



## INVESTIGAÇÃO *IN SÍLICO* DO POTENCIAL DA BIOTRANSFORMAÇÃO DOS ÁCIDOS LÁURICO E PALMÍTICO POR lipase de *Burkholderia cepacia*

MELO, J J C<sup>1</sup>, SOUZA, L R<sup>1,2</sup>, PEREIRA, M M<sup>3</sup>, LIMA, A S<sup>1,2</sup> e SOARES, C M F<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Tiradentes

<sup>2</sup> Instituto de Tecnologia e Pesquisa

<sup>3</sup> Universidade de Aveiro

jessica.jcarvalho@hotmail.com

Recentemente, uma nova alternativa na biocatálise é a triagem virtual de túneis enzimáticos utilizando a docagem molecular, uma estratégia computacional que estuda e avalia a interação entre ligantes e o sítio ativo de uma enzima (BRANDÃO *et al.*, 2020; BARBOSA *et al.*, 2019). Os túneis enzimáticos são as vias de transporte que conectam o sítio ativo com a superfície da proteína (PINTO *et al.*, 2019) e desempenham papéis importantes para a catálise enzimática (KINGSLEY e LILL, 2015). Essas abordagens *in silico* são uma alternativa promissora, pois reduzem o tempo laboratorial da pesquisa na área da biocatálise (KOKKONEN *et al.*, 2019).

O potencial de transformação de ácidos graxos através de processos biocatalíticos pode ser uma alternativa para a síntese de biodiesel a partir do óleo residual de frituras, minimizando os impactos ambientais provenientes do descarte inadequado desse óleo. Assim, o presente trabalho tem como objetivo identificar a nível molecular os túneis da lipase de *Burkholderia cepacia* (LBC) livre, e investigar o potencial de reação com o ácido láurico e ácido palmítico, conforme resultados experimentais anteriores (BRANDÃO *et al.*, 2020). A simulação computacional foi realizada utilizando o *software* CaverDock (identificação dos túneis e passagem do substrato através dos mesmos) (PINTO *et al.*, 2019). A estrutura tridimensional da LBC (PDB: 3LIP) foi obtida através do *Protein Data Bank* – PDB. A estruturas dos ligantes (ácidos graxos) foram obtidas através da base de dados *PubChem*.

De acordo com os resultados obtidos, foi possível observar que a LBC apresenta quatro possíveis túneis em sua estrutura, conforme demonstrado na Figura 1. Os túneis possuem como função o controle e seleção da entrada de ligantes no sítio ativo, evitando a formação de complexos não produtivos, o que reduziria a eficiência da enzima (MARQUES *et al.*, 2017).

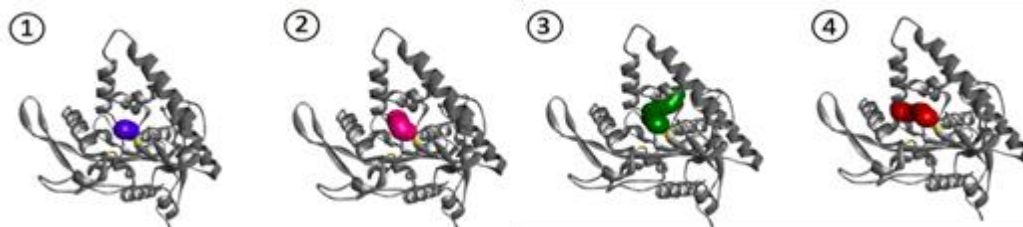


Figura 1 - Visualização 3D dos 4 túneis na estrutura da LBC. Enzima (cinza), túneis (azul, rosa, verde e vermelho) e sítio ativo (amarelo).

Posteriormente, o transporte dos substratos através dos túneis foi avaliado. Os resultados da avaliação realizada para os túneis identificados da LBC e os ácidos láurico e palmítico (valores de energia

$E_{\text{ligação}}$ ,  $E_{\text{max}}$ ,  $E_{\text{superfície}}$ , Energia de Afinidade Absoluta ( $E_a$ ) e  $\Delta E_{\text{BS}}$  ( $E_{\text{superfície}} - E_{\text{ligação}}$ ) (kcal/mol) estão descritos na Tabela 1. Os resultados exibem que a maior facilidade de transporte para o ácido láurico é através do túnel 1 e 2. Entretanto, o ácido palmítico apresenta facilidade de transporte no túnel 1. O menor valor de  $E_a$ , associado aos valores negativos de  $E_{\text{max}}$  indicam esta facilidade. Os resultados obtidos através desta avaliação *in silico* apresentam concordância com dados experimentais reportados em literatura, onde o valor de atividade da LBC para o ácido láurico foi significativamente superior comparado ao ácido palmítico (BRANDÃO *et al.*, 2020). Assim, o uso do óleo residual de frituras utilizando a LBC como catalisador das reações para a síntese de biodiesel a partir dos ácidos láurico e/ou palmítico presentes no óleo de fritura é possível diante da interação entre LBC e os ácidos acima citados.

Tabela 1 - Avaliação do transporte dos ácidos graxos nos túneis identificados

Túnel	Ligante	$E_{\text{ligação}}$ [kcal/mol]	$E_{\text{max}}$ [kcal/mol]	$E_{\text{superfície}}$ [kcal/mol]	$E_a$ [kcal/mol]	$\Delta E_{\text{BS}}$ [kcal/mol]
1	Ácido láurico	-3,8	-4,2	-4,3	0,1	0,5
	Ácido palmítico	-4,9	-4,6	-4,7	0,1	-0,2
2	Ácido láurico	-4,5	-4,5	-4,8	0,3	0,3
	Ácido palmítico	-5,1	-4,6	-5,6	1,0	0,5
3	Ácido láurico	-4,9	3,8	-3,1	6,9	-1,8
	Ácido palmítico	-5,3	2,8	-3,0	5,8	-2,3
4	Ácido láurico	-4,8	6,1	-2,1	8,2	-2,7
	Ácido palmítico	-5,2	4,5	-2,4	6,9	-2,8

**PALAVRAS-CHAVE:** docagem molecular; túneis enzimáticos.

## REFERÊNCIAS

- BARBOSA, M. S.; FREIRE, C. C.; ALMEIDA, L. C.; FREITAS, L. S.; SOUZA, R. L.; PEREIRA, E. B.; MENDES, A. A.; PEREIRA, M. M.; LIMA, A. S.; SOARES, C. M. Optimization of the enzymatic hydrolysis of *Moringa oleifera* Lam oil using molecular docking analysis for fatty acid specificity. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, v. 66, n. 5, p. 823-832, 2019.
- BRANDÃO, L. M. S., BARBOSA, M. S., SOUZA, R. L., PEREIRA, M. M., LIMA, Á. S., e SOARES, C. M. Lipase activation by molecular bioimprinting: The role of interactions between fatty acids and enzyme active site. *Biotechnol. Prog.*, 2020.
- CHAUDHARY, K. K.; MISHRA, N. A review on molecular docking: novel tool for drug discovery. *Databases*, v. 3, n. 4, 2016.
- KINGSLEY, L. J.; LILL, M. A. Substrate tunnels in enzymes: structure–function relationships and computational methodology. *Proteins*, v. 83, n. 4, p. 599-611, 2015.
- KOKKONEN, P.; BEDNAR, D.; PINTO, G.; PROKOP, Z.; DAMBORSKY, J. Engineering enzyme access tunnels. *Biotechnol. adv.*, v. 37, n. 6, p. 107386, 2019.
- PINTO, G.; VAVRA, O.; FILIPOVIC, J.; STOURAC, J.; BEDNAR, D.; DAMBORSKY, J. Fast screening of inhibitor binding/unbinding using novel software tool CaverDock. *Front. Chem.* v. 7, p. 709, 2019.