

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ESTUDO DA INTERAÇÃO DE LÍQUIDOS IÔNICOS, DE INTERESSE
FARMACOLÓGICO COM MEMBRANA POPC POR SIMULAÇÃO DE DINÂMICA
MOLECULAR**

Dissertação de Mestrado

Marcia Ilone Klipstein Weissheimer

Porto Alegre
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Marcia Ilone Klipstein Weissheimer

**ESTUDO DA INTERAÇÃO DE LÍQUIDOS IÔNICOS DE INTERESSE
FARMACOLÓGICO COM MEMBRANA POPC POR SIMULAÇÃO DE DINÂMICA
MOLECULAR**

Dissertação apresentada como
requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Química.

Prof. Dr. Hubert K. Stassen
Orientador

Porto Alegre, maio de 2015

A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre março/2013 e maio/2015, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação do Professor Doutor Hubert K. Stassen. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Hermes Luis Neubauer de Amorim

Prof^a. Dr^a. Leandra Franciscato Campo

Prof. Dr. Paulo Fernando Bruno Gonçalves

Prof. Dr. Hubert K. Stassen
Orientador

Marcia Ilone Klipstein Weissheimer

Aluna

“Somente a dose correta diferencia o veneno do remédio.”

Paracelso

I

AGRADECIMENTOS

Ao professor Hubert K. Stassen, pela orientação e por ter viabilizado este estudo.

Ao Grupo de Química Teórica e Computacional, pela contribuição bibliográfica, pelo ambiente e espaço físico.

Ao Instituto de Química, pelo acolhimento que possibilitou a realização do curso de pós graduação.

A cada cidadão que contribui para o ensino gratuito e de qualidade.

À Fernanda, por ter colorido as trajetórias.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. OBJETIVOS	3
1.1.1. OBJETIVO GERAL	3
1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. LÍQUIDOS IÔNICOS	4
2.2. MEMBRANAS CELULARES	7
2.3. ABSORÇÃO E AÇÃO DE FÁRMACOS	8
2.4. MECANISMOS DE PERMEAÇÃO NAS MEMBRANAS	8
2.5. AÇÃO DOS FÁRMACOS ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO ESTERÓIDES (AINES)	10
3. METODOLOGIA	11
3.1. DINÂMICA MOLECULAR	11
3.2. CAMPO DE FORÇA	12
3.3. POTENCIAL ELETROSTÁTICO, CARGAS (CHELPG E/OU RESP)	14
3.4. ENSEMBLE ESTATÍSTICO	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1. GEOMETRIA MOLECULAR E DISTRIBUIÇÃO DE CARGAS	16
4.1.1. ACETILSALICILATO	16
4.1.2. IBUPROFENATO	17
4.1.3. BENZIL-DECIL-DIMETIL-AMÔNIO	18
4.1.4. DIDECIL-DIMETIL-AMÔNIO	19
4.2. TOPOLOGIAS	20
4.2.1. TOPOLOGIA INICIAL PARA O ACETILSALICILATO	20
4.2.2. PARÂMETROS NÃO DEFINIDOS NO CAMPO DE FORÇA	20
4.2.3. SEGUNDA TOPOLOGIA PARA O ACETILSALICILATO.....	21
4.3. DM DOS PARES IÔNICOS	23
4.3.1. DISTÂNCIA MÍNIMA ENTRE OS ÍONS NO VÁCUO	23
4.4. DM DOS PARES IÔNICOS SOLVATADOS	24
4.4.1. DISTÂNCIAS MÍNIMAS ENTRE OS ÍONS SOLVATADOS	25
4.4.2. FUNÇÕES DE DISTRIBUIÇÃO RADIAL (RDFs)	27
4.4.3. RDFs DOS PARES IÔNICOS EM CHCl ₃	29
4.4.3.1. ASPDDA	30
4.4.3.2. ASPBDDA	31
4.4.3.3. IBUDDA	32
4.4.3.4. IBUBDDA.....	33

4.5.	DM DOS LIs PUROS	34
4.5.1.	DENSIDADES	35
4.5.2.	RDFs	36
4.5.2.1.	ASPDDA	36
4.5.2.2.	ASPBDDA	38
4.5.2.3.	IBUDDA	40
4.5.2.4.	IBUBDDA	42
4.6.	MEMBRANA POPC	44
4.7.	DM DOS SISTEMAS LI + MEMBRANA	44
4.7.1.	DIMENSÕES DA BICAMADA	46
4.7.2.	ASPDDA	48
4.7.3.	ASPBDDA	53
4.7.4.	IBUDDA	57
4.7.5.	IBUBDDA	61
5.	CONCLUSÕES	65
6.	PERSPECTIVAS	66
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: (a) Cátion N-Etilpiridíneo e (b) Cátion N- <i>n</i> -Butilpiridínio.	4
Figura 2: Cátion da família dialquilimidazólio.	4
Figura 3: Reação entre o TSIL e o CO ₂	5
Figura 4: (a) Modelo mosaico fluido; matriz de fosfolípídeos com proteínas distribuídas e (b) Bicamada de fosfolípídeos.	7
Figura 5: Molécula de POPC.	8
Figura 6: Permeação através das membranas. Difusão (a) e Transporte (b) envolvendo Endocitose e Transcitose (C).	10
Figura 7: Geometria molecular à esquerda, estrutura à direita (a) e distribuição de cargas (b) para o ânion acetilsalicilato.	16
Figura 8: Geometria molecular à esquerda, estrutura à direita (a) e distribuição de cargas (b) para o ânion ibuprofenato.	17
Figura 9: Geometria molecular à esquerda, estrutura à direita (a) e distribuição de cargas (b) para o cátion benzalcônio.	18
Figura 10: Geometria molecular à esquerda, estrutura à direita (a) e distribuição de cargas (b) para o cátion didecildimetilamônio.	19
Figura 11: Tipos de átomos do ASP da primeira topologia.	20
Figura 12: Estrutura da tirosina.	22
Figura 13: Tipos de átomo do ASP ⁻ da segunda topologia.	22
Figura 14: Distâncias mínimas entre os pares iônicos ASPDDA, ASPBDDA, IBUDDA e IBUBDDA.	24
Figura 15: Distância mínima entre os íons ASP e DDA em água (a) e clorofórmio (b).	25
Figura 16: Distância mínima entre os íons ASP e BDDA em água (a) e clorofórmio (b).	26
Figura 17: Distância mínima entre os íons IBU e DDA em água (a) e clorofórmio (b).	26
Figura 18: Distância mínima entre os íons IBU e BDDA em água (a) e clorofórmio (b).	26
Figura 19: Ilustração de uma RDF e as camadas de solvatação.	27
Figura 20: Divisões dos átomos dos íons em grupos.	28
Figura 21: RDFs ânion-cátion entre (a) carboxilato, (b) éster e (c) aromático e (d) metila do ASP com N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do DDA.	30
Figura 22: RDFs ânion-cátion entre (a) carboxilato, (b) éster e (c) aromático e (d) metila do ASP com N2Dimetil, Cauda, Cauda2 e Aromático do BDDA.	31
Figura 23: RDFs ânion-cátion entre (a) carboxilato, (b) aromático e (c) Cauda do IBU com N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do DDA.	32
Figura 24: RDFs ânion-cátion entre (a) carboxilato, (b) aromático e (c) Cauda do IBU com N2Dimetil, aromático, Cauda1 e Cauda2 do BDDA.	33
Figura 25: RDFs ânion-cátion, entre (a) carboxilato, (b) éster, (c) aromático e (d) metila do ânion ASP com N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do cátion DDA dos sistemas líquidos.	36
Figura 26: RDFs ânion-ânion (ASP), tendo como referência (a) carboxilato e éster e (b) aromático e metila dos sistemas líquidos.	37
Figura 27: RDF cátion-cátion (DDA) para interações entre N1Dimetil, Cauda2 e Cauda1 dos sistemas líquidos.	37
Figura 28: RDFs ânion-cátion, entre (a) carboxilato, (b) éster, (c) aromático e (d) metila do ASP ⁻ com N2Dimetil, Cauda1, Cauda2 e Aromático do BDDA dos sistemas líquidos.	38
Figura 29: RDFs ânion-ânion (ASP) tendo como referência (a) carboxilato e éster e (b) aromático e metila dos sistemas líquidos.	39
Figura 30: RDFs cátion-cátion (BDDA) tendo como referência (a) N2Dimetil e (b) Cauda1, Cauda2 e aromático dos sistemas líquidos.	39
Figura 31: RDFs ânion-cátion, entre (a) carboxilato, (b) aromático e (c) Cauda do IBU com	

N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do DDA dos sistemas líquidos.	40
Figura 32: RDFs (a) ânion-ânion (IBU) entre carboxilato, Cauda e aromático e (b) cátion-cátion (DDA) entre N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2.	41
Figura 33: RDFs ânion-cátion entre (a) carboxilato, (b) aromático e (c) Cauda do IBU com N2Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do BDDA dos sistemas líquidos.	42
Figura 35: RDFs cátion-cátion (BDDA) tendo como referência (a) N2Dimetil (b) Cauda1, Cauda2 e aromático dos sistemas líquidos.	43
Figura 34: RDFs ânion-ânion (IBU) entre carboxilato, Cauda e aromático dos sistemas líquidos.	43
Figura 36: Divisões da molécula POPC utilizadas para os cálculos das RDFs.	45
Figura 37: Evolução temporal das dimensões da caixa de simulação, nas direções x e y para os sistemas estudados.	46
Figura 38: Perfil de densidade para o sistema POPC, ASP, DDA e água (SOL).	50
Figura 39: Instantâneo do sistema ASPDDA ao final de 100 ns de simulação. À esquerda superior o cátion DDA e à direita superior o ânion ASP. Os pontos vermelhos representam os oxigênios do sistema. As moléculas de POPC, localizadas entre as duas camadas de água (superior e inferior) assim como os hidrogênios dos íons foram suprimidos da imagem para melhor visualização.	50
Figura 40: (a) Distância mínima entre ASP e DDA e (b) Interação eletrostática entre ASP e DDA.	51
Figura 41: RDF entre grupo carboxilato e N1Dimetil (a) em CHCl ₃ e (b) no interior da membrana.	51
Figura 42: RDFs entre (a) G1, (b) G2, (c) G3, (d) G4, (e) G5 e (f) G6 da POPC com carboxilato, éster, aromático, metila, N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do par iônico ASPDDA.	52
Figura 43: Perfil de densidade para o sistema POPC, ASP, BDDA e água(SOL).	54
Figura 44: Instantâneo do sistema ASPBDDA ao final de 100 ns de simulação. À esquerda superior o cátion BDDA e à direita superior o ânion ASP. Os pontos vermelhos representam os oxigênios do sistema. As moléculas de POPC, localizadas entre as duas camadas de água (superior e inferior) assim como os hidrogênios dos íons foram suprimidos da imagem para melhor visualização.	54
Figura 45: (a) Distância mínima entre ASP e BDDA e (b) Interação eletrostática entre ASP BDDA.	55
Figura 46: RDF entre grupo carboxilato e N2Dimetil (a) em CHCl ₃ e (b) no interior da membrana.	55
Figura 47: RDFs entre (a) G1, (b) G2, (c) G3, (d) G4, (e) G5 e (f) G6 da POPC com carboxilato, éster, aromático ASP, metila, N2Dimetil, aromático, Cauda1 e Cauda2 do par iônico ASPBDDA.	56
Figura 48: Perfil de densidade para o sistema POPC, IBU, DDA e água.	58
Figura 49: Instantâneo do sistema IBUDDA ao final de 100 ns de simulação. À esquerda superior o par iônico IBUDDA. Os pontos vermelhos representam os oxigênios do sistema. As moléculas de POPC, localizadas entre as duas camadas de água (superior e inferior) assim como os hidrogênios dos íons foram suprimidos da imagem para melhor visualização.	58
Figura 50: (a) Distância mínima entre IBU e DDA e (b) Interação eletrostática entre IBU e DDA.	59
Figura 51: RDF entre grupo carboxilato e N1Dimetil (a) em CHCl ₃ e (b) no interior da membrana.	59
Figura 52: RDFs entre (a) G1, (b) G2, (c) G3, (d) G4, (e) G5 e (f) G6 da POPC com carboxilato, aromático, CaudaIBU, N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do par iônico	

IBUDDA.....	60
Figura 53: Perfil de densidade para o sistema POPC, IBU, BDDA e água.....	62
Figura 54: Instantâneo do sistema IBUBDDA ao final de 100 ns de simulação. À esquerda superior o cátion BDDA e à direita superior o ânion IBU. Os pontos vermelhos representam os oxigênios do sistema. As moléculas de POPC, localizadas entre as duas camadas de água (superior e inferior) assim como os hidrogênios dos íons foram suprimidos da imagem para melhor visualização.....	62
Figura 55: (a) Distância mínima entre IBU e BDDA e (b) Interação eletrostática entre IBU e BDDA.....	63
Figura 56: RDF entre grupo carboxilato e N2Dimetil (a) em CHCl3 e (b) no interior da membrana.....	63
Figura 57: RDFs entre (a) G1, (b) G2, (c) G3, (d) G4, (e) G5 e (f) G6 da POPC com carboxilato, aromáticoIBU, CaudaIBU, N2Dimetil, Cauda1, Cauda2 e aromáticoBDDA do par iônico IBUBDDA.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela I: Relação COX-2/COX-1 para fármacos AINES.....	11
Tabela II: Comprimentos de ligação (em Å) da minimização (AMBER) e do cálculo B3LYP//6-311++G** (QM) que apresentaram distâncias com desvio maior que 0.03 Å.	21
Tabela III: Densidades dos LIs calculadas por DM.....	35
Tabela IV: Área média por fosfolípídeo e a espessura da bicamada.....	46
Tabela V: Sistemas montados para as RDFs entre os grupos da POPC e do par iônico ASPDDA.....	48
Tabela VI: Sistemas montados para as RDFs entre os grupos da POPC e do par iônico ASPBDDA.....	53
Tabela VII: Sistemas montados para as RDFs entre os grupos da POPC e do par iônico IBUDDA.....	57
Tabela VIII: Sistemas montados para as RDFs entre os grupos da POPC e do par iônico IBUBDDA.....	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	Agente Farmacêutico
AINES	Antinflamatórios não Esteróides
AMBER	“Assisted Model Building with Energy Refinement”
API	“Active Pharmaceutical Ingredient”
ASP ⁻	Acetilsalicilato
ASPBDDA	Par iônico formado pelo ânion ASP ⁻ e o cátion BDDA ⁺
ASPDDA	Par iônico formado pelo ânion ASP ⁻ e o cátion DDA ⁺
BDDA ⁺	Benzil-decil-dimetil-amônio
BMI ⁺	1-n-butil-3-metil-imidazólio
COX	Ciclooxigenase
DDA ⁺	Didecil-dimetil-amônio
DM	Dinâmica Molecular
GAFF	Generalized AMBER Force Field
GROMACS	Groningen Machine for Chemical Simulations
IBU-	Ibuprofenato
IBUBDDA	Par iônico formado pelo ânion IBU ⁻ e o cátion BDDA ⁺
IBUDDA	Par iônico formado pelo ânion IBU ⁻ e o cátion DDA ⁺
IC50	Concentração necessária para inibir 50% da atividade COX
IL-API	“Ionic Liquid Active Pharmaceutical Ingredient”
LI	Líquido Iônico
LJ	Lennard-Jones
POPC	Palmitoil-oleil-fosfatidil-colina
RDF	Função de Distribuição Radial
SOL	Solvente
TSIL	“Task Specific Ionic Liquids”
VDW	Van der Waals

RESUMO

Alguns Agentes Farmacêuticos (AF) sólidos podem ser otimizados através de ajustes nas propriedades físicas, permitindo maior controle na solubilidade, estabilidade, biodisponibilidade e farmacocinética. Líquidos iônicos, sais que se apresentam líquidos à temperaturas inferiores a 100° C, representam uma classe de substâncias utilizadas como possível estratégia no planejamento e otimização de fármacos, através da escolha de íons ativos biologicamente. Neste trabalho foram investigadas interações entre pares iônicos formados pelos ânions acetilsalicilato (ASP) e ibuprofenato (IBU), em combinação com os cátions biologicamente ativos, benzil-decil-dimetil-amônio (BDDA) e didecil-dimetil-amônio (DDA) com a membrana biológica formada por palmitoil-oleil-fosfatidil-colina (POPC), pelo método de Dinâmica Molecular. A partir de otimizações geométricas e distribuições de cargas, estabeleceram-se topologias para os íons, definindo-se parâmetros ausentes no campo de força AMBER. Inicialmente simularam-se os pares iônicos solvatados e também sistemas contendo líquidos iônicos puros. Essas simulações indicaram adequada distribuição de cargas para os íons e forneceram informações a respeito da estrutura do líquido, formado por pares iônicos, como densidade e distâncias entre grupos de átomos. As simulações contendo sistemas completos (íons, POPC e água) indicaram que no sistema IBUDDA o par iônico é mantido, enquanto que nos outros sistemas ocorrem maiores variações nas distâncias entre os íons. O sistema ASPDDA apresenta indícios de fuga do ânion através da bicamada. Nos sistemas ASPBDDA e IBUBDDA, apesar da variação das distâncias mínimas, os íons mantêm-se no interior da membrana no tempo simulado. Nos sistemas IBUDDA, IBUBDA e ASPBDDA o grupo carboxilato dos ânions demonstra proximidade e preferência pelo grupo colina da POPC, enquanto que o grupo contendo o nitrogênio do cátion aproxima-se preferencialmente do grupo fosfato da POPC.

Palavras-chave: POPC, Líquidos Iônicos, Dinâmica Molecular, Aspirina, Ibuprofeno, Amônio Quaternário, Acetilsalicilato, Ibuprofenato.

ABSTRACT

Some pharmaceutical agents (AF) solids may be optimized through adjustments in physical properties, allowing greater control on the solubility, stability, bioavailability and pharmacokinetics. Ionic Liquids, salts which are liquids at temperatures lower than 100 ° C, represent a class of substances used as a possible strategy in the design and optimization of drugs through the choice of biologically active ions. In this study were investigated interactions between ion pairs formed by the acetylsalicylate (ASP) and ibuprofenate (IBU) anions, in combination with the biologically active cations benzalkonium (BDDA) and didecyldimethylammonium (DDA) with the biological membrane palmitoyloleyphosphatidylcholine (POPC) by molecular dynamics method. From geometric optimizations and charge distributions, have established topologies for the ions, defining missing parameters in the AMBER force field. The ion pairs were simulated under vacuum and solvated as well as systems containing pure Ionic Liquids. These simulations showed suitable charge distribution for ions and provided information about the structure of the liquid formed by ion pairs, such as density and distances between groups of atoms. The simulations containing entire systems (ions, water and POPC) indicated that in the system IBUDDA the ion pair is maintained while in other systems transients distancing occur between ions. The system containing ASPDDA indicates leakage of the anion through the bilayer. In systems ASPBDDA, IBUDDA and IBUBDDA, despite the variation of minimum distances, the ions remain within the membrane in simulated time. In IBUDDA, IBUBDDA and ASPBDDA the carboxylate group of the anions demonstrate nearness and preference for POPC choline group, whereas the group containing the nitrogen cation preferentially approximates of the POPC phosphate group.

Keywords: POPC, Ionic Liquids, Molecular Dynamics, Aspirin, Ibuprofen, Quaternary Ammonium, Acetylsalicylate, Ibuprofenate.

1. INTRODUÇÃO

Ingredientes farmacologicamente ativos (*active pharmaceutical ingredients* - APIs), que podem se apresentar na forma neutra ou na forma de sal, normalmente apresentam baixa biodisponibilidade¹, pois sais ou compostos iônicos não atravessam facilmente a bicamada lipídica das membranas biológicas por possuírem baixa lipofilicidade^{2; 3}. Além disso, um API, na sua forma sólida cristalina, pode ser interconvertido em diferentes formas polimórficas durante as etapas de obtenção, produção, armazenamento e transporte⁴. Essas diferentes formas polimórficas, criadas a partir do empacotamento molecular com pequenas diferenças de energia livre mínima local⁴, podem apresentar alterações em suas propriedades e, com isso, consequências indesejáveis⁴. O número de formas sólidas que um API pode existir depende de uma série de fatores, que inclui a variedade das interações não covalentes, do equilíbrio entre entropia e entalpia, que determinam a energia livre, dentre outros⁵. O termo polimorfo descreve várias formas de cristais, com a mesma fórmula molecular, mas com diferentes energias livres, de modo a que suas propriedades físico-químicas são diferentes⁶. Alguns estudos indicam que, dos produtos farmacêuticos conhecidos, uma grande parte (89%) apresenta mais de uma forma cristalina, que inclui polimorfos e solvatos^{4; 7; 8}.

O controle da produção de apenas uma forma cristalina é um desafio, mesmo se tratando de processos já estabelecidos⁴. No entanto, alguns APIs, formulados estrategicamente de maneira a produzir compostos que se apresentam líquidos à temperatura ambiente (IL-APIs, do inglês, *ionic liquids based on active pharmaceutical ingredients*), podem ter seu desempenho melhorado⁹ por não apresentarem estrutura cristalina à temperatura ambiente³. Algumas das vantagens dos IL-APIs em relação aos APIs cristalinos incluem ausência de polimorfismo, aumento na solubilidade, maior estabilidade e biodisponibilidade³.

Líquidos iônicos (LIs) são sais com pontos de fusão abaixo de 100° C que, normalmente, são compostos por cátions orgânicos e ânions de baixa simetria ou com cargas deslocalizadas, propriedades que, dentre outras, os conferem baixos pontos de fusão². As formas líquidas dos APIs, por apresentarem possibilidade de formar pares iônicos, apresentam potencial para permear membranas, possibilitando aumento no transporte em comparação com o sal inorgânico da espécie ativa². De acordo com Stoimenovski, J. *et al*³, as formas neutras (menos ionizáveis) dos APIs atravessam mais facilmente as membranas em comparação com espécies mais ionizáveis. Além disso, a substituição de contra-íons ionizáveis por contra-íons capazes de formar pares iônicos permite a obtenção de compostos

com combinação sinérgica de efeitos, ou seja, compostos cujos cátions e ânions contenham determinada atividade biológica². Existem várias propostas na literatura para esse tipo de fármaco envolvendo a combinação de ânions de ácido salicílico e betulínico, sacarinato, ibuprofenato com cátions apresentando atividade antibacteriana, anestésica e antitérmica^{9; 10; 11}.

Considerando que as membranas biológicas representam a interface da célula viva com o seu ambiente exterior, o estudo de suas interações com os agentes farmacêuticos (AFs) representa um passo muito importante para o entendimento da farmacodinâmica. Devido à complexidade desses sistemas, estudos envolvendo modelos, tanto experimentais quanto teóricos, apresentam grande utilidade na obtenção de informações acerca de cada um dos seus componentes. Simulações computacionais possibilitam a análise de propriedades desses sistemas com detalhamento atômico dificilmente alcançado por técnicas experimentais. Portanto, a exploração do transporte dos IL-APIs em membranas faz-se necessária para a elaboração de futuras aplicações envolvendo o aperfeiçoamento de fármacos. A combinação de cátions e/ou ânions com atividades biológicas ou farmacêuticas define uma terceira geração de LI's⁹, e representa o objeto do presente estudo.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. OBJETIVO GERAL

Realizar estudo das interações de IL-APIs em membrana pelo método de Dinâmica Molecular (DM). Os possíveis fármacos a serem estudados são formados pelos ânions acetilsalicilato e ibuprofenato, em combinação com os cátions biologicamente ativos benzil-decil-dimetil-amônio e didecil-dimetil-amônio.

1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a geometria molecular e a distribuição das cargas nos íons acetilsalicilato, ibuprofenato, didecil-dimetil-amônio e benzil-decil-dimetil-amônio;
- Estabelecer topologias para os íons em estudo;
- Calcular distâncias mínimas e funções de Distribuição Radial (RDFs) entre os íons a partir de simulações em água e em clorofórmio.
- Calcular densidades de sistemas líquidos e RDFs entre cátions e ânions desses sistemas;
- Calcular propriedades de sistemas bicamada + par iônico, como perfis de densidade do sistema, distâncias mínimas, área da bicamada por fosfolípídeo, espessura e propriedades estruturais, monitoradas por funções de distribuição radial.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. LÍQUIDOS IÔNICOS

O primeiro sal líquido do qual se tem registro na literatura é o Nitrato de Etilamônio ([Et-NH₃].[NO₃]), sintetizado por Paul Walden em 1914¹². Em 1948 foram desenvolvidos os LIs baseados nos cátions N-etilpiridíneos com ânions da família dos cloroaluminatos^{13; 14} (Figura 1 (a)). Na década de 1970 foram estudados sais baseados no cátion N-butilpiridíneo^{15; 16; 17} (Figura 1 (b)) e na década de 1980 iniciou-se o uso desses líquidos como solventes e meios reacionais^{18; 19}. Especificamente, no ano de 1982 iniciou-se o uso dos cátions dialquilimidazólio (Figura 2) no desenvolvimento de LIs²⁰.

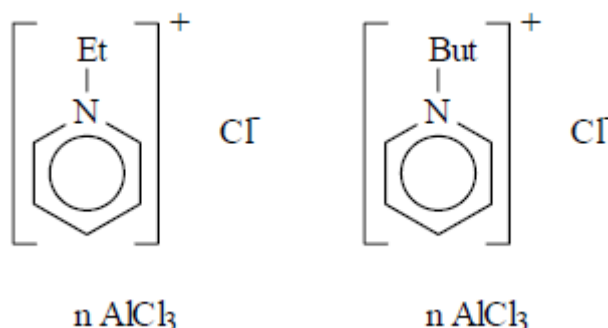


Figura 1: (a) Cátion N-Etilpiridíneo e (b) Cátion N-*n*-Butilpiridínio.

Em 1990 foram efetuados os primeiros estudos envolvendo esses líquidos como solventes para catálise homogênea, ampliando o leque de aplicações^{21; 22}. Porém, o uso do ânion cloroaluminato resultava em instabilidade, pois era sensível à umidade^{23; 24; 25; 26}. Então, em 1992 foram desenvolvidos os primeiros líquidos que não fossem sensíveis à umidade, com o uso dos ânions BF₄⁻²⁷ e PF₆⁻²⁸. A partir deste ponto ampliaram-se as pesquisas envolvendo os líquidos iônicos para os mais diversos campos. Com o aperfeiçoamento da estrutura do cátion, alterando as suas substituições e desenvolvendo-se com isso, sais compostos pelo cátion 1-*n*-butil-3-metilimidazólio (BMI⁺)^{20; 29}, por exemplo, seguiram-se estudos envolvendo as propriedades desses novos líquidos iônicos^{30; 31}. O uso desses líquidos iônicos como solventes caracterizou a primeira geração de LIs.

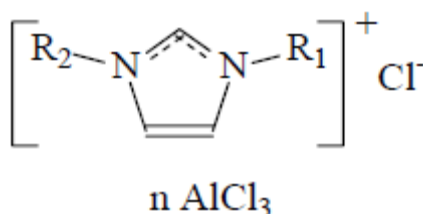


Figura 2: Cátion da família dialquilimidazólio.

Em 1998 foram introduzidos vários LIs com cátions derivados do anti-fúngico miconazol³², e assim passou-se a considerar a possibilidade do desenvolvimento LIs a partir de íons incomuns³². O objetivo era a construção de íons que apresentassem não só a propriedade de solubilizar, mas sim de interagir de forma específica com substratos dissolvidos³². Com a demonstração do conceito da criação de um LI com interações específicas com o soluto³³, foi criado o termo “*task-specific ionic liquids*”³² (TSIL), que caracterizou a segunda geração de LIs. De acordo com J. H. Davis³², a Figura 3 mostra um exemplo de um LI da segunda geração, cuja substituição na cadeia alquílica do cátion permite a reação entre o TSIL e o CO₂.

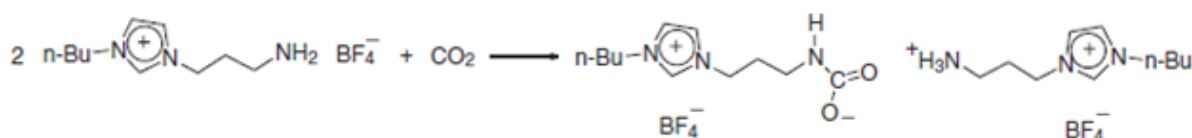


Figura 3: Reação entre o TSIL e o CO₂.

Diante das características físicas e propriedades química ajustáveis desses LIs, surge, então, a possibilidade de tanto cátions quanto ânions sofrerem modificações independentes, de modo a serem produzidos novos materiais¹⁰. Surge então a terceira geração de LIs, que é descrita usando-se princípios ativos para produzir LIs com atividade biológica¹⁰. Essa nova geração de LIs visa a superação de inconvenientes encontrados na formulação de fármacos em estado sólido, como baixa solubilidade e estabilidade, por exemplo. A utilização de um AF na forma líquida à temperatura ambiente elimina a possibilidade de modificações estruturais, impedindo o surgimento de polimorfos³⁴.

Há, na terceira geração de LIs, duas classificações que diferem os IL-APIs de acordo com sua atividade biológica, ou seja, uma classe em que apenas um dos íons é ativo biologicamente e outra classe em que ambos os íons são ativos³⁵. Um exemplo de um IL-API em que apenas um íon é ativo é o cloreto de cetilpiridíneo, com propriedade antisséptica³⁴. Kumar e Malhotra relatam, dentre outros, o ibuprofenato de didecildimetilamônio, com íons anti-inflamatório e antibacteriano respectivamente, como IL-APIs com efeito sinérgico, ou seja, cátions e ânions com ativos biologicamente³⁵.

Há perspectivas de que nos próximos anos o número de novos IL-APIs aumente devido ao grande interesse no tema, considerando as vantagens em termos de biodisponibilidade, qualidade e estabilidade apresentada por essa classe de substâncias. No

entanto, a produção a nível industrial está limitada à construção do conhecimento detalhado em relação aos seus efeitos. Ou seja, as propriedades biológicas desses compostos precisam ainda ser avaliadas com critério para garantir a segurança nas aplicações³⁴.

2.2. MEMBRANAS CELULARES

A estrutura das membranas celulares deve-se a uma camada dupla de fosfolídeos, que são moléculas longas com uma extremidade hidrofílica (polar, que tem afinidade com a água) e uma cadeia hidrofóbica (apolar, sem afinidade com a água). Os grupos polares situam-se nas extremidades da estrutura, enquanto que a parte situada no interior é composta pelas cadeias hidrofóbicas.

A Figura 4 consiste no modelo de membrana proposto por Singer e Nicolson³⁶, em 1972, composta por uma dupla camada de fosfolídeos além de proteínas intrínsecas e extrínsecas. Este modelo prevê a passagem seletiva de espécies através das proteínas intrínsecas, chamadas de canais, e também prevê liberdade das proteínas na bicamada, por isso o modelo é tido como mosaico fluido. Modelos mais atuais de membranas trazem em sua composição, além de proteínas, colesterol, glicolídeos e glicoproteínas. A Figura 5 representa uma molécula de fosfolídeo, a palmitoiloleilfosfatidilcolina (POPC), que compõe de maneira prevaiente membranas celulares³⁷ de diversos tecidos, além de ser um componente do surfactante pulmonar³⁸. Portanto esta molécula foi escolhida para compor o modelo de membrana utilizado neste estudo.

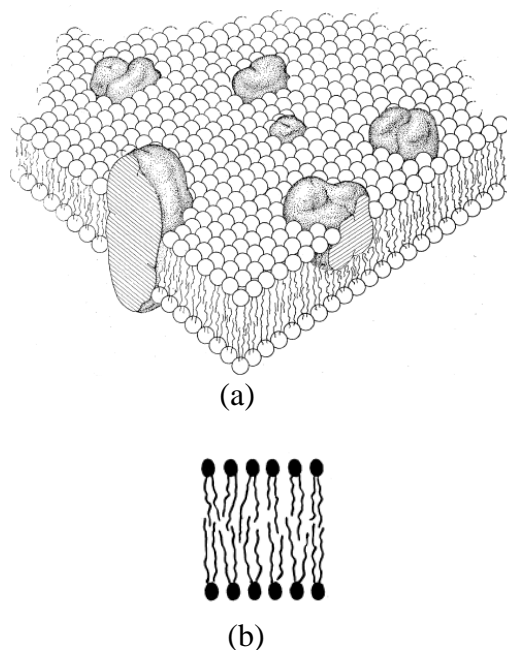


Figura 4: (a) Modelo mosaico fluido; matriz de fosfolídeos com proteínas distribuídas e (b) Bicamada de fosfolídeos.

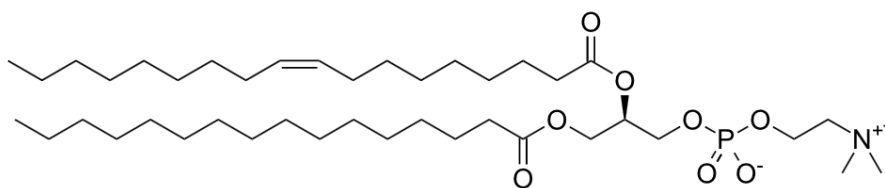


Figura 5: Molécula de POPC.

2.3. ABSORÇÃO E AÇÃO DE FÁRMACOS

Um fármaco só pode afetar um organismo após entrar em contato com as suas estruturas intrínsecas, e para que ocorra absorção, o mesmo tem de ultrapassar as barreiras que separam o meio interno do meio externo. Essas barreiras compreendem as células da pele e de membranas mucosas³⁹. Apesar de existirem diferenças estruturais entre os diferentes tecidos do corpo, a difusão e o transporte de medicamentos através dessas barreiras têm muitas características em comum. Assim, a membrana plasmática constitui uma barreira comum aos diferentes tecidos⁴⁰.

2.4. MECANISMOS DE PERMEAÇÃO NAS MEMBRANAS³⁹

A capacidade de penetrar as bicamadas lipídicas é um pré-requisito para a absorção de fármacos no organismo. As substâncias podem atravessar as membranas em diferentes maneiras, como descrito abaixo e também ilustrado pela Figura 6 (a, b e c).

Difusão (a): substâncias lipofílicas (círculos da Figura 6a) podem entrar na bicamada a partir do espaço extracelular (área mostrada à esquerda da Figura 6a), acumular-se na membrana, e partir para o interior da célula (área azul, à direita da Figura 6a). A direção e a velocidade de permeação depende das concentrações relativas nas fases fluido e membrana. Quanto maior a diferença de concentração, mais rápida será a difusão. Em contrapartida, a membrana lipídica representa um obstáculo quase intransponível para substâncias hidrofílicas (triângulos da Figura 6a).

Transporte (b): alguns medicamentos podem penetrar nas membranas com o ajuda de transportadores, independentemente da sua lipofilicidade. No entanto, como pré-requisito, o fármaco deve ter afinidade com o transportador (triângulo, na Figura 6b-1) e, quando ligada a este último, ter capacidade de ser transportada através da membrana. A passagem via

mecanismo de transporte é sujeito a inibição competitiva por outra substância que possua afinidade semelhante com o transportador (ver Figura 6b-2). Substâncias sem afinidade com os transportadores não permeiam a membrana (ver Figura 6b-3). Como exemplo desse tipo de permeação, tem-se o transporte da L-dopa (medicamento usado no tratamento da síndrome de Parkinson) à corrente sanguínea através de barreiras intestinais e cerebrais.

A penetração pode ocorrer sob a forma de pequenas vesículas formadas na membrana. São considerados dois diferentes sistemas:

1-Endocitose (mediada por receptores, 6c):

Primeiramente, o fármaco liga-se aos receptores de superfície da membrana (ver número 3 da Figura 6c) para formar um complexo fármaco-receptor, que migra lateralmente na membrana formando agregados com outros complexos, que são transportados para o interior das células.

2-Transcitose (transporte vesicular, 6c):

Quando substâncias dissolvidas na matriz fluida extracelular são engolidas por vesículas e em seguida, transportados através do citoplasma.

O modelo de membrana utilizado no presente projeto envolve apenas moléculas de fosfolípídeos e não envolve a presença de proteínas facilitadoras de transporte de fármacos ou colesterol. Portanto, espera-se que o mecanismo de permeação para os pares iônicos limite-se à difusão.

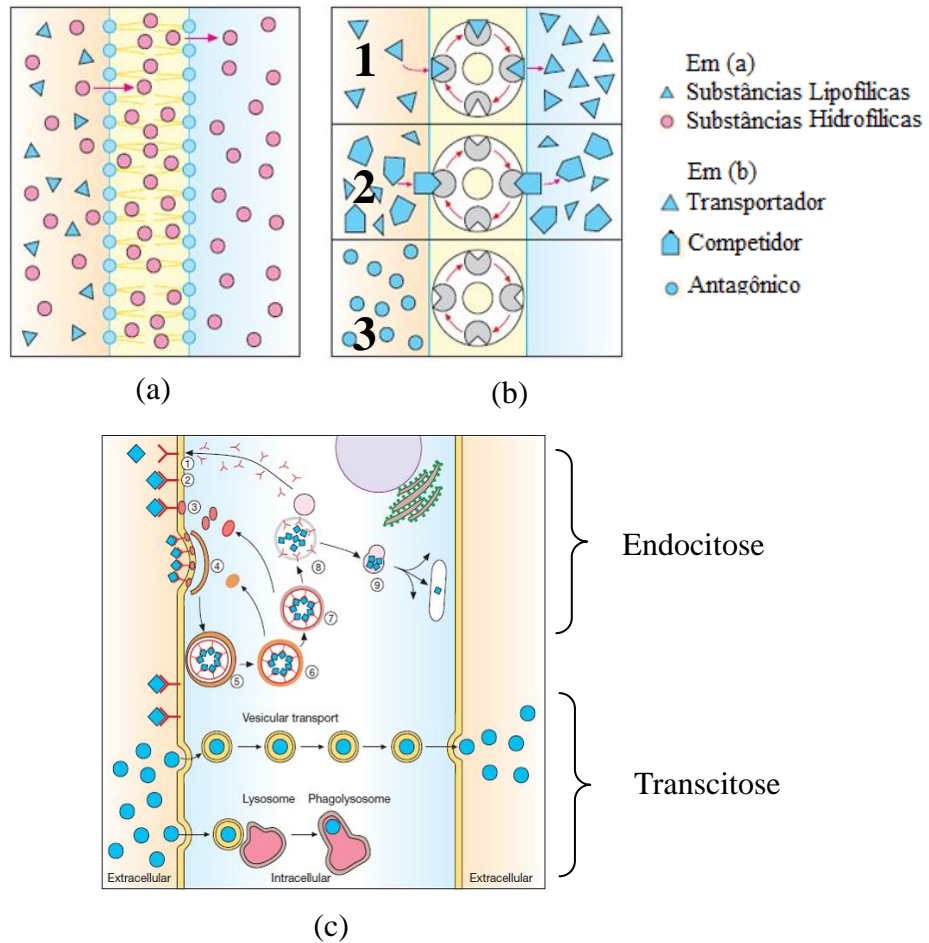


Figura 6: Permeação através das membranas. Difusão (a) e Transporte (b) envolvendo Endocitose e Transcitose (C). Figura adaptada da referência 34.

2.5. AÇÃO DOS FÁRMACOS ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO ESTERÓIDES (AINES)

Conhecidos pela humanidade há mais de 100 anos, os AINES estão entre os agentes farmacológicos mais utilizados na prática médica. Apresentam um amplo espectro de indicações terapêuticas, como analgesia, antiinflamação, antipirese e ainda contra doenças cardiovasculares⁴¹. A ação antiinflamatória decorre da inibição de síntese de prostaglandinas efetuada mediante inativação das ciclooxigenases (COX). Essa enzima apresenta duas isoformas intituladas COX-1 e COX-2. A COX-1 é uma enzima presente na maioria dos tecidos, enquanto que, em menores quantidades, a COX-2 encontra-se em determinados tecidos como cérebro, intestinos, rins, testículos, glândula tireóide e pâncreas; diante de um quadro inflamatório, sua expressão é aumentada cerca de 20 vezes ou mais, enquanto que a COX-1 altera seus níveis de 2 a 4 vezes, no máximo. Por isso a COX-1 é tida como

constitutiva, e a COX-2 indutiva⁴¹. A COX-1 é citada como a única isoforma identificada na mucosa gástrica, estando envolvida na prevenção de ulcerações do estômago. Os AINES inibem de forma variável as isoformas COX, sendo caracterizados de acordo com sua capacidade de inibição COX-1 e 2. Tal característica é expressa em termos de IC50 (a concentração necessária para inibir 50% da atividade COX). Razões de IC50 para COX-1 e 2 têm sido calculadas para avaliar a capacidade de inibição de cada isoforma sendo que uma baixa relação COX-2/COX-1 significa um agente pouco seletivo para COX-2. A Tabela I a seguir mostra essa relação para alguns AINES convencionais mais prescritos:

Tabela I: Relação COX-2/COX-1 para fármacos AINES. Dados retirados da referência 36.

AINES	COX-2/COX-1	AINES	COX-2/COX-1
Meloxicam	0,8	Naproxen	0,6
Piroxicam	250	Ibuprofeno	15
Diclofenaco	0,7	Paracetamol	7,4
Indometacina	60	Aspirina	166

3. METODOLOGIA

3.1. DINÂMICA MOLECULAR

A simulação por DM é uma das principais ferramentas para o estudo de sistemas constituídos por um grande conjunto de moléculas⁴². Na maioria das vezes, as simulações por DM são aplicadas a sistemas considerando-se interações clássicas, ou seja, em estados nos quais os efeitos quânticos possam ser desprezados. As aproximações clássicas ignoram a existência de elétrons, considerando cada átomo como um ponto de massa onde atuam diversos potenciais. A DM é uma técnica computacional que permite a determinação dos movimentos das partículas (equações de Newton) de qualquer sistema, podendo-se assim determinar suas propriedades macroscópicas através do estudo da evolução temporal das configurações dos seus constituintes. Neste método, partículas inicialmente dispostas em uma determinada configuração, movimentam-se sob a influência de potenciais intra e intermoleculares. Conhecendo-se posições e velocidades de todas as partículas em um dado

instante de tempo t_0 , pode-se computar as forças resultantes em cada partícula, devido às interações com as demais, e então determinar posições e velocidades em um instante posterior $t_0 + \Delta t$. Esse procedimento é realizado repetidamente gerando-se trajetórias moleculares para todo o sistema.

Uma característica importante do método de simulação por DM é a diversidade de sistemas a que pode ser aplicado, que inclui gases, fluidos supercríticos, líquidos, soluções e misturas, interfaces, biomembranas, polímeros, polissacarídeos, lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos, zeólitos, argilas, sólidos cristalinos e vítreos, nanomateriais, dentre outros. Tendo em vista que o estudo de LIs na fase líquida necessita o detalhamento de pelo menos centenas de cátions e ânions, metodologias baseadas em mecânica-quântica são computacionalmente inviáveis. Com o objetivo de manter uma descrição em nível molecular desses sistemas, escolheu-se a metodologia da simulação computacional por Dinâmica Molecular (DM) neste trabalho.

3.2. CAMPO DE FORÇA

A simulação por DM necessita a definição das interações intra e intermoleculares, geralmente referidas como campo de força, que pode ser definido como o conjunto de funções e parametrizações, usadas em cálculo de dinâmica, visando reproduzir algumas propriedades de interesse do sistema em estudo; o campo de força consiste, portanto, no conjunto de parâmetros necessários para descrever todas as interações que reproduzam essas propriedades⁴². A descrição do sistema em estudo é constituído da escolha dos potenciais das interação intra e intermoleculares, pois são esses potenciais que determinam as forças que atuam em cada partícula e assim determinam a evolução do sistema no tempo, gerando as trajetórias⁴². De um modo geral, o potencial total do sistema pode ser representado por:

$$U_{\text{total}} = U_{\text{intra}} + U_{\text{inter}} \quad (1)$$

Onde U_{inter} consiste no potencial intermolecular entre uma molécula i e uma molécula j , sendo a soma das interações entre pares de átomos⁴². Neste potencial incluem-se interações do tipo van der Waals e eletrostáticas⁴³, também chamadas de interações não ligadas. Já o termo U_{intra} corresponde ao potencial relacionado às interações intramoleculares, também conhecidas como interações ligadas. Essas interações descrevem as deformações moleculares como, por exemplo, os estiramentos das ligações químicas, deformações angulares, torções envolvendo interações 1-4 (entre sítios de interação da mesma molécula separados por, pelo menos 3 ligações), dentre outras.

O grande interesse no estudo de sistemas biológicos a nível teórico incentivou o desenvolvimento de diversos campos de força durante a década de 1980⁴⁴; o AMBER (*Assisted Model Building with Energy Refinement*)⁴⁵ desenvolvido na Universidade da Califórnia, foi escolhido para este trabalho devido a sua ampla aplicabilidade e validação para sistemas contendo líquidos iônicos^{44; 46}. A decomposição das interações intramoleculares do AMBER é dada pela equação:

$$U_{intra} = U_{ligação} + U_{ângulos} + U_{diedros} + U_{não\ ligados} \quad (2)$$

Onde $U_{ligação}$ descreve os estiramentos das ligações, $U_{ângulos}$ as deformações angulares, $U_{diedros}$ as torções, e $U_{não\ ligados}$ as interações de van der Waals e eletrostáticas para um par de átomos separados por mais de três ligações químicas.

$$U_{não\ ligados} = U_{inter} = U_{VDW} + U_{el} \quad (3)$$

As interações intermoleculares U_{inter} também são representadas pela combinação de potenciais envolvendo interações de Van der Waals e eletrostáticas da equação (3). As interações de van der Waals, no campo de força AMBER são representadas pelo potencial (12/6) de Lennard-Jones entre um par de átomos i e j , da equação (4).

$$U_{VDW} = 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (4)$$

enquanto potenciais de Coulomb descrevem a parte eletrostática entre os átomos i e j , conforme a equação (5):

$$U_{el} = \frac{q_i q_j}{4 \pi r_{ij} \epsilon \epsilon_0} \quad (5)$$

Nas equações (4) e (5), r_{ij} é a distância entre átomos i e j , σ_{ij} o diâmetro efetivo da interação desse par com mínimo ϵ_{ij} . ϵ_0 é a permissividade dielétrica do vácuo, ϵ é a constante dielétrica, e q_i e q_j são as cargas do par de átomos i e j sob consideração.

São definidos, ainda, os potenciais $U_{ligação}$, $U_{ângulos}$ e $U_{diedros}$ conforme as equações (6), (7) e (8), respectivamente:

$$U_{\text{ligação}} = 1/2 K_r (r_{ij} - r_o)^2 \quad (6)$$

$$U_{\text{ângulos}} = 1/2 K_\theta (\theta - \theta_o)^2 \quad (7)$$

$$U_{\text{diedros}} = U/2 [1 + \cos(n\phi - \gamma)] \quad (8)$$

Nas equações (6), (7) e (8), r_o e θ_o correspondem, respectivamente, ao comprimento e ao ângulo de equilíbrio da ligação; K_r e K_θ correspondem às constantes de força, ϕ é o valor do ângulo diedro, γ é a fase e n é a sua multiplicidade do ângulo.

3.3. POTENCIAL ELETROSTÁTICO, CARGAS (CHELPG E/OU RESP)

Na química, o conhecimento a respeito das cargas atômicas é de fundamental importância para a compreensão das reações químicas⁴⁷. Seus valores permitem, por exemplo, o cálculo de propriedades físicas de sólidos, líquidos e soluções, por simulações computacionais, sendo que a precisão com que os métodos derivam essas propriedades é extremamente dependente das cargas atômicas utilizadas⁴⁷.

Mediante o método *ab initio*, existem algumas formas de se determinar as cargas atômicas, que podem ser do tipo cargas de Mulliken e de Lowdin (análises de população eletrônica dos orbitais), ESP (Electrostatic Potential)^{48; 49}, RESP (Restrained Electrostatic Potential)^{47; 50} e CHELPG (Charges from Electrostatic Potentials using a Grid based method)⁵¹ que reproduzem o potencial eletrostático molecular circundante à molécula (MEP, do inglês *Molecular Electrostatic Potential*)⁴⁴. As cargas obtidas por métodos envolvendo o MEP reproduzem muito bem os diversos momentos multipolares das moléculas, assim, reproduzem muito bem as interações com as moléculas circundantes, o que torna tais métodos muito interessantes do ponto de vista da DM em fase condensada⁴⁴. Considerando o interesse em interações intermoleculares envolvendo as espécies componentes dos sistemas, optou-se pelas cargas do tipo RESP para este estudo, pois trata-se de um método proposto para ser utilizado juntamente com parâmetros do campo de força AMBER.

3.4. ENSEMBLE ESTATÍSTICO

O conjunto de configurações e propriedades mantidas constantes durante a simulação e que representam o estado do sistema, é chamado de *ensemble*⁴³. Uma das opções de *ensemble* é o NVE, no qual número de partículas, volume e energia total são constantes durante a simulação. Uma alternativa ao NVE consiste em controlar separadamente a temperatura e a pressão, ao invés da energia total (E). Assim, mantendo-se constantes número

de partículas (N), volume (V) e temperatura (T), tem-se o NVT, enquanto que no *ensemble* NPT, além do número de partículas e temperatura, a pressão (P) é mantida constante^{43; 52}.

O controle da temperatura (T) em uma DM pode ser obtido através de um processo conhecido como termostato, que acopla o sistema a um banho térmico com temperatura fixa. Os métodos para controle da temperatura incluem os termostatos de Berendsen⁵³ de Nosé-Hoover⁵⁴, de Andersen⁵⁵ ou de redimensionamento⁵⁶. Nos processos de controle da pressão, utilizam-se os barostatos de Berendsen⁵³ e Rahman-Parrinello⁵⁷. Neste estudo utilizou-se o termostato de Nosé-Hoover⁵⁴ e o barostato Rahman-Parrinello⁵⁷ ambos suportados pelo GROMACS.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. GEOMETRIA MOLECULAR E DISTRIBUIÇÃO DE CARGAS

As cargas pontuais para os átomos, assim como a estrutura e otimização geométrica para os cátions e ânions foram determinadas através de cálculos *ab initio*, utilizando o programa GAUSSIAN⁵⁸, com o método DFT/B3LYP e o conjunto de bases 6-311++G (d,p) para IBU⁻ e ASP⁻ e 6-311G(d,p) para os cátions BDDA⁺ e DDA⁺. Para a geração dos gráficos das Figuras 7b, 8b, 9b e 10b, os hidrogênios foram suprimidos para melhor visualização.

4.1.1. ACETILSALICILATO

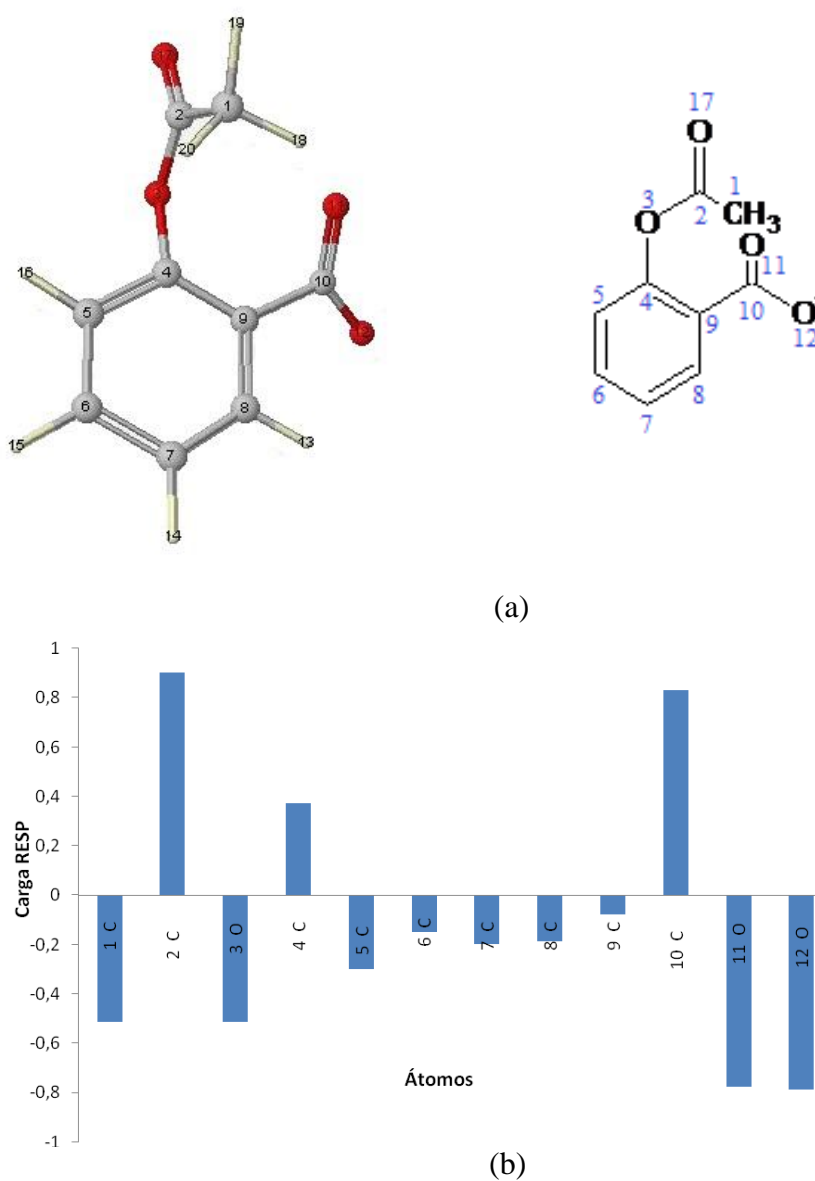
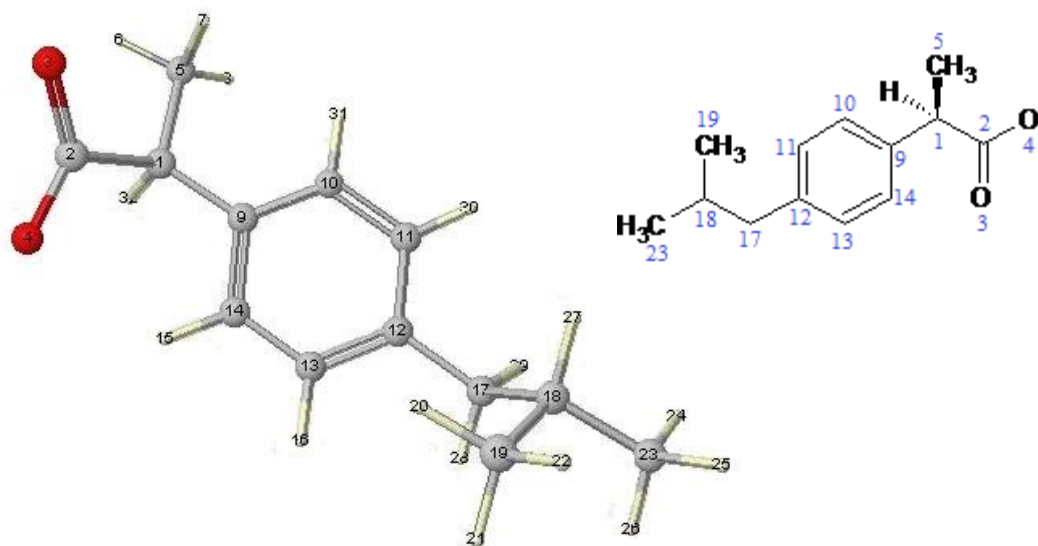
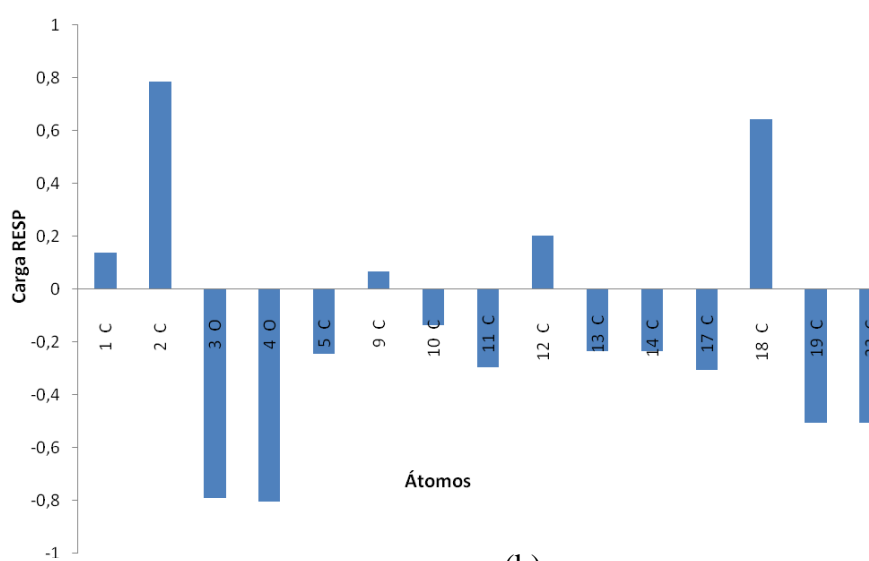


Figura 7: Geometria molecular à esquerda, estrutura à direita (a) e distribuição de cargas (b) para o ânion acetilsalicilato.

4.1.2. IBUPROFENATO



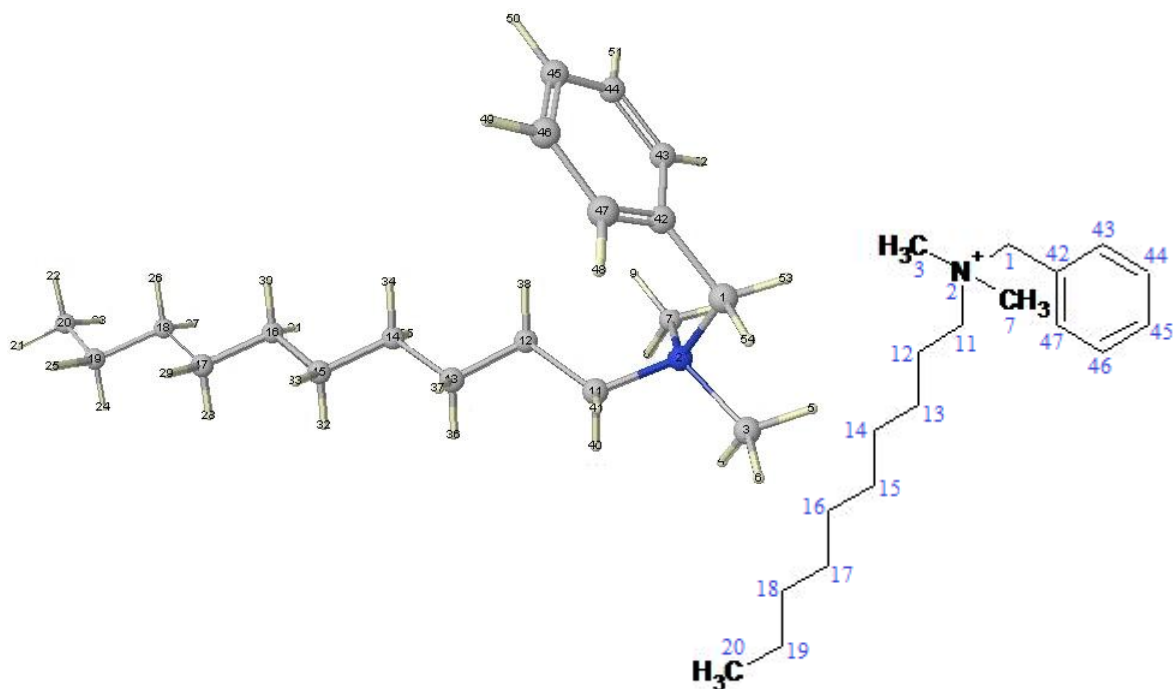
(a)



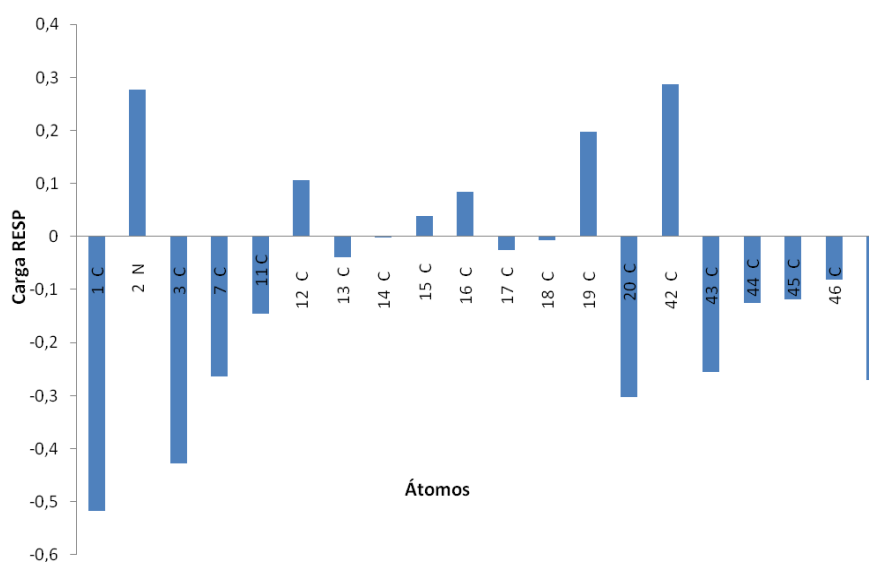
(b)

Figura 8: Geometria molecular à esquerda, estrutura à direita (a) e distribuição de cargas (b) para o ânion ibuprofenato.

4.1.3. BENZIL-DECIL-DIMETIL-AMÔNIO



(a)



(b)

Figura 9: Geometria molecular à esquerda, estrutura à direita (a) e distribuição de cargas (b) para o cátion benzalcônio.

4.1.4. DIDECIL-DIMETIL-AMÔNIO

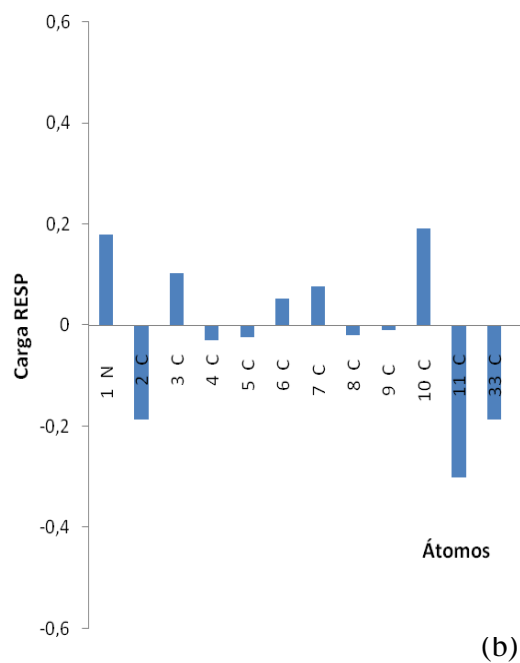
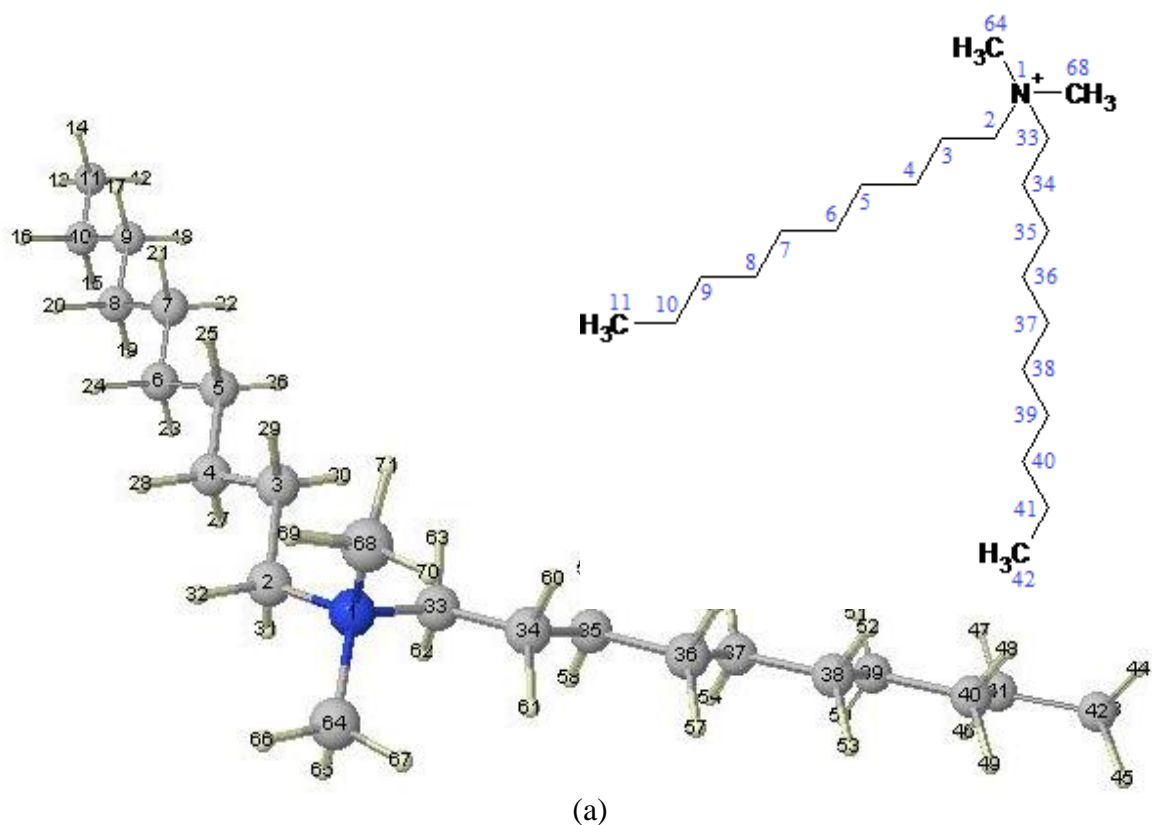


Figura 10: Geometria molecular à esquerda, estrutura à direita (a) e distribuição de cargas (b) para o cátion didecildimetilamônio.

4.2. TOPOLOGIAS

As topologias, arquivos que contêm uma descrição completa de todas as interações para os íons, foram obtidas partindo-se da otimização geométrica e da distribuição de cargas de cada íon (dados das figuras 7, 8, 9 e 10). A definição dos tipos de átomos para os cátions e também para o ânion ibuprofenato seguiu os parâmetros descritos no campo de força AMBER99SB-ILDN⁵⁹ por conter a adaptação mais recente de diedrais. Para o ânion acetilsalicilato, por apresentar dados ainda não parametrizados no campo de força, foram necessários ajustes para contornar problemas relacionados a esses parâmetros ausentes, que são descrito no item a seguir.

4.2.1. TOPOLOGIA INICIAL PARA O ACETILSALICILATO

Inicialmente foi obtida uma proposta de topologia, como mostra a Figura 11, a partir da otimização geométrica e distribuição de cargas do acetilsalicilato. Os tipos de átomos, nesse primeiro instante, também foram definidos a partir da nomenclatura do mesmo campo de força utilizado para os outros íons.

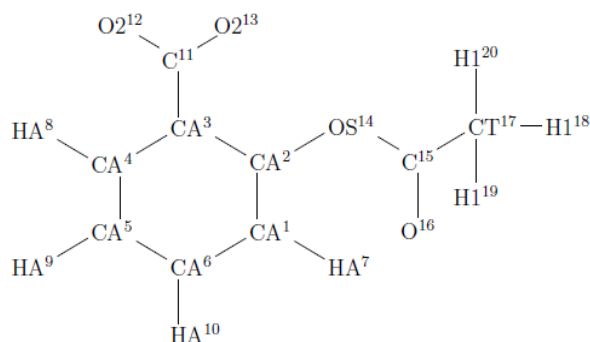


Figura 11: Tipos de átomos do ASP da primeira topologia.

4.2.2. PARÂMETROS NÃO DEFINIDOS NO CAMPO DE FORÇA

A ligação CA-OS (carbono aromático ligado a oxigênio de éter e éster) não encontra-se definida no AMBER99SB-ILDN⁵⁴, no entanto algumas observações puderam ser consideradas para defini-la: tem-se, no campo de força, para a ligação CA-OH os mesmos parâmetros da ligação C-OH, portanto, por analogia, para a ligação CA-OS utilizou-se os parâmetros C-OS. Ajustaram-se também ângulos para as ligações CA-C-O2, CA-CA-OS, CA-OS-C utilizando-se parâmetros com características mais próximas possível para cada caso. Além disso, não constam no campo de força original os diedrais próprios (CA-CA-C-

O2, CA-OS-C-O, CA-OS-C-CT, OS-C-CT -H1 e CA-CA-OS-C) e os diedrais impróprios (CA-CA-CA-C, CA-CA-CA-OS, CA-O2-C-O2). Assim como para o ajuste dos ângulos, procuraram-se conjuntos de ligações com características o mais próxima possível para cada caso a ser parametrizado.

4.2.3. SEGUNDA TOPOLOGIA PARA O ACETILSALICILATO

Após os ajustes dos parâmetros ausentes no campo de força AMBER99SB-ILDN⁵⁴, realizou-se uma minimização do ânion em uma caixa de simulação, seguida do cálculo das distâncias para todos os pares de átomos ligados. A Tabela II mostra os valores dos comprimentos de ligação obtidos da simulação e os obtidos do cálculo quântico cujos desvios são maiores que 0,03 Å.

Tabela II: Comprimentos de ligação (em Å) da minimização (AMBER) e do cálculo B3LYP//6-311++G** (QM) que apresentaram distâncias com desvio maior que 0.03 Å.

Par	Tipos	AMBER	QM
2-14	CA-OS	1,3250	1,3984
3-11	CA-C	1,4309	1,5582
14-15	OS-C	1,3214	1,3699

Observa-se um desvio grande para a ligação CA-C (átomos 3-11) e também para CA-OS (átomos 2-14) da Figura 11. Os arquivos do campo de força AMBER99SB-ILDN⁵⁴ mostram que os parâmetros correspondentes da ligação CA-C descrevem a ligação entre átomos da tirosina (figura 12) que possui um carbono aromático ligado a um carbono com substituição OH. Além disso, no par CA-OS, o átomo CA também é substituído por um átomo eletronegativo (O). Introduz-se, então, um novo tipo de átomo CZ para os carbonos do anel com substituição de um grupo eletronegativo (os carbonos 2 e 3 da figura 13) que devem manter as características do carbono aromático para interações dentro do anel, com uma parametrização diferenciada de interações para fora do anel. A topologia nova é apresentada na figura 13.

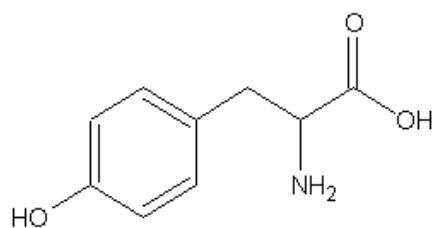


Figura 12: Estrutura da tiroxina.

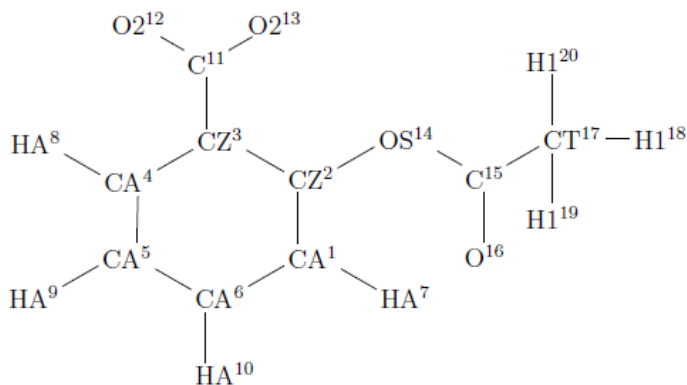


Figura 13: Tipos de átomo do ASP da segunda topologia.

Novamente, seguiu-se o ajuste dos parâmetros ausentes no campo de força: As ligações CZ-CZ e CZ-CA foram definidas com os parâmetros CA-CA dentro do sistema aromático. Para adaptar CZ-OS utilizou-se dados do campo de força GAFF (generalized AMBER force Field)⁶⁰ pois CA-OS é ausente no AMBER99SB-ILDN⁵⁴ e C-OS fica muito curta. Adaptando-se a ligação CZ-C de acordo com CA-C do campo de força resulta em uma ligação muito curta. Então utilizou-se C-CA do GAFF⁵⁵.

O átomo CZ foi definido como CA para os ângulos entre CZ-CA-CA, CZ-CZ-CA e CZ-CA-HA; para CZ-CZ-C, CA-CZ-C, CZ-C-O2, CA-CZ-OS, CZ-CZ-OS e CZ-OS-C aplicou-se parâmetros do GAFF⁵⁵.

O-C-CT-H1 é o único diedral próprio perfeitamente definido. Os outros casos utilizaram adaptações envolvendo genéricos do tipo X-A-B-X com A e B representando os dois átomos centrais do diedral. Por exemplo, o novo tipo de átomo encaixa-se em X-CA-CA-X em casos de X-CZ-CZ-X e X-CA-CZ-X, em X-CA-OH-X para X-CZ-OS-X (isso aparece também no GAFF⁵⁵), e em X-C-CA-X para X-CZ-C-X. Todos os diedrais impróprios envolvendo substituição no anel são considerados iguais com parâmetros do genérico X-X-CA-HA. Então para CZ-O2-C-O2 aplicou-se o genérico X-O2-C-O2 e para OS-CT-C-O utilizou-se o genérico para carbonila, X-X-C-O.

4.3. DM DOS PARES IÔNICOS

Após o estabelecimento das topologias para os íons, como descrito no item acima, o próximo passo, então, foi tentar unir os íons, testando as topologias através da formação de pares iônicos via simulações por DM. Primeiramente, com a ferramenta *genbox* do GROMACS, foram criadas caixas cúbicas com comprimento lateral de 7,57678 nm para pares iônicos contendo o cátion BDDA⁺ e 8.39150 nm para cátions DDA⁺. Foram realizadas então, minimizações, com o algoritmo “*steepest descent*”⁶¹ (padrão do GROMACS) e depois uma simulação com os átomos tratados flexíveis sob o *ensemble* NVT, utilizando o termostato de Nosé-Hoover⁵⁴ para manter a temperatura constante. A etapa de minimização é necessária para evitar que a simulação comece de um ponto desfavorável energeticamente. O sistema minimizado serve como estrutura de partida para iniciar as simulações de DM.

Assim, as minimizações geraram arquivos *.gro* que foram utilizados como entrada para as simulações por DM, que foram realizadas utilizando-se o pacote de programa GROMACS⁶² (*Groningen Machine for Chemical Simulations*), e ainda sob o *ensemble* NVT, mantendo-se a temperatura constante de 298,15 K. As equações de movimento foram integradas com o algoritmo “*Velocity Verlet*”⁶³ com passo de integração de 0,002 ps. Utilizaram-se listas de vizinhanças atualizadas a cada 10 passos de integração. Foi aplicado um raio de corte de 1,3 nm em interações não ligadas corrigindo interações eletrostáticas via método SPME (*Smooth Particle Mesh Ewald*)^{64; 65}.

4.3.1. DISTÂNCIA MÍNIMA ENTRE OS ÍONS NO VÁCUO

Com a ferramenta *g_mindist* do GROMACS calcula-se a distância mínima entre os íons, e assim a DM dos pares iônicos permite a avaliação da aproximação entre os íons em função do tempo. O decaimento da curva em relação ao eixo y (distância entre as espécies) indica a aproximação entre os íons. O eixo x indica o tempo de simulação, e tão logo a função atinja seu valor mínimo de distância, mais rápida é a aproximação. Através da figura 14, verifica-se que os íons aproximaram-se após ~18 ps de simulação, com excessão do ASPDDA, cuja aproximação ocorreu após 40 ps, com uma distância mínima atingida de 0,25 nm entre os íons de cada sistema. Essa aproximação que se verifica entre os íons sugere a coerência na topologia além de uma adequada distribuição de cargas. A aproximação entre os íons verificada nesta etapa possibilitou a continuação das investigações, pois a formação dos pares iônicos representa uma ferramenta básica para as próximas etapas do estudo, que são abordadas nos tópicos a seguir.

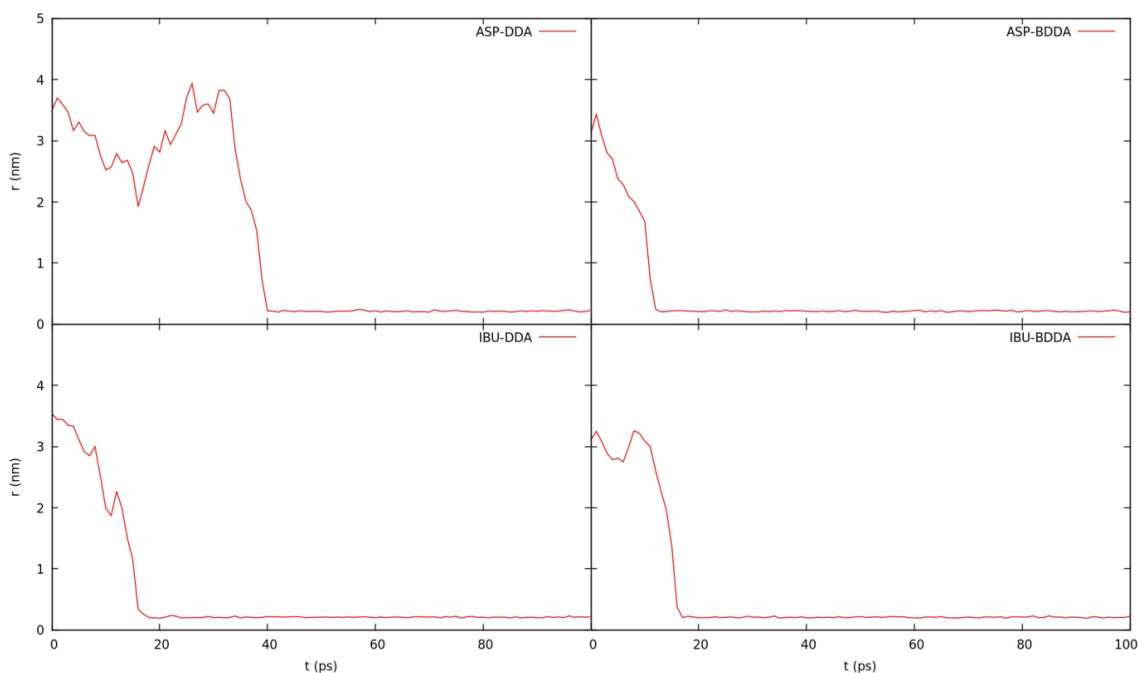


Figura 14: Distâncias mínimas entre os pares iônicos ASPDDA, ASPBDDA, IBUDDA e IBUBDDA.

4.4. DM DOS PARES IÔNICOS SOLVATADOS

A DM dos pares iônicos solvatados seguiu os mesmos critérios utilizados para a DM dos pares iônicos do item 4.3. Foram utilizadas caixas de simulações contendo 1000 moléculas de solvente, e então inserido 1 par iônico na caixa de simulação de cada sistema. A caixa de simulação com clorofórmio (que contém os parâmetros do campo de força GAFF^{66; 67}) foi obtida do banco de dados *virtualchemistry*⁶⁸, e o modelo de água utilizado para a solvatação foi o TIP3P⁶⁹. A solvatação em clorofórmio representa, por analogia entre as polaridades, o interior da membrana, enquanto que a solvatação em água representa o meio externo à membrana. A polaridade de um solvente está relacionada, através do valor da constante dielétrica, com a capacidade em perturbar a intensidade do campo elétrico existente em torno de uma partícula carregada que esteja imersa nele. Assim, o efeito da polaridade do solvente sobre os pares iônicos pode ser interpretado como uma dificuldade oferecida na aproximação entre cargas negativas e positivas. Para avaliar esse efeito, foram realizadas DM com os pares iônicos em água (40 ns), que possui alta constante dielétrica (80,16 a 20° C)⁷⁰ e assim simula o meio externo à membrana, e em clorofórmio (20 ns), que possui baixa constante dielétrica (5, a 298,15 K)⁷¹, simulando o interior da membrana, que é um meio lipídico apolar (solventes com constante dielétrica menor que 15 são geralmente considerados apolares).

4.4.1. DISTÂNCIAS MÍNIMAS ENTRE OS ÍONS SOLVATADOS

O perfil das distâncias mínimas obtidas nesta etapa avalia a estabilidade dos pares iônicos no meio polar (aquoso) e apolar (em clorofórmio). Como já abordado no item 4.3.1, valores mínimos no eixo y indicam a distância mínima atingida entre os íons. Assim, quanto maior for o tempo em que a distância entre os íons permanecer mínima e constante, mais estável será o par iônico no tempo simulado.

Como resultado do cálculo das distâncias mínimas obtido das simulações, temos as figuras abaixo que mostram uma nítida perturbação na distância mínima entre os íons quando em meio aquoso (Figuras a), se comparados aos resultados obtidos com o par iônico em clorofórmio (Figuras b). A solvatação em água não impede a aproximação do par iônico, no entanto, há indícios da ocorrência de interações transientes entre os íons, ou seja, ora os íons interagem com o seu par, ora possivelmente interagem com o solvente. Portanto, a alta constante dielétrica da água perturba a interação entre os íons do par iônico, provocando altas variações na distância mínima para todos os LIs em estudo. Pode-se observar pela Figura 17 (a) e 18 (a), que os pares iônicos formados pelo ânion IBU são os que exibem maiores intervalos de distância mínima constante, portanto são os que menos sofrem influência da constante dielétrica, logo, as interações entre esses íons são, possivelmente, mais efetivas em meio aquoso. Em contrapartida, todos os sistemas mostram distâncias mínimas constantes quando em clorofórmio, indicando que o meio permite a formação dos pares iônicos.

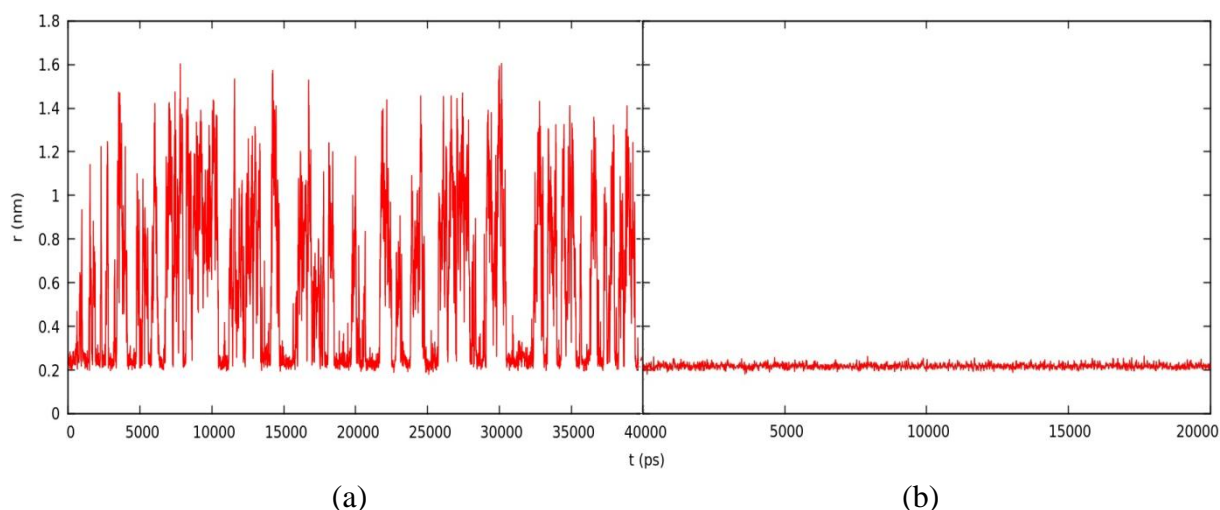
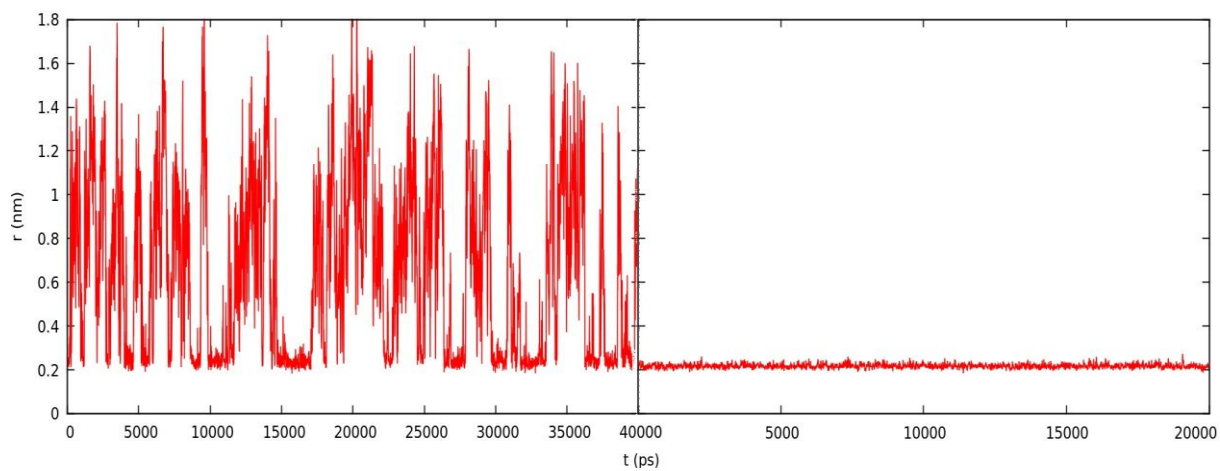


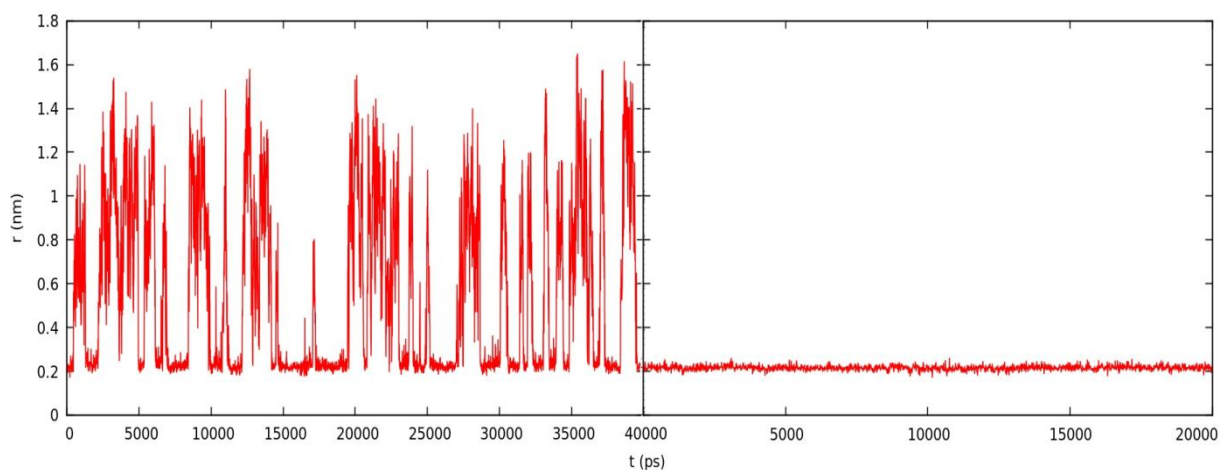
Figura 15: Distância mínima entre os íons ASP e DDA em água (a) e clorofórmio (b).



(a)

(b)

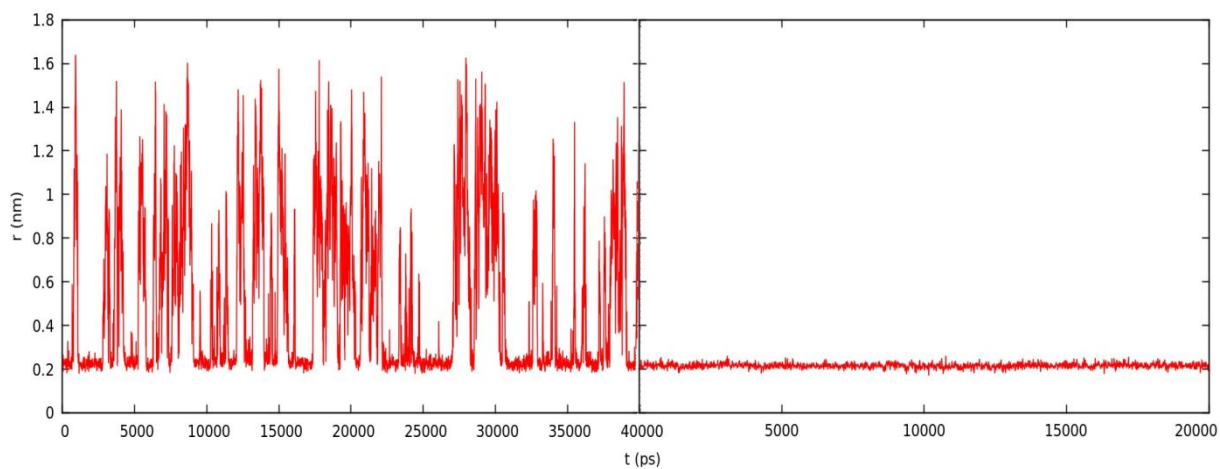
Figura 16: Distância mínima entre os íons ASP e BDDA em água (a) e clorofórmio (b).



(a)

(b)

Figura 17: Distância mínima entre os íons IBU e DDA em água (a) e clorofórmio (b).



(a)

(b)

Figura 18: Distância mínima entre os íons IBU e BDDA em água (a) e clorofórmio (b).

4.4.2. FUNÇÕES DE DISTRIBUIÇÃO RADIAL (RDFs)

As RDFs dos pares iônicos, somando-se às distâncias mínimas, representam uma forma mais criteriosa de avaliar as interações entre os íons, pois possibilitam averiguar o perfil das interações entre sítios específicos das moléculas. Os ânions acetilsalicilato e ibuprofenato exibem em sua estrutura sítios tanto polares quanto apolares, portanto, a investigação prévia das interações entre o par iônico se faz importante para, posteriormente, facilitar a investigação das interações desses sítios com a membrana. O primeiro passo, então, foi identificar cada parte das moléculas de acordo com sua polaridade e agrupar os seus átomos. Criou-se então, com a ferramenta *make_ndx* (padrão do GROMACS), um index contendo os grupos para cada molécula em estudo. Após a criação do índice, seguiu-se o cálculo das funções de distribuição radial (RDFs) entre os grupos desse index. Uma RDF, ou $g(r)$, descreve a probabilidade de achar um átomo vizinho ao redor de um ponto, descrevendo como a densidade da matéria circundante varia em função da distância a esse ponto distinto. Uma RDF possibilita ainda, a obtenção de distâncias mais prováveis entre os átomos, auxiliando no estudo da sua estruturação. Cada máximo apresentado nas RDFs representa a camada dos primeiros vizinhos e as oscilações subsequentes representam o efeito dos vizinhos mais distantes, como exemplificado na Figura 19⁷² referente a um líquido atômico. De acordo com Coutinho⁷², quanto mais picos bem definidos, mais estruturado e denso tende a ser o sistema e quanto menos picos, mais próximo o sistema se assemelha a um gás ideal⁷². As RDFs apresentadas neste trabalho foram calculadas com a ferramenta *g_rdf* padrão do GROMACS, e objetivaram analisar o perfil das interações e distâncias entre os grupos que compõem as frações das moléculas, como representados na Figura 20.

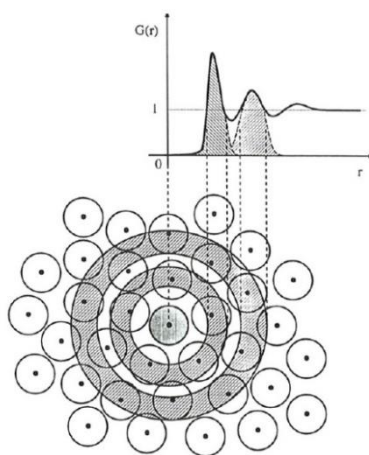


Figura 19: Ilustração de uma RDF e as camadas de solvatação (adaptada da referência 67).

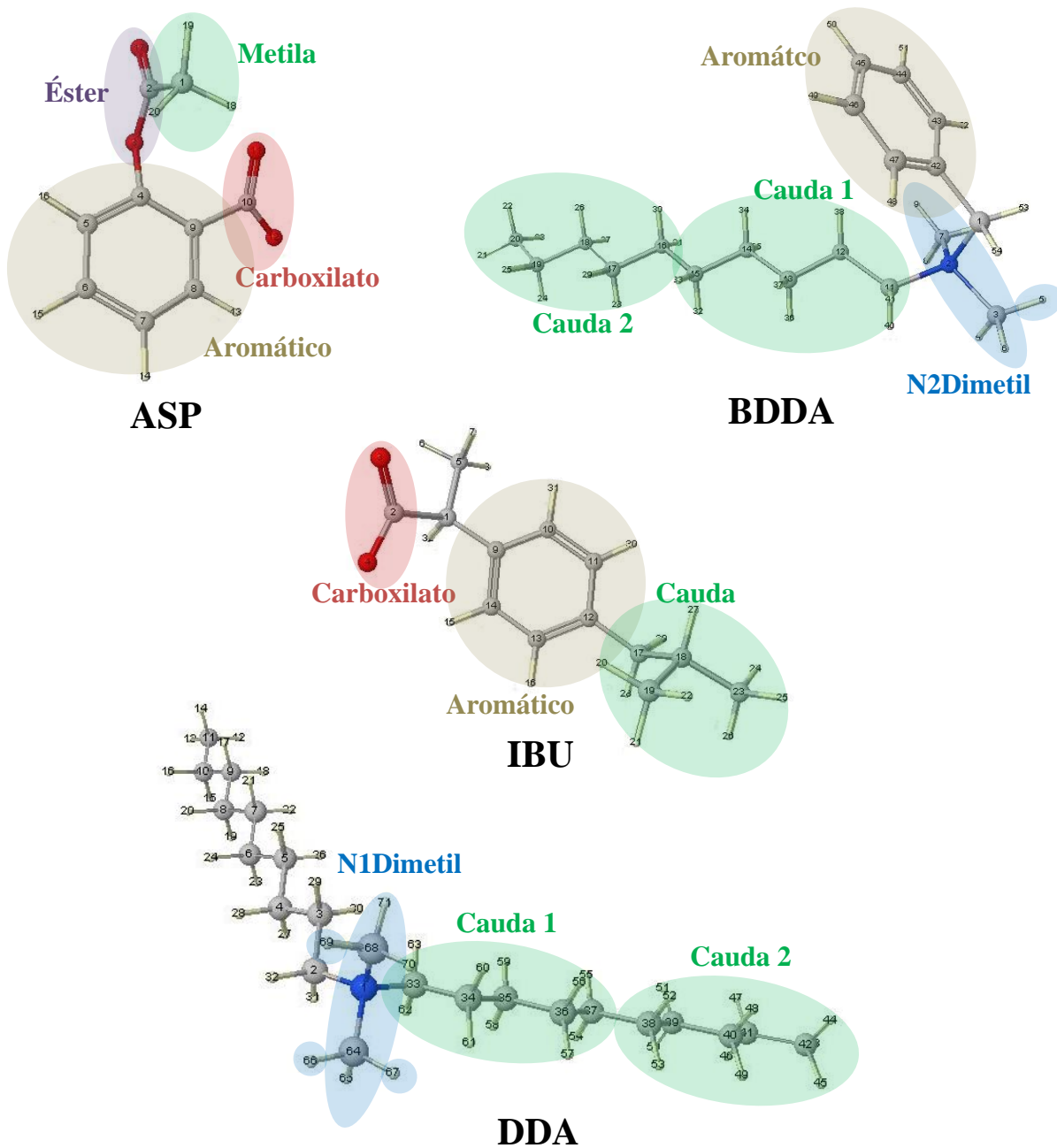


Figura 20: Divisões dos átomos dos íons em grupos.

4.4.3. RDFs DOS PARES IÔNICOS EM CHCl₃

O clorofórmio, por ser um solvente com constante dielétrica baixa⁷¹, mostrou ser um meio pouco perturbador das distâncias mínimas, como vimos nas Figuras 15, 16, 17 e 18 (b). Além disso, o baixo valor da constante dielétrica permite uma analogia com o interior da membrana, que é um meio lipídico apolar. As RDFs a seguir objetivam especificar quais sítios de cátions e ânions interagem mais significativamente, ditando a proximidade entre os íons nesse ambiente semelhante ao interior de uma membrana.

As Figuras 21, 22, 23 e 24 (a) deixam evidente que as RDFs entre o grupo carboxilato dos ânions e N1Dimetil/N2Dimetil dos cátions são as mais significativas entre os grupos avaliados, pois apresentam picos mais definidos e com menores distâncias entre os grupos. Isso se justifica pelos maiores valores das cargas nos átomos de oxigênio do grupo carboxilato dos ânions e nitrogênio dos grupos N1Dimetil e N2Dimetil dos cátions que fazem com que esses grupos interajam mais fortemente de forma atrativa, aproximando-se. Todos os sistemas apresentam, nas RDFs carboxilato-N1Dimetil/N2Dimetil, um pico característico de ligação de hidrogênio, com distância de mínimo menor que 0,3 nm. O par iônico ASPDDA apresenta RDF com maior intensidade em relação aos outros pares.

4.4.3.1. ASPDDA

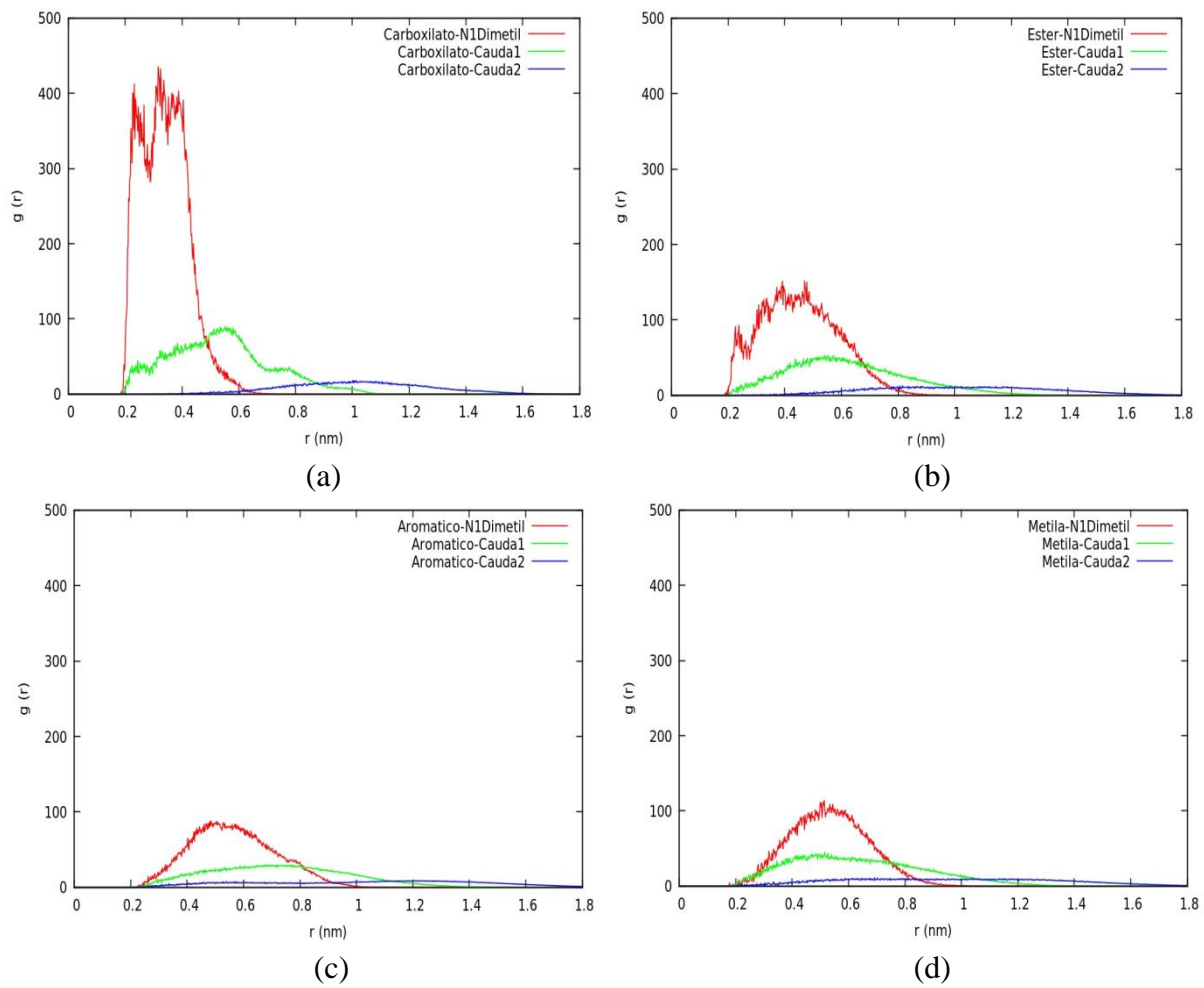


Figura 21: RDFs ânion-cátion entre (a) carboxilato, (b) éster e (c) aromático e (d) metila do ASP com N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do DDA.

4.4.3.2. ASPBDDA

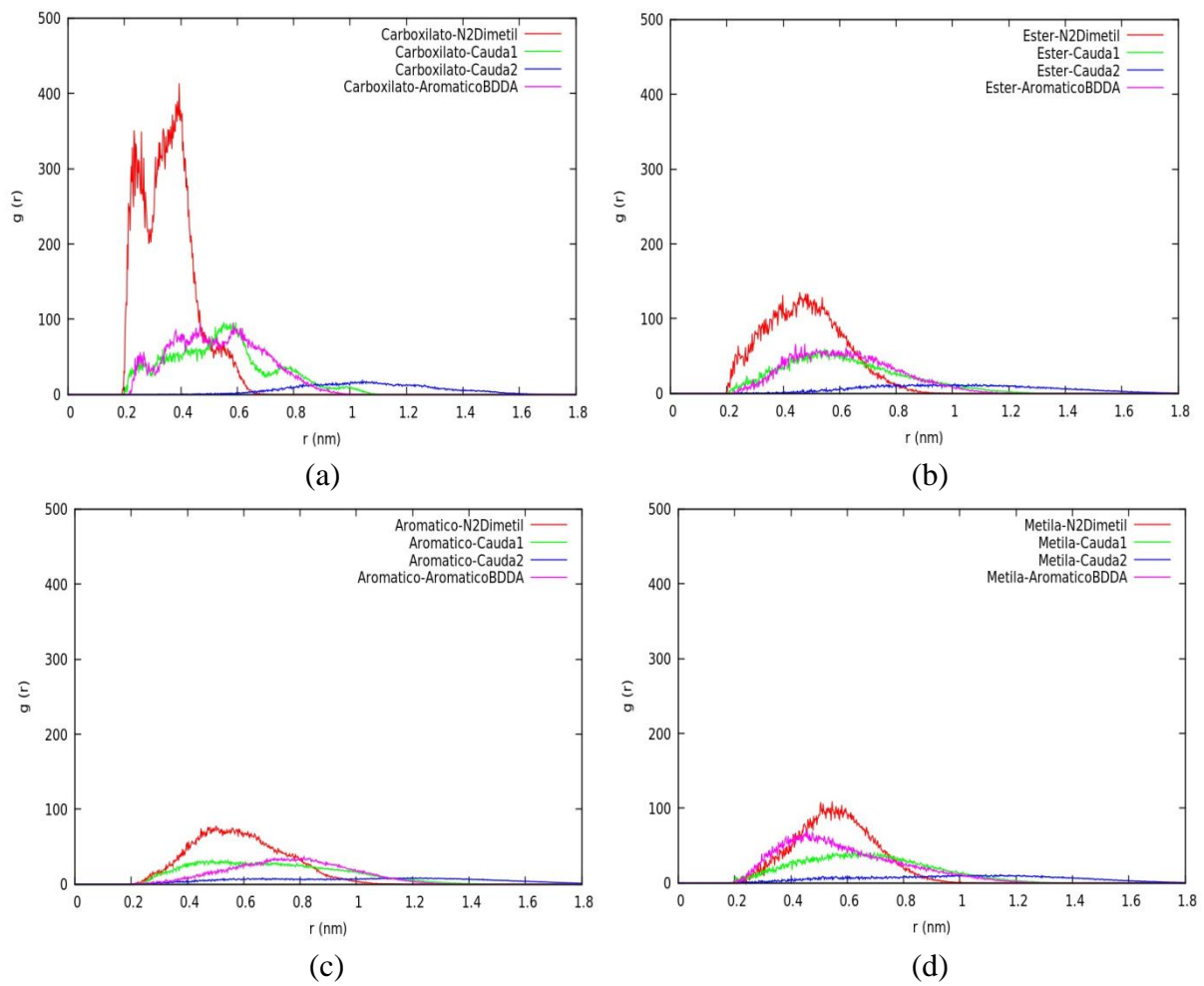


Figura 22: RDFs ânion-cátion entre (a) carboxilato, (b) éster e (c) aromático e (d) metila do ASP com N2Dimetil, Cauda, Cauda2 e Aromático do BDDA.

4.4.3.3. IBUDDA

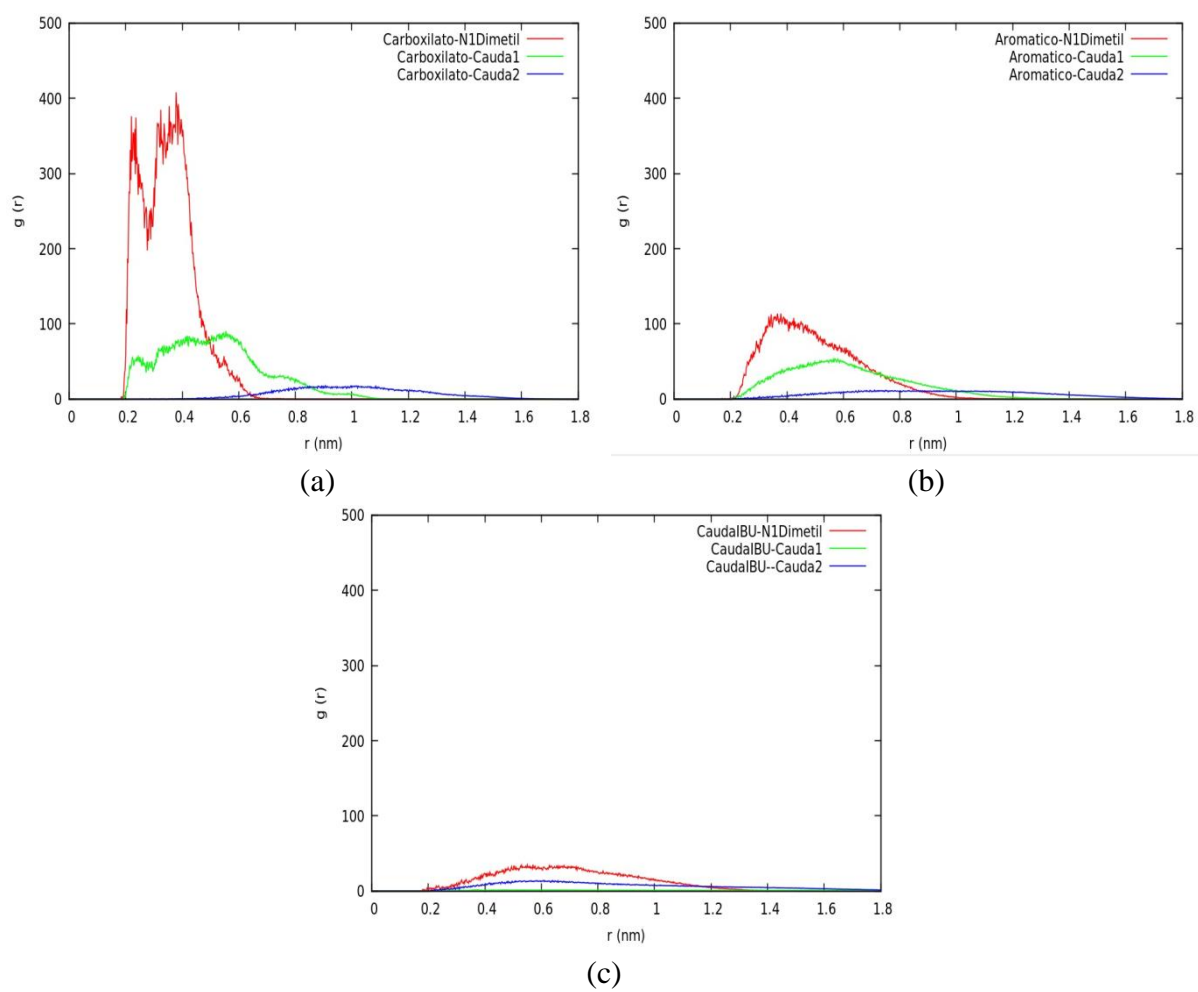


Figura 23: RDFs ânion-cátion entre (a) carboxilato, (b) aromático e (c) Cauda do IBU com N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do DDA.

4.4.3.4. IBUBDDA

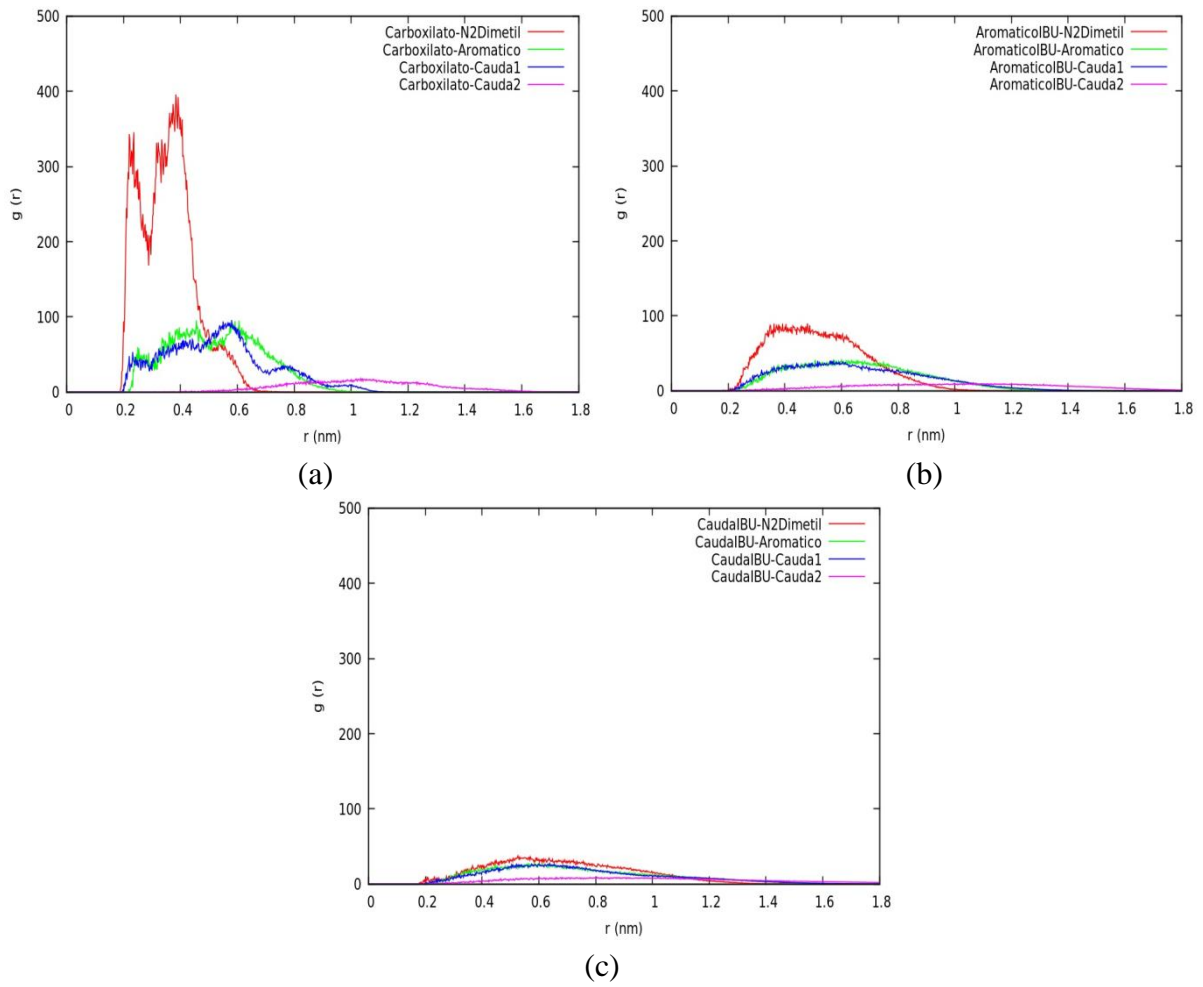


Figura 24: RDFs ânion-cátion entre (a) carboxilato, (b) aromático e (c) Cauda do IBU com N2Dimetil, aromático, Cauda1 e Cauda2 do BDDA.

4.5. DM DOS LIs PUROS

Para a simulação destes sistemas, primeiramente, foram inseridos 300 pares de íons para dentro de uma caixa cúbica criada com a ferramenta *genbox* (padão do GROMACS). Após a etapa de minimização, simulou-se o sistema por 50 ns, sob o ensemble NPT (semi-isotrópico Rahman-Parrinello⁵⁷) e demais condições descritas no item 4.3. Investigou-se, com a ferramenta *g_energy* (padrão do GROMACS) a convergência da energia potencial do sistema.

A DM dos LIs puros visou a investigação a respeito das interações entre cátions e ânions considerando-se um sistema maior. Mais especificamente, por se tratarem de moléculas com diferentes grupos funcionais, a investigação objetiva o conhecimento da interação entre esses diferentes grupos. Além disso, a membrana, também sendo composta por moléculas que possuem diferentes grupos funcionais e com isso, distribuição bastante heterogênea em termos de polaridade, pode interagir de forma diferenciada com a estrutura molecular dos íons em estudo⁷³. Por isso, uma investigação prévia das interações entre o par iônico pode facilitar as investigações entre íons e a membrana, posteriormente.

Assim como foi feito no item 4.4.2, criou-se um índice com os grupos para cada molécula constituinte dos LIs em estudo, conforme a Figura 20. Após a criação do índice, seguiu-se o cálculo das funções das RDFs entre grupos de cátions e ânions, ânions-ânions e cátions-cátions, considerando-se que foram excluídas todas as interações intramoleculares. Além das RDFs, calcularam-se também as densidades dos LIs, porém, não foram encontrados na literatura consultada valores experimentais para comparação. Os valores para as densidades calculadas dos LIs encontram-se na Tabela III.

4.5.1. DENSIDADES

Tabela III: Densidades dos LIs calculadas por DM.

	ASPDDA	ASPBDDA	IBUDDA	IBUBDDA
Densidade (g/cm ³)	0,9917	1,0683	0,9307	0,9883

Ao contrário dos sistemas estudados nos itens anteriores, os quais se tratavam de pares iônicos únicos, neste momento, temos um sistema mais complexo, contendo um maior número de moléculas, formando um sistema líquido. Para avaliar a propriedade líquida e a relação entre a estrutura de cátions e ânions, foram calculadas as densidades de cada sistema. Temos o ASPBDDA como o sistema mais denso e o IBUDDA como o menos denso. Comparando-se os valores de densidade entre os LIs formados por um mesmo ânion (por exemplo ASPDDA e ASPBDDA), observa-se que os cátions cumprem um papel importante, pois a presença do ligante benzil no cátion BDDA confere maior densidade em relação ao DDA. No entanto, o ânion determinou a densidade de maneira mais efetiva, pois tanto ASPBDDA quanto ASPDDA possuem maior densidade dentre as quatro espécies de LIs. De acordo com Consorti, a densidade de um LI depende tanto do cátion quanto do ânion²⁶. Um estudo realizado por Wilkes e colaboradores⁷⁴ com o cátion 1,3-Dialquilimidazólio, mostrou que a relação da densidade com o cátion deve-se ao tamanho da cadeia alquila, pois quanto maior a cadeia, menor é o empacotamento, uma vez que se têm mais graus de liberdade rotacional²⁶. Nesse estudo, ao se substituir o contra-íon Cl⁻ por AlCl₄⁻ e Al₂Cl₇⁻ observou-se um aumento na densidade, devido ao aumento da massa do ânion, pois as substituições não alteraram as interações cátion-ânion^{74:26}. De fato, os resultados das densidades calculadas por DM apresentaram concordância com as relações feitas por Consorti²⁶ em relação ao cátion. O DDA, por ter duas cadeias alquílicas, confere menor densidade em comparação com o BDDA, que possui apenas uma cadeia alquila de 10 carbonos. No entanto, as densidades dos LIs formados pelo ânion acetilsalicilato (massa molecular=179,15) são maiores do que as dos LIs formados pelo ânion Ibuprofenato (massa molecular=205,27). Isso pode ser justificado pelo fato de o acetilsalicilato ter, além do grupo carboxilato, um grupo éster para aumentar as interações cátion-ânion. Além disso, a presença do substituinte apolar no anel aromático do ibuprofenato diminui o empacotamento, diminuindo também as suas densidades, apesar de ter maior massa molecular.

4.5.2. RDFs

4.5.2.1. ASPDDA

As RDFs entre os grupos do ânion ASP e o cátion DDA são apresentadas na Figura 25, onde observa-se o pico carboxilato-N1Dimetil (25(a)) com distância (r) de mínimo (0,28 nm), característica de ligação de hidrogênio ($r \leq r_{HB} = 0.35 \text{ nm}$)⁷⁵, com integral indicando 2 vizinhos. A RDF entre o grupo carboxilato e Cauda1 apresenta um pico com pouca intensidade se comparado ao N1Dimetil, e com um mínimo a uma distância maior que 0,7 nm. Interações do tipo a observada entre carboxilato e Cauda1 apresenta uma $g(r)$ característica do comportamento de um sistema gasoso ideal⁷², no qual as interações são muito fracas. Em relação à interação do carboxilato com a Cauda2, a RDF não apresenta pico definido, partindo do zero e permanecendo na intensidade em torno de 1, logo, pode-se dizer que não existe interação significativa entre esses grupos.

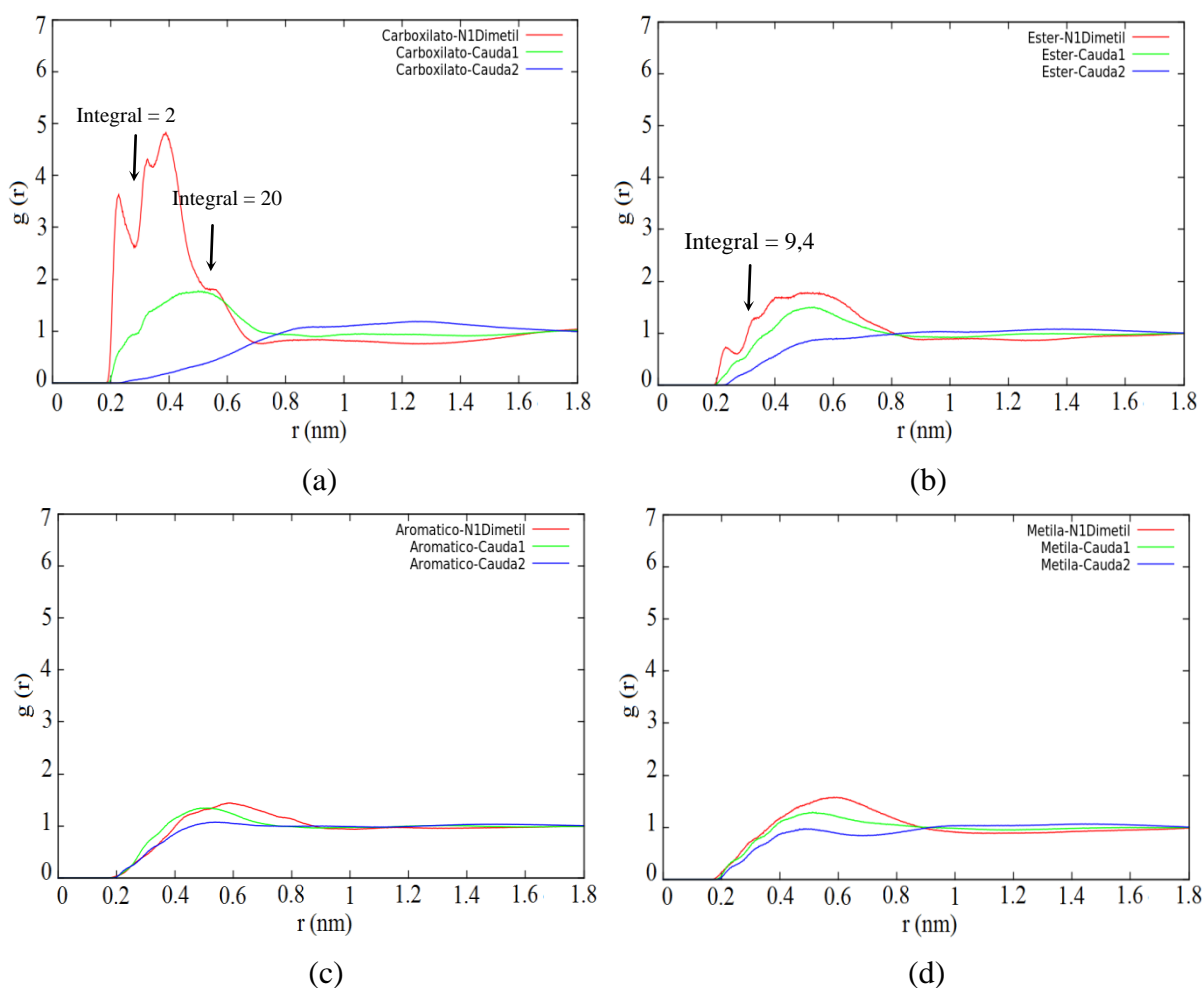


Figura 25: RDFs ânion-cátion, entre (a) carboxilato, (b) éster, (c) aromático e (d) metila do ânion ASP com N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do cátion DDA dos sistemas líquidos.

Assim como a Figura 25 (a), a Figura 25 (b) também apresenta um pico que sugere uma interação do tipo ligação de hidrogênio (entre o grupo Éster e N1Dimetil), porém com pouca intensidade. A integral para esse pico indica 9 vizinhos, valor que totaliza o número de átomos do grupo N1Dimetil. Comparando-se as Figuras 25 (a) e 25(b), a razão para a diferença entre as RDFs pode ser atribuído aos diferentes valores das cargas entre o grupo Carboxilato e Éster. Os oxigênios do grupo carboxilato possuem carga de aproximadamente -0,8 (átomos de número 11 e 12), enquanto que os oxigênios do grupo éster possuem carga de aproximadamente -0,5 e -0,6 (átomos de número 3 e 17) como mostrado na Figura 7. Já para os outros grupos, tanto da Figura 25 (b) quanto 25 (c) e 25 (d) observam-se picos largos, indicando interações fracas e de longas distâncias.

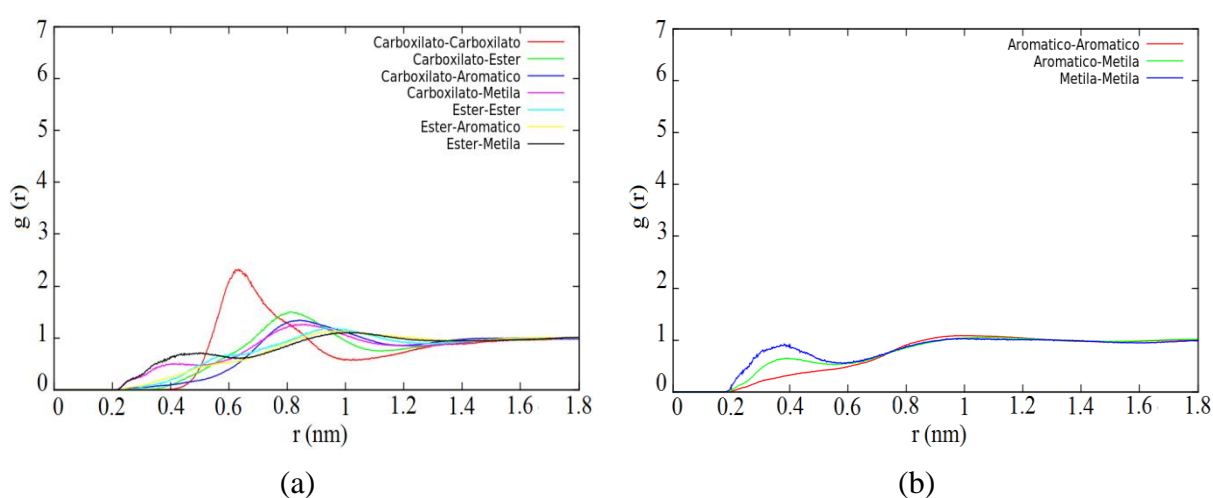


Figura 26: RDFs ânion-ânion (ASP), tendo como referência (a) carboxilato e éster e (b) aromático e metila dos sistemas líquidos.

As RDFs entre ânion-ânion e cátion-cátion (Figuras 26 e 27) apresentam picos largos e de pouca intensidade, que sugerem interferências intermoleculares de longa distância.

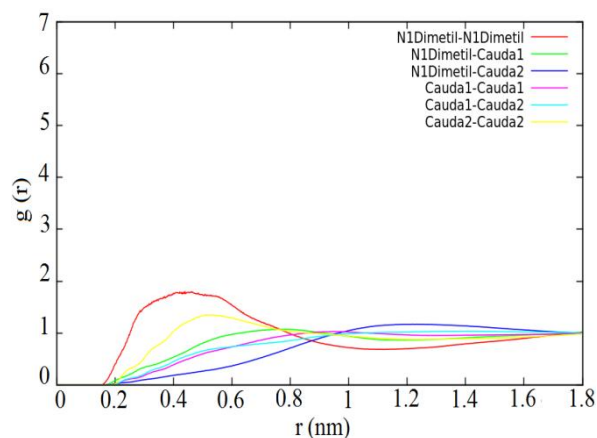


Figura 27: RDF cátion-cátion (DDA) para interações entre N1Dimetil, Cauda2 e Cauda1 dos sistemas líquidos.

4.5.2.2. ASPBDDA

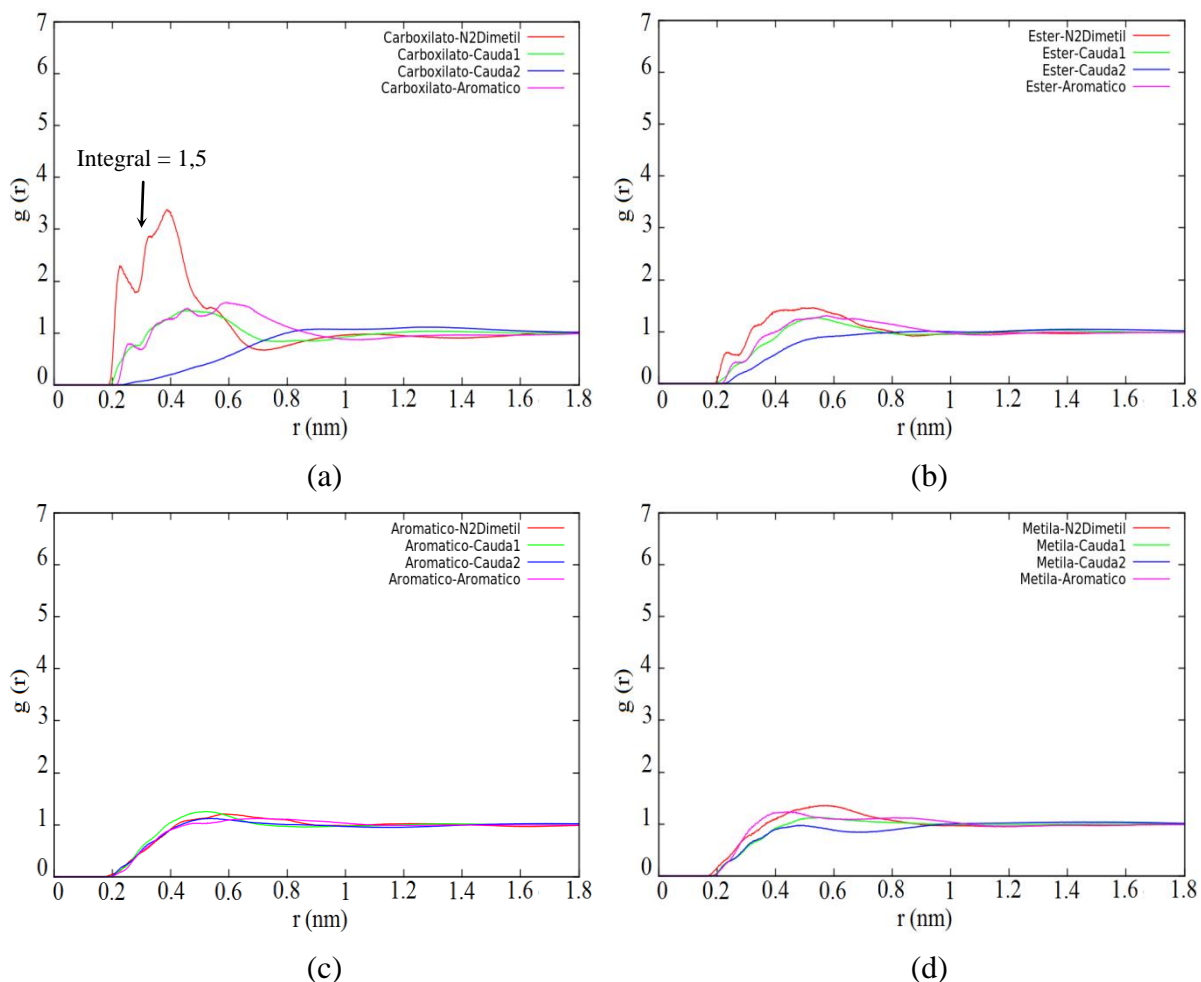


Figura 28: RDFs ânion-cátion, entre (a) carboxilato, (b) éster, (c) aromático e (d) metila do ASP⁺ com N2Dimetil, Cauda1, Cauda2 e Aromático do BDDA dos sistemas líquidos.

O par iônico ASPBDDA traz como diferencial a presença de um grupo Benzil ligado ao Nitrogênio, o que torna o ambiente químico diferente ao do par iônico ASPDDA. Assim, o que define qualquer diferença entre os dois sistemas é o cátion. A figura 28 (a) mostra o pico entre carboxilato e N2Dimetil com distância de mínimo sugestiva para ligação de hidrogênio com valor para a integral de 1,5. O átomo de nitrogênio do cátion BDDA tem carga menor em relação ao nitrogênio do cátion DDA ($\sim 0,18$ e $\sim 0,28$ respectivamente), o que pode explicar o valor menor da integral observado na Figura 28 (a) em relação à 25 (a).

Em relação às RDFs ânion-ânion e cátion-cátion (Figuras 29 e 30), vêm-se picos largos e pouco definidos, o que sugere interações fracas. Comparando-se as intensidades das RDFs do par ASPDDA com o par ASPBDDA, percebe-se menor intensidade para o último, o que sugere alguma diferença estrutural deste líquido em relação ao primeiro, que pode ser determinada pela presença do grupo benzil.

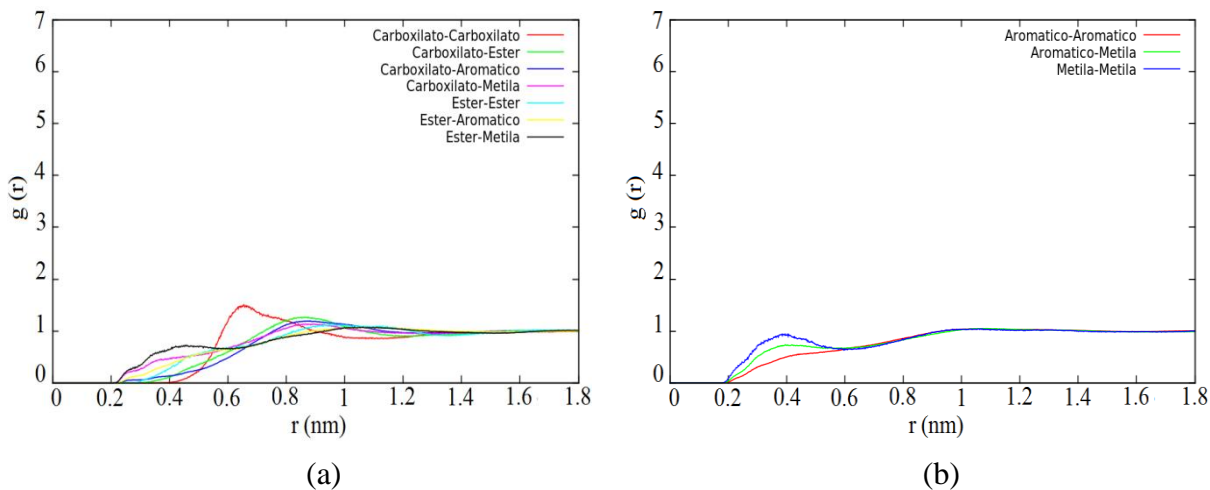


Figura 29: RDFs ânion-ânion (ASP) tendo como referência (a) carboxilato e éster e (b) aromático e metila dos sistemas líquidos.

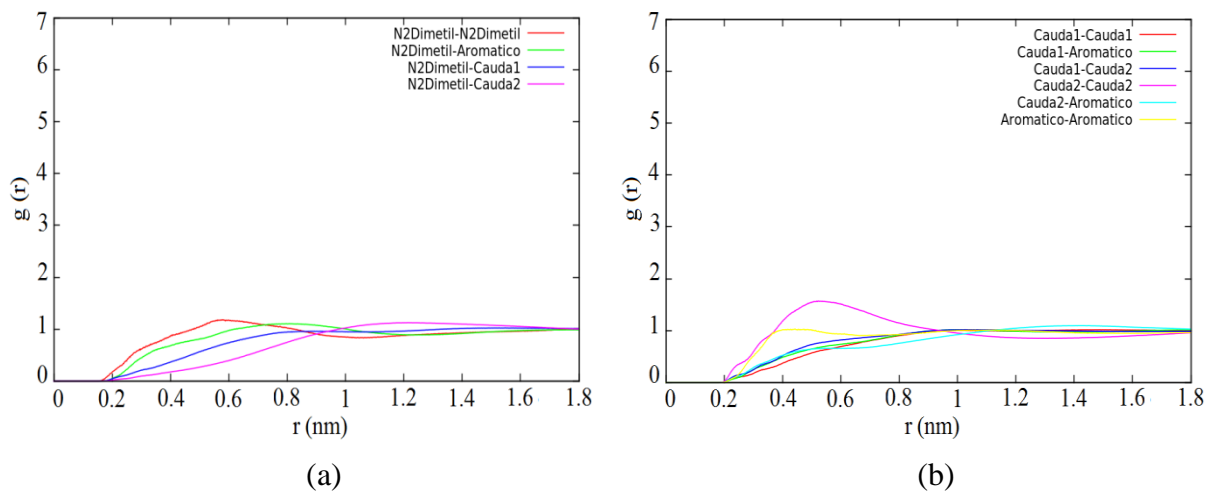


Figura 30: RDFs cátion-cátion (BDDA) tendo como referência (a) N2Dimetil e (b) Cauda1, Cauda2 e aromático dos sistemas líquidos.

4.5.2.3. IBUDDA

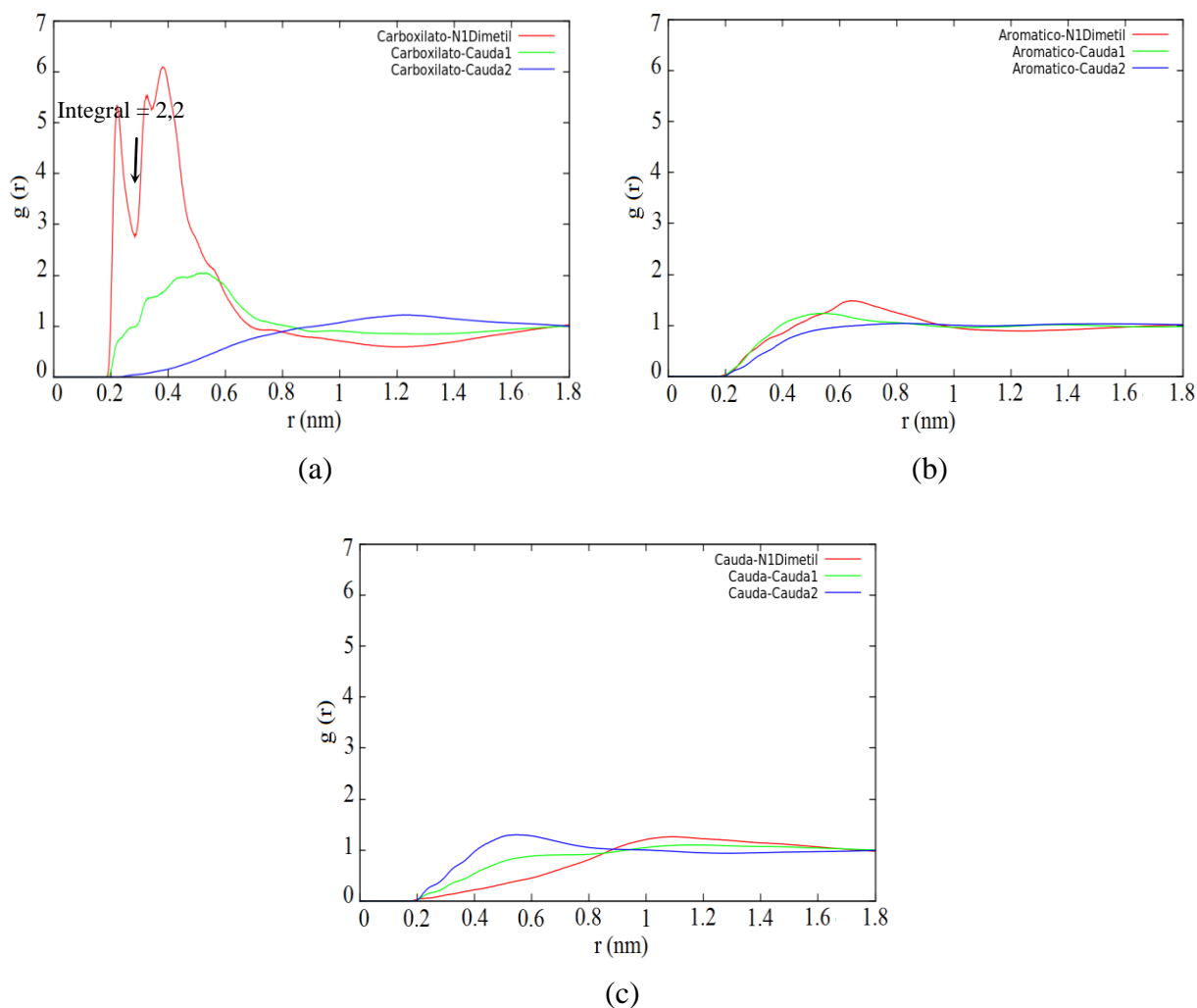


Figura 31: RDFs ânion-cátion, entre (a) carboxilato, (b) aromático e (c) Cauda do IBU com N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do DDA dos sistemas Líquidos.

O sistema deste item é composto pelo ânion ibuprofenato em combinação com o cátion DDA. O que diferencia este LI dos outros sistemas acima é a presença do ânion IBU, que apresenta apenas dois átomos de oxigênio em sua estrutura, ao contrário do acetilsalicilato, que apresenta também o grupo éster, totalizando quatro átomos de oxigênio. A Figura 31 (a) mostra, além de uma integral levemente maior, picos mais intensos e definidos entre carboxilato do ânion IBU e N1Dimetil, se comparados aos picos da RDF entre ASP e N1Dimetil. A explicação para isso pode ser o fato de as cargas dos oxigênios do IBU apresentarem valores levemente maiores (átomo 3 da Figura 8: -0,806 e átomo 4 da Figura 8: -0,794), pois o grupo carboxilato do ânion ASP interage, de maneira intramolecular, com o grupo metila, diminuindo o módulo da carga no carboxilato. Além disso, a estrutura molecular do ânion IBU não apresenta outro sítio eletronegativo, assim não ocorre competição entre

qualquer outro grupo do ânion com o cátion. Dessa forma, a interação carboxilato-N1Dimetil é mais localizada, apresentando maior definição e intensidade para o IBUDDA.

Observa-se também maior intensidade nas RDFs entre os grupos carboxilato-carboxilato e N1Dimetil-N1Dimetil das Figuras 32 (a) e (b), o que sugere um sistema mais estruturado, em relação aos outros sistemas apresentados.

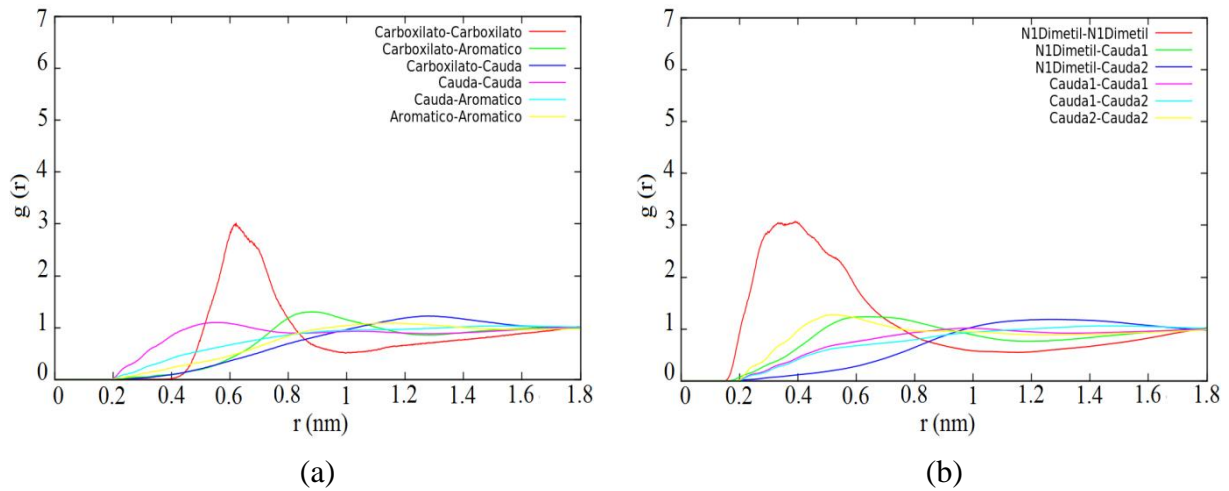


Figura 32: RDFs (a) ânion-ânion (IBU) entre carboxilato, Cauda e aromático e (b) cátion-cátion (DDA) entre N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2.

4.5.2.4. IBUBDDA

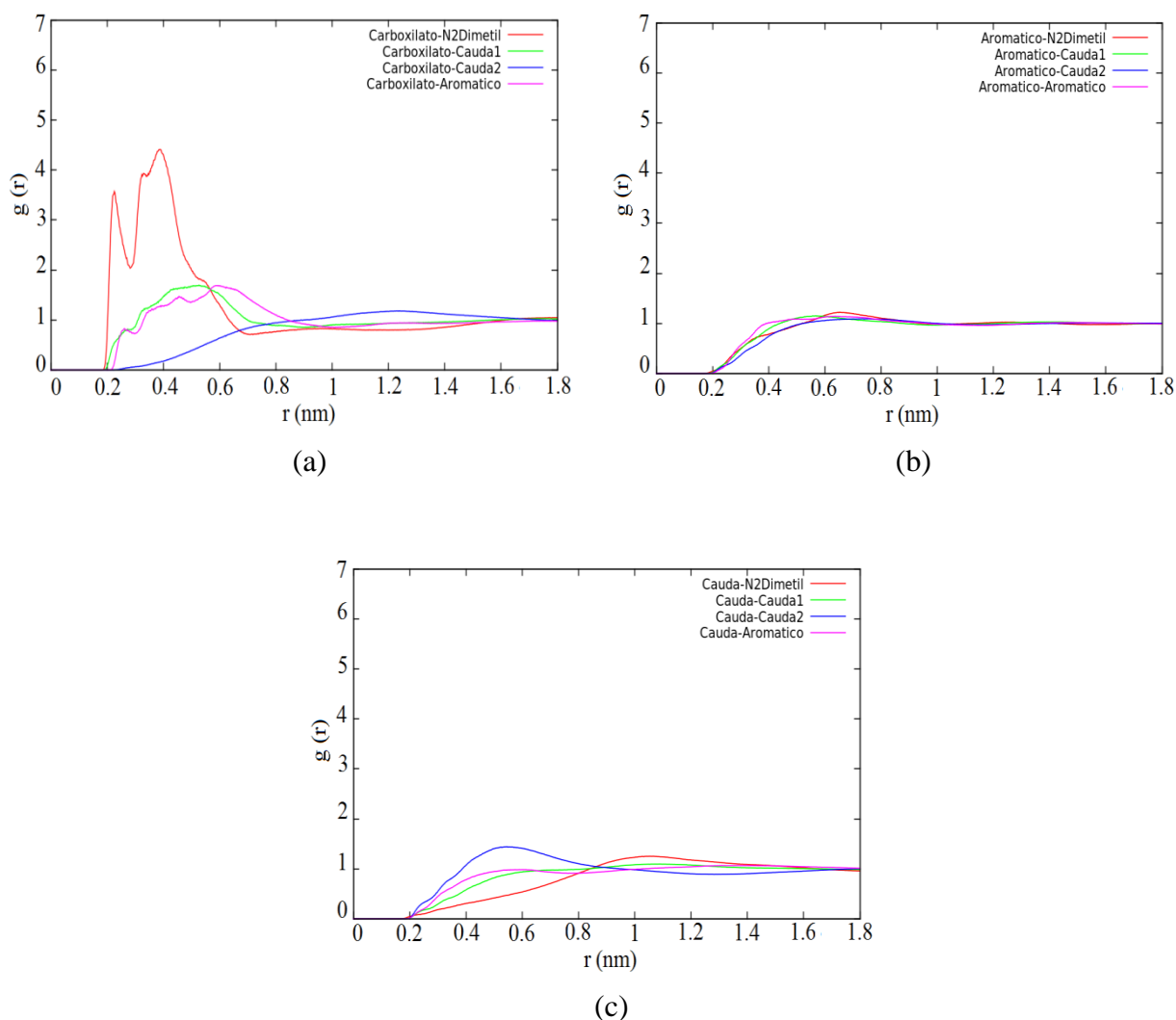
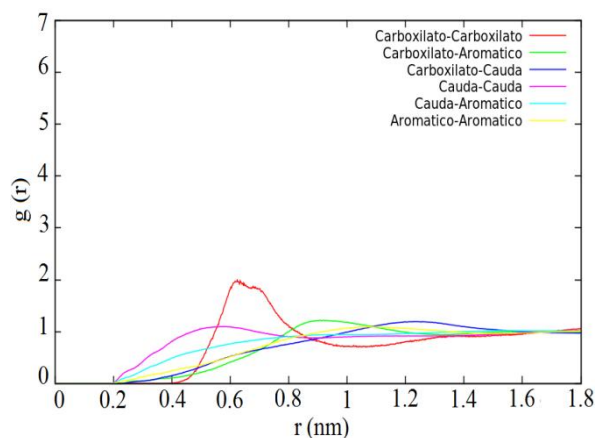


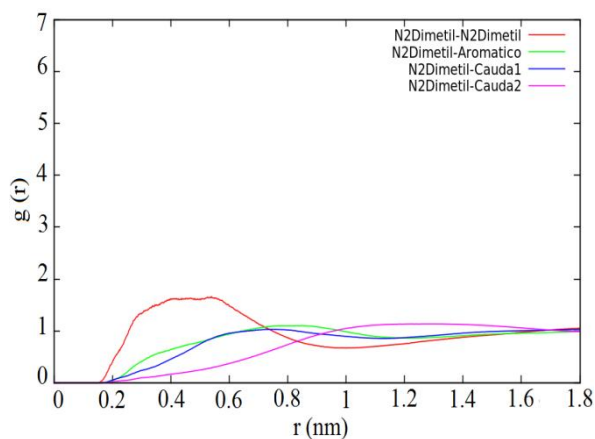
Figura 33: RDFs ânion-cátion entre (a) carboxilato, (b) aromático e (c) Cauda do IBU com N2Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do BDDA dos sistemas líquidos.

O par iônico IBUBDDA combina o ânion ibuprofenato com o cátion benzil-decildimetil-amônio. Ao se comparar a intensidade e também os valores das integrais entre os grupos do sistema IBUDDA e IBUBDDA, observa-se menores valores para IBUBDDA. O motivo pode ser o mesmo que o já comentado anteriormente, ou seja, menor carga para o nitrogênio do grupo N2Dimetil em relação ao N1Dimetil, além da geometria diferenciada do cátion pela presença do ligante benzil.

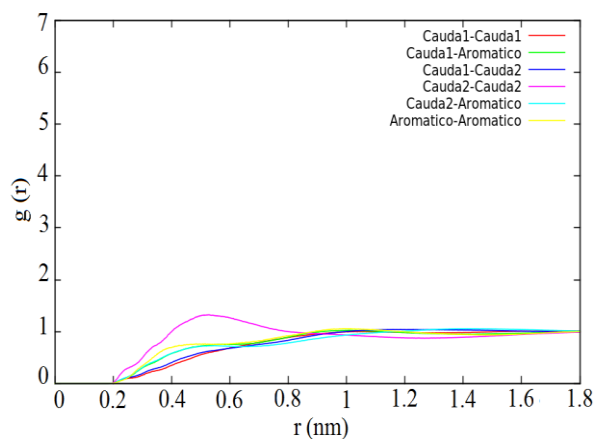


(c)

Figura 34: RDFs ânion-ânion (IBU) entre carboxilato, Cauda e aromático dos sistemas líquidos.



(a)



(b)

Figura 35: RDFs cátion-cátion (BDDA) tendo como referência (a) N2Dimetil (b) Cauda1, Cauda2 e aromático dos sistemas líquidos.

No geral, observou-se, pelas RDFs, interações importantes entre os grupos carboxilato dos ânions com N1Dimetil e N2Dimetil dos cátions. Tais interações podem ser as responsáveis pela formação dos pares iônicos se comparadas com as interações dos outros grupos. Analisando-se as RDFs ânion-ânion e cátion-cátion, observa-se maiores intensidades nas RDFs entre grupos iguais (por exemplo carboxilato-carboxilato, N1Dimetil-N1Dimetil, etc) na maioria dos casos, para os quatro LIs aqui estudados, o que pode ser atribuído à repulsão entre as cargas desses grupos.

Diante dos resultados obtidos, percebe uma relação inversa entre a densidade e intensidade dos picos nas RDFs para os valores extremos. Temos, para o sistema IBUDDA a menor densidade entre os quatro sistemas, no entanto, a RDF para esse sistema apresentou picos mais intensos e mais definidos entre carboxilato-N1Dimetil. A maior densidade

encontrada trata-se do sistema ASPBDDA, cuja intensidade se mostrou a menor entre os sistemas. Já nos sistemas ASPDDA e IBUBDDA (cujas densidades são intermediárias) temos para o ASPDDA maior densidade e maior intensidade em relação ao IBUBDDA. A relação entre densidade e RDFs é citada por Coutinho⁷² envolvendo sistemas de argônio líquido, nos quais a temperatura e pressão variam juntamente com a densidade. Observou-se nesse estudo para o argônio, a relação inversa entre densidade e intensidade dos picos. Considerando-se que a investigação com DM deste estudo envolveu temperatura fixa além de estruturas moleculares diferentes, não se pode afirmar se a relação citada por Coutinho é válida para estes sistemas.

Diante das características observadas nas RDFs evidenciando maiores perturbações entre os grupos carboxilato versus N1Dimetil e N2Dimetil, descarta-se qualquer possibilidade de interação entre outros fragmentos das moléculas. Assim, o estudo segue com a investigação acerca das possíveis interações dos LIs com a membrana POPC, bem como os efeitos deste ambiente químico sobre o par iônico.

4.6. MEMBRANA POPC

A bicamada utilizada totaliza 128 moléculas de POPC hidratada com 5120 moléculas de água do tipo TIP3P⁶⁹. A caixa contendo a bicamada, que contém parâmetros do campo de força *stocholmlipids*^{76; 77} foi obtida do banco de dados virtual *lipidbook*⁷⁸.

4.7. DM DOS SISTEMAS LI + MEMBRANA

As simulações por DM desses sistemas seguiram a descrição já mencionada no item 4.3, porém com temperatura de 310 K para simular ambiente fisiológico. Pretende-se, com esta etapa, comparar o perfil de densidade do sistema que contém o ânion, o cátion, a membrana e o solvente (água/SOL) com as RDFs entre todas as frações da membrana e grupos dos íons. Além disso, foram calculadas as RDFs entre cátions e ânions (grupo carboxilato e N1/N2Dimetil) no interior da membrana, comparando-se com as RDFs em clorofórmio. Comparam-se também os gráficos da interação eletrostática de curto alcance e distância mínima alcançada entre cátion e ânion ao final de 100 ns. Para cada um dos sistemas, foi calculada a área média da bicamada por fosfolípídeo, assim como a espessura da bicamada, cujos resultados são apresentados na Tabela IV. As simulações por DM foram realizadas após a inserção de 1 par iônico no interior da membrana através da sobreposição das caixas contendo a bicamada e os íons. Com a ferramenta *g_membed* do GROMACS minimizou-se a perda de moléculas de POPC devido à sobreposição dos íons. Foi utilizado o

intervalo de simulação entre 90-100 ns para o cálculo dos perfis de densidade.

Para o cálculo das RDFs, a molécula de POPC foi dividida em grupos, assim como os íons, e com a ferramenta *make_ndx*, criou-se um índice que é composto pelas frações da POPC (Figura 36) e pelos mesmos grupos dos íons mostrados na Figura 20. Posteriormente foram calculadas as RDFs entre as frações da POPC e os grupos dos íons, no intervalo de 90 a 100 ns de simulação, tendo sempre como referência as frações da POPC. As Tabelas 4, 5, 6 e 7 resumem os sistemas montados entre os grupos da POPC para cada LI, de modo que as colunas das tabelas geram gráficos de RDF, que são apresentados ainda nesta seção. Em cada gráfico é representado o fragmento da molécula de POPC ao qual pertence a RDF.

Dessa maneira, com esses resultados é possível visualizar a posição dos íons em relação às frações da membrana e também em relação à água, além de determinar a distância mais provável entre os íons. Com a contribuição dos gráficos da interação eletrostática e distâncias mínimas, pode-se prever a separação ou não dos pares iônicos. Nos resultados do perfil de densidade, a amplitude dos dados dos pares iônicos foi aumentada em 20 vezes, para melhor visualização gráfica.

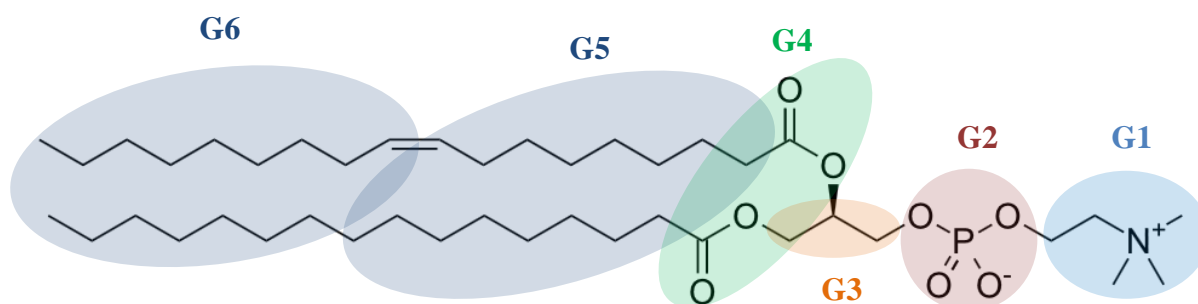


Figura 36: Divisões da molécula POPC utilizadas para os cálculos das RDFs.

4.7.1. DIMENSÕES DA BICAMADA

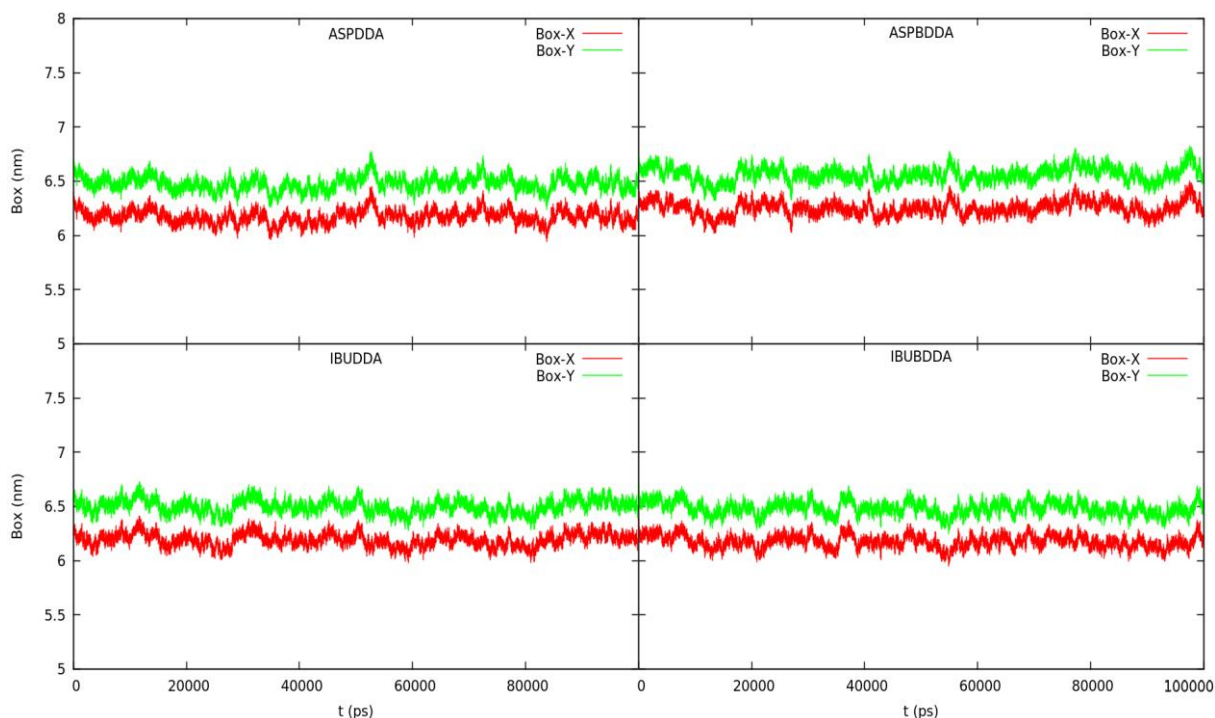


Figura 37: Evolução temporal das dimensões da caixa de simulação, nas direções x e y para os sistemas estudados.

Tabela IV: Área média por fosfolípídeo e a espessura da bicamada.

Sistema	Espessura (nm)	Área Média por Fosfolípídeo (nm ²)	Erro (%)
ASPDDA	3,46	0,66	0,005
ASPBDDA	3,67	0,66	0,005
IBUDDA	3,76	0,65	0,005
IBUBDDA	3,62	0,65	0,004

A área da bicamada é um importante dado que caracteriza um sistema, pois afeta uma variedade de processos físicos de uma bicamada lipídica⁷⁹, além de indicar o equilíbrio atingido em uma simulação. Os dados da Tabela IV foram obtidos através da multiplicação das medidas médias das caixas de simulação, até 100 ns, nas direções x-y, dividindo-se pelo número de moléculas de POPC que compõem uma das camadas (o número de moléculas de POPC em cada sistema estão indicados nas Tabelas V, VI VII e VIII). A falta de medidas, na literatura, para os sistemas específicos abordados neste estudo permite apenas uma comparação com outros sistemas estudados. Por exemplo, tem-se para um sistema POPC+água uma área média de 0,64 nm²⁽⁸⁰⁾. Outro estudo envolvendo contra-íons Na⁺ no sistema POPC+água indica uma área de 0,658 nm² ± 0,009 nm², para temperatura de 310 K⁷⁹,

enquanto sistemas contendo POPC pura apresenta valor de área de $0,677 \text{ nm}^2 \pm 0,003 \text{ nm}^2$ ⁽⁸¹⁾. Patra et al⁸¹ relatam um valor de $0,61 \text{ nm}^2$, em estudo que utiliza a técnica de difração de raios-x⁸². Valores de área obtidos experimentalmente relatados por Poger e Mark⁸³ variam entre $0,54 \text{ nm}^2$ (275 K)⁸⁴ a $0,683 \text{ nm}^2$ (303 K)⁸⁵. Valores de simulações encontrados na literatura pelos autores flutuam entre $0,693 \text{ nm}^2$ (298 K)⁸⁶, $0,655 \text{ nm}^2$ (300 K)³⁷ e $0,668 \text{ nm}^2$ (303 K)⁸⁷, enquanto que a simulação dos autores rendeu o valor de $0,638 \text{ nm}^2$ (303 K)⁸³. Os resultados observados na Tabela IV estão de acordo com a maioria dos dados encontrados na literatura. Além disso, a Figura 37 mostra sistemas equilibrados através da evolução temporal das medidas das caixas de simulação, nas direções x-y. Algumas diferenças observadas entre os valores calculados e os encontrados na literatura podem ser atribuídas às diferenças entre campos de força, composição e condições dos sistemas utilizados.

As espessuras das bicamadas no presente estudo foram obtidas através da distância entre os máximos dos perfis de densidade, referentes ao sistema. O valor de $3,68 \text{ nm}$ foi encontrado por Donald E. Elmore⁸⁸, utilizando as duas medidas do centro da bicamada ao centro de massa dos grupos fosfatos, em uma simulação de 10 ns ⁸⁸. Patra et al⁸¹ relatam espessura de $d=1,96 \text{ nm}$ de um sistema com POPC pura, calculado a partir do máximo no perfil de densidade eletrônica dos grupos fosfatos, ao centro da bicamada (vale lembrar que a espessura total é duas vezes esse valor, ou seja, $2d$). Segundo os autores, o resultado para espessura está de acordo com os valores encontrados para $2d$, por raios-X (Vogel⁸⁹, $3,9 \text{ nm}$) e por simulações computacionais (Gullingsrud⁹⁰, $3,92 \text{ nm}$)⁸¹. Jurkiewicz et al⁹¹ encontraram $1,92 \text{ nm}$ de distância média entre os grupos fosfatos ao centro da bicamada, em sistema de POPC+água, enquanto valores de 2 nm e $1,9 \text{ nm}$ foram encontrados por Gurtovenko⁹², em sistemas contendo POPC+NaCl e POPC+KCl, respectivamente. Poger e Mark⁸³ relatam valor de $3,70 \text{ nm}$ ⁸⁵ da literatura e $3,46 \text{ nm}$ da simulação⁸³ (GROMOS 53A6⁹³) utilizando as distâncias entre os grupos fosfatos do perfil de densidade. Tais valores ficam próximos aos encontrados na Tabela IV.

Um estudo experimental recente envolvendo o estudo da influência do ibuprofeno em membrana por espalhamento e reflectometria de nêutrons, indicou diminuição da espessura da bicamada (*L- α -phosphatidylcholine* - SoyPC) em baixas concentrações de ibuprofeno (0-5% m/m) em relação à SoyPC pura; com o aumento da concentração a bicamada tende a aumentar a espessura sem, no entanto, atingir as medidas originais⁹⁴. Além disso, foi observado enrijecimento da superfície da bicamada pela ação do ibuprofeno⁹⁴. Portanto, a presença dos pares iônicos no interior da POPC pode resultar em diferenças entre os valores calculados diante dos encontrados na literatura para as espessuras.

4.7.2. ASPDDA

Tabela V: Sistemas montados para as RDFs entre os grupos da POPC e do par iônico ASPDDA. O sistema contém 122 moléculas de POPC.

POPC	G1	G2	G3	G4	G5	G6
ASP⁻	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato
	Éster	Éster	Éster	Éster	Éster	Éster
	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático
	Metila	Metila	Metila	Metila	Metila	Metila
DDA⁺	N1Dimetil	N1Dimetil	N1Dimetil	N1Dimetil	N1Dimetil	N1Dimetil
	Cauda1	Cauda1	Cauda1	Cauda1	Cauda1	Cauda1
	Cauda2	Cauda2	Cauda2	Cauda2	Cauda2	Cauda2

Os perfis de densidade descrevem como varia a densidade de cada componente do sistema dentro da caixa de simulação, no sentido da espessura da bicamada. O gráfico pode ser interpretado subdividindo-se a figura do perfil de densidade em regiões: a primeira região que, nos gráficos da DM, compreende distâncias entre aproximadamente 0,8-1,6 nm é a região onde se encontra (seguindo o eixo da distância), alta densidade de água e baixa densidade da fração polar das moléculas de POPC (cabeças). À medida que a distância aumenta, o sistema decresce em densidade de água e aumenta a densidade das cabeças polares. A região entre 1,6-2,7nm é considerada de grande densidade de cabeças. Em 2,7 nm praticamente não se encontra água no sistema, pois a curva relativa ao solvente está praticamente zerada. Na terceira região, que tem início em 2,7nm tem-se alta densidade de cadeias alquílicas, que se assemelha ao hexadecano⁷³. A partir de ~3,15 nm o sistema decresce mais rapidamente em densidade, e ao centro da bicamada tem-se baixa densidade de cadeias alquílicas. A partir de ~3,5 nm até o final da caixa de simulação as regiões são semelhantes às descritas acima, pois considera-se a bicamada como duas frações simétricas.

O perfil de densidade da Figura 38 indica que os íons do par iônico ASPDDA estão afastados um do outro em relação à espessura da bicamada. O afastamento entre os íons também pode ser verificado na Figura 39, que representa o sistema contendo a bicamada hidratada e os pares iônicos. A camada superior e inferior da figura representam o solvente, ou seja, a camada de hidratação da membrana. A região interna, entre as duas camadas de hidratação, compreende a bicamada lipídica, cujas moléculas de POPC foram suprimidas da visualização para que os íons pudessem ser localizados visualmente. A Figura 40 (a), da distância mínima entre os íons, sugere que esse afastamento ocorreu a partir de

aproximadamente 35 ns de simulação, o que é reforçado pelo encerramento da interação eletrostática verificado na Figura 40 (b). Observa-se, no perfil de densidade, determinada proximidade do ânion (linha verde) com o sistema aquoso, tanto que o mesmo encontra-se “escapando” do interior da membrana. O cátion, por sua vez, está localizado nas proximidades do interior da POPC (linha vermelha), mais especificamente na região polar.

Na Figura 41, que compara a RDF entre cátion e ânion em clorofórmio (a) e no interior da bicamada (b), observa-se uma drástica diferença no comportamento entre os íons. Há uma nítida perturbação no par iônico devida à presença da POPC, o que não ocorre na presença de clorofórmio. A RDF em clorofórmio (Figura 41 (a)) apresenta um pico bem definido em torno de 0,4 nm, enquanto que no interior da bicamada a RDF não apresenta pico (Figura 41 (b)). A baixa constante dielétrica do clorofórmio não oferece oposição à aproximação entre os íons, em contrapartida, a POPC perturba de forma significativa a interação eletrostática entre o cátion e o ânion. Essas observações reforçam o afastamento entre os íons observado no perfil de densidade (Figura 38), na distância mínima e interação eletrostática (Figura 40).

A Figura 42 (b) sugere forte influência do DDA sobre o grupo fosfato, enquanto que a maior RDF observada entre o ânion e a POPC está vinculada ao grupo aromático com o grupo colina, respectivamente, de acordo com a Figura 42 (a). Isso explica o fato de o ânion estar “escapando” da bicamada, pois neste caso o carboxilato não apresenta a RDF mais significativa com a bicamada. As Figuras 42 (b) e (d) apresentam um pequeno pico entre N1Dimetil e as referentes frações da POPC (~0,25 nm) que indica uma distância sugestiva de ligação de hidrogênio (LH) entre esses grupos. Vê-se, ainda, maior pico entre Cauda1 com o grupo polar (G4) da POPC enquanto o grupo Cauda2 é mais influenciado pelas cadeias alquílicas da membrana, conforme Figuras 42 (d), (e) e (f).

A soma de todos os resultados apresentados nas Figuras 38, 39 40, 41 e 42 sugerem que no sistema POPC+CÁTION+ÂNION+SOLVENTE, cátions e ânions estabelecem proximidade preferencial com sítios da POPC ou com solvente, ao invés de aproximarem entre si.

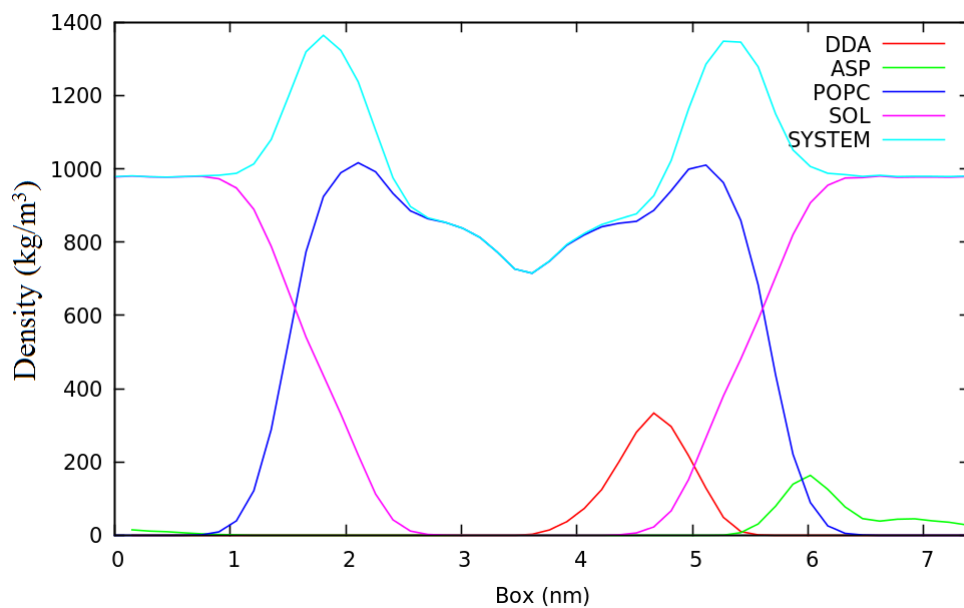


Figura 38: Perfil de densidade para o sistema POPC, ASP, DDA e água (SOL).

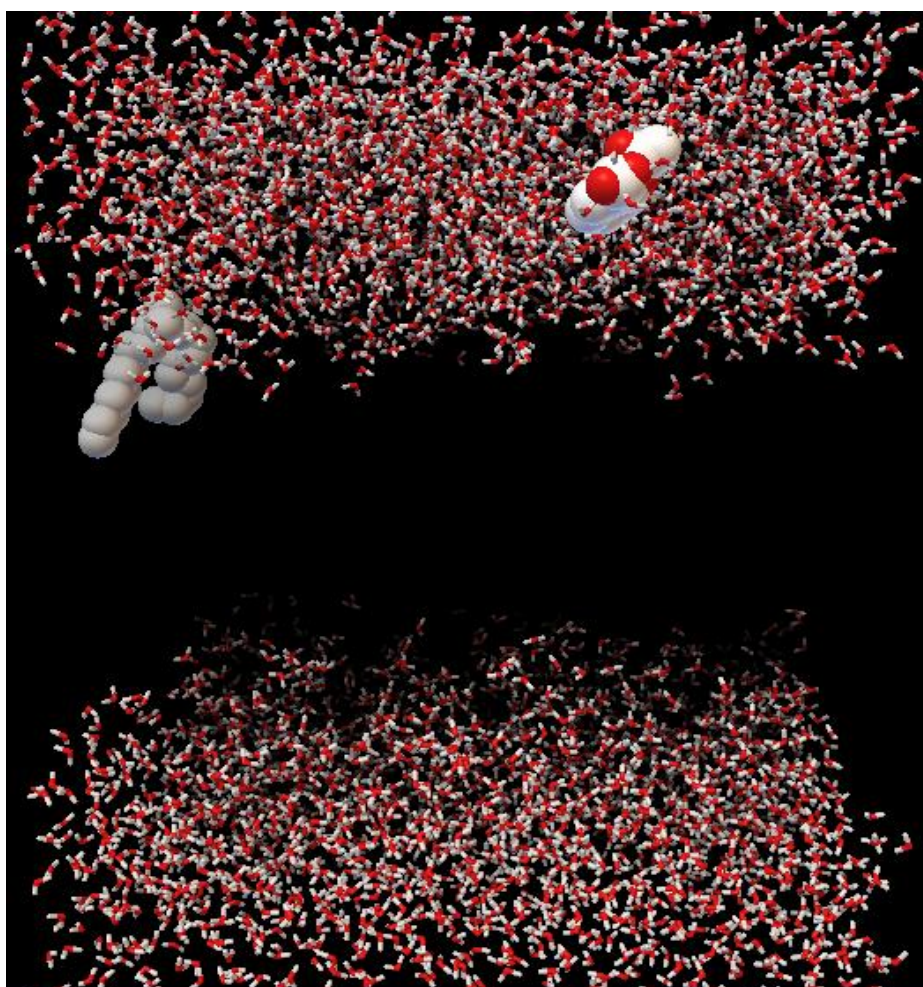


Figura 39: Instantâneo do sistema ASPDDA ao final de 100 ns de simulação. À esquerda superior o cátion DDA e à direita superior o ânion ASP. Os pontos vermelhos representam os oxigênios do sistema. As moléculas de POPC, localizadas entre as duas camadas de água (superior e inferior) assim como os hidrogênios dos íons foram suprimidos da imagem para melhor visualização.

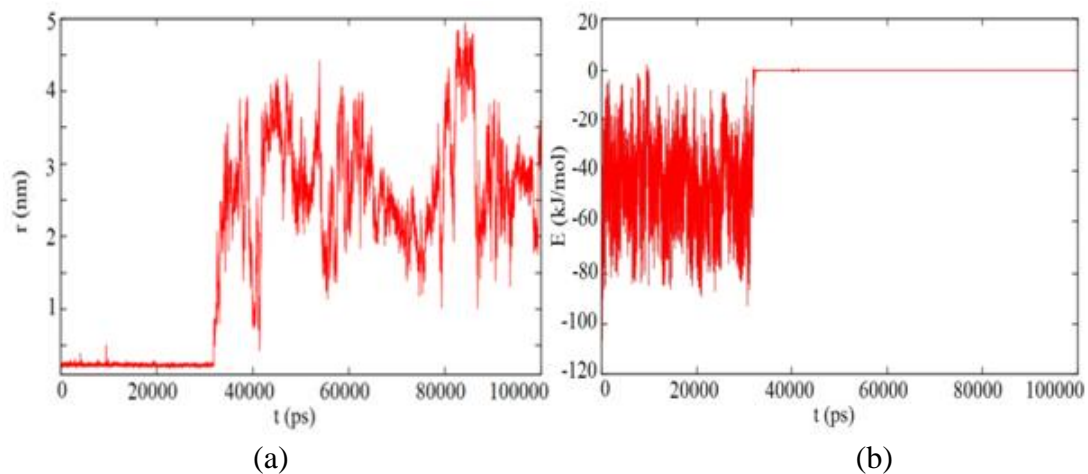


Figura 40: (a) Distância mínima entre ASP e DDA e (b) Interação eletrostática entre ASP e DDA.

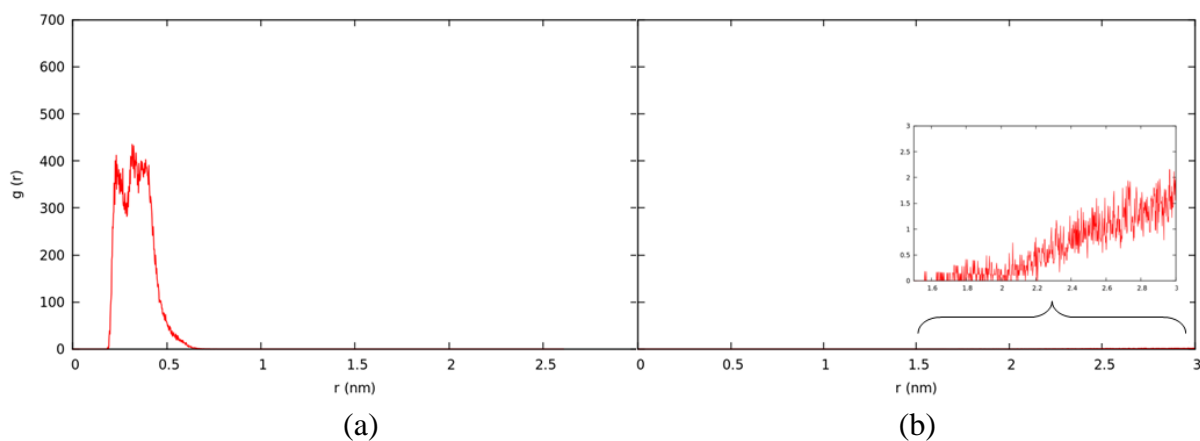


Figura 41: RDF entre grupo carboxilato e N1Dimetil (a) em CHCl_3 e (b) no interior da membrana.

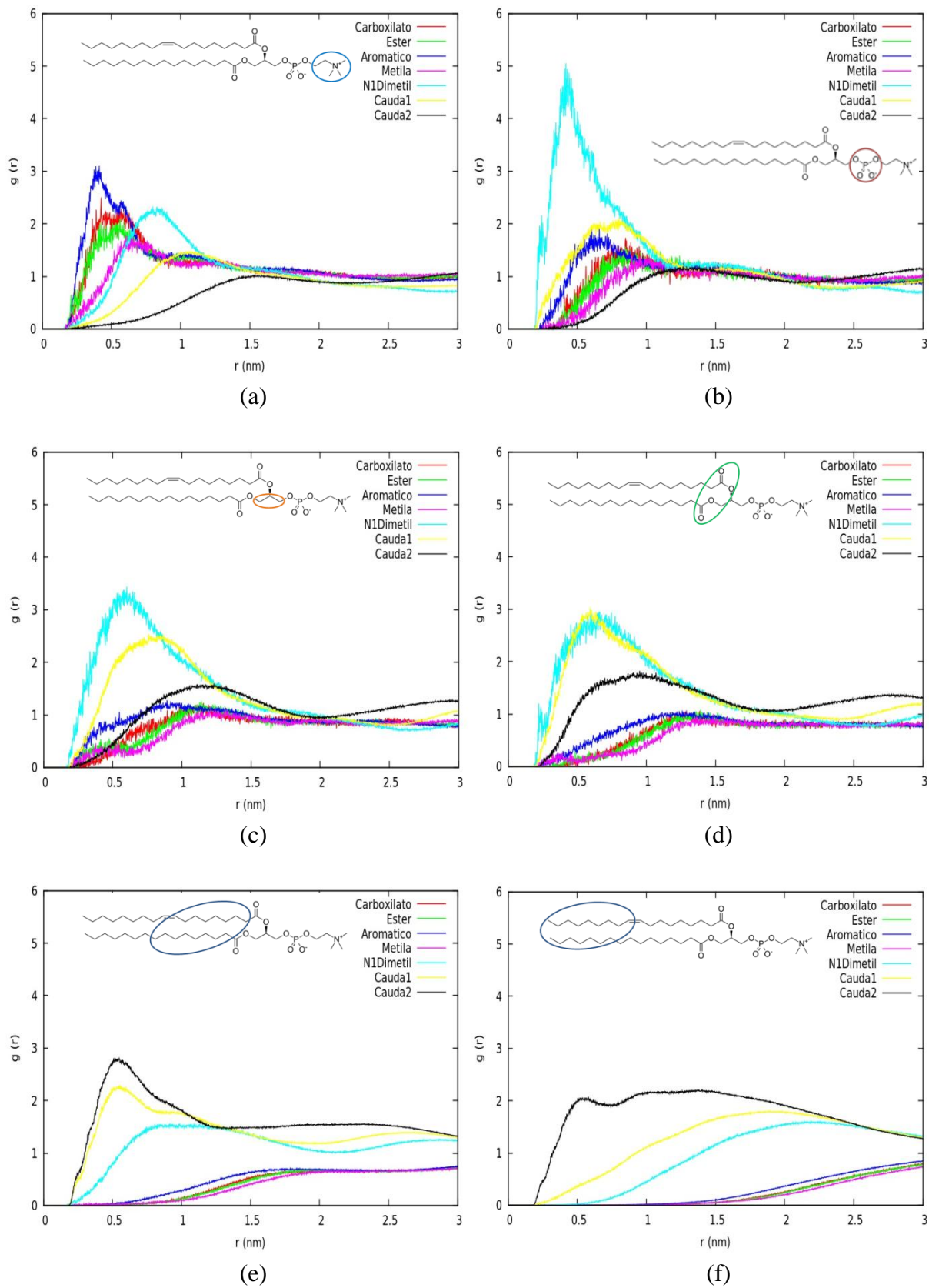


Figura 42: RDFs entre (a) G1, (b) G2, (c) G3, (d) G4, (e) G5 e (f) G6 da POPC com carboxilato, éster, aromático, metila, N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do par iônico ASPDDA.

4.7.3. ASPBDDA

Tabela VI: Sistemas montados para as RDFs entre os grupos da POPC e do par iônico ASPBDDA. O sistema contém 124 moléculas de POPC.

POPC	G1	G2	G3	G4	G5	G6
ASP⁻	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato
	Éster	Éster	Éster	Éster	Éster	Éster
	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático
	Metila	Metila	Metila	Metila	Metila	Metila
BDDA⁺	N2Dimetil	N2Dimetil	N2Dimetil	N2Dimetil	N2Dimetil	N2Dimetil
	Cauda1	Cauda1	Cauda1	Cauda1	Cauda1	Cauda1
	Cauda2	Cauda2	Cauda2	Cauda2	Cauda2	Cauda2
	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático

O sistema contendo o par iônico ASPBDDA gerou menores distâncias entre os íons (em relação à POPC) se comparado ao sistema anterior (ASPDDA), pois o perfil de densidade mostra os íons mais próximos um do outro, além de permanecerem no interior da membrana no tempo simulado. O ânion está situado na região polar da membrana, e na RDF da Figura 47 (a) observa-se um pico intenso entre carboxilato e G1 (colina), o que não é observado no sistema ASPDDA. A proximidade entre esses grupos pode justificar o motivo pelo qual o ânion permanece no interior da membrana no tempo analisado.

Apesar da menor distância entre os íons observada no perfil de densidade, o gráfico das distâncias mínimas para o par iônico indica uma tendência ao afastamento entre os íons, que é reforçada com o resultado da interação eletrostática, que praticamente inexistente a partir de aproximadamente 60 ns de simulação. A RDF entre cátion e ânion no interior da bicamada apresenta um pico de baixa intensidade em torno de 2 nm (Figura 46 (b)), que sugere grande distância entre os íons, já observada no perfil de densidade, distância mínima e interação eletrostática, indicando que todos esses resultados concordam.

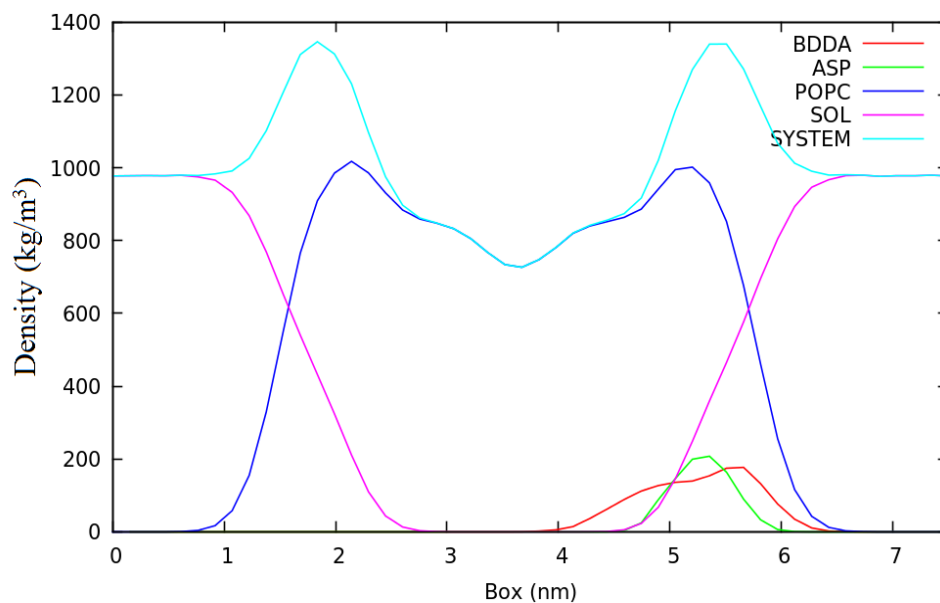


Figura 43: Perfil de densidade para o sistema POPC, ASP, BDDA e água(SOL).

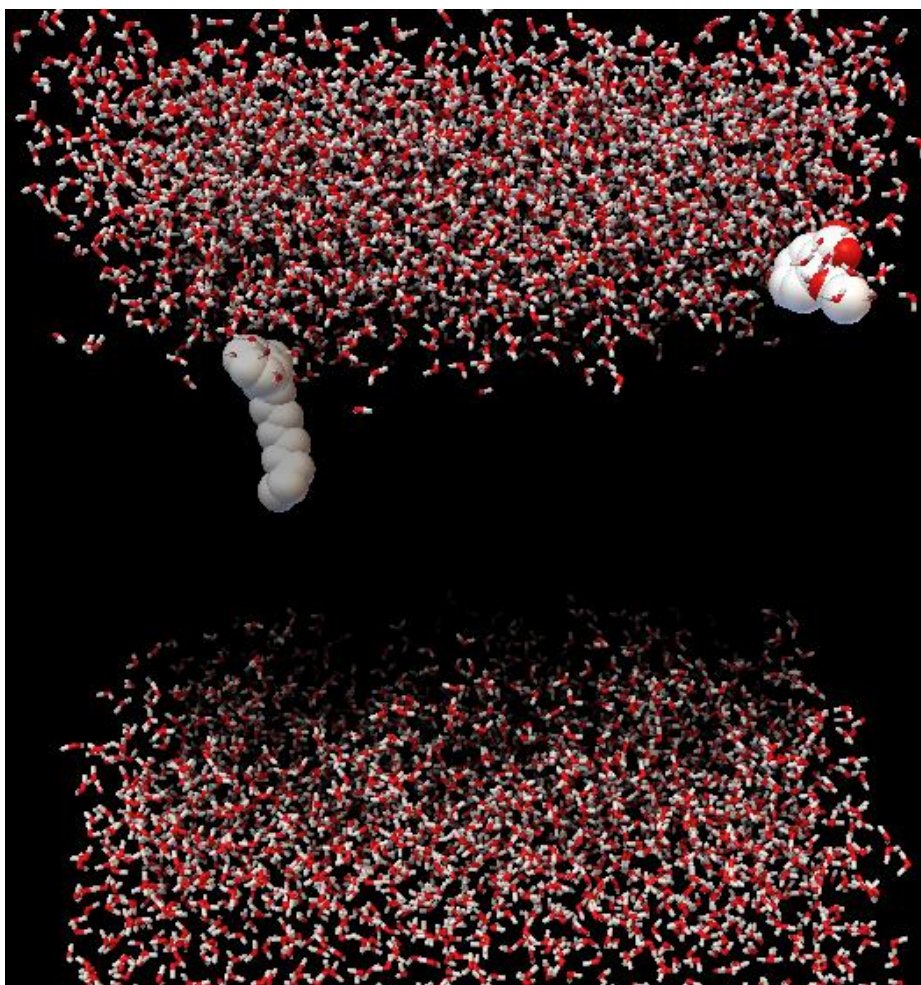


Figura 44: Instantâneo do sistema ASPBDDA ao final de 100 ns de simulação. À esquerda superior o cátion BDDA e à direita superior o ânion ASP. Os pontos vermelhos representam os oxigênios do sistema. As moléculas de POPC, localizadas entre as duas camadas de água (superior e inferior) assim como os hidrogênios dos íons foram suprimidos da imagem para melhor visualização.

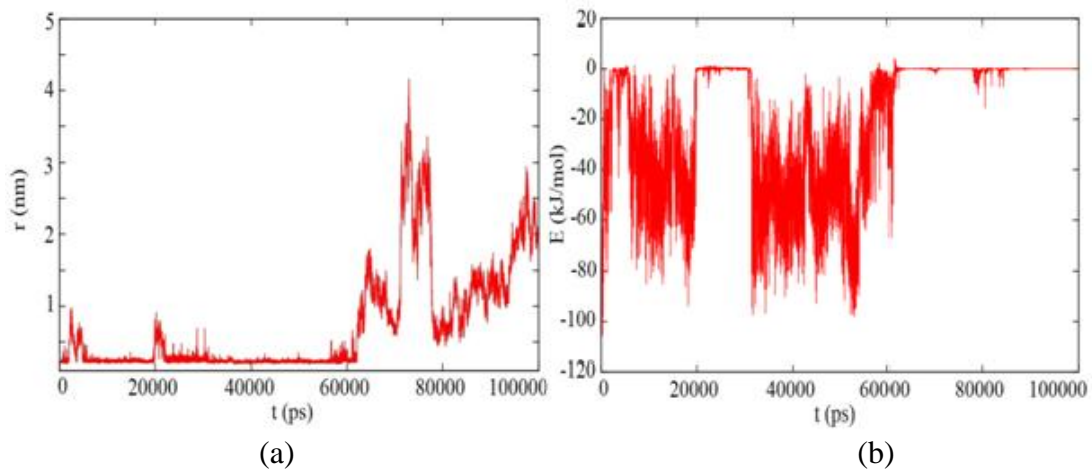


Figura 45: (a) Distância mínima entre ASP e BDDA e (b) Interação eletrostática entre ASP BDDA.

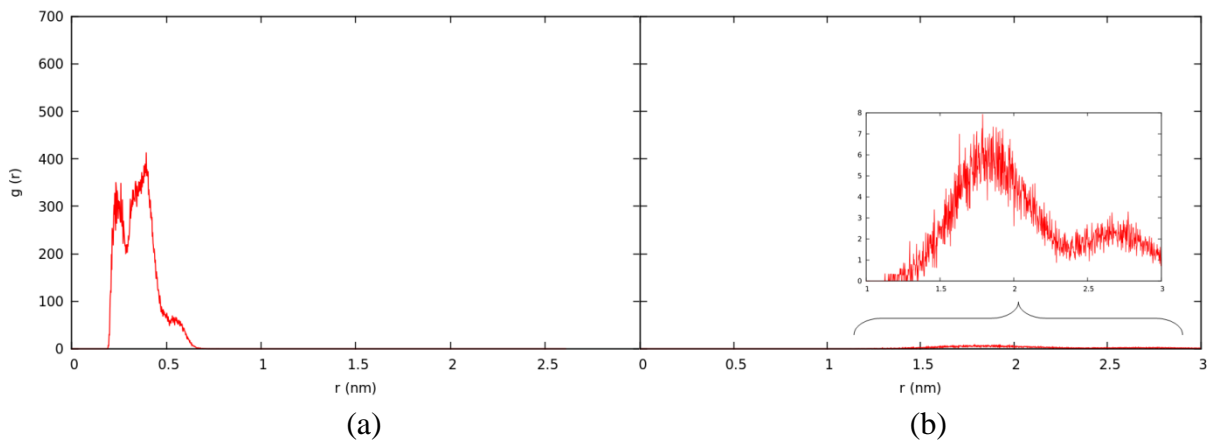


Figura 46: RDF entre grupo carboxilato e N2Dimetil (a) em CHCl_3 e (b) no interior da membrana.

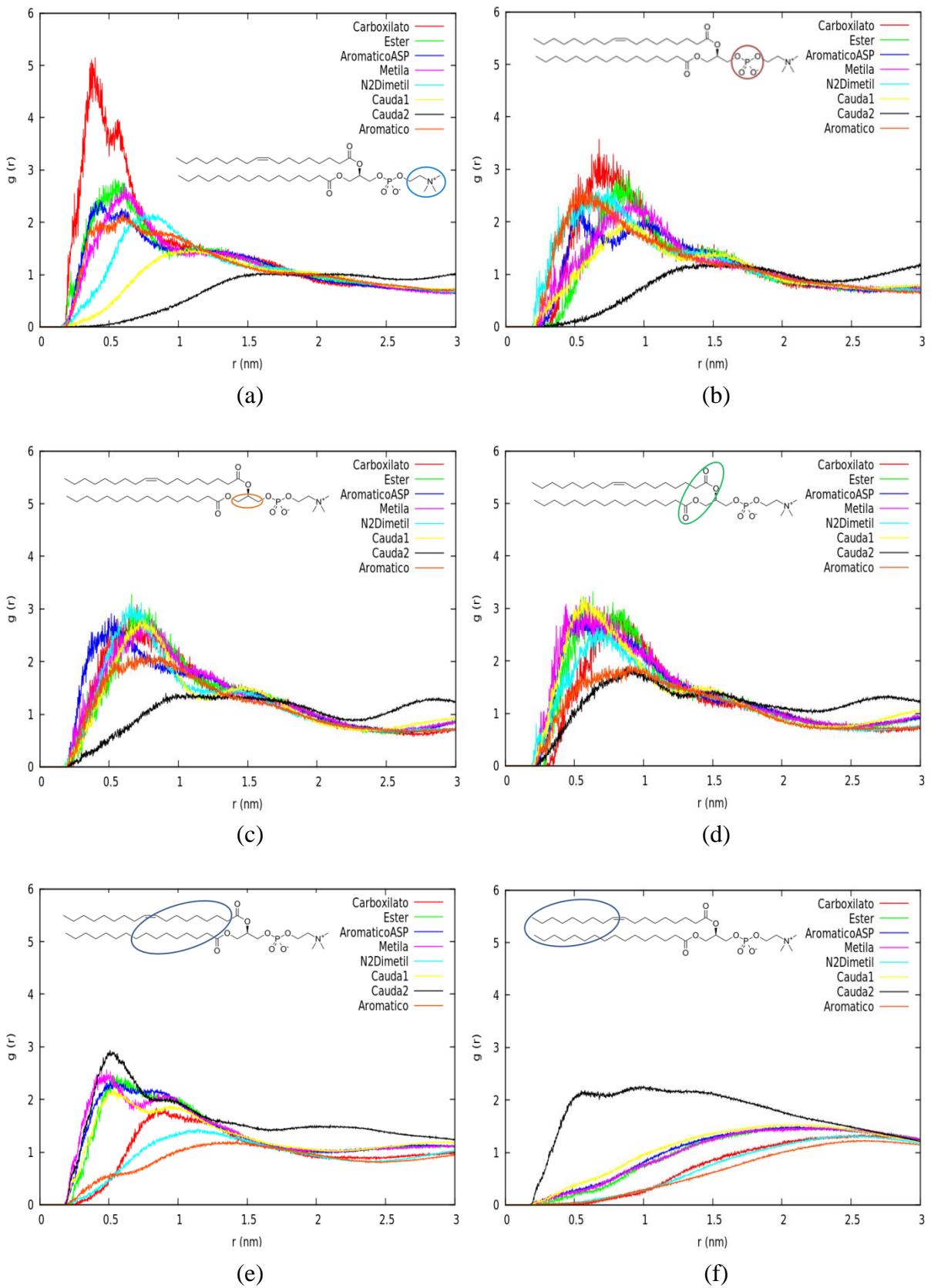


Figura 47: RDFs entre (a) G1, (b) G2, (c) G3, (d) G4, (e) G5 e (f) G6 da POPC com carboxilato, éster, aromáticoASP, metila, N2Dimetil, aromático, Cauda1 e Cauda2 do par iônico ASPBDDA.

4.7.4. IBUDDA

Tabela VII: Sistemas montados para as RDFs entre os grupos da POPC e do par iônico IBUDDA. O sistema contém 124 moléculas de POPC.

POPC	G1	G2	G3	G4	G5	G6
	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato
IBU⁻	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático
	Cauda	Cauda	Cauda	Cauda	Cauda	Cauda
	N1Dimetil	N1Dimetil	N1Dimetil	N1Dimetil	N1Dimetil	N1Dimetil
DDA⁺	Cauda1	Cauda1	Cauda1	Cauda1	Cauda1	Cauda1
	Cauda2	Cauda2	Cauda2	Cauda2	Cauda2	Cauda2

O LI menos denso ($930,699 \text{ kg/m}^3$) apresenta a menor distância entre os íons, de acordo com o perfil de densidade eletrônica. Vêem-se, na Figura 48, os picos dos íons praticamente na mesma região, dentro da bicamada, com o cátion tendendo levemente à região interna da membrana. A interação eletrostática, juntamente com as distâncias mínimas e RDFs no interior da membrana (Figuras 50 e 51 respectivamente) indicam, apesar da existência de ligações transientes, a manutenção do par iônico. As RDFs da Figura 51 indicam muita semelhança no comportamento do par iônico em clorofórmio e no interior da membrana, não apresentando variação significativa na distância entre cátion e ânion entre os dois sistemas.

As RDFs entre os íons e a POPC mostram semelhança, através das intensidades dos picos dos grupos carboxilato e N1Dimetil, com os fragmentos da membrana. Na Figura 52 (a) vemos o grupo carboxilato mais próximo do grupo colina, a situação que mais diferencia as interações desses dois grupos com a membrana. Vê-se também muita semelhança entre os picos do grupo aromáticoIBU e Cauda1 do cátion, com exceção do caso da Figura 52(d), onde Cauda1 está mais próximo do grupo G4 da membrana. O mesmo pode ser observado entre CaudaIBU e Cauda2, principalmente na Figura 52 (e) e (f), o que sugere determinada orientação entre o par iônico, ou seja, ambos os grupos estão orientados na mesma direção. O que se pode concluir das RDFs: em relação ao ânion, o grupo carboxilato está mais próximo do grupo G1 (colina), enquanto o grupo aromáticoIBU e CaudaIBU mais próximos ao G5 (fragmento interno das cadeias); em relação ao cátion: o grupo N1Dimetil está mais próximo do G2 (fosfato), Cauda1 está próximo tanto do G4 (COOs) quanto do G5, enquanto Cauda2 está mais próximo ao G5. Essas observações indicam que cátion e ânion estão orientados.

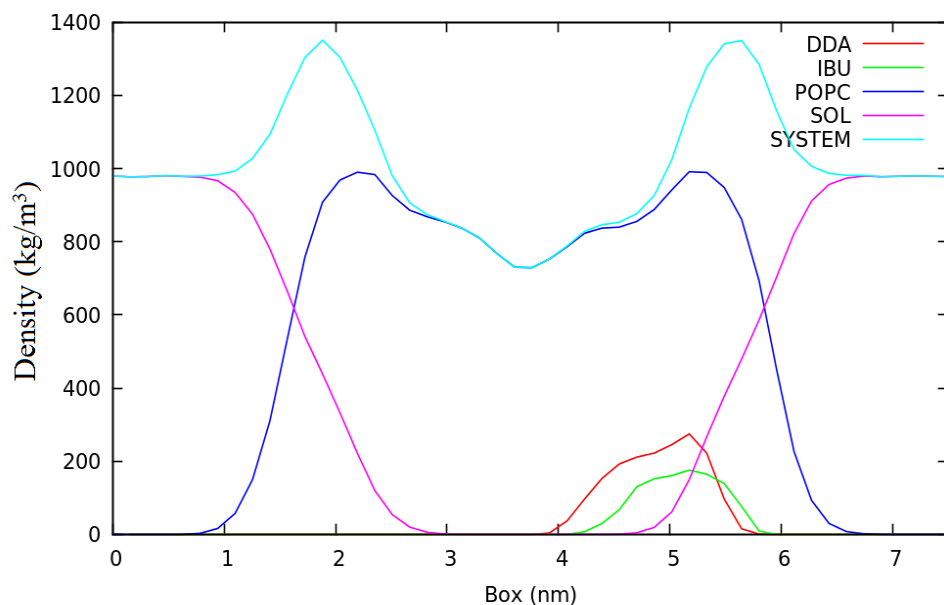


Figura 48: Perfil de densidade para o sistema POPC, IBU, DDA e água.

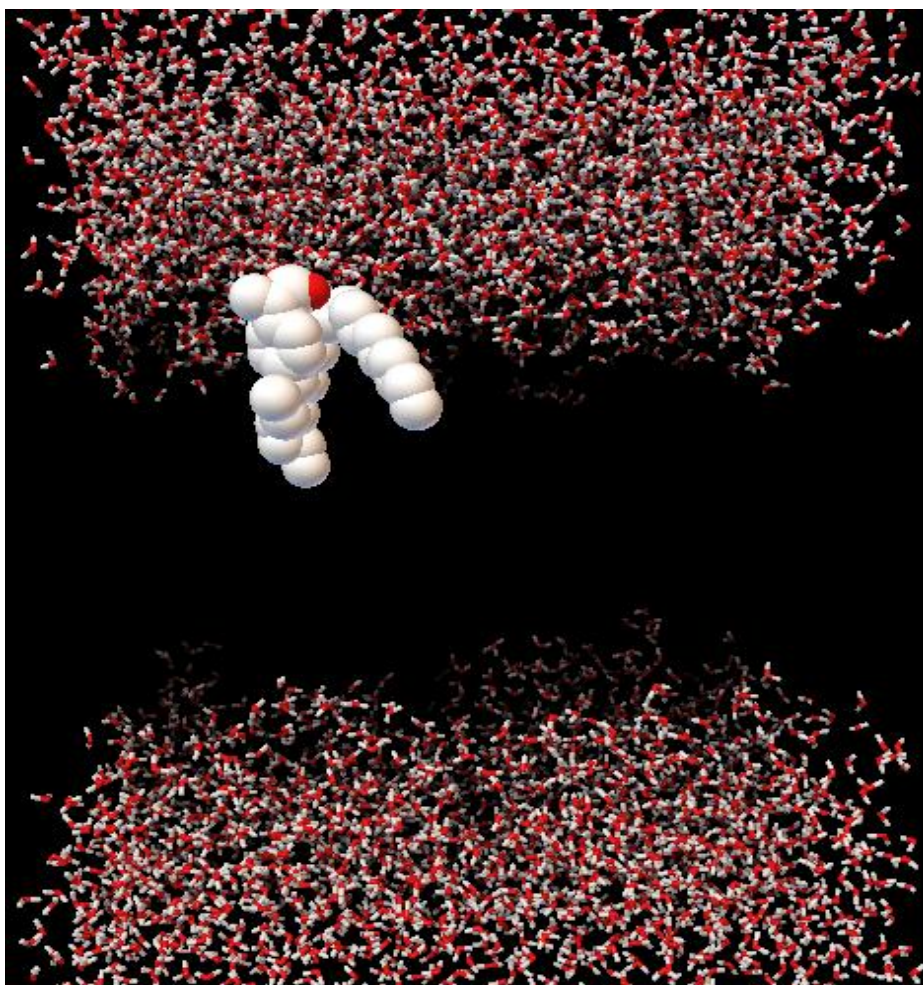


Figura 49: Instantâneo do sistema IBUDDA ao final de 100 ns de simulação. À esquerda superior o par iônico IBUDDA. Os pontos vermelhos representam os oxigênios do sistema. As moléculas de POPC, localizadas entre as duas camadas de água (superior e inferior) assim como os hidrogênios dos íons foram suprimidos da imagem para melhor visualização.

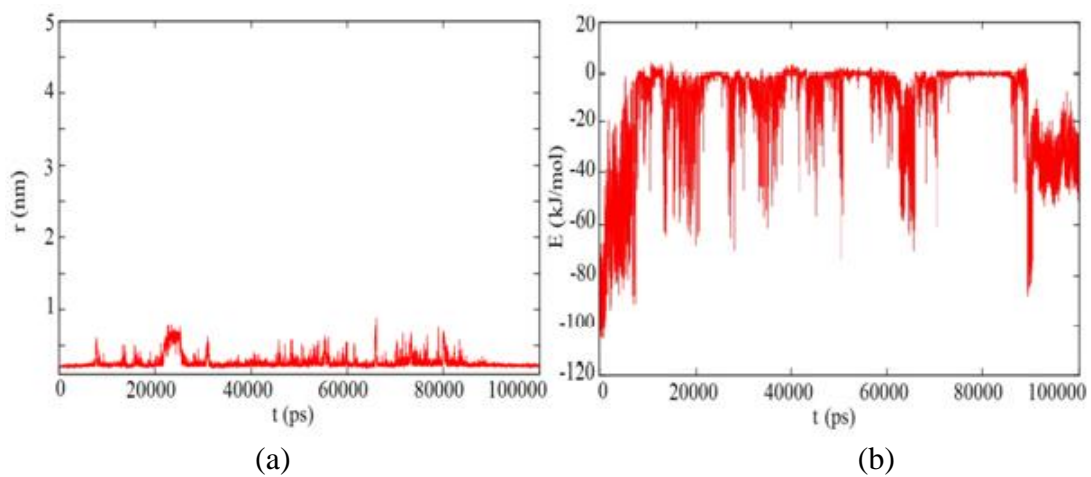


Figura 50: (a) Distância mínima entre IBU e DDA e (b) Interação eletrostática entre IBU e DDA.

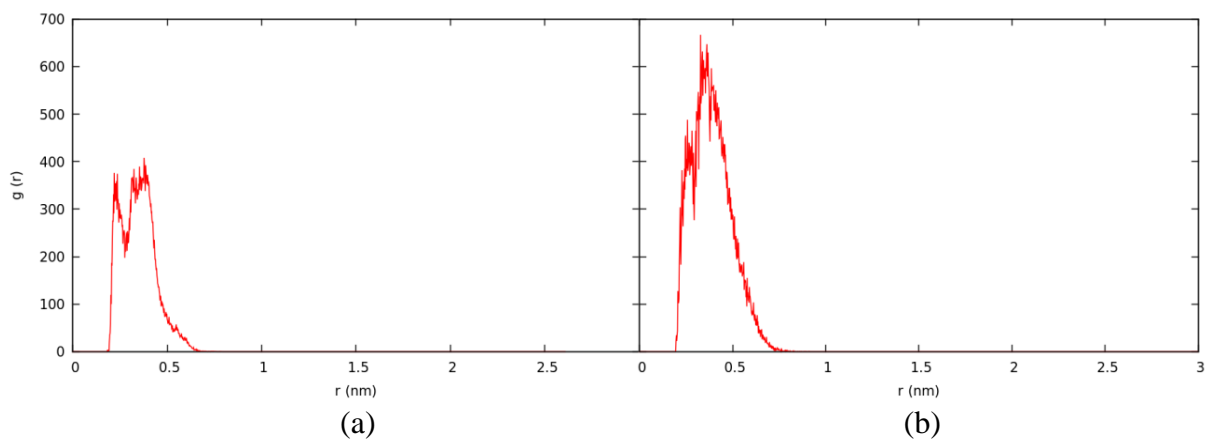


Figura 51: RDF entre grupo carboxilato e N1Dimetil (a) em CHCl_3 e (b) no interior da membrana.

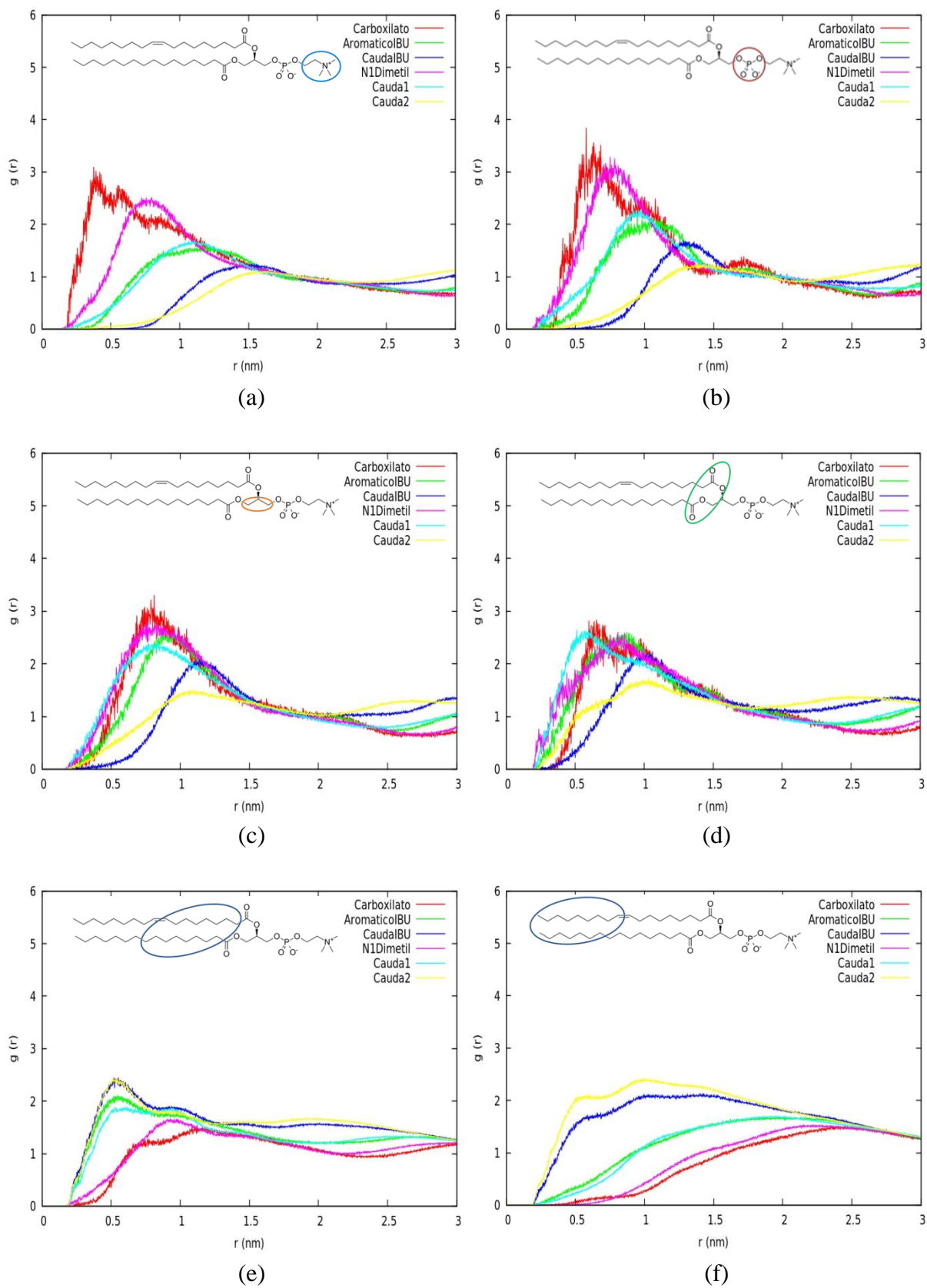


Figura 52: RDFs entre (a) G1, (b) G2, (c) G3, (d) G4, (e) G5 e (f) G6 da POPC com carboxilato, aromático, CaudalIBU, N1Dimetil, Cauda1 e Cauda2 do par iônico IBUDDA.

4.7.5. IBUBDDA

Tabela VIII: Sistemas montados para as RDFs entre os grupos da POPC e do par iônico IBUBDDA. O sistema contém 124 moléculas de POPC.

POPC	G1	G2	G3	G4	G5	G6
IBU⁻	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato	Carboxilato
	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático
	Cauda	Cauda	Cauda	Cauda	Cauda	Cauda
BDDA⁺	N2Dimetil	N2Dimetil	N2Dimetil	N2Dimetil	N2Dimetil	N2Dimetil
	Cauda1	Cauda1	Cauda1	Cauda1	Cauda1	Cauda1
	Cauda2	Cauda2	Cauda2	Cauda2	Cauda2	Cauda2
	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático	Aromático

O perfil de densidade para o sistema IBUBDDA (Figura 53) mostra o cátion com uma tendência mais ao centro da bicamada dentre todos os sistemas simulados. Já o ânion situa-se em região semelhante ao IBUDDA. Os máximos dos picos de ambos os íons situam-se na região polar da membrana. A Figura 55 (a), para distâncias mínimas, indica ligações transientes a partir de 20 ns de simulação com tendência ao afastamento a partir de 75 ns. A interação eletrostática, condizendo com o gráfico das distâncias mínimas, mostra pouca interação a partir de 20 ns (observam-se apenas alguns picos entre 60 e 70 ns). A RDF entre cátion e ânion no interior da bicamada exhibe um pico de baixa intensidade, com um máximo a uma distância aproximada de 2,3 nm (Figura 56 (b)).

As RDFs da Figura 57 (a) apresenta um pico significativo entre carboxilato e grupo colina (o maior dentre os 4 sistemas). O grupo aromáticoIBU exhibe distância semelhante ao carboxilato-colina, porém com menor intensidade. Há também razoável intensidade entre N2Dimetil e fosfato (Figura 57 (b)). No geral, neste sistema, as RDFs apresentam maiores intensidades em relação ao sistema ASPBDDA.

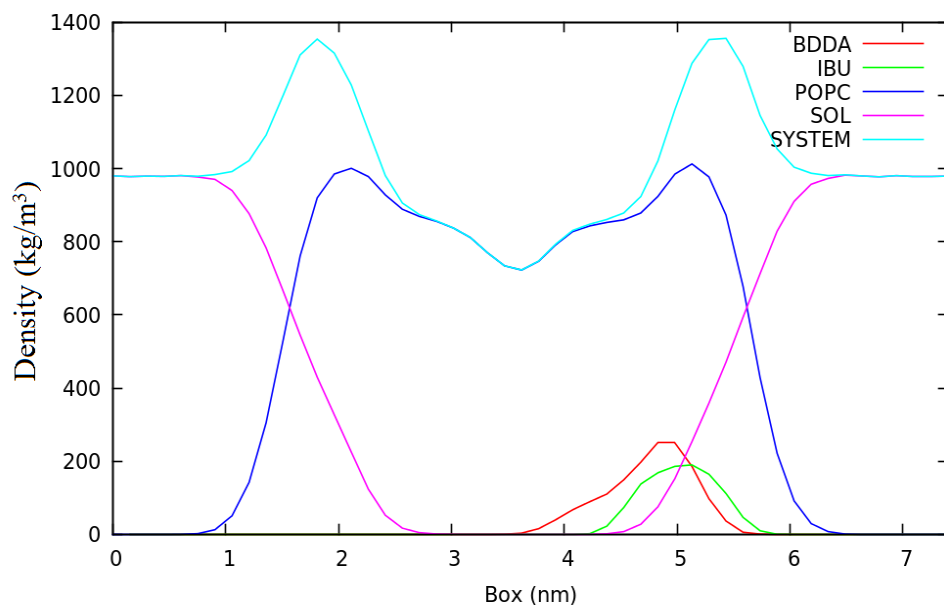


Figura 53: Perfil de densidade para o sistema POPC, IBU, BDDA e água.

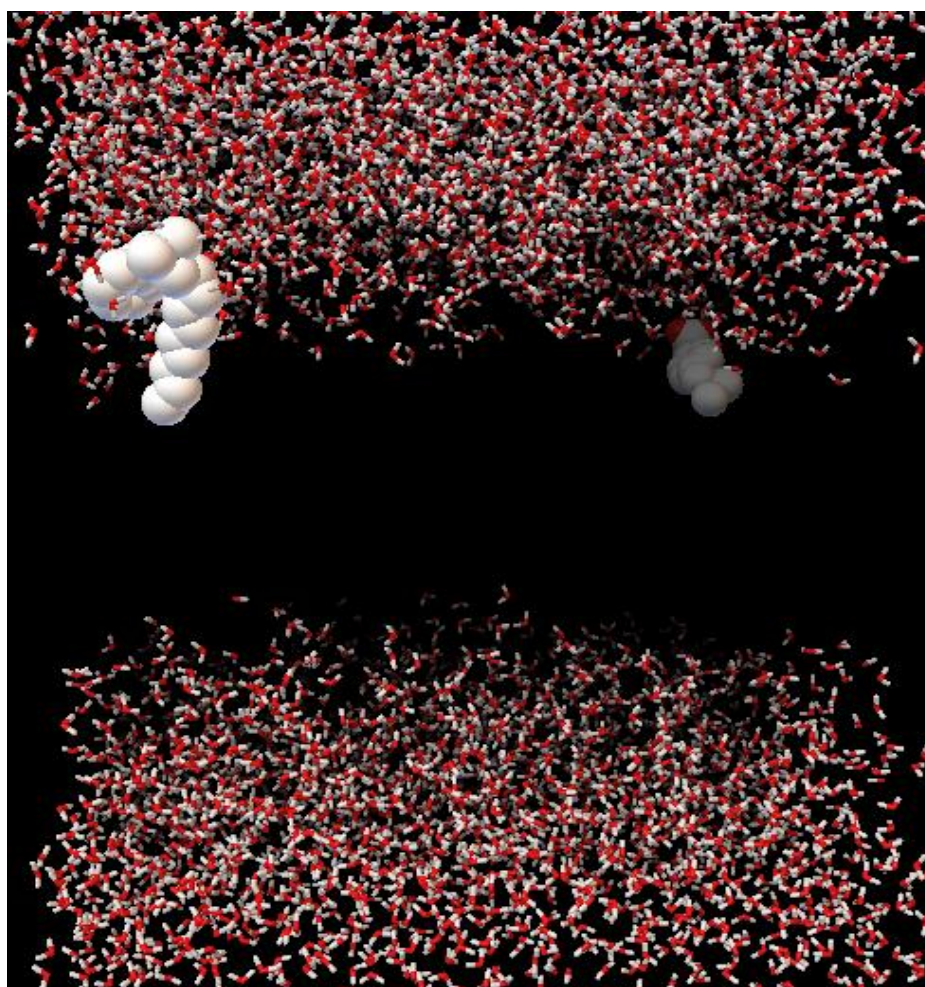


Figura 54: Instantâneo do sistema IBUBDDA ao final de 100 ns de simulação. À esquerda superior o cátion BDDA e à direita superior o ânion IBU. Os pontos vermelhos representam os oxigênios do sistema. As moléculas de POPC, localizadas entre as duas camadas de água (superior e inferior) assim como os hidrogênios dos íons foram suprimidos da imagem para melhor visualização.

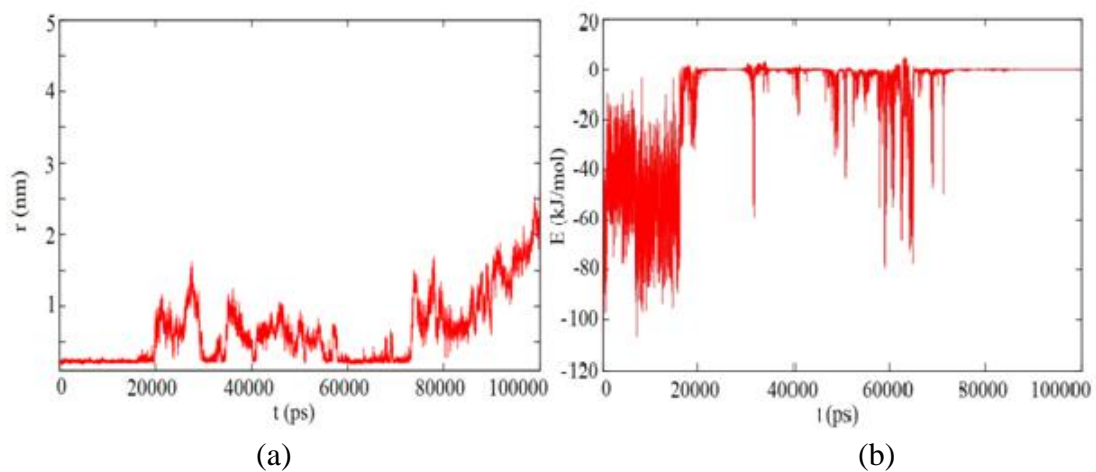


Figura 55: (a) Distância mínima entre IBU e BDDA e (b) Interação eletrostática entre IBU e BDDA.

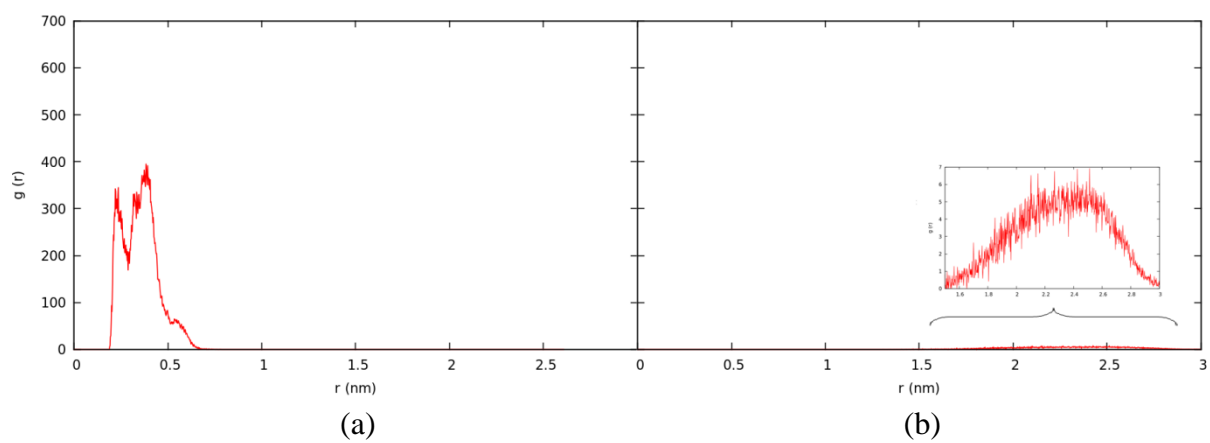


Figura 56: RDF entre grupo carboxilato e N2Dimetil (a) em CHCl_3 e (b) no interior da membrana.

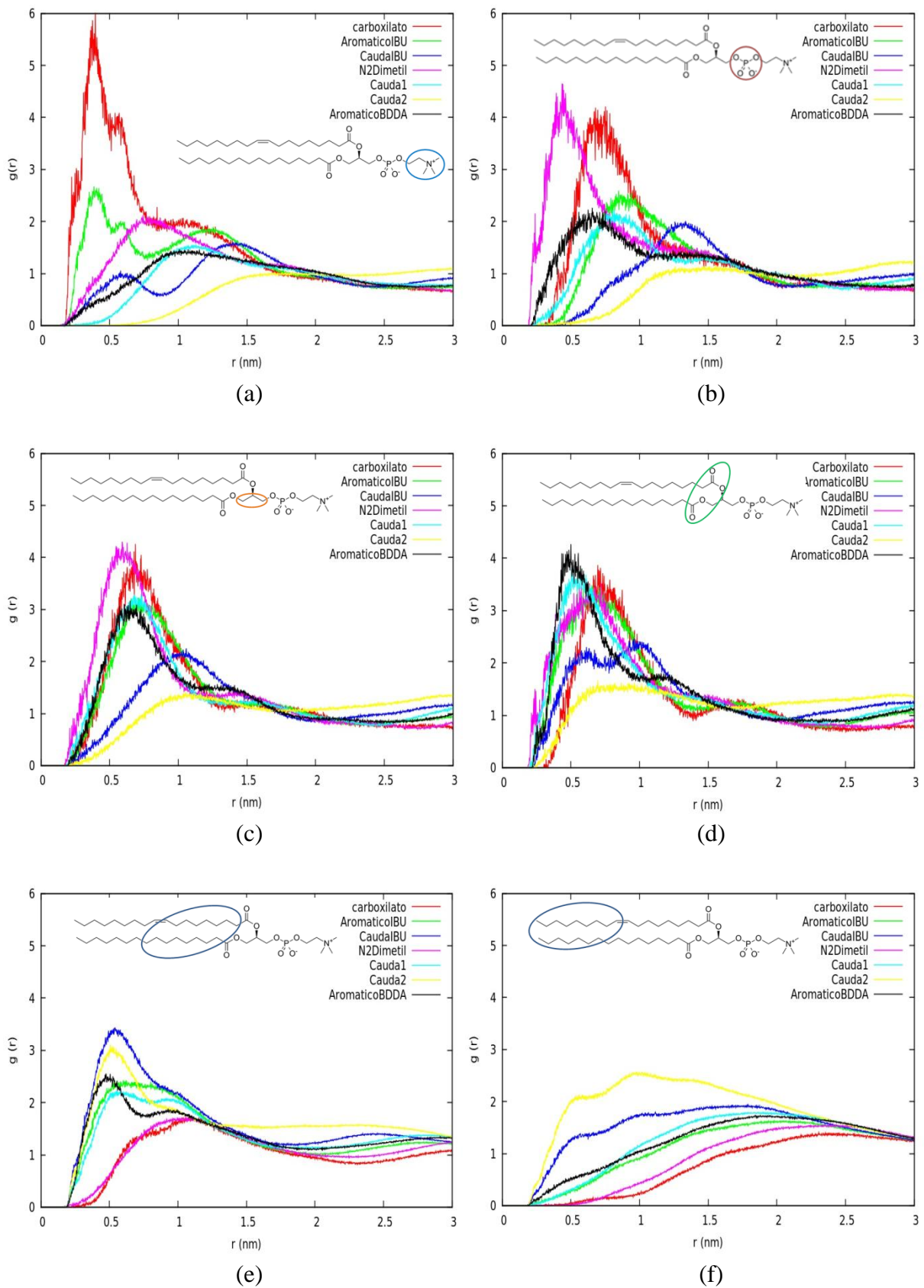


Figura 57: RDFs entre (a) G1, (b) G2, (c) G3, (d) G4, (e) G5 e (f) G6 da POPC com carboxilato, aromáticoIBU, CaudalIBU, N2Dimetil, Cauda1, Cauda2 e aromáticoBDDA do par iônico IBUBDDA.

5. Conclusões

Para se estabelecer relação entre as informações obtidas a partir das simulações realizadas, cabe analisar as intensidades das RDFs entre cátions e ânions dos LIs puros, mais especificamente entre grupos carboxilato e N_x Dimetil (onde $x=1$ para DDA e 2 para BDDA), pois as RDFs entre esses grupos mostraram-se mais significativas. Destacam-se ainda, as intensidades das RDFs entre os grupos carboxilato-colina e N_x Dimetil-fosfato, além das densidades dos LIs puros e cargas dos átomos distintos de cátions e ânions.

Observou-se uma relação inversa entre a intensidade da RDF carboxilato- N_x Dimetil versus intensidade carboxilato-colina indicando que há uma clara “preferência” eletrostática estabelecida pelo grupo carboxilato em cada sistema. Sistemas nos quais há maior intensidade para a interação carboxilato- N_x Dimetil (ASPDDA e IBUDDA) exibem baixa intensidade carboxilato-colina. O sistema em que ocorre a maior intensidade carboxilato- N_x Dimetil (IBUDDA) é o que apresenta menores intensidades nas RDFs com a membrana, o que pode justificar a manutenção do referido par iônico no interior da bicamada. Os valores das cargas não parecem ter relação direta com as intensidades das RDFs carboxilato- N_x Dimetil, pois os maiores valores das cargas (IBUBDDA) não condizem com o maior valor para RDF (IBUDDA). O sistema de LI puro mais denso (ASPBDDA) apresenta a RDF menos intensa entre carboxilato- N_x Dimetil. Além disso, esse sistema não contém as maiores cargas nos átomos, o que reforça a idéia de que a densidade depende principalmente da estrutura molecular.

Observou-se coerência entre os gráficos dos perfis de densidade, distâncias mínimas, interações eletrostáticas e RDFs entre cátion e ânion no interior da bicamada para todos os sistemas simulados. Tais dados, juntamente com as RDFs entre grupos dos íons e da membrana permitem um indicativo da localização e orientação dos íons no interior da bicamada. Além disso, foi possível prever o destino do par iônico versus bicamada, dentro do intervalo simulado. Ao final de 100 ns, dentre os quatro sistemas simulados, apenas 1 mantém o par unido (IBUDDA) e em um dos sistemas (ASPDDA) o ânion apresenta a tendência a sair da bicamada. Tal verificação é reforçada pela baixa intensidade apresentada na RDF entre carboxilato-colina. Nos outros sistemas (ASPBDDA e IBUBDDA) cátions e ânions permanecem no interior da bicamada, porém separados, ao final de 100 ns. De fato, nestes dois casos percebem-se interações entre carboxilato-colina para ambos os sistemas citados, e ainda N_x Dimetil-fosfato para IBUBDDA. Essas interações podem ser responsáveis pela separação do par iônico e também pela localização dos íons no interior da bicamada. No geral,

o grupo carboxilato dos ânions demonstrou proximidade e preferência pelo grupo colina da POPC, enquanto que o grupo contendo o nitrogênio do cátion aproxima-se preferencialmente do grupo fosfato da POPC. Os perfis de densidade mostram que o ânion acetilsalicilato tende a se situar mais às extremidades da membrana em relação ao ibuprofenato o que pode ter relação com as interações carboxilato-colina e NxDimetil-fosfato, devido às posições desses grupos na molécula POPC.

6. Perspectivas

A investigação de sistemas envolvendo solubilidade em água/lipídeo consiste uma etapa importante para definir o planejamento de fármacos compostos por pares iônicos bifuncionais. Tempos maiores de simulação dos sistemas par iônico + membrana podem concluir a saída ou não de alguma espécie do interior da bicamada, a entrada de água devido à presença dos íons e o efeito dos íons sobre a bicamada. Sistemas contendo um maior número de pares iônicos seriam mais conclusivos, por apresentarem maior relação com sistemas reais. Propriedades como ligações de hidrogênio íon-solvente e íon-membrana são válidos para determinar quais interações ditam os resultados observados neste estudo.

7. Referências Bibliográficas

- 1 Restolho, J.; Mata, J. L.; Saramago, B. *J. Chem. Phys.*; **2011**, 134, 7.
- 2 Stoimenovski, J.; Dean, P. M.; Ekaterina, I.; MacFarlane, D. R. *Faraday Discuss.*; **2012**, 154, 335.
- 3 Stoimenovski, J.; Macfarlane, D. R. *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 11429.
- 4 Hough, W. L. Functional ionic liquids for use in pharmaceutical applications. Tese de doutorado, University of Alabama, **2010**.
- 5 Rodríguez, S. B.; Price, C. P.; Jayasankar, A.; Matzger, A. J.; Rodríguez, H. N. *R. Advanced Drug Delivery Reviews*, **2004**, 56, 241.
- 6 Chadha, R.; Arora, P.; Saini, A.; Jain, D. S. *AAPS PharmSciTech*. **2010**, 11, 1328.
- 7 Byrn, S. S. R.; Pfeiffer, R. R.; Stowell, J. G. *Solid-State Chemistry of Drugs*, 2nd ed.; West Lafayette, **1999**.
- 8 *Guidance for Industry: Pharmaceutical Solid Polymorphism*. U.S. Department of Health and Human Services, 2007.
- 9 Hough, W. L.; Smiglak, M.; Rodríguez, H.; Swatloski, R. P.; Spear, S.K.; Daly, D. T.; Pernak, J.; Grisel, J. E.; Carliss, R. D.; Soutullo, M. D.; Davis Jr., J. H.; Rogers, R. D. *New Journal of Chemistry*, **2007**, 31, 1429.
- 10 Ferraz, R.; Branco, L. C.; Prudêncio, C.; Noronha, J. P.; Petrovski, Z. *ChemMedChem*, **2011**, 0000, 1-12.
- 11 Stoimenovski, J.; MacFarlane, D. R.; Bica, K.; Rogers, R. D.; *Pharm. Res.*, **2010**, 27, 521.
- 12 Walden, P.; *Bulletin of the Russian Academy of Sciences* **1914**, 405.
- 13 Hurley, F. U. S. Patent 2, 446-331, 1948.
- 14 Hurley, F.; Wier Jr., T. P.; *J. Electrochem. Soc.* **1951**, 98, 207.
- 15 Chum, H. L. ; Koch, V. R.; Miller, L. L.; Osteryoung, R. A.; *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 3264.
- 16 Robinson, J.; Osteryoung, R. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 323.
- 17 Carpio, R. A.; King, L. A.; Lindstrom, R. E; Nardi, J. C; Hussey, C. L.; *J. Electrochem. Soc.* **1979**, 126, 1644.
- 18 Scheffler, T. B.; Hussey, C. L. *Inorg. Chem.* **1984**, 23, 1926.

- 19 Scheffler, T. B.; Hussey, C. L.; Seddon, K. R.; Kear, C. M.; Armitage, P. D. *Inorg. Chem.* **1983**, *22*, 2099.
- 20 Wilkes, J. S.; Levisky, J. A.; Wilson, R. A.; Hussey, C. L.; *Inorg. Chem.*, **1982**, *21*, 1263.
- 21 Chauvin, Y.; Gilbert, B.; Guibard, I. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1990**, 1715.
- 22 Carlin, R. T.; Osteryoung, R. A. *J. Mol. Cat.* **1990**, *63*, 125.
- 23 Welton, T. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2071.
- 24 Chauvin, Y.; Olivier-Bourbigou, H. *Chemtech*, **1995**, *25*, 26.
- 25 Wasserscheid, P.; Keim, W. *Angew. Chem. Int.* **2000**, *39*, 3772.
- 26 Consorti, C. S.; de Souza, R. F.; Dupont, J.; Suarez, P. A. Z. *Quím. Nova*, **2001**, *24*, 830.
- 27 Wilkes, J. S.; Zaworotko, M. J. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1992**, *13*, 965.
- 28 Fuller, J.; Carlin, R. T.; DeLong, H. C.; Haworth, D.; *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1994**, 299.
- 29 Suarez, P. A. Z.; Einloft, S.; Dullius, J. E. L.; de Souza, R. F.; Dupont, J. *J. Chim Phys.* **1998**, *95*, 1626.
- 30 Hussey, C. L. *Advances in Molten Salt Chemistry* Elsevier: Amsterdam, **1983**; pp 185-230.
- 31 Earle, M. J.; Esperança, J. M. S. S.; Gilea, M. A.; Canongia Lopes, J. N.; Rebelo, L. P. N.; Magee, J. W.; Seddon, K. R.; Widegren, J. A. *Nature*, **2006**, *439*, 831.
- 32 Davis Jr, J. H. *Chem. Lett.*, **2004**, *33*, 1072.
- 33 Davis JR, J. H.; Forrester, K. J. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, *40*, 1621.
- 34 Marrucho, I. M.; Branco, L. C.; Rebelo, L. P. N.; *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.*, **2014**, *46*, 527.
- 35 Kumar, V.; Malhotra, S. V.; *Am. Chem. Soc.*, **2010**, *1*.
- 36 Singer, S. J.; Nicolson, G. L. The Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes. *Science* [Online] **1972**, *175*, 720-731.
<http://www.jstor.org/stable/1733071> (Acessado em 04 de Agosto de 2014).
- 37 Heller, H.; Schaefer, M.; Schulten, K. *J. Phys. Chem.*, **1993**, *97*, 8343.
- 38 Johansson, J.; Curstedt, T.; *Eur. J. Biochem.*, **1997**, *244*, 675.

- 39 Lüllmann, H.; Mohr, K.; Ziegler, A.; Bieger, D. *Color Atlas of Pharmacology*, 2nd ed.; Stuttgart, New York, 2000.
- 40 Benet, L. Z.; Kroetz, D. L.; Sheiner, L. B. Farmacocinética: Dinámica de la absorción, distribución y eliminación de los fármacos. In *Las Bases Farmacológicas de La Terapéutica*; Goodman e Gilman, Ed.; 7^a ed.; Buenos Aires, 1987, pp 1-3.
- 41 Kummer, C. L.; Coelho, T. C. R. B. *Rev. Bras. Anesthesiol.*, **2002**, 52, 498.
- 42 Martinez, L.; Borin, I. A.; Skaf, M. S. Fundamentos de Simulação por Dinâmica Molecular. In *Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular*; Morgon, N. H; Coutinho, K., Ed.; Livraria da Física, São Paulo, 2007; pp 413-452.
- 43 Namba, A. M.; da Silva, V. B.; da Silva, C. H. T. P. *Eclética Quim.*, **2008**, 33, 13.
- 44 de Andrade, J. Líquidos Iônicos: Desenvolvimento de Campo de Força e Estudo das Propriedades Físicas e Estruturais. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
- 45 Case, D. A. Pearlman, D. A.; Caldwell, J. W.; Cheatham, T. E.; Ross, W. S.; Simmerling, C. L.; Darden, R. A.; Merz, K. M.; Stanton, R. V.; Cheng, A. L.; Vincent, J. J.; Crowley, M.; Tsui, V.; Radmer, R. J.; Duan, Y.; Pitera, J.; Massova, I.; Seibel, G. L.; Singh, U. C.; Weiner, P. K.; Kollman, P. A.; AMBER6. University of California: San Francisco, CA 1999.
- 46 de Andrade, J.; Boes, E. S.; Stassen, H. *J. Phys. Chem. B*, **2008**, 112, 8966.
- 47 Bayly, C. I.; Cieplak, P.; Cornell, W.; Kollman, P. A. *J. Phys. Chem.*, **1993**, 97, 10269.
- 48 Momany, F. A. *J. Phys. Chem.*, **1978**, 82, 592.
- 49 Cox, S. R.; Williams, D. E. *J. Comput. Chem.*, **1981**, 2, 304.
- 50 Cornell, W. D.; Cieplak, P.; Bayly, C. I.; Kollman, P. A.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 9620.
- 51 Breneman, C. M.; B., W. K. *J. Comp. Chem.*, **1990**, 11, 361.
- 52 Huang, K. *Statistical Mechanics*, 2nd ed.; John Wiley: New York, 1990.
- 53 Berendsen, H. J. C.; Postma, J. P. M.; van Gunsteren, W. F.; DiNola, A.; Haak, J. R.; *J. Chem. Phys.*, **1984**, 81, 3684.
- 54 Nosé, S. *Mol. Phys.*, **1984**, 52, 255.
- 55 Andersen, H. C.; *J. Chem. Phys.*, **1980**, 72, 2384.
- 56 Martyna, G. J.; Klein, M. L.; Tuckerman, M. E.; *J. Chem. Phys.*, **1992**, 97, 2635.

- 57 Rahman, P. M.; *J. Appl. Phys.*, 1981, 52, 7182.
- 58 Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, M. J.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
- 59 Lindorff-Larsen, K.; Piana, S.; Palmo, K.; Maragakis, P.; Klepeis, J. L.; Dror, R. O.; Shaw D. E.; *Proteins*, **2010**, 78, 1950.
- 60 Wang, J.; Wolf, R.M.; Caldwell, J.W.; Kollman, P. A.; Case, D. A.; *J. Comput. Chem.*, **2004**, 25, 1157.
- 61 Arfken, G.; *Mathematical Methods for Physicists*. Orlando: Academic Press 1985.
- 62 van der Spoel, D.; Lindahl, E.; Hess, B.; van Buuren, A. R.; Apol, E.; Meulenhoff, P. J.; Tieleman, D. P.; Sijbers, A. L. T. M.; Feenstra, K. A.; van Drunen, R.; Berendsen, H. J. C. GROMACS (*Groningen Machine for Chemical Simulations*); <http://www.gromacs.org/>.
- 63 Verlet, L. *Phys. Rev.*, **1967**, 159, 98.
- 64 van Gusteren, W. F.; Berendsen, H. J. C.; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1990**, 29, 992.
- 65 Essmann, U.; Perera, L.; Berkowitz, M. L.; *J. Chem. Phys.*, **1995**, 103, 8577.
- 66 Caleman, C.; van Maaren, P. J.; Hong, M.; Hub, J. S.; Costa, L. T.; van der Spoel, D.; *J. Chem. Theor. Comput.*, **2012**, 8, 61.
- 67 van der Spoel, D.; Maaren, P. J. V.; Caleman, C.; *Bioinformatics*, **2012**, 28, 752.
- 68 <http://virtualchemistry.org>
- 69 Jorgensen, W. L.; Madura, J. D.; *J. Am. Chem. Soc.* , **1983**, 105, 1407.
- 70 Petong, P.; Pottel, R.; Kaatze, U.; *J. Phys. Chem.*, **2000**, 104, 7420.
- 71 Lide, D. R., Ed. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*; Cleveland, Ohio 2009.
- 72 Coutinho, K. Modelo Discreto de Solvente. Solvatocromismo no Espectro de Absorção Molecular. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Instituto de

- Física, 1997.
- 73 Boggara, M. B.; Krishnamoorti, R.; *Biophys. J.*, **2010**, 98, 586.
- 74 Fanin Jr., A. A.; Floreani, D. A.; King, L. A.; Landers, J. S.; Piersma, B. J.; Stech, D. J.; Vaughn, R. L.; Wilkes, J. S. *J. Phys. Chem.*, **1984**, 88, 2614.
- 75 GROMACS User Manual; pp 248; <http://www.gromacs.org/> (acessado em 24 de fev. 2015).
- 76 Jämbeck, J. P. M.; Lyubertsev, A. P. *J. Phys. Chem. B*, **2012**, 116, 3164.
- 77 Klauda, J. B.; Venable, R. M. J.; Freites, A.; O'Connor, J. W.; Tobias, D. J.; Ramirez, C. M.; Vorobyov, I.; MacKerell Jr, A.D.; Pastor, R.W. *J. Phys. Chem. B*, **2010**, 114, 7830.
- 78 Domański, J.; Stansfeld, P.; Sansom, M. S. P.; Beckstein, O.; *J. Membrane Biol.*, **2010**, 236, 255. <http://lipidbook.bioch.ox.ac.uk>
- 79 Zhao, W.; Róg, T.; Gurtovenko, A. A.; Vattulainen, I.; Karttunen, M.; *Biophys. J.*, **2007**, 92, 1114.
- 80 Prates, E. T. Dinâmica Molecular de Articaína em Membranas POPC. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, 2009.
- 81 Patra, M.; Salonen, E.; Terama, E.; Vattulainen, I.; Faller, R.; Lee, B. W.; Holopainen, J.; Karttunen, M. *Biophys. J.*, **2006**, 90, 1121.
- 82 Pabst, G.; Rappolt, M.; Amenitsch, H.; Bernstorff, S.; Laggner, P.; *Langmuir*, **2000**, 16, 8994.
- 83 Poger, D.; Mark, A. E. *J. Chem. Theory Comput.*, **2010**, 6, 325.
- 84 Pabst, G.; Rappolt, M.; Amenitsch, H.; Laggner, P. *Phys. Rev. E: Stat. Phys., Plasmas, Fluids, Relat. Interdiscip. Top.*, **2000**, 62, 4000.
- 85 Kucerka, N.; Tristram-Nagle, S.; Nagle, J. F.; *J. Membr. Biol.*, **2005**, 208, 193.
- 86 Chiu, S.W.; Pandit, S. A.; Scott, H. L.; Jakobsson, E. *Phys. Chem. B*, **2009**, 113, 2748.
- 87 Jójárt, B.; Martinek, T. A. *J. Comput. Chem.*, **2007**, 28, 2051.
- 88 Elmore, D. E. *FEBS Lett.*, **2006**, 580, 144.
- 89 Vogel, M.; Münster, C.; Fenzl, W.; Salditt, T. *Phys. Rev. Lett.*, **2000**, 84, 390.
- 90 Gullingsrud, J.; Schulten, K. *Biophys. J.*, **2004**, 86, 3496.
- 91 Jurkiewicz, P.; Cwiklik, L.; Vojtíšková, A.; Jungwirth, P.; Hof, M. *Biochim. Biophys. Acta*, **2012**, 609.

- ⁹² Gurtovenko, A. A.; Vattulainen, I. *J. Phys. Chem. B*, **2008**, 112, 1953.
- ⁹³ Oostenbrink, C.; Villa, A.; Mark, A.E.; van Gunsteren, W. F.; *J. Comput. Chem.*, **2004**, 25, 1656.
- ⁹⁴ Jaksch, S.; Lipfert, F.; Koutsioubas, A.; Mattauch, S.; Holderer, O.; Ivanova, O.; Frielinghaus, H.; Hertrich, S.; Fischer, S. F.; Nickel, B. *Phys. Rev. E*, **2015**, 91, 022716.