



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA MEDICINAL E  
MODELAGEM MOLECULAR**

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DO MECANISMO CATALÍTICO DA ENZIMA  
CATECOL O-METILTRANSFERASE**

**EDSON LEANDRO DE ARAÚJO SILVA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular como parte do requisito para obtenção do Título de Mestre em Química Medicinal e Modelagem Molecular sob a orientação do Prof. Dr. Jerônimo Lameira Silva.

**BELÉM  
2017**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA MEDICINAL E  
MODELAGEM MOLECULAR**

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DO MECANISMO CATALÍTICO DA ENZIMA  
CATECOL O-METILTRANSFERASE**

**EDSON LEANDRO DE ARAÚJO SILVA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular como parte do requisito para obtenção do Título de Mestre em Química Medicinal e Modelagem Molecular sob a orientação do Prof. Dr. Jerônimo Lameira Silva.

Data da apresentação: 16 de Fevereiro de 2017

Conceito:

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof. Dr. Jerônimo Lameira Silva  
Instituto Ciências Biológicas/UFPA - Orientador

---

Prof. Dr. Agnaldo da Silva Carneiro  
Instituto de Ciências da Saúde/UFPA – Membro

---

Prof. Dr. Fabio Alberto de Molfetta  
Instituto de Ciências Exatas e Naturais/UFPA – Membro

**BELÉM  
2017**

Dados Internacionais de Catalogação na  
Publicação (CIP) Sistema de Bibliotecas da  
Universidade Federal do Pará  
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos  
pelo(a) autor(a)

---

D278s De Araújo Silva, Edson Leandro  
Simulação Computacional do Mecanismo Catalítico da Enzima Catecol O-  
Metiltransferase / Edson Leandro De Araújo Silva. — 2017  
58 f. : il. color

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Química Medicinal e Modelagem  
Molecular (PPGQM3), Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém,  
2017.

Orientação: Prof. Dr. Jerônimo Lameira Silva

1. Doença de Parkinson. 2. Catecol O-metiltransferase. 3. SAM. 4. Simulação  
Computacional. 5. Mecânica Quântica. I. Lameira Silva, Jerônimo, *orient.* II. Título

---

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente à Deus, pelas graças e bênçãos derramadas em minha vida.

Aos meus pais, José Liduino e Raimunda, pelos esforços que sempre fazem para a minha educação e formação do meu caráter. E por todo o amor e carinho que eles têm por mim.

Agradeço aos meus irmãos, Adna e Rogério, por todos os momentos de descontração e fraternidade.

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. Jerônimo Lameira Silva, pela orientação e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. Cláudio Nahum, pelo apoio e espaço físico disposto no laboratório para o desenvolvimento deste trabalho.

À banca de defesa desta dissertação pela sua disponibilidade e avaliação do trabalho.

À FAPESPA pelo apoio financeiro através da concessão de bolsa de estudos.

À Universidade Federal do Pará, pela oportunidade de estar realizando um curso de pós-graduação na mesma.

À University of KwaZulu-Natal, pela disponibilidade de seus recursos computacionais como o suporte para os cálculos realizados neste trabalho.

À todos os amigos do Laboratório de Planejamento de Desenvolvimento de Fármacos. E aos colegas de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular.

*“Transformar o simples em complicado é fácil, porém transformar o complicado em simples exige criatividade.”*  
Charles Mingus

## RESUMO

Reações de transferência de metil são muito importantes em sistemas biológicos, sendo a enzima catecol O-metiltransferase catalisa a reação de transferência de um grupo metil do substrato S-adenosilmetionina para dopamina. Esta enzima está relacionada com a doença de Parkinson que trata-se de uma doença neurodegenerativa que afeta de 7 a 10 milhões de pessoas da população mundial, principalmente a parcela com mais de 60 anos. Devido a importância da reação catalisada por esta enzima, ferramentas computacionais em conjunto com métodos da mecânica quântica foram utilizadas para o estudo do mecanismo de reação da transferência de metil da S-adenosilmetionina para dopamina. Neste estudo, a presença ou não do íon  $Mg^{2+}$  na reação e mudanças na estrutura da dopamina para catecol e fenol foram levadas em consideração a fim de propor a região quântica mais adequada para futuros trabalhos de simulação no meio enzimático. Os métodos utilizados incluem o método semiempírico PM6, o *ab initio* DFT e o de perturbação MP2, onde o primeiro método apresentou destaque na descrição de todas as reações estudadas. A reação com o catecol no solvente apresentou os seguintes valores de barreiras de energia: 18,62 kcal/mol (PM6); 9,91 kcal/mol (DFT); 14,44 kcal/mol (MP2). A presença do íon  $Mg^{2+}$  na mesma reação com o catecol apresentou os seguintes valores de barreiras de energia: 24,55 kcal/mol (PM6); 15,99 kcal/mol (DFT); 17,39 kcal/mol (MP2). O modelo de solvatação PCM foi usado com o intuito de estudar a reação de referência na água do sistema enzimático e analisar as barreiras de energia da reação na água e comparar com barreiras obtidas no gás.

**Palavras-chave:** doença de Parkinson, catecol O-metiltransferase, SAM, simulação computacional, mecânica quântica

## ABSTRACT

Methyl transfer reactions are very important in biological systems, the enzyme catechol O-methyltransferase catalyzes a transfer reaction of a methyl group of the co-substrate S-adenosylmethionine to dopamine. This disease is related to a Parkinson's disease that is a neurodegenerative disease that affects 7 to 10 million people of the world population, mainly a parcel over 60 years. Due to the importance of the reaction catalyzed by this enzyme, computational tools in conjunction with quantum mechanics methods were used to study the mechanism of reaction of the methyl transfer of S-adenosylmethionine to dopamine. In this study, the presence or not of  $Mg^{2+}$  in the reaction and changes in dopamine structure for catechol and phenol were taken into account in order to propose a quantum region more suitable for future non-enzymatic simulation work. The methods used in the PM6 semi-present method, the *ab initio* DFT and the MP2 correlation. The methods used include PM6 semiempirical method, *ab initio* DFT and perturbation MP2, where the first method was highlighted in the description of all reactions studied. The reaction with the catechol in the solvent had the following values of energy barriers: 18.62 kcal/mol (PM6); 9.91 kcal/mol (DFT); 14.44 kcal/mol (MP2). The presence of the  $Mg^{2+}$  ion in the same reaction with the catechol showed the following energy barrier values: 24.55 kcal/mol (PM6); 15.99 kcal/mol (DFT); 17.39 kcal/mol (MP2). The PCM solvation model was used to study a reference reaction in the enzymatic system and to analyze how energy barriers of the reaction in water and with barriers obtained in the gas.

**Keywords:** Parkinson's disease, catechol O-methyltransferase, SAM, computer simulation, quantum mechanics

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Descrição esquemática da O-metilação da reação catalisada pela enzima COMT na presença do  $Mg^{2+}$ , onde um grupo metil do SAM é transferido para o substrato catecol (Adaptado de (LAMEIRA, 2015)). 16
- Figura 2. Estrutura cristalográfica da enzima COMT (PDB, 3BWM). 17
- Figura 3. Sítio ativo da COMT de humanos com interação entre o SAM e o catecol na presença do metal  $Mg^{2+}$  e resíduos de aminoácidos. 18
- Figura 4. Descrição esquemática da O-metilação catalisada pela enzima COMT na presença do metal  $Mg^{2+}$ , onde o SAM doa um grupo metil para a dopamina. Nesta reação pode ser produzido ou o 3-O-metil-dopamina ou o 4-O-metil-dopamina. 18
- Figura 5. Representação das reações que foram estudadas no primeiro sistema (SAM/catecol, SAM/fenol, SAM/3-O-dopamina e SAM/4-O-dopamina). 33
- Figura 6. Representação das reações que foram estudadas neste segundo sistema (SAM/ $Mg^{2+}$  e SAM/ $Mg^{2+}/H_2O$ ). 34
- Figura 7. Representação do sítio ativo da enzima COMT, onde o metal  $Mg^{2+}$  interage com o catecol, e com os resíduos de aminoácidos (Asp141, Asp169 e Asn170) e uma molécula de água. 35
- Figura 8. Representação dos três pontos estacionários (reagente, estado de transição e produto), nos quais foram realizados cálculos para correção de energias (ZPE). 36
- Figura 9. Descrição da forma como as distâncias entre os átomos que participam da O-metilação (enxofre, carbono, e oxigênio) foram analisadas nos três pontos estacionários (RS – reagente; TS – estado de transição; PS – produto). Onde S-C é a distância entre os átomos de enxofre e o carbono, e C-O a distância entre os átomos de carbono e oxigênio. 39
- Figura 10. Representação dos três pontos estacionários (reagente, estado de transição e produto), nos quais foram realizados cálculos para correção de energias (ZPE). 41
- Figura 11. Demonstração gráfica da energia relativa das reações tratadas com o método PM6. Onde o tamanho da região MQ (nº de átomos) para cada reação é: 26 (SAM/catecol), 25 (SAM/fenol), 34 (SAM/3-O-dopamina), 34 (SAM/4-O-dopamina), 27 (SAM/ $Mg^{2+}$ ) e 42 (SAM/ $Mg^{2+}/H_2O$ ). 45



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Taxa de metilação meta/para da dopamina catalisada pela recombinação da enzima COMT e seus mutantes (ZHANG; KLINMAN, 2011). 19
- Tabela 2. Resultados dos cálculos energéticos, em kcal/mol, das reações SAM/catecol, SAM/fenol, SAM/3-O-dopamina e SAM/4-O-dopamina sem a presença do modelo de solvatação PCM. Para esta última reação foi utilizada somente os métodos PM6 e DFT. 37
- Tabela 3. Resultados dos cálculos energéticos, em kcal/mol, das reações SAM/catecol, SAM/fenol, SAM/3-O-dopamina e SAM/4-O-dopamina na presença do modelo de solvatação PCM. Para esta última reação foi utilizada somente os métodos PM6 e DFT. 38
- Tabela 4. Valores das distâncias (Å) entre os átomos que participam da O-metilação sem o modelo de solvatação PCM. 39
- Tabela 5. Valores das distâncias (Å) entre os átomos que participam da O-metilação na presença do modelo de solvatação PCM. 40
- Tabela 6. Resultados dos cálculos energéticos, em kcal/mol, das reações SAM/Mg<sup>2+</sup> e SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O sem a presença do modelo de solvatação PCM. 42
- Tabela 7. Resultados dos cálculos energéticos, em kcal/mol, das reações SAM/Mg<sup>2+</sup> e SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O na presença do modelo de solvatação PCM. 43
- Tabela 8. Valores das distâncias (Å) entre os átomos que participam da O-metilação na presença e na ausência do modelo de solvatação PCM. 44

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>DP</b>	-	Doença de Parkinson
<b>PDF</b>	-	<i>Parkinson's Disease Foundation</i>
<b>MQ</b>	-	Mecânica Quântica
<b>PM6</b>	-	<i>Parametric Method 6</i>
<b>TFD</b>	-	Teoria do Funcional de Densidade
<b>MP2</b>	-	<i>Møller-Plesset 2</i>
<b>MCP</b>	-	Modelo Contínuo Polarizável
<b>SAM</b>	-	S-adenosilmetionina
<b>COMT</b>	-	catecol O-metiltransferase
<b>AdoMet</b>	-	S-adenosilmetionina
<b>MAO</b>	-	<i>Monoamino Oxidase</i>
<b>CPF</b>	-	Córtex Pré-Frontal
<b>PDB</b>	-	<i>Protein Data Bank</i>
<b>AdoHcy</b>	-	S-adenosilhomocisteína
<b>OMD</b>	-	O-metildopa
<b>HVA</b>	-	<i>Homovanylic acid</i>
<b>AM1</b>	-	<i>Austin Model 1</i>
<b>PM3</b>	-	<i>Parametric Method 3</i>
<b>MNDO</b>	-	<i>Modified Neglect of Differential Overlap</i>
<b>DFT</b>	-	<i>Density Functional Theory</i>
<b>MBPT</b>	-	<i>Many Body Perturbation Theory</i>
<b>MM</b>	-	Mecânica Molecular
<b>PCM</b>	-	<i>Polarizable Continuum Model</i>
<b>DPCM</b>	-	<i>Dielectric Polarizable Continuum Model</i>
<b>CPCM</b>	-	<i>Conductor-like Polarizable Continuum Model</i>
<b>IEFPCM</b>	-	<i>Integral-equation-formalism Polarizable Continuum Model</i>
<b>B3LYP</b>	-	<i>Becke, three-parameter, Lee-Yang-Parr</i>
<b>ZPE</b>	-	<i>Zero-point Energy</i>

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>11</b>
1.1. Objetivos	13
1.1.1. Objetivo Geral	13
1.1.2. Objetivos Específicos	13
<b>2. O ALVO BIOLÓGICO</b>	<b>14</b>
2.1. Doença De Parkinson	14
2.2. Enzima Catecol O-Metiltransferase	15
2.3. Estrutura E Função: Mecanismo De Catálise	16
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>20</b>
3.1. Mecânica Quântica (MQ)	20
3.2. Equação De Schrödinger Independente Do Tempo	21
3.3. Método Paramétrico 6 (PM6)	22
3.4. Teoria Do Funcional De Densidade (DFT)	23
3.5. Teoria De Perturbação De Møller-Plesset (MP)	26
3.6. Modelo Contínuo Polarizável (PCM)	30
3.7. Preparação Dos Modelos Computacionais	32
3.8. Pacote Computacional Utilizado	35
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>36</b>
4.1. Sistema 1	36
4.2. Sistema 2	41
<b>5. CONCLUSÃO</b>	<b>47</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>49</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A causa da doença de Parkinson (DP) está diretamente relacionada com uma desordem que ocorre no sistema nervoso central. O causador dessa doença ainda é desconhecido. Porém, estudos apresentam uma forte ligação da DP entre um polimorfismo na enzima catecol O-metiltransferase e a perda de dopamina nos neurônios em uma região denominada de Substância Negra (ESPINOZA et al., 2012). Embora Espinoza (2012) tenha afirmado que na maioria dos casos o fator genético não possui relevância, Andalib (2014), ressalta a variação de gene mitocondrial, onde a genética é visto como um importante fator para a causa dessa doença (ANDALIB; VAFAEE; GJEDDE, 2014).

A DP atinge preferencialmente a população idosa com mais de 60 anos. Os seus sintomas clássicos apontam para problemas motores que incluem: o tremor de repouso, a bradicinesia (lentidão anormal dos movimentos), a rigidez e a instabilidade postural (GIBB; LEES, 1988). Porém, ainda existe uma parcela de pacientes que apresentam demência com a progressão da doença, resultando em grave limitação funcional, diminuição da qualidade de vida e o aumento da mortalidade (DUBOIS; PILLON, 1997; AARSLAND et al., 2003).

Segundo a Fundação da Doença de Parkinson (PDF – do inglês, *Parkinson's Disease Foundation*), estima-se que 7 a 10 milhões de pessoas no mundo vivem com esta doença. A sua incidência aumenta com a idade, e somente 4% das pessoas com a DP são diagnosticadas antes dos 50 anos (FOUNDATION, 2017), e mesmo com o avanço no desenvolvimento tecnológico ainda existe a necessidade de que mais investigações sejam realizadas a respeito da prevenção e do tratamento de doenças neurodegenerativas.

Em se tratando do desenvolvimento de fármacos, o seu ciclo de desenvolvimento inicia a partir do processo de descoberta, passando pelos testes de fármacos mais promissores até a comercialização dos novos fármacos. Porém, trata-se de um ciclo de desenvolvimento muito complexo e exige aplicações interdisciplinares (BALDI, 2010). Os métodos convencionais no desenvolvimento destes incluem uma seleção aleatória de compostos químicos naturais ou sintetizados em laboratório. Porém, os métodos convencionais possuem alto custo financeiro e de tempo (BALDI, 2010). Segundo (SHEKHAR, 2008), U\$ 1 bilhão é o valor estimado para o custo financeiro do desenvolvimento de um novo fármaco, e grande parte deste custo deve-se a moléculas que falharam, ou seja, compostos químicos, que durante os estágios iniciais de seleção,

são indicados como candidatos promissores a novos fármacos, mas, após os testes pré-clínicos e clínicos apresentam-se como inadequados para dar continuidade ao desenvolvimento (SHEKHAR, 2008).

Com isso, para a seleção de candidatos que sejam mais promissores e que colaborem na redução de custo financeiro e de tempo, ferramentas computacionais são utilizadas para classificar compostos químicos para os testes biológicos (AGARWAL, 2010). Desta forma, neste estudo, pretende-se fazer uso de métodos de simulação computacional e mecânica quântica para estudar o mecanismo de referência da reação de catálise da enzima catecol O-metiltransferase na água, o que pode levar ao planejamento de novas moléculas com atividades biológicas.

Vale ressaltar, também, a importância deste trabalho através da relação existente entre a enzima catecol O-metiltransferase com doenças cancerígenas (ALBERT; HELIN, 2010) e neurodegenerativas como, por exemplo, a DP (RUTHERFORD et al., 2008; ESPINOZA et al., 2012) que é tratada neste trabalho. Apesar de existir pesquisas relacionadas ao assunto, ainda são necessárias mais investigações a cerca do mecanismo catalítico desta enzima.

Para este estudo de simulação computacional foram realizados cálculos de Mecânica Quântica (MQ) através de métodos semiempíricos (PM6), *ab initio* (DFT) e de perturbação de segunda ordem (MP2), utilizando sistemas observados no mecanismo de catálise da enzima catecol O-metiltransferase. O modelo de solvatação PCM é utilizado neste estudo com o intuito de, futuramente, poder calibrar o sistema na presença da enzima. Dessa forma, verificando o comportamento da enzima em questão a fim de contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos contra a doença de Parkinson.

## **1.1. OBJETIVOS**

### **1.1.1. OBJETIVO GERAL**

Estudar o mecanismo de reação de referência na água da reação catalisada pela enzima catecol O-metiltransferase utilizando tratamento de Mecânica Quântica, apresentando, assim, o seu comportamento em relação ao metal  $Mg^{2+}$ .

### **1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Realizar estudo do mecanismo de reação de O-metilação que ocorre na enzima COMT levando em consideração a interação entre o S-adenosilmetionina com os substratos catecol, fenol e a dopamina.

Realizar estudo do mecanismo de reação de referência catalisada pela enzima COMT no solvente em relação à formação dos possíveis produtos da reação entre os substratos S-adenosilmetionina e dopamina.

Realizar estudo do mecanismo de reação de referência catalisada pela enzima COMT no solvente em presença do metal  $Mg^{2+}$  e em relação a sua formação octaédrica.

## 2. O ALVO BIOLÓGICO

### 2.1. DOENÇA DE PARKINSON

A doença de Parkinson foi descoberta por volta de 1817 quando o físico, cujo seu nome (James Parkinson) foi dado à doença, a descreveu pela primeira vez (PARKINSON, 2002). Em alguns momentos, ela pode ser chamada de "Paralizia Agitante", mas a sigla DP também pode ser utilizada. Segundo a *Parkinson's Disease Foundation* (2017), estima-se que 7 à 10 milhões de pessoas no mundo vivem com a doença de Parkinson. A sua incidência aumenta com a idade, mas somente 4% das pessoas com essa doença são diagnosticados antes dos 50 anos (FOUNDATION, 2017). Mesmo com o avanço no desenvolvimento tecnológico ainda existe a necessidade de que mais investigações sejam realizadas a respeito da prevenção e do tratamento de doenças neurodegenerativas.

A definição patológica da DP apresenta a perda ou degeneração da produção de dopamina (dopaminérgico) nos neurônios em uma região denominada de substância negra, onde a perda da produção de dopamina nos neurônios resulta na dificuldade do controle motor. Os sintomas dessa doença ocorrem em cerca de 60-70% dos neurônios nesta região (POSTUMA; GAGNON; MONTPLAISIR, 2010). As mutações genéticas que codificam as proteínas localizadas no sistema nervoso central tem envolvimento na morte de neurônios. Particularmente, o Alfa-sinucleína, que foi o primeiro gene identificado como causador da mutação que gera a DP, torna-se anormal e auto-agregado. Neste sentido, a DP ocorre devido a uma desordem que acontece no sistema nervoso central e a sua patologia trata-se de um processo complexo. A causa real dessa doença ainda é desconhecida. Mas atualmente, estudos tem direcionado a DP à um polimorfismo na enzima catecol O-metiltransferase e a perda de dopamina nos neurônios na substância negra (ESPINOZA et al., 2012). Embora Espinoza (2012) tenha afirmado que na maioria dos casos o fator genético não possui relevância, Andalib (2014), ressalta a variação de gene mitocondrial, onde a genética é vista como um importante fator para a causa dessa doença (ANDALIB; VAFAEE; GJEDDE, 2014).

A DP atinge preferencialmente a população idosa com mais de 60 anos e os seus sintomas clássicos apontam para problemas motores que incluem o tremor de repouso, a bradicinesia (lentidão anormal dos movimentos), a rigidez e a instabilidade postural (GIBB; LEES, 1988). Porém, ainda existe uma parcela de pacientes que apresentam demência com a progressão da doença, resultando em grave limitação funcional, diminuição da qualidade de vida e o aumento da mortalidade (DUBOIS; PILLON, 1997;

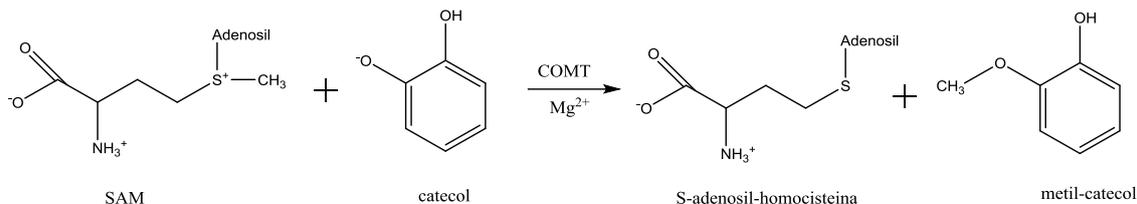
AARSLAND et al., 2003). E caso o paciente apresente um histórico de progressão gradual dos sintomas e responde bem a terapia com levedopa, a DP é diagnosticada de forma correta (GAZEWOOD; RICHARDS; CLEBAK, 2013).

Após anos de pesquisas, o diagnóstico e o gerenciamento da doença de Parkinson são amparados por métodos de detecção e pró-agnóstico. Em outras palavras, os biomarcadores validam com alta sensibilidade e especificidade a doença e são criticamente necessários, porém, são atualmente deficientes. Esse déficit constitui uma maior barreira de pesquisas uma vez que o desenho de ensaio clínico demanda um alvo ou biomarcador para teste de terapias neuroprotetoras (SHTILBANS; HENCHCLIFFE, 2012). Adicionalmente, nenhum marcador está presentemente habilitado para prever a progressão da DP com uma boa confiabilidade a validação (POSTUMA; GAGNON; MONTPLAISIR, 2010).

A DP representa um grande desafio clínico uma vez que ela é uma das várias doenças neurodegenerativas mais comuns, afetando primeiramente a população de indivíduos mais idosa, um grupo que cresce rapidamente no mundo, e a falta de um terapêutico significa influenciar a perda rígida de dopaminérgico. A DP por si só não causa mortes, porém, ela está associada com o aumento da morbidade e mortalidade. O reconhecimento de manifestação da doença, tratamentos, e a progressão dela é essencial para um melhor cuidado e aprimoramento da qualidade de vida para as pessoas com essa doença (BEITZ, 2014).

## **2.2. ENZIMA CATECOL O-METILTRANSFERASE**

A enzima catecol O-metiltransferase (COMT) faz parte da classe de metiltransferases. Essa classe trata-se de um grupo de enzimas que realizam importantes funções nos seres humanos, tanto os com fisiologia saudável quanto os com enfermidades (COPELAND; SOLOMON; RICHON, 2009). As enzimas metiltransferases utilizam-se de um mecanismo de metilação, ou seja, a transferência de um grupo metil para a substituição nucleofílica biomolecular. Neste caso, a S-adenosilmetionina, também denominada de AdoMet ou SAM, doa um grupo metil para um átomo de nitrogênio, oxigênio ou carbono na presença do metal  $Mg^{2+}$  (O'HAGAN; SCHMIDBERGER, 2010) (Figura 1).



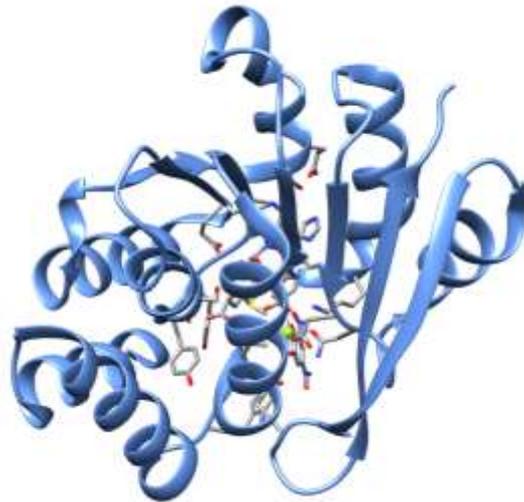
**Figura 1. Descrição esquemática da O-metilação da reação catalisada pela enzima COMT na presença do Mg<sup>2+</sup>, onde um grupo metil do SAM é transferido para o substrato catecol (Adaptado de (LAMEIRA, 2015)).**

Estudos que envolvem a classe metiltransferase têm apresentado fortes relações entre essas enzimas e algumas enfermidades humanas como, por exemplo, o câncer (ALBERT; HELIN, 2010; WAGNER; JUNG, 2012) e doenças neurodegenerativas como a DP (RUTHERFORD et al., 2008; ESPINOZA et al., 2012). Em relação a ela, a enzima COMT age no metabolismo extracelular da dopamina no sistema nervoso central e esse fato tem atraído a atenção de pesquisadores devido a tais características patológicas relacionadas à dopamina (RUTHERFORD et al., 2008; ESPINOZA et al., 2012).

A enzima COMT possui duas principais isoformas, a S-COMT e a MB-COMT. A primeira é uma isoforma citoplasmática solúvel que predomina na maioria dos tecidos utilizados em ensaios (JEFFERY; ROTH, 1984), enquanto que a segunda isoforma é a principal espécie, mais longa e ligada à membrana, e predomina no cérebro (TENHUNEN et al., 1994). Embora a COMT seja expressa de forma ampla, ela aparenta ser a menor a executar na dopamina quando em comparação com a captação sináptica neuronal pelo transportador da dopamina e pelo metabolismo subsequente da Monoamino Oxidase (MAO) (HUOTARI et al., 2002). Porém, a importância da COMT parece ser maior no córtex pré-frontal (CPF) (GOGOS et al., 1998; TUNBRIDGE et al., 2004) onde a expressão do transportador da dopamina é de baixo valor (SESACK et al., 1998).

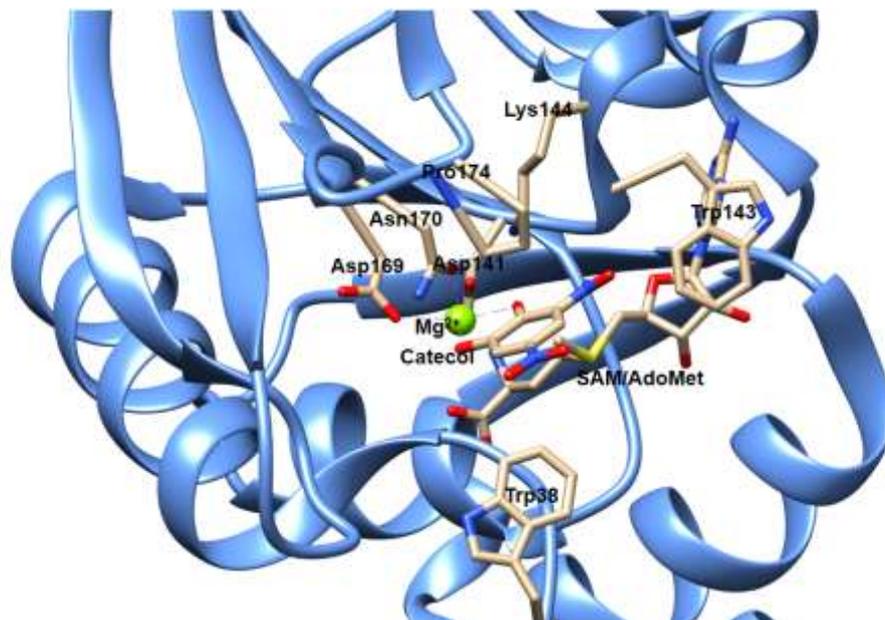
### **2.3. ESTRUTURA E FUNÇÃO: MECANISMO DE CATÁLISE**

Inicialmente, a estrutura cristalográfica da enzima COMT de humanos foi descrita em uma resolução de 1.7 a 2.0 Å (VIDGREN, J. et al., 1991; VIDGREN, J.; SVENSSON; LILJAS, 1994), sua estrutura foi detalhada (VIDGREN, J. A. O., M., 1997) e pode ser encontrada no banco de dados (PDB – do inglês, *Protein Data Bank*) com o código de acesso 3BWM. A sua estrutura 3D é apresentada na Figura 2.



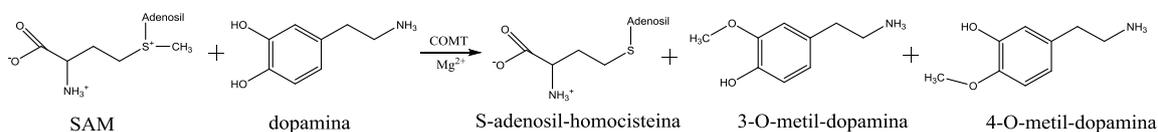
**Figura 2. Estrutura cristalográfica da enzima COMT (PDB, 3BWM).**

A enzima COMT possui um domínio simples da estrutura  $\alpha/\beta$ -dobrada em que 8  $\alpha$ -hélices estão ao redor da mistura central de  $\beta$ -folha. O sítio ativo dessa enzima consiste do domínio da ligação do S-adenosilmetionina (SAM) e o atual sítio catalítico. As regiões de ligação do SAM encontradas em estruturas cristalográficas de várias metiltransferases que foram caracterizadas apresentam muitas similaridades entre si. A formação do sítio catalítico apresenta poucos resíduos de aminoácidos que são importantes para a ligação dos substratos envolvidos no mecanismo, a água, o metal  $Mg^{2+}$  e também para a catálise de O-metilação. Após a ligação do SAM, o metal  $Mg^{2+}$ , que é ligado a COMT, converte o grupo hidroxila do substrato catecol para ser ionizado mais facilmente. O resíduo de aminoácido Lisina (Lys144), próximo do grupo hidroxila do substrato, em COMT que aceita os prótons e o grupo metil do SAM são transferidos para o grupo hidroxila. O resíduo de aminoácido Lys144 atua como uma base catalítica nessa reação nucleofílica. O metal  $Mg^{2+}$  possui uma coordenação octaédrica com dois resíduos de aminoácidos Aspartato (Asp141 e Asp169) para um resíduo de aminoácido Asparagina (Asn170), para as hidroxilas do catecol e para uma molécula de água. Os resíduos de aminoácidos Trp38, Trp143 e o Pro174, formam paredes hidrofóbicas e estão relacionadas à definição da seletividade da enzima COMT quanto as diferentes cadeias laterais do substrato (Figura 3). Esses resíduos de aminoácidos participam de forma direta na O-metilação mantendo o anel do catecol na posição correta e de forma planar. Sendo assim, contribuem de forma significativa para a ligação dos substratos da COMT (VIDGREN, J. et al., 1991; VIDGREN, J.; SVENSSON; LILJAS, 1994). A grande maioria de outras pequenas moléculas de metiltransferases não possui dependência com o metal  $Mg^{2+}$ , que se apresenta de forma crucial para a enzima COMT (FUJIOKA, 1992).



**Figura 3.** Sítio ativo da COMT de humanos com interação entre o SAM e o catecol na presença do metal  $Mg^{2+}$  e resíduos de aminoácidos.

O mecanismo de O-metilação catalisado pela enzima COMT forma os produtos S-adenosil-homocisteína (AdoHcy) e o catecol metilado (metil-catecol). Utilizando a dopamina no lugar do catecol tem-se como produto dessa reação catalisada pela COMT em presença do metal  $Mg^{2+}$  a formação do 3-O-metil-dopamina ou 4-O-metil-dopamina (Figura 4).



**Figura 4.** Descrição esquemática da O-metilação catalisada pela enzima COMT na presença do metal  $Mg^{2+}$ , onde o SAM doa um grupo metil para a dopamina. Nesta reação pode ser produzido ou o 3-O-metil-dopamina ou o 4-O-metil-dopamina.

A o-metilação que tende a posição meta da dopamina pode ocorrer de forma mais constante devido ao grupo hidroxila, que se aproxima do SAM, força a cadeia lateral a ficar orientado em uma posição que não seja favorável para com os resíduos de proteínas hidrofóbicas do sítio catalítico. Zhang e Klinman (2011) realizaram experimentos onde eles isolaram os produtos com o metil nas posições de meta e para (3'-hidroxil e 4'-hidroxil) e os quantificaram, confirmando a predominância de metilado na posição meta (ZHANG; KLINMAN, 2011), como pode ser observado na Tabela 1.

**Tabela 1. Taxa de metilação meta/para da dopamina catalisada pela recombinação da enzima COMT e seus mutantes (ZHANG; KLINMAN, 2011).**

<b>s-COMT</b>	<b>meta/para<sup>a</sup></b>
108V(WT)	4.8±0.4
Y68F	4.6±0.4
Y68A	4.6±0.6
V108M	5.1±0.6
V108M/Y68F	4.7±0.2
V108M/Y68A	4.2±0.4
W38A	1.7±0.1
W38V	1.9±0.03

<sup>a</sup>A taxa de metilação foi calculada de acordo com a contagem total de ligações para o <sup>14</sup>C no produto.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. MECÂNICA QUÂNTICA (MQ)

No decorrer do século XX e com os estudos realizados por Planck em relação ao espectro de emissão, ficou evidenciado que além da quantização ser uma característica da luz, ela também é uma característica de partículas fundamentais que auxiliam na constituição da matéria. Como por exemplo, as ligações de elétrons existentes entre átomos apresentam uma limitação no que diz respeito às energias discretas (níveis de energia) que pode ser verificado por indicações em seus espectros visíveis e ultravioleta, o que do ponto de vista clássico não se consegue explicar de uma forma clara (SILVA, 2015).

Dessa maneira, para a descrição de sistemas microscópicos é, então, necessário a utilização de outra visão da mecânica. Uma alternativa promissora foi a utilização da mecânica ondulatória, onde o fenômeno quantizado trata-se de ser as ondas estacionárias, e de algum modo, é possível a obtenção de propriedades de matéria bastante semelhantes com as das ondas, como proposto inicialmente por Bloch. Porém, também pode ser exibido as propriedades de partícula. Sendo assim, neste cenário, para que tal comportamento fosse explicado de forma satisfatória, a então chamada Mecânica Quântica (MQ) foi desenvolvida (SILVA, 2015).

O fundamento essencial da MQ é a função de onda ( $\Psi$ ), a qual está presente em qualquer sistema químico, onde determinadas funções (operadores) podem ser aplicadas e retornar propriedades relacionadas ao sistema. Dessa forma, temos:

$$\hat{H}\Psi = e\Psi$$

Onde se têm o operador  $\hat{H}$  é o valor escalar de alguma propriedade do sistema  $e$ . Levando em consideração a equação apresentada, o  $\Psi$  é denominado de autofunção enquanto o  $e$  é denominado de autovalor. Realizando uma analogia a matriz algébrica, o  $\Psi$  trata-se de um  $n$ -elemento do vetor coluna, a matriz quadrada  $N \times N$  é  $\hat{H}$ , e a constante escalar  $e$ . Desse modo, o complexo conjugado do produto da função de onda (como por exemplo,  $|\Psi * \Psi|$ ) possui as unidades da densidade de probabilidade. Com isso, o sistema químico terá a sua probabilidade obtida de uma região multidimensional, onde essa região será igual a integral de  $|\Psi|^2$  sobre tal região (SILVA, 2015).

### 3.2. EQUAÇÃO DE SCHRÖDINGER INDEPENDENTE DO TEMPO

Originalmente, a equação de Schrödinger depende do tempo. Porém, existem alguns casos onde é possível a obtenção de uma equação independente do tempo. Por exemplo, para caso de potenciais que se tratam de funções somente da posição  $V(r)$  é possível o uso de método de separação de variáveis na equação de Schrödinger e a obtenção da equação independente do tempo. Dessa forma, supõe-se que a função de onda seja:

$$\Psi(r, t) = \psi(r)\varphi(t) \quad (1)$$

A partir disso, implementam-se as alterações propostas para a função de onda na seguinte equação,

$$i\hbar \frac{\partial}{\partial t} [\psi(r)\varphi(t)] = -\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 [\psi(r)\varphi(t)] + V(r)\psi(r)\varphi(t) \quad (2)$$

para que possa ser obtido:

$$i\hbar\psi(r) \frac{d\varphi(t)}{dt} = -\frac{\hbar^2}{2m} \varphi(t) \nabla^2 \psi(r) + V(r)\psi(r)\varphi(t) \quad (3)$$

Ao dividir os lados por  $\psi(r)\varphi(t)$ , temos

$$i\hbar \frac{1}{\varphi(t)} \frac{d\varphi(t)}{dt} = -\frac{\hbar^2}{2m} \frac{1}{\psi(r)} \nabla^2 \psi(r) + V(r) \quad (4)$$

Sendo o lado direito da Equação 4 função somente da posição e o seu lado esquerdo o tempo, então, a igualdade só será aceita se um valor constante for assumido em ambos os lados. Dessa forma, assume-se que o valor constante é  $\hbar\omega$ , onde o  $\omega$  possui dimensão de frequência angular. A partir de então, obtém-se as seguintes equações:

$$\frac{d\varphi(t)}{dt} = -i\omega\varphi(t) \quad (5)$$

$$\varphi(t) = e^{-i\omega t} \quad (6)$$

$$-\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 \psi(r) + V(r)\psi(r) = \hbar\omega\psi(r) \quad (7)$$

A Equação 7 trata-se da equação de Schrodinger independente do tempo, também denominada de equação estacionária. Tratando de ser estacionário, pode-se encontrar

somente uma frequência angular  $\omega$ . E assim, recorre-se a fórmula de Einstein-Planck ,  $E = \hbar\omega$ , e reescrever, em termos da energia, as Equações 6 e 7, obtendo-se:

$$\varphi(t) = e^{-\frac{iEt}{\hbar}} \quad (8)$$

$$\left[ -\frac{\hbar^2}{2m}\nabla^2\psi(r) + V(r) \right] \psi(r) = E\psi(r) \quad (9)$$

O termo que na Equação 9 antecede  $\psi(r)$  do lado esquerdo trata-se do hamiltoniano  $H$  e o seu autovalor é o  $E$ . No caso se sistemas estacionários, a função de onda representativa é:

$$\Psi(r, t) = \psi(r)e^{\frac{iEt}{\hbar}} \quad (10)$$

Neste caso, é possível notar facilmente que a densidade probabilidade  $\rho(x, t) = |\Psi(r, t)|^2$  é independente do tempo. Outra forma de construir a equação de onda é com uma combinação linear de várias soluções da equação estacionária de Schrödinger, sendo

$$\sum_{n=0}^{\infty} c_n \psi_n(r) e^{-iE_n t/\hbar} \quad (11)$$

onde, tem-se o peso estatístico  $c_n$  associado a cada solução  $\psi_n(r)$ . Padrões de interferências podem ser gerados por esta superposição, como por exemplo, os presentes no experimento da fenda dupla de Young.

### 3.3. MÉTODO PARAMÉTRICO 6 (PM6)

Com a pretensão de encontrar soluções que se aproximem da equação de Schrödinger, os métodos semiempíricos empregam tanto restrições matemáticas mais drásticas quanto parâmetros empíricos do que aqueles, quando comparados, que são utilizados nos métodos *ab initio*. Dessa forma, os métodos semiempíricos são assim denominados por possuírem fundamentação teórica *ab initio* e determinação empírica (LASCHUK, 2005).

Computacionalmente, métodos semiempíricos, quando comparados com os *ab initio*, são muito mais baratos. Isso ocorre pelo fato deles realizarem substituições de termos complexos de calcular por outros menos complicados, além das simplificações que possuem. Com isso, a sua aplicação pode ocorrer sem grandes problemas em sistemas com centenas a milhares de átomos. Porém, deficiências podem ser encontradas nestes métodos no que diz respeito as aproximações que são incorporadas em seu formalismo,

como também, nas limitações relacionadas ao problema de otimização dos parâmetros (LASCHUK, 2005).

Os métodos semiempíricos *Austin Model 1* (AM1) (DEWAR et al., 1985) *Parametric Method 3* (PM3) (STEWART, 1991) e o *Parametric Method 6* (PM6) (STEWART, 2007) são métodos bastante utilizados. O primeiro é resultado de uma determinada modificação no *Modified Neglect of Differential Overlap* (MNDO) (DEWAR; THIEL, 1977b; a), trata-se de um dos métodos mais antigos. A partir dele, os valores de parâmetros, ao invés de serem otimizados para propriedades atômicas, foram otimizados para reprodução molecular. Sendo assim, as alterações aplicadas no método AM1 se aplicaram a função responsável pela descrição da repulsão entre caroços atômicos e a adição de novos parâmetros. Tais alterações, ao comparar com o método MNDO, resultaram em maior precisão para prever barreira de ativação em reações, além de melhorias em prever o calor de formação de moléculas. O segundo método (PM3) trata-se basicamente do AM1 reparametrizado, onde os novos parâmetros foram alcançados de maior número e representação em dados experimentais. Já o método PM6, possui parametrização para um maior número de metais de transição, podendo utilizar as funções dos métodos já citados, e em relação aos outros métodos semiempíricos mais antigos, apresenta várias melhorias. Sendo, dessa forma, o PM6 uma excelente alternativa para a execução de cálculos das moléculas (RICHTER et al., 2012).

E por isso, o método semiempírico PM6 é bastante utilizado no cálculo de polímeros e estrutura eletrônica de moléculas, já que os seus resultados se aproximam em termo de qualidade ao comparar com os métodos *ab initio* Hatree-Fock ou o de funcional de densidade (STEWART, 2007).

### **3.4. TEORIA DO FUNCIONAL DE DENSIDADE (DFT)**

A Teoria do Funcional de Densidade (DFT – do inglês, *Density Functional Theory*) possui grande importância dentro do estudo de estrutura eletrônica de moléculas. O DFT trata de problemas que o método *ab initio* Hartree-Fock também trata, mas com um maior grau de concordância em comparação a dados experimentais (MARENICH; CRAMER; TRUHLAR, 2009). O método DFT é baseado na teoria estatística dos átomos, de Thomas e Fermi, onde, segundo essa teoria (acerca dos elétrons) somente a densidade expressa a energia cinética e a energia de Coulomb deles (THOMAS, 1927; FERMI, 1928).

A função de onda eletrônica de uma molécula  $n$ -elétrons depende em  $3n$  espacial

e  $n$  coordenadas *spin*. Desde que o operador Halmitoniano contenha somente um e dois termos de elétrons espaciais, encontra-se que a energia molecular pode ser escrita em termos de integrais envolvendo somente seis coordenadas espaciais. Nesse sentido, a função de onda de uma molécula de vários elétrons contém mais informações do que é necessário e está em falta na significância física direta. Isso tem levado a pesquisa por funções que envolvem poucas variáveis do que a função de onda e que pode ser utilizado para calcular a energia e outras propriedades.

Em 1964, Hohenberg e Kohn mostraram que para moléculas com um estado fundamental não degenerado, a energia molecular do estado fundamental, função de onda, e todas as outras propriedades eletrônicas moleculares são unicamente determinada pela probabilidade de densidade do estado fundamental de elétron  $\rho_0(x, y, z)$ , uma função de somente três variáveis (HOHENBERG; KOHN, 1964). A energia eletrônica do estado fundamental  $E_0$  é um funcional de  $\rho_0$  e escrito  $E_0 = E_0[\rho_0]$ , onde os colchetes denota uma relação funcional. A Teoria do Funcional de Densidade procura calcular  $E_0$  e outras propriedades moleculares do estado fundamental do elétron de densidade  $\rho_0$  do estado fundamental. O funcional  $f(x)$  é uma regra que associa um número com cada valor da variável  $x$  para qual a função  $f$  é definida. Por exemplo, a função  $f(x) = x^2 + 1$  associa o número 10 com o valor 3 de  $x$  e associa um número com cada função  $f$ . Um funcional  $F[f]$  é uma regra que associa um número com cada outro valor de  $f$ . Por exemplo, o funcional  $F[f] = \int_{-\infty}^{\infty} f * (x)f(x)dx$  associa um número, encontrado por integração de  $|f|^2$  por todo o espaço, com cada função quadrática integrável  $f(x)$ . O integral variacional  $W[\phi] = \langle \phi | \hat{H} | \phi \rangle / \langle \phi | \phi \rangle$  é uma função da função variacional  $\phi$  e dado um número para cada bem orientado  $\phi$ .

A prova do teorema de Hohenberg-Kohn é como segue. A função de onda eletrônica do estado fundamental  $\psi_0$  de uma molécula  $n$ -elétrons é uma autofunção do Halmitoniano puramente eletrônico de

$$\hat{H}_{el} = \frac{-\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_{\alpha} \sum_i \frac{Z_{\alpha} e'^2}{r_{i\alpha}} + \sum_j \sum_{i>j} \frac{e'^2}{r_{ij}} \quad (12)$$

, que, em unidades atômicas, é:

$$\hat{H} = \frac{-1}{2} \sum_{i=1}^n \nabla_i^2 + \sum_{i=1}^n v(r_i) + \sum_j \sum_{i>j} \frac{1}{r_{ij}} \quad (13)$$

$$v(r_i) = - \sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha}}{r_{i\alpha}}$$

A quantidade  $v(r_i)$ , a energia potencial de interação entre o elétron  $i$  e o núcleo, depende nas coordenadas  $x_i, y_i, z_i$ , do elétron  $i$  e na coordenada nuclear. Desde a equação eletrônica de Schrödinger é resolvida para fixar locais no núcleo, as coordenadas nucleares não são variáveis para a equação eletrônica de Schrödinger. Assim,  $v(r_i)$  na equação eletrônica de Schrödinger é uma função de somente  $x_i, y_i, z_i$ , que se indica utilizando vetor de notação. Em DFT,  $v(r_i)$  é chamado o potencial externo atuando no elétron  $i$ , desde que ele produzido por cargas externas para o sistema de elétrons.

O método DFT apresentado por Hohenberg e Kohn possui como base dois teoremas, os quais apresentam a existência de um funcional exato da densidade eletrônica, que é responsável por descrever determinado princípio exato para tal funcional de densidade e a energia total de dado sistema eletrônico  $E[\rho]$ .

$$E_0 = E[\rho] = T[\rho] + \int \rho(r)v(r)dr + V_{ee}[\rho] \quad (14)$$

Onde se têm energia cinética  $T[\rho]$ , potencial externo  $v(r)$  e o potencial de interação entre elétrons  $V_{ee}[\rho]$ . O termo  $T[\rho]$  trata-se de uma funcional de densidade eletrônica para um dado sistema com interação de elétrons (PARR; WEITAO, 1989). Com o intuito de solucionar a energia através da utilização do método DFT, foi proposto por Kohn e Sham a equação do funcional (KOHN; SHAM, 1965).

$$E[\rho] = T[\rho] + V_{ne}[\rho] + V_{ee}[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (15)$$

Onde se têm a energia potencial de atração entre núcleo e elétron  $V_{ne}$ , energia potencial de repulsão entre elétrons  $V_{ee}$  e o funcional de correlação e troca  $E_{xc}$ . Este último, de forma geral, é descrito com um somatório de dois componentes, onde um trata-se de ser o componente de troca enquanto o outro o de correlação.

$$E_{xc}[\rho] = E_x[\rho] + E_c[\rho] = \int \rho E_x[\rho]d + \int \rho E_c[\rho]d \quad (16)$$

Em relação a energia de troca, ela é definida como sendo um funcional de densidade eletrônica, incluindo os termos considerados não clássicos. A correlação eletrônica apresenta o termo de troca relacionado a correlação entre os elétrons que possuem um mesmo *spin*, e a diferença existente entre a energia dos sistemas de elétrons que não possuem interação e a cinética exata. Dessa forma, esse funcional é o responsável por tornar o método DFT diferente, quando comparado, dos outros métodos *ab initio* (MORGAN, 2007).

Existe uma vasta quantidade de formulações que tratam da utilização de outros funcionais, como por exemplo, métodos de gradientes corrigidos. Nele, o funcional de densidade não possui dependência do valor de um dado ponto, mas sim, no gradiente da densidade. Como contribuição de troca, pode-se citar o funcional de Becke (BECKE 1993), e como o de correlação, o de LYP (LEE; YANG; PARR, 1988).

Dessa forma, o DFT é utilizado com grande êxito no tratamento de estrutura molecular, estruturas de estado de transição, determinação de barreiras de ativação, campos de frequências e forças, dados termodinâmicos, espectroscopia ultravioleta, ressonância paramagnética eletrônica, ressonância magnética nuclear, foto eletrônica, momentos de dipolos, e etc. (FUKUI, 1981; JORGENSEN; TIRADO-RIVES, 1988; LEE; YANG; PARR, 1988; BECKE 1993).

### 3.5. TEORIA DE PERTURBAÇÃO DE MØLLER-PLESSET (MP)

A teoria da Perturbação de Muitos Corpos (MBPT – do inglês, *Many Body Perturbation Theory*) (MØLLER; PLESSET, 1934) pode ser utilizada para a obtenção de energia referente a correlação eletrônica. Tal método perturbativo trata uma característica referente aos métodos variacionais que está relacionada às interações eletrônicas que são tidas na forma de uma interação média autoconsistente. Esse tratamento pode ser realizado considerando a obtenção da energia por meio do método Hartree-Fock restrito e também levando em consideração a exata energia presente no sistema como não relativístico, de acordo com a seguinte equação:

$$E_{corr} = E_0 - E_{HF} \quad (17)$$

Geralmente, a MBPT faz uso da partição de Møller-Plesset, e dessa forma, pode-se então ser denominada de Teoria de Perturbação de Møller-Plesset. Essa teoria é baseada na teoria de Rayleigh-Schrödinger (MERZBACHER, 1976). Onde o hamiltoniano total do sistema é dividido entre o hamiltoniano não perturbado (representado pela parte de ordem zero,  $\hat{H}_0$ ) e a perturbação ( $\hat{V}$ ), de acordo com a equação

$$\hat{H} = \hat{H}_0 + \hat{V} \quad (18)$$

, onde  $\hat{H}_0$  expressa o somatório de operadores de Fock, sendo

$$\hat{H}_0 = \sum_{i=1}^N f(i) = \sum_{i=1}^N [h(i) + v^{HF}(i)] \quad (19)$$

e  $\hat{V}$  representa a diferença entre a repulsão eletrônica e o potencial de Hartree-Fock, da seguinte forma:

$$\hat{V} = \sum_{i < j} r_{ij}^{-1} - \sum_i v^{HF} \quad (20)$$

Para a energia de correlação faz-se necessário obter a expansão da perturbação. Dessa forma, um hamiltoniano deve ser escolhido, que no caso, trata-se do hamiltoniano de Hartree-Fock ( $\hat{H}_0$ ), onde ele foi obtido voltado para um sistema de N-elétons.

Sendo assim, para solucionar determinado problema de autovalor como

$$\hat{H}|\psi_n\rangle = (\hat{H}_0 + \hat{V})|\psi_n\rangle = E_n|\psi_n\rangle \quad (21)$$

e conhecendo as autofunções e autovalores de  $\hat{H}_0$ , temos:

$$\hat{H}_0|\psi_n^{(0)}\rangle = E_n^{(0)}|\psi_n^{(0)}\rangle \quad (22)$$

Caso  $\hat{V}$  seja muito baixo, espera-se que  $E_n$  e  $|\psi_n\rangle$  estejam aproximados, respectivamente, de  $E_n^{(0)}$  e  $|\psi_n^{(0)}\rangle$ . Pensando em aplicar melhorias referentes aos autovalores e autofunções de  $\hat{H}_0$ , o que auxiliaria na sua aproximação do hamiltoniano total  $\hat{H}$ , adiciona-se  $\lambda$  como parâmetro:

$$\hat{H} = \hat{H}_0 + \lambda\hat{V} \quad (23)$$

Através da expansão dos autovalores e autofunções em determinada série de Taylor com potências de  $\lambda$ , levando em consideração  $\lambda = 0$ , obtemos:

$$|\psi_n\rangle = |\psi_n^{(0)}\rangle + \lambda|\psi_n^{(1)}\rangle + \lambda^2|\psi_n^{(2)}\rangle + \dots \quad (24)$$

$$E_n = E_n^{(0)} + \lambda E_n^{(1)} + \lambda^2 E_n^{(2)} + \dots \quad (25)$$

Onde  $E_n^{(k)}$  trata-se da correção de energia de ordem  $k$ -ésima. Porém, deve-se obter uma forma de como expressar as quantidades da energia de ordem zero e elementos de matriz  $\hat{V}$  entre a função de onda tida como não perturbada,  $\langle\psi_i|\hat{V}|\psi_j\rangle$ .

Supõe-se que as Equações 24 e 25 gerem séries que sejam convergentes a  $\lambda = 1$ , e ainda, dada baixa perturbação, sendo apenas considerados os primeiros termos da série, possui-se uma boa proximidade de autovalor e verdadeira função de onda. Fazendo necessário a normalização das funções de onda de  $\hat{H}_0$ , ( $\langle\psi_i|\psi_j\rangle = 1$ ), além de uma normalização secundária, sendo:

$$\langle\psi_n^{(0)}|\psi_n\rangle = 1 \quad (26)$$

Tal normalização poderá ser realizada sempre, porém, não se  $|\psi_n^{(0)}\rangle$  e  $|\psi_n\rangle$  forem ortogonais. Então, ao realizar a multiplicação das Equações 24 e  $\langle\psi_n^{(0)}|$  obtém-se

$$\langle \psi_n^{(0)} | \psi_n \rangle = \langle \psi_n^{(0)} | \psi_n^{(0)} \rangle + \lambda \langle \psi_n^{(0)} | \psi_n^{(1)} \rangle + \lambda^2 \langle \psi_n^{(0)} | \psi_n^{(2)} \rangle + \dots = 1 \quad (27)$$

, onde essa equação é válida a todos os valores do parâmetro  $\lambda$ . Adicional a isso, através da igualdade dos coeficientes de  $\lambda^k$ , tem-se:

$$\langle \psi_n^{(0)} | \psi_n^{(k)} \rangle = 0 \quad k = 1, 2, 3, \dots \quad (28)$$

Realizando a substituição das Equações 27 e 28 na Equação 21, obtém-se:

$$\begin{aligned} & (\widehat{H}_0 + \widehat{V})(|\psi_n^{(0)}\rangle + \lambda|\psi_n^{(1)}\rangle + \lambda^2|\psi_n^{(2)}\rangle + \dots) = \\ & = (E_n^{(0)} + \lambda E_n^{(1)} + \lambda^2 E_n^{(2)} + \dots)(|\psi_n^{(0)}\rangle + \lambda|\psi_n^{(1)}\rangle + \lambda^2|\psi_n^{(2)}\rangle + \dots) \end{aligned} \quad (29)$$

E através do equacionamento dos coeficientes de  $\lambda^k$ , pode-se obter:

$$\widehat{H}_0 |\psi_n^{(0)}\rangle = E_n^{(0)} |\psi_n^{(0)}\rangle \text{ para } n = 0 \quad (30)$$

$$\widehat{H}_0 |\psi_n^{(1)}\rangle + \widehat{V} |\psi_n^{(0)}\rangle = E_n^{(0)} |\psi_n^{(1)}\rangle + E_n^{(1)} |\psi_n^{(0)}\rangle \text{ para } n = 1 \quad (31)$$

$$\widehat{H}_0 |\psi_n^{(2)}\rangle + \widehat{V} |\psi_n^{(1)}\rangle = E_n^{(0)} |\psi_n^{(2)}\rangle + E_n^{(1)} |\psi_n^{(1)}\rangle + E_n^{(2)} |\psi_n^{(0)}\rangle \text{ para } n = 2 \quad (32)$$

e assim sucessivamente.

Se multiplicar cada Equação acima por  $\langle \psi_n^{(0)} |$  e levar em consideração a relação de ortogonalidade da Equação 24, é possível obter as expressões seguintes para a  $n$ -ésima ordem de energias:

$$E_n^{(0)} = \langle \psi_n^{(0)} | \widehat{H}_0 | \psi_n^{(0)} \rangle \quad (33)$$

$$E_n^{(1)} = \langle \psi_n^{(0)} | \widehat{V} | \psi_n^{(0)} \rangle \quad (34)$$

$$E_n^{(2)} = \langle \psi_n^{(0)} | \widehat{V} | \psi_n^{(1)} \rangle \quad (35)$$

Para a resolução da Equação 29 para  $|\psi_n^{(k)}\rangle$ , e por conseguinte determinar a energia de ordem  $k$ -ésima pode-se utilizar as correções de ordem superior a dois na energia.

A equação utilizada para a determinação da função de onda de primeira ordem  $|\psi_n^{(1)}\rangle$ , quando reescrita, temos:

$$(E_n^{(0)} - \widehat{H}_0) |\psi_n^{(1)}\rangle = (\widehat{V} - E_n^{(1)}) |\psi_n^{(0)}\rangle = (\widehat{V} - \langle \psi_n^{(0)} | \widehat{V} | \psi_n^{(0)} \rangle) |\psi_n^{(0)}\rangle \quad (36)$$

Uma equação de autovalor e a reescrita acima não se distinguem. Mas esta última trata-se de uma equação diferencial do tipo não homogênea, podendo ser chamada de íntegro-diferencial. Equações semelhantes podem ser resolvidas de várias formas, uma

delas é expandir  $|\psi_n^{(1)}\rangle$  levando em consideração as autofunções de  $\hat{H}_0$ , onde é exigida a formação de um conjunto completo,

$$|\psi_n^{(1)}\rangle = \sum_j c_j^{(1)} |\psi_j^{(0)}\rangle \quad (37)$$

, ao multiplicar esta equação por  $\langle\psi_j^{(0)}|$ , e já que as autofunções do  $\hat{H}_0$  são ortonormais, temos:

$$\langle\psi_j^{(0)}|\psi_n^{(1)}\rangle = \langle\psi_j^{(0)}|\sum_j c_j^{(1)} \psi_n^{(1)}\rangle = c_j^{(1)} \quad (38)$$

E o  $c_n^{(1)} = 0$  da equação 28 pode ser escrito

$$|\psi_n^{(1)}\rangle = \sum_{j \neq n} ' |\psi_j^{(0)}\rangle \langle\psi_j^{(0)}|\psi_n^{(1)}\rangle$$

Sendo a linha presente no somatório utilizado para recordar de que existe a exclusão de  $j = n$ . Ao multiplicar a Equação 28 por  $\langle\psi_j^{(0)}|$ , e levando em consideração que as funções de onda de ordem equivalente a zero são ortogonais, obtém-se:

$$(E_n^{(0)} - E_j^{(0)}) \langle\psi_j^{(0)}|\psi_n^{(1)}\rangle = \langle\psi_j^{(0)}|V|\psi_n^{(0)}\rangle \quad (39)$$

Ao utilizar a expansão obtida pela Equação 38, relacionada a expressão de energia de segunda ordem da equação 35, tem-se:

$$E_n^{(2)} = \langle\psi_n^{(0)}|V|\psi_n^{(1)}\rangle = \sum_j ' \langle\psi_j^{(0)}|V|\psi_n^{(0)}\rangle \langle\psi_j^{(0)}|\psi_n^{(1)}\rangle \quad (40)$$

E com a Equação 39, pode-se expressar a correção na energia de segunda ordem dessa forma:

$$E_n^{(2)} = \sum_j ' \frac{\langle\psi_n^{(0)}|V|\psi_j^{(0)}\rangle \langle\psi_j^{(0)}|V|\psi_n^{(0)}\rangle}{E_n^{(0)} - E_j^{(0)}} = \sum_j ' \frac{|\langle\psi_n^{(0)}|V|\psi_j^{(0)}\rangle|^2}{E_n^{(0)} - E_j^{(0)}} \quad (41)$$

A correção na energia relacionada a primeira ordem pode ser resolvida apenas com a seguinte integral  $\langle\psi_n^{(0)}|\hat{V}|\psi_j^{(0)}\rangle$ . E quando se tratar de outras correções, deve ser calculado todos os elementos matriciais presentes na coluna  $n$  (para  $E_n^{(2)}$ ) e todos os elementos de toda a matriz para  $\psi_n^{(1)}$  e  $\psi_n^{(2)}$ . Como pode ser observado na Equação 41 e graças ao fator comum nas correções,  $\frac{1}{E_n^{(0)} - E_j^{(0)}}$ , é que para que as contribuições de maiores

impactos para energia de segunda ordem sempre virão de níveis que encontram-se próximos ao nível  $n$ .

Segundo o teorema de Brillouin (SZABO; OSTLUND, 1982), apenas as excitações duplas interagem de forma direta com o determinante de Hartree-Fock. Sendo assim, existe uma semelhança entre a primeira correção voltada para a energia Hartree-Fock e a energia de perturbação de segunda ordem. Podendo assim, representar como a soma de excitações duplas

$$E_0^{(2)} = \sum_{\substack{a < b \\ r < s}} \frac{|\langle ab || rs \rangle|^2}{\varepsilon_a + \varepsilon_b - \varepsilon_r - \varepsilon_s} \quad (42)$$

Sendo que  $\varepsilon_i$  trata-se da energia do orbital molecular  $i$ . O somatório abrange todos os orbitais moleculares virtuais ( $r, s, \dots$ ) e os ocupados ( $a, b, \dots$ ).

Com a Equação 42, obtém-se a energia de correlação através da teoria de perturbação até segunda ordem, tendo-se o método denominado de teoria de perturbação de Møller-Plesset até segunda ordem, ou ainda, método MP2. Dado a simplicidade da Equação 42 o método MP2 é geralmente utilizado para sistemas relativamente grandes. Como já citado, a teoria de perturbação também possibilita cálculos de energia de correlação para as demais ordens (MORGAN, 2007) (MP3, MP4, MP5, e etc.).

### 3.6. MODELO CONTÍNUO POLARIZÁVEL (PCM)

As abordagens de química quântica possuem uma importância fundamental no que se refere às diferentes áreas da ciência, da biologia à medicina, e da física à ciência de materiais. Uma das muitas características da química quântica moderna é a sua possibilidade de serem estendidas para tratar de sistemas (supra) moleculares incorporados em ambientes de alta complexidade. Essa extensão é possível ser realizada graças ao rápido avanço do desenvolvimento dos chamados modelos de solvatação, como por exemplo, os modelos que podem ser combinados com a descrição de MQ de determinado sistema molecular para contabilizar os efeitos do desenvolvimento sobre suas reatividades e propriedades. Para que sejam utilizados, esses modelos têm de ser eficientes computacionalmente e fáceis de estendê-los para ambientes das mais diversas naturezas e composições. Os modelos de solvatação que têm demonstrado possuir esses requisitos são de natureza clássica; eles adotam uma descrição de Mecânica Molecular (MM) para o ambiente ou utilizam uma aproximação de linha contínua de acordo com o qual a natureza microscópica do ambiente desaparece e é substituído por um dielétrico (TOMASI; PERSICO, 1994; CRAMER; TRUHLAR, 1999; TOMASI; MENNUCCI;

CAMMI, 2005). Entre os modelos contínuos, o Modelo Polarizável Contínuo (PCM – do inglês, *Polarizable Continuum Model*), originalmente desenvolvido há cerca de 30 anos (MIERTUS; SCROCCO; TOMASI, 1981), representa uma das aproximações mais bem sucedidas para ser combinado com a descrição MQ do soluto molecular. Desde a sua criação, o modelo original tem passado por várias melhorias tanto na sua formulação teórica quanto na sua implementação numérica (CAMMI; TOMASI, 1995; CANCES; MENNUCCI; TOMASI, 1997; BARONE; COSSI, 1998; LIPPARINI et al., 2010; SCALMANI; FRISCH, 2010), além disso, ele tem sido expandido para o tratamento de diferentes processos moleculares e fenômenos, bem como a descrição de ambientes com diversas características (MENNUCCI; CANCES; TOMASI, 1997; CORNI; TOMASI, 2001; FREDIANI et al., 2004). O desenvolvimento deste modelo têm produzido uma ferramenta tão poderosa que muitas das fontes computacionais largamente utilizadas para cálculos de estrutura eletrônica têm o PCM como o seu modelo padrão de solvatação.

A formulação básica de modelos contínuos requer a solução de um clássico problema eletrostático

$$-\vec{\nabla} \times [\varepsilon(\vec{r})\vec{\nabla}V(\vec{r})] = 4\pi\rho_M(\vec{r}) \quad (43)$$

, onde  $\rho_M(\vec{r})$  é a distribuição de carga de soluto e  $\varepsilon(\vec{r})$  é a permissividade geral dependente da posição. Assumindo que a distribuição de carga  $\rho_M(\vec{r})$  é contida em uma cavidade molecular  $C$  de propriedade adequada e dimensão construída dentro de um solvente homogêneo e isotrópico,  $\varepsilon(\vec{r})$  assume-se a simples fórmula:

$$\varepsilon(\vec{r}) = \begin{cases} 1 & \vec{r} \in C, \\ \varepsilon & \vec{r} \notin C \end{cases} \quad (44)$$

, onde  $\varepsilon$  é a constante dielétrica do solvente.

Utilizando a definição Equação 44 com a condição de contorno adequada, o problema eletrostático apresentado na Equação 43 pode ser resolvido em termos de um potencial  $V$ , que é a soma do potencial de soluto mais a devida contribuição para uma distribuição de carga fictícia  $\sigma(\vec{s})$  no contorno entre o soluto e o solvente, como por exemplo, a superfície da cavidade  $C$ ,  $\Gamma = \partial C$ , nomeadamente:

$$V(\vec{r}) = V_M(\vec{r}) + V_\sigma(\vec{r}) \quad (45)$$

$$V_\sigma(\vec{r}) = \int_\Gamma \frac{\sigma(\vec{s})}{|\vec{r} - \vec{s}|} d^2s \quad (46)$$

A redução da fonte do potencial de solvente da reação para a distribuição de carga limitada a uma superfície fechada simplifica bastante o problema eletrostático com relação às outras formulações em que o meio dielétrico é considerado como fonte do

potencial da reação. Apesar desta notável simplificação, a integração da Equação 46 sobre uma superfície de forma complexa é computacionalmente desafiador. As soluções são geralmente baseadas na discretização da integral (Equação 46) dentro de um número finito de elementos.

Uma vez que o  $\sigma(\vec{s})$  é conhecido, o problema é resolvido e o componente eletrostático da energia livre de solvatação pode ser escrito como segue:

$$G^{el} = \frac{1}{2} \int_{\Gamma} \sigma(\vec{s}) \left[ \int_V \frac{\rho_M(\vec{r})}{|\vec{r} - \vec{s}|} d^3r \right] d^2s \quad (47)$$

Dentro do *framework* PCM, diferentes formulações de alternativas da carga de superfície aparente  $\sigma(\vec{s})$  tem sido apresentadas durante anos. Atualmente, cada uma das formulações é indicada com diferentes acrônimos (DPCM, CPCM e IEFPCM).

### 3.7. PREPARAÇÃO DOS MODELOS COMPUTACIONAIS

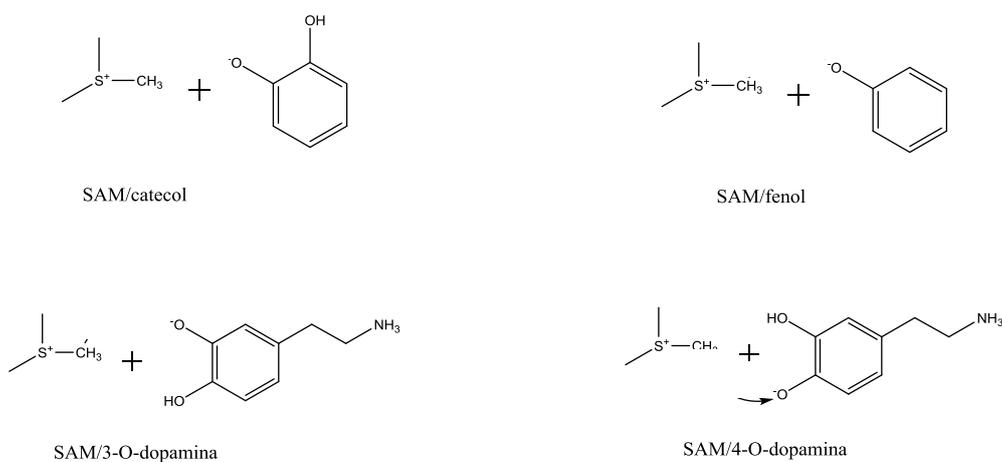
Para a construção dos modelos computacionais utilizados para as simulações, as coordenadas (x, y e z) iniciais foram obtidas a partir da estrutura 3D da enzima COMT presente no Banco de Dados de Proteínas (PDB – do inglês, *Protein Data Bank*) sob o código de acesso 3BWM (VIDGREN, J. A. O., M., 1997). Após a identificação dos ligantes de interesse, os cálculos de MQ foram realizados através da utilização de métodos semiempíricos (PM6), *ab initio* (DFT) e de perturbação (MP2). Os cálculos relacionados aos métodos DFT (B3LYP) e MP2 utilizaram o conjunto de bases de função difusa 6-31g(d,p). Todos os cálculos foram realizados na ferramenta computacional Gaussian09 (FRISCH et al., 2009).

Para a otimização de estrutura, os cálculos de frequências vibracionais harmônicas foram realizados para determinar a natureza dos pontos estacionários (reagente, estado de transição e produto) através de cálculos para a obtenção do caminho intrínseco da reação, e em seguida esses pontos estacionários tiveram as suas energias corrigidas por meio da energia do ponto zero (ZPE – do inglês, *Zero-point Energy*). Possibilitando, assim, determinar de uma forma mais aproximada as energias de ativação e a energia total das reações, bem como as distâncias (Å) envolvidas na O-metilação das reações.

Para este estudo de energética da reação de referência da reação catalisada pela enzima COMT foram utilizados dois sistemas:

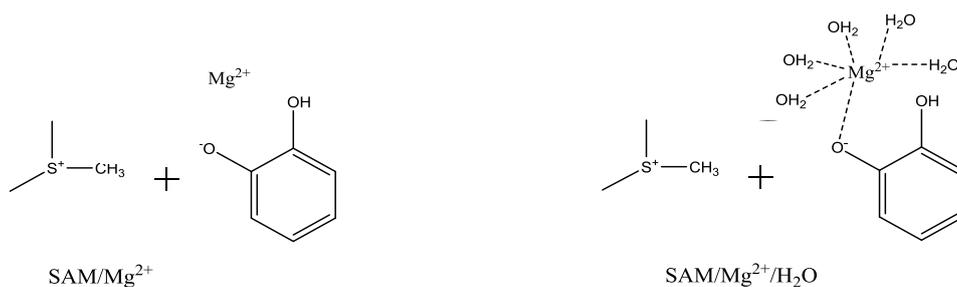
No primeiro sistema, procurou-se verificar diferenças energéticas entre as reações. Sendo que, em um primeiro momento os cálculos trataram das seguintes reações: o SAM

e o catecol, SAM e o fenol e, posteriormente, SAM com a dopamina. Neste primeiro sistema, foram realizados cálculos com os métodos PM6, DFT e MP2 para as quatro reações. E os métodos PM6 e DFT foram utilizados para cálculos referentes aos dois possíveis produtos da reação que envolve o co-substrato SAM e a dopamina (3-O-metil-dopamina e 4-O-metil-dopamina), apresentados no item 2.3. Para facilitar a compreensão, adota-se os seguintes nomes para as reações estudadas neste sistema. Sendo assim, temos: o SAM/catecol (a reação entre o co-substrato SAM e o catecol); o SAM/fenol (a reação entre o co-substrato SAM e o fenol); e no caso da reação entre o SAM e a dopamina temos o SAM/3-O-dopamina e SAM/4-O-dopamina (Figura 5).



**Figura 5. Representação das reações que foram estudadas o primeiro sistema (SAM/catecol, SAM/fenol, SAM/3-O-dopamina e SAM/4-O-dopamina).**

Já no segundo sistema, as geometrias de equilíbrio dos pontos estacionários foram tratadas a partir de estruturas já otimizadas com o método DFT, onde foram realizados cálculos de frequências vibracionais harmônicas, para a determinação do caminho intrínseco da reação, bem como para as correções de energias (ZPE). Possuindo tais pontos estacionários a partir do cálculo com o método DFT sem o modelo de solvatação, foram realizados cálculos *single point* utilizando os métodos PM6 e MP2. Para os cálculos realizados com o modelo de solvatação, os três métodos de MQ foram utilizados. Neste segundo sistema, o estudo abordou a reação SAM/catecol de duas maneiras: (i) na presença do metal  $Mg^{2+}$ ; (ii) e adicionando 5 (cinco) moléculas de água ( $H_2O$ ) na reação interagindo com o metal  $Mg^{2+}$  (Figura 6). Os métodos PM6, DFT e MP2 foram utilizados. Para facilitar a compreensão, adota-se os seguintes nomes para as reações estudadas neste sistema, dessa forma, temos: SAM/ $Mg^{2+}$  (SAM/catecol em presença do metal  $Mg^{2+}$ ) e SAM/ $Mg^{2+}/H_2O$  (SAM/ $Mg^{2+}$  onde o metal  $Mg^{2+}$  interage com 5 moléculas de água).



**Figura 6. Representação das reações que foram estudas neste segundo sistema (SAM/Mg<sup>2+</sup> e SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O).**

Os dois sistemas propostos para a simulação computacional são de fundamental importância para o estudo do mecanismo da reação catalisada pela enzima COMT apresentada no item 2.3 deste trabalho. O primeiro sistema aborda a seguinte questão: embora o catecol seja o substrato a reagir com o SAM na enzima COMT, ao ser substituído tanto pelo fenol quanto pela dopamina, a energética da reação apresenta grandes diferenças entre esses substratos? E levando em consideração o fato de que o produto da reação entre o SAM e a dopamina resulta em dois possíveis substratos (além do adenosil-homocisteína), energeticamente, existem grandes diferenças já que há maior probabilidade de resultar em um 3-O-metil-dopamina do que 4-O-metil-dopamina?

Já o segundo sistema possui uma relação mais forte com o item 2.3, justamente por propor simulação na presença do metal Mg<sup>2+</sup> como ocorre na enzima. Neste cenário, as cinco moléculas de água adicionadas ao mecanismo fazem referências aos três resíduos de aminoácidos (Asp141, Asp169, Asn170,) e uma molécula de água, conforme a Figura 7. Todos interagindo com o metal Mg<sup>2+</sup>. E em ambos os sistemas, os cálculos realizados com o modelo de solvatação PCM permitirão a calibragem do sistema.

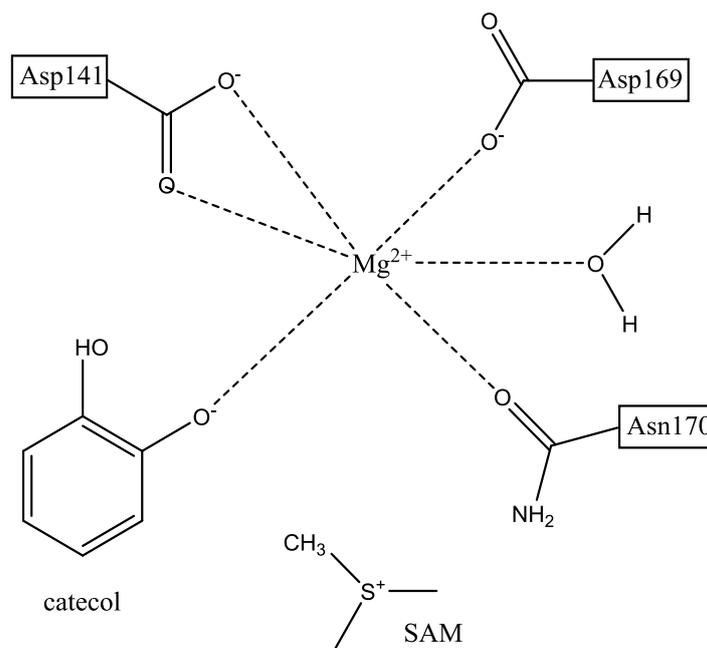


Figura 7. Representação do sítio ativo da enzima COMT, onde o metal  $Mg^{2+}$  interage com o catecol, e com os resíduos de aminoácidos (Asp141, Asp169 e Asn170) e uma molécula de água.

### 3.8. PACOTE COMPUTACIONAL UTILIZADO

- CHIMERA (PETTERSEN et al., 2004): Programa utilizado para a visualização de estrutura do PDB em 3D. Para este trabalho está sendo utilizada a versão 1.10.2.
- GAUSSIAN (FRISCH et al., 2009): Pacote computacional utilizado para os cálculos de MQ. Para este trabalho está sendo utilizada a versão 09, também conhecido como, Gaussian09.
- GAUSSVIEW (DENNINGTON; KEITH; MILLAM, 2009): Programa utilizado para a criação dos modelos computacionais, visualização dos resultados de frequências vibracionais e caminho da reação. Para este trabalho está sendo utilizada a versão 5.0.8.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como já tratado no item 3.7, os resultados dos cálculos de MQ para cada sistema serão apresentados e discutidos como seguem.

### 4.1. SISTEMA 1

Inicialmente, foi realizada a obtenção das coordenadas x, y e z de referência da reação catalisada pela enzima COMT a partir de sua estrutura tridimensional (código de acesso 3BWM no PDB) como já mencionado. Com isso, obteve-se a reação SAM/catecol, e a partir dessa reação um dos grupos hidroxil foi removido para a obtenção da reação SAM/fenol. Outra alteração na reação SAM/catecol possibilitou a obtenção da reação SAM/3-O-dopamina através da adição da ramificação C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>N no substrato catecol para gerar a dopamina. E em seguida, com uma alteração de posição da ramificação (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>N) na dopamina da reação SAM/3-O-dopamina, obteve-se a reação SAM/4-O-dopamina.

Então, após a construção desses modelos computacionais, foram realizados cálculos de frequências vibracionais. A partir de tal otimização de estrutura, foram realizados cálculos de IRC (*Intrinsic Reaction Coordinate* - do inglês, Coordenadas Intrínsecas da Reação) e, dessa forma, foram obtidos os três pontos estacionários das reações (reagente, estado de transição e produto) (Figura 8). Nesses três pontos foram realizados cálculos de ZPE para a obtenção do ponto mínimo e correções de energias.

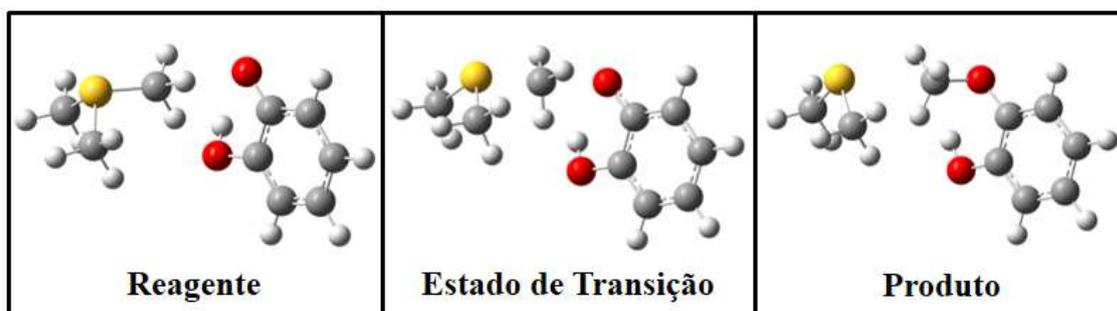


Figura 8. Representação dos três pontos estacionários (reagente, estado de transição e produto), nos quais foram realizados cálculos para correção de energias (ZPE).

Na Tabela 2 são apresentados os resultados obtidos a partir dos cálculos energéticos (kcal/mol) das reações em questão sem modelo de solvatação, ou seja, no gás. Esses cálculos são referentes a energia de ativação  $\Delta E^\ddagger$ , onde  $\Delta E^\ddagger = E_{ts} - E_{reagente}$ , e a energia total da reação  $\Delta E^0$ , onde  $\Delta E^0 = E_{produto} - E_{reagente}$ .

**Tabela 2. Resultados dos cálculos energéticos, em kcal/mol, das reações SAM/catecol, SAM/fenol, SAM/3-O-dopamina e SAM/4-O-dopamina sem a presença do modelo de solvatação PCM. Para esta última reação foi utilizada somente os métodos PM6 e DFT.**

<b>PM6</b>		
	$\Delta E^\ddagger$ (kcal/mol)	$\Delta E^0$ (kcal/mol)
SAM/catecol	11,23	-33,56
SAM/fenol	6,62	-34,42
SAM/3-O-dopamina	10,47	25,22
SAM/4-O-dopamina	7,16	32,34
<b>DFT</b>		
	$\Delta E^\ddagger$ (kcal/mol)	$\Delta E^0$ (kcal/mol)
SAM/catecol	3,72	-36,51
SAM/fenol	2,79	-42,94
SAM/3-O-dopamina	2,92	-39,09
SAM/4-O-dopamina	2,75	39,22
<b>MP2</b>		
	$\Delta E^\ddagger$ (kcal/mol)	$\Delta E^0$ (kcal/mol)
SAM/catecol	9,05	-50,12
SAM/fenol	7,86	-42,84
SAM/3-O-dopamina	8,01	-50,77

Já na Tabela 3 são apresentados os resultados obtidos a partir dos cálculos energéticos (kcal/mol) das quatro reações utilizando o modelo de solvatação PCM. E com os mesmos cálculos de energia de ativação e energia total.

**Tabela 3. Resultados dos cálculos energéticos, em kcal/mol, das reações SAM/catecol, SAM/fenol, SAM/3-O-dopamina e SAM/4-O-dopamina na presença do modelo de solvatação PCM. Para esta última reação foi utilizada somente os métodos PM6 e DFT.**

PM6 (PCM)		
	$\Delta E^\ddagger$ (kcal/mol)	$\Delta E^0$ (kcal/mol)
SAM/catecol	18,62	-6,91
SAM/fenol	20,52	-6,19
SAM/3-O-dopamina	20,60	-5,64
SAM/4-O-dopamina	20,37	-6,71
DFT (PCM)		
	$\Delta E^\ddagger$ (kcal/mol)	$\Delta E^0$ (kcal/mol)
SAM/catecol	9,91	-20,61
SAM/fenol	8,19	-29,78
SAM/3-O-dopamina	8,25	-29,90
SAM/4-O-dopamina	8,07	-30,28
MP2 (PCM)		
	$\Delta E^\ddagger$ (kcal/mol)	$\Delta E^0$ (kcal/mol)
SAM/catecol	14,44	-29,78
SAM/fenol	13,19	-29,64
SAM/3-O-dopamina	13,13	-30,42

Observando a Tabela 2, as reações não apresentaram diferenças de energias de ativação considerando o tratamento com o mesmo método. Com exceção da SAM/fenol e SAM/4-O-dopamina no método PM6, que apresentaram uma diferença de energia de ativação igual a 4,61 kcal/mol e 4,07 kcal/mol, respectivamente, em comparação a SAM/catecol. E uma diferença de energia de ativação igual a 3,85 kcal/mol (SAM/fenol) e 3,31 kcal/mol (SAM/4-O-dopamina) quando comparado com o SAM/3-O-dopamina. Mas em ambos os casos, uma diferença pequena. Isto quer dizer, que para um estudo no meio enzimático pode-se usar o catecol ou fenol no lugar da dopamina, diminuindo assim o custo computacional. Observando a Tabela 3, na presença do modelo de solvatação os valores energéticos apresentaram-se próximos para as quatro reações.

Na Tabela 4 são apresentados os valores das distâncias (Å) referentes aos átomos que participam da O-metilação sem o modelo de solvatação PCM. Essas medições foram realizadas nos três pontos estacionários (os mesmos utilizados nos cálculos energéticos), tomando como medidas as distâncias entre o átomo enxofre do SAM e o átomo carbono

do grupo metil também pertencente ao SAM (S-C), e entre esse átomo carbono com o átomo oxigênio seja do catecol, fenol ou dopamina (C-O) (Figura 9).

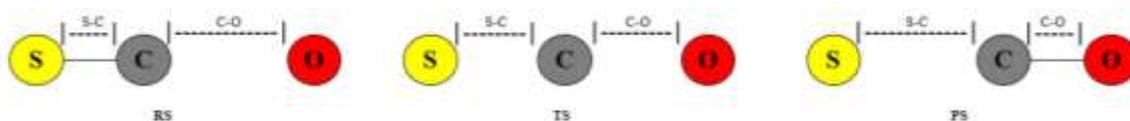


Figura 9. Descrição da forma como as distâncias entre os átomos que participam da O-metilação (enxofre, carbono, e oxigênio) foram analisadas nos três pontos estacionários (RS – reagente; TS – estado de transição; PS – produto). Onde S-C é a distância entre os átomos de enxofre e o carbono, e C-O a distância entre os átomos de carbono e oxigênio.

Tabela 4. Valores das distâncias (Å) entre os átomos que participam da O-metilação sem o modelo de solvatação PCM.

PM6												
SAM/catecol			SAM/fenol			SAM/3-O-dopamina			SAM/4-O-dopamina			
	RS	TS	PS	RS	TS	PS	RS	TS	PS	RS	TS	OS
S-C	1,70	2,00	3,14	1,69	1,93	2,97	1,70	2,00	3,01	1,69	1,96	3,18
C-O	2,52	2,02	1,46	2,43	2,05	1,45	2,49	2,00	1,46	2,46	2,03	1,45
DFT												
SAM/catecol			SAM/fenol			SAM/3-O-dopamina			SAM/4-O-dopamina			
	RS	TS	PS	RS	TS	PS	RS	TS	PS	RS	TS	OS
S-C	1,85	2,65	3,06	1,84	2,05	3,02	1,86	2,10	3,06	1,86	2,09	3,06
C-O	2,70	1,81	1,45	2,59	2,30	1,45	2,67	2,29	1,45	2,66	2,30	1,45
MP2												
SAM/catecol			SAM/fenol			SAM/3-O-dopamina						
	RS	TS	PS	RS	TS	PS	RS	TS	PS			
S-C	1,80	2,11	3,53	1,81	2,07	3,03	1,81	2,11	3,52			
C-O	2,79	2,12	1,44	2,62	2,13	1,44	2,61	2,11	1,44			

Já na Tabela 5 são apresentados os valores das distâncias (Å) entre os átomos que participam da O-metilação na presença do modelo de solvatação PCM. Essas medições, também, foram realizadas nos três pontos estacionários (os mesmos utilizados nos cálculos energéticos em meio solvatado) conforme apresentado na Figura 9.

**Tabela 5. Valores das distâncias (Å) entre os átomos que participam da O-metilação na presença do modelo de solvatação PCM.**

<b>PM6 (PCM)</b>												
<b>SAM/catecol</b>			<b>SAM/fenol</b>			<b>SAM/3-O-dopamina</b>			<b>SAM/4-O-dopamina</b>			
<b>RS</b>	<b>TS</b>	<b>PS</b>	<b>RS</b>	<b>TS</b>	<b>PS</b>	<b>RS</b>	<b>TS</b>	<b>PS</b>	<b>RS</b>	<b>TS</b>	<b>OS</b>	
<b>S-C</b>	1,75	2,13	3,21	1,75	2,12	3,08	1,75	2,13	3,10	1,75	2,12	3,09
<b>C-O</b>	2,70	1,89	1,45	2,61	1,89	1,45	2,55	1,88	1,45	2,60	1,88	1,45
<b>DFT (PCM)</b>												
<b>SAM/catecol</b>			<b>SAM/fenol</b>			<b>SAM/3-O-dopamina</b>			<b>SAM/4-O-dopamina</b>			
<b>RS</b>	<b>TS</b>	<b>PS</b>	<b>RS</b>	<b>TS</b>	<b>PS</b>	<b>RS</b>	<b>TS</b>	<b>PS</b>	<b>RS</b>	<b>TS</b>	<b>OS</b>	
<b>S-C</b>	1,83	2,24	3,22	1,83	2,20	3,18	1,83	2,21	3,20	1,83	2,20	3,20
<b>C-O</b>	2,82	2,10	1,44	2,81	2,12	1,43	2,80	2,13	1,44	2,78	2,13	1,44
<b>MP2 (PCM)</b>												
<b>SAM/catecol</b>			<b>SAM/fenol</b>			<b>SAM/3-O-dopamina</b>						
<b>RS</b>	<b>TS</b>	<b>PS</b>	<b>RS</b>	<b>TS</b>	<b>PS</b>	<b>RS</b>	<b>TS</b>	<b>PS</b>				
<b>S-C</b>	1,80	2,19	3,57	1,80	2,16	3,15	1,81	2,11	3,52			
<b>C-O</b>	2,88	2,01	1,44	2,77	2,03	1,44	2,61	2,11	1,44			

Observando as Tabelas 4 e 5 é possível observar que nas reações não há grandes diferenças em suas geometrias a respeito das distâncias entre os átomos envolvidos na O-metilação nos três pontos tratados.

Com base nos resultados apresentados, em relação às reações SAM/catecol, SAM/fenol e SAM/3-O-dopamina não foram obtidas diferenças significativas nem relacionadas aos seus valores energéticos e nem as distâncias referentes aos átomos envolvidos na O-metilação. Dessa forma, pode-se afirmar que a ramificação (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>N), presente na dopamina e ausente no catecol e no fenol, não interfere nos resultados obtidos. Assim, tanto o catecol quanto o fenol ou a dopamina poderão ser utilizados nos demais estudos a cerca da reação que envolve a enzima COMT (do ponto de vista computacional). No que se refere a posição do átomo de carbono que recebe a O-metilação no substrato dopamina, as reações SAM/3-O-dopamina e SAM/4-O-dopamina possuem praticamente os mesmos valores de energias e os das distâncias tratadas. Dessa forma, pode-se afirmar que o fato da O-metilação entre a SAM e a dopamina variar entre as posições dos carbonos 3 e 4 (meta e para) não interfere na energética e geometria das reações trabalhadas neste estudo.

## 4.2. SISTEMA 2

Tomando como base os resultados obtidos no sistema 1, no sistema 2 utilizou-se a reação SAM/catecol já que não apresentou diferença entre a utilização de uma ou outra reação para os cálculos aqui tratados. Adicionalmente, a reação SAM/catecol também foi escolhida para este sistema por possuir maior semelhança estrutural quando comparada com a SAM/fenol em relação a SAM/dopamina (3-O-dopamina e 4-O-dopamina). Neste sentido, buscou-se um menor custo computacional observando que outros átomos foram adicionados a reação.

Inicialmente, já possuindo as coordenadas x, y e z da reação SAM/catecol, esta foi alterada adicionando um átomo do metal  $Mg^{2+}$ , originando a reação SAM/ $Mg^{2+}$ . Após essa modificação, 5 moléculas de água foram adicionadas a reação SAM/catecol que interage com o metal  $Mg^{2+}$ , originando a reação SAM/ $Mg^{2+}/H_2O$ . Dessa forma, obtiveram-se duas outras reações que permitiram o estudo através de MQ sobre o comportamento do mecanismo de reação de acordo com o sítio ativo descrito no item 2.3 deste trabalho.

Primeiramente, por utilização do método DFT sem modelo de solvatação, foram realizados cálculos de frequências vibracionais. A partir de tal otimização das estruturas, foram realizados cálculos de IRC e, dessa forma, foram obtidos os três pontos estacionários das reações (reagente, estado de transição, e produto) (Figura 10).

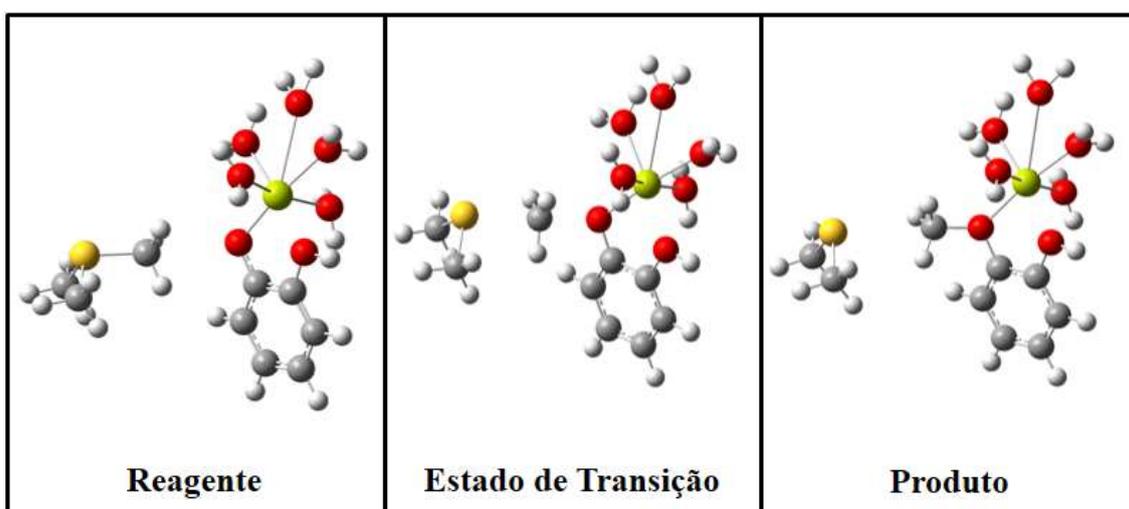


Figura 10. Representação dos três pontos estacionários (reagente, estado de transição e produto), nos quais foram realizados cálculos para correção de energias (ZPE).

Nesses três pontos foram realizados cálculos de ZPE para a obtenção do ponto mínimo e correções de energias. Para cada ponto estacionário obtido por método DFT e

cálculo ZPE, foi tratado com cálculo *single point* para os métodos PM6 e MP2, tanto com a utilização quanto a não utilização do modelo de solvatação PCM (cálculos para o método DFT em meio solvatado também partiu da otimização alcançada por cálculo de ZPE no gás). Para melhor visualização dos resultados obtidos, os valores referentes a SAM/catecol também são apresentados em conjunto com os resultados deste sistema.

Na Tabela 6 são apresentados os resultados obtidos a partir dos cálculos energéticos (kcal/mol) das duas reações em questão sem modelo de solvatação PCM, ou seja, no gás. Esses cálculos são referentes a energia de ativação  $\Delta E^\ddagger$ , onde  $\Delta E^\ddagger = E_{ts} - E_{reagente}$ , e a energia total da reação  $\Delta E^0$ , onde  $\Delta E^0 = E_{produto} - E_{reagente}$ .

**Tabela 6. Resultados dos cálculos energéticos, em kcal/mol, das reações SAM/Mg<sup>2+</sup> e SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O sem a presença do modelo de solvatação PCM.**

PM6		
	$\Delta E^\ddagger$ (kcal/mol)	$\Delta E^0$ (kcal/mol)
SAM/catecol	11,23	-33,56
SAM/Mg <sup>2+</sup>	46,55	45,88
SAM/Mg <sup>2+</sup> /H <sub>2</sub> O	32,92	21,51
DFT		
	$\Delta E^\ddagger$ (kcal/mol)	$\Delta E^0$ (kcal/mol)
SAM/catecol	3,72	-36,51
SAM/Mg <sup>2+</sup>	32,83	26,55
SAM/Mg <sup>2+</sup> /H <sub>2</sub> O	19,94	7,13
MP2		
	$\Delta E^\ddagger$ (kcal/mol)	$\Delta E^0$ (kcal/mol)
SAM/catecol	9,05	-50,12
SAM/Mg <sup>2+</sup>	38,15	28,07
SAM/Mg <sup>2+</sup> /H <sub>2</sub> O	26,54	1,55

Já na Tabela 7 são apresentados os resultados obtidos a partir dos cálculos energéticos (kcal/mol) das duas reações em questão utilizando modelo de solvatação PCM. E com os mesmos cálculos de energia de ativação e energia total.

**Tabela 7. Resultados dos cálculos energéticos, em kcal/mol, das reações SAM/Mg<sup>2+</sup> e SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O na presença do modelo de solvatação PCM.**

<b>PM6 (PCM)</b>		
	$\Delta E^\ddagger$ (kcal/mol)	$\Delta E^0$ (kcal/mol)
SAM/catecol	18,62	-6,91
SAM/Mg <sup>2+</sup>	24,55	4,86
SAM/Mg <sup>2+</sup> /H <sub>2</sub> O	32,33	12,19
<b>DFT (PCM)</b>		
	$\Delta E^\ddagger$ (kcal/mol)	$\Delta E^0$ (kcal/mol)
SAM/catecol	9,91	-20,61
SAM/Mg <sup>2+</sup>	15,99	-2,63
SAM/Mg <sup>2+</sup> /H <sub>2</sub> O	18,65	-2,23
<b>MP2 (PCM)</b>		
	$\Delta E^\ddagger$ (kcal/mol)	$\Delta E^0$ (kcal/mol)
SAM/catecol	14,44	-29,78
SAM/Mg <sup>2+</sup>	17,39	-8,93
SAM/Mg <sup>2+</sup> /H <sub>2</sub> O	23,52	-7,89

Observando a Tabela 6, as reações apresentam grandes diferenças de energias de ativação. No método PM6 todas as reações atingiram maiores níveis de energia quando comparadas aos resultados dos outros métodos. Nele, a diferença de energia de ativação da SAM/Mg<sup>2+</sup> chegou a 35,32 kcal/mol quando comparada com a da reação SAM/catecol, e teve uma diferença de 13,63 kcal/mol quando comparada com a energia de ativação da reação SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O. A diferença energética de ativação entre SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O e SAM/catecol é igual a 21,69 kcal/mol.

Em paralelo a isso, o método DFT resultou os menores valores de energia de ativação para as reações comparadas as dos demais métodos. Nele, a diferença entre o SAM/Mg<sup>2+</sup> e o SAM/catecol é igual a 29, 11 kcal/mol, enquanto que em comparação com a SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O a diferença entre as energias de ativação é igual a 12,89 kcal/mol. Em comparação entre as reações SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O e SAM/catecol, essa diferença foi de 16,22 kcal/mol.

Já o método MP2 apresentou diferenças de energia de ativação igual a 29,1 kcal/mol, entre o SAM/Mg<sup>2+</sup> e o SAM/catecol, e em relação a SAM/Mg<sup>2+</sup> e SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O apresentou a diferença de 11,61 kcal/mol. Já entre SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O e SAM/catecol apresentou uma diferença de 17,49 kcal/mol.

Já na Tabela 7, pode-se observar que os resultados apresentaram diferenças menores de energia de ativação. No método PM6 todas as reações continuaram a atingir maiores níveis de energia quando comparadas aos resultados dos outros métodos na presença do modelo PCM. A diferença de energia de ativação da SAM/Mg<sup>2+</sup> chegou a 5,93 kcal/mol quando comparada com a da reação SAM/catecol, e teve uma diferença de 7,78 kcal/mol quando comparada com a energia de ativação da reação SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O. E a diferença energética de ativação entre SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O e SAM/catecol é igual a 13,71 kcal/mol.

Em paralelo, o método DFT também resultou nos menores valores de energias de ativação para as reações comparadas aos demais métodos na presença do modelo PCM. A diferença entre a SAM/Mg<sup>2+</sup> e a SAM/catecol é igual a 6,08 kcal/mol, enquanto que em comparação com a SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O a diferença entre as energias de ativação é igual a 2,66 kcal/mol. Em comparação entre as reações SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O e SAM/catecol, essa diferença foi de 8,74 kcal/mol.

Já o método MP2, apresentou diferença de energia de ativação igual a 2,95 kcal/mol, entre o SAM/Mg<sup>2+</sup> e o SAM/catecol, e em relação a SAM/Mg<sup>2+</sup> e SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O apresentou a diferença de 6,13 kcal/mol. Já entre SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O e SAM/catecol apresentou uma diferença de 9,08 kcal/mol.

Já na Tabela 8 são apresentados os valores das distâncias (Å) referentes aos átomos que participam da O-metilação presente nas reações em questão, com e sem o modelo de solvatação. Essas medições foram realizadas nos três pontos estacionários, tomando as mesmas medidas utilizadas no cenário 1 conforme a Figura 9. Vale ressaltar que essas distâncias se mantiveram constantes aos demais métodos justamente por terem sido realizados cálculos *single point* a partir de cálculos ZPE.

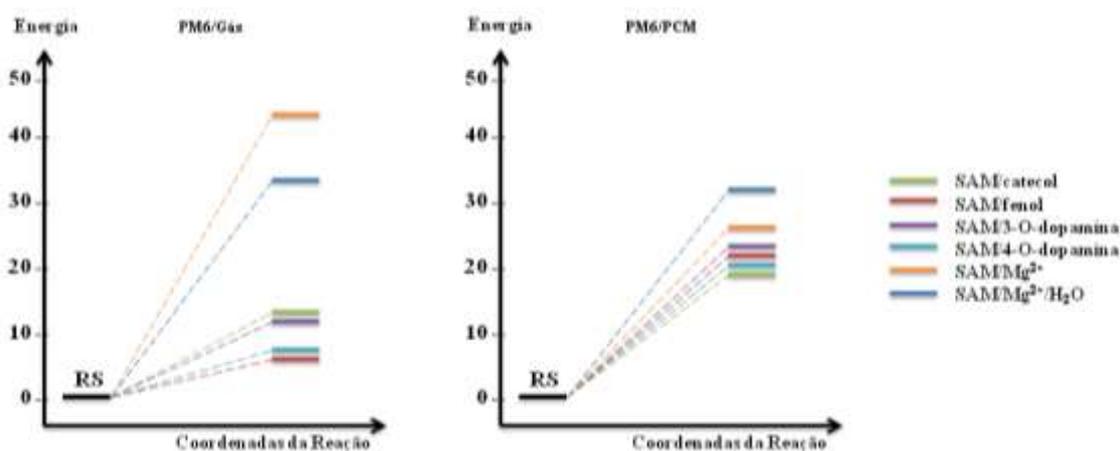
**Tabela 8.** Valores das distâncias (Å) entre os átomos que participam da O-metilação na presença e na ausência do modelo de solvatação PCM.

	SAM/Mg <sup>2+</sup>			SAM/Mg <sup>2+</sup> /H <sub>2</sub> O		
	RS	TS	PS	RS	TS	PS
S-C	1,84	2,65	3,28	1,83	2,47	3,22
C-O	2,69	1,81	1,49	2,75	1,95	1,48

Como observado, na Tabela 8, não foram encontrados valores tão distintos entre os pontos estacionários das duas reações. O mesmo ocorre quando comparado às distâncias encontradas nos cálculos que envolveram o SAM/catecol (Tabela 5).

Dessa forma, acerca desse estudo relacionando a presença do metal  $Mg^{2+}$  e moléculas de água, pode-se observar que, energeticamente estes átomos influenciam na reação que ocorre no sítio ativo da enzima COMT. Também é possível observar, por exemplo, que no meio sem o uso de modelo de solvatação somente a adição do metal  $Mg^{2+}$  já exige bastante energia para que a reação ocorra quando comparado às outras duas outras reações. Porém, no meio com o modelo PCM a reação SAM/ $Mg^{2+}$ /H<sub>2</sub>O é a que mais se destaca de modo a ser a que mais utiliza energia para que a reação aconteça. Outro destaque a ser observado trata-se do método PM6 que, nos dois sistemas, foi método que melhor descreveu as seis reações tratadas neste trabalho.

Em resumo, a Figura 11 ilustra a energia relativa de cada reação em comparação com as demais calculadas com o método PM6 no gás e com o modelo de solvatação PCM.



**Figura 11.** Demonstração gráfica da energia relativa das reações tratadas com o método PM6. Onde o tamanho da região MQ (nº de átomos) para cada reação é: 26 (SAM/catecol), 25 (SAM/fenol), 34 (SAM/3-O-dopamina), 34 (SAM/4-O-dopamina), 27 (SAM/Mg<sub>2</sub><sup>+</sup>) e 42 (SAM/Mg<sub>2</sub><sup>+</sup>/H<sub>2</sub>O).

E a Figura 12 apresenta comparações entre as energias relativas para os métodos utilizados neste trabalho, no gás em com modelo de solvatação, somente das reações que possuem o catecol, como SAM/catecol, SAM/Mg<sup>2+</sup> e SAM/Mg<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O.

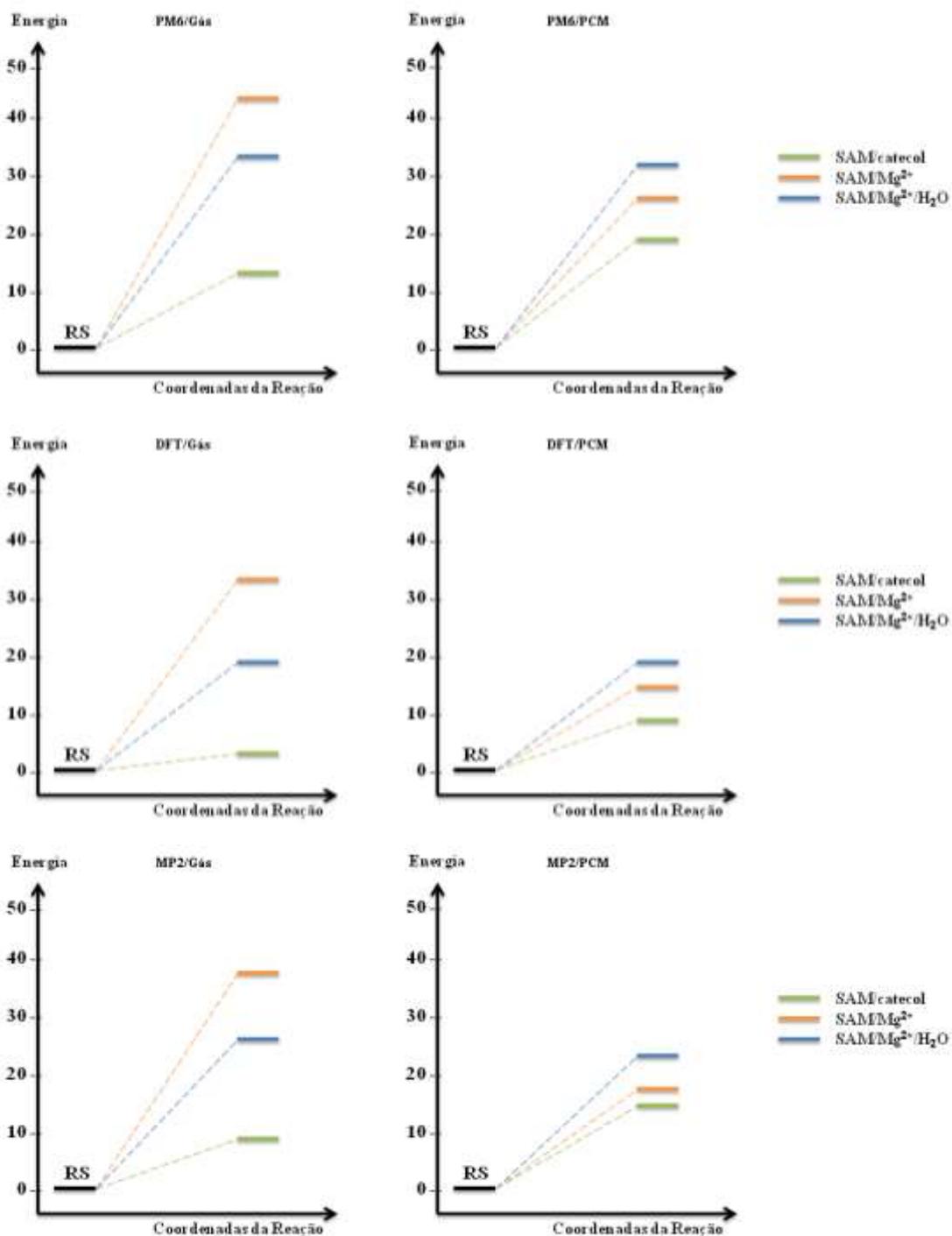


Figura 12. Comparação entre as energias relativas das reações do Sistema 2.

## 5. CONCLUSÃO

A doença de Parkinson continua sendo uma das doenças neurodegenerativas mais comuns mundialmente. E sem ter o seu real fator de ocorrência descrito, apenas alguns trabalhos consideraram sugerir a sua real causa. Desse modo, faz-se necessário um maior investimento e esforços para a obtenção de um melhor direcionamento para a descoberta da sua causa e assim, propor inibidores para a enzima COMT, melhores diagnósticos e tratamentos e, ampliar os conhecimentos acerca do mecanismo catalítico das metiltransferases.

Neste sentido, o estudo computacional tratado neste trabalho, a partir do entendimento do sítio ativo da enzima COMT, procurou verificar algumas situações envolvendo a reação de referência da COMT. Deste modo, favorecendo de tal forma, um melhor entendimento acerca desse mecanismo de catálise.

O mecanismo catalítico da enzima COMT foi estudado a nível energético através de métodos MQ aplicados a reação de referência da enzima. Os seus resultados obtidos apresentaram o caminho reacional realizado pela catálise enzimática, onde houve uma preocupação em determinar seus valores energéticos. E principalmente, foi de suma importância a utilização de modelo de solvatação para a calibragem futura do sistema quando este for tratado na enzima.

O estudo apresentou que o modelo de referência da reação enzimática, em meio solvatado, não possui interferência energética caso o substrato que reage com o co-substrato SAM seja tanto o catecol como o fenol ou a dopamina. E assim como o  $Mg^{2+}$ , os resíduos de aminoácidos e moléculas de água presentes no sítio ativo (simulados por 5 moléculas de água neste estudo) podem sim influenciar no mecanismo reacional. E dessa forma, demandarem menor energia para que a reação possa ocorrer em meio solvatado.

A utilização de ferramentas computacionais auxilia no entendimento do comportamento de sistemas biológicos de forma a serem menos custosos e, em muitos casos, descrevem sistemas complexos que não haveria a possibilidade de serem descritos de forma experimental. Considerando assim, a utilização de ferramentas computacionais para descrever modelos de referências de mecanismos de reação enzimática. Neste sentido, destaca-se neste trabalho a utilização de ferramentas e métodos computacionais que auxiliaram a obtenção dos resultados acerca do estudo do mecanismo de referência

na água da reação de catálise da enzima COMT, o que poderá contribuir para o planejamento e desenvolvimento de compostos químicos que poderão atuar como promissores inibidores da COMT.

## REFERÊNCIAS

AARSLAND, D.; ANDERSEN, K.; LARSEN, J. P.; LOLK, A.; KRAGH-SORENSEN, P. Prevalence and characteristics of dementia in Parkinson disease - An 8-year prospective study. **Archives of Neurology**, v. 60, n. 3, p. 387-392, 2003.

AGARWAL, S. D., D.; SENGUPTA, S. Ranking Chemical Structures for Drug Discovery: A New Machine Learning Approach. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 50, n., p. 15, 2010.

ALBERT, M.; HELIN, K. Histone methyltransferases in cancer. **Semin Cell Dev Biol**, v. 21, n. 2, p. 209-220, 2010.

ANDALIB, S.; VAFAEE, M. S.; GJEDDE, A. Parkinson's disease and mitochondrial gene variations: A review. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 346, n. 1-2, p. 11-19, 2014.

BALDI, A. Computational approaches for drug design and discovery: An overview. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 1, n., p. 7, 2010.

BARONE, V.; COSSI, M. Quantum calculation of molecular energies and energy gradients in solution by a conductor solvent model. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 102, n. 11, p. 1995-2001, 1998.

BECKE, A. D. Density-Functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange. **J. Chem. Phys.**, v. 98, n., p. 5648-5652, 1993.

BEITZ, J. M. Parkinson's disease: a review. **Front Biosci (Schol Ed)**, v. 6, n., p. 65-74, 2014.

CAMMI, R.; TOMASI, J. Remarks on the Use of the Apparent Surface-Charges (Asc) Methods in Solvation Problems - Iterative Versus Matrix-Inversion Procedures and the Renormalization of the Apparent Charges. **Journal of Computational Chemistry**, v. 16, n. 12, p. 1449-1458, 1995.

CANCES, E.; MENNUCCI, B.; TOMASI, J. A new integral equation formalism for the polarizable continuum model: Theoretical background and applications to isotropic and anisotropic dielectrics. **Journal of Chemical Physics**, v. 107, n. 8, p. 3032-3041, 1997.

COPELAND, R. A.; SOLOMON, M. E.; RICHON, V. M. Protein methyltransferases as a target class for drug discovery. **Nat Rev Drug Discov**, v. 8, n. 9, p. 724-732, 2009.

CORNI, S.; TOMASI, J. Enhanced response properties of a chromophore physisorbed on a metal particle. **Journal of Chemical Physics**, v. 114, n. 8, p. 3739-3751, 2001.

CRAMER, C. J.; TRUHLAR, D. G. Implicit Solvation Models: Equilibria, Structure, Spectra, and Dynamics. **Chem Rev**, v. 99, n. 8, p. 2161-2200, 1999.

DENNINGTON, R.; KEITH, T.; MILLAM, J. GaussView Reference. **Shawnee Mission KS**, v., n., p., 2009.

DEWAR, M. J. S.; THIEL, W. Ground States of Molecules. 39. MNDO Results for Molecules Containing Hydrogen, Carbon, Nitrogen, and Oxygen. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 15, p. 4907-4917, 1977a.

DEWAR, M. J. S.; THIEL, W. Ground states of molecules. 38. The MNDO method. Approximations and parameters. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 15, p. 4899-4907, 1977b.

DEWAR, M. J. S.; ZOEBISCH, E. G.; HEALY, E. F.; STEWART, J. J. P. Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 107, n. 13, p. 3902-3909, 1985.

DUBOIS, B.; PILLON, B. Cognitive deficits in Parkinson's disease. **Journal of Neurology**, v. 244, n. 1, p. 2-8, 1997.

ERICSSON, A. D. Potentiation of the L-Dopa effect in man by the use of catechol-O-methyltransferase inhibitors. **J Neurol Sci**, v. 14, n. 2, p. 193-197, 1971.

ESPINOZA, S.; MANAGO, F.; LEO, D.; SOTNIKOVA, T. D.; GAINETDINOV, R. R. Role of catechol-O-methyltransferase (COMT)-dependent processes in Parkinson's disease and L-DOPA treatment. **CNS Neurol Disord Drug Targets**, v. 11, n. 3, p. 251-263, 2012.

FERMI, E. Eine statistische Methode zur Bestimmung einiger Eigenschaften des Atoms und ihre Anwendung auf die Theorie des periodischen Systems der Elemente. **Zeitschrift für Physik**, v. 48, n. 1, p. 73-79, 1928.

FOUNDATION, P. S. D. **What is Parkinson's Disease?**: secondary title, 2017.

FREDIANI, L.; CAMMI, R.; CORNI, S.; TOMASI, J. A polarizable continuum model for molecules at diffuse interfaces. **J Chem Phys**, v. 120, n. 8, p. 3893-3907, 2004.

FRISCH, M. J. T.; W., G.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; SCALMANI, G.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; CARICATO, M.; LI, X.; HRATCHIAN, H. P.; IZMAYLOV, A. F.; BLOINO, J.; ZHENG, G.; SONNENBERG, J. L.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; VREVEN, T.; MONTGOMERY, J. A.; PERALTA, J. E.; OGLIARO, F.; BEARPARK, M.; HEYD, J. J.; BROTHERS, E.; KUDIN, K. N.; STAROVEROV, V. N.; KOBAYASHI, R.; NORMAND, J.; RAGHAVACHARI, K.; RENDELL, A.; BURANT, J. C.; IYENGAR, S. S.; TOMASI, J.; COSSI, M.; REGA, N.; MILLAM, J. M.; KLENE, M.; KNOX, J. E.; CROSS, J. B.; BAKKEN, V.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERS, R.; STRATMANN, R. E.; YAZYEV, O.; AUSTIN, A. J.; CAMMI, R.; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J. W.; MARTIN, R. L.; MOROKUMA, K.; ZAKRZEWSKI, V. G.; VOTH, G. A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J. J.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A. D.; FARKAS; FORESMAN, J. B.; ORTIZ, J. V.; CIOSLOWSKI, J.; FOX, D. J. **Gaussian 09**: secondary title: Revision D.01, 2009.

FUJIOKA, M. Mammalian small molecule methyltransferases: their structural and functional features. **Int J Biochem**, v. 24, n. 12, p. 1917-1924, 1992.

FUKUI, K. The path of chemical reactions - the IRC approach. **Acc. Chem. Res.**, v. 14, n. 12, p. 363-368, 1981.

GAZEWOOD, J. D.; RICHARDS, D. R.; CLEBAK, K. Parkinson disease: an update. **Am Fam Physician**, v. 87, n. 4, p. 267-273, 2013.

GIBB, W. R. G.; LEES, A. J. A Comparison of Clinical and Pathological Features of Young-Onset and Old-Onset Parkinsons-Disease. **Neurology**, v. 38, n. 9, p. 1402-1406, 1988.

GOGOS, J. A.; MORGAN, M.; LUINE, V.; SANTHA, M.; OGAWA, S.; PFAFF, D.; KARAYIORGOU, M. Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 95, n. 17, p. 9991-9996, 1998.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas. **Phys. Rev.**, v. 136, n., p., 1964.

HUOTARI, M.; SANTHA, M.; LUCAS, L. R.; KARAYIORGOU, M.; GOGOS, J. A.; MANNISTO, P. T. Effect of dopamine uptake inhibition on brain catecholamine levels and locomotion in catechol-O-methyltransferase-disrupted mice. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 303, n. 3, p. 1309-1316, 2002.

JEFFERY, D. R.; ROTH, J. A. Characterization of membrane-bound and soluble catechol-O-methyltransferase from human frontal cortex. **J Neurochem**, v. 42, n. 3, p. 826-832, 1984.

JORGENSEN, W. L.; TIRADO-RIVES, J. The OPLS [optimized potentials for liquid simulations] potential functions for proteins, energy minimizations for crystals of cyclic peptides and crambin. **Journal of the American Chemical Society**, v. 110, n. 6, p. 1657-1666, 1988.

KERN, C.; BERNARDS, C. M. Ascorbic acid inhibits spinal meningeal catechol-O-methyl transferase in vitro, markedly increasing epinephrine bioavailability. **Anesthesiology**, v. 86, n. 2, p. 405-409, 1997.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Physical Review**, v. 140, n., p., 1965.

LAMEIRA, JERONIMO; B, RAM PRASAD ; CHU, ZHEN T. ; WARSHEL, ARIEH . Methyltransferases do not work by compression, cratic, or desolvation effects, but by electrostatic preorganization. *Proteins (Print)*, v. 83, p. n/a-n/a, 2015.

LASCHUK, E. F. **Novo formalismo semi-empírico para cálculos químico-quânticos**. (Doutorado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005. 143 p.

LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Phys. Rev.**, v. 37, n. 2, p. 785-789, 1988.

LIPPARINI, F.; SCALMANI, G.; MENNUCCI, B.; CANCES, E.; CARICATO, M.; FRISCH, M. J. A variational formulation of the polarizable continuum model. **J Chem Phys**, v. 133, n. 1, p. 014106, 2010.

MANNISTO, P. T.; KAAKKOLA, S. New selective COMT inhibitors: useful adjuncts for Parkinson's disease? **Trends Pharmacol Sci**, v. 10, n. 2, p. 54-56, 1989.

MANNISTO, P. T.; KAAKKOLA, S. Rationale for selective COMT inhibitors as adjuncts in the drug treatment of Parkinson's disease. **Pharmacol Toxicol**, v. 66, n. 5, p. 317-323, 1990.

MANNISTO, P. T.; TUOMAINEN, P.; TUOMINEN, R. K. Different in vivo properties of three new inhibitors of catechol O-methyltransferase in the rat. **Br J Pharmacol**, v. 105, n. 3, p. 569-574, 1992.

MARENICH, A. V.; CRAMER, C. J.; TRUHLAR, D. G. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions. **J Phys Chem B**, v. 113, n. 18, p. 6378-6396, 2009.

MENNUCCI, B.; CANCES, E.; TOMASI, J. Evaluation of solvent effects in isotropic and anisotropic dielectrics and in ionic solutions with a unified integral equation method: Theoretical bases, computational implementation, and numerical applications. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 101, n. 49, p. 10506-10517, 1997.

MERZBACHER, E. **Quantum Mechanics**. New York: Wiley International Edition, 1976

MIERTUS, S.; SCROCCO, E.; TOMASI, J. Electrostatic Interaction of a Solute with a Continuum - a Direct Utilization of Abinitio Molecular Potentials for the Prevision of Solvent Effects. **Chemical Physic**, v. 55, n. 1, p. 117-129, 1981.

MØLLER, C.; PLESSET, M. S. Note on an Approximation Treatment for Many-Electron Systems. **Physical Review**, v. 46, n. 7, p., 1934.

MORGAN, N. H. **Métodos de química teórica e modelagem molecular**. São Paulo: Livraria da Física, 2007

NISSINEN, E.; TUOMINEN, R.; PERHONIEMI, V.; KAAKKOLA, S. Catechol-O-methyltransferase activity in human and rat small intestine. **Life Sci**, v. 42, n. 25, p. 2609-2614, 1988.

NUTT, J. G.; FELLMAN, J. H. Pharmacokinetics of levodopa. **Clin Neuropharmacol**, v. 7, n. 1, p. 35-49, 1984.

O'HAGAN, D.; SCHMIDBERGER, J. W. Enzymes that catalyse SN2 reaction mechanisms. **Nat Prod Rep**, v. 27, n. 6, p. 900-918, 2010.

PARKINSON, J. An essay on the shaking palsy. 1817. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci**, v. 14, n. 2, p. 223-236; discussion 222, 2002.

PARR, R. G.; WEITAO, Y. Density-Functional Theory of Atoms and Molecules. **Oxford: Oxford University Press**, v., n., p., 1989.

PETTERSEN, E. F.; GODDARD, T. D.; HUANG, C. C.; COUCH, G. S.; GREENBLATT, D. M.; MENG, E. C.; FERRIN, T. E. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. **J Comput Chem**, v. 25, n. 13, p. 1605-1612, 2004.

POSTUMA, R. B.; GAGNON, J. F.; MONTPLAISIR, J. Clinical prediction of Parkinson's disease: planning for the age of neuroprotection. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 81, n. 9, p. 1008-1013, 2010.

RECHES, A.; FAHN, S. Catechol-O-methyltransferase and Parkinson's disease. **Adv Neurol**, v. 40, n., p. 171-179, 1984.

REILLY, D. K.; HERSHEY, L.; RIVERA-CALIMLIM, L.; SHOULSON, I. On-off effects in Parkinson's disease: a controlled investigation of ascorbic acid therapy. **Adv Neurol**, v. 37, n., p. 51-60, 1983.

RICE, P. J.; ABRAHAM, S. T.; HUANG, N. Y.; DOMAN, R. J. Extraneuronal uptake inhibitor U-0521 decreases contractile responses in rat vas deferens. **Gen Pharmacol**, v. 29, n. 3, p. 437-439, 1997.

RICHTER, W. E.; PONTES, R. M.; ABIKO, L. A.; GAUZE, G. F.; BASSO, E. A. Computation of 3JHH coupling constants with a combination of density functional theory and semiempirical calculations. Application to complex molecules. **Computational and Theoretical Chemistry**, v. 1001, n., p. 7-14, 2012.

RUTHERFORD, K.; LE TRONG, I.; STENKAMP, R. E.; PARSON, W. W. Crystal structures of human 108V and 108M catechol O-methyltransferase. **J Mol Biol**, v. 380, n. 1, p. 120-130, 2008.

SCALMANI, G.; FRISCH, M. J. Continuous surface charge polarizable continuum models of solvation. I. General formalism. **J Chem Phys**, v. 132, n. 11, p. 114110, 2010.

SESACK, S. R.; HAWRYLAK, V. A.; MATUS, C.; GUIDO, M. A.; LEVEY, A. I. Dopamine axon varicosities in the prelimbic division of the rat prefrontal cortex exhibit sparse immunoreactivity for the dopamine transporter. **J Neurosci**, v. 18, n. 7, p. 2697-2708, 1998.

SHARPLESS, N. S.; TYCE, G. M.; OWEN, C. A., JR. Effect of chronic administration of L-dopa on catechol-O-methyltransferase in rat tissues. **Life Sci I**, v. 12, n. 3, p. 97-106, 1973.

SHEKHAR, C. In silico pharmacology: Computer-aided methods could transform drug development. **Chemistry & Biology**, v. 15, n., p. 2, 2008.

SHTILBANS, A.; HENCHCLIFFE, C. Biomarkers in Parkinson's disease: an update. **Curr Opin Neurol**, v. 25, n. 4, p. 460-465, 2012.

SILVA, J. R. D. A. **Estudo Computacional Da Enzima L,D-Transpeptidase 2 De Mycobacterium Tuberculosis: Perspectivas Para O Desenvolvimento De Antibióticos.** (Doutorado em Química). Universidade Federal do Pará, Belém, 2015. 130 p.

STEWART, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods. III Extension of PM3 to Be, Mg, Zn, Ga, Ge, As, Se, Cd, In, Sn, Sb, Te, Hg, Tl, Pb, and Bi. **Journal of Computational Chemistry**, v. 12, n. 3, p. 320-341, 1991.

STEWART, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. **J Mol Model**, v. 13, n. 12, p. 1173–1213, 2007.

SZABO, A.; OSTLUND, N. S. **Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory**. New York: DOVER PUBLICATIONS, 1982  
TENHUNEN, J.; SALMINEN, M.; LUNDSTROM, K.; KIVILUOTO, T.; SAVOLAINEN, R.; ULMANEN, I. Genomic organization of the human catechol O-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. **Eur J Biochem**, v. 223, n. 3, p. 1049-1059, 1994.

THOMAS, L. The calculation of atomic fields. **Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society**, v. 23, n. 5, p. 542- 548, 1927.

TOMASI, J.; PERSICO, M. Molecular-Interactions in Solution - an Overview of Methods Based on Continuous Distributions of the Solvent. **Chem Rev**, v. 94, n. 7, p. 2027-2094, 1994.

TOMASI, J.; MENNUCCI, B.; CAMMI, R. Quantum mechanical continuum solvation models. **Chem Rev**, v. 105, n. 8, p. 2999-3093, 2005.

TORNWALL, M.; MANNISTO, P. T. Effects of three types of catechol O-methylation inhibitors on L-3,4-dihydroxyphenylalanine-induced circling behaviour in rats. **Eur J Pharmacol**, v. 250, n. 1, p. 77-84, 1993.

TUNBRIDGE, E. M.; BANNERMAN, D. M.; SHARP, T.; HARRISON, P. J. Catechol-o-methyltransferase inhibition improves set-shifting performance and elevates stimulated dopamine release in the rat prefrontal cortex. **J Neurosci**, v. 24, n. 23, p. 5331-5335, 2004.

VIDGREN, J.; TILGMANN, C.; LUNDSTROM, K.; LILJAS, A. Crystallization and preliminary X-ray investigation of a recombinant form of rat catechol O-methyltransferase. **Proteins**, v. 11, n. 3, p. 233-236, 1991.

VIDGREN, J.; SVENSSON, L. A.; LILJAS, A. Crystal structure of catechol O-methyltransferase. **Nature**, v. 368, n. 6469, p. 354-358, 1994.

VIDGREN, J. A. O., M. **Structural aspects in the inhibitor design of catechol O-methyltransferase, in Structure-based Drug Design**. New York, 1997  
WAGNER, T.; JUNG, M. New lysine methyltransferase drug targets in cancer. **Nat Biotechnol**, v. 30, n. 7, p. 622-623, 2012.

ZHANG, J.; KLINMAN, J. P. Enzymatic methyl transfer: role of an active site residue in generating active site compaction that correlates with catalytic efficiency. **J Am Chem Soc**, v. 133, n. 43, p. 17134-17137, 2011.