

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

Chiara Valsecchi

**Estudos teóricos de pares iônicos a
base de imidazol em nível
atomístico e *coarse-grained* em
solução e membranas biológicas**

Porto Alegre, Brasil

2018

Chiara Valsecchi

**Estudos teóricos de pares iônicos a
base de imidazol em nível
atomístico e *coarse-grained* em
solução e membranas biológicas**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da UFRGS como requisito final para a obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Hubert K. Stassen

Porto Alegre, Brasil

2018

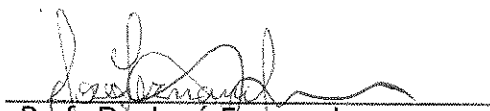
A presente tese foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre novembro 2014 e março 2018, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação do Professor Doutor Hubert K. Stassen. A tese foi julgada adequada para a obtenção do título de Doutor em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:


Prof. Dr. Paulo A. Netz


Prof. Dr. Paolo R. Livotto


Prof. Dr. Eduardo F. Laschuk


Prof. Dr. José Fernando
Ruggiero Bachega


Prof. Dr. Hubert K. Stassen


Chiara Valsecchi

"...vincer potero dentro a me l'ardore
ch'i' ebbi a divenir del mondo esperto,
e de li vizi umani e del valore; [...]
Considerate la vostra semenza:
fatti non foste a viver come bruti,
ma per seguir virtute e canoscenza".

Ulisse¹

Dante Alighieri (1265-1321)

La Divina Commedia - Inferno: C. XXVI, v. 97

¹"...vencer não puderam dentro de mim o ardor de me tornar do mundo esperto, dos vícios humanos e do valor. [...] Considerais vossa procedência: feitos não fostes para viver como brutos, mas para seguir virtude e sapiência."Tradução de Tiago Tresoldi, 2016

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria agradecer ao meu futuro marido, Jacson, pelo carinho, suporte e encorajamento que me deram a força de reiniciar e concluir esta longa caminhada. O 21 de julho 2018 meu amor, vai ser mais tenso que essa defesa!

Gostaria também agradecer muito o Prof. Hubert, que confiou em mim e principalmente me permitiu de continuar sendo sua orientada, embora tendo que dividir o meu tempo de aluna com o meu tempo de trabalho. Obrigada de coração por aceitar as minhas escolhas de vida!

Agradeço a todo o pessoal da química teórica: Josene, Matheus, Icaro, Gabriel, Monique, Eduarda, Roinei... foi um prazer ter aula com vocês, sempre alegres e com a risada pronta! Principalmente, participar da SBQT juntos foi demais!

Sempre existem aquelas pessoas que durante a caminhada se tornam parceiras e amigas fundamentais.... embora da química experimental (eheh), a melhor lembrança do meu tempo em Porto Alegre são vocês, Monique e Andressa! Espero que a nossa amizade continue por muitos anos, independentemente do lugar que a vida vai nos levar...

Por fim, mas não por último, queria agradecer aos meus pais, que além de me educar e propiciar carinho e amor ao longo de toda a vida, deixaram a própria filha pegar voo para uma terra estrangeira e viram ela crescer de longe. Per ultimo, ma non meno importante, un grande grazie ai miei genitori, che oltre ad avermi educato con discernimento e sempre offerto l'amore di cui avevo bisogno, mi hanno lasciato prendere il volo per una terra straniera e mi hanno visto crescere da lontano, sempre appoggiando le mie decisioni, anche quando questo significava non vedersi per molto tempo. Grazie per il vostro sacrificio!

Resumo

Os líquidos iônicos (ILs) são sais orgânicos complexos, líquidos a temperatura ambiente, que apresentam características químicas desejáveis, como baixa volatilidade, alta condutividade e estabilidade. Cátions baseados na estrutura do anel imidazólico (Im.) constituem um dos líquidos iônicos mais utilizados, cuja reatividade e propriedades desejadas dependem das interações e da estrutura tridimensional formada entre cátions e ânions envolvidos, até em condições diluídas (pares iônicos). Num primeiro momento foram analisados os processos de formação e as interações em pares iônicos de cátions imidazólicos com diferentes metilações e o ânion imidazolato, em seis solventes de polaridade variada. Simulações de dinâmica molecular (MD) em nível atomístico, com parametrizações derivadas do campo de força AMBER-Porto Alegre, foram desenvolvidas e analisadas pela plataforma Gromacs. Foi verificada a presença de ligações de hidrogênio e interações do tipo $\pi - \pi$ entre os anéis aromáticos, proporcionalmente enfraquecidas com o aumento da constante dielétrica do meio. A família de ILs baseadas em cátions de imidazol, por outro lado, ganhou também muita atenção devido à possibilidade de efeitos tóxicos para o ambiente; o grupo amônio quaternário contido no anel do imidazol demonstrou efeitos antifúngicos e antibacterianos, podendo penetrar a membrana plasmática. Por este motivo, se tornou objetivo deste estudo também compreender como o imidazol interage com a estrutura das membranas eucarióticas. Para poder estudar esses sistemas complexos com escalas temporais apropriadas (ms) foi desenvolvido e apresentado um primeiro modelo *coarse-grained* (CG) de ILs em membrana POPC (1-palmitoil-2-oleil-fosfatidilcolina) baseado no modelo CG Martini, o mais utilizado para simulações na área biológica. Embora não de forma definitiva, as simulações reproduziram de forma satisfatória os dados atomísticos, demonstrando a viabilidade e as possibilidades do modelo, permitindo verificar a rápida penetração do cátion imidazólico na bicamada fosfolipídica.

Abstract

Ionic liquids (ILs) are complex organic salts molten at room temperature, presenting desirable characteristics as low volatility, high conductivity and stability. Imidazolium-based (Im.) cations are among the most used in ILs, which reactivity and desired properties depend on the tridimensional structure and interaction between cation and anion, even at extreme diluted conditions (ion pairs). At first, the formation process and the interactions for ionic pairs between different methylated imidazolium-based cations and the imidazolate anion have been analyzed in six different solvents, with varying polarity. Molecular dynamic simulations (MD) at the atomistic level, using the Porto Alegre AMBER-based force field parametrization, have been carried and analyzed by the Gromacs platform. The presence of hydrogen bonding and $\pi - \pi$ interactions between the aromatic rings were found, proportionally weakened by the increase of the medium dielectric constant. The family of imidazolium-based cations, on the other hand, has gained interest due to the possibility of toxic effects on the environment; the quaternary ammonium group shows antimicrobial and antibacterial activity, being able to penetrate the plasmatic membrane. For this reason, it also became important in this study to understand how the imidazolium cation interacts with the structure of eukaryotic membranes. In order to study such a complex system with elongated time scales (ms) it was developed and presented a first coarse-grained (CG) model for ILs, interacting with a POPC (1-palmitoyl-2-oleyl-phosphatidylcholine) membrane, based on the Martini CG model, the most utilized in the biological field. Even if not definitive, the simulation results reproduced in fair agreement the atomistic data, demonstrating the integrity and the possibilities of the model, allowed to verify the rapid insertion of the imidazolium cation inside the phospholipid bilayer.

Listas de ilustrações

Lista de Figuras

Figura 1 – Estruturas representativas do cátion imidazólico e ânion imidazolato	3
Figura 2 – Diferentes tipos de associação iônica em solução	4
Figura 3 – Estruturas de interações aromáticas	7
Figura 4 – Estruturas do 1-n-hexadecil-3-metilimidazólio e do fármaco fluconazol	10
Figura 5 – Distribuição de cargas das estruturas de 1,3 dimetil imidazólio e imidazolato obtidas através de cálculo RESP <i>ab initio</i>	16
Figura 6 – Visualização representativa dos pares iônicos em clorofórmio e DMSO	18
Figura 7 – Representação do mapeamento CG para o cátion imidazólio e o ânion imidazolato	23
Figura 8 – Estruturas representativas dos cátions com diferentes metilações com o ânion imidazolato	25
Figura 9 – RDfs das interações entre os H/metila em C2 dos seis diferentes cátions e o ânion imidazolato in clorofórmio	27
Figura 10 – RDfs das interações entre os H/metila em C5 dos seis diferentes cátions metilados e o ânion imidazolato in clorofórmio	28
Figura 11 – Representação das SDFs dos seis diferentes cátions metilados e o ânion imidazolato in clorofórmio	29
Figura 12 – Distribuição angular dos seis diferentes cátions metilados e o ânion imidazolato in clorofórmio	31

Figura 13 – Amostragem de trajetória para <i>Umbrella sampling</i>	32
Figura 14 – Perfil de PMF encontrado para os cátion 1,3-dimetil Im. e 1,2,3-trimetil Im.	33
Figura 15 – Distâncias mínimas entre cátion, ânion e a molécula de água no complexo guest@host	35
Figura 16 – RDFs entre o ânion e a água no complexo guest@host	36
Figura 17 – SDFs de ânion, cátion e água no complexo guest@host	37
Figura 18 – Esquema da reação de deuteração mediada pela água no complexo guest@host	37
Figura 19 – Representação de 1,3,4,5-tetrametil imidazólio e 1,2,3,4,5-pentametil imidazólio com imidazolato estudados em diferentes solventes	40
Figura 20 – Distâncias mínimas entre o par iônico nos vários solventes analisados	41
Figura 21 – RDFs entre os cátions e os nitrogênios do ânion nos cinco diferentes solventes analisados	42
Figura 22 – RDFs entre os cátions e os hidrogênios do ânion nos cinco diferentes solventes analisados	43
Figura 23 – RDFs entre os cátions e os átomos mais eletronegativos dos solvente	45
Figura 24 – RDFs entre os nitrogênios do ânion e os hidrogênios dos solvente .	46
Figura 25 – SDFs entre os imidazolatos e as moléculas dos solventes acetona e diclorometano	48
Figura 26 – Probabilidade de distribuição angular do cátion 1,3,4,5-tetrametil imidazólio com imidazolato	50
Figura 27 – Probabilidade de distribuição angular do cátion 1,2,3,4,5-pentametil imidazólio com imidazolato	51
Figura 28 – Comparação das RDFs atomísticas e CG em diferente solventes .	57

Figura 29 – Proposta de um novo mapeamento CG para o cátion imidazólico	59
Figura 30 – Proposta de um novo mapeamento CG polarizável para o par iônico	61
Figura 31 – Estruturas dos quatro ILs puros analisados	62
Figura 32 – Representações das RDFs do líquido iônico puro BMI·BF ₄ , atômicos e CG	65
Figura 33 – Representações das RDFs do líquido iônico puro BMI·IMD, atômicos e CG	67
Figura 34 – Representações das RDFs do líquido iônico puro MIM·BF ₄ , atômicos e CG	68
Figura 35 – Representações das RDFs do líquido iônico puro MIM·IMD, atômicos e CG	70
Figura 36 – Molécula de POPC (1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina)	72
Figura 37 – Perfil da bicamada POPC antes da inserção dos cátion e gráfico de difusão	73
Figura 38 – Visualização da membrana após inserção dos cátion imidazólicos (OIM, DIM, HIM) com correspondentes perfis de densidade	76
Figura 39 – Distribuição angular da cauda alifática dos fosfolipídios antes da inserção dos cátions imidazólicos	78
Figura 40 – Visualização da espessura da membrana com a inserção dos cátions DIM e HIM.	83
Figura 41 – Perfis de densidades simulados <i>coarse-grained</i> e visualização da inserção do cátion HIM na membrana.	84
Figura 42 – Visualização dos RDFs entre os cátions e os grupos funcionais dos fosfolipídios da membrana	85
Figura 43 – Distribuição de cargas do cátion 1,3 dimetil imidazólio obtida através de cálculo RESP <i>ab initio</i>	101

Figura 44 – Distribuição de cargas do cátion 1,3,4 dimetil imidazólio obtida através de cálculo RESP <i>ab initio</i>	102
Figura 45 – Distribuição de cargas do cátion 1,3,4,5 tetrametil imidazólio obtida através de cálculo RESP <i>ab initio</i>	103
Figura 46 – Distribuição de cargas do cátion 1,2,3 trimetil imidazólio obtida através de cálculo RESP <i>ab initio</i>	104
Figura 47 – Distribuição de cargas do cátion 1,2,3,4 tetrametil imidazólio obtida através de cálculo RESP <i>ab initio</i>	105
Figura 48 – Distribuição de cargas do cátion 1,2,3,4,5 pentametil imidazólio obtida através de cálculo RESP <i>ab initio</i>	106
Figura 49 – Distribuição de cargas do cátion 1-butil-2,3-dimetil imidazólio obtida através de cálculo RESP <i>ab initio</i>	107
Figura 50 – Distribuição de cargas do ânion imidazolato obtida através de cálculo RESP <i>ab initio</i>	108
Figura 51 – Estrutura e mapeamento <i>coarse-grained</i> dos cátions HIM, DIM, OIM, BIM	109
Figura 52 – Molécula de POPC (1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina) .	111

Listas de tabelas

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Energias de associação para os dois pares 1,3,4,5 tetrametil Im. e 1,2,3,4 pentametil Im. em quatro solventes analisados. Os valores são expressos em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	49
Tabela 2.	Informações sobre as caixas de seis solventes preparadas para as simulações <i>coarse-grained</i> de interação de pares de contato em diferentes meios.	54
Tabela 3.	Energias de associação para o par 1,3 dimetil Im. e imidazolato em seis solventes analisados. Os valores são expressos em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	58
Tabela 4.	Informações sobre os quatros sistemas de líquidos iônicos puros analisados.	63
Tabela 5.	Análise das propriedades físicas da membrana POPC após inserção de cátions imidazólicos.	74
Tabela 6.	Análise <i>coarse-grained</i> das propriedades físicas da membrana POPC após inserção de cátions imidazólicos.	80
Tabela 7.	Distribuição de cargas no mapeamento <i>coarse-grained</i> dos cátion inseridos na membrana. Cada partícula representa a soma das cargas dos átomos envolvidos, calculada <i>ab initio</i> para o cátion 1,3-dimetil imidazólio.110	

Listas de abreviaturas e siglas

AA	simulações atomísticas
ACP	anti-cancer peptides ("peptídeos anti-cancer")
AMP	anti-microbial peptides ("peptídeo antimicrobianos")
BMI	1-n-butil,3-metil imidazólio
CIP	contact ion pair ("pares de contato iônico")
CG	simulações coarse-grained
DPPC	1,2-dipalmitoil-rac-glicero-3-fosfocolina
DIM	1-dodecil-3-metil imidazólio
HIM	1-hexadecil-3-metil imidazólio
HOESY	heteronuclear Overhauser effect spectroscopy ("espectroscopia heteronuclear de efeito Overhauser")
ILs	ionic liquids ("líquidos iônicos")
Im.	imidazólio
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LC ₅₀	lethal concentration ("concentração letal")
MIC	minimum inhibitory concentration ("concentração mínima inibitória")
MIM	1,3-dimetil imidazólio
MD	molecular dynamics ("dinâmica molecular")
NOESY	nuclear Overhauser effect spectroscopy ("espectroscopia nuclear de efeito Overhauser")
OIM	1-octil-3-metil imidazólio

POPC	1-palmitoil-2-oleil-fosfatidilcolina
PME	<i>Particle-Mesh Ewald</i> ("Método de Ewald de Malhas-Partículas")
PMF	potential of mean force ("potencial de força média")
RDFs	radial distribution function ("funções de distribuição radial")
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i> ("desvio médio quadrático")
SDFs	spatial distribution functions ("funções de distribuição espacial")
SIP	solvent-separated ion pair ("pares iônicos separados por solvente")
SSIP	solvent-shared ion pair ("pares iônicos com solvente compartilhado")
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Conteúdo

1	Introdução	3
1.1	Estrutura e organização dos líquidos iônicos	4
1.2	Influência biológica dos IL a base de imidazólio e simulações <i>coarse-grained</i> por dinâmica molecular	9
2	Objetivos	14
2.1	Objetivos gerais	14
2.2	Objetivos específicos	14
3	Metodologia	15
3.1	Simulações Atomísticas: Pares de Contatos	15
3.2	Simulações Atomísticas: Inserção de ILs em Bicamada Fosfolipídica .	19
3.3	Simulações <i>coarse-grained</i>	21
4	Estudo de estrutura de pares iônicos de contato	25
4.1	Efeito da metilação nas interações entre os pares de contato	25
4.2	Complexo supramolecular com água	34
4.3	Efeito do solvente sobre a força de ligação e a interação dos pares iônicos	39
5	Modelos <i>coarse-grained</i> e interações com membrana biológica	52
5.1	Desenvolvimento de um modelo <i>coarse-grained</i> para líquidos iônicos .	52
5.1.1	Pares de Líquidos Iônicos	52
5.1.2	Líquidos iônicos puros	61
5.2	Estudo da interação de líquidos iônicos com a membrana biológica . .	72
6	Conclusão	87
7	Perspectivas Futuras	89
8	Publicações	90
9	Referências	90
A	Estruturas dos cátions imidazólicos analisados	101

A.1	Cátion 1,3 dimetil imidazólio	101
A.2	Cátion 1,3,4 trimetil imidazólio	102
A.3	Cátion 1,3,4,5 tetrametil imidazólio	103
A.4	Cátion 1,2,3 trimetil imidazólio	104
A.5	Cátion 1,2,3,4 tetrametil imidazólio	105
A.6	Cátion 1,2,3,4,5 pentametil imidazólio	106
A.7	1-butil-2,3-dimetil imidazólio	107
A.8	Ânion imidazolato	108
B	Mapeamento <i>coarse-grained</i> dos cátions e membrana fosfolipídica	109
B.1	Estrutura dos cátions imidazólicos	109
B.2	Estrutura do fosfolipídio 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC)	111

1 Introdução

Os líquidos iônicos (ILs) são sais orgânicos fundidos a uma temperatura inferior a 100°C, e particular importância química assumem aqueles que estão líquidos a temperatura ambiente. São constituídos normalmente de um cátion orgânico, como imidazólio, piridínio, pirrolidínio, aminas quaternárias, entre outros, e um ânion de coordenação relativamente fraca, de natureza geralmente inorgânica, como tetrafluoroborato, hexafluorofosfato, ou tão pequeno como um íon fluoreto [1]. Devido à facilidade de poder modificar as propriedades físicas e químicas, além de reciclabilidade, os ILs se apresentam como alternativas viáveis em várias aplicações, principalmente visando alternativas mais sustentáveis para processos químicos e industriais comuns [2]. Na literatura se tornaram de grande interesse os ILs baseados em cátion com anel imidazólicos, cuja estrutura está representada na Figura 1, devido à ampla utilização em vários campos, da eletroquímica a cromatografia, da catálise ao suporte de imobilização de enzimas, entre outros [3]. O cátion imidazólio oferece cinco diferentes possibilidades de substituição de grupos ligados ao anel, enquanto o ânion imidazolato três; com esta oferta de possibilidades de diferentes sítios de alquilação e modificação química, os IL a base de imidazólio representam plenamente o conceito de *tailored solvents* característicos dos ILs.

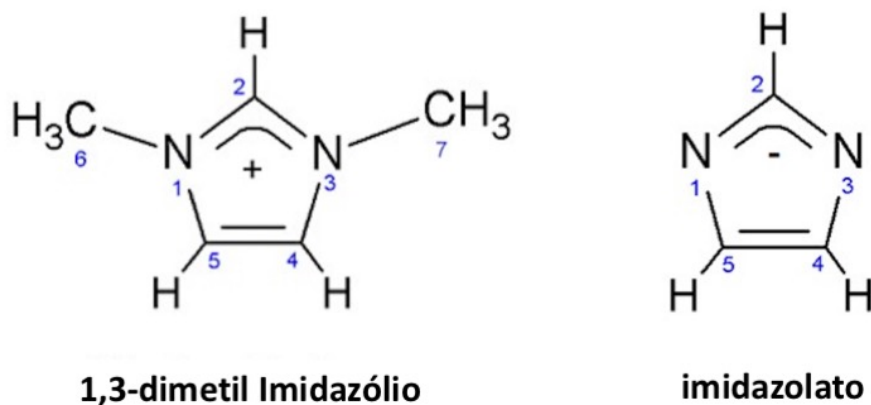


Figura 1: Estruturas representativas do cátion 1,3-dimetil Imidazólio e ânion imidazolato utilizados neste trabalho [autoria própria].

Devido ao fato que a organização dos ILs influencia as características físico-químicas e reacionais que esses podem apresentar, tornou-se assim importante estudar as interações presentes entre os íons envolvidos e as suas estruturas.

1.1 Estrutura e organização dos líquidos iônicos

Na fase líquida, a especiação dos íons assume um papel muito importante na determinação de mecanismos de reação, já que cada diferente espécie de íons pode reagir com uma constante cinética característica e gerar um específico equilíbrio dinâmico. Grunwald *et al.*[4] junto a Marcus *et al.*[5], em termos gerais, propuseram três tipos de associação iônica que pode estar presentes em solução: o CIP (contact ion pair), o SIP (solvent-separated ion pair) e o SSIP (solvent-shared ion pair), como representado na Figura 2.

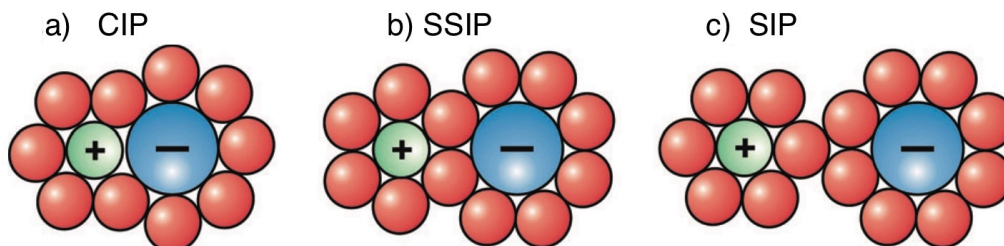


Figura 2: Representação esquemática dos tipos de associação iônica em solução: a) pares de contato, b) pares com solvente compartilhado e c) íons separados por solvente [6].

Na literatura se encontram assim vários estudos para poder determinar qual tipo de especiação existe em vários líquidos iônicos, nas suas formas líquidas puras e em casos de diluição em outros solventes [6–8]. Por exemplo, no caso de líquidos iônicos apróticos, em geral foi encontrado que a formação de pares de contato (CIP), levou a uma diminuição de condutividade elétrica [9]. Por outro lado, o comportamento oposto acontece em líquidos iônicos próticos, como no caso tratado neste

estudos, baseados nas moléculas de imidazólio [10, 11]. Chaban *et al.* demonstraram com soluções diluídas de 1-etil, 3-metil Imidazólio·BF₄ em acetonitrila, através de análise estrutural, que existe formação de pares de contato e pequenos agregados neutros, responsáveis para o incremento da condutividade elétrica, como encontrado experimentalmente [12]. Algumas características devem-se apresentar para que se possam formar pares de contatos: o cátion e o ânion devem estar suficientemente próximos na solução e compartilhar a esfera de hidratação; a energia associada com a interação eletrostática deve ser maior que a energia térmica; os cátions e ânions devem estar associados por um período de tempo maior que o necessário para ser dissociado por movimentação térmica [13]. A formação de pares iônicos em solução é uma questão extremamente importante. A organização estrutural do par pode causar situações características reacionais quando misturados com outros compostos. Na literatura, é possível mencionar dois exemplos representativos que demonstram como a presença de CIP diluídos em diferentes solventes muda a reatividade do meio de reação. Scholten *et al.*, avaliando o caso de 2,4,5-trideuterado,1-butil,3-metil imidazólio com vários ânions, reportou uma troca H/D preferencial nos hidrogênios menos ácidos do cátion (em C4 e C5), já que o hidrogênio mais ácido, no carbono na posição 2, está envolvido em ligações de hidrogênios com o ânion na formação do par de contato [14]. Uma outra reação extremamente importante que depende da presença ou ausência de CIP é a dissolução da celulose, como descrito por Swatloski *et al.*: a reação depende da reatividade do ânion, que vem a se perder quando envolvido em um par de contato [15].

Embora frequentemente esses sistemas sejam denominados de sistemas Coulômbicos, é a combinação de três forças intermoleculares, eletrostática, dispersiva e ligação de hidrogênio, que controla a organização de ILs na fase gasosa e líquida [3]. As interações não ligadas deveriam ser reconhecidas como elementos chaves na estrutura local dos pares iônicos de contato, porém existe ainda na literatura uma pequena controvérsia sobre a existências de ligações de hidrogênio com longos tempo de vida, principalmente no caso de ILs puros. Zhao *et al.* [16] encontraram um tempo de vida das ligações de hidrogênio entre 1-n-butil-3-metil Imidazolio e hexafluorofosfato de 1 ps, transiente demais para serem elementos chaves na estrutura e propriedades dinâmicas do solvente. Lee *et al.* [17] também declararam que dois

terços dos íons em fase líquida estão livres em cada instante, definindo assim os ILs como eletrólitos concentrados. Já Neto *et al.* [18] confirmaram a presença de uma grande organização supramolecular devido a duradouras ligações de hidrogênio, organização mantida até na fase gasosa. Fumino *et al.* [7] concordaram que, embora a energia associada com ligações de hidrogênio represente somente 10% da energia total de interação, essa interação influencia as propriedades únicas apresentadas pelos ILs.

Por outro lado, quando os ILs estão presentes em quantidades diluídas, em misturas e soluções, existe um consenso maior de que a interação prótica se torna essencial para a formação de pares iônicos de contato. A presença e importância dessas ligações de hidrogênio foi demonstrada experimentalmente por deslocamento da frequência característica em experimentos de infravermelho [7, 13]. Sendo o anel imidazólico planar e rígido, a direcionalidade e, de consequência, a força das ligações de hidrogênio é determinada pelo tipo de ânion presente como contra-íon e a posição que assume ao redor do anel. Qiao *et al.* [19] analisaram sistematicamente as interações entre os cátions 1-etil-3-metil imidazólio com os ânions cloreto (Cl^-), tetrafluoroborato (BF_4^-) e bis((trifluorometil)sulfonil)imide (TF_2N^-). Com o aumento do tamanho do átomo foi percebida uma mudança de posição do contra-íon de perto (no mesmo plano) do anel para acima ou abaixo do mesmo, levando a um maior distanciamento dos íons positivos, e força de interação inferior. A disposição do ânion é governada pela direcionalidade da ligação de hidrogênio que acontece preferencialmente com o hidrogênio mais ácido do cátion, ligado ao carbono na posição 2 do anel imidazólico (Figura 1). A importância deste sítio de interação, assim como dos outros hidrogênios presentes no anel, foi amplamente estudada na literatura nos líquidos puros e nos pares de contato aplicando diferentes graus de metilações e analisando as variações nas propriedades físico-químicas. Noack *et al.* [20] demonstraram experimentalmente que a viscosidade de 1-etil,2,3-dimetil imidazólio· TF_2N^- triplicou com respeito ao não metilado 1-etil,3-metil imidazólio· TF_2N^- , enquanto Valsecchi *et al.* [21] encontraram que a energia de dissociação do par iônico 1,3-dimetil imidazólio-imidazolato aumenta na ordem de $13 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ comparado com o 1,2,3-trimetil imidazólio-imidazolato. Assim, as forças de interação entre o hidrogênio mais ácido do cátion na posição 2 com os nitrogênios aceitadores do ânion

são consideradas relativamente fortes, comparáveis com pequenos álcoois primários, baseados nas distâncias médias (2,36-2,44 Å) e ângulos (140°-160°) encontrados [19, 22].

Como mencionado anteriormente, além da interação eletrostática de Coulomb e das ligações de hidrogênio, também as forças de dispersão assumem um papel importante na estruturação dos ILs. No caso de líquidos puros, a interação dos ILs a base de imidazólio depende também de diferentes orientações adotada pelos íons, já que foi comprovada a presença de interações $\pi^+ - \pi^+$ entre os anéis dos cátions [3, 19]. Existem três tipos de estruturas diferentes de interação aromática, como esquematizado na Figura 3: *edge-face* (lateral com plano, a), *offset stacking* (empilhamento desalinhado, b) e *face-face* (planos paralelos, c)[19]; particularmente, os últimos dois casos são encontrados abundantemente entre resíduos aromáticos de proteínas e as bases nucleicas do DNA, respectivamente. No caso de cátions imidazólicos, foi encontrado que a orientação preferencial se torna do tipo *offset stacking*, onde houve um incremento no desalinhamento com o aumento do tamanho do ânion [19, 23]. É possível encontrar também interações do tipo ânion-doador π^+ -aceitador [24], as quais se mantêm na formação dos pares de contato em ILs diluídos em outros solventes, embora menos relevantes em termos energéticos, já que os ânions presentes predominantemente nos estudos da literatura são de natureza não aromática.

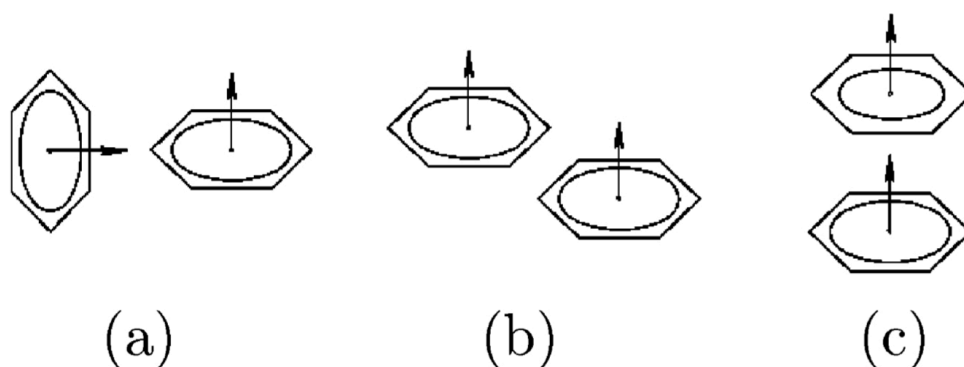


Figura 3: Estruturas representativas das interações aromáticas possíveis entre os cátions imidazólicos: a) *edge-face*, b) *offset stacking* e c) *face-face stacking*. [19].

Uma das características de inovação deste trabalho encontra-se no fato de utilizar um ânion de estrutura aromática, baseado no imidazolato (Figura 1). Neste caso, a importância das forças de Van der Waals na formação e manutenção dos pares de contato, assim como a influência na definição das propriedades físico-químicas (ponto de fusão, viscosidade e entalpia de vaporização), se torna quase comparável com a presença das interações de hidrogênio entre os íons.

Todos os tipos de interações envolvidas entre os íons na formação ou não de pares iônicos são influenciados por um outro fator determinante: o solvente no qual os ILs estão inseridos. Recentemente se tornou interessante entender o comportamento dos pares iônicos de contato em vários solventes, assim como caracterizar a estrutura e as interações intermoleculares nesses ambientes [7, 13, 25]. As propriedades físicas e químicas, como condutividade elétrica, viscosidade, ponto de ebulição e reatividade dos ILs podem mudar drasticamente em diferentes soluções. Normalmente, pares iônicos de contato são encontrados em solventes com baixa e média constante dielétrica, como clorofórmio e CO₂ [25]: foi demonstrado que em clorofórmio as espécies envolvidas nos CIPs são aquelas que determinam a difusão, comprovando a grande importância da presença dessas estruturas na solução [13]. Em acetonitrila foi comprovado que existe um equilíbrio entre CIPs e SSIPs, enquanto somente pares de contato são encontrados em diclorometano; Fumino *et al.* [6] também relatam que em misturas de IL com diferentes solventes (clorofórmio, tetrahidrofurano, acetona e DMSO) ocorre uma transição de CIP para SIP com o aumento da constante dielétrica do meio. A formação de pares de contato em solventes mais polares é encontrada normalmente em concentrações de ILs maiores, como 0,2M em DMSO e 1M em água, confirmada também experimentalmente por HOESY and NOESY, através de tempo de relaxação [25]. De particular interesse é a mistura de ILs em água, já que dependendo do tamanho das cadeias alifáticas de substituição ao anel, é possível modificar a miscibilidade dos cátions imidazólico. Com o aumento da alquilação do anel, é possível encontrar fases segregadas no líquido: podem assim aparecer regiões polares e não polares, onde podem-se formar compostos de inclusão, envolvendo íons, macromoléculas (enzimas) e também nanopartículas/nanoclusters [3]. Até uma quantidade mínima de água pode influenciar bastante as propriedades dos ILs: foi demonstrado que no caso de cátions 1-n-butil,3-metil imidazólio (BMI)

e 1,3-dimetilimidazólio (MIM) em pares de contatos com o ânion imidazolato, uma única molécula de água, envolvida em um complexo do tipo guest@host com os ILs presentes, é responsável pela ativação da troca H/D, que não seria possível já que o ânion não apresenta o sítio básico para isso quando envolvido em um CIP [25].

1.2 Influência biológica dos IL a base de imidazólio e simulações *coarse-grained* por dinâmica molecular

Nos últimos anos, vem sendo observado na literatura um crescente interesse sobre líquidos iônicos (ILs) interagindo com membranas biológicas, com objetivo de esclarecer toxicidades e principalmente a eco-toxicidade apresentadas. Como já mencionado, estes solventes são tipicamente definidos como *green*, pelo fato de ter uma pressão de vapor desprezível. Por outro lado, embora não contribuam com a poluição do ar, muitos são solúveis em água e podem contaminar este meio. De fato, existem estudos com *zebrafish* demonstrando que ILs comerciais, tais como AMMOENG 100 e AMMOENG 110, possuem uma baixa concentração letal (LC_{50}) de $5,9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ [26]. O mais importante efeito da presença desses ILs se encontra por via da sua estrutura anfifílica, permitindo a inserção na membrana, aumentando a sua porosidade e alterando as suas propriedades físicas. Foi demonstrado também que íons cálcio podem permear a membrana após exposição a ILs, provocando, por exemplo, a dissociação da célula do tecido na qual estava ancorada [26]. No caso de líquidos iônicos a base de imidazol, de interesse neste estudo, foi encontrada uma LC_{50} superior aos $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, sendo assim considerados como não altamente tóxicos para a espécie *zebrafish*. Por um outro lado, esta família de ILs está sendo amplamente investigada pelo fato de apresentar propriedades antibacteriana e antimicóticas [27, 28]. De fato, o par iônico 1-n-hexadecil-3-metilimidazólio, Figura 4a, com ânion cloreto, apresentou grande eficiência em prevenir a formação de biofilmes de *Candida tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *Trichosporon asahii*, patógenos que podem causar graves infecções em pacientes hospitalares fracos ou imunossuprimidos. A concentração mínima inibitória (MIC) apresentada no caso da *C. tropicalis*, ca. $0,014 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, foi 100 vezes menor quando comparada com

o fluconazol, um princípio ativo farmacológico comercialmente disponível da família azólica, cuja estrutura está representada na Figura 4b [27]. Estes fármacos de derivação azolínica, especialmente os triazóis, são bastante eficientes contra a maioria das infecções micóticas e possuem uma baixa toxicidade [29]. Infelizmente, as resistências primária e secundária estão aumentando drasticamente por esse tipo de princípios ativos, principalmente, devido ao fato que os canais de absorção na membrana são inibidos. Sem a inserção no citoplasma, a atividade metabólica do fluconazol e derivados é impossibilitada [30]. Diferentemente do fluconazol de natureza neutra, os sais imidazólicos apresentam propriedades altamente interessantes do ponto de vista farmacológico, além de não apresentar toxicidade para células eucarióticas humanas, como demonstrado por estudos em leucocitas [28]. Como descrito por Schrekker *et al.* [28], os fármacos antimicóticos comerciais, assim como os ILs, atuam através a inibição da enzima lanosterol 14a-dimetilase, necessária para converter o lanosterol a ergosterol. Este fato foi confirmado analisando a percentagem de redução de ergosterol (33-89%) na membrana após exposição a metade do MIC de 1-n-hexadecil-3-metilimidazólio. Para surtir este efeito, em um primeiro momento, o cátion a base de imidazol precisa permear na membrana celular do fungo, onde o caminho de síntese do ergosterol acontece. Por isso, ILs com longas cadeias alifáticas possuem maior facilidade na inserção da bicamada fosfolipídica, confirmado pelo baixo MIC apresentado. Além disso, sendo os ILs sais orgânicos, eles podem interferir também no equilíbrio osmótico da célula: a presença desses íons pode favorecer a coagulação das proteínas de membrana, e com isso a sua destruição.

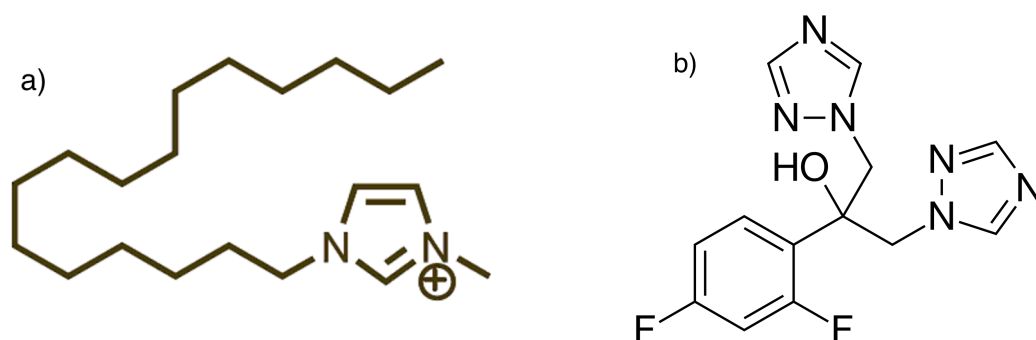


Figura 4: Estruturas representativas a) do cátion imidazólico 1-n-hexadecil-3-metilimidazólio e b) o princípio ativo do fármaco fluconazol [autoria própria].

Além de capacidades antimicóticas, os ILs a base de imidazol também apresentam atividade antibacteriana, como demonstrado por Hough-Troutman *et al.*; neste estudo, foi encontrada um MIC entre 4-10 mg·mL⁻¹ contra várias bactérias de interesse clínico. Normalmente, agentes antissépticos catiônicos apresentam um MIC no intervalo 8-500 mg·mL⁻¹, portanto muito superior [31, 32]. Por último, foi evidenciado [33] como a inserção na membrana de pequenos peptídeos carregados, os ACPs (peptídeos anti-cancer), podem destruir células cancerígenas, sem afetar as células saudáveis, fomentando um enorme interesse médico. Esses ACPs são constituídos por 14-40 aminoácidos, com uma porção carregando uma carga positiva e uma porção hidrofóbica. É clara a similaridade estrutural desses peptídeos com os líquidos iônicos, principalmente pensando nos cátions imidazólicos. Quando os ACPs, e por congruência os ILs, penetram a membrana da célula, íons and metabólitos podem vazar; no processo, pode ocorrer também despolarização da membrana, provocando a morte celular [34]. Por todas estas razões, compreender como o cátion imidazólico pode penetrar a membrana plasmática de fungos, bactérias ou até a humana, poderia fornecer grandes revelações farmacêuticas e abrir o caminho para o desenvolvimento de novos fármacos não-resistentes.

Este mecanismo de interação e inserção na membrana já vem sendo estudado na literatura por simulações de dinâmica molecular, como descritos em [35–38]. Bingham *et al.* estudaram a interação da membrana 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfolina (POPC) com o cátion 1-butil-3metil imidazólio e diferentes ânions (Cl⁻, PF₆, Tf₂N) por 100ns. Para poder avaliar a influência do cátion foram analisadas diferentes propriedades da membrana antes e após a inserção dos íons: área por lipídio, módulo de compressibilidade superficial, tensão superficial, volume das moléculas de lipídios, compressibilidade isotérmica, potencial transmembrana e perfil de densidade. A inserção dos cátion, na concentração de ca. 0,5 M, afeta principalmente o módulo de compressibilidade, com uma variação de 15%. Também o potencial transmembrana não é afetado por grande variações, de 0,58 V no caso do POPC puro e até 0,68 V na presença de BMI-PF₆. Pelo perfil de densidade foi confirmado que o cátion se insere com o grupo butila primeiro, solvatando a cadeia alquila com as caudas apolares dos fosfolipídios. Por outro lado, Lee [36] estudou a inserção de cátion imidazólico em três diferentes membranas (POPC,

DOPC, DMPC), deduzindo que predominantemente o tamanho da cadeia lateral do cátion determina a instabilidade da bicamada, independente do tipo de fosfolipídio. Já o aumento do coeficiente de difusão depende do tamanho do surfactante e do tipo de fosfolipídio, saturado ou insaturado. No caso do POPC, de interesse para este trabalho, o coeficiente de difusão aumentou levemente, apresentando valor de $0,7 \pm 0,1 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, comparável com dados experimentais [39]. Por último, em um outro trabalho, Lee [37] *et al.* estudaram a influência da presença de sal (NaCl) na interação com os fosfolipídios; foi determinado que a inserção do ILs pode ser através de dois mecanismos: primeiro a atração eletrostática aproxima o cátion à membrana, e sucessivamente a parte mais hidrofóbica se insere no meio da bicamada; ou, é a própria atração hidrofóbica que permite a inserção direta do cátion na membrana, após estabilizada pelas forças eletrostáticas com os grupos polares. A adição do sal enfraquece a interação eletrostática com as cabeças polares dos fosfolipídios, diminuindo a inserção total dos cátions imidazólicos na bicamada. Neste sentido, Kahn e Zacharias [34], através dos cálculos das energias de interação, descobriram que também o colesterol influencia a estrutura eletrostática da membrana e impede parcialmente a inserção dos ILs.

Todas as observações e os efeitos das interações biológicas tratadas acontecem numa escada temporal bastante extensa e, por isso, muito difícil de ser atingida com detalhes atomísticos. Para o estudo e a simulação desse tipo de sistemas heterogêneos e complexos, é preciso assim procurar um método de simulações de dinâmica molecular mais eficiente, já que pretende-se atingir escalas de tempo de até milissegundos. Nos últimos anos, simulações *coarse-grained* (CG), como será amplamente discutido na sessão de Metodologia, se tornaram um método poderoso para o estudo da fase condensada (sólidos, líquidos e soluções); esses foram implementados em numerosos estudos de sistemas extremamente complexos, tais como proteínas [40], membranas biológicas procarióticas e eucarióticas [41], e ácidos nucleicos, portadores da informação genética (DNA, RNA) [42]. Na literatura, os modelos mais utilizados para simulações CG na área biológica, como membranas, micelas, proteínas e até recentemente o DNA, são derivados do modelo Martini, desenvolvido no grupo do Prof. Marrink [43, 44]. O modelo CG Martini é amplamente utilizado para

simulações de bicamadas fosfolipídicas e membranas biológicas [44], principalmente membranas a base de 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfolina (POPC), um dos fosfolipídios mais abundantes nas células animais. Neste sentido, o modelo Martini se torna um ótimo candidato para a simulação de sistemas complexos com IIs por quatro vantagens: 1) já existe a parametrização de vários componentes químicos, oferecendo a possibilidade de construir um modelo CG para um vasto número de moléculas; 2) os parâmetros das forças não ligadas são comparados com valores experimentais, evitando eventuais erros contidos nas simulações atômicas; 3) essas interações não ligadas são descritas através dos simples potenciais de Lennard-Jones e de Coulomb, facilitando a parametrização das novas moléculas, e 4) vários solventes já foram amplamente utilizados e testados com o modelo Martini, tendo assim um ambiente químico robusto para as simulações [45]. Infelizmente, ainda não foi desenvolvido um modelo CG acoplável com o Martini para IIs. Neste sentido, este trabalho tem foco no estudo atômico das interações dos pares de contato em diferentes ambientes a servir como ponto de partida para o desenvolvimento de um modelo CG de IIs que será utilizado para analisar as interações dos líquidos iônicos a base de imidazol com a membrana biológica.

2 Objetivos

2.1 Objetivos gerais

O objetivo principal desse projeto é avaliar a formação, estrutura e estabilidade de pares iônicos de contato de ILs a base de imidazol em diferentes solventes (orgânicos e inorgânicos), assim como a inserção dos mesmos na membrana plasmática. A simulação por MD representa a ferramenta principal desses estudos para obter as informações desejadas.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar as interações intermoleculares envolvidas nas estruturas de pares iônicos de contato entre diferentes cátions a base de imidazol e ânions a base de imidazolato
- Analisar a solvatação de pares iônicos e influência do solvente sobre a sua formação quando inseridos em seis solventes de diferentes polaridades
- Desenvolver um modelo CG para pares iônicos e ILs puros, complementar e acoplável com o modelo Martini, com o intuito de analisar a interação dos cátions (e ânions) com membranas biológicas.
- Avaliar a possível inserção de ILs em membranas biológicas a base de 1-Palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfolina (POPC)

3 Metodologia

Para o desenvolvimento desse projeto, precisa-se empregar uma combinação de metodologias da química teórica e computacional envolvendo simulações por dinâmica molecular (MD) em nível atomístico e *coarse-grained* (CG). Cada uma dessas técnicas será detalhada a seguir separadamente. Todas as simulações foram realizadas no supercomputador *Vader* do grupo da Química Teórica da UFRGS.

3.1 Simulações Atomísticas: Pares de Contatos

Simulações computacionais por MD dependem de um campo de forças que contém a parametrização de todas as interações intra- e intermoleculares. Neste projeto, as simulações em nível atomístico foram realizadas com o campo de força AMBER-Porto Alegre, baseado no modelo AMBER [46, 47], no qual as substituições metilas no anel dos cátions são definidas como na molécula de tolueno [25]. As simulações e os resultados encontrados nos artigos Zanatta *et al.*[25] e Valsecchi *et al.*[21] foram calculadas utilizando a plataforma livre Gromacs, 4.5.5; simulações sucessivas foram efetuadas através da mais atualizada versão 2016.1 [48]. Os modelos otimizados dos ânions e cátions estudados foram obtidos *ab initio* através do programa Gaussian [49]. Para a obtenção das geometrias foram escolhidas, com cálculo B3LYP as *basis-set* 6-311G* (d,p); o potencial eletrostático (ESP) foi calculado por distribuição de população Merz-Kollman; e as cargas foram encontradas pelo método RESP (restrained electrostatic potential - potencial eletrostático restrito). A título de exemplo, na Figura 5 são apresentadas as estruturas com os valores das cargas encontradas para o 1,3-dimetil imidazólio, cátion de partida para todas as sucessivas modificações de metilação do anel, e o ânion imidazolato. As demais estruturas de todos os cátions utilizados neste estudo, com as relativas distribuições de carga, são reportadas no Apêndice A. É importante salientar a numeração atômica do anel imidazólico utilizada ao longo de todo o trabalho, com enfoque principalmente nos carbonos C2, C4 e C5 do anel, e os átomos/grupos a eles ligados.

Nos sistemas analisados, para manter a temperatura constante em 298,15 K

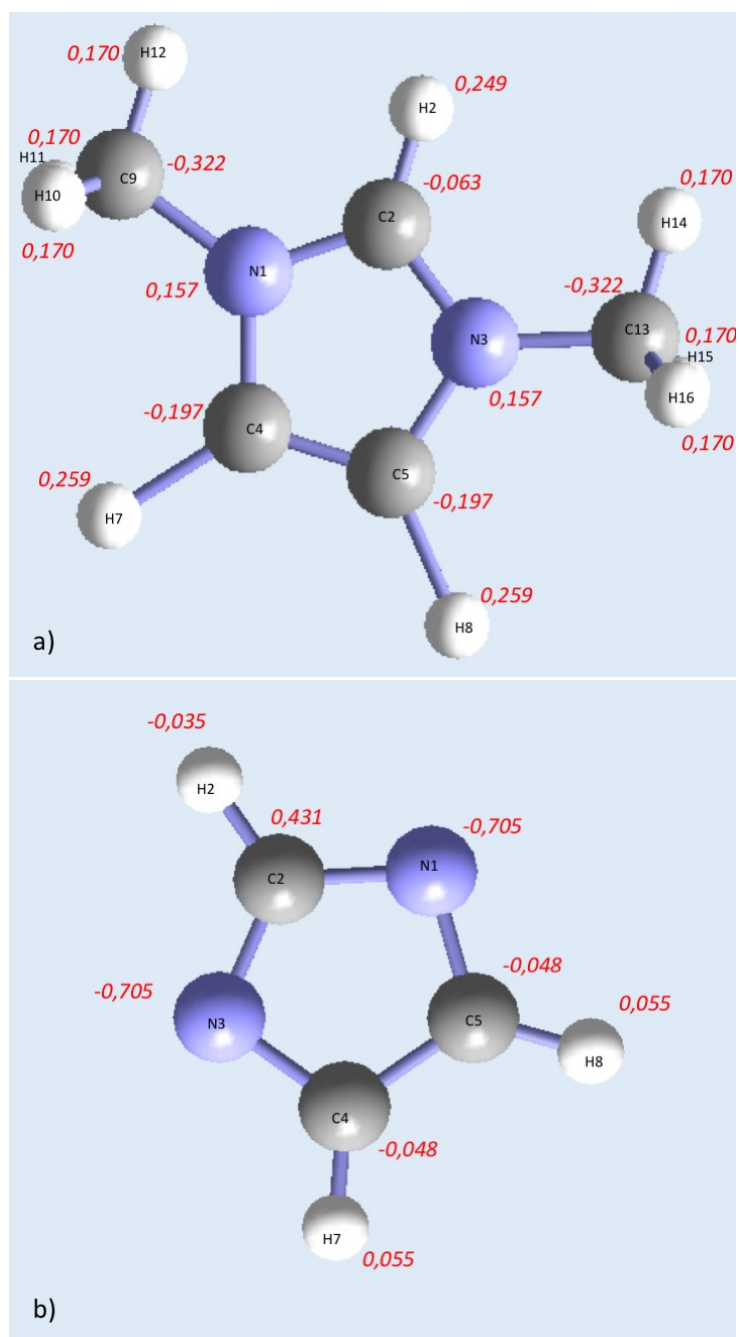


Figura 5: Estrutura e distribuição de cargas das estruturas do a) 1,3 dimetil imidazólio e b) imidazolato obtidas através de cálculo RESP *ab initio*.

foi utilizado o reescalonamento das velocidades, enquanto o barostato Parrinello-Raman [50] foi utilizado para manter uma pressão de 1bar no *ensemble* NpT. O método Particle Mesh Ewalds (PME) [51] foi aplicado para corrigir as interações eletrostáticas de longo alcance acima do raio de corte esférico de 1,3 nm. Os comprimentos de ligação foram mantidos constantes através do algoritmo LINCS [52]; durante o desenvolvimento, foi utilizado um tempo de integração de 0,002 ps, e as trajetórias foram salvas a cada 1000 passos. Nos estudos de estrutura e organização dos pares iônicos de contato, as caixas de solventes pré-equilibradas de clorofórmio, diclorometano, acetona e dimetilsulfóxido (DMSO) foram obtidas pelo banco de dados *Molecule & Liquid Data Bases* do GROMACS [53]. A água foi simulada através do modelo TIP3P já presente na plataforma GROMACS [54], enquanto a caixa de isopropanol foi preparada e equilibrada a partir de uma única molécula otimizada *ab initio* através do programa Gaussian [49], obtendo um valor de densidade do solvente com um erro abaixo do 5% do dado experimental conhecido na literatura [55]. Todos os modelos de solventes foram constituídos por 1000 moléculas e obtidos com parametrização GAFF [56], compatível com o campo de forças utilizado. Cada simulação foi começada colocando o cátion e ânion sob análise em uma caixa vazia do mesmo tamanho que a do solvente. Uma pequena simulação de 100 ps a volume constante, *ensemble* NVT, assegurou que se formasse um par de contato em vácuo. Sucessivamente, o par iônico foi solvatado com as moléculas de solvente e a energia foi minimizada utilizando-se o algoritmo *steep* no programa *mddrun* do Gromacs. A solvatação normalmente leva à perda de poucas moléculas de solvente: nos casos estudados, um máximo de 8 moléculas foram eliminadas das 1000 iniciais em simulações com DMSO. O sistema equilibrado foi simulado no *ensemble* NpT, nas condições descritas acima, por 40 ou 100ns, dependendo dos casos de aplicação.

Antes da análise dos modelos simulados, foram monitoradas as evoluções das propriedades físicas dos sistemas como densidade, energia de interação inter e intramoleculares, além de pressão e temperatura. O rápido equilíbrio do sistema foi sugerido pela célere convergência dessas propriedades. Para a análise, em primeiro lugar foi calculada a distância mínima entre o centro de massa do cátion e do ânion ao longo de toda a trajetória com o *plugin* do Gromacs *gmx mindist*, para verificar a formação de pares iônicos estáveis, transientes ou a não-formação dos mesmos.

Na Figura 6 encontram-se dois exemplos de configuração de par encontradas em clorofórmio (par estável) e em DMSO (sem formação do par). O cátion 1,2,3,4,5-pentametilimidazólio está representado em vermelho, enquanto o ânion imidazolato se encontra em verde. Em caso de breves eventos de dissociação, somente a parte da trajetória onde o par está associado estavelmente foi usada para o cálculo dos demais parâmetros de análise geométrica, como as funções de distribuição radial (RDFs), as funções de distribuição espacial (SDFs) e distribuição angular; caso contrário, os últimos 90 ns de simulação foram usados para as análises.

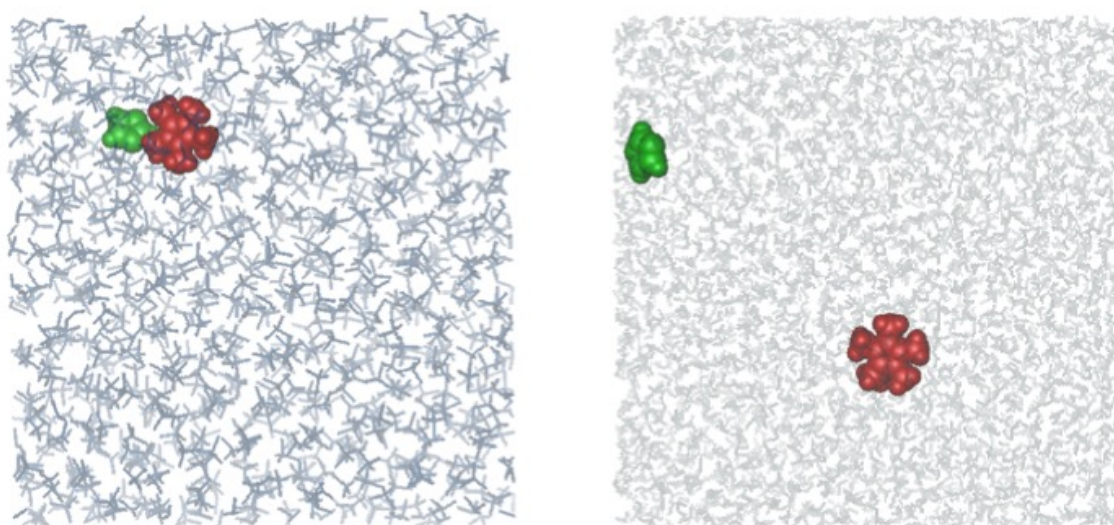


Figura 6: Visualização representativa das simulações dos pares iônicos em a) clorofórmio, onde cátion 1,2,3,4,5-pentametil Im. (vermelho) e ânion imidazolato (verde) estão associados, e b) DMSO, onde o par iônico não é formado ao longo da trajetória. [autoria própria].

As energias de associação de Gibbs (ΔG_{bind}) dos pares foram obtidas por três etapas: *pulling*, *umbrella sampling* e o cálculo da constante de associação e energia livre. Para a primeira etapa, como configuração de partida foi utilizado o par de contato associado; sucessivamente, mantendo o cátion fixo no espaço como grupo de referência, o ânion foi puxado a uma taxa constante de $0,005 \text{ nm ps}^{-1}$ ao longo da coordenada correspondente à distância dos centros de massa dos dois íons. Desta trajetória foram extraídas as configurações para o *umbrella sampling*, de

modo que a distância entre janelas adjacentes fossem de ca. 0,05 nm; cada janela foi sucessivamente simulada por 10ns. Deste processo foram obtidas as forças médias de restrição, cuja integração resulta no potencial de força média (PMF), como mostrado na equação 1 [57–59]:

$$W(r) = \int_{r_0}^r \left[\langle f_c \rangle_s + \frac{2k_B T}{s} \right] ds + C \quad (1)$$

Na Eq. 1 r_0 é a distância mínima entre os centros de massa dos íons e r é a distância final registrada após a construção do PMF; $\langle f_c \rangle_s$ é a força média de restrição a uma distância s entre os íons; $\frac{2k_B T}{s}$ é a correção entrópica e C é uma constante escolhida de forma que $W(r)$ assintoticamente tende a zero em se aproximar a r tendendo a infinito. A constante de associação e as energias livres foram calculadas, respectivamente, pelas equações 2 e 3, como descrito em [57]:

$$K = \frac{1}{l - l'} \int_{l'}^l \exp\left(-\frac{w(r)}{k_B T}\right) dr \quad (2)$$

$$\Delta G = -k_B T \ln K \quad (3)$$

Na Eq. 2, $\Delta l = l - l'$ é o intervalo de r no qual $W(r)$ é definido.

3.2 Simulações Atomísticas: Inserção de ILs em Bicamada Fosfolipídica

Para as simulações atomísticas da interação dos ILs com a membrana plasmática foi escolhido como modelo de fosfolipídio o 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC), extremamente abundante nas membranas eucarióticas [60]. O

modelo de membrana solvatada foi obtido *online*[61], sendo parametrizado com o campo de força *Stockholm Lipids* que reproduz eficazmente dados experimentais, como perfil de densidade, coeficiente de difusão lateral e área por fosfolípido [61]. Como ponto de partida foram efetuadas simulações atomísticas de quatro cátions a base de imidazol com diferentes comprimentos de alquilação em um dos nitrogênios do anel: 3-butil-1-metil imidazólio (BMI); 3-n-octil-1-metil imidazólio (OMI); 3-n-dodecil-1-metil imidazólio (DMI) e 3-n-hexadecil-1-metil imidazólio (HMI). As substituições foram escolhidas *ad hoc* para poder ser sucessivamente simuladas através de um modelo *coarse-grained*. As estruturas dos quatro cátion avaliados estão presentes na Figura 51 no Apêndice B.1. As simulações foram extendidas por 110ns em uma membrana biológica solvatada, representada por 128 moléculas de fosfolípidios POPC, divididas em duas camadas de 64 moléculas cada. Por convenção o eixo z foi considerado perpendicular ao plano da bicamada, que se estende no sentido xy . Esta identificação é importante para a aplicação, de modo semi-isotrópica, da pressão: a componente em z foi tratada de forma distinta em respeito às componentes em x e y . A inserção do cátion na caixa com a membrana solvatada, na região do solvente, foi efetuada através do programa *g_membed*, através do qual o soluto é encolhido, inserido na caixa de simulação e sucessivamente o tamanho do mesmo é gradativamente aumentado até o valor inicial; particular atenção foi dedicada ao fato que nenhuma molécula de fosfolípido fosse eliminada do sistema. A análise dessas simulações envolveu a avaliação da interação entre os íons com o solvente ou com a bicamada (grupo fosfato, grupo colina, glicerol e ácidos graxos). Além disso, a fim de avaliar detalhadamente o efeito perturbativo da inserção dos íons imidazólicos nas propriedades e características da membrana, foram calculados o perfil de densidade da bicamada, a área por fosfolípido e o deslocamento mínimo quadrado (MSD) relacionado com o coeficiente de difusão lateral dos lipídios. As análises foram efetuadas utilizando os instrumentos disponíveis pela plataforma Gromacs [53]. As figuras foram geradas nos programas gnuplot [62] e VMD [63].

3.3 Simulações *coarse-grained*

Nos últimos anos, simulações por dinâmica molecular *coarse-grained* (CG) se tornaram metodologias poderosas para o estudo da fase condensada de numerosos sistemas extremamente complexos, como grandes proteínas [64, 65], membranas biológicas procarióticas e eucarióticas [43], e os ácidos nucleicos, portadores da informação genética (DNA, RNA)[42]. As técnicas CG reagrupam um número definido de átomos, dependendo de cada modelo, em partículas de tamanho maior que refletem as características físicas médias dos átomos envolvidos. Entre vários modelos CG encontrados na literatura [66, 67], o método Martini [44], desenvolvido pelo Prof. Marrink na Universidade de Groningen, Países Baixos, se tornou o mais utilizado para simulações de sistemas biológicos, principalmente membranas plasmáticas e proteínas transmembranas. Visando as simulações das interações de líquidos iônicos com membranas celulares, escolheu-se trabalhar com este modelo amplamente parametrizado para as simulações CG deste estudo. O método Martini reúne normalmente 4 átomos pesados, desconsiderando assim os hidrogênios, em grupos definidos como *beads* (partículas). Cada uma dessas *beads* possui carga e/ou parâmetros σ e ϵ de Lennard-Jones levemente diferentes, sendo assim possível classificá-las em 4 grandes categorias: as Q-beads, carregadas; as P-beads, polares; as N-beads são definidas como não-polares (podem interagir via ligações de hidrogênio) e as C-beads representam átomos apolares. Sempre dependendo dos parâmetros de cada *bead*, as mesmas são diferenciadas em 4 níveis de atração diferentes (de atrativa a repulsiva). As *beads* também podem apresentar 4 níveis de capacidade de doação ou aceitação de ligações de hidrogênio (a = aceitador; d = doador; da = aceitador e doador; 0 = não interagem por ligações de hidrogênio), podendo assim gerar 18 tipos diferentes de interações intermoleculares entre elas. Todas as possíveis combinações das forças de interação entre as *beads* podem ser encontradas em [44]. Além da interação, para poder corretamente reproduzir as propriedades físico-químicas de um sistema como na simulação atomística, é extremamente importante a definição do tamanho das *beads*. Em um primeiro momento, as partículas foram definidas com um tamanho idêntico de raio 0,3 nm e peso molecular de 72 u.m.a., exceto para aquelas encontradas em estruturas anelares, as quais incluem somente 3 átomos, apresentando um

raio de 0,27 nm e 54 u.m.a. [44]. No momento, a versão Martini 3.0 está sendo desenvolvida para poder incluir as *tiny beads T*, com tamanho ainda menor (36 u.m.a.) para poder, por exemplo, reproduzir a inserção de uma molécula de água de solvatação entre duas proteínas.

A escolha do reagrupamento dos átomos e das características das *beads* se torna assim uma etapa fundamental da simulação, chamada de mapeamento ou *mapping*. Até simples moléculas, como os íons imidazólicos tratados neste trabalho, poderiam apresentar mais de um tipo de *mapping*, dependendo do centro de massa de cada nova partícula formada. Por este motivo é importante avaliar qual configuração CG representa melhor as propriedades do material através de testes com mapeamentos diferentes. É importante evidenciar que na literatura o modelo CG Martini é amplamente utilizado para simulações de bicamadas lipídicas e moléculas biológicas, mas não foi desenvolvido ainda um modelo CG acoplável com o Martini para ILs. Um dos objetivos desse trabalho é criar um modelo *coarse-grained* para líquidos iônicos da família N,N-dialquil imidazol em líquidos puros e pares de contato, a ser utilizado com o modelo Martini já existente, visando investigar a inserção de pequenas concentrações de ILs em membranas biológicas. Para uma primeira simulação de moléculas a base de imidazol, a estrutura da cadeia lateral do aminoácido histidina foi utilizada como molde sobre o qual foi construído o primeiro mapeamento dos cátions tratados. Esta estrutura já foi amplamente estudada e analisada com o modelo Martini e comprovado que representa e reproduz corretamente as interações do anel imidazólico da histidina no contexto de uma proteína [64]. Algumas considerações foram feitas: diferentemente do aminoácido, as cargas positivas e negativas de cátion e ânion foram igualmente distribuídas nos dois *beads* que contêm os dois nitrogênios do anel. Ao mesmo tempo, devido ao maior espaço ocupado pelos grupos metila no imidazol, foi considerada uma distância de ligação entre as partículas do cátion de 0,3 nm, enquanto para o ânion foi mantida a distância de 0,27nm presente no modelo da histidina. As estruturas resultantes do cátion 1,3-dimetil imidazol e do ânion imidazolato podem ser observadas em Figura 7. As áreas sombreadas evidenciam as *beads* formadas para cada estrutura, podendo perceber quais átomos foram incluídos em cada partícula. Existem duas *beads* idênticas em cada íon devido às suas estruturas simétricas; o cátion na Figura 7a é assim

composto por uma partícula SC4, ou seja, apolar porém bastante polarizável, e duas SQd, *beads* carregadas e doadoras de ligação de hidrogênio. O ânion, por outro lado, é representado por duas *beads* SQa, partículas carregadas e aceitadoras de ligações de hidrogênio, e a mesma SC4 que representa a parte de trás do anel, incluindo os carbonos C4 e C5 (Figura 7b). É importante evidenciar que a influência do carbono 2 e do hidrogênio a ele ligado na carga de cada partícula foi igualmente distribuída entre as duas *beads* SQd e SQa de cátion e ânion, respectivamente.

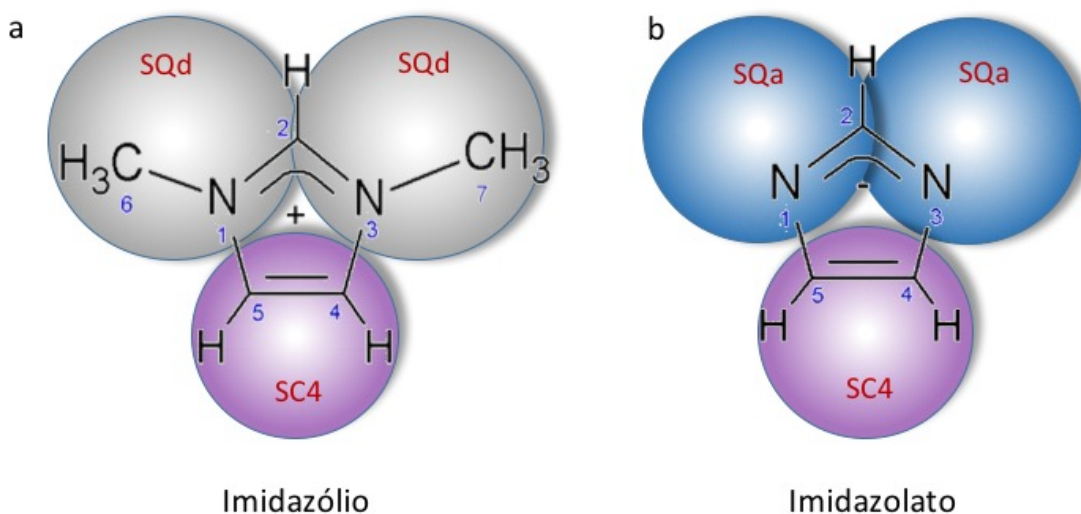


Figura 7: Representação do mapeamento do a) cátion imidazólio e b) ânion imidazolato. As características de interatividade de cada *bead* são incluídas e evidenciadas pelo nome em vermelho: SQd, carregada doadora de ligação de hidrogênio; SC4, apolar; SQa, carregada aceitadora de ligação de hidrogênio [autoria própria].

Para poder validar o método de mapeamento escolhido e as escolhas da interatividade das *beads*, foram analisados vários sistemas de pares iônicos de contato em diferentes solventes, assim como foram simulados líquidos iônicos puros, para ser comparados com os resultados obtidos através de cálculos atomísticos. Na descrição dos solventes foram escolhidos os seguintes mapeamentos: clorofórmio (C4), diclorometano (C5), acetona (Na), DMSO (P3), isopropanol (P1), água (P4). Em cada caso, uma única *bead* representa a molécula inteira de solvente, exceto para o caso da água, onde 4 moléculas de água formam a partícula P4 utilizada. No caso

da simulação da membrana plasmática, o modelo para a molécula de POPC foi obtido através do banco de dados do modelo Martini *online* [68]. Foi construída uma caixa com 128 fosfolipídios totais, divididos em duas camadas, espelhando o sistema atomístico descrito acima. Os cátions analisados, BMI, OMI, DMI, HMI foram mapeados a partir do cátion imidazólio, como mostrado na Figura 7, incrementando uma *bead* C1 a cada grupo butil adicional da cadeia lateral. No cátion BMI foi adicionada uma única *bead* C1, no caso do OMI duas, para o DMI três *beads* C1 e por fim, o HMI apresentou quatro partículas C1 ligadas a um dos nitrogênios do anel imidazólico. As estruturas com os devidos mapeamentos podem ser encontradas na Figura 51 no Apêndice B.1.

Nos sistemas analisados em CG, para manter a temperatura constante em 298,15 K e a pressão a 1 bar foram utilizados o redimensionamento das velocidades e o barostato Parrinello-Raman [50] como no caso de simulação atomística. As interações eletrostáticas não são consideradas muito exatas no modelo Martini, principalmente considerando o fato que é utilizada uma constante de *screening* de 15 (constante dielétrica do meio). É utilizado assim o campo de reação, ao invés do método Particle Mesh Ewalds (PME), para obter melhores propriedades dessas interações, até um raio de corte de 1,1 nm. Os comprimentos de ligação no anel foram mantidos constantes através do algoritmo LINCS [52]. Durante o desenvolvimento, foi utilizado um tempo de integração de 20 fs, e as trajetórias foram salvas a cada 1000 passos. Desfrutando a grande vantagem de maior rapidez de desempenho e o menor gasto computacional, todos os sistemas foram simulados inicialmente por 500ns. As análises estruturais e propriedades físico-químicas foram obtidas da mesma forma das simulações atomísticas, utilizando os instrumentos fornecidos pela plataforma Gromacs 2016.1 [48]. As figuras também foram geradas nos programas gnuplot [70] e VMD[71] e a presente monografia está escrita em L^AT_EX, com a formatação pela classe abnT_EX2.[72]

4 Estudo de estrutura de pares iônicos de contato

4.1 Efeito da metilação nas interações entre os pares de contato

O entendimento das interações envolvidas na formação de pares iônicos de contato é extremamente importante para poder compreender as propriedades químicas demonstradas pelos mesmos. Diferentes estudos foram descritos na literatura sobre CIPs constituídos por cátion imidazólico e vários ânions de natureza inorgânica, porém não se encontram estudos com ânions maiores e aromáticos, como o caso do imidazolato. Um primeiro estudo [21] foi assim focado na determinação do efeito do grau de metilação sobre a estrutura e interação entre cátion e ânion baseados no imidazólio em condições de diluição infinita. Na Figura 8 são apresentados cada um dos seis diferentes cátions estudados, com respectivos nomes completos e abreviados, apresentando diferentes combinações de metilações simples no anel imidazólicos. Os cátions foram analisados cada um separadamente com o ânion imidazolato em clorofórmio.

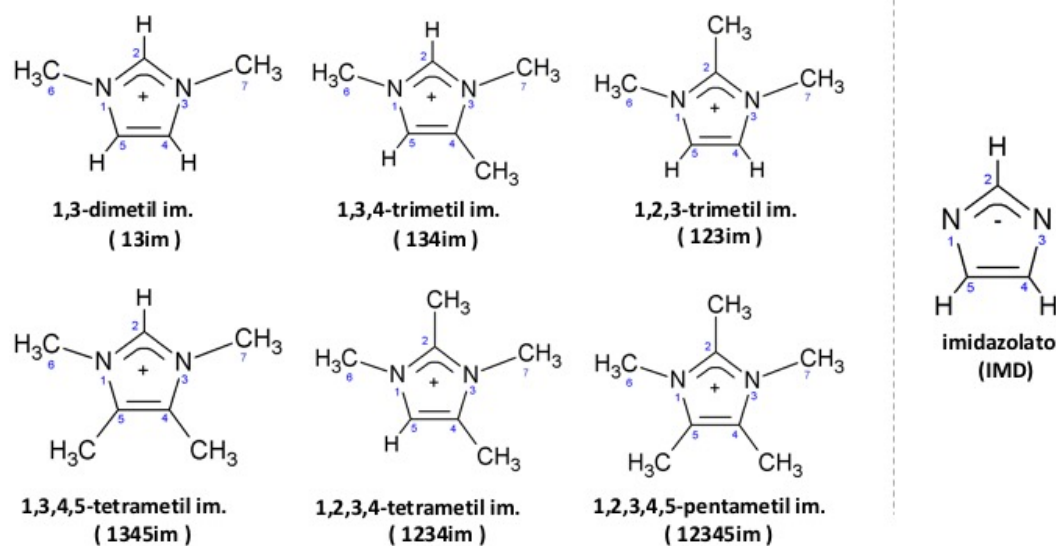


Figura 8: Estruturas representativas dos cátions com diferentes metilações analisados no estudo com o ânion imidazolato em clorofórmio [21].

A análise estrutural, deduzida pelas distâncias mínimas, funções de distribuição radial (RDFs) e funções de distribuição espacial (SDFs), demonstrou em um primeiro momento que sempre houve formação de pares iônicos estáveis neste solvente ao longo de todo o tempo de simulação (40ns) para todos os pares avaliados. Na Figura 9 são representadas as RDFs obtidas para o hidrogênio/grupo metila em posição C2 do anel do cátion com respeito aos nitrogênios e hidrogênios do ânion; já na Figura 10, encontram-se as RDFs com os mesmos grupos do ânion imidazolato em relação aos hidrogênios/grupo metila ligados ao carbono C5 de todos os cátions analisados. Da Figura 9a e b pode-se perceber pela altura das curvas como a interação do ânion com os cátions que apresentam um hidrogênio em C2 (13im, vermelho;134im, verde e 1345im azul claro) é bem mais significativa com respeito aos cátions com o grupo metila (123im azul;1234im roxo e 12345 laranja), chegando a ser, em média, 8 vezes mais forte. Além disso, esta interação é totalmente independente de outras metilações que podem estar presentes no anel do cátion. Como observado também em outros trabalhos, o hidrogênio na posição 2 é o mais importante no desenvolvimento de interações de hidrogênios [69]. Este hidrogênio ligado ao carbono 2 do anel do cátion, de fato, é encontrado em distâncias no intervalo de ligação de hidrogênio ($< 0,3$ nm) com respeito aos nitrogênios do ânion, por isso a maior interação. Zhao *et al.* [16] relataram que ambos os hidrogênios e os grupos metilas diretamente ligados ao anel possuem potencial eletrostático positivo suficiente para interagir com o ânion através de ligações de hidrogênio, embora o carbono C2 possa ter carga parcialmente positiva. Por outro lado, na presença de grupo metila na posição C2 esta interação diminuiu fortemente: neste caso, os hidrogênios na posição C5 contribuem majoritariamente para a interação com o ânion, como pode ser visto na Figura 10 a e b; principalmente, os cátions 1,2,3 trimetil Im. (azul) e 1,2,3,4 tetrametil Im. (roxo) apresentam a maior interação com os nitrogênios do cátion, porém, não sendo tão doadores como o hidrogênio em C2, a interação torna-se bem mais fraca. Além disso, a correlação a distâncias maiores dos cátions 1345im (azul claro), 13im (vermelho) e 134im (verde) reflete o observado na Figura 9a e b: a interação preferencial do cátion e ânion via hidrogênio em C2 afasta do imidazolato os grupos do outro lado do anel, ligados aos carbonos C4 e C5.

Grupos H / metila em posição C2 cátion

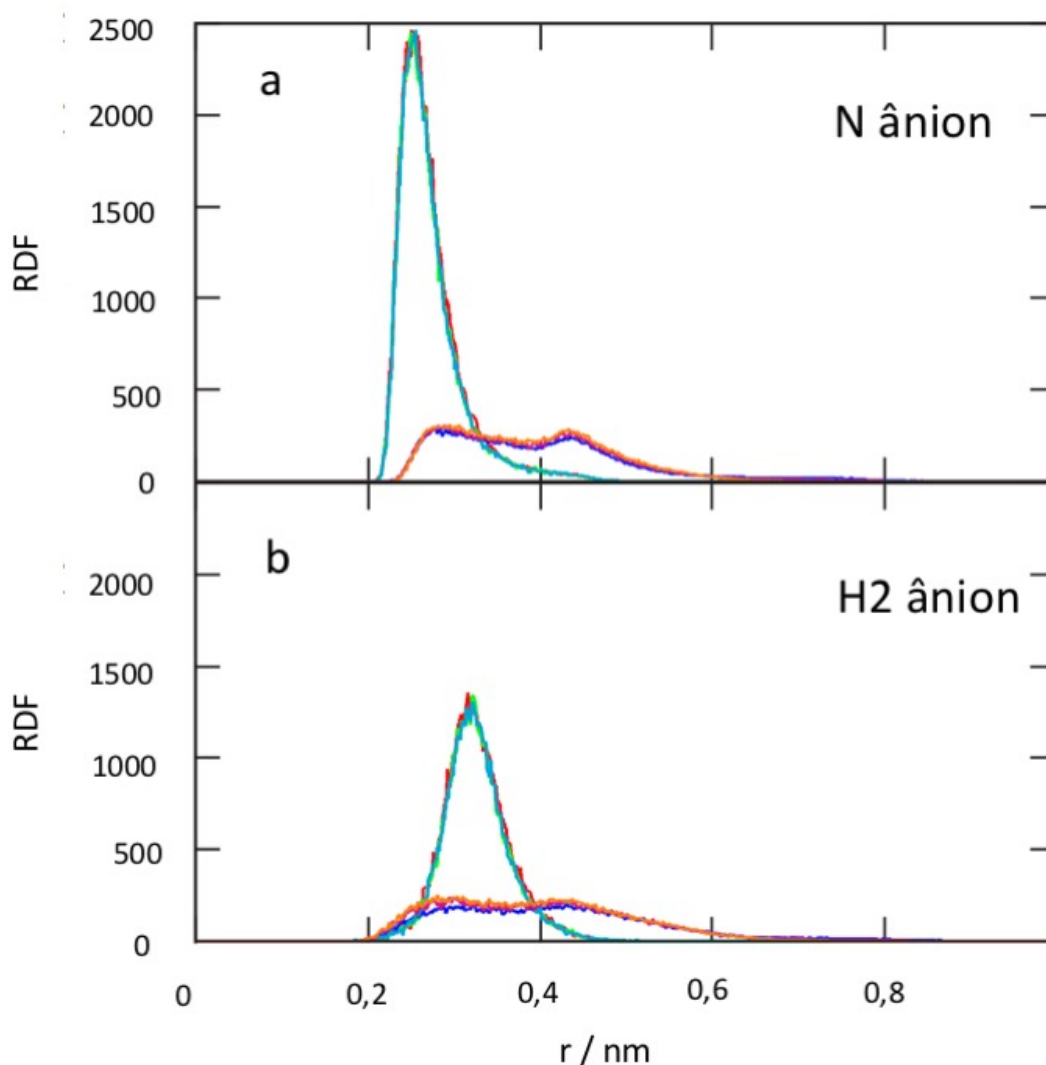


Figura 9: RDFs dos grupos substituíntes no C2 do cátion com (a) os nitrogênios do ânion e (b) os hidrogênios do ânion; vermelho: 13 Im., verde: 134 Im., azul claro: 1345 Im., azul: 123 Im., roxo: 1234 Im., laranja: 12345 Im. As curvas azul claro, verde e vermelho são sobrepostas, assim como as curvas azul, roxa e laranja. [21].

Por último, vale a pena ressaltar o comportamento do cátion que apresenta todos os hidrogênios substituídos com grupos metilas, o 1,2,3,4,5-pentametil Im (12345im, laranja). Este cátion não pode interagir com o ânion via ligação de hidrogênio: o sítio de interação preferencial, comparando as interações na Figuras 9 e 10, se

Grupos H / metila em posição C5 cátion

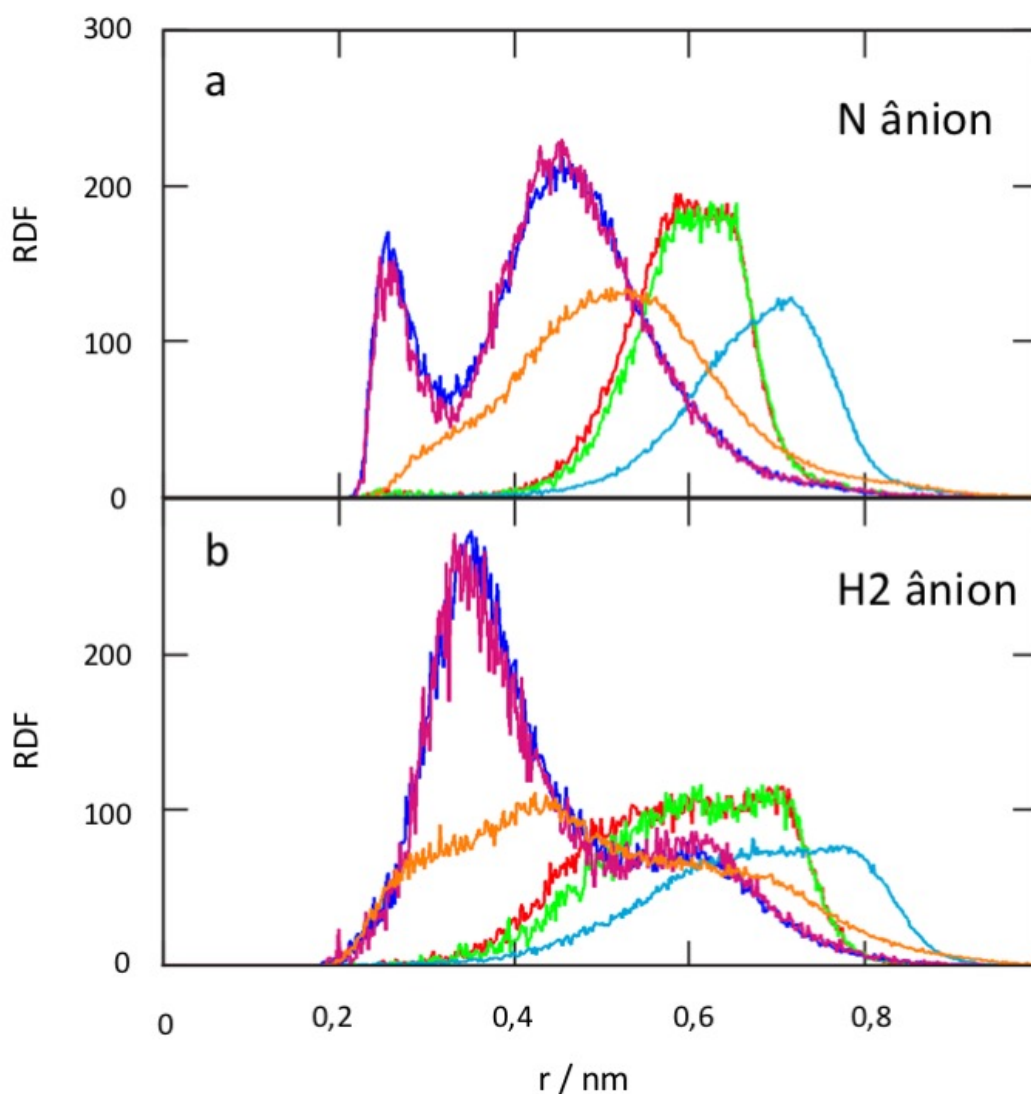


Figura 10: RDFs dos grupos substituíntes no C5 do cátion com (a) os nitrogênios do ânion e (b) os hidrogênios do ânion; vermelho: 13 Im., verde: 134 Im., azul claro: 1345 Im., azul: 123 Im., roxo: 1234 Im., laranja: 12345 Im.[21].

torna assim o grupo metila em C2. Este fato foi demonstrado também através de análise de funções de distribuição espacial, apresentadas na Figura 11a e b. As Figuras 11a e b são organizadas de forma que os cátions metilados no carbono 2 do anel encontram-se abaixo dos correspondentes não metilados da fileira de cima.

Como pode ser visto na Figura 11a, devido à uma maior interação cátion-ânion, as estruturas que compreendem cátions não metilados em C2 (1,3 dimetil Im.; 1,3,4-trimetil Im.; 1,3,4,5-tetrametil Im.) são mais rígidas, e conseqüentemente, possuem uma isosuperfície de densidade mais concentradas nas proximidades do ânion.

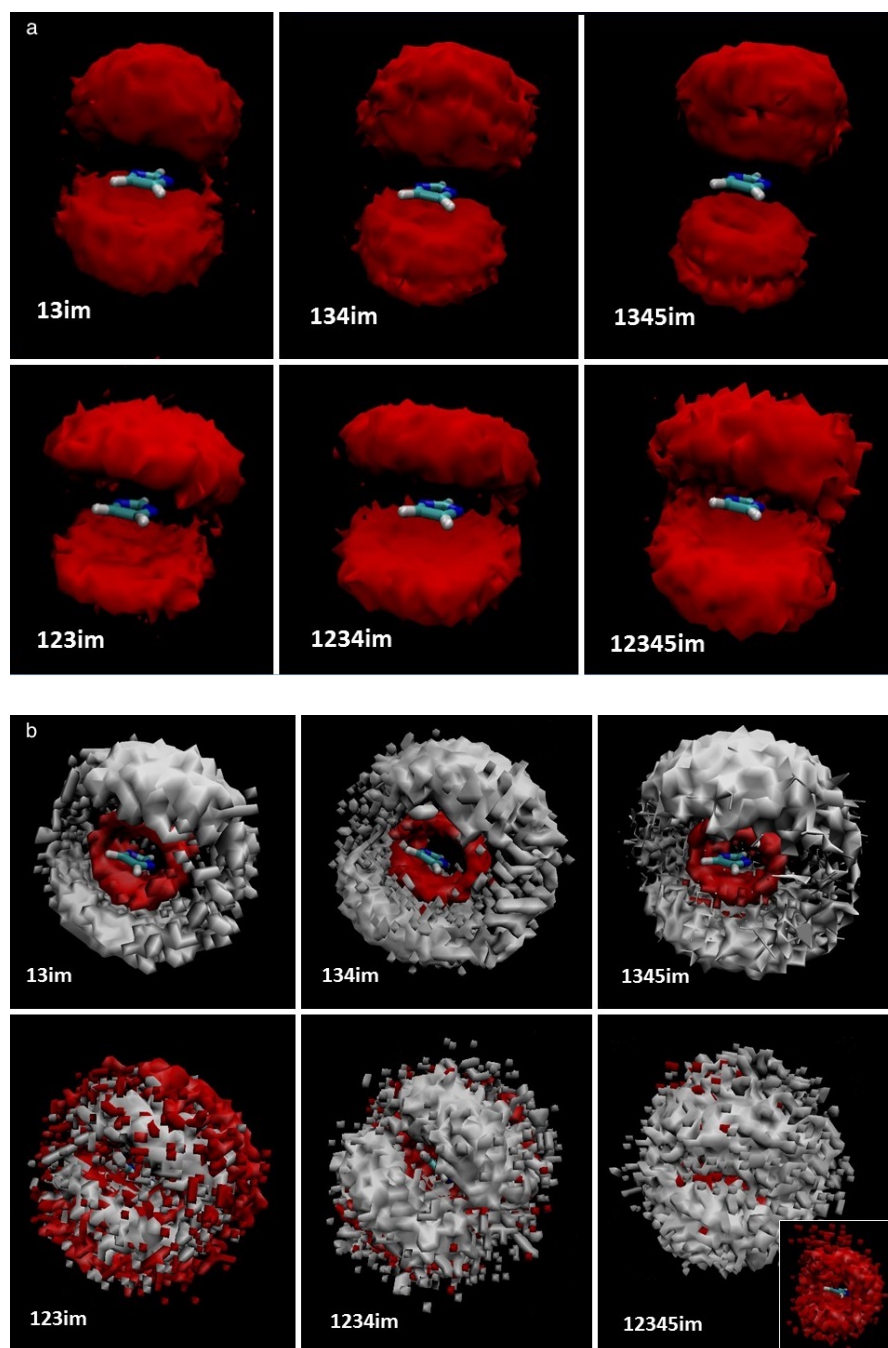


Figura 11: (a) SDFs dos cátions analisados (vermelho) com respeito ao ânion imidazolato (central) e (b) SDFs detalhadas sobre a posição do hidrogênio H2 (vermelho) e os hidrogênios H4-H5 (cinza) ao redor do ânion. [21].

De forma geral, todos os cátions se localizam preferencialmente em cima ou abaixo do plano anel do ânion, como pode ser visto pelos SDFs na Figura 11a, comprovando a importância da existência de interações $\pi^+ - \pi^-$ entre as duas espécies aromáticas. Mais em detalhes da estrutura do par iônico formado, na Figura 11b é representada a contribuição de cada hidrogênio do cátion na interação espacial com o ânion. Quando presente (na fileira de cima), o hidrogênio em C2 (vermelho) se encontra sempre mais próximo ao ânion com respeito ao resto da molécula do cátion (cinza), confirmando a presença de uma forte interação ou ligação de hidrogênio. No caso especial do cátion 1,2,3-trimetil Im., por causa do maior impedimento estérico do grupo metila em C2, os hidrogênios ligados aos carbonos C4 e C5 do cátion interagem prioritariamente com o imidazolato. Essa mesma condição não é mantida para o cátion 1,2,3,4-tetrametil Im., já que o grupo metila no carbono 4 não permite a aproximação da parte traseira do anel ao ânion. Por último, na Figura 11b em baixo a direita está o caso especial do cátion completamente metilado, o 1,2,3,4,5-pentametil Im.: neste caso o grupo metil em C2 se encontra mais próximo do ânion com respeito ao resto do cátion (detalhe), como já discutido para a Figura 10, provavelmente devido a maior carga positiva do mesmo e do efeito estérico criado pelos dois grupos metila nos carbonos C4 e C5 (cinza).

Através da análise estrutural obtida por RDFs e SDFs, foi possível verificar a presença de interações $\pi^+ - \pi^-$ entre os planos aromáticos dos íons e ligações de hidrogênios entre, principalmente, os hidrogênios em C2 do cátion e os nitrogênios do ânion. A forte correlação observada na Figura 9a para o próton em C2 sugere uma maior perturbação das interações $\pi^+ - \pi^-$ entre o par cátion-ânion. Interessante se torna, assim, uma avaliação do conjunto das duas contribuições sobre a estrutura do par de contato. Com esse objetivo, foram calculadas as distribuições angulares entre os planos dos anéis de cátion e ânion, relatadas na Figura 12. Os planos foram definidos pelos carbonos C2, C4 e C5 do anel dos imidazólios e imidazolato. São evidentes duas distribuições distintas: uma, com picos máximos nos ângulos de 10° e 170° (linhas azul, roxa e laranja), indicando uma conformação paralela entre os anéis, e a outra, com picos máximos mais amplos ao redor de 40° e 140° (linhas vermelhas, verde e azul claro). Os cátions que apresentam metilação na posição C2 seguem a primeira distribuição, comprovando que a presença do grupo metila auxilia

em manter o sistema paralelo. Já os hidrogênios introduzem uma conformação mais angulada, devido à forte interação de hidrogênio com os nitrogênios do ânion, sobressaindo a contribuição das interações $\pi^+ - \pi^-$.

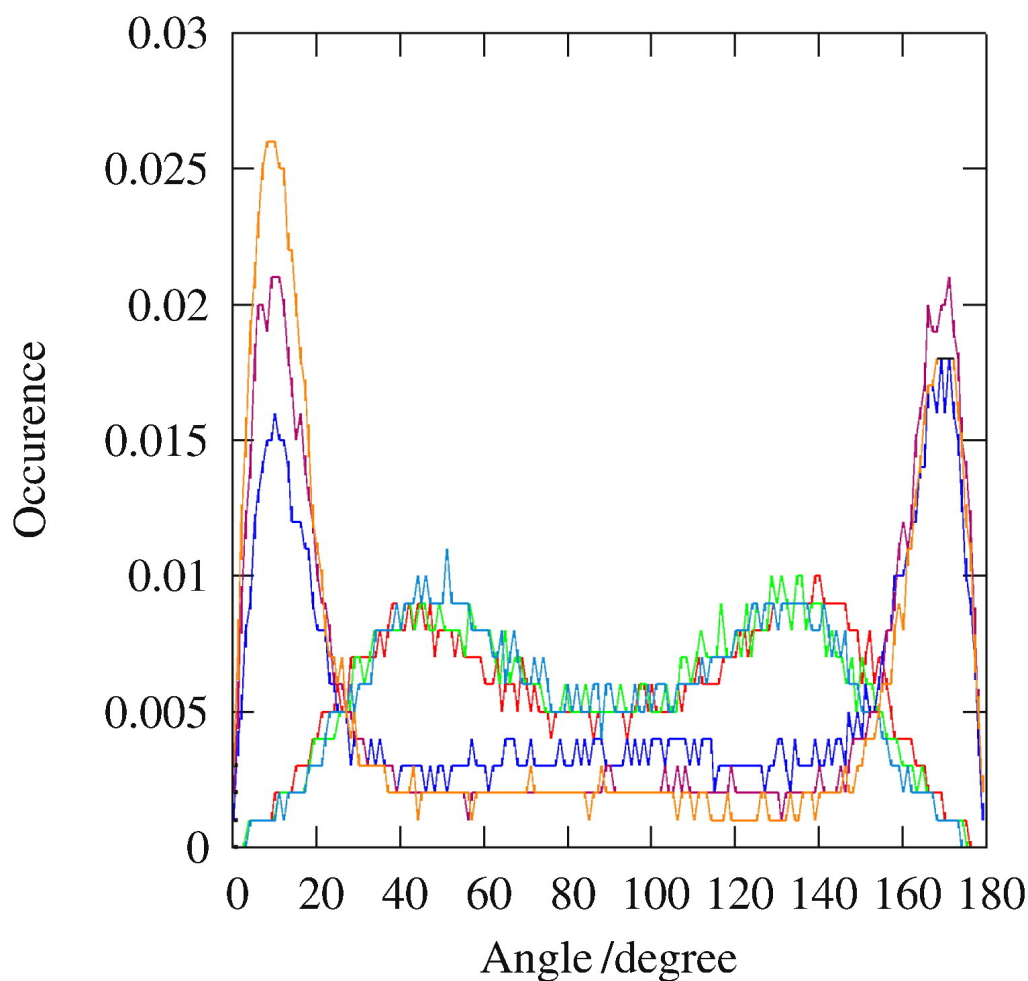


Figura 12: Distribuição angular entre os planos dos anéis de cátion e ânion. Verde: 1,3 Im., vermelho: 134 Im., azul claro: 1345 Im., laranja: 123 Im., roxo: 1234 Im., azul: 12345 Im. [21].

Para poder atribuir um valor numérico à maior interação dos cátions não metilados na posição C2, foram também calculados o PMF *Potencial of Mean Force* (potencial de força média) e as energias de associação (ΔG_b) entre os vários pares de contatos. Na Figura 13 encontram-se os histogramas das janelas do *umbrella*

sampling utilizadas para poder computar o PMF. O importante é que a amostragem seja homogênea a ca. 0,05nm e ocorram pequenas superposições em cada parte da trajetória de afastamento do cátion relativo ao ânion para ter uma análise contínua. Os valores mínimos no eixo x começam ao redor de 0,3nm a qual é a distância mínima encontrada entre os íons que constituem o par.

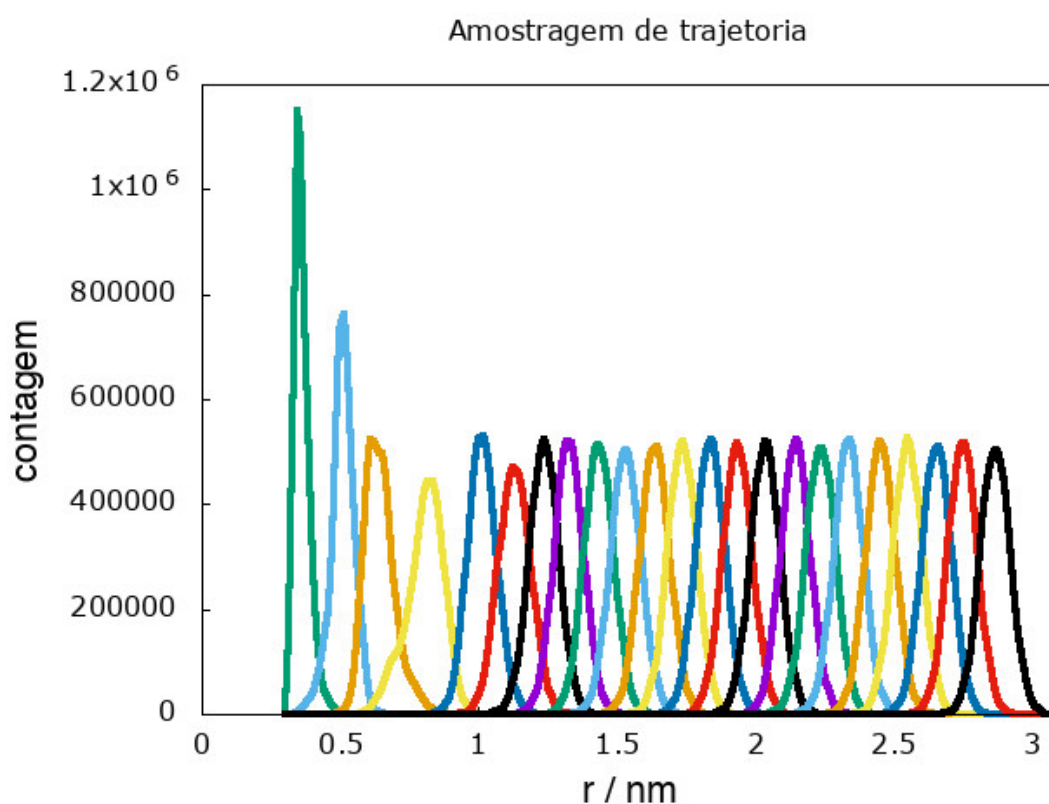


Figura 13: Janelas de amostragem de trajetória da separação entre cátion e ânion para o processo de *Umbrella sampling*.

Os perfis de potencial obtidos após 10ns de simulação de cada fração das trajetórias selecionadas para os pares 1,3-dimetil Im·IMD e 1,2,3-trimetil Im·IMD se encontram na Figura 14. Quanto menor o valor de potencial encontrado, maior a força de interação entre os íons do par. Foi encontrado, através das equações descritas na metodologia, que a diferença de energia entre as espécies com hidrogênio

em C2 em comparação com as metiladas é, em média, 13 kJ/mol mais forte para a espécie hidrogenada.

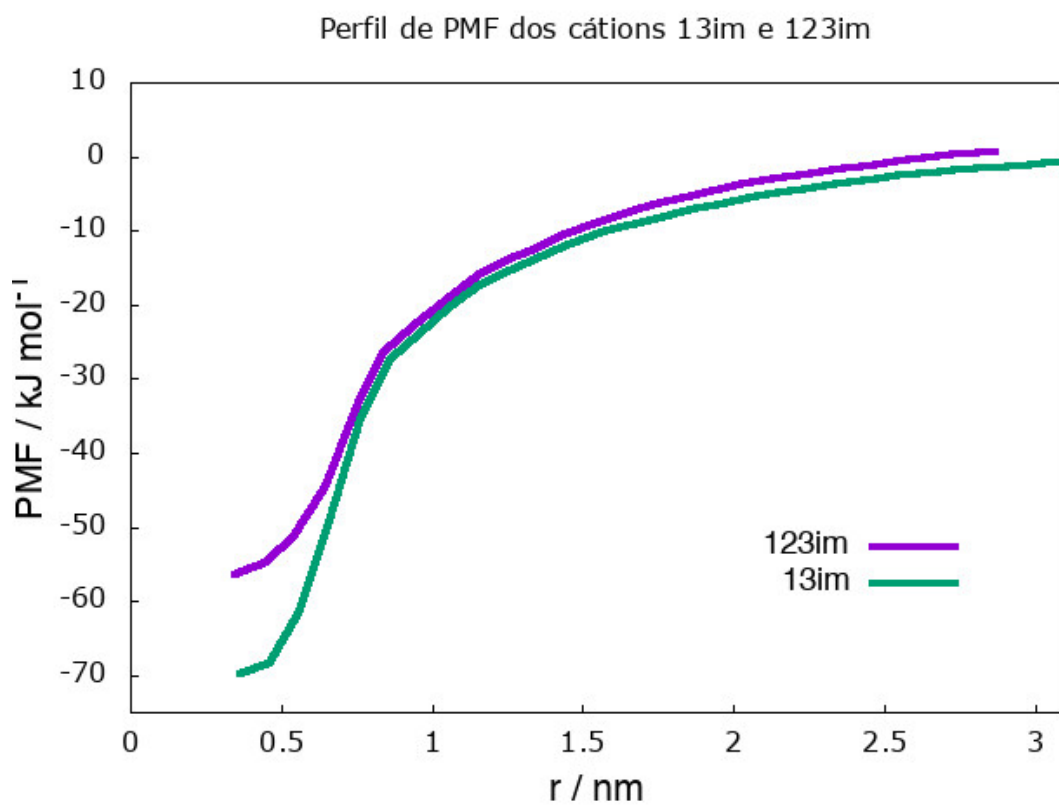


Figura 14: Perfil do PMF encontrado para os cátion 1,3-dimetil Im. (verde) e 1,2,3-trimetil Im. (roxo); quanto mais negativo o valor mínimo de potencial, maior a interação do par iônico.

4.2 Complexo supramolecular com água

Experimentalmente, ILs a base de imidazólio puros são extremamente difíceis de sintetizar, principalmente sem traços de água, já que são higroscópicos [70]. Já é sabido de que forma a água pode influenciar as propriedades químicas desses líquidos, como viscosidade, densidade, difusão, mobilidade e solubilidade de gás [71]. Por outro lado, pouco se sabe sobre os efeitos de traços de água restritos em pequenos espaços em ambiente iônico, como entre um cátion e um ânion em um par de contato. Em colaboração com o grupo do Prof. Dr. J. Dupont, iniciou-se estudos de ILs compostos pelos cátions 1,2,3-trimetilimidazólio (123im., Figura 8) e 1-n-butil-2,3-dimetilimidazólio (1b23im, Figura 49 no Apêndice A.7) com o ânion imidazolato (IMD) em clorofórmio, em presença de traços de água. As simulações foram efetuadas com um único par iônico coordenado com uma molécula de água por 60ns. Os resultados a seguir encontram-se no artigo publicado na revista PCCP [25].

Para toda a duração das simulações foi demonstrado que ambos os cátions com o ânion IMD se mantêm associados em pares de contato, como evidenciado pelo cálculo das distâncias mínimas entre os dois anéis na Figura 15 (linha verde). A molécula de água, por outro lado, encontra-se associada ao par pela maioria do tempo, como pode ser visto sempre na Figura 15 (linha vermelha); provavelmente, em alguns instantes, o par iônico separa-se instantaneamente, produzindo espaço suficiente para a molécula de água sair do complexo. Para melhor entender as interações presentes entre os íons e a molécula de água, foram calculadas as RDFs desse sistema. Como é possível observar na Figura 16, a existência de ligações de hidrogênio entre o par iônico e a água pode ser comprovada. Em azul são representados a interação dos nitrogênios do ânion com os hidrogênios (azul) e oxigênios (vermelho) da água. As linhas contínuas representam o sistema 123im·IMD com uma molécula de água, já as linhas tracejadas representam as análises para o par 1b23im·IMD. As distâncias dos primeiros picos encontrados para as interações N-H (0,184 nm) e N-O (0,275 nm) são comparáveis com as obtidas experimentalmente por difração de raios X, com valores de 0,189 nm e 0,278 nm, respectivamente. A integração dos primeiros picos revela que, em média, um dos hidrogênios da água é fortemente

coordenado com um dos nitrogênios do ânion.

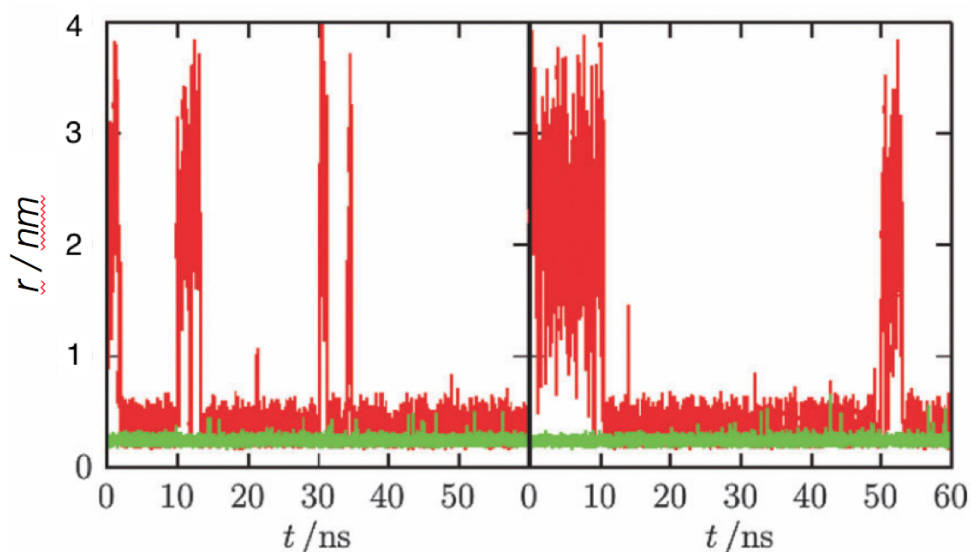


Figura 15: Distâncias mínimas entre os cátions e ânions (verde) e distância mínima entre a molécula de água e o cátion (vermelho), para o sistema 123im-IMD (esquerda) e o sistema 1b23im-IMD (direita) [25].

Cálculos por *density functional theory* (DFT), ao nível de teoria wB97XD//sp aug-cc-pVTZ, também demonstraram que a energia de interação do par com a molécula de água ($17,3 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$) indica a presença de forte ligação de hidrogênio. A distância da interação entre os hidrogênios da água e os nitrogênios do ânion, encontrada com valor de $0,166 \text{ nm}$, novamente é mais curta que a obtida por raios X ($0,189 \text{ nm}$ e $0,195 \text{ nm}$), provavelmente devido ao fato que nas simulações foi considerada uma única molécula de água, enquanto experimentalmente, em fase sólida, duas moléculas cristalizaram junto ao par iônico. Por outro lado, os ângulos O-H-N encontrados no cristal e por simulação DFT são congruentes: $170,1^\circ$ e $168,51^\circ$ respectivamente, corroborando novamente a presença de interações de hidrogênios. As simulações DFT também demonstraram que os íons assumem preferencialmente uma conformação quase-alinhada, anti-paralela, que é favorecida energeticamente por $1,9 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. Foi comprovado que esta conformação se mantém mais estável, com respeito a conformação paralela, por $1,3 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ também em presença da molécula

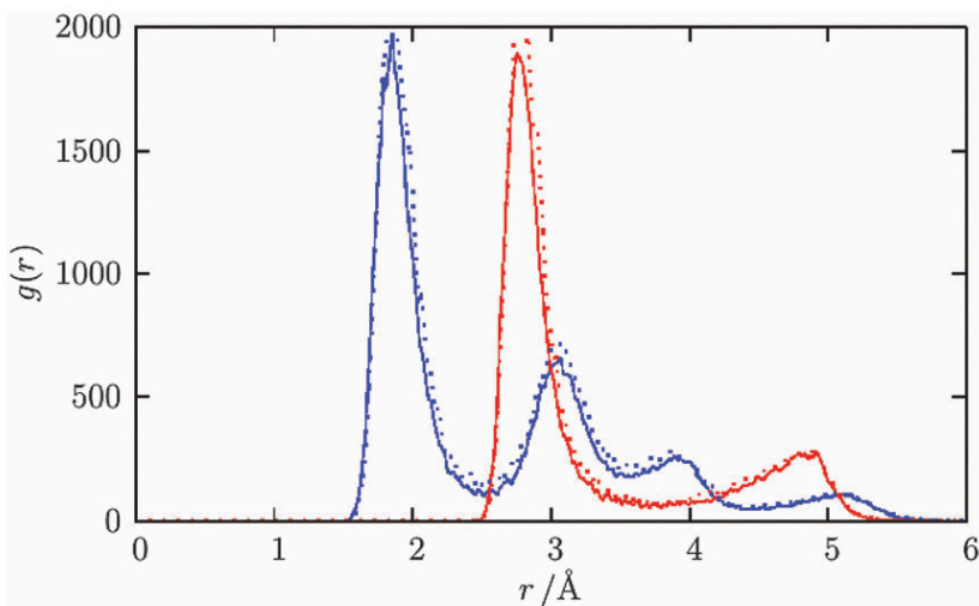


Figura 16: RDFs dos nitrogênios do ânion com os hidrogênios (azul) e oxigênios (vermelho) da água. Os resultados para o par 123im·IMD são representados com linha contínua, e para o par 1b23im·IMD com linha tracejada [25].

de água. Pela análise de distribuição espacial (SDF) efetuadas por dinâmica molecular, apresentadas na Figura 17, foi também comprovado que os íons mantêm um certo grau de $\pi^+ - \pi^-$ *stacking*: até em coordenação com uma molécula de água, o cátion se encontra preferencialmente acima ou abaixo (região azul) do plano do anel do ânion (central). A água, de consequência, ocupa preferencialmente os espaços no mesmo plano do anel do imidazolato (região vermelha). Fazendo uma comparação entre os cátions 1,2,3-trimetil imidazólio e 1-n-butil-2,3-dimetil imidazólio através das RDFs obtidas entre os hidrogênios de cátion e ânion, é possível perceber que a presença do grupo butil no cátion assimétrico 1b23im favorece a correlação e a interação com o ânion e com a água através do grupo metila, de menor volume, do outro lado do anel. De forma geral, analisando todos os resultados obtidos por RDFs, entre cátion e água, ânion e água e entre os mesmos cátion e ânion, além das SDFs já discutidas, foi possível afirmar que a molécula de água se encontra muito próxima ao par, porém, não intercalada entre os dois íons; o esquema da Figura 18 representa um modelo desta estrutura, além da sua reatividade, muito próximo a quanto encontrado por análise de raio X, como visível na Figura 2 em [25].

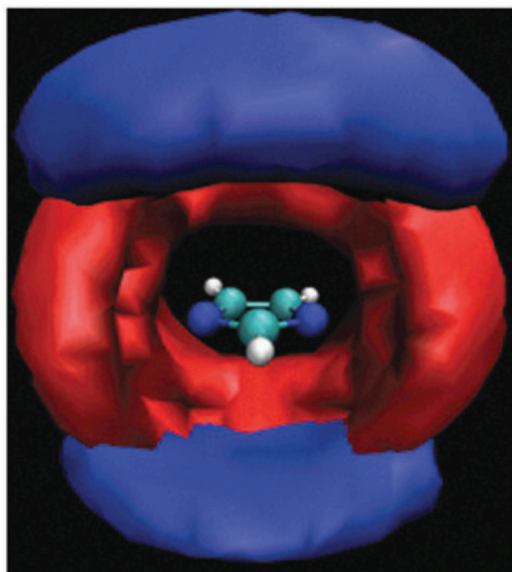


Figura 17: SDFs do cátion 1,2,3,trimetil Im. (azul) e da água (vermelho) ao redor do ânion imidazolato (centro); a distribuição espacial confirma a manutenção das interações $\pi^+ - \pi^-$ também em presença de uma molécula de água [25].

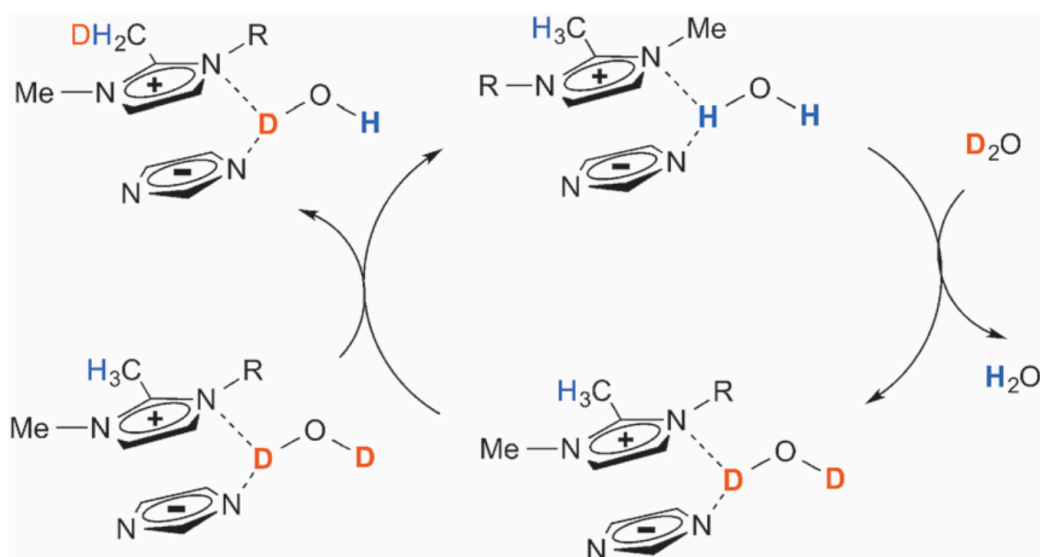


Figura 18: Esquema da estrutura e reatividade no processo de deuteração mediada pela água no complexo guest@host [25].

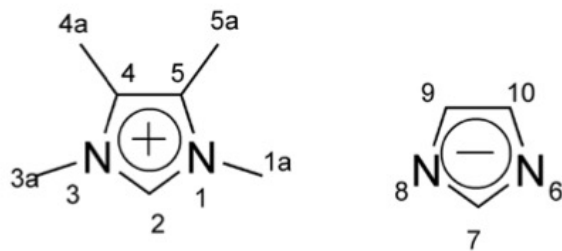
Esta estrutura foi classificada como um hóspede que não é covalentemente ligado à rede dos pares iônicos, formando uma espécie guest@host (água@ILs) [25], onde a água, molécula pequena, é circundada pelo par iônico em uma espécie de

cavidade. A água é acomodada na estrutura através de ligações de hidrogênio, modificando a interação entre os íons do par iônico e assim, também, a sua reatividade. Através de RMN foi observada uma diminuição do sinal dos hidrogênios do grupo metila ligado ao C2 do anel, e aparição de tripletos e quintetos devidos à presença de CH₂D e CHD₂ em solventes deuterados. Esta troca pode ser explicada pelo fato do ânion imidazolato atuar como base catalisadora da reação; já encontram-se na literatura reações de troca H/D envolvendo os cátion 123im e 1b23im em pares com contra-íons carbonato e prolinato [8]; porém, neste caso, o ânion IMD encontra-se muito mais fortemente associado com o cátion, não tendo assim disponível sítios básicos catalíticos para efetivar a reação. Como representado na Figura 18, a molécula de água confinada no ambiente iônico está na verdade agindo como mediadora e ativadora da troca H/D entre o solvente e o par de contato. Isso é corroborado pelo próprio fato que foi observado um mecanismo preferencial envolvendo os hidrogênios do carbono C7 do grupo metil ligado ao C2, mais próximo da água, ao invés dos hidrogênios diretamente ligados a estrutura do anel em C4 e C5 [25]. Além disso, essa propriedade da água pode também explicar a oxidação de nanopartículas de FeO em ILS livres de oxigênio e a estabilização de enzimas em altas temperaturas [72]. O modelo produzido pode ser muito útil em prever o comportamento das propriedades físicas e químicas de líquidos iônicos "úmidos" e a presença de água ativada deve ser considerada quando analisadas as propriedades físico-químicas dessa família de líquidos iônicos.

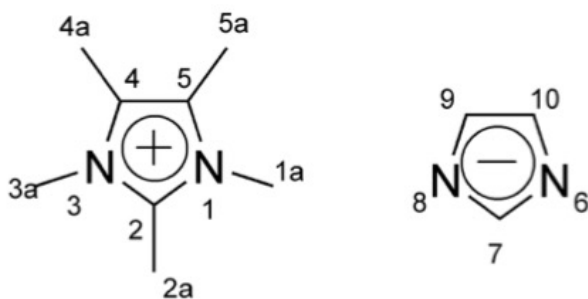
4.3 Efeito do solvente sobre a força de ligação e a interação dos pares iônicos

Como demonstrado na sessão anterior, as propriedades físicas e químicas dos ILs podem mudar drasticamente dependendo do ambiente de diluição onde se encontram. Assim, torna-se interessante entender a formação e o comportamento dos pares iônicos de contato em diferentes solventes [14], e caracterizar a estrutura e as interações intermoleculares nesses meios. Normalmente, pares iônicos de contato estáveis são encontrados em solventes com baixa e média constante dielétrica, como clorofórmio e CO₂ [25]. A formação de pares de contato em solventes mais polares é encontrada somente em concentrações maiores, como 0,2M em DMSO [25] e 1M em água. Vários estudos podem ser encontrados na literatura sobre a organização estrutural de CIPs principalmente em água e clorofórmio, porém, bem poucos estudos são encontrados em solventes com polaridades intermediária. Além disso, como já mencionado, a novidade do estudo está na utilização de um ânion de natureza aromática, como o imidazolato, na avaliação dos pares iônicos de contato. Decidiu-se estudar assim as estruturas e organização de CIPs em seis solventes: clorofórmio (constante dielétrica, ϵ_r : 5), diclorometano (ϵ_r : 8,9), acetona (ϵ_r : 17,9), isopropanol (ϵ_r : 22,5), DMSO (ϵ_r : 47,2) e água (ϵ_r : 80), nas mesmas condições de tamanho de caixa de simulação e concentração. Foram utilizados como modelos os dois pares iônicos de contato apresentados na Figura 19, respectivamente, o 1,3,4,5-tetrametil imidazólio (1345im) e o 1,2,3,4,5-pentametil imidazólio (12345im), com o ânion imidazolato (IMD).

A disposição espacial dos íons e da primeira camada de solvatação, além das energias de associação dos pares, foram analisadas ao longo de simulações atomísticas de duração 100 ns para poder entender o efeito da polaridade dos solventes sobre as interações entre cátion e ânion. Através das distâncias mínimas entre os íons, apresentadas na Figura 20, é possível perceber que, como esperado, com o aumento da constante dielétrica do solvente os pares de contato se tornam mais transientes: ambos os cátions analisados encontram-se completamente associados ao ânion em clorofórmio (distância inferior a 0,3 nm) e apresentam estado predominante de associação em acetona e diclorometano, apresentando cada vez mais fenômenos de



1,3,4,5 – tetrametil imidazólio imidazolato
(1345im · IMD)



1,2,3,4,5 – pentametil imidazólio imidazolato
(12345im · IMD)

Figura 19: Representação dos pares iônicos 1,3,4,5-tetrametil imidazólio e 1,2,3,4,5-pentametil imidazólio como ânion imidazolato, analisados em diferentes solventes, com a correspondente numeração dos carbonos usados.

dissociação por poucos ps. Por outro lado, em DMSO, os pares de contato são muito transientes na concentração atual simulada, de ca. 0,02M, e apresentam raros instantes de associação em um par iônico. Por último, em água (não mostrado) não são detectados íons complexados, já que o solvente de maneira eficaz solvata os dois íons. Particularmente, se torna interessante perceber como existe uma inversão de comportamento entre os solventes acetona e diclorometano: o segundo, bem menos polar, deveria propiciar uma solvatação mais fraca e, de consequência, um par iônico mais estável e associado por mais tempo.

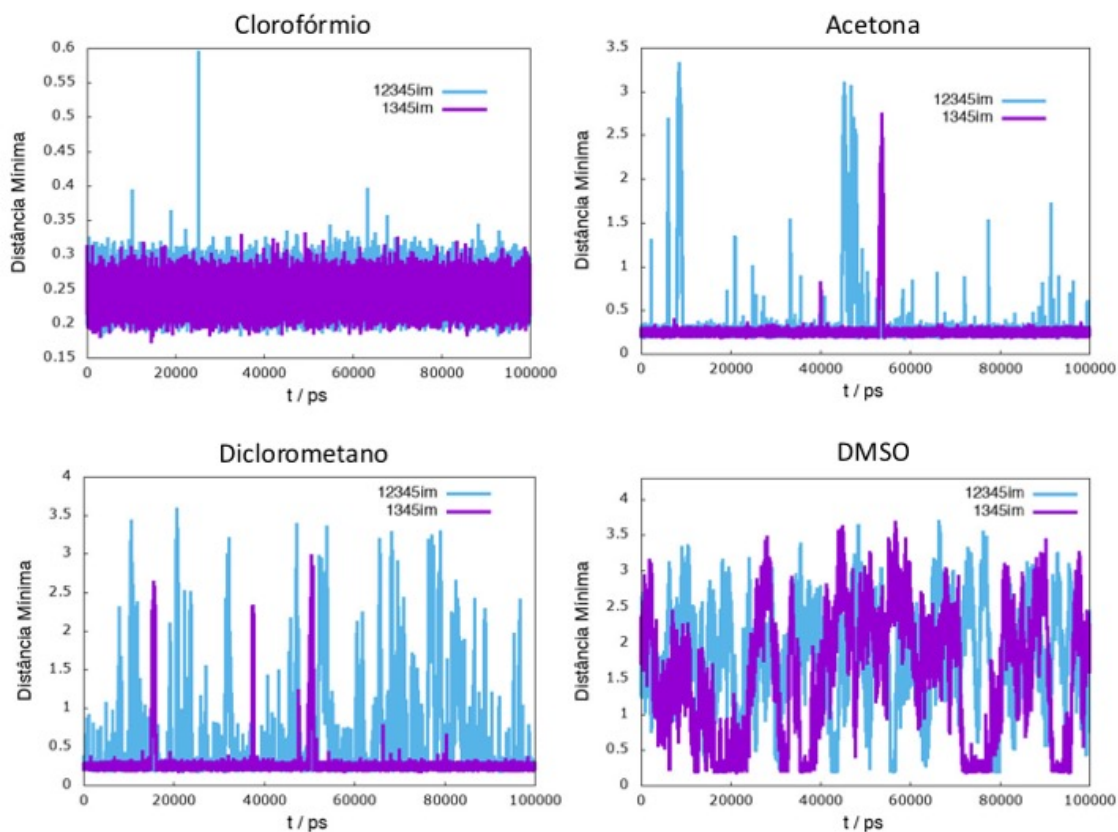


Figura 20: Distâncias mínimas entre o cátion e o ânion de cada par iônico analisados nos diferentes solventes ao longo de toda a simulação.

As funções de distribuição radial, representadas nas Figura 21 e 22 também corroboram para este comportamento atípico. Na Figura 21 são reportadas as RDFs do hidrogênio (1345im) ou grupo metila (12345im) do cátion em C2 com os nitrogênios do anel do imidazolato; já na Figura 22 as interações foram computadas com os hidrogênios em posição C2 do ânion. Como já discutido em sessões anteriores, pode-se perceber como a presença do hidrogênio no C2 do cátion 1345im aumenta a estabilidade do par com respeito ao 12345im, metilado na mesma posição. Todas as interações com o ânion são pelo menos 6 vezes mais intensas, independente do solvente, demonstrando a presença e importância de ligações de hidrogênio, principalmente com os nitrogênios do imidazolato; a influência desta interação é tão grande que se revela claramente em DMSO, onde a formação do par 12345im·IMD se torna indetectável. Mais nos detalhes, existe em todos os gráficos (Figura 21 e 22) um claro padrão de como a interação entre o cátion e o ânion diminui aumentando a polaridade do solvente. Como já mencionado, o solvente mais polar deveria

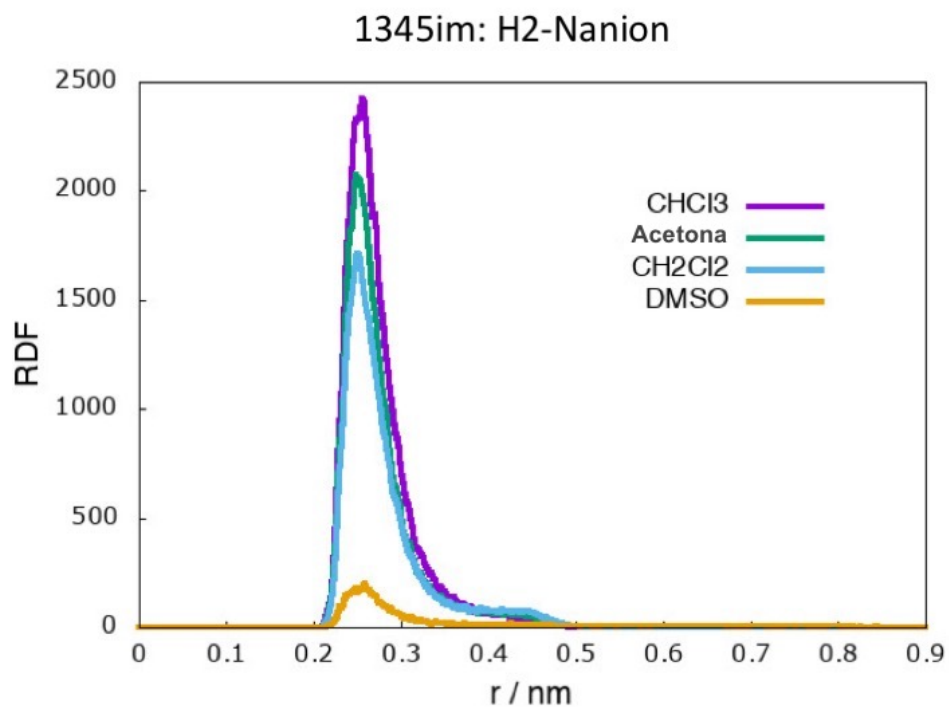


Figura 21: RDFs dos grupos ligados ao C2 dos cátions tratados com os nitrogênios do ânion nos diferentes solventes tratados; clorofórmio: roxo; acetona: verde; diclorometano: azul; DMSO: ocre.

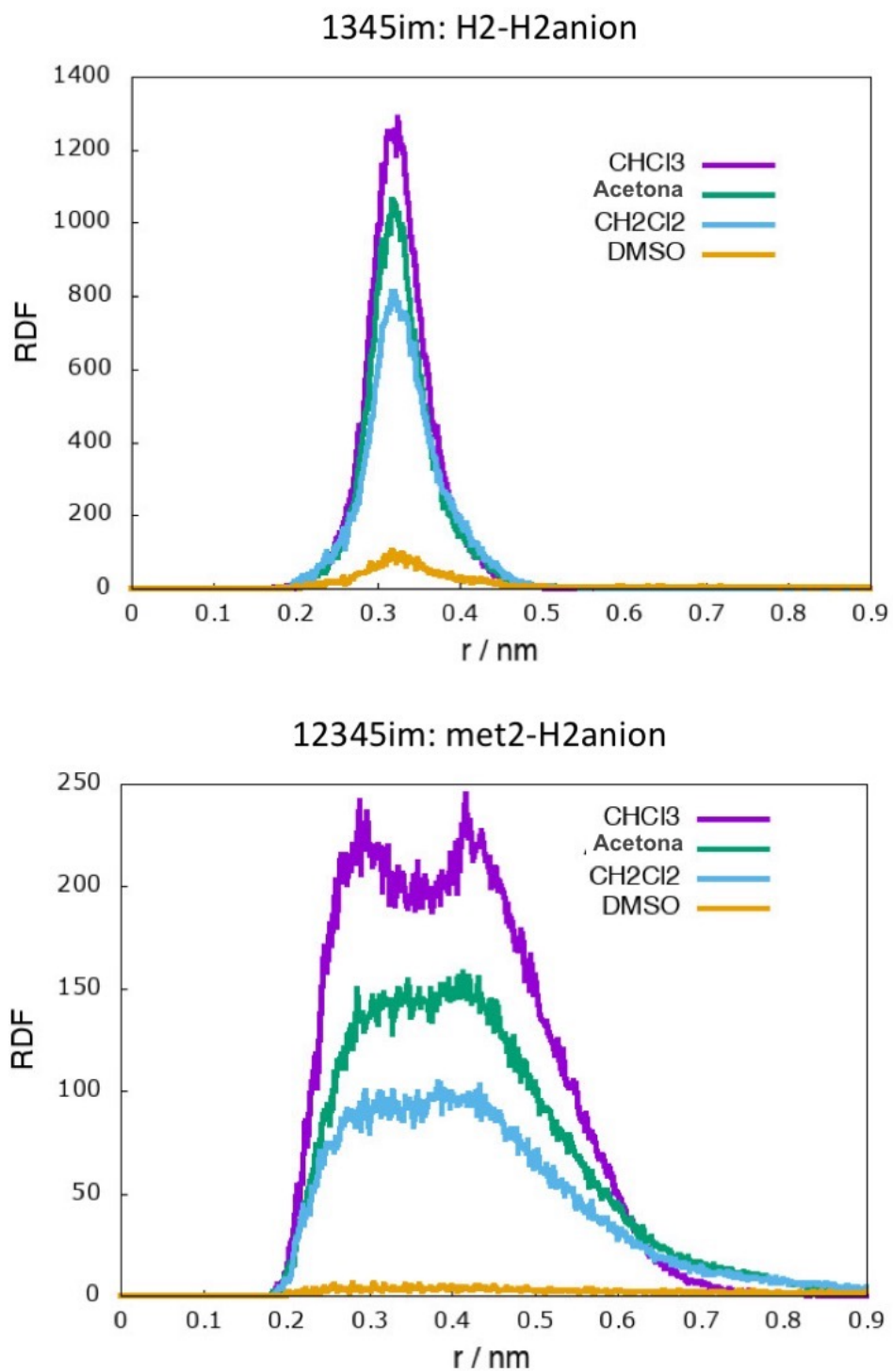


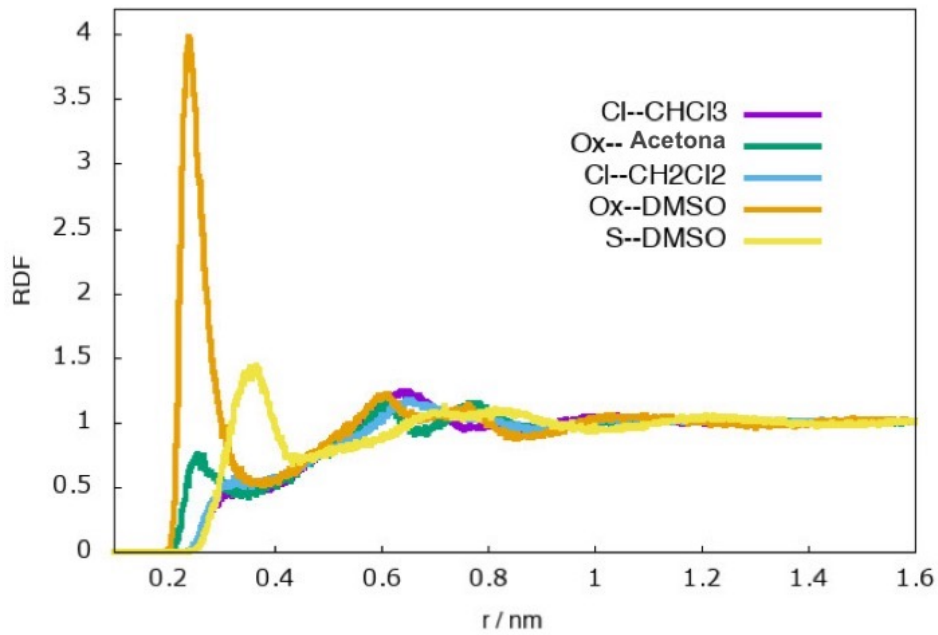
Figura 22: RDFs dos grupos ligados ao C2 dos cátions tratados com o hidrogênio no carbono 2 do ânion nos diferentes solventes tratados; clorofórmio: roxo; acetona: verde; diclorometano: azul; DMSO: ocre.

interagir de forma mais eficiente com os íons, solvatando-os e afastando-os, o que não acontece comparando acetona com diclorometano.

Temendo erros de simulação, os pares 1345im·IMD e 12345im·IMD foram sintetizados, dissolvidos em clorofórmio, diclorometano, acetona e DMSO e analisados por ressonância magnética NOESY, através de colaboração com o grupo do Prof. Dr. J. Dupont. Os dados experimentais comprovaram a tendência encontrada por dinâmica molecular: de fato, o par encontra-se mais estável em acetona com respeito a diclorometano. Esses dados, assim como todos os apresentados nesta sessão estão sendo organizados em uma publicação em fase de submissão. Como possível explicação, imaginou-se assim que este efeito dependa da orientação e organização das primeiras esferas de hidratação ao redor do par. Richardi *et al.*, comparando a solubilidade de vários íons monoatômicos em acetonitrila e acetona, relataram que não é só a contribuição eletrostática que domina as interações íon-solvente. A estrutura das moléculas de solvente ao redor do íon assume também um papel extremamente importante no potencial de interação: foi determinada uma disposição energeticamente desfavorável do acetonitrila ao redor do íon Na⁺ e, por isso, o próprio Na⁺ foi encontrado mais dissolvido em acetona, de constante dielétrica inferior [73]. Adicionalmente, Wang *et al.* estudaram a solubilidade e viscosidade do par 1-butil,3-metilimidazólio·BF₄⁻ em diferente solventes, incluindo diclorometano [74]. Avaliando as propriedades de excesso, que identificam desvios das interações solvente-soluto com respeito ao comportamento ideal, encontraram que todas as soluções apresentaram desvios negativos, indicando uma maior interação atrativa íon-solvente. Particularmente, a solução em diclorometano se comportou similarmente às soluções em acetonitrila ($\epsilon_r=36,01$) e dimetilformamida ($\epsilon_r=36,7$), bastante polares, com respeito ao comportamento do solvente 2-butanona ($\epsilon_r=18,5$), mais apolar. Com essas premissas, foram analisadas as RDFs de cátion e ânion com os solventes. Especificamente, na Figura 23 são reportadas as interações entre o hidrogênio ou grupo metila em C2 do cátion com o grupo mais eletronegativo do solvente. No caso do DMSO foram avaliados os oxigênios e também os átomos de enxofre, e, como esperado, este solvente se encontra abundantemente associado ao redor do cátion.

Analisando mais em detalhe as interações com acetona (verde) e diclorome-

1345im: H2-solvente



12345im: met2-solvente

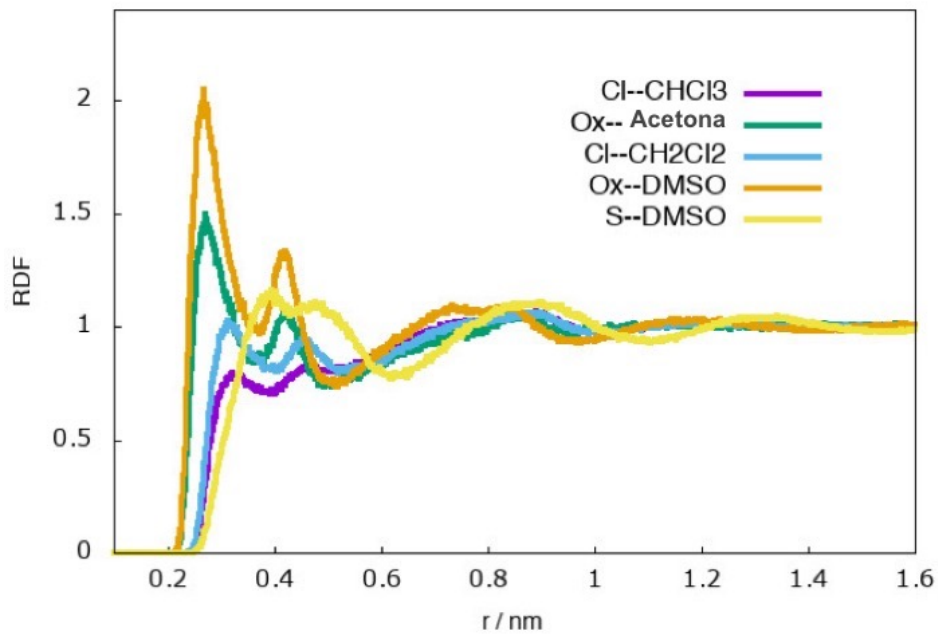


Figura 23: RDFs dos grupos ligados ao C2 dos cátions tratados com os grupos mais eletronegativos dos solventes tratados: cloro para clorofórmio (roxo) e diclorometano (azul), oxigênios para acetona (verde) e DMSO (ocre) e também enxofre para o DMSO (amarelo).

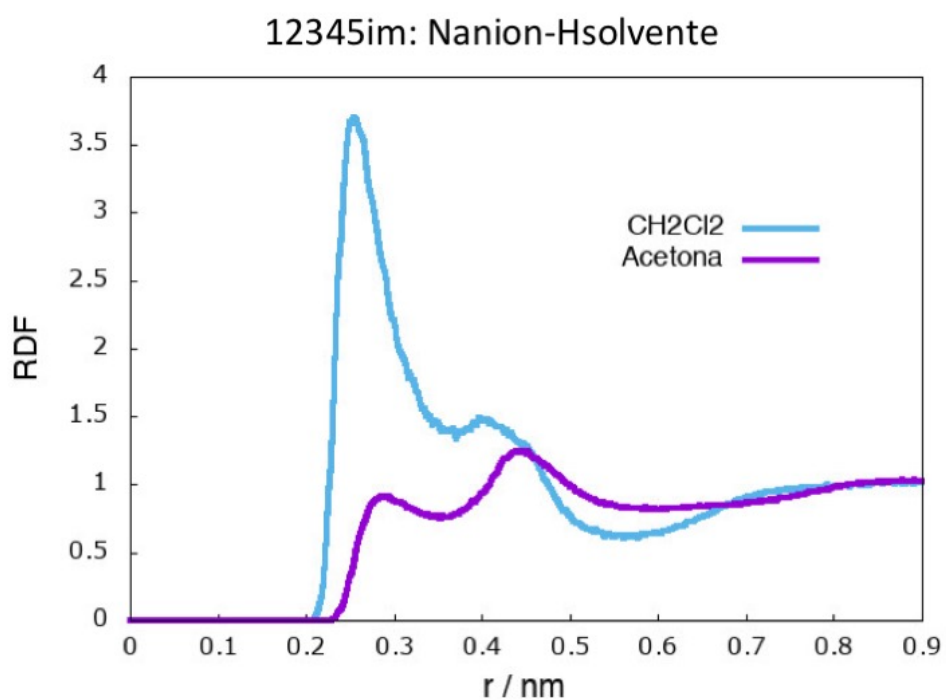
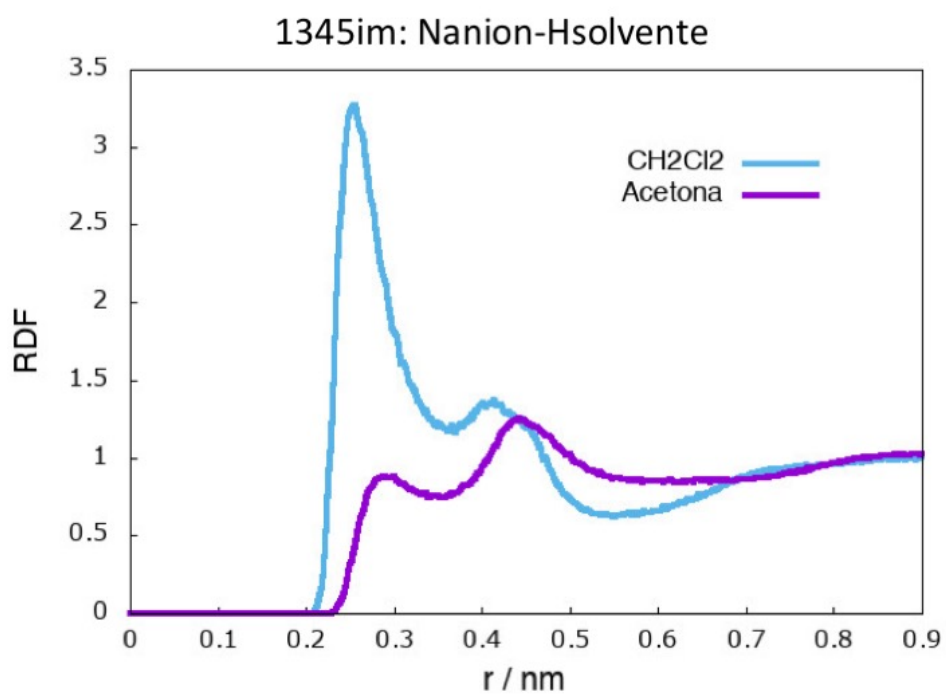


Figura 24: RDFs dos nitrogênios do anel imidazolato com os hidrogênios dos solventes acetona (roxo) e diclorometano (azul)

tano (azul claro), os oxigênios do primeiro parecem interagir mais com o cátion; isso se repete para ambos o 1345im e 12345im, indicando uma melhor solvatação em acetona, contrário ao encontrado até o momento. Porém, é com a análise das interações com o ânion que se começa a perceber o motivo por trás da inversão de tendência de solvatação; na Figura 24 estão as RDFs entre os nitrogênios do imidazolato e os hidrogênios de acetona e diclorometano. Claramente, a interação da primeira esfera de solvatação do CH_2Cl_2 com o ânion é no mínimo três vezes mais intensa para ambos os pares analisados, justificando assim o porquê de um par mais transiente neste solvente. Particularmente, no caso do par 12345im·IMD, a primeira esfera de solvatação inclui 4,80 moléculas de acetona e 5,96 de diclorometano; já para o caso do par 1345im·IMD existem em média 4,42 moléculas de acetona ao redor do ânion e 5,10 se for em CH_2Cl_2 .

As funções de densidade superficial também demonstram como o solvente CH_2Cl_2 interage mais com o imidazolato. Na Figura 25 são representadas as SDFs dos pares 1345im·IMD e 12345im·IMD, respectivamente, em acetona e diclorometano. A isosuperfície em vermelho nas figuras representa a densidade de moléculas de solventes encontradas a 0,3 nm de distância do ânion. Esta superfície foi representada graficamente através o programa VMD, através da função gráfica QuickSurf, com os mesmos parâmetros para todos os casos tratados: *Radius Scale* de 0,8; *Density Isovalue* de 0,5; *Grid Spacing* de 1,0 e *Surface Quality: High*. No caso do par 1345im·IMD, relatado na Figura 25a, é possível perceber que as distribuições de densidades dos solventes são bastante parecidas, embora encontra-se levemente maior no caso do diclorometano; o que é importante mencionar é o fato de encontrar ocupação deste solvente também abaixo do plano do anel do imidazolato, entre ânion e cátion, confirmando uma interação mais fraca do par ou até sinalizando uma separação iminente dos íons. O mesmo pode ser visto na Figura 25b, sempre para o caso em CH_2Cl_2 . Aqui claramente a acetona interage menos intensamente com par 12345im·IMD, justificando assim todos os resultados encontrados anteriormente.

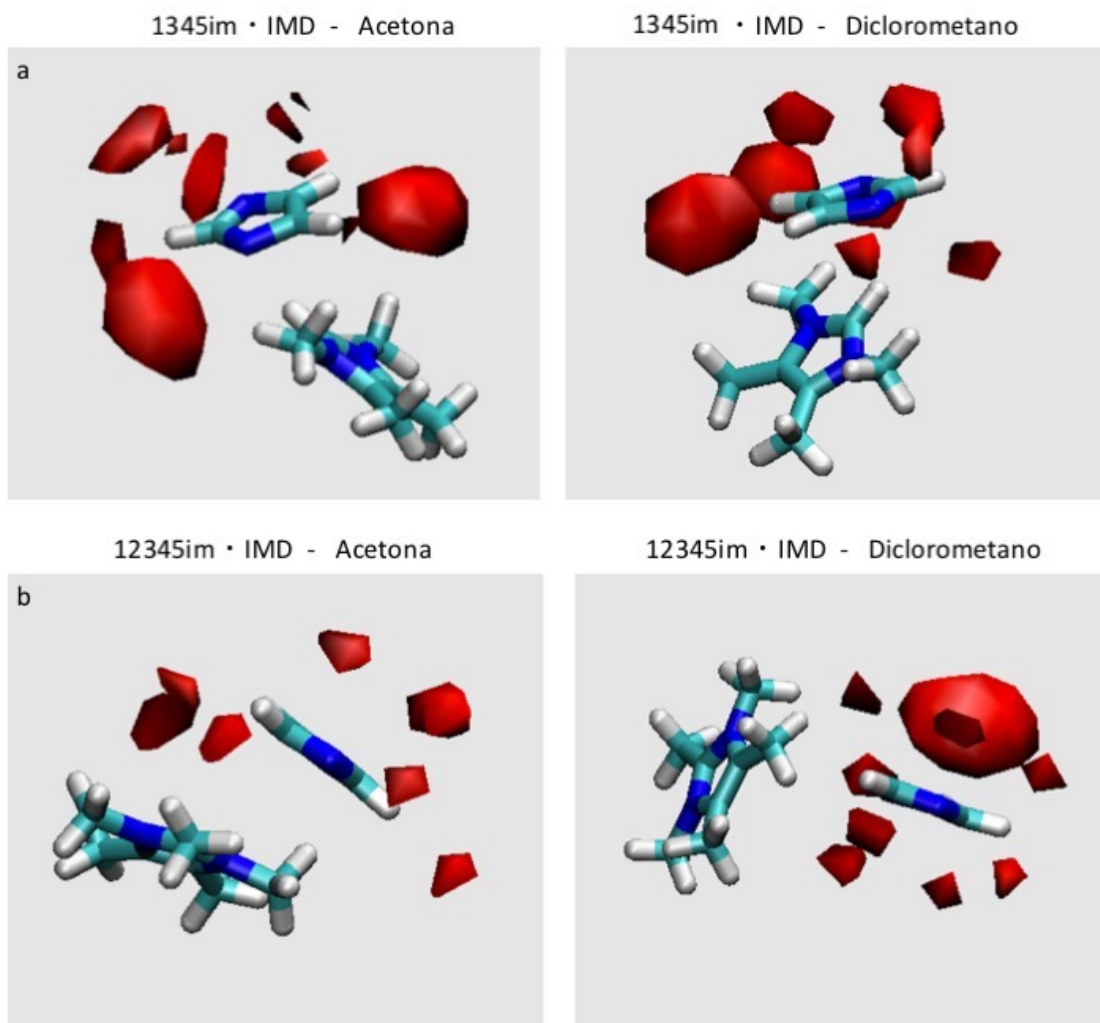


Figura 25: SDFs dos pares a) 1345im-IMD e b) 12345im-IMD entre os imidazolatos e as moléculas dos solventes acetona e diclorometano, calculadas para uma distância de 0,3nm ao redor do ânion. *Radius Scale: 0,8; Density Isovalue: 0,5; Grid Spacing: 1,0 e Surface Quality: High.*

A fim de concluir a análise estrutural, as energias livres de ligação foram calculadas para cada sistema, como descrito na sessão Metodologia. Na Tabela 1 estão resumidos os valores encontrados para os pares 1345im-IMD e 12345im-IMD nos diferentes solventes analisados, exceto para a água, já que não há formação de par iônico. Novamente, para ambos os casos, encontram-se os pares mais fortemente ligados em acetona com respeito ao diclorometano, apresentando uma diferença energética de $4,4\text{kJmol}^{-1}$ e $2,1\text{kJmol}^{-1}$ para o 1345im-IMD e 12345im-IMD, respectivamente.

Tabela 1: Energias de associação para os dois pares 1,3,4,5 tetrametil Im. e 1,2,3,4 pentametil Im. em quatro solventes analisados. Os valores são expressos em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Solvente	12345im	1345im
CHCl_3	-41,10	-52,41
CH_2Cl_2	-10,20	-19,43
Acetona	-14,62	-21,55
DMSO	-1,73	-1,99

Além disso, como discutido em sessões anteriores, é visível como a presença do hidrogênio em C2 aumenta a estabilidade do par em qualquer solvente, demonstrando a maior influência das ligações de hidrogênio em relação às interações $\pi^+ - \pi^-$. A presença de ligação de hidrogênio mais intensa se espelha também na distribuição angular entre os planos dos anéis imidazólicos, representadas para os dois pares analisados nas Figuras 26 e Figura 27 em clorofórmio, acetona e diclorometano. Para o par 1345im-IMD, Figura 26, a disposição dos anéis encontra-se mais angulada, a 50° (130°) e até quase perpendicular (90°), supondo uma maior aproximação do hidrogênio em C2 do cátion ao anel do ânion. Já para o par 12345im-IMD, Figura 27, devido à presença do grupo metila adicional em C2, a orientação recíproca dos anéis se aproxima muito mais a ser completamente paralela, com ângulos de ca. 10° (170°), demonstrando uma maior influência de interação por $\pi^+ - \pi^-$ *stacking*.

Além dessa grande diferença estrutural, devido à composição do cátion, é possível perceber também uma variação de distribuição baseada no solvente. Em ambos os casos, em presença de clorofórmio, o par assume uma geometria mais paralela, enquanto tende a assumir uma conformação tridimensional mais perpendicular com solventes um pouco mais polares (diclorometano e acetona).

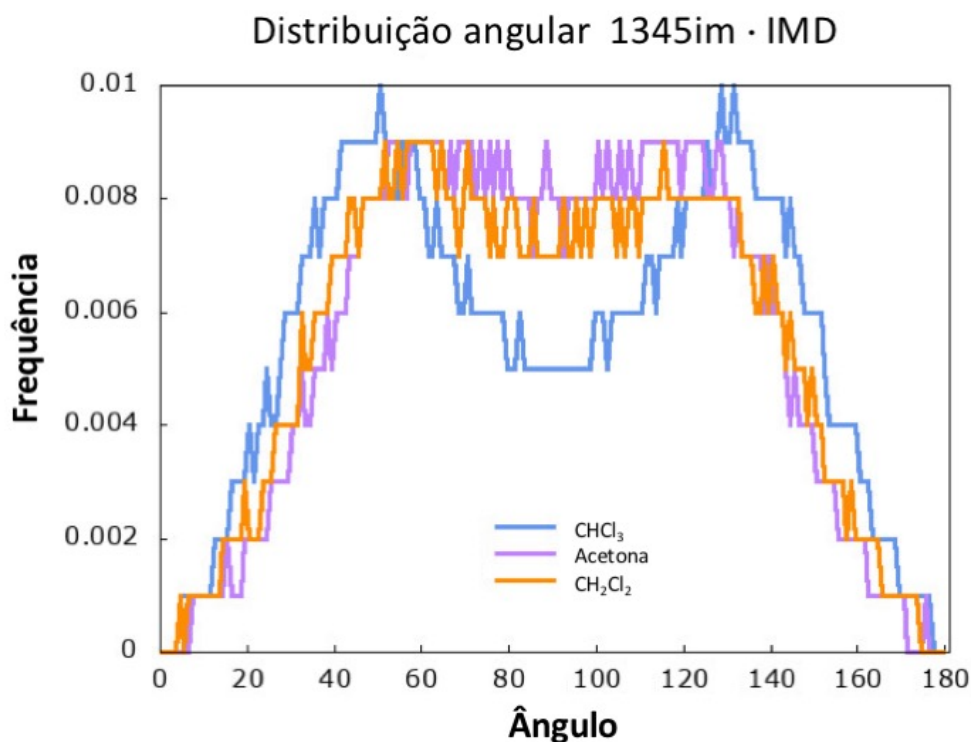


Figura 26: Probabilidade de distribuição angular, de 0° a 180°, das orientações dos planos do cátion 1,3,4,5-tetrametil imidazólio com o ânion imidazolato em clorofórmio (azul), diclorometano (laranja) e acetona (roxo).

Concluindo, além do estudo estrutural dos pares de contato em diferentes solventes, as interações intermoleculares analisadas neste amplo intervalo de constantes dielétricas oferecem uma ótima base para a realização do modelo CG dos líquidos iônicos, segundo alvo do projeto (Sessão 5.1). Os resultados podem ser utilizados para comparar e otimizar o comportamento dos ILs do modelo CG em diferentes meios, como na água (solvente biológico principal) ou na membrana biológica, onde o ambiente alifático das caudas dos fosfolípidios pode ser relacionado a um nível de interação parecido com o do clorofórmio.

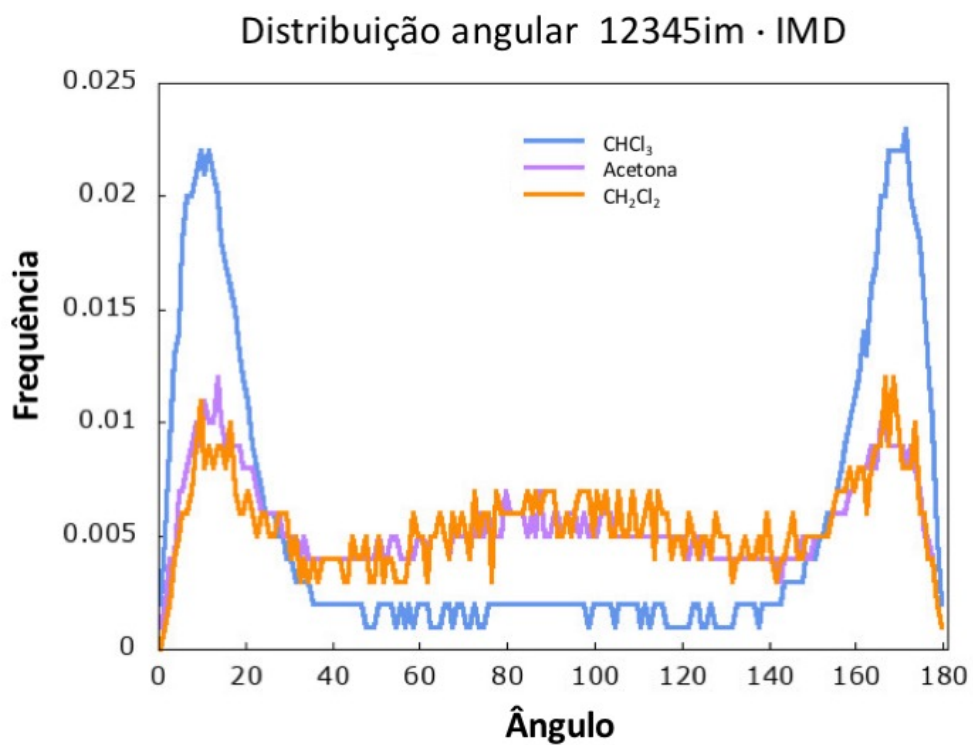


Figura 27: Probabilidade de distribuição angular, de 0° a 180°, das orientações dos planos do cátion 1,2,3,4,5-pentametil imidazólio com o ânion imidazolato em clorofórmio (azul), diclorometano (laranja) e acetona (roxo).

5 Modelos *coarse-grained* e interações com membrana biológica

5.1 Desenvolvimento de um modelo *coarse-grained* para líquidos iônicos

5.1.1 Pares de Líquidos Iônicos

Um dos objetivos desse projeto é criar um modelo *coarse-grained* de líquidos iônicos da família N,N-dialquil imidazol para simplificar os cálculos e diminuir o tempo de processamento, a fim de investigar a inserção de pequenas concentrações de IIs em membranas biológicas. O modelo CG Martini, como apresentado na sessão de Metodologia, torna-se assim o candidato ideal para alcançar este objetivo. Através de uma colaboração com o grupo de pesquisa do Prof. Dr. S-J. Marrink, foi possível realizar uma viagem para a Universidade de Groningen, nos Países Baixos, e iniciar a implementação desta parte do projeto diretamente com os pesquisadores envolvidos na execução do modelo CG Martini. Como primeira etapa, tentou-se reproduzir os resultados obtidos nas simulações atomísticas para os pares de líquidos iônicos 1,3-dimetil imidazólio·Imidazolato (13im·imd) em diferentes solventes. O fato de ter diferentes polaridades ao redor do par auxilia a estruturação do modelo, permitindo a avaliação de um amplo leque de interações intermoleculares. No sistema *coarse-grained* foi escolhido usar um único tipo de *beads* para representar cada molécula do solvente. Em particular, a caixa de simulação do solvente foi construída a partir de uma estrutura molecular (*.pdb) contendo uma única molécula de solvente. Através do programa livre *Packmol* 17.099 [75], desenvolvido no Brasil, é possível criar caixas com muitas moléculas "empacotadas", como diz o nome, de forma simples e rápida, mantendo as forças repulsivas controladas. A partir de uma molécula, seguindo o *script* abaixo, foram criadas as caixas dos seis solventes analisados: clorofórmio, diclorometano, acetona, isopropanol, DMSO e água.

```
tolerance 5.2

filetype pdb

output *solvent*.pdb

structure water.pdb

number 1900

inside box 0. 0. 0. 60. 60. 60.

end structure
```

A tolerância marcada para 5,2Å define a distância mínima de Van der Waals entre duas partículas para que não aconteça sobreposição. O valor foi calculado a partir do raio de Van der Waals das *beads* usadas, 0,47 nm, multiplicado por 1,122. As dimensões da caixa são de 60nm em x, y e z, valor escolhido para ser um pouco maior do que a caixa final contendo o par iônico, de 4,6 nm nas três dimensões. O valor escolhido de 1900 para o número total de moléculas é o limite máximo que o programa pode usar, muito além do necessário. Após a preparação do sistema final com cátion e ânion, a simulação é calculada no *ensemble* NpT, permitindo que o volume da caixa possa se ajustar para poder alcançar o valor de densidade desejado. Os sistemas foram simulados a uma temperatura de 298K, exceto no caso do DMSO (315K), já que a sua temperatura de fusão se encontra ao redor de 292K, e da água (310K); a diferente condição de simulação da água se deve ao fato que nas simulações CG o solvente congela a 25°C e, por isso, muitas vezes é utilizada uma partícula *anti-freeze* [44]. As informações detalhadas referentes aos seis solventes computados se encontram na Tabela 2. Aqui podem ser encontrados o tipo de partícula utilizado para o mapeamento do solvente e o número total de moléculas do sistema solvatado; as partículas X2 e X3 foram implementadas na versão 3.0 do Martini para poder reproduzir solventes halogenados. Além disso, podem ser comparadas as densidades (em kg·m⁻³) encontradas nos sistemas atomísticos (AA), com a correspondente densidade obtida pelo sistema CG e relatadas na literatura (CRC

Handbook of Chemistry and Physics, [76]). Os sistemas CG reproduzem fielmente as densidades experimentais, já que o erro percentual entre os dois valores foi encontrado ser inferior ao 5%, exceto para o diclorometano (8,1%); a maior diferença neste caso pode ser devida a dois fatores: 1) provavelmente o tamanho da partícula CG que representa o diclorometano, de 0,3 nm como qualquer outra partícula, é levemente maior ao volume estérico representado pela molécula de CH_2Cl_2 , não permitindo uma maior aproximação das mesmas ou 2) os parâmetros de Lennard-Jones atrativos utilizados para caracterizar o tipo de *bead* X3 usado na descrição do solvente poderiam não estar otimizados. Sendo que esses parâmetros ainda estão em fase de avaliação na versão 3.0 do Martini, decidiu-se no momento de não alterar esses parâmetros de interação.

Tabela 2: Informações sobre as caixas de seis solventes preparadas para as simulações *coarse-grained* de interação de pares de contato em diferentes meios.

Solvente	Partícula	Nº de moléculas	Densidade AA ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)	Densidade CG ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)	Densidade Exp. ^a ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)	Erro %
CHCl_3	X2	930	1391,22	1473,18	1478,8	0,38
CH_2Cl_2	X3	930	1262,95	1226,55	1326,6	8,1
Acetona	Na	930	786,31	755,09	785,7	3,8
Isopropanol	P1	930	822,64	824,17	782,9	5,3
DMSO	P3	938	1137,79	1078,90	1101,1	2,0
Água	P4	391	986,75	1012,07	997,1	1,5

^a *CRC Handbook of chemistry and Physics* [76]

Os valores de densidade dos sistemas atomísticos, analisados na Sessão 4.3,

foram encontrados pela ferramenta de análise *gmx energy* do Gromacs. Já para o sistema *coarse-grained*, a utilização da mesma ferramenta se torna inviável, pelo fato de todas as partículas pesarem 72 u.m.a; isso levaria a desconsiderar átomos bem mais pesados tais como os átomos de cloros e de enxofre de clorofórmio, diclorometano e DMSO, respectivamente. Por este motivo, o cálculo da densidade foi obtido manualmente utilizando as massas moleculares (MM) tabulada pela Iupac [77], conforme a Equação 4:

$$\text{Densidade}_{CG} = \frac{MM \cdot N \cdot 10}{6,022 \cdot (Box)^3} \quad (4)$$

onde MM é a massa molecular do solvente e N é o número total de moléculas contidas na caixa; o número 6,022 é o número de Avogadro, já Box é o tamanho da caixa, expresso em nm. Multiplicando por 10, o valor de densidade obtido se torna assim expresso em $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$. O próprio valor médio do tamanho da caixa de simulação foi obtido através da ferramenta *gmx energy* do Gromacs. No caso da água, já que cada partícula é constituída por quatro moléculas, a massa molar usada pela Equação 4 considera este fator de multiplicação. O erro percentual entre as densidades atomísticas (AA) e *coarse-grained* (CG) foram calculados pela equação 5 abaixo:

$$\text{Erro} = \frac{|Densidade_{AA} - Densidade_{CG}|}{Densidade_{AA}} \% \quad (5)$$

Em um primeiro momento, foram testados diferentes tipos de *beads* dentro da versão 2.2 do modelo Martini [44] para representar o cátion e o ânion, mantendo o *mapping* da Figura 7 (Metodologia). Mais especificamente, avaliaram-se várias

combinações de partículas para representar a frente do anel, de menos interativas a mais interativas, mantendo a representação da parte de trás do anel imidazólico constante, através de uma *bead* SC4. Para as duas partículas idênticas representando os nitrogênios do cátion foram avaliadas as partículas SNd (não-polar doadora de ligações hidrogênio), SQ0 (carregada sem interações hidrogênio) e SQd (carregada e doadora de interações hidrogênio); já para o ânion foram utilizados os modelos SP2 (polar relativamente polarizável), SP3 (polar mais polarizável), e SQa (carregada e aceitadora de interações hidrogênio). Infelizmente, nenhuma das combinações de interação apresentadas entre cátion e ânion replicaram os resultados obtidos nas simulações atomísticas: até em clorofórmio, em nenhum momento, um par iônico estável foi detectado.

Em um segundo momento, passou-se a avaliar a possibilidade de usar diferentes partículas para o modelo dos íons, as *tiny beads*, T, que estão sendo desenvolvidas em uma nova versão 3.0 do Martini pelo grupo do Prof. Marrink, cuja parametrizações foram gentilmente concedidas para serem testadas. Ambos cátion e ânion continuaram sendo representados utilizando o mesmo estilo de *mapping* anterior; assim, para representar ambos os íons, foram escolhidas duas partículas TQz, envolvendo os nitrogênios do anel, e uma partícula TC4 para incluir os carbonos C4 e C5. Com o intuito de conseguir a formação do par, as novas partículas TQz apresentam maior interação atrativa com outras *beads* carregadas, quando comparadas com as antigas SQd e SQa.

Similarmente, em nenhum dos casos avaliados, os pares se encontraram completamente associados ao longo da simulação; por outro lado, foi possível perceber a existência de um padrão de interação e força de associação entre o cátion e o ânion nos diferentes solventes, através das funções de distribuição radial. Como pode ser visto na Figura 28, a probabilidade de interação entre os centros de massa de cátion e ânion segue quase fielmente ao encontrado para as simulações atomísticas: o maior grau de associação se encontra em clorofórmio, seguido por diclorometano e acetona; a interação diminui em isopropanol e DMSO, até ser inexistente em água. A única diferença com as simulações atomísticas é a inversão do comportamento entre diclorometano e acetona: como amplamente discutido no capítulo 4.3, embora seja um solvente menos polar que acetona, o diclorometano consegue solvatar mais

os íons, gerando um par mais instável. Esta característica se deve principalmente à maior interação do CH_2Cl_2 com o ânion e a estruturação do solvente ao redor dos íons. No modelo CG, perdendo-se os detalhes geométricos e dimensionais, já que ambos acetona e diclorometano estão representados com uma *beads* esférica do mesmo tamanho, este efeito não está contemplado e, por isso, não influi sobre a associação do par iônico.

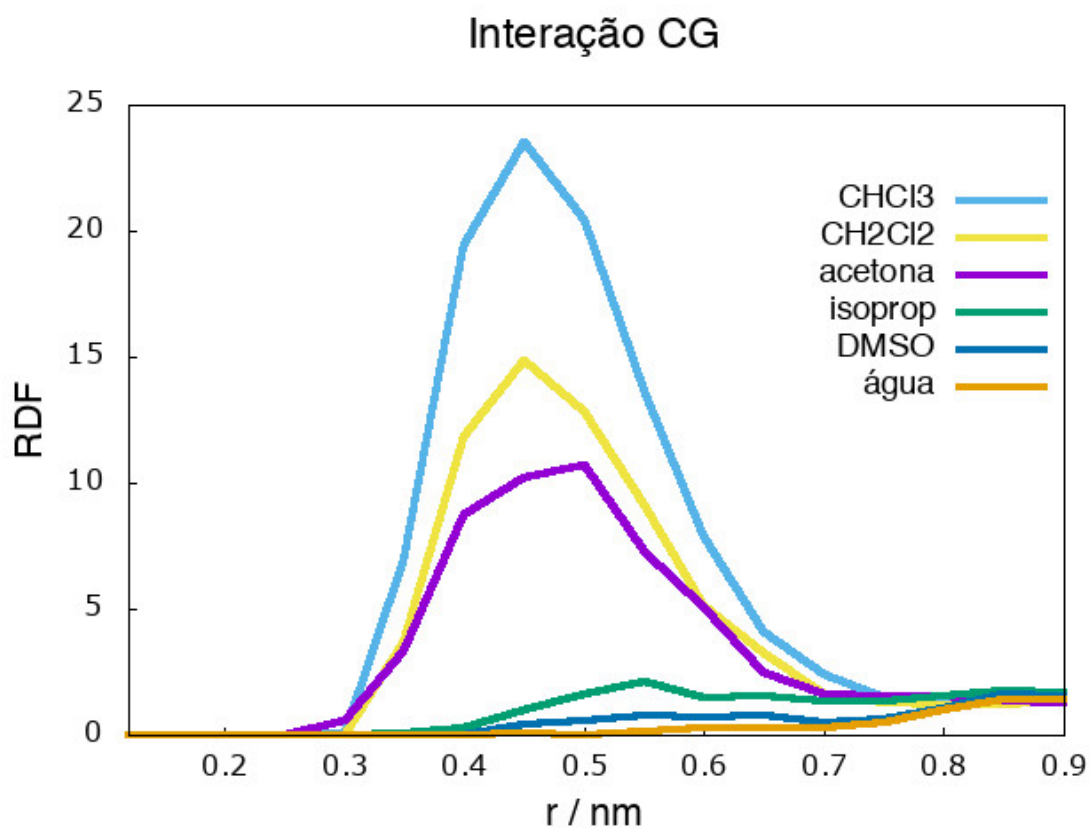


Figura 28: Funções de distribuição radial entre os centros de massa do cátion 1,3-dimetilimidazólio e ânion imidazolato nos diferentes solventes analisados. Clorofórmio: ciano; diclorometano: amarelo; acetona: roxo; isopropanol: verde; DMSO: azul; água: ocre.

Além disso, foram também calculadas as energias de associação entre os dois íons; não havendo em nenhum caso completa associação do par, os perfis do po-

tencial de força média (PMF) não foram calculados através o método de *umbrella sampling* descrito na sessão de Metodologia, mas foram encontrados a partir das RDFs, conforme a equação 6:

$$\text{PMF} = - R \cdot T \cdot \ln[g(r)] \quad (6)$$

onde R é a constante dos gases, T a temperatura de simulação e $g(r)dr$ as funções radiais de cada caso. Os valores obtidos de energia de associação estão resumidos na Tabela 3. Esses valores, embora para cátions levemente diferentes, encontram-se bastante inferiores aos encontrados nos estudos atomísticos.

Tabela 3: Energias de associação para o par 1,3 dimetil Im. e imidazolato em seis solventes analisados. Os valores são expressos em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Solvente	13im-imid
CHCl_3	-10,83
CH_2Cl_2	-7,35
Acetona	-6,19
Isopropanol	-1,86
DMSO	-1,16
Água	n.d.

No caso do clorofórmio, solvente no qual o par deveria estar mais fortemente ligado, os valores encontrados aqui são 4 vezes inferiores em respeito ao caso anterior AA; isso pode ser explicado exatamente pelo fato que nas simulações CG não foram

encontrados pares estáveis. Até porque, no caso do DMSO, solvente no qual o par é pouco associado também em simulações atomísticas, a diferença entre as energias de associação CG encontradas se tornam comparáveis.

Embora os *trends* de interação encontrados são considerados satisfatórios, estão sendo estudadas alternativas para poder alcançar a completa associação do par iônico em clorofórmio e associação parcial em acetona e diclorometano, como obtido nos resultados atomísticos. Para isso, está sendo delineada a possibilidade de mudar o estilo de *mapping*, o arranjo das *beads* que compõem os cátions. O novo mapeamento poderia evidenciar o hidrogênio do cátion em C2 mais doador, que, como relatado anteriormente, é um elemento chave na organização estrutural dos pares de contato. Na Figura 29b encontra-se o novo *mapping* CG, o qual pode ser comparado com o mapeamento anterior, na Figura 29a.

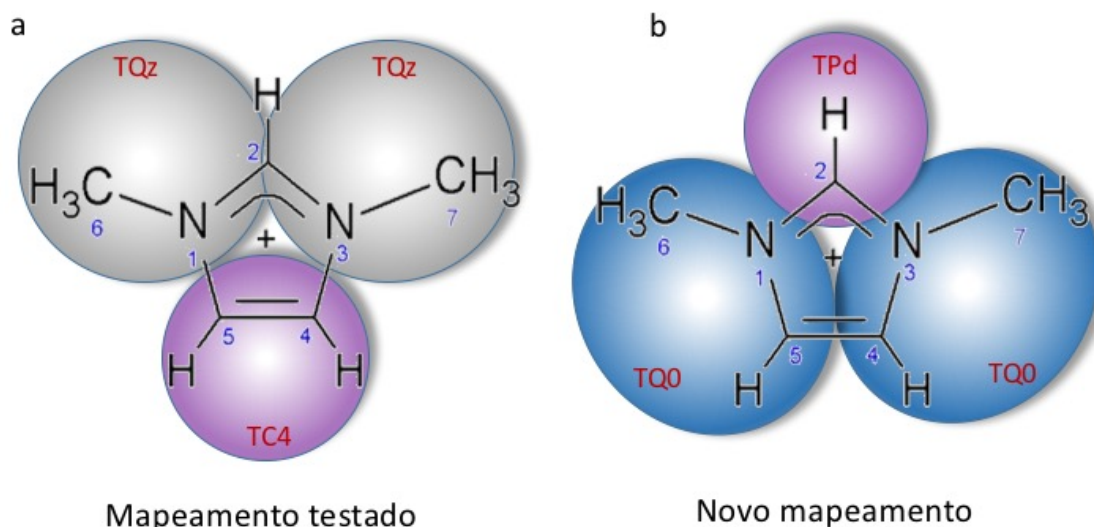


Figura 29: Comparação entre a) o mapeamento do cátion imidazólico testado nas simulações CG e b) a proposta de um novo tipo de mapeamento a ser avaliado. As novas *beads* deverão ser carregadas ou polares doadoras de pontes hidrogênio, respectivamente nomeadas TQ0 e TPd. [Autoria própria].

As novas partículas deverão respeitar as propriedades dos novos grupos químicos

representados: para o hidrogênio ligado ao carbono 2 precisa-se de uma partícula polar e doadora de ligações hidrogênio, como a Pd; por outro lado, as *beads* que representam o resto do anel devem ser carregadas, como a Q0 ou Qz, por causa dos nitrogênios imidazólicos. Um dos problemas que surge na realização desta simulação se encontra na própria definição de *beads*: essas normalmente reagrupam de 3 a 4 átomos pesados, e as menores, as *tiny beads*, podem reagrupar 2 átomos pesados. Porém, neste novo caso, a partícula TPd seria constituída unicamente por 1 átomo leve, o hidrogênio; isso dificultaria a sua parametrização, já que massa e diâmetro desta *bead* seriam os mesmos usados para os outros átomos do anel. Frente a essas considerações, poderia-se pensar então em outro tipo de abordagem: as partículas polarizáveis. A implementação da polarização nas *beads* do Martini já vem sendo feita e apresentou resultados promissores para o caso da água [78, 79]. A polarização é representada da forma seguinte: uma ou mais cargas parciais δ são associadas, como se fossem qualquer outras partículas, a uma *bead* central através de uma ligação de comprimento fixa; não existem interações entre as cargas e a partícula central, porém, as cargas podem interagir por via eletrostática com *beads* ao seu redor. Isso pode provocar uma mudança na posição das cargas com respeito à partícula central, assim como pode mudar a nuvem eletrônica, e conseqüentemente o dipolo da molécula, durante a polarização. Os valores das cargas, assim como as constantes de força de ligação, devem ser calibrados de modo a reproduzir a constante dielétrica do meio puro. O cátion imidazólico se tornaria assim representado por duas partículas simétricas, como pode ser visto na Figura 30, e o hidrogênio na posição C2 seria representado pela carga parcial, podendo interagir e eventualmente detectar a presença de ligações hidrogênio com o ânion. Este último poderia ser representado por duas *beads* idênticas, a fim de manter a simetria, ambas conectadas com uma carga parcial; esta dupla polarização é fundamental para definir os dois grupos aceitadores de ligação hidrogênio que são os dois nitrogênios do anel. O conceito de partículas polarizadas já foi desenvolvido para a água no Martini 2.2 [78] e está em fase de aperfeiçoamento na versão 3.0, juntamente a todos os novos parâmetros associados com cada partícula (normal, anelar ou *tiny*).

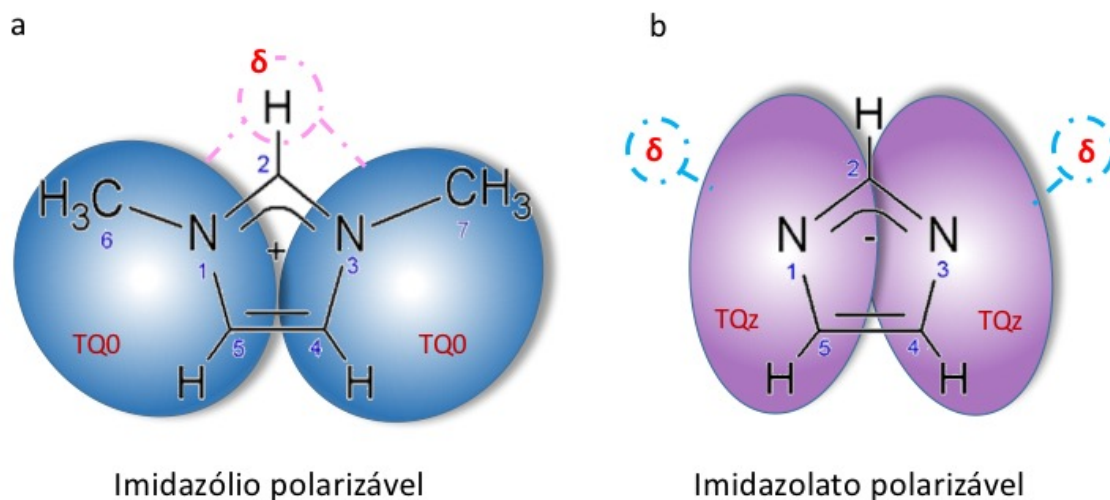


Figura 30: Proposta de um novo mapeamento CG polarizável para a) o cátion imidazólico e b) ânion imidazolato. As linhas tracejadas representam as ligações das cargas parciais, δ , às partículas presentes na estruturas. [Autoria própria].

5.1.2 Líquidos iônicos puros

Paralelamente ao estudo dos pares iônicos de contato, foram avaliados quatro modelos CG de líquidos iônicos puros, sempre com a finalidade de reproduzir as mesmas propriedades físico-químicas apresentadas pelas simulações atomísticas. A ideia de acrescentar este modelo para ILs puros vem com o intuito de desenvolver, comprovar e disponibilizar um modelo amplamente versátil que possa ser usado como parâmetro para a simulação de qualquer líquido iônico a base de imidazol, em parceria com o grupo do Prof. Marrink na Holanda. Para esta análise, escolheram-se como sistemas testes dois líquidos iônicos bastante avaliados na literatura, o 1,3-dimetil imidazólio (MIM) com tetrafluorborato (BF_4^-) e o 1-butil,3-metil imidazólio (BMI) e ânion BF_4^- ; além disso, foram também testados os ILs compostos pelos mesmos cátions MIM e BMI porém com o ânion imidazolato (IMD), introduzido por este grupo de pesquisa. Os quatros sistemas usados estão esquematizados na Figura 31.

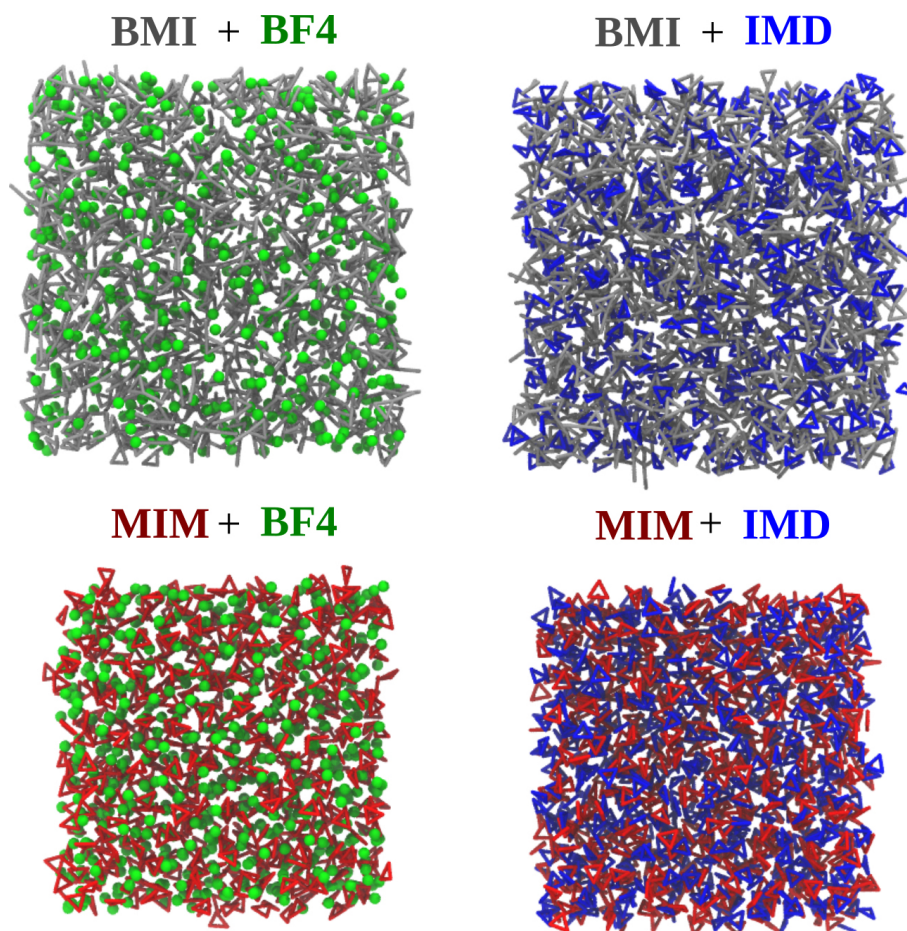


Figura 31: Estruturas representativas dos quatro líquidos iônicos puros analisados, compostos por 600 moléculas de cátion e 600 moléculas de ânion. BMI: 1-butil,3-metilimidazólio; MIM: 1,3 -dimetilimidazólio; BF_4^- : tetrafluor borato; IMD: imidazolato.

Cada um desses líquidos foi simulado atomisticamente por 100ns utilizando o campo de força Porto Alegre desenvolvido no grupo do Prof. Stassen [47] em um *ensemble* NpT como descrito na Metodologia; os últimos 90ns foram utilizados para as análises. No caso das simulações CG, as caixas foram simuladas por 500ns, considerando os últimos 450ns para as diferentes avaliações. As informações referentes à temperatura de simulação e densidade podem ser encontradas na Tabela 4. As diferentes condições de temperatura dos sistemas, 310K e 400K, foram escolhidas baseadas nas temperaturas de fusão encontradas experimentalmente para os cátions BMI·BF₄ e MIM·BF₄. No caso dos líquidos com o contra-íon IMD, já que não existem dados experimentais, foram avaliadas as energias potenciais das simulações para determinar se não houve congelamento do sistema nas temperaturas escolhi-

das. A densidade dos ILs simulados foram calculadas através do instrumento *gmx energy* para o caso AA; já no caso CG foi usada a equação 4, como descrito na sessão anterior. Os valores obtidos na Tabela 4 dos sistemas CG foram comparados ou com os valores encontrados experimentalmente na literatura, quando possível, ou com as densidades dos sistemas atomísticos simulados aqui. As divergências encontradas são aceitáveis, abaixo de 10%; principalmente, é importante detalhar o caso específico do valor máximo de erro encontrado, 9,1%. O valor de densidade experimental, $1228,4 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, usado na comparação foi extrapolado de um estudo desta propriedade a diferentes temperaturas [80], já que não foi apresentado o valor encontrado na temperatura do nosso sistema, 400K. Além da congruência dos dados encontrados com os experimentais, é sabido que com o aumento da cadeia alifática do cátion, a densidade diminui, e, conseqüentemente, o líquido se torna mais fluido; este aspecto também foi conservado para os sistemas CG MIM·BF₄ e BIM·BF₄ simulados.

Tabela 4: Informações sobre os quatros sistemas de líquidos iônicos puros analisados.

Sistema	Temp. (K)	Densidade AA $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$	Densidade CG $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$	Densidade CG $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$	Erro %
BMI-BF ₄	310	1200,21	1166,6	1191 ^a	2,0
BMI-IMD	310	1064,98	1037,15	nd	2,6 [*]
MIM-BF ₄	400	1218,35	1340,02	1228,4 ^b	9,1
MIM-IMD	400	1079,66	988,76	nd	8,4 [*]

^a [81]; ^b valor extrapolado dos dados apresentados em [80]; ^{*} erro calculado entre as simulações AA e CG.

Para poder melhor avaliar o modelo em desenvolvimento, uma primeira análise dos líquidos iônicos CG com respeito aos resultados atomísticos foi feita através da comparação das funções de distribuição radial (RDFs). Para poder obter dados efetivamente comparáveis, no caso da simulação atomística foi necessário associar os átomos em grupos, os mesmos que são representados por *beads* nas simulações CG; novas trajetórias e configurações foram produzidas após o reagrupamento dos átomos: assim fazendo, as RDFs tornam-se calculadas entre os centros de massas desses grupos, do mesmo jeito que no caso CG serão calculadas entre os centros de massas das partículas. Assim, nesta sessão todas as referências a simulações atomísticas aqui apresentadas deverão ser entendidas como simulações atomísticas mapeadas CG.

Na Figura 32 são representadas as RDFs calculadas para os líquidos iônicos BMI·BF₄, considerando as distribuições do grupo butil e dos nitrogênios do anel do cátion em respeito ao ânion. No caso do grupo butil, Figura 32a, as simulações atomísticas (linha roxa) reproduzem coerentemente ao já encontrado na literatura para sistemas similares [16], onde a primeira esfera de interação do grupo butil com o ânion possui um máximo a 0,48 nm. Comparando os resultados com as simulações CG (linha verde) é possível perceber que, para o grupo butil, foi determinada uma aproximação e uma interação mais fraca com o ânion. Embora as simulações atomísticas tenham sido analisadas reagrupando os átomos como no mapeamento CG, os graus de liberdade ao longo da trajetória dos átomos ainda são maiores comparados à qualquer *beads*, principalmente no caso de uma cadeia com 4 carbonos, com possibilidade de movimento e torção, em respeito a uma única partícula que representa todo o grupo. No caso da simulação atomística, então, os átomos do grupo butil podem ter se desdobrados e aproximados mais ao ânion. Por outro lado, quando foram analisadas as interações apresentadas pelos nitrogênios do anel imidazólico com o ânion, 32b, contido em uma estrutura mais rígida, a simulação CG reflete muito fielmente as análises atomísticas. Nos casos AA, os nitrogênios do anel imidazólico possuem uma interação máxima às distâncias de 0,40nm e 0,55nm.

Os dois picos podem ser relacionados com o diferente posicionamento angular do ânion ao redor do anel: o pico a 0,40 nm pode ser devido ao ânion estar acima do plano do anel, e o segundo pico a 0,55 nm quando ele se encontra no próprio

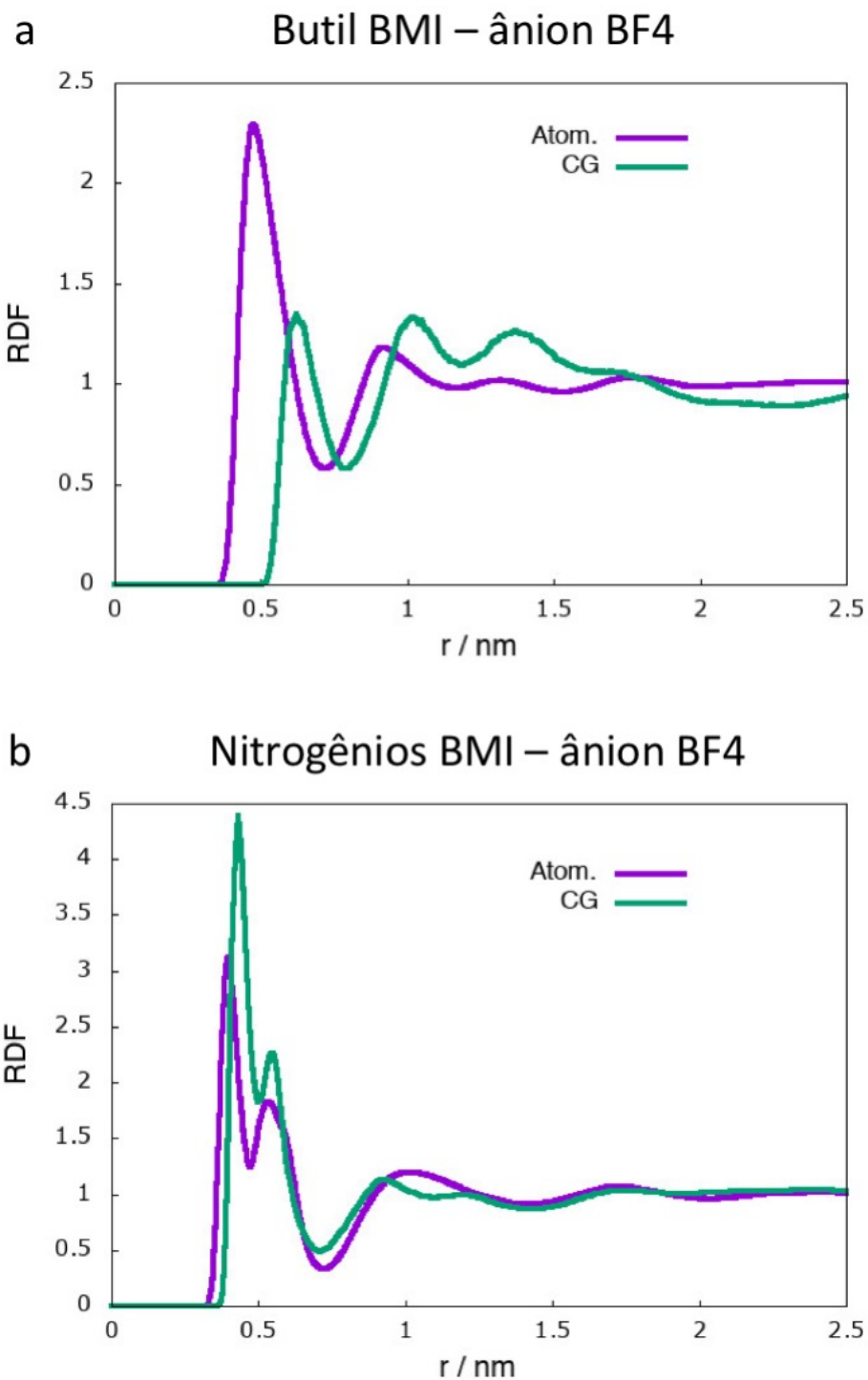


Figura 32: RDFs do líquido iônico puro BMI-BF₄. Em a) encontram-se as interações entre o grupo butila do cátion BMI e em b) os nitrogênio do cátion BMI com o ânion BF₄. Análise atomística, linha roxa; análise CG, linha verde.

plano. Esses valores são comparáveis aos encontrados por Zhao *et al* [16] para o par BMI-PF₆. Para as simulações atomísticas, na primeira camada iônica foram encontrados 5,18 íons BF₄ ao redor do grupo butil, enquanto no caso CG foram encontrados em média 3,8: número inferior provavelmente devido a maior rigidez da estrutura; olhando para a segunda camada de distribuição dos contra-íons, se encontram em ambos os casos 20 ânions BF₄ ao redor do grupo butila. Por outro lado, analisando os nitrogênios do anel, foram calculados uma média de 2 ânions (1,78 atom. - 2,32 CG) ao seu redor; considerando uma distância aceitável para ligações hidrogênio em simulações CG de 0,5 nm, se encontram em média 2,5 ânions ao redor do cátion BMI. Isso reflete muito bem o que já foi discutido para líquidos iônicos puros por Dupont [3], o qual afirma que existem 3 ânions associados com o cátion a todo instante, e vice-versa.

No caso do par BMI-IMD, descrito na Figura 33, as distribuições radiais do grupo butil em respeito aos nitrogênios do ânion encontradas em nível atomístico e CG (Figura 33a) se apresentam mais congruentes: isso pode ser pelo fato que o líquido iônico é mais rígido, devido ao maior tamanho do ânion e principalmente devido à presença de interações $\pi^+ - \pi^-$ entre os anéis de cátion e ânion. Com esta maior rigidez, a liberdade de movimentação dos átomos do grupo butil diminui, se aproximando melhor ao mapeamento CG. Foram encontrados 4 IMD ao redor do grupo butil simulado com o modelo CG e 5 no caso atomístico. Embora em ambos os casos encontramos a tendência a ter dois posicionamentos do IMD ao redor do cátion pela presença de dois picos, também, no caso dos nitrogênios do anel do cátion com os nitrogênios do ânion (Figura 33b), se encontra uma pequena diferença de interação. No caso AA existem 5,6 ânion na primeira esfera de hidratação, enquanto no caso CG 5,2; o fato de sempre encontrar mais contra-íons no caso atomístico pode ser justificado pela presença de ligações hidrogênio entre cátion e ânion, as quais são excluídas por definição no mapeamento CG.

Na Figura 34 são apresentadas as distribuições radiais entre os grupos metil e os carbonos C4 e C5 do cátion com os nitrogênios do ânion para o ILs MIM·BF₄. Neste sentido é possível verificar se existem interações diferenciadas entre a frente e a parte de trás do anel do MIM. No caso dos grupos metil, representados pelas

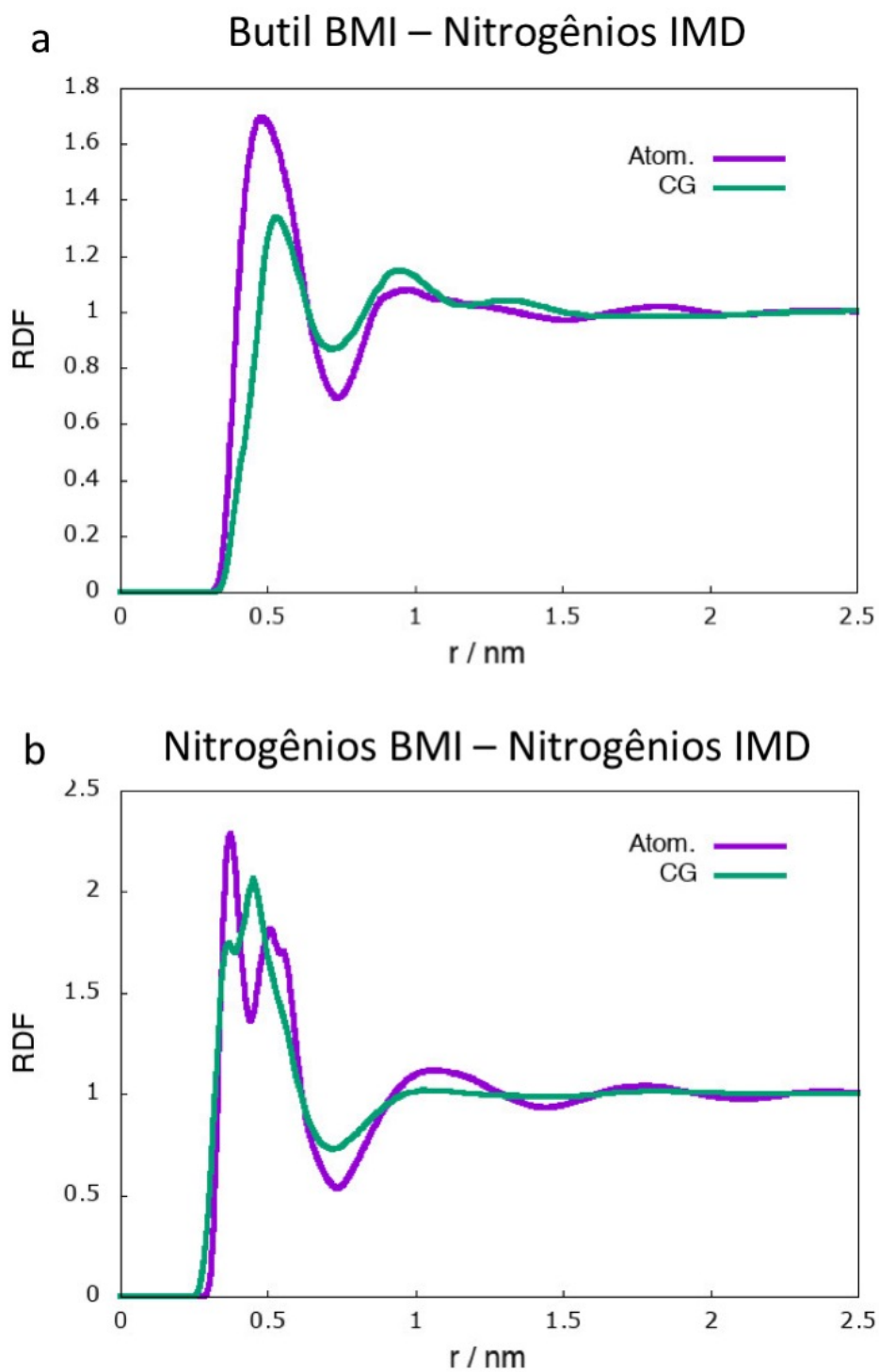


Figura 33: RDFs do líquido iônico puro BMI·BF₄. Em a) encontram-se as interações entre o grupo butil do cátion BMI e em b) os nitrogênio do cátion BMI com o ânion IMD. Análise atomística, linha roxa; análise CG, linha verde.

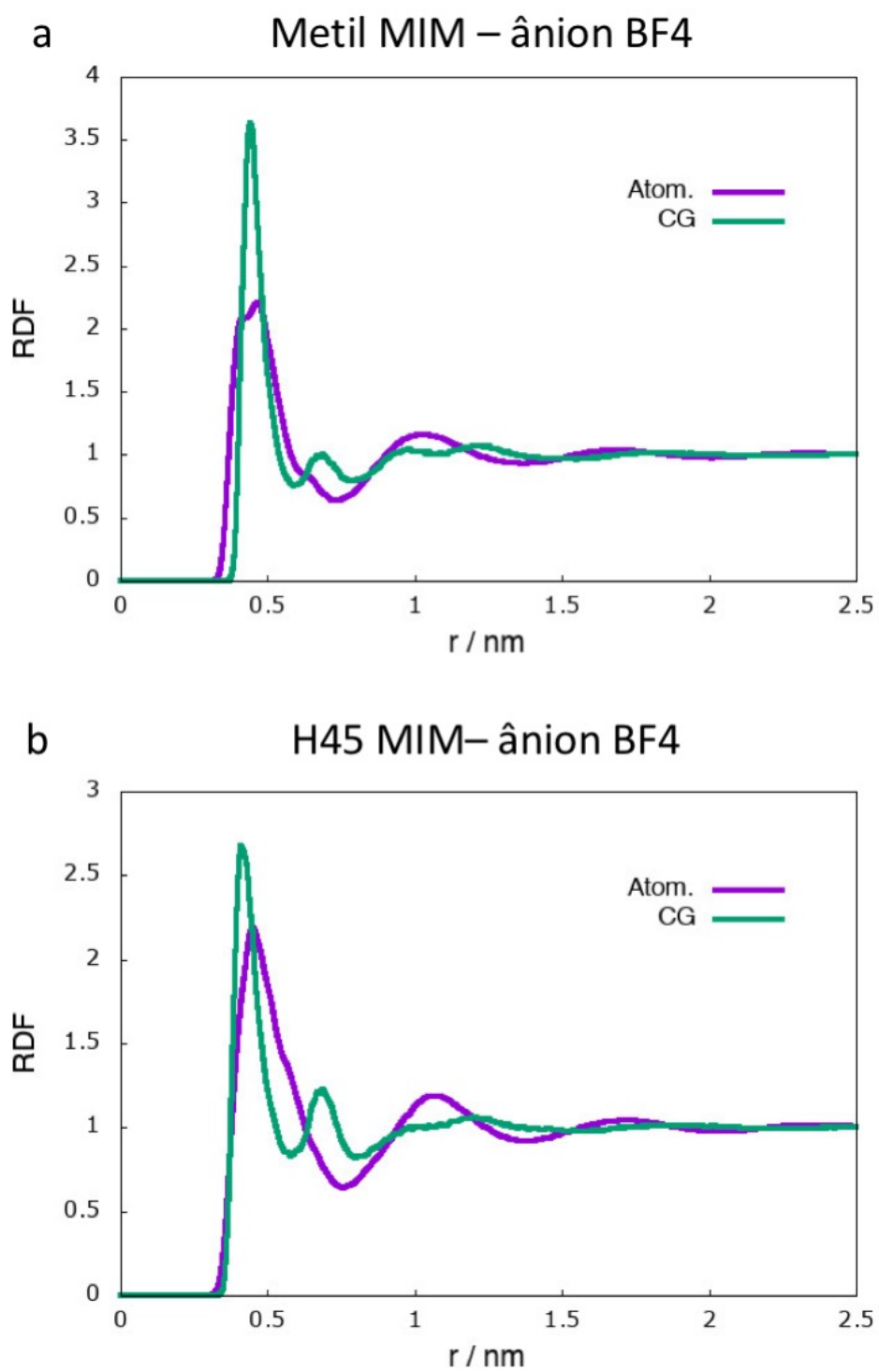


Figura 34: RDFs do líquido iônico puro MIM·BF₄. Em a) encontram-se as interações entre os grupos metil do cátion MIM e em b) entre os nitrogênios do cátion MIM com o ânion BF₄. Análise atômística, linha roxa; análise CG, linha verde.

mesmas partículas que incluem também os nitrogênios do cátion, Figura 34a, é possível perceber que existe uma interação mais intensa no caso das simulações CG em respeito ao atomístico. Considerando a dificuldade em representar ligações hidrogênio com o modelo Martini, uma possível explicação pode ser associada com a escolha de *beads* usadas para o modelo, provavelmente um pouco mais atrativas que o esperado. Isso pode ser confirmado pelo fato que no caso das interações com a parte de trás do anel, a qual inclui os carbonos C4 e C5, representados por uma partícula apolar, de fato menos atrativa, a diferença entre os RDFs atomísticos e CG não é tão pronunciada (Figura 34b). Avaliando a distribuição de contra-íon ao redor do cátion, encontra-se que no caso CG 4,7 e 9,2 ânion constituem a primeira e segunda esfera de hidratação, respectivamente; no caso atomístico isso é reduzido para 8 íons BF₄, além de não apresentar o pico definido da segunda camada. Este segundo pico poderia ser, novamente, a diferente orientação do ânion em respeito ao plano do anel: em distâncias mais curtas o ânion se encontra acima ou abaixo do anel, enquanto a distância mais longa ele está no mesmo plano. Analisando detalhadamente as RDFs atomísticas (linhas roxas) na Figura 34, é possível verificar somente a presença de um pequeno *shoulder* ao redor 0,6 nm, comprovando que o ânion preferencialmente se localiza perpendicular ao plano do anel do cátion. Isso se encontra de acordo com o relatado por Bhargava *et al* [23] para o líquido iônico MIM·Cl⁻, onde foi encontrado uma protuberância no pico a 0,58nm e um número total de contra-íon ao redor do cátion de 7,5. A diferença entre os dois modelos de simulação usados pode ser devido a dois motivos: 1) o tamanho das *beads* dos sistemas CG é maior, criando um efeito estérico e assim a possibilidade do ânion se dispor mais distante; 2) a falta do detalhe das interações hidrogênio diminui em parte a disposição preferencial do ânion em cima ou embaixo do plano do anel [23].

Por último, o líquido iônico constituído pelos íons MIM·IMD, simulado através do modelo Martini, apresenta interações bastante similares com as análises atomísticas, como é possível ver na Figura 35. Novamente, foram avaliadas as interações entre os grupo metil (Figura 35a) e os carbonos C4 e C5 do cátion (Figura 35b) com os nitrogênios do imidazolato. No primeiro caso, a distribuição de ânion ao redor dos grupos metil do cátion apresenta um nível de organização levemente superior para o caso atomístico, linha roxa; para ambos os casos, se encontram em média 5,5

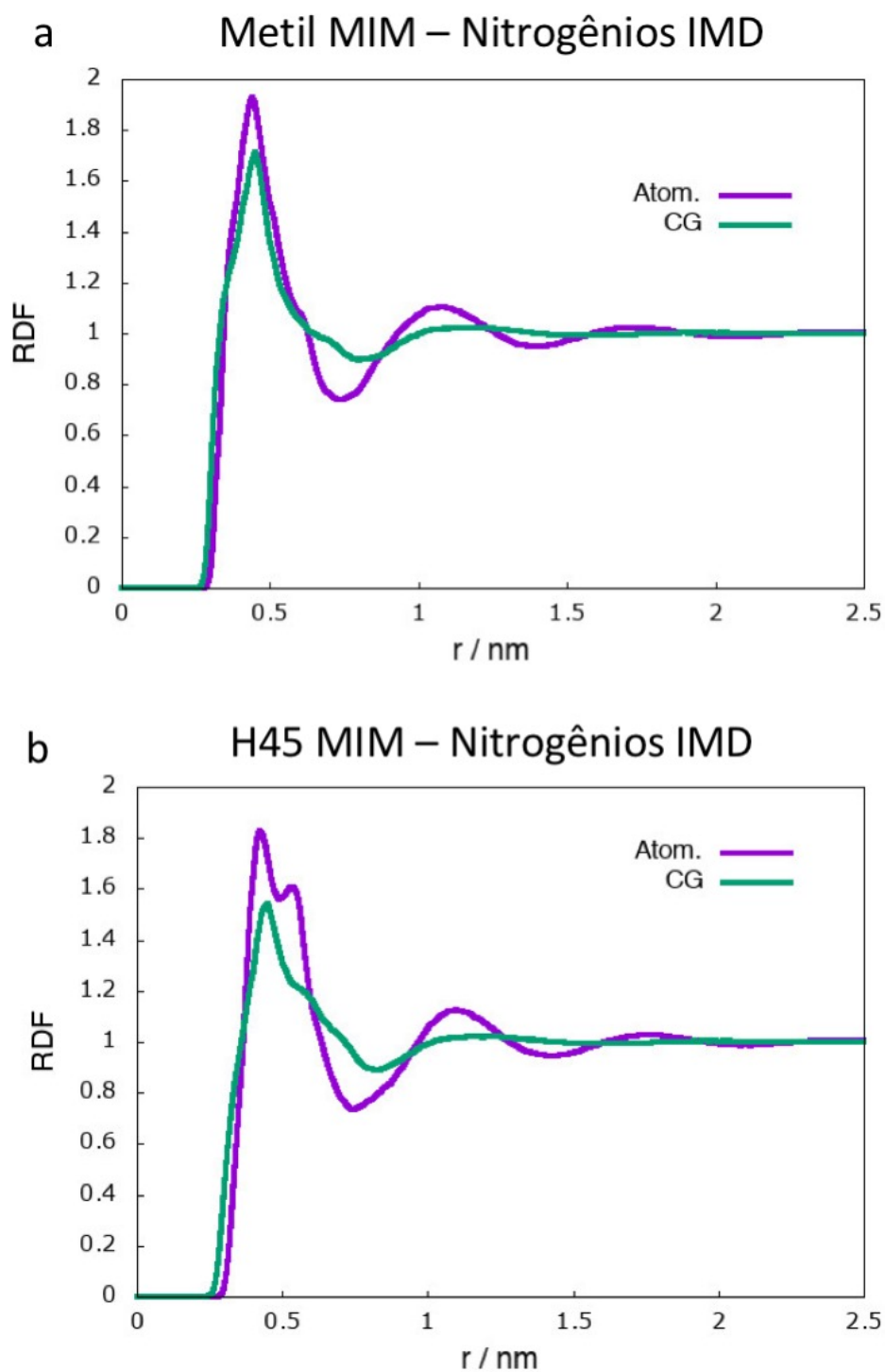


Figura 35: RDFs do líquido iônico puro MIM·IMD. Em a) encontram-se as interações entre os grupos metil do cátion MIM e em b) entre os nitrogênio do cátion MIM com o ânion IMD. Análise atomística, linha roxa; análise CG, linha verde.

contra-íon na primeira esfera de interação. Isso é um pouco maior que o encontrado na Figura 33a para o caso do BMI·IMD, já que o tamanho do grupo butil pode impedir a aproximação de outros íons; como descrito por Pádua *et al.*, a estrutura local com um cátion simétrico é mais rígida em respeito ao mesmo assimétrico, comparando os cátions MIM e BMI [82]. A mesma justificativa sobre a maior ocupação estérica dos grupos metil pode ser dada no fato de encontrar, em média, 7 ânions ao redor dos carbonos C4 e C5, da parte de trás do cátion, mais acessível (Figura 35b). Por último, comparando as distribuições dos ânions nos líquidos MIM·BF₄ (Figura 34) e MIM·IMD, a principal diferença encontrada nas simulações CG é a ausência aqui de um segundo pico de interação. Devido ao maior tamanho do ânion e principalmente à presença de interações $\pi^+ - \pi^-$ entre os anéis dos íons, como demonstrado em capítulos anteriores, o imidazolato se encontra quase-unicamente acima e abaixo do plano do cátion, gerando assim um único forte perfil de interação.

Concluindo, avaliando todas as análises apresentadas nesta sessão, é possível encontrar resultados promissores sobre a reprodução em nível CG de líquido iônico puro e de pares de contato em diferentes meios. No futuro se tornaria interessante estudar a reprodução das propriedades dinâmicas, como condutividade e difusão, dos ILs modelados com *mapping* CG Martini, embora existem dificuldades em interpretar esses resultados, já que se encontram pelo menos mais rápidos de um fator 4. Contudo, espera-se alcançar modelos quantitativamente mais próximos ao atômico após o completo desenvolvimento do modelo Martini 3.0 por parte do grupo do Prof. Dr. S-J. Marrink, e os resultados encontrados aqui estão sendo utilizados para a parametrização do próprio modelo.

5.2 Estudo da interação de líquidos iônicos com a membrana biológica

Para poder avaliar as consequências da inserção de líquidos iônicos na membrana plasmática, como ponto de partida foram efetuadas simulações atomísticas de quatro cátions a base de imidazol, possuindo diferentes comprimentos de alquilação em um dos nitrogênios do anel; as estruturas detalhadas dos cátions 3-n-butil-1-metil- (BIM), 3-n-octil-1-metil- (OIM), 3-n-dodecil-1-metil- (DIM) e 3-n-hexadecil-1-metil- imidazólio (HIM) se encontram na Figura 51 do Apêndice B.1. Como contra-íon de cada sistema foi utilizado um ânion cloreto. Para cada caso separado, o sistema de partida foi composto por uma caixa com uma bicamada fosfolipídica solvatada; a membrana biológica foi representada por 128 moléculas de fosfolípidios POPC (1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina) divididas em duas camadas. A Figura 36 representa uma molécula de POPC, indicando os grupos colina, fosfato e glicerol presentes, evidenciando com números os três oxigênios importantes para as possíveis interações eletrostáticas com o cátion imidazol: 1, oxigênio carbonílico do ácido graxo; 2 e 3, oxigênios livres do grupo fosfato. Inicialmente, um único cátion e um ânion cloreto se encontram solvatados em água na caixa de simulação; em tempos relativamente curtos os cátion imidazólicos se inserem na bicamada: a partir deste ponto as simulações foram estendidas por 110ns, considerando os últimos 100ns para as análises.

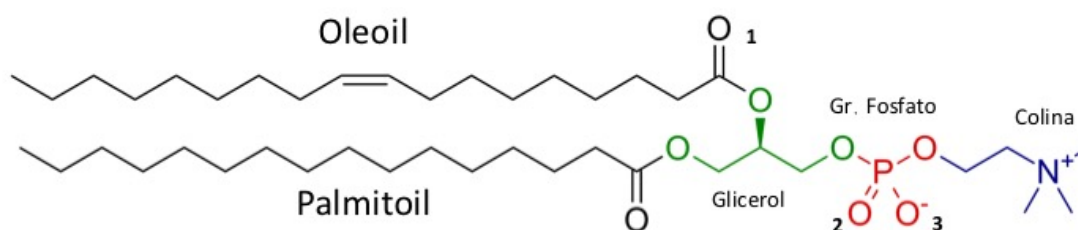


Figura 36: Esquema do fosfolipídio POPC. Na estrutura são evidenciados os oxigênios de interação preferencial com o anel imidazólico. 1: carbonila do ácido graxo; 2-3: oxigênios livres do grupo fosfato.

A temperatura de simulação foi escolhida ser 310K para obter uma fase líquida desorganizada da membrana; o parâmetro de ordem para os carbonos que constituem os fosfolipídios foi encontrado ser ca. 0,2, que como relatado por Benedetto *at al.* [35], comprova a fase líquida. Na Figura 37a está representada a membrana equilibrada antes da inserção dos cátions, na qual é possível identificar os oxigênios presentes, em vermelho, e os nitrogênios do grupo colina, em azul escuro. Como ponto de partida, foram calculados parâmetros de avaliação geométrica da membrana e suas propriedades, como a área por lipídio, espessura e os coeficientes de difusão dos fosfolipídios, em particular, o grupo fosfato e os últimos três carbonos que constituem a cadeia do palmitoil.

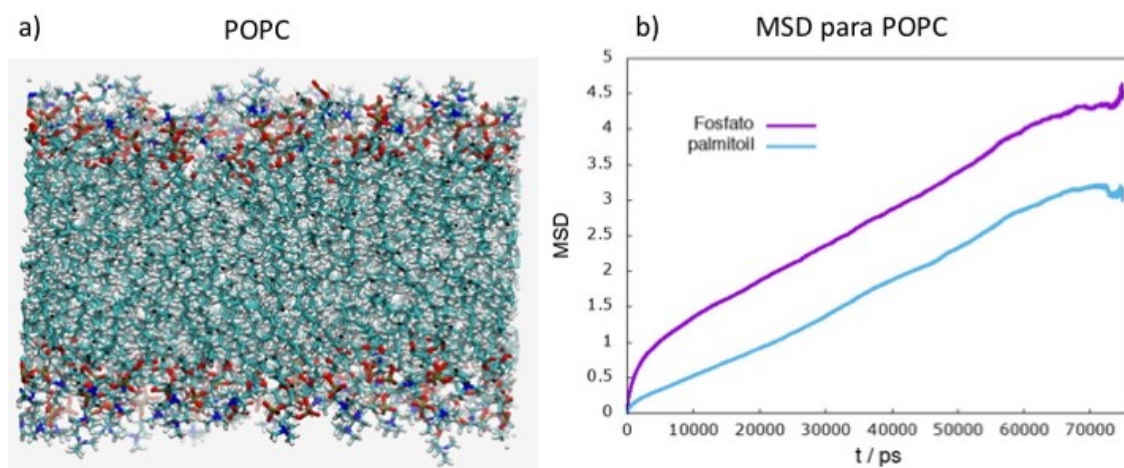


Figura 37: a) Visualização transversal da membrana biológica analisada, constituída por 128 moléculas de POPC em nível atômico. Azul escuro: nitrogênios; vermelho: oxigênios; dourado: fósforo; azul: carbonos e branco: hidrogênios. b) Gráfico do deslocamento quadrático médio do grupo fosfato (roxo) e dos últimos três carbonos da cadeia de palmitoil do POPC (cyan). Ambos os grupos apresentam o mesmo coeficiente de difusão.

O coeficiente de difusão é calculado através de uma análise de deslocamento quadrático médio ao longo da trajetória em respeito à normal da bicamada, como representado pelo gráfico da Figura 37b; a partir deste gráfico, seguindo a relação de Einstein, o coeficiente da parte linear da curva é interpolado enquanto proporcional

ao coeficiente de difusão da molécula de interesse, D . Os resultados obtidos para a membrana pura, sem cátion, e após a inserção dos mesmos se encontram resumidos na Tabela 5. Os valores encontrados, na ordem de $10^{-7} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ se encontram no intervalo de difusão das cabeças polares dos fosfolipídios no estado líquido. Existem valores discordantes na literatura sobre o intervalo de difusão das cabeças polares: Yoo *et al.* relata uma difusão em simulações de bicamadas POPC de $1,2 \pm 0,41 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, [83]; já Benedetto *et al.* encontraram valores de $1,5 \pm 0,3 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ em simulações parecidas na mesma temperatura de 300 K [35]. Embora não podendo confirmar a validade dos valores encontrados, é possível perceber que existe uma diminuição gradual da difusão das cabeças polares do POPC após a inserção de cátion com substituição alquila grande (DIM e HIM). Segundo Müller *et al.*, a adição de moléculas de surfactante ou colesterol à membrana tende a aumentar a ordem das caudas lipídicas; já que a compressibilidade é bastante baixa, isso leva a uma diminuição da área por lipídio, juntamente a uma diminuição da sua difusão lateral [84].

Tabela 5: Análise das propriedades físicas da membrana POPC após inserção de cátions imidazólicos.

	Tempo Inserção (ns)	área por lipídio (nm^2)	D ($10^{-7} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	ΔG_{bind} ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
POPC	-	0,6271	$1,01 \pm 0,04$	-
OIM	44	0,6256	$1,08 \pm 0,6$	-5,12
DIM	45	0,6248	$0,889 \pm 0,38$	-8,5
HIM	35	0,6236	$0,0829 \pm 0,17$	-10,2

Os três cátions com maior substituição alquila (OIM, DIM, HIM) se inserem rapidamente, entre 35ns e 45ns (Tabela 5), e permanecem estáveis na bicamada ao

longo de toda a simulação; por outro lado, o cátion BIM apresenta uma interação bastante transiente com a membrana, como já relatado por Lee [36], e ao longo da simulação acontecem vários episódios de inserção e saída da bicamada: por este motivo não foi possível analisar mais detalhadamente a interação com a mesma. A área por lipídio de $0,625 \text{ nm}^2$, está de acordo com o que já foi encontrado em outras simulações do mesmo sistema ($0,638 \text{ nm}^2$, [85]) e análise experimental (entre $0,63$ e $0,68 \text{ nm}^2$) [86, 87]. Como já relatado por Birgham *et al.* [38], há uma variação de poucos pontos percentuais após a interação com os ILS; neste trabalho, é possível perceber uma diminuição constante deste valor juntamente com o aumento da cadeia alifática do cátion que se insere, seguindo o que foi discutido por Müller *et al.* [84].

Com o aumento da modificação alquila do anel imidazólico, aumenta a possibilidade de interação com as cadeias hidrofóbicas dos ácidos graxos que constituem o fosfolipídio POPC, incrementando assim o valor da energia de associação cátion-membrana, determinado ser de $-5,12 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, $-8,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ e $-10,2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para os cátions OIM, DIM e HIM, respectivamente (Tabela 5). Os valores obtidos se encontram levemente inferiores aos já avaliados experimentalmente e por simulações atomística de sistema de membrana POPC. Stolte *et al.* obtiveram experimentalmente uma energia de associação de $-11,8 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para o cátion OIM [88]; já Klähn *et al.* encontraram uma energia maior para o mesmo sistema, de $-15,1 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ [34]. Por outro lado, o padrão de aumento da associação com o aumento da cadeia alquila lateral confirma a importância das interações hidrofóbicas para a manutenção do cátion no interior da membrana; a maior inserção e associação do HIM confirma, conseqüentemente, a maior perturbação das outras propriedades físicas.

Na Figura 38a, b e c são apresentadas as secções ao longo do eixo vertical da membrana após a inserção de cada cátions, associadas às distribuições de densidade de cinco grupos representativos dos sistemas avaliados (d), e) e f)). Pela representação na Figura 38a e b, é possível perceber que os cátions OIM e DIM, em laranja, se inserem mantendo uma angulação bastante alongada e reta; por outro lado, devido ao maior comprimento da substituição alquila na lateral do anel imidazol, o cátion HIM na Figura 38c se desdobra lateralmente dentro da bicamada, causando um maior impacto nas suas propriedades. Particularmente, na Figura 38c, é importante

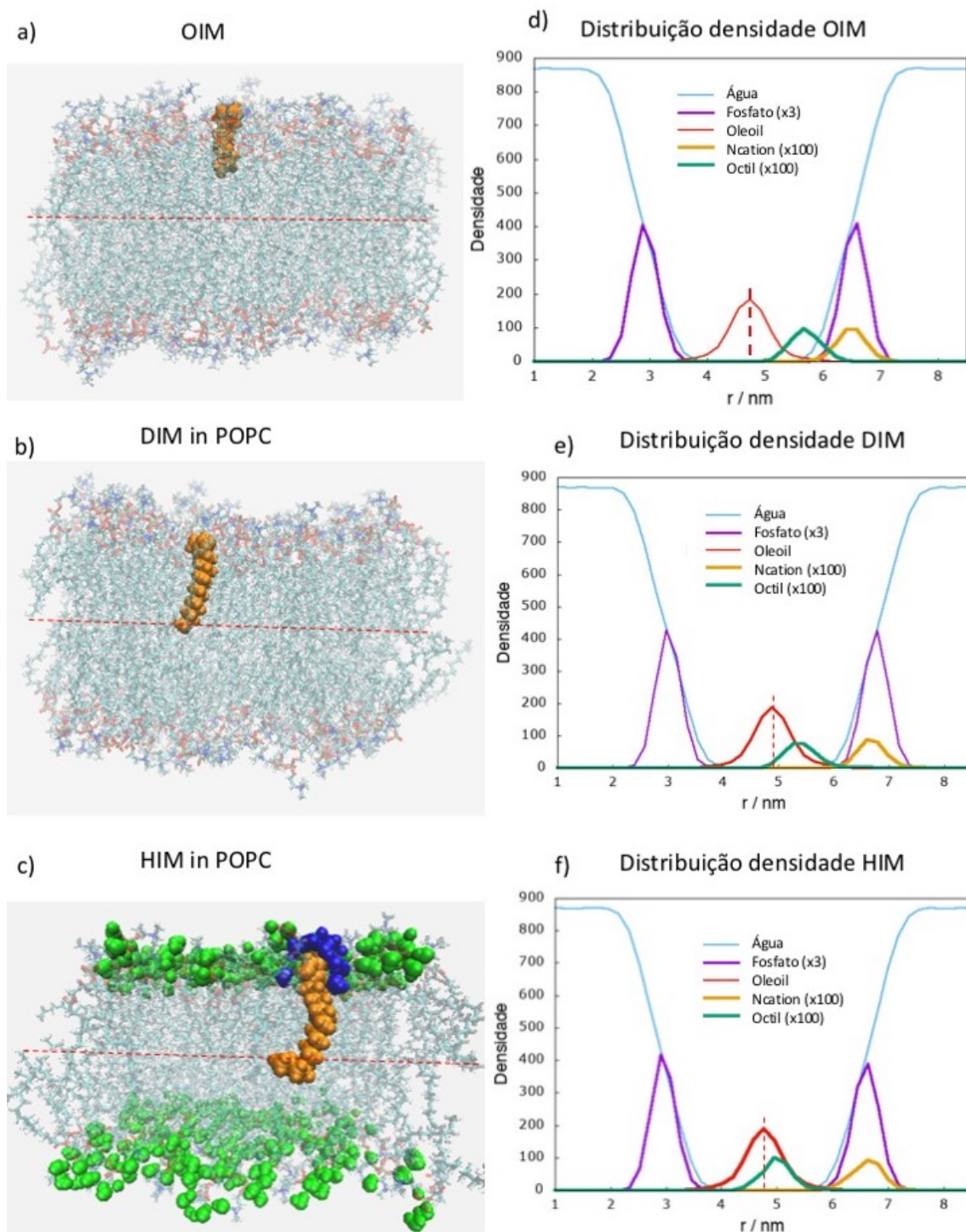


Figura 38: Visualização transversal da membrana biológica analisada, após a inserção do cátion a) OIM; b) DIM; c) HIM (com representações das moléculas de água ao seu redor (azul) e ao redor dos grupos fosfatos (verde). d), e) e f) distribuição de densidade dos grupos fosfatos (roxo), últimos carbonos da cadeia oleoil (vermelho), anel imidazólico (ocre), último carbono lateral do cátion (verde), água (azul). A linha tracejada indica o centro da membrana.

evidenciar a distribuição das moléculas de água de solvatação do grupo fosfato do POPC (em verde) e do cátion HIM (em azul escuro), com o intuito de perceber eventuais alterações dessas interações. Embora a água ao redor do cátion se encontra levemente mais inserida na bicamada com respeito à água de solvatação dos próprios fosfolipídios, não existe uma perturbação incisiva deste equilíbrio. Benedetto *et al.* também perceberam o mesmo efeito na inserção de cátions 1-n-butil,3-metilimidazólio em uma membrana de POPC, o qual levou a um leve aumento da densidade local [35]. A localização das moléculas de água é extremamente importante para poder avaliar a citotoxicidade de uma molécula, como no caso dos cátions imidazólicos, já que em sistemas com mais de um cátion foi possível perceber a formação de poros ou estruturas chamadas de dedos de protusão da água dentro da bicamada, destruindo a sua organização estrutural (podendo inferir morte celular) [89, 90]. Nas avaliações dos perfis de densidade, apresentados nas Figura 38d, e e f, a molécula de POPC está representada pelo grupo fosfato (roxo) e os últimos três carbonos da cadeia de oleoil (vermelho); para o cátion, são apresentados os nitrogênios do anel (ocre) e os últimos três carbonos da substituição alquila (verde); por fim, o perfil da água se encontra em azul. Por motivos de clareza e comparação, os dados referentes ao grupo fosfato da membrana foram multiplicados por 3; já os dados referentes ao cátion foram multiplicados por 100. A linha tracejada em vermelho em todas as figuras indica a divisão entre as duas camadas da membrana, o seu centro. Mais em detalhes, é possível perceber que em cada caso o anel carregado do imidazólio previsivelmente permanece distribuído em conjunto ao grupo fosfato do POPC, carregado negativamente. Além disso, segundo a distribuição de densidade da Figura 38e) e f), os últimos átomos dos cátions DIM e, particularmente, do cátion HIM (linha verdes) se encontram sobrepostos com as caudas dos fosfolipídios com a outra metade da membrana, possivelmente aumentando o seu estado de desorganização. Com a finalidade de perceber essas diferenças na orientação estrutural dos fosfolipídios, foram calculados as distribuição dos ângulos das cadeias de palmitoil através do *plugin Membrane Analysis Tool* no VMD [63, 91]. O primeiro e últimos carbonos do palmitoil foram escolhidos para poder traçar um vetor e acompanhar a evolução do mesmo ao longo da trajetória em respeito ao eixo z normal à membrana. Como é possível perceber da Figura 39, existe uma orientação preferencial (a 102° e

156°) dos fosfolipídios, associada a um parâmetro de ordem inicial de 0,2, mantidos também após a inserção do cátion. Após a inserção do cátion HIM é percebido produz um leve aumento da distribuição angular, porém não significativo frente à distribuição da membrana pura.

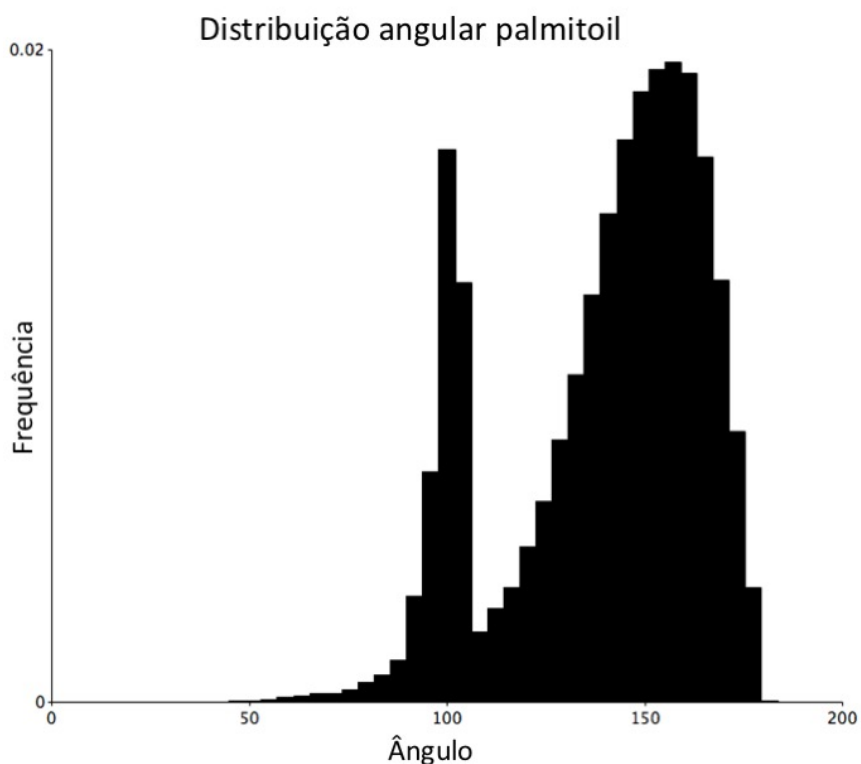


Figura 39: Visualização da distribuição angular da cauda alifática palmitoil dos fosfolipídios antes da inserção dos cátions imidazólicos.

Por outro lado, o estudo da espessura média da bicamada ao longo da simulação, efetuado também através do *plugin Membrane Analysis Tool* no VMD, demonstra uma maior desorganização da membrana após a inserção do cátion. No caso da membrana POPC, a espessura foi calculada como distância entre os grupos fosfatos, encontrando um valor médio entre 3,45 e 3,87nm, ou seja, uma variação total de 0,42nm. Após a inserção do cátion OIM, esta variação se tornou 0,46nm; a diferença entre o ponto mais espesso da membrana com o menor se ampliou para 0,54nm após a inserção do cátion DIM, e foi encontrada ser 0,68nm com a permeação do HIM. A mudança na espessura se deve ao afinamento da mesma após a inserção dos

cátions: a espessura máxima da membrana se encontrou ser de 3,99 e 3,98 nm para POPC puro e na presença de HIM; já a espessura mínima passou de 3,53nm para 3,37 nm após a inserção do cátion, comprovando o que foi já encontrado por Lee e Ballone *et al.* [35, 36]. Assim, embora não se tinha encontrado nenhuma diferença extremamente significativa em respeito á superfície ocupada pela membrana, no sentido x e y (área por lipídio), é possível perceber que existe uma mudança na organização estrutural da membrana no eixo vertical, com a presença de uma única molécula de imidazólio. Sanson *et al.* encontraram uma variação, definida por ele como significativa, na espessura da membrana DPPC de 0,5nm, após a inserção da proteína KvAP VS [92]; a mesma variação foi mantida também em simulações CG desenvolvidas para o mesmo sistema. Além disso, da Hora *et al.*, assim como vários outros autores, demonstraram como a interação na superfície de uma membrana POPC pura com peptídios antimicrobianos (AMPs) carregados positivamente pode criar fortes variações ao longo da normal à membrana, como grandes curvaturas da bicamada, que geram um profundo desequilíbrio da mesma [89, 93, 94].

Tendo como base as análises aqui apresentadas para as simulações de sistemas atomísticos com membrana, serão agora apresentados os resultados obtidos através de simulações CG e a avaliação do modelo para líquidos iônicos. A membrana POPC solvatada foi encontrada no site do Prof. Marrink [68], constituída por 128 moléculas de POPC e 1858 partículas de água CG, ou seja, cada partícula representando um reagrupamento de 4 moléculas de água reais. Os cátions foram representados seguindo o mapeamento proposto na Figura 30a, utilizando uma *bead* SC3 para a substituição com grupo butil em um dos nitrogênios do anel, e uma *bead* SC1 para as sucessivas substituições de alongamento da cadeia alifática (octil, dodecil e hexadecil). As estruturas com os respectivos mapeamentos das moléculas de POPC e dos cátions imidazólicos usados se encontram nas Figuras 52 e 51 no Apêndice B.1. As condições de simulação, tais como temperatura e pressão, foram mantidas iguais ao caso atomístico (310K e 1 atm). Os dados de análise estrutural encontrados estão representados na Tabela 6, juntamente aos coeficientes de difusão do grupo fosfato do POPC e as energias de associação encontradas após a inserção

dos cátions. Os sistemas foram simulados por um total de 500ns; diferentemente do que foi encontrado no caso atomístico, os cátions DIM e OIM interagem de forma transiente com a membrana. Em particular, como resumido na Tabela 6, o cátion DIM foi encontrado estável na membrana ao longo de 212 ns; já o cátion OIM se inseriu na membrana estavelmente somente por 10 ns consecutivos: para as análises das propriedades da membrana e para os cálculos das funções de distribuição radial, somente as partes de trajetória com os cátions completamente inserido foram consideradas. Este fato já indica que existem melhorias a serem apuradas nas interações escolhidas para a modelagem do sistema. Particularmente, o principal fator pode consistir no fato que o sistema água-membrana foi parametrizado utilizando o modelo Martini 2.0, no qual as partículas *tiny* não existem; por outro lado, os cátions foram parametrizados com o modelo em desenvolvimento (por isso a impossibilidade no momento de parametrizar a membrana) Martini 3.0, o qual inclui as *tiny beads*. Este desencontro pode afetar de forma considerável as interações entre as partículas dos cátions e dos POPC.

Tabela 6: Análise *coarse-grained* das propriedades físicas da membrana POPC após inserção de cátions imidazólicos.

	Tempo Inserção (ns)	área per lipídio (nm ²)	D (10 ⁻⁶ cm ² ·s ⁻¹)	ΔG_{bind} (kJ·mol ⁻¹)
POPC	-	6,605	0,076 ± 0,35	-
OIM	10	6,606	0,077 ± 0,01	-7,25
DIM	212	6,632	0,070 ± 0,12	-17,43
HIM	500	6,631	0,079 ± 0,19	-21,53

Os valores das áreas por lipídios encontrados, embora levemente superiores aos sistemas atomísticos anteriores, ainda se encontram na média da literatura

[85–87]. No sistema corrente, após a inserção dos cátions, parece que ocorre um pequeno aumento da área, e paralelamente, da difusão das cabeças polares dos fosfolipídios. Assim como no caso atomístico podem existir interações que favorecem o empacotamento das caudas lipídicas após a inserção de uma molécula, criando um efeito contrário ao encontrado aqui, isso pode não ser tão relevante quando se diminuem de um quarto os graus de liberdade do sistema, como no CG. Por isso, com a inserção de algo a mais, a camada se expande e conseqüentemente, a difusão das suas unidades se torna mais fluida. É importante ressaltar que os valores encontrados do coeficiente de difusão não podem ser avaliados em termos absolutos, já que no caso *coarse-grained* todas as análises de propriedades dinâmicas são aceleradas pelo menos por um fator quatro, que pode chegar a ser de 5 a 10 vezes mais rápido para caudas lipídicas em membranas [44]. As energias de associação cátion-membrana foram calculadas como descrito na sessão de metodologia, através do método *Umbrella sampling*. Os valores aqui encontrados são bem superiores aos casos atomísticos relatados acima; ao mesmo tempo, eles se aproximam aos valores indicados na literatura para casos atomísticos mencionados anteriormente [34, 88]. Por outro lado, considerado a variação percentual entre a força de associação do cátion HIM e DIM (ou seja, quanto a afinidade do cátion com a membrana aumenta ao aumentar a substituição alquila) existe um aumento de 20% e 23% nos casos AA e CG, respectivamente. A mesma comparação entre os cátions OIM e DIM resulta em uma diferença bem maior, já que nas simulações CG, o cátion OIM não se encontra associado permanentemente à membrana, e, por isso, apresenta uma interação bem mais fraca. É importante ressaltar que na literatura existem inúmeros trabalhos *coarse-grained* sobre inserção de proteínas em membranas, porém, até o momento e o nosso conhecimento, somente o grupo do Prof. Maginn apresentou simulações CG de sistemas membrana-ILs a base de imidazólio [94, 95]. Infelizmente, não foi foco desses estudos a avaliação da difusão dos fosfolipídios ou a energia de associação, por isso, não existem termos absolutos de comparação. Além disso, também foi analisada a variação de espessura da membrana antes e após a inserção dos três cátions estudados. No caso da membrana POPC pura, a variação foi de 0,68 nm; já com a presença dos cátions isso aumentou para 0,7nm (OIM), 0,89nm (DIM) e 1,18nm (HIM). De forma geral, similarmente ao caso atomístico, houve um leve

aumento da variação média da espessura da bicamada, condizente com uma maior desorganização da mesma. Na Figura 40 está representado, a título exemplificativo, o mapeamento da variação de espessura da membrana após a inserção dos cátions a) DIM e b) HIM. Nestes casos, o cátion contribui no aumento da espessura local da bicamada, embora não pode ser concluído definitivamente que isso seja de regra. Yesylevskyy *et al.* relataram como a inserção de um peptídeo positivamente carregado concentra os fosfolípidios ao seu redor, causando um aumento local do perfil de densidade [89]. Infelizmente, não foi possível efetuar as ulteriores análises de organização estrutural, como a distribuição angular da cadeia de palmitoil do POPC: o *plugin* do programa VMD usado no caso atomístico não é parametrizado para simulações CG. Além disso, embora existem instrumentos que possam calcular o ângulo de uma molécula modelada CG em respeito à normal a uma membrana, normalmente esses são pensados para proteínas transmembranares, ou seja, reconhecem unicamente parâmetros como o esqueleto da sequência de aminoácidos ou estrutura secundária α -hélice.

A distribuição de densidade encontrada para os sistemas analisados é representada na Figura 41. De forma análoga ao discutido acima para o caso atomístico, nas Figuras 41a, b e c é possível visualizar as distribuição de densidade após a inserção dos cátions OIM, DIM e HIM, respectivamente. Duas considerações podem ser feitas: primeiro, que a distribuição do anel imidazólico se encontra levemente afastado, em direção à água, em respeito ao grupo fosfato, quando comparado com o caso AA. Em segundo lugar, e consequência da primeira consideração, até no caso do cátion com substituição mais comprida, a densidade desta cadeia lateral não alcança o centro da bicamada. Isso pode ser também visualizado na Figura 41d, onde está representada uma imagem instantânea da inserção do HIM, incluindo as moléculas de água de solvatação do cátion (em rosa) e dos grupos fosfatos do POPC (em verde). Sendo que o cátion se encontra mais próximo ao solvente, com respeito ao caso atomístico, também a influência do mesmo em atrair água ao interior da bicamada, e eventualmente desestabilizá-la, não se demonstra importante.

Por último, uma avaliação do modelo *coarse-grained* utilizado foi feita através da comparação das funções de distribuição radial, RDFs, com as simulações

Espessura da membrana

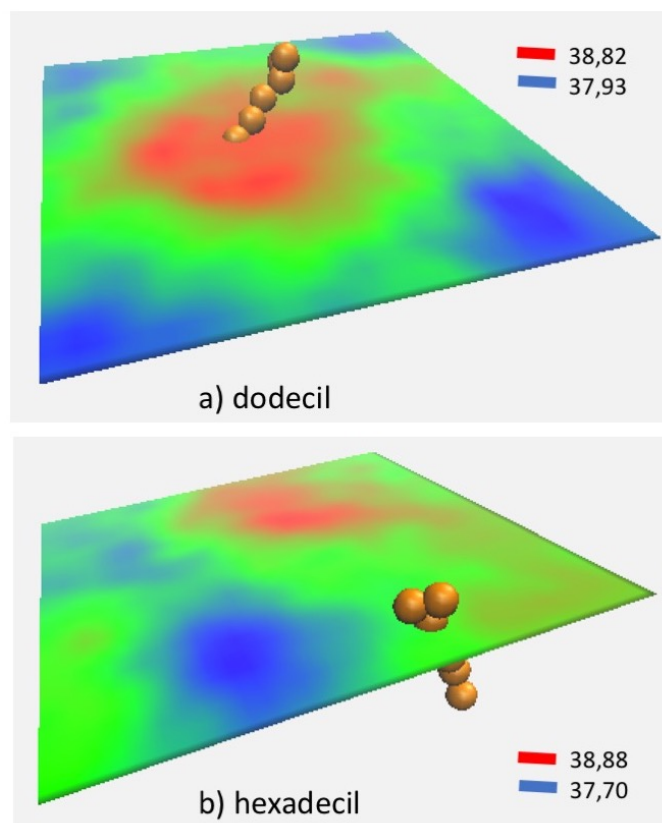


Figura 40: Mapeamento da espessura media da bicamada fosfolipídica após a inserção dos cátions a) DIM e b) HIM. Azul para valores menores e vermelho para valores maiores.

atomísticas. Da mesma forma descrita para os ILs puros, sessão 5.1.2, os átomos dos sistemas AA foram reagrupados conforme o *mapping* CG usado; deste modo, as RDFs se tornam calculadas entre os centros de massa desses grupos, assim como no caso CG são entre os centros de massa das partículas. As RDFs para os três cátions estudados em respeito aos oxigênios do grupo fosfato e do ácido graxo, no caso atomístico e CG, são reportadas na Figura 42. Nas Figuras 42a), c) e e) estão representadas as distribuições radiais dos cátions com os oxigênios do grupo fosfato, enquanto nas Figuras 42b), d) e f) estão as RDFs calculadas com os oxigênios do ácido graxo. Como já mencionado em trabalhos de Ballone *et Al.* [35], o anel imidazólico se encontra fortemente associado com o oxigênio carbonílico do ácido graxo (n. 1 na Figura 36), e eventualmente, com os oxigênios livres do grupo fosfato (n. 2 e 3 na Figura 36).

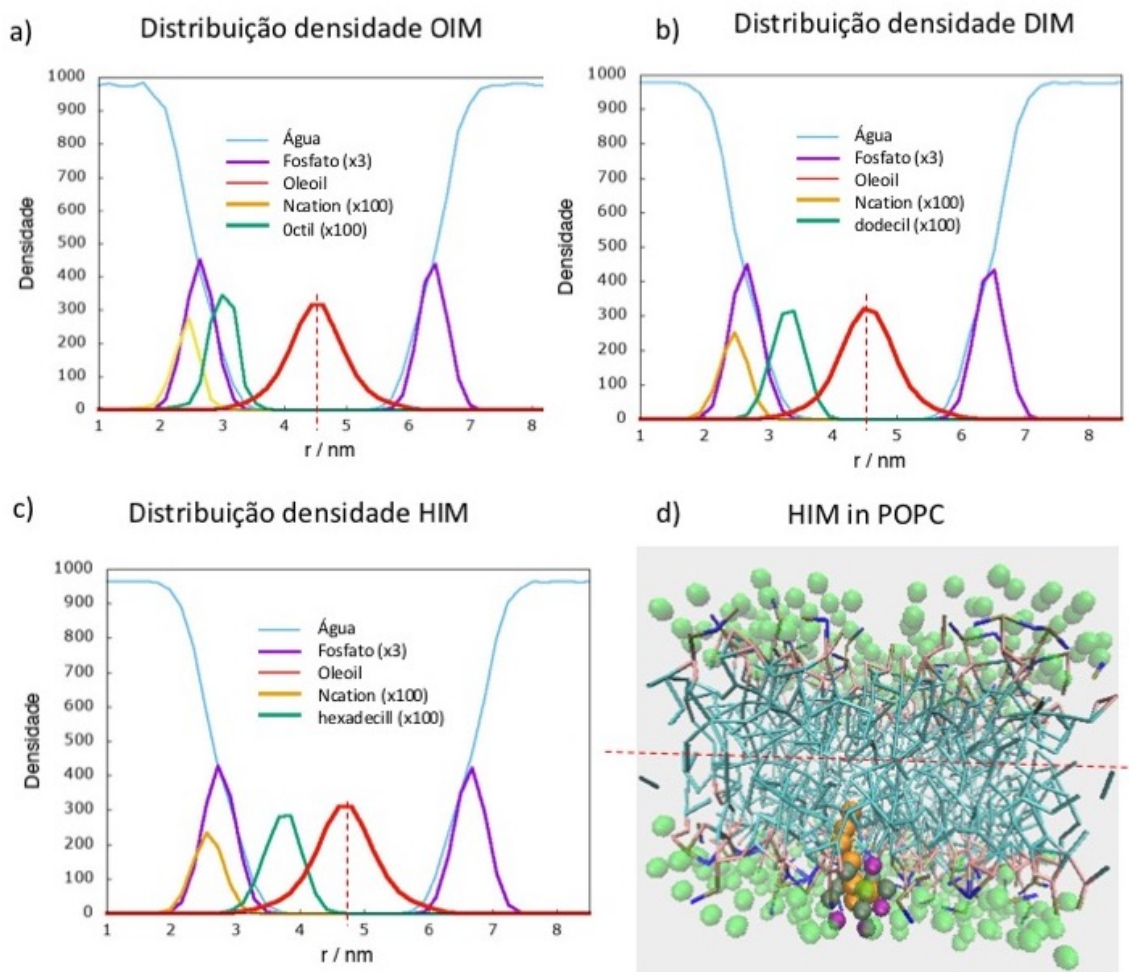


Figura 41: Distribuição de densidade dos grupos fosfatos (roxo), últimos carbonos da cadeia oleoil (vermelho), anel imidazólico (ocre), último carbono lateral do cátion (verde), água (azul) após a inserção dos cátions a) OIM, b) DIM, c) HIM. A linha tracejada indica o centro da membrana. d) Visualização transversal da membrana biológica analisada após a inserção do cátion HIM, com representações das moléculas de água de solvatação ao seu redor (rosa) e ao redor dos grupos fosfatos (verde).

Analisando, em um primeiro momento, os casos atomísticos (linhas azuis), é possível perceber que para todos os cátions este comportamento é mantido também neste trabalho, já que aparecem picos de forte interação abaixo de 0,5nm. Considerando que o comprimento de ligação entre as *tiny beads* é de 0,3 nm, a distância de 0,5nm é suficientemente curta para poder considerar que carrega as informações de uma ligação hidrogênio. A ausência desta ligação hidrogênio é exatamente o que falta ao sistema CG (linhas roxas) e, conseqüentemente, as interações com os

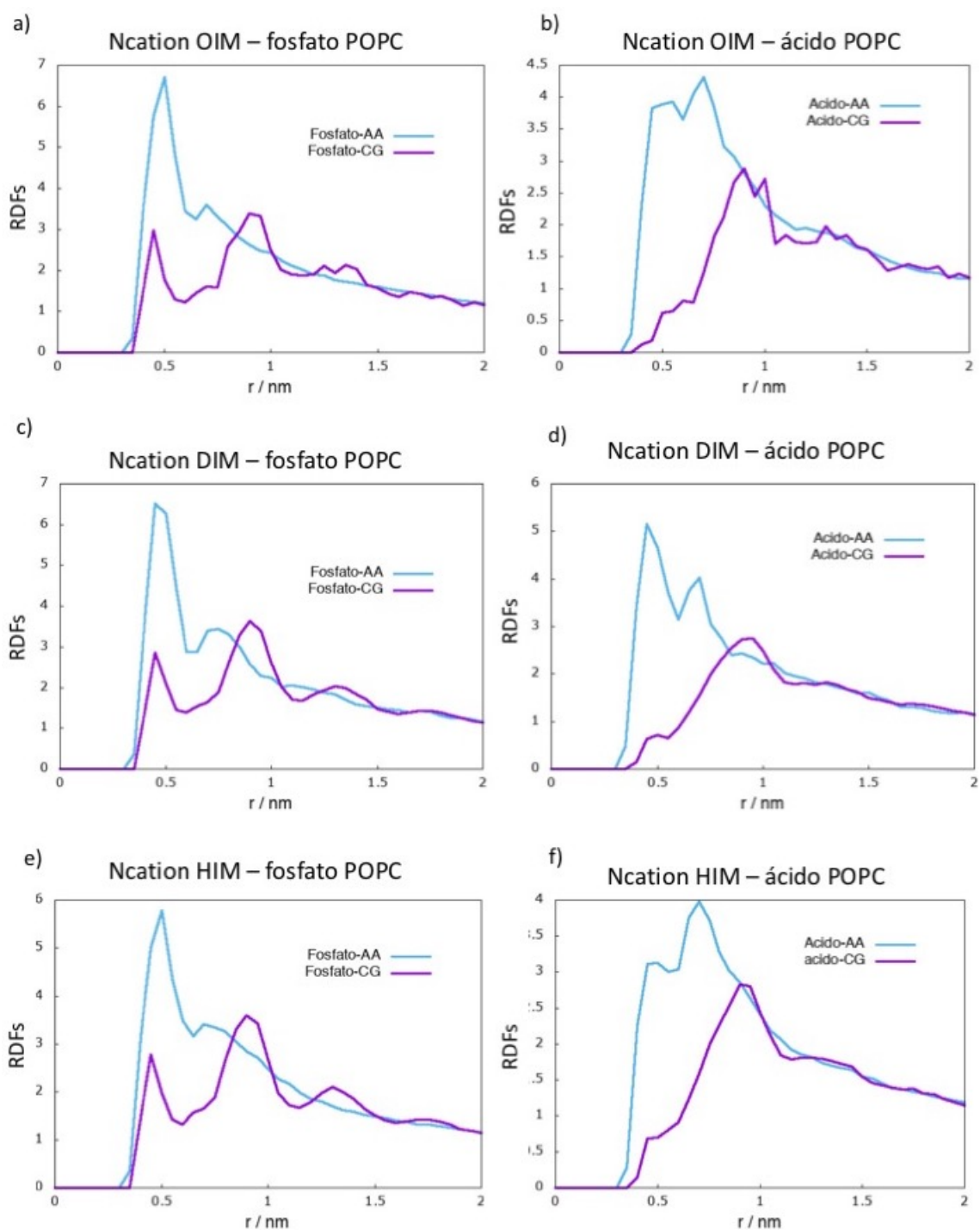


Figura 42: Funções de distribuição radial entre os oxigênio do grupo fosfato e do ácido graxo dos fosfolipídios com o anel dos cátions OIM (a e b), DIM (c e d) e HIM (e e f) analisados. Em azul as análises atomísticas e em roxo as análises CG.

oxigênios do ácido graxo se tornam bem mais fracas, principalmente para os cátion OIM e DIM (Figuras 42b) e d). É importante analisar este ponto em detalhes: para os sistemas AA, existem dois tipos de interações possíveis entre os oxigênios da molécula de POPC; a primeira, é por afinidade eletrostática, já que apresentam cargas opostas ao grupo fosfato. O segundo tipo, e o mais importante, é a interação do hidrogênio em C2 no anel do cátion por via de ligações de hidrogênio com os átomos aceitadores presentes. Embora as interações se tornem uma média de todas as interações dos átomos envolvidos no reagrupamento, para poder fazer uma comparação CG, a contribuição nas RDFs apresentada por este hidrogênio do cátion é predominante. Por outro lado, no caso das simulações CG, não existe o detalhe nas *beads* que permita a identificação de ligações hidrogênio e, por isso, a contribuição da interação eletrostática entre a partícula do cátion e da membrana se torna dominante. Com isso, nas RDFs dos sistemas CG, é possível perceber uma associação do cátion à partícula do grupo fosfato, carregada negativamente, que segue o perfil delineado pelas simulações atomísticas. Além disso, a interação bem mais fraca com as partículas dos ácidos graxos, de tipo polar, se torna comparável unicamente no caso do cátion HIM, já que os OIM e DIM apresentaram uma associação transitente com a membrana. Assim, na presença de resultados interessantes, porém não definitivos, permanece a pergunta já formulada por Müller [84]: quais são os graus de liberdade e as interações relevantes que precisam ser mantidos na escala CG a fim de apresentar a física essencial do sistema? Uma melhoria do mapeamento do imidazólio como discutido na sessão 5.1.1 poderá dar mais luz sobre esta questão.

Concluindo, os resultados inéditos encontrados até o momento a respeito de um primeiro modelo CG de inserção de líquidos iônicos na membrana plasmática apresentaram vários pontos satisfatórios, porém, uma vez que o modelo Martini 3.0 CG para líquidos iônicos será aprimorado, todas as simulações aqui apresentadas devem ser recalculadas, para poder evitar erros derivados da presença de duas parametrizações diferentes das partículas.

6 Conclusão

O trabalho desenvolvido permitiu acrescentar a compreensão da estrutura e organização tridimensional de líquidos iônicos puros e pares iônicos de contato compostos por cátions imidazólicos e ânions imidazolatos. Primeiramente foram analisados em detalhes as interações e os aspectos estruturais de seis cátions com diferentes graus de metilação no anel em condições de diluição infinita. Foi demonstrado com RDFs e SDFs como um par de contato é formado durante todo o tempo de simulação em clorofórmio e como as interações de não-ligação $\pi^+ - \pi^+$ e ligações hidrogênicas são fundamentais para entender a organização estrutural (e assim as propriedades) desses ILs. O estudo foi estendido a vários solventes comuns de diferentes constantes dielétricas para poder entender o efeito da polaridade do solvente sobre a organização estrutural dos ILs e assim a possível reatividade dos mesmos nestes meios. Foi demonstrado como a estrutura paralela entre os planos dos anéis devido a interações $\pi^+ - \pi^+$ se transforma em uma interação mais perpendicular, devido à inserção de molécula de solventes polares entre os íons. Além disso, foi percebido que não são só as interações eletrostáticas solvente-íons que determinam a estabilidade do par; a organização do próprio solvente ao redor do par iônico assume um papel importante, tão grande que CIPs são encontrados mais estáveis em acetona em respeito ao diclorometano. As colaborações com grupos de pesquisa experimentais confirmaram esta tendência, assim como permitiram identificar um complexo supramolecular guest@host formado por uma molécula de água dentro da rede de pares iônicos, quando dissolvidos em clorofórmio. A interação da água via ligações hidrogênio com o ânion e cátion claramente interfere com a reatividade do fluido. A água confinada neste ambiente age como catalisador de reações de troca H/D com o hidrogênio ácido na posição C2.

Através das informações estruturais obtidas por análise atomística foi possível desenvolver uma primeira tentativa de modelo *coarse-grained* de ILs para poder analisar as interações dos mesmos com as membranas biológicas, à luz da toxicidade descoberta recentemente. O modelo CG, embora não seja definitivo e ainda está em fase de desenvolvimento em colaboração com os seus criadores, apresentou resultados satisfatórios no caso de pares iônicos, líquidos iônicos puros e inseridos na

membrana plasmática. Os resultados obtidos até o momento refletem parcialmente as características de interação cátion-ânion encontradas nas simulações atomísticas de pares iônicos; as próprias simulações estão sendo usadas também para aprimorar os parâmetros de interação entre os *beads* e desenvolver uma melhor versão do modelo Martini v. 3.0. No caso de líquidos iônicos puros, os sistemas CG refletem corretamente parâmetros tais como densidades e interações canalizadas por funções de distribuição radial.

No caso de simulações de cátion imidazólicos com membranas biológicas, em um primeiro momento foi demonstrada a validade da simulação atomística da membrana e foi detalhada a análise estrutural (área por lipídio, parâmetro de ordem, distribuição angular, espessura) assim como as propriedades físicas (coeficiente de difusão, energia de associação) da bicamada antes e depois da inserção dos cátions estudados. A partir dessas análises, os modelos CG desenvolvidos foram testados e avaliados, uma vez que não existem sistemas similares na literatura. Os resultados se demonstraram em boa concordância com os sistemas atomísticos, embora deixando bastante espaço para futuras melhorias e considerações. De forma geral, o modelo *coarse-grained* apresentado pode constituir um primeiro passo na evolução do estudo de interações de líquidos iônicos da família imidazólica com membranas plasmáticas.

7 Perspectivas Futuras

A partir dos resultados obtidos até o momento, espera-se que num futuro próximo se possa obter uma versão 3.0 do modelo Martini aprimorada, podendo assim reavaliar as interações dos líquidos iônicos em condições de diluição infinita ou puros. Para esses fins, espera-se concluir e testar um modelo CG polarizável, podendo assim expor a capacidade de ligações hidrogênio apresentada pelo hidrogênio na posição C2 do anel imidazólico.

Consequentemente, devem ser desenvolvidas simulações mais extensas com a bicamada fosfolipídica, a fim de avaliar as mudanças nas propriedades físico-químicas e dinâmicas da membrana após inserção dos ILs. Em primeiro lugar deverá ser adicionado mais de um cátion imidazólico no sistema com a membrana, já que não foi possível perceber mudanças definitivas nas propriedades tais como *tilt angle*, área per lipídio, e difusão devido somente à presença de um único cátion orgânico. Successivamente, deverá ser usado um modelo de membrana biológica mais complexo, apresentando diferentes lipídios e principalmente moléculas de colesterol, a fim de gerar resultados comparáveis com eventuais experimentos. Além disso, o ambiente de solvatação da membrana, no momento definido unicamente por água, deverá ser aprimorado inserindo uma concentração fisiológica de íons, representados por ca. 0,15 M de Na^+ e Cl^- . Por fim, seria interessante inserir como contra-íon aniônico uma molécula orgânica, também de interesse farmacéutico-biológico, como o salicilato, para poder perceber se há interação em forma de pares de contato entre os dois íons e se isso afeta a difusão dos mesmos através da membrana plasmática.

8 Publicações

- **C. Valsecchi**, J.G. Neumann, and H. Stassen. Molecular dynamic studies of $\pi^+ - \pi^+$ stacked imidazolium/imidazolate ion pairs in chloroform solution. *Journal of Molecular Liquids*, 245, p. 103-108, 2017.
- M. Zanatta, A-L. Girard, G. Marin, G. Ebeling, F. P. dos Santos, **C. Valsecchi**, H. K. Stassen, P. R. Livotto, W. Lewis, and Jairton Dupont. Confined water in imidazolium based ionic liquids: a supramolecular guest@host complex case. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 18:18297–18304, 2016.
- **C. Valsecchi**, M. Zanatta, J.G. Neumann, G. Marin, F. P. dos Santos, J. Dupont and H. K. Stassen. Solvent structural orientation and influence on Imidazolium-based IL contact pairs. Em fase de submissão.

9 Referências

- [1] WILKES, J. S. A short history of ionic liquids—from molten salts to neoteric solvents. *Green Chem.*, v. 4, p. 73–80, 2002.
- [2] SÁNCHEZ, P. B.; GARCÍA, J.; PÁDUA, A. A. Structural effects on dynamic and energetic properties of mixtures of ionic liquids and water. *Journal of Molecular Liquids*, v. 242, p. 204 – 212, 2017.
- [3] DUPONT, J. On the solid, liquid and solution structural organization of imidazolium ionic liquids. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 15, n. 3, p. 341–350, 2004.
- [4] GRUNWALD, E. Interpretation of data obtained in nonaqueous media. *Analytical Chemistry*, v. 26, n. 11, p. 1696–1701, 1954.
- [5] REICHARDT, C. Ion solvation. von y. marcus. john wiley, chichester 1985. xiii, 306. *Angewandte Chemie*, v. 99, n. 8, p. 826–826, 1987.

- [6] FUMINO, K.; STANGE, P.; FOSSOG, V.; HEMPELMANN, R.; LUDWIG, R. Equilibrium of contact and solvent-separated ion pairs in mixtures of protic ionic liquids and molecular solvents controlled by polarity. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 52, n. 47, p. 12439–12442, 2013.
- [7] FUMINO, K.; LUDWIG, R. Analyzing the interaction energies between cation and anion in ionic liquids: The subtle balance between coulomb forces and hydrogen bonding. *Journal of Molecular Liquids*, v. 192, p. 94 – 102, 2014. *Fundamental Aspects of Ionic Liquid Science*.
- [8] ZANATTA, M.; GIRARD, A.-L.; SIMON, N. M.; EBELING, G.; STASSEN, H. K.; LIVOTTO, P. R.; DOSÂÑSANTOS, F. P.; DUPONT, J. The formation of imidazolium salt intimate (contact) ion pairs in solution. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 53, n. 47, p. 12817–12821, 2014.
- [9] WEINGÄRTNER, H. Understanding ionic liquids at the molecular level: Facts, problems, and controversies. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 47, n. 4, p. 654–670, 2008.
- [10] XU, W.; ANGELL, C. A. Solvent-free electrolytes with aqueous solution-like conductivities. *Science*, Washington, v. 302, n. 5644, p. 422–425, 2003.
- [11] GREAVES, T. L.; DRUMMOND, C. J. Protic ionic liquids: Evolving structure—property relationships and expanding applications. *Chemical Reviews*, v. 115, n. 20, p. 11379–11448, 2015. PMID: 26426209.
- [12] CHABAN, V. V.; VOROSHYLOVA, I. V.; KALUGIN, O. N.; PREZHDO, O. V. Acetonitrile boosts conductivity of imidazolium ionic liquids. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 116, n. 26, p. 7719–7727, 2012. PMID: 22686332.
- [13] STASSEN, H. K.; LUDWIG, R.; WULF, A.; DUPONT, J. Imidazolium salt ion pairs in solution. *Chemistry – A European Journal*, v. 21, n. 23, p. 8324–8335, 2015.
- [14] SCHOLTEN, J. D.; PRECHTL, M. H.; DUPONT, J. *Formation of nanoparticles assisted by ionic liquids*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2010.
- [15] SWATLOSKI, R. P.; SPEAR, S. K.; HOLBREY, J. D.; ROGERS, R. D. Dissolution of cellulose with ionic liquids. *Journal of the American Chemical Society*, Washington, v. 124, n. 18, p. 4974–4975, 2002. PMID: 11982358.

- [16] ZHAO, W.; LEROY, F.; HEGGEN, B.; ZAHN, S.; KIRCHNER, B.; BALASUBRAMANIAN, S.; MÜLLER-PLATHE, F. Are there stable ion-pairs in room-temperature ionic liquids? molecular dynamics simulations of 1-n-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate. *Journal of the American Chemical Society*, Washington, v. 131, n. 43, p. 15825–15833, 2009.
- [17] LEE, A. A.; VELLA, D.; PERKIN, S.; GORIELY, A. Are room-temperature ionic liquids dilute electrolytes? *The Journal of Physical Chemistry Letters*, v. 6, n. 1, p. 159–163, 2015. PMID: 26263105.
- [18] NETO, B. A. D.; MEURER, E. C.; GALAVERNA, R.; BYTHELL, B. J.; DUPONT, J.; COOKS, R. G.; EBERLIN, M. N. Vapors from ionic liquids: Reconciling simulations with mass spectrometric data. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, v. 3, n. 23, p. 3435–3441, 2012. PMID: 26290969.
- [19] QIAO, B.; KREKELER, C.; BERGER, R.; DELLE SITE, L.; HOLM, C. Effect of anions on static orientational correlations, hydrogen bonds, and dynamics in ionic liquids: A simulational study. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 112, n. 6, p. 1743–1751, 2008. PMID: 18205343.
- [20] NOACK, K.; SCHULZ, P. S.; PAAPE, N.; KIEFER, J.; WASSERSCHIED, P.; LEIPERTZ, A. The role of the c2 position in interionic interactions of imidazolium based ionic liquids: a vibrational and nmr spectroscopic study. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 12, p. 14153–14161, 2010.
- [21] VALSECCHI, C.; NEUMANN, J.; STASSEN, H. Molecular dynamic studies of π^+ – π^- stacked imidazolium/imidazolate ion pairs in chloroform solution. *Journal of Molecular Liquids*, v. 5, p. 103–108, 2017.
- [22] JODRY, J. J.; MIKAMI, K. New chiral imidazolium ionic liquids: 3d-network of hydrogen bonding. *Tetrahedron Letters*, v. 45, n. 23, p. 4429 – 4431, 2004.
- [23] BHARGAVA, B.; BALASUBRAMANIAN, S. Intermolecular structure and dynamics in an ionic liquid: A car–parrinello molecular dynamics simulation study of 1,3-dimethylimidazolium chloride. *Chemical Physics Letters*, Amsterdam, v. 417, n. 4, p. 486 – 491, 2006.
- [24] MATTHEWS, R. P.; WELTON, T.; HUNT, P. A. Competitive pi interactions and

- hydrogen bonding within imidazolium ionic liquids. *Physical Chemistry Chemical Physics*, v. 16, n. 7, p. 3238–3253, 2014.
- [25] ZANATTA, M.; GIRARD, A.-L.; MARIN, G.; EBELING, G.; DOS SANTOS, F. P.; VALSECCHI, C.; STASSEN, H.; LIVOTTO, P. R.; LEWIS, W.; DUPONT, J. Confined water in imidazolium based ionic liquids: a supramolecular guest@host complex case. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 18, p. 18297–18304, 2016.
- [26] PRETTI, C.; CHIAPPE, C.; PIERACCINI, D.; GREGORI, M.; ABRAMO, F.; MONNI, G.; INTORRE, L. Acute toxicity of ionic liquids to the zebrafish (*danio rerio*). *Green Chem.*, v. 8, p. 238–240, 2006.
- [27] BERGAMO, V.; DONATO, R.; DALLA LANA, D.; DONATO, K.; ORTEGA, G.; SCHREKKER, H.; FUENTEFRIA, A. Imidazolium salts as antifungal agents: strong antibiofilm activity against multidrug-resistant *Candida tropicalis* isolates. *Letters in Applied Microbiology*, v. 60, n. 1, p. 66–71, 2015. 1105.
- [28] SCHREKKER, H. S.; DONATO, R. K.; FUENTEFRIA, A. M.; BERGAMO, V.; OLIVEIRA, L. F.; MACHADO, M. M. Imidazolium salts as antifungal agents: activity against emerging yeast pathogens, without human leukocyte toxicity. *Med. Chem. Commun.*, v. 4, p. 1457–1460, 2013.
- [29] PERNAK, J.; SOBASZKIEWICZ, K.; MIRSKA, I. Anti-microbial activities of ionic liquids. *Green Chemistry*, v. 5, n. 1, p. 52–56, 2003.
- [30] LASS-FLÖRL, C. Triazole antifungal agents in invasive fungal infections. *Drugs*, v. 71, n. 18, p. 2405–2419, Dec 2011.
- [31] DEMBERELNYAMBA, D.; KIM, K.-S.; CHOI, S.; PARK, S.-Y.; LEE, H.; KIM, C.-J.; YOO, I.-D. Synthesis and antimicrobial properties of imidazolium and pyrrolidinium salts. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 12, n. 5, p. 853 – 857, 2004.
- [32] HOUGH-TROUTMAN, W. L.; SMIGLAK, M.; GRIFFIN, S.; MATTHEW REICHERT, W.; MIRSKA, I.; JODYNIS-LIEBERT, J.; ADAMSKA, T.; NAWROT, J.; STASIEWICZ, M.; ROGERS, R. D.; PERNAK, J. Ionic liquids with dual biological function: sweet and anti-microbial, hydrophobic quaternary ammonium-based salts. *New J. Chem.*, v. 33, p. 26–33, 2009.

- [33] HOSKIN, D. W.; RAMAMOORTHY, A. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, v. 1778, n. 2, p. 357 – 375, 2008.
- [34] KLAHN, M.; ZACHARIAS, M. Transformations in plasma membranes of cancerous cells and resulting consequences for cation insertion studied with molecular dynamics. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 15, p. 14427–14441, 2013.
- [35] BENEDETTO, A.; BINGHAM, R. J.; BALLONE, P. Structure and dynamics of popc bilayers in water solutions of room temperature ionic liquids. *The Journal of Chemical Physics*, v. 142, n. 12, p. 124706, 2015.
- [36] LEE, H. Effects of imidazolium-based ionic surfactants on the size and dynamics of phosphatidylcholine bilayers with saturated and unsaturated chains. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, v. 60, p. 162 – 168, 2015.
- [37] LEE, H.; JEON, T.-J. The binding and insertion of imidazolium-based ionic surfactants into lipid bilayers: the effects of the surfactant size and salt concentration. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 17, p. 5725–5733, 2015.
- [38] BINGHAM, R. J.; BALLONE, P. Computational study of room-temperature ionic liquids interacting with a popc phospholipid bilayer. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 116, n. 36, p. 11205–11216, 2012. PMID: 22905780.
- [39] FILIPPOV, A.; ORÄDD, G.; LINDBLOM, G. The effect of cholesterol on the lateral diffusion of phospholipids in oriented bilayers. *Biophysical journal*, v. 84, n. 5, p. 3079–3086, 2003.
- [40] HERZOG, F. A.; BRAUN, L.; SCHOEN, I.; VOGEL, V. Improved side chain dynamics in martini simulations of protein–lipid interfaces. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 12, n. 5, p. 2446–2458, 2016. PMID: 27042944.
- [41] ARNAREZ, C.; UUSITALO, J. J.; MASMAN, M. F.; INGOLFSSON, H. I.; DE JONG, D. H.; MELO, M. N.; PERIOLE, X.; DE VRIES, A. H.; MARRINK, S. J. Dry martini, a coarse-grained force field for lipid membrane simulations with implicit solvent. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 11, n. 1, p. 260–275, 2015. PMID: 26574224.

- [42] UUSITALO, J. J.; INGÅS-LFSSON, H. I.; AKHSHI, P.; TIELEMAN, D. P.; MARRINK, S. J. Martini coarse-grained force field: Extension to dna. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 11, n. 8, p. 3932–3945, 2015. PMID: 26574472.
- [43] MARRINK, S. J.; DE VRIES, A. H.; MARK, A. E. Coarse grained model for semiquantitative lipid simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 108, n. 2, p. 750–760, 2004.
- [44] MARRINK, S. J.; RISSELADA, H. J.; YEFIMOV, S.; TIELEMAN, D. P.; DE VRIES, A. H. The martini force field: coarse grained model for biomolecular simulations. *The journal of physical chemistry B*, v. 111, n. 27, p. 7812–7824, 2007.
- [45] ZAVADLAV, J.; MELO, M. N.; CUNHA, A. V.; DE VRIES, A. H.; MARRINK, S. J.; PRAPROTNIK, M. Adaptive resolution simulation of martini solvents. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 10, n. 6, p. 2591–2598, 2014. PMID: 26580779.
- [46] DE ANDRADE, J.; BÖES, E. S.; STASSEN, H. A force field for liquid state simulations on room temperature molten salts: 1-ethyl-3-methylimidazolium tetrachloroaluminate. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 106, n. 14, p. 3546–3548, 2002.
- [47] DE ANDRADE, J.; BÖES, E. S.; STASSEN, H. Computational study of room temperature molten salts composed by 1-alkyl-3-methylimidazolium cations force-field proposal and validation. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 106, n. 51, p. 13344–13351, 2002.
- [48] HESS, B.; KUTZNER, C.; VAN DER SPOEL, D.; LINDAHL, E. Gromacs 4: Algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 4, n. 3, p. 435–447, 2008. PMID: 26620784.
- [49] FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; SCALMANI, G.; BARONE, V.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; LI, X.; CARICATO, M.; MARENICH, A. V.; BLOINO, J.; JANESKO, B. G.; GOMPERS, R.; MENNUCCI, B.; HRATCHIAN, H. P.; ORTIZ, J. V.; IZMAYLOV, A. F.; SONNENBERG, J. L.; WILLIAMS-YOUNG, D.; DING, F.; LIPPARINI, F.; EGIDI, F.; GOINGS, J.; PENG, B.; PETRONE, A.; HENDERSON, T.; RANASINGHE, D.; ZAKRZEWSKI, V. G.; GAO, J.; REGA, N.; ZHENG, G.; LIANG, W.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.;

VREVEN, T.; THROSSELL, K.; MONTGOMERY, Jr., J. A.; PERALTA, J. E.; OGLIARO, F.; BEARPARK, M. J.; HEYD, J. J.; BROTHERS, E. N.; KUDIN, K. N.; STAROVEROV, V. N.; KEITH, T. A.; KOBAYASHI, R.; NORMAND, J.; RAGHAVACHARI, K.; RENDELL, A. P.; BURANT, J. C.; IYENGAR, S. S.; TOMASI, J.; COSSI, M.; MILLAM, J. M.; KLENE, M.; ADAMO, C.; CAMMI, R.; OCHTERSKI, J. W.; MARTIN, R. L.; MOROKUMA, K.; FARKAS, O.; FORESMAN, J. B.; FOX, D. J. Gaussian 03. *Gaussian Inc.: Wallingford, CT*, 2004.

- [50] PARRINELLO, M.; RAHMAN, A. Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. *Journal of Applied Physics*, New York, v. 52, n. 12, p. 7182–7190, 1981.
- [51] ESSMANN, U.; PERERA, L.; BERKOWITZ, M. L.; DARDEN, T.; LEE, H.; PEDERSEN, L. G. A smooth particle mesh ewald method. *The Journal of Chemical Physics*, v. 103, n. 19, p. 8577–8593, 1995.
- [52] HESS, B.; BEKKER, H.; BERENDSEN, H. J. C.; FRAAIJE, J. G. E. M. Lincs: A linear constraint solver for molecular simulations. *Journal of Computational Chemistry*, v. 18, n. 12, p. 1463–1472, 1997.
- [53] CALEMAN, C.; VAN MAAREN, P. J.; HONG, M.; HUB, J. S.; COSTA, L. T.; VAN DER SPOEL, D. Force field benchmark of organic liquids: Density, enthalpy of vaporization, heat capacities, surface tension, isothermal compressibility, volumetric expansion coefficient, and dielectric constant. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 8, n. 1, p. 61–74, 2012. PMID: 22241968.
- [54] JORGENSEN, W. L.; CHANDRASEKHAR, J.; MADURA, J. D.; IMPEY, R. W.; KLEIN, M. L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *The Journal of Chemical Physics*, v. 79, n. 2, p. 926–935, 1983.
- [55] CHU, K.-Y.; THOMPSON, A. R. Densities and refractive indices of alcohol-water solutions of n-propyl, isopropyl, and methyl alcohols. *Journal of Chemical & Engineering Data*, v. 7, n. 3, p. 358–360, 1962.
- [56] WANG, J.; WOLF, R. M.; CALDWELL, J. W.; KOLLMAN, P. A.; CASE, D. A. Development and testing of a general amber force field. *Journal of Computational Chemistry*, v. 25, n. 9, p. 1157–1174, 2004.

- [57] VIVCHARUK, V.; TOMBERLI, B.; TOLOKH, I. S.; GRAY, C. Prediction of binding free energy for adsorption of antimicrobial peptide lactoferricin b on a popc membrane. *Physical Review E*, v. 77, n. 3, p. 031913, 2008.
- [58] HESS, B.; HOLM, C.; VAN DER VEGT, N. Osmotic coefficients of atomistic nacl (aq) force fields. *The Journal of Chemical Physics*, v. 124, n. 16, p. 164509, 2006.
- [59] DE OLIVEIRA, T. E.; NETZ, P. A.; MUKHERJI, D.; KREMER, K. Why does high pressure destroy co-non-solvency of pnipam in aqueous methanol? *Soft Matter*, v. 11, p. 8599–8604, 2015.
- [60] KUČERKA, N.; TRISTRAM-NAGLE, S.; NAGLE, J. F. Structure of fully hydrated fluid phase lipid bilayers with monounsaturated chains. *The Journal of Membrane Biology*, v. 208, n. 3, p. 193–202, Jan 2006.
- [61] DOMAŃSKI, J.; STANSFELD, P. J.; SANSOM, M. S. P.; BECKSTEIN, O. Lipidbook: A public repository for force-field parameters used in membrane simulations. *The Journal of Membrane Biology*, v. 236, n. 3, p. 255–258, Aug 2010. <http://lipidbook.bioch.ox.ac.uk> Last Access: 15.10.2017.
- [62] WILLIAMS, T.; ET AL., C. K. Gnuplot 4.6: an interactive plotting program. <http://gnuplot.sourceforge.net/>, April 2013.
- [63] HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD – Visual Molecular Dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, v. 14, p. 33–38, 1996.
- [64] BAADEN, M.; MARRINK, S. J. Coarse-grain modelling of protein–protein interactions. *Current Opinion in Structural Biology*, v. 23, n. 6, p. 878 – 886, 2013. Catalysis and regulation / Protein-protein interactions.
- [65] KMIECIK, S.; GRONT, D.; KOLINSKI, M.; WIETESKA, L.; DAWID, A. E.; KOLINSKI, A. Coarse-grained protein models and their applications. *Chemical Reviews*, v. 116, n. 14, p. 7898–7936, 2016. PMID: 27333362.
- [66] SHINODA, W.; DEVANE, R.; KLEIN, M. L. Multi-property fitting and parameterization of a coarse grained model for aqueous surfactants. *Molecular Simulation*, v. 33, n. 1-2, p. 27–36, 2007.
- [67] TOZZINI, V. Coarse-grained models for proteins. *Current opinion in structural biology*, v. 15, n. 2, p. 144–150, 2005.

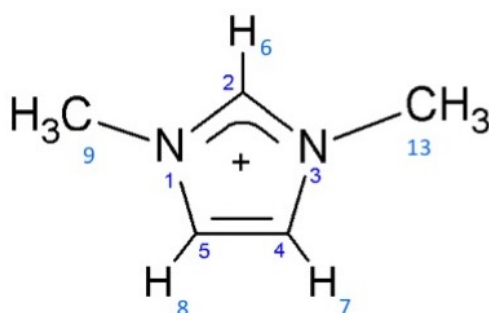
- [68] MARRINK, S. J. Martini coarse-grained model for biomolecules. <http://cgmartini.nl/index.php/force-field-parameters/lipids>.
- [69] XU, Y.; LI, T.; PENG, C.; LIU, H. Influence of c2-h of imidazolium-based ionic liquids on the interaction and vapor-liquid equilibrium of ethyl acetate + ethanol system: [bmim]bf₄ vs [bmmim]bf₄. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 54, n. 36, p. 9038–9045, 2015.
- [70] TAYLOR, A. W.; LOVELOCK, K. R. J.; DEYKO, A.; LICENCE, P.; JONES, R. G. High vacuum distillation of ionic liquids and separation of ionic liquid mixtures. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 12, p. 1772–1783, 2010.
- [71] HOLLINGSWORTH, N.; TAYLOR, S.; GALANTE, M. T.; JACQUEMIN, J.; LONGO, C.; HOLT, K. B.; DE LEEUW, N. H.; HARDACRE, C. Reduction of carbon dioxide to formate at low overpotential using a superbase ionic liquid. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 54, n. 47, p. 14164–14168, 2015.
- [72] LOZANO, P.; DIEGO, T. D.; CARRIE, D.; VAULTIER, M.; IBORRA, J. L. Continuous green biocatalytic processes using ionic liquids and supercritical carbon dioxide. *Chem. Commun.*, p. 692–693, 2002.
- [73] RICHARDI, J.; FRIES, P. H.; KRIENKE, H. The solvation of ions in acetonitrile and acetone: A molecular ornstein-zernike study. *The Journal of Chemical Physics*, v. 108, n. 10, p. 4079–4089, 1998.
- [74] WANG, J.; TIAN, Y.; ZHAO, Y.; ZHUO, K. A volumetric and viscosity study for the mixtures of 1-n-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate ionic liquid with acetonitrile, dichloromethane, 2-butanone and n, n - dimethylformamide. *Green Chem.*, v. 5, p. 618–622, 2003.
- [75] MARTÍNEZ, L.; ANDRADE, R.; BIRGIN, E. G.; MARTÍNEZ, J. M. Packmol: A package for building initial configurations for molecular dynamics simulations. *Journal of Computational Chemistry*, v. 30, n. 13, p. 2157–2164, 2009.
- [76] LIDE, D. R. *Crc handbook of chemistry and physics, internet version 2005*. 86th. ed. CRC Press, Boca Raton, FL, 2005.
- [77] IUPAC. International union of pure and applied chemistry. <https://iupac.org/what-we-do/periodic-table-of-elements/>.

- [78] YESYLEVSKYY, S. O.; SCHÄFER, L. V.; SENGUPTA, D.; MARRINK, S. J. Polarizable water model for the coarse-grained martini force field. *PLoS Computational Biology*, v. 6, n. 6, p. 1–17, 06 2010.
- [79] MICHALOWSKY, J.; SCHÄFER, L. V.; HOLM, C.; SMIAŁEK, J. A refined polarizable water model for the coarse-grained martini force field with long-range electrostatic interactions. *The Journal of Chemical Physics*, v. 146, n. 5, p. 054501, 2017.
- [80] XU, W.-G.; LI, L.; MA, X.-X.; WEI, J.; DUAN, W.-B.; GUAN, W.; YANG, J.-Z. Density, surface tension, and refractive index of ionic liquids homologue of 1-alkyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate [cnmim][bf₄] (n = 2,3,4,5,6). *Journal of Chemical & Engineering Data*, v. 57, n. 8, p. 2177–2184, 2012.
- [81] HAN, C.; XIA, S.; MA, P.; ZENG, F. Densities of ionic liquid [bmim][bf₄] + ethanol, + benzene, and + acetonitrile at different temperature and pressure. *Journal of Chemical & Engineering Data*, v. 54, n. 10, p. 2971–2977, 2009.
- [82] CANONGIA LOPES, J. N. A.; PÁDUA, A. A. H. Nanostructural organization in ionic liquids. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 110, n. 7, p. 3330–3335, 2006. PMID: 16494347.
- [83] YOO, B.; SHAH, J. K.; ZHU, Y.; MAGINN, E. J. Amphiphilic interactions of ionic liquids with lipid biomembranes: a molecular simulation study. *Soft Matter*, v. 10, n. 43, p. 8641–8651, 2014.
- [84] MÜLLER, M.; KATSOV, K.; SCHICK, M. Biological and synthetic membranes: What can be learned from a coarse-grained description? *Physics Reports*, v. 434, n. 5-6, p. 113–176, 2006.
- [85] POGER, D.; MARK, A. E. On the validation of molecular dynamics simulations of saturated and cis-monounsaturated phosphatidylcholine lipid bilayers: A comparison with experiment. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 6, n. 1, p. 325–336, 2010. PMID: 26614341.
- [86] KUČERKA, N.; LIU, Y.; CHU, N.; PETRACHE, H. I.; TRISTRAM-NAGLE, S.; NAGLE, J. F. Structure of fully hydrated fluid phase dmpe and dlpc lipid bilayers using x-ray scattering from oriented multilamellar arrays and from unilamellar vesicles. *Biophysical journal*, v. 88, n. 4, p. 2626–2637, 2005.

- [87] SMABY, J.; MOMSEN, M.; BROCKMAN, H.; BROWN, R. Phosphatidylcholine acyl unsaturation modulates the decrease in interfacial elasticity induced by cholesterol. *Biophysical Journal*, v. 3, n. 73, p. 1492–1505, 1997.
- [88] STOLTE, S.; MATZKE, M.; ARNING, J.; BÖSCHEN, A.; PITNER, W.-R.; WELZBIERMANN, U.; JASTORFF, B.; RANKE, J. Effects of different head groups and functionalised side chains on the aquatic toxicity of ionic liquids. *Green Chemistry*, v. 9, n. 11, p. 1170–1179, 2007.
- [89] YESYLEVSKYY, S.; MARRINK, S.-J.; MARK, A. E. Alternative mechanisms for the interaction of the cell-penetrating peptides penetratin and the tat peptide with lipid bilayers. *Biophysical journal*, v. 97, n. 1, p. 40–49, 2009.
- [90] BOGGARA, M. B.; KRISHNAMOORTI, R. Partitioning of nonsteroidal antiinflammatory drugs in lipid membranes: a molecular dynamics simulation study. *Biophysical journal*, v. 98, n. 4, p. 586–595, 2010.
- [91] GUIXÁ-GONZÁLEZ, R.; RODRIGUEZ-ESPIGARES, I.; RAMÍREZ-ANGUITA, J. M.; CARRIÁ-GASPAR, P.; MARTINEZ-SEARA, H.; GIORGINO, T.; SELENT, J. Memplug: studying membrane complexity in vmd. *Bioinformatics*, v. 30, n. 10, p. 1478–1480, 2014.
- [92] SANSOM, M. S.; SCOTT, K. A.; BOND, P. J. Coarse-grained simulation: a high-throughput computational approach to membrane proteins. *Biochem. Soc. Trans.*, v. 36, p. 27–32, 2008.
- [93] DA HORA, G. C. A.; ARCHILHA, N. L.; LOPES, J. L. S.; MULLER, D. M.; COUTINHO, K.; ITRI, R.; SOARES, T. A. Membrane negative curvature induced by a hybrid peptide from pediocin pa-1 and plantaricin 149 as revealed by atomistic molecular dynamics simulations. *Soft Matter*, v. 12, p. 8884–8898, 2016.
- [94] YOO, B.; JING, B.; JONES, S. E.; LAMBERTI, G. A.; ZHU, Y.; SHAH, J. K.; MAGINN, E. J. Molecular mechanisms of ionic liquid cytotoxicity probed by an integrated experimental and computational approach. *Scientific reports*, v. 6, p. 19889, 2016.
- [95] YOO, B.; ZHU, Y.; MAGINN, E. J. Molecular mechanism of ionic-liquid-induced membrane disruption: Morphological changes to bilayers, multilayers, and vesicles. *Langmuir*, Washington, v. 32, n. 21, p. 5403–5411, 2016. PMID: 27159842.

A Estruturas dos cátions imidazólicos analisados

A.1 Cátion 1,3 dimetil imidazólio



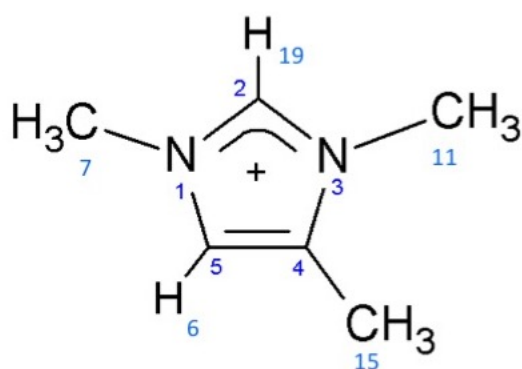
1,3-dimetil im.

(13im)

átomo	carga
N1	0,157
C2	-0,063
N3	0,157
C4	-0,197
C5	-0,197
H6	0,249
H7	0,259
H8	0,259
C9	-0,322
H10	0,170
H11	0,170
H12	0,170
C13	-0,322
H14	0,170
H15	0,170
H16	0,170

Figura 43: Distribuição de cargas do cátion 1,3 dimetil imidazólio obtida através de cálculo RESP *ab initio*.

A.2 Cátion 1,3,4 trimetil imidazólio

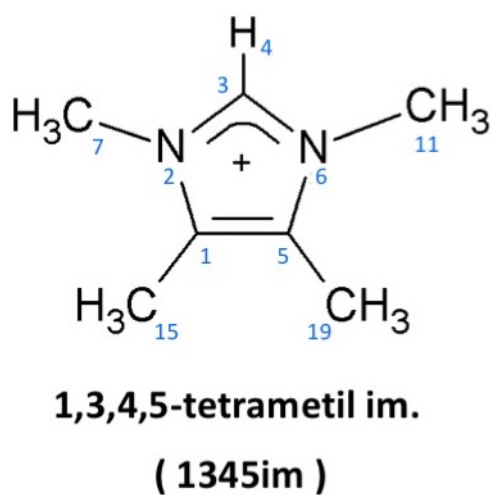


1,3,4-trimetil im.
(134im)

átomo	carga
N1	0,197
C2	-0,118
N3	0,098
C4	0,256
C5	-0,392
H6	0,285
C7	-0,298
H8	0,162
H9	0,162
H10	0,162
C11	-0,389
H12	0,185
H13	0,185
H14	0,185
C15	-0,443
H16	0,166
H17	0,166
H18	0,166
H19	0,265

Figura 44: Distribuição de cargas do cátion 1,3,4 dimetil imidazólio obtida através de cálculo RESP *ab initio*.

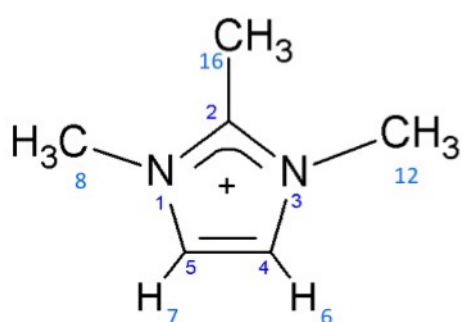
A.3 Cátion 1,3,4,5 tetrametil imidazólio



átomo	carga
C1	0,115
N2	0,028
C3	-0,053
H4	0,256
C5	0,115
N6	0,028
C7	-0,296
H8	0,164
H9	0,164
H10	0,164
C11	-0,296
H12	0,164
H13	0,164
H14	-0,164
C15	-0,448
H16	0,169
H17	0,169
H18	0,169
C19	-0,448
H20	0,169
H21	0,169
H22	0,169

Figura 45: Distribuição de cargas do cátion 1,3,4,5 tetrametil imidazólio obtida através de cálculo RESP *ab initio*.

A.4 Cátion 1,2,3 trimetil imidazólio

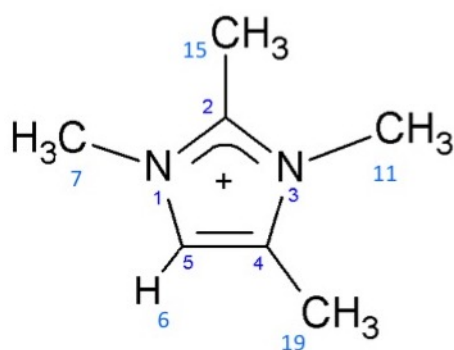


**1,2,3-trimetil im.
(123im)**

átomo	carga
N1	0,088
C2	0,293
N3	0,088
C4	-0,232
C5	-0,232
H6	0,271
H7	0,271
C8	-0,310
H9	0,164
H10	0,164
H11	0,164
C12	-0,310
H13	0,164
H14	0,164
H15	0,164
C16	-0,424
H17	0,171
H18	0,171
H19	0,171

Figura 46: Distribuição de cargas do cátion 1,2,3 trimetil imidazólio obtida através de cálculo RESP *ab initio*.

A.5 Cátion 1,2,3,4 tetrametil imidazólio



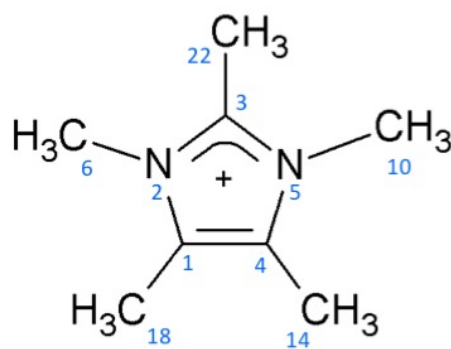
1,2,3,4-tetrametil im.

(1234im)

átomo	carga
N1	0,087
C2	0,267
N3	-0,004
C4	0,241
C5	-0,411
H6	0,293
C7	-0,237
H8	0,145
H9	0,145
H10	0,145
C11	-0,384
H12	0,173
H13	0,173
H14	-0,173
C15	-0,373
H16	0,159
H17	0,159
H18	0,159
C19	-0,435
H20	0,163
H21	0,163
H22	0,163

Figura 47: Distribuição de cargas do cátion 1,2,3,4 tetrametil imidazólio obtida através de cálculo RESP *ab initio*.

A.6 Cátion 1,2,3,4,5 pentametil imidazólio



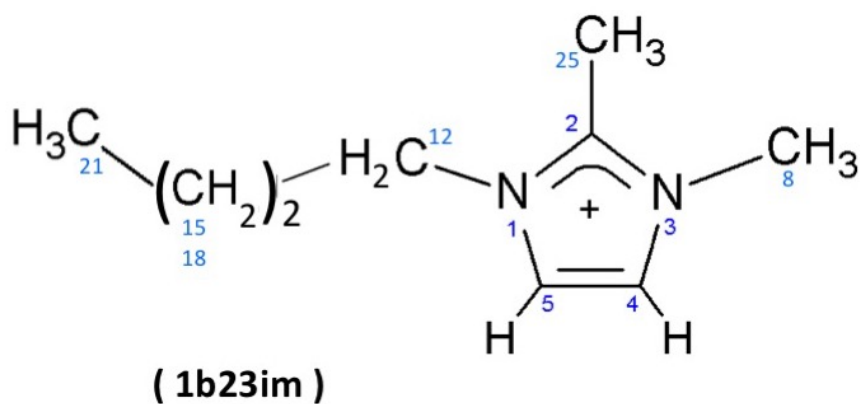
1,2,3,4,5-pentametil im.

(12345im)

átomo	carga
C1	0,082
N2	-0,053
C3	0,259
C4	0,082
N5	-0,053
C6	-0,203
H7	0,138
H8	0,138
H9	0,138
C10	-0,203
H11	0,138
H12	0,138
H13	0,138
C14	-0,412
H15	0,160
H16	0,160
H17	0,160
C18	-0,412
H19	0,160
H20	0,160
H21	0,160
C22	-0,289
H23	0,137
H24	0,137
H25	0,137

Figura 48: Distribuição de cargas do cátion 1,2,3,4,5 pentametil imidazólio obtida através de cálculo RESP *ab initio*.

A.7 1-butil-2,3-dimetil imidazólio

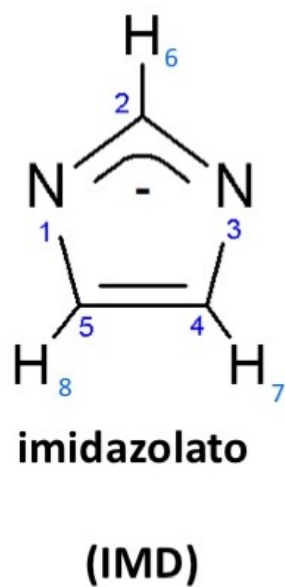


1-n-butil-2,3-diimetil im.

átomo	carga	átomo	carga
N1	0,054	C15	-0,029
C2	0,404	H16	0,037
N3	0,018	H17	0,037
C4	-0,234	C18	0,148
C5	-0,243	H19	0,004
H6	0,280	H20	0,004
H7	0,272	C21	-0,321
C8	-0,239	H22	0,090
H9	0,145	H23	0,090
H10	0,145	H24	0,09
H11	0,145	C25	-0,658
C12	-0,138	H26	0,225
H13	-0,122	H27	0,225
H14	-0,122	H28	0,225

Figura 49: Distribuição de cargas do cátion 1-butil-2,3-dimetil imidazólio obtida através de cálculo RESP *ab initio*.

A.8 Ânion imidazolato



átomo	carga
N1	-0,705
C2	0,431
N3	-0,705
C4	-0,048
C5	-0,048
H6	-0,035
H7	0,055
C8	0,055

Figura 50: Distribuição de cargas do ânion imidazolato obtida através de cálculo RESP *ab initio*.

B Mapeamento *coarse-grained* dos cátions e membrana fosfolipídica

B.1 Estrutura dos cátions imidazólicos

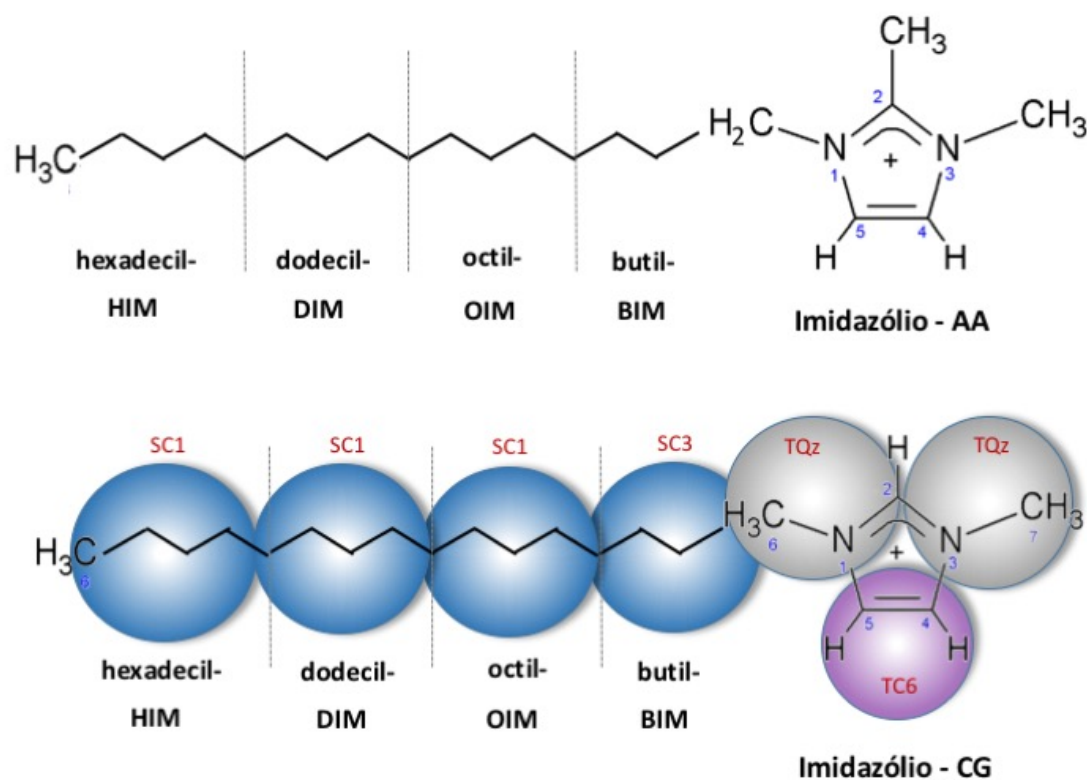


Figura 51: Estrutura e mapeamento *coarse-grained* dos cátions 1-hexadecil-3-metil Im.(HIM), 1-dodecil-3-metil Im. (DIM), 1-octil-3-metil Im. (OIM) e 1-n-butil-3-metil Im. (BIM). A carga positiva é distribuída unicamente entre as *beads* que compõem o anel imidazólico: TQz e SC6.

Tabela 7: Distribuição de cargas no mapeamento *coarse-grained* dos cátion inseridos na membrana. Cada partícula representa a soma das cargas dos átomos envolvidos, calculada *ab initio* para o cátion 1,3-dimetil imidazólio.

partícula	carga
TQz	0,407
TQz	0,407
SC6	0,186
SC3	0,0
SC1	0,0
SC1	0,0
SC1	0,0

B.2 Estrutura do fosfolipídio 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC)

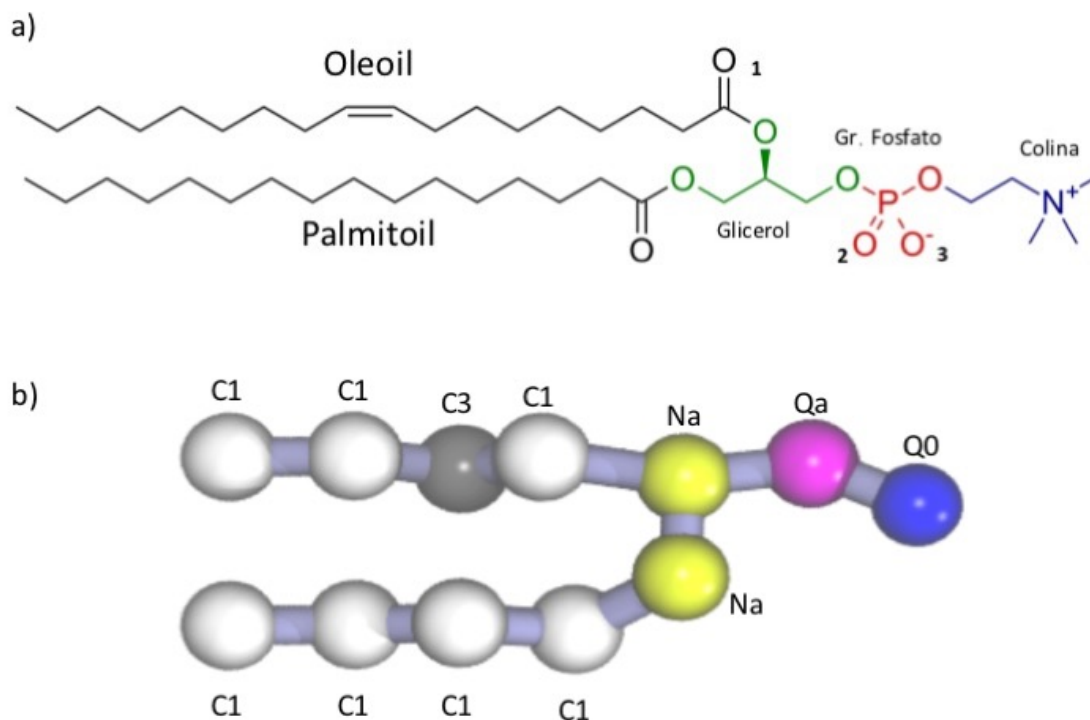


Figura 52: Esquema do fosfolipídio POPC usado neste estudo a) atômico e b) mapeamento CG. Na estrutura atômica são evidenciados os oxigênios de interação preferencial com o anel imidazólico. 1: carbonila do ácido graxo; 2-3: oxigênios livre do grupo fosfato. No mapeamento CG são evidenciados os tipos de partículas utilizadas. A partícula Q0 apresenta carga +1; a partícula Qa apresenta carga -1.