



AVALIAÇÃO DE TÚNEIS ENZIMÁTICOS EMPREGANDO DOCAGEM MOLECULAR PARA OBTENÇÃO DE ÉSTER DE TOCOFEROL

AZEVEDO, TSM^{1,2}, PEREIRA, MM³, LIMA, AS^{1,2}, FRANCESCHI, E^{1,2} e SOARES, CMF^{1,2}

¹ Universidade Tiradentes

²Instituto de Tecnologia e Pesquisa

³ Universidade de Aveiro

E-mail para contato do autor apresentador: tamara.mend91@hotmail.com

O α -tocoferol, antioxidante conhecido como Vitamina E, subproduto proveniente de óleos vegetais após extração convencional e extrações exaustivas, é amplamente aplicado na indústria farmacêutica e de cosméticos. É um composto lipossolúvel que possui em sua estrutura um anel cromanol (com características hidrofílicas) e cadeia alifática (com características hidrofóbicas) (AZZI, 2018). Todavia, o α -tocoferol possui baixa estabilidade frente a luz, temperatura e presença de oxigênio e por esta razão, é de interesse industrial obter os ésteres de α -tocoferol por apresentarem melhores estabilidades. A literatura relata experimentos utilizando a biocatálise para obtenção de ésteres de tocoferol (acetato de α -tocoferol) (TORRES et al., 2008), contudo ainda não foram avaliados os possíveis túneis enzimáticos no mecanismo enzima-substrato na reação de esterificação utilizando a ferramenta da Docagem Molecular, onde, os túneis enzimáticos promovem uma identificação da possibilidade energética entre o substrato e o sítio ativo da enzima. Tendo em vista a possibilidade da avaliação *in silico*, este trabalho possui o objetivo de investigar e analisar a estrutura de túneis enzimáticos da Lipase de *Candida antarctica* B (CALB) (PDB: 5A6V), com o potencial de aplicação na reação de esterificação do α -tocoferol e o acetato de vinila para obtenção de acetato de tocoferol que já fora descrito na literatura, utilizando o software computacional como Caver Web. A Figura 1 representa os seis túneis enzimáticos para a CALB livre identificados neste estudo. Os túneis 1, 2 e 3 apresentam maior facilidade de transporte de moléculas como demonstram os valores obtidos.

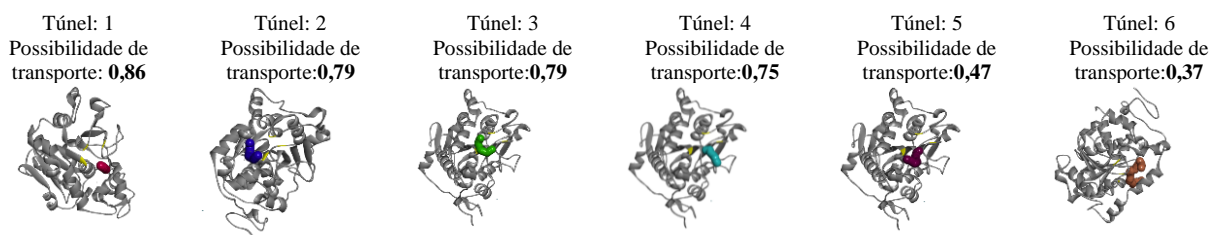


Figura 1: Identificação dos túneis enzimáticos da CALB.

Os valores de energia obtidos por análise *in silico* do transporte do α -tocoferol e acetato de vinila para verificação da obtenção do acetato de α -tocoferol através dos túneis da CALB ($E_{\text{ligação}}$, E_{max} , $E_{\text{superfície}}$, E_a e ΔEBS (kcal/mol)) estão descritos na Tabela 1. O menor valor de Energia de

Afinidade absoluta (E_a) indica ter maior facilidade para a entrada do substrato, e foi obtido para o túnel 3 avaliando o α -tocoferol (1,1 kcal/mol) e para o túnel 2 o outro reagente acetato de vinila (0 kcal/mol). A ΔEBS corresponde a diferença de energia entre o sítio ativo e a superfície. Os valores mínimos de $E_{\text{ligação}}$, correspondem ao ligante ligado ao sítio ativo e $E_{\text{superfície}}$, relacionada com o ligante ligado a superfície (PINTO *et al.*, 2019; STOURAC *et al.*, 2019). O túnel 3 também foi confirmado para o produto da reação de esterificação (acetato de α -tocoferol), já que a menor E_{max} (4,2 kcal/mol) e a E_a (2,7 kcal/mol) mais próximo de 0 é o túnel sugestivo para saída do produto. Portanto, como relatado em pesquisas anteriores (TORRES *et al.*, 2008), CALB mostrou ser o biocatalisador mais promissor para a obtenção de ésteres de tocoferol, o que possibilita a utilização desta ferramenta computacional para análise reacional *in silico*.

Tabela 1: Avaliação do transporte do α -tocoferol, acetato de vinila e acetato de α -tocoferol nos túneis identificados da CALB.

Túnel	Ligante	$E_{\text{Ligação}}$ [kcal/mol]	E_{Max} [kcal/mol]	$E_{\text{Superfície}}$ [kcal/mol]	E_a [kcal/mol]	ΔEBS [kcal/mol]
1	α - tocoferol	-4	-1,9	-4,9	3	0,9
	Acetato de vinila	-2,8	-2,4	-2,5	0,1	-0,3
	Acetato de α -tocoferol	-6,8	-2,9	-4,9	3,9	-1,9
2	α -tocoferol	-6,2	-4,2	-5,8	1,6	-0,4
	Acetato de vinila	-2,8	-2,6	-2,6	0	-0,2
	Acetato de α -tocoferol	-5,7	-3,7	-5,9	2	0,2
3	α -tocoferol	-6,1	-4,6	-5,7	1,1	-0,4
	Acetato de vinila	-2,9	-2,5	-2,6	0,1	-0,3
	Acetato de α -tocoferol	-6,9	-4,2	-5,7	2,7	-1,2
4	α -tocoferol	-0,5	0,9	-3,1	4	2,6
	Acetato de vinila	-2,2	-2,0	-3	1	0,8
	Acetato de α -tocoferol	-5,5	0,1	-6,3	5,6	0,8

PALAVRAS-CHAVE: α -tocoferol; esterificação; túneis enzimáticos.

REFERÊNCIAS

- AZZI, A. Many tocopherols, one vitamin E. *Molecular aspects of medicine*, v. 61, p. 92-103, 2018.
- PINTO, G., VAVRA, O., FILIPOVIC, J., STOURAC, J., BEDNAR, D., & DAMBORSKY, J. Fast screening of inhibitor binding/unbinding using novel software tool CaverDock. *Frontiers in chemistry*, v. 7, p. 709, 2019.
- STOURAC, J., VAVRA, O., KOKKONEN, P., FILIPOVIC, J., PINTO, G., BREZOVSKY, J., ... & BEDNAR, D. Caver Web 1.0: identification of tunnels and channels in proteins and analysis of ligand transport. *Nucleic acids research*, v. 47, n. W1, p. W414-W422, 2019.
- TORRES, P., REYES-DUARTE, D., LÓPEZ-CORTÉS, N., FERRER, M., BALLESTEROS, A., & PLOU, F. J. Acetylation of vitamin E by *Candida antarctica* lipase B immobilized on different carriers. *Process Biochemistry*, v. 43, n. 2, p. 145-153, 2008.