

Renato Tadeu Gaspar

Simulação de poli(etileno glicol) em água por Dinâmica Molecular

São José do Rio Preto

2007

Renato Tadeu Gaspar

Simulação de poli(etileno glicol) em água por Dinâmica Molecular

Tese apresentada ao programa de pós-graduação em Biofísica Molecular do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Biofísica Molecular.

Orientador: Prof. Dr. Eloi da Silva Feitosa

São José do Rio Preto - SP

2007

Data da Defesa: 16 de agosto de 2007.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Eloi da Silva Feitosa

Prof. Dr. Leo Degreve

Prof. Dr. Luiz Carlos Gomide Freitas

Prof. Dr. José Roberto Ruggiero

Prof. Dr. Marinônio Lopes Cornélio

Aos meus pais, Luiz e Joana, e
minha esposa, Eliane.

Agradecimentos...

Ao Prof. Dr. Eloi Feitosa, pela orientação, paciência e apoio necessários para a execução desse trabalho e por ter me recebido em seu grupo, depositando em mim um voto de confiança.

Ao Dr. José Roberto Ruggiero e ao Prof. Dr. Marcelo Andrés Fossey, pela colaboração no Exame Geral de Qualificação.

Aos funcionários do Departamento de Física pelo companheirismo que sempre proporcionou momentos muito agradáveis.

Aos funcionários da seção de Pós-Graduação pelo pronto atendimento a nossas necessidades sempre com muita paciência e atenção.

Aos colegas do Grupo de Física de Colóides, Cecília, Marcos e Shirley, pela ajuda e pelos bons momentos que passamos juntos.

Às amigas, Fernanda e Nayara pelos momentos de descontração e apoio nos momentos complicados da nossa vida de estudante.

À Priscilla pela amizade, presença constante, conselhos sempre necessários, consultoria científica e paciência durante todos esses anos.

À Eliane por trilhar comigo esse caminho, sempre ao meu lado, por tantos anos, com amor e muita paciência.

Aos meus familiares, por acreditarem nas minhas escolhas, fornecendo o apoio necessário para que os objetivos sejam sempre alcançados.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

Quando eu for incapaz de praticar o mal,
quando nenhuma palavra áspera ou arrogante abalar,
por um momento sequer, o meu mundo mental,
só então, e não antes,
a minha não-violência conquistará o coração de todos.

Gandhi

Lista de Ilustrações

Figura 1: Tipos de estruturas possíveis em cadeias poliméricas.	12
Figura 2: Molécula de nonaetileno glicol ou PEG ₄₀₀	14
Figura 3: Estrutura bidimensional da molécula de PEG ₄₀₀ no JME Molecule Editor.	18
Figura 4: Estrutura tridimensional para a molécula de PEG ₄₀₀	18
Figura 5: Organização espacial das moléculas de PEG ₄₀₀ nas caixas de simulação.	23
Figura 6: Réplicas da caixa de simulação para evitar os efeitos de borda.	26
Figura 7: Variação da densidade do sistema em função do tempo de simulação.	28
Figura 8: Perfil de cargas para a molécula de PEG ₄₀₀	33
Figura 9: Representação dos grupos atômicos do modelo de PEG ₄₀₀	34
Figura 10: Função de distribuição radial O_hidroxila – O_água.	35
Figura 11: Função de distribuição radial - Número cumulativo.	35
Figura 12: Ampliação da figura 11 na região de 0,2 a 0,5 nm.	36
Figura 13: Função de distribuição radial entre oxigênios do solvente	36
Figura 14: Evolução dos valores da superfície acessível ao solvente por molécula de PEG ₄₀₀ durante o processo de simulação.	39
Figura 15: Energia total dos sistemas em função do tempo de simulação	40
Figura 16: Variação da densidade em função da concentração a 298,15 K.	41
Figura 17: Desvio dos valores de densidade obtido para o sistema PEG400_Lc/água.	41
Figura 18: Volume de excesso em função da concentração de PEG.	42
Figura 19: Densidade média de PEG ₄₀₀ em água, em função da temperatura.	43
Figura 20: Desvio de densidade no ajuste por secagem.	43
Figura 21: Variação da energia dos sistemas ajustados por secagem.	44
Figura 22: Estado final do sistema PEG ₄₀₀ /água em concentrações de 1% a 50%.	45
Figura 23: Número médio de pontes de hidrogênio entre moléculas de PEG ₄₀₀	46
Figura 24: Superfície acessível ao solvente por molécula de PEG ₄₀₀ em diferentes concentrações.	46
Figura 25: Organização das moléculas e água em concentrações de 75 e 95% PEG.	47
Figura 26: Função de distribuição radial entre grupos hidroxila e moléculas de água.	48

Figura 27: Número de moléculas do solvente junto aos grupos hidroxila	48
Figura 28: Ampliação da figura 27 na região de 0,2 a 0,5 nm.....	49
Figura 29: Variação do raio de giração com a variação de temperatura.....	50
Figura 30: Caixa de PEG ₁₆₉₆ nos dois diferentes estados.....	51
Figura 31: Energias do sistema no decorrer da simulação.....	52

Lista de Tabelas

Tabela 1: Composição dos sistemas em diferentes concentrações.....	22
Tabela 2: Composição das caixas ajustadas por secagem	29
Tabela 3: Coordenadas dos picos apresentados na figura 10.....	37
Tabela 4: Coordenadas dos picos apresentados na figura 13.....	38
Tabela 5: Valores finais de interações dos sistemas a 85% – média dos últimos 500 ps....	72

Sumário

RESUMO.....	9
1 – INTRODUÇÃO	11
1.1 – POLÍMEROS	11
1.2 – POLI(ETILENO GLICOL).....	12
1.3 – SIMULAÇÃO DE SISTEMAS POLIMÉRICOS	14
2 – OBJETIVOS	16
3 – MÉTODOS.....	17
3.1 - CRIAÇÃO DOS MODELOS INICIAIS	17
3.2 - CÁLCULO DAS CARGAS ATÔMICAS	19
3.3 - SIMULAÇÕES POR DINÂMICA MOLECULAR.....	21
3.3.1 – <i>Pacote de simulação</i>	21
3.3.2 – <i>Montagem dos sistemas</i>	21
3.3.3 – <i>Minimização de energia</i>	24
3.3.4 – <i>Procedimentos de simulação</i>	25
3.3.4.1 – <i>Estudos de densidade</i>	27
3.3.4.1.1 – <i>Ajuste da composição por secagem</i>	28
3.3.4.2 – <i>Estudos com temperatura</i>	29
3.3.4.3 – <i>Separação de fase</i>	29
3.4 - ANÁLISE E VISUALIZAÇÃO	31
4 – RESULTADOS	33
4.1 – CARGAS	33
4.2– RAIOS DE CORTE.....	34
4.3 – ESTABILIZAÇÃO.....	39
4.4 - DENSIDADES.....	40
4.4.1 – <i>Secagens</i>	43
4.5 – ESTRUTURAS	44
4.6 – SEPARAÇÃO DE FASES	50
5 – DISCUSSÃO	53
6 – CONCLUSÃO.....	56
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
APÊNDICE A - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DO PEG₄₀₀.....	63
APÊNDICE B – INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES.....	64
<i>Variação da temperatura do sistema em função do tempo de simulação em diferentes concentrações:.....</i>	<i>65</i>
<i>Variação de pressão do sistema em função do tempo de simulação em diferentes concentrações:.....</i>	<i>66</i>
<i>Comportamento do parâmetro LJ-14 em função do tempo de simulação em diferentes concentrações:.....</i>	<i>67</i>

<i>Comportamento do parâmetro Coulomb-14 em função do tempo de simulação em diferentes concentrações:</i>	<i>68</i>
<i>Comportamento do parâmetro LJ(SR) em função do tempo de simulação em diferentes concentrações:</i>	<i>69</i>
<i>Comportamento do parâmetro Coulomb(SR) em função do tempo de simulação em diferentes concentrações:</i>	<i>70</i>

Resumo

O Poli(etileno glicol) (PEG) é um polímero sintético cujas características tem despertado grande interesse em diversas áreas. Suas aplicações podem ser vistas nas mais variadas áreas, desde biotecnologia e medicina até aplicações industriais e cosméticos.

Alguns aspectos físicos como a estrutura adotada por esse polímero em diferentes solventes e detalhes sobre a interação entre essas moléculas ainda necessitam de maiores esclarecimentos, o que o torna objeto de intensa investigação.

Essa tese visa desenvolver um modelo para moléculas de PEG, que possa ser utilizado em experimentos de dinâmica molecular. Resultados de simulações com esse modelo foram comparados a dados experimentais presentes na literatura, de forma a verificar o comportamento do modelo em diferentes condições, avaliando assim sua adequação.

Os valores de densidade, obtidos dos sistemas simulados, apresentaram erro máximo de 1,14% para concentrações de até 50% de PEG₄₀₀. A densidade do sistema em função da temperatura concorda com os dados da literatura, mantendo um erro fixo de 0,35%, que está relacionado com a concentração de 50% utilizada nessa simulação.

A estrutura helicoidal, apresentada pelas moléculas de PEG ao final do processo de preparação dos modelos, é perdida rapidamente em todas as diferentes condições em que o sistema foi simulado, indicando que tal estrutura é energeticamente desfavorável em água.

Com o aumento da concentração de PEG, as seguintes estruturas foram encontradas: moléculas de PEG livres em solução em concentrações inferiores a 5%, aglomerados de PEG entre 5 e 50%, com uma transição gradual entre uma estrutura e outra. Os resultados obtidos para concentrações acima de 50% não são conclusivos.

Seguindo o procedimento aplicado ao modelo inicial, de PEG₄₀₀, foi desenvolvido um segundo modelo, aproximadamente quatro vezes maior, e com ele foram executados possíveis efeitos moleculares capazes de induzir termo-separação de fases. A transição entre os diferentes estados do sistema ocorreu em temperaturas médias entre 423,3 K e 424,1K a uma pressão média de 8,98 Bar.

Palavras Chave: Dinâmica molecular, polímeros, polietileno glicol.

Abstract

Poly(ethylene glycol) (PEG) is a synthetic polymer whose characteristics have attracted great interest in different fields. It has been applied in very different areas, from biotechnology and medicine to industry and cosmetics.

Physical aspects like the structure PEG assumes in different solvent and details on the interaction between these polymers still lack clarity, make PEG an object of intense investigation.

This Thesis aims to develop a model for PEG molecules that can be used in molecular dynamic simulations. Results of simulations using this model were compared to published experimental data, in order to investigate the behavior of the model under different conditions to evaluate its validity.

The density values obtained from the simulations exhibit a maximum error of 1.14% for PEG₄₀₀ concentrations up to 50%. The system density as a function of temperature agrees with experimental data from the literature within an error of 0.35% for the 50% PEG in the simulation.

The helicoidal structure assumed by the PEG molecules at the end of the procedure of the model preparation is quickly lost under every simulation condition, thus indicating that the helicoidal structure is not energetically favorable for PEG in water.

As PEG concentration is increased, the following structures were found: free PEG molecules below ca 5%, PEG clusters from ca 5-50%, with a gradual transition from one structure to another. The results for concentrations higher than 50% are not conclusive.

Following the procedure applied to the initial PEG₄₀₀ model, a second model was developed, almost four times larger, and used to investigate possible molecular effects capable to induce phase thermoseparation. The transition from different system states took place on average temperatures between 423.3 K and 424.1 K at the average pressure of 8.98 Bar.

Keywords: Molecular dynamic, polymer, poly(ethylene glycol).

1 – Introdução

1.1 – Polímeros

Polímeros são macromoléculas naturais ou sintéticas, formadas pela repetição de pequenas unidades monoméricas covalentemente ligadas. Podemos citar como exemplos de polímeros naturais as proteínas e polissacarídeos, enquanto que plásticos e adesivos são exemplos típicos de polímeros sintéticos.

Os polímeros, quando formados pela repetição de um único tipo de monômero são chamados de homopolímeros. Podem também ser formados pela união de diferentes tipos de monômeros, formando um padrão irregular, sendo esse tipo de polímero chamado de heteropolímero, como no caso das proteínas que podem ser compostas por combinações de 20 diferentes tipos de monômeros, os aminoácidos. Denomina-se copolímero de bloco à junção de duas ou mais cadeias de homopolímeros ligadas covalentemente.

As características de um polímero e seu comportamento dependem basicamente de sua estrutura e constituição. Com relação à estrutura temos a forma com que seus monômeros estão ligados, que pode ser linear, ramificada ou em forma de rede, como visto na figura 1, e também a massa molecular do polímero, a qual está diretamente ligada ao número de monômeros presentes na molécula. Já a constituição do polímero está relacionada aos monômeros que compõem a cadeia polimérica, dando origem a um homopolímero ou um heteropolímero.



Figura 1: Tipos de estruturas possíveis em cadeias poliméricas.

Existe uma grande variedade de polímeros, dentre eles o poli(etileno glicol) (PEG), que, em solução, na presença de co-solutos e sob condições adequadas, podem formar sistemas aquosos bifásicos (SAB) ou multifásicos. Esse efeito já é conhecido há muito tempo e existem muitos trabalhos experimentais e teorias a respeito desse fenômeno, como por exemplo, os trabalhos de Flory (1953), Stuart (1953), Tompa (1956), Huggins (1958) e Anathapadmanabhan e Goddard (1986).

1.2 – Poli(etileno glicol)

Poli(etileno glicol) é um homopolímero sintético, linear, cuja fórmula molecular é $H-(O-CH_2-CH_2)_n-OH$, onde n é o número médio de grupos de óxido de etileno presentes na molécula, chamado grau de polimerização. É um polímero levemente higroscópico, solúvel em água, em acetona, em etanol, miscível em outros glicóis e em hidrocarbonetos aromáticos, insolúvel em éter e hidrocarbonetos alifáticos.

A designação numérica geralmente indica sua massa molecular média, encontrando-se disponível comercialmente em uma grande variedade de pesos moleculares, variando de 200 a alguns milhões de gramas por mol. Em pesos moleculares menores que 600 g/mol é um líquido incolor viscoso à temperatura ambiente. Em pesos acima desse valor se apresenta em forma de pó ou flocos.

Os PEGs líquidos, de baixa massa molecular, podem ser diretamente utilizados como solventes, com ou sem a adição de água. Nesse conjunto de PEGs de baixa massa molecular pode-se, utilizando uma certa liberdade, incluir os di, tri, e tetraetileno glicóis.

Algumas características importantes têm tornado o PEG um produto de grande interesse tecnológico, dentre elas o fato de ser biodegradável, estável a ácidos, bases e altas temperaturas (Naik & Doraiswamy, 1998; Guo *et al*, 2002; Chen *et al*, 2004), com aplicação em diversas áreas biotecnológicas e médicas (Harris, 1992; Harris e Zalipsky, 1997), além de ser biocompatível em solução aquosa, com potencial de aplicação como meio de cultura de tecidos e preservação de órgãos (Albertsson, 1986). O PEG tem sido também utilizado como meio alternativo de separação de sistemas aquosos bifásicos, (Huddleston *et al*, 1999; Chen *et al*, 2005) na formação de complexos com moléculas tensoativas (surfactantes) para fins industriais, e desempenha um papel importante como componente básico na produção de poliésteres e poliuretanos, (Drozdowski *et al*, 2002) entre outras aplicações.

O PEG tem sua estrutura e propriedades fortemente dependentes das interações inter e intramoleculares, as quais aumentam com o aumento da massa molecular do polímero, principalmente as interações dipolares devido à natureza das ligações O-C. Com o aumento da massa molecular ocorre também a diminuição da concentração de grupos OH terminais, o que altera o número de pontes de hidrogênio formadas no sistema. Como efeito do citado acima temos a dependência direta entre as propriedades físicas do PEG e sua massa molecular. (Drozdowski *et al*, 2002)

Esse polímero pode adotar diferentes conformações, dependendo da temperatura do sistema e do tipo de solvente utilizado, variando de uma conformação aleatória (*coil*) em água (Vennaman *et al*, 1987; Alessi *et al*, 2005; Castellanos *et al*, 2006) a uma conformação helicoidal em alguns solventes específicos, como a mistura de ácido isobutírico e água. (Castellanos *et al*, 2006)

Uma das características mais intrigantes desse polímero é o fato de o mesmo ser hidrofílico, o que devido a sua estrutura não seria uma característica esperada, pois tanto o poli(óxido butileno), que possui um grupo metileno (CH₂) a mais (-[CH₂-CH₂-CH₂-O-]_n-), quanto o poli(óxido metileno) que possui um grupo metileno a menos (-[CH₂-O-]_n-) são insolúveis em água. (Israelachvili, 1997)

As moléculas de PEG apresentam um elevado grau de liberdade conformacional, principalmente devido à grande liberdade rotacional de suas ligações simples. Cada uma de suas possíveis configurações é caracterizada por um diferente momento de dipolo, o qual é a soma vetorial dos momentos de dipolo de seus n monômeros. Segundo Rudan-Tasic e Klofutar (2005) a média estatística do momento de dipolo da molécula deve ser proporcional à raiz quadrada do seu grau de polimerização n .

Grande parte desse trabalho foi baseado na molécula de PEG de massa molar média igual a 400 g/mol, aqui designada por PEG₄₀₀. Na prática o PEG₄₀₀ apresenta um certo grau de polidispersão, tendo sua massa molar entre 380 e 420 g/mol. Seu grau de polimerização médio é de 8,7 o que lhe confere a seguinte composição média: H-(O-CH₂-CH₂)_{8,7}-OH.

Com isso temos que o PEG com essa massa molecular se encontra entre octa e nonaetileno glicol (figura 2), sendo que moléculas maiores e menores também podem estar presentes em sua constituição, só que em pequenas quantidades.

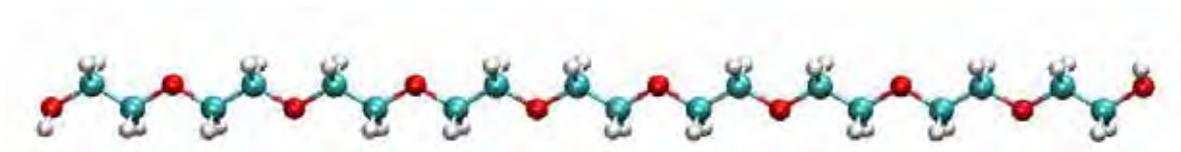


Figura 2: Molécula de nonaetileno glicol ou PEG₄₀₀.

No apêndice A é apresentada uma tabela com as principais características físicas e químicas do PEG₄₀₀ como referência.

1.3 – Simulação de sistemas poliméricos

O processo de simulação de sistemas moleculares, por computador, tem apresentado um papel crescente nos meios de pesquisa, tanto industrial quanto acadêmico. As simulações por computador já se tornaram parte da rotina diária em algumas áreas do conhecimento e são utilizadas em áreas muito distintas como a ciência dos materiais e a biologia molecular. (van Gunsteren & Mark, 1998)

Por meio das simulações de dinâmica molecular pode-se estudar o comportamento dos mais diversos sistemas moleculares, de forma a obter informações sobre efeitos que ocorrem em nível atômico, informações essas que podem ser difíceis e, em alguns casos, quase impossíveis de se obter por outros métodos.

O estudo de sistemas poliméricos por meio da dinâmica molecular visa buscar uma forma de elucidar alguns aspectos do comportamento desses sistemas, como características estruturais dos polímeros em solução, sua interação com o solvente ou com outras moléculas e até as forças que dirigem os mais diversos efeitos observados nos sistemas.

Citando Müller-Plathe e seus colaboradores: “Ao se tentar entender os sistemas poliméricos, assim como outros sistemas reais, experimento e simulação tomam caminhos diferentes e tem, portanto, diferentes vantagens e desvantagens”.

A combinação entre experimentos reais e simulação pode apresentar excelentes resultados, principalmente se os dois métodos forem corretamente planejados, de forma que os resultados possam ser utilizados para a checagem mútua dos dados obtidos. Isso pode ser feito medindo e calculando, em ambos os casos, as mesmas características primárias do sistema, de forma que a concordância dos resultados possa ser utilizada para se estimar o grau de realismo da simulação.

Existem na literatura diversos trabalhos publicados na área de simulação de sistemas poliméricos (Chang & Yethiraj, 2006; Banaszak, Faller & Pablo, 2004; Halley, Duan & Nielsen, 2001; Nath, Banaszak & Pablo, 2001; Nath & Pablo, 1999). A maioria desses trabalhos desenvolve alguma forma de ajuste do campo de força utilizado nas simulações, de forma a tornar o comportamento do sistema mais próximo do esperado. Em alguns casos são propostos campos de força específicos para a simulação de determinados tipos de moléculas.

2 – Objetivos

O presente trabalho tem por finalidade desenvolver um modelo de Poli(etileno glicol) que possa ser utilizado em simulações por dinâmica molecular para estudos em sistemas aquosos permitindo inclusive estudar efeitos moleculares relacionados à termo-separação de fases.

Além de definir um modelo adequado para esse polímero o trabalho visa utilizar-se da técnica de dinâmica molecular, com solvente explícito, cujo modelo é capaz de reproduzir satisfatoriamente várias características do solvente real. Devido à grande capacidade computacional disponível atualmente pode-se simular facilmente sistemas contendo dezenas ou até centenas de milhares de átomos, de forma a obter resultados macroscópicos relativos aos sistemas estudados, o que abre grandes possibilidades para o estudo de diferentes efeitos em sistemas poliméricos.

Outro aspecto importante é avaliar a viabilidade da simulação de sistemas contendo PEG e água, utilizando um campo de força não específico, alterando apenas as cargas atômicas do modelo desenvolvido, preservando assim as qualidades do campo de força utilizado, no tratamento de outros componentes que possam vir a ser incluídos em estudos posteriores.

3 – Métodos

3.1 - Criação dos modelos iniciais

O início do processo de definição de um modelo para experimentos com simulação se dá com a criação de uma estrutura tridimensional da molécula, contendo as coordenadas de todos os átomos presentes em tal molécula. No caso dos presentes modelos, as coordenadas atômicas tridimensionais foram geradas com o auxílio do sistema CORINA ([Molecular Networks GmbH](#)).

CORINA, abreviação de “COoRdINAtes”, é um sistema voltado para a criação de estruturas tridimensionais de pequenas moléculas, estruturas essas que podem ser utilizadas para 3D QSAR, estudos de *docking* de ligantes, análise conformacional, “*de novo* design” e modelagem molecular, entre outros. Este sistema integrado cobre todo o processo de criação da estrutura 3D, desde o desenho de sua estrutura química em forma bidimensional, suportado pelo JME Molecule Editor (Peter Ertl), até a obtenção de um modelo final, em três dimensões, fornecendo todas as informações necessárias em arquivos no formato PDB (Protein Data Bank). O JME Molecule Editor é um eficiente aplicativo JAVA que permite desenhar e editar moléculas e reações químicas, fornecendo informações para o processamento por outros programas.

As estruturas bidimensionais das moléculas de PEG foram criadas no JME Molecule Editor, como visto na figura 3, onde se pode ver 9 unidades monoméricas que compõem a molécula de PEG₄₀₀. Com base nessa estrutura o CORINA desenvolve todos os cálculos e fornece uma estrutura tridimensional correspondente. Devido à dificuldade de se apresentar estruturas 3D em imagens bidimensionais a estrutura resultante é apresentada na figura 4 em duas posições, com rotação de 90 graus em relação ao eixo vertical da folha (eixo Y).

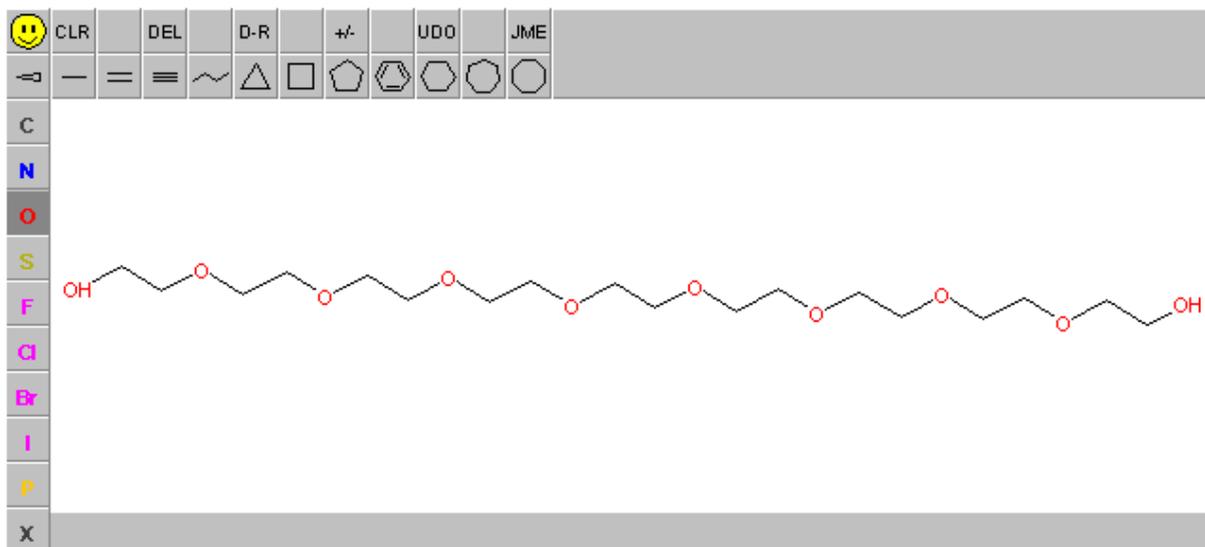


Figura 3: Estrutura bidimensional da molécula de PEG₄₀₀ no JME Molecule Editor.

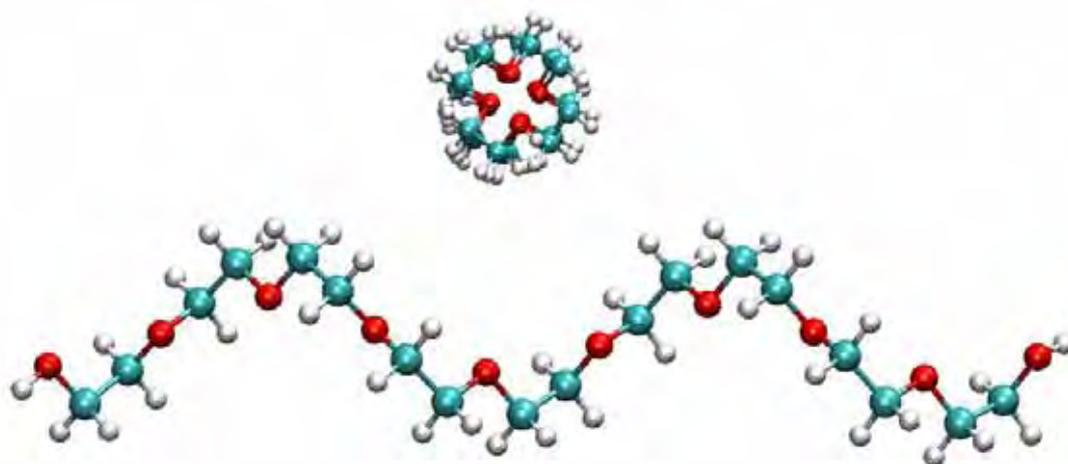


Figura 4: Estrutura tridimensional para a molécula de PEG₄₀₀.

Como pode ser visto, o modelo criado para a molécula de PEG₄₀₀ apresenta uma estrutura helicoidal, sendo um nonaetileno glicol com massa molecular de exatamente 414,492 g/mol que, neste trabalho, será considerado como PEG₄₀₀ por ser a estrutura com massa superior a 400 mais próxima que pode ser obtida.

A estrutura fornecida pelo CORINA, apesar de apresentar a forma helicoidal, ainda não é a estrutura de menor energia possível para essa molécula. A busca pela forma de menor energia é feita com o auxílio do programa Ghemical (<http://www.uiowa.edu/~ghemical/ghemical-gms.shtml>), que executa uma otimização da geometria da molécula. Com o mesmo programa se preparam arquivos de entrada utilizados para os cálculos das cargas atômicas a serem realizados com o programa GAMESS (Schmidt *et al.*, 1993).

3.2 - Cálculo das cargas atômicas

As cargas atômicas do modelo de PEG₄₀₀ foram calculadas com o programa GAMESS, fazendo-se um ajuste (*fitting*) do potencial eletrostático a partir de cálculos *ab initio*, utilizando o método CHELPG com funções de base 6-31G. Tal conjunto de funções de base apresentou resultados adequados, sem elevar o custo computacional a níveis inaceitáveis. Para esse procedimento foi utilizado um computador com processador Pentium 4 - 3.06GHz com memória RAM de 1 GB DDR400 *dual channel* a 800 MHz

A estrutura tridimensional resultante da otimização de geometria no programa Ghemical foi convertida em arquivos de topologia para serem utilizados no sistema de dinâmica molecular. Para isso foi utilizado o servidor PRODRG (Schuettelkopf & van Aalten, 2004).

Durante o processo de criação dos arquivos de topologia, o PRODRG automaticamente avalia o estado de protonação dos grupos atômicos presentes na molécula, classifica e adiciona ou remove átomos de hidrogênio quando necessário e determina valores para as cargas de todos os átomos com base em valores pré-definidos de carga para grupos atômicos conhecidos, garantindo a correta distribuição das cargas atômicas individuais para que possa ser executada a simulação utilizando o procedimento conhecido como Grupos de Carga. Os arquivos de topologia resultantes desse processo, que contém os valores de carga definidos pelo PRODRG, foram utilizados na forma original como um dos modelos de PEG₄₀₀ a ser avaliado.

Um segundo modelo foi criado, substituindo-se nos arquivos de topologia as cargas calculadas pelo PRODRG pelas cargas obtidas com o método CHELPG no GAMESS, também utilizando grupos de cargas. Esse segundo modelo foi denominado PEG400_Lc.

A necessidade da utilização dos grupos de cargas se deve ao fato de ter sido escolhido o método de raio de corte para o tratamento das interações eletrostáticas. Esse método de tratamento reduz de forma acentuada o custo computacional das simulações, mas exige cuidados especiais para que não sejam criadas cargas no sistema durante a simulação.

A criação de cargas em uma simulação ocorre, por exemplo, quando se separam átomos de um dipolo, situação essa que pode acontecer se algum átomo desse dipolo se encontrar dentro do raio de corte especificado e um ou mais átomos do mesmo dipolo se encontrarem fora e forem desconsiderados nos cálculos efetuados.

Para evitar esse efeito é utilizada a técnica de grupos de cargas, que são simplesmente índices que indicam quais átomos pertencem a grupos específicos, possuindo o grupo uma carga total nula. Se um único átomo de um grupo de carga se encontra dentro do raio de corte em uso todo o grupo relacionado com tal átomo é incluído no cálculo a ser efetuado, mesmo que os outros átomos estejam fora do raio de corte definido.

3.3 - Simulações por Dinâmica Molecular

3.3.1 – Pacote de simulação

Para a realização das simulações optamos por utilizar o pacote GROMACS (Lindahl *et al.* 2001) na versão 3.2, que consiste de um conjunto de programas capazes de executar todos os passos necessários aos experimentos com dinâmica molecular, desde a preparação dos sistemas até a análise dos resultados obtidos.

Esse sistema é largamente utilizado, podendo-se dizer que se trata de um dos mais conhecidos programas de simulação, o que lhe confere inúmeras vantagens. Dentre elas destacamos o fato de existir uma grande comunidade de usuários, o que facilita a busca por informações novas, troca de conhecimento e solução de possíveis problemas. Também é um programa muito citado em publicações científicas, o que lhe garante grande confiabilidade com relação aos métodos implementados.

3.3.2 – Montagem dos sistemas

O estudo dos sistemas contendo água e polímero, visando reproduzir resultados experimentais gerou a necessidade de se desenvolver um procedimento alternativo para a montagem das caixas de simulação, de forma a possibilitar a obtenção de concentrações exatas dos componentes do sistema.

O número total de átomos simulados nas diferentes concentrações escolhidas para esse trabalho pode ser visto na tabela 1, onde constam também o número de moléculas de PEG₄₀₀ a serem simuladas e o número de moléculas de água necessárias para se atingir a concentração desejada, considerando que a montagem do sistema é feita como no procedimento experimental, ou seja, em porcentagem de massa dos componentes.

Tabela 1: Composição dos sistemas em diferentes concentrações.

Concentração % massa	Nº moléculas PEG₄₀₀	Nº moléculas H₂O	Total de átomos
1	12	26.500	79860
5	60	25.350	77850
15	147	18.510	59940
25	147	9.800	33810
35	288	11.885	44295
50	288	6.400	27840
65	324	3.877	21351
75	324	2.400	16920
85	324	1.271	13533
95	400	468	13404
100	400	0	12.000

O número de moléculas de PEG₄₀₀ foi ajustado para cada concentração, de modo a reduzir o tempo de máquina necessário para se simular intervalos de tempo capazes de levar os sistemas ao equilíbrio. Para tanto, foi necessário simular a maior quantidade possível de moléculas de PEG, sem deixar o número total de átomos se tornar excessivamente grande a ponto de inviabilizar o trabalho. Como resultado, o número total de átomos nas simulações variou de 12.000 a aproximadamente 80.000 átomos dependendo da concentração.

Foram testados diferentes modelos para a molécula de água, sendo eles o Single Point Charge (SPC) e os modelos TIP4P e TIP5P. O modelo escolhido para ser utilizado nesse trabalho foi o SPC por apresentar bons resultados comparados a valores experimentais, com a vantagem de não impor ao sistema um custo computacional muito alto.

O processo de montagem das caixas de simulação tem início com a definição do número de moléculas de PEG que entrarão na composição da mesma. A escolha do número de moléculas deve levar em conta o tamanho e a forma da caixa resultante, já que a molécula de PEG se encontra na forma estendida, o que pode resultar em caixas de formato retangular, o que não é desejável. O número de moléculas de água necessário para compor

a caixa na concentração desejada também é um fator decisivo na definição da quantidade de moléculas de PEG a serem utilizadas, pois, sendo a massa molecular do PEG muito superior à da água, uma única molécula de PEG a mais pode criar a necessidade de se incluir centenas de moléculas de água para ajustar a concentração, o que eleva rapidamente o número total de átomos presentes na simulação.

Com o intuito de manter as caixas de simulação o mais próximo possível da forma cúbica, optamos por organizar as moléculas de PEG compondo “linhas e colunas” em matrizes de 2 ou 3 dimensões conforme o número de moléculas a agrupar. A figura 5 mostra exemplos de organização das moléculas em duas e três dimensões.

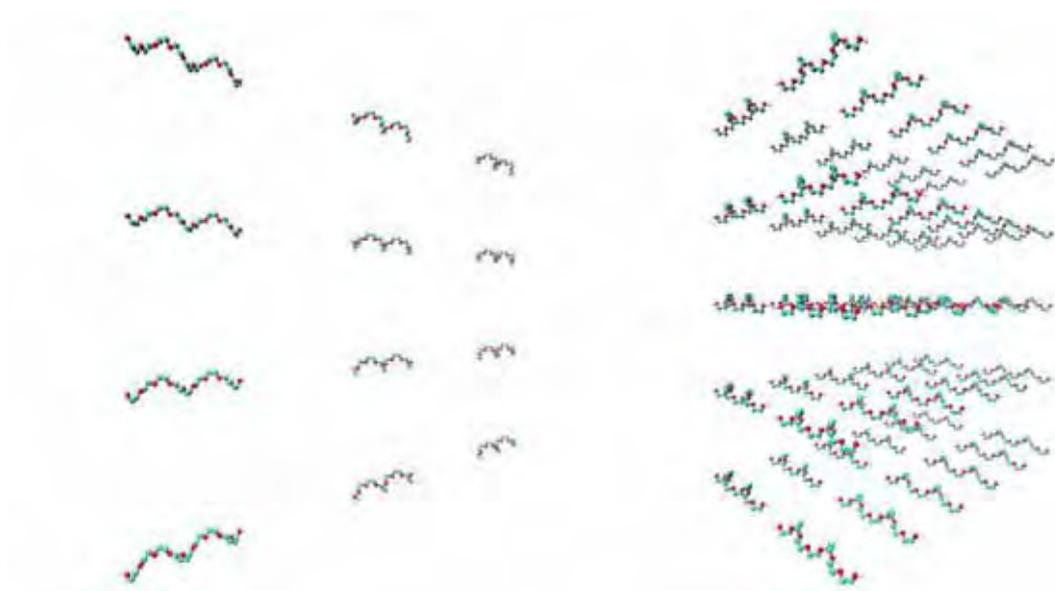


Figura 5: Organização espacial das moléculas de PEG₄₀₀ nas caixas de simulação

O preenchimento da caixa com moléculas de água também foi pensado de forma a tentar reduzir o tempo necessário para a estabilização do sistema, evitando situações iniciais que favoreçam aglomeração das moléculas de PEG. O processo de colocação dessas moléculas visa criar uma camada de solvatação uniforme ao redor das moléculas de PEG, evitando o contato direto das mesmas na conformação inicial. Logicamente que essa camada de solvatação depende da quantidade de água presente no sistema, o que acima de determinada concentração de PEG é difícil de se obter.

Na prática, o procedimento adotado segue o seguinte roteiro:

- 1- Definir o número de moléculas de PEG e o correspondente número de moléculas de água para compor a caixa na concentração desejada.
- 2- Escolher a forma de organização das moléculas de PEG (linhas e colunas)
- 3- Montar a caixa com as moléculas de PEG na forma escolhida deixando espaço entre elas.
- 4- Preencher com água o espaço livre e comparar o número de moléculas de água que couberam na caixa com o número pretendido.
- 5- Criar novas caixas, reajustando o espaço deixado entre as moléculas de PEG, até que o número de moléculas de água inseridas na caixa se aproxime ao máximo da quantidade desejada.
- 6- Restando uma pequena quantidade de moléculas de água a mais na caixa de simulação pode-se remover manualmente as últimas moléculas, obtendo-se assim a concentração exata desejada.

O procedimento de remoção manual de moléculas de água excedentes na caixa cria uma pequena região de vácuo que será rapidamente corrigida durante o processo de termalização do sistema, o que não deve gerar maiores problemas.

3.3.3 – Minimização de energia

Cada sistema a ser simulado passou por um processo de minimização de energia, processo este que tem por finalidade reduzir a energia potencial do sistema pela busca de mínimos de energia, o que favorece a correta termalização do sistema, pois em uma simulação de dinâmica molecular, ocorre constantemente a conversão de energia potencial em cinética, e picos de energia potencial podem levar ao aparecimento de regiões com temperatura acima do esperado, o que pode comprometer o resultado final obtido.

Para esse procedimento foi utilizado o algoritmo *steepest descent* (Wiberg, 1965) implementado no programa GROMACS. Esse algoritmo define um vetor \vec{r} como um vetor para todas as 3N coordenadas e utiliza um valor inicial h_0 para o deslocamento máximo permitido para os átomos (por exemplo $h_0 = 0.01\text{nm}$).

O processo tem início com o cálculo das forças (\vec{F}) e da energia potencial, seguido da determinação das novas posições atômicas, calculadas com a seguinte equação:

$$\vec{r}_{n+1} = \vec{r}_n + \frac{\vec{F}_n}{\max(|\vec{F}_n|)} h_n$$

onde h_n é o deslocamento máximo e \vec{F}_n a força, calculada como:

$$\vec{F}_n = -\nabla V(\{\vec{r}_n\})$$

A energia e as forças são então novamente calculadas para as novas posições e então a energia potencial resultante é avaliada com o seguinte critério:

Se ($V_{n+1} < V_n$) as novas posições são aceitas e $h_{n+1} = 1,2h_n$.

Se ($V_{n+1} \geq V_n$) as novas posições são rejeitadas e $h_n = 0,2h_n$.

O procedimento é então repetido até que uma condição de parada seja atingida, podendo tal condição ser um número máximo de interações ou um limite mínimo para a força calculada.

3.3.4 – Procedimentos de simulação

As simulações foram divididas em grupos de acordo com o modelo de polímero utilizado, de forma a permitir uma padronização dos arquivos de configuração e procedimentos a serem executados, visando obter maior controle sobre os resultados e evitar que algum parâmetro de configuração fosse alterado em simulações do mesmo tipo.

Em todas as simulações os sistemas tinham temperatura e pressão controladas por meio de acoplamento a banhos térmicos e pressostatos, utilizando os algoritmos Berendsen implementados no GROMACS. O passo de integração utilizado foi de 2 fs e o tempo real simulado foi de 5ns na maioria dos casos, com exceção no caso das simulações onde se utilizou temperatura variável, onde os tempos necessários para que o sistema se adapte às variações de temperatura são consideravelmente maiores.

O campo de força escolhido foi o ffgmx, (Berendsen *et al*, 1995; van der Spoel *et al*, 2001) que é derivado do GROMOS-87. (van Gunsteren e Berendsen, 1987) Foram utilizadas condições periódicas de contorno na forma padrão do GROMACS (xyz) de forma a evitar a ocorrência de efeitos de borda. Nesse procedimento são geradas réplicas da caixa de simulação, essas réplicas são conectadas à volta da caixa simulada, nos três eixos, em uma estrutura de 3 x 3 x 3 perfazendo um total de 26 cópias na primeira camada, com a caixa principal ao centro. Esse procedimento de replicação se estende até onde for necessário e permite que o sistema se comporte como se tivesse tamanho infinito. Na figura 6 temos um esquema de como ficam dispostas a caixa de simulação e suas cópias em dois eixos do espaço tridimensional.

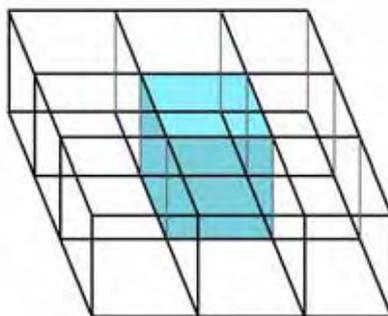


Figura 6: Réplicas da caixa de simulação para evitar os efeitos de borda.

O tratamento eletrostático foi feito com raio de corte (*Cut-off*) tanto para as interações de Coulomb quanto para as de Van der Waals, com valor para estes raios de corte de 0,9 nm, o que é sempre menos que a metade do comprimento do menor lado da caixa de simulação. Esse cuidado com o valor do raio de corte garante que nenhum átomo

ou molécula presente na caixa de simulação seja considerado mais de uma vez nos cálculos das interações eletrostáticas.

Algumas simulações foram realizadas para avaliar os possíveis efeitos resultantes do uso de raios de corte superiores a 0,9 nm e o nível de adequação desse valor. Tais simulações foram executadas com sistemas contendo 85% de PEG₄₀₀ e os dados obtidos são apresentados posteriormente, junto com os outros resultados.

3.3.4.1 – Estudos de densidade

Esta parte do trabalho é composta de um conjunto de simulações de moléculas de PEG₄₀₀ em água, em diferentes concentrações desde 1 até 100% de PEG. Em todos os experimentos desse grupo os parâmetros de temperatura e pressão do sistema foram 298,15 K e 1 bar.

O tempo real de simulação de 5 ns é suficiente para que o sistema PEG₄₀₀/água se estabilize em todas as concentrações selecionadas, sendo esse o valor de tempo adotado. A estabilidade do sistema é confirmada com a análise das flutuações nos valores de temperatura, pressão, densidade e diferentes energias do sistema em função do tempo decorrido da simulação. Um exemplo de comportamento da densidade em função do tempo é mostrado na figura 7.

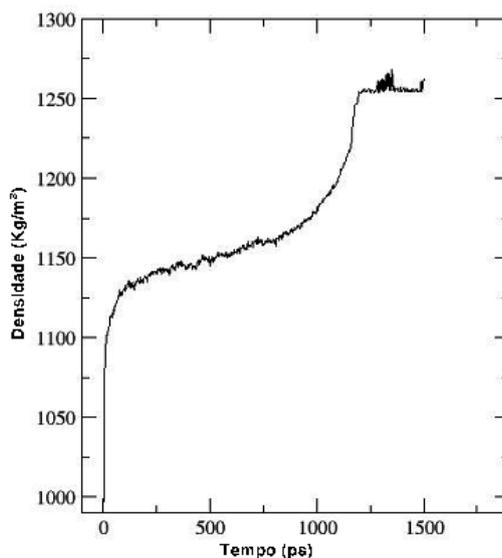


Figura 7: Variação da densidade do sistema em função do tempo de simulação.

A maioria dos sistemas estudados já apresenta um estado próximo da estabilidade com tempos de simulação na faixa de 2 ns sendo que nenhum sistema necessitou de mais de 2,5 ns para que temperatura e pressão convergissem para valores estáveis. O tempo adicional de simulação após atingir tal estabilidade tem como finalidade permitir uma possível reorganização final do sistema e gerar os dados a serem analisados posteriormente, sendo descartada nas análises a faixa de tempo onde o sistema ainda apresenta grandes flutuações em suas características.

3.3.4.1.1 – Ajuste da composição por secagem

Para os sistemas com concentrações de PEG₄₀₀ entre 65 e 100% foi aplicado também um procedimento de ajuste de concentração por secagem a partir de uma concentração inicial de 35%.

Nesse processo inicia-se com uma caixa já estabilizada após 5 ns de simulação e retira-se, gradativamente, moléculas de água, executando novos passos de simulação de forma a ajustar o tamanho da caixa e a pressão do sistema, até atingir a concentração final desejada. A composição exata dos sistemas ajustados por esse processo pode ser vista na tabela 2.

Tabela 2: Composição das caixas ajustadas por secagem

Concentração (%)	Nº Mol. PEG	H ₂ O inicial	H ₂ O Final
65	147	6068	1759
75	147	6068	1089
85	147	6068	577
95	147	6068	172
100	147	6068	0

Após atingir a concentração final pretendida tem início uma nova simulação para a correta estabilização do sistema e produção dos dados finais para análise.

3.3.4.2 – Estudos com temperatura

Foi realizado um conjunto de simulações utilizando os modelos propostos com o intuito de avaliar o comportamento da densidade de tais sistemas, em função da temperatura e possibilitar uma comparação direta dos valores obtidos experimentalmente.

Para tanto foram realizadas simulações em quatro temperaturas diferentes para as quais encontramos valores de densidade em diferentes concentrações de PEG₄₀₀ em água. Essas temperaturas foram de 298,15 K, 308,15 K, 318,15 K, e 328,15 K sendo as mesmas utilizadas por Müller e Rasmussen em seus experimentos.

3.3.4.3 – Separação de fase

Possíveis efeitos moleculares envolvidos no processo de separação de fases de sistemas PEG/água também foram estudados por meio de simulações, nos mesmos moldes dos estudos da variação da densidade em função da temperatura.

Esses estudos foram realizados com um modelo de PEG de massa molecular 1.696 g/mol, PEG₁₆₉₆. O modelo foi construído exatamente da mesma forma que o modelo de PEG₄₀₀, utilizando os programas JME Molecule Editor, CORINA e o PRODRG. Devido ao grande número de átomos que compõem a molécula de PEG₁₆₉₆ não foi possível efetuar o cálculo das cargas atômicas com o programa GAMESS e, portanto, o modelo utilizou as cargas fornecidas diretamente pelo PRODRG.

Para esse experimento utilizamos uma caixa com 16 moléculas de PEG₁₆₉₆ a uma concentração de 10%, pré-estabilizada por 5 ns a uma temperatura de 440 K e pressão de 9 bar. Durante o experimento, com duração também de 5 ns foi executado um resfriamento gradativo do sistema de 440 K iniciais para 400 K, o que resulta em uma taxa de variação de temperatura de 8 K/ns. Essa variação da temperatura do sistema é executada utilizando o procedimento de *Simulated Annealing* implementado no GROMACS, onde o programa faz uma interpolação linear das temperaturas inicial e final com relação ao tempo de simulação. Durante a simulação o GROMACS constantemente ajusta a temperatura de referência do acoplamento térmico para a temperatura desejada o que resulta na variação da temperatura do sistema.

O tratamento da temperatura, pressão e o controle dos comprimentos de ligação foram configurados com os seguintes parâmetros:

```

; Berendsen temperature coupling is on in two groups
Tcoupl          = berendsen
tau_t           = 0.01      0.01
tc-grps         = PEG      sol
ref_t           = 440      440
; Pressure coupling is on
Pcoupl          = berendsen
pcoupltype      = isotropic
tau_p           = 0.05
compressibility = 4.5e-5
ref_p           = 9.0

; OPTIONS FOR BONDS
constraints      = hbonds
; Type of constraint algorithm
constraint-algorithm = lincs
; Do not constrain the start configuration
unconstrained-start = yes
; Highest order in the expansion of the constraint coupling matrix
lincs-order      = 8
; Number of iterations in the final step of LINCS. 1 is fine for
; normal simulations, but use 2 to conserve energy in NVE runs.
; For energy minimization with constraints it should be 4 to 8.
lincs-iter       = 16
; Lincs will write a warning to the stderr if in one step a bond
; rotates over more degrees than
lincs-warnangle  = 150
; Convert harmonic bonds to morse potentials
morse            = no

```

3.4 - Análise e visualização

A maior parte dos procedimentos para a análise dos resultados obtidos foi executada utilizando rotinas específicas implementadas no pacote GROMACS.

A função de distribuição radial, que foi utilizada em diferentes partes deste trabalho é implementada no pacote GROMACS da seguinte forma:

$g(r) = \langle N(r) \rangle / (4\pi r^2 dr \rho)$, onde $N(r)$ é o número de moléculas de água em uma região esférica ($4\pi r^2 dr$), normalizada pela densidade da água, ρ .

O valor da superfície acessível ao solvente (SAS) (Eisenhaber *et al*, 1995), foi calculado com a média da superfície total de PEG acessível ao solvente, nos últimos 500 ps

de simulação, dividida pelo número de moléculas de PEG na caixa, resultando na superfície média acessível ao solvente por molécula.

Os cálculos do volume de excesso em solução foram feitos conforme descrição de Müller e Rasmussen, onde o volume de excesso V^E é expresso em função da massa total da mistura e é calculado com a seguinte equação:

$$V^E = \frac{1}{\rho} - \left(\frac{W_1}{\rho_1} + \frac{W_2}{\rho_2} \right)$$

onde W_1 e W_2 são as frações das massas dos componentes do sistema, ρ_1 e ρ_2 são suas densidades e ρ é a densidade total do sistema.

Funções de excesso são muito utilizadas para avaliar o quanto uma solução real se desvia da idealidade. O volume de excesso V^E é de grande importância pois seu comportamento está associado às forças de interação, efeitos estruturais e efeitos de solvatação. Interações físicas assim como a quebra de ordem da estrutura líquida no sistema contribui positivamente para o valor de V^E enquanto efeitos de solvatação e formação de pontes de hidrogênio contribuem negativamente para esse valor (Tôrres, R. B., 2004).

Para inspeção visual e geração das imagens foi utilizado o programa Visual Molecular Dynamics - VMD (Humphrey *et al.* 1996).

4 – Resultados

4.1 – Cargas

Os valores das cargas atômicas, obtidos com o programa GAMESS diferem dos valores calculados pelo PRODRG. Nos dois casos a molécula se encontra com carga total nula por se tratar o PEG de um polímero neutro. A figura 8 apresenta o perfil de cargas obtido com os dois métodos para a molécula de PEG₄₀₀ onde os números no eixo X representam os 30 grupos atômicos que formam a molécula, como pode ser visto na figura 9.

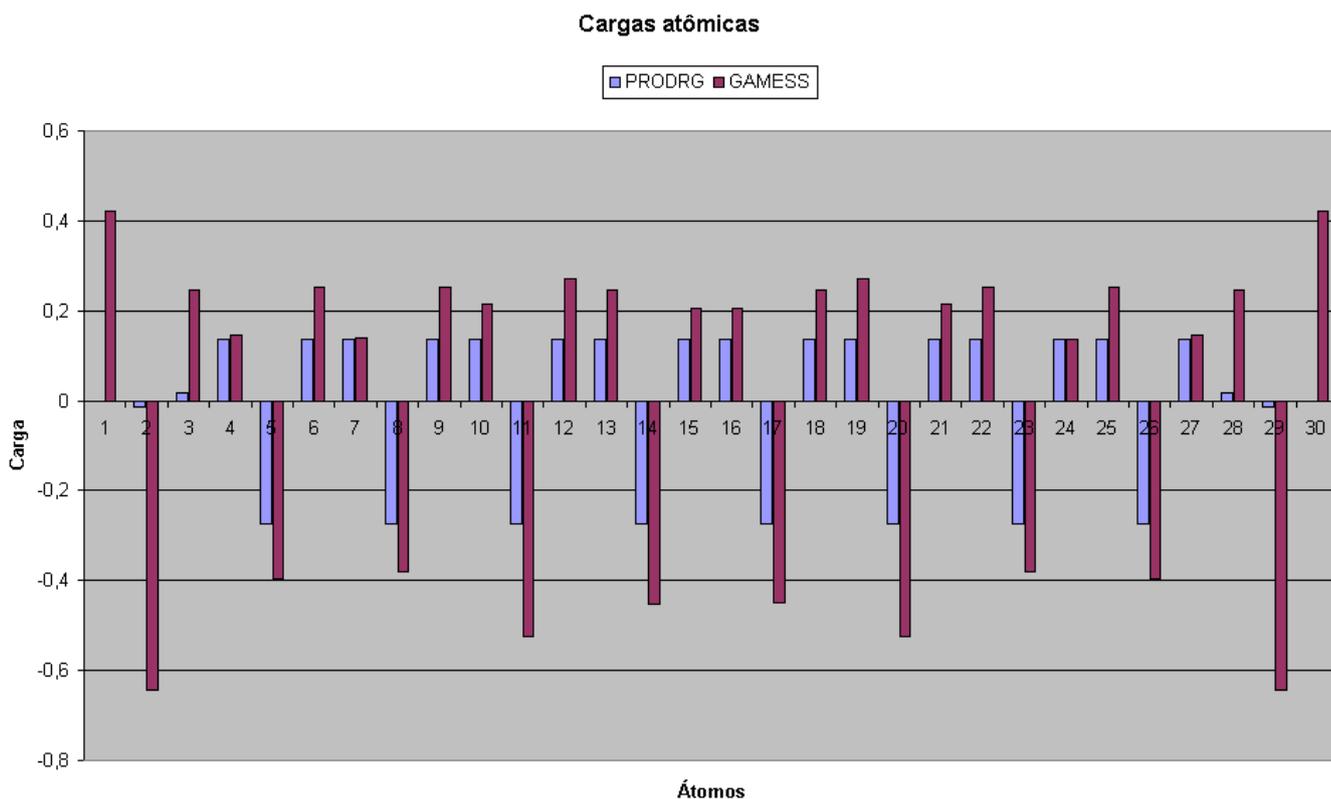


Figura 8: Perfil de cargas para a molécula de PEG₄₀₀.

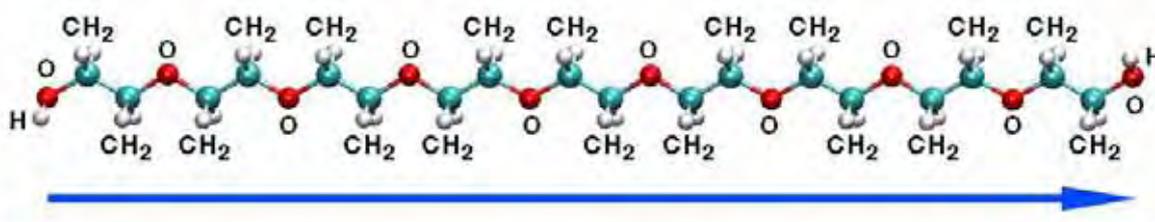


Figura 9: Representação dos grupos atômicos do modelo de PEG₄₀₀.

4.2– Raios de corte

Os dados obtidos nas simulações com raios de corte distintos foram utilizados para avaliar possíveis diferenças de densidade ou organização dos sistemas e garantir a adequação do valor escolhido para esse parâmetro.

Com relação à densidade, o resultado obtido com raio de corte de 1,9 nm difere em apenas 0,87% do valor obtido com o raio de corte padrão de 0,9 nm utilizado nas simulações.

Avaliamos também a função de distribuição radial entre os oxigênios dos grupos hidroxila das moléculas de PEG₄₀₀ e os oxigênios das moléculas de água, o que pode ser visto nas figuras de 10 a 12, representando a 11 o número cumulativo. A figura 13 apresenta a função de distribuição radial entre os átomos de oxigênio das moléculas do solvente. As tabelas 3 e 4 trazem detalhes sobre os picos vistos nas figuras 10 e 13.

Em todos os casos as pequenas diferenças verificadas nos sistemas não são críticas a ponto de comprometer os resultados obtidos e, portanto consideramos adequado o uso do raio de corte de 0,9 nm em todas as simulações.

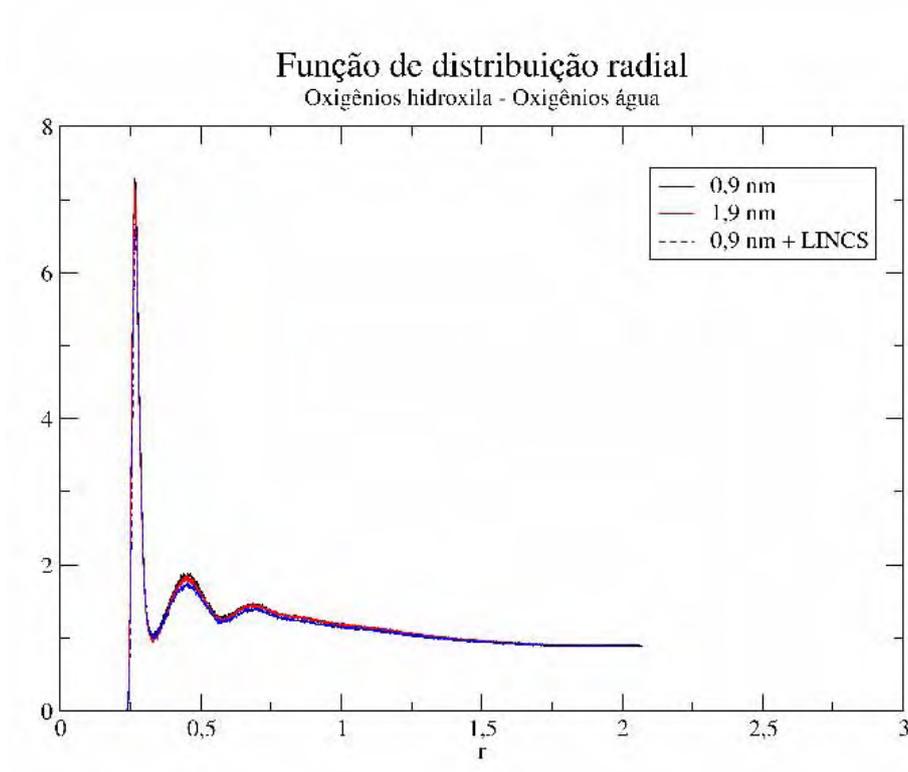


Figura 10: Função de distribuição radial O_{hidroxila} – O_{água}

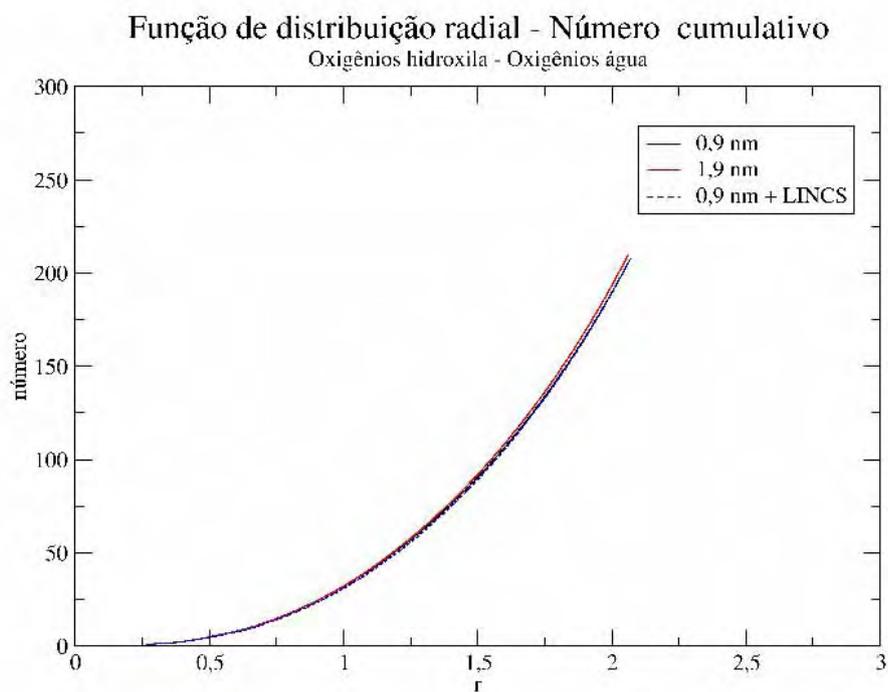


Figura 11: Função de distribuição radial - Número cumulativo

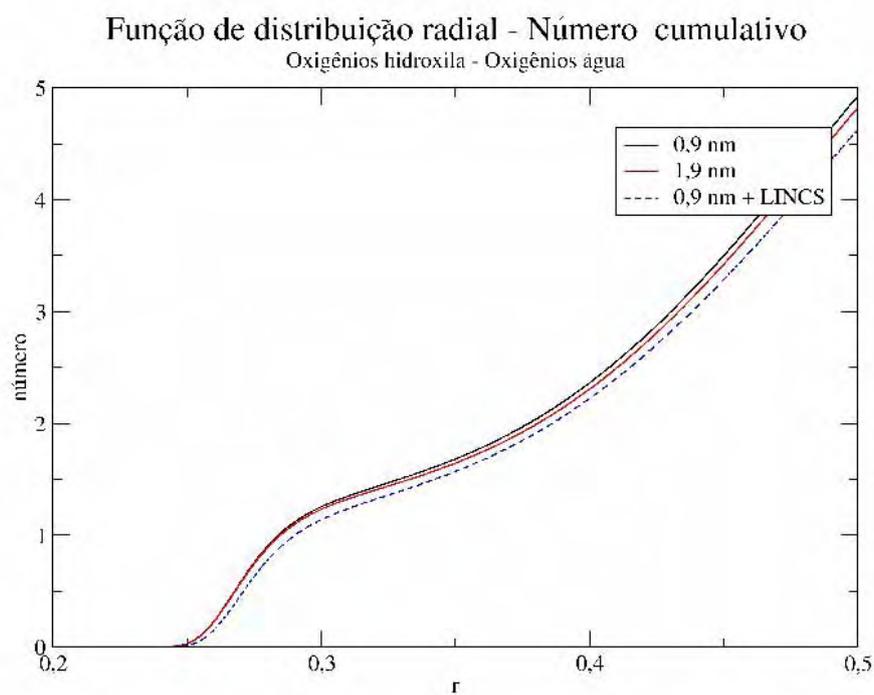


Figura 12: Ampliação da figura 11 na região de 0,2 a 0,5 nm

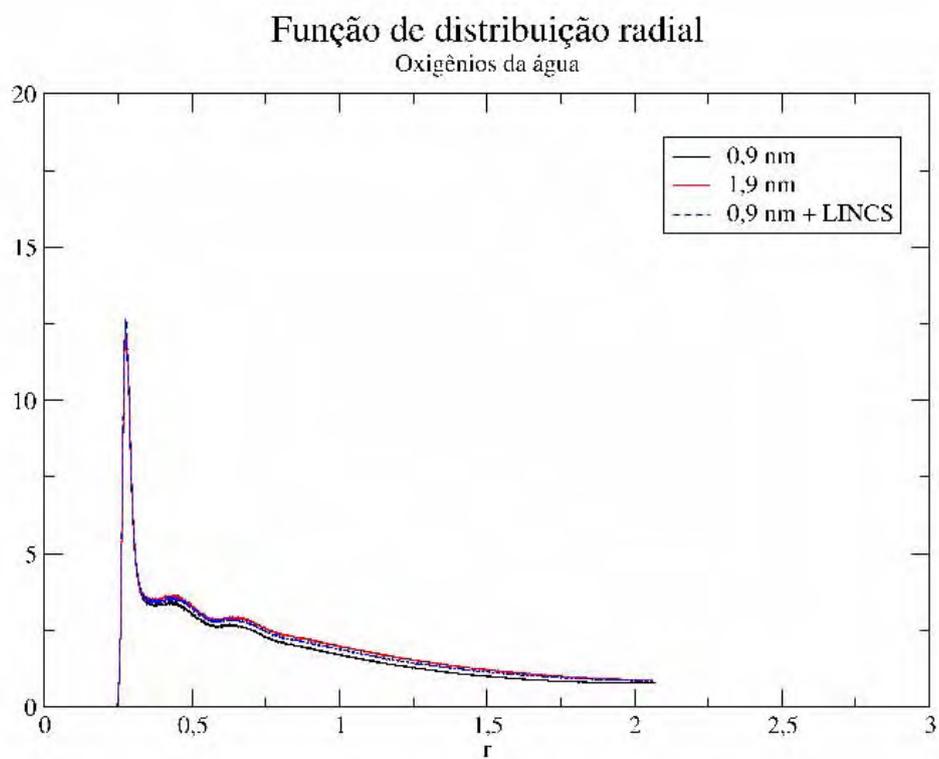


Figura 13: Função de distribuição radial entre oxigênios do solvente

Tabela 3: Coordenadas dos picos apresentados na figura 10.

(a)	Primeiro máximo		Primeiro mínimo		
	Raio de corte	r	g(r)	r	g(r)
	0,9	0,265	7,280	0,326	0,984
	1,9	0,266	7,190	0,332	0,943
	0,9 + LINCS	0,266	6,664	0,328	0,987

(b)	Segundo máximo		Segundo mínimo		
	Raio de corte	r	g(r)	r	g(r)
	0,9	0,454	1,889	0,582	1,254
	1,9	0,449	1,846	0,579	1,219
	0,9 + LINCS	0,453	1,750	0,561	1,198

(c)	Terceiro máximo		
	Raio de corte	r	g(r)
	0,9	0,687	1,474
	1,9	0,682	1,465
	0,9 + LINCS	0,696	1,408

Tabela 4: Coordenadas dos picos apresentados na figura 13.

(a)	Primeiro máximo		Primeiro mínimo		
	Raio de corte	r	g(r)	r	g(r)
	0,9	0,275	12,165	0,381	3,261
	1,9	0,276	12,205	0,366	3,379
	0,9 + LINCS	0,275	12,654	0,386	3,354

(b)	Segundo máximo		Segundo mínimo		
	Raio de corte	r	g(r)	r	g(r)
	0,9	0,430	3,464	0,585	2,572
	1,9	0,448	3,662	0,591	2,802
	0,9 + LINCS	0,439	3,562	0,593	2,781

(c)	Terceiro máximo		
	Raio de corte	r	g(r)
	0,9	0,646	2,701
	1,9	0,654	2,958
	0,9 + LINCS	0,645	2,882

4.3 – Estabilização

O acompanhamento do processo de estabilização dos sistemas simulados foi feito com base em diferentes parâmetros, dentre eles temos a convergência de valores de energia total e superfície acessível ao solvente. Esse último reflete diretamente mudanças na conformação das moléculas de PEG e seu posicionamento com relação ao solvente.

Conforme pode ser visto na figura 14, a maior parte dos sistemas já atingiu valores de SAS praticamente estáveis com tempos de simulação próximos de 2500 ps. Por medida de segurança, os dados obtidos com menos e 4000 ps foram descartados no processo de análise dos resultados.

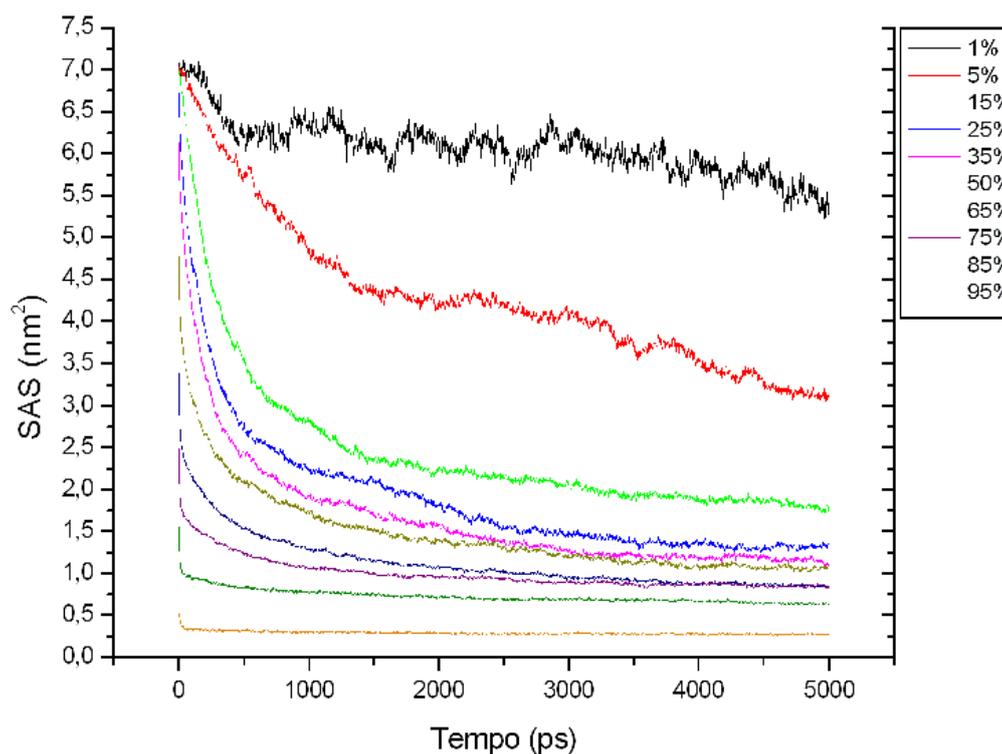


Figura 14: Evolução dos valores da superfície acessível ao solvente por molécula de PEG₄₀₀ durante o processo de simulação.

No caso das simulações para estudos relacionados com o efeito separação de fases o descarte dos dados dos primeiros 4 ns de simulação não é necessário, pois todas são

executadas com caixas que já passaram por simulações de no mínimo 5 ns e assim suas moléculas já tiveram tempo suficiente para se organizar.

O comportamento dos valores de energia total do sistema, em função do tempo de simulação pode ser visto na figura 15, onde temos os sistemas com concentração de 1% até 50%.

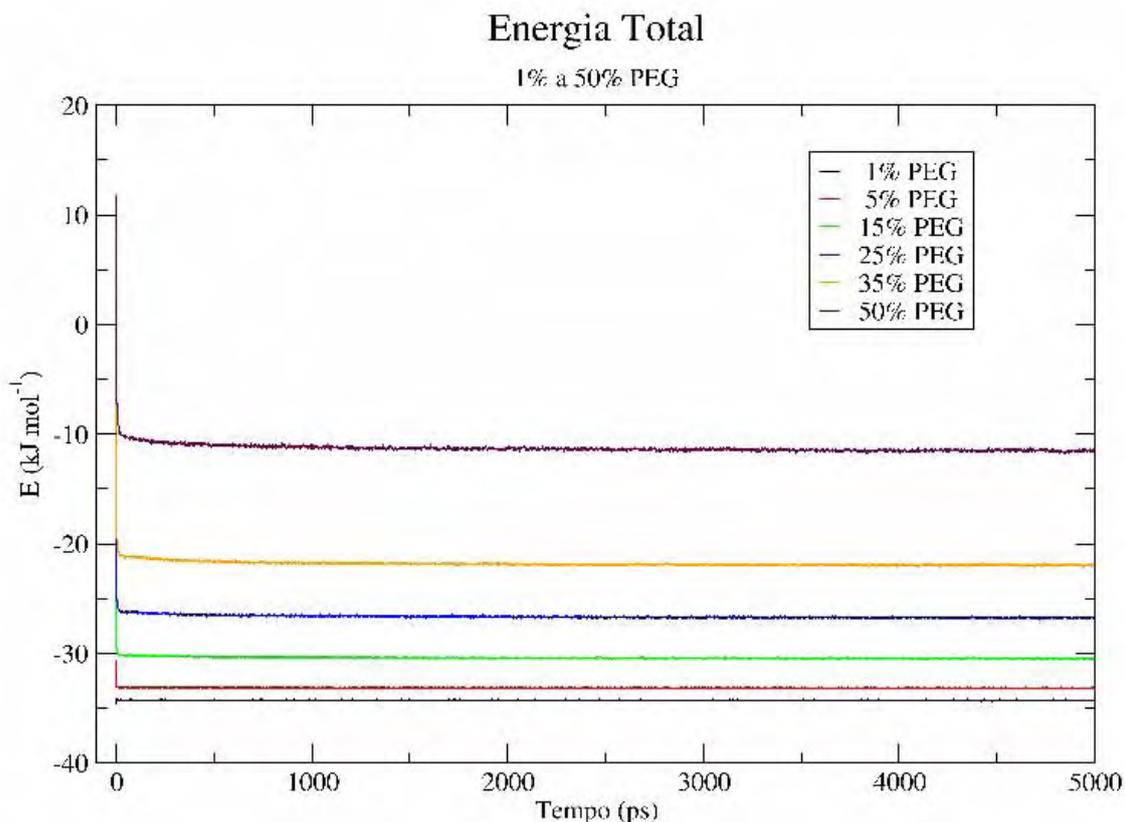


Figura 15: Energia total dos sistemas em função do tempo de simulação

4.4 - Densidades

Os valores de densidade para o sistema PEG₄₀₀/água, obtidos por diferentes métodos, em toda a faixa de concentração estudada, à temperatura de 298,15 K são mostrados na figura 16 juntamente com os valores experimentais citados por Müller e Rasmussen (1991). A figura 17 apresenta os desvios obtidos, quando comparados com os valores experimentais estimados para as mesmas concentrações, dos resultados de

densidade nas simulações do modelo PEG400_Lc e também dos sistemas com ajuste de concentração por secagem.

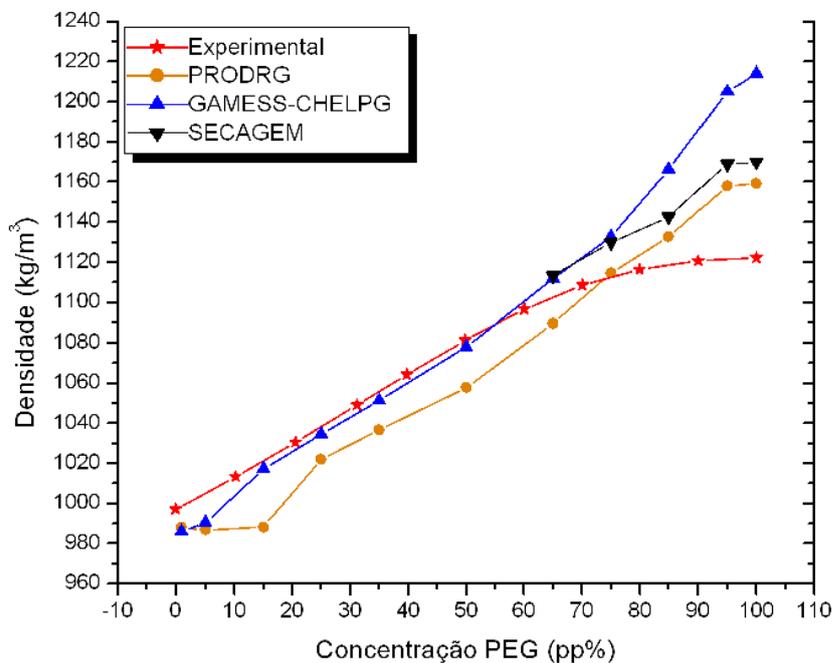


Figura 16: Variação da densidade em função da concentração a 298,15 K.

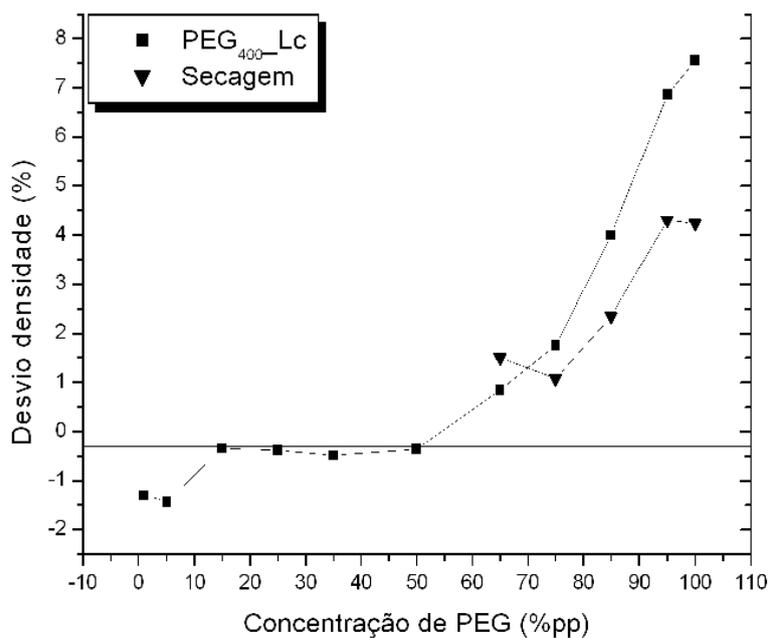


Figura 17: Desvio dos valores de densidade obtido para o sistema PEG400_Lc/água.

A figura 18 apresenta os resultados do cálculo de volume de excesso nas simulações com o modelo PEG400_Lc, os sistemas ajustados por secagem e os valores experimentais, em toda a faixa de concentração estudada.

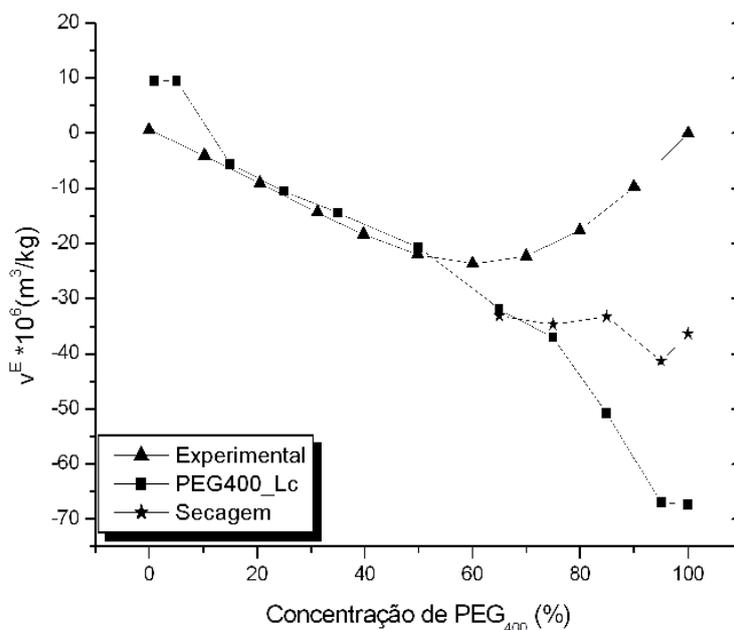


Figura 18: Volume de excesso em função da concentração de PEG.

Quatro simulações, em diferentes temperaturas entre 298 K e 328 K foram realizadas, em uma concentração de 50% de PEG₄₀₀. Os valores médios de densidade dos sistemas foram comparados a resultados experimentais (Müller & Rasmussen, 1991) e são mostrados na Figura 19. As densidades obtidas para 50% de PEG₄₀₀ diferem, em média, de 0,35% dos valores experimentais.

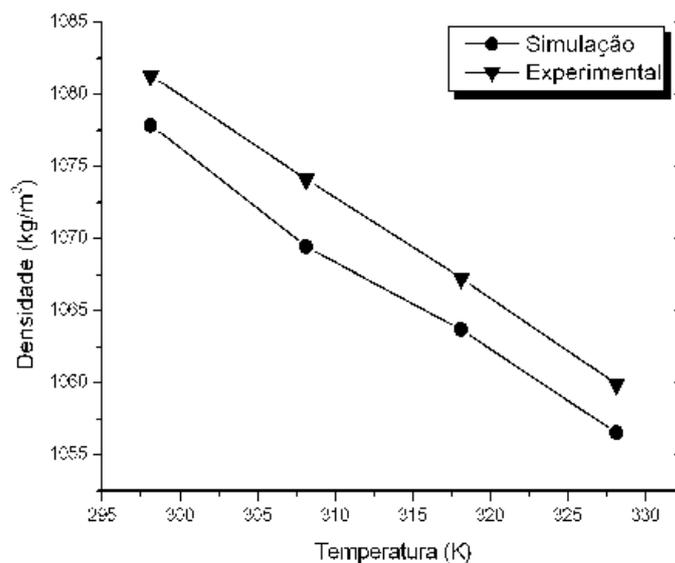


Figura 19: Densidade média de PEG₄₀₀ em água, em função da temperatura.

4.4.1 – Secagens

Os sistemas cuja concentração foi ajustada com a retirada gradual da água excedente apresentaram valores finais de densidade diferentes dos sistemas de mesma concentração montados diretamente no valor desejado. Tais diferenças já apresentadas em figuras anteriores podem ser vistas com mais detalhes na figura 20 onde temos somente os sistemas de mesma concentração para comparação direta.

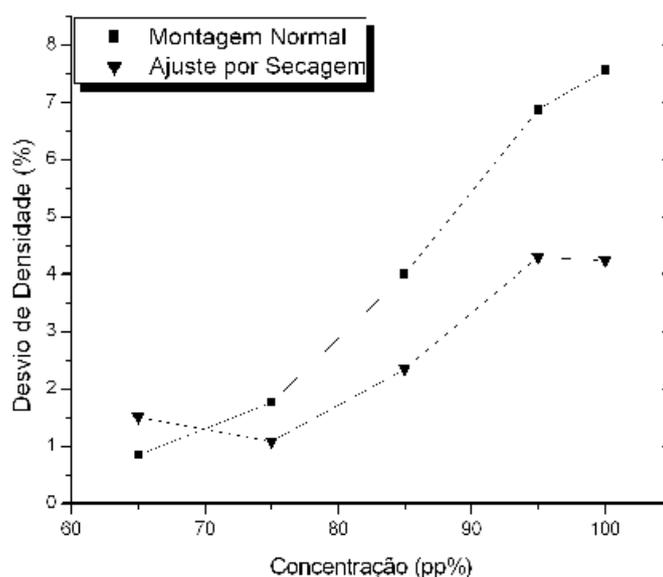


Figura 20: Desvio de densidade no ajuste por secagem.

Nota-se que com esse procedimento temos uma redução nos erros para quase metade do que ocorre no outro procedimento, com exceção do sistema a 65% que apresenta um erro maior.

A comparação da energia total dos sistemas também mostra resultados diferentes para os dois procedimentos, resultados esses vistos na figura 21.

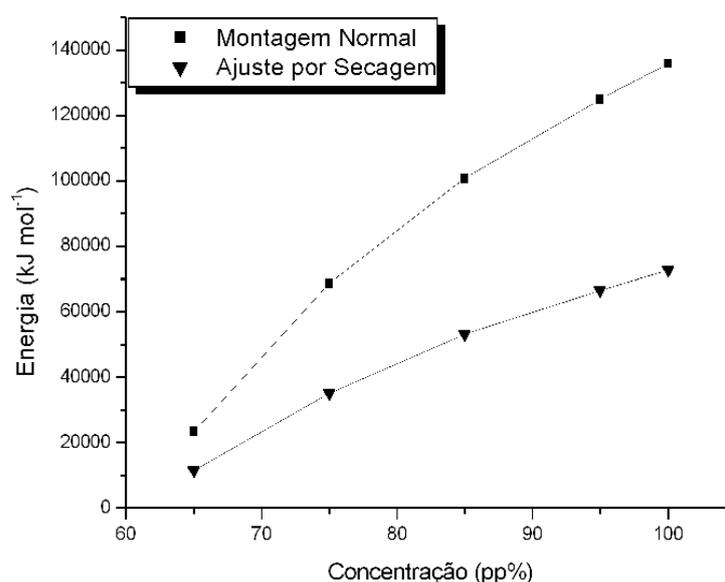


Figura 21: Variação da energia dos sistemas ajustados por secagem.

4.5 – Estruturas

Com os resultados das simulações em diferentes concentrações foram geradas imagens para visualizar a forma de organização espacial das moléculas nas diferentes fases do sistema PEG₄₀₀/água. A figura 22 apresenta o estado final do sistema PEG₄₀₀/água em concentrações entre 1 e 50%. As moléculas de água foram omitidas da imagem para melhor visualização.

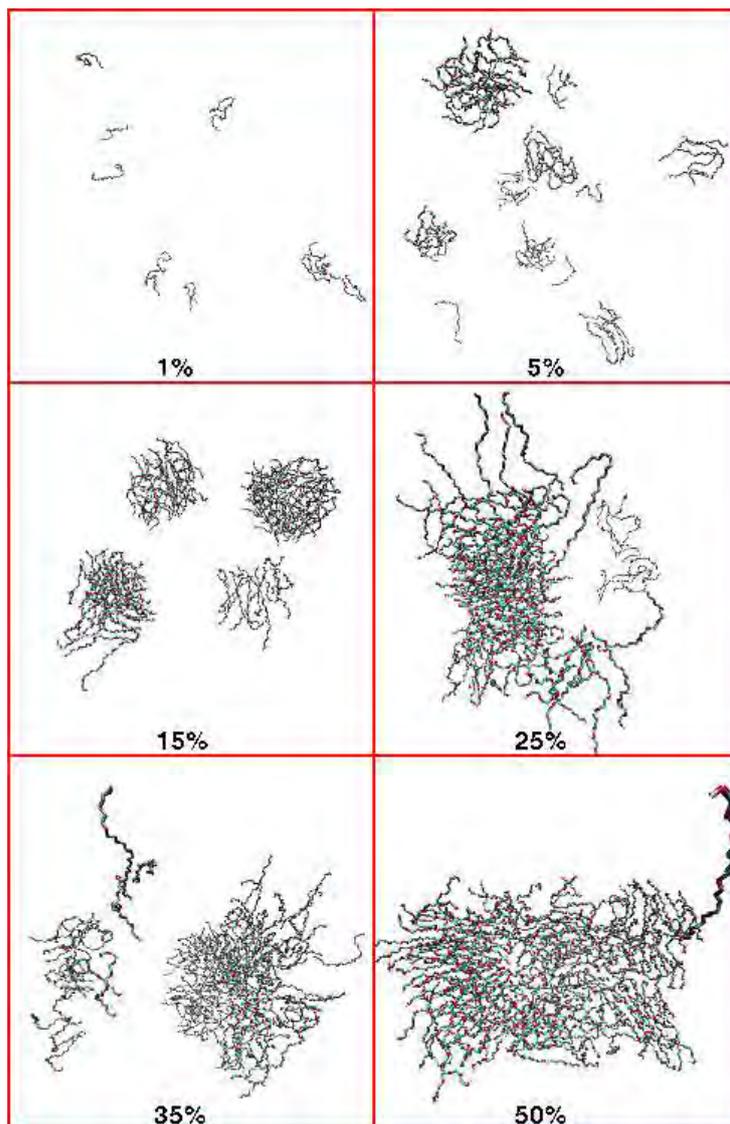


Figura 22: Estado final do sistema PEG₄₀₀/água em concentrações de 1% a 50%.

Os resultados de simulação indicam que, em concentrações muito baixas, as moléculas de PEG tendem a ficar soltas na solução e, com o aumento da concentração, passam a formar aglomerados cada vez maiores. Como efeito temos um aumento no número médio de pontes de hidrogênio formadas entre moléculas de PEG devido à maior proximidade das mesmas (figura 23).

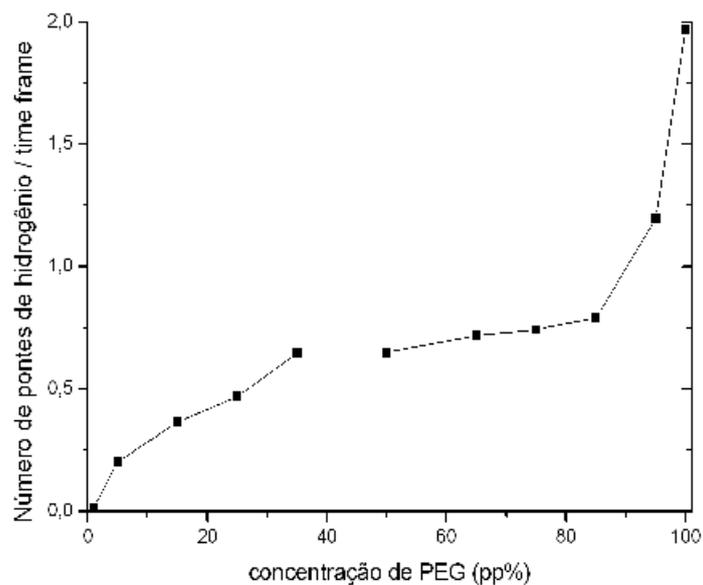


Figura 23: Número médio de pontes de hidrogênio entre moléculas de PEG₄₀₀.

Esse processo de aglomeração leva a uma diminuição da superfície acessível ao solvente, como visto na figura 24. Nesse gráfico vemos primeiramente o valor máximo possível para a superfície acessível ao solvente, por molécula de PEG, e o valor médio da superfície acessível ao solvente em diferentes concentrações.

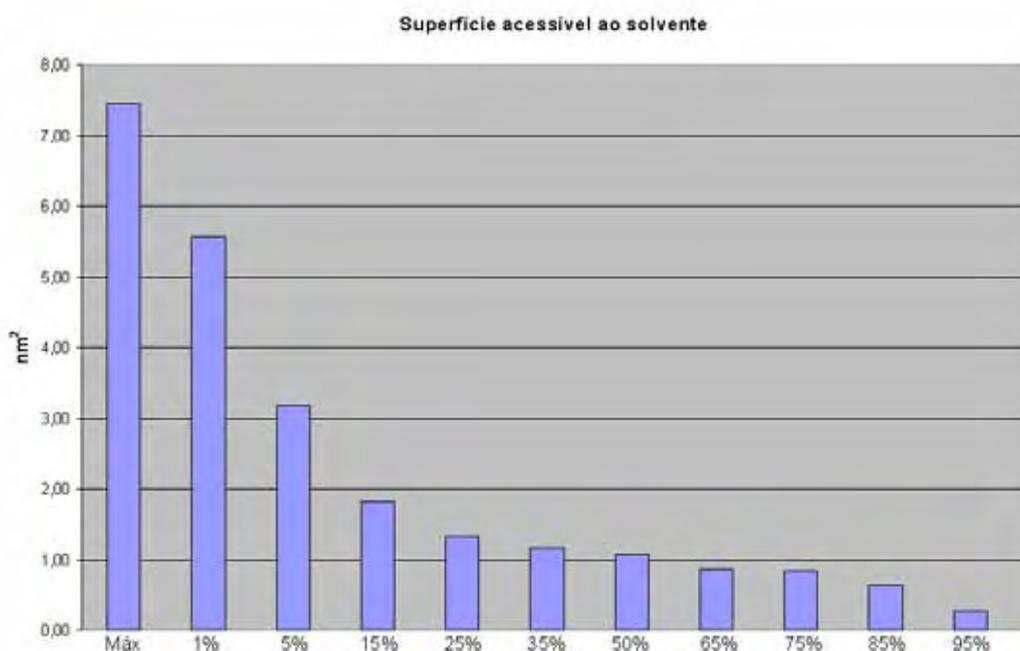


Figura 24: Superfície acessível ao solvente por molécula de PEG₄₀₀ em diferentes concentrações.

Em altas concentrações de PEG as moléculas de água começam a apresentar uma tendência a se concentrar em regiões isoladas, como visto na figura 25 para as concentrações de 75 e 95% de PEG₄₀₀.

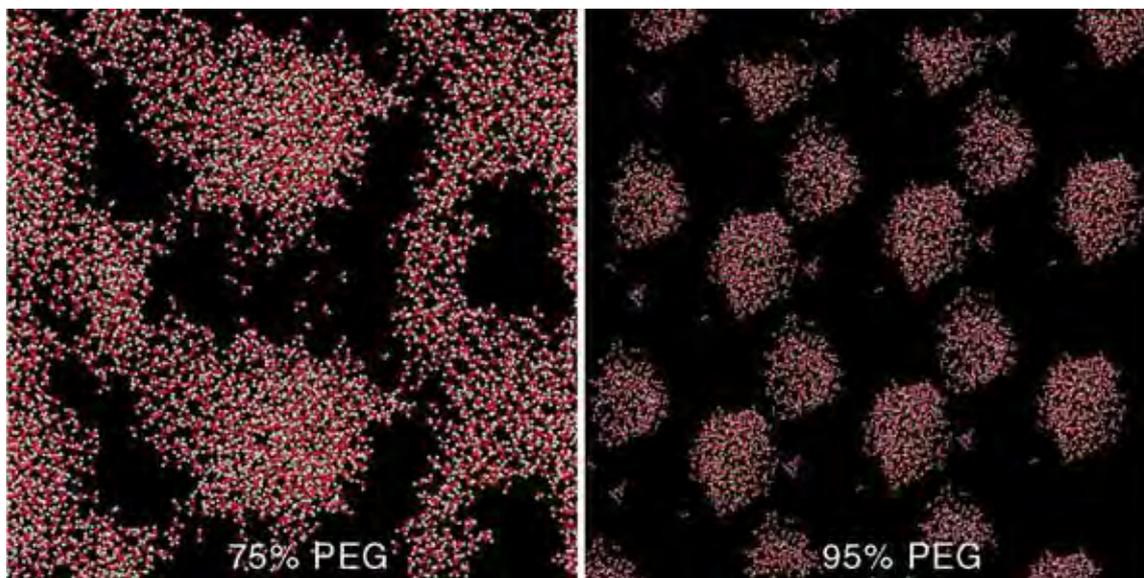


Figura 25: Organização das moléculas e água em concentrações de 75 e 95% PEG.

Essas regiões onde ocorre uma concentração das moléculas de água são as regiões próximas dos grupos hidroxila nas terminações das moléculas de PEG. A forma de organização final das moléculas de PEG nesses sistemas permite um certo agrupamento dos grupos hidroxila, o que favorece a formação das regiões ricas em água. A organização das moléculas de água em torno dos grupos hidroxila das moléculas de PEG pode ser visto nas funções de distribuição radial apresentados nas figuras 26 a 28.

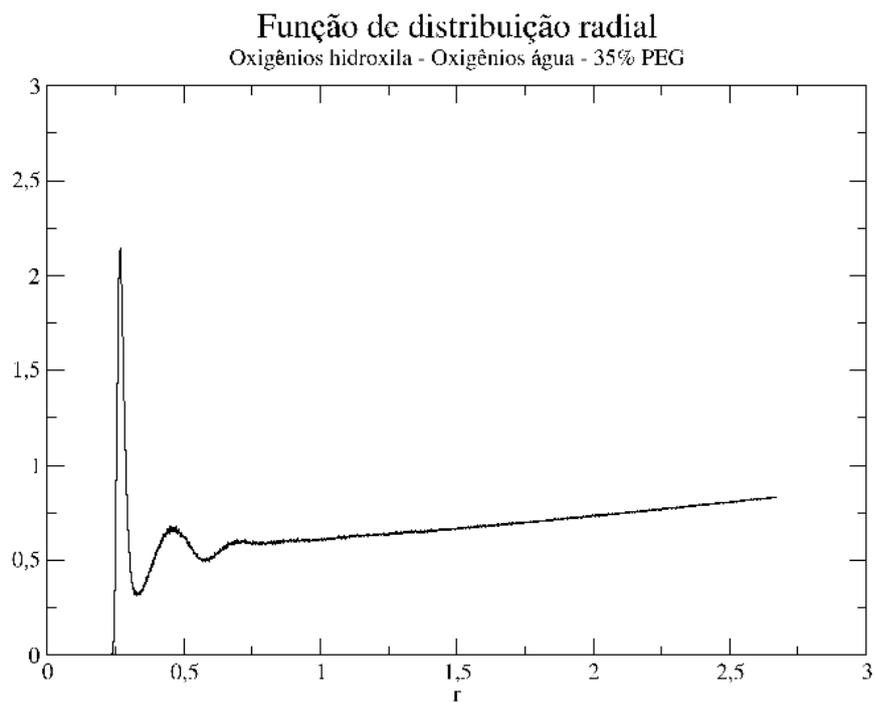


Figura 26: Função de distribuição radial entre grupos hidroxila e moléculas de água.

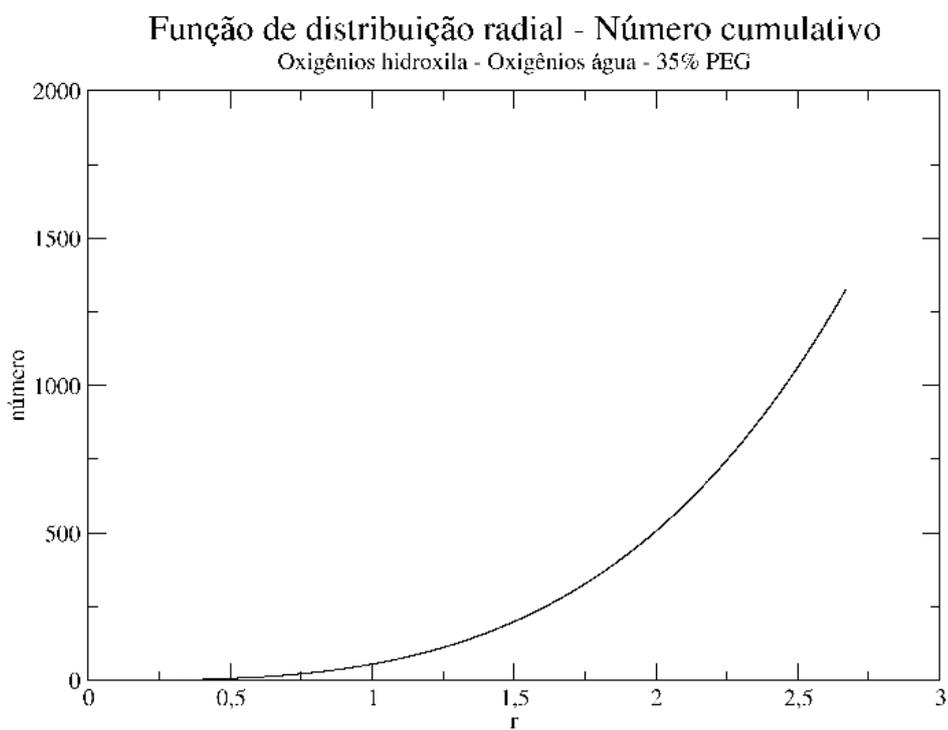


Figura 27: Número de moléculas do solvente junto aos grupos hidroxila

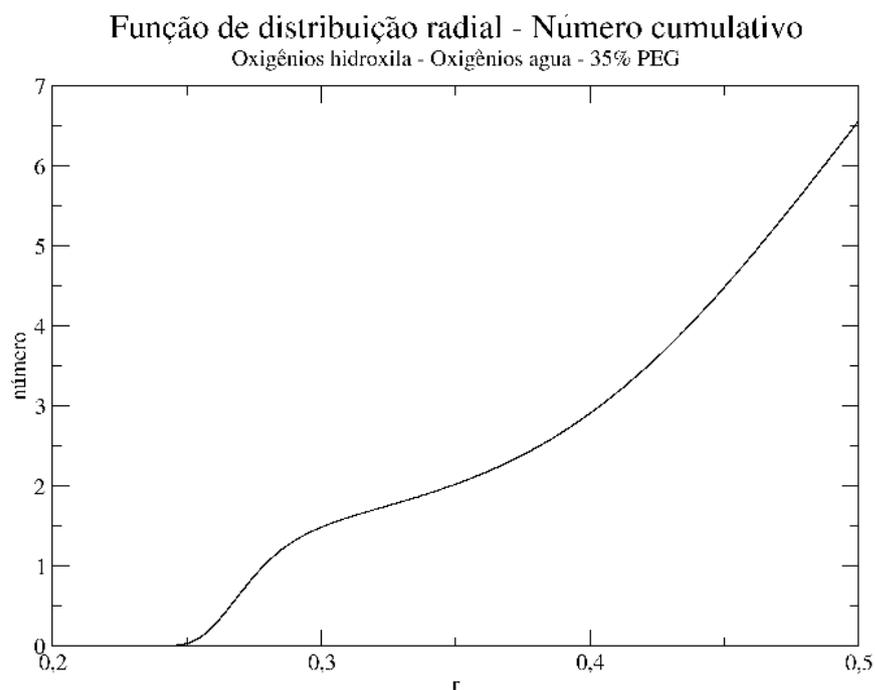


Figura 28: Ampliação da figura 27 na região de 0,2 a 0,5 nm

As funções de distribuição radial apresentadas representam a organização dos sistemas nos últimos 1000 ps dos 5000 ps totais simulados.

O modelo final PEG400_Lc, em sua forma helicoidal no vácuo tem seu momento de dipolo estimado pelo programa GAMESS em 2,2713 D.

No apêndice B foram incluídas maiores informações sobre o comportamento de alguns sistemas e diferentes parâmetros de interação para tais sistemas no decorrer das simulações.

4.6 – Separação de fases

Os resultados das análises das simulações com o modelo de PEG₁₆₉₆ indicam a ocorrência de efeitos moleculares que podem induzir a separação de fase do sistema a uma pressão média de 8,98 Bar em uma faixa de temperatura compreendida entre 423,3 e 424,1 K, temperaturas essas que ocorrem na simulação no intervalo de tempo de 2.050 e 2.150 ps.

A reestruturação das moléculas de PEG durante a ocorrência de tais efeitos pode ser vista na figura 29 onde temos o raio de giração das moléculas de PEG em função do tempo, e conseqüentemente em função da temperatura.

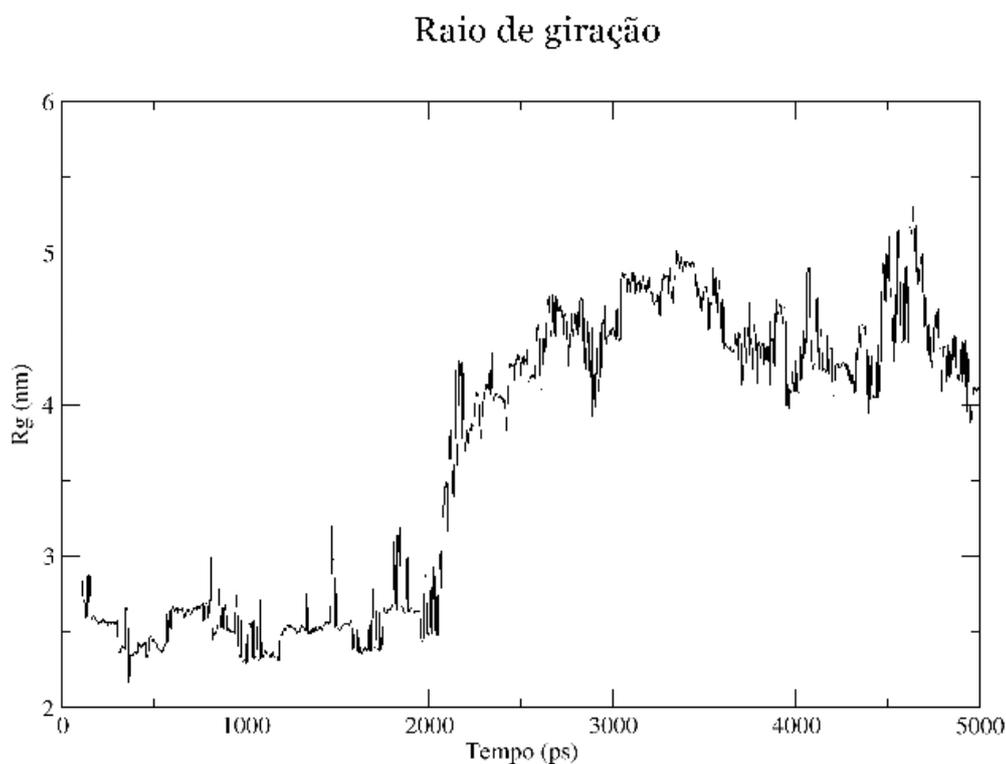


Figura 29: Variação do raio de giração com a variação de temperatura.

No intervalo entre 0 e 2.050 ps (440 K a 424,1 K) o raio de giração médio do aglomerado é de 2,542 nm e o sistema forma duas regiões distintas, uma composta quase exclusivamente por PEG e a outra por solvente. Na região de transição, que ocorre entre os

2.050 e 2.150 ps, ocorre um relaxamento do aglomerado de PEG, com a conseqüente difusão dessas para a região do solvente e com isso ganham mais liberdade levando a uma mudança do raio de giração médio para 4,505 nm. Após essa reestruturação o sistema se organiza na mesma forma vista nas simulações de PEG₄₀₀ em baixas concentrações, com a existência de diferentes aglomerados onde as moléculas podem fluir de um para outro.

Na figura 30 temos imagens do sistema nas duas conformações, a conformação inicial com uma região composta quase exclusivamente por PEG à esquerda e a forma final à direita, apresentando mais de um aglomerado.

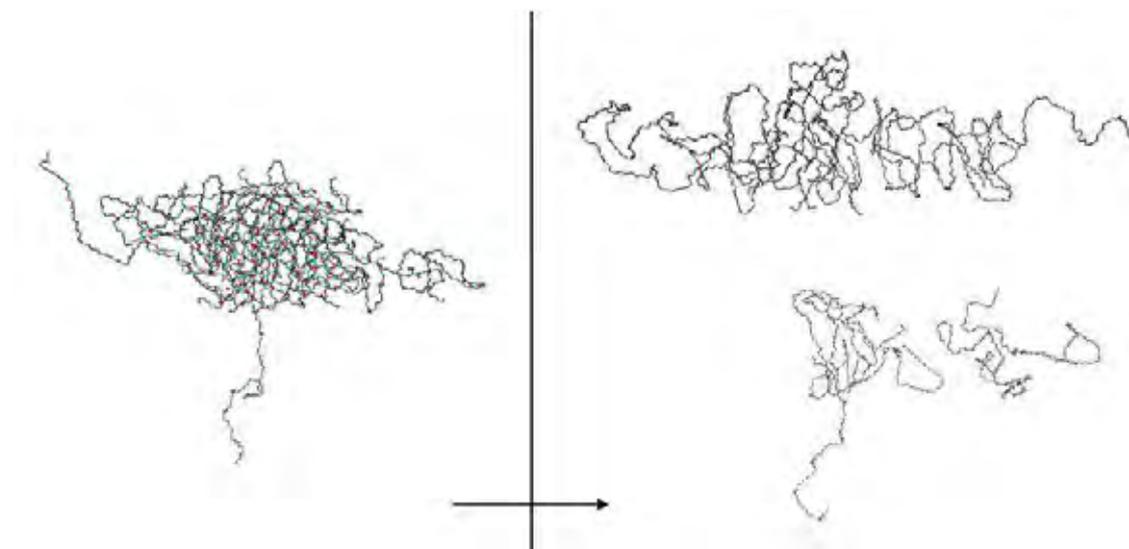


Figura 30: Caixa de PEG₁₆₉₆ nos dois diferentes estados

A figura 31 apresenta o comportamento das energias potencial, cinética e total do sistema no decorrer da simulação.

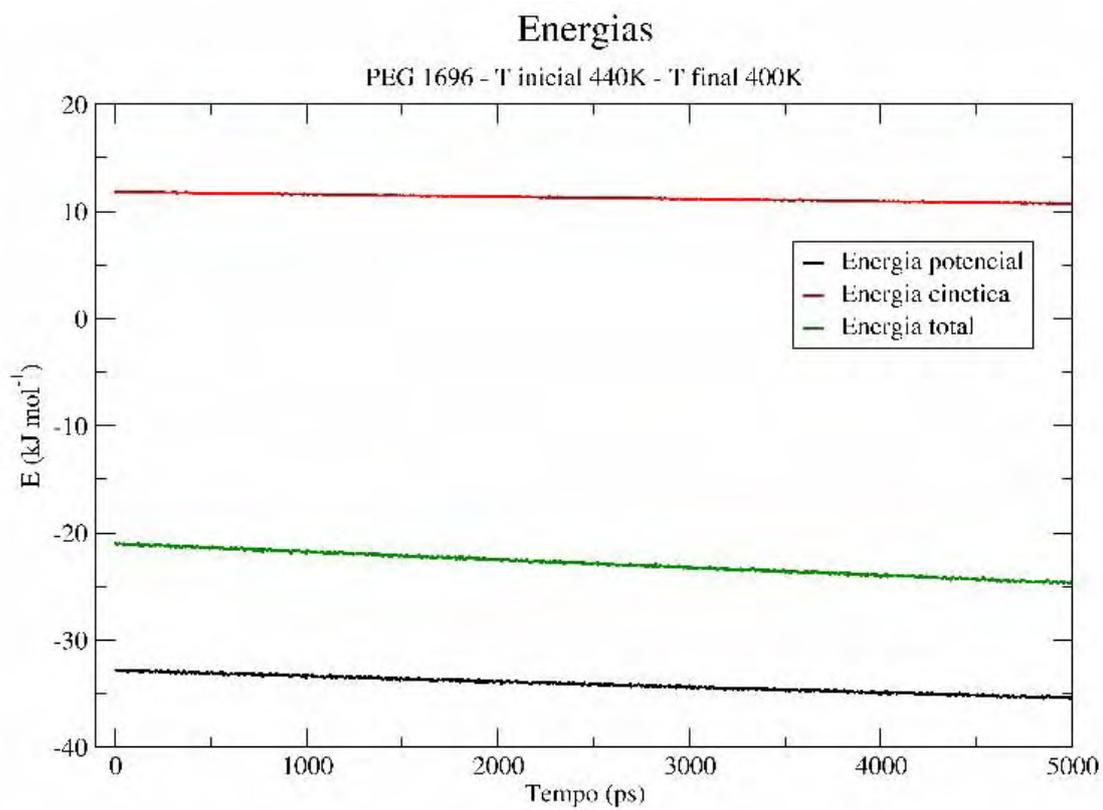


Figura 31: Energias do sistema no decorrer da simulação

5 – Discussão

Os valores de densidade dos sistemas, obtidos das simulações, aproximam-se dos valores experimentais, apresentando diferenças que podem ser consideradas não significativas na avaliação da validade do modelo proposto. Considerando-se que somente o modelo utilizado para a molécula de água (SPC) já apresenta um valor de densidade 0,29% abaixo do valor experimental, podemos esperar que os sistemas, na região diluída onde a concentração de água é muito alta, apresentem diferenças no mínimo iguais a esse valor.

O sistema PEG₄₀₀/água, na faixa de concentrações entre 15% e 50% de PEG apresentou diferenças entre 0,34% e 0,48%. Descontando-se os 0,29% devido ao modelo de água temos diferenças entre 0,05% e 0,19% que podem ser atribuídas às moléculas de PEG. Mesmo na região entre 1% e 5% de PEG, onde a diferença de densidade foi um pouco maior, o erro relativo ao modelo de PEG não supera 1,14%. Esse erro significativamente maior nessa região indica problemas com a estabilização do sistema e, portanto, para essas concentrações deve-se utilizar tempos de simulação maiores.

Também foi avaliado o comportamento da densidade do sistema em função da temperatura e o resultado obtido concorda perfeitamente com os dados experimentais. A densidade do sistema varia linearmente com a temperatura, mantendo praticamente constante a diferença de 0,35% que é o erro referente à concentração de 50% utilizada para esse experimento.

Deve-se destacar que nesse caso, o que é avaliado é a forma com que a densidade do sistema PEG₄₀₀/água varia em função da temperatura, desconsiderando-se com isso o erro inicial presente nessa configuração com 50% de cada componente, o que nos permite afirmar que o resultado concorda com o esperado.

Na preparação dos sistemas para as simulações não foram utilizadas moléculas de PEG com massas diferentes de 414,492 g/mol, com isso temos uma diferença com relação ao sistema experimental que apresenta características de polidispersão. Sendo assim é de se esperar uma pequena diferença entre resultados experimentais e resultados de simulação devido a essa característica.

Como foi visto na figura 8, diferentes procedimentos de cálculo levam a diferentes valores para as cargas atômicas no modelo da molécula de PEG. Tais diferenças nas cargas afetam de forma sensível o comportamento do modelo e suas interações com o meio no decorrer das simulações. Destacamos que o perfil de cargas calculado automaticamente pelo programa PRODRG, não produz os melhores resultados no sistema estudado, devendo ser utilizado somente em casos onde não haja outra opção.

Mudanças na estrutura tridimensional utilizada para o cálculo das cargas líquidas dos átomos também afetam os resultados obtidos, sendo que a forma helicoidal de mais baixa energia da molécula de PEG foi a que levou a valores de cargas com os quais obtivemos os melhores resultados na região de baixa e média concentração de PEG. Considerando que a estrutura helicoidal se desfaz logo no início das simulações seria importante recalcular as cargas atômicas para a molécula de PEG em conformações aleatórias e avaliar o desempenho do modelo nessas condições.

Os resultados da análise da superfície acessível ao solvente, e do número médio de pontes de hidrogênio entre moléculas de PEG confirmam o processo de formação de aglomerados que vemos nas imagens apresentadas na figura 22. Podemos notar a mudança da forma de organização das moléculas de PEG, que passam de um estado livre em solução para a forma de aglomerados onde é possível diminuir a exposição das regiões hidrofóbicas das moléculas de PEG ao solvente.

Os resultados obtidos dos sistemas com concentrações superiores a 50% indicam que os procedimentos de simulação descritos e aplicados a todos os sistemas não são adequados para concentrações elevadas da forma que foram utilizados. Assim sendo os resultados apresentados para todos os sistemas com mais de 50% de PEG₄₀₀ devem ser considerados apenas como referência a problemas que podem ocorrer nesse tipo de simulação pois os mesmos não são conclusivos. O apêndice B traz maiores informações sobre os problemas encontrados na simulação dessa região.

A opção por não utilizar um campo de força específico deve-se ao fato de um campo de força padrão poder tratar os mais diferentes tipos de moléculas, mesmo que com certas restrições, o que favorece o estudo das interações em sistemas de composição muito variada. Os campos de força desenvolvidos ou ajustados especificamente para um tipo de molécula podem restringir as possibilidades de estudo ao limitar as formas de composição

do sistema ou apresentar resultados inesperados ao tratar moléculas com características muito diversas daquela para a qual o mesmo foi otimizado.

A escolha da densidade como principal característica de comparação entre resultados teóricos e experimentais se deve ao fato de a densidade refletir, de forma sensível, o efeito das interações intermoleculares para esse sistema. Temos também o fato de os valores de densidade, para PEG de diferentes massas atômicas e nas mais variadas concentrações serem facilmente encontrados na literatura.

A criação e utilização do modelo de PEG, com massa molecular de 1696 g/mol, seguiram exatamente os mesmos procedimentos aplicados ao modelo inicial, excluindo o recálculo das cargas, que não pôde ser executado com o GAMESS devido ao grande número de átomos dessa nova molécula, o que excede a capacidade do programa. O sistema apresentou o comportamento esperado, com a ocorrência de uma mudança em sua forma de organização com a variação da temperatura do sistema.

Nesse processo acontece uma reorganização das moléculas do polímero, afetando seu raio de giração e estado de agregação, resultando em uma região formada basicamente por polímero, e externamente a essa região fica o solvente, excluído. Com a mudança da temperatura o sistema atinge um ponto onde se inicia a difusão de moléculas do solvente nessa região onde basicamente só havia polímero e moléculas do polímero migram para diferentes partes da caixa. Esses dois diferentes estados são mostrados na figura 30, onde temos as moléculas de PEG₁₆₉₆ presentes na caixa de simulação. Não há replicação de caixas nessa figura.

6 – Conclusão

Com base nos resultados obtidos espera-se que o modelo PEG400_Lc seja adequado para simulações onde sua concentração seja de até 50% com relação à quantidade de água do sistema.

Apesar de o modelo inicial de PEG, utilizado na preparação dos sistemas para simulação, encontrar-se em forma de hélice, tal estrutura se desfaz logo no início da simulação, mesmo em concentrações muito baixas, o que indica que, em água, a forma helicoidal não é energeticamente favorável, fato esse que concorda com os dados reportados em Castellanos *et al*, 2006.

O procedimento utilizado para o estudo dos efeitos moleculares envolvidos na separação de fases de PEG de alto peso molecular, em função da temperatura, apresentou resultados satisfatórios e deve ser utilizado em novos estudos desse tipo de efeito em diferentes condições.

Os resultados das simulações em concentrações superiores a 50% não são conclusivos e tais experimentos devem ser refeitos utilizando metodologias e critérios mais adequados. Também a região entre 1% e 5% necessita de tempos maiores de simulação para atingir a qualidade esperada para tais concentrações.

7 – Referências Bibliográficas

Albertsson, P. Å. - **Partition of Cell Particles and Macromolecules**, Wiley, New York, 3rd ed., 1986.

Alessi, M. L.; Norman, A. I.; Knowlton, S. E.; Ho, D. L.; Greer, S. C. - Helical and Coil Conformations of Poly(ethylene glycol) in Isobutyric Acid and Water, *Macromolecules*, 38, 9333-9340, 2005.

Anathapadmanabhan, K. P. And Goddard, E. D. - A Correlation between Clouding and Aqueous Biphasic Formation in Polyoxyethylene/Inorganic Salt Systems, *J. Colloid Interf. Sci.*, 113, 294-296, 1986.

Banaszak, B. J.; Faller, R.; Pablo, J. J. - Simulation of the effects of chain architecture on the sorption of ethylene in polyethylene, *J. Chem. Phys.*, 120, 11304-11315, 2004.

Berendsen, H. J. C., van der Spoel, D., and van Drunen, R. - GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation, *Comp. Phys. Comm.* 91, 43-56, 1995.

Castellanos, P.; Norman, A. I.; Greer, S. C. - Conformational Change of Poly(ethylene Glycol) near the Critical Point of Isobutyric Acid + Water, *J. Phys. Chem. B.*, 2006, *in press*.

Chang, R.; Yethiraj, A. - Dilute Solutions of Strongly Charged Flexible Polyelectrolytes in Poor Solvents: Molecular Dynamics Simulations with Explicit Solvent, *Macromolecules*, 39, 821-828, 2006.

Chen, J.; Spear, S. K.; Huddleston, J. G.; Holbrey, J. H.; Swatloski, R. P.; Rogers, R. D. - Application of Poly(ethylene glycol)-based Aqueous Biphasic Systems as Reaction and Reactive Extraction Media, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 43, 5358-5364, 2004.

Chen, J.; Spear, S. K.; Huddleston, J. G.; Rogers, R. D. - Polyethylene glycol and solutions of polyethylene glycol as green reaction media, *Green. Chem.*, 7, 64-82, 2005.

Curt, M. B.; Kenneth, B. W. - Determining atom-centered monopoles from molecular electrostatic potentials. The need for high sampling density in formamide conformational analysis, *J. Comp. Chem.*, April, 11, 361-373, 1990.

Drozdowski, M.; Blaszcak, Z.; Iwaszkiewicz-Kostka, I.; Ziobrowski, P.; Andrzejewska, E.; Andrzejewski, M. - Molecular dynamics of poly(ethylene glycol)s studied by optical Kerr effect and Brillouin spectroscopy, *J. Mol. Struct.*, 614, 47-57, 2002.

Eisenhaber, F.; Lijnzaad, P.; Argos, P.; Sander, C.; Scharf, M. - The Double Cube Lattice Method: Efficient Approaches to Numerical Integration of Surface Area and Volume and to Dot Surface Contouring of Molecular Assemblies, *J. Comp. Chem.*, 16, 273-284, 1995.

Flory, J. P. - *Principles of Polymer Chemistry*, pp. 495-540, Ithaca, NY: Cornell University Press, 1953.

Ghemical-GMS <http://www.uiowa.edu/~ghemical/ghemical-gms.shtml>

Guo, Z.; Li, M.; Willauer, H. D.; Huddleston, J. G.; April, G. C.; Rogers, R. D. - Evaluation of Polymer-Based Aqueous Biphasic Systems As Improvement for the Hardwood Alkaline Pulping Process, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 41, 2535-2542, 2002.

Halley, J. W.; Duan, Y.; Nielsen, B. - Simulation of polyethylene oxide: Improved structure using better models for hydrogen and flexible walls, *J. Chem. Phys.*, 115, 3957-3966, 2001.

Harris, J. M. (ed.) - **Poly(ethylene glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications**, Plenum Press, New York, 1992.

Harris, J. M. (ed.); Salipsky, S. - **Poly(ethylene glycol) Chemistry and Biological Applications**, ACS Symposium Series 680, American Chemical Society, Washington, DC, 1997.

Huddleston, J. G.; Willauer, H. D.; Griffin, S. T.; Rogers, R. D. - Aqueous Polymeric Solutions as Environmentally Benign Liquid/Liquid Extraction Media, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 38, 2523-2539, 1999.

Huggins, M. L. - *Physical Chemistry of High Polymers*. New York: John Wiley and Sons Inc. 1958.

Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. - "VMD - Visual Molecular Dynamics", *J. Molec. Graphics*, 14, 33-38, 1996.

Israelachvili, J. - The different faces of poly(ethylene glycol), *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 94, 8378-8379, 1997.

Lindahl, E.; Hess, B.; van der Spoel, D. - GROMACS 3.0: A package for molecular simulation and trajectory analysis, *J. Mol. Mod.*, 7, 306-317, 2001.

Molecular Networks GmbH <http://www.mol-net.com/>

Müller, E.A.; Rasmussen, P. - Densities and excess volumes in aqueous poly(ethylene glycol) Solutions., *J. Chem. Eng. Data.*, 36, 214-217, 1991.

Müller-Plathe, Florian; Schmitz, H.; Faller, R. - Molecular Simulation in Polymer Science: Understanding Experiments Better., *Progress of Theoretical Physics*, 138, 311-319, 2000.

Naik, S. D.; Doraiswamy, L. K. - Phase transfer catalysis: Chemistry and engineering, *AIChE J.*, 44, 612-646, 1998.

Nath, S. K.; Pablo, J. J. - Solubility of Small Molecules and Their Mixtures in Polyethylene, *J. Phys. Chem. B*, 103, 3539-3544, 1999.

Nath, S. K.; Banaszak, B. J., Pablo, J. J. - A new united atom force field of α -olefins, *J. Chem. Phys.*, 114, 3612-3616, 2001.

Peter Ertl, Novartis Institutes for BioMedical Research, Basel, Switzerland.

Rudan-Tasic, D.; Klofutar, C. - Apparent Specific Polarization and Dipole Moment of Some Poly(oxyethylene) Glycols in 1,4-Dioxane and Benzene Solutions at 298.15, *Monatshefte für Chemie*, 136, 1171-1182, 2005.

Schmidt, M. W.; Baldrige, K. K.; Boatz, J. A.; Elbert, S. T.; Gordon, M. S.; Jensen, J. H.; Koseki, S.; Matsunaga, N.; Nguyen, K. A.; Su, S. J.; Windus, T. L.; Dupuis, M.;

Montgomery, J. A. - General atomic and molecular electronic structure system, *J.Comput.Chem.*, 14, 1347-1363, 1993.

Schuettelkopf, A. W.; van Aalten, D. M. F. - PRODRG - a tool for high-throughput crystallography of protein-ligand complexes., *Acta Crystallographica*, D60, 1355—1363, 2004.

Stuart, H. A. – *Die Physik der Hochpolymeren*, vol. 2. Gottingen: Springer-Verlag, 1953.

Tompa, H. – *Polymer Solutions*. London: Butter-worths Scientific Publications, 1956.

Tôrres, R. B. – Efeito da Hidratação Hidrofóbica e da Interação Hidrofóbica sobre o Volume Molar em Excesso de Soluções Líquidas Binárias de Água-Álcool a Diferentes Temperaturas e à Pressão Atmosférica: Estudo Experimental e Modelagem, *Tese de Doutorado - UNICAMP*, 2004.

van der Spoel, D., Buuren, A. R., van, A. E., Meulenhoff, P. J., Tieleman, D. P., Sijbers, A. L. T. M., Hess, B., Feenstra, K. A., Lindahl, E., van Drunen, R., and Berendsen, H. J. C. - *GROMACS user manual version 3.0*, Nijengorgh 4, 9747 AG, Groningen, the Netherlands, 2001.

van Gunsteren, W. F., and Berendsen, H. J. C. - *Gromos-87 manual*, Biomos BV Nijenborgh 4, 9747 AG Groningen, The Netherlands, 1987.

van Gunsteren, W. F.; Mark, A. E. - Validation of molecular dynamics simulation, *J. Chem. Phys.*, 15, 108, 6109-6116, 1998.

Vennaman, N.; Lechner, M. D.; Oberthuer, R. C. – Thermodynamics and conformation of polyoxyethylene in aqueous solution under high pressure: 1. Small-angle neutron scattering and densitometric measurements at room temperature, *Polymer*, 28, 1738-1748, 1987.

Wiberg, K. B. - A scheme for strain energy minimization. Application to the cycloalkanes, *J. Am. Chem. Soc.*, 87 (5), 1070-1078, 1965.

Apêndice A - Características físicas e químicas do PEG₄₀₀

Fórmula química	HO(C ₂ H ₄ O) _n H
Densidade	1,13 g/cm ³ @ 20 °C
Massa Molar	380 – 420 g/mol
Odor	Praticamente inodoro
Forma	Líquido viscoso
Cor	Incolor
Temperatura de ignição	360 °C
Valor de pH	5 – 7 @ 100g/l, água, 20 °C
Solubilidade em água	Solúvel @ 20 °C
Ponto de Fulgor	240 °C o.c.
Ponto de ebulição	> 250 °C @ 1013 hPa
Ponto de fusão	4 – 8 °C
Pressão de Vapor	< 0,1 hPa @ 20 °C
Decomposição térmica	> 220 °C
Viscosidade dinâmica	105 – 140 mPa*s @ 20 °C
Viscosidade cinemática	97 – 110 mm ² /s @ 20 °C

Fonte: MERCK

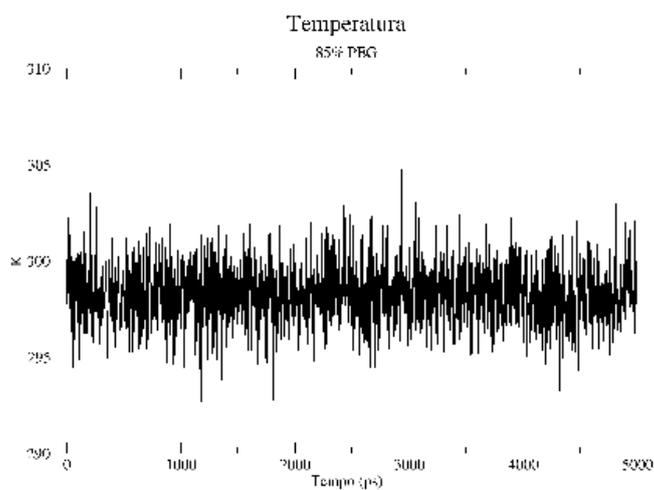
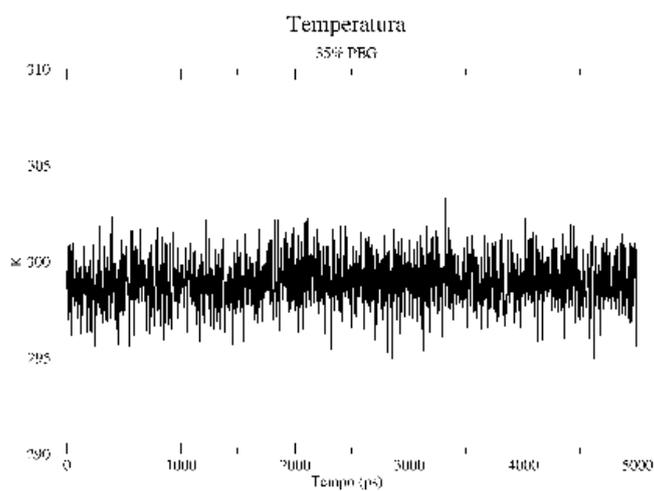
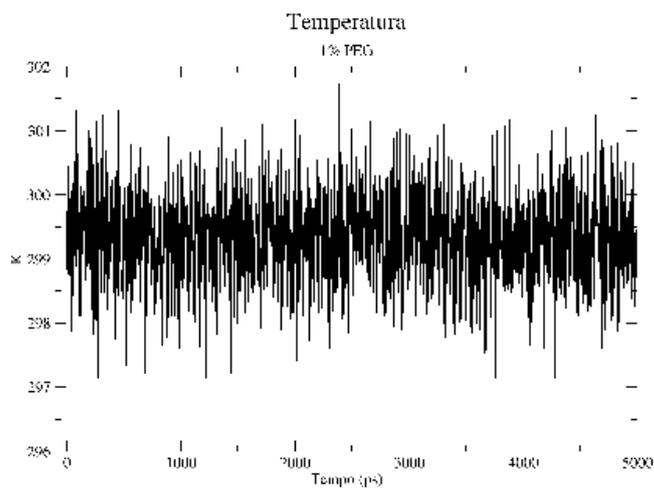
Apêndice B – Informações complementares

Durante a defesa da tese surgiram, frutos da discussão com a banca examinadora, algumas idéias sobre os possíveis motivos para os resultados dos experimentos em concentrações elevadas não serem adequados. Resolvemos então incluir nesse apêndice tais informações pois julgamos serem importantes para guiar possíveis tentativas de refazer esses experimentos.

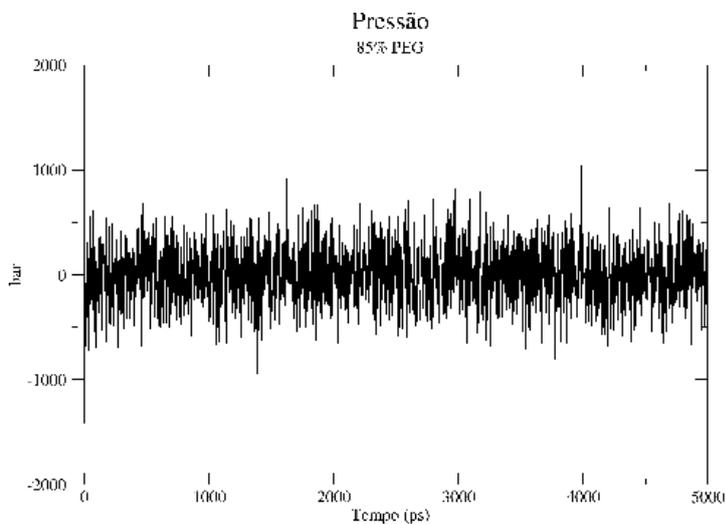
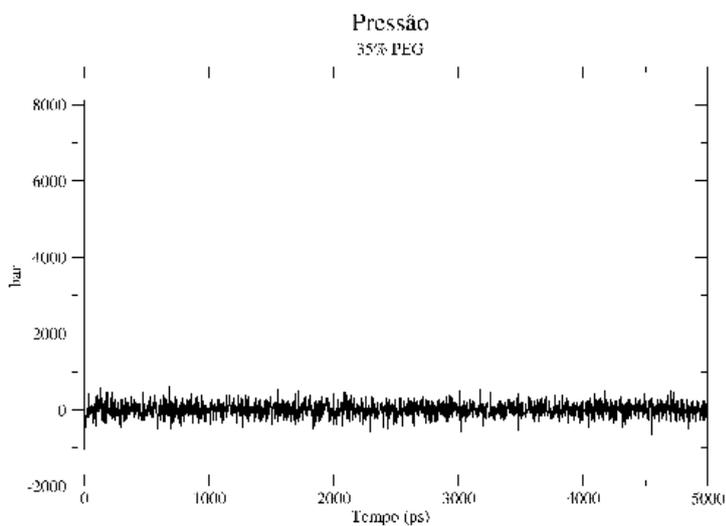
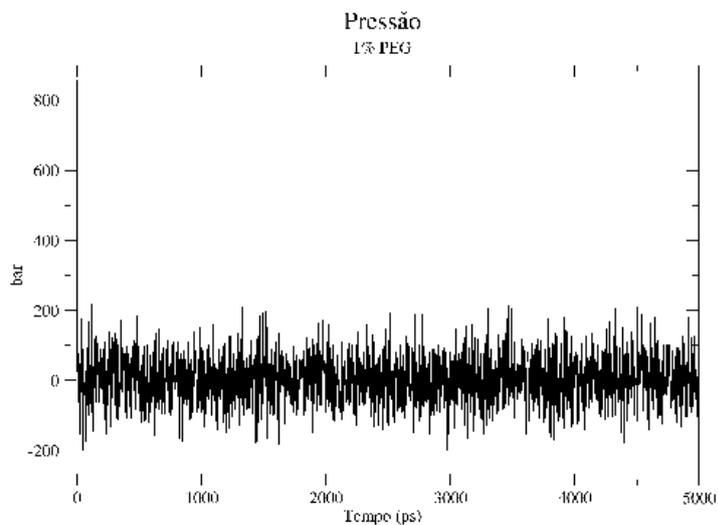
Temos a seguir gráficos mostrando o comportamento de diferentes parâmetros dos sistemas simulados, em função do tempo. Para efeito de comparação temos tais parâmetros nas concentrações de 1%, 35% e 85% de forma que os dois primeiros se encontram na região onde o modelo se comporta de forma satisfatória e por último uma simulação na região que apresenta problemas.

Os parâmetros apresentados são temperatura, pressão, as interações LJ-14, Coulomb-14, LJ(SR) e Coulomb(SR).

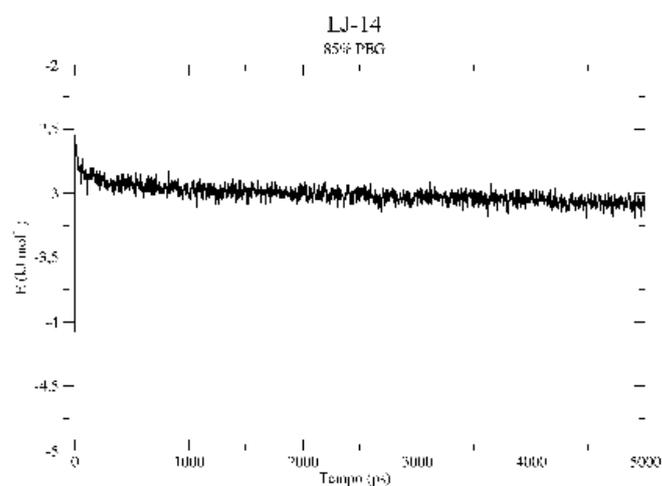
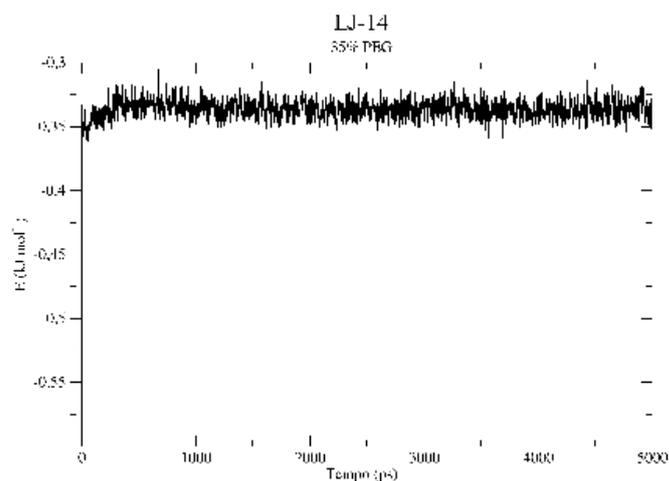
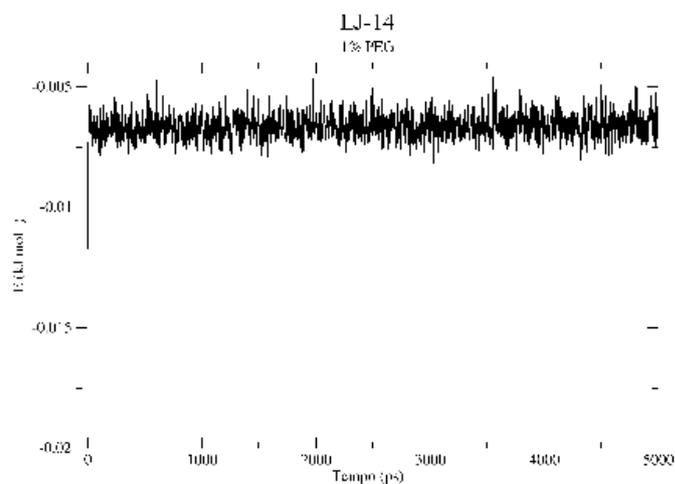
Variação da temperatura do sistema em função do tempo de simulação em diferentes concentrações:



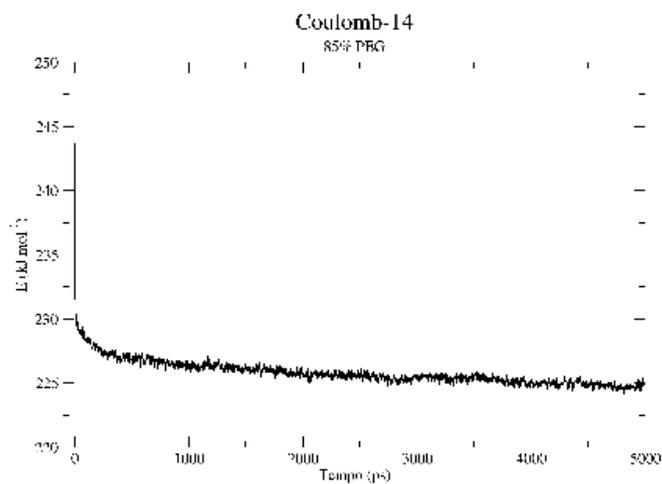
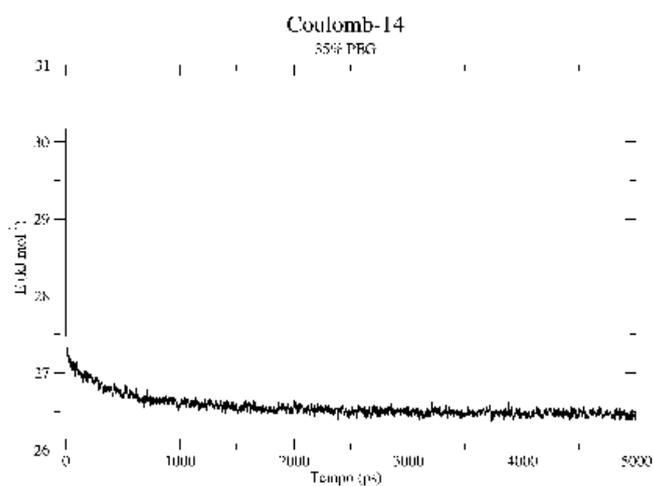
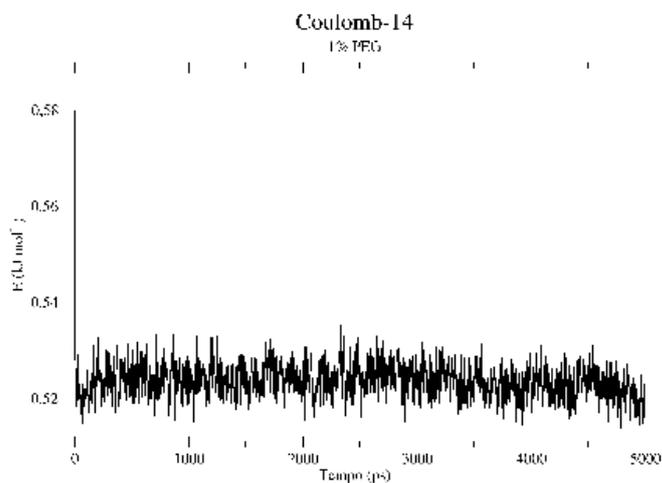
Variação de pressão do sistema em função do tempo de simulação em diferentes concentrações:



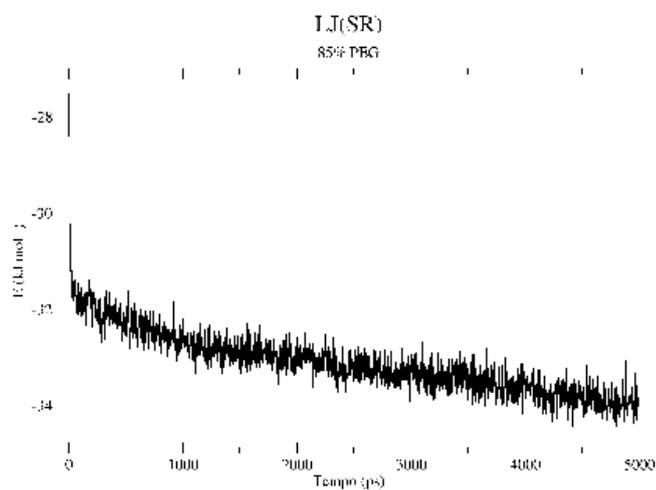
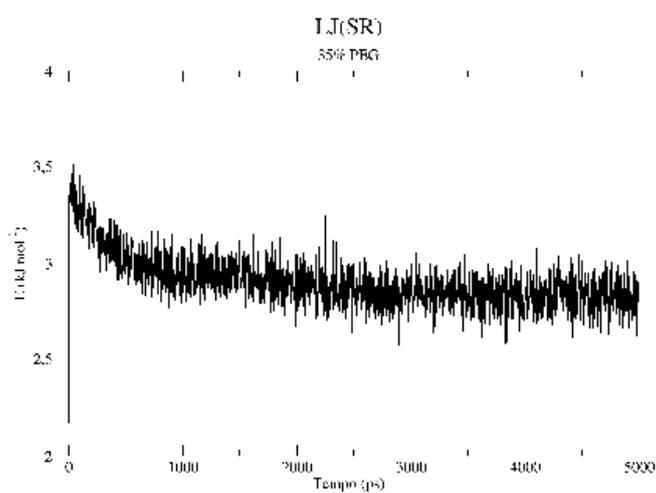
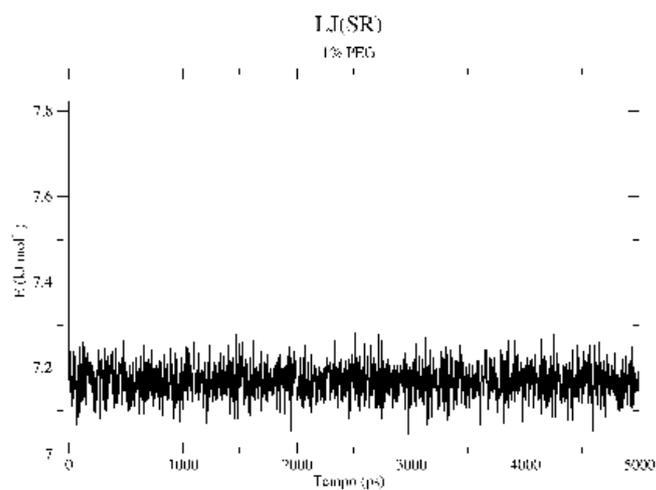
Comportamento do parâmetro LJ-14 em função do tempo de simulação em diferentes concentrações:



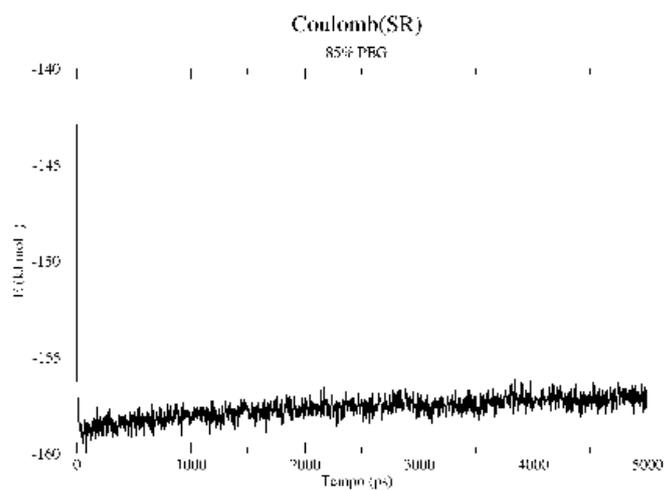
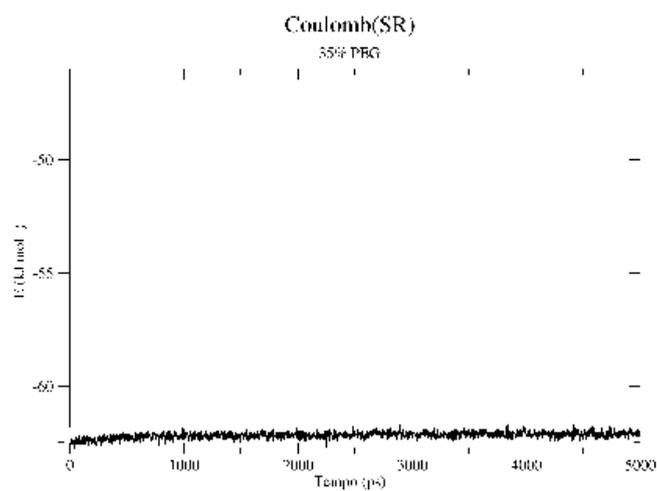
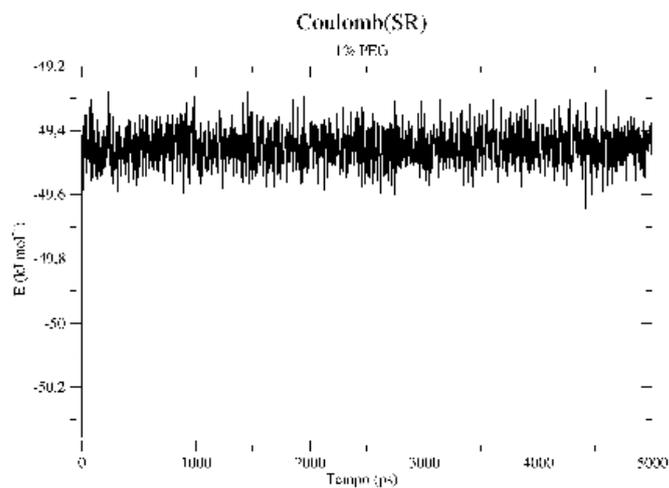
Comportamento do parâmetro Coulomb-14 em função do tempo de simulação em diferentes concentrações:



Comportamento do parâmetro LJ(SR) em função do tempo de simulação em diferentes concentrações:



Comportamento do parâmetro Coulomb(SR) em função do tempo de simulação em diferentes concentrações:



Ao avaliar a estabilidade dos sistemas simulados em concentrações elevadas, utilizando como referência variações de temperatura, densidade, superfície acessível ao solvente e energia total, vemos que tais sistemas aparentam ter atingido a estabilidade com tempos de simulação inferiores a 5 ns, o que nos levou a concluir que teríamos resultados válidos utilizando o mesmo procedimento em todas as concentrações.

Posteriormente, avaliando mais detalhadamente os diferentes componentes energéticos que atuam no sistema durante a simulação pudemos notar que alguns parâmetros, apesar de parecerem estáveis, apresentam um pequeno e constante deslocamento (drift), que pode ao final de um longo período de simulação causar grandes diferenças no resultado final. Essa variação, mesmo sendo sutil, é uma forte indicação de que o sistema não atingiu a estabilidade energética e conformacional. Nos parâmetros LJ(SR) e Coulomb(SR) mostrados acima vemos claramente esse deslocamento durante toda a simulação.

Acreditamos que um dos motivos seja a alta viscosidade do PEG₄₀₀ o que resulta em sistemas muito difíceis de simular com baixa concentração de água. Comparando o comportamento dinâmico das moléculas de PEG₄₀₀ em alta e baixa concentração podemos notar que, em baixa concentração, as moléculas de PEG possuem liberdade para se movimentar entre diferentes aglomerados formados na solução, o que permite uma rápida relaxação do sistema, agilizando os ajustes conformacionais e energéticos dessas moléculas. Já em altas concentrações de PEG, da forma que foi simulado, não existe essa liberdade de locomoção entre diferentes aglomerados pois o número de moléculas de PEG presentes na caixa não permite a formação de mais de um agrupamento.

Uma sugestão apresentada pela banca foi a de construir uma caixa muito maior, utilizando réplicas de uma caixa pré-estabilizada, que fosse grande o suficiente para permitir que as moléculas de PEG₄₀₀ fluam entre diferentes aglomerados, permitindo então que o sistema relaxe. Tal sistema exigiria uma maior capacidade computacional devido ao número de átomos necessários para compor tal caixa.

O procedimento designado por 'secagem' foi uma tentativa de contornar a falta de mobilidade causada pela alta concentração. Os resultados de densidade obtidos por esse método são muito melhores mas o sistema ainda permanece longe da estabilidade. Vemos a

seguir uma comparação dos valores finais dos principais parâmetros de interação nos sistemas com concentração de 85% de PEG₄₀₀ quando utilizamos os diferentes métodos de simulação.

Tabela 5: Valores finais de interações dos sistemas a 85% – média dos últimos 500 ps

Interações na simulação	Secagem 85%	85%
LJ-14	-2,884	-3,072
Coulomb-14	227,137	224,794
LJ-SR	-33,496	-33,942
Coulomb-SR	-155,779	-157,140
E-Total	73,5117	71,1122

Embora apresente um valor de densidade melhor, como visto na figura 20, esse sistema simulado por secagem possui energia total 2,4 kJ/mol maior que o sistema simulado diretamente, sendo as interações de Coulomb, aparentemente, as principais responsáveis por esse valor.

Para o correto esclarecimento das causas dos problemas apresentados pelos sistemas em concentrações superiores a 50% torna-se necessário um estudo detalhado de todas as interações e efeitos envolvidos nos procedimentos de simulação utilizados, o que não é possível ser realizado como parte desse trabalho.