



**UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA
AFRO-BRASILEIRA – UNILAB
PRO-REITORIA DE GRADUAÇÃO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA – ICEN
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

JÚNIOR INÁCIO BONGUA

**ESTUDO IN SILICO DA ENZIMA PEROXIDASE (POD) PRESENTE NA
ÁGUA DE COCO *cocos nucifera* L NA PRODUÇÃO DE NOVOS
COMPOSTOS ORGÂNICOS.**

**RENDEÇÃO-CE
2022**

JÚNIOR INÁCIO BONGUA

**ESTUDO IN SILICO DA ENZIMA PEROXIDASE (POD) PRESENTE NA
ÁGUA DE COCO *cocos nucifera* L NA PRODUÇÃO DE NOVOS
COMPOSTOS ORGÂNICOS.**

O trabalho de Conclusão do Curso “TCC” apresentado ao curso de Licenciatura em Química do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza- ICEN da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira como requisito parcial para obtenção do título de graduado em licenciatura em Química.

Orientador: Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca.

RENDEÇÃO-CE
2022

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Sistema de Bibliotecas da UNILAB
Catalogação de Publicação na Fonte.

Bongua, Júnior Inácio.

B777e

Estudo in silico da enzima peroxidase POD presente na água de coco *Cocos nucifera* L na produção de novos compostos orgânicos / Júnior Inácio Bongua. - Redenção, 2022.
38f: il.

Monografia - Curso de Química, Instituto de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, 2022.

Orientador: Prof. Dr. Aluisio Marques da Fonseca.

1. Reações químicas. 2. Peroxidase. 3. Modelagem molecular.
I. Título

CE/UF/BSP

CDD 540

2022

UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA AFRO-
BRASILEIRA

JÚNIOR INÁCIO BONGUA

**ESTUDO IN SILICO DA ENZIMA PEROXIDASE (POD) PRESENTE NA
ÁGUA DE COCO *cocos nucifera* L NA PRODUÇÃO DE NOVOS
COMPOSTOS ORGÂNICOS.**

Monografia julgada e aprovada para obtenção do título de Graduado em Licenciatura plena em Química pela Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB).

Data: 14/02/2022

Banca Examinadora

Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca (Orientador)

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Profa. Dra Daniele Alves Ferreira (Avaliadora)

Universidade Aberta do Brasil

Prof. Dr. Emmanuel Silva marinho (Avaliador)

Universidade Estadual do Ceará

RENDEÇÃO-CE
2022

AGRADECIMENTO

Primeiramente agradeço a Deus por tudo que ele tem feito por mim, passei os últimos 3 anos com problemas principalmente familiar se eu estou forte firme até agora, é graças a Deus, por me dar forças para continuar a caminha no meio de muitos obstáculos na vida, por não me deixar desistir quando seria a única opção que via. Ao meu pai José Inácio Bongua e a minha mãe Lusuamo Mbanza Joaquina, por tudo que eles têm fizeram por mim, eu serei eternamente grato por garantirem que não me faltasse nada mesmo quando não tinha nada, muito obrigado por tudo, volto a agradecer em particular a minha mãe só Deus sabe o que a senhora significa para mim, só Deus sabe o sacrifício que senhora fez para colocar comida na mesa para mim e meus irmão, obrigado mama.

Aos queridos e maravilhosos irmãos, Chouchou Bongua, Matilde Bongua, Mónica Bongua e José Bongua, por nunca deixarem passar um único dia sem me mandarem mensagem, por me darem forças para continuar nessa longa caminhada e por acreditarem em mim, obrigado por tudo. Ao meu Primo Mardoche Kalemba por me dar muita força, obrigado por tudo. Agradecimento especial ao meu tio Willy Kiala (in memory). Aos meus parentes no geral, muito obrigado pelo apoio.

Aos meus amigos José Indride, Lidio da Silva, Alexandre da Silva, Paulo Macongo, Fabio Nicolau, Cuda, Osvaldo da Silva, Benvindo Timóteo, Núrio Coutinho, José Betuel, Floriano Mendes, Bartolomeu Cucula, Vanuza Malungo, Esperança Francisco, Vilma Lassalette, Eduardo Menezes, Keorena Mafuca, Macaya Isabel, Isabel do Quental, Afonso Fortunato, Aristóteles Diogo, Emanuel Cipriano, Pedro Focola, Ariclene Eduardo e aos demais amigos muito obrigado pela força que tem me dado.

A minha namorada Ulamba Kamia de Araújo Jorge, pelo amor e apoio incondicional, por me compreender e me aceitar do jeito que eu sou. Aos meus colegas do curso, pelos momentos proporcionados.

Aos companheiros da parada química obrigado por tudo, pelos momentos proporcionado. Aos membros do giq obrigado pelos ensinamentos e pelos momentos que partilhamos nas reuniões.

Ao meu Professor e orientador, Dr. Aluísio Marques da Fonseca pela oportunidade cedida muito obrigado, serei eternamente grato por tudo que o senhor tem feito e muito obrigado por ser meu Mestre.

As minhas queridas professoras, Regilany Colares, Daniele, Mônica e as demais professoras e professores pelos ensinamentos, muito obrigado.

Aos servidores da Unilab, as senhoras da limpeza, funcionários do RU e aos seguranças, obrigado por fazerem parte da minha formação durante todo percurso antes da pandemia.

A comunidade Angolana da Unilab, obrigado pelos momentos proporcionados na quadra de football.

E por fim, agradeço a Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira.

“Ninguém nasce odiando o outro pela cor de sua pele, ou por sua origem, ou sua religião. Para odiar as pessoas precisam aprender, e se elas aprendem a odiar, podem ser ensinadas a amar”.

Nelson Mandela

RESUMO

Hoje em dia, muitas dificuldades são encontradas na obtenção de novos compostos sem causar danos ao meio ambiente devido ao nível de toxicidade e gasto de muita energia. A biocatálise conhecida também como catalise enzimática tem a capacidade de catalisa reações química, também é um método viável na obtenção de novos compostos sem causar danos ao meio ambiente. No entanto, o objetivo desse trabalho é fazer um estudo de simulação computacional da enzima peroxidase presente na água de coco (*Cocos nucifera* L) para analisar se a enzima peroxidase tem a capacidade de atuar na produção de novos compostos orgânicos. Portanto, a metodologia deste trabalho é a base de simulação computacional, foram obtidos 13 ligantes e proteína homologada, que passaram no processo de preparação e otimização ao docking molecular, os resultados foram satisfatórios, onde a afinidade de ligação teve uma variação de -6,6kcal/mol a -3,4 Kcal/mol, dos 13 ligantes 4 aprestaram bons resultados. A peroxidase em função dos resultados obtidos provou que tem a capacidade de atuar na produção de novos composto orgânicos, com o envolvimento da biocatálise. A água de coco (*Cocos nucifera* L) é saudável e nutritiva, ela também possui uma atividade enzimática potencial reagindo assim com a biocatálise na produção de novos compostos.

Palavras-chave: Biocatálise. Peroxidase. Modelagem Molecular

ABSTRACT

Nowadays, many difficulties are encountered in obtaining new compounds without causing damage to the environment due to the level of toxicity and expenditure of a lot of energy. Biocatalysis also known as enzymatic catalysis has the ability to catalyze chemical reactions, it is also a viable method for obtaining new compounds without causing damage to the environment. However, the objective of this work is to carry out a computer simulation study of the peroxidase enzyme present in coconut water (*Cocos nucifera* L) to analyze whether the peroxidase enzyme has the ability to act in the production of new organic compounds. Therefore, the methodology of this work is the basis of computer simulation, 13 ligands and homologated protein were obtained, which passed the preparation and optimization process to molecular docking, the results were satisfactory, where the binding affinity had a variation of -6.6 kcal/mol to -3.4 kcal/mol, of the 13 ligands 4 provided good results. Based on the results obtained, peroxidase proved that it has the ability to act in the production of new organic compounds, with the involvement of biocatalysis. Coconut water (*Cocos nucifera* L) is healthy and nutritious, it also has a potential enzymatic activity, thus reacting with biocatalysis in the production of new compounds.

Key Words: Biocatalysis. Peroxidase. Molecular Modeling

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE FIGURAS

_Toc95948339

Figura 2- Gráfico de Ramanchadran da peroxidase modelada.....	28
Figura 3- Detecção da principal cavidade pela CASTp	29
Figura 4- Interações em 3D dos principais resíduos com os ligantes. (a) da Carvona; (b) do Cinamaldeído; (c) da Benzamida e (d) da Acetofenona.....	31

LISTA DE TABELA

Tabela 1- Fórmulas e estruturas químicas dos ligantes selecionados para o estudo de docking molecular.	26
Tabela 2- . Ranqueamento de ligantes frente a peroxidase, baseado em energia de afinidade (em Kcal/mol) e RMSD (em Å).	30
Tabela 3- . Interações dos principais ligantes que obtiveram os melhores ranqueamentos para a reação de bicatálise.	31

LISTA DE ABREVIATURAS

AGL	Algoritmo Genético Lamarckiano
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
POD	Peroxidase
PFO	Polifenoloxidase
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
PDB	Protein Data Bank
DS	Discovery Studio
ΔG	Varição de Energia de Gibbs
RMSD	Desvio Quadrático Médio
His	Histidina
Arg	Arginina
Phe	Fenilalanina
Ala	Alanina
Ser	Serina
Pro	Prolina
Å	Angstrom

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1. Enzima Peroxidase	15
2.2. Reações da peroxidase	16
2.3. Coco (<i>Cocos nucifera</i> L)	18
2.4. Biocatálise	19
2.5. Estudo <i>in silico</i> : Modelagem molecular	20
2.5.1. Modelagem molecular por homologia estrutural.....	21
2.5.2. Validação do modelo	22
2.5.3. Algoritmo genética lamarckiano (AGL) e Minimização de energia	23
3. METODOLOGIA.....	24
3.1. Modelagem da enzima peroxidase por homologia.....	24
3.1.1. Identificação e seleção da proteína-molde.....	24
3.1.2. Alinhamento das sequências de alvo e molde	24
3.1.3. Construção e otimização do modelo.....	24
3.1.4. Validação da proteína	25
3.2. Preparação da proteína para o docking molecular.....	25
3.3. Obtenção dos ligantes.....	25
3.4. Docking molecular e visualização dos cálculos	27
4. Resultados e discussão	27
4.1. Modelagem de proteínas.....	27
4.2. Interação ligante e peroxidase	28
5. CONCLUSÃO.....	33
6. REFERÊNCIAS	34

1. INTRODUÇÃO

As enzimas são moléculas que cumprem papel fundamental nos processos químicos, para além de acelerar, não causam danos, diferente dos catalizadores químicos convencionais (MONTEIRO; SILVA, 2009). Foi relatado nas pesquisas de (PEREZ et al., 2014) e (OLIVEIRA; ALVEZ; CASTRO, 2000), que as enzimas são cataliticamente ativas em meio orgânico por permanecerem na sua conformação original nesse meio. Contudo, algumas destas enzimas são provenientes de seres orgânicos como fungos, leveduras e bactérias.

Durante a sua pesquisa (CAMPOS, CLEBER F. *et al.*, 1996) , observaram a presença de duas enzimas na água de coco verde, identificados como polifenoloxidase (PFO) e peroxidase (POD). De acordo com (VALDERRAMA; FABIANE; CLEMENTE, 2001) essas enzimas são responsáveis pelo escurecimento de frutas, vegetais e seus produtos processados, deste modo nasce o interesse de trabalhar no controle das atividades destas enzimas durante a transformação de matérias primas para a obtenção de produtos processados.

Aspecto importante que se deve levar em conta, é a atividade enzimática que naturalmente encontra-se no líquido, conhecido como água de coco. Portanto, estas enzimas possuem objetivos específicas para o fruto in vivo, entretanto, quando entram em contato com o ar atmosférico provocam algumas reações indesejáveis (KWIATKOWSKI; OLIVEIRA; CLEMENTE, 2012).

As peroxidases são enzimas capazes de oxidar diferentes compostos, na presença do seu substrato, gerando radicais livres. As duas enzimas presentes na água de coco, peroxidase e polifenoloxidase apresentam efeitos semelhantes em água de coco, em função disso são muitas vezes confundidos (DUARTE; COELHO; LEITE, 2002; VALDERRAMA; FABIANE; CLEMENTE, 2001). As enzimas peroxidases podem com o auxílio do oxigênio molecular catalisar a oxidação de alguns substratos na ausência do seu substrato principal, peróxidos (DE FREITAS *et al.*, 2008).

A espécie, *Cocos nucifera* L, é uma planta perene, palmeira de estipe liso da família Palmaceae, conhecida também como coqueiro (PHAM, 2016). Dentro do fruto, o alúmem líquido, também conhecido como água de coco, é muito rico em sais minerais,

doce e ligeiramente ácida o que a torna eficiente para hidratar a pele, reduzir o colesterol, combater a desidratação, enjoos e também a retenção de líquidos no organismo (ANDRADE *et al.*, 2004).

Algumas produções químicas para obtenção de novos compostos, podem causar danos ao meio ambiente por conta dos produtos tóxicos usados. Numa questão de sustentabilidade ambiental, a utilização de biocatálise é a alternativa viável na obtenção de compostos orgânicos.

Portanto, o presente trabalho tem como objetivos realizar estudos *in silico* da enzima peroxidase na produção de novos compostos orgânicos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Segundo a pesquisa do Resende (2017), é viável optar na utilização de enzimas imobilizadas pela sua vantagem econômica, diferente dos catalizadores que têm um alto custo. Entretanto, a reutilização de biocatalizadores é possível quando a preparação enzimática está estável, no entanto, a estabilidade pretendida pode ser obtida pela técnica de imobilização, em função disso, as propriedades da enzima podem sofrer algumas mudanças com atividade elevada na produção de biocatalizadores (FERNANDES; LIMA; LOPES, 2010; HANEFELD; GARDOSI; MAGNER, 2009). Nos últimos anos, a técnica de imobilização cujas as perspectivas são boas, tornam de certa forma a aplicação de enzimas muito forte.

Cada enzima possui sua energia específica que possibilita exercer a sua atividade. Em sua pesquisa, Zimmer et al. (2009), enfatizam a questão sobre o aumento da velocidade da reação em função da temperatura, ou seja, nas reações enzimáticas, o aumento da velocidade de reação química é proporcional a temperatura. Portanto, cada enzima possui especificamente um certo substrato que cataliza (CAMPESTRINI, E; SILVA, V T M DA; APPELT, 2005). É importante salientar que a identificação de substrato é fundamental no processo enzimático pois através do substrato identifica-se a enzima que vai catalizar.

2.1. Enzima Peroxidase

A enzima peroxidase faz parte do grupo das oxidoreduções, é capaz de catalisar reações oxidativas em vegetais usando o peróxido como substrato (CAMPOS, ÂNGELO DINIZ; SILVEIRA, 2003; DA COSTA ILHÉU FONTAN *et al.*, 2012; HAMID; KHALIL-UR-REHMAN, 2009). Estas enzimas, apresentam muitas aplicações biotecnológicas, catalisam a oxidação de um grande número de compostos orgânicos e inorgânicos (MIN *et al.*, 2015). Entretanto, a peroxidase, influencia no sabor e na qualidade dos vegetais durante a estocagem, é a enzima mais estável ao calor (DE FREITAS *et al.*, 2008).

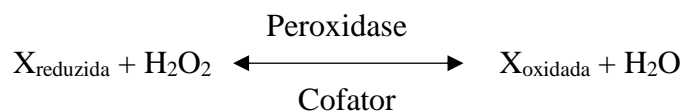
A enzima peroxidase é proveniente de várias fontes botânica, diversos pesquisadores têm estudado o seu mecanismo de ação e sua cinética (LUÍZ; HIRATA; CLEMENTE, 2007; ZANATTA; ZOTARELLI; CLEMENTE, 2006). Portanto, ela é muito importante nos vegetais, está envolvida em muitas reações, ligações

polissacarídeos, ligações de monômeros, lignificação, oxidação de fenóis e defesa de patógenos (CAMPOS, ÂNGELO DINIZ; SILVEIRA, 2003). O grupo heterogêneo de enzimas que são encontradas em células vegetais, animais e microbianas são representadas pelas peroxidases utilizando o peróxido como acceptor de elétrons (GONÇALVES; FONSECA, 2018).

As peroxidases tem uma grande variedade de funções biológicas, contendo heme conhecido como ferriprotoporfirina IX, na sua composição tem quatro nitrogênios de pirrol ligados a um ferro (Fe III) (Tafazoli e O'brien, 2005). Em relação a este último tópico, é interessante citar os estudos de MOREIRA *et al.*, (2011; TAFAZOLI; O'BRIEN, 2005), que ressaltam composição do heme, tendo a quinta posição da sua coordenação, ao lado próximo está o imidazol, a sexta posição da sua coordenação, está a vaga na enzima nativa encontrando-se ao lado distante do heme. No entanto, na sua maioria estas enzimas são relativamente estáveis e são classificadas de acordo com as suas características do sítio ativo (BATTISTUZZI *et al.*, 2010; VEITCH, 2004).

2.2. Reações da peroxidase

As peroxidases catalisam reações óxido-redução, portanto, oxidam substratos orgânicos (CHEN *et al.*, 2011; PASSARDI *et al.*, 2007). A sua equação é dada pela seguinte forma, como mostra a esquema 1:



Esquema 1. Equação de peroxidase. O X pode ser considerado uma molécula que sofre a peroxidação.

As peroxidases podem ser encontradas divididas em quatro classes, que são: peroxidases bacterianas, peroxidases fúngicas, peroxidases de origem animal e peroxidases de plantas (CAVALCANTI; RESENDE; OLIVEIRA, 2007; MACIEL; GOUVÊA; PASTORE, 2006). Foi relatado na pesquisa de Rondina e Furtado (2011), que as peroxidases podem ser classificadas como peroxidases hêmicas e não hêmicas, portanto, as peroxidases hêmicas são conhecidas por catalisarem reações de hidrólise

usando o ferro presente no grupo heme, por outra, tem-se as peroxidases não hêmicas que usam cisteínas com atividade redox no sítio ativo.

O grupo heme presente nas peroxidases hêmicas contem no seu estado de oxidação íon ferro (Fe III), entre ciclos catalíticos (LA-SCALEA; SILVA; FERREIRA, 20). Entretanto, este íon é oxidado pela molécula de peróxido, formando assim a espécie $\text{Fe}^{4+}=\text{O}$, uma espécie que tem alta capacidade oxidante, no entanto, é reduzida quando oxida substrato da peroxidase, no final o ferro retorna ao seu estado de oxidação inicial (GINSBERG; GERSHFELD, 1985). No entanto, as peroxidases não hêmicas conhecidas como peroxirredoxinas possuem cisteína no sítio ativo que a molécula de peróxido de hidrogênio oxida.

Para Kim et al. (1988), nas peroxidases não hêmicas não existe íons metálicas ligados, não possuem também grupos como heme ou flavina. Portanto, as peroxidases não hêmicas possuem a capacidade de reduzir peróxidos, e essa capacidade é atribuída aos seus resíduos de cisteína. Contudo, as peroxirredoxinas tem a capacidade de catalisar a desintoxicação do peróxido, não possuem cofatores redox. Segundo a pesquisa de Bhatt e Tripathi (2011), ausência desse cofatores redox interfere na ocorrência da reação catalítica nas peroxirredoxinas.

No período quando o peróxido é reduzido, as peroxirredoxinas sofrem oxidação, consequentemente acabam por se tornar inativas. Portanto, na ausência dos cofatores redox, é necessário que haja redução ou doação de elétrons no meio exterior para facilitar na sua regeneração no ciclo catalítico, no entanto, existe vários doadores ou redutores de elétrons que se responsabilizam nessa regeneração, incluindo a NADH (BARBOSA, MARTA RIBEIRO *et al.*, 2014; BHATT; TRIPATHI, 2011).

A NADH peroxidases, é uma enzima que catalisa a reação química. Tem a capacidade de degradar o peróxido (COULTER; SHENVI; KURTZ, 1999). Portanto, o esquema 2 demonstra a redução de peróxido.



Esquema 1. Reação da redução de peroxidase.

Segundo a pesquisa de Barbosa et al. (2010), a NADH inativa o peróxido de hidrogênio com grande probabilidade de ser tóxico em condições de crescimento aeróbico, e também constitui uma defesa enzimática disponível contra o estresse oxidativo provocado por peróxido de hidrogênio.

2.3. Coco (*Cocos nucifera* L)

O coco é o fruto do coqueiro (*Cocos nucifera* L.), espécie pertencente à família Arecaceae, sendo a única espécie do seu gênero (DEBMANDAL; MANDAL, 2011; XIAO *et al.*, 2017). Foi relatado na pesquisa de Loiola (2009), que o coqueiro pertence à classe Monocotyledoneae, ordem Palmales e gênero cocos. Portanto, é conhecida como cocos nucifera L., e está constituído por três grupos, apenas dois são mais conhecidos, não só no ponto de vista econômico, como também no ponto de vista agrônomo, que são: Nana, conhecido como coqueiro anão e o Typica que é o coqueiro gigante (LIMA *et al.*, 2015).

Aproveita-se muita coisa no coco, começando por destacar a casca até ao líquido conhecido como água de coco, é muito nutritivo. Contém carboidrato, vitaminas, substâncias com propriedades antioxidantes, e é rico em ácido láurico. Conhecida no Brasil principalmente por sua água, muito nutritiva e hidratante (VIGLIAR; SDEPANIAN; FAGUNDES-NETO, 2006).

O coco verde contém aproximadamente 400mL de água que apresenta propriedades nutritivas, possuindo altos teores de muitos minerais (CAMPOS, CLEBER F. *et al.*, 1996; MAGALHÃES *et al.*, 2005). Portanto, é um repositório de sais pelas atividades físico-químicas que possui, também é aplicado na área de saúde, como em terapias, é utilizado na forma de soro oral ou intravenosa em caso de cóleras e problemas intestinais (MACIEL; OLIVEIRA; DA SILVA, 1992).

Em resultados anteriores já se provaram que enzimas presentes em vegetais podem realizar diversas reações biocatalíticas com compostos orgânicos apresentando rendimentos satisfatórios e alto excesso enantiomérico, devido as características *enantio*, *regio* e *quimiosseletivas* das enzimas (BALASUBRAMANIAN; BOOPATHY, 2013; FONSECA *et al.*, 2009).

Como exemplos de utilização também de enzimas em síntese orgânica, são citados: a redução microbiológica de aldeídos e cetonas com *Saccharomyces cerevisiae*,

onde existe uma versatilidade muito grande de compostos carbonílicos diversos (BARALDI; CORRÊA, 2004). Entre outros biocatalisadores, a redução de cetonas por pedaços de cenoura pela enzima oxirredutase (*Daucus Carota*) (YADAV *et al.*, 2002, 2008), aipim ou macaxeira, pelas enzimas hidrolases e oxirredutases (espécies da *Manihot*) (MACHADO *et al.*, 2006), o caldo-de-cana (*Saccharum officinarum*) (ASSUNÇÃO *et al.*, 2008) e maracujá (*Passiflora edulis*) (MACHADO *et al.*, 2008), pelas enzimas hidrolases/oxirredutases, com a realização de uma série de aldeídos, cetonas, ésteres e amidas. O detalhe desses processos se dá pela simplicidade de como são realizados os experimentos, usando água e pedaços dos vegetais, e servem como incentivo para guiar a pesquisa numa via sustentável para a produção de ésteres de interesse energético/farmacêutico.

2.4. Biocatálise

As reações de oxidação são estrategicamente importantes na química orgânica para transformação de grupo funcional (GONÇALVES; FONSECA, 2018). Vários são as metodologias sintéticas que podem ser aplicadas nestas reações na obtenção de novos produtos, no entanto, algumas reações apresentam limitações mesmo tratando-se de ferramenta sintética com um grande potencial, isso devido ao uso de reagentes que prejudicam o meio ambiente (CAVANI, 2010). Portanto, alguns desses métodos usados apresentam desvantagens tendo em conta os seus efeitos negativos no meio ambiente, pois, precisa uma certa quantidade estequiométrica de íons metálicos tóxicos, solventes orgânicos prejudiciais e elevado consumo energético (HIRANO; MIYAMOTO; OHTA, 2008).

É possível obter novos produtos orgânicos sem prejudicar o meio ambiente. A biocatálise é uma ferramenta que apresenta uma provável possibilidade de tornar mais prático essas metodologias, pois, diminui a capacidade das substâncias tóxicas que possam causar danos ao meio ambiente (NARANCIC *et al.*, 2015; RICHTER *et al.*, 2015).

O termo biocatálise envolve o processo em que um catalisador biológico é utilizado para converter um substrato em um número limitado de etapas enzimáticas. Deste modo, é fundamental analisar detalhadamente os fatores que condicionam o desenvolvimento e otimização integrados de um processo biotecnológico (AIRES-BARROS, 2002). A biocatálise, é um método alternativo que tem sido bastante usado nas

indústrias, e que consiste no uso natural de catalizadores enzimáticos (BORNSCHEUER, 2008).

Na modificação estrutural, a biocatálise tem um papel fundamental, quando um produto é estruturalmente modificado, observa-se claramente diferença na bioatividade, toxicidade e em algumas propriedades físico-químicas, por ser uma alternativa eficaz na alteração de reagente em determinados produtos, a biocatálise cumpre um papel importante nas modificações dessas produtos (NIGRO; SANTOS, 2019; STRYJEWSKA et al., 2013).

De acordo com as pesquisas de (LIMA; ANGNES, 1999) e (PEREZ et al., 2014), os métodos convencionais de enzima, têm sido empregados em meio aquosas devido a ideia preconcebida de que este é um bom ambiente para a manutenção da formação estrutural da enzima. Entretanto, verificou-se também que o uso de água exclusivamente até certo ponto limitava a sucessão de biotransformações, de igual modo limitava a produtividade de processos que envolviam substratos hidrofóbicos (GROSSO, 2011).

2.5. Estudo *in silico*: Modelagem molecular

Docking molecular é um método *in silico* que envolve moléculas em configurações apropriadas para interagir com um receptor na formação de um composto estável, usando técnicas para derivar, representar, manipular estruturas e reações de moléculas (SUPRIYA et al., 2016).

Para Salmaso e Moro (2018), o docking molecular visa prever a melhor forma de ligação entre um receptor e um ligante, consiste também na criação de poses do ligante dentro do sítio de ligação da proteína. Ainda de acordo com os autores anteriormente citados, nos últimos anos essa metodologia tem ganhado muita visibilidade, por ser barato, economiza o tempo na obtenção de resultado e economiza uso de materiais.

Em função disso, o docking é usado na previsão de orientação de ligantes aos seus alvos protéicos de modo a prever afinidade e atividade. Na sua pesquisa, Supriya et al. (2016) faz uma abordagem muito interessante, relatou que o docking cumpre um papel muito importante no desenho racional de farmacos, com a finalidade de alcançar conformações na proteína e no ligante, e a relativa orientação entre ambos para que a energia do sistema seja minimizada.

O redocking é um método que está relacionado a capacidade de reprodução geométrica de ligação entre a proteína cocrystalizada e o seu ligante. Portanto, o redocking em outras palavras, é a validação da interação entre a proteína e o ligante (UCHIKOGA *et al.*, 2013). No entanto, o redocking pode não dar o resultado satisfatório, ou seja, ao fazer redocking o resultado pode aparentar ser bom de primeira, mas quando é encaixado pode não ser um resultado bom para o encaixe.

O cross-docking é mais abrangente e apresenta melhores resultados, devido o fato de utilizar várias estruturas de ligantes da mesma proteína para testar numa única estrutura de proteína. Portanto, esse método é uma das alternativas viável para encontrar melhores estruturas dentro de várias estruturas disponíveis para interagir com uma proteína alvo (MAI; NAKORN; PARK, 2018).

2.5.1. Modelagem molecular por homologia estrutural

O processo de modelagem por homologia é uma estratégia importante. Pois, a estratégia foca-se no estudo da prática de configuração estrutural de uma proteína, ou seja, a proteína é mais conservada comparado com a sua sequência de aminoácidos durante o processo. A mudança na sequência da proteína, resultam em pequenas modificações na estrutura tridimensional (SANTOS FILHO; ALENCASTRO, 2003). No entanto, a obtenção de modelo de proteína é possível através de métodos de modelagem molecular por homologia de estrutura, envolvendo quatro passos indispensáveis, que são: pesquisa de proteína, alinhamento das sequências, construção e otimização, e a validação do modelo (HILLISCH; PINEDA; HILGENFELD, 2004).

Para identificar e selecionar uma proteína homologada, precisa-se analisar a similaridade sequencial usando algumas técnicas da bioinformática, facilmente podem ser obtidos os aminoácidos proteicas com estruturas não resolvidas. Portanto, a identificação de sequência pode ser obtida através de alinhamento com uma ou mais sequências de estrutura tridimensionais (SILVA; SILVA, 2007). A pesquisa de proteína homologas objetiva a identificação de proteínas que têm estrutura tridimensionais resolvidas que são ligadas com a proteína-alvo, podendo assim funcionar como molde na modelagem da proteína com a estrutura tridimensional desconhecida (HILLISCH; PINEDA; HILGENFELD, 2004).

Na modelagem comparativa, é importante identificar primeiro a estrutura tridimensional, servindo como base para a modelagem da proteína-alvo. Alguns fatores importantes devem ser levados em consideração tratando-se de modelagem comparativa, fatores esses que facilitam na realização da mesma, que são: similaridade de sequência, conhecimento de estrutura, similaridade de função e grupo de gene (CALIXTO, 2013).

Na modelação de proteína, é importante falar sobre sequências FASTA. A sequência FASTA, é um formato de armazenamento de sequências de nucleotídeos e proteínas.

2.5.2. Validação do modelo

A validação da qualidade do modelo é fundamental no processo de modelagem por homologia. As etapas da modelagem comparativa podem intervir no processo de validação de modelos, introduzindo erros que consequentemente influenciarão na validação. Entretanto, a validação dos modelos podem ser de forma coletiva ou em partes individuais, começando por exemplo avaliando pela similaridade com a proteína-molde (MART *et al.*, 2000). Nos modelos construídos precisam-se avaliar a qualidade proteica, existência de erros estruturais e os parâmetros estereoquímicos.

A proteína devidamente modelada, precisa ter uma estrutura terciária eficiente, o resultado final dessa proteína modelada depende da proteína escolhida como molde e do seu alinhamento calculado, ou seja, qualidade da proteína dependerá primeiramente das características da primeira proteína escolhida (LASKOWSK; MACARTHUR; THORNTON, 1998).

A ferramenta fundamental para a determinação da qualidade da proteína é o gráfico Ramachandran, essa ferramenta demonstra existência de problemas estereoquímicos na cadeia principal dos aminoácidos (LASKOWSKI *et al.*, 1996).

Entre as técnicas computacionais que apresentam maior acurácia na determinação de estrutura de proteína, destaca-se a modelagem comparativa. No entanto, acurácia relaciona a aproximação da eficácia do modelo de proteína obtido e o modelo de proteína inicial, ou seja, quando se trata de validação de um modelo, acurácia se refere a quão próximo do modelo de proteína inicial é o modelo de proteína obtido (GORDON; KHANNA, 2010).

Diferente da acurácia, a precisão analisa todo processo feito até ser obtido o modelo de proteína final, portanto, quando se cumpre devidamente o processo para obtenção da proteína, menor será a variabilidade entre o modelo de proteína inicial e modelo de proteína obtida. Se ao longo do processo houver um erro, maior será a variabilidade entre o modelo de proteína inicial e o modelo de proteína obtido (BARREIRO *et al.*, 1997).

2.5.3. Algoritmo genética lamarckiano (AGL) e Minimização de energia

Na minimização de energia se a estrutura inicial for inerentemente instável, uma ligeira alteração no ângulo de ligação ou no comprimento de ligação terá um grande efeito na energia geral da molécula, resultando em uma grande diferença de energia. Entretanto, após alguns ciclos será encontrado uma estrutura onde variações estruturais resultarão em pequenas rotações de energia, ou seja, o programa encontrará o mínimo de energia (NAMBA; DA SILVA; DA SILVA, 2008). Quando o programa encontra o mínimo de energia, interpreta como a estrutura mais estável. No entanto, a estrutura obtida não será necessariamente a mais estável dentre todas possíveis, isso ocorre porque a minimização de energia cessa assim que atinge a primeira conformação estável que encontra, e será mais próxima da estrutura inicial.

Para melhor entendimento do algoritmo genético lamarckiano, primeiramente é importante entender o que é algoritmo genética. O algoritmo genético é uma técnica computacional de otimização inspirado na teoria de Darwin (DA COSTA FILHO; POPPI, 1999). O algoritmo genético lamarckiano, também conhecido como algoritmo genético híbrido, é uma técnica inspirado no princípio do Lamarck sobre as características hereditárias adquiridas ao longo do tempo, ou seja, um elemento modificado pode substituir o elemento inicial ou original (COSTA; DE CASTRO; RAMOS, 2010).

3. METODOLOGIA

3.1. Modelagem da enzima peroxidase por homologia

Inicialmente, foi realizada uma modelagem comparativa de uma enzima peroxidase (POD) de palmeira, pertencente à família *Arecaceae* (*Palmae*) (NOBLICK, 1994; TREGGAR, 2011), com sequência de aminoácidos semelhantes a espécie *Cocos nucifera*. O processo envolveu quatro estágios.

3.1.1. Identificação e seleção da proteína-molde

A sequência (FASTA) de aminoácidos da palmeira peroxidase (POD) com seu número CAS 9003-99-0 através da empresa Sigma-Aldrich (<https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/roche/10108090001>), foi submetida a uma análise comparativa através do servidor BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (www.ncbi.nih.gov/BLAST) (ALTSCHUL *et al.*, 1990) e em seu banco de dados PDB. Assim, uma proteína relacionada à sequência de aminoácidos, a enzima peroxidase, classificada como oxidoreductase, foi identificada pelo organismo *Roystonea regia*, e não possuiu mutações, obtidas a partir do Banco de dados de Proteínas (<https://www.rcsb.org/>) com o código 3HDL sendo a proteína alvo para a homologia.

3.1.2. Alinhamento das sequências de alvo e molde

O alinhamento entre as sequências foi realizado com o uso do programa Modeller (<http://www.salilab.org/modeller/>) (WEBB; SALI, 2016).

3.1.3. Construção e otimização do modelo

A construção do modelo também foi realizada pelo programa Modeller (WEBB; SALI, 2016), obtendo assim uma nova proteína chamada peroxidase, avaliada de acordo com a função objetiva e seus parâmetros estereoquímicos (BEDOYA; TISCHER, 2015).

3.1.4. Validação da proteína

A validação do modelo foi realizada no nível estereoquímico, conformacional e energético. A qualidade do modelo gerado foi validada pelo gráfico de Ramachandran (RAMACHANDRAN, G.N.; RAMAKRISHNAN C.; SASISEKHARAN, 1963) com o programa MOLPROBITY (<http://molprobitry.biochem.duke.edu/>), que avaliou sua estrutura tridimensional indicando a possível qualidade estereoquímica (LASKOWSKI, R. A. *et al.*, 1993).

3.2. Preparação da proteína para o docking molecular

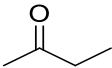
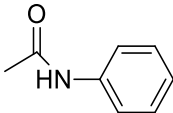
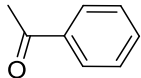
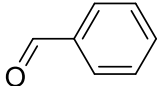
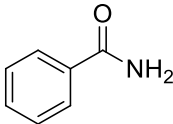
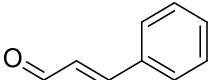
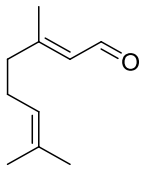
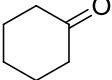
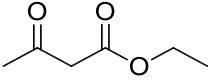
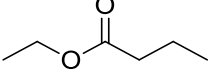
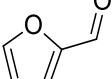
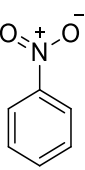
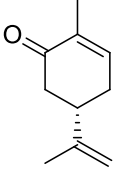
A proteína criada pela homologia denominada de peroxidase (POD) foi submetida a um processo de correção de cargas e átomos de hidrogênio adicionados, através do Programa AutoDock Tools (MORRIS *et al.*, 2009).

3.3. Obtenção dos ligantes

A estrutura dos ligantes (Tabela 1), foram obtidos no repositório PubChem® (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Posteriormente minimizada com o auxílio de um campo de força MM2 com um gradiente RMS de 0,0001 (AHMADI *et al.*, 2005). A ferramenta ChemDraw facilita os desenhos de estruturas químicas proporcionando também uma projeção combinada com análise das vias biológicas, tornando a ferramenta muito importante para pesquisas desta natureza (NARAYANASWAMY; RISSDÖRFER; ODHAV, 2013).

Para fins de otimização estrutural, a configuração foi realizada através do Software Avogadro® (HANWELL *et al.*, 2012), a configuração com o Campo de Força Molecular Merck (MMFF94), com ciclos de 500 interações e algoritmo mais íngreme, tendo o limite de convergência de $10e^{-7}$ (HALGREN, 1996) e posteriormente convertido para o formato pdbqt.

Tabela 1. Fórmulas e estruturas químicas dos ligantes selecionados para o estudo de docking molecular.

Composto	Fórmula	Estrutura
Butan-2-ona (1)	C_4H_8O	
Acetanilida (2)	C_8H_9NO	
Acetofenona (3)	C_8H_8O	
Benzaldeído (4)	C_6H_5-CHO	
Benzamida (5)	C_7H_7NO	
Cinamaldeído (6)	C_9H_8O	
Z-Citral (7)	$C_{10}H_{16}O$	
Cicloexanona (8)	$C_6H_{10}O$	
Acetoacetato de etila (9)	$C_6H_{10}O_3$	
Butanoato de etila (10)	$C_6H_{12}O_2$	
Furfural (11)	$C_5H_4O_2$	
NitroBenzeno (12)	$C_6H_5NO_2$	
Carvona (13)	$C_{10}H_{14}O$	

3.4. Docking molecular e visualização dos cálculos

A simulação de acoplamento molecular foi realizada com o código AutoDockVina (TROTT; OLSON, 2009), considerando proteína rígida e os ligantes flexíveis. Para ambos os cálculos, foi realizada uma configuração de grade com parâmetros do local ativo da enzima do cofactor (WU *et al.*, 2019). Os perfis de energia das interações ligante-receptor também foram avaliados por software, e a visualização de poses ancoradas foi feita através do Pymol (DELANO, 2020) e a identificação/interações não covalentes foi feita pelo Protein-ligand interaction profiler (PLIP) (ADASME *et al.*, 2021; SALENTIN *et al.*, 2015).

Para encontrar locais de conexão, o Computed Atlas of Surface Topography of proteins (CASTp), na versão 3.0, foi utilizado para identificar e medir bolsões de superfície alcançáveis (TIAN *et al.*, 2018). Alguns critérios tiveram que ser atendidos para que a imobilização selecionada seja aceita: o local deve estar longe do centro ativo catalítico da enzima, de modo a não afetar a atividade catalítica; o tamanho do site/bolso deve ser grande o suficiente para acomodar o link de afinidade selecionado; e, finalmente, as propriedades superficiais da região do local precisam ser significativamente diferentes das do local ativo.

4. Resultados e discussão

4.1. Modelagem de proteínas

O gráfico de Ramachandran, Fig. 2. Apresentou 98,34% de seus resíduos nas regiões favoráveis (região azul). Nas regiões adicionalmente permitidas (Regiões a, b, l, p, azul escuro de 1,63%, nas regiões generosamente permitidas (Regiões ~a, ~b, ~l, ~p, ou seja, azul claro) foi de 0,66% e nas regiões desfavoráveis (Região em Branco) foi de 0,4%. Os resíduos encontrados em regiões desfavoráveis são reflexo das estruturas utilizadas como molde, e alguns estão nas extremidades da proteína. Portanto, os dados do gráfico Ramachandran suportam o modelo obtido. Assim, com o alinhamento, foi possível reconhecer as regiões e regiões variáveis estruturalmente conservadas, observando os resíduos estruturalmente equivalentes na sequência primária no processo de identificação da lipase (PAL *et al.*, 2014).

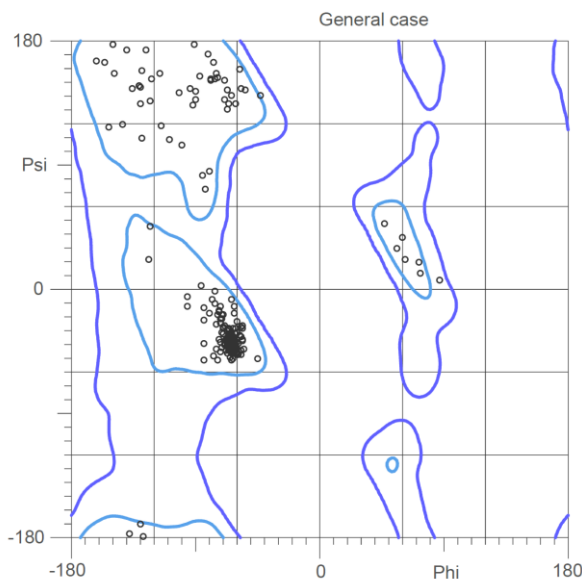


Figura 2. Gráfico de Ramachandran da peroxidase modelada

4.2. Interação ligante e peroxidase

Foi relatado na pesquisa de Meng et al. (2012), algumas etapas fundamentais circundam o processo de docking que são: previsão da conformação do ligante, posição, orientação de pose e avaliação da afinidade de ligação.

Portanto, foi realizado triagem virtual, visto que, envolve vários compostos. Na pesquisa de Rodrigues et al. (2012) foi salientado que, o foco principal da triagem virtual é prever interação dos compostos com o sítio ligante do alvo-molecular, organizar em função das suas afinidades pelo sítio receptor, com objetivo de escolher ligantes que apresentam melhores resultados.

Foram realizados estudos de acoplamento molecular para justificar as abordagens utilizadas para explicar os resultados observados para a peroxidase. Assim, para fins de ancoragem, foi estruturalmente examinada pela modelagem molecular por um estudo do acoplamento de uma peroxidase modelo (alvo) para se criar uma nova peroxidase, próxima a enzima (modelada), utilizando o software AutoDock Vina e DS para prever sua afinidade, orientação e superfícies circundantes. As forças van der Waals, ligações de hidrogênio foram favoráveis com as afinidades vinculantes previstas pelos estudos de acoplamento molecular, de acordo com a literatura (CHATURVEDI *et al.*, 2015).

O sítio catalítico da peroxidase, está localizado dentro da bolsa de substrato com área de $663,8 \text{ \AA}^2$ e volume de $383,16 \text{ \AA}^3$. Apenas substratos de formas moleculares apropriadas podem ocupar esses subsites para se submeterem à biocatálise. Os rigorosos

requisitos de conformação de substratos para locais ativos da peroxidase e locais de ligação de substratos oferecem a possibilidade de encontrar locais de ligação específicos nas regiões inativas da superfície enzimática para orientar a direção da reação. Para descobrir os locais de reação, o CASTp foi usado para selecionar bolsões de superfície alcançáveis para ligação (TIAN *et al.*, 2018). Com base no princípio da seleção de locais de imobilização, foram encontradas uma cavidade, o que equivale ao local ativo da enzima, como mostra a Figura 3.

A afinidade de ligação para os compostos ancorados com a enzima foi estimada com valores que variaram entre -6,6 kcal/mol a -3,4 Kcal/mol, na Tabela 2. De acordo com a menor energia de ligação $\Delta G < -6,0$ Kcal/mol, sugeriu-se que a combinação dos substratos Carvona (**13**), Cinamaldeído (**6**) e Benzamida (**5**) e Acetofenona (**3**), com a peroxidase, respectivamente, foram as mais estáveis para a reação de biocatálise com a água-de-coco, como mostra o esquema 3.

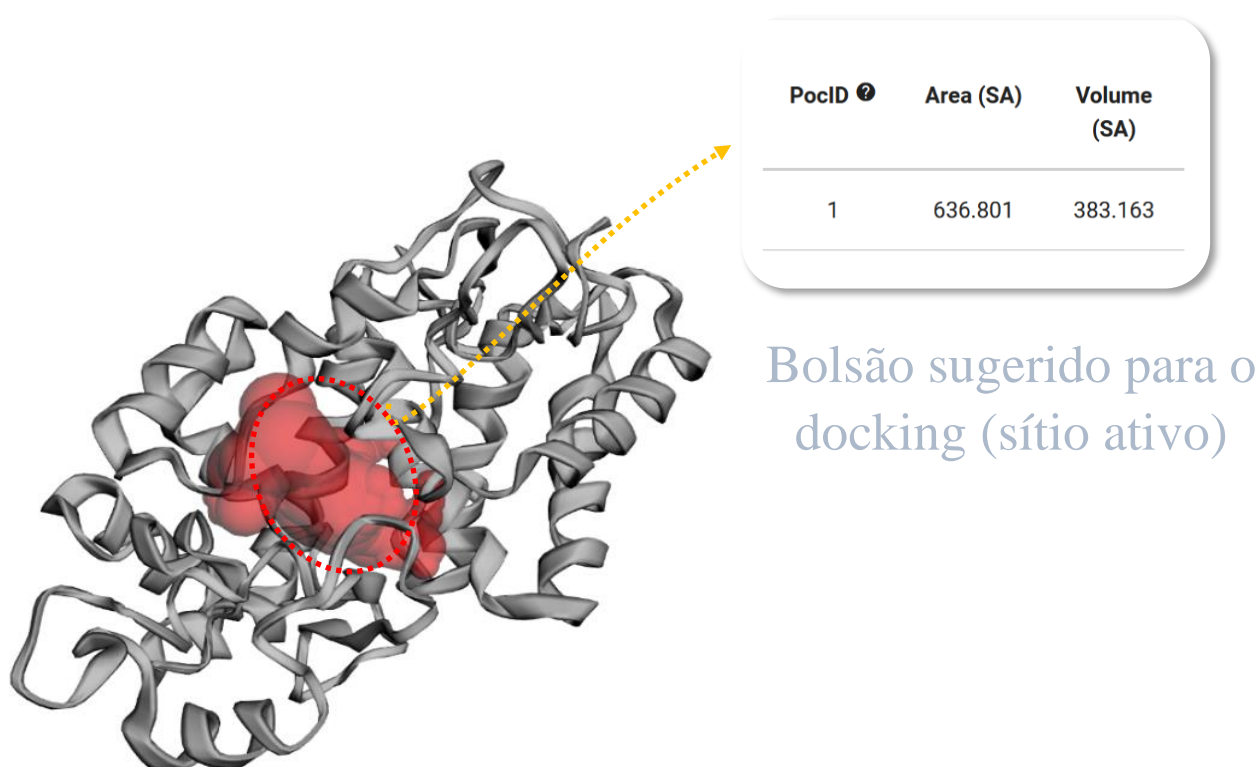
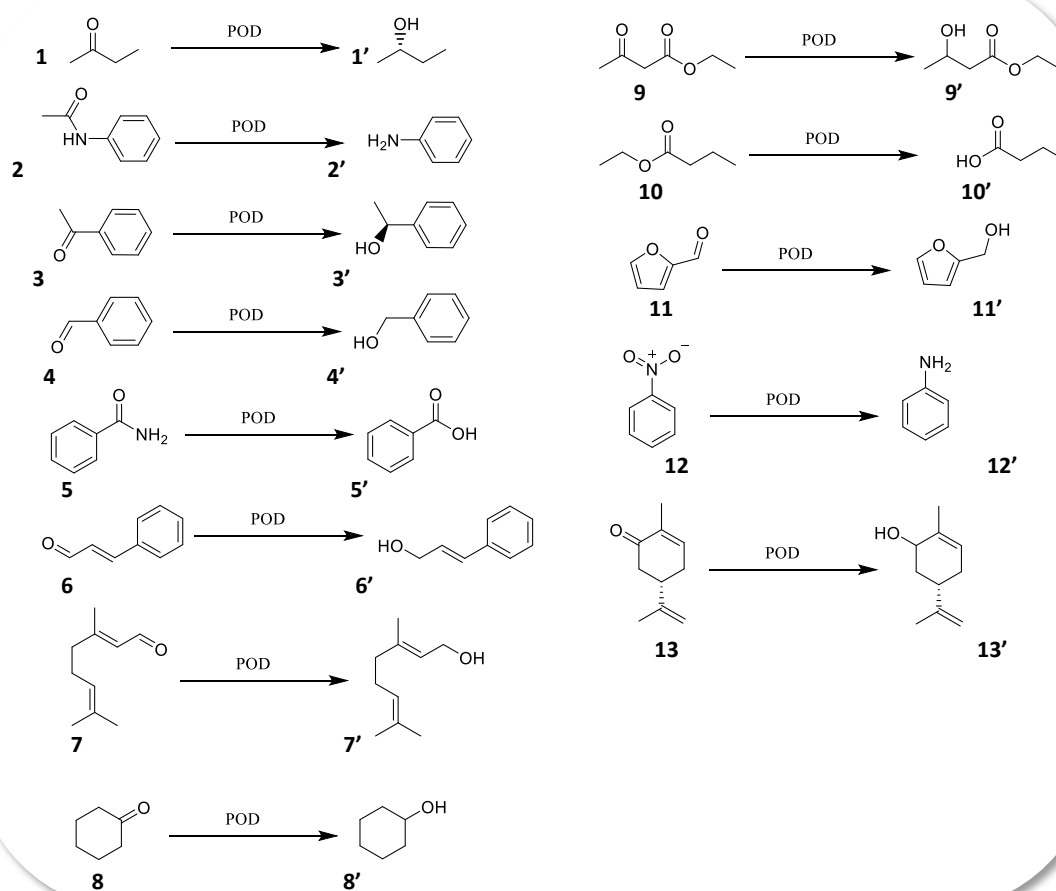


Figura 3. Detecção da principal cavidade pela CASTp



. **Esquema 3.** Reacional dos ligantes com a oxirredutase por meio da biocatálise.

Tabela 2. Ranqueamento de ligantes frente a peroxidase, baseado em energia de afinidade (em Kcal/mol) e RMSD (em Å).

Ligantes	ΔG (Kcal/mol)	RMSD (Å)
Carvona (13)	-6.6	1.383
Cinamaldeído (6)	-6.4	0.048
Benzanilida (5)	-6.0	1.694
Acetofenona (3)	-6.0	0.048
Acetanilida (2)	-5.8	1.768
Z-Citral (7)	-5.6	2.864
Benzaldeído (4)	-5.4	2.182
Nitrobenzeno (12)	-5.1	1.708
Cicloexanona (8)	-4.8	0.914
Acetoacetato de etila (9)	-4.5	1.284
Furfural (11)	-4.4	1.288
Butanoato de etila (10)	-4.1	1.463
Butan-2-ona (1)	-3.4	1.329

No sítio ativo da enzima o grupo prostético Heme interage com o ligante e se aproxima dos resíduos His175 e Arg214, que são considerados os aminoácidos principais para o processo biocatalítico, como mostra o esquema reacional 5, no ciclo catalítico (ZÁMOCKÝ *et al.*, 2015). A carvona (13) apresentou 4 interações com os resíduos na região hidrofóbica do tipo alquila (Pro69, His175, Phe177 e Arg214) e uma ligação de hidrogênio com a Arg38. Enquanto o Cinamaldeído (6) apresentou também 4 interações na região apolar (Ala68, Hist175, Phe177 e Arg214), mas se mostrou interagir melhor que anterior apresentando 2 ligações de hidrogênio com os resíduos Arg38 e His42. A benzamida (5) interagiu com apenas dois resíduos Pro69 e Arg214, enquanto mostrou 3 ligações de hidrogênio nos resíduos Ala68, Ser73 e His175. Por fim, a acetofenona (3) interagiu com os resíduos Pro68, His175, Phe177 e Arg214, com duas ligações de hidrogênio nos resíduos Arg38 e Ser73. Como mostrados nas Figuras 4a-4d e Tabela 3.

Tabela 3. Interações dos principais ligantes que obtiveram os melhores ranqueamentos para a reação de bocatálise

Ligantes	Resíduos										
	Hidrofóbicas (Å) tipo alquila/pi-alquila					Ligações de hidrogênio (Å) H-bond					
	Ala 68	Pro69	Pro89	Hist175	Phe177	Arg 214	Arg38	His42	Ala68	Ser73	His175
Carvona (13)		3.58		3.47	3.45	3.80 3.82	2.57				
Cinamaldeído (6)	3.91			3.61	3.55	3.71	2.37	2.72			
Benzamida (5)		3.96				3.69			2.03	3.78	2.99
Acetofenona (3)			3.63	3.62	3.53	3.70	2.66			3.99	

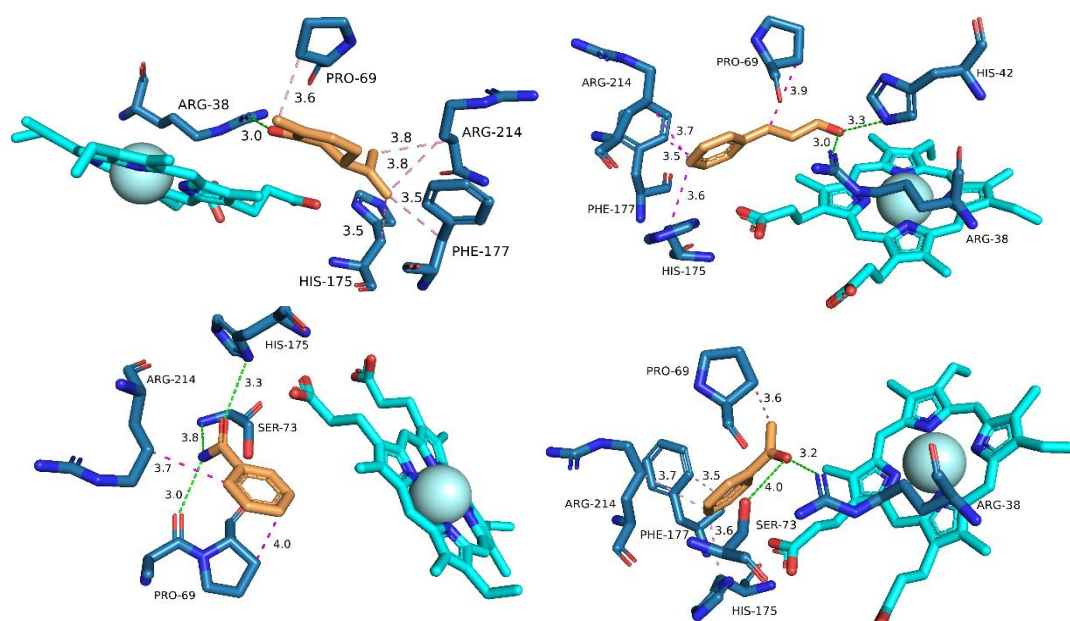
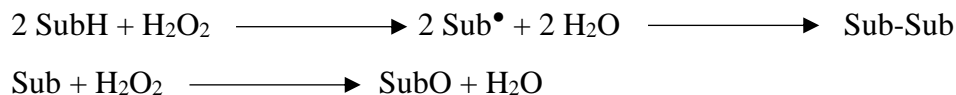


Figura 4. Interações em 3D dos principais resíduos com os ligantes. (a) da Carvona; (b) do Cinamaldeído; (c) da Benzamida e (d) da Acetofenona

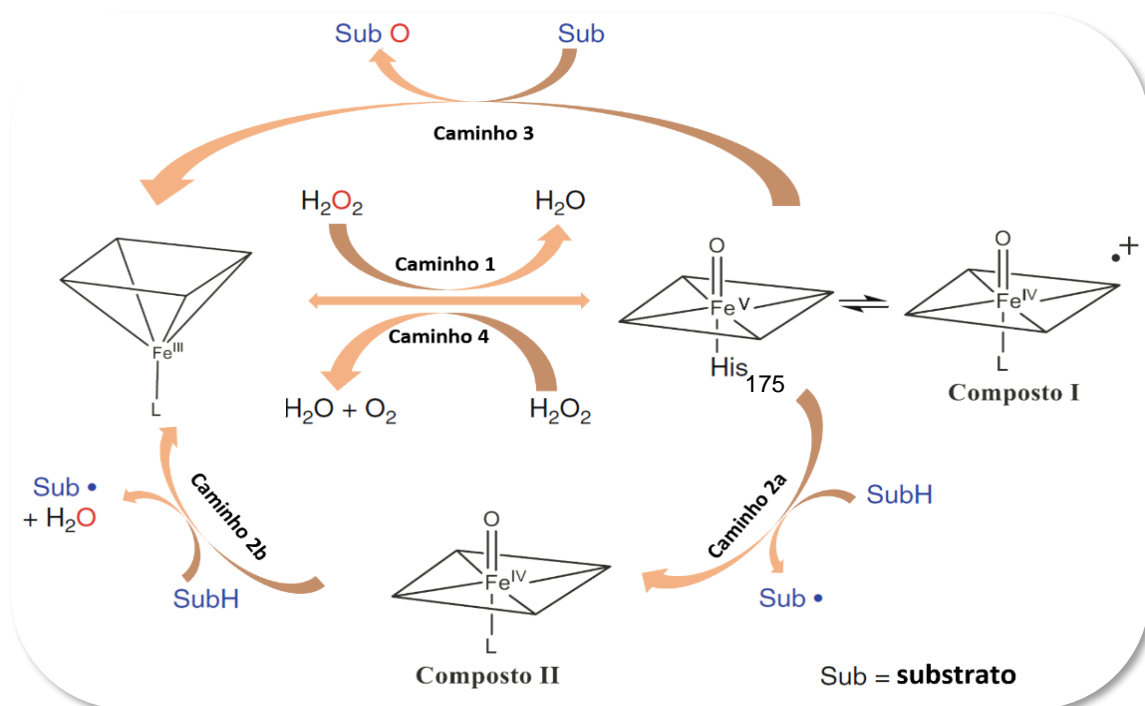
A família das enzimas hemiperoxidasas possuem como grupo prostético a protoporfirina IX e a presença do Fe com oxidação (III).

Na equação geral acontece através de uma transferência de dois ou quatro elétrons, envolvendo peróxido de hidrogênio ou água como subproduto da reação de oxidação, respectivamente. Como mostra o esquema 4 (FABER, 2011).



Esquema 4. Reação de oxidação enzimática

O mecanismo desta biocatálise acontece com a formação de um intermediário cátion radical que contém um centro Fe(IV)=O (Composto I), após a oxidação da peroxidase com H_2O_2 (ZÁMOCKÝ *et al.*, 2015). Logo em seguida a oxi/redução de uma molécula do substrato o composto I é convertida ao composto II. Por fim, a redução do composto II com concomitante oxidação/redução de uma segunda molécula do substrato, restabelecendo então a enzima ao seu estado primal (Esquema 5). O Ciclo catalítico da peroxidase. Possui então L como o ligante ao grupo Heme, que geralmente é uma histidina e S é o substrato enzimático da biocatálise (FABER, 2011).



Esquema 5. Ciclo catalítico da peroxidase.

5. CONCLUSÃO

Em suma, os estudos *in silico* realizados a enzima peroxidase sobre os ligantes, na produção de novos compostos orgânicos apresentaram resultados satisfatórios, dos 13 ligantes escolhidos 4 apresentaram boas interações. Deste modo, os resultados encontrados no estudo, provam a capacidade da peroxidase de atuar na produção de compostos orgânicos quando submetidos a biocatalise. Apresentou 98,34% de seus resíduos nas regiões favoráveis no gráfico de Ramachandran.

Constatou-se a importancia da biocatalise no meio reacional desses compostos, pelo fato de ser o meio mais viavel para obtenção de novos compostos organicos. A água de coco para além da sua capacidade nutritiva, é um potencial enzimático no meio da reação com a biocatalise. Pois na reação de biocatalise e água de coco com a peroxidase, conforme a esquema 3, notou-se clamaramente a obtenção de outros compostos com diferentes grupos funcionais a partir dos ligantes iniciais.

6. REFERÊNCIAS

- ADASME, Melissa F. *et al.* PLIP 2021: Expanding the scope of the protein-ligand interaction profiler to DNA and RNA. *Nucleic Acids Research*, v. 49, n. W1, p. W530–W534, 2021.
- AHMADI, Meisam *et al.* Chem3D 15.0 User Guide. *Macromolecules*, v. 24, n. 2, p. 1–61, 2005.
- AIRES-BARROS, Maria Raquel. Biocatálise em solventes orgânicos. [S.d.].
- ALTSCHUL, Stephen F. *et al.* Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, v. 215, n. 3, 1990.
- ANDRADE, Azarias Machado De *et al.* Pirólise de resíduos do coco-da-baía (*Cocos nucifera* Linn) e análise do carvão vegetal. *Revista Árvore*, v. 28, n. 5, p. 707–714, 2004.
- ASSUNÇÃO, J. C. C. *et al.* Sugar cane juice for the bioreduction of carbonyl compounds. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 2–53, n. 1–4, p. 194–198, 2008.
- BALASUBRAMANIAN, Murugesan; BOOPATHY, Rathnam. Purification and characterization of peroxidases from liquid endosperm of *Cocos nucifera* (L.): Biotransformation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 90, p. 33–42, 2013.
- BARALDI, P. T.; CORRÊA, A. G. Baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, as a tool for the synthesis of pheromones. *Química Nova*, v. 27, n. 3, p. 421–431, 2004.
- BARBOSA, Kiriaque Barra Ferreira *et al.* Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutricao*, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.
- BARBOSA, Marta Ribeiro *et al.* Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciencia Rural*, v. 44, n. 3, p. 453–460, 2014.
- BARREIRO, Eliezer J. *et al.* Modelagem Molecular: Uma Ferramenta para o Planejamento Racional de Fármacos em Química Medicinal. *Química Nova*, v. 20, n. 3, p. 300–310, 1997.
- BATTISTUZZI, Gianantonio *et al.* Redox properties of heme peroxidases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 500, n. 1, p. 21–36, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2010.03.002>>.
- BEDOYA, Oscar F.; TISCHER, Irene. Detección de homología remota de proteínas usando modelos 3D enriquecidos con propiedades fisicoquímicas. *INGENIERÍA Y COMPETITIVIDAD*, v. 17, n. 1, 2015.
- BHATT, Indu; TRIPATHI, B. N. Plant peroxiredoxins: Catalytic mechanisms, functional significance and future perspectives. *Biotechnology Advances*, v. 29, n. 6, p. 850–859, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.07.002>>.
- BORNSCHEUER, Uwe T. Industrial Biotransformations. *Biotechnology: Second, Completely Revised Edition*, v. 8–12, p. 275–294, 2008.
- CALIXTO, Paulo Henrique Matayoshi. Aspectos Gerais sobre a modelagem comparativa de proteínas. *Ciência equatorial*, v. 3, n. 1, p. 10–16, 2013.
- CAMPESTRINI, E.; SILVA, V T M DA; APPELT, M D. Revista Eletrônica Nutritime 259. *Revista Eletrônica Nutritime*, v. 2, n. 6, p. 259–272, 2005.
- CAMPOS, Ângelo Diniz; SILVEIRA, Eliana Mariete Da Luz. Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas. *Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento*, p. 2–4, 2003.
- CAMPOS, Cleber F. *et al.* Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 20, n. 6, p. 487–500, 1996.
- CAVALCANTI, Fábio R.; RESENDE, Mário Lúcio V.; OLIVEIRA, José Tadeu A. Peroxidases ativadas por frações protéicas de extrato biológico eficaz na proteção do tomateiro

- contra a mancha bacteriana. *Fitopatologia Brasileira*, v. 32, n. 6, p. 507–511, 2007.
- CAVANI, Fabrizio. Catalytic selective oxidation: The forefront in the challenge for a more sustainable chemical industry. *Catalysis Today*, v. 157, n. 1–4, p. 8–15, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cattod.2010.02.072>>.
- CHATURVEDI, Sumit Kumar *et al.* Unraveling comparative anti-amyloidogenic behavior of pyrazinamide and D-Cycloserine: A mechanistic biophysical insight. *PLoS ONE*, v. 10, n. 8, 2015.
- CHEN, Wei *et al.* Peroxidase-Like Activity of Cupric Oxide Nanoparticle. *ChemCatChem*, v. 3, n. 7, p. 1151–1154, 2011.
- CLASSE, Técnico Especialista; ESCALÕES, Índices. Universidade Do Algarve Cargos. p. 1–14, 2009.
- COSTA, Luis Henrique Magalhães; DE CASTRO, Marco Aurélio Holanda; RAMOS, Helena. Use of hybrid genetic algorithms for optimized operation of water supply systems. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 15, n. 2, p. 187–196, 2010.
- COULTER, E. D.; SHENVI, N. V.; KURTZ, D. M. NADH peroxidase activity of rubrerythrin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 255, n. 2, p. 317–323, 1999.
- DA COSTA FILHO, Paulo Augusto; POPPI, Ronei Jesus. Genetic algorithm in chemistry. *Quimica Nova*, v. 22, n. 3, p. 405–411, 1999.
- DA COSTA ILHÉU FONTAN, Rafael *et al.* Cinética de inativação da peroxidase em água de coco. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 33, n. 1, p. 249–258, 2012.
- DE FREITAS, Andreia Andrade *et al.* Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 1, p. 172–177, 2008.
- DEBMANDAL, Manisha; MANDAL, Shyamapada. Coconut (Cocos nucifera L.: Areaceae): In health promotion and disease prevention. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, v. 4, n. 3, p. 241–247, 2011. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60078-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60078-3)>.
- DELANO, W L. *The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.3*. Schrödinger LLC. [S.l.: s.n.], 2020
- DUARTE, A. C. P.; COELHO, M. A. Z.; LEITE, S. G. F. Identification of Peroxidase and Tyrosinase in Green Coconut Water Identificación De Peroxidasa Y Tirosinasa En Jugo De Coco Verde Identificación De Peroxidasa E Tirosinasa En Xugo De Coco Verde. *Ciencia y Tecnologia Alimentaria*, v. 3, n. 5, p. 266–270, 2002.
- FABER, K. *Biotransformations in Organic Chemistry*. 5th. ed. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 2011.
- FARMÁCIA, De; UNIVERSITÁRIO, Centro; UNICESUMAR, De Maringá. BIOCATÁLISE A PARTIR DE VEGETAIS FRESCOS Maria Augusta Vilvert de Nigro¹, Rogério Aparecido Minini dos Santos². p. 2–5, 2019.
- FERNANDES, Kátia F; LIMA, Claudinei S; LOPES, Flavio M. Técnicas de Imobilização de Enzimas. p. 53–58, 2010.
- FONSECA, Aluísio M. *et al.* Coconut water (Cocos nucifera L.)-A new biocatalyst system for organic synthesis. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 57, n. 1–4, p. 78–82, 2009.
- GINSBERG, L.; GERSHFELD, N. L. Phospholipid surface bilayers at the air-water interface. II. Water permeability of dimyristoylphosphatidylcholine surface bilayers. *Biophysical Journal*, v. 47, n. 2, p. 211–215, 1985. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495\(85\)83893-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495(85)83893-5)>.
- GONÇALVES, C. C.S.; FONSECA, F. S.A. Enzyme-catalyzed redox reactions. *Revista Virtual de Química*, v. 10, n. 4, p. 778–797, 2018.
- GORDON, Ira K.; KHANNA, Chand. Modeling opportunities in comparative oncology for

- drug development. *ILAR Journal*, v. 51, n. 3, p. 214–220, 2010.
- HALGREN, Thomas A. Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. *Journal of Computational Chemistry*, v. 17, n. 5–6, p. 490–519, 1996.
- HAMID, Mohsina; KHALIL-UR-REHMAN. Potential applications of peroxidases. *Food Chemistry*, v. 115, n. 4, p. 1177–1186, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.035>>.
- HANEFELD, Ulf; GARDOSI, Lucia; MAGNER, Edmond. Understanding enzyme immobilisation. *Chemical Society Reviews*, v. 38, n. 2, p. 453–468, 2009.
- HANWELL, Marcus D *et al.* Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, v. 4, n. 1, p. 17, dez. 2012.
- HILLISCH, Alexander; PINEDA, Luis Felipe; HILGENFELD, Rolf. Utility of homology models in the drug discovery process. *Drug Discovery Today*, v. 9, n. 15, p. 659–669, 2004.
- HIRANO, Jun ichiro; MIYAMOTO, Kenji; OHTA, Hiromichi. The green and effective oxidation of alcohols to carboxylic acids with molecular oxygen via biocatalytic reaction. *Tetrahedron Letters*, v. 49, n. 7, p. 1217–1219, 2008.
- KIM, Jinwoong *et al.* Polypodoside a, an intensely sweet constituent of the rhizomes of polypodium glycyrrhiza. *Journal of Natural Products*, v. 51, n. 6, p. 1166–1172, 1988.
- KWIATKOWSKI, Angela; OLIVEIRA, Dalany Menezes; CLEMENTE, Edmar. Atividade Enzimática e Parâmetros Físico-Químicos de Água de Cocos Colhidos em Diferentes Estádios de Desenvolvimento e Estação Climática. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 34, n. 2, p. 551–559, 2012.
- LA-SCALEA, Mauro Aquiles; SILVA, Hélio Santa Rosa Costa; FERREIRA, Elizabeth Igne. Redução voltamétrica de artemisinina e sua interação com grupo heme (hemina). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 43, n. 3, p. 371–383, 2007.
- LASKOWSK, Roman A; MACARTHUR, Malcolm W; THORNTON, Janet M. Validation of protein models derived from experiment. *Current Opinion in Structural Biology*, v. 8, n. 5, p. 631–639, 1998.
- LASKOWSKI, R. A. *et al.* PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. *Journal of Applied Crystallography*, v. 26, n. 2, 1993.
- LASKOWSKI, Roman A. *et al.* AQUA and PROCHECK-NMR: Programs for checking the quality of protein structures solved by NMR. *Journal of Biomolecular NMR*, v. 8, n. 4, p. 477–486, 1996.
- LIMA, E. B.C. *et al.* Cocos nucifera (L.) (arecaceae): A phytochemical and pharmacological review. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 48, n. 11, p. 953–964, 2015.
- LOIOLA, Carina Mendes. COMPORTAMENTO DE CULTIVARES DE COQUEIRO (Cocos nucifera L.) EM DIFERENTES CONDIÇÕES AGROECOLÓGICAS DOS TABULEIROS COSTEIROS. p. 86, 2009.
- LUÍZ, Rúbia Caroline; HIRATA, Talita Akemi Medeiros; CLEMENTE, Edmar. Cinética de inativação da polifenoloxidase e peroxidase de abacate (*Persea americana* Mill.). *Ciência e Agrotecnologia*, v. 31, n. 6, p. 1766–1773, 2007.
- MACHADO, L. L. *et al.* Bioreduction of aldehydes and ketones using *Manihot* species. *Phytochemistry*, v. 67, n. 15, p. 1637–1643, 2006.
- MACHADO, L. L. *et al.* Bioreduction of aromatic aldehydes and ketones by fruits' barks of *Passiflora edulis*. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 54, p. 103–106, 2008.
- MACIEL, Hermelinda Penha Freire; GOUVÊA, Cibele Marli Cação Paiva; PASTORE, Gláucia Maria. Obtenção de nova fonte de peroxidase de folha de *Copaifera langsdorffii* Desf. com alta

- atividade. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 4, p. 735–739, 2006.
- MACIEL, M. I.; OLIVEIRA, S. L.; DA SILVA, I. P. EFFECTS of DIFFERENT STORAGE CONDITIONS ON PRESERVATION of COCONUT (*Cocos nucifera*) WATER. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 16, n. 1, p. 13–22, 1992.
- MAGALHÃES, Márcia Pimentel *et al.* Conservação de água de coco verde por filtração com membrana. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 1, p. 72–77, 2005.
- MAI, Chiang; NAKORN, Amata; PARK, Industrial. Thai Journal of Pharmaceutical Sciences (TJPS). *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 42, n. supplement, p. 93–97, 2018.
Disponível em:
<[http://www.tjps.pharm.chula.ac.th/proceedings/backend/proceeding_file/24_PN_FP_SukanyaSettharaksa\(102-106\).pdf](http://www.tjps.pharm.chula.ac.th/proceedings/backend/proceeding_file/24_PN_FP_SukanyaSettharaksa(102-106).pdf)>.
- MART, Marc A *et al.* COMPARATIVE PROTEIN STRUCTURE MODELING OF GENES AND GENOMES. p. 291–325, 2000.
- MENG, Xuan-Yu *et al.* Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer Aided-Drug Design*, v. 7, n. 2, p. 146–157, 2012.
- MIN, Kyoungseon *et al.* A dye-decolorizing peroxidase from *Bacillus subtilis* exhibiting substrate-dependent optimum temperature for dyes and β -ether lignin dimer. *Scientific Reports*, v. 5, p. 1–8, 2015.
- MONTEIRO, Valdirene Neves; SILVA, Roberto do Nascimento. Aplicações Industriais da Biotecnologia Enzimática. *Revista Processos Químicos*, v. 3, n. 5, p. 9–23, 2009.
- MOREIRA, Leonardo Marmo *et al.* Hemoglobina extracelular gigante de glossoscolex paulistus: Um Extraordinário sistema supramolecular hemoproteico. *Química Nova*, v. 34, n. 1, p. 119–130, 2011.
- MORRIS, Garrett M. *et al.* Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, 2009.
- NAMBA, A. M.; DA SILVA, V. B.; DA SILVA, C. H.T.P. Dinâmica molecular: Teoria e aplicações em planejamento de fármacos. *Eclética Química*, v. 33, n. 4, p. 13–24, 2008.
- NARANCIC, Tanja *et al.* Recent developments in biocatalysis beyond the laboratory. *Biotechnology Letters*, v. 37, n. 5, p. 943–954, 2015.
- NARAYANASWAMY, Venugopala K; RISSDÖRFER, Mihai; ODHAV, Bharti. Review on CambridgeSoft ChemBioDraw Ultra 13. *International Journal of Theoretical & Applied Sciences*, v. 5, n. 2, p. 43–49, 2013.
- NOBLICK, Larry R. THE MORPHOLOGY AND TAXONOMY OF THE ARECACEAE (PALMAE). *Acta Horticulturae*, n. 360, p. 19–26, 1994.
- PAL, Gluconacetobacter *et al.* Modelagem molecular de proteínas: o caso de uma glucoronosiltransferase (GumK) de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. *Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management*, v. 10, n. 3, 2014.
- PASSARDI, Filippo *et al.* PeroxiBase: The peroxidase database. *Phytochemistry*, v. 68, n. 12, p. 1605–1611, 2007.
- PHAM, Laura J. *Coconut (Cocos nucifera)*. [S.l.]: AOCS Press. Published by Elsevier Inc. All rights reserved., 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-893997-98-1.00009-9>>.
- RAMACHANDRAN, G.N.; RAMAKRISHNAN C.; SASISEKHARAN, V. Stereochemistry of Polypeptide Chain Conformations. *Journal of Molecular Biology*, v. 7, p. 95–99, 1963.
- RESENDE, Rodrigo Ribeiro. Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria - Vol. 4. *Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria - Vol. 4*, 2017.
- RICHTER, Michael *et al.* Novel materials through Nature's catalysts. *Materials Today*, v. 18, n.

- 8, p. 459–467, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mattod.2015.04.002>>.
- RIGON ZIMMER, Karine *et al.* Enzimas microbianas de uso terapêutico e diagnóstico clínico. *Revista Liberato*, v. 10, n. 14, p. 123–137, 2009.
- RODRIGUES, R. P. *et al.* Virtual screening strategies in drug design. *Revista Virtual de Química*, v. 4, n. 6, p. 739–776, 2012.
- RONDINA, Davide; FURTADO, Roselayne Ferro. Peróxido De Hidrogênio Em Leite. *Eclética Química*, v. 36, p. 143–157, 2011.
- SALENTIN, Sebastian *et al.* PLIP: Fully automated protein-ligand interaction profiler. *Nucleic Acids Research*, v. 43, n. W1, p. W443–W447, 2015.
- SALMASO, Veronica; MORO, Stefano. Bridging molecular docking to molecular dynamics in exploring ligand-protein recognition process: An overview. *Frontiers in Pharmacology*, v. 9, n. AUG, p. 1–16, 2018.
- SANTOS FILHO, Osvaldo Andrade; ALENCASTRO, Ricardo Bicca De. Modelagem de proteínas por homologia. *Química Nova*, v. 26, n. 2, p. 253–259, 2003.
- SILVA, Vinicius B; SILVA, Carlos H T P. Modelagem Molecular De Proteínas-Alvo Por. *Proteins*, v. IV, n. 1, p. 15–26, 2007.
- STRYJEWSKA, A. *et al.* Biotechnology and genetic engineering in the new drug development . Part II . Monoclonal antibodies, modern vaccines and gene therapy. *Pharmacological Reports*, v. 65, p. 1086–1101, 2013.
- SUPRIYA, T *et al.* a Over View on Molecular Docking. *American Journal of Biological and Pharmaceutical Research*, v. 3, n. 2, p. 83–89, 2016. Disponível em: <www.mcmed.us/journal/ajbpr>.
- TAFAZOLI, Shahrzad; O'BRIEN, Peter J. Peroxidases: A role in the metabolism and side effects of drugs. *Drug Discovery Today*, v. 10, n. 9, p. 617–625, 2005.
- TIAN, Wei *et al.* CASTp 3.0: Computed atlas of surface topography of proteins. *Nucleic Acids Research*, v. 46, n. W1, p. W363–W367, 2018.
- TREGGAR, James. The anatomy of palms (Arecaceae–Palmae). *Annals of Botany*, v. 108, n. 8, p. 1539–1539, 2011.
- TROTT, Oleg; OLSON, Arthur J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, p. NA-NA, 2009.
- UCHIKOGA, Nobuyuki *et al.* Re-Docking Scheme for Generating Near-Native Protein Complexes by Assembling Residue Interaction Fingerprints. *PLoS ONE*, v. 8, n. 7, 2013.
- VALDERRAMA, Patrícia; FABIANE, MARANGONI; CLEMENTE, Edmar. EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO SOBRE A ATIVIDADE DE PEROXIDASE (POD) E POLIFENOLOXIDASE (PPO) EM MAÇÃ (Mallus comunis). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 21, n. 3, p. 321–325, 2001.
- VEITCH, Nigel C. Horseradish peroxidase: A modern view of a classic enzyme. *Phytochemistry*, v. 65, n. 3, p. 249–259, 2004.
- VIGLIAR, Renata; SDEPANIAN, Vera L.; FAGUNDES-NETO, Ulysses. Perfil bioquímico da água de coco de coqueiros de região não litorânea. *Jornal de Pediatria*, v. 82, n. 4, p. 308–312, 2006.
- WEBB, Benjamin; SALI, Andrej. Comparative protein structure modeling using MODELLER. *Current Protocols in Bioinformatics*, v. 2016, 2016.
- WILLIAM, Antonio; LIMA, Oliveira; ANGNES, Lúcio. *Biocatalysis in aquo-restricted media: Fundamentals and applications in analytical chemistry. Química Nova*. [S.l: s.n.]. , 1999
- WU, Chunlai *et al.* The class III peroxidase (POD) gene family in cassava: Identification, phylogeny, duplication, and expression. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, n.

11, p. 1–17, 2019.

XIAO, Yong *et al.* The genome draft of coconut (*Cocos nucifera*). *GigaScience*, v. 6, n. 11, p. 1–11, 2017.

YADAV, J. S. *et al.* Efficient enantioselective reduction of ketones with *Daucus carota* root. *Journal of Organic Chemistry*, v. 67, n. 11, p. 3900–3903, 2002.

YADAV, J. S. *et al.* Enantioselective reduction of 2-substituted tetrahydropyran-4-ones using *Daucus carota* plant cells. *Tetrahedron Letters*, v. 49, n. 17, p. 768–2771, 2008.

ZÁMOCKÝ, Marcel *et al.* Independent evolution of four heme peroxidase superfamilies. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 574, p. 108–119, 2015.

ZANATTA, C. L.; ZOTARELLI, M. F.; CLEMENTE, E. Peroxidase (Pod) E Polifenoloxidase (Ppo). *Ciência Tecnologia de Alimentos*, v. 7, n. 3, p. 705–708, 2006.