,  $\epsilon=40$ . O resultado para o sistema de teste é mostrado no gráfico da Figura 6.2 (a).

Tabela 6.1 - Sistema de teste: conjunto de aproximações utilizadas no escopo da teoria do funcional de densidade (DFT) para calcular a a energia de interação imidacloprido-AChBP.

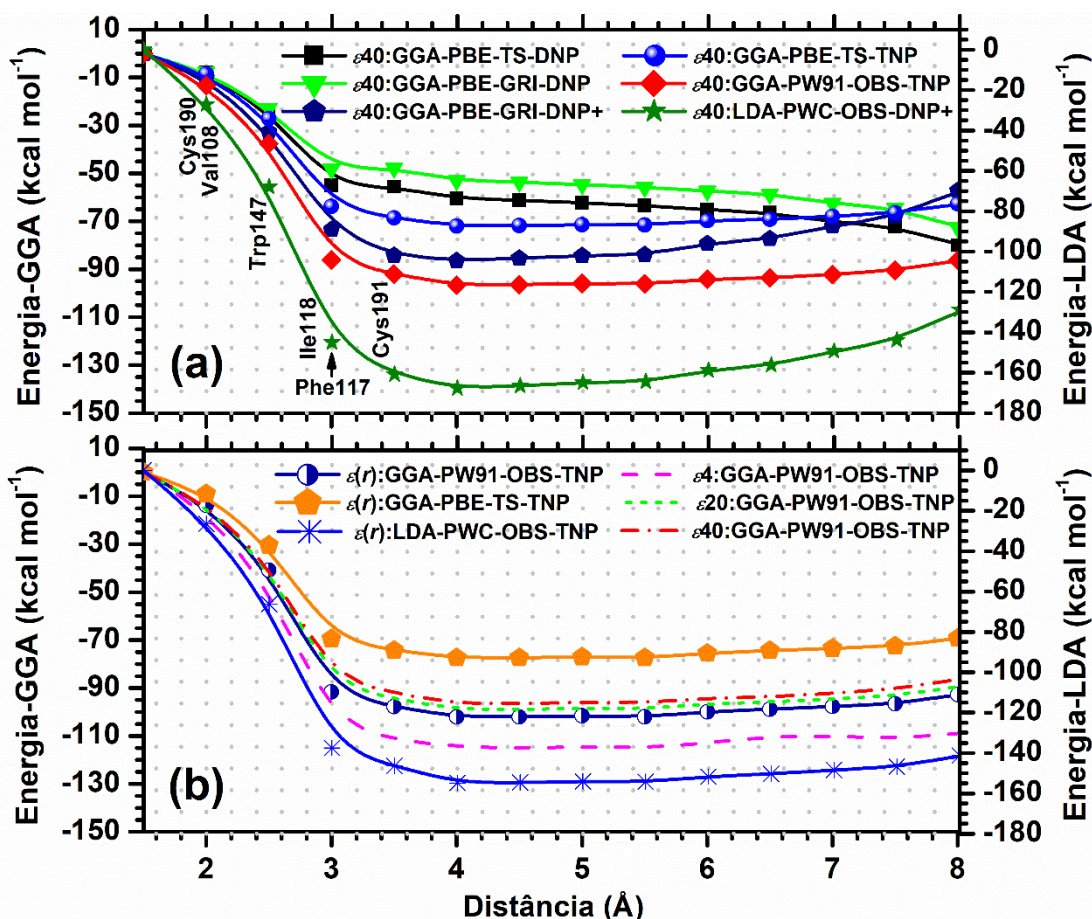
Sistema	$\epsilon=40$	Sistema	$\epsilon$ variável: $\epsilon = \epsilon(r)$
1	GGA-PBE-TS-DNP	8	GGA-PBE-TS-DNP
2	GGA-PBE-TS-DNP+	9	GGA-PBE-TS-DNP+
3	GGA-PBE-TS-TNP		
4	GGA-PBE-GRIME-DNP		
5	GGA-PBE-GRIME-DNP+		
6	GGA-PW91-OBS-TNP		
7	LDA-PWC-DNP+		

Fonte: elaborada pelo autor.

As curvas de energia total de interação calculadas com a constante dielétrica 40 ( $\epsilon=40$ ), utilizando diferentes modelos teóricos, tem perfil semelhante até aproximadamente 5,5 Å (Figura 6.2, a), mas as intensidades de interação variam muito entre esses modelos. A maior variação da energia ocorre para os resíduos próximos ao imidacloprido, até aproximadamente 3,5 Å. Nessa faixa, os resíduos (distâncias dos resíduos) da cadeia A são Val108 (2,0 Å), Tyr55 (2,7 Å), Ile118 (2,8 Å), Ala107 (3,0 Å), Phe117 (3,0 Å), Met116 (3,2 Å) e Gln57 (3,3 Å). Enquanto que os resíduos (distâncias) da cadeia B são Tyr93 (1,8 Å), Cys190 (1,9 Å), Trp147

(2,4), Ser189 (2,5 Å), Tyr188 (2,6 Å), Tyr195 (2,6 Å), Val148 (2,8 Å) e Cys191 (3,4 Å). Alguns desses resíduos são mostrados na Figura 6.2 (a).

Figura 6.2 - Energias de interação entre o imidacloprido e resíduos de aminoácidos do receptor AChBP do organismo *Aplysia californica*. As interações foram calculadas a partir do imidacloprido, localizado no sítio de ligação do receptor, até um raio de 8 Å. Gráfico superior: sistema de teste para vários funcionais e aproximações no escopo da teoria DFT; utilizou-se um valor fixo de  $\epsilon$  ( $\epsilon=40$ ); Gráfico inferior: interações para valores de constante dielétrica variáveis, ou seja, constante dielétrica inhomogênea  $\epsilon = \epsilon(r)$ .



Fonte: elaborada pelo autor.

Entre 5,5 a 8 Å, os perfis das curvas de energia total de interação mostraram maior divergência (Figura 6.2). Na região acima de 5,5 Å, as energias obtidas com o conjunto de base DNP tendem a ficar mais negativas (modelos GGA-PBE-TS-DNP e GGA-PBE-GRIMME-DNP), enquanto que o conjunto de base DNP+ fornece energias que tendem a aumentar (modelos GGA-PBE-GRIMME-DNP+ e LDA-PWC-OBS-DNP+). O conjunto de base TNP (modelos GGA-BPE-TS-TNP e GGA-PW91-OBS-TNP) forneceu uma melhor estabilização da energia, mas os valores de energia calculados com o modelo GGA-PW91-OBS-TNP são mais

negativos do que os obtidos com o modelo GGA-PBE-TS-TNP (Figura 6.2, a). As energias calculadas com o funcional LDA são significativamente mais negativas do que as energias calculadas com o funcional GGA (Figura 6.2).

Acima de 8 Å, nenhum dos modelos empregados neste trabalho foi apto a fornecer uma adequada descrição das energias de interação (não mostrado na Figura 6.2). Isso pode ser uma consequência da não parametrização das interações não ligantes em distâncias próximas e superiores a 8 Å. Outra possível causa para a inadequada descrição das energias em distâncias superiores a 8 Å é o modelo de solvatação utilizado. No meio fisiológico, o receptor encontra-se imerso no meio aquoso. No sistema proteico teórico, não foram consideradas moléculas de água explicitamente, exceto as moléculas que foram determinadas experimentalmente junto aos resíduos de aminoácidos pela técnica de difração de raios-x, conforme descrito no trabalho de Talley et al. (2008).<sup>87</sup> Embora o modelo de solvatação implícita COSMO tenha sido empregado, modelos de solvatação implícita são menos realísticos do que a solvatação explícita.<sup>229</sup>

A partir da análise do sistema de teste, optou-se por calcular as energias empregando constante dielétrica inhomogênea e o conjunto de base TNP: modelos GGA-PBE-TS-TNP, GGA-PW91-OBS-TNP e LDA-PWC-OBS-TNP (Figura 6.2, b). As energias de interação também foram calculadas considerando os seguintes valores de constante dielétrica homogênea:  $\epsilon=4$ ,  $\epsilon=20$  e  $\epsilon=40$  (Figura 6.2, b); esses valores são comumente utilizados por outros autores.<sup>142-147</sup> No entanto, os valores fixos de constante dielétrica  $\epsilon=4$ ,  $\epsilon=20$  e  $\epsilon=40$  foram empregados apenas com o conjunto de aproximações GGA-PW91-OBS-TNP (Figura 6.2, b).

Quando se utilizou o conjunto de aproximações GGA-PW91-OBS-TNP, os valores das energias calculados considerando a constante dielétrica inhomogênea são muito próximos dos valores das energias encontrados usando a constante dielétrica homogênea  $\epsilon=20$  (Figura 6.2, b). Provavelmente, isso ocorreu porque os valores de constante dielétrica inhomogênea estão na faixa de 15 a 25 (Tabela 6.2 e 6.3). Vale notar que valores mais elevados de constante dielétrica, por exemplo, o valor fixo  $\epsilon=40$ , não forneceu valores de energia tão divergentes dos obtidos com constante dielétrica homogênea  $\epsilon=20$ . Entretanto, as energias calculadas empregando um baixo valor de constante dielétrica homogênea, por exemplo,  $\epsilon=4$ , proporcionou uma maior divergência dos valores de energia com relação aos obtidos com constante dielétrica homogênea  $\epsilon=20$ ,  $\epsilon=40$  e com relação à constante dielétrica inhomogênea  $\epsilon(r)$  (Figura 6.2, b). Portanto, para que se tenha uma adequada descrição do sistema proteico, os valores de constante dielétrica utilizados nos cálculos são tão relevantes quanto as aproximações feitas pelos funcionais e correções considerados no escopo da teoria DFT. As

maiores divergências dos valores de energia ocorrem, principalmente, ao utilizar-se um baixo valor de constante dielétrica (por exemplo, valores em torno de  $\epsilon=4$ ).

## 6.2 Energias individuais de interação entre o imidacloprido e resíduos do domínio AChBP

O gráfico BIRD (*Binding Interaction Residues and Domain*) é um gráfico de barras que exhibe uma série de informações sobre interações entre o ligante e os resíduos proteicos: os resíduos que mais contribuem para a interação; as energias de interação; a menor distância de interação entre esses resíduos e o ligante, em intervalos específicos, por exemplo, a cada 0,5 Å; e moléculas de água que se localizam próximas aos resíduos. Os resíduos da cadeia B do receptor AChBP do organismo *Aplysia californica*, com energia de interação no intervalo  $-1 \leq E$  (kcal mol<sup>-1</sup>)  $\leq 1$ , estão identificados no gráfico BIRD da Figura 6.3. Vale lembrar que, neste estudo, considerou-se apenas os resíduos localizados a uma distância de até 8 Å, a partir do imidacloprido.

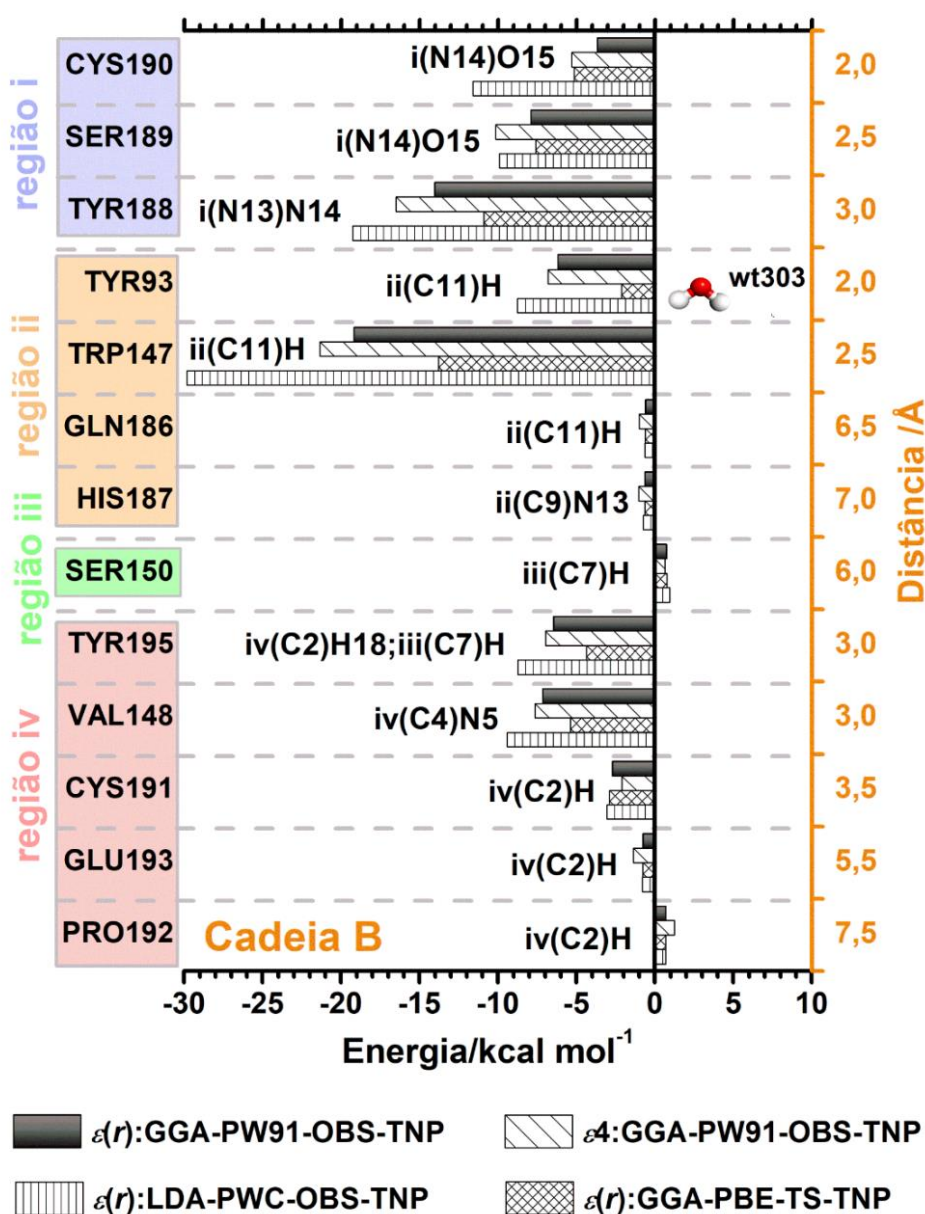
A Tabela 6.2 traz os resultados de forma mais abrangente, ou seja, as contribuições energéticas de todos os resíduos localizados em até 8 Å de distância do imidacloprido, além das contribuições dos resíduos que foram destacados no gráfico BIRD da Figura 6.3 - os resíduos com valores de energia no intervalo  $-1 \leq E$  (kcal mol<sup>-1</sup>)  $\leq 1$ .

Os resíduos de cisteínas na alça C, Cys190 e Cys191, encontram-se ligados pelos átomos de enxofre, formando um anel de oito membros com os átomos de carbono pertencentes a esses resíduos. Para calcular a energia de interação das cisteínas, procedeu-se de duas maneiras: (1) a ligação dissulfeto foi quebrada e adicionou-se átomos de hidrogênio em cada um dos resíduos; (2) considerou-se os dois resíduos como um único resíduo, isso para que as ligações dissulfeto ficassem intactas. Com isso, espera-se que a análise da energia obtida pelos dois métodos permita concluir se a quebra da ligação dissulfeto no modelo (1) acarreta em significativas mudanças energéticas, o que invalidaria o cálculo da energia de interação dos resíduos individualmente, logo, ambos os resíduos deveriam ser considerados juntos, como um único resíduo.

No trabalho de Le Questel et al. (2013), os autores consideraram os dois resíduos de cisteína como um só, ou seja, o resíduo Cys190-Cys191.<sup>154</sup> Neste trabalho, a energia obtida para o resíduo Cys190-Cys191, quando se utilizou o modelo GGA-PW91-OBS-TNP e constante dielétrica inhomogênea, foi de -5,68 kcal mol<sup>-1</sup> (Tabela 6.2). Quando se considerou os resíduos individualmente, isto é, com a ligação dissulfeto trocada pela ligação -SH, a energia do resíduo Cys190 foi de -3,65 kcal mol<sup>-1</sup>, enquanto que para o resíduo Cys191 a energia foi de -2,69 kcal

mol<sup>-1</sup> (Tabela 6.2), utilizando o mesmo modelo teórico (GGA-PW91-OBS-TNP). A diferença de energia entre os dois métodos, 0,66 kcal mol<sup>-1</sup> (11,6%), é um valor considerável. As diferenças de energia entre os métodos (1) e (2) nos demais sistemas teóricos foram: 0,95 kcal mol<sup>-1</sup> ou 14,8% (GGA-PW91-OBS-TNP;  $\epsilon=4$ ), 3,81 kcal mol<sup>-1</sup> ou 90,1% (GGA-PBE-TS-TNP;  $\epsilon(r)$ ), e 0,87 kcal mol<sup>-1</sup> ou 5,6% (LDA-PWC-OBS-TNP;  $\epsilon(r)$ ). Portanto, visando uma representação mais confiável da interação, os dois resíduos de cisteína serão considerados como um só resíduo.

Figura 6.3 - Resíduos da cadeia B do receptor AChBP (organismo *Aplysia californica*) que interagem com o imidacloprido com energia no intervalo  $-1 \leq E \text{ (kcal mol}^{-1}) \leq 1$ . A região do imidacloprido que se situa mais próxima de cada resíduo foi identificada por i, ii, iii ou iv. Também são indicadas as distâncias de interação e moléculas de água próximas aos resíduos.



Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 6.2 - Energias de interação (E/kcal mol<sup>-1</sup>) entre o imidacloprido e resíduos de aminoácidos da cadeia B do receptor AChBP (Organismo *Aplysia californica*). Foram considerados apenas os resíduos distribuídos a uma distância de até 8 Å a partir do imidacloprido. Também são mostrados os valores de constante dielétrica calculados para cada resíduo ( $\epsilon(r)$ ), a região do imidacloprido (i: azul; ii: laranja; iii: verde; iv: vermelha) mais próxima de cada resíduo, e a distância entre essa região e o imidacloprido.

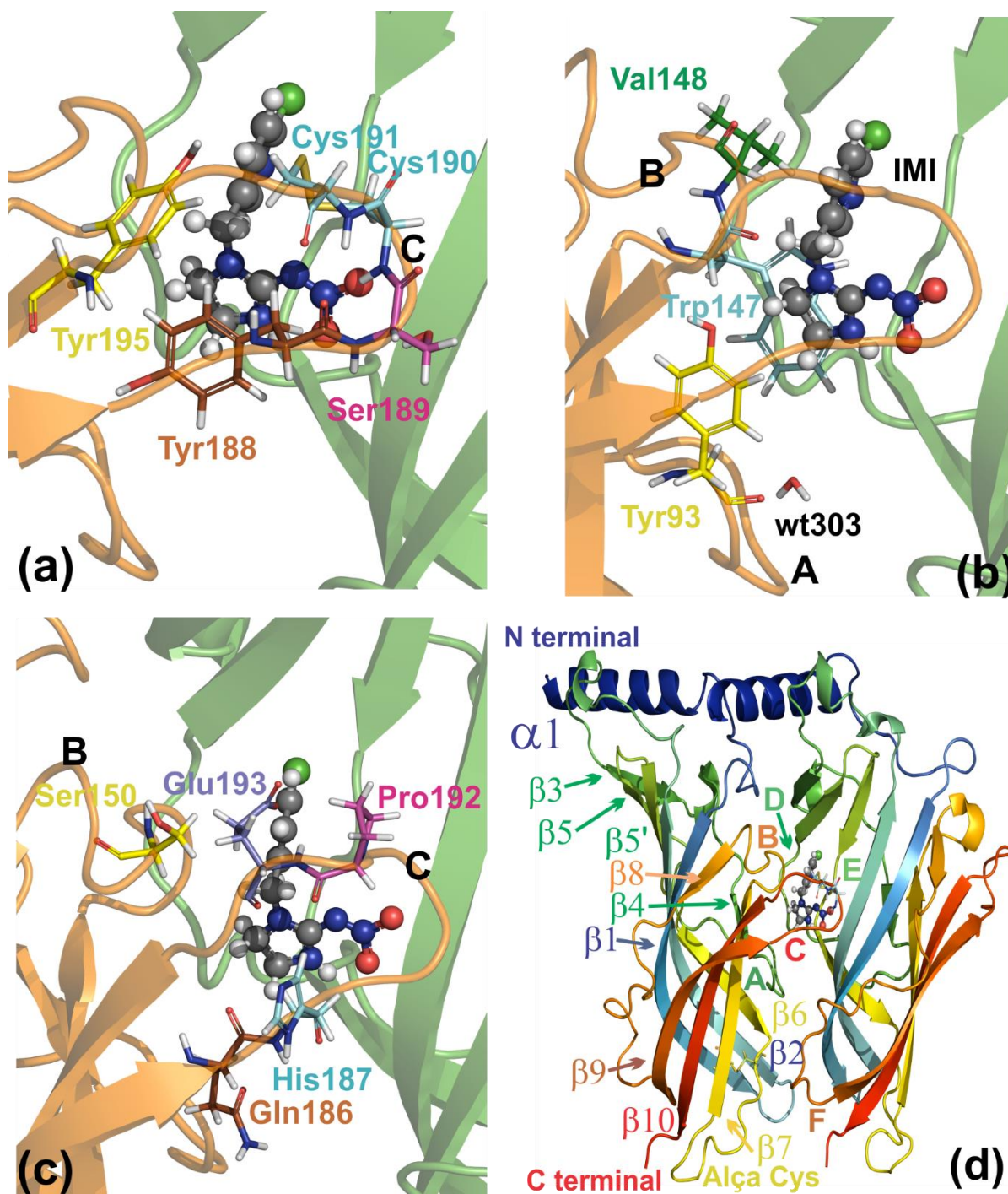
Resíduo	Região (IMI)	Distância (Å)	$\epsilon(r)$	Energia (kcal mol <sup>-1</sup> )			
				GGA-PW91 <sup>a</sup>		GGA-PBE <sup>b</sup>	LDA-PWC <sup>c</sup>
				$\epsilon(r)$	$\epsilon=4$	$\epsilon(r)$	$\epsilon(r)$
Cys190	i(N14)O15	2,0	16,58	-3,65	-5,28	-5,16	-11,59
Tyr188	i(N13)N14	2,6	19,43	-14,02	-16,49	-10,89	-19,24
Ser189	i(N14)O15	2,9	12,44	-7,89	-10,15	-7,60	-9,91
Tyr93	ii(C11)H <sub>2</sub>	1,8	22,17	-6,17	-6,81	-2,12	-8,76
Trp147	ii(C11)H <sub>2</sub>	2,3	8,59	-19,16	-21,33	-13,78	-29,83
Ser146	ii(C12)H	4,3	14,41	0,00	-0,51	0,02	0,14
Gln186	ii(C11)H <sub>2</sub>	6,3	12,53	-0,58	-0,99	-0,59	-0,64
Thr91	ii(C11)H <sub>2</sub>	6,4	25,84	0,59	0,52	0,58	0,76
Asp89	ii(C12)H <sub>2</sub>	6,9	19,72	-0,45	-2,06	-0,46	-0,17
Gly145	ii(C12)H <sub>2</sub>	6,9	9,10	-0,03	0,00	-0,02	-0,04
His187	ii(C9)N13	6,9	11,12	-0,62	-1,02	-0,62	-0,74
Asp197	ii(C12)H <sub>2</sub>	7,6	13,42	-0,43	-1,71	-0,45	-0,25
Ala92	ii(C11)H <sub>2</sub>	7,6	13,96	0,37	0,18	0,36	0,46
Lys143	ii(C11)H <sub>2</sub>	7,8	11,10	0,33	0,84	0,35	0,33
Tyr149	iii(C7)H <sub>2</sub>	5,0	15,37	0,46	0,54	0,35	0,60
Ser150	iii(C7)H <sub>2</sub>	5,8	18,93	0,75	0,66	0,77	0,96
Ile196	iii(C7)H <sub>2</sub>	7,6	13,89	-0,07	-0,07	-0,05	-0,08
Pro194	iii(C7)H <sub>2</sub>	8,0	14,14	-0,13	-0,20	-0,12	-0,14
Tyr195	iv(C2)H	2,6	15,65	-6,45	-6,96	-4,34	-8,73
Val148	iv(C4)N5	2,6	13,85	-7,12	-7,65	-5,37	-9,41
Cys191	iv(C2)H	3,4	7,90	-2,69	-2,09	-2,88	-3,07
Glu193	iv(C2)H	5,3	10,89	-0,75	-1,36	-0,76	-0,79
Glu153	iv(C2)H	7,2	19,68	0,00	-1,35	-0,08	0,18
Pro192	iv(C2)H	7,3	8,04	0,71	1,24	0,70	0,69
Cys190- cys191	i(N14)O15- iv(C2)H	1,9-3,4	12,24 <sup>d</sup>	-5,68	-6,42	-4,23	-15,53

Fonte: elaborada pelo autor.

Notas:  $\epsilon=4$ : constante dielétrica fixa (homogênea) e igual a 4. <sup>a</sup> Funcionais GGA e PW91 com correção OBS e conjunto de base TNP. <sup>b</sup> Funcionais GGA e PBE com correção TS e base TNP. <sup>c</sup> Funcionais LDA e PWC com correção OBS e base TNP; <sup>d</sup> a constante dielétrica para o par Cys190-Cys191 foi admitida como sendo a média aritmética das constantes dos resíduos individuais.

A Figura 6.4 mostra algumas ilustrações, em diferentes perspectivas, do sítio de ligação da estrutura cristalina do receptor AChBP (representação em *cartoon*), dando ênfase ao imidacloprido (modelo de bolas e bastões) e aos resíduos da cadeia B (modelo de bastões), que foram apresentados no gráfico BIRD da Figura 6.3.

Figura 6.4 - Imidacloprido e resíduos da cadeia B do receptor AChBP (organismo *Aplysia californica*) com energia no intervalo  $-1 \leq E \text{ (kcal mol}^{-1}) \leq 1$ . (a) resíduos mais relevantes da alça C para a interação com o imidacloprido (Cys190 e Cys191 são as cisteínas vicinais); (b) resíduos mais relevantes nas alças A e B; (c) resíduos menos relevantes ou de baixa contribuição energética (alças B e C); (d) ilustração da topologia das cadeias A e B do receptor. Apenas Pro192 e Ser150 possuem interação desfavorável (interação repulsiva).



Fonte: elaborada pelo autor.

Na porção (a) da Figura 6.4 são mostrados os resíduos mais relevantes que fazem parte da alça C: as cisteínas vicinais (Cys190-Cys191), Tyr195, Tyr188 e ser189. A porção (b) mostra

os resíduos mais relevantes das alças A (Tyr93) e B (Val148 e Trp147). Os resíduos menos relevantes são mostrados na porção (c): Ser150 (alça B), Glu93, Pro192, His187 e Gln186 (alça C). Entre os resíduos mencionados, apenas Pro192 e Ser150 possuem interação desfavorável (interação repulsiva).

A cadeia B contém muitos resíduos com interações relevantes para a interação com o imidacloprido, conforme visto anteriormente no gráfico BIRD da Figura 6.3. Em constante dielétrica inhomogênea  $\epsilon(r)$ , a interação mais favorável (atrativa) na cadeia B foi calculada para o resíduo Trp147 (Figura 6.3) localizado na alça B:  $-19,16 \text{ kcal mol}^{-1}$  (GGA-PW91-OBS-TNP),  $-13,78 \text{ kcal mol}^{-1}$  (GGA-PBE-TS-TNP) e  $-29,83 \text{ kcal mol}^{-1}$  (LDA-PWC-OBS-TNP); ver valores de energia na Tabela 6.2. Quando se utilizou a constante dielétrica  $\epsilon=4$ , a contribuição mais favorável foi  $-21,33$ , também para o resíduo Trp147.

A menor distância de interação entre o resíduo Trp147 e o imidacloprido ocorre por meio do átomo de oxigênio carbonílico do resíduo Trp147 com o átomo de hidrogênio H27 do imidacloprido, a uma distância de  $2,3 \text{ \AA}$ . O átomo de oxigênio carbonílico do resíduo Trp147 também interage com os hidrogênios H22 ( $2,4 \text{ \AA}$ ) e H26 ( $3 \text{ \AA}$ ). O nitrogênio do anel pirrol do Trp147 localiza-se a  $2,9 \text{ \AA}$  de distância do hidrogênio H20 e a  $3,5 \text{ \AA}$  do hidrogênio H27 do imidacloprido. O nitrogênio piridíneo do imidacloprido localiza-se a  $3,7 \text{ \AA}$  de distância do hidrogênio do anel pirrol do Trp147. O sistema de orbitais  $p$  conjugados que formam as ligações  $\pi$  deslocalizadas no anel benzênico do resíduo Trp147 dispõe-se frontalmente para os hidrogênios H25 e H27 do anel imidazólico do imidacloprido. As distâncias mais curtas entre os hidrogênios do anel imidazólico do imidacloprido e os átomos de carbono do anel benzênico do Trp147 são:  $2,5 \text{ \AA}$  (H25),  $3,1 \text{ \AA}$  (H27),  $3,7 \text{ \AA}$  (H24) e  $4,2 \text{ \AA}$  (H26).

Nos receptores nicotínicos nAChRs, os anéis aromáticos do triptofano ou anel aromático da tirosina - anéis com alta densidade eletrônica deslocalizada -, fazem interação cátion- $\pi$  com o átomo de nitrogênio catiônico da acetilcolina e dos ligantes nicotínicos (exemplo, nicotina). Embora o imidacloprido não tenha carga formal positiva, trabalhos propuseram que o átomo N8 deve ser deficiente em elétrons, com uma carga parcial positiva, importante para a interação com o triptofano.<sup>97,98,104</sup> Matsuda et al. (2001) afirmaram, com base em cálculos de cargas de Mulliken pelo método semi-empírico PM3, que a carga parcial positiva do imidacloprido é aumentada devido à interação entre os átomos de oxigênio do grupo nitro e resíduos formalmente positivos no receptor (arginina e lisina); essa interação do grupo nitro gera um fluxo de carga elétrica do átomo N8 em direção ao grupo nitro e em direção aos resíduos arginina e lisina.<sup>107</sup> Os autores verificaram que quando o grupo nitro do imidacloprido interage com os resíduos arginina e lisina, de carga positiva, os átomos de nitrogênio N8 e N10



do anel imidazólico adquiriram carga positiva que é comparável a carga formal do nitrogênio no agonista universal dos receptores AChRs, isto é, a acetilcolina.<sup>107</sup>

O anel indole do resíduo Trp147 é ligeiramente inclinado com relação ao anel imidazole do imidacloprido (ver a disposição das estruturas na Figura 6.4, b), ou seja, os anéis não são completamente paralelos, conseqüentemente, os orbitais *p* do anel indole do Trp147 não estão alinhados na direção do nitrogênio N8 do imidacloprido. A menor distância entre o nitrogênio N8 do imidacloprido e os átomos de carbono do anel aromático do Trp147 é de 4,7 Å. O átomo de oxigênio carbonílico do Trp147 também pode interagir com o N8 do imidacloprido, a uma distância de 3,4 Å. Vale lembrar que as posições dos resíduos e do imidacloprido que foram analisadas e discutidas neste trabalho referem-se ao sistema proteico AChBP cristalizado. Em receptores de outros organismos, o resíduo triptofano pode fazer uma interação mais efetiva com o átomo N8 do imidacloprido, desde que os anéis indole e imidazole estejam alinhados paralelamente. No meio fisiológico, as restrições espaciais são menores e a interação entre o N8 do anel imidazole com os orbitais *p* do anel indole do triptofano pode ser mais favorecida. Um resultado mais conclusivo pode ser obtido por meio de simulação computacional pela técnica de **dinâmica molecular** com a inclusão de moléculas de água explicitamente.

De forma resumida, o mais alto valor de energia de interação entre o resíduo Trp147 e o ligante imidacloprido se justifica pelas diversas possibilidades de interação, devido às seguintes condições: o resíduo Trp147 encontra-se numa região muito próxima do ligante imidacloprido (no receptor AChBP da *Aplysia californica*); tanto o imidacloprido quanto o resíduo Trp147 possuem diversos heteroátomos (nitrogênio e oxigênio); o sistema conjugado do anel indole do Trp147.

Anteriormente, quando se discutiu os gráficos de energia total de interação (Figura 6.2), foi mencionado que o modelo GGA-PW91-OBS-TNP proporcionou uma melhor estabilização dos valores de energia, ou seja, maior linearidade da curva de energia total em função da distância, isso considerando o limite de até 8 Å. A contribuição dos resíduos da cadeia B, mostrados no gráfico BIRD da Figura 6.3 segue a seguinte ordem (contribuição em kcal mol<sup>-1</sup>; distância em Å), de acordo com o modelo GGA-PWC-OBS-TNP em constante dielétrica inhomogênea (Tabela 6.2): **Trp147 (-19,16; 2,4)** < **Tyr188 (-14,02; 2,6)** < **Ser189 (-7,89; 2,9)** < **Val148 (-7,12; 2,6)** < **Tyr195 (-6,45; 2,6)** < **Tyr93 (-6,17; 1,8)** < **Cys190 (-3,65; 2,0)** < **Cys191 (-2,69; 3,4)** < **Glu193 (-0,75; 7,2)** < **His187 (-0,62; 6,9)** < **Gln186 (-0,58; 6,3)** < Pro192 (0,71; 7,3) < Ser150 (0,75; 5,8); os resíduos com contribuições favoráveis são destacados em negrito. É possível notar que os resíduos de maior contribuição energética estão localizados mais próximos do imidacloprido, mas a ordem de contribuição não segue

precisamente a ordem das distâncias, provavelmente, devido à natureza (físico-química) dos resíduos e ao tipo/orientação da interação. Por exemplo o resíduo Tyr93 tem menor distância (1,8 Å) e contribui com menor energia (-6,17 kcal mol<sup>-1</sup>) do que Trp147 (energia de interação -19,16 kcal mol<sup>-1</sup>; distância de interação 2,4 Å).

O segundo resíduo de maior contribuição energética é a tirosina (Tyr188). A menor distância de interação é entre o átomo de hidrogênio metilênico ligado ao anel aromático da tirosina com o átomo de nitrogênio N14 do grupo nitro do imidacloprido (Figura 6.4, a); essa distância de interação é de 2,6 Å. Entretanto, o nitrogênio N14 é deficiente em elétrons porque está ligado aos átomos de oxigênio, mais eletronegativos. A interação mais efetiva, envolvendo essas moléculas, pode ocorrer entre os hidrogênios metilênicos ligados ao anel aromático da tirosina com o nitrogênio N13 do imidacloprido (distâncias de interação de 2,8 e 3,1 Å, para os dois hidrogênios metilênicos). Outra interação também pode ocorrer entre os hidrogênios metilênicos e os átomos de oxigênio (O15 e 16) do grupo nitro do imidacloprido (distância de interação de 2,9 Å, com ambos os oxigênios). O anel aromático do resíduo Tyr188 encontra-se quase que completamente paralelo ao anel imidazólico. Essa orientação é adequada para uma interação efetiva entre os orbitais *p* que formam as ligações  $\pi$  deslocalizadas no anel aromático da Tyr188 com o átomo de nitrogênio N8 do imidacloprido (Figura 6.4, a); a distância de interação é de 3,6 Å. Assim como ocorreu para o resíduo Trp147, o resíduo Tyr188 possui muitas possibilidades de interação com o imidacloprido. Além disso, o anel benzênico desse resíduo tem a orientação adequada para interagir com o átomo N8 do imidacloprido, que é considerado um sítio importante para interação em inseticidas neonicotinóides.<sup>97,98,104,230</sup>

Quanto ao resíduo Ser189, o átomo de hidrogênio metoxi (-CH<sub>2</sub>OH) forma ligação de hidrogênio com os oxigênios O15 e O16 do grupo nitro do imidacloprido, a distância de 2,9 e 3,9 Å, respectivamente. O átomo de hidrogênio amina do resíduo (-NH-) pode formar uma ligação de hidrogênio fraca com o oxigênio O15 do imidacloprido, a 4 Å, e com O16 a 4,5 Å (Figura 6.4, a). A menor distância de interação entre o imidacloprido e o resíduo Val108 é de 2,6 Å, por meio de um dos hidrogênios metílicos do grupo isobutila do resíduo com o nitrogênio piridíneo (N5) do imidacloprido (Tabela 6.2; Figura 6.4, b); esse mesmo hidrogênio localiza-se a 3,5 Å do átomo de cloro do imidacloprido. Um segundo hidrogênio metílico do grupo isobutila está situado a 3,9 e 4,1 Å dos átomos N5 e cloro do imidacloprido, respectivamente. O hidrogênio ligado ao carbono  $\alpha$  do resíduo localiza-se a 3,6 Å de distância do nitrogênio piridíneo do imidacloprido. O átomo de hidrogênio ligado ao carbono terciário do resíduo possui uma distância de 4,2 Å do nitrogênio piridíneo do imidacloprido. Outra possibilidade de interação é entre o átomo de oxigênio carbonílico do resíduo, que aponta em direção ao

hidrogênio H18 do anel piridíneo do imidacloprido, situado à distância de 4,3 Å (Figura 6.4, b). Já quanto ao resíduo Tyr195, o átomo de oxigênio fenólico do resíduo interage com o átomo de hidrogênio H18 do anel piridíneo do imidacloprido, a uma distância de 2,6 Å, e com os hidrogênios metilênicos H21 e H22, a distâncias de 3,4 e 3,3 Å, respectivamente (Figura 6.4, a). O resíduo Tyr93 interage com o átomo de hidrogênio H26 do anel imidazólico do imidacloprido por meio do oxigênio fenólico, situado a 2,6 Å (Figura 6.4, b); a distância entre o oxigênio fenólico do resíduo e o hidrogênio H27 do imidacloprido é de 3,5 Å. O anel aromático da tirosina está localizado próximo ao anel imidazólico do imidacloprido. Contudo, a orientação desse resíduo não favorece uma interação efetiva. A orientação do resíduo Tyr93 coloca os orbitais *p* deslocalizados em um ângulo de aproximadamente 90°, isso com relação a orientação dos hidrogênios mais próximos H24 e H26 do anel imidazólico do imidacloprido, a uma distância 2,8 Å (Figura 6.4, b). O resíduo Cys190 faz uma ligação de hidrogênio por meio do hidrogênio amina, distante 2,0 Å do átomo de oxigênio O15 do grupo nitro do imidacloprido. Um dos hidrogênios ligado ao carbono  $\alpha$  da Cys190 pode interagir com o oxigênio O15 do imidacloprido, ambos separados por uma distância de 2,2 Å. O átomo de enxofre do resíduo Cys190 está localizado a 3,0 Å de distância do átomo de hidrogênio H21 do grupo metilênico do imidacloprido (Figura 6.4, a). No estado fundamental, o átomo de enxofre isolado possui dois pares de elétrons que estão emparelhados, na camada de valência, um par no orbital  $S2s$  e outro par em um dos três orbitais  $S2p$ , enquanto dois orbitais  $S2p$  estão semipreenchidos. Ao considerar que o átomo de enxofre sofre hibridização  $sp^3$  quando ligado a outros átomos na cisteína, dois pares de elétrons em dois orbitais híbridos  $sp^3$  podem interagir com os átomos de hidrogênios H21 (grupo metilênico) e H18 (anel piridíneo) do imidacloprido; as distâncias de separação entre o enxofre e os hidrogênios são 3,0 (H21) e 3,3 Å (H18). Já os outros dois orbitais híbridos  $sp^3$  formam as ligações na cisteína; para facilitar a visualização da orientação dos orbitais, deve-se lembrar que os orbitais  $sp^3$  formam um tetraedro. Esse mesmo tipo de interação pode ocorrer entre o átomo de enxofre do resíduo Cys191 e o átomo de hidrogênio H18 do anel piridíneo do imidacloprido, ambos separados por uma distância de 3,4 Å (Figura 6.4, a). O resíduo Glu193 tem o átomo de oxigênio carbonílico e um dos átomos de oxigênio do carboxilato apontando na direção do ligante imidacloprido (Figura 6.4, c), apesar disso, a energia de interação é baixa ( $-0,75 \text{ kcal mol}^{-1}$ ), isso porque as distâncias de interação são longas. O átomo de oxigênio do carboxilato situa-se a 5,3 Å (Tabela 6.2) do átomo de hidrogênio H18 do imidacloprido, enquanto que a distância entre o átomo de oxigênio carboxílico do resíduo Glu193 e o átomo de hidrogênio H21 do imidacloprido é de 6,8 Å (Figura 6.4, c). Com relação ao resíduo His187, a interação mais favorável é a ligação de

hidrogênio a longo alcance (7,3 Å) entre o oxigênio carboxílico da His187 e o hidrogênio H23 do anel imidazólico do imidacloprido (Figura 6.4, c); a longa distância de interação justifica o baixo valor de energia (-0,62 kcal mol<sup>-1</sup>). Entre os resíduos considerados da cadeia B, ou seja, os resíduos com energias de interação no intervalo  $-1 \leq E \text{ (kcal mol}^{-1}) \leq 1$ , Gln186 é último resíduo com alguma interação favorável (-0,56 kcal mol<sup>-1</sup>). A interação mais favorável para esse resíduo é entre o oxigênio carbonílico com o hidrogênio H23 (ligado ao nitrogênio N10) do anel imidazólico do imidacloprido, a 7,7 Å (Figura 6.4, c). O oxigênio carbonílico também tem orientação adequada para interagir com o H24 (ligado ao carbono C11) do anel imidazólico do imidacloprido, com distância de 6,4 Å. O oxigênio carboxílico do resíduo Gln186, situa-se a 7,9 Å do hidrogênio H26 (ligado ao carbono C12) do imidacloprido.

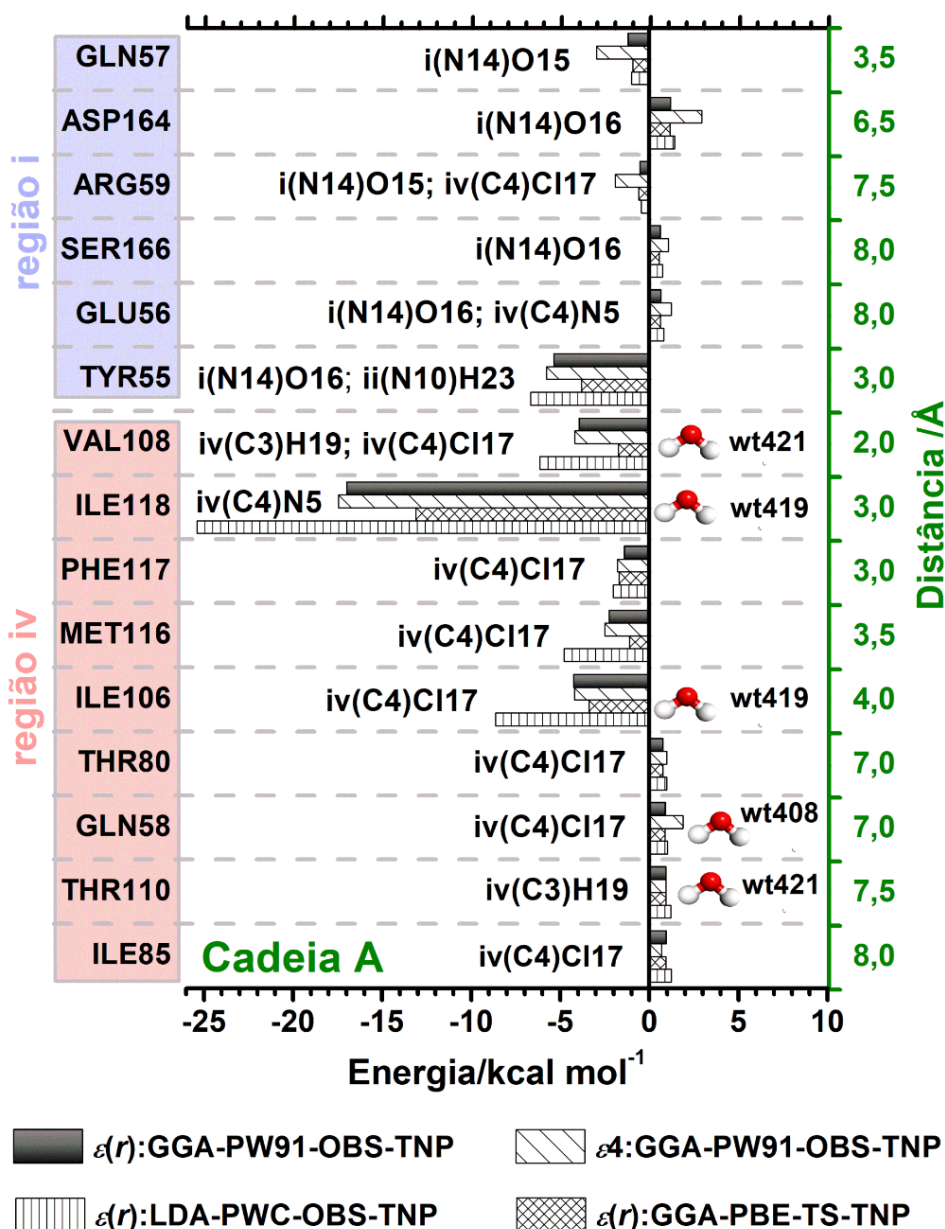
O resíduo com interação desfavorável Pro192 tem o nitrogênio amina direcionado para os átomos O16 (distante 8,4 Å) e N13 (distante 9,0 Å) do imidacloprido (Figura 6.4, c); apesar da elevada distância, provavelmente a interação é repulsiva porque envolve átomos eletronegativos em ambas as moléculas. Em um primeiro momento, era esperado que o resíduo Ser150 tivesse interação atrativa, por meio do nitrogênio amina com os átomos de hidrogênio H22 do grupo metilênico (distância de 6,1 Å) e H18 do anel piridíneo (distância de 6,2 Å) do imidacloprido (Figura 6.4, c). Entretanto, a interação torna-se repulsiva, provavelmente, porque prevalece a interação do nitrogênio amina do resíduo Ser150 com os orbitais *p* conjugados do anel piridíneo do imidacloprido. O nitrogênio amina da Ser150 situa-se a 6,9 Å de distância do carbono C2 piridíneo.

As energias de interação entre o imidacloprido e os resíduos da cadeia A do receptor AChBP foram determinadas pelo mesmo método empregado para calcular as energias de interação dos resíduos da cadeia B. Considerou-se apenas os resíduos que se localizam a uma distância de até 8 Å a partir do imidacloprido. Os modelos teóricos utilizados foram GGA-PW91-OBS-TNP, GGA-PBE-TS-TNP e LDA-PWC-OBS-TNP em constante dielétrica inomogênea. Também se considerou o modelo teórico GGA-PW91-OBS-TNP com constante dielétrica  $\epsilon=4$ .

Os resíduos da cadeia A com valores de energia no intervalo  $-1 \leq E \text{ (kcal mol}^{-1}) \leq 1$  estão destacados no gráfico BIRD da Figura 6.5. Também se destacou as moléculas de água que se localizam próximas aos resíduos, a região (i: cor azul; ii: cor laranja; iv: vermelha) do imidacloprido mais próxima de cada resíduo e o valor da distância. Na Tabela 6.3 são descritas as informações sobre a interação: constante dielétrica empregada, valor de energia de interação, a região do imidacloprido mais próxima ao resíduo e a menor distância de interação. Essas informações foram colocadas, na Tabela 6.3, para todos os resíduos da cadeia A com distância de até 8 Å a partir do imidacloprido.

A cadeia A possui poucos resíduos com contribuições energéticas notavelmente relevantes, pelo menos com relação a cadeia B. Isso é porque o imidacloprido localiza-se próximo as alças A, B, e C da cadeia B. Nota-se no Gráfico BIRD da Figura 6.5 que sete entre os quinze resíduos da cadeia A possuem interações desfavoráveis. Porém, esses sete resíduos estão localizados a uma distância superior a 6,5 Å. Devido a maior distância entre o imidacloprido e os resíduos da cadeia A, as energias das interações desfavoráveis possuem baixa intensidade.

Figura 6.5 - Resíduos da cadeia A do receptor AChBP (organismo *Aplysia californica*) que interagem com o imidacloprido com energia no intervalo  $-1 \leq E \text{ (kcal mol}^{-1}) \leq 1$ . A região do imidacloprido que se situa mais próxima de cada resíduo foi identificada por i, ii, iii ou iv. Também são indicadas as distâncias de interação e moléculas de água próximas aos resíduos.



Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 6.3 - Energias de interação ( $E/\text{kcal mol}^{-1}$ ) entre o imidacloprido e resíduos de aminoácidos da cadeia A do receptor AChBP (Organismo *Aplysia californica*). Foram considerados apenas os resíduos distribuídos a uma distância de até 8 Å a partir do imidacloprido. Também são mostrados os valores de constante dielétrica calculados para cada resíduo ( $\epsilon(r)$ ), a região do imidacloprido (i, ii, iii e iv) mais próxima de cada resíduo, e a distância entre essas regiões e o imidacloprido.

Resíduo	Região (IMI)	Distância (Å)	$\epsilon(r)$	Energia ( $\text{kcal mol}^{-1}$ )			
				GGA-PW91 <sup>a</sup>		GGA-PBE <sup>b</sup>	LDA-PWC <sup>c</sup>
				$\epsilon(r)$	$\epsilon=4$	$\epsilon(r)$	$\epsilon(r)$
Tyr55	i(N14)O16	2,7	8,50	-5,34	-5,76	-3,81	-6,67
Gln57	i(N14)O15	3,7	16,18	-1,18	-2,96	-0,91	-1,00
Thr36	i(N14)O16	5,1	14,57	0,47	0,76	0,46	0,64
Asp164	i(N14)O16	6,5	13,64	1,20	2,96	1,17	1,43
Arg59	i(N14)O15	7,5	10,10	-0,52	-1,91	-0,60	-0,45
Glu56	i(N14)O16	7,6	21,86	0,66	1,24	0,62	0,81
Ser166	i(N14)O16	8,0	13,70	0,62	1,07	0,56	0,75
Ala120	ii(C11)H <sub>2</sub>	5,1	13,09	-0,06	0,06	-0,02	-0,07
Ser103	ii(C11)H <sub>2</sub>	5,7	11,91	0,38	0,40	0,36	0,47
Ser167	ii(N10)H	5,8	16,70	0,34	0,33	0,31	0,48
Pro104	ii(C12)H <sub>2</sub>	6,0	17,86	0,52	0,78	0,45	0,64
Gln38	ii(C11)H <sub>2</sub>	6,7	14,61	0,16	0,00	0,12	0,35
Val108	iv(C3)H	2,0	14,08	-3,93	-4,18	-1,73	-6,14
Ile118	iv(C4)N5	2,8	5,74	-16,97	-17,45	-13,10	-25,39
Ala107	iv(C4)C117	3,0	15,51	0,45	-0,26	0,18	0,24
Phe117	iv(C4)C117	3,0	18,12	-1,40	-1,80	-1,69	-2,03
Met116	iv(C4)C117	3,4	7,62	-2,25	-2,49	-1,11	-4,79
Ile106	iv(C4)C117	3,7	13,02	-4,24	-4,21	-3,39	-8,64
Arg79	iv(C2)H	4,0	16,34	-0,07	1,35	0,30	0,16
Pro119	iv(C4)N5	6,3	10,53	0,06	0,31	0,01	-0,01
Val115	iv(C4)C117	6,3	18,88	-0,14	-0,14	-0,11	-0,15
Thr80	iv(C4)C117	6,8	20,69	0,77	0,99	0,77	0,98
Gln58	iv(C4)C117	6,8	16,64	0,91	1,89	0,87	1,02
Val109	iv(C4)C117	6,9	18,32	0,43	0,38	0,33	0,51
Thr110	iv(C3)H	7,5	19,61	0,94	0,92	0,93	1,20
Phe78	iv(C3)H	7,7	19,93	0,62	0,49	0,45	0,90
Gln105	iv(C4)C117	7,7	21,11	0,09	-0,12	0,04	0,26
Ile85	iv(C4)C117	8,0	21,07	0,95	0,71	0,93	1,23
Ala82	iv(C4)C117	8,0	20,90	0,58	0,54	0,61	0,76
Asp77	iv(C3)H	8,0	16,26	-0,26	-1,19	-0,31	-0,10
Trp60	iv(C4)C117	8,0	19,13	0,52	0,43	0,28	0,63

Fonte: elaborada pelo autor.

$\epsilon=4$ : constante dielétrica fixa (homogênea) e igual a 4.<sup>a</sup> Funcionais GGA e PW91 com correção OBS e conjunto de base TNP.<sup>b</sup> Funcionais GGA e PBE com correção TS e base TNP.<sup>c</sup> Funcionais LDA e PWC com correção OBS e base TNP.

Observou-se que a interação mais favorável (atrativa) na cadeia A é devido ao resíduo Ile118 (Figura 6.5), que está localizado a uma distância de 2,8 Å da região iv(C4)N5 do imidacloprido (Tabela 6.3). Os valores de energia em cada modelo teórico são: - 6,97 kcal mol<sup>-1</sup> (GGA-PW91-OBS-TNP), -13,10 kcal mol<sup>-1</sup> (GGA-PBE-TS-TNP) e -25,39 kcal mol<sup>-1</sup> (LDA-PWC-OBS-TNP), em constante dielétrica inomogênea; -17,45 kcal mol<sup>-1</sup> (GGA-PW91-OBS-TNP), em constante dielétrica  $\epsilon=4$ .

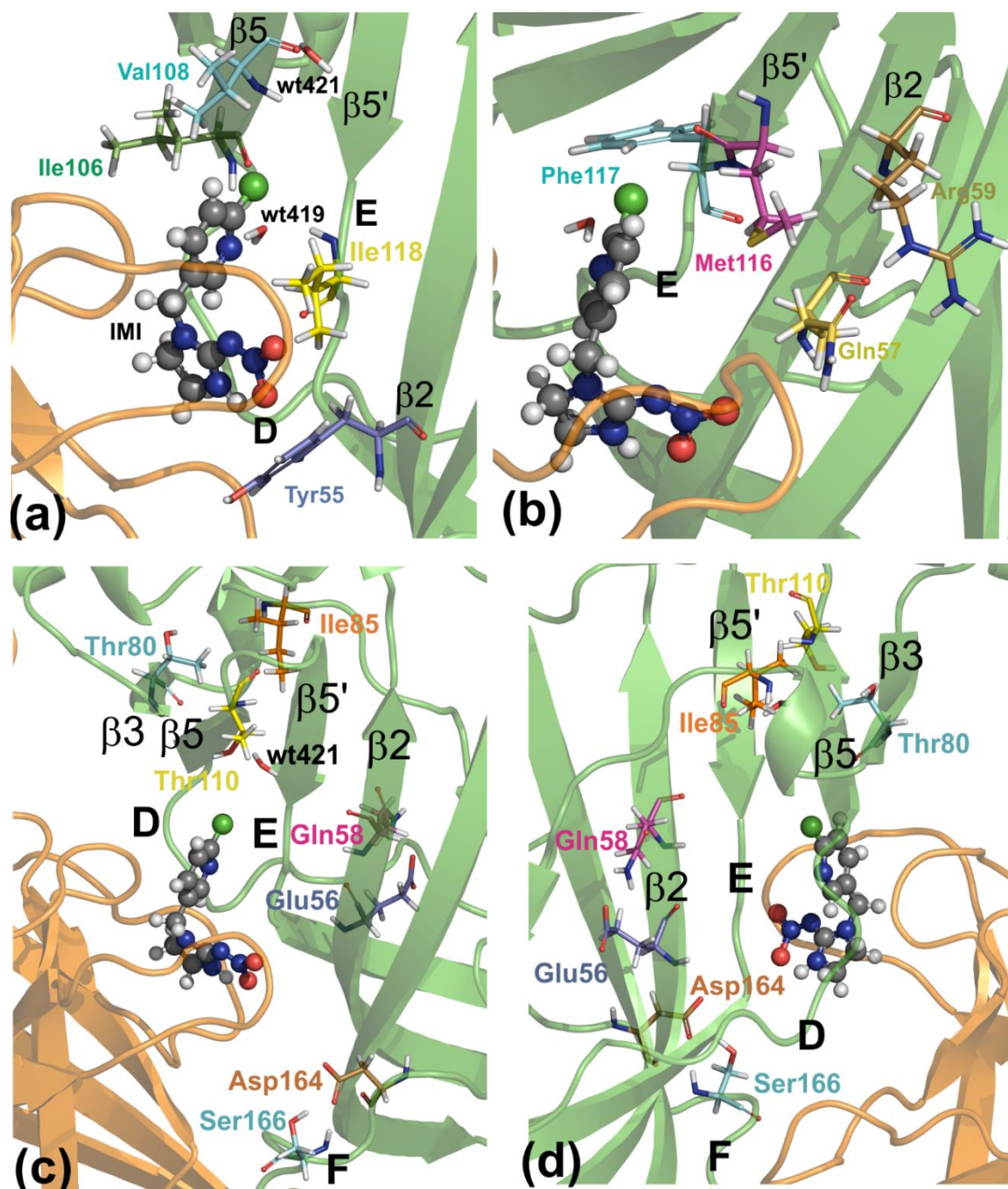
Considerando os valores de energia de interação calculados com o modelo GGA-PW91-OBS-TNP, em constante dielétrica inomogênea, a ordem de contribuição energética (energia de interação em kcal mol<sup>-1</sup>; distância em Å) dos resíduos da cadeia A do receptor AChBP é: **Ile118 (-16,97; 2,8) < Tyr55 (-5,34; 2,7) < Ile106 (-4,24;3,7) < Val108 (-3,93; 2,0) < Met116 (-2,25; 3,2) < Phe117 (-1,40; 3,0) < Gln57 (-1,18; 3,7) < Arg59 (-0,52;7,5) < Ser166 (0,62;8,0) < Glu56 (0,66;7,6) < Thr80 (0,77;6,8) < Gln58 (0,91;6,8) < Thr110 (0,94;7,5) < Ile85 (0,95;8,0) < Asp164 (1,20;6,5)**; os resíduos com energias favoráveis são destacados em negrito.

A Figura 6.6 exibe a ilustração, em diferentes perspectivas, do sítio de ligação da estrutura cristalina do receptor AChBP (representação em *cartoon*), o imidacloprido (modelo de bolas e bastões) e os resíduos da cadeia A (modelo de bastões) que foram identificados no gráfico BIRD da Figura 6.5, ou seja, os resíduos com energia no intervalo  $-1 \leq E \text{ (kcal mol}^{-1}) \leq 1$ . Na Figura 6.6 (a) são mostrados os primeiros quatro resíduos da cadeia A que possuem interação atrativa com o imidacloprido: Ile118 (alça E), Tyr55 (cadeia  $\beta 2$ ), Ile106 (fim da alça D e início da cadeia  $\beta 5$ ), Val108 (cadeia  $\beta 5$ ); as duas moléculas de água nas posições 419 (wt419) e 421 (wt421) situam-se próximas aos resíduos Ile118 e Val108, respectivamente. Na porção (b) da Figura 6.6, tem-se os últimos quatro resíduos com interações atrativas: Met116 (cadeia  $\beta 5'$ ), Phe117 (cadeia  $\beta 5'$ ), Gln57 e Arg59 (cadeia  $\beta 2$ ). Os sete resíduos da cadeia A com interações repulsivas são mostrados em duas perspectivas diferentes, na Figura 6.6, porção (c) e (d): Ser166 (alça F), Glu56 (cadeia  $\beta 2$ ), Thr80 (cadeia  $\beta 3$ ), Gln58 (cadeia  $\beta 2$ ), Thr110 (cadeia  $\beta 5$ ), Ile85 (alça 4 que antecede a cadeia  $\beta 4$ ), e Asp164 (alça F); os resíduos Glu56 e Gln58 são melhor visualizados na Figura 6.6, d.

Conforme afirmado anteriormente, o resíduo da cadeia A Ile118 mostrou ter a maior contribuição energética para a interação com o ligante imidacloprido. Talley et al. (2008) verificaram que uma molécula de água na posição 419 da cadeia proteica (wt419) faz duas ligações de hidrogênio em ponte, ligando o imidacloprido ao resíduo Ile118. Nessa interação, enquanto o hidrogênio do grupo amina (-NH-) da isoleucina (Ile118) faz uma ligação de hidrogênio com o átomo de oxigênio da molécula de água na posição 419 (wt419), o átomo de nitrogênio piridíneo

(N5) do imidacloprido faz uma ligação de hidrogênio com o átomo de hidrogênio da molécula de água (wt419). Além disso, ao considerar as interações mais fracas e em distâncias superiores a 2,5 Å, três átomos de hidrogênio da isoleucina podem interagir com o átomo N5 do imidacloprido com as seguintes distâncias de interação: 2,7 Å, 3,1 Å e 3,3 Å (Figura 6.6, a).

Figura 6.6 - Imidacloprido e resíduos da cadeia A do receptor AChBP (organismo *Aplysia californica*) com energia no intervalo  $-1 \leq E \text{ (kcal mol}^{-1}) \leq 1$ . (a) e (b) resíduos com interação atrativa com o imidacloprido (alças D e E, e cadeias  $\beta 2$ ,  $\beta 5$  e  $\beta 5'$ ); (c) e (d) resíduos com interação repulsiva com o imidacloprido (alças D, E e F, e cadeias  $\beta 2$ ,  $\beta 3$ ,  $\beta 5$  e  $\beta 5'$ ).



Fonte: elaborada pelo autor.



O segundo resíduo mais favorável é a tirosina na posição 55 (Tyr55). A menor distância ocorre entre o átomo de hidrogênio do anel benzênico com o átomo de oxigênio O16 do grupo nitro do imidacloprido, região i(N14)O16; a distância de interação é de 2,7 Å (Tabela 6.3). Além disso, o anel benzênico da tirosina dispõe-se frontalmente para os hidrogênios H24, H25 e H23 do imidacloprido, a uma distância mínima de 2,9 Å (Figura 6.6, a), portanto, conclui-se que haja interação entre esses átomos de hidrogênio e os orbitais  $p$  que formam a ligação  $\pi$  deslocalizada no anel aromático. Outra possível interação é entre o átomo de oxigênio fenólico da tirosina e o hidrogênio H24 do imidacloprido (3,8 Å).

Quanto ao resíduo Ile106, o menor contato possível é entre o átomo de oxigênio do grupo carbonílico desse resíduo ao átomo de cloro do imidacloprido (3,7 Å; Tabela 6.3). Embora ambos os átomos mencionados sejam negativos, é possível que haja o efeito de hiperconjugação. A conjugação é a deslocalização de elétrons por meio de ligações  $\pi$  ou sistema  $\pi$ ; também se considera conjugação a interação entre orbitais  $p$  preenchidos com o sistema  $\pi$ . Já a hiperconjugação é a interação entre dois orbitais com simetria  $\pi$ , em que um ou ambos os orbitais pertencem a grupos funcionais saturados. Outra forma de definir a hiperconjugação é esta: a interação entre orbitais envolvidos em ligações sigma ( $\sigma$ ), geralmente, ligações C-H ou C-C, com orbitais em ligações  $\pi$  adjacentes (C=C), ou com orbitais em ligações  $\sigma$  adjacentes (C-H; C-C).<sup>231</sup> A menor distância de interação entre o resíduo Val108 é devido a um dos hidrogênios metílicos do grupo isopropil e um átomo de hidrogênio do grupo iv(C3)H do imidacloprido (Figura 6.6, a), ambos os átomos separados por 2,0 Å de distância (Tabela 6.3). No entanto, essa interação não é favorável. A interação favorável entre Val108 e o imidacloprido ocorre por meio da ligação de hidrogênio entre o hidrogênio amina (-NH-) do resíduo com o átomo de cloro do imidacloprido, a uma distância de 3,5 Å. Um dos átomos de hidrogênio metílico do grupo isopropil do resíduo Val108 localiza-se a 3,1 Å de distância do átomo de cloro do imidacloprido, fazendo um possível segundo contato favorável. A menor distância possível para que haja uma ligação de hidrogênio entre o imidacloprido e o resíduo Met116 é de 5,3 Å, envolvendo o hidrogênio amina (-NH-) do resíduo e o cloro do imidacloprido. Duas outras interações favoráveis, a distâncias mais curtas, podem ocorrer devido ao efeito de hiperconjugação, entre o átomo de cloro do imidacloprido e o átomo de oxigênio do grupo carboxila (3,4 Å) do resíduo, e entre o cloro do imidacloprido e o átomo de enxofre (5,1 Å) do resíduo. Um terceiro contato envolve um dos átomos de hidrogênio ligado ao carbono  $\alpha$  do resíduo, localizado a 3,6 Å do átomo de cloro do imidacloprido (Figura 6.6, b). No resíduo Phe117, o átomo de hidrogênio ligado ao carbono  $\alpha$  do resíduo interage com o

átomo de cloro do imidacloprido, a 3,0 Å de distância. Um dos hidrogênios do anel benzênico do resíduo Phe117 tem orientação adequada para interagir com o átomo de cloro do imidacloprido, a 4,2 Å. Os orbitais *p* deslocalizados do anel benzênico do resíduo Phe117 não possuem orientação favorável para a interação com o ligante (Figura 6.6, b). O grupo amina que é ligado a carbonila no resíduo Gln57 está orientado na direção do átomo de oxigênio O15 do imidacloprido. Os dois hidrogênios amina formam duas ligações de hidrogênio, a 3,7 e 4,0 Å (Figura 6.6, b). Quanto ao resíduo Arg59, as interações mais favoráveis são entre os hidrogênios do grupo guanidina desse resíduo e o oxigênio O15 do ligante; as distâncias das interações são 7,5 e 7,9 Å (Figura 6.6, b).

Entre os sete resíduos da cadeia A - destacados no gráfico BIRD da Figura 6.5 - com interação desfavorável com o imidacloprido, o resíduo Asp164 possui a maior contribuição (1,20 kcal mol<sup>-1</sup>), mas ambos os resíduos possuem energias de interação ligeiramente repulsivas porque localizam-se a longas distâncias. No que diz respeito ao Asp164, um dos oxigênios do grupo carboxilato estão alinhados com os oxigênios O16 (6,5 Å) e O15 (6,8 Å) do grupo nitro do ligante; ver a ilustração (c) e (d) na Figura 6.6.

O segundo resíduo com interação desfavorável é a isoleucina na posição 85 da cadeia A. Era esperado que o resíduo Ile85 tivesse interação atrativa com o imidacloprido, isso porque os três átomos de hidrogênio ligados ao carbono primário do grupo etil no carbono β apontam em direção ao átomo de cloro do ligante (Figura 6.6, c e d); a menor distância entre as duas moléculas é de 8,0 Å (Tabela 6.3). Ao se analisar as energias de interação para diferentes números de capas (resíduos laterais), encontrou-se os seguintes valores: 0,95 kcal mol<sup>-1</sup> (5 capas); 0,92 kcal mol<sup>-1</sup> (4 capas); 0,94 kcal mol<sup>-1</sup> (3 capas); 0,85 kcal mol<sup>-1</sup> (2 capas); 0,72 kcal mol<sup>-1</sup> (1 capa). Por último, encontrou-se que a energia de interação entre o imidacloprido e o resíduo Ile85 sem nenhuma capa foi de -0,89 kcal mol<sup>-1</sup>. Logo, o método se mostrou adequado para descrever o sistema pelas seguintes razões: (1) a interação Ile85-imidacloprido é atrativa quando nenhuma blindagem (capa) é considerada; (2) quando se considera o efeito da blindagem (capas), a energia de interação atrativa diminui quando a blindagem aumenta, tornando-se cada vez mais desfavorável para a interação.

Também foi encontrado, a partir dos cálculos realizados neste trabalho, que a interação Thr110-imidacloprido é desfavorável (0,94 kcal mol<sup>-1</sup>), isso quando se utilizou cinco capas laterais como blindagem. Assim como aconteceu para a interação Ile85-imidacloprido, quando se analisou as estruturas das moléculas Thr110 e imidacloprido no sítio de ligação AChBP, concluiu-se que não há razões para que a interação seja repulsiva, exceto pela blindagem promovida pelos resíduos laterais. Uma molécula de água, na posição 421 (wt421) da cadeia

proteica do sítio de ligação AChBP localiza-se entre o imidacloprido e o resíduo Thr110. O hidrogênio amina e o hidrogênio ligado ao carbono  $\beta$  do resíduo Thr110 localizam-se a 3,6 e 3,1 Å de distância do átomo de oxigênio da molécula wt421, respectivamente. O átomo de cloro do imidacloprido situa-se a 7,1 Å de distância de um dos hidrogênios da molécula wt421. A energia de interação entre o imidacloprido e o resíduo Thr110 sem nenhuma blindagem é de  $-0,79 \text{ kcal mol}^{-1}$  e conforme visto anteriormente, a interação torna-se desfavorável com a blindagem promovida pelos resíduos laterais.

No resíduo Gln58, o oxigênio carboxílico e o hidrogênio amina estão orientados na direção dos átomos de nitrogênio piridíneo e cloro do ligante (Figura 6.6, d). A menor distância de interação é entre o hidrogênio amina do resíduo e o cloro do ligante, a 6,8 Å (interação atrativa). O oxigênio carboxílico do resíduo Gln58 está a 7,0 Å do cloro do imidacloprido (interação repulsiva) e o hidrogênio amina do resíduo está a 7,2 Å do nitrogênio piridíneo do imidacloprido (interação atrativa); apesar das interações atrativas entre as duas moléculas, a interação desfavorável entre o oxigênio carboxílico do resíduo e o cloro do ligante prevalecem ( $0,91 \text{ kcal mol}^{-1}$ ). O resíduo Thr80 também tem seus grupos carbonílico e amina orientados na direção do átomo de cloro do imidacloprido (Figura 6.6, c e d). A distância para a interação entre o oxigênio carbonílico (hidrogênio amina) é de 6,8 Å (7,4 Å), mas a interação desfavorável prevalece ( $0,77 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) com pouca intensidade devido à longa distância de separação. O hidrogênio amina do resíduo Glu56 pode interagir favoravelmente com o oxigênio O16 do ligante, a 7,7 Å. Contudo, o oxigênio carboxílico desse resíduo está apto a realizar interações desfavoráveis com o nitrogênio piridíneo (7,9 Å), orbitais *p* deslocalizados do anel piridíneo (7,9 Å), com o átomo de cloro (8,2 Å) e com o oxigênio O15 (8,4 Å) do imidacloprido (Figura 6.6, c e d). Com relação a interação do resíduo Ser166, embora o hidrogênio da hidroxila esteja a 8,0 Å do oxigênio O16 do ligante, um dos pares isolados do oxigênio da hidroxila pode interagir desfavoravelmente com o oxigênio O16; a distância entre ambos os átomos é de 8,2 Å.

Com o objetivo de estudar as interações entre o imidacloprido e os resíduos do domínio de ligação AChBP da *Aplysia californica*, Cerón-Carrasco et al. (2013) consideraram os resíduos com pelo menos um átomo dentro do espaço delimitado por um raio de 4 Å a partir do imidacloprido.<sup>154</sup> Essa região contém doze resíduos, mais a molécula de água (wt419) próxima ao nitrogênio piridíneo do imidacloprido: Tyr55, Tyr93, Val108, Met116, Ile118, Trp147, Val148, Tyr188, Ser189, Cys190, Cys191 e Tyr195. Para calcular as energias de interação, os autores utilizaram dois esquemas baseados no método *Oniom*, implementado no código Gaussian 09. Com esse método, o sistema estudado pode ser dividido em diferentes regiões ou camadas e cada região (camada) pode ser simulada com um conjunto de aproximações

diferente. No método denominado pelos autores por *Oniom-1*, somente a molécula do imidacloprido foi incluída na camada tratada no escopo da teoria DFT, funcional M06-2X e conjunto de base 6-311++G (d). Enquanto que o resto do sistema (resíduos) foi incluído na camada simulada com o método semi-empírico PM6. Vale lembrar que os autores não consideraram a solvatação. Cerón-Carrasco et al. (2013) verificaram quais os resíduos que mais contribuíram para a interação no esquema *Oniom-1* e incluíram esses resíduos (Trp147, Cys190-Cys191, wt419, Ile118, Ser189) na camada DFT, enquanto que os demais resíduos foram simulados na camada PM6; esse esquema foi chamado *Oniom-2*.<sup>154</sup>

Cerón-Carrasco et al. (2013) não utilizaram o método de fragmentação com capas conjugadas (MFCC), em vez disso, utilizaram o método *Oniom*.<sup>154</sup> Por não terem fragmentado o sistema em partes menores, os autores ficaram limitados a considerar a região de 4 Å, e não incluíram nenhum modelo de solvatação.<sup>154</sup> Além disso, as energias de interação encontradas pelos autores foram calculadas para cada par resíduo-imidacloprido sem considerar o fator de blindagem proporcionado pelos resíduos laterais ao resíduo de interesse (resíduos denominados capas, no método MFCC); as energias foram calculadas no escopo da teoria DFT, conjunto de base 6-311++G(d), e pelo método MP2, conjunto de base 6-311++G(d). Conforme verificado anteriormente, quando se analisou as energias de interação dos resíduos Ile85 e Thr110, as capas alteraram o valor da energia de interação. Para efeito de comparação, a Tabela 6.4 mostra as energias de interação dos resíduos mais relevantes encontrados neste trabalho e as energias de interação encontradas por Cerón-Carrasco et al. (2013).<sup>154</sup>

Segundo Cerón-Carrasco et al. (2013), os resíduos mais importantes para a interação são o Trp147 (interação CH--- $\pi$ , ligação de hidrogênio e interações de van der Waals) e Cys190-Cys191 (ligação de hidrogênio e interação de van der Waals), ambos pertencem a cadeia B e representam cerca de 40% da energia total de interação.<sup>154</sup> Os autores também mencionaram a importância dos resíduos Ser189 (cadeia B) e Tyr55 (cadeia A), que interagem por meio de ligação de hidrogênio formada entre as hidroxilas desses resíduos e o grupo nitro do imidacloprido. Os grupos amina (-NH-) e carbonila do resíduo Ile118 (cadeia A) formam ligação de hidrogênio com o nitrogênio piridíneo do imidacloprido, mas a ligação é intermediada por uma molécula de água em ponte.<sup>154</sup>

Tanto neste trabalho quanto no trabalho de Cerón-Carrasco et al. (2013),<sup>154</sup> o resíduo Trp147 é o resíduo que possui a maior contribuição energética para a interação com o imidacloprido. Observou-se que há divergência na sequência entre os demais resíduos, isso é esperado, visto que os resultados foram obtidos com diferentes modelos teóricos.

Tabela 6.4 - Energias de interação entre o imidacloprido e os resíduos mais relevantes das cadeias A e B do domínio de ligação AChBP. Também são mostradas as energias de interação imidacloprido-resíduos, calculadas por Cerón-Carrasco et al. (2013).

Cadeia B			Cadeia A		
Resíduo (distância/Å)	<sup>a</sup> Energia (kcal mol <sup>-1</sup> )	<sup>b</sup> Energia (kcal mol <sup>-1</sup> )	Resíduo (distância/Å)	<sup>a</sup> Energia (kcal mol <sup>-1</sup> )	<sup>b</sup> Energia (kcal mol <sup>-1</sup> )
Trp147 (2,4)	-19,16	-14,09	Ile118 (2,8)	-16,97	-6,65
Tyr188 (2,6)	-14,02	-5,94	Tyr55 (2,7)	-5,34	-7,65
Ser189 (2,9)	-7,89	-8,51	Ile106 (3,7)	-4,24	
Val148 (2,6)	-7,12	-7,24	Val108 (2,0)	-3,93	-1,20
Tyr195 (2,6)	-6,45	-3,41	Met116 (3,2)	-2,25	-1,37
Tyr93 (1,8)	-6,17	-3,38	Phe117 (3,0)	-1,40	
Cys190-191	-5,68	-9,75 <sup>c</sup>	Gln57 (3,7)	-1,18	
Cys190 (2,0)	-3,65		Arg59 (7,5)	-0,52	
Cys191 (3,4)	-2,69		Ser166 (8,0)	0,62	
Glu193 (7,2)	-0,75		Glu56 (7,6)	0,66	
His187 (6,9)	-0,62		Thr80 (6,8)	0,77	
Gln186 (6,3)	-0,58		Gln58 (6,8)	0,91	
Pro192 (7,3)	0,71		Thr110 (7,5)	0,94	
Ser150 (5,8)	0,75		Ile85 (8,0)	0,95	
			Asp164 (6,5)	1,20	

Fonte: elaborada pelo autor.

Notas: <sup>a</sup> energias de interação calculadas neste trabalho usando a teoria DFT, conjunto de base 6-311++G (d, p), modelo de solvatação COSMO; <sup>b</sup> energias de interação calculadas por Cerón-Carrasco et al. (2013),<sup>154</sup> usando a teoria DFT, conjunto de base 6-311++G (d). <sup>c</sup> Cerón-Carrasco calculou a interação entre o imidacloprido e o par de resíduos Cys190-Cys191, isso porque esses dois resíduos são unidos por ligação dissulfeto.

Embora o par de resíduos Cys190-191 esteja mais próximo do imidacloprido do que o resíduo Tyr188, esse teve a segunda maior contribuição. Enquanto no trabalho de Cerón-Carrasco et al.(2013),<sup>154</sup> o par Cys190-191 é que ocupa a segunda maior contribuição. Os dois primeiros resíduos da cadeia A tiveram sua ordem invertida quando os resultados deste trabalho são comparados aos resultados de Cerón-Carrasco et al. (2013).<sup>154</sup> A divergência entre as ordens de contribuição de energia dos resíduos estudados neste trabalho e no trabalho de Cerón-Carrasco et al. (2013) é gerada, provavelmente, porque neste trabalho utilizou-se as capas (resíduos laterais) como blindagem. Acredita-se que o conjunto de aproximações teóricas exerça um papel menos relevante na determinação da sequência de contribuição energética. Vale notar que os resíduos mais relevantes estão situados a uma distância de até 4,0 Å; por sua vez os resíduos mais distantes possuem energias ou repulsivas ou pouco atrativas.

Os resíduos Phe117 (-1,40 kcal mol<sup>-1</sup>; 3 Å) e Gln57 (-1,18 kcal mol<sup>-1</sup>; 3,7 Å) não foram considerados no trabalho de Cerón-Carrasco et al. (2013), mas esses resíduos possuem baixa contribuição energética para a interação. O resíduo Ile106 também não foi considerado,

contudo, neste trabalho, verificou-se que Ile106 exerce expressiva contribuição energética na interação com o imidacloprido, ou seja,  $-4,24 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Conforme discutido anteriormente, o menor contato possível é entre o átomo de oxigênio do grupo carbonílico desse resíduo ao átomo de cloro do imidacloprido, a  $3,7 \text{ \AA}$ . Era esperado que a interação fosse desfavorável, mas é possível que haja a estabilização pelo efeito de hiperconjugação. Em trabalhos futuros, sugere-se que haja o estudo dos orbitais, por exemplo, usando a teoria dos orbitais naturais de ligação (*Natural Bond Orbital - NBO*). A análise NBO fornece uma descrição da estrutura eletrônica de maneira análoga à teoria clássica de ligação de Lewis: orbitais NBO preenchidos das camadas internas, orbitais NBO preenchidos da camada de valência e orbitais NBO não preenchidos (orbitais *Rydberg*) são considerados, e também a interação entre esses orbitais. A deslocalização eletrônica, que parte dos orbitais NBO preenchidos para os orbitais NBO não preenchidos, pode ser descrita como a transferência de carga por hiperconjugação.<sup>232</sup> A análise NBO também fornece as cargas atômicas, ou seja, as cargas naturais (*Natural Population Analysis - NPA*), e a composição das ligações: coeficiente de polarização para cada átomo na ligação, hibridização de cada átomo na ligação, e a ocupância eletrônica da ligação.

## 7 CONCLUSÕES

### 7.1 A molécula do imidacloprido

A análise estrutural da molécula do imidacloprido, baseada em cálculos de primeiro princípio empregado o funcional M06-2X no escopo da teoria DFT, resultou em quatro confôrmeros de mais baixa energia: um confôrmero na fase gás (IMI1-MV) e três outros (IMI1-MP, IMI2-MP e IMI3-MP), em ordem crescente de energia, no modelo de solvatação PCM. Essas estruturas estão no mínimo de energia (menor energia de Gibbs), isso com relação às estruturas otimizadas a partir das posições atômicas do imidacloprido no estado sólido (3C79-MP, CR1-MP, CR2-MP e CR3-MP). Quando foi empregado o funcional B3LYP, também se obteve quatro estruturas no mínimo de energia: duas estruturas na fase gás (IMI1-BV e IMI2-BV), e duas estruturas no esquema de solvatação PCM (IMI1-BP e IMI2-BP). Entretanto, os resultados obtidos com o funcional M06-2X predizem o menor desvio (RMSD) da geometria molecular do imidacloprido, isso com relação aos parâmetros estruturais da molécula no estado sólido.

O mapa de potencial eletrostático mostrou que o grupo nitro tem carga negativa, preponderantemente, enquanto a carga positiva é dispersa no grupo guanidina. A análise populacional de Hirshfeld e da população natural (NPA) dos grupos nitro e guanidina sugerem que o nitrogênio nitro (N14) tem carga positiva, preponderantemente. Na molécula isolada do imidacloprido, o nitrogênio imina (N13) é mais negativamente carregado do que os demais, de acordo com a população de Hirshfeld, enquanto NPA prevê que o nitrogênio secundário N10 é mais negativo. No anel cloropiridíneo, o cloro possui menor carga negativa do que o nitrogênio do sistema aromático (N5), logo, o átomo N5 é um dos potenciais sítios para a interação com resíduos dos receptores nAChRs (e receptores análogos).

Os valores estimados dos comprimentos das ligações C9N8, C9N10 e C9N13 dos confôrmeros do imidacloprido são próximos dos comprimentos de ligações imina (N=C, 1,33 Å). Já as ligações em N13N14 (1,34-1,37 Å) são mais curtas do que as ligações simples N-NO<sub>2</sub> (1,43 Å), encontradas usualmente. Os comprimentos das ligações do grupo nitro e guanidina dos confôrmeros do imidacloprido, encontrados neste trabalho, são sempre menores do que os valores usuais, sugerindo que há a deslocalização eletrônica nesses grupos.

Dentre os confôrmeros calculados com o funcional M06-2X, o confôrmero IMI1-MV (confôrmero na fase gás) possui menor reatividade, de acordo com os valores de lacuna de energia e dureza de Pearson dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO. No esquema PCM, o

confômero IMI3-MP tem a menor reatividade (maior dureza,  $\eta$ ), seguido pelo confômero obtido a partir da otimização das posições atômicas da molécula do imidacloprido no sítio de ligação do domínio de ligação AChBP, ou seja, 3C79-P; já o confômero IMI1-MP tem menor reatividade do que o confômero IMI2-MP. Os orbitais HOMO e LUMO indicam que a menor energia para o deslocamento de carga entre esses orbitais ocorre do anel imidazole em direção ao grupo nitro, isso faz com que esse grupo seja um dos sítios para a interação com resíduos positivos dos receptores nicotínicos nAChRs.

A espectroscopia no infravermelho e Raman pode ser útil na identificação e quantificação do inseticida imidacloprido, por exemplo, em condições de campo. Além disso, essas técnicas também podem ser úteis no desenvolvimento de formulações de entrega segura e controlada do inseticida, visando segurança alimentar e segurança às espécies não alvo. Neste trabalho, identificou-se as bandas experimentais de absorção (espalhamento) no infravermelho (Raman) a partir das linhas espectrais calculadas no escopo da teoria DFT, empregando os potenciais de troca e correlação M06-2X e B3LYP. A maior parte dos modos normais de vibração são constituídos pelos mesmos tipos de vibração, isso quando se analisa as vibrações obtidas com ambos os funcionais; contudo, para alguns modos, as atribuições das vibrações são diferentes. Os valores RMSD mostraram que o funcional B3LYP, dentro do esquema PCM de solvatação e em fase gás, fornece o menor desvio das frequências calculadas para a molécula isolada do imidacloprido, isso com relação às frequências experimentais medidas para o imidacloprido em pó. A análise das curvas teóricas de infravermelho e Raman, em conjunto, obtidas com os funcionais M06-2X e B3LYP (solvatação PCM) tornou possível identificar as bandas experimentais dos espectros vibracionais.

As bandas experimentais de absorção no ultravioleta-visível médias para o imidacloprido em solução puderam ser identificadas a partir da análise das linhas de absorção calculadas para a molécula isolada, no escopo da teoria DFT, empregando os funcionais M06-2X e B3LYP, modelo de solvatação PCM. A deconvolução das curvas experimentais sugere que a primeira linha de absorção experimental ocorre com a energia de excitação de 4,11 eV, e a principal absorção tem energia de excitação 4,56 eV. Essas absorções são devidas às transições  $H_{-8} \rightarrow L_0$  e  $H_0 \rightarrow L_0$  ( $H_0 \rightarrow L_0$  e  $H_2 \rightarrow L_0$ ), de acordo com os resultados obtidos com o funcional M06-2X (B3LYP). As demais linhas experimentais de absorção também puderam ser identificadas com base nos resultados teóricos. Com relação ao deslocamento de carga entre os orbitais HOMO e LUMO, o estado excitado segue a mesma tendência verificada no estado fundamental, ou seja, a transição eletrônica ocorre do anel imidazólico em direção ao grupo nitro.



## 7.2 Cristal do imidacloprido

A energia da célula unitária do cristal do imidacloprido foi minimizada com diferentes conjuntos de aproximações, no escopo da teoria DFT: (a) funcional LDA com a parametrização CAPZ; (b) funcional GGA com a parametrização PBE, com e sem a correção de dispersão TS. O menor desvio estrutural dos parâmetros de rede da célula unitária foi obtido com o funcional GGA-PBE, mais a correção TS, isso nas energias de corte de 830 e 1100 eV. Além disso, GGA-PBE-TS subestimou as forças interatômicas ao longo dos eixos **a** e **c** da célula unitária e superestimou as forças interatômicas ao longo do eixo **b**. LDA superestimou as forças interatômicas, fornecendo parâmetros de rede menores do que os experimentais. GGA-PBE subestimou as forças interatômicas, com parâmetros de rede maiores do que os experimentais. O melhor custo-benefício foi obtido para o funcional GGA-PBE-TS, na energia de corte de 830 eV.

A partir da análise da estrutura de bandas, concluiu-se que os orbitais *p* dos átomos de nitrogênio do imidacloprido contribuem mais significativamente para o topo da banda de valência e para a porção inferior da banda de condução. Os orbitais *p* que mais contribuem para a banda de valência, além dos orbitais *p* do nitrogênio, são provenientes dos átomos de oxigênio, carbono e cloro, nessa ordem. Os orbitais *p* que mais contribuem para a banda de condução, além dos orbitais *p* dos átomos de nitrogênio, são oriundos dos átomos de oxigênio e carbono, nessa ordem.

Conforme esperado, o estado sólido reflete as características eletrônicas da molécula isolada. Foi verificado que os orbitais *p* dos átomos de nitrogênio representam a maior contribuição para o topo da banda de valência e para a região inferior da banda de condução do imidacloprido no estado sólido. Para a molécula isolada, o orbital de fronteira HOMO situa-se no anel imidazole e grupo guanidina, enquanto o orbital LUMO localiza-se no grupo nitro e grupo guanidina. Esses grupos possuem a maior parte dos átomos de nitrogênio, logo, a sobreposição dos orbitais HOMO e LUMO deve constituir o topo da banda de valência e a região inferior da banda de condução do cristal do imidacloprido.

No estado sólido, o imidacloprido tem *gap* direto, com valor de 2,72 eV ao longo do ponto A (por exemplo,  $A \rightarrow A$ ) da zona de Brillouin. O imidacloprido também apresenta outros valores de *gap* direto, isto é, 2,73 eV ao longo do ponto Y e 2,77 eV ao longo do ponto E ou C da zona de Brillouin.

A extrapolação linear da curva experimental de absorção óptica no UV-VIS (medida para o imidacloprido em pó) versus energia de absorção indicam que o *gap* de energia é direto

e vale 3,50 eV, ou seja, 0,78 eV maior do que o valor predito para o cristal ideal do imidacloprido utilizando a parametrização GGA-PBE-TS; esse conjunto de aproximações, geralmente, subestimam as forças de interação gerando valores de *gap* menores do que os experimentais.

A partir da análise da curva da parte imaginária da função dielétrica complexa, verificou-se que a banda fundamental de absorção se inicia a partir de 2,62, 2,67 ou 2,72 eV, dependendo do plano do cristal em que há a incidência da luz polarizada; por essa razão o imidacloprido praticamente não absorve no visível. Os resultados são coerentes com a lacuna de energia da estrutura de bandas, pois a função dielétrica complexa é obtida a partir da estrutura de bandas. A análise do perfil das curvas da parte real e imaginária da função dielétrica complexa - curvas obtidas para os diferentes planos em que há a incidência da luz polarizada -, mostrou que o imidacloprido possui caráter anisotrópico e birrefringente.

Algumas bandas experimentais dos espectros vibracionais de infravermelho e Raman medidas para o imidacloprido em pó não puderam ser identificadas pela comparação com os espectros teóricos calculados para a molécula isolada do imidacloprido. No entanto, essas bandas foram identificadas quando as vibrações das bandas de absorção experimental foram atribuídas a partir dos espectros vibracionais calculados para o cristal do imidacloprido. Os cálculos teóricos para o cristal do imidacloprido previram que grupos semelhantes (por exemplo, grupos metilênicos) em uma molécula possuem diferentes perfis vibracionais (conforme verificado para o modo E49), visto que a frequência e intensidade de vibração dependem do ambiente químico dos grupos vizinhos; tal previsão não pode ser feita com precisão com base apenas em dados experimentais.

### 7.3 Bioquímica estrutural do imidacloprido

Neste trabalho, a análise das energias de interação entre o imidacloprido e os resíduos de aminoácidos das cadeias A e B do domínio de ligação AChBP da lesma de água salgada *Aplysia californica* foi realizada por meio do método de fragmentação com capas conjugadas (MFCC). Os resíduos mais importantes para a interação, encontrados neste estudo, estão de acordo com os encontrados por outros autores, mas a sequência de contribuição energética dos resíduos diverge quando ambos os trabalhos são considerados, provavelmente, porque diferentes modelos teóricos e aproximações no contexto da teoria DFT foram utilizadas. Na cadeia B, os resíduos mais relevantes para a interação são Trp147 (-19,16 kcal mol<sup>-1</sup>) e Tyr188 (-14,02 kcal mol<sup>-1</sup>); na cadeia A, destacam-se as contribuições dos resíduos Ile118

(-16,97 kcal mol<sup>-1</sup>) e Tyr55 (-5,34 kcal mol<sup>-1</sup>). Os resíduos Phe117, Gln57 e Ile106 da cadeia A também contribuem para a interação, mas esses resíduos não foram considerados em outros trabalhos. Verificou-se a importância de se considerar a blindagem promovida pelos resíduos laterais (capas), visto que a energia de interação diminui à medida que aumenta o número de resíduos de blindagem ou capas. Resíduos orientados em posições aparentemente desfavoráveis para a interação mostraram interações atrativas (por exemplo, as interações do imidacloprido com o resíduo Ile106, e possivelmente com Met116), neste caso, a análise visual da orientação do resíduo e do ligante não é suficiente para explicar as interações. Em trabalhos futuros, recomenda-se que as interações entre o imidacloprido e os resíduos mais relevantes, determinados neste trabalho, sejam exploradas por meio da análise dos orbitais naturais de ligação (análise NBO).

## PERSPECTIVAS FUTURAS

Neste trabalho, a caracterização das propriedades estruturais, eletrônicas, vibracionais e ópticas do inseticida imidacloprido - pertencente a classe dos neonicotinóides - foi realizada, tanto para a molécula isolada quanto para o cristal. Em trabalhos futuros, recomenda-se que sejam investigadas as propriedades dos demais neonicotinóides; tais propriedades podem ser comparadas e conclusões podem ser obtidas.

Embora a motivação deste trabalho tenha surgido devido ao problema que os neonicotinóides causam as abelhas, o estudo da interação foi realizado para o imidacloprido e os resíduos do domínio de ligação AChBP da lesma de água salgada *Aplysia californica*, isso devido à ausência da estrutura cristalina do receptor de acetilcolina nicotínico (nAChRs) da abelha. No entanto, o domínio de ligação AChBP é homólogo à região extracelular do receptor nAChRs. Em trabalhos futuros, recomenda-se que o receptor nAChR da abelha seja modelado pela técnica de homologia estrutural a partir da estrutura cristalina de receptores de acetilcolina homólogos. Após isso, a técnica de *docking molecular* poderá ser utilizada para determinar as posições - relativas ao mínimo de energia - do imidacloprido e demais neonicotinóides no sítio de ligação do receptor.

No estudo da interação entre o imidacloprido e o domínio AChBP, determinou-se os resíduos mais relevantes que contribuem para a interação, considerando uma distância de até 8Å a partir do imidacloprido. Para isso, utilizou-se a técnica de fragmentação molecular com capas conjugadas (MFCC). Embora os tipos de interações (por exemplo, ligações de hidrogênio), as distâncias de interação, regiões envolvidas nas interações e energias das interações tenham sido determinadas, um estudo mais detalhado sobre os orbitais envolvidos nas interações não foi realizado. Logo, isso constitui-se em uma proposta para outros trabalhos. A teoria dos orbitais naturais de ligação (*Natural Bond Orbital, NBO*) pode ser utilizada para determinar a composição dos orbitais, composição das ligações, hibridizações envolvidas nas ligações, a energia de interação devido ao efeito de hiperconjugação entre orbitais preenchidos e orbitais vazios antiligantes, etc. Esses resultados podem ser analisados em conjunto com as energias de interação dos resíduos mais relevantes determinados pelo método de fragmentação com capas conjugadas.

## REFERÊNCIAS

1. Tomizawa, M. & Casida, J. E. Molecular recognition of neonicotinoid insecticides: the determinants of life or death. *Acc. Chem. Res.* **42**, 260-9 (2009).
2. Millar, N. S. & Denholm, I. Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides. *Invert. Neurosci.* **7**, 53-66 (2007).
3. Gill, R. J., Ramos-Rodriguez, O. & Raine, N. E. Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. *Nature* **491**, 105-8 (2012).
4. Ollerton, J., Winfree, R. & Tarrant, S. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* **120**, 321-326 (2011).
5. Rundlöf, M. *et al.* Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. *Nature* **521**, 77-80 (2015).
6. Rondeau, G. *et al.* Delayed and time-cumulative toxicity of imidacloprid in bees, ants and termites. *Sci. Rep.* **4**, 5566 (2014).
7. Oldroyd, B. P. What's killing American honey bees? *PLoS Biol.* **5**, e168 (2007).
8. Henry, M. *et al.* A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science* **336**, 348-50 (2012).
9. Bonmatin, J.-M. *et al.* Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **22**, 35-67 (2015).
10. Tomlin, C. D. S. No Title. in *British Crop Protection Council* 598 (2008).
11. Jeschke, P., Nauen, R., Schindler, M. & Elbert, A. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *J. Agric. Food Chem.* **59**, 2897-908 (2011).
12. Yue, B., Wilde, G. E. & Arthur, F. Evaluation of thiamethoxam and imidacloprid as seed treatments to control European corn borer and Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *J. Econ. Entomol.* **96**, 503-9 (2003).
13. Kagabu, S. Discovery of imidacloprid and further developments from strategic molecular designs. *J. Agric. Food Chem.* **59**, 2887-96 (2011).
14. Jeschke, P., Nauen, R. & Beck, M. E. Nicotinic acetylcholine receptor agonists: a milestone for modern crop protection. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **52**, 9464-85 (2013).
15. Chris Bass, Ian Denholm, Martin S. Williamson & Ralf Nauen. The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pestic. Biochem. Physiol.* **121**, 78-87 (2015).
16. Maienfisch, P. *et al.* The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. *Pest Manag. Sci.* **57**, 165-176 (2001).
17. Hai-Bo, L., Zhi-Hong, H. & Bao-Jia, G. Advancement of Research on Neonicotinoid

- Insecticides. *Int. J. Adv. Multidiscip. Res. Int. J. Adv. Multidiscip. Res.* **3**, 62-69 (2016).
18. Simon-Delso, N. *et al.* Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **22**, 5-34 (2015).
  19. Ghosh, A., Samanta, A. & Chatterjee, M. L. Dinotefuran: A third generation neonicotinoid insecticide for management of rice brown planthopper. **9**, 750-754 (2014).
  20. Cutler, P. *et al.* Investigating the mode of action of sulfoxaflor: a fourth-generation neonicotinoid. *Pest Manag. Sci.* **69**, 607-619 (2013).
  21. Abou-Donia, M. B. *Mammalian Toxicology*. Hoboken: John Wiley & Sons, 2015. p.131-170. doi:10.1002/9781118683484.ch7.
  22. Wang, X., Mu, Z., Liu, R., Pu, Y. & Yin, L. Molecular imprinted photonic crystal hydrogels for the rapid and label-free detection of imidacloprid. *Food Chem.* **141**, 3947-53 (2013).
  23. Kurwadkar, S. T., Dewinne, D., Wheat, R., McGahan, D. G. & Mitchell, F. L. Time dependent sorption behavior of dinotefuran, imidacloprid and thiamethoxam. *J. Environ. Sci. Health. B.* **48**, 237-42 (2013).
  24. R. Sur, A. S. Uptake, translocation and metabolism of imidacloprid in plants. *Bull. Insectology* **56**, 35-40 (2003).
  25. Dhang, P. *Urban Pest Management: An Environmental Perspective*. (CABI International, 2011).
  26. JOLLY, D. Pesticides Linked to Honeybee Deaths Pose More Risks. *The New York Times* (2015).
  27. PAN-UK. Different regulatory positions on neonicotinoids across Europe. Available at: [http://bees.pan-uk.org/assets/downloads/Bee\\_factsheet4.pdf](http://bees.pan-uk.org/assets/downloads/Bee_factsheet4.pdf). (Accessed: 2nd October 2015).
  28. Samson-Robert, O. *et al.* Increased Acetylcholinesterase Expression in Bumble Bees During Neonicotinoid-Coated Corn Sowing. *Sci. Rep.* **5**, 12636 (2015).
  29. Kessler, S. C. *et al.* Bees prefer foods containing neonicotinoid pesticides. *Nature* **521**, 74-76 (2015).
  30. Dively, G. P., Embrey, M. S., Kamel, A., Hawthorne, D. J. & Pettis, J. S. Assessment of chronic sublethal effects of imidacloprid on honey bee colony health. *PLoS One* **10**, e0118748 (2015).
  31. Cressey, D. Bee studies stir up pesticide debate. *Nature* **520**, 416 (2015).
  32. Quintás, G., Armenta, S., Garrigues, S. & Guardia, M. de la. Fourier transform infrared determination of imidacloprid in pesticide formulations. *J. Braz. Chem. Soc.* **15**, 307-312 (2004).

33. Xie, W. *et al.* Determination of neonicotinoid pesticides residues in agricultural samples by solid-phase extraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **1218**, 4426-33 (2011).
34. Obana, H., Okihashi, M., Akutsu, K., Kitagawa, Y. & Hori, S. Determination of Acetamiprid, Imidacloprid, and Nitenpyram Residues in Vegetables and Fruits by High-Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detection. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 4464-4467 (2002).
35. Baskaran, S., Kookana, R. S. & Naidu, R. Determination of the insecticide imidacloprid in water and soil using high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **787**, 271-275 (1997).
36. Wamhoff, H. & Schneider, V. Photodegradation of Imidacloprid. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 1730-1734 (1999).
37. Agüera, A., Almansa, E., Malato, S., Maldonado, M. I. & Fernández-Alba, A. R. Evaluation of photocatalytic degradation of imidacloprid in industrial water by GC-MS and LC-MS. *Analisis* **26**, 245-250 (1998).
38. Ko, A.-Y. *et al.* Development of a simple extraction and oxidation procedure for the residue analysis of imidacloprid and its metabolites in lettuce using gas chromatography. *Food Chem.* **148**, 402-409 (2014).
39. Hou, R., Pang, S. & He, L. In situ SERS detection of multi-class insecticides on plant surfaces. *Anal. Methods* **7**, 6325-6330 (2015).
40. Ma, G. *et al.* [Quantitative determination of imidacloprid by infrared absorption spectrometry]. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi* **26**, 434-7 (2006).
41. Segura Carretero, A., Cruces-Blanco, C., Pérez Durán, S. & Fernández Gutiérrez, A. Determination of imidacloprid and its metabolite 6-chloronicotinic acid in greenhouse air by application of micellar electrokinetic capillary chromatography with solid-phase extraction. *J. Chromatogr. A* **1003**, 189-95 (2003).
42. Wanatabe, S. *et al.* Development of competitive enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) based on monoclonal antibodies for chloronicotinoid insecticides imidacloprid and acetamiprid. *Anal. Chim. Acta* **427**, 211-219 (2001).
43. Guiberteau, A. Study and determination of the pesticide Imidacloprid by square wave adsorptive stripping voltammetry. *Talanta* **53**, 943-949 (2001).
44. Papp, Z., Švancara, I., Guzsavány, V., Vytrás, K. & Gaál, F. Voltammetric determination of imidacloprid insecticide in selected samples using a carbon paste electrode. *Microchim. Acta* **166**, 169-175 (2009).
45. Duhan, J. S. *et al.* Nanotechnology: The new perspective in precision agriculture. *Biotechnol. Reports* **15**, 11-23 (2017).
46. Lamberth, C., Jeanmart, S., Luksch, T. & Plant, A. Current Challenges and Trends in

- the Discovery of Agrochemicals. *Science* (80-. ). **341**, (2013).
47. Adak, T., Kumar, J., Shakil, N. A. & Walia, S. Development of controlled release formulations of imidacloprid employing novel nano-ranged amphiphilic polymers. *J. Environ. Sci. Health. B.* **47**, 217-25 (2012).
  48. Coates, J. *Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach*. (John Wiley & Sons, Ltd, 2006). doi:10.1002/9780470027318.
  49. Zhang, H. *et al.* Determination of Pesticides by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy on Gold Nanoparticle Modified Polymethacrylate. *Anal. Lett.* 00032719.2016.1147577 (2016). doi:10.1080/00032719.2016.1147577.
  50. Flores-Céspedes, F. *et al.* Preparation and characterization of imidacloprid lignin-polyethylene glycol matrices coated with ethylcellulose. *J. Agric. Food Chem.* **60**, 1042-51 (2012).
  51. Adak, T., Kumar, J., Shakil, N. A. & Walia, S. Development of controlled release formulations of imidacloprid employing novel nano-ranged amphiphilic polymers. *J. Environ. Sci. Health. B.* **47**, 217-25 (2012).
  52. IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Analista do Ibama participa de conferência na Alemanha sobre avaliação de riscos do uso de agrotóxicos. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/noticias/422-2017/961-analista-do-ibama-participa-de-conferencia-na-alemanha-sobre-avaliacao-de-riscos-do-uso-de-agrotoxicos>>. Acesso em: 29 de Setembro de 2017.
  53. Lima, M. C. de & Rocha, S. de A. Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil: proposta metodológica de acompanhamento. Ibama, 2012.
  54. Cham, K. de O. *et al.* Manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para as abelhas. Ibama/Diqua, 2017.
  55. US-EPA. Guidelines for Ecological Risk Assessment. (1998). Disponível em: <<https://www.epa.gov/risk/guidelines-ecological-risk-assessment>>. Acesso em: 20 de Novembro de 2017.
  56. BRASIL. Constituição Federal de 1988. Promulgada em 5 de outubro de 1988. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/constituicao/constituicaocompilado.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/constituicao/constituicaocompilado.htm)>. Acesso em: 16 de Novembro de 2017.
  57. IBAMA. Reavaliação ambiental. (2017). Disponível em:<<http://www.ibama.gov.br/component/content/article?id=739>>. Acesso em: 16 de Novembro de 2017).
  58. Bertrand, Sherry Leonard, D. & Bertrand, D. Neuronal nicotinic receptors: from structure to function. *Nicotine Tob. Res.* **3**, 203-223 (2001).
  59. Kellar, K. J., Xiao, Y., Kellar, K. J. & Xiao, Y. Handbook of Contemporary



- Neuropharmacology. *John Wiley & Sons.* (2007). doi:10.1002/9780470101001.hcn004.
60. Breer, H., Hanke, W., Benke, D., Tareilus, E. & Krieger, J. Molecular Biology of Neuroreceptors and Ion Channels. *Springer Berlin Heidelberg.* 55-68 (1989). doi:10.1007/978-3-642-74155-5\_5.
  61. Gotti, C. & Clementi, F. Neuronal nicotinic receptors: from structure to pathology. *Prog. Neurobiol.* **74**, 363-396 (2004).
  62. Gahring, L. C. & Rogers, S. W. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor expression and function on nonneuronal cells. *AAPS J.* **7**, E885-E894 (2005).
  63. Boulter, J. *et al.* Alpha 3, alpha 5, and beta 4: three members of the rat neuronal nicotinic acetylcholine receptor-related gene family form a gene cluster. *J. Biol. Chem.* **265**, 4472-82 (1990).
  64. Lukas, R. J. & Bencherif, M. Heterogeneity and regulation of nicotinic acetylcholine receptors. *Int. Rev. Neurobiol.* **34**, 25-131 (1992).
  65. Conti-Fine, B. M., Navaneetham, D., Lei, S. & Maus, A. D. . Neuronal nicotinic receptors in non-neuronal cells: new mediators of tobacco toxicity? *Eur. J. Pharmacol.* **393**, 279-294 (2000).
  66. Sharma, G. & Vijayaraghavan, S. Nicotinic receptor signaling in nonexcitable cells. *J. Neurobiol.* **53**, 524-534 (2002).
  67. Jones, A. K. & Sattelle, D. B. Diversity of insect nicotinic acetylcholine receptor subunits. *Adv. Exp. Med. Biol.* **683**, 25-43 (2010).
  68. Tomizawa, M. & Casida, J. E. Minor structural changes in nicotinoid insecticides confer differential subtype selectivity for mammalian nicotinic acetylcholine receptors. *Br. J. Pharmacol.* **127**, 115-22 (1999).
  69. Elgoyhen, A. B., Johnson, D. S., Boulter, J., Vetter, D. E. & Heinemann, S. Alpha 9: an acetylcholine receptor with novel pharmacological properties expressed in rat cochlear hair cells. *Cell* **79**, 705-15 (1994).
  70. Lindstrom, J., Whiting, P., Schoepfer, R., Luther, M. & Casey, B. Nicotinic Acetylcholine Receptors in the Nervous System. *Springer Berlin Heidelberg.* 159-172 (1988). doi:10.1007/978-3-642-74167-8\_13.
  71. Conroy, W. G., Vernallis, A. B. & Berg, D. K. The alpha 5 gene product assembles with multiple acetylcholine receptor subunits to form distinctive receptor subtypes in brain. *Neuron* **9**, 679-91 (1992).
  72. Ramirez-Latorre, J. *et al.* Functional contributions of  $\alpha 5$  subunit to neuronal acetylcholine receptor channels. *Nature* **380**, 347-351 (1996).
  73. Groot-Kormelink, P. J., Luyten, W. H., Colquhoun, D. & Sivilotti, L. G. A reporter mutation approach shows incorporation of the 'orphan' subunit beta3 into

- a functional nicotinic receptor. *J. Biol. Chem.* **273**, 15317-20 (1998).
74. Zouridakis, M., Zisimopoulou, P., Poulas, K. & Tzartos, S. J. Recent advances in understanding the structure of nicotinic acetylcholine receptors. *IUBMB Life* **61**, 407-423 (2009).
  75. Karlin, A. & Bartels, E. Effects of blocking sulfhydryl groups and of reducing disulfide bonds on the acetylcholine-activated permeability system of the electroplax. *Biochim. Biophys. Acta - Biophys. Incl. Photosynth.* **126**, 525-535 (1966).
  76. Kao, P. N. *et al.* Identification of the alpha subunit half-cystine specifically labeled by an affinity reagent for the acetylcholine receptor binding site. *J. Biol. Chem.* **259**, 11662-5 (1984).
  77. Schwartz, R. D. & Kellar, K. J. [3H]acetylcholine binding sites in brain. Effect of disulfide bond modification. *Mol. Pharmacol.* **24**, (1983).
  78. Marks, M. J., Stitzel, J. A., Romm, E., Wehner, J. M. & Collins, A. C. Nicotinic binding sites in rat and mouse brain: comparison of acetylcholine, nicotine, and alpha-bungarotoxin. *Mol. Pharmacol.* **30**, (1986).
  79. Karlin, A. & Akabas, M. H. Toward a structural basis for the function of nicotinic acetylcholine receptors and their cousins. *Neuron* **15**, 1231-44 (1995).
  80. Karlin, A. *et al.* The arrangement of the subunits of the acetylcholine receptor of *Torpedo californica*. *J. Biol. Chem.* **258**, 6678-81 (1983).
  81. Brejc, K. *et al.* Crystal structure of an ACh-binding protein reveals the ligand-binding domain of nicotinic receptors. *Nature* **411**, 269-276 (2001).
  82. Bouzat, C. *et al.* Coupling of agonist binding to channel gating in an ACh-binding protein linked to an ion channel. *Nature* **430**, 896-900 (2004).
  83. Unwin, N. Refined Structure of the Nicotinic Acetylcholine Receptor at 4Å Resolution. *J. Mol. Biol.* **346**, 967-989 (2005).
  84. Dellisanti, C. D., Yao, Y., Stroud, J. C., Wang, Z.-Z. & Chen, L. Crystal structure of the extracellular domain of nAChR  $\alpha 1$  bound to  $\alpha$ -bungarotoxin at 1.94 Å resolution. *Nat. Neurosci.* **10**, 953-962 (2007).
  85. Hilf, R. J. C. & Dutzler, R. X-ray structure of a prokaryotic pentameric ligand-gated ion channel. *Nature* **452**, 375-379 (2008).
  86. Ihara, M. *et al.* Crystal structures of *Lymnaea stagnalis* AChBP in complex with neonicotinoid insecticides imidacloprid and clothianidin. *Invert. Neurosci.* **8**, 71-81 (2008).
  87. Talley, T. T. *et al.* Atomic interactions of neonicotinoid agonists with AChBP: molecular recognition of the distinctive electronegative pharmacophore. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 7606-11 (2008).

88. Celie, P. H. N. *et al.* Nicotine and carbamylcholine binding to nicotinic acetylcholine receptors as studied in AChBP crystal structures. *Neuron* **41**, 907-14 (2004).
89. Hansen, S. B. *et al.* Structures of *Aplysia* AChBP complexes with nicotinic agonists and antagonists reveal distinctive binding interfaces and conformations. *EMBO J.* **24**, 3635-46 (2005).
90. Celie, P. H. N. *et al.* Crystal structure of nicotinic acetylcholine receptor homolog AChBP in complex with an  $\alpha$ -conotoxin PnIA variant. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **12**, 582-588 (2005).
91. Celie, P. H. N. *et al.* Crystal structure of acetylcholine-binding protein from *Bulinus truncatus* reveals the conserved structural scaffold and sites of variation in nicotinic acetylcholine receptors. *J. Biol. Chem.* **280**, 26457-66 (2005).
92. Bourne, Y., Talley, T. T., Hansen, S. B., Taylor, P. & Marchot, P. Crystal structure of a Cbtx-AChBP complex reveals essential interactions between snake alpha-neurotoxins and nicotinic receptors. *EMBO J.* **24**, 1512-22 (2005).
93. Ulens, C. *et al.* Structural determinants of selective alpha-conotoxin binding to a nicotinic acetylcholine receptor homolog AChBP. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103**, 3615-20 (2006).
94. Dutertre, S. *et al.* AChBP-targeted alpha-conotoxin correlates distinct binding orientations with nAChR subtype selectivity. *EMBO J.* **26**, 3858-67 (2007).
95. Beers, W. H. & Reich, E. Structure and Activity of Acetylcholine. *Nature* **228**, 917-922 (1970).
96. Yamamoto, I., Kamimura, H., Yamamoto, R., Sakai, S. & Goda, M. Studies on Nicotinoids as an Insecticide. *Agric. Biol. Chem.* **26**, 709-716 (1962).
97. Tomizawa, M. & Yamamoto, I. Structure-Activity Relationships of Nicotinoids and Imidacloprid Analogs. *J. Pestic. Sci.* **18**, 91-98 (1993).
98. Yamamoto, I. *et al.* Molecular Mechanism for Selective Toxicity of Nicotinoids and Neonicotinoids. *J. Pestic. Sci.* **20**, 33-40 (1995).
99. M. Y. Liu, J. Lanford & J.E. Casida. Relevance of [3H]Imidacloprid Binding Site in House Fly Head Acetylcholine Receptor to Insecticidal Activity of 2-Nitromethylene- and 2-Nitroimino-imidazolidines. *Pestic. Biochem. Physiol.* **46**, 200-206 (1993).
100. Kagabu, S. & Matsuno, H. Chloronicotiny Insecticides. 8. Crystal and Molecular Structures of Imidacloprid and Analogous Compounds. *J. Agric. Food Chem.* **45**, 276-281 (1997).
101. Moriya, K. *et al.* 1-(6-Chloronicotiny)-2-nitroimino-imidazolidines and Related Compounds as Potential New Insecticides. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **56**, 364-365 (1992).

102. Moriya, K. *et al.* Structural Modification of the 6-Chloropyridyl Moiety in the Imidacloprid, Skeleton: Introduction of a Five-membered Heteroaromatic Ring and the Resulting Insecticidal Activity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **57**, 127-128 (1993).
103. Moriya, K. *et al.* 1-Diazinylmethyl-2-nitromethylene- and 2-Nitroimino-imidazolidines as New Potential Insecticides. *J. Pestic. Sci.* **18**, 119-123 (1993).
104. Tomizawa, M., Lee, D. L. & Casida, J. E. Neonicotinoid Insecticides: Molecular Features Conferring Selectivity for Insect versus Mammalian Nicotinic Receptors. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 6016-6024 (2000).
105. Karlin, A. *et al.* Toward a structural basis for the function of nicotinic acetylcholine receptors and their cousins. *Neuron* **15**, 1231-44 (1995).
106. Zhong, W. *et al.* From ab initio quantum mechanics to molecular neurobiology: a cation- $\pi$  binding site in the nicotinic receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **95**, 12088-93 (1998).
107. Matsuda, K. *et al.* Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* **22**, 573-580 (2001).
108. Arias, H. R. Topology of ligand binding sites on the nicotinic acetylcholine receptor. *Brain Res. Rev.* **25**, 133-191 (1997).
109. Corringer, P.-J., Novère, N. Le & Changeux, J.-P. Nicotinic Receptors at the Amino Acid Level. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **40**, 431-458 (2000).
110. Liu, M. Y. & Casida, J. E. High Affinity Binding of [3H]Imidacloprid in the Insect Acetylcholine Receptor. *Pestic. Biochem. Physiol.* **46**, 40-46 (1993).
111. Tomizawa, M., Otsuka, H., Miyamoto, T. & Yamamoto, I. Pharmacological Effects of Imidacloprid and Its Related Compounds on the Nicotinic Acetylcholine Receptor with Its Ion Channel from the Torpedo Electric Organ. *J. Pestic. Sci.* **20**, 49-56 (1995).
112. Lee Chao, S. & Casida, J. E. Interaction of Imidacloprid Metabolites and Analogs with the Nicotinic Acetylcholine Receptor of Mouse Brain in Relation to Toxicity. *Pestic. Biochem. Physiol.* **58**, 77-88 (1997).
113. Zwart, R., Oortgiesen, M. & Vijverberg, H. P. The nitromethylene heterocycle 1-(pyridin-3-yl-methyl)-2-nitromethylene-imidazolidine distinguishes mammalian from insect nicotinic receptor subtypes. *Eur. J. Pharmacol.* **228**, 165-9 (1992).
114. Yamamoto, I. *et al.* Structural factors contributing to insecticidal and selective actions of neonicotinoids. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **37**, 24-32 (1998).
115. Matsuda, K. *et al.* Effects of the  $\alpha$  subunit on imidacloprid sensitivity of recombinant nicotinic acetylcholine receptors. *Br. J. Pharmacol.* **123**, 518-524 (1998).
116. Tomizawa, M. *Chemical Biology of the Nicotinic Insecticide Receptor. Advances in*

- Insect Physiology* **44**, (Elsevier, 2013).
117. Tomizawa, M. *et al.* Atypical nicotinic agonist bound conformations conferring subtype selectivity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 1728-32 (2008).
  118. Frisch, M. *et al.* Gaussian 09. (2009).
  119. Le Questel, J.-Y. *et al.* New insights on the molecular features and electrophysiological properties of dinotefuran, imidacloprid and acetamiprid neonicotinoid insecticides. *Bioorg. Med. Chem.* **19**, 7623-34 (2011).
  120. Jamróz, M. H. Vibrational energy distribution analysis (VEDA): scopes and limitations. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **114**, 220-30 (2013).
  121. Clark, S. J. *et al.* First principles methods using CASTEP. *Z. Krist.* **220**, 567-570 (2005).
  122. Ceperley, D. M. & Alder, B. J. Ground State of the Electron Gas by a Stochastic Method. *Phys. Rev. Lett.* **45**, 566-569 (1980).
  123. Perdew, J. P. & Zunger, A. Self-interaction correction to density-functional approximations for many-electron systems. *Phys. Rev. B* **23**, 5048-5079 (1981).
  124. Perdew, J. P., Burke, K. & Ernzerhof, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple. *Phys. Rev. Lett.* **77**, 3865-3868 (1996).
  125. Perdew, J. P. & Wang, Y. Accurate and simple analytic representation of the electron-gas correlation energy. *Phys. Rev. B* **45**, 13244-13249 (1992).
  126. Tkatchenko, A. & Scheffler, M. Accurate Molecular Van Der Waals Interactions from Ground-State Electron Density and Free-Atom Reference Data. *Phys. Rev. Lett.* **102**, 73005 (2009).
  127. Grimme, S., Hansen, A., Brandenburg, J. G. & Bannwarth, C. Dispersion-Corrected Mean-Field Electronic Structure Methods. *Chem. Rev.* **116**, 5105-5154 (2016).
  128. Bernd G. Pfrommer, Michel Côté, Steven G. Louie & Marvin L. Cohen. Relaxation of Crystals with the Quasi-Newton Method. *J. Comput. Phys.* **131**, 233-240 (1997).
  129. Monkhorst, H. J. & Pack, J. D. Special points for Brillouin-zone integrations. *Phys. Rev. B* **13**, 5188-5192 (1976).
  130. Humphrey, W., Dalke, A. & Schulten, K. VMD: Visual molecular dynamics. *J. Mol. Graph.* **14**, 33-38 (1996).
  131. Tomizawa, M., Zhang, N., Durkin, K. A., Olmstead, M. M. & Casida, J. E. The neonicotinoid electronegative pharmacophore plays the crucial role in the high affinity and selectivity for the *Drosophila* nicotinic receptor: an anomaly for the nicotinoid cation--pi interaction model. *Biochemistry* **42**, 7819-27 (2003).
  132. Chamberlain, K., Evans, A. A. & Bromilow, R. H. 1-Octanol/Water Partition

- Coefficient ( $K_{ow}$ ) and  $pK_a$  for Ionisable Pesticides Measured by apH-Metric Method. *Pestic. Sci.* **47**, 265-271 (1996).
133. Brooks, B. R. *et al.* CHARMM: The biomolecular simulation program. *J. Comput. Chem.* **30**, 1545-1614 (2009).
  134. Phillips, J. C. *et al.* Scalable molecular dynamics with NAMD. *J. Comput. Chem.* **26**, 1781-1802 (2005).
  135. Li, H., Robertson, A. D. & Jensen, J. H. Very fast empirical prediction and rationalization of protein  $pK_a$  values. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* **61**, 704-721 (2005).
  136. Olsson, M. H. M., Søndergaard, C. R., Rostkowski, M. & Jensen, J. H. PROPKA3: Consistent Treatment of Internal and Surface Residues in Empirical  $pK_a$  Predictions. *J. Chem. Theory Comput.* **7**, 525-537 (2011).
  137. Bas, D. C., Rogers, D. M. & Jensen, J. H. Very fast prediction and rationalization of  $pK_a$  values for protein-ligand complexes. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* **73**, 765-783 (2008).
  138. Zhang, D. W. & Zhang, J. Z. H. Molecular fractionation with conjugate caps for full quantum mechanical calculation of protein-molecule interaction energy. *J. Chem. Phys.* **119**, 3599-3605 (2003).
  139. Gouda, H., Kuntz, I. D., Case, D. A. & Kollman, P. A. Free energy calculations for theophylline binding to an RNA aptamer: Comparison of MM-PBSA and thermodynamic integration methods. *Biopolymers* **68**, 16-34 (2003).
  140. Kollman, P. A. *et al.* Calculating Structures and Free Energies of Complex Molecules: Combining Molecular Mechanics and Continuum Models. *Acc. Chem. Res.* **33**, 889-897 (2000).
  141. and, D. L. M., Dill, K. A. & Chodera, J. D. Treating Entropy and Conformational Changes in Implicit Solvent Simulations of Small Molecules. (2008). doi:10.1021/JP0764384.
  142. Li, L., Li, C., Zhang, Z. & Alexov, E. On the Dielectric 'Constant' of Proteins: Smooth Dielectric Function for Macromolecular Modeling and Its Implementation in DelPhi. *J. Chem. Theory Comput.* **9**, 2126-2136 (2013).
  143. Gunner, M. R., Zhu, X. & Klein, M. C. MCCE analysis of the  $pK_a$ s of introduced buried acids and bases in staphylococcal nuclease. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* **79**, 3306-3319 (2011).
  144. Jim Warwicker.  $pK_a$  predictions with a coupled finite difference Poisson-Boltzmann and Debye-Hückel method. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* **79**, 3374-3380 (2011).
  145. Spassov, V. Z. & Yan, L. A fast and accurate computational approach to protein ionization. *Protein Sci.* **17**, 1955-1970 (2008).

146. Antosiewicz, J., McCammon, J. A. & Gilson, M. K. Prediction of Ph-dependent Properties of Proteins. *J. Mol. Biol.* **238**, 415-436 (1994).
147. Vicatos, S., Roca, M. & Warshel, A. Effective approach for calculations of absolute stability of proteins using focused dielectric constants. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* **77**, 670-684 (2009).
148. Pecharroman, C., Iglesias, J. E. & Carreño, T. G. Average Dielectric Constant of Coated Spheres: Application to the IR Absorption Spectra of NiO and MgO. *Appl. Spectrosc. Vol. 47, Issue 8, pp. 1203-1208* **47**, 1203-1208 (1993).
149. Martins, A. C. V., De-Lima-Neto, P., Caetano, E. W. S. & Freire, V. N. An improved quantum biochemistry description of the glutamate-GluA2 receptor binding within an inhomogeneous dielectric function framework. *New J. Chem.* **41**, 6167-6179 (2017).
150. Zamyatnin, A. A. Amino Acid, Peptide, and Protein Volume in Solution. *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* **13**, 145-165 (1984).
151. Delley, B. An all-electron numerical method for solving the local density functional for polyatomic molecules. *J. Chem. Phys.* **92**, 508-517 (1990).
152. Delley, B. From molecules to solids with the DMol3 approach. (2000). doi:10.1063/1.1316015
153. Klamt, A. & Schüürmann, G. COSMO: a new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the screening energy and its gradient. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* 799-805 (1993). doi:10.1039/P29930000799
154. Cerón-Carrasco, J. P., Jacquemin, D., Graton, J., Thany, S. & Le Questel, J.-Y. New insights on the molecular recognition of imidacloprid with *Aplysia californica* AChBP: a computational study. *J. Phys. Chem. B* **117**, 3944-53 (2013).
155. Da Costa, R. F. *et al.* Explaining statin inhibition effectiveness of HMG-CoA reductase by quantum biochemistry computations. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **14**, 1389-1398 (2012).
156. Barroso-Neto, I. L. *et al.* Inactivation of Ovine Cyclooxygenase-1 by Bromoaspirin and Aspirin: A Quantum Chemistry Description. *J. Phys. Chem. B* **116**, 3270-3279 (2012).
157. Zanatta, G. *et al.* Quantum Biochemistry Description of the Human Dopamine D3 Receptor in Complex with the Selective Antagonist Eticlopride. *J. Proteomics Bioinform.* **5**, 155-162 (2012).
158. Da Silva Ribeiro, T. C. *et al.* The quantum biophysics of the isoniazid adduct NADH binding to its InhA reductase target. *New J. Chem.* **38**, 2946 (2014).
159. Levine, I. N. *Physycal Chemistry*. 6a. ed. New York: McGraw-Hil Inc., 2009.
160. D. Chopra, T. P. Mohan, K. S. R. and T. N. G. R. (2E)-1-[(6-chloropyridin-3-

- yl)methyl]-N-nitroimidazolidin-imine (imidacloprid). *Acta Cryst.* **60**, 2415-2417 (2004).
161. Kumar, V. *et al.* Ab-initio calculations, FT-IR and FT-Raman spectra of 2-chloro-6-methyl benzonitrile. *Indian J. Pure Appl. Phys.* **48**, (2010).
  162. Govindarasu, Kavitha, Sundaraganesan, Suresh & Padusha, S. A. Synthesis, Molecular Structure and Quantum Chemical Computational Interpretations on (E)-N'-(3, 4-Dimethoxy benzylidene)-Nicotinohydrazide Monohydrate by DFT-B3LYP and M02-2X level of Calculations; A Comparative Study. *Int. J. Adv. Sci. Eng.* **2**, (2015).
  163. Asha Chandran, Hema Tresa Varghese, C. Yohannan Panicker, G. R. FT-IR and Computational Study of Sulphaguanidine. *Orient. J. Chem.* **27**, 611-617 (2011).
  164. Singh, J. S. FTIR and raman spectra compared with ab initio calculated frequency modes for 5-aminouracil. *J. Biol. Phys.* **34**, 569-76 (2008).
  165. Chandran, A. *et al.* FT-IR, FT-Raman and computational study of (E)-N-carbamimidoyl-4-((4-methoxybenzylidene)amino)benzenesulfonamide. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **92**, 84-90 (2012).
  166. Sert, Y. *et al.* Vibrational spectroscopy (FT-IR and Laser-Raman) investigation, and computational (M06-2X and B3LYP) analysis on the structure of 4-(3-fluorophenyl)-1-(propan-2-ylidene)-thiosemicarbazone. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **128**, 91-9 (2014).
  167. Sert, Y., Singer, L. M., Findlater, M., Doğan, H. & Çırak, Ç. Vibrational frequency analysis, FT-IR, DFT and M06-2X studies on tert-Butyl N-(thiophen-2yl)carbamate. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **128**, 46-53 (2014).
  168. Sert, Y. *et al.* Vibrational frequency analysis, FT-IR and Laser-Raman spectra, DFT studies on ethyl (2E)-2-cyano-3-(4-methoxyphenyl)-acrylate. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **130**, 96-104 (2014).
  169. Sert, Y. *et al.* FT-IR, Laser-Raman spectra and computational analysis of 5-Methyl-3-phenylisoxazole-4-carboxylic acid. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **139**, 145-55 (2015).
  170. Shu Gui, H., Hao, J. & Yong Zhong, O. Contribution of Non-Covalent Interactions to the Gas-Phase Stability of the Double-Helix of B-DNA: A Density Functional Theory Study with GEBF Approach. *Acta Phys. -Chim. Sin.* **31**, 1309-1314 (2015).
  171. Jacobsen, R. L., Johnson, R. D., Irikura, K. K. & Kacker, R. N. Anharmonic Vibrational Frequency Calculations Are Not Worthwhile for Small Basis Sets. *J. Chem. Theory Comput.* **9**, 951-954 (2013).
  172. Wong, M. W. Vibrational frequency prediction using density functional theory. *Chem. Phys. Lett.* **256**, 391-399 (1996).
  173. Sert, Y., Balakit, A. A., Öztürk, N., Uçun, F. & El-Hiti, G. A. Experimental (FT-IR,



- NMR and UV) and theoretical (M06-2X and DFT) investigation, and frequency estimation analyses on (E)-3-(4-bromo-5-methylthiophen-2-yl)acrylonitrile. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **131**, 502-11 (2014).
174. Sert, Y. *et al.* Experimental FT-IR, Laser-Raman and DFT spectroscopic analysis of 2,3,4,5,6-Pentafluoro-trans-cinnamic acid. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **128**, 119-26 (2014).
  175. Sert, Y. *et al.* Vibrational spectroscopy investigation using M06-2X and B3LYP methods analysis on the structure of 2-Trifluoromethyl-10H-benzo[4,5]-imidazo[1,2-a]pyrimidin-4-one. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **128**, 109-18 (2014).
  176. Rauhut, G. & Pulay, P. Transferable Scaling Factors for Density Functional Derived Vibrational Force Fields. *J. Phys. Chem.* **99**, 3093-3100 (1995).
  177. Scott, A. P. & Radom, L. Harmonic Vibrational Frequencies: An Evaluation of Hartree-Fock, Møller-Plesset, Quadratic Configuration Interaction, Density Functional Theory, and Semiempirical Scale Factors. *J. Phys. Chem.* **100**, 16502-16513 (1996).
  178. Alecu, I. M., Zheng, J., Zhao, Y. & Truhlar, D. G. Computational Thermochemistry: Scale Factor Databases and Scale Factors for Vibrational Frequencies Obtained from Electronic Model Chemistries. *J. Chem. Theory Comput.* **6**, 2872-2887 (2010).
  179. Singh, O. P., Yadav, J. S. & Yadav, R. A. Ab initio calculations of fundamental frequencies for isomeric difluorobenzenes. *Proc. Indian Acad. Sci. - Chem. Sci.* **99**, 159-166.
  180. Mulliken, R. S. Electronic Population Analysis on LCAO[Single Bond]MO Molecular Wave Functions. I. *J. Chem. Phys.* **23**, 1833 (1955).
  181. Hirshfeld, F. L. Bonded-atom fragments for describing molecular charge densities. *Theor. Chim. Acta* **44**, 129-138 (1977).
  182. Foster, J. P. & Weinhold, F. Natural hybrid orbitals. *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 7211-7218 (1980).
  183. Reed, A. E., Weinstock, R. B. & Weinhold, F. Natural population analysis. *J. Chem. Phys.* **83**, 735 (1985).
  184. Glendening, E. D., Landis, C. R. & Weinhold, F. Natural bond orbital methods. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2**, 1-42 (2012).
  185. Ayers, P. W., Morrison, R. C. & Roy, R. K. Variational principles for describing chemical reactions: Condensed reactivity indices. *J. Chem. Phys.* **116**, 8731 (2002).
  186. Nalewajski, R. F. & Parr, R. G. Information theory, atoms in molecules, and molecular similarity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **97**, 8879-8882 (2000).
  187. Silva, A. M. *et al.* Optical absorption and DFT calculations in L -aspartic acid

- anhydrous crystals: Charge carrier effective masses point to semiconducting behavior. *Phys. Rev. B* **86**, 195201 (2012).
188. Bonaccorsi, R. Molecular SCF Calculations for the Ground State of Some Three-Membered Ring Molecules: (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH<sub>2</sub><sup>+</sup>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>S, (CH)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, and N<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>. *J. Chem. Phys.* **52**, 5270 (1970).
  189. Kozmutza, C. & Picó, Y. To address accuracy and precision using methods from analytical chemistry and computational physics. *Environ. Monit. Assess.* **151**, 59-75 (2009).
  190. Boëlle, J. *et al.* Synthesis and insecticidal evaluation of imidacloprid analogs. *Pestic. Sci.* **54**, 304-307 (1998).
  191. Kagabu, S. & Akagi, T. Quantum Chemical Consideration of Photostability of Imidacloprid and Related Compounds. *J. Pestic. Sci.* **22**, 84-89 (1997).
  192. Wang, Y., Cheng, J., Qian, X. & Li, Z. Actions between neonicotinoids and key residues of insect nAChR based on an ab initio quantum chemistry study: Hydrogen bonding and cooperative  $\pi$ - $\pi$  interaction. *Bioorg. Med. Chem.* **15**, 2624-2630 (2007).
  193. Aihara, J. Correlation found between the HOMO-LUMO energy separation and the chemical reactivity at the most reactive site for isolated-pentagon isomers of fullerenes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2**, 3121-3125 (2000).
  194. Pearson, R. G. Absolute electronegativity and hardness: application to inorganic chemistry. *Inorg. Chem.* **27**, 734-740 (1988).
  195. Varsanyi, G. *Vibrational Spectra of Benzene Derivatives*. Academic Press (1969).
  196. Moreira, A. A. G., De Lima-Neto, P., Caetano, E. W. S., Barroso-Neto, I. L. & Freire, V. N. The vibrational properties of the bee-killer imidacloprid insecticide: A molecular description. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **185**, (2017).
  197. Coates, J. *Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach*. (John Wiley & Sons Ltd, 2000). doi:10.1002/9780470027318.a5606
  198. Chandran, A. *et al.* FT-IR, FT-Raman spectroscopy and computational study of (E)-4-((anthracen-9-ylmethylene)amino)-N-carbamimidoylbenzene sulfonamide. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **79**, 1584-1592 (2011).
  199. Kim, J., Kim, T. K. & Ihee, H. Density functional and spin-orbit ab initio study of CF<sub>3</sub>Br: molecular properties and electronic curve crossing. *J. Phys. Chem. A* **115**, 1264-71 (2011).
  200. Buczek, A., Kupka, T., Broda, M. A. & Żyła, A. Predicting the structure and vibrational frequencies of ethylene using harmonic and anharmonic approaches at the Kohn-Sham complete basis set limit. *J. Mol. Model.* **22**, 42 (2016).
  201. Pulay, P., Fogarasi, G., Pongor, G., Boggs, J. E. & Vargha, A. Combination of

- theoretical ab initio and experimental information to obtain reliable harmonic force constants. Scaled quantum mechanical (QM) force fields for glyoxal, acrolein, butadiene, formaldehyde, and ethylene. *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 7037-7047 (1983).
202. Kittel, C. *Introdução à física do estado sólido*. 8a. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006.
  203. Williams, D. B. & Carter, C. B. Transmission Electron Microscopy. *Springer US*. 197-209, (2009). doi:10.1007/978-0-387-76501-3\_11.
  204. Srnec, M. N., Upadhyay, S. & Madura, J. D. Teaching Reciprocal Space to Undergraduates via Theory and Code Components of an IPython Notebook. *J. Chem. Educ.* **93**, 2106-2109 (2016).
  205. Ladd, M. F. C. The Language of Lattices and Cells. *J. Chem. Educ.* **74**, 461 (1997).
  206. Williams, D. B. & Carter, C. B. Transmission Electron Microscopy. *Springer US*. 211-219 (2009). doi:10.1007/978-0-387-76501-3\_12.
  207. Wang, G.-C. & Lu, T.-M. RHEED Transmission Mode and Pole Figures. *Springer New York*. 7-22 (2014). doi:10.1007/978-1-4614-9287-0\_2.
  208. Da Silva, M. B. *et al.* Structural, Electronic, and Optical Properties of Bulk Boric Acid 2A and 3T Polymorphs: Experiment and Density Functional Theory Calculations. *Cryst. Growth Des.* **16**, 6631-6640 (2016).
  209. Costa, S. N. *et al.* DFT Calculations with van der Waals Interactions of Hydrated Calcium Carbonate Crystals CaCO<sub>3</sub>·(H<sub>2</sub>O, 6H<sub>2</sub>O): Structural, Electronic, Optical, and Vibrational Properties. *J. Phys. Chem. A* **120**, 5752-5765 (2016).
  210. Zanatta, G. *et al.* L-asparagine crystals with wide gap semiconductor features: Optical absorption measurements and density functional theory computations. *J. Chem. Phys.* **140**, 124511 (2014).
  211. Silva, A. M. *et al.* Optical absorption and DFT calculations in L -aspartic acid anhydrous crystals: Charge carrier effective masses point to semiconducting behavior. *Phys. Rev. B* **86**, 195201 (2012).
  212. Araújo-Filho, A. A. *et al.* Structural, electronic and optical properties of monoclinic Na<sub>2</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>7</sub> from density functional theory calculations: A comparison with XRD and optical absorption measurements. *J. Solid State Chem.* **250**, 68-74 (2017).
  213. Hoffmann, R. How Chemistry and Physics Meet in the Solid State. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **26**, 846-878 (1987).
  214. Rockett, A. The Materials Science of Semiconductors. *Springer US*. (2008). doi:10.1007/978-0-387-68650-9.
  215. Wood, D. L. & Tauc, J. Weak Absorption Tails in Amorphous Semiconductors. *Phys. Rev. B* **5**, 3144-3151 (1972).
  216. J.Tauc & A.Menth. States in the gap. *J. Non. Cryst. Solids* **8-10**, 569-585 (1972).

217. Ghobadi, N. Band gap determination using absorption spectrum fitting procedure. *Int. Nano Lett.* **3**, 2 (2013).
218. Elahi, M. & Souri, D. Study of optical absorption and optical band gap determination of thin amorphous TeO<sub>2</sub>-V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-MoO<sub>3</sub> blown films. *Indian journal of pure and applied physics.* (2006).
219. Fanjie Kong & Gang Jiang. Nonlinear optical response of wurtzite ZnO from first principles. *Phys. B Condens. Matter* **404**, 2340-2344 (2009).
220. Khan, I., Ahmad, I., Rahnamaye Aliabad, H. A. & Maqbool, M. Effect of phase transition on the optoelectronic properties of Zn<sub>1-x</sub>Mg<sub>x</sub>S. *J. Appl. Phys.* **112**, 73104 (2012).
221. Zahid Ali, Sajad Ali, Iftikhar Ahmad, Imad Khan & H.A.Rahnamaye Aliabad. Structural and optoelectronic properties of the zinc titanate perovskite and spinel by modified Becke-Johnson potential. *Phys. B Condens. Matter* **420**, 54-57 (2013).
222. John, R. & Padmavathi, S. Ab Initio Calculations on Structural, Electronic and Optical Properties of ZnO in Wurtzite Phase. *Cryst. Struct. Theory Appl.* **5**, 24-41 (2016).
223. Cheynet, M. C., Pokrant, S., Tichelaar, F. D. & Rouvière, J.-L. Crystal structure and band gap determination of HfO<sub>2</sub> thin films. *J. Appl. Phys.* **101**, 54101 (2007).
224. Kim, E., Jiang, Z.-T. & No, K. Measurement and Calculation of Optical Band Gap of Chromium Aluminum Oxide Films. *Jpn. J. Appl. Phys.* **39**, 4820-4825 (2000).
225. Floriano, E. A., Scalvi, L. V. de A., Sambrano, J. R. & Geraldo, V. Evaluation of bulk and surfaces absorption edge energy of sol-gel-dip-coating SnO<sub>2</sub> thin films. *Mater. Res.* **13**, 437-443 (2010).
226. Fox, M. *Optical properties of solids*. 1a. ed. New York: Oxford University Press, 2001.
227. Zanatta, G. *et al.* Two Binding Geometries for Risperidone in Dopamine D<sub>3</sub> Receptors: Insights on the Fast-Off Mechanism through Docking, Quantum Biochemistry, and Molecular Dynamics Simulations. *ACS Chem. Neurosci.* **7**, 1331-1347 (2016).
228. Zanatta, G. *et al.* Antipsychotic Haloperidol Binding to the Human Dopamine D<sub>3</sub> Receptor: Beyond Docking Through QM/MM Refinement Toward the Design of Improved Schizophrenia Medicines. (2014). doi:10.1021/CN500111E.
229. Tomizawa, M. *et al.* Mapping the elusive neonicotinoid binding site. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **104**, 9075-9080 (2007).
230. Matsuda, K. *et al.* Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* **22**, 573-80 (2001).
231. Feixas, F., Matito, E., Poater, J. & Solà, M. Understanding Conjugation and Hyperconjugation from Electronic Delocalization Measures. *J. Phys. Chem. A* **115**,

- 13104-13113 (2011).
232. Jesus, A. J. L. *et al.* Structure of Isolated 1,4-Butanediol: Combination of MP2 Calculations, NBO Analysis, and Matrix-Isolation Infrared Spectroscopy. *J. Phys. Chem. A* **112**, 4669-4678 (2008).
233. Hélio Anderson Duarte, W. R. R. Teoria do Funcional de Densidade. in: Nelson H. Morgon; Kaline Coutinho (Org.). *Metodos de Quimica Teorica e Modelagem Molecular*. São Paulo: Editora Livraria da Física, 2007. p.73-111.
234. Sousa, S. F., Fernandes, P. A. & Ramos, M. J. General performance of density functionals. *J. Phys. Chem. A* **111**, 10439-52 (2007).
235. Nelson H. Morgon, R. C. Teoria do Funcional de Densidade. *Quim. Nova* **18**, 44-55 (1995).
236. Duarte, H. A. Índices de reatividade química a partir da teoria do funcional de densidade: formalismo e perspectivas. *Quim. Nova* **24**, 501-508 (2001).
237. Drude, P. Zur Elektronentheorie der Metalle. *Ann. Phys.* **306**, 566-613 (1900).
238. Fermi, E. Un metodo statistico per la determinazione di alcune proprietà dell'atomo. *Rend. Accad. Naz. Lincei* **6**, 602-607 (1927).
239. Thomas, L. H. The calculation of atomic fields. *Math. Proc. Cambridge Philos. Soc.* **23**, 542 (1927).
240. Dirac, P. A. M. Note on Exchange Phenomena in the Thomas Atom. *Proc. Cambridge Philos. Soc.* **26**, 376-385 (1930).
241. Slater, J. C. A Simplification of the Hartree-Fock Method. *Phys. Rev.* **81**, 385-390 (1951).
242. Hohenberg, P. & Kohn, W. Inhomogeneous Electron Gas. *Phys. Rev.* **136**, B864-B871 (1964).
243. Kohn, W. & Sham, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys. Rev.* **140**, A1133-A1138 (1965).
244. Sham, L. J. & Kohn, W. One-Particle Properties of an Inhomogeneous Interacting Electron Gas. *Phys. Rev.* **145**, 561-567 (1966).
245. Vosko, S. H., Wilk, L. & Nusair, M. Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis. *Can. J. Phys.* **58**, 1200-1211 (1980).
246. Silva, A. M. *Propriedades estruturais, eletrônicas e vibracionais de cristais do ácido aspártico (Asp)*: simulações computacionais no formalismo DFT. 2015. 207 p. Tese (Doutorado em Física) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

## APÊNDICE A

### A1 Parâmetros estruturais

Tabela A1.1 - Valores teóricos de comprimentos de ligação (Å) dos confôrmeros obtidos da molécula isolada do imidacloprido no escopo da teoria DFT, funcional M06-2X: IMI1-MV, 3C79-MV, IMI1-MP, IMI2-MP, IMI3-MP and 3C79-MP.

Ligação (Å)	IMI1-MV	3C79-MV	IMI1-MP	IMI2-MP	IMI3-MP	3C79-MP
C1C2	1,399	1,399	1,397	1,393	1,396	1,397
C2C3	1,384	1,384	1,384	1,386	1,384	1,384
C3C4	1,395	1,395	1,392	1,390	1,393	1,393
C4Cl17	1,745	1,745	1,754	1,753	1,753	1,753
C4N5	1,313	1,313	1,313	1,314	1,312	1,312
C6N5	1,335	1,335	1,339	1,337	1,339	1,339
C1C6	1,390	1,390	1,389	1,391	1,388	1,388
C1C7	1,511	1,511	1,512	1,512	1,510	1,512
C7N8	1,460	1,460	1,456	1,449	1,451	1,455
C9N8	1,364	1,364	1,351	1,349	1,349	1,350
C12N8	1,461	1,461	1,465	1,465	1,464	1,465
C9N10	1,348	1,348	1,338	1,339	1,339	1,338
C9N13	1,319	1,319	1,340	1,339	1,339	1,340
C11N10	1,460	1,460	1,465	1,465	1,465	1,465
C11C12	1,531	1,532	1,532	1,532	1,532	1,532
N13N14	1,372	1,372	1,344	1,343	1,343	1,344
N14O15	1,207	1,207	1,223	1,223	1,223	1,223
N14O16	1,231	1,231	1,235	1,235	1,235	1,235
H18C2	1,085	1,085	1,085	1,085	1,085	1,085
H19C3	1,081	1,081	1,081	1,081	1,081	1,081
H20C6	1,088	1,088	1,086	1,086	1,086	1,086
H21C7	1,092	1,092	1,091	1,095	1,095	1,091
H22C12	1,089	1,089	1,089	1,090	1,090	1,089
H24C11	1,094	1,094	1,092	1,092	1,092	1,092
H25C11	1,088	1,088	1,087	1,087	1,087	1,087
H26C12	1,090	1,090	1,089	1,089	1,089	1,089
H27C12	1,097	1,097	1,095	1,095	1,095	1,095
H23N10	1,010	1,010	1,009	1,008	1,008	1,008
H23O16	1,983	1,982	2,005	2,002	2,002	2,006

Tabela A1.2 - Valores teóricos de ângulos de ligação (°) dos confôrmeros obtidos da molécula isolada do imidacloprido no escopo da teoria DFT, funcional M06-2X: IMI1-MV, 3C79-MV, IMI1-MP, IMI2-MP, IMI3-MP e 3C79-MP.

Ângulo (°)	IMI1-MV	3C79-MV	IMI1-MP	IMI2-MP	IMI3-MP	3C79-MP
C1C2C3	119,2	119,2	119,5	119,7	119,6	119,6
C6C1C2	117,4	117,4	117,6	117,6	117,7	117,6
C2C1C7	121,8	121,8	121,4	121,2	121,1	121,3
N5C6C1	124,1	124,1	123,7	123,6	123,6	123,6
C1C7N8	112,8	112,8	112,2	111,8	111,0	112,3
C2C3C4	117,5	117,5	117,0	116,9	116,9	117,0
C3C4C17	118,6	118,6	118,5	118,7	118,5	118,6
C3C4N5	124,8	124,8	125,2	125,0	125,1	125,2
C4N5C6	116,9	116,9	117,0	117,2	117,1	117,0
C6C1C7	120,8	120,8	121,0	121,3	121,2	121,0
C17C4N5	116,6	116,6	116,3	116,3	116,4	116,3
C7N8C9	121,7	121,6	124,2	125,2	125,1	124,4
C7N8C12	120,9	120,9	120,9	121,0	120,9	121,1
C12N8C9	109,1	109,1	109,8	110,2	110,2	109,9
C11N10C9	110,5	110,5	110,7	110,8	110,7	110,7
C9N13N14	117,4	117,4	117,9	118,0	118,0	118,0
N8C9N10	109,3	109,3	109,9	109,8	109,8	109,9
N8C9N13	118,3	118,3	118,0	118,1	118,2	118,0
N8C12C11	101,5	101,5	101,7	101,9	101,8	101,7
N10C9N13	132,4	132,4	132,0	132,0	132,0	132,0
N10C11C12	101,0	101,0	101,3	101,5	101,5	101,3
N13N14O15	115,2	115,2	115,7	115,6	115,6	115,6
N13N14O16	121,2	121,2	122,6	122,6	122,6	122,6
O15N14O16	123,6	123,6	121,8	121,7	121,7	121,8
C1C2H18	119,9	119,9	120,1	120,4	120,1	120,1
C3C2H18	120,9	120,9	120,4	119,9	120,3	120,3
C2C3H19	122,0	122,0	122,1	122,0	122,1	122,1
C4C3H19	120,5	120,5	120,9	121,0	120,9	120,9
C1C6H20	120,3	120,3	120,4	120,3	120,5	120,4
N5C6H20	115,6	115,6	116,0	116,1	116,0	116,0
N8C7H21	107,0	107,0	107,8	109,4	109,5	107,7
N8C7H22	107,3	107,4	107,5	107,8	107,7	107,7
C1C7H21	110,3	110,3	110,8	109,7	110,1	110,0
C1C7H22	110,8	110,8	110,1	110,2	110,3	110,7
H21C7H22	108,4	108,4	108,3	107,9	108,2	108,3
N8C12H26	110,5	110,9	110,7	110,8	110,8	110,7
N8C12H27	110,9	110,5	109,9	109,5	109,5	109,9
N10C11H24	111,2	110,7	110,1	110,0	110,0	110,0
N10C11H25	110,7	111,2	111,0	111,0	111,0	111,0
C9N10H23	118,7	118,7	120,4	120,2	120,2	120,3
C11N10H23	125,2	125,2	124,6	124,5	124,5	124,6
C11C12H26	113,1	113,1	113,1	112,9	112,9	113,1
C11C12H27	111,3	111,3	111,7	112,1	112,1	111,8
H24C11H25	109,6	109,6	109,7	109,7	109,7	109,7
H26C12H27	109,4	109,4	109,5	109,4	109,4	109,5
C12C11H24	111,2	111,2	111,6	111,6	111,6	111,6
C12C11H25	112,8	112,8	112,9	112,8	112,9	112,9

Tabela A1.3 - Valores teóricos dos ângulos diedros (°) dos confôrmeros obtidos da molécula isolada do imidacloprido no escopo da teoria DFT, funcional M06-2X: IMI1-MV, 3C79-MV, IMI1-MP, IMI2-MP, IMI3-MP e 3C79-MP.

(continua)

Diedro (°)	IMI1-MV	3C79-MV	IMI1-MP	IMI2-MP	IMI3-MP	3C79-MP
C1C2C3C4	-0,2	-0,2	-0,1	0,3	0,0	0,0
C6C1C2C3	-0,4	-0,4	0,1	-0,5	0,4	0,3
C4N5C6C1	-0,3	-0,4	0,1	0,1	0,3	0,3
N5C6C1C2	0,7	0,7	-0,2	0,3	-0,6	-0,4
C7C1C2C3	178,1	178,1	178,7	178,0	-178,9	179,3
C7C1C6N5	-177,9	-177,8	-178,7	-178,2	178,7	-179,5
C2C3C4N5	0,5	0,6	0,1	0,1	-0,3	-0,1
C2C3C4C17	-179,7	-179,6	180,0	179,8	180,0	179,9
C3C4N5C6	-0,3	-0,3	-0,1	-0,3	0,1	0,0
C17C4N5C6	179,9	179,9	180,0	180,0	179,9	180,0
C2C1C7N8	-84,1	-84,1	-71,1	145,9	-49,9	-65,1
C6C1C7N8	94,4	94,3	107,4	-35,7	130,9	113,9
C1C7N8C9	77,7	77,5	87,1	130,6	132,6	89,7
C1C7N8C12	-67,2	-67,3	-64,8	-72,8	-71,3	-63,8
C7N8C12C11	174,7	174,6	177,7	-179,7	-179,4	178,7
C9N8C12C11	25,9	25,8	22,1	-20,0	-20,1	21,7
C7N8C9N10	-161,2	-161,1	-164,6	166,6	166,3	-165,6
C7N8C9N13	16,5	16,6	14,0	-12,4	-12,7	12,8
C12N8C9N10	-12,6	-12,6	-10,0	8,0	8,1	-9,6
C12N8C9N13	165,0	165,0	168,6	-171,1	-170,9	168,9
C9N10C11C12	22,8	22,8	20,7	-20,5	-20,4	20,8
N8C9N10C11	-7,4	-7,4	-7,6	8,8	8,6	-8,0
C11N10C9N13	175,4	175,4	174,0	-172,3	-172,5	173,9
C9N13N14O15	168,8	168,8	177,5	-178,2	-178,3	177,3
C9N13N14O16	-12,0	-12,0	-2,7	2,1	2,0	-2,9
N8C9N13N14	176,5	176,6	176,1	-176,2	-175,9	175,9
N10C9N13N14	-6,5	-6,4	-5,6	4,9	5,3	-6,1
N8C12C11N10	-28,0	-28,0	-24,4	23,1	23,1	-24,3
C4C3C2H18	179,7	179,6	-179,8	-179,5	179,7	-179,7
H19C3C2H18	-0,5	-0,5	-0,1	0,0	179,9	0,1
H18C2C1C6	179,8	179,8	179,8	179,4	-179,3	179,9
H18C2C1C7	-1,7	-1,7	-1,6	-2,2	1,4	-1,0
N5C4C3H19	-179,3	-179,3	-179,7	-179,5	179,8	-179,9
H19C3C2C1	179,7	179,7	179,7	179,9	179,9	179,7
C17C4C3H19	0,5	0,5	0,3	0,3	0,0	0,2
C4N5C6H20	179,2	179,2	180,0	179,6	-179,6	-179,8
C2C1C6H20	-178,8	-178,8	-180,0	-179,2	179,3	179,7
C7C1C6H20	2,6	2,7	1,5	2,3	-1,4	0,6
C12N8C7H21	170,1	170,3	173,0	167,8	167,8	174,1
C9N8C7H21	-160,9	-161,1	-35,1	9,4	11,8	-32,4
C2C1C7H21	156,3	156,2	49,4	-94,3	69,4	55,3
C6C1C7H21	-25,3	-25,3	-132,1	84,11	-109,9	-125,7
C12N8C7H22	170,4	170,3	56,3	48,9	50,4	57,5
C9N8C7H22	-44,7	-44,9	-151,7	-107,3	-105,6	-149,0
C2C1C7H22	36,3	36,2	169,2	24,4	-171,3	175,0
C6C1C7H22	-145,2	-145,3	-12,3	-157,2	9,4	-6,0
H23N10C11C12	175,8	175,8	177,4	-176,4	-176,3	176,9
H23N10C9N8	-162,4	-162,4	-165,5	165,9	165,7	-165,3



Tabela A1.3 - Valores teóricos dos ângulos diedros (°) dos confôrmeros obtidos da molécula isolada do imidacloprido no escopo da teoria DFT, funcional M06-2X: IMI1-MV, 3C79-MV, IMI1-MP, IMI2-MP, IMI3-MP e 3C79-MP.

(conclusão)

Diedro (°)	IMI1-MV	3C79-MV	IMI1-MP	IMI2-MP	IMI3-MP	3C79-MP
H23N10C9N13	20,4	20,3	16,1	-15,2	-15,4	16,6
H23N10C11H24	57,9	57,9	59,2	-58,1	63,5	58,7
N8C12C11H24	89,5	89,6	92,6	141,9	141,9	92,8
H26C12C11H24	-29,3	-29,2	-26,1	24,8	24,9	-25,9
H27C12C11H24	-152,9	-152,8	-150,2	-99,2	-99,2	-150,0
C9N10C11H24	-95,2	-95,2	-97,5	-140,6	-140,6	-97,5
H23N10C11H25	-64,2	-64,2	-62,4	-58,1	-50,1	-63,0
N8C12C11H25	-146,9	-146,8	-143,2	-94,0	-94,0	-143,1
H26C12C11H25	94,4	94,4	98,1	149,0	149,0	98,2
H27C12C11H25	-29,3	-29,2	-26,0	24,9	24,9	-25,9
C9N10C11H25	142,8	142,7	140,8	97,8	97,9	140,9
C7N8C12H26	-65,1	-65,1	-61,9	-60,8	-60,5	-60,9
C9N8C12H26	146,12	146,2	142,5	99,9	98,8	142,2
H26C12C11N10	-146,8	-146,8	-143,2	-93,9	-93,9	-143,0
C7N8C12H27	56,4	56,5	59,2	60,0	60,2	60,1
C9N8C12H27	-92,2	-92,3	-96,4	-140,3	-140,5	-96,8
N10H23O16N14	-1,2	-1,2	7,0	-8,0	-7,7	6,5
H27C12C11N10	89,6	89,6	92,8	141,9	141,9	92,9

## A2 Tabelas das atribuições dos modos normais de vibração

Tabelas das atribuições das bandas experimentais de absorção (espalhamento) no infravermelho (Raman) do composto imidacloprido. As atribuições foram realizadas levando em consideração as linhas espectrais calculadas para a **molécula isolada do imidacloprido** (apenas o confômero mais estável ou de menor energia). Os cálculos foram realizados no formalismo DFT, funcionais M06-2X e B3LYP, no vácuo e em modelo de solvatação PCM. As tabelas foram organizadas da seguinte maneira:

Tabela A2.1: Modos comuns entre os funcionais M06-2X e B3LYP, no vácuo; apenas os modos que foram destacados nos espectros de infravermelho e Raman, no corpo do texto, foram colocados.

A2.2 e A2.3: Todos os modos comuns (modos de 01 a 60), calculados com os funcionais M06-2X e B3LYP, modelo de solvatação PCM.

A2.4 e A2.5: Todos os modos comuns (modos de 01 a 60), calculados com os funcionais M06-2X e B3LYP, no vácuo.

A2.6, A2.7 e A2.8: Todos os modos (não somente os modos comuns a ambos os funcionais) e os valores de distribuição da energia potencial (PED) dos modos; os dados foram obtidos com os funcionais M06-2X e B3LYP, modelo de solvatação PCM.

A2.9, A2.10 e A2.11: Todos os modos (não somente os modos comuns a ambos os funcionais) e os valores de distribuição da energia potencial (PED) dos modos; os dados foram obtidos com os funcionais M06-2X e B3LYP, no vácuo.

Tabela A2.1 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman a partir dos principais modos comuns (modos teóricos) entre os funcionais M06-2X e B3LYP; os principais modos foram destacados nos espectros, no corpo do texto.

MODO	EXP.		M06-2X-VAC			B3LYP-VAC			Atribuição
	$\omega_{IR}$	$\omega_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	M06-2X and B3LYP <sup>a</sup> ou M06-2X/B3LYP <sup>b</sup>
V2	420	421	435,86	14,82	136,33	424,28	3,60	12,36	CCC out-of-plane bending-16a (M: ver A2.6-A2.11;B:86)
V4	475	476	491,03	5,26	209,96	484,65	28,30	207,21	[\beta C7C9N8, \beta C9N8N13 (M: ver A2.6-A2.11;B:39)]
V5	493	495	540,72	14,16	61,29	522,27	8,81	57,07	CCC out-of-plane bending-16b (M:54;B:63)
V6	587	587	604,00	80,53	44,53	628,92	80,65	42,46	\delta H23N10 (M:77;B:84)
V7	628	633	642,84	3,11	163,99	641,95	4,05	224,06	CCC in-plane bending-6b (M:73;B:75)
V10	718	718	740,71	11,24	83,50	724,01	12,93	74,14	\phi C9N8N10N13 (M:56;B:78)
V12	753	753	783,09	19,15	12,48	774,59	9,33	32,15	CCC puckering-4 (M:46;B: ver A2.6-A2.11)
V14	785	791	822,21	20,18	52,47	791,87	5,83	37,73	\phi N13N14O15O16 (M:57;B:76)
V15	812	816	845,83	31,53	318,00	835,87	29,14	249,64	CCC in-plane bending-6a (M:59;B:61)
V16	826	830	879,15	19,74	42,50	855,06	26,98	88,75	CH out-of-plane-16b (M:63)/\tau H18H19C2C3 (B:49)
V18	885	886	936,48	20,40	66,80	917,12	31,98	87,60	[vsC9N8N10,vN13N14(M:26)]/[vaC7C12N8,vsC9C11N10,vsC9N13N14,\beta H21H22C7,\beta H24H25C11,\beta H26H27C12 (B:54)]
V20	943	945	972,29	2,70	13,47	955,42	21,84	44,25	\tau H20C1C6C7 (M:73;B:57)
V21	958	960	992,10	8,94	58,35	976,10	17,41	81,99	vsC11C12N10 (M:58)/[vaC11C12N8, vN13N14, vsC11C12N10 (B:51)]
V23	995	1001	1028,46	10,69	2,53	999,34	28,33	17,96	\tau H18H19C2C3 (M:81;B:65)
V24	1025	1022	1049,51	13,42	16,38	1040,45	9,97	12,78	CCC trigonal bending-12 (M:81;B:64)
V25	1053	1053	1085,36	50,52	79,23	1057,86	57,53	94,66	[vaC11C12N10, vN13N14 (M:54;B:58)]
V26	1097	1096	1128,92	14,63	7,57	1120,09	145,67	262,86	[\beta H24H25C11, \beta H26H27C12 (M:87)]/Breathing-1 (B:58)
V27	1107	1110	1141,82	106,77	141,22	1125,03	12,22	15,32	Breathing-1 (M:58)/[\beta H24H25C11, \beta H26H27C12 (B:71)]
V29	1148	1151	1174,66	7,17	24,93	1163,48	1,72	15,18	[CCC stretching-19a, vaC9C12N8, vsN14O15O16, \beta H21H22C7 (M:67;B:61)]
V33	1233	1232	1274,80	91,23	112,94	1247,95	271,91	218,50	[\beta H23C9N10, \beta H26H27C12, \beta H24H25C11 (M:39)]/[vaC1C7N8, vaC7C12N8, vsC9C11N10, vaN13N14O16 (B:54)]
V34	1243	1245	1286,05	4,91	15,99	1279,52	76,75	12,03	[CH in-plane trigonal bending-15, vaC7C12N8 (M:76;B:57)]
V35	1279	1277	1316,37	131,86	33,58	1287,19	278,13	260,09	[\beta H21H22C7, \beta H26H27C12, \beta H24H25C11 (M:32)]/[vaC7C12N8, vaC9C11N10, vaC9N13N14, vaN13N14O16 (B:29)]
V37	1295	1294	1355,81	16,95	17,55	1329,02	31,09	59,72	[\beta H21H22C7,\beta H26H27C12,\beta H24H25C11 (M:25;B:57)]
V40	1366	1373	1430,05	95,42	86,90	1408,19	6,12	53,77	[\beta H26H27C12, \beta H24H25C11 (M: ver A2.6-A2.11;B: ver A2.6-A2.11)]
V43	1447	1447	1503,87	49,93	14,19	1492,63	42,30	18,44	[\beta H26H27C12, \beta H24H25C11, \beta H21H22C7 (M:70;B: ver A2.6-A2.11)]
V44	1456	1456	1512,29	106,45	5,64	1496,37	125,25	33,21	CC stretching-19a (M:77;B: ver A2.6-A2.11)
V45	1470	1470	1532,93	10,70	31,02	1527,76	116,91	35,97	\beta H24H25C11 (M: ver A2.6-A2.11;B:77)
V46	1491	1484	1545,66	179,43	28,49	1533,95	73,13	46,16	vaN13N14O15O16 (M:39)/[\beta H26H27C12, vaC9N8N10 (B:76)]
V47	1551	1552	1638,89	10,98	14,86	1592,77	601,75	68,76	CH in-plane bending-9a (M:73)/[vaC9N8N10N13, vaN14O15O16 (B:74)]
V48	1570	1568	1664,17	181,60	106,64	1601,01	34,39	16,13	CH in-plane bending-9a (M: ver A2.6-A2.11;B:76)
V49	1585	1585	1668,04	907,24	9,55	1626,54	171,89	149,82	vaC9N8N10N13 (M: ver A2.6-A2.11;B: ver A2.6-A2.11)
V53	2896	2899	3095,48	17,27	42,35	3021,97	39,02	51,36	vsH21H22C7 (M:99)/vsH24H25C11 (B:91)
V54	2928	2931	3136,91	14,57	35,74	3096,53	18,36	41,25	vaH26H27C12 (M:90)/[vaH27C12, vH24C11 (B:98)]
V55	2944	2956	3154,77	8,81	30,73	3105,32	20,58	40,51	vaH24H25C11 (M:87;B: ver A2.6-A2.11)
V57	2987	2989	3168,02	15,49	27,65	3145,41	18,38	31,31	vH20C6 (M:99;B:100)
V58	3047	3058	3213,74	3,74	14,93	3175,65	1,91	19,94	vH18C2 (M:96;B: ver A2.6-A2.11)
V59	3079	3093	3247,07	0,85	25,27	3211,63	0,40	33,35	vH19C3 (M:96; B: ver A2.6-A2.11)
V60	3374	3374	3651,87	159,28	9,83	3584,97	159,92	13,48	vH23N10 (M:100;B:99)

<sup>a</sup>As vibrações calculadas com ambos os funcionais M06-2X and B3LYP são iguais (vibrações comuns); <sup>b</sup>as vibrações obtidas com os funcionais M06-2X e B3LYP diferem (não há vibrações comuns); v: estiramento; \beta: bending; \tau: torção; \phi: out; s: simétrico; a: antissimétrico; \delta: deformação fora do plano.  $\omega_{IR}$ : frequência experimental no infravermelho;  $\omega_R$ : frequência experimental Raman;  $I_{IR}$ : intensidade no infravermelho;  $I_R$ : intensidade Raman;  $\omega_T$ : frequência teórica; (M: PED): valor PED das vibrações obtidas com o funcional M06-2X; (B: PED): valor PED das vibrações obtidas com o funcional B3LYP. [Vibração1, vibração2,... (M: PED; B: PED)]: o valor PED foi calculado para todas as vibrações descritas entre colchetes. (M ou B: ver A3.6-A3.11): o valor PED foi calculado para vibrações que são comuns e para vibrações que diferem.

Tabela A2.2 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman a partir dos modos comuns (modo 1 ao 31) entre os funcionais M06-2X and B3LYP, modelo de solvatação PCM.

MODO	EXP.		M06-2X-PCM			B3LYP-PCM			Atribuição
	$\omega_{IR}$	$\omega_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	M06-2X and B3LYP <sup>a</sup> ou M06-2X/B3LYP <sup>b</sup>
P1	412	413	418,45	12,82	377,19	406,70	23,97	662,06	CCC out-of-plane bending-16a (M:58)/CCC in-plane bending-6a (B:56)
P2	420	421	425,57	18,54	215,28	420,79	7,82	14,75	CCC out-of-plane bending-16a (M:24;B:93)
P3	465	467	463,19	6,81	152,50	470,24	5,37	216,53	CCC out-of-plane bending-16b (M:28;B:16)
P4	475	476	485,05	18,30	337,87	483,49	55,28	268,41	[ $\beta$ C7C9N8, $\beta$ C9N8N10, $\beta$ N13N14O15 (M:40)]/[ $\beta$ C7C9N8, $\beta$ C9N8N13 (B:30)]
P5	493	495	534,91	46,29	115,60	511,28	20,89	119,45	CCC out-of-plane bending-16b (M:43;B:62)
P6	587	587	555,64	138,34	371,72	559,35	166,22	464,48	$\delta$ H23N10 (M:60;B:87)
P7	628	633	640,24	2,51	438,41	641,94	2,47	386,17	CCC in-plane bending-6b (M:79;B:82)
P8	653	661	662,58	16,95	164,82	664,39	11,37	223,50	[CCC in-plane bending-6b, $\beta$ C9C12N8, $\beta$ C7C9N8, $\beta$ C11C12N10, $\beta$ C11C12N8 (M:60;B:50)]
P9	689	690	692,42	29,85	84,93	679,17	21,78	100,22	[CCC in-plane bending-6b, $\beta$ C11C12N10, $\beta$ C11C12N8 (M: ver A2.6-A2.11;B: ver A2.6-A2.11)]
P10	718	718	738,19	28,59	204,03	722,85	20,72	117,85	$\phi$ C9N8N10N13 (M:83;B:80)
P11	727	731	756,69	6,51	181,83	746,94	14,48	88,49	CCC puckering-4 (M:16;B:75)
P12	753	753	780,30	35,39	54,44	772,83	12,89	48,48	CCC puckering-4 (M:55;B: ver A2.6-A2.11)
P13	774	774	790,46	13,76	282,33	780,23	21,57	308,73	[ $\beta$ N13N14O16, $\beta$ N14O15O16 (M: ver A2.6-A2.11;B: ver A2.6-A2.11)]
P14	785	791	821,64	29,59	25,18	790,05	11,94	44,22	$\phi$ N13N14O15O16 (M:93;B:87)
P15	812	816	843,09	58,53	751,02	831,42	43,83	444,39	[CCC in-plane bending-6a, $\tau$ H18H19C2C3 (M:67;B:50)]
P16	826	830	871,59	32,27	198,50	848,62	59,09	434,88	$\tau$ H18H19C2C3 (M:66;B:38)
P17	837	840	880,12	4,60	140,73	867,17	7,14	163,09	[ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M: ver A2.6-A2.11;B: ver A2.6-A2.11)]
P18	885	886	930,09	5,88	216,29	913,59	12,52	208,63	[ $\beta$ C9C12N8, $\beta$ C11C12N10, $\beta$ C11C12N8, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ C9N13N14, $\beta$ N13N14O16, $\beta$ C9C11N10 (M:29;B:75)]
P19	905	907	944,20	29,98	11,56	934,40	53,87	24,06	[ $\beta$ H21H22C7, $\nu$ C11C12N8, $\tau$ H18C12C7, $\tau$ H19C12C3 (M: ver A2.6-A2.11;B:38)]
P20	943	945	971,83	21,23	60,26	962,06	63,62	86,40	$\tau$ H20C1C6C7 (M:69;B:38)
P21	958	960	992,68	14,53	126,44	976,05	29,66	222,25	$\nu$ sC11C12N10 (M:54;B: ver A2.6-A2.11)
P22	979	980	1028,36	3,26	3,95	996,30	8,59	29,27	$\tau$ H18H19C2C3 (M:81;B:81)
P23	995	1001	1041,05	110,27	131,37	1020,94	40,74	384,05	[ $\nu$ C12N8, $\nu$ N13N14, $\nu$ sN14O15O16 (M: ver A2.6-A2.11;B: ver A2.6-A2.11)]
P24	1025	1022	1050,42	17,40	162,22	1038,47	26,68	85,54	CCC trigonal bending-12 (M: ver A2.6-A2.11;B:84)
P25	1053	1053	1077,55	139,57	127,54	1053,16	106,34	102,84	$\nu$ aC11C12N10 (M: ver A2.6-A2.11;B:54)
P26	1097	1096	1125,33	38,30	28,83	1105,53	242,03	805,15	[ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M:77)]/Breathing-1 (B:64)
P27	1107	1110	1133,96	177,24	508,99	1123,06	34,51	46,70	Breathing-1 (M:63)/ [ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (B:88)]
P28	1137	1140	1162,97	29,98	78,20	1155,43	34,43	17,30	[ $\beta$ H19C2C3, $\beta$ H18C2C3 (M:55;B: ver A2.6-A2.11)]
P29	1148	1151	1182,44	35,49	35,46	1166,55	58,48	14,90	[ $\nu$ aC9C12N8, $\nu$ sC9N8N10, $\nu$ sN13N14O15O16 (M:49;B:47)]
P30	1190	1190	1219,80	10,86	76,03	1204,74	6,33	205,76	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (M:56)]/[ $\nu$ aC7C12N8, $\nu$ sC9N8N10N13, $\nu$ sN14O15O16 (B:23)]
P31	1203	1203	1236,11	22,40	67,27	1224,37	25,05	83,46	$\beta$ H24H25C11 (M:48;B: ver A2.6-A2.11)

<sup>a</sup>As vibrações calculadas com ambos os funcionais M06-2X and B3LYP são iguais (vibrações comuns); <sup>b</sup>as vibrações obtidas com os funcionais M06-2X e B3LYP diferem (não há vibrações comuns);  $\nu$ : estiramento;  $\beta$ : bending;  $\tau$ : torção;  $\phi$ : out; s: simétrico; a: antissimétrico;  $\delta$ : deformação fora do plano.  $\omega_{IR}$ : frequência experimental no infravermelho;  $\omega_R$ : frequência experimental Raman;  $I_{IR}$ : intensidade no infravermelho;  $I_R$ : intensidade Raman;  $\omega_T$ : frequência teórica; (M: PED): valor PED das vibrações obtidas com o funcional M06-2X; (B: PED): valor PED das vibrações obtidas com o funcional B3LYP. [Vibração1, vibração2,... (M: PED; B: PED)]: o valor PED foi calculado para todas as vibrações descritas entre colchetes. (M ou B: ver A3.6-A3.11): o valor PED foi calculado para vibrações que são comuns e para vibrações que diferem.

Tabela A2.3 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman a partir dos modos comuns (modo 32 ao 60) entre os funcionais M06-2X and B3LYP, modelo de solvatação PCM.

MODO	EXP.		M06-2X-PCM			B3LYP-PCM			Atribuição
	$\omega_{IR}$	$\omega_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	M06-2X and B3LYP <sup>a</sup> ou M06-2X/B3LYP <sup>b</sup>
P32	1220	1220	1249,15	93,62	96,69	1228,65	143,50	112,91	[Breathing-1, CH in-plane bending (M:67;B:41)]
P33	1233	1232	1276,45	542,77	403,84	1248,40	930,37	280,86	[vaC9N10N13, vaN13N14O16, vaC1C7N8, vsC9C11N10, vaC9N13N14 (M:56;B:59)]
P34	1243	1245	1288,74	36,09	42,09	1276,09	81,93	24,20	[CH in-plane trigonal bending-15, vaC7C12N8 (M:75;B:47)]
P35	1279	1277	1310,13	652,82	315,42	1285,58	450,56	419,60	[[ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M:45;B:33)]
P36	1288	1285	1322,00	64,76	101,61	1303,01	55,22	307,74	[[ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M:21;B:39)]
P37	1295	1294	1347,75	568,11	423,07	1321,91	481,33	344,98	[[ $\beta$ H23C9N10, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, vN14O15, vaC11C12N10, vaC11C12N8 (M: ver A2.6-A2.11;B:71)]
P38	1322	1320	1355,33	496,20	117,22	1334,78	146,31	40,62	$\beta$ H22C7N8 (M:35)/[[ $\beta$ H23C9N10, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H21H22C7, vC12N8, vC11N9 (B:46)]
P39	1342	1339	1393,36	140,99	68,75	1378,10	36,51	65,71	$\beta$ H21H22C7 (M: ver A2.6-A2.11;B:63)
P40	1366	1373	1420,17	56,89	287,48	1399,44	34,97	271,70	[[ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M: ver A2.6-A2.11 Si; ver A2.6-A2.11)]
P41	1392	1393	1431,28	59,68	11,92	1419,75	124,10	45,31	CC stretching-19a (M: ver A2.6-A2.11;B: ver A2.6-A2.1178)
P42	1420	1418	1472,15	33,99	95,14	1462,40	829,13	52,75	$\beta$ H21H22C7 (M:91)/[[vaN14O15O16, vaC9N8N13 (B:69)]
P43	1447	1447	1498,91	61,76	48,40	1475,07	33,70	79,46	[[ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M:76)]/ $\beta$ H21H22C7 (B:88)
P44	1456	1456	1510,97	163,89	15,37	1486,27	148,89	45,68	CC stretching-19a (M:74;B: ver A2.6-A2.11)
P45	1470	1470	1522,25	74,52	101,11	1505,33	100,56	101,92	[[ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M:92;B:86)]
P46	1491	1484	1537,79	587,70	43,89	1519,81	5,39	247,13	[vC9N8, vaN14O15O16 (M:54)]/ [[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (B:86)]
P47	1551	1552	1595,04	973,76	36,67	1563,89	530,89	46,16	[vaC9N8N10, vaN14O15O16 (M:66;B:60)]
P48	1570	1568	1627,79	522,68	345,81	1590,78	618,96	517,32	[vaC9N8N10N13, vN14O15 (M:67;B:52)]
P49	1585	1585	1648,96	61,38	58,20	1606,15	55,30	49,16	CH in-plane bending-9a (M:76;B:69)
P50	1618	1618	1664,21	82,36	255,62	1621,45	47,78	386,82	CH in-plane bending-9a (M:59;B:74)
P51	2853	2845	3055,26	31,65	121,83	3026,40	61,76	195,80	vsH26H27C12 (M:89;93)
P52	2873	2870	3078,78	34,84	102,65	3031,37	46,89	133,37	vsH24H25C11 (M:89)/vsH21H22C7 (B:91)
P53	2896	2899	3092,67	23,85	117,66	3049,41	45,13	121,28	vsH21H22C7 (M:94)/vsH24H25C11 (B:89)
P54	2928	2931	3142,29	13,41	74,69	3109,52	11,10	79,80	vaH26H27C12(M:88)/vaH21H22C7 (B:91)
P55	2944	2956	3154,49	0,53	40,03	3114,88	20,65	87,09	vaH21H22C7 (M:93)/vaH26H27C12 (B:82)
P56	2969	2970	3166,05	13,81	74,83	3126,57	20,74	79,44	vaH20C6 (M:99)/vaH24H25C11 (B:78)
P57	2987	2989	3173,28	9,17	61,23	3172,06	17,47	68,57	vsH24H25C11 (M:89)/vH20C6 (B:100)
P58	3047	3058	3204,75	1,60	56,43	3178,92	7,10	73,73	vH18C2 (M:96;B:96)
P59	3079	3093	3233,88	1,24	67,10	3217,95	0,82	93,56	vH19C3 (M:96;B:97)
P60	3374		3651,80	261,81	18,70	3618,72	234,29	22,02	vH23N10 (M:99;B:99)

<sup>a</sup>As vibrações calculadas com ambos os funcionais M06-2X and B3LYP são iguais (vibrações comuns); <sup>b</sup>as vibrações obtidas com os funcionais M06-2X e B3LYP diferem (não há vibrações comuns); v: estiramento;  $\beta$ : bending;  $\tau$ : torção;  $\phi$ : out; s: simétrico; a: antissimétrico;  $\delta$ : deformação fora do plano.  $\omega_{IR}$ : frequência experimental no infravermelho;  $\omega_R$ : frequência experimental Raman;  $I_{IR}$ : intensidade no infravermelho;  $I_R$ : intensidade Raman;  $\omega_T$ : frequência teórica; (M: PED): valor PED das vibrações obtidas com o funcional M06-2X; (B: PED): valor PED das vibrações obtidas com o funcional B3LYP. [Vibração1, vibração2,... (M: PED; B: PED)]: o valor PED foi calculado para todas as vibrações descritas entre colchetes. (M ou B: ver A3.6-A3.11): o valor PED foi calculado para vibrações que são comuns e para vibrações que diferem.

Tabela A2.4 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman a partir dos modos comuns (modo 1 ao 31) entre os funcionais M06-2X and B3LYP, no vácuo.

MODO	EXP.		M06-2X-VAC			B3LYP-VAC			Atribuição
	$\omega_{IR}$	$\omega_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	M06-2X and B3LYP <sup>a</sup> ou M06-2X/B3LYP <sup>b</sup>
V1	412	413	422,86	5,56	101,90	412,10	10,84	293,18	CCC out-of-plane bending-16a (M:69)/CC in-plane bending-6a (B:42)
V2	420	421	435,86	14,82	136,33	424,28	3,60	12,36	CCC out-of-plane bending-16a (M: ver A2.6-A2.11;B:86)
V3	465	467	461,34	6,46	66,51	468,57	1,30	163,85	[CCC out-of-plane bending-16b, $\beta$ C9N10N13, $\beta$ N13N14O16 (M: ver A2.6-A2.11;B: ver A2.6-A2.11)]
V4	475	476	491,03	5,26	209,96	484,65	28,30	207,21	[ $\beta$ C7C9N8, $\beta$ C9N8N13 (M: ver A2.6-A2.11;B:39)]
V5	493	495	540,72	14,16	61,29	522,27	8,81	57,07	CCC out-of-plane bending-16b (M:54;B:63)
V6	587	587	604,00	80,53	44,53	628,92	80,65	42,46	$\delta$ H23N10 (M:77;B:84)
V7	628	633	642,84	3,11	163,99	641,95	4,05	224,06	CCC in-plane bending-6b (M:73;B:75)
V8	653	661	662,17	9,10	89,82	665,85	15,24	142,44	[ $\beta$ C11C12N8, $\beta$ C9C11N10, $\beta$ C9C12N8, CCC in-plane bending-6b (M: ver A2.6-A2.11;B: ver A2.6-A2.11)]
V9	689	690	697,11	12,44	32,64	688,17	10,77	14,31	CCC in-plane bending-6b (M: ver A2.6-A2.11;B:45)
V10	718	718	740,71	11,24	83,50	724,01	12,93	74,14	$\phi$ C9N8N10N13 (M:56;B:78)
V11	727	731	757,32	12,17	54,68	751,70	15,27	46,40	CCC puckering-4 (M:40;B:51)
V12	753	753	783,09	19,15	12,48	774,59	9,33	32,15	CCC puckering-4 (M:46;B: ver A2.6-A2.11)
V13	774	774	788,46	14,81	82,72	778,87	17,95	55,97	$\beta$ N13N14O16, $\beta$ N14O15O16 (M: ver A2.6-A2.11;B: ver A2.6-A2.11)
V14	785	791	822,21	20,18	52,47	791,87	5,83	37,73	$\phi$ N13N14O15O16 (M:57;B:76)
V15	812	816	845,83	31,53	318,00	835,87	29,14	249,64	CCC in-plane bending-6a (M:59;B:61)
V16	826	830	879,15	19,74	42,50	855,06	26,98	88,75	CH out-of-plane-16b (M:63)/ $\tau$ H18H19C2C3 (B:49)
V17	837	840	884,15	5,66	66,85	866,92	4,11	73,03	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (M: ver A2.6-A2.11;B: ver A2.6-A2.11)]
V18	885	886	936,48	20,40	66,80	917,12	31,98	87,60	[vsC9N8N10, vN13N14(M:26)]/[vaC7C12N8, vsC9C11N10, vsC9N13N14, $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (B:54)]
V19	905	907	947,96	10,55	27,39	937,56	40,55	34,74	$\beta$ H21H22C7 (M:39;B:24)
V20	943	945	972,29	2,70	13,47	955,42	21,84	44,25	$\tau$ H20C1C6C7 (M:73;B:57)
V21	958	960	992,10	8,94	58,35	976,10	17,41	81,99	vsC11C12N10 (M:58)/[vaC11C12N8, vN13N14, vsC11C12N10 (B:51)]
V22	979	980	1024,49	107,64	27,65	992,99	70,43	54,42	[vC12N8, vsN13N14O15O16, $\beta$ N14O15O16 (M:43/B:30)]
V23	995	1001	1028,46	10,69	2,53	999,34	28,33	17,96	$\tau$ H18H19C2C3 (M:81;B:65)
V24	1025	1022	1049,51	13,42	16,38	1040,45	9,97	12,78	CCC trigonal bending-12 (M:81;B:64)
V25	1053	1053	1085,36	50,52	79,23	1057,86	57,53	94,66	[vaC11C12N10, vN13N14 (M:54;B:58)]
V26	1097	1096	1128,92	14,63	7,57	1120,09	145,67	262,86	[ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M:87)]/Breathing-1 (B:58)
V27	1107	1110	1141,82	106,77	141,22	1125,03	12,22	15,32	Breathing-1 (M:58)/[ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (B:71)]
V28	1137	1140	1171,51	37,42	25,85	1155,71	39,63	7,61	[CC stretching-19a, vaC9C12N8, vsC9N8N10 (M: ver A2.6-A2.11;B: ver A2.6-A2.11)]
V29	1148	1151	1174,66	7,17	24,93	1163,48	1,72	15,18	[CCC stretching-19a, vaC9C12N8, vsN14O15O16, $\beta$ H21H22C7 (M:67;B:61)]
V30	1190	1190	1212,46	2,97	45,78	1198,22	3,34	67,69	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (M:46;B: ver A2.6-A2.11)]
V31	1203	1203	1233,57	13,15	24,82	1222,31	3,05	46,87	[ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M:72;B:78)]

<sup>a</sup>As vibrações calculadas com ambos os funcionais M06-2X and B3LYP são iguais (vibrações comuns); <sup>b</sup>as vibrações obtidas com os funcionais M06-2X e B3LYP diferem (não há vibrações comuns); v: estiramento;  $\beta$ : bending;  $\tau$ : torção;  $\phi$ : out; s: simétrico; a: antissimétrico;  $\delta$ : deformação fora do plano.  $\omega_{IR}$ : frequência experimental no infravermelho;  $\omega_R$ : frequência experimental Raman;  $I_{IR}$ : intensidade no infravermelho;  $I_R$ : intensidade Raman;  $\omega_T$ : frequência teórica; (M: PED): valor PED das vibrações obtidas com o funcional M06-2X; (B: PED): valor PED das vibrações obtidas com o funcional B3LYP. [Vibração1, vibração2,... (M: PED; B: PED)]: o valor PED foi calculado para todas as vibrações descritas entre colchetes. (M ou B: ver A3.6-A3.11): o valor PED foi calculado para vibrações que são comuns e para vibrações que diferem.

Tabela A2.5 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman a partir dos modos comuns (modo 32 ao 60) entre os funcionais M06-2X and B3LYP, no vácuo.

MODO	EXP.		M06-2X-VAC			B3LYP-VAC			Atribuição
	$\omega_{IR}$	$\omega_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	M06-2X and B3LYP <sup>a</sup> ou M06-2X/B3LYP <sup>b</sup>
V32	1220	1220	1249,69	15,32	32,12	1234,54	61,90	50,44	[Breathing-1, CH in-plane bending (M:61/B:69)]
V33	1233	1232	1274,80	91,23	112,94	1247,95	271,91	218,50	[[ $\beta$ H23C9N10, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (M:39)]]/[vaC1C7N8, vaC7C12N8, vsC9C11N10, vaN13N14O16 (B:54)]
V34	1243	1245	1286,05	4,91	15,99	1279,52	76,75	12,03	[CH in-plane trigonal bending-15, vaC7C12N8 (M:76/B:57)]
V35	1279	1277	1316,37	131,86	33,58	1287,19	278,13	260,09	[[ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (M:32)]]/[vaC7C12N8, vaC9C11N10, vaC9N13N14, vaN13N14O16 (B:29)]
V36	1288	1285	1330,07	164,17	131,25	1305,29	50,72	10,23	[[ $\beta$ H23C9N10, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (M:38)]]/[CH in-plane trigonal bending-15, vaC7C9N8, vaC9N8N10, vN14O16 (B:50)]
V37	1295	1294	1355,81	16,95	17,55	1329,02	31,09	59,72	[[ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (M:25/B:57)]]
V38	1322	1320	1379,03	386,84	152,70	1347,28	322,02	127,22	[[ $\beta$ 23C11N10, $\beta$ H24H25C11 (M: ver A2.6-A2.11; B: ver A2.6-A2.11)]]
V39	1342	1339	1397,85	92,94	42,43	1386,33	23,93	58,20	$\beta$ H21H22C7 (M:62; B:45)
V40	1366	1373	1430,05	95,42	86,90	1408,19	6,12	53,77	$\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (M: ver A2.6-A2.11; B: ver A2.6-A2.11)
V41	1392	1393	1434,00	40,06	5,06	1416,36	12,88	4,85	[CC stretching-19a, $\beta$ H21H22C7 (M:66/B:58)]
V42	1420	1418	1480,70	31,09	39,58	1485,52	140,25	25,73	[[ $\beta$ H21H22C7 (M:72; B: ver A2.6-A2.11)]]
V43	1447	1447	1503,87	49,93	14,19	1492,63	42,30	18,44	[[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H21H22C7 (M:70; B: ver A2.6-A2.11)]]
V44	1456	1456	1512,29	106,45	5,64	1496,37	125,25	33,21	CC stretching-19a (M:77; B: ver A2.6-A2.11)
V45	1470	1470	1532,93	10,70	31,02	1527,76	116,91	35,97	$\beta$ H24H25C11 (M: ver A2.6-A2.11; B:77)
V46	1491	1484	1545,66	179,43	28,49	1533,95	73,13	46,16	vaN13N14O15O16 (M:39)/[[ $\beta$ H26H27C12, vaC9N8N10 (B:76)]]
V47	1551	1552	1638,89	10,98	14,86	1592,77	601,75	68,76	CH in-plane bending-9a (M:73)/[vaC9N8N10N13, vaN14O15O16 (B:74)]
V48	1570	1568	1664,17	181,60	106,64	1601,01	34,39	16,13	CH in-plane bending-9a (M: ver A2.6-A2.11; B:76)
V49	1585	1585	1668,04	907,24	9,55	1626,54	171,89	149,82	vaC9N8N10N13 (M: ver A2.6-A2.11; B: ver A2.6-A2.11)
V50	1618	1618	1674,98	93,20	49,52	1628,93	311,09	70,60	[vaC9N8N10N13, vaN14O15 (M: ver A2.6-A2.11; B: ver A2.6-A2.11)]
V51	2853	2845	3042,39	19,13	45,07	2991,09	41,27	64,01	vsH26H27C12 (M:91; B:95)
V52	2873	2870	3067,83	33,64	57,02	3006,31	38,20	53,24	vsH24H25C11 (M:89)/vsH21H22C7 (B:95)
V53	2896	2899	3095,48	17,27	42,35	3021,97	39,02	51,36	vsH21H22C7 (M:99)/vsH24H25C11 (B:91)
V54	2928	2931	3136,91	14,57	35,74	3096,53	18,36	41,25	vaH26H27C12 (M:90)/[vaH27C12, vH24C11 (B:98)]
V55	2944	2956	3154,77	8,81	30,73	3105,32	20,58	40,51	vaH24H25C11 (M:87; B: ver A2.6-A2.11)
V56	2969	2970	3160,31	0,04	13,14	3106,54	7,91	26,66	vaH21H22C7 (M:88; B:92)
V57	2987	2989	3168,02	15,49	27,65	3145,41	18,38	31,31	vH20C6 (M:99; B:100)
V58	3047	3058	3213,74	3,74	14,93	3175,65	1,91	19,94	vH18C2 (M:96; B: ver A2.6-A2.11)
V59	3079	3093	3247,07	0,85	25,27	3211,63	0,40	33,35	vH19C3 (M:96; B: ver A2.6-A2.11)
V60	3374		3651,87	159,28	9,83	3584,97	159,92	13,48	vH23N10 (M:100; B:99)

<sup>a</sup>As vibrações calculadas com ambos os funcionais M06-2X and B3LYP são iguais (vibrações comuns); <sup>b</sup>as vibrações obtidas com os funcionais M06-2X e B3LYP diferem (não há vibrações comuns); v: estiramento;  $\beta$ : bending;  $\tau$ : orção;  $\phi$ : out; s:simétrico; a: antissimétrico;  $\delta$ : deformação fora do plano.  $\omega_{IR}$ : frequência experimental no infravermelho;  $\omega_R$ : frequência experimental Raman;  $I_{IR}$ : intensidade no infravermelho;  $I_R$ : intensidade Raman;  $\omega_T$ : frequência teórica; (M: PED): valor PED das vibrações obtidas com o funcional M06-2X; (B: PED): valor PED das vibrações obtidas com o funcional B3LYP. [Vibração1, vibração2,... (M: PED; B: PED)]: o valor PED foi calculado para todas as vibrações descritas entre colchetes. (M ou B: ver A3.6-A3.11): o valor PED foi calculado para vibrações que são comuns e para vibrações que diferem.

Tabela A2.6 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman a partir dos modos normais de vibração obtidos com os funcionais M06-2X and B3LYP, modelo de solvatação PCM (modo 1 ao 20).

MODO	$\omega_{IR}$	$\omega_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	Atribuição
M1	412	413	418,45	12,82	377,19	CCC out-of-plane bending-16a (58)
B1			406,7	23,97	662,06	CCC in-plane bending-6a (56), [ $\beta$ C9N13N14, $\beta$ C9N10N13, $\beta$ N13N14O16 (17)]
M2	420	421	425,57	18,54	215,28	CCC out-of-plane bending-16a (24), [ $\beta$ N13N14O15, $\beta$ N13N14O16 (26)]
B2			420,79	7,82	14,75	CCC out-of-plane bending-16a (93)
M3	465	467	463,19	6,81	152,5	CCC out-of-plane bending-16b (28), [ $\beta$ N13N14O15, $\beta$ N13N14O16 (20)]
B3			470,24	5,37	216,53	CCC out-of-plane bending-16b (16), [ $\beta$ C9C12N8, $\beta$ C9N8N10, $\beta$ N13N14O15, $\beta$ N13N14O16 (48)]
M4	475	476	485,05	18,3	337,87	[ $\beta$ C7C9N8, $\beta$ C9N8N10, $\beta$ N13N14O15 (40)]
B4			483,49	55,28	268,41	[ $\beta$ C7C9N8, $\beta$ C9N8N13 (30)]
M5	493	495	534,91	46,29	115,6	CCC out-of-plane bending-16b (43)
B5			511,28	20,89	119,45	CCC out-of-plane bending-16b (62)
M6	587	587	555,64	138,34	371,72	$\delta$ H23N10 (60)
B6			559,35	166,22	464,48	$\delta$ H23N10 (87)
M7	628	633	640,24	2,51	438,41	CCC in-plane bending-6b (79)
B7			641,94	2,47	386,17	CCC in-plane bending-6b (82)
M8	653	661	662,58	16,95	164,82	[CCC in-plane bending-6b, $\beta$ C9C12N8, $\beta$ C7C9N8, $\beta$ C11C12N10, $\beta$ C11C12N8 (60)]
B8			664,39	11,37	223,5	[CCC in-plane bending-6b, $\beta$ C7C9N8, $\beta$ C9C12N8, $\beta$ C11C12N10, $\beta$ C11C12N8 (50)]
M9	689	690	692,42	29,85	84,93	[CCC in-plane bending-6b, $\beta$ C1C7N8, $\beta$ C7C12N10, $\beta$ C11C12N10, $\beta$ C9C11N10, $\beta$ C11C12N8 (56)]
B9			679,17	21,78	100,22	[ $\beta$ C1C7N8, CC911N10, CCC in-plane bending-6b (38)]
M10	718	718	738,19	28,59	204,03	$\phi$ C9N8N10N13 (83)
B10			722,85	20,72	117,85	$\phi$ C9N8N10N13 (80)
M11	727	731	756,69	6,51	181,83	CCC puckering-4 (16), [ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ C11C12N10, $\beta$ C9N8N10, $\beta$ N13N14O15 (34)]
B11			746,94	14,48	88,49	CCC puckering-4 (75)
M12	753	753	780,3	35,39	54,44	CCC puckering-4 (55), [ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ C11C12N10, $\beta$ C9N8N10 (12)]
B12			772,83	12,89	48,48	[ $\beta$ C9C11N10, $\beta$ C9N8N10, $\beta$ N14O15O16, CCC puckering-4 (64)]
M13	774	774	790,46	13,76	282,33	[ $\beta$ N13N14O15, $\beta$ N13N14O, $\beta$ N14O15O16 (67)]
B13			780,23	21,57	308,73	[ $\beta$ C1C7N8, C9N10N13, $\beta$ N13N14O16, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ N14O15O16 (45)]
M14	785	791	821,64	29,59	25,18	$\phi$ N13N14O15O16 (93)
B14			790,05	11,94	44,22	$\phi$ N13N14O15O16 (87)
M15	812	816	843,09	58,53	751,02	[CCC in-plane bending-6a, $\tau$ H18H19 C2C3 (67)]
B15			831,42	43,83	444,39	CCC in-plane bending-6a (12), $\tau$ H19H18 C2C3 (38)
M16	826	830	871,59	32,27	198,5	$\tau$ H18H19C2C3 (66)
B16			848,62	59,09	434,88	CCC in-plane bending-6a (13), $\tau$ H18H19C2C3 (38)
M17	837	840	880,12	4,6	140,73	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ C9N13N10, $\beta$ N13N14O16 (42)]
B17			867,17	7,14	163,09	[ $\nu$ sC7C12N8, $\nu$ C9N13, $\nu$ C11N10 (14)], [ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H21H22C7 (35)]
M18	885	886	930,09	5,88	216,29	[ $\beta$ C9C12N8, $\beta$ C11C12N10, $\beta$ C11C12N8, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ C9N13N14, $\beta$ N13N14O16, $\beta$ C9C11N10 (29)], [ $\nu$ sC7C9C12N8, $\nu$ N13N14, $\nu$ sC9N8N10N13, $\nu$ sC9C11N10 (23)]
B18			913,59	12,52	208,63	[ $\nu$ sC7C9N8, $\nu$ C9N13, $\nu$ C11N10 (24)], [ $\beta$ C9C12N8, $\beta$ C11C12N10, $\beta$ C11C12N8, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ C9N13N14, $\beta$ N13N14O16, $\beta$ C9C11N10 (75)]
M19	905	907	944,2	29,98	11,56	[ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H18C2C3, $\beta$ H19C3C4, $\nu$ C11C12N8, $\tau$ H18C1C2C7, $\tau$ H19C1C2C3 (46)]
B19			934,4	53,87	24,06	[ $\beta$ H21H22C7, $\nu$ C11C12N8, $\tau$ H18C1C2C7, $\tau$ H19C1C2C3 (38)]
M20	943	945	971,83	21,23	60,26	$\tau$ H20C1C6C7 (69)
B20			962,06	63,62	86,4	$\nu$ C11C12 (22), $\tau$ H20C1C6C7 (38)

$\nu$ : estiramento;  $\beta$ : bending;  $\tau$ : torção;  $\phi$ : out; s: simétrico; a: antissimétrico;  $\delta$ : deformação fora do plano;  $\omega_{IR}$ : frequência experimental no infravermelho;  $\omega_R$ : frequência experimental Raman;  $I_{IR}$ : intensidade no infravermelho;  $I_R$ : intensidade Raman;  $\omega_T$ : frequência teórica; [Vibração1, vibração2,... (PED)]: o valor PED foi calculado para todas as vibrações descritas entre colchetes.



Tabela A2.7 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman a partir dos modos normais de vibração obtidos com os funcionais M06-2X and B3LYP, modelo de solvatação PCM (modo 21 ao 40).

MODO	$\omega_{IR}$	$\omega_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	Atribuição
M21	958	960	992,68	14,53	126,44	vsC11C12N10 (54)
B21			976,05	29,66	222,25	[vaC11C12N8, vsC11C12N10 (40)], $\tau$ H20C1C6C7 (18)
M22	979	980	1028,36	3,26	3,95	$\tau$ H18H19C2C3 (81)
B22			996,3	8,59	29,27	$\tau$ H18H19C2C3 (81)
M23	995	1001	1041,05	110,27	131,37	[CCC trigonal bending-12, vC12N8, vsC9N13N14, vsN14O15O16 (58)]
B23			1020,94	40,74	384,05	[vC12N8, vC11N10, vN13N14, vsN14O15O16 (51)], $\beta$ H21H22C7 (10)
M24	1025	1022	1050,42	17,4	162,22	[CCC trigonal bending-12, vN13N14 (74)]
B24			1038,47	26,68	85,54	CCC trigonal bending-12 (84)
M25	1053	1053	1077,55	139,57	127,54	[vaC11C12N10, vN13N14 (73)]
B25			1053,16	106,34	102,84	vaC11C12N10 (54)
M26	1097	1096	1125,33	38,3	28,83	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (77)]
B26			1105,53	242,03	805,15	Breathing-1 (64)
M27	1107	1110	1133,96	177,24	508,99	Breathing-1 (63), [ $\beta$ H19C3C4, $\beta$ H18C2C3, $\beta$ H20C6N5 (23)]
B27			1123,06	34,51	46,7	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (88)]
M28	1137	1140	1162,97	29,98	78,2	[ $\beta$ H19C2C3, $\beta$ H18C2C3 (55)], CC stretching-19a (25)
B28			1155,43	34,43	17,3	[ $\beta$ H19C2C3, $\beta$ H18C2C3, $\beta$ H21H22C7 (41)], CC stretching-19a (25)
M29	1148	1151	1182,44	35,49	35,46	[vaC1C2C6, vaC9C12N8, vsC9N8N10, vsN13N14O15O16 (49)]
B29			1166,55	58,48	14,9	[vaC9C12N8, vsC9N8N10, vsN13N14O15O16 (47)]
M30	1190	1190	1219,8	10,86	76,03	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (56)], [vC11C12N10, vsC9N8N10N13, vaC7C12N8, vsN14O15O16 (13)]
B30			1204,74	6,33	205,76	[vaC7C12N8, vsC9N8N10N13, vsN14O15O16 (23)], [ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (19)]
M31	1203	1203	1236,11	22,4	67,27	$\beta$ H24H25C11 (48)
B31			1224,37	25,05	83,46	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (69)]
M32	1220	1220	1249,15	93,62	96,69	[Breathing-1 (40), CH in-plane bending (67)]
B32			1228,65	143,5	112,91	[Breathing-1, CH in-plane bending (41)]
M33	1233	1232	1276,45	542,77	403,84	[vaC9N10N13, vaN13N14O16, vaC1C7N8, vsC9C11N10, vaC9N13N14 (56)]
B33			1248,4	930,37	280,86	[vaC1C7N8, vaC7C12N8, vaC9N10N13, vaN13N14O16, vaC9N13N14, vsC9C11N10 (59)]
M34	1243	1245	1288,74	36,09	42,09	[CH in-plane trigonal bending-15, vaC7C12N8 (75)]
B34			1276,09	81,93	24,2	[CH in-plane trigonal bending-15, vaC7C12N8 (47)]
M35	1279	1277	1310,13	652,82	315,42	[vsC9N10N13, vN13N14, vaC9C11N10 (34)], [ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (45)]
B35			1285,58	450,56	419,6	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (33)], [vaC7C12N8, vsC9N10N13, vaC9N13N14, vsN14O15O16 (23)]
M36	1288	1285	1322	64,76	101,61	[ $\beta$ H23C11N10, $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (21)], [vaC7C9N8, vsN14O15O16 (10)], CH in-plane trigonal bending-15 (12)
B36			1303,01	55,22	307,74	CH in-plane trigonal bending-15 (15), [ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (39)]
M37	1295	1294	1347,75	568,11	423,07	[vsN14O15O16, vC9N8, vaC11C12N10, vaC11C12N8, $\beta$ H23C9N10, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H24H25C11 (45)]
B37			1321,91	481,33	344,98	[ $\beta$ H23C9N10, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (59)], [vN14O15, vaC11C12N10, vaC11C12N8 (12)]
M38	1322	1320	1355,33	496,2	117,22	$\beta$ H22C7N8 (35), [vC12N8, vC11N10, vC2C3, vC6N5, vC1C7, vaC9N13N14 (11)]
B38			1334,78	146,31	40,62	[ $\beta$ H23C9N10, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H21H22C7, vC12N8, vC11N9 (46)]
M39	1342	1339	1393,36	140,99	68,75	$\beta$ H21H22C7 (63)
B39			1378,1	36,51	65,71	[vC2C3, C6N5 (10)], [ $\beta$ H18C1C2, $\beta$ H20C1C6, $\beta$ H21H22C7 (56)]
M40	1366	1373	1420,17	56,89	287,48	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H23C9N10 (38)]
B40			1399,44	34,97	271,7	[ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (47)]

v: estiramento;  $\beta$ : bending;  $\tau$ : torção;  $\phi$ : out; s: simétrico; a: antissimétrico;  $\delta$ : deformação fora do plano;  $\omega_{IR}$ : frequência experimental no infravermelho;  $\omega_R$ : frequência experimental Raman;  $I_{IR}$ : intensidade no infravermelho;  $I_R$ : intensidade Raman;  $\omega_T$ : frequência teórica; [Vibração1, vibração2,... (PED)]: o valor PED foi calculado para todas as vibrações descritas entre colchetes.

Tabela A2.8 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman a partir dos modos normais de vibração obtidos com os funcionais M06-2X and B3LYP, modelo de solvatação PCM (modo 41 ao 60).

.MODO	$\omega_{IR}$	$\omega_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	Atribuição
M41	1392	1393	1431,28	59,68	11,92	CC stretching-19a, $\beta$ H22C1C7 (78)
B41			1419,75	124,1	45,31	[CC stretching-19a, $\beta$ H21H22C7 (57)]
M42	1420	1418	1472,15	33,99	95,14	$\beta$ H21H22C7 (91)
B42			1462,4	829,13	52,75	[vaN14O15O16, vaC9N8N13 (69)]
M43	1447	1447	1498,91	61,76	48,4	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (76)], [vaN14O15O16, vC9N8(10)]
B43			1475,07	33,7	79,46	$\beta$ H21H22C7 (88)
M44	1456	1456	1510,97	163,89	15,37	CC stretching-19a (74)
B44			1486,27	148,89	45,68	[cc stretching-19a, $\beta$ H21H22C7 (71)]
M45	1470	1470	1522,25	74,52	101,11	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (92)]
B45			1505,33	100,56	101,92	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (86)]
M46	1491	1484	1537,79	587,7	43,89	[vC9N8, vaN14O15O16 (54)], $\beta$ H26H27C12 (10)
B46			1519,81	5,39	247,13	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (86)]
M47	1551	1552	1595,04	973,76	36,67	[vaC9N8N10, vaN14O15O16 (66)]
B47			1563,89	530,89	46,16	[vaC9N8N10, vaN14O15O16 (60)]
M48	1570	1568	1627,79	522,68	345,81	[vaC9N8N10N13, vN14O15 (67)], [ $\beta$ H23C11N10, $\beta$ H24H25C11 (12)]
B48			1590,78	618,96	517,32	[vaC9N8N10N13, vN14O15 (52)]
M49	1585	1585	1648,96	61,38	58,2	CH in-plane bending-9a (76)
B49			1606,15	55,3	49,16	CH in-plane bending-9a (69)
M50	1618	1618	1664,21	82,36	255,62	CH in-plane bending-9a (59)
B50			1621,45	47,78	386,82	CH in-plane bending-9a (74)
M51	2853	2845	3055,26	31,65	121,83	vsH26H27C12 (89)
B51			3026,4	61,76	195,8	vsH26H27C12 (93)
M52	2873	2870	3078,78	34,84	102,65	vsH24H25C11 (89)
B52			3031,37	46,89	133,37	vsH21H22C7 (91)
M53	2896	2899	3092,67	23,85	117,66	vsH21H22C7 (94)
B53			3049,41	45,13	121,28	vsH24H25C11 (89)
M54	2928	2931	3142,29	13,41	74,69	vaH26H27C12(88)
B54			3109,52	11,1	79,8	vaH21H22C7 (91)
M55	2944	2956	3154,49	0,53	40,03	vaH21H22C7 (93)
B55			3114,88	20,65	87,09	vaH26H27C12 (82), vaH24H25C11C13 (13)
M56	2969	2970	3166,05	13,81	74,83	vaH20C6 (99)
B56			3126,57	20,74	79,44	vaH24H25C11 (78), vaH26H27C12 (11)
M57	2987	2989	3173,28	9,17	61,23	vsH24H25C11 (89)
B57			3172,06	17,47	68,57	vH20C6 (100)
M58	3047	3058	3204,75	1,6	56,43	vH18C2 (96)
B58			3178,92	7,1	73,73	vH18C2 (96)
M59	3079	3093	3233,88	1,24	67,1	vH19C3 (96)
B59			3217,95	0,82	93,56	vH19C3 (97)
M60	3374		3651,8	261,81	18,7	vH23N10 (99)
B60			3618,72	234,29	22,02	vH23N10 (99)

v: estiramento;  $\beta$ : bending;  $\tau$ : torção;  $\phi$ : out; s: simétrico; a: antissimétrico;  $\delta$ : deformação fora do plano;  $\omega_{IR}$ : frequência experimental no infravermelho;  $\omega_R$ : frequência experimental Raman;  $I_{IR}$ : intensidade no infravermelho;  $I_R$ : intensidade Raman;  $\omega_T$ : frequência teórica; [Vibração1, vibração2,... (PED)]: o valor PED foi calculado para todas as vibrações descritas entre colchetes.

Tabela A2.9 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman a partir dos modos normais de vibração obtidos com os funcionais M06-2X and B3LYP, no vácuo (modo 1 ao 20).

MODO	$\omega_{IR}$	$\omega_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	Atribuição
M1	412	413	422,86	5,56	101,90	CCC out-of-plane bending-16a (69)
B1			412,10	10,84	293,18	CCC in-plane bending-6a (42), [ $\beta$ C9N13N14, $\beta$ C9N3N10, $\beta$ N13N14O16 (17)]
M2	420	421	435,86	14,82	136,33	[CCC out-of-plane bending-16a, $\beta$ C9C12N8, $\beta$ C7C12N8, $\beta$ C9N13N14, $\beta$ N13N14O15, $\beta$ N13N14O16 (40)]
B2			424,28	3,60	12,36	CCC out-of-plane bending-16a (86)
M3	465	467	461,34	6,46	66,51	[CCC out-of-plane bending-16b, $\beta$ C7C12N8, $\beta$ C9N8N13, $\beta$ C9N10N13, $\beta$ N13N14O16 (61)]
B3			468,57	1,30	163,85	CCC out-of-plane bending-16b (16), [ $\beta$ C9N10N13, $\beta$ N13N14O15, $\beta$ N13N14O16 (47)]
M4	475	476	491,03	5,26	209,96	[ $\beta$ C7C9N8, $\beta$ C9N8N13, $\beta$ N13N14O15 (55)]
B4			484,65	28,30	207,21	[ $\beta$ C7C9N8, $\beta$ C9N8N13 (39)]
M5	493	495	540,72	14,16	61,29	CCC out-of-plane bending-16b (54)
B5			522,27	8,81	57,07	CCC out-of-plane bending-16b (63)
M6	587	587	604,00	80,53	44,53	$\delta$ H23N10 (77)
B6			628,92	80,65	42,46	$\delta$ H23N10 (84)
M7	628	633	642,84	3,11	163,99	CCC in-plane bending-6b (73)
B7			641,95	4,05	224,06	CCC in-plane bending-6b (75)
M8	653	661	662,17	9,10	89,82	[CCC in-plane bending-6b, $\beta$ H23C11N10, $\beta$ C9C12N8, $\beta$ C11C12N8, $\beta$ C7C9N8, $\beta$ C11C12N10, $\beta$ C11C9N10 (52)]
B8			665,85	15,24	142,44	[ $\beta$ C11C12N8, $\beta$ C9C11N10, $\beta$ C9C12N8, $\beta$ C7C12N8, CCC in-plane bending-6b (55)]
M9	689	690	697,11	12,44	32,64	[CCC in-plane bending-6b, $\beta$ C7C12N8, $\beta$ C9N8N13, $\beta$ C9N10N13 (23)]
B9			688,17	10,77	14,31	CCC in-plane bending-6b (45)
M10	718	718	740,71	11,24	83,50	$\phi$ C9N8N10N13 (56), CCC puckering-4 (12)
B10			724,01	12,93	74,14	$\phi$ C9N8N10N13 (78)
M11	727	731	757,32	12,17	54,68	[ $\tau$ C9C11N8N10, CCC puckering-4 (40)]
B11			751,70	15,27	46,40	CCC puckering-4 (51)
M12	753	753	783,09	19,15	12,48	CCC puckering-4 (46)
B12			774,59	9,33	32,15	[CCC puckering-4, $\beta$ C9C11N10, $\beta$ C9N8N10, $\beta$ C9N8N13, $\beta$ N14O15O16 (70)]
M13	774	774	788,46	14,81	82,72	[ $\beta$ C9C11N10, $\beta$ C9N8N13, $\beta$ N13N14O16, $\beta$ N14O15O16 (71)]
B13			778,87	17,95	55,97	CH out-of-plane trigonal-5 (29), [ $\beta$ N13N14O15, $\beta$ N13N14O16, $\beta$ N14O15O16 (34)]
M14	785	791	822,21	20,18	52,47	$\phi$ N13N14O15O16 (57)
B14			791,87	5,83	37,73	$\phi$ N13N14O15O16 (76)
M15	812	816	845,83	31,53	318,00	CCC in-plane bending-6a (59), $\tau$ H18H19C2C3 (16)
B15			835,87	29,14	249,64	CCC in-plane bending-6a (61), $\tau$ H18H19C2C3 (13)
M16	826	830	879,15	19,74	42,50	CH out-of-plane-16b (63)
B16			855,06	26,98	88,75	$\tau$ H18H19C2C3 (49), breathing-1 (17)
M17	837	840	884,15	5,66	66,85	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ C9N13N14, $\beta$ C9N10N13, $\beta$ N13N14O15, $\beta$ N13N14O16 (42)]
B17			866,92	4,11	73,03	[ $\nu$ sC7C9N8, $\nu$ sC9C11N10 (17)], $\tau$ H19H18C2C3 (13), [ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H21H22C7 (22)]
M18	885	886	936,48	20,40	66,80	[ $\nu$ sC9N8N10, $\nu$ N13N14 (26)]
B18			917,12	31,98	87,60	[ $\nu$ aC7C12N8, $\nu$ sC9C11N10, $\nu$ sC9N13N14 (27)], [ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (27)]
M19	905	907	947,96	10,55	27,39	$\nu$ sC11C12N8 (15), $\beta$ H21H22C7 (39)
B19			937,56	40,55	34,74	$\beta$ H21H22C7 (24), $\nu$ sC11C12 (11), $\tau$ H20C1C6C7 (19)
M20	943	945	972,29	2,70	13,47	$\tau$ H20C1C6C7 (73)
B20			955,42	21,84	44,25	$\tau$ H20C1C6C7 (57), $\nu$ C11C12 (15)

$\nu$ : estiramento;  $\beta$ : bending;  $\tau$ : torção;  $\phi$ : out; s: simétrico; a: antissimétrico;  $\delta$ : deformação fora do plano;  $\omega_{IR}$ : frequência experimental no infravermelho;  $\omega_R$ : frequência experimental Raman;  $I_{IR}$ : intensidade no infravermelho;  $I_R$ : intensidade Raman;  $\omega_T$ : frequência teórica; [Vibração1, vibração2,... (PED)]: o valor PED foi calculado para todas as vibrações descritas entre colchetes.

Tabela A2.10 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman a partir dos modos normais de vibração obtidos com os funcionais M06-2X and B3LYP, no vácuo (modo 21 ao 40).

MODO	$\omega_{IR}$	$\omega_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	Atribuição
M21	958	960	992,10	8,94	58,35	vsC11C12N10 (58)
B21			976,10	17,41	81,99	[vaC11C12N8, vN13N14, vsC11C12N10 (51)], $\beta$ H21H22C7 (12), $\tau$ H20C1C6C7 (10)
M22	979	980	1024,49	107,64	27,65	[vC12N8, vsN13N14O15O16, $\beta$ N14O15O16 (43)], $\tau$ H19H18C2C3 (13)
B22			992,99	70,43	54,42	[vC12N8, vaN13N14O15O16, $\beta$ N14O15O16 (30)], $\tau$ H19H18C2C3 (20)
M23	995	1001	1028,46	10,69	2,53	$\tau$ H18H19C2C3 (81)
B23			999,34	28,33	17,96	$\tau$ H19H18C2C3 (65)
M24	1025	1022	1049,51	13,42	16,38	CCC trigonal bending-12 (81)
B24			1040,45	9,97	12,78	CCC trigonal bending-12 (64)
M25	1053	1053	1085,36	50,52	79,23	[vaC11C12N10, vN13N14 (54)], $\beta$ H23C9N10 (12)
B25			1057,86	57,53	94,66	[vaC11C12N10, vN13N14 (58)]
M26	1097	1096	1128,92	14,63	7,57	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (87)]
B26			1120,09	145,67	262,86	Breathing-1 (58)
M27	1107	1110	1141,82	106,77	141,22	Breathing-1 (58)
B27			1125,03	12,22	15,32	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (71)]
M28	1137	1140	1171,51	37,42	25,85	[CC stretching-19a, vaC9C12N8, vaC9C11N10, vsC9N8N10 (44)], [ $\beta$ H18C1C2, $\beta$ H20C1C6, $\beta$ H21H22C7 (11)]
B28			1155,71	39,63	7,61	[vsC9N8N10, vaC9C12N8, vN13N14, vsN14O15O16, CCC stretching-19a (50)]
M29	1148	1151	1174,66	7,17	24,93	[CCC stretching-19a, vaC9C12N8, vsN14O15O16, $\beta$ H21H22C7 (67)]
B29			1163,48	1,72	15,18	[CCC stretching-19a, $\beta$ H21H22C7, vaC9C12N8, vsN13N14O15O16 (61)]
M30	1190	1190	1212,46	2,97	45,78	[vaC7N8, vsC9N10 (18)], [ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (46)]
B30			1198,22	3,34	67,69	[ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (34)], [vaC7C12N8, vC9N10 (11)]
M31	1203	1203	1233,57	13,15	24,82	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (72)]
B31			1222,31	3,05	46,87	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (78)]
M32	1220	1220	1249,69	15,32	32,12	[Breathing-1, CH in-plane bending (61)]
B32			1234,54	61,90	50,44	[Breathing-1, CH in-plane bending (69)]
M33	1233	1232	1274,80	91,23	112,94	[vaC1C7N8, vN14O16, vaC9C11N10 (28)], [ $\beta$ H23C9N10, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (39)]
B33			1247,95	271,91	218,50	[vaC1C7N8, vaC7C12N8, vsC9C11N10, vaN13N14O16 (54)]
M34	1243	1245	1286,05	4,91	15,99	[CH in-plane trigonal bending-15, vaC7C12N8 (76)]
B34			1279,52	76,75	12,03	[CH in-plane trigonal bending-15, vaC7C12N8 (57)]
M35	1279	1277	1316,37	131,86	33,58	[ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (32)], vaC9N8N10 (14)
B35			1287,19	278,13	260,09	[vaC7C12N8, vaC9C11N10, vaC9N13N14, vaN13N14O16 (29)], [ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (19)]
M36	1288	1285	1330,07	164,17	131,25	[vaC9N13N14, vsN14O15O16 (12)], [ $\beta$ H23C9N10, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H26H27C12 (38)]
B36			1305,29	50,72	10,23	[CH in-plane trigonal bending-15, vaC7C9N8, vaC9N8N10, vN14O16 (50)]
M37	1295	1294	1355,81	16,95	17,55	vaC11C12N8 (17), [ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (25)]
B37			1329,02	31,09	59,72	[ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24C11C12 (57)], vaC9C12N8 (15)
M38	1322	1320	1379,03	386,84	152,70	[ $\beta$ H23C11N10, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H21H22C7 (29)], [vN10C11, vaN13N14O15O16 (26)]
B38			1347,28	322,02	127,22	vN10C11 (12), [ $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H23C11N10, $\beta$ H26C12N8, $\beta$ H21C7N8 (25)], vsN14O15O16 (10)
M39	1342	1339	1397,85	92,94	42,43	$\beta$ H21H22C7 (62), [vN13N14, vsN14O15O16 (13)]
B39			1386,33	23,93	58,20	$\beta$ H21H22C7 (45)
M40	1366	1373	1430,05	95,42	86,90	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H23C11N10 (40)], [vC11C12, vsC9N13N14, vsN14O15O16 (10)]
B40			1408,19	6,12	53,77	[vC11C12, vC9N13 (10)], [ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (53)]

v: estiramento;  $\beta$ : bending;  $\tau$ : torção;  $\phi$ : out; s: simétrico; a: antissimétrico;  $\delta$ : deformação fora do plano;  $\omega_{IR}$ : frequência experimental no infravermelho;  $\omega_R$ : frequência experimental Raman;  $I_{IR}$ : intensidade no infravermelho;  $I_R$ : intensidade Raman;  $\omega_T$ : frequência teórica; [Vibração1, vibração2,... (PED)]: o valor PED foi calculado para todas as vibrações descritas entre colchetes.

Tabela A2.11 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman a partir dos modos normais de vibração obtidos com os funcionais M06-2X and B3LYP, no vácuo (modo 41 ao 60).

MODO	$\omega_{IR}$	$\omega_R$	$\omega_T$	$I_{IR}$	$I_R$	Atribuição
M41	1392	1393	1434,00	40,06	5,06	[CC stretching-19a, $\beta$ H21H22C7 (66)]
B41			1416,36	12,88	4,85	[CC stretching-19a, $\beta$ H21H22C7 (58)]
M42	1420	1418	1480,70	31,09	39,58	$\beta$ H21H22C7 (72)
B42			1485,52	140,25	25,73	[CC stretching-19a, vC9N8, $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (51)]
M43	1447	1447	1503,87	49,93	14,19	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, $\beta$ H21H22C7 (70)], vaC9N8N10 (10)
B43			1492,63	42,30	18,44	[ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11, CC stretching-19a (33)], vaC9N8N10 (10)
M44	1456	1456	1512,29	106,45	5,64	CC stretching-19a (77)
B44			1496,37	125,25	33,21	[CC stretching-19a, $\beta$ H21H22C7 (64)]
M45	1470	1470	1532,93	10,70	31,02	[ $\beta$ H26H27C12, $\beta$ H24H25C11 (86)]
B45			1527,76	116,91	35,97	$\beta$ H24H25C11 (77)
M46	1491	1484	1545,66	179,43	28,49	[ $\beta$ H21H22C7, $\beta$ H24H25C11 (31)], vaN13N14O15O16 (39)
B46			1533,95	73,13	46,16	[ $\beta$ H26H27C12, vaC9N8N10 (76)]
M47	1551	1552	1638,89	10,98	14,86	CH in-plane bending-9a (73)
B47			1592,77	601,75	68,76	[vaC9N8N10N13, vaN14O15O16 (74)]
M48	1570	1568	1664,17	181,60	106,64	[CH in-plane bending-9a, vaN14O15O16 (61)]
B48			1601,01	34,39	16,13	CH in-plane bending-9a (76)
M49	1585	1585	1668,04	907,24	9,55	[vaC9N8N10N13, vaN14O15O16 (61)]
B49			1626,54	171,89	149,82	[CH in-plane bending-9a, vaC9N8N10N13 (74)]
M50	1618	1618	1674,98	93,20	49,52	[vaC9N8N10N13, vaN14O15O16 (68)]
B50			1628,93	311,09	70,60	[CH in-plane bending-9a, vaC9N8N10N13, vN14O15 (65)]
M51	2853	2845	3042,39	19,13	45,07	vsH26H27C12 (91)
B51			2991,09	41,27	64,01	vsH26H27C12 (95)
M52	2873	2870	3067,83	33,64	57,02	vsH24H25C11 (89)
B52			3006,31	38,20	53,24	vsH21H22C7 (95)
M53	2896	2899	3095,48	17,27	42,35	vsH21H22C7 (99)
B53			3021,97	39,02	51,36	vsH24H25C11 (91)
M54	2928	2931	3136,91	14,57	35,74	vaH26H27C12 (90)
B54			3096,53	18,36	41,25	[vaH27C12, vH24C11 (98)]
M55	2944	2956	3154,77	8,81	30,73	vaH24H25C11 (87)
B55			3105,32	20,58	40,51	[vaH26H27C12, vaH24H25C11 (89)]
M56	2969	2970	3160,31	0,04	13,14	vaH21H22C7 (88)
B56			3106,54	7,91	26,66	vaH21H22C7 (92)
M57	2987	2989	3168,02	15,49	27,65	vH20C6 (99)
B57			3145,41	18,38	31,31	vH20C6 (100)
M58	3047	3058	3213,74	3,74	14,93	vH18C2 (96)
B58			3175,65	1,91	19,94	[vH18C2, vH19C3 (96)]
M59	3079	3093	3247,07	0,85	25,27	vH19C3 (96)
B59			3211,63	0,40	33,35	[vH19C3, H18C2 (96)]
M60	3374		3651,87	159,28	9,83	vH23N10 (100)
B60			3584,97	159,92	13,48	vH23N10 (99)

v: estiramento;  $\beta$ : bending;  $\tau$ : torção;  $\phi$ : out; s: simétrico; a: antissimétrico;  $\delta$ : deformação fora do plano;  $\omega_{IR}$ : frequência experimental no infravermelho;  $\omega_R$ : frequência experimental Raman;  $I_{IR}$ : intensidade no infravermelho;  $I_R$ : intensidade Raman;  $\omega_T$ : frequência teórica; [Vibração1, vibração2,... (PED)]: o valor PED foi calculado para todas as vibrações descritas entre colchetes.

Tabelas das atribuições das bandas experimentais de absorção (espalhamento) no infravermelho (Raman) do composto imidacloprido. As atribuições foram realizadas levando em consideração as linhas espectrais calculadas para o **crystal do imidacloprido**. Os cálculos foram realizados no formalismo DFT, funcionais GGA-PBE, energia de corte 1100 eV.

Nas Tabelas A2.12, A2.13 e A2.14 colocou-se apenas as duas vibrações mais relevantes para cada modo de vibração (modo 1 ao 60). Na Tabela A2.12 são mostrados os modos 1-20, na Tabela A2.13 tem-se os modos 21-40, e na Tabela A2.14 destacou-se os modos 41-60.

Nas Tabelas A2.15, A2.16 e A2.17 colocou-se todas as vibrações identificadas para cada modo de vibração. Os modos do 1 a 20 são mostrados na Tabela A2.15, os modos do 21 ao 40 na Tabela A2.16, e os modos do 41 ao 60 na Tabela A2.17. As duas vibrações mais relevantes, que foram associadas aos modos do 1 ao 60 nas Tabelas A2.12, A2.13 e A2.14, são destacadas em negrito nas Tabelas A2.15, A2.16 e A2.17.

Tabela A2.12 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman, a partir dos modos teóricos mais relevantes (modo 1 ao 20), calculados para o cristal do imidacloprid.

M	ATIVO	$\omega_E$	$\omega_T$	Atribuição
C1	IR	412	395,15	$\rho$ [imidazole] (f), $\beta$ [cloropiridíneo] (f)
C1	RAM	413	394,68	$\rho$ [imidazole] (f), $\beta$ [cloropiridíneo] (f)
C2	IR	420	400,95	<i>CCC out of plane bending-16a</i> (F)
C2	RAM	421	402,13	<i>CCC out of plane bending-16a</i> (F)
C3	IR	465	436,86	<i>CCC out of plane bending-16b</i> (f), $\rho$ [imidazole] (f)
C3	RAM	467	440,76	<i>CCC out of plane bending-16b</i> (f), $\rho$ [imidazole]
C4	IR	475	458,40	$\rho$ H21H22C7 (m), $\rho$ [imidazole] (m)
C4	RAM	476	458,29	$\rho$ H21H22C7 (m), $\rho$ [imidazole] (m)
C5	IR	493	499,60	<i>CCC out of plane bending-16b</i> (F)
C5	RAM	495	497,65	<i>CCC out of plane bending-16b</i> (F)
C6	IR	587	636,54	$\delta_{out}$ H23N19 (s), $\sigma$ N8C11C12 (f)
C6	RAM	587	622,58	<i>CCC in-plane bending-6b</i> (F)
C7	IR	628	657,01	$\sigma$ N8C1C7 (m), <i>CCC out of plane bending-16b</i> (m)
C7	RAM	633	658,01	$\sigma$ N8C1C7 (m), <i>CCC out of plane bending-16b</i> (m)
C8	IR	653	657,15	$\sigma$ N8C1C7 (F), <i>CCC out of plane bending-16b</i> (m)
C8	RAM	661	659,06	$\delta_{out}$ H23N10 (F), $\beta$ N8N10C9 (f)
C9	IR	689	685,95	$\tau$ H23N10N13C9 (F), $\tau$ H23N8N10C9 (F)
C9	RAM	690	686,34	$\tau$ H23N10N13C9 (F), $\tau$ H23N8N10C9 (F)
C10	IR	718	686,66	$\tau$ H23N10N13C9 (F), $\tau$ H23N8N10C9 (F)
C10	RAM	718	722,77	$\sigma$ N14O15O16 (F), $\rho$ N10N13C9 (m)
C11	IR	727	730,33	$\sigma$ N14O15O16 (m), $\sigma$ N13N14O16 (m)
C11	RAM	731	731,24	$\sigma$ N13N14O16 (m), <i>CCC puckering-4</i> (m)
C12	IR	753	734,66	<i>CCC puckering-4</i> (m), $\sigma$ N10C9C11 (f)
C12	RAM	753	734,43	<i>CCC puckering-4</i> (m), $\sigma$ N14O15O16 (f)
C13	IR	774	744,83	$\phi$ N13N14O15O16 (F)
C13	RAM	774	744,19	$\phi$ N13N14O15O16 (F)
C14	IR	785	756,11	$\sigma$ N10C9C11 (m), $\sigma$ N10C11C12 (m)
C14	RAM	791	755,45	$\sigma$ N10C9C11 (m), $\sigma$ N10C11C12 (m)
C15	IR	812	806,86	<i>CH out-of-pane-17b</i> (F), <i>CCC in plane bending-6a</i> (f)
C15	RAM	816	806,84	<i>CH out-of-pane-17b</i> (F), <i>CCC in plane bending-6a</i> (f)
C16	IR	826	828,23	<i>CH out-of-pane-17b</i> (m), $\sigma$ N10N13C9 (f)
C16	RAM	830	829,94	<i>CH out-of-pane-17b</i> (m), $\sigma$ N10N13C9 (f)
C17	IR	837	839,40	<i>CH out-of-pane-17b</i> (m), $\rho$ H26H27C12 (f)
C17	RAM	840	841,53	<i>CH out-of-pane-17b</i> (m), $\rho$ H26H27C12 (f)
C18	IR	885	873,94	$\rho$ H24H25C11 (F), $\rho$ H26H27C12 (F)
C18	RAM	886	874,41	$\rho$ H24H25C11 (F), $\rho$ H26H27C12 (F)
C19	IR	905	902,40	$\rho$ H21H22C7 (F), $\delta_{out}$ [C6H20;C3H19] (f)
C19	RAM	907	904,32	$\rho$ H21H22C7 (F), $\delta_{out}$ [C6H20;C3H19] (f)
C20	IR	943	926,74	$\delta_{out}$ C6H20 (F), $\nu$ C11C12 (f)
C20	RAM	945	925,57	$\delta_{out}$ C6H20 (F), $\nu$ C11C12 (f)

Notas:  $\omega_E$ : frequência experimental;  $\omega_T$ : frequência teórica;  $\rho$ : oscilação;  $\beta$ : *bending*;  $\delta_{out}$ : deformação for a do plano;  $\sigma$ : tesoura;  $\tau$ : torção;  $\phi$ : out;  $\nu$ : estiramento.

Tabela. A2.13 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman, a partir dos modos teóricos mais relevantes (modo 21 ao 40), calculados para o cristal do imidacloprido.

M	ATIVO	$\omega_E$	$\omega_T$	Atribuição
C21	IR	958	939,39	vC11C12 (F), $\beta$ H26H27C12 (F)
C21	RAM	960	940,38	vC11C12 (F), $\beta$ H26H27C12 (F)
C22	IR	979	956,56	vN13N14 (F), vsN8N10C11C12 (m)
C22	RAM	980	956,81	vN13N14 (F), vsN8N10C11C12 (m)
C23	IR	995	956,82	$\delta_{out}$ [C2H18;C3H19] (m)
C23	RAM	1001	957,48	vN13N14 (F), vsN8N10C11C12 (m)
C24	IR	1025	1006,31	CCC trigonal bending-16 (F)
C24	RAM	1022	968,53	CH out-of-plane-17a (F)
C25	IR	1053	1033,84	vaN10C11C12 (F), $\omega$ H24H25C11 (F)
C25	RAM	1053	1031,48	vaN10C11C12 (F), $\omega$ H24H25C11 (F)
C26	IR	1097	1072,78	Breathing-1 (F), $\delta_{in}$ H19C3 (F)
C26	RAM	1096	1069,59	Breathing-1 (F), $\delta_{in}$ H19C3 (F)
C27	IR	1107	1073,85	Breathing-1 (F), $\delta_{in}$ H19C3 (F)
C27	RAM	1110	1077,99	Breathing-1 (F), $\delta_{in}$ H19C3 (F)
C28	IR	1137	1083,95	$\rho$ H24H25C11 (F), $\rho$ H26H27C12 (F)
C28	RAM	1140	1104,13	vsN8N10N13C9 (m), vaN8C9C12 (m)
C29	IR	1148	1122,78	$\tau$ H21H22C7 (f), CH in-plane bending [H18C2;H19C3] (F)
C29	RAM	1151	1124,05	$\tau$ H21H22C7 (f), CH in-plane bending [H18C2;H19C3] (F)
C30	IR	1190	1164,94	vN8C7 (m), $\sigma$ N8N10C9 (F)
C30	RAM	1190	1165,93	vN8C7 (m), $\sigma$ N8N10C9 (F)
C31	IR	1203	1166,83	vaN8C7C12 (m), $\sigma$ N8N10C9 (m)
C31	RAM	1203	1185,91	vaN13N14O16 (m), vaN13N14C9 (m)
C32	IR	1220	1185,71	$\tau$ H24H25C11 (F), vN13N14 (f)
C32	RAM	1220	1188,68	vaN13N14O16 (m), vsN8C1C7 (F)
C33	IR	1233	1190,13	vaN13N14C9 (m), vC1C7 (m)
C33	RAM	1232	1192,56	vaN13N14C9 (m), vC1C7 (m)
C34	IR	1243	1194,50	vaN8C1C7 (F), CH in-plane bending (m)
C34	RAM	1245	1195,03	vaN8C1C7 (F), CH in-plane bending (m)
C34 <sup>†</sup>	IR	1263	1209,14	vaN13N14C9 (F), vaN13N14O15O16 (m),
C34 <sup>†</sup>	RAM	1263	1206,22	vaN13N14C9 (F), vaN13N14O15O16 (m),
C35	IR	1279	1227,47	vN8C7 (F), vaN13N14O15O16 (m)
C35	RAM	1277	1228,14	vN8C7 (F), vaN13N14O15O16 (m)
C36	IR	1288	1236,85	vaN13N14C9 (m), vsN10N13C9 (m)
C36	RAM	1285	1236,61	vaN13N14C9 (m), vsN10N13C9 (m)
C37	IR	1295	1246,56	$\tau$ H21H22C7 (F), vaN8C7C12 (m)
C37	RAM	1294	1243,33	$\tau$ H26H27C12 (F), vaN13N14C9 (m)
C37 <sup>†</sup>	IR	1300	1263,27	$\tau$ H21H22C7 (m), CC stretching (kekulé)-14 (f)
C37 <sup>†</sup>	RAM	1304	1265,10	$\tau$ H21H22C7 (m), CC stretching (kekulé)-14 (f)
C38	IR	1322	1269,80	vaN13N14O15 (m), CC stretching (kekulé)-14 (f)
C38	RAM	1320	1282,56	CC stretching (kekulé)-14 (f), $\omega$ H26H27C12 (F)
C39	IR	1342	1293,22	$\tau$ H21H22C7 (F), vN8C12 (m)
C39	RAM	1339	1296,46	$\tau$ H21H22C7 (F), vN8C12 (m)
C40	IR	1366	1332,76	$\omega$ H21H22C7 (F), vC11C12 (m)
C40	RAM	1373	1330,98	$\omega$ H21H22C7 (F), vC11C12 (m)

Notas:  $\omega_E$ : frequência experimental;  $\omega_T$ : frequência teórica; v: estiramento; s: simétrico; a: antissimétrico;  $\beta$ : bending;  $\delta_{out}$ : deformação for a do plano;  $\omega$ : balanço;  $\delta_{in}$ : deformação no plano;  $\rho$ : oscilação;  $\tau$ : torção;  $\sigma$ : tesoura.



Tabela A2.14 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman, a partir dos modos teóricos mais relevantes (modo 41 ao 60), calculados para o cristal do imidacloprido.

M	ATIVO	$\omega_E$	$\omega_T$	Atribuição
C41	IR	1392	1345,22	vC11C12 (F), vN13C9 (F)
C41	RAM	1393	1370,53	vaN14O15O16 (F), CC stretching-19a (F)
C42	IR	1420	1373,01	$\sigma$ H22C1C7 (F), CC stretching-19a (f)
C42	RAM	1418	1384,31	vaN14O15O16 (F), vaN8C9 (f)
C43	IR	1447	1388,13	vaN14O15O16 (F), vaN8N13C9 (m)
C43	RAM	1447	1421,61	$\sigma$ H21H22C7 (F), CC stretching-19a (f)
C44	IR	1456	1395,73	vaN14O15O16 (F), vaN8N10N13C9 (f)
C44	RAM	1456	1433,68	$\sigma$ H21H22C7 (F), CC stretching-19a (f)
C45	IR	1470	1434,37	$\sigma$ H21H22C7 (F), CC stretching-19a (f)
C45	RAM	1470	1456,97	$\sigma$ H24H25C11 (F), $\sigma$ H26H27C12 (F)
C46	IR	1491	1464,74	$\sigma$ H24H25C11 (F), $\sigma$ H26H27C12 (F)
C46	RAM	1484	1468,04	$\sigma$ H24H25C11 (F), vaN8N10N13C9 (F)
C47	IR	1551	1515,86	$\sigma$ H26H27C12 (F), vN8C9 (F)
C47	RAM	1552	1516,69	$\sigma$ H26H27C12 (F), vaN88N13C9 (F)
C48	IR	1570	1532,31	$\sigma$ H24H25C11 (F), vaN10N13C9 (F)
C48	RAM	1568	1548,79	$\sigma$ H24H25C11 (F), vaN10N13C9 (F)
C49	IR	1585	1538,33	$\sigma$ H24H25C11 (F), vaN10N13C9 (F)
C49	RAM	1585	1564,40	CH in-plane bending-9a (F)
C50	IR	1618	1544,55	CH in-plane bending-9b (F), $\tau$ H21H22C7 (f)
C50	RAM	-	-	-
C51	IR	2853	2952,00	vsH21H22C7 (F)
C51	RAM	2845	2952,00	vsH21H22C7 (F)
C52	IR	2873	2952,05	vsH21H22C7 (F)
C52	RAM	2870	2952,07	vsH21H22C7 (F)
C53	IR	2896	2957,64	vsH26H27C12 (F)
C53	RAM	2899	2957,66	vsH26H27C12 (F)
C54	IR	2928	2966,12	vsH24H25C11 (F), vsH26H27C12 (f)
C54	RAM	2931	2966,65	vsH24H25C11 (F), vsH26H27C12 (f)
C55	IR	2944	3014,69	vaH26H27C12 (F), vH24C11 (f), vH22C7 (f)
C55	RAM	2956	3014,83	vaH26H27C12 (F), vH24C11 (f), vH22C7 (f)
C56	IR	2969	3019,32	vaH21H22C7 (F)
C56	RAM	2970	3019,39	vaH21H22C7 (F)
C57	IR	2987	3033,58	vaH24H25C11 (F), vaH26H27C12 (f)
C57	RAM	2989	3034,68	vaH24H25C11 (F), vaH26H27C12 (f)
C58	IR	3047	3075,46	vH20C6 (F)
C58	RAM	3058	3075,49	vH20C6 (F)
C59	IR	3079	3121,46	vH19C3 (F)
C59	RAM	3093	3122,22	vH19C3 (F)
C60	IR	3374	3387,19	vH23N10 (F)
C60	RAM	-	3382,02	vH23N10 (F)

Notas:  $\omega_E$ : frequência experimental;  $\omega_T$ : frequência teórica; v: estiramento; s: simétrico; a: antissimétrico;  $\sigma$ : tesoura;  $\tau$ : torção.

Tabela A2.15 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman, a partir dos modos teóricos (modo 1 ao 20), calculados para o cristal do imidacloprido.

M	IR/RAM	$\omega_E$	$\omega_T$	Atribuição
C1	IR	412	395,15	$\rho$ [imidazole] (f), $\sigma$ N10N13C9 (f), $\rho$ N14O15O16 (f), $\beta$ H21H22C7 (f), $\beta$ [cloropiridíneo] (f)
C1	RAM	413	394,68	$\rho$ [imidazole] (f), $\sigma$ N10N13C9 (f), $\rho$ N14O15O16 (f), $\beta$ H21H22C7 (f), $\beta$ [cloropiridíneo] (f)
C2	IR	420	400,95	CCC out of plane bending-16a (F)
C2	RAM	421	402,13	CCC out of plane bending-16a (F)
C3	IR	465	436,86	CCC out of plane bending-16b (f), $\rho$ N14O15O16 (f), $\rho$ [imidazole] (f), $\sigma$ N10N13C9 (f)
C3	RAM	467	440,76	CCC out of plane bending-16b (f), $\rho$ N14O15O16 (f), $\rho$ [imidazole] (f), $\sigma$ N10N13C9 (f)
C4	IR	475	458,40	$\rho$ H21H22C7 (m), $\beta$ N8C7C12 (m), $\rho$ [imidazole] (m), $\sigma$ N13N14C9 (f), $\beta$ N14O15O16 (f)
C4	RAM	476	458,29	$\rho$ H21H22C7 (m), $\beta$ N8C7C12 (m), $\rho$ [imidazole] (m), $\sigma$ N13N14C9 (f), $\beta$ N14O15O16 (f)
C5	IR	493	499,60	CCC out of plane bending-16b (F)
C5	RAM	495	497,65	CCC out of plane bending-16b (F)
C6	IR	587	636,54	$\delta$ out H23N19 (F), $\sigma$ N8C11C12 (f), $\beta$ N10C9C11 (f), $\beta$ N8N10C9 (f), $\beta$ N8C9C12 (f)
C6	RAM	587	622,58	CCC in-plane bending-6b (F)
C7	IR	628	657,01	$\beta$ H21H22C7 (m), $\delta$ out H23N10 (F), $\rho$ H26H27C12 (f), $\rho$ H24H25C11 (f), $\sigma$ N8C1C7 (m), CCC out of plane bending-16b (m), $\beta$ [imidazole] (m), CCC in-plane bending-6a (m)
C7	RAM	633	658,01	$\beta$ H21H22C7 (m), $\delta$ out H23N10 (F), $\rho$ H26H27C12 (f), $\rho$ H24H25C11 (f), $\sigma$ N8C1C7 (m), CCC out of plane bending-16b (m), $\beta$ [imidazole] (m), CCC in-plane bending-6a (m)
C8	IR	653	657,15	$\beta$ H21H22C7 (F), $\sigma$ N8C1C7 (F), CCC out of plane bending-16b (m), CCC in-plane bending-6a (m), $\beta$ [imidazole] (f), $\beta$ N8N10C9 (f), $\beta$ H24H25C11 (f), $\beta$ H26H27C12 (f)
C8	RAM	661	659,06	$\delta$ out H23N10 (F), $\beta$ N8N10C9 (f), $\beta$ H21H22C7 (f)
C9	IR	689	685,95	$\tau$ H23N10N13C9 (F), $\tau$ H23N8N10C9 (F)
C9	RAM	690	686,34	$\tau$ H23N10N13C9 (F), $\tau$ H23N8N10C9 (F)
C10	IR	718	686,66	$\tau$ H23N10N13C9 (F), $\tau$ H23N8N10C9 (F)
C10	RAM	718	722,77	$\sigma$ N14O15O16 (F), $\sigma$ N10C9C11 (m), $\rho$ N10N13C9 (m)
C11	IR	727	730,33	$\delta$ out H23N10 (F), $\sigma$ N14O15O16 (m), $\sigma$ N13N14O16 (m), $\sigma$ N13N14O16 (m), $\sigma$ N8N13C9 (f), $\beta$ H26H27C12 (f), $\beta$ H24H25C11 (f)
C11	RAM	731	731,24	$\delta$ out H23N10 (F), $\sigma$ N14O15O16 (m), $\sigma$ N13N14O16 (m), $\sigma$ N13N14O16 (m), $\sigma$ N8N13C9 (f), $\beta$ H26H27C12 (f), $\beta$ H24H25C11 (f), CCC puckering-4 (m)
C12	IR	753	734,66	$\delta$ out H23N10 (F), CCC puckering-4 (m), $\beta$ H24H25C11 (f), $\beta$ H26H27C12 (f), $\sigma$ N10C9C11 (f), $\sigma$ N14O15O16 (f), $\sigma$ N10C11C12 (f)
C12	RAM	753	734,43	out H23N10 (F), CCC puckering-4 (m), $\beta$ H24H25C11 (f), $\beta$ H26H27C12 (f), $\sigma$ N10C9C11 (f), $\sigma$ N14O15O16 (f), $\sigma$ N10C11C12 (f)
C13	IR	774	744,83	$\phi$ N13N14O15O16 (F)
C13	RAM	774	744,19	$\phi$ N13N14O15O16 (F)
C14	IR	785	756,11	$\delta$ out H23N10 (F), $\beta$ H24H25C11 (m), $\beta$ H26H27C12 (m), $\sigma$ N13N14O16 (f), $\sigma$ N10N13C9 (f), $\beta$ H21H22C7 (f), CCC puckering-4 (m), $\sigma$ N8C1C7 (f), $\sigma$ N10C9C11 (m), $\sigma$ N10C11C12 (m)
C14	RAM	791	755,45	$\delta$ out H23N10 (F), $\beta$ H24H25C11 (m), $\beta$ H26H27C12 (m), $\sigma$ N13N14O16 (f), $\sigma$ N10N13C9 (f), $\beta$ H21H22C7 (f), CCC puckering-4 (m), $\sigma$ N8C1C7 (f), $\sigma$ N10C9C11 (m), $\sigma$ N10C11C12 (m)
C15	IR	812	806,86	CH out-of-pane-17b (F), CCC in plane bending-6a (f)
C15	RAM	816	806,84	CH out-of-pane-17b (F), CCC in plane bending-6a (f)
C16	IR	826	828,23	CH out-of-pane-17b (m), $\rho$ H24H25C11 (f), $\rho$ H26H27C12 (f), $\sigma$ N10N13C9 (f), $\rho$ H21H22C7 (f)
C16	RAM	830	829,94	CH out-of-pane-17b (m), $\rho$ H24H25C11 (f), $\rho$ H26H27C12 (f), $\sigma$ N10N13C9 (w), $\rho$ H21H22C7 (f)
C17	IR	837	839,40	CH out-of-pane-17b (m), $\rho$ H24H25C11 (f), $\rho$ H26H27C12 (f), $\sigma$ N10N13C9 (f)
C17	RAM	840	841,53	CH out-of-pane-17b (m), $\rho$ H24H25C11 (f), $\rho$ H26H27C12 (f), $\sigma$ N10N13C9 (f)
C18	IR	885	873,94	$\rho$ H24H25C11 (F), $\rho$ H26H27C12 (F), $\sigma$ N10C11C12 (F), $\delta$ out H23N10 (f)
C18	RAM	886	874,41	$\rho$ H24H25C11 (F), $\rho$ H26H27C12 (F), $\sigma$ N10C11C12 (F), $\delta$ out H23N10 (f)
C19	IR	905	902,40	$\rho$ H21H22C7 (F), $\delta$ out[C6H20;C3H19] (f), $\beta$ H26H27C12 (f), $\beta$ H24H25C11 (f), $\nu$ N13N14 (f)
C19	RAM	907	904,32	$\rho$ H21H22C7 (F), $\delta$ out[C6H20;C3H19] (f), $\beta$ H26H27C12 (f), $\beta$ H24H25C11 (f), $\nu$ N13N14 (f)
C20	IR	943	926,74	$\delta$ out C6H20 (F), $\nu$ C11C12 (f)
C20	RAM	945	925,57	$\delta$ out C6H20 (F), $\nu$ C11C12 (f)

Notas:  $\omega_E$ : frequência experimental;  $\omega_T$ : frequência teórica;  $\nu$ : estiramento;  $s$ : simétrico;  $a$ : antissimétrico;  $\beta$ : *bending*;  $\delta$ out: deformação for a do plano;  $\omega$ : balanço;  $\delta$ in: deformação no plano;  $\rho$ : oscilação;  $\tau$ : torção;  $\sigma$ : tesoura.

Tabela A2.16 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman, a partir dos modos teóricos (modo 21 ao 40), calculados para o cristal do imidacloprido.

M	IR/RAM	$\omega_E$	$\omega_T$	Atribuição
C21	IR	958	939,39	<b>vC11C12 (F)</b> , $\delta_{in}H23N10$ (F), vsN13N14O15O16 (f), $\beta H24H25C11$ (F), <b><math>\beta H26H27C12</math> (F)</b>
C21	RAM	960	940,38	<b>vC11C12 (F)</b> , $\delta_{in}H23N10$ (F), vsN13N14O15O16 (f), $\beta H24H25C11$ (F), <b><math>\beta H26H27C12</math> (F)</b>
C22	IR	979	956,56	$\rho H21H22C7$ (m), vsN14O15O16 (f), <b>vN13N14 (F)</b> , <i>CH out-of-plane-17a</i> (m), vs <b>N8N10C11C12 (m)</b> , $\beta N8N10C9$ (f), $\beta H24H25C11$ (f), $\omega H26H27C12$ (f)
C22	RAM	980	956,81	$\rho H21H22C7$ (m), vsN14O15O16 (f), <b>vN13N14 (F)</b> , <i>CH out-of-plane-17a</i> (m), vs <b>N8N10C11C12 (m)</b> , $\beta N8N10C9$ (f), $\beta H24H25C11$ (f), $\omega H26H27C12$ (f)
C23	IR	995	967,59	$\delta_{out}[C2H18;C3H19]$ (m)
C23	RAM	1001	957,48	$\rho H21H22C7$ (m), vsN14O15O16 (f), <b>vN13N14 (F)</b> , <i>CH out-of-plane-17a</i> (m), vs <b>N8N10C11C12 (m)</b> , $\beta N8N10C9$ (f), $\beta H24H25C11$ (f), $\omega H26H27C12$ (f)
C24	IR	1025	1006,31	<i>CCC trigonal bending-16</i> (F)
C24	RAM	1022	968,53	<i>CH out-of-plane-17a</i> (F)
C25	IR	1053	1033,84	<b>vaN10C11C12 (F)</b> , <b><math>\omega H24H25C11</math> (F)</b> , $\delta_{in}H23N10$ (F), $\beta H26H27C12$ (f), vN13N14 (f)
C25	RAM	1053	1031,48	<b>vaN10C11C12 (F)</b> , <b><math>\omega H24H25C11</math> (F)</b> , $\delta_{in}H23N10$ (F), $\beta H26H27C12$ (f), vN13N14 (f)
C26	IR	1097	1072,78	<i>Breathing-1</i> (F), $\delta_{in}H19C3$ (F)
C26	RAM	1096	1069,59	<i>Breathing-1</i> (F), $\delta_{in}H19C3$ (F)
C27	IR	1107	1073,85	<i>Breathing-1</i> (F), $\delta_{in}H19C3$ (F)
C27	RAM	1110	1077,99	<i>Breathing-1</i> (F), $\delta_{in}H19C3$ (F)
C28	IR	1137	1083,95	$\rho H24H25C11$ (F), $\rho H26H27C12$ (F)
C28	RAM	1140	1104,13	$\tau H21H22C7$ (F), $\delta_{in}H23N10$ (m), vsN14O15O16 (m), vs <b>N8N10N13C9 (m)</b> , $\beta H24H25C11$ (f), $\beta H26H27C12$ (f), <i>CH in-plane bending</i> [H18C2;H19C3] (f), <b>vaN8C9C12 (m)</b>
C29	IR	1148	1122,78	$\tau H21H22C7$ (f), <i>CH in-plane bending</i> [H18C2;H19C3] (F)
C29	RAM	1151	1124,05	$\tau H21H22C7$ (f), <i>CH in-plane bending</i> [H18C2;H19C3] (F)
C30	IR	1190	1164,94	$\tau H26H27C12$ (F), $\tau H21H22C7$ (f), <b>vN8C7 (m)</b> , $\beta H24H25C11$ (f), <b><math>\sigma N8N10C9</math> (F)</b>
C30	RAM	1190	1165,93	$\tau H26H27C12$ (F), $\tau H21H22C7$ (f), <b>vN8C7 (m)</b> , $\beta H24H25C11$ (f), <b><math>\sigma N8N10C9</math> (F)</b>
C31	IR	1203	1166,83	$\tau H26H27C12$ (m), <b>vaN8C7C12 (m)</b> , $\beta H24H25C11$ (f), $\tau H21H22C7$ (f), <b><math>\sigma N8N10C9</math> (m)</b>
C31	RAM	1203	1185,91	$\tau H24H25C11$ (F), $\beta H26H27C12$ (f), $\delta_{in}H23N10$ (f), <b>vaN13N14O16 (m)</b> , <b>vaN13N14C9 (m)</b> , vN10C11 (m)
C32	IR	1220	1185,71	<b><math>\tau H24H25C11</math> (F)</b> , $\beta H26H27C12$ (f), $\tau H21H22C7$ (f), <b>vN13N14 (F)</b>
C32	RAM	1220	1188,68	$\tau H26H27C12$ (F), $\tau H24H25C11$ (F), $\delta_{in}H23N10$ (F), $\tau H21H22C7$ (F), <b>vaN13N14O16 (m)</b> , vaN13N14C9 (m), vN10C11 (f), vs <b>N8C1C7 (F)</b> , vaN8C7C12 (m), $\sigma N8N10C9$ (f), <i>CH in-plane bending</i> (f)
C33	IR	1233	1190,13	$\tau H26H27C12$ (F), $\delta_{in}H23N10$ (F), $\delta_{in}H18C2$ (F), <b>vaN13N14C9 (m)</b> , <b>vC1C7 (m)</b> , $\delta_{in}[H19C3;H20C6]$ (m) vN8C12 (f), vN10C11 (f)
C33	RAM	1232	1192,56	$\tau H26H27C12$ (F), $\delta_{in}H23N10$ (F), $\delta_{in}H18C2$ (F), <b>vaN13N14C9 (m)</b> , <b>vC1C7 (m)</b> , $\delta_{in}[H19C3;H20C6]$ (m) vN8C12 (f), vN10C11 (f)
C34	IR	1243	1194,50	<b>vaN8C1C7 (F)</b> , vaN13N14O16 (f), $\beta H21H22C7$ (f), $\tau H24H25C11$ (f), $\beta H26H27C12$ (f), $\delta_{in}H23N10$ (f), <i>CH in-plane bending</i> (m), $\sigma N8N10C9$ (f)
C34	RAM	1245	1195,03	<b>vaN8C1C7 (F)</b> , vaN13N14O16 (f), $\beta H21H22C7$ (f), $\tau H24H25C11$ (f), $\beta H26H27C12$ (f), $\delta_{in}H23N10$ (f), <i>CH in-plane bending</i> (m), $\sigma N8N10C9$ (f)
C34†	IR	1263	1209,14	$\tau H26H27C12$ (F), <b>vaN13N14C9 (F)</b> , <b>vaN13N14O15O16 (m)</b> , $\delta_{in}H23N10$ (m), $\tau H24H25C11$ (f), $\tau H21H22C7$ (f)
C34†	RAM	1263	1206,22	$\tau H26H27C12$ (F), <b>vaN13N14C9 (F)</b> , vs <b>N13N14O15O16 (m)</b> , $\delta_{in}H23N10$ (f), $\beta H24H25C11$ (f), $\tau H21H22C7$ (m)
C35	IR	1279	1227,47	<b>vN8C7 (F)</b> , $\delta_{in}H23N10$ (F), <b>vaN13N14O15O16 (m)</b> , $\tau H24H25C11$ (f), $\tau H26H27C12$ (f), $\tau H21H22C7$ (f), $\sigma N8N10C9$ (m)
C35	RAM	1277	1228,14	<b>vN8C7 (F)</b> , $\delta_{in}H23N10$ (F), <b>vaN13N14O15O16 (m)</b> , $\tau H24H25C11$ (f), $\tau H26H27C12$ (f), $\tau H21H22C7$ (f), $\sigma N8N10C9$ (m)
C36	IR	1288	1236,85	$\tau H24H25C11$ (F), $\tau H26H27C12$ (F), <b>vaN13N14C9 (m)</b> , vs <b>N10N13C9 (m)</b> , vN8C7 (f), $\omega H21H22C7$ (f)
C36	RAM	1285	1236,61	$\tau H24H25C11$ (F), $\tau H26H27C12$ (F), <b>vaN13N14C9 (m)</b> , vs <b>N10N13C9 (m)</b> , vN8C7 (f), $\omega H21H22C7$ (f)
C37	IR	1295	1246,56	$\delta_{in}H23N10$ (F), <b><math>\tau H21H22C7</math> (F)</b> , <b>vaN8C7C12 (m)</b> , vN10C11 (m), $\omega H24H25C11$ (f), <i>CC stretching (kekulé)-14</i> (f), vsN13N14C9 (f), vaN13N14O15O16 (f)
C37	RAM	1294	1243,33	<b><math>\tau H26H27C12</math> (F)</b> , $\beta H24H25C11$ (F), $\delta_{in}H23N10$ (m), $\tau H21H22C7$ (f), vaN10C9C11 (m), <b>vaN13N14C9 (m)</b>
C37+	IR	1300	1263,27	$\delta_{in}H23N10$ (F), <b><math>\tau H21H22C7</math> (m)</b> , <i>CC stretching (kekulé)-14</i> (f), vN14O15 (f), vN8C12 (f), $\beta H26H27C12$ (m), $\rho N8N10C9$ (f)
C37†	RAM	1304	1265,10	$\delta_{in}H23N10$ (F), <b><math>\tau H21H22C7</math> (m)</b> , <i>CC stretching (kekulé)-14</i> (f), vN14O15 (f), vN8C12 (f), $\beta H26H27C12$ (m), $\rho N8N10C9$ (f)
C38	IR	1322	1269,80	$\delta_{in}H23N10$ (F), <b>vaN13N14O15 (m)</b> , <i>CC stretching (kekulé)-14</i> (f), $\beta H21H22C7$ (f), $\beta H26H27C12$ (f), vaN8C7C9C11 (f), $\rho N8N10C9$ (f)
C38	RAM	1320	1282,56	$\delta_{in}H23N10$ (f), <i>CC stretching (kekulé)-14</i> (f), $\beta H21H22C7$ (f), <b><math>\omega H26H27C12</math> (F)</b> , $\omega H24H25C11$ (F), vaN8C7C9C11 (f)
C39	IR	1342	1293,22	<b><math>\tau H21H22C7</math> (F)</b> , $\omega H26H27C12$ (m), <b>vN8C12 (m)</b> , <i>CH in-plane trigonal bending-15</i> (f), vN10C11 (f), $\omega H24H25C11$ (f), $\delta_{in}H23N10$ (f)
C39	RAM	1339	1296,46	<b><math>\tau H21H22C7</math> (F)</b> , $\omega H26H27C12$ (m), <b>vN8C12 (m)</b> , <i>CH in-plane trigonal bending-15</i> (f), vN10C11 (f), $\omega H24H25C11$ (f), $\delta_{in}H23N10$ (f)
C40	IR	1366	1332,76	<b><math>\omega H21H22C7</math> (F)</b> , $\omega H24H25C11$ (f), $\omega H26H27C12$ (f), <b>vC11C12 (m)</b>
C40	RAM	1373	1330,98	<b><math>\omega H21H22C7</math> (F)</b> , $\omega H24H25C11$ (f), $\omega H26H27C12$ (f), <b>vC11C12 (m)</b>

Notas:  $\omega_E$ : frequência experimental;  $\omega_T$ : frequência teórica; v: estiramento; s: simétrico; a: antissimétrico;  $\delta_{in}$ : deformação no plano;  $\beta$ : bending;  $\rho$ : oscilação;  $\beta$ : translação;  $\omega$ : balanço;  $\delta_{out}$ : deformação fora do plano;  $\tau$ : torção;  $\sigma$ : tesoura.

Tabela A2.17 - Atribuição das bandas experimentais de infravermelho e Raman, a partir dos modos teóricos (modo 41 ao 60), calculados para o cristal do imidacloprido.

M	IR/RAM	$\omega_E$	$\omega_T$	Atribuição
C41	IR	1392	1345,22	<b>vC11C12 (F)</b> , $\omega$ H24H25C11 (F), $\omega$ H26H27C12 (F), $\omega$ H21H22C7 (m), <b>vN13C9 (F)</b> , $\delta$ inH23N10 (f)
C41	RAM	1393	1370,53	$\beta$ H21H22C7 (F), <b>vaN14O15O16 (F)</b> , $\nu$ N8C7C9 (m), $\omega$ H26H27C12 (f), <b>CC stretching-19a (F)</b> , <b>CH in-plane bending-18a (F)</b>
C42	IR	1420	1373,01	<b><math>\sigma</math>H22C1C7 (F)</b> , <b>CH in-plane bending-18a (F)</b> , <b>CC stretching-19a (f)</b>
C42	RAM	1418	1384,31	<b>vaN14O15O16 (F)</b> , $\delta$ inH23N10 (f), $\tau$ H21H22C7 (m), $\sigma$ H26H27C12 (f), <b>vaN8C9 (f)</b> , <b>CH in-plane bending-18a (f)</b> , <b>CC stretching-19a (f)</b>
C43	IR	1447	1388,13	<b>vaN14O15O16 (F)</b> , $\delta$ inH23N10 (m), $\tau$ H21H22C7 (m), $\sigma$ H26H27C12 (f), <b>vaN8N13C9 (m)</b> , <b>CH in-plane bending-18a (f)</b> , <b>CC stretching-19a (f)</b>
C43	RAM	1447	1421,61	<b><math>\sigma</math>H21H22C7 (F)</b> , <b>CC stretching-19a (f)</b> , <b>CH in-plane bending-18a (f)</b>
C44	IR	1456	1395,73	<b>vaN14O15O16 (F)</b> , $\tau$ H21H22C7 (m), $\delta$ inH23N10 (m), $\omega$ H24H25C11 (f), $\omega$ H26H27C12 (f), <b>vaN8N10N13C9 (f)</b>
C44	RAM	1456	1433,68	<b><math>\sigma</math>H21H22C7 (F)</b> , <b>CC stretching-19a (f)</b> , <b>CH in-plane bending-18a (F)</b>
C45	IR	1470	1434,37	<b><math>\sigma</math>H21H22C7 (F)</b> , <b>CC stretching-19a (f)</b> , <b>CH in-plane bending-18a (F)</b>
C45	RAM	1470	1456,97	<b><math>\sigma</math>H24H25C11 (F)</b> , <b><math>\sigma</math>H26H27C12 (F)</b> , $\sigma$ H21H22C7 (f), $\nu$ N8C9 (f)
C46	IR	1491	1464,74	<b><math>\sigma</math>H24H25C11 (F)</b> , <b><math>\sigma</math>H26H27C12 (F)</b> , $\nu$ N10N13C9 (f)
C46	RAM	1484	1468,04	<b><math>\sigma</math>H24H25C11 (F)</b> , $\sigma$ H26H27C12 (F), <b>vaN10N13C9 (F)</b> , $\nu$ C11C12 (F), $\nu$ N14O15 (F)
C47	IR	1551	1515,86	<b><math>\sigma</math>H26H27C12 (F)</b> , <b><math>\nu</math>N8C9 (F)</b> , $\delta$ inH23N10 (m), $\sigma$ H22N8C7 (m), $\omega$ H24H25C11 (f)
C47	RAM	1552	1516,69	<b><math>\sigma</math>H26H27C12 (F)</b> , <b>vaN8N13C9 (F)</b> , $\delta$ inH23N10 (m), $\sigma$ H21H22C7 (f), $\sigma$ H24H25C11 (f)
C48	IR	1570	1532,31	<b><math>\sigma</math>H24H25C11 (F)</b> , <b>vaN10N13C9 (F)</b> , $\delta$ inH23N10 (F)
C48	RAM	1568	1548,79	<b><math>\sigma</math>H24H25C11 (F)</b> , <b>vaN10N13C9 (F)</b> , $\delta$ inH23N10 (F)
C49	IR	1585	1538,33	<b><math>\sigma</math>H24H25C11 (F)</b> , <b>vaN10N13C9 (F)</b> , $\delta$ inH23N10 (F)
C49	RAM	1585	1564,40	<b>CH in-plane bending-9a (F)</b>
C50	IR	1618	1544,55	<b>CH in-plane bending-9b (F)</b> , $\tau$ H21H22C7 (f)
C50	RAM	-	-	-
C51	IR	2853	2952,00	$\nu$ sH21H22C7 (F)
C51	RAM	2845	2952,00	$\nu$ sH21H22C7 (F)
C52	IR	2873	2952,05	$\nu$ sH21H22C7 (F)
C52	RAM	2870	2952,07	$\nu$ sH21H22C7 (F)
C53	IR	2896	2957,64	$\nu$ sH26H27C12 (F)
C53	RAM	2899	2957,66	$\nu$ sH26H27C12 (F)
C54	IR	2928	2966,12	$\nu$ sH24H25C11 (F), $\nu$ sH26H27C12 (f)
C54	RAM	2931	2966,65	$\nu$ sH24H25C11 (F), $\nu$ sH26H27C12 (f)
C55	IR	2944	3014,69	$\nu$ aH26H27C12 (F), $\nu$ H24C11 (f), $\nu$ H22C7 (f)
C55	RAM	2956	3014,83	$\nu$ aH26H27C12 (F), $\nu$ H24C11 (f), $\nu$ H22C7 (f)
C56	IR	2969	3019,32	$\nu$ aH21H22C7 (F)
C56	RAM	2970	3019,39	$\nu$ aH21H22C7 (F)
C57	IR	2987	3033,58	$\nu$ aH24H25C11 (F), $\nu$ aH26H27C12 (f)
C57	RAM	2989	3034,68	$\nu$ aH24H25C11 (F), $\nu$ aH26H27C12 (f)
C58	IR	3047	3075,46	$\nu$ H20C6 (F)
C58	RAM	3058	3075,49	$\nu$ H20C6 (F)
C59	IR	3079	3121,46	$\nu$ H19C3 (F)
C59	RAM	3093	3122,22	$\nu$ H19C3 (F)
C60	IR	3374	3387,19	$\nu$ H23N10 (F)
C60	RAM	-	3382,02	$\nu$ H23N10 (F)

Notas:  $\omega_E$ : frequência experimental;  $\omega_T$ : frequência teórica;  $\nu$ : estiramento;  $s$ : simétrico;  $a$ : antissimétrico;  $\omega$ : balanço;  $\delta$ in: deformação no plano;  $\beta$ : *bending*;  $\sigma$ : tesoura;  $\tau$ : torção.

### A3 Espectros vibracionais

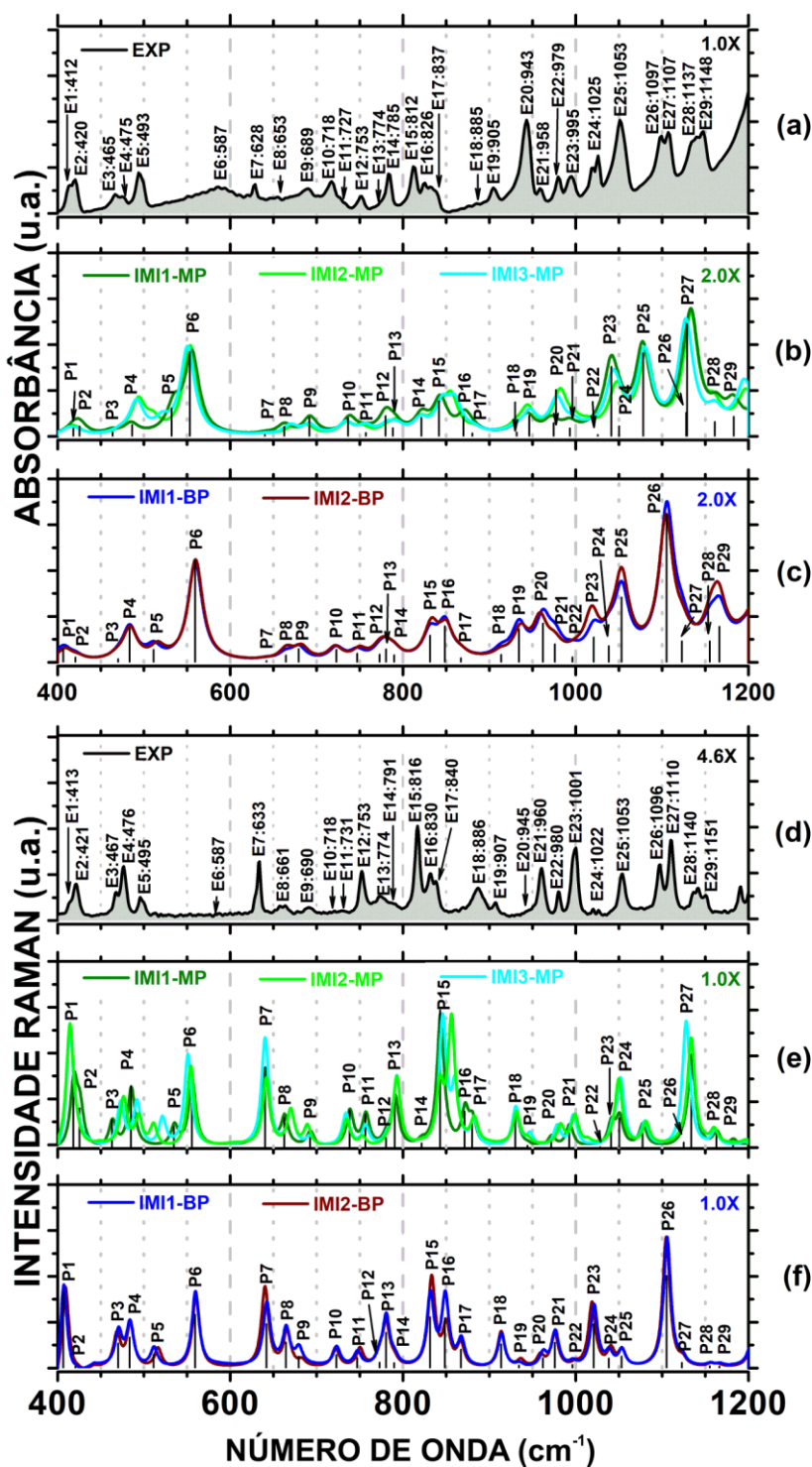
Os espectros de infravermelho e Raman, experimentais e teóricos, são mostrados nas Figuras de A3.1 a A3.6, para facilitar a comparação dos modos de vibração.

As Figuras de A3.1 a A3.3 mostram os espectros de infravermelho e Raman experimentais medidos para o imidacloprido em pó e espectros de infravermelho e Raman teóricos que foram calculados para os confôrmeros da **molécula isolada do imidacloprido**. Em A3.1 tem-se os espectros na faixa de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ , em A3.2 a faixa é de 1200-2000  $\text{cm}^{-1}$ , e em A3.3, 2800-3600  $\text{cm}^{-1}$ . Os espectros teóricos foram obtidos com os funcionais M06-2X e B3LYP, ambos no modelo de solvatação PCM e vácuo. Contudo, os resultados do modelo vácuo não são mostrados, isso porque o modelo PCM proporcionou melhores resultados. Nas Figuras de A3.1 a A3.3, utilizou-se as letras (a), (b), (c), (d), (e) e (f) para identificar o espectro experimental e os espectros obtidos a partir dos modelos teóricos:

- (a) Espectro de infravermelho experimental;
- (b) Espectros de infravermelho teóricos obtidos para os confôrmeros calculados com o funcional M06-2X no modelo de solvatação PCM: IMI1-MP, IMI2-MP and IMI3-MP;
- (c) Espectros de infravermelho teóricos obtidos para os confôrmeros calculados com o funcional B3LYP no modelo de solvatação PCM: IMI1-BP, IMI2-BP;
- (d) Espectro Raman experimental;
- (e) Espectros Raman teóricos obtidos para os confôrmeros calculados com o funcional M06-2X no modelo de solvatação PCM: IMI1-MP, IMI2-MP and IMI3-MP;
- (f) Espectros Raman teóricos obtidos para os confôrmeros calculados com o funcional B3LYP no modelo de solvatação PCM: IMI1-BP, IMI2-BP.

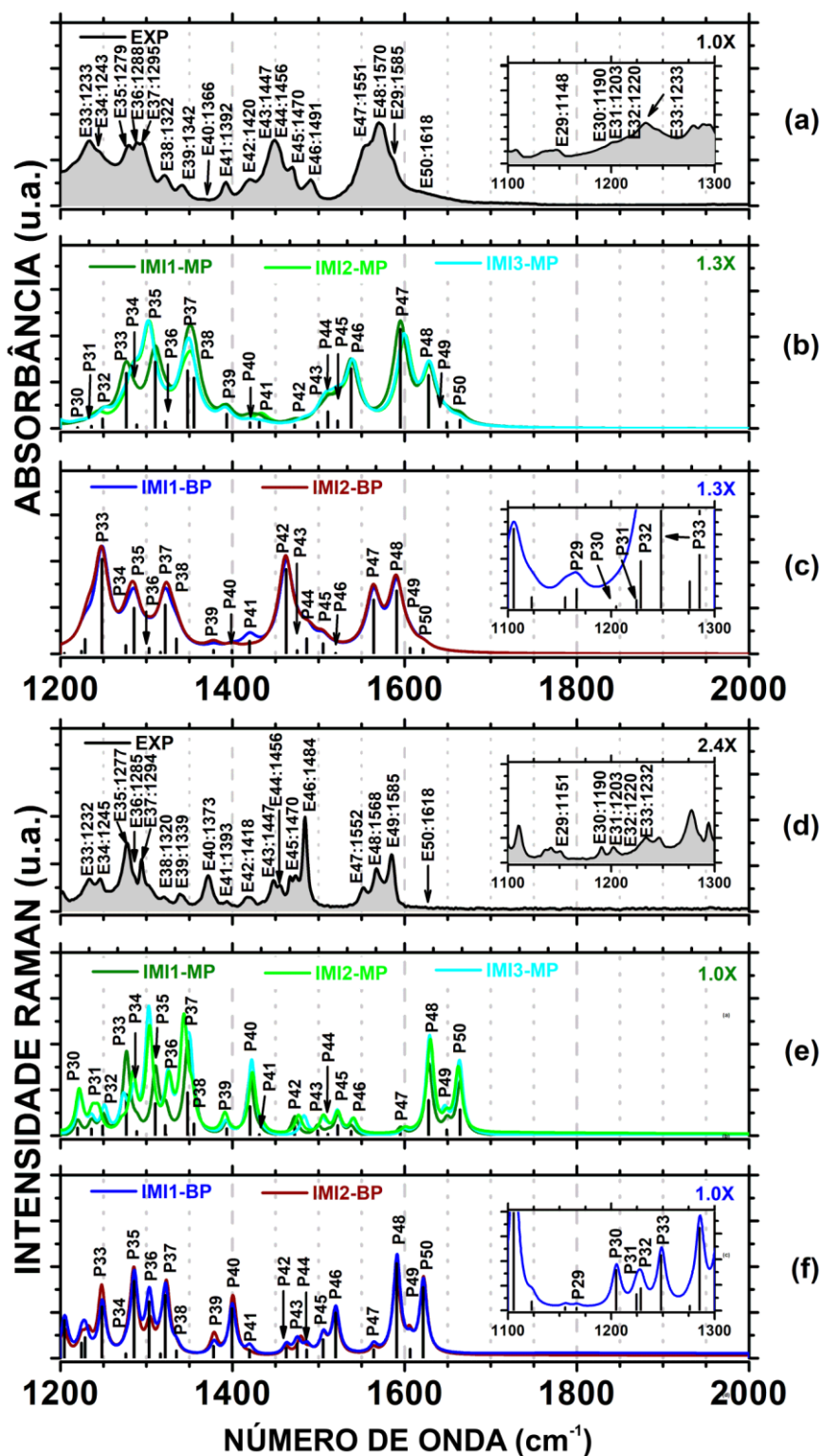
As Figuras de A3.4 a A3.6 mostram os espectros de infravermelho e Raman experimental medidos para o imidacloprido em pó e os espectros de infravermelho e Raman teóricos calculados para o **crystal do imidacloprido**. Em A3.4 tem-se os espectros na faixa de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ , em A3.5 a faixa é de 1200-2000  $\text{cm}^{-1}$ , e em A3.6, 2800-3600  $\text{cm}^{-1}$ .

Figura A3.1 - Espectros de infravermelho e Raman na faixa de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ : infravermelho experimental (a) e teóricos (b) e (c). Raman experimental (d), e teórico (e) e (f).



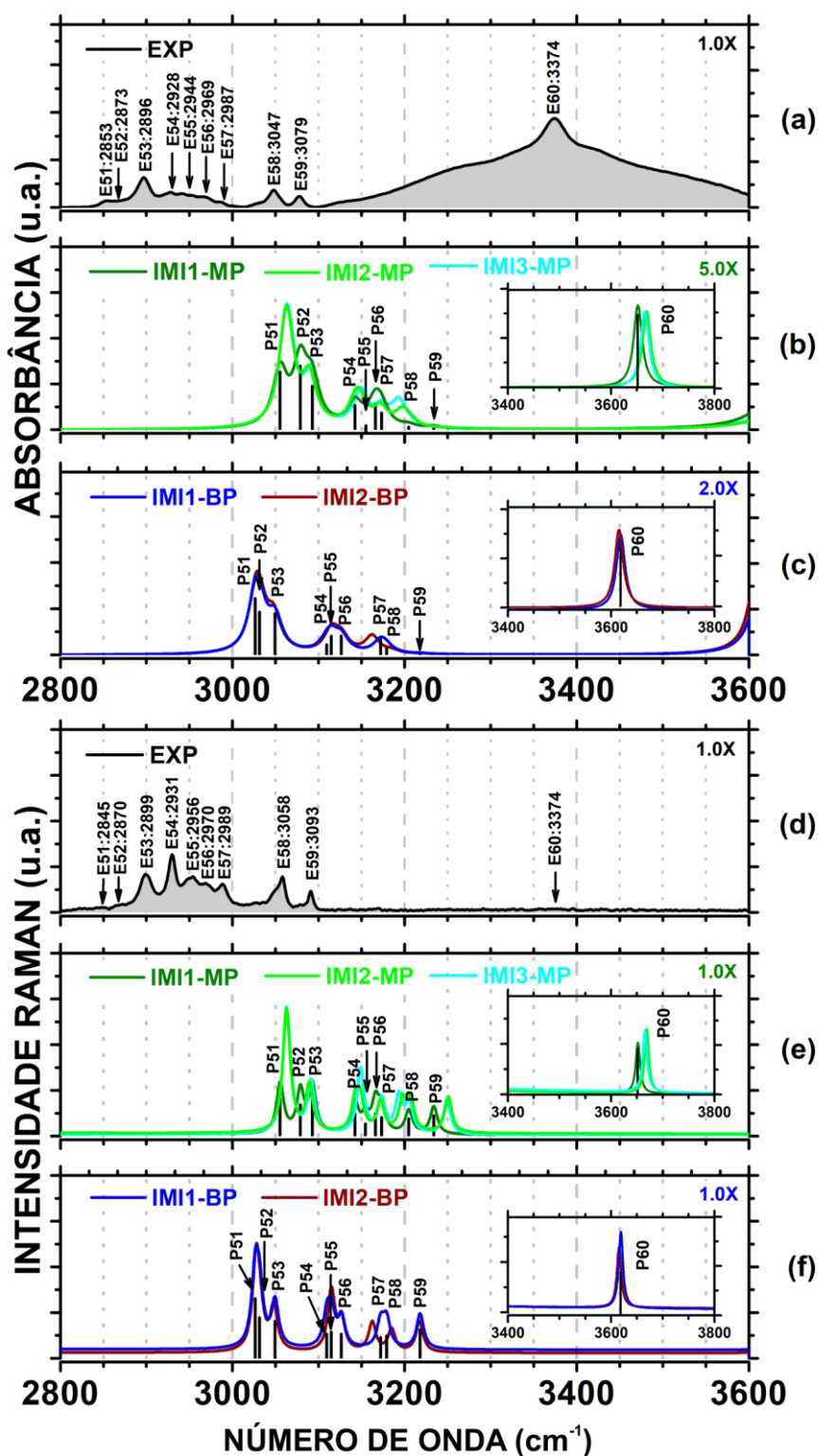
Notas: EXP: experimental; IMI1-MP, IMI2-MP e IMI3-MP: conformeros 1, 2 e 3 obtidos com o funcional M06-2X no modelo de solvatação PCM; IMI1-BP e IMI2-BP: conformeros 1 e 2 obtidos com o funcional B3LYP no modelo de solvatação PCM.

Figura A3.2 - Espectros de infravermelho e Raman na faixa de 1200-2000  $\text{cm}^{-1}$ : infravermelho experimental (a) e teóricos (b) e (c). Raman experimental (d), e teóricos (e) e (f).



Notas: EXP: experimental; IMI1-MP, IMI2-MP e IMI3-MP: conformeros 1, 2 e 3 obtidos com o funcional M06-2X no modelo de solvatação PCM; IMI1-BP e IMI2-BP: conformeros 1 e 2 obtidos com o funcional B3LYP no modelo de solvatação PCM.

Figura A3.3 - Espectros de infravermelho e Raman na faixa de  $2800\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ : infravermelho experimental (a) e teóricos (b) e (c). Raman experimental (d), e teóricos (e) e (f).



Notas: EXP: experimental; IMI1-MP, IMI2-MP e IMI3-MP: conformeros 1, 2 e 3 obtidos com o funcional M06-2X no modelo de solvatação PCM; IMI1-BP e IMI2-BP: conformeros 1 e 2 obtidos com o funcional B3LYP no modelo de solvatação PCM.



Figura A3.4 - Espectros de infravermelho e Raman, na faixa de 400-1200  $\text{cm}^{-1}$ : Na sequência, de cima para baixo: espectro de infravermelho experimental do imidacloprido em pó (IR: E); espectro de infravermelho teórico calculado para o cristal do imidacloprido, modelo de solvatação COSMO (IR: C); espectro Raman experimental do imidacloprido em pó (RAM: E); espectro Raman teórico calculado para o cristal do imidacloprido, modelo de solvatação COSMO (RAM: C).

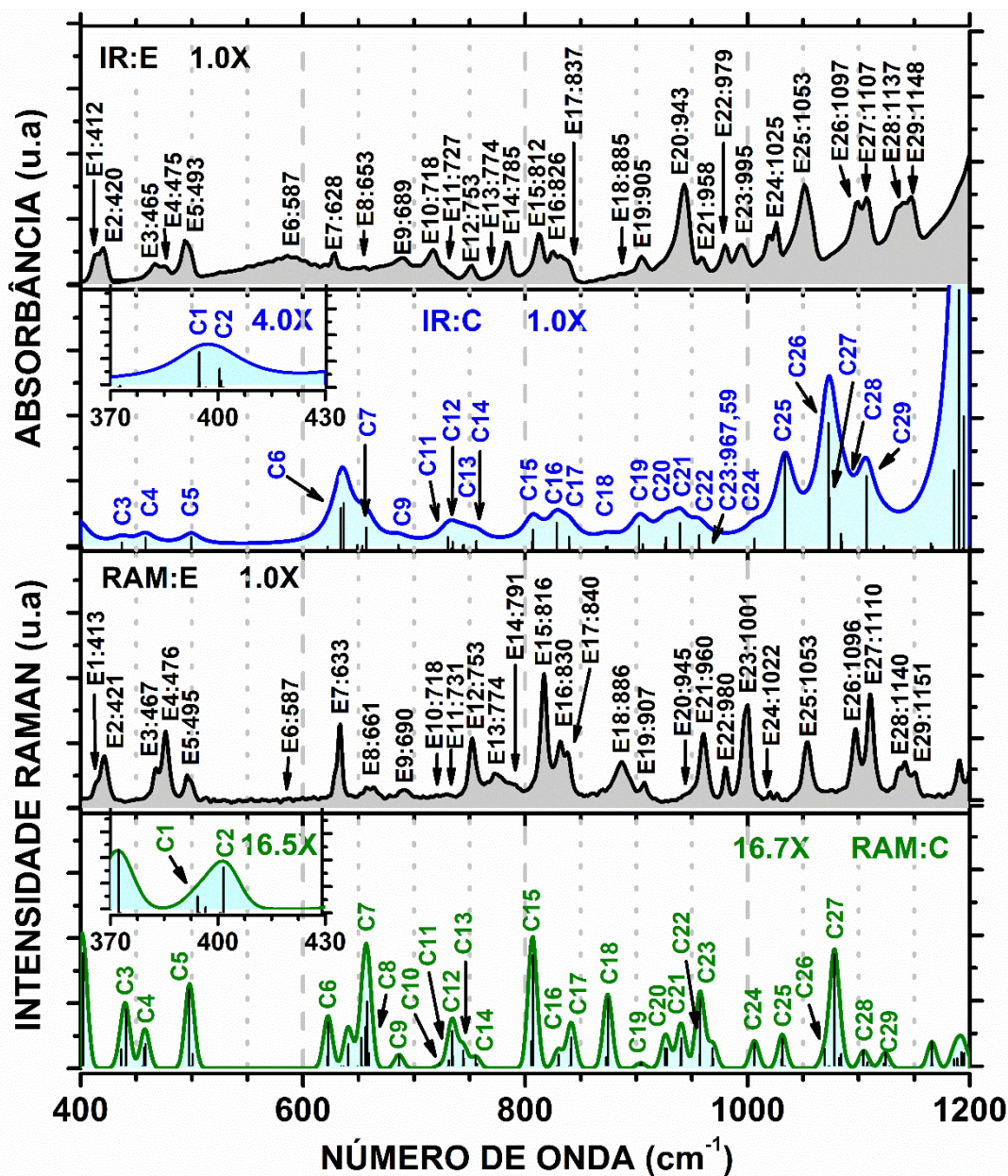


Figura A3.5 - Espectros de infravermelho e Raman, na faixa de 1200-2000  $\text{cm}^{-1}$ : Na sequência, de cima para baixo: espectro de infravermelho experimental do imidacloprido em pó (IR: E); espectro de infravermelho teórico calculado para o cristal do imidacloprido, modelo de solvatação COSMO (IR: C); espectro Raman experimental do imidacloprido em pó (RAM: E); espectro Raman teórico calculado para o cristal do imidacloprido, modelo de solvatação COSMO (RAM: C).

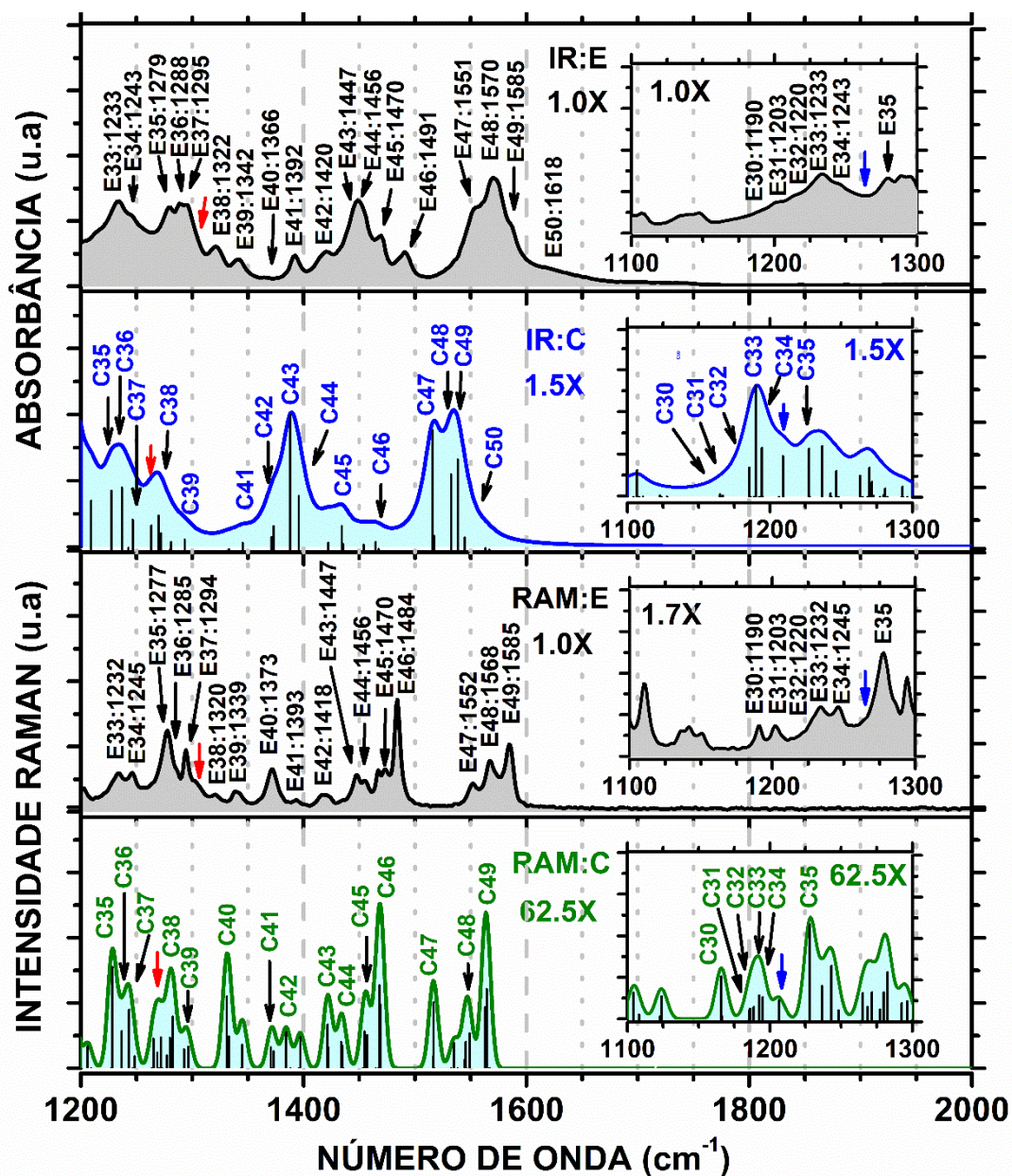
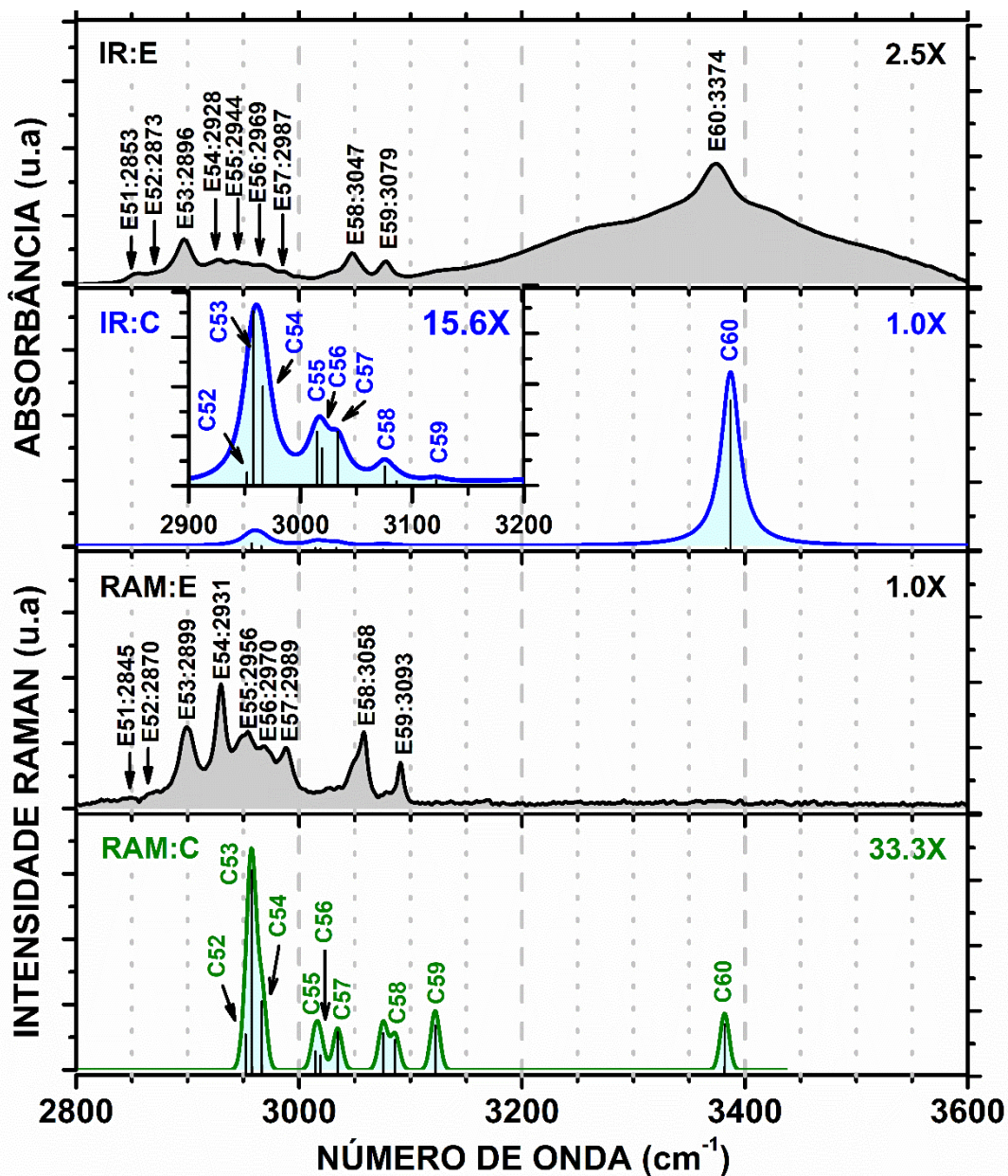


Figura A3.6 - Espectros de infravermelho e Raman, na faixa de 2800-3600  $\text{cm}^{-1}$ : Na sequência, de cima para baixo: espectro de infravermelho experimental do imidacloprido em pó (IR: E); espectro de infravermelho teórico calculado para o cristal do imidacloprido, modelo de solvatação COSMO (IR: C); espectro Raman experimental do imidacloprido em pó (RAM: E); espectro Raman teórico calculado para o cristal do imidacloprido, modelo de solvatação COSMO (RAM: C).



## APÊNDICE B

### B1 Fundamentos da teoria do funcional da densidade

A Teoria do Funcional da Densidade (DFT) é um método amplamente utilizado para cálculo de estrutura eletrônica de sólidos e moléculas. De fato, muitos problemas que eram tratados com métodos *ab initio* Hartree-Fock e pós-Hartree-Fock são, atualmente, resolvidos por DFT. A teoria DFT pode ser aplicada a sistemas moderados e grandes (sistemas com mais de vinte átomos), e mesmo assim, obter-se resultados precisos com menor custo computacional comparado a outros métodos correlacionados tradicionais (teoria da perturbação e *Coupled cluster*). O desenvolvimento de algoritmos eficientes de integração numérica e de funcionais de troca e correlação impulsionam o desenvolvimento da teoria e possibilitam a aplicação da DFT em diferentes sistemas. Além disso, a implementação em pacotes computacionais comerciais e livres possibilitaram sua popularização.<sup>233</sup>

A energia de um sistema eletrônico, de acordo com a DFT, é definida em termos da densidade de probabilidade eletrônica ( $\rho$ ). Se um sistema é constituído de  $n$  elétrons,  $\rho(r)$  é a densidade eletrônica total em um ponto  $r$  do espaço e a energia  $E$  é um funcional da densidade eletrônica  $E[\rho]$ .<sup>234</sup>

A vantagem no uso da teoria DFT com relação aos métodos baseados na função de onda é o reduzido custo computacional.<sup>234,235</sup> Por exemplo, para um sistema de  $n$  elétrons, a função de onda de cada elétron depende de três coordenadas espaciais e mais uma quarta devido ao *spin* (caso seja considerado), logo  $4n$  coordenadas. Por sua vez, a densidade eletrônica depende das três coordenadas, independentemente do número de elétrons do sistema. Logo, em sistemas que usam a função de onda, a complexidade do sistema aumenta com o número de elétrons, enquanto a densidade eletrônica mantém o mesmo número de variáveis.<sup>234</sup>

Vale ressaltar que a DFT possibilitou descrever, com base no seu formalismo, importantes conceitos químicos que eram explorados empiricamente, por exemplo, o potencial químico, macies e dureza de Pearson, eletronegatividade, e outros.<sup>233,236</sup>

#### B1.1 Breve histórico

O uso da densidade eletrônica  $\rho(r)$  para descrever um sistema eletrônico teve início no trabalho de Drude (1900), que aplicou a teoria cinética dos gases a um metal considerando-o

como um gás homogêneo de elétrons. O propósito de Drude foi desenvolver uma teoria para condução térmica e elétrica.<sup>236,237</sup> A partir de então, vários métodos foram desenvolvidos (Sommerfeld, Thomas, Fermi, Dirac).<sup>233,236</sup>

Sousa, Fernandes e Ramos (2007) afirmam,<sup>234</sup> em seu trabalho, que o conceito de funcional da densidade surgiu no final de 1927, embora implícito, nos trabalhos de Fermi,<sup>238</sup> e Thomas.<sup>239</sup> Esses autores introduziram a ideia de expressar a energia do sistema eletrônico como uma função da densidade eletrônica total.<sup>234</sup> Ainda quanto ao modelo de Thomas-Fermi, Duarte e Rocha (2007) afirmam que os autores utilizaram argumentos estatísticos para aproximar a distribuição de um gás de elétrons e desenvolver o funcional da energia.<sup>233</sup> Posteriormente, o modelo de Thomas-Fermi foi modificado com a inclusão da energia de troca para um gás de elétrons, por Dirac, em 1930 (modelo Thomas-Fermi-Dirac).<sup>240</sup> Em 1951,<sup>241</sup> Slater aplicou ao modelo de Thomas-Fermi a mesma ideia utilizada no desenvolvimento do método Slater-Hartree-Fock. Esse método foi considerado como uma aproximação do método Hartree-Fock, mas atualmente é considerado o antecessor da DFT.<sup>234</sup>

Sousa, Fernandes e Ramos (2007) afirmam que os métodos de Fermi, Thomas e Slater-Hartree-Fock possibilitaram relacionar a energia e outras propriedades do sistema a densidade eletrônica, mas com muitas limitações.<sup>242</sup> Somente em 1964 é que Hohenberg e Kohn,<sup>242</sup> demonstraram que a energia do estado fundamental de um sistema eletrônico não degenerado e a correspondente propriedade eletrônica são definidas unicamente pela densidade eletrônica, ou seja, Hohenberg e Kohn mostraram que a densidade eletrônica determina o potencial externo dos elétrons e o número de elétrons, que por sua vez determinam o hamiltoniano e conseqüentemente a energia.<sup>233,234</sup> Os conceitos da teoria desenvolvida por Hohenberg e Kohn foram formulados para estados não degenerados do gás de elétrons não-homogêneo.<sup>235</sup>

Embora o teorema de Hohenberg-Kohn tenha confirmado a existência de um funcional que relacione a energia com a densidade eletrônica de um sistema, a forma precisa do funcional permaneceu desconhecida. Até os dias atuais, muitos funcionais foram desenvolvidos com esse propósito.<sup>234</sup>

Kohn (1965),<sup>243</sup> e Sham (1966),<sup>244</sup> aperfeiçoaram o modelo de Hohenberg-Kohn com o desenvolvimento de equações auto consistentes e a inclusão dos efeitos de troca e correlação.<sup>235</sup>

### ***B1.2 O formalismo Kohn-Sham***

Um grande problema no início da DFT foi encontrar um funcional que representasse a energia cinética do sistema. Kohn e Sham estabeleceram uma maneira de contornar essa

dificuldade, dividindo o funcional da energia cinética em duas partes. Uma parte pode ser calculada exatamente, considerando que o sistema é formado por elétrons que não interagem e a outra parte é uma pequena correção que leva em conta a interação entre os elétrons.<sup>243</sup> Dentro deste princípio, a energia eletrônica do estado fundamental de um sistema formado por  $n$  elétrons e  $N$  núcleos pode ser expressa pela equação B1.

$$E[r] = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \int \Psi_i^*(r_1) \nabla_i^2 \Psi_i(r_1) dr_1 - \sum_{X=1}^N \int \frac{Z_X}{r_{Xi}} \rho(r_1) dr_1 + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2 + E^{XC}[\rho] \quad \text{Eq. B1}$$

Na equação B1,  $\Psi_i$  ( $i=1,2,\dots,n$ ) são os orbitais de Kohn-Sham. O primeiro termo representa a energia cinética dos elétrons, considerando que não haja interação entre eles. O segundo termo está relacionado à interação núcleo-elétron. O terceiro termo corresponde à repulsão coulombiana entre a distribuição de carga total em  $r_1$  e  $r_2$ . O último termo é o funcional de troca e correlação, que representa a correção da energia cinética devido à interação entre os elétrons - desconsiderada no primeiro termo - e correções não clássicas da energia de repulsão elétron-elétron. O funcional de troca e correlação é o grande desafio da teoria DFT para descrever adequadamente os sistemas.<sup>234</sup>

A densidade eletrônica do estado fundamental  $\rho(r)$ , em uma posição  $r$ , é expressa como um conjunto de orbitais de um elétron ou orbitais Kohn-Sham (Equação B2). Esses orbitais (orbitais Kohn-Sham) podem ser determinados resolvendo a equação de Kohn-Sham (Equação B3) pela aplicação do princípio variacional à energia eletrônica  $E[\rho]$ , com densidade dada pela equação B2.<sup>234</sup> A importância dos orbitais Kohn-Sham é que eles permitem que a densidade eletrônica possa ser calculada a partir da Equação B2.<sup>234</sup>

$$\rho(r) = \sum_{i=1}^n |\Psi_i(r)|^2 \quad \text{Equação B2}$$

$$\hat{h}_i \Psi_i(r_1) = \varepsilon_i \Psi_i(r_1) \quad \text{Equação B3}$$

Na equação de Kohn-Sham (Equação B3),  $\hat{h}_i$  representa o hamiltoniano e  $\varepsilon_i$  é a energia associada ao orbital Kohn-Sham. O hamiltoniano Kohn-Sham ( $\hat{h}_i$ ) pode ser expresso como na equação B4, em que  $V^{XC}$  é o funcional derivado da energia de troca e correlação ( $E^{XC}$  na Equação B1), dado pela equação B5. Se  $E^{XC}$  for conhecido,  $V^{XC}$  pode ser obtido rapidamente.<sup>234</sup>

A energia de troca e correlação geralmente é dividida em dois termos: (1) a energia de troca devido à interação de elétrons de mesmo *spin*; (2) a energia de correlação, associada à interação de elétrons de *spins* opostos (Equação B6). Logo, cada termo de energia gera o respectivo

termo do funcional de troca e correlação da densidade eletrônica, de acordo com a equação B5. Os funcionais de troca e correlação são a maior causa de imprecisão em cálculos DFT.<sup>234</sup>

$$\hat{h}_i = -\frac{1}{2}\nabla_1^2 - \sum_{X=1}^N \frac{Z_X}{r_{Xi}} + \int \frac{\rho(r_2)}{r_{12}} dr_2 + V^{XC}(r_1) \quad \text{Equação B4}$$

$$V^{XC}[\rho] = \frac{\delta E^{XC}[\rho]}{\delta r} \quad \text{Equação B5}$$

$$E^{XC}[\rho] = E^X[\rho] + E^C[\rho] \quad \text{Equação B6}$$

Na resolução da equação de Kohn-Sham (Equação B3), supõe-se uma densidade eletrônica inicial  $\rho$ , por exemplo, a densidade obtida pela superposição das densidades dos átomos que constituem o sistema considerado. Em seguida, um funcional aproximado  $V^{XC}$  - o qual descreve a dependência da energia de troca e correlação com a densidade eletrônica - é adotado e mantido fixo nesse cálculo inicial (primeira tentativa). A equação de Kohn-Sham é então resolvida e um conjunto de orbitais Kohn-Sham são obtidos e utilizados para calcular uma densidade mais precisa utilizando a equação B2. Essa nova densidade eletrônica é colocada na equação de Kohn-Sham (segunda tentativa), repetindo-se todo o procedimento descrito anteriormente, o que gera uma nova densidade. Novamente, o procedimento é repetido, até que a densidade eletrônica e a energia de troca e correlação satisfaçam o critério de convergência estabelecido. A convergência é atingida quando a diferença do valor obtido do parâmetro considerado (densidade e energia de troca e correlação) nas duas últimas etapas atinja o limite estabelecido. Por último, a energia eletrônica pode ser calculada, seguindo a equação B1.<sup>234</sup>

### B1.2.1 Funcionais de troca e correlação

Cada um dos funcionais, isto é, o funcional de troca ( $V^X$ ) e o funcional de correlação ( $V^E$ ), podem ser construídos considerando a densidade eletrônica apenas localmente  $\rho(r)$ , no ponto  $r$  (aproximação da densidade local), ou pode também ser incluído o gradiente de densidade  $\Delta\rho$  (Aproximação do gradiente generalizado).

#### (a) Aproximação da Densidade Local - LDA

O funcional de troca e correlação com a aproximação da densidade local (*Local Density Aproximation*) considera que a energia de troca e correlação em um determinado ponto

do espaço é função apenas da densidade no ponto considerado, o que remete ao modelo do gás homogêneo de elétrons.

Segundo Sousa, Fernandes e Ramos (2007),<sup>234</sup> Dirac propôs pela primeira vez, em 1930,<sup>240</sup> a energia de troca ( $E^X$ ) gerada a partir da densidade local (Equação B7), aplicando-a no modelo de Thomas-Fermi.<sup>238,239</sup> Uma expressão mais abrangente do funcional no modelo LDA foi posteriormente desenvolvida por Slater, pela inclusão da dependência do funcional com o *spin* (Equação B8). Esse método é conhecido como aproximação da densidade de *spin* local (*Local Spin Density Approximation - LSDA*).

$$E_{LDA}^{X,Dirac}[\rho] = -C_X \int \rho^{4/3}(r) dr; \quad \text{em que } C_X = -\frac{3}{4} \cdot \left(\frac{3}{\pi}\right)^{1/3} \quad \text{Equação B7}$$

$$E_{LDA}^X[\rho] = -2^{1/3} C_X \int (\rho_\alpha^{4/3} + \rho_\beta^{4/3})(r) dr \quad \text{Equação B8}$$

Na equação B8, os símbolos  $\alpha$  e  $\beta$  indicam o movimento do *spin* do elétron - gerador da densidade  $\rho$  - para cima e para baixo, respectivamente. Em sistemas de camada fechada, os elétrons  $\alpha$  e  $\beta$  são iguais, por isso, o funcional LSDA torna-se idêntico ao funcional LDA.<sup>234</sup>

Por sua vez, a energia de correlação ( $E^C$ ) é difícil de ser obtida por um método isolado, sendo normalmente obtida junto a energia de troca. Para isso, usa-se um conjunto de valores calculados para diferentes densidades no gás homogêneo de elétrons e aplica-se fórmulas de interpolação. Por exemplo, a fórmula desenvolvida por Vosko, Wilk e Nussair (VWN),<sup>245</sup> e a fórmula de Perdew (PL).<sup>123</sup>

O funcional LDA normalmente subestima energias atômicas do estado fundamental e energias de ionização, enquanto energias de ligação são superestimadas. LDA não é bom para pequenas moléculas, mas melhora com o tamanho do sistema. Pode-se dizer também que LDA é mais adequado para sistemas em que a densidade eletrônica não varia muito. Apesar dos erros gerados pelo funcional LDA, resultados aceitáveis são atingidos, mesmo para sistemas com variação da densidade eletrônica. A razão para isso é que normalmente os erros gerados são cancelados, pois, enquanto a energia de troca é subestimada, a energia de correlação é superestimada.<sup>234</sup>

#### (b) Aproximação do Gradiente Generalizado - GGA

O sucesso da aproximação LDA levou ao desenvolvimento de aproximações do funcional de troca e correlação que tentam levar em conta a variação da densidade eletrônica,



as chamadas aproximações do gradiente generalizado (*Generalized Gradient Approximations, GGA*), que melhoram os resultados da aproximação LDA em muitos problemas envolvendo moléculas. A parametrização de um funcional GGA é bem mais complicada do que a de um funcional LDA, envolvendo termos de gradiente da densidade eletrônica. As formas mais utilizadas para a energia de troca em funcionais GGA são as de Becke (B88), Perdew e Wang (PW91) e Perdew-Burke-Enzerhof (PBE). Por outro lado, a energia de correlação é mais difícil de se expressar matematicamente, sendo sua contribuição para a energia tipicamente muito menor que a da energia de troca. Perdew e Wang e Perdew-Burke-Enzerhof desenvolveram expressões para a energia de correlação que são bastantes usadas, e os químicos adotam com frequência o funcional de correlação de Lee-Yang-Parr (LYP).<sup>246</sup>

Funcionais híbridos combinam energias de troca de Hartree-Fock explícitas com um funcional de troca e correlação DFT “puro”, sendo bem mais precisos no cálculo de *gaps* de energia em comparação com as aproximações LDA e GGA. Funcionais híbridos são os mais usados em química quântica. Becke sugeriu uma mistura da energia de troca Hartree-Fock com energias de troca e correlação LDA e GGA, apresentando posteriormente duas parametrizações: B3PW91 e B3LYP.<sup>246</sup> A energia de troca e correlação em um funcional híbrido B3C assume a forma:

$$\varepsilon_{XC} = \varepsilon_{XC}^{LDA} + a_0 (\varepsilon_X^{HF} - \varepsilon_X^{Funcional\ LDA\ ou\ GGA}) + a_X \varepsilon_X^{Becke} + a_C \varepsilon_C \quad \text{Equação B9}$$

O nome B3C vem do fato de haver em todos esses funcionais a energia de troca de Becke (B), três (3) parâmetros ajustados empiricamente ( $a_0$ ;  $a_X$ ;  $a_C$ ) e um funcional de correlação DFT (C).

A resolução numérica das equações de Kohn-Sham, como nos métodos de Hartree e Hartree-Fock, usa bases para representar os orbitais de Kohn-Sham. É comum usar pseudopotenciais ou potenciais efetivos para representar os elétrons mais internos dos átomos. Esses potenciais reproduzem as propriedades de espalhamento do caroço atômico percebidas pelos elétrons de valência, e permitem a redução do custo computacional dos cálculos.<sup>246</sup>

Por não se conhecer a forma exata do funcional de troca e correlação e devido ao emprego bem sucedido de funcionais híbridos parametrizados empiricamente, é discutível para muitos considerar, em um sentido rigoroso, as implementações da teoria do funcional da densidade como cálculos de primeiros princípios.<sup>246</sup>

## APÊNDICE C

### C1 Publicações

Durante o curso de doutorado, dois artigos foram publicados, ambos relacionados ao projeto de pesquisa desenvolvido no doutorado. No primeiro artigo foram investigados os confôrmeros do imidacloprido, no escopo da teoria do funcional da densidade, utilizando o funcional M06-2X, conjunto de base 6-311++G (d, p), modelo de solvatação PCM e vácuo. Enquanto que no segundo artigo foram exploradas as propriedades vibracionais (infravermelho e Raman) do confôrmero mais estável obtido com o funcional M06-2X e do confôrmero mais estável encontrado utilizando o funcional B3LYP; ambos os funcionais foram utilizados em conjunto com as aproximações fornecidas pelo modelo de solvatação PCM e vácuo. Segue a referência desses artigos:

1. Moreira, A. A. G., De Lima-Neto, P., Caetano, E. W. S., Barroso-Neto, I. L. & Freire, V. N. **Computational electronic structure of the bee killer insecticide imidacloprid**. *New J. Chem.* 40, 10353-10362 (2016).
2. Moreira, A. A. G., De Lima-Neto, P., Caetano, E. W. S., Barroso-Neto, I. L. & Freire, V. N. **The vibrational properties of the bee-killer imidacloprid insecticide: A molecular description**. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 185, (2017).

Além disso, também foram apresentados quatro trabalhos em congressos, listados a seguir. Os dois primeiros são relacionados ao tema do projeto desenvolvido no doutorado; os dois últimos são relacionados a outras temáticas.

1. Moreira, A. A. G.; Lima Neto, P.; Freire, V. N. **The bees killer imidacloprid insecticide: a vibrational characterization**. *38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, 2015.
2. Lima Neto, P.; Moreira, A. A. G.; Freire, V. N. **Vibrational spectra of thiametoxam: experimental and DFT studies**. *38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, 2015.
3. Moreira, A. A. G.; Souza de, L. R.; Serafim, L. F.; Lima Neto, P.; Freire, V. N. **Propriedades vibracionais da droga ropinirole para parkinsonianos**. *37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, 2014.
4. Serafim, L. F.; Moreira, A. A. G.; Souza de, L. R.; Lima Neto, P.; Freire, V. N. **Perfis vibracionais dos compostos organosulfurados aliina e metiina**. *37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, 2014.