



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA-UFU
INSTITUTO DE QUÍMICA
LABMMOL

João Pedro Pratavieira Garcia

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE LÍQUIDOS IÔNICOS
BIOCOMPATÍVEIS E DNA POR MEIO DA DINÂMICA
MOLECULAR**

Uberlândia – MG

Setembro 2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA-UFU
INSTITUTO DE QUÍMICA
LABMMOL

João Pedro Pratavieira Garcia

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito do Curso de Química
Industrial da Universidade Federal de
Uberlândia, para a obtenção do grau de
Bacharelado em Química.

Área de concentração: Físico-química

Orientação: Prof. Dr. Moacyr Comar Junior

Uberlândia, Minas Gerais, 24 de setembro de 2025

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Moacyr Comar Junior

(Orientador)

Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca

(Examinador)

MsC William Oliveira Soté

(Examinador)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Curso de Graduação em Química Industrial
Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 1A, Sala 1A233 - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: (34) 3239-4103 - coqin@iqufu.ufu.br



ATA DE DEFESA - GRADUAÇÃO

Curso de Graduação em:	Química Industrial			
Defesa de:	Trabalho de Conclusão de Curso - GQB056			
Data:	24/09/2025	Hora de início:	15:00	Hora de encerramento:
Matrícula do Discente:	11911QID050			
Nome do Discente:	João Pedro Pratavieira Garcia			
Título do Trabalho:	Simulação computacional de líquidos iônicos biocompatíveis e DNA por meio da dinâmica molecular			
A carga horária curricular foi cumprida integralmente?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			

Reuniu-se em formato remoto por meio da plataforma Google Meet, a Banca Examinadora, designada pelo Coordenador do Curso de Graduação em Química Industrial, assim composta: Prof. Dr. Moacyr Comar Junior - **Orientador**; Prof. Dr. Eduardo Faria Franca - Titular; Doutorando William Oliveira Soté - Titular e Prof. Dr. Osmando Ferreira Lopes - Suplente.

Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa, Dr. Moacyr Comar Junior, apresentou a Comissão Examinadora e o(a) candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao(à) discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(a) discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do curso.

A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(as) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

(X) Aprovado(a) Nota: 85 pontos
() Reprovado(a)

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo de Faria Franca, Professor(a) do Magistério Superior**, em 29/09/2025, às 10:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **William Oliveira Soté, Usuário Externo**, em 29/09/2025, às 15:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Moacyr Comar Junior, Professor(a) do Magistério Superior**, em 29/09/2025, às 15:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6692979** e o código CRC **1477CD4C**.

Referência: Processo nº 23117.065493/2025-88

SEI nº 6692979

Dedico este trabalho a pessoa mais preciosa para mim,
minha mãe, por todo o esforço e o amor proporcionado.

A GRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha mãe, Andreia, por todo os esforços gastos ao longo de todos esses anos, todo o carinho, todo amor e toda companhia, sou eternamente grato. Obrigado por apoiar meus sonhos e por sempre estar comigo, tanto em pensamento quanto em vida.

Agradeço ao meu pai por todo apoio e incentivo durante esta caminhada acadêmica. Sua dedicação, ensinamentos e paciência foram fundamentais para minha formação. Este trabalho também é fruto da sua confiança em mim.

Agradeço ao Silvio, por estar presente em momentos importantes da minha vida, me mostrar como o mundo realmente é, e ser uma fonte de inspiração durante toda a minha criação.

Agradeço aos meus irmãos, Victor e Miguel, por ser muitas vezes o pilar que sustentava os meus sentimentos por serem amigos, colegas e principalmente irmãos.

Agradeço ao meu melhor amigo Felipe Partel, sempre me ouvindo, caminhando junto comigo, sendo companheiro e acima de tudo um outro irmão para mim. Anos de amizade e me lembro de todos eles, sou eternamente grato pelas nossas conversas e pelos ensinamentos.

Agradeço ao meu orientador Moacyr Comar, por acreditar em mim, me incentivar a aprender coisas novas, me fazendo amadurecer como pessoa e como um procurador do conhecimento, suas lições e palavras estão marcadas em minha memória pela grande pessoa e grande cientista que é.

Agradeço ao William, por me acolher, por me ensinar, por me guiar, nunca mediou palavras para ser gentil em me fazer ser uma pessoa melhor. Você é uma grande motivação e tornou meu dia no laboratório sempre melhor, tanto em me fazer pensar durante as nossas reuniões quanto me auxiliar e me receber desde o início, você é uma inspiração de pesquisador para mim.

Agradeço a todos meus colegas de faculdade pelo tempo e pelos aprendizados especialmente, Duda, Geovana, Arthur, por fazerem parte dessa jornada, pelas brincadeiras, pelas conversas e principalmente pelos momentos.

Um agradecimento aos órgãos de fomento FAPEMIG, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro para o desenvolvimento da minha pesquisa durante a graduação.

“A emoção mais antiga e mais forte da humanidade é o medo, e o medo mais antigo e mais forte é o medo do desconhecido.” Klein Moretti (*Lord of the Mysteries*, Volume 1)

RESUMO

Neste trabalho, investigou-se o efeito do líquido iônico biocompatível colínio-aspartato sobre a estabilidade estrutural de uma fita de DNA em diferentes condições de temperatura, utilizando simulações de dinâmica molecular com o pacote GROMACS. Para isso, foram analisados parâmetros estruturais e interativos, incluindo o desvio quadrático médio (RMSD), o raio de giro (R_g), o número de ligações de hidrogênio e as distâncias máximas e mínimas entre pares de resíduos da biomolécula. Os resultados mostraram que, em temperaturas moderadas (298K e 370K), a presença do líquido iônico não comprometeu a integridade da dupla hélice, mantendo interações essenciais como as ligações de Watson-Crick. Entretanto, em condições extremas (470K), observaram-se maiores flutuações conformacionais, redução na persistência de ligações de hidrogênio e variação significativa nas distâncias entre resíduos, indicando aumento da flexibilidade estrutural. Esses achados sugerem que o líquido iônico colínio-aspartato atua de forma dual: preserva a estabilidade do DNA em condições brandas, mas em temperaturas elevadas modula sua resposta conformacional, favorecendo rearranjos locais. Os resultados contribuem para a compreensão do papel de líquidos iônicos derivados de biomoléculas em sistemas biológicos, destacando seu potencial em aplicações biotecnológicas e no armazenamento de material genético.

Palavras-chave: Dinâmica molecular, DNA, Líquidos iônicos, Colínio-aspartato, Estabilidade estrutural

ABSTRACT

In this work, the effect of the biocompatible ionic liquid choline aspartate on the structural stability of a DNA strand under different temperature conditions was investigated using molecular dynamics simulations with the GROMACS package. Structural and interactive parameters were analyzed, including the root mean square deviation (RMSD), radius of gyration (R_g), number of hydrogen bonds, and the maximum and minimum distances between DNA residue pairs. The results showed that, at moderate temperatures (298K and 370K), the presence of the ionic liquid did not compromise the integrity of the double helix, preserving essential interactions such as Watson-Crick hydrogen bonds. However, under extreme conditions (470K), greater conformational fluctuations, reduced persistence of hydrogen bonds, and significant variations in residue distances were observed, indicating increased structural flexibility. These findings suggest that choline aspartate acts in a dual manner: it preserves DNA stability under mild conditions, but at elevated temperatures it modulates its conformational response, favoring local rearrangements. The results contribute to a better understanding of the role of biomolecule-derived ionic liquids in biological systems, highlighting their potential in biotechnological applications and genetic material storage.

Keywords: Molecular dynamics, DNA, Ionic liquids, Choline aspartate, Structural stability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Representação tridimensional dos íons colínio (a) e aspartato (b).	7
Figura 4.1. Etapas, objetivos e <i>software servers</i> utilizados no trabalho.	15
Figura 4.1.1. Fórmula estrutural do colínio (a) e aspartato (b).	16
Figura 5.1.1. RMSD do sistema DNA/[Ch][Asp] em 298K, 370K e 470K.	20
Figura 5.1.2. RMSD do sistema DNA/água em 298K, 370K e 470K.	21
Figura 5.2.1. Raio de giro (R_g) do sistema DNA/ChILs em 298K, 370K e 470K.	23
Figura 5.2.2. Raio de giro (R_g) do sistema DNA/água em 298K, 370K e 470K.	24
Figura 5.3.1. Ligações de hidrogênio do sistema DNA/ChILs em 298K, 370K e 470K.	26
Figura 5.3.2. Ligações de hidrogênio do sistema DNA/ChILs em 298K, 370K e 470K.	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Classificação, tipos e ajustes estruturais de ILs.	5
Tabela 5.4.1. Distância máxima entre os pares de resíduos do DNA.	
.....	29
Tabela 5.4.2. Distância mínima entre os pares de resíduos do DNA.	
.....	29

LISTA DE ABREVIACÕES

AIL	Líquidos iônicos apróticos
Bio-ILs	Líquidos iônicos biocompatíveis
[Bmim][BF₄]	Tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazolio
[Bmim][BF₆]	Hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio
ChILs	Líquidos iônicos à base de colínio
[Ch][Asp]	Colínio-aspartato
[Ch][Glu]	Colínio-glutamato
C_n	Coeficiente de rotação de ligação (kJ mol ⁻¹)
DM	Dinâmica Molecular
f_{ij}	Fator de escalonamento
F_i	Força (N)
ILs	Líquidos iônicos
k_B	Constante de Boltzmann (J K ⁻¹)
Kr	Constante elástica de estiramento (kJ mol ⁻¹ Å ⁻²)
K_θ	Constante elástica de flexão angular (kJ mol ⁻¹ rad ⁻²)
m_n	Massa da partícula (Da)
N_A	Número de partículas A
$p(v_i)$	Probabilidade
p_i	Momento linear (kg Å ps ⁻¹)
PIL	Líquidos iônicos próticos
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
q_n	Carga parcial atômica (e)
r_{ij}	Distância de ligação entre i e j (Å)
r_i	Distância (Å)
R_g	Raio de giro
RMSD	Desvio Quadrático Médio
T	Temperatura (K)
t	Tempo (ps)
TIP3P	Transferable intermolecular potential with 3 points
v_n	Velocidade da partícula (Å ps ⁻¹)
ϵ_0	Permissividade no vácuo (F m ⁻¹)
ϵ_{ij}	Poço de energia potencial entre i e j (kJ mol ⁻¹)
ϵ_r	Permissividade relativa (F m ⁻¹)
θ_{ijk}	Ângulo de flexão entre i, j e k (rad)
σ_n	Raio de van der Waals (Å)
ϕ	Ângulo de rotação de ligação (rad)

SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
2. Objetivos	8
3. Fundamentação teórica	9
3.1 Dinâmica Molecular clássica.....	9
3.2 Desvio quadrático médio (RMSD).....	11
3.3 Raio de giro (R_g).....	12
3.4 Ligações de Hidrogênio.....	12
4. Metodologia.....	14
4.1 Etapa 1 – Parametrização.....	15
4.2 Etapa 2 – Modelagem.....	16
4.3 Etapa 3 – Amostragem.....	17
4.4 Etapa 4 – Análises.....	19
5. Resultados e discussão.....	20
5.1 Desvio quadrático médio (RMSD).....	20
5.2 Raio de giro (R_g).....	22
5.3 Ligações de Hidrogênio.....	25
5.4 Distâncias máximas e mínimas entre resíduos do DNA.....	28
6. Conclusão.....	31
Referências bibliográficas.....	32

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os líquidos iônicos (ILs) têm despertado grande interesse na comunidade científica como alternativas promissoras frente a solventes orgânicos convencionais e até mesmo à água. Isso se deve às suas propriedades físico-químicas vantajosas, como baixa toxicidade, pressão de vapor praticamente nula, alta estabilidade térmica e química, além de elevada condutividade elétrica (HE et al., 2006; HUDDLESTON et al., 2001; WELTON, 1999). Graças a essas características, os líquidos iônicos têm sido aplicados em diversas áreas da química e engenharia, incluindo síntese orgânica (ZHOU; ANTONIETTI, 2003), catálise (OLIVIER et al., 2010; WASSERSCHEID; KEIM, 2000), processos de separação (ANDERSON et al., 2002; BLANCHARD; BRENNCKE, 2000), eletroquímica (FUKUMOTO; YOSHIZAWA; OHNO, 2005; (LEONE et al., 2000) e adsorção de gases (SISTLA; KHANNA, 2014), demonstrando sua versatilidade como meio reacional e funcional.

Os líquidos iônicos (ILs) são compostos formados exclusivamente por íons e, em geral, apresentam cátions orgânicos assimétricos contendo nitrogênio ou fósforo em sua estrutura (TRUJILLO-RODRÍGUEZ et al., 2019). O primeiro líquido iônico descrito na literatura foi o nitrato de etilamônio, reportado por Paul Walden em 1914 (MORTON; HAMER, 2017). Duas décadas após essa descoberta, em 1934, foi registrada a primeira patente envolvendo ILs, a qual relatava sua utilização na dissolução de celulose com um sal à base de amônio. Esse marco representou um avanço significativo para a época, contribuindo para o aumento do interesse científico na área (PLECHKOVA; SEDDON, 2008). Assim, esses estudos apresentam uma visão abrangente sobre a evolução histórica dos líquidos iônicos, desde suas primeiras aplicações até sua consolidação no cenário industrial contemporâneo, incluindo o surgimento de grandes fornecedores comerciais de ILs.

A baixa citotoxicidade e a capacidade de biodegradação observadas em muitos ILs fazem deles excelentes candidatos para aplicações que envolvem biomoléculas. Diversos estudos, tanto experimentais quanto teóricos, relatam que os ILs podem afetar diretamente propriedades importantes como a estabilidade, a atividade e o

comportamento estrutural de moléculas biológicas, incluindo DNA, proteínas e enzimas (PILLAI et al., 2018; RESLAN et al., 2018; HAQUE et al., 2017). Essas características tornam os ILs compostos altamente versáteis, com potencial de aplicação em áreas como a saúde no desenvolvimento de fármacos e sistemas de liberação controlada até pesquisas computacionais, como simulações de dinâmica molecular voltadas ao entendimento de interações intermoleculares e propriedades físico-químicas de sistemas biológicos.

Além disso, os líquidos iônicos podem ser classificados em diferentes tipos conforme a sua composição iônica e propriedades, tais como líquidos iônicos próticos, apróticos e derivados de biomoléculas (Tabela 1). Os líquidos iônicos próticos (PILs) resultam da transferência de prótons entre ácidos e bases, apresentando síntese simples e boa condutividade protônica (SKARPALEZOS et al., 2021). Já os líquidos iônicos apróticos (AILS) são formados por cátions orgânicos volumosos e ânions estáveis, com baixa volatilidade e ampla janela eletroquímica, garantindo alta estabilidade físico-química (M. S. S. ESPERANÇA et al., 2009).

Por fim, os líquidos iônicos derivados de biomoléculas (Bio-ILs) obtidos a partir de colina, aminoácidos, açúcares ou ácidos graxos oferecem maior biocompatibilidade e biodegradabilidade, sendo promissores para aplicações em sistemas biológicos (DHATTARWAL; KASHYAP, 2023) (GOUVEIA et al., 2014). As propriedades dos ILs podem ser ajustadas por modificações estruturais no cátion como variação do núcleo, comprimento e ramificação das cadeias alquílicas ou inserção de grupos funcionais e na escolha do ânion, que pode ser orgânico ou inorgânico, com diferentes polaridades e estabilidade térmica.

Dessa forma, a combinação estratégica de cátions e ânions, ou até a mistura de líquidos iônicos distintos, permite o desenvolvimento de materiais sob medida para diversas aplicações, desde processos catalíticos e separações até biotecnologia (WELTON, 2018) (KAUR; KUMAR; SINGLA, 2022). Para entender melhor as diferentes características e aplicações dos líquidos iônicos, é importante analisar como suas estruturas químicas influenciam suas propriedades físico-químicas e seu desempenho em processos industriais e biotecnológicos. Enquanto líquidos iônicos derivados de biomoléculas apresentam maior biocompatibilidade e biodegradabilidade, muitos líquidos iônicos tradicionais,

especialmente os apróticos com cátions volumosos e ânions sintéticos, podem apresentar toxicidade e baixa biodegradabilidade, o que limita seu uso em sistemas biológicos e ambientais sensíveis. Essa distinção reforça a importância do desenvolvimento racional de líquidos iônicos adaptados às necessidades específicas, equilibrando eficiência tecnológica com aspectos ambientais e de segurança.

Tabela 1.1. Classificação, tipos e ajustes estruturais de ILs.

Tipo de Líquido Iônico	Origem/Estrutura	Exemplos	Possíveis Ajustes Estruturais
Prótico (PIL)	Transferência de prótons entre ácido e base de Brønsted–Lowry	Etilamônio nitrato; sais de amônio com ácidos orgânicos	Alterar ácido/base para ajustar acidez, condutividade e estabilidade
Aprótico (AIL)	Cátion orgânicos volumosos + ânions estáveis	[Bmim][BF ₄], [Bmim][PF ₆], líquidos iônicos de fosfônio	Mudar núcleo do cátion (imidazólio, piridínio, fosfônio, amônio), comprimento de cadeia alquílica, funcionalização do cátion/ânion
Derivado de Biomoléculas (Bio-IL)	Componentes naturais como colina, aminoácidos, açúcares, ácidos graxos	[Ch][Asp], [Ch][Glu], colina lactato	Escolher diferentes ânions de biomoléculas, modificar grupos funcionais para melhorar solubilidade e compatibilidade

Fonte: Autor, 2025.

Embora os líquidos iônicos apresentem propriedades físico-químicas que os tornam atrativos para uma ampla gama de aplicações, nem todos esses compostos são ambientalmente seguros ou compatíveis com sistemas biológicos. Uma parcela significativa dos líquidos iônicos atualmente disponíveis é formada por combinações de cátions e ânions que conferem alta estabilidade e desempenho, mas que também resultam em toxicidade elevada e baixa biodegradabilidade. Esses líquidos iônicos, classificados como não biocompatíveis, podem apresentar riscos ambientais e biológicos significativos, sendo fundamental compreender suas limitações e impactos antes de sua aplicação em contextos sensíveis, especialmente em processos que envolvem organismos vivos ou sistemas naturais.

Apesar das inúmeras aplicações industriais e científicas dos líquidos iônicos (ILs), seu uso em larga escala levanta preocupações ambientais e toxicológicas. Muitos ILs convencionais apresentam baixa biodegradabilidade e podem permanecer no ambiente por longos períodos, acumulando-se em ecossistemas sensíveis. Pesquisas indicam que a composição iônica exerce papel fundamental na toxicidade, podendo afetar desde microrganismos até organismos de níveis tróficos superiores, comprometendo funções ecológicas essenciais (PETKOVIĆ et al., 2011; ZHU et al., 2016).

A presença de ILs em ambientes aquáticos pode desencadear diferentes mecanismos de impacto, incluindo mortalidade de organismos, alteração de taxas populacionais, modificação de interações entre espécies e mudanças nos ciclos biogeoquímicos. Além disso, alguns ILs demonstraram potencial de bioacumulação, atingindo níveis tróficos mais altos e ampliando seus efeitos ao longo da cadeia alimentar (PHAM et al., 2010; PETKOVIĆ et al., 2011). Esses efeitos podem ser intensificados quando os ILs são liberados de forma contínua ou acidental em ambientes naturais.

Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstram que a toxicidade dos ILs varia conforme a estrutura do cátion e do ânion, bem como o comprimento e a natureza das cadeias laterais. Cátions imidazólicos com cadeias longas, por exemplo, tendem a apresentar maior toxicidade em organismos aquáticos, enquanto alguns ânions fluorados são particularmente persistentes no ambiente (ZHU et al., 2016). Essa variabilidade reforça a importância de compreender a relação estrutura-atividade para prever e mitigar riscos ambientais.

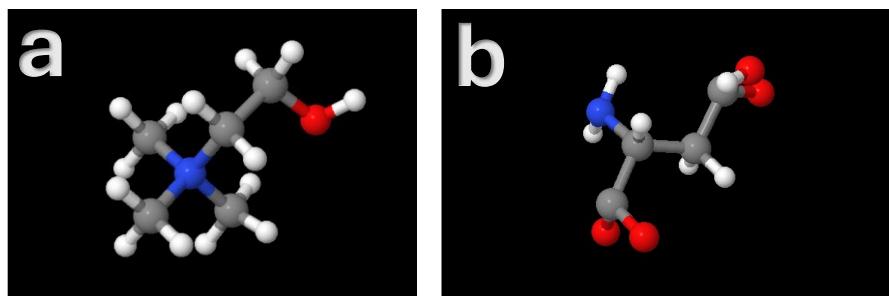
Devido a essas propriedades adversas, a aplicação de ILs tradicionais em contextos que envolvem contato direto com biomoléculas, como proteínas, DNA e enzimas, pode ser restrita. A instabilidade de alguns biopolímeros na presença de ILs altamente hidrofóbicos ou com forte caráter disruptivo compromete sua viabilidade em sistemas biotecnológicos sensíveis. Nessas situações, a escolha inadequada da composição iônica pode levar à desnaturação, perda de função e até degradação das biomoléculas-alvo (PETKOVIĆ et al., 2011).

Diante desses desafios, cresce o interesse pelo desenvolvimento de ILs mais seguros e ambientalmente sustentáveis. Estratégias incluem a substituição de cátions e ânions convencionais por íons derivados de biomoléculas, o encurtamento de cadeias alquílicas e a eliminação de ânions fluorados persistentes. Essas modificações visam equilibrar desempenho técnico e compatibilidade ambiental, reduzindo a toxicidade sem comprometer as propriedades físico-químicas desejadas (ZHU et al., 2016; PHAM et al., 2010).

Nesse cenário de crescente interesse por aplicações mais sustentáveis e compatíveis com sistemas vivos, uma nova classe de líquidos iônicos tem sido desenvolvida com foco na sustentabilidade e na biocompatibilidade. São os chamados líquidos iônicos biocompatíveis (Bio-ILs), obtidos a partir de compostos naturais ou de moléculas reconhecidas por sua baixa toxicidade, como princípios ativos farmacêuticos. Devido à possibilidade de ajuste de suas propriedades físico-químicas conforme a aplicação desejada, esses materiais vêm se destacando como alternativas promissoras em diferentes áreas científicas (TZANI et al., 2022).

Dessa forma, um dos líquidos iônicos que apresenta as propriedades desejadas são aqueles à base de colínio (ChILs), composto essencial no metabolismo humano e integrante da vitamina B4. Esses líquidos iônicos são comumente formados pela combinação do colínio com ânions provenientes de aminoácidos, ácidos orgânicos ou metabólitos naturais, como aspartato, glutamato e lactato (SINDHU; KUMAR; VENKATESU, 2022), sendo o colínio e o ânion correspondente representados na Figura 1.1.

Figura 1.1. Representação tridimensional dos íons colínio (a) e aspartato (b).



Fonte: Autor, 2025.

O colínio é um nutriente essencial que desempenha papel fundamental em diversos processos biológicos. Ele atua como precursor da acetilcolina, um neurotransmissor essencial para funções cognitivas e musculares, e participa na síntese de fosfolipídios, como a fosfatidicolina, que compõem as membranas celulares. Além disso, está envolvido no metabolismo de lipídios e na metilação de biomoléculas, sendo crucial para a integridade estrutural e funcional das células (ZEISEL; DA COSTA, 2009). Sua ocorrência natural no organismo e baixa toxicidade fazem dele um candidato ideal para a formulação de líquidos iônicos com potencial biocompatível.

Quimicamente, o colínio é um cátion quaternário de amônio $[C_5H_{14}NO]^+$, caracterizado por uma cabeça polar carregada positivamente e uma cadeia etílica curta ligada a um grupo hidroxila. Essa estrutura confere ao colínio alta solubilidade em água e boa capacidade de interação por ligações de hidrogênio, especialmente com ânions de origem biológica. Além disso, sua estabilidade química e térmica permite sua aplicação em diferentes condições experimentais, sem degradação significativa (SINDHU; KUMAR; VENKATESU, 2022). Essas propriedades também contribuem para reduzir os impactos ambientais associados aos líquidos iônicos tradicionais.

Os líquidos iônicos à base de colínio (ChILs) são geralmente obtidos pela combinação do cátion colínio com ânions derivados de biomoléculas, como aminoácidos (aspartato, glutamato), ácidos orgânicos (acetato, lactato) e outros metabólitos naturais. Essa escolha de ânions visa não apenas aumentar a biocompatibilidade do composto, mas também fornecer funcionalidades químicas específicas, como grupos carboxilato capazes de interagir seletivamente com biomoléculas. Dependendo da escolha do ânion, é possível ajustar parâmetros como hidrofobicidade, viscosidade e capacidade de solvatação, tornando os ChILs adaptáveis a diferentes aplicações (VENTURA et al., 2017).

Uma das principais vantagens dos ChILs é sua capacidade de estabilizar biomoléculas, como proteínas e ácidos nucleicos, em condições que normalmente promoveriam sua desnaturação. Estudos indicam que certos ChILs podem proteger a estrutura do DNA contra efeitos adversos de variações de temperatura, pH e força iônica, além de reduzir processos de agregação e degradação (SINDHU; KUMAR; VENKATESU, 2022).

No contexto deste trabalho, o uso de colínio combinado com o aspartato, representa uma abordagem estratégica para o estudo das interações entre líquidos iônicos e biomoléculas, especificamente o DNA. A escolha desse par iônico busca unir a estabilidade química e a baixa toxicidade do colínio com a capacidade do aspartato de estabelecer múltiplas interações eletrostáticas e de hidrogênio. Essa combinação cria um microambiente potencialmente mais estável e menos agressivo para a fita de DNA, possibilitando investigar, por meio de dinâmica molecular, os efeitos estruturais e de estabilidade decorrentes dessa interação.

2. OBJETIVOS

Avaliar, por meio de simulações de dinâmica molecular, o efeito do líquido iônico biocompatível [Ch][Asp] sobre a estabilidade estrutural e conformacional de uma fita de DNA em diferentes condições de temperatura, visando compreender seu potencial modulador em sistemas biológicos e suas possíveis aplicações em biotecnologia.

Para alcançar esses propósitos os objetivos específicos foram:

1. Construir um sistema [Ch][Asp] que interaja com o DNA e outro sistema apenas com água afim de simular os efeitos interativos dos líquidos iônicos em temperaturas variadas.
2. Avaliar propriedades estruturais do [Ch][Asp], e o perfil interativo para cada um dos sistemas montados.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Dinâmica Molecular clássica

A dinâmica molecular (DM) clássica é uma técnica baseada nos princípios da mecânica estatística, utilizada para explorar o espaço de fase por meio da evolução temporal dos sistemas simulados. Essa evolução é obtida pela resolução numérica das equações de movimento da mecânica clássica. A metodologia faz uso de *ensembles* termodinâmicos, que permitem a estimativa de propriedades macroscópicas e o acompanhamento de fenômenos microscópicos ao longo do tempo.

Para garantir a confiabilidade dos resultados obtidos por DM, é fundamental que a simulação seja suficientemente longa para permitir que o sistema atinja, em média, o estado mais provável ou que múltiplas réplicas independentes sejam executadas. Ambas as abordagens têm como objetivo garantir uma amostragem representativa do espaço de fase, assumindo que o sistema seja de caráter uniforme e que a distribuição estatística se mantenha constante ao longo das trajetórias simuladas (TUCKERMAN, 2010).

A utilização da dinâmica molecular clássica se baseia na aproximação de Born-Oppenheimer, que permite separar o movimento dos núcleos e dos elétrons. Essa aproximação considera que os elétrons respondem instantaneamente às mudanças nas posições nucleares, permitindo que os átomos sejam tratados como partículas com massa (m_i), carga parcial (q_i) e raio de van der Waals (σ_i) (ALLEN; TILDESLEY, 2017; BORN; OPPENHEIMER, 1927).

A modelagem das interações moleculares dentro de uma simulação por DM é feita por meio de campos de força, que são conjuntos de funções matemáticas e parâmetros ajustados para reproduzir propriedades experimentais. A energia potencial total (V_{TOTAL}) de um sistema é descrita pela soma de contribuições de interações ligadas como os potenciais de estiramento (V_{LiG}) de ligações, ângulos de flexão (V_{ANG}) e torções (V_{TOR}) e interações não-ligadas e eletrostáticas (V_{ELETTR}) e dispersivo/repulsivo ($V_{\frac{DISP}{REP}}$) (BAYLY et al., 1995; MACKERELL; BANAVALI; FOLOPPE, 2000). No presente trabalho, foi utilizado o campo de força OPLS-AA (*Optimized Potentials for Liquid Simulations all-atom*), (JORGENSEN; MAXWELL; TIRADO-RIVES, 1996), dado por

$$V_{TOTAL} = \sum_{i=1}^N V_{LiG} + V_{ANG} + V_{TOR} + V_{ELETTR} + V_{\frac{DISP}{REP}} \quad (3.1.1)$$

Em que,

$$V_{\text{LIG}} = \sum_{i,j=1}^N \frac{1}{2} K_r (r_{ij} - r_{ij}^0)^2, \quad (3.1.2)$$

$$V_{\text{ANG}} = \sum_{i,j=1}^N \frac{1}{2} K_r (\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2, \quad (3.1.3)$$

$$V_{\text{TOR}} = \sum_{i,j,k,l=1}^N [C_1(1 + \cos(\phi)) + C_2(1 - \cos(2\phi)) + C_3(1 - \cos(3\phi))], \quad (3.1.4)$$

$$V_{\text{ELETTR}} = \sum_{i,j=1}^N f_{ij} \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_i q_j}{\epsilon_r r_{ij}}, \quad (3.1.5)$$

$$V_{\frac{\text{DISP}}{\text{REP}}} = \sum_{i,j=1}^N 4\epsilon_{ij} f_{ij} \left(\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right), \quad (3.1.6)$$

O processo de amostragem na Dinâmica Molecular clássica (DM) começa com a atribuição de velocidades iniciais aos átomos que compõem o sistema. Caso a estrutura inicial tenha sido gerada previamente em outra simulação, essas velocidades já estarão definidas; do contrário, os valores iniciais são ajustados ao longo da etapa de equilíbrio termodinâmico.

Durante a equilíbrio, as condições de temperatura e pressão são aplicadas ao sistema, e as velocidades dos átomos são atribuídas de forma aleatória conforme a distribuição de Maxwell-Boltzmann. Essa distribuição garante que os átomos apresentem valores de velocidade compatíveis com a temperatura do sistema, descrita pela função:

$$p(v_i) = \left(\frac{m_i}{2\pi k_B T} \right)^{\frac{3}{2}} \exp \left(-\frac{m_i v_i^2}{2k_B T} \right) \quad (3.1.7)$$

Em seguida, utiliza-se um algoritmo integrador para atualizar continuamente as posições e velocidades das partículas. Esses novos valores são calculados a partir das informações de posição, velocidade e forças do passo anterior, seguindo as leis da mecânica clássica. Assim, o movimento dos átomos pode ser descrito pelas equações:

$$F_i = \frac{\partial p_i}{\partial t}, \quad (3.1.8)$$

$$P_i(t + \Delta t) = P_i(t - \Delta t) + F_i(t)\Delta t, \quad (3.1.9)$$

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t) + \frac{P_i}{m_i}(t + \Delta t)\Delta t, \quad (3.1.10)$$

$$\mathbf{F}_i = -\frac{\partial V}{\partial \mathbf{r}_i}, \quad (3.1.11)$$

Ao final do processo de simulação, são obtidos todos os valores relacionados às forças que atuam sobre cada átomo, bem como as energias potencial e cinética, a pressão e a temperatura do sistema. Esses parâmetros são calculados continuamente ao longo do tempo de simulação até que o período estipulado seja concluído. A partir desses dados, é possível aplicar diferentes ferramentas de análise, permitindo avaliar propriedades específicas de interesse associadas ao comportamento do sistema modelado.

3.2 Desvio quadrático médio (RMSD)

O desvio quadrático médio (RMSD, do inglês *Root Mean Square Deviation*) é uma das principais métricas utilizadas para avaliar a estabilidade estrutural e a variação conformacional de sistemas simulados por dinâmica molecular. Esse parâmetro compara a posição de cada átomo $r_i(t)$ em um dado instante t com a posição inicial do mesmo átomo $r_i(t_0)$, de forma a quantificar o grau de desvio estrutural ao longo da simulação. A expressão matemática que descreve o cálculo do RMSD é dada por:

$$\text{RMSD}(t_1, t_0) = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N m_i |r_i(t_1) - r_i(t_0)|^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (3.2.1)$$

3.3 Raio de giro (R_g)

Outro parâmetro importante para a caracterização estrutural é o raio de giro (R_g), que fornece uma medida da compactação do sistema em relação ao seu centro de massa. Esse cálculo considera a distribuição espacial dos átomos em torno do centro de massa, permitindo verificar se a molécula ou complexo estudado apresenta maior ou menor grau de compactação durante a simulação. O raio de giro é calculado pela equação:

$$R_g = \left[\frac{1}{\sum_{i=1}^N m_i} \sum_{i=1}^N m_i |r_i(t) - r_{cm}(t)|^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (3.3.1)$$

em que r_{cm} representa a posição do centro de massa do sistema. Alterações significativas no valor de R_g ao longo da simulação podem indicar processos como enovelamento, expansão ou instabilidades estruturais, fornecendo informações relevantes sobre a conformação do sistema estudado.

3.4 Ligação de Hidrogênio

As ligações de hidrogênio representam interações intermoleculares de grande importância para a estabilidade e dinâmica de sistemas químicos e biológicos. Em termos gerais, uma ligação de hidrogênio ocorre quando um átomo de hidrogênio, covalentemente ligado a um átomo eletronegativo (como oxigênio ou nitrogênio), interage com o par de elétrons livres de outro átomo eletronegativo. Essa característica confere a esse tipo de interação um caráter direcional, o que a torna mais estável e relevante em comparação com interações de van der Waals (JEFFREY, 1997).

Na dinâmica molecular, as ligações de hidrogênio podem ser monitoradas ao longo da simulação, permitindo avaliar como elas se formam e se rompem em função do tempo. Essa análise fornece informações importantes sobre a estabilidade conformacional do sistema, além de auxiliar na interpretação de fenômenos como

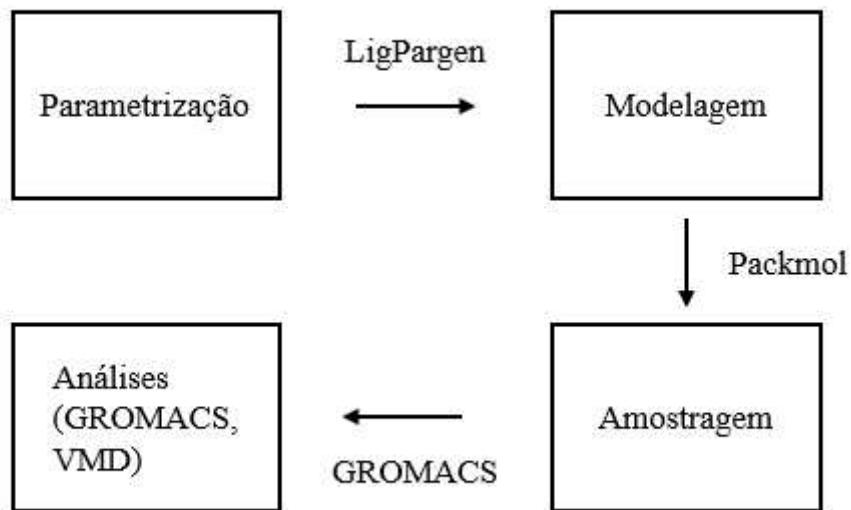
solubilidade, difusão e organização estrutural (FRENKEL; SMIT, 2002; MARX; HUTTER, 2009).

Assim como ocorre com parâmetros como RMSD ou raio de giro, a análise de ligações de hidrogênio também está ligada ao comportamento dinâmico do sistema. Ao longo da trajetória, é possível calcular o número médio de ligações presentes, o tempo de vida médio dessas interações e até funções de autocorrelação que indicam sua persistência. Dessa forma, entende-se que essas ligações não são fixas, mas sim transitórias, desempenhando papel fundamental na organização do sistema simulado.

4. METODOLOGIA

Todos os sistemas analisados neste trabalho foram modelados e simulados seguindo um protocolo computacional padronizado, composto por quatro etapas principais. Foram preparados dois conjuntos de sistemas: um contendo a fita de DNA PDB ID: 1CGC (HEINEMANN; ALINGS; BANSAL, 1992) em solução aquosa com o par iônico [Ch][Asp] e outro contendo apenas a fita de DNA em água, sem a presença de líquidos iônicos. Essa diferenciação permitiu avaliar os efeitos estruturais e dinâmicos associados à presença do líquido iônico no meio. Na primeira etapa, foram obtidas as estruturas iniciais e os parâmetros mecânico-moleculares dos pares iônicos formados por [Ch][Asp], além da molécula de água, utilizada como solvente. Os parâmetros foram gerados com o auxílio de ferramentas específicas de parametrização, como o *LigParGen* (DODDA et al., 2017). Na segunda etapa, foram construídas as configurações iniciais dos sistemas simulados, compostos pela fita de DNA, moléculas de água e, nos sistemas com líquido iônico, também pelos pares iônicos. A montagem considerou critérios sistemáticos quanto à proporção entre as espécies químicas e à proximidade entre os componentes, sendo a distribuição espacial final das moléculas realizada de forma aleatória. A quantidade de íons adicionada aos sistemas foi definida com base em uma concentração de 25% de [Ch][Asp] ao valor total de água no sistema, valor comumente utilizado em simulações com líquidos iônicos e biomoléculas (KHAVANI et al., 2022). Na terceira etapa, os arquivos obtidos nas etapas anteriores foram convertidos para o formato compatível com o *software GROMACS*, utilizado para a realização das simulações de dinâmica molecular clássica. Cada sistema foi submetido a uma etapa de minimização de energia, seguida por processos de equilíbrio termodinâmico em *ensembles NVT* e *NPT*. Posteriormente, foi realizada a etapa de produção da simulação. Na quarta e última etapa, os sistemas foram analisados com foco nas interações entre os componentes, bem como em possíveis alterações estruturais, no perfil de agregação, calculado a partir do desvio quadrático médio (RMSD) ao longo da trajetória e raio de giro (R_g). As análises foram conduzidas em intervalos regulares de tempo e os resultados foram avaliados com base nos gráficos formados a partir das simulações. Todas as etapas dos sistemas estão representadas na Figura 4.1.

Figura 4.1. Etapas, objetivos e *software servers* utilizados no trabalho.



Fonte: Autor, 2025.

4.1 Etapa 1 – Parametrização

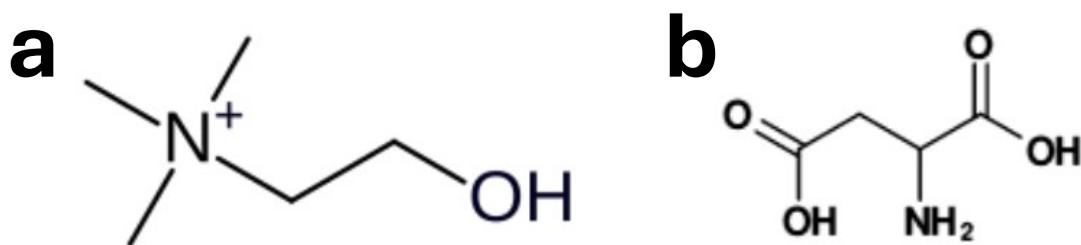
As estruturas iniciais e os parâmetros mecânico-moleculares do par iônico [Ch][Asp] foram obtidos por meio do *web server* LigParGen, baseado no campo de força OPLS/CM1A (DODDA et al., 2017). A escolha dessa ferramenta se deve à sua integração com o campo de força OPLS *all-atom* (JORGENSEN; MAXWELL; TIRADO-RIVES, 1996), amplamente utilizado para descrever sistemas contendo moléculas orgânicas, íons e biomoléculas (não sei oq esta errado). Além disso, o LigParGen oferece praticidade e gera arquivos compatíveis com o *software* GROMACS, facilitando a etapa de preparação dos sistemas.

As moléculas foram submetidas ao servidor utilizando suas representações no formato SMILES, conforme descrito abaixo:

- Colínio: C[N+](C)(C)CCO
- Aspartato: NC(CC(=O)[O-])C(=O)[O-]

O DNA foi modelado conforme pH fisiológico (7,4), já os íons, foram modelados por suas protonações, colínio como cátion $[C_5H_{14}NO]^+$ e o aspartato como ânion $[C_4H_5NO_4]^-$ representados pela Figura 4.1.1.

Figura 4.1.1. Fórmula estrutural do colínio (a) e aspartato (b).



Fonte: Autor, 2025.

Além dos íons e do solvente, todos os sistemas simulados continham uma fita de DNA de cadeia dupla, posicionada no centro da caixa de simulação. Essa fita foi incluída com o objetivo de avaliar as interações entre os componentes do sistema e a biomolécula, simulando um ambiente molecular onde há a interação entre as moléculas. A estrutura da fita foi gerada a partir de uma sequência modelo e convertida para o formato adequado ao GROMACS. Dois tipos de sistemas foram preparados (um sem IL apenas água e DNA e o outro com IL a fita de DNA e água).

Os parâmetros gerados foram incorporados à topologia dos sistemas e utilizados nas etapas posteriores de minimização de energia, equilíbrios termodinâmicos e produção. Como todas as moléculas envolvidas foram devidamente parametrizadas, apenas foi necessário recorrer a bases de dados como o Protein Data Bank para a extração de coordenadas tridimensionais.

4.2 Etapa 2 – Modelagem

Após a obtenção das coordenadas tridimensionais de cada componente do sistema íons, moléculas de água e fita de DNA, os sistemas foram montados utilizando o pacote PACKMOL (MARTÍNEZ et al., 2009). A construção no PACKMOL é baseada em um protocolo definido pelo usuário e otimizada para evitar interações intermoleculares repulsivas de curto alcance, garantindo uma distribuição inicial fisicamente viável. Vale ressaltar que, nesta etapa, os parâmetros mecânico-moleculares obtidos na Etapa 1 não são necessários, uma vez que o objetivo é apenas gerar uma configuração espacial inicial dos componentes.

Durante a montagem dos sistemas, foi adotada uma tolerância mínima de 2,0 Å entre átomos pertencentes a moléculas diferentes, valor adequado para sistemas cuja densidade se aproxima da água (MARTÍNEZ et al., 2009). A quantidade de moléculas

de solvente foi escolhida de modo a preencher completamente o volume da caixa de simulação, garantindo espaço suficiente para a distribuição dos componentes. Esse cuidado também teve como objetivo evitar que a fita de DNA se aproximasse excessivamente das bordas da caixa, o que poderia levá-la a interagir com suas próprias imagens geradas pelas condições periódicas de contorno, introduzindo assim interações artificiais que não ocorrem fisicamente no sistema real.

Em relação aos íons, a quantidade adicionada foi definida de modo a manter uma proporção constante entre os grupos funcionais do par iônico e a fita de DNA, assegurando a comparabilidade entre os sistemas simulados. A distribuição inicial das moléculas na caixa de simulação foi realizada de forma aleatória e aproximadamente isotrópica, garantindo uma solvatação homogênea ao redor da fita de DNA.

Para representar o solvente, foi adotado o modelo de água TIP3P (*Transferable Intermolecular Potential with 3 Points*), conforme proposto por (Jorgensen et al., 1983), amplamente utilizado em simulações moleculares pela boa reprodução das propriedades estruturais e energéticas da água líquida.

4.3 Etapa 3 – Amostragem

Na Etapa 3, os arquivos de topologia e as coordenadas espaciais dos sistemas foram organizados no *software* GROMACS (ABRAHAM et al., 2015), versão 2019.4, utilizado para a realização das simulações de dinâmica molecular. O campo de força adotado para descrever as interações entre os componentes íons (colínio e aspartato), moléculas de água e fita de DNA foi o OPLS *all-atom*, escolhido pela sua ampla aplicação em sistemas contendo compostos orgânicos, íons e biomoléculas.

Todos os sistemas foram inseridos em uma caixa de simulação cúbica com arestas de 8 nm, tamanho suficiente para acomodar todos os componentes sem causar proximidade excessiva com as bordas da caixa ou suas imagens periódicas. Como os íons colínio $[C_5H_{14}NO]^+$ e aspartato $[C_4H_5NO_4]^-$ estão presentes em proporções equivalentes, o sistema final se manteve eletricamente neutro, não havendo necessidade de adicionar contra íons.

As condições de simulação consideraram um pH igual a 7, representando um ambiente fisiológico. O número total de átomos em cada sistema variou entre aproximadamente 30646 para os sistemas sem líquidos iônicos e 37486 para os sistemas

com líquidos iônicos, a depender da quantidade específica de solvente e da fita de DNA em cada simulação.

Com o sistema devidamente montado, foi realizada a etapa de minimização de energia, com o objetivo de corrigir eventuais sobreposições ou interações atômicas não realistas que possam ter surgido durante a construção inicial. Essa etapa visa garantir a estabilidade estrutural antes do início das simulações dinâmicas. A minimização energética foi conduzida até que os critérios de convergência fossem atingidos, sendo eles: força máxima inferior a $1000 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{nm}^{-1}$ e energia potencial total negativa. Para isso, foi adotado um passo de minimização de 0,01 nm. Esse processo assegura que o sistema se encontre em um estado fisicamente viável, com baixos níveis de tensão molecular, antes da aplicação das condições termodinâmicas da simulação.

Após a minimização de energia, os sistemas passaram por um processo de equilibração termodinâmica, com o objetivo de estabilizar os valores de temperatura e pressão antes da etapa de produção. Esse processo foi conduzido em duas fases distintas, sob os *ensembles* NVT e NPT, respectivamente. Na primeira fase, foi aplicado um protocolo de *annealing* simulado, conduzido sob condições isocóricas e isotérmicas (NVT). O aumento de temperatura foi realizado de forma linear ao longo de 0,1 ns, partindo de 0 K até 298K, para ambos os sistemas (com e sem IL). Em duas simulações adicionais, foi realizado o mesmo procedimento com temperatura final de 370K e 470K, mantendo os parâmetros de tempo. Em todas as simulações, foi adotada uma constante de acoplamento térmico de 0,1 ps, garantindo um ajuste progressivo da temperatura até o equilíbrio térmico ser atingido. O controle de temperatura foi realizado por meio do método *velocity-rescaling* (BUSSI; DONADIO; PARRINELLO, 2007), o qual permite, assumindo a ergodicidade do sistema, amostrar corretamente o *ensemble* NVT, resultando em flutuações térmicas reduzidas e na adequada distribuição da energia cinética entre as partículas. Esse método de controle foi mantido também nas fases subsequentes, incluindo a produção final das simulações. Na segunda fase, os sistemas foram submetidos ao equilíbrio de pressão sob o *ensemble* NPT, durante 1 ns, com a compressibilidade isotérmica ajustada em $4,5 \times 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$ e a constante de acoplamento barostático definida como 2 ps. A pressão alvo foi fixada em 1 bar e aplicada de forma isotrópica utilizando o método Parrinello-Rahman (NOSÉ; KLEIN, 1983; PARRINELLO; RAHMAN, 1981), assegurando a estabilização volumétrica do sistema nas condições desejadas.

Por fim, iniciou-se o processo de produção na qual a amostragem final do espaço de fase dos sistemas foi feita no mesmo *ensemble* anterior, em 50 ns, totalizando 300 ns em todos os sistemas. Todos os sistemas compartilham das mesmas configurações pós equilibração assim como, os métodos de manutenção da temperatura e pressão utilizados anteriormente.

4.4 Etapa 4 – Análises

A investigação dos efeitos causados pela presença dos líquidos iônicos foi conduzida por meio de análises estruturais e interativas aplicadas às trajetórias obtidas durante a simulação da produção. O objetivo principal foi avaliar as possíveis alterações na conformação da fita de DNA, bem como o comportamento das interações entre os íons (quando presentes) e a biomolécula ao longo do tempo. Para isso, foram calculados o desvio quadrático médio (RMSD) e o raio de giro (R_g) da cadeia principal da fita de DNA, como forma de monitorar a estabilidade conformacional das estruturas simuladas. Também foram analisadas as distâncias máximas e mínimas entre pares de resíduos do DNA, permitindo observar variações estruturais locais e possíveis alterações no empacotamento da molécula. Além disso, foi avaliado o número de ligações de hidrogênio formadas entre a fita de DNA e os íons colínio e aspartato (nos sistemas com líquido iônico), o número médio de interações ao longo da simulação e o número máximo simultâneo de ligações. Essas métricas forneceram informações sobre a persistência das interações entre os componentes do sistema.

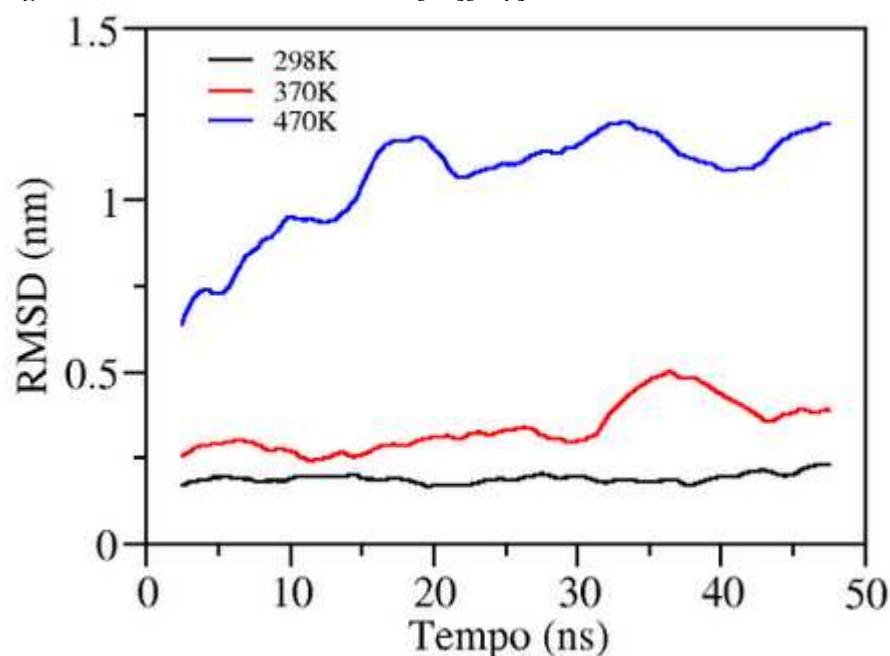
Todas as análises foram realizadas com o auxílio do pacote GROMACS, responsável pelo processamento das trajetórias simuladas, e do software VMD (*Visual Molecular Dynamics*) (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996), utilizado para visualização, inspeção qualitativa das estruturas e confirmação das regiões de interação.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Desvio quadrático médio (RMSD)

O desvio quadrático médio (RMSD) foi utilizado para avaliar a estabilidade estrutural do DNA ao longo das simulações, comparando os sistemas em água pura e em mistura de [Ch][Asp] com água representados pelas Figuras 5.1.1 e 5.1.2. O RMSD é uma métrica amplamente empregada em dinâmica molecular para quantificar variações conformacionais em relação à estrutura inicial. Valores estáveis e próximos a zero indicam maior preservação da estrutura nativa, enquanto aumentos significativos refletem maior dissimilaridade ou maior diferença estrutural da sua forma inicial.

Figura 5.1.1. RMSD do sistema DNA/[Ch][Asp] em 298K, 370K e 470K.

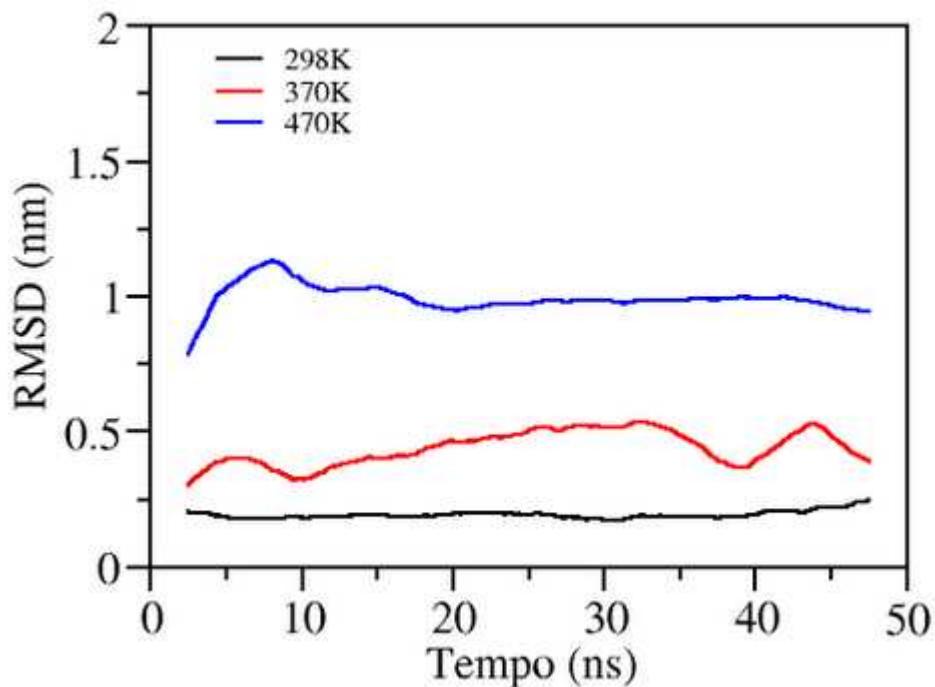


Fonte: Autor, 2025.

No sistema contendo ChILs, observa-se que a 298K o DNA manteve-se estável, com valores próximos de 0,2 nm, sugerindo que a presença do líquido iônico não comprometeu a conformação nativa em condições próximas à fisiológica. A 370K, o RMSD aumentou moderadamente para cerca de 0,4 – 0,5 nm, indicando maior flexibilidade da dupla hélice. Já a 470K, houve um aumento progressivo do RMSD, atingindo valores em torno de 1,3 nm, o que uma variação conformacional da estrutura inicial. Esse comportamento pode estar relacionado à interação direta do cátion colina

com os sulcos do DNA, alterando a camada de solvatação e favorecendo uma maior mobilidade estrutural em temperaturas elevadas (DIPAK KUMAR SAHOO et al., 2018).

Figura 5.1.2. RMSD do sistema DNA/água em 298K, 370K e 470K.



Fonte: Autor, 2025.

Por outro lado, no sistema em água pura, a 298K os valores de RMSD também permaneceram próximos de 0,2 nm, confirmando a estabilidade estrutural. Em 370K, os resultados foram semelhantes aos obtidos no líquido iônico, com RMSD médio em torno de 0,4 – 0,5 nm. No entanto, em 470K, embora o RMSD tenha alcançado aproximadamente 1,1 nm, o valor se estabilizou ao longo do tempo de simulação, sugerindo que o DNA em água sofre uma mobilidade estrutural em relação a sua estrutura inicial, mas atinge um estado conformacional relativamente equilibrado. Esse

comportamento corrobora com que a presença de líquidos iônicos pode aumentar o dinamismo conformacional em comparação com a água, especialmente sob condições de estresse térmico (K. JUMBRI et al., 2014; TATEISHI-KARIMATA; SUGIMOTO, 2014).

De maneira geral, esses resultados estão de acordo com estudos prévios que destacam o efeito dual dos líquidos iônicos sobre biomoléculas, podendo tanto estabilizar quanto aumentar sua flexibilidade, dependendo da composição iônica e do teor de água (SHUKLA; MIKKOLA, 2020; TATEISHI-KARIMATA; SUGIMOTO, 2014; RUSSO; BODO, 2024). No caso do colínio-aspartato, trata-se de um líquido iônico de caráter biocompatível, mas que, em temperaturas elevadas, promoveu maior mobilidade estrutural do DNA em comparação ao solvente puramente aquoso. Esse comportamento evidencia a importância de se considerar as características específicas do cátion e do ânion no estudo de líquidos iônicos aplicados a sistemas biológicos.

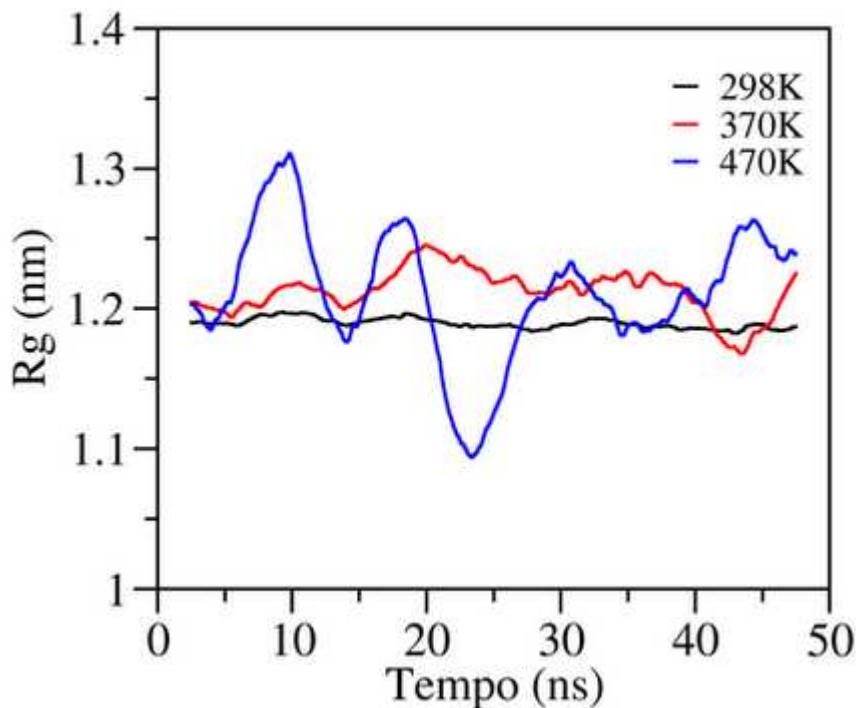
Além da análise numérica do RMSD, é importante considerar os aspectos moleculares que explicam as diferenças entre os dois sistemas. O cátion colínio tende a interagir eletrostaticamente com os grupos fosfato do DNA, enquanto o ânion aspartato pode competir por ligações de hidrogênio com a água e com a própria biomolécula. Essa dupla interação modifica a rede de solvatação natural do DNA, tornando a estrutura mais suscetível a rearranjos conformacionais em condições de alta temperatura. Em temperaturas ambientais, a presença de água ainda predomina na estabilização da dupla hélice, garantindo valores de RMSD baixos. Entretanto, em 470K, a competição entre íons e moléculas de água nos sítios de ligação promove maior mobilidade estrutural, o que se reflete no aumento contínuo do RMSD observado. Esses resultados reforçam o caráter dual dos Bio-ILs. Em situações moderadas, eles podem atuar como meios alternativos para estabilização de ácidos nucleicos, mas em condições extremas podem favorecer maior dinamismo e reorganização estrutural.

5.2 Raio de giro (R_g)

O raio de giro (R_g) foi utilizado para observar a compactação do sistema, ou seja, a distribuição média das distâncias dos átomos em relação ao centro de massa da molécula, onde, valores de R_g mais elevados indicam uma conformação mais expandida, enquanto valores menores refletem estados mais compactos. Os resultados

obtidos de R_g são mostrados nas Figuras 5.2.1 e 5.2.2.

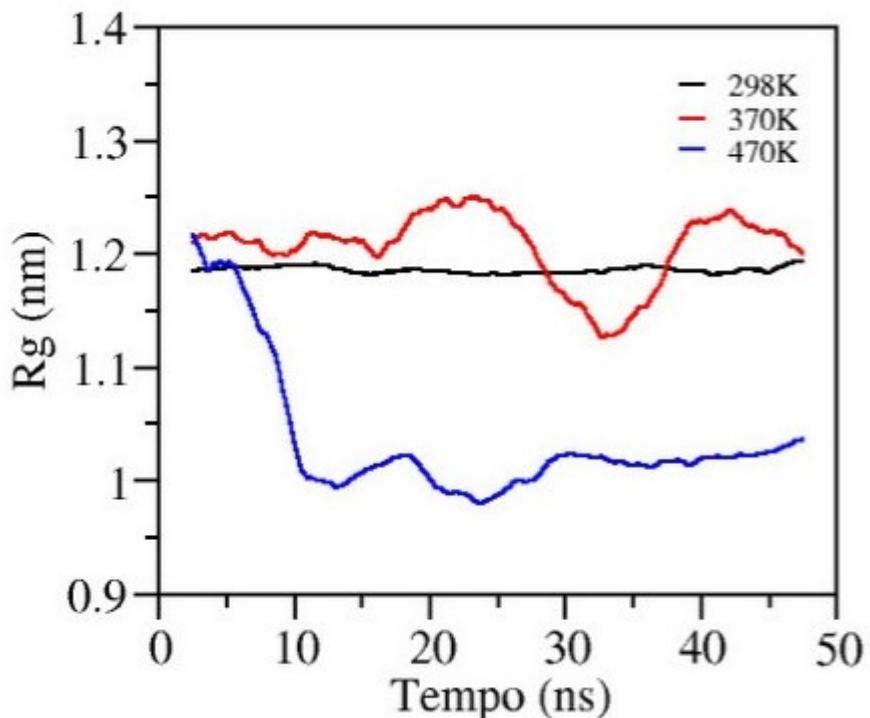
Figura 5.2.1. Raio de giro (R_g) do sistema DNA/[Ch][Asp] em 298K, 370K e 470K.



Fonte: Autor, 2025.

No sistema em que o DNA está imerso em solução aquosa contendo o líquido iônico [Ch][Asp] representado pela Figura 5.2.1, observa-se que a 298K o raio de giro permanece estável em torno de 1.2 nm, sugerindo manutenção da estrutura nativa em condições próximas a temperatura ambiente. No entanto, ao elevar a temperatura para 370K e 470K, há flutuações mais pronunciadas, com tendência a expansão da molécula, especialmente na simulação em 470K. Esse comportamento está em acordo com observações de (K. JUMBRI et al., 2014), que reportaram a importância da camada de solvatação na preservação da conformação do DNA em ILs. A perda parcial dessa camada em altas temperaturas pode permitir interações mais diretas entre [Ch][Asp] e os grupos fosfato do DNA, permitindo maior flexibilidade e expansão da molécula, refletida pelo aumento do R_g .

Figura 5.2.2. Raio de giro (R_g) do sistema DNA/água em 298K, 370K e 470K.



Fonte: Autor, 2025.

No sistema controle, em que o DNA está apenas em solução aquosa representado pela Figura 5.2.2, os resultados mostram um comportamento distinto. A 298K o raio de giro manteve-se próximo a 1.2 nm, sem grandes flutuações, confirmando a estabilidade da dupla-hélice em condições fisiológicas. Em 370K houve um leve aumento no R_g , mas ainda dentro de um padrão de estabilidade estrutural. Já em 470K, o R_g diminui de forma significativa para valores próximos a 1.0 nm, indicando uma compactação estrutural da molécula. Esse resultado pode ser comparado aos achados de (DINIS; SOUSA; FREIRE, 2020), que observaram que a ausência de interações específicas com ILs permite que o DNA mantenha ou até compacte sua estrutura em resposta a estresses térmicos, sem expansão excessiva.

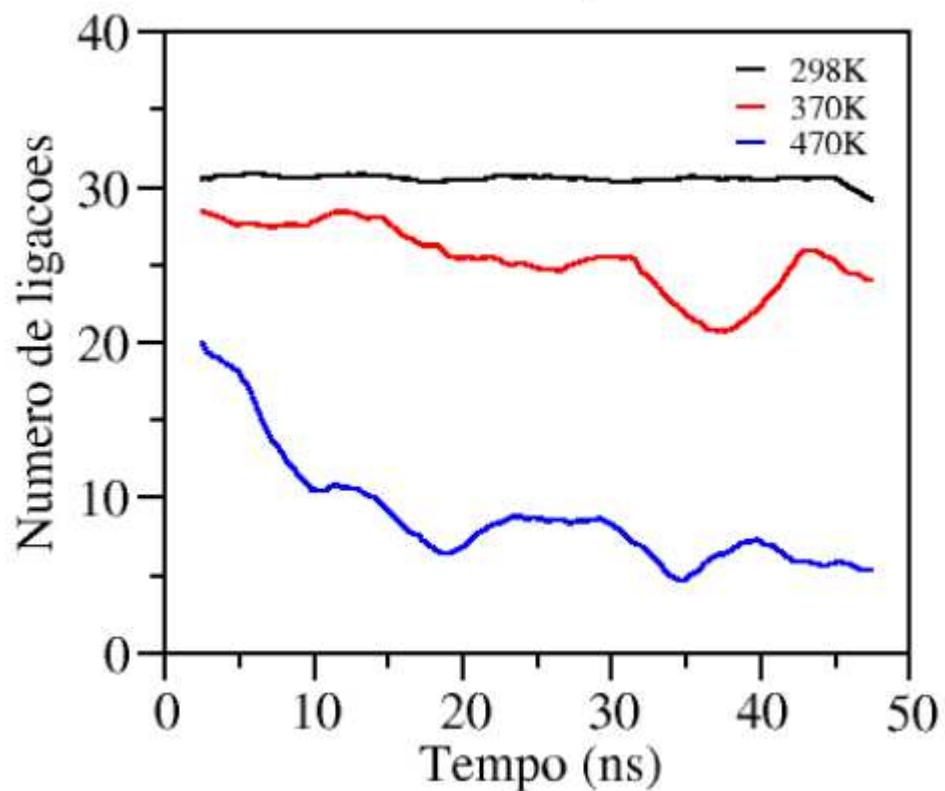
A comparação entre os dois sistemas simulados evidenciou que a presença do líquido iônico [Ch][Asp] influencia diretamente a conformação do DNA. Observou-se que, em água pura, o aumento da temperatura levou a uma tendência de compactação,

indicada pela redução do raio de giro (R_g). Já na presença do líquido iônico, verificou-se o comportamento oposto, caracterizado por uma leve expansão da estrutura. Esse resultado pode estar relacionado às interações eletrostáticas entre o cátion colínio e os grupos fosfato da cadeia, bem como às ligações de hidrogênio adicionais formadas pelo ânion aspartato, que competem com a rede de solvatação natural da água. Dessa forma, os achados sugerem que, nesse sistema específico, o líquido iônico não apenas contribuiu para a manutenção da estabilidade em condições moderadas, mas também modulou a resposta conformacional do DNA em temperaturas mais elevadas. Essa interpretação reforça a ideia de que líquidos iônicos derivados de biomoléculas podem apresentar comportamento diferenciado frente a condições extremas, o que abre espaço para estudos mais aprofundados em biotecnologia e armazenamento de biomoléculas.

5.3 Ligações de Hidrogênio

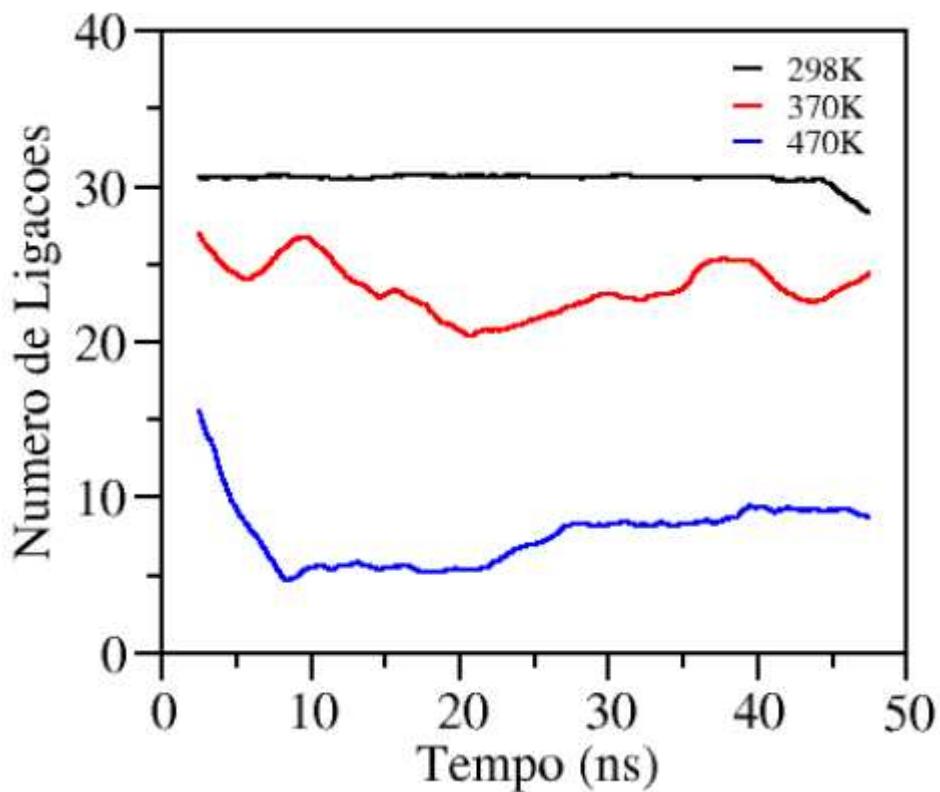
As Figuras 5.3.1 e 5.3.2 apresentam a evolução do número de ligações de hidrogênio ao longo de 50 ns de simulação nos sistemas contendo DNA em solução aquosa pura e em solução com o líquido iônico colínio-aspartato. Observa-se que, em ambos os sistemas, o número de ligações de hidrogênio sofreu uma redução significativa ao longo da trajetória, decaindo de aproximadamente 30 para 5 ligações no CHILs e de 30 para 10 no sistema de água pura. Esse comportamento indica, que a conformação da dupla hélice do DNA adquiriu uma maior mobilidade em relação a sua conformação inicialmente, possivelmente devido às condições de simulação, como a temperatura elevada e as interações com o líquido iônico.

Figura 5.3.1. Ligações de hidrogênio do sistema DNA/[Ch][Asp] em 298K, 370K e 470K.



Fonte: Autor, 2025.

Figura 5.3.2. Ligações de hidrogênio do sistema DNA/água em 298K, 370K e 470K.



Fonte: Autor, 2025.

Nas Figuras 5.3.1 e 5.3.2, observa-se que nas temperaturas de 298K e 370K há manutenção de um número relativamente elevado de ligações de hidrogênio, embora o sistema com IL apresente flutuações mais pronunciadas. Essa constância parcial de ligações e hidrogênio em temperaturas moderadas sugere que determinados elementos estruturais do DNA, como as ligações de Watson-Crick, permanecem preservados mesmo na presença do IL, o que está em concordância com estudos que mostram que líquidos iônicos capazes de doar ou aceitar ligações de hidrogênio podem favorecer a preservação dessas interações, especialmente quando os íons se posicionam nos sulcos da molécula (SARKAR; RAJDEV; SINGH, 2020).

Já em 470K, a queda acentuada no número de ligações de hidrogênio no sistema com [Ch][Asp] indica que o balanceamento entre interações moleculares está sendo perturbado significativamente. Isso é compatível com literatura que observa que acima de certa temperatura os efeitos estabilizantes dos ILs são vencidos pela energia térmica, levando à quebra de interações menos estáveis. Além disso, a proporção de água no sistema modula a persistência dessas interações: em condições altamente hidratadas, os íons permanecem mais solvatados e, portanto, competem menos com as moléculas de

água pelos sítios de ligação; já em condições de menor solvatação, os íons interagem mais fortemente com as bases nitrogenadas do DNA, alterando o equilíbrio estrutural (CHEN; ZENG; CHEN, 2022).

Com base nos resultados, observa-se que o [Ch][Asp] pode promover uma maior interação relativa com o DNA em temperaturas moderadas, mantendo parte das ligações de hidrogênio. No entanto, em condições de alta temperatura, essas interações tornam-se menos numerosas e menos persistentes, como evidenciado pela queda significativa de 30 para 5 ligações de hidrogênio ao longo da simulação com ChILs. Esses dados indicam que o efeito estabilizador do líquido iônico não é absoluto, sendo fortemente influenciado pela estrutura química dos íons, pelo grau de hidratação do sistema e pela temperatura. Assim, os líquidos iônicos podem atuar como moduladores da estabilidade do DNA, mas seu benefício depende do contexto físico-químico específico do sistema estudado.

5.4 Distâncias máximas e mínimas entre resíduos do DNA

A análise das distâncias máximas e mínimas entre pares de resíduos do DNA (Tabelas 5.4.1 e 5.4.2) permite compreender como a estrutura da dupla hélice responde ao aumento da temperatura e à presença do líquido iônico [Ch][Asp]. Esses parâmetros fornecem indícios de compactação, expansão e rearranjos locais da biomolécula, complementando os resultados obtidos para RMSD, raio de giro e ligações de hidrogênio.

Tabela 5.4.1 Distância máxima entre os pares de resíduos do DNA.

Pares de resíduos	Distância máxima entre resíduos / nm					
	298 K		370 K		470 K	
	IL	W	IL	W	IL	W
1 : 20	2.84675	2.31472	3.89185	3.73381	4.65007	4.93301
2 : 19	2.35203	2.34772	2.92268	2.97021	3.99831	3.90551
3 : 18	2.39579	2.37067	2.38802	2.72180	3.90750	4.12037
4 : 17	2.38954	2.38783	2.39995	2.38967	3.10014	3.45834
5 : 16	2.38391	2.36378	2.35728	2.36512	3.34811	2.73069
6 : 15	2.36877	2.36865	2.36091	2.37854	3.86979	2.65703
7 : 14	2.38661	2.37822	2.41782	2.39656	4.68944	3.22818
8 : 13	2.38987	2.38117	2.39304	2.39110	4.68393	3.94604
9 : 12	2.39075	2.35784	2.83207	2.90464	4.52486	3.99555
10 : 11	2.27450	2.32928	3.92845	3.82526	4.73405	4.16461

Fonte: Autor, 2025.

Tabela 5.4.2 Distância mínima entre os pares de resíduos do DNA.

Pares de resíduos	Distância mínima entre resíduos / nm					
	298 K		370 K		470 K	
	IL	W	IL	W	IL	W
1 : 20	0.151463	0.157270	0.158698	0.152043	0.159753	0.156378
2 : 19	0.156164	0.157483	0.151825	0.145172	0.156732	0.171216
3 : 18	0.153704	0.150927	0.154159	0.153447	0.150960	0.140534
4 : 17	0.158145	0.157766	0.140360	0.150712	0.151582	0.147235
5 : 16	0.149963	0.155480	0.151291	0.154101	0.151911	0.136345
6 : 15	0.154136	0.147777	0.154519	0.150735	0.143377	0.150539
7 : 14	0.152634	0.157572	0.153717	0.151225	0.140136	0.154619
8 : 13	0.156796	0.149060	0.150884	0.154101	0.151796	0.160290
9 : 12	0.154434	0.146568	0.153065	0.147611	0.161165	0.140143
10 : 11	0.158332	0.156486	0.152922	0.144139	0.155409	0.161165

Fonte: Autor, 2025.

Em 298K, os valores das distâncias máximas foram próximos entre os dois sistemas, com diferenças pequenas em pares como o 1:20 (IL = 2,84 nm; água = 2,31 nm) e 2:19 (IL = 2,35 nm; água = 2,34 nm), sugerindo que em condições moderadas a integridade estrutural da hélice se mantém tanto em água quanto na presença do IL. No entanto, já em 370K observa-se maior variação, como no par 1:20, que aumentou para 3,89 nm no IL e 3,73 nm em água, e no par 10:11, que passou de 2,27 nm para 3,92 nm no IL. Em 470K, as diferenças se tornam ainda mais acentuadas: o par 1:20 atingiu 4,65 nm no IL e 4,93 nm em água, enquanto o par 7:14 mostrou maior distensão no IL (4,68 nm) do que em água (3,22 nm). Esses resultados mostram que a presença do [Ch][Asp] indicam oscilações mais intensas em determinadas regiões do DNA, especialmente em altas temperaturas, promovendo maior flexibilidade estrutural.

No caso das distâncias mínimas, os valores se mostraram mais estáveis, com pequenas diferenças em 298K, como no par 1:20 (IL = 0,151 nm; água = 0,157 nm). Porém, em 370 K e 470K surgem indícios de rearranjos locais. Por exemplo, no par 4:17, a distância mínima reduziu de 0,158 nm (IL, 298 K) para 0,140 nm (IL, 370K), enquanto em água manteve-se em torno de 0,157 nm. Esse encurtamento pode estar associado à formação de interações adicionais pelo ânion aspartato, que competem com as moléculas de água nos sítios de interação próximos ao DNA. Outro exemplo é o par 2:19, que em 470 K atingiu 0,156 nm no IL e 0,171 nm em água, sugerindo uma aproximação relativa no sistema com líquido iônico em comparação ao aquoso.

Esses resultados mostram que o líquido iônico [Ch][Asp] exerce um papel modulador na conformação do DNA. Em temperaturas mais baixas, seu efeito é mínimo, mas em condições mais severas ele favorece tanto alongamentos (aumento das distâncias máximas) quanto aproximações locais (redução das distâncias mínimas). O cátion colínio pode interagir eletrostaticamente com os grupos fosfato do *backbone* do DNA, enquanto o ânion aspartato pode formar pontes de hidrogênio com as bases ou com moléculas de água, desestabilizando parcialmente a rede de solvatação natural.

Na literatura, resultados semelhantes já foram observados, (SARKAR; RAJDEV; SINGH, 2020) os quais demonstraram que líquidos iônicos podem se inserir nos sulcos do DNA, alterando a rede de interações de hidrogênio e modulando a estabilidade local. Estudos reportaram que a proporção entre IL e água influencia diretamente o padrão de ligações de hidrogênio e, consequentemente, a organização estrutural da biomolécula

(CHEN; ZENG; CHEN, 2022). Por sua vez, foi destacado que ILs podem estabilizar o DNA em condições moderadas, mas em altas temperaturas o efeito estabilizante é superado pela energia térmica, resultando em maior variabilidade estrutural (ZHAO, 2014), exatamente o que foi observado neste trabalho.

Dessa forma, os dados das tabelas confirmam que o [Ch][Asp], embora mantenha a estabilidade conformacional em 298K, promove maior heterogeneidade estrutural em temperaturas elevadas.

6. CONCLUSÃO

As simulações de dinâmica molecular realizadas neste trabalho permitiram avaliar o efeito do líquido iônico colínio-aspartato (ChILs) sobre a estabilidade e a conformação de uma fita de DNA frente a diferentes temperaturas (298, 370 e 470K). A partir das análises de RMSD, raio de giro (R_g), número de ligações de hidrogênio e distâncias máximas/mínimas entre pares de resíduos, foi observado que: (i) em condições moderadas (298–370K) a presença do ChILs não comprometeu a integridade global da hélice em muitas interações chave (ii) em alta temperatura (470K) a mistura ChILs/água promoveu uma maior heterogeneidade conformacional em comparação com o sistema controle em água pura, manifestada por maiores oscilações nas distâncias entre resíduos, aumento do RMSD e redução do número de ligações de hidrogênio; (iii) esse comportamento dual indica que os efeitos do líquido iônico são condicionais à temperatura, à hidratação do sistema e às interações específicas cátions/ânions e DNA.

Recomenda-se, para estudos futuros, a realização de réplicas adicionais a 470K, análise RMSF por resíduo, RDF colina–P (fosfato), contagem de íons próximos ao *backbone* e simulações com diferentes frações IL:água, de modo a solidificar as conclusões e delimitar as janelas de operação em que o ChILs atua como agente estabilizante.

7. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

- TZANI, A. et al. Current trends in green solvents: Biocompatible Ionic Liquids. **Crystals**, v. 12, n. 12, p. 1776, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/crust12121776>
- DODDA, Leela S.; DE VACA, Israel Cabeza; TIRADO-RIVES, Julian; JORGENSEN, William L. LigParGen web server: **An automatic OPLS-AA parameter generator for organic ligands**. **Nucleic Acids Research, London**, v. 45, n. W1, p. W331–W336, 2017. DOI: 10.1093/nar/gkx312. Disponível em: <https://academic.oup.com/nar/article/45/W1/W331/3747780>. Acesso em: 12 ago. 2025
- JORGENSEN, William L.; MAXWELL, David S.; TIRADO-RIVES, Julian. Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 118, n. 45, p. 11225–11236, 1996. DOI: 10.1021/ja9621760. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja9621760>.
- MARTÍNEZ, L.; ANDRADE, R.; BIRGIN, E. G.; MARTÍNEZ, J. M. PACKMOL: A package for building initial configurations for molecular dynamics simulations. **Journal of Computational Chemistry**, New York, v. 30, n. 13, p. 2157–2164, 2009. DOI: 10.1002/jcc.21224. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcc.21224>.
- JORGENSEN, William L.; CHANDRASEKHAR, Jayaraman; MADURA, Jeffry D.; IMPEY, Roger W.; KLEIN, Michael L. Comparison of simple potential functions for simulating liquidwater. **The Journal of Chemical Physics**, Lancaster, v. 79, n. 2, p. 926–935, 1983. DOI: 10.1063/1.445869. Disponível em: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.445869>.
- ABRAHAM, Mark James; MURTOLA, Teemu; SCHULZ, Roland; PÁLL, Szilárd; SMITH, Jeremy C.; HESS, Berk; LINDAH, Erik. Gromacs: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. **SoftwareX**, Amsterdam, v. 1–2, p. 19–25, 2015. DOI: 10.1016/j.softx.2015.06.001. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352711015000059>. Acesso em: 05 ago. 2025
- HUMPHREY, William; DALKE, Andrew; SCHULTEN, Klaus. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, Guildford, v. 14, n. 1, p. 33–38, 1996. DOI: 10.1016/0263-7855(96)00018-5. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0263785596000185>. Acesso em: 05 ago. 2025
- KHAVANI, M.; GHIASSI, M.; SOLTANI, M. A molecular dynamics study on the influence of ionic liquid–water mixture concentration on the structural stability of DNA duplex. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 40, n. 13, p. 5891–5904, 2022. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07391102.2022.2067239>
- SINDHU, A.; KUMAR, S.; VENKATESU, P. Contemporary advancement of cholinium-based ionic liquids for protein stability and long-term storage: Past, present, and future outlook. **ACS sustainable chemistry & engineering**, v. 10, n. 14, p. 4323–4344, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c08595>
- JEFFREY, G. A. **An introduction to hydrogen bonding**. [s.l.] New York, N.Y. Oxford University Press, 1997. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/785061980/An->

[Introduction-to-Hydrogen-Bonding-Jeffrey-George-A-1915-1997-New-York-Oxford-University-Press-9780195095487-335328ea1e7da3157078](#). Acesso em: 07 ago. 2025

MARX, D.; HUTTER, J. Ab Initio Molecular Dynamics. 1 jan. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/CBO9780511609633>

FRENKEL, D.; SMIT, B. **Understanding molecular simulation : from algorithms to applications**. San Diego: Academic Press, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-012267351-1/50005-5>

TUCKERMAN, Mark. Statistical Mechanics: Theory and Molecular Simulation. 1st. ed. United Kingdom: **Oxford University Press**, 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/265327519_Statistical_Mechanics_Theory_And_Molecular_Simulation. Acesso em: 09 ago. 2025

HUDDLESTON, J. G. et al. Characterization and comparison of hydrophilic and hydrophobic room temperature ionic liquids incorporating the imidazolium cation. **Green Chemistry**, v. 3, n. 4, p. 156–164, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/b103275p>

WELTON, T. Room-Temperature Ionic Liquids. Solvents for Synthesis and Catalysis. **Chemical Reviews**, v. 99, n. 8, p. 2071–2084, ago. 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/cr980032t>

HE, Y. et al. Self-Assembly of Block Copolymer Micelles in an Ionic Liquid. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 8, p. 2745–2750, 2 fev. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja058091t>

ZHOU, Y.; ANTONIETTI, M. Synthesis of Very Small TiO₂ Nanocrystals in a Room-Temperature Ionic Liquid and Their Self-Assembly toward Mesoporous Spherical Aggregates. **Journal of the American Chemical Society** v. 125, n. 49, p. 14960–14961, 12 nov. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja0380998>

OLIVIER-BOURBIGOU, H., MAGNA, L., & MORVAN, D. (2010). Ionic liquids and catalysis: Recent progress from knowledge to applications. **Applied Catalysis A: General**, v. 373, n. 1-2, p. 1–56, 31 jan. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2009.10.008>

WASSERSCHEID, P.; KEIM, W. Ionic Liquids—New “Solutions” for Transition Metal Catalysis. **Angewandte Chemie**, v. 39, n. 21, p. 3772–3789, 3 nov. 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20001103\)39:21<3772::AID-ANIE3772>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20001103)39:21<3772::AID-ANIE3772>3.0.CO;2-5)

ANDERSON, J. L. et al. Characterizing Ionic Liquids On the Basis of Multiple Solvation Interactions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 47, p. 14247–14254, 1 nov. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja028156h>

BLANCHARD, L. A.; BRENNECKE, J. F. Recovery of Organic Products from Ionic Liquids Using Supercritical Carbon Dioxide. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 40, n. 1, p. 287–292, 5 dez. 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ie000710d>

FUKUMOTO, K.; YOSHIZAWA, M.; OHNO, H. Room Temperature Ionic Liquids from 20 Natural Amino Acids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 8, p. 2398–2399, 3 fev. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja043451i>

LEONE, A. M. et al. An Ionic Liquid Form of DNA: Redox-Active Molten Salts of Nucleic Acids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 123, n. 2, p. 218–222, 16 dez. 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja003332c>

SISTLA, Y. S.; KHANNA, A. CO₂ absorption studies in amino acid-anion based ionic liquids. **Chemical Engineering Journal**, v. 273, p. 268–276, 27 out. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.09.043>

TRUJILLO-RODRÍGUEZ, M. J. et al. Advances of Ionic Liquids in Analytical Chemistry. **Analytical Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 505–531, 17 out. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04710>

MORTON, M. D.; HAMER, C. K. Ionic liquids – The beginning of the end or the end of the beginning? – A look at the life of ionic liquids through patent claims. **Separation and Purification Technology**, v. 196, p. 3–9, maio 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.11.023>

PLECHKOVA, N. V.; SEDDON, K. R. Applications of ionic liquids in the chemical industry. **Chem. Soc. Rev.**, v. 37, n. 1, p. 123–150, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/B006677J>

PILLAI, S.; BENEDETTO, A. Ionic liquids in protein amyloidogenesis: a brief screenshot of the state-of-the-art. **Biophysical Reviews**, v. 10, n. 3, p. 847–852, 3 maio 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12551-018-0425-4>

RESLAN, M.; KAYSER, V. Ionic liquids as biocompatible stabilizers of proteins. **Biophysical Reviews**, v. 10, n. 3, p. 781–793, 6 mar. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12551-018-0407-6>

HAQUE, A. et al. Interaction studies of cholinium-based ionic liquids with calf thymus DNA: Spectrophotometric and computational methods. **Journal of Molecular Liquids**, v. 237, p. 201–207, 19 abr. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.04.068>

WELTON, T. Ionic liquids: a brief history. **Biophysical Reviews**, v. 10, n. 3, p. 691–706, 26 abr. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12551-018-0419-2>

KAUR, G.; KUMAR, H.; SINGLA, M. Diverse applications of ionic liquids: A comprehensive review. **Journal of Molecular Liquids**, v. 351, p. 118556, abr. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118556>

PETKOVIC, M. et al. Ionic liquids: a pathway to environmental acceptability. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 3, p. 1383–1403, 22 fev. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C004968A>

JING, B. et al. Interaction of Ionic Liquids with a Lipid Bilayer: A Biophysical Study of Ionic Liquid Cytotoxicity. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 120, n. 10, p. 2781–2789, 8 mar. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.6b00362>

THUY PHAM, T. P.; CHO, C.-W.; YUN, Y.-S. Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review. **Water Research**, v. 44, n. 2, p. 352–372, 1 jan. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.09.030>

ZEISEL, S. H.; DA COSTA, K.-A. Choline: an essential nutrient for public health. **Nutrition Reviews**, v. 67, n. 11, p. 615–623, nov. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00246.x>

VENTURA, S. P. M. et al. Ionic-Liquid-Mediated Extraction and Separation Processes for Bioactive Compounds: Past, Present, and Future Trends. **Chemical Reviews**, v. 117, n. 10, p. 6984–7052, 2 fev. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00550>

DIPAK KUMAR SAHOO et al. Critical Assessment of the Interaction between DNA and Choline Amino Acid Ionic Liquids: Evidences of Multimodal Binding and Stability Enhancement. **ACS central science**, v. 4, n. 12, p. 1642–1651, 4 dez. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acscentsci.8b00601>

K. JUMBRI et al. An insight into structure and stability of DNA in ionic liquids from molecular dynamics simulation and experimental studies. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 16, n. 27, p. 14036–14046, 1 jan. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C4CP01159G>

TATEISHI-KARIMATA, H.; SUGIMOTO, N. Structure, stability and behaviour of nucleic acids in ionic liquids. **Nucleic Acids Research**, v. 42, n. 14, p. 8831–8844, 10 jul. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gku499>

RUSSO, S.; BODO, E. Solvation of Model Biomolecules in Choline-Aminoate Ionic Liquids: A Computational Simulation Using Polarizable Force Fields. **Molecules**, v. 29, n. 7, p. 1524, 28 mar. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules29071524>

SHUKLA, S. K.; MIKKOLA, J.-P. Use of Ionic Liquids in Protein and DNA Chemistry. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, 23 dez. 2020. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.598662>

SKARPALEZOS, D. et al. Synthesis, structure-properties relationship and biodegradability assessment of novel protic ionic liquids. **Journal of Molecular Liquids**, v. 344, p. 117754, dez. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.117754>

M. S. S. ESPERANÇA, J. et al. Volatility of Aprotic Ionic Liquids — A Review. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, n. 1, p. 3–12, 7 ago. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/je900458w>

DHATTARWAL, H. S.; KASHYAP, H. K. Microstructures of Choline Amino Acid based Biocompatible Ionic Liquids. **The Chemical Record**, v. 23, n. 8, 24 mar. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/tcr.202200295>

GOUVEIA, W. et al. Toxicity of ionic liquids prepared from biomaterials. **Chemosphere**, v. 104, p. 51–56, jun. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.10.055>

DINIS, T. B. V.; SOUSA, F.; FREIRE, M. G. Insights on the DNA Stability in Aqueous Solutions of Ionic Liquids. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, 14 out. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.547857>

SARKAR, S.; RAJDEV, P.; SINGH, P. C. Hydrogen bonding of ionic liquids in the groove region of DNA controls the extent of its stabilization: synthesis, spectroscopic and simulation studies. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 22, n. 27, p. 15582–15591, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/D0CP01548B>

CHEN, J.; ZENG, X.; CHEN, L. Evolution of microstructures and hydrogen bond interactions within choline amino acid ionic liquid and water mixtures. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 24, n. 29, p. 17792–17808, 1 jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/D2CP01990F>

ZHAO, H. DNA stability in ionic liquids and deep eutectic solvents. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 90, n. 1, p. 19–25, 3 set. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jctb.4511>