



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

FRANCISCO THÁLYSSON TAVARES CAVALCANTE

**APLICAÇÃO DA LIPASE EVERSA® *TRANSFORM* 2.0 NA SÍNTESE DE
BIOLUBRIFICANTES POR MEIO DE SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS**

FORTALEZA

2021

FRANCISCO THÁLYSSON TAVARES CAVALCANTE

APLICAÇÃO DA LIPASE EVERSA® TRANSFORM 2.0 NA SÍNTESE DE
BIOLUBRIFICANTES POR MEIO DE SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Engenharia química Área de concentração: Processos químicos e bioquímicos.

Orientador: Prof. Dr. José Cleiton Sousa dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C364a Cavalcante, Francisco Thálysson Tavares.
APLICAÇÃO DA LIPASE Eversa® TRANSFORM 2.0 NA SÍNTESE DE BIOLUBRIFICANTES
POR MEIO DE SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS / Francisco Thálysson Tavares Cavalcante. – 2021.
69 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof. Dr. José Cleiton Sousa dos Santos.

Coorientação: Prof. Dr. Alúcio Marques da Fonseca.

1. Biolubrificantes. 2. Docagem molecular. 3. Dinâmica molecular. I. Título.

CDD 660

FRANCISCO THÁLYSSON TAVARES CAVALCANTE

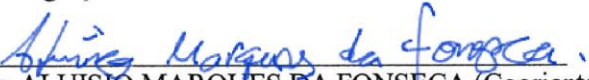
APLICAÇÃO DA LIPASE Eversa® TRANSFORM 2.0 NA SÍNTESE DE
BIOLUBRIFICANTES POR MEIO DE SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Engenharia química Área de concentração: Processos químicos e bioquímicos

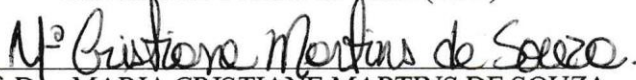
Aprovada em: 19/11/2021.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. JOSÉ CLEITON SOUSA DOS SANTOS (Orientador)
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)


Prof. Dr. ALUISIO MARQUES DA FONSECA (Coorientador)
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)


Prof. Dr. EMMANUEL SILVA MARINHO
Maria Alexandra de Sousa Rios

Prof. Dra. MARIA ALEXSANDRA DE SOUSA RIOS
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. MARIA CRISTIANE MARTINS DE SOUZA
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Aos meus pais.

Aos meus amigos, a família que escolhi.

.

AGRADECIMENTOS

Ao CAPES, pelo apoio financeiro com o programa PROEX, garantindo a manutenção da bolsa de auxílio.

Aos meus pais, Francisco Anacélio Moura Cavalcante e Aurilene Tavares de Sousa Cavalcante, pelo incentivo dados aos meus estudos.

Ao Prof. Dr. José Cleiton Sousa dos Santos pela orientação do trabalho, pela oportunidade de me manter como seu orientando. Pela confiança, paciência, dedicação e atenção.

Aos professores participantes da banca examinadora Prof. Dr. Emmanuel da Silva Marinho, Profa. Dra. Maria Alexsandra de Sousa Rios, e Profa. Dra. Maria Cristiane Martins de Souza pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos meus amigos, em especial à Samuel, Samara e Léo pela amizade e disponibilidade de recursos computacionais para a realização das simulações presentes neste trabalho.

À psicóloga Sonária e ao psiquiatra Marcos pela dedicação e humanização no acompanhamento e tratamento dos meus transtornos crônicos de humor.

Aos colegas pertencentes do grupo GENEZ, pela dedicação e compartilhamento de conhecimentos, por meio dos vários trabalhos acadêmicos desenvolvidos coletivamente neste período.

RESUMO

Biolubrificantes vem ganhando mais participação de mercado dado o aumento do interesse na substituição do uso de lubrificantes derivados de petróleo. Eles são produzidos usando matérias primas renováveis tais como óleos vegetais, e lipases podem ser utilizadas como catalisadores para suas sínteses, tornando estes processos mais ambientalmente amigáveis. Dentre as inovações criadas com ferramentas de engenharia enzimática, a lipase Eversa[®] *Transform 2.0* surge como uma formulação enzimática, geneticamente modificada, de menor custo e possui alta atividade para produção de biodiesel, ácidos graxos e biolubrificantes. Além da engenharia enzimática, ferramentas computacionais, tais como a docagem e dinâmica molecular, podem ser aliadas no desenvolvimento de produtos competitivos e de baixo impacto ambiental. Estas ferramentas de simulação possibilitam o entendimento do mecanismo reacional de um processo, economizam no gasto de reagentes, e embasam a escolha dos materiais e condições que podem ser usados em processos reais. Desta forma, este trabalho propôs a modelagem e análise de reações de síntese de biolubrificantes derivados do ácido oleico, usando diferentes tipos de álcoois e a lipase Eversa[®] *Transform 2.0* como catalisadora das reações. A partir das docagens moleculares foi observado que as interações predominantes entre os ligantes e os resíduos de aminoácidos que compõem o sítio ativo da lipase e seus arredores, foram de Van der Waals ou hidrofóbicas. Nas simulações de dinâmicas moleculares foi constatado que essas interações proporcionaram a estabilidade do complexo lipase-ligante, visto o baixo número de ligações de hidrogênio formadas nos tempos de simulação. Além disso, a pouca variação na posição dos complexos lipase/ligante em relação às suas conformações iniciais nas etapas de produção, atestaram que as poses de docagem escolhidas foram adequadas para descreverem as conformações dos ligantes na região do sítio ativo da lipase. Estes resultados proporcionam uma visão estrutural das interações entre a lipase Eversa[®] e ésteres graxos usados como lubrificantes e indicam quais possivelmente seriam os melhores álcoois usados para o processo, mas não podem atestar com segurança o comportamento dos sistemas propostos em condições experimentais, visto que muitas outras variáveis, tais como a atividade enzimática, mecanismos de inibição do catalisador, alteração do equilíbrio reacional, dentre outras, podem alterar significativamente a dinâmica do processo.

Palavras-chave: Biolubrificantes; Docagem molecular; Dinâmica molecular.

ABSTRACT

Biolubricants have been gaining more market share given the increased interest in replacing the use of petroleum-based lubricants. They are produced using renewable raw materials such as vegetable oils, and lipases can be used as catalysts for their syntheses, making these processes more environmentally friendly. Among the innovations created with enzymatic engineering tools, lipase Eversa® Transform 2.0 appears as an enzymatic formulation, genetically modified, of lower cost, and has high activity for the production of biodiesel, fatty acids, and biolubricants. In addition to enzymatic engineering, computational tools, such as docking and molecular dynamics, can be allied in the development of competitive products with low environmental impact. These simulation tools make it possible to understand the reaction mechanism of a process, save on the expense of reagents, and support the choice of materials and conditions that can be used in real processes. Thus, this work proposed the modeling and analysis of synthesis reactions of biolubricants derived from oleic acid, using different types of alcohols and the lipase Eversa® Transform 2.0 as a catalyst for the reactions. From the molecular dockings, it was observed that the predominant interactions between the ligands and the amino acid residues that make up the active site of the lipase and its surroundings were Van der Waals or hydrophobic. In the molecular dynamics simulations, it was found that these interactions provided the stability of the lipase-ligand complex, given the low number of hydrogen bonds formed in the simulation times. Furthermore, the low variation in the position of the lipase/ligand complexes concerning their initial conformations in the production steps, attested that the chosen docking poses were adequate to describe the conformations of the ligands in the region of the active site of the lipase. These results provide a structural view of the interactions between lipase Eversa® and fatty esters used as lubricants and indicate which would possibly be the best alcohols used for the process, but they cannot reliably attest to the behavior of the proposed systems under experimental conditions, since many other variables, such as enzymatic activity, inhibition mechanisms of the catalyst, alteration of the reaction equilibrium, among others, can significantly alter the dynamics of the process.

Keywords: Biolubricants; Molecular docking; Molecular dynamics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Reações de síntese de biolubrificantes. Transesterificação direta (B), transesterificação de duas etapas (A+B), esterificação direta (D) e hidroesterificação (C+D)	21
Figura 2	– Exemplo de aplicação de uma docagem entre um ligante e uma proteína quaisquer.....	23
Figura 3	– Representação de um procedimento de simulação de dinâmica molecular.....	29
Figura 4	– Representação da célula de simulação de comprimento L qualquer. O raio de corte (círculo) é traçado a partir de um átomo de interesse <i>i</i> dentro da célula central, e sua interação com o átomo <i>j</i> ', imagem do átomo <i>j</i> dentro do raio.....	35
Figura 5	– Esquema reacional para a produção de biolubrificantes.....	38
Figura 6	– Demonstração do espaço tridimensional delimitado para a macromolécula, ou gridbox. Os parâmetros do mesmo são visualizados na caixa de diálogo do programa AutoDockTools.....	40
Figura 7	– Ligantes usados nas simulações de docagem e dinâmica molecular.....	42
Figura 8	– Exemplo de ligante (ácido oleico) com geometria otimizada usando o campo de força MM2 no software Chem3D® 17.0.....	43
Figura 9	– Raiz Quadrada do Desvio Quadrático Médio (RMSD), em relação à conformação inicial do complexo ácido oleico-lipase versus o tempo de simulação (ns) na etapa de equilibração.....	51
Figura 10	– Raiz Quadrada do Desvio Quadrático Médio (RMSD), em relação à conformação inicial do complexo versus o tempo de simulação (ns) na etapa de produção. Os índices numéricos referem-se à ordem apresentada na Figura 5.....	52
Figura 11	– Interações dos ligantes com a lipase após as docagens. Os índices numéricos referem-se à ordem apresentada na Figura 5.....	54-62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Termos e pesos da função de pontuação do <i>Autodock Vina</i>	25
Tabela 2	– Exemplo de parâmetros utilizados para docagem no <i>AutoDock Vina</i>	40
Tabela 3	– Dados das poses obtidas nos processos de docagem.....	45
Tabela 4	– Interações dos ligantes com a lipase após as docagens. Os índices numéricos referem-se à ordem apresentada na Figura 5.....	48,49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D	Tridimensional
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
PBR	<i>Packed-Bed Reactor</i> ou reator de leito recheado
CHARMM	<i>Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics</i>
DM	Dinâmica molecular
FBR	<i>Fluidized-Bed Reactor</i> ou reator de leito fluidizado
LJ	Lennard-Jones
NAMD	<i>Nanoscale Molecular Dynamics</i>
NPG	Neopentil glicol
NpT	<i>Ensemble</i> Isotérmico-isobárico
NVT	<i>Ensemble</i> Isotérmico-isovolumétrico
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PDBQT	<i>Protein Data Bank, Partial Charge (Q), Atom Type (T)</i>
PE	Pentaeritritol
pH	Potencial hidrogeniônico
PME	<i>Particle Mash Ewald</i> ou soma de partículas de Ewald
RC	Raio de Corte
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i> ou desvio quadrático médio
STR	<i>Stirred-Bed Reactor</i> ou reator de tanque agitado
TMP	Trimetilolpropano
vdW	<i>Van der Waals</i>
VMD	<i>Virtual Molecular Dynamics</i>

LISTA DE AMINOÁCIDOS

Ala	A	Alanina
Cys	C	Cisteína
Asp	D	Ácido Aspártico
Glu	E	Ácido Glutâmico
Phe	F	Fenilalanina
Gly	G	Glicina
His	H	Histidina
Ile	I	Isoleucina
Lys	K	Lisina
Leu	L	Leucina
Met	M	Metionina
Asn	N	Asparagina
Pro	P	Prolina
Gln	Q	Glutamina
Arg	R	Arginina
Ser	S	Serina
Thr	T	Treonina
Val	V	Valina
Trp	W	Triptofano
Tyr	Y	Tirosina

LISTA DE SÍMBOLOS

©	<i>Copyright</i>
®	Marca Registrada
Å	Angström
a_i	Aceleração da partícula i
ns	Nanosegundos
fs	Femtosegundos
n	Número de átomos
ΔG	Variação da energia livre de Gibbs
Ψ	Ângulo diedro impróprio Psi
Φ	Ângulo diedro impróprio Phi
K_0	Constante de força angular
F_i	Força atuando na partícula i
m_i	Massa da partícula i

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	Lubrificantes e biolubrificantes	16
2.2	Uso de lipases para a produção de biolubrificantes	18
2.3	Ferramentas de bioinformática	21
2.3.1	<i>Docagem molecular</i>	22
2.3.1.1	<i>Parametrização de funções de pontuação</i>	24
2.3.1.2	<i>NNScore 2.0</i>	27
2.3.2	<i>Dinâmica molecular</i>	28
2.3.2.1	<i>Equações de movimento</i>	29
2.3.3.2	<i>Campo de força</i>	32
2.3.3.3	<i>Condições periódicas de contorno</i>	34
2.3.3.4	<i>Raio de corte</i>	35
2.3.3.5	<i>Soma de partículas de Ewald</i>	35
2.3.3.6	<i>Controle de temperatura e pressão</i>	36
2.3.3.7	<i>Análise da trajetória gerada</i>	37
2.3.3.7.1	Raiz do desvio quadrático médio (RMSD)	37
2.3.3.7.2	Ligações de Hidrogênio	37
3	METODOLOGIA	38
3.1	Modelo de reação para a produção de biolubrificantes	38
3.2	Preparo do receptor e dos ligantes	39
3.2.1	<i>Preparo do receptor</i>	39
3.2.2	<i>Preparo dos ligantes</i>	40
3.3	Execução das docagens e análise dos resultados	43
3.4	Simulações de dinâmica molecular	44
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1	Análise dos resultados de docagem molecular	44
4.2	Resultados das simulações de dinâmica molecular	51
5	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

Lubrificantes são substâncias capazes de formar um filme protetor em peças mecânicas em movimento, reduzindo a fricção, o desgaste e o aquecimento das peças envolvidas (GUNDA; NARALA, 2017). A escolha adequada de um lubrificante para uma determinada aplicação é capaz de aumentar a vida útil, a eficiência e a segurança de peças mecânicas, motores e máquinas nas mais diversas aplicações comerciais e industriais (BOYDE, 2002; ROYLANCE, 2003). As vendas globais de lubrificantes alcançaram US\$ 126,5 bilhões em 2019, e sua taxa anual de crescimento era estimada em 2,4% até 2022 (MORDOR INTELLIGENCE 2020). Entretanto, as vendas caíram em 8,1% devido à pandemia de Covid-19. As vendas projetadas para 2021 ainda estarão abaixo das alcançadas em 2019, em US\$ 117,78 bilhões, mas estão projetadas para crescerem em 1,8% anualmente até atingirem US\$ 133,55 bilhões em 2028. (FORTUNE BUSINESS INSIGHTS, 2021b).

Seguindo a tendência na busca pela redução de consumo de combustíveis fósseis e de seus derivados, estudos estão sendo conduzidos para a produção em larga escala de lubrificantes oriundos de fontes renováveis, e a participação no mercado desses chamados biolubrificantes estava apresentando um alto crescimento, mas que também foi impactado pela pandemia (MCNUTT; HE, 2016; MOBARAK et al., 2014; SALIMON et al., 2014; TESSER et al., 2020). Foi estimado que o mercado global de biolubrificantes era de aproximadamente US\$ 3,3 bilhões em 2019, com um crescimento anual previsto de 4,8% até 2027 (FORTUNE BUSINESS INSIGHTS, 2021a). Em 2020, houve uma queda neste mercado em 18%, mas estima-se um crescimento anual ainda maior do que foi antes da pandemia, em torno de 5,3% até 2027 (PR NEWSWIRE, 2020). O crescimento da participação dos biolubrificantes no mercado é de grande importância ambiental, visto que a maior parte dos lubrificantes produzidos são extraídos do petróleo ou sintetizado a partir dele, fazendo com que o consumo desses produtos seja impactante nas emissões atmosféricas, além de apresentarem riscos aos recursos hídricos, caso sejam indevidamente descartados (MADANHIRE; MBOHWA, 2016; SAHA; VLACHOS, 2021).

Nesse contexto, óleos vegetais podem ser usados como matérias-primas para a produção de biolubrificantes renováveis, biodegradáveis, com propriedades físico-químicas adequadas para as mais diversas aplicações (CUNNINGHAM et al., 2003; MCNUTT; HE, 2016; TESSER et al., 2020). Além disso, esses biolubrificantes podem ser produzidos utilizando-se de catalisadores enzimáticos, tornando o produto final ainda mais amigável ao meio ambiente (DÖRMÖ et al., 2004; FERNANDES et al., 2018). Ainda existem poucas

investigações presentes na literatura sobre o uso de biocatalisadores para a produção de biolubrificantes, contudo, ela tem se apresentado como uma excelente alternativa à catálise química, que para este processo está associada à maiores custos energéticos, maiores tempos reacionais e a geração de resíduos químicos nas etapas de separação e purificação dos biolubrificantes (BOLINA; GOMES; MENDES, 2021). Dentro dos diversos grupos de enzimas, as lipases são as responsáveis por atuarem na transformação dessas matérias-primas oleaginosas em biolubrificantes. Seu uso, entretanto, ainda é limitado devido ao custo e à sensibilidade operacional (BASSI et al., 2016; BOLINA; GOMES; MENDES, 2021; DA SILVA et al., 2015).

Diversas estratégias são estudadas com o intuito de amplificar o uso da biocatálise em processos industriais, destacando-se, técnicas de imobilização enzimática, o uso de solventes verdes, manipulações genéticas para produção de enzimas mais eficientes, dentre outras (ELGHARBAWY et al., 2018; FILHO; SILVA; GUIDINI, 2019; JIN et al., 2021). Manipulações genéticas podem ser usadas para a produção de formulações enzimáticas solúveis, que podem ser vendidas a preços de 30 a 50 vezes mais baratas do que suas versões imobilizadas ((REMONATTO et al., 2016). Dentre elas, destaca-se a Eversa[®], uma formulação geneticamente modificada da lipase de *Thermomyces lanuginosus* expressa em uma cepa de *Aspergillus oryzae*, que foi lançada como um produto economicamente mais acessível e competitivo para o emprego em produções de larga escala (MONTEIRO et al., 2021; PELLIS et al., 2018). Esta lipase, entretanto, também já demonstrou outros potenciais de aplicação, tais como na produção de ácidos graxos livres, glicerídeos e biolubrificantes (GUIMARÃES et al., 2021).

O entendimento dos processos enzimáticos pode ser enriquecido pelo conhecimento de detalhes do sistema à nível atômico e molecular. Com o avanço e popularização de computadores cada vez mais velozes e softwares mais eficazes, a química computacional e a bioinformática consolidaram-se como áreas de pesquisa fundamentais para o entendimento de processos a nível atômico e molecular (AMARO; MULHOLLAND, 2018; VIANELLO; DOMENE; MAVRI, 2016). Além disso, as predições de afinidade, enantioseletividade, ou de possíveis desativações catalíticas, resultantes das interações entre enzima, substrato e solvente, podem ser encontradas de maneira mais rápida e sem gasto de materiais, por meio de ferramentas como a docagem (*docking*) e dinâmica moleculares (DM) (MATHPATI; BHANAGE, 2016; QIN; ZHONG; WANG, 2021). Essas técnicas, já foram utilizadas para analisarem a capacidade catalítica de lipases em diferentes reações de esterificação e transesterificação (CHRISTELLE et al., 2011; MATHPATI; BADGUJAR;

BHANAGE, 2016; MATHPATI; BHANAGE, 2016).

Dado o exposto, este trabalho tem como objetivo avaliar o potencial da lipase Eversa® *Transform* 2.0 de catalisar as reações de produção de diferentes biolubrificantes, por meio de estudos de simulações computacionais. O substrato utilizado é o ácido oleico, um ácido presente em grandes quantidades em óleos vegetais, e álcoois de diferentes perfis de cadeia, dentre os mais utilizados para a produção desses compostos (BASSI et al., 2016; BOLINA; GOMES; MENDES, 2021; CAVALCANTI et al., 2018; HAPPE et al., 2014; PATEL et al., 2017; VILAS BÔAS et al., 2021; WAFTI et al., 2021). A partir dos estudos de docagem molecular foram encontradas as poses de conformação dos ligantes em relação ao sítio catalítico da lipase, assim como a quantidade e a natureza das interações intermoleculares entre eles. Em seguida, por meio das simulações de dinâmica molecular, foram avaliadas as estabilidades dos complexos enzima-substrato em condições reacionais de produção, considerando a presença de uma grade com moléculas de água ao redor da enzima, visto que, em pequenas quantidades, a água é essencial para o favorecimento das mudanças conformacionais da lipase em seus processos biocatalíticos (ATADASHI et al., 2012; KAJIWARA et al., 2017; KATAYAMA et al., 2017).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Lubrificantes e biolubrificantes

Lubrificantes são materiais utilizados para facilitar a movimentação relativa entre partes em contato, minimizando a fricção e o desgaste delas (GUNDA; NARALA, 2017). Além desta função primária, eles também podem ser utilizados para remoção de calor, prevenção de corrosão, na transferência de potência, por meio da vedação líquida em partes móveis, e da suspensão e remoção de partículas de desgaste (MENEZES; REEVES; LOVELL, 2013). As propriedades tribológicas dos lubrificantes estão relacionadas ao seu meio principal de atuação, que dependerão da espessura do filme produzido e da viscosidade da substância utilizada (SONI; AGARWAL, 2014). A espessura do filme lubrificante e sua viscosidade dependerão da composição química da substância base e de seus aditivos, bem como das condições operacionais, como a carga aplicada e a velocidade do deslizamento (SONI; AGARWAL, 2014). Essas propriedades definirão a eficiência do óleo lubrificante e o regime de lubrificação. Os regimes de lubrificação podem ser do tipo hidrodinâmico, marginal ou misto (GARREC; NORTON, 2012). Em alta velocidade, alta viscosidade ou baixa carga, a pressão hidrodinâmica gerada é suficiente para que as superfícies sólidas sejam totalmente

separadas por uma fina película de lubrificante caracterizando a lubrificação hidrodinâmica (GARREC; NORTON, 2012). Já em condições de velocidades e viscosidades mais baixas, ou cargas mais altas, a pressão hidrodinâmica é insuficiente para separar totalmente as superfícies e as asperezas nas superfícies opostas entram em contato, proporcionando uma lubrificação marginal (GARREC; NORTON, 2012). O regime misto ocorre quando partes de uma mesma peça operam em regimes diferentes (SONI; AGARWAL, 2014).

Para minimizar o atrito e o desgaste, equipamentos são projetados para o regime de lubrificação hidrodinâmica (SCARAGGI et al., 2014). A viscosidade ideal de um lubrificante dependerá das velocidades relativas das superfícies e da carga a ser suportada. Como as velocidades e cargas variam muito de acordo com os tipos de máquina, e até mesmo entre diferentes locais na mesma máquina, a produção de lubrificantes com uma grande variedade de viscosidade é necessária (BOYDE, 2002). Além da composição química, a viscosidade de um fluido é uma função da temperatura, pressão e, em alguns casos, taxa de cisalhamento do sistema no qual ele é empregado (BUKOVNIK et al., 2007). Desta forma, essa variação também é considerada na escolha de um lubrificante apropriado. Além disso, os lubrificantes devem manter suas propriedades físicas ao longo de sua vida útil, durante a qual são expostos a altas temperaturas, altas taxas de cisalhamento e a presença de oxigênio atmosférico. Portanto, um lubrificante também deve ter uma boa resistência à degradação térmica, à autoxidação e ao cisalhamento de suas moléculas (BOYDE, 2002). Ele também deve ser inerte a reagentes químicos aos quais possa ser exposto, à água, e aos gases de processo (BOYDE, 2002). Eventuais formações de fuligem e partículas de desgaste devem ser mantidas em suspensão aos lubrificantes, para manutenção dos equipamentos (WANG et al., 2018). Essa grande quantidade de parâmetros físicos e químicos a serem considerados, além de fatores econômicos, de segurança e ambientais, fazem com que o projeto e a formulação de lubrificantes sejam bastante delicados, onde terá que ser levado em conta quais serão as propriedades que serão priorizadas para uma determinada aplicação. Isso implica na inexistência de um único lubrificante ideal, apenas substâncias mais ou menos apropriadas para um propósito específico (BOYDE, 2002).

Como uma alternativa para a redução do consumo de produtos de origem fóssil, óleos vegetais podem ser empregados para a produção de biolubrificantes, agregando um caráter renovável, biodegradável, e excelentes desempenhos de lubrificação (MCNUTT; HE, 2016). Algumas propriedades físico-químicas de óleos brutos já apresentam conformidade com as propriedades desejáveis de biolubrificantes e para o atendimento das demais propriedades, diversas técnicas são usadas para aplicação de óleos vegetais como

lubrificantes, tais como a modificação genética, o tratamento aditivo e a modificação química (SALIMON et al., 2014). No entanto, a baixa resistência à oxidação térmica e a baixa estabilidade térmica ainda atuam como grandes barreiras para a ampliação de seu uso (MCNUTT; HE, 2016). Apesar disso, biolubrificantes de óleos vegetais possuem grandes potenciais de aplicação na lubrificação de motosserras, ferrovias, como fluidos hidráulicos em equipamentos de força, na lubrificação de motores de dois tempos, na lubrificação de motores de barcos, dentre outras (SONI; AGARWAL, 2014).

2.2 Uso de lipases para produção de biolubrificantes

Conforme mencionado anteriormente, ésteres lubrificantes de fontes renováveis são alternativas aos lubrificantes à base de óleos minerais derivados do petróleo, devido à combinação de excelentes propriedades técnicas e ecológicas. Cerca de 50% de todos os lubrificantes vendidos mundialmente acabam no meio ambiente por meio de aplicações de perda total, como em óleos de motores de dois tempos e motosserras, como agentes desmoldantes, como graxas lubrificantes e outros, que são perdidos por derramamento, volatilidade e acidentes (REEVES; SIDDAIAH; MENEZES, 2017). As perdas de fluidos hidráulicos podem chegar a 70-80%, resultando em grave contaminação do solo, das águas subterrâneas e do ar (ÅKERMAN et al., 2011a). Para preservação dos recursos naturais, o interesse em biolubrificantes vem aumentando, sobretudo em aplicações onde pode ocorrer o contato destes produtos com água, alimentos ou pessoas (SALIMON et al., 2014). Além disso, a síntese biocatalisada de ésteres de polióis requer condições brandas de temperatura e pressão, reduzindo o gasto energético em suas sínteses, além de evitarem ou reduzirem a formação de resíduos durante o processo (MOBARAK et al., 2014)

Ésteres de poliálcool, baseados em poliálcoois tais como o trimetilolpropano (TMP), o neopentil glicol (NPG) ou pentaeritritol (PET), e ácidos graxos lineares de cadeia entre oito e dezoito carbonos são as matérias-primas mais comuns de biolubrificantes (AGUIEIRAS et al., 2020). Sua formação se dá através de uma ou mais ligações entre a cadeia alquílica da fonte lipídica renovável e o poliálcool, fazendo com que essas modificações dos óleos naturais apresentem melhores estabilidades e propriedades térmicas, enquanto preservam a qualidade lubrificante e renovável desses materiais (CECILIA et al., 2020). Ésteres de polióis formam uma ampla variedade de fluidos de base biolubrificante com propriedades que variam dependendo da estrutura química do poliálcool empregado, por exemplo: ésteres de NPG podem

ser usados em formulações para aplicações como óleo de corte, de compressores e de cárteres. A combinação entre longas cadeias lineares; ramificações; ligações duplas e número de grupos hidroxila do biolubrificante irão influenciar em suas propriedades, seja na viscosidade, no ponto de fluidez, em sua resistência térmica e na sua estabilidade oxidativa (DA SILVA et al., 2015; MCNUTT; HE, 2016).

No que se refere a escolha de álcool, sabe-se que dentre os polióis mais utilizados, quanto maior for a quantidade de grupos hidroxilas por moléculas, maiores serão a viscosidade, a estabilidade térmica e o ponto de fluidez (ZAINAL et al., 2018). Desta forma, essas propriedades se comportam sempre na seguinte ordem: PE (4 hidroxilas) > TMP (3 hidroxilas) > NPG (2 hidroxilas). Como existem biolubrificantes produzidos com uma ampla faixa de propriedades, este conhecimento é importante para fundamentar a escolha de álcool para um lubrificante de uma determinada aplicação.

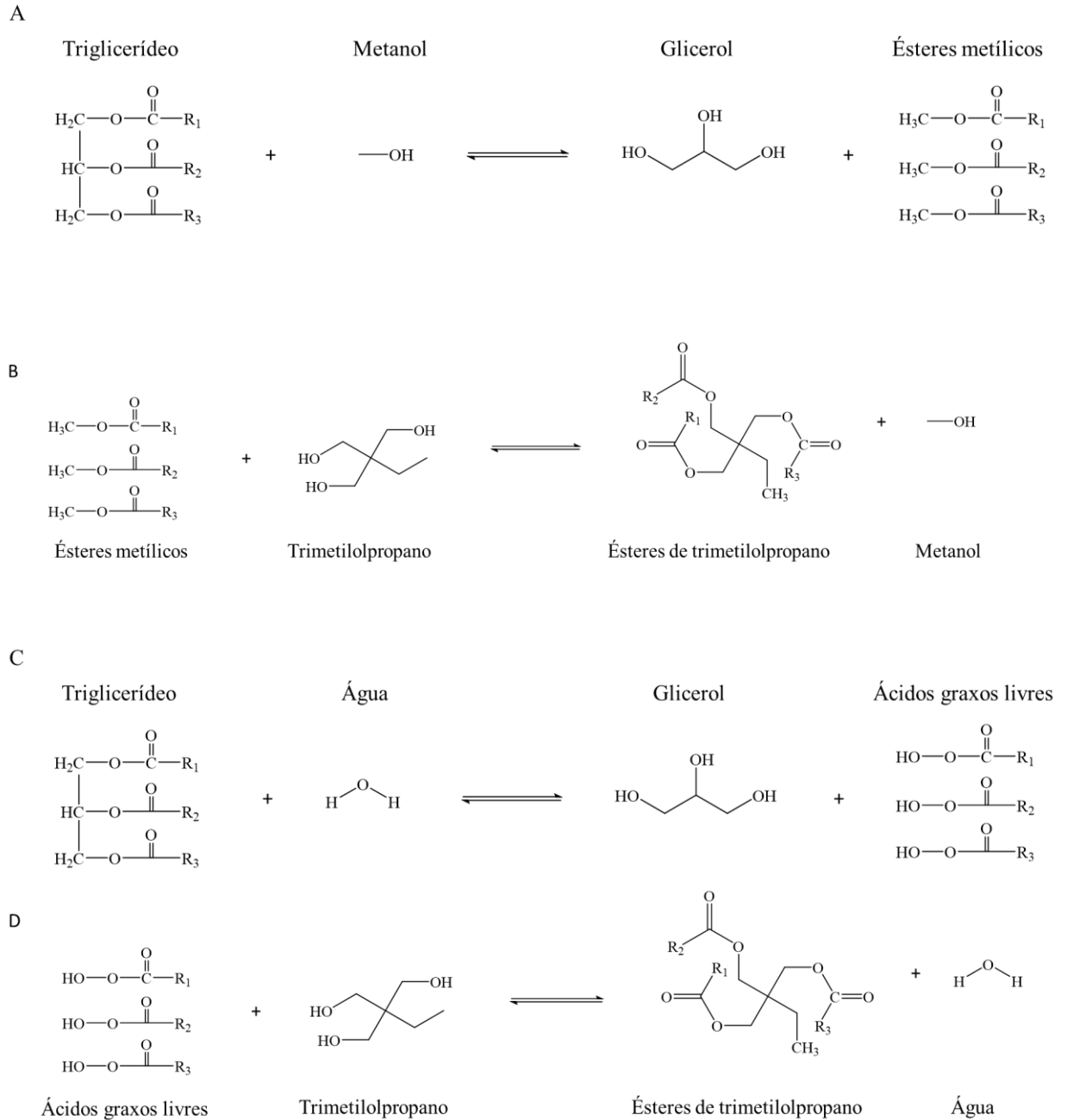
Os processos reacionais mais comumente usados na literatura para a produção de biolubrificantes são a transesterificação, a esterificação, hidroesterificação e a epoxidação sequenciada de processos de abertura de anel (BOLINA; GOMES; MENDES, 2021). Ao se utilizarem lipases como catalisadores para este fim, os três primeiros mecanismos são utilizados na literatura (BOLINA; GOMES; MENDES, 2021).

Na transesterificação, triglicerídeos ou ésteres alquílicos de ácidos graxos podem ser reagidos com álcoois de cadeias longa para produção de ésteres com características biolubrificantes (AFIFAH et al., 2019). São comumente usados ésteres metílicos produtos da transesterificação de óleos vegetais ou, estes óleos vegetais podem ser diretamente transesterificados com os álcoois (AFIFAH et al., 2019; ANGULO et al., 2018; DIAZ; KRONEMBERGER; HABERT, 2017). Na esterificação, ácidos graxos disponíveis comercialmente ou materiais de baixo custo tais como o lodo de refino de óleo vegetal são diretamente esterificados com diferentes álcoois para a produção de biolubrificantes (DÖRMÖ et al., 2004; FERNANDES et al., 2021). Já na hidroesterificação, os triglicerídeos comumente usados são óleos vegetais brutos ou ácidos graxos epoxidados são primeiramente hidrolisados, para em seguida serem esterificados com algum álcool de cadeia longa (GRECO-DUARTE et al., 2017). As reações estão esquematizadas na Figura 1.

Dentro os meios mais estudados para barateamento de processos biocatalisados voltados para escala industrial, está a imobilização enzimática em suportes sólidos. Esta técnica é utilizada com a finalidade de facilitar a recuperação do biocatalisador para a sua reutilização, podendo também, em alguns casos, aumentar a atividade catalítica e melhorar a

estabilidade dele às condições operacionais de temperatura, pH e estresse mecânico. Os estudos operacionais de produção de biolubrificantes com catalisadores enzimáticos normalmente são realizados com lipases imobilizadas, em maioria em reatores do tipo tanque de agitação mecânica contínua (do inglês, STR) operando em batelada, devido à facilidade de implementação para testes pleriminares, além da baixa necessidade de manutenção e menor custo para estes reatores nesse modelo de operação, quando comparados a reatores de fluxo contínuo tais como os de leito fixo (do inglês, PBR) e de leito fluidizado (do inglês, FBR) (BOLINA; GOMES; MENDES, 2021). Apesar da maior facilidade de implementação em processos industriais, ainda não existem estudos no emprego de reatores contínuos para a produção de biolubrificantes (BOLINA; GOMES; MENDES, 2021).

Figura 1 – Reações de síntese de biolubrificantes. Transesterificação direta (B), transesterificação de duas etapas (A+B), esterificação direta (D) e hidroesterificação (C+D).



Fonte: Elaborado pelo autor.

2.3 Ferramentas de bioinformática

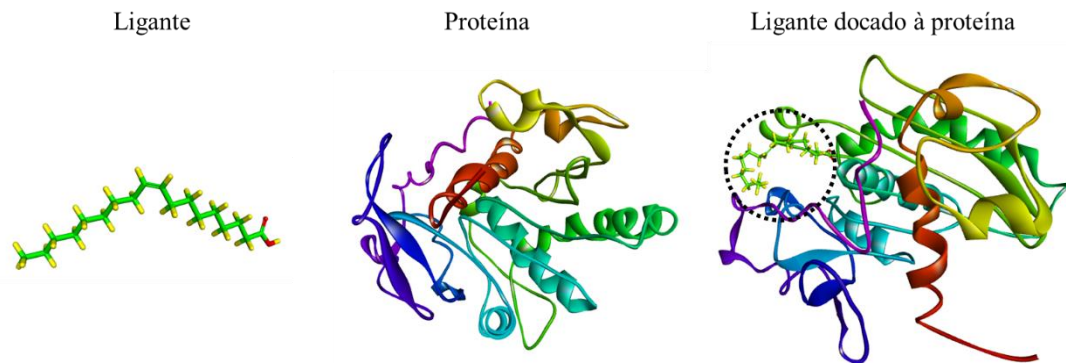
A bioinformática é um campo interdisciplinar em rápida evolução, que extrai

conhecimentos de uma variedade de campos, da biologia à química, da física à matemática e da ciência da computação (SCHNEIDER et al., 2010). Tais conhecimentos são usados para recuperar, analisar e armazenar conhecimentos de sistemas biológicos, por meio de processos como na caracterização de genes, na determinação de propriedades físico-químicas de proteínas, em análises filogenéticas, e na simulação das interações de materiais biológicos em diferentes sistemas (AAMER MEHMOOD, 2014). No campo de desenvolvimento de novos fármacos, programas computacionais estão provocando diminuições significativas de tempo e recursos na triagem para a descoberta e o desenvolvimento de compostos. Além disso, a criação a partir de um banco de dados enorme exige uma filtragem adequada por meio de um procedimento analítico eficaz, com posterior interpretação adequada à enzima alvo (SWAIN et al., 2018). As análises *in silico* (ou seja, de simulações computacionais) também podem ser usadas para orientar as tomadas de decisões para as realizações de experimentos, seja na produção ou seleção de biocatalisadores, na avaliação da enantioseletividade de uma reação, na avaliação de solventes adequados para o sistema, e também como forma de validação dos resultados experimentais a partir das interações moleculares, energias de afinidade, dentre outras análises (BARBOSA et al., 2019; BELL et al., 2021; CAMPBELL; MACDONALD; PROCOPIOU, 2018; DE SOUZA; MIRANDA; BORNSCHEUER, 2017; LAND; HUMBLE, 2018; MATHPATI; BHANAGE, 2016; SHEHATA et al., 2020; ZÍGOLO; GARCÍA LIÑARES; BALDESSARI, 2016).

2.3.1 Docagem molecular

A docagem molecular, ou *docking* é uma técnica de simulação importante para a investigação das interações moleculares entre uma proteína de estrutura tridimensional conhecida e um ligante (BÖHM, 1998; PAGADALA; SYED; TUSZYNSKI, 2017). Por meio dela, é possível encontrar as conformações mais energeticamente estáveis do complexo proteína-ligante (LI et al., 2010). A Figura 2 representa um exemplo de conformação de um ligante à estrutura de uma proteína. Com relação aos métodos de amostragem das simulações de docagem molecular, podem ser considerados modelos onde tanto a proteína quanto o ligante são considerados rígidos, modelos onde a proteína é rígida e o ligante é flexível, ou onde ambos são flexíveis (SALMASO; MORO, 2018).

Figura 2 – Exemplo de aplicação de uma docagem entre um ligante e uma proteína quaisquer.



Fonte: elaborado pelo autor

A docagem rígida é o método mais antigo de amostragem para os algoritmos da técnica de docagem. Nele, apenas são considerados três graus de liberdade rotacionais e três graus de liberdade translacionais, sendo mais apropriado para a interação entre proteínas, onde o número de graus de liberdade conformacionais são muito altos para serem amostrados (MENG et al., 2011). Na docagem semiflexível, a proteína é considerada rígida, com os seis graus de liberdade mencionados anteriormente, e o ligante é considerado flexível, considerando todos os seus graus de liberdade (TESSARO et al., 2020). Este método assume que a conformação fixa da proteína usada é capaz de reconhecer os ligantes a serem docados, o que não necessariamente corresponde com a realidade (SALMASO; MORO, 2018). Já a docagem flexível, ocorre quando o ligante é considerado flexível e a proteína é considerada parcialmente ou totalmente flexível, aumentando os graus de liberdade do sistema com o aumento da flexibilidade da proteína (WONG, 2008). Números elevados de graus de liberdade do sistema tornam as simulações mais complicadas e computacionalmente dispendiosas, fazendo com que seja mais eficiente tratar o receptor como parcialmente flexível (TAO et al., 2020).

Algoritmos de docagem molecular podem ser categorizados em técnicas de busca sistemática, métodos estocásticos, e métodos simulacionais (YADAVA, 2018). Na busca sistemática, um conjunto de valores discretos é associado com cada grau de liberdade, e as coordenadas são exploradas por meio de combinações (GUEDES; DE MAGALHÃES;

DARDENNE, 2014). Nos algoritmos de busca estocástica, os valores dos graus de liberdade são modificados aleatoriamente, fazendo com que a solução do sistema possa ser encontrada de maneira rápida (GUEDES; DE MAGALHÃES; DARDENNE, 2014). Por outro lado, essa busca não garante uma varredura completa pelo espaço conformacional, de modo que a melhor solução do sistema possa não ser a encontrada pelo algoritmo (TORRES et al., 2019). Finalmente, os métodos simulacionais descrevem a evolução de um sistema com a passagem do tempo, como por exemplo na dinâmica molecular (YADAVA, 2018)

As funções de pontuação, ou de *scoring*, são usadas para selecionar as poses dentro dos grupos de poses gerados pelo sistema de amostragem. Dentre os seus tipos, estão as funções baseadas em campos de força, as funções empíricas e as funções baseadas no conhecimento (HUANG; GRINTER; ZOU, 2010).

Funções de pontuação baseadas em campos de força são baseadas em mecânica molecular, aproximando a energia potencial de um sistema em uma soma de forças intra e intermoleculares e outras contribuições, como termos de solvatação (LIU; WANG, 2015). Funções empíricas são baseadas no somatório de termos de energia empírica, como em interações de Van der Waals, eletrostáticas, ligações de hidrogênio, modelos de dessolvatação, entropia, interações hidrofóbicas, dentre outras (HUANG; GRINTER; ZOU, 2010). Estes termos são ponderados por coeficientes, que são otimizados para reproduzirem dados de afinidade de ligação de um conjunto de treinamento, por ajuste de mínimos quadrados (HUANG; GRINTER; ZOU, 2010). Já as funções baseadas no conhecimento assumem que os contatos entre ligante e proteína estatisticamente mais explorados estão relacionados com interações favoráveis. Então, por meio de um banco de dados de estruturas, as frequências dos contatos de todos os pares de átomos do complexo ligante-proteína são calculadas e convertidas em componentes de energia (GOHLKE; HENDLICH; KLEBE, 2000). O *Autodock Vina* combina uma função de pontuação empírica e baseada em conhecimento (TROTT; OLSON, 2009).

2.3.1.1 Parametrização de funções de pontuação

A forma funcional geral da parte dependente da conformação de uma função de pontuação é dada pela equação 1:

$$c = \sum_{i < j} f_{\tau_i \tau_j}(r_{ij}), \quad (1)$$

Onde a soma é sobre todos os pares de átomos que podem se mover em relação uns aos outros, normalmente excluindo 1-4 interações, ou seja, átomos separados por três ligações covalentes consecutivas. Aqui, cada átomo i é atribuído a um tipo t_i , e um conjunto simétrico de funções de interação f_{ij} da distância interatômica r_{ij} deve ser definido. Este valor pode ser visto como uma soma das contribuições intermoleculares e intramoleculares, conforme demonstra a equação 2 (TROTT; OLSON, 2009):

$$c = c_{inter} + c_{intra}. \quad (2)$$

O algoritmo de otimização tenta encontrar o mínimo global de c e outras conformações de baixa pontuação, que então classifica. A energia livre de ligação prevista é calculada a partir da parte intermolecular da conformação de pontuação mais baixa, designada como 1, conforme na equação 3 (TROTT; OLSON, 2009):

$$s_1 = g(c_1 - c_{intra 1}) = g(c_{inter 1}), \quad (3)$$

Onde a função g pode ser uma função arbitrária, estritamente de crescimento suave, e possivelmente não linear. Na saída, outras conformações de pontuações baixas também recebem valores s formalmente, mas, para preservar a classificação, usando c_{intra} do melhor modo de ligação, obtém-se a forma da equação 4: (TROTT; OLSON, 2009)

$$s_i = g(c_i - c_{intra 1}). \quad (4)$$

Segundo os desenvolvedores do *Autodock Vina*, muito do programa não depende de nenhuma forma funcional particular de interações f_{ij} ou g . Essencialmente, essas funções são tratadas como parâmetros para o resto do código. Os átomos de hidrogênio neste software não são considerados explicitamente, exceto para tipagem de átomos, e são omitidos da equação (1). As funções de interação f_{ij} são definidas em relação à distância da superfície $d_{ij} = r_{ij} - R_{ii} - R_{jj}$, explicitadas na equação 5 (TROTT; OLSON, 2009),

$$f_{t_i t_j}(r_{ij}) = h_{t_i t_j}(d_{ij}), \quad (5)$$

Onde R_t é o raio de van der Waals do tipo de átomo t . A função de pontuação, $h_{t_i t_j}$ é uma soma ponderada de interações estéricas (os três primeiros termos na Tabela 1), idêntica para todos os pares de átomos, interações hidrofóbicas, e, quando aplicável, ligações de hidrogênio (TROTT; OLSON, 2009). Os pesos usados no *Autodock Vina* mostrados na Tabela 1. Os termos estéricos do *Vina* são apresentados nas equações 6, 7 e 8:

$$gauss_1(d) = e^{-\left(\frac{d}{0,5\text{\AA}}\right)^2} \quad (6)$$

$$gauss_2(d) = e^{-\left(\frac{d-3\text{\AA}}{2\text{\AA}}\right)^2} \quad (7)$$

$$repulsion(d) = \begin{cases} d^2, & \text{if } d < 0 \\ 0, & \text{if } d \geq 0 \end{cases} \quad (8)$$

Tabela 1 – Termos e pesos da função de pontuação do *Autodock Vina*.

Termo	Peso
gauss ₁	-0,0356
gauss ₂	-0,005167
Repulsão	0,840
Hidrofóbico	-0,0351
Ligação de hidrogênio	-0,587
N _{rot}	-0,0585

Fonte: (TROTT; OLSON, 2009).

O termo hidrofóbico é igual a 1, quando $d < 0,5\text{\AA}$; 0, quando $d > 1,5\text{\AA}$, e é linearmente interpolado entre esses valores. O termo da ligação de hidrogênio é igual a 1, quando $d < -0,7\text{\AA}$; 0, quando $d > 0$, e também é interpolado linearmente entre os dois. Nesta

implementação, todas as funções de interação f_{ij} são cortadas em $r_{ij} = 8\text{Å}$ (TROTT; OLSON, 2009).

A função independente de conformação g é apresentada na equação 9:

$$g(c_{inter}) = \frac{c_{inter}}{1 + wN_{rot}}. \quad (9)$$

Onde N_{rot} é o número de ligações rotativas ativas entre átomos no ligante e w é o peso associado (TROTT; OLSON, 2009).

O *AutoDock Vina* utiliza o algoritmo de *Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno* (BFGS), muito parecido com método de Newton. Tal método, usa não só o valor da função de pontuação, mas também sua variante, ou seja, as derivadas da função de pontuação em relação aos argumentos. Os argumentos são a posição e a orientação do ligante e os valores das torções para as ligações (TROTT; OLSON, 2009). As derivadas com respeito a posição, orientação e torções seriam a força total negativa agindo sobre o ligante, o torque total negativo e as projeções de torque negativo, respectivamente, onde as projeções se referem ao torque aplicado ao ramo "movido" pela torção, projetado em seu eixo de rotação. O cálculo dos gradientes provocaria um aumento no tempo de cálculo, mas o seu uso pode acelerar a otimização significativamente. O número de etapas em uma corrida é determinado de acordo com a aparente complexidade do problema, e várias corridas são realizadas partindo de conformações aleatórias do complexo (TROTT; OLSON, 2009).

2.3.1.2 *NNScore 2.0*

O *NNScore 2.0* usa uma função de pontuação baseada em redes neurais. As características de ligação codificadas nas camadas de entrada das redes são derivadas das apresentadas pelo *Autodock Vina*. À partir de entradas derivadas de saídas do *Autodock Vina*, sua função de repontuação chamada HYDE adiciona contribuições empíricas para o cálculo da energia de ligação, termos derivados de ligações de hidrogênio, de efeitos hidrofóbicos, e os efeitos negativos de desidratação hidrofílica, melhorando a estimativa da energia livre de ligação (HIDAYAT et al., 2015). Em segundo lugar, ele usa um algoritmo chamado BINANA, que fornece 12 características de ligação distintas, variando do número de ligações de hidrogênio à métricas aproximadas de flexibilidade do sítio ativo. A camada de saída do

NNScore 2.0 consiste em um único neurodo correspondente ao pKd previsto. Todos os neurodos ocultos são conectados a todos os neurodos de saída. Cada neurodo teve uma função de ativação log-sigmóide, dada pela equação 10 (DURRANT; MCCAMMON, 2011):

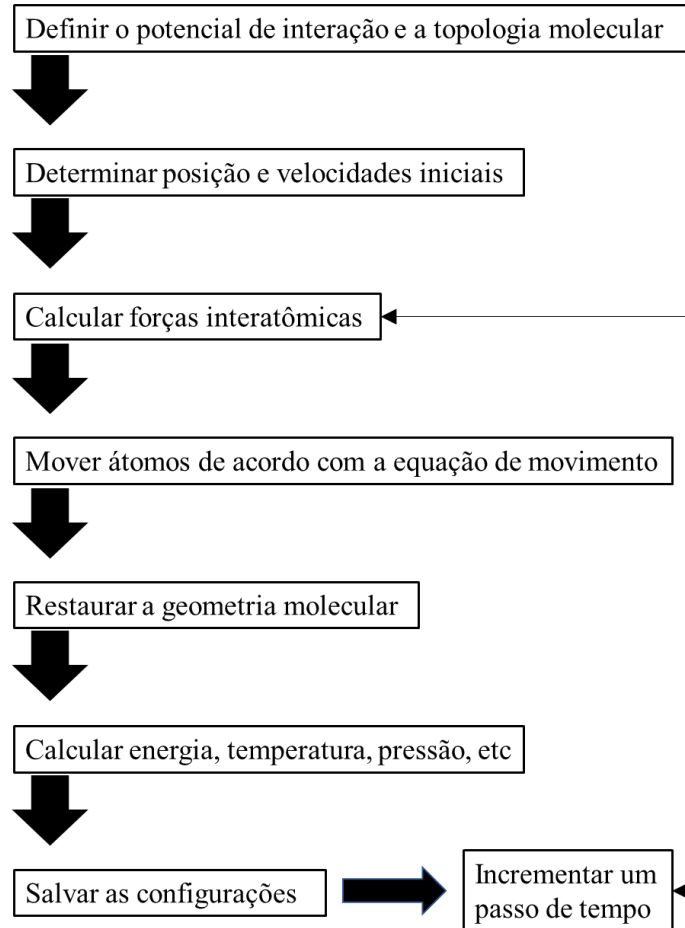
$$\sigma(t) = \frac{1}{1 + e^{-t}} \quad (10)$$

Onde t é a soma de entrada do respectivo nó. Todos os valores de entrada e saída foram normalizados usando um mapeamento linear para o intervalo (0,15, 0,85), para que cada variável recebesse igual importância independente de sua magnitude. Após o treinamento de 1000 redes neurais, as 20 melhores foram usadas para comporem o *script* de acesso livre desta ferramenta (DURRANT; MCCAMMON, 2011).

2.3.2 Dinâmica molecular

Simulações de Dinâmica Molecular (DM) são amplamente utilizadas para estudar a dinâmica e estrutura de macromoléculas, tais como proteínas, ácidos nucleicos e bicamadas lipídicas (KLEPEIS et al., 2009). Estudos de DM podem ser realizados após o processo de docagem molecular, para que, partindo da melhor pose, seja possível compreender as interações ligante-proteína no decorrer do tempo, as forças envolvidas nessas interações, e o papel do solvente na dinâmica do sistema (ALONSO; BLIZNYUK; GREASY, 2006). A Figura 3 mostra o princípio de funcionamento de algoritmos de dinâmica molecular.

Figura 3 – Representação de um procedimento de simulação de dinâmica molecular.



Fonte: Reelaborado de (GRIGERA, 2002)

2.3.2.1 Equações de movimento

Segundo a mecânica clássica, os átomos se movimentam de acordo com a equação de movimento de Newton, assim como na equação 11:

$$F_i = m_i a_i \quad (11)$$

Expressando a força como um gradiente de energia potencial, na equação 12:

$$F_i = -\nabla_i V \quad (12)$$

Combinando as duas expressões na equação 13:

$$F_i = -\frac{dV}{dr_i} = \frac{m_i d^2 r_i}{dt^2} \quad (13)$$

Onde i é um átomo qualquer. Simulações de DM requerem o cálculo do gradiente de energia pontencial $V(r)$, tratando-se, portanto, de uma função diferenciável das coordenadas atômicas r_i (GOEL; LUO; REUBEN, 2012). As grandezas termodinâmicas em equilíbrio podem ser obtidas pela média ao longo da trajetória, a qual se deve ser longa o suficiente de modo a formar um conjunto (ou *ensemble*) representativo do estado do sistema (VAN GUNSTEREN; BERENDSEN, 1990). Em geral, uma simulação de DM inclui três etapas: minimização, equilíbração e cálculo da trajetória no equilíbrio para geração de dados (ROE; BROOKS, 2020). Após as etapas de minimização e equilíbração, que são necessárias para garantir a estabilidade do sistema, ocorre o período da coleta de dados, na qual a trajetória gerada na simulação é gravada para posterior análise (ROE; BROOKS, 2020).

Para a resolução analítica da equação 13, usam-se algoritmos que aproximam posições, velocidades e acelerações das partículas a partir de uma expansão de Taylor. Iniciando o sistema com um valor de posição, velocidade e aceleração para um determinado tempo, uma nova configuração no tempo $t+\Delta t$ pode ser encontrada pela expansão expressa nas equações 14, 15 e 16 (GAO, 2017):

$$\vec{r}(t + \Delta t) = \vec{r}(t) + \frac{\partial \vec{r}}{\partial t}(t)\Delta t + \frac{1}{2} \frac{\partial^2 \vec{r}}{\partial t^2}(t) \Delta t^2 + \dots \quad (14)$$

$$\vec{v}(t + \Delta t) = \frac{\partial \vec{r}}{\partial t}(t + \Delta t) = \vec{v}(t) + \frac{\partial \vec{v}}{\partial t} \Delta t + \frac{1}{2} \frac{\partial^2 \vec{v}}{\partial t^2} \Delta t^2 + \dots \quad (15)$$

$$\vec{a}(t + \Delta t) = \frac{\partial \vec{v}}{\partial t}(t + \Delta t) = \frac{\partial \vec{v}}{\partial t}(t) + \frac{\partial^2 \vec{v}}{\partial t^2}(t)\Delta t + \dots \quad (16)$$

Verlet desenvolveu um algoritmo de integração para ser utilizado em cálculos de DM para determinar as equações de movimento. Posteriormente, outros algoritmos de integração surgiram, dentre eles o de Beeman, Leap-Frog e Velocity-Verlet (GAO, 2017). O algoritmo de Velocity-Verlet, uma versão mais sofisticada do seu predecessor, utiliza as posições, velocidades e acelerações no mesmo passo de simulação, e os erros de aproximações numéricas são minimizados (GAI; GUO, 2014). O programa NAMD, ou *Nanoscale Molecular Dynamics programs* utiliza este algoritmo em suas simulações. Ao multiplicar-se a equação 16 por $\Delta t/2$ e isolando o último termo, obtém-se a equação 17:

$$\frac{\partial^2 \vec{v}}{\partial t^2}(t) \frac{\Delta t^2}{2} = \frac{\partial \vec{v}}{\partial t}(t + \Delta t) \frac{\Delta t}{2} - \frac{\partial \vec{v}}{\partial t}(t) \frac{\Delta t}{2} + \dots \quad (17)$$

Substituindo este termo, que aparece na segunda derivada da velocidade na equação 15, obtém-se a equação 18:

$$\vec{v}(t + \Delta t) = \vec{v}(t) + \frac{\partial \vec{v}}{\partial t}(t) \Delta t + \frac{\partial \vec{v}}{\partial t}(t + \Delta t) \frac{\Delta t}{2} - \frac{\partial \vec{v}}{\partial t}(t) \frac{\Delta t}{2} + \dots \quad (18)$$

Que pode ser reorganizada na equação 19:

$$\vec{v}(t + \Delta t) = \vec{v}(t) + \frac{\Delta t}{2} \left(\frac{\partial \vec{v}}{\partial t}(t) + \frac{\partial \vec{v}}{\partial t}(t + \Delta t) \right) + \dots \quad (19)$$

Ao substituir-se a derivada da velocidade como a aceleração, obtém-se a expressão da velocidade no algoritmo de Velocity-Verlet, como na equação 20:

$$\vec{v}(t + \Delta t) = \vec{v}(t) + \frac{\Delta t}{2} (\vec{a}(t) + \vec{a}(t + \Delta t)) + \dots \quad (20)$$

Desta forma, as equações de movimento para esse algoritmo são expressas nas equações 21 e 22:

$$\vec{r}(t + \Delta t) = \vec{r}(t) + \Delta t \vec{v}(t) + \frac{1}{2} \Delta t^2 \mathbf{a}(t) \quad (21)$$

$$\vec{v}(t + \Delta t) = \vec{v}(t) + \frac{1}{2} \Delta t [\vec{a}(t) + \vec{a}(t + \Delta t)] \quad (22)$$

O algoritmo começa com o cálculo da posição, equação 21, no tempo $t + \Delta t$ utilizando a posição, a velocidade, e a aceleração no tempo t , determina a força e a aceleração no tempo $t + \Delta t$, para então calcular a nova velocidade, pela equação 22 (GAI; GUO, 2014). A repetição deste processo fornece a trajetória de todas as partículas do sistema ao longo do tempo, que serão registradas e posteriormente analisadas. Em uma simulação de DM a maior parte do gasto é no cálculo das energias de interação de cada sítio (MICHEL; ESSEX, 2010). Estas energias dependem do campo de força escolhido para a simulação (PONDER; CASE, 2003).

2.3.2.2 Campo de força

Define-se como campo de força o conjunto de funções capaz de descrever o comportamento de um dado sistema molecular (PONDER; CASE, 2003). Ele pode ser escrito como a energia potencial total do sistema, $V(r)$, calculada a partir de sua estrutura tridimensional. Esta energia potencial total é descrita como a soma de vários termos de energia, incluindo os termos para átomos ligados (comprimentos e ângulos de ligação, ângulos diedros) e os termos para átomos não ligados (interações de Coulomb e de Van der Waals e de Coulomb), assim como na equação 23 (PONDER; CASE, 2003):

$$V(r) = \sum V_r + \sum V_\theta + \sum V_\varphi + \sum V_{vdW} + \sum V_{ele} \quad (23)$$

Onde V_r é a energia de estiramento da ligação em relação a seu valor de equilíbrio, V_θ é a energia de deformação do ângulo de ligação em relação a seu valor de equilíbrio, V_φ é a energia devido à torção em torno de uma ligação, V_{vdW} representa a energia das interações de Van der Waals e V_{ele} representa as energias de atração ou repulsão eletrostática entre duas cargas. Os termos V_r e V_θ podem ser encontrados pela Lei de Hooke, expressas nas equações 24 e 25:

$$V_r = k_r (r - r_0)^2 \quad (24)$$

$$V_\theta = k_\theta (\theta - \theta_0)^2 \quad (25)$$

Onde r e θ e são os comprimentos e ângulos de ligação, respectivamente. O índice o correspondente ao valor no equilíbrio, e k_r e k_θ são as constantes de proporcionalidade de força (NORRBY, 2001). O potencial de energia de torção, ou V_φ é definido como na equação 26:

$$V_\varphi = \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\Phi - \gamma)) \quad (26)$$

A periodicidade n é o número de mínimos para o potencial, variando de acordo com os orbitais de ligação envolvidos. Φ é o ângulo diedro e γ é o ângulo de fase. As equações que representam as interações entre pares de átomos quaisquer (i,j) não ligados covalentemente são descritas por potenciais compostos pelos termos de Van der Waals (V_{vdW}) e eletrostático (V_{ele}), representados pelos potenciais de Lennard-Jones e de Coulomb, nas equações 27 e 28, respectivamente (NORRBY, 2001):

$$V_{vdW} = 4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (27)$$

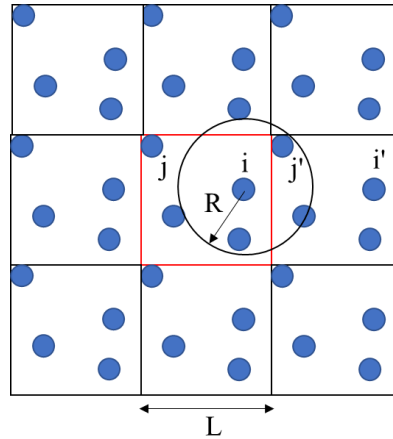
$$V_{ele} = \frac{q_i q_j}{4\varepsilon_0 \varepsilon_r r_{ij}} \quad (28)$$

Onde, ε_{ij} é a profundidade do potencial entre a barreira atrativa e a repulsiva, e σ_{ij} é a distância finita na qual o potencial interparticular é zero. Estes parâmetros podem ser ajustados de maneira teórica ou empírica. Já q_i e q_j correspondem ao valor das cargas envolvidas. ε_0 e ε_r são as constantes de permissividade e a constante dielétrica do sistema, respectivamente. Outros parâmetros também podem ser incluídos para comporem o campo de força do sistema, de modo que possam se adequarem com os espectros vibracionais obtidos experimentalmente (NORRBY, 2001). Em simulações de DM, a forma como ocorrem as interações induzidas pelo campo de força dependem de outros parâmetros, que são as condições periódicas de contorno, o raio de corte, a soma de partículas de Ewald (*PME*) e dos controles de temperatura e pressão (NORRBY, 2001).

2.3.2.3 Condições periódicas de contorno

As condições periódicas de contorno são usadas como um mecanismo de aproximação de um sistema macroscópico usando uma quantidade muito menor de partículas, mas ainda assim representativa do sistema (YEH; HUMMER, 2004). Isso é algo de fundamental importância, visto que quanto maior for a quantidade de partículas do sistema, serão exigidos maiores capacidades de processamento e tempos de simulação (VISCARDY; GASPARD, 2003). Estas condições de fronteira permitem que os átomos do sistema sejam colocados em uma caixa central e rodeadas por outras caixas, réplicas da original (POIER et al., 2019). Os movimentos moleculares realizados na caixa central serão replicados nas demais caixas, e se uma molécula sai da caixa inicial, sua imagem entrará pela face oposta da mesma, com a mesma velocidade, de modo a conservar o número de moléculas da caixa central, conforme exemplificado na Figura 4 (VISCARDY; GASPARD, 2003). Para a implementação das condições periódicas de contorno, são consideradas todos os tipos de interações descritas pelo campo de força (POIER et al., 2019)

Figura 4 – Representação da célula de simulação de comprimento L qualquer. O raio de corte (círculo) é traçado a partir de um átomo de interesse i dentro da célula central, e sua interação com o átomo j , imagem do átomo j dentro do raio.



Fonte: Adaptado de WAIDYASOORIYA; HARIYAMA; KASAHARA, 2017.

2.3.2.4 Raio de corte

O raio de corte é usado para considerar apenas a contribuição das interações moleculares de curto alcance, como medida para redução do esforço computacional nos cálculos envolvidos em simulações de dinâmica molecular (SAGUI; PEDERSEN; DARDEN, 2004). Para este limite na distância de busca dessas interações, é normalmente utilizado o truncamento do potencial em um raio de corte esférico, geralmente da ordem de $L/2$, sendo que L é o comprimento da célula de simulação. Ou seja, para a partícula qualquer i , somente serão contabilizadas as interações com outras partículas que possuam seu centro de massa a uma distância menor ou igual que o raio de corte do sistema, ignorando-se as interações além desta distância. Isto também pode ser observado na Figura 2 (TIRONI et al., 1995).

2.3.2.5 Soma de Partículas de Ewald

Levando em consideração que os potenciais de Coulomb são potenciais de longo alcance, e ignorar suas contribuições levariam a sistemas simulados não condizentes com a realidade. Introduzir apenas o raio de corte, também implicaria em assumir que a energia potencial é drasticamente reduzida a zero, após esta distância (PAVÓN VALDERRAMA; ARRIOLA, 2006). O método da soma de partículas de Ewald é utilizada para lidar com essas

interações de longo alcance e suavizar a queda de energia potencial eletrostática. Desta forma, este método considera que íons no vácuo, com diferentes cargas e em diferentes posições no sistema possuem uma energia total potencial de Coulomb igual a definida pela equação 29: (ESSMANN et al., 1995)

$$E = E^S + E^L - E^{auto} \quad (29)$$

Onde E^S é a contribuição da energia no espaço real, E^L é a contribuição da energia no espaço recíproco e E^{auto} é o termo da energia de auto interação. O desenvolvimento desses termos não será tratado, mas a sua forma final é dada pela equação 30: (ESSMANN et al., 1995)

$$E = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{1}{2} \sum_n^* \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{q_i q_j}{|r_i r_j + nL|} \operatorname{erfc} \left(\frac{|r_i - r_j + nL|}{\sqrt{2\sigma}} \right) + \frac{1}{2V\epsilon_0} \sum_{k \neq 0} \frac{e^{-\sigma^2 k^2 / 2}}{k^2} |S(k)|^2 \quad (30)$$

$$- \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma}} \sum_{i=1}^N q_i^2$$

2.3.3.6 Controle de temperatura e pressão

O *ensemble* NpT, bastante utilizado em DM, permite simulações usando a pressão, temperatura e número de partículas constantes (KALIBAEVA; FERRARIO; CICCOTTI, 2003). A fonte de energia térmica considerada é um banho que mantém a temperatura fixa. Da mesma forma, uma pressão é fixada usando um barostato. No NAMD, simulações isotérmico-isobáricas são tratadas com uma implementação do algoritmo de pistão de Langevin, que combina as equações de movimento de pressão constante de Hoover com flutuações de pistão controladas pela dinâmica de Langevin, e um termostato de mesmo nome (LINDAHL, 2015; PHILLIPS et al., 2020).

Já em um *ensemble* NVT, a energia total não é conservada (HUANG et al., 2010). Em simulações de dinâmica molecular, esse *ensemble* pode ser utilizado na etapa de minimização, ou posteriormente, na etapa de produção, com o objetivo de reequilibrar termodinamicamente

um sistema (TUCKERMAN; MARTYNA, 2000).

2.3.2.7. Análise da trajetória gerada

2.3.2.7.1. Raiz do desvio quadrático médio (RMSD)

O RMSD (*root mean square deviation*) calcula a raiz do desvio padrão médio quadrático para os átomos da proteína, para observar o quanto ela se distanciou de sua posição inicial. Ele pode ser obtido analisando a posição de um átomo em diferentes tempos, segundo a equação 30 (SARGSYAN; GRAUFFEL; LIM, 2017):

$$RMSD = (t_1, t_2) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \|\vec{r}_i(t_1) - \vec{r}_i(t_2)\|^2} \quad (30)$$

Onde N é o número de átomos para os quais quer se calcular o RMSD.

2.3.2.7.2. Ligações de hidrogênio

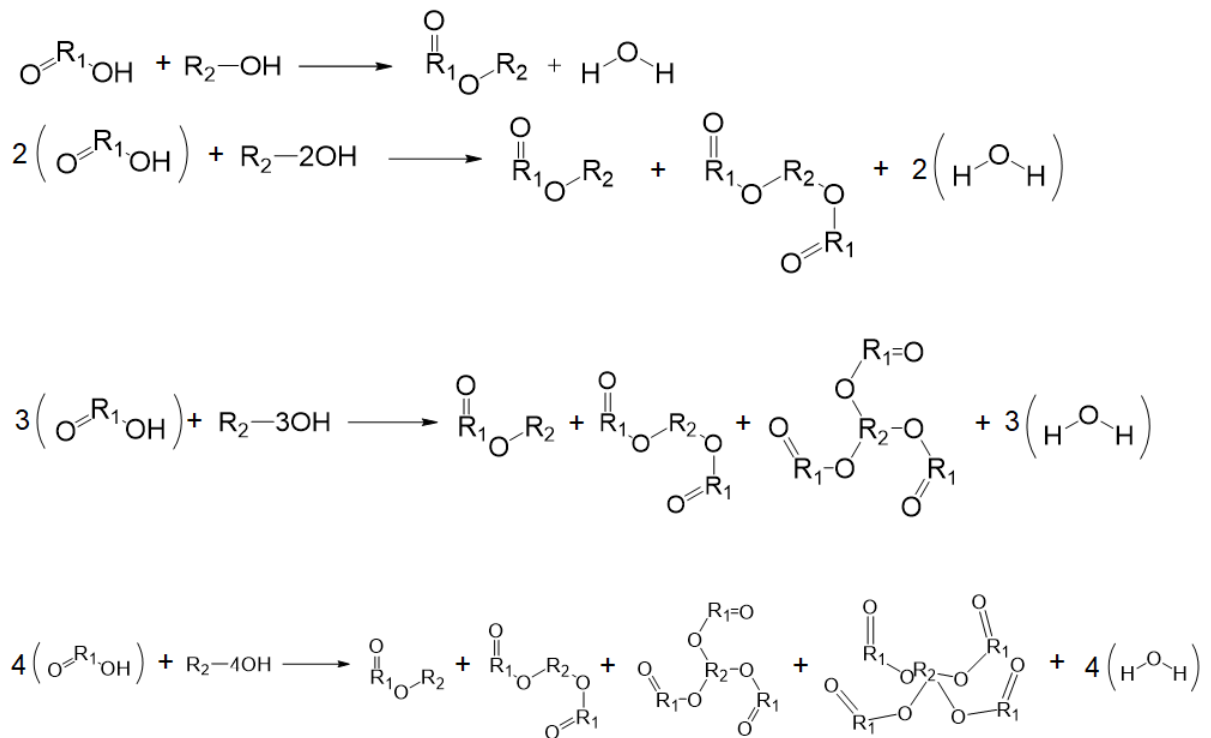
Uma ligação de hidrogênio é um tipo de força intermolecular atrativa que ocorre entre duas cargas elétricas parciais de polaridade opostas. Os critérios para ligação de hidrogênio utilizados neste estudo são: 3,5 Å para a distância para o raio de corte entre os átomos doador e aceptor, e 30° para o ângulo entre centros de referência escolhidos no doador e no aceptor (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996).

3 METODOLOGIA

3.1 Modelo de reação para produção dos biolubrificantes

O modelo de reação sequencial biocatalisada adotado para os estudos de docagem e dinâmica molecular está apresentado na Figura 5:

Figura 5 – Esquema reacional para a produção de biolubrificantes



Fonte: elaborado pelo autor.

Em que R_1 é a cadeia carbônica do ácido oleico, único receptor de alquila estudado neste trabalho, e R_2 é a cadeia carbônica do álcool usado. A geometria dos compostos é apenas figurativa, pois irá variar de acordo com R_2 . Em uma situação ideal, a concentração dos ésteres intermediários com menos grupos carbonila do que hidroxilas de seus álcoois de origem, deve ser nula. Todavia, a literatura mostra que isto não ocorre em sínteses reais (AGUIEIRAS et al., 2020; ÁKERMÁN et al., 2011a; CAVALCANTI et al., 2018; FERNANDES et al., 2018, 2021; GRECO-DUARTE et al., 2017; HAPPE et al., 2012; WAFTI et al., 2021; ZHU et al., 2020). Desta forma, é interessante avaliar comparativamente a estabilidade desses compostos, para atestar se a formação do éster mais complexo é a situação teoricamente mais favorável.

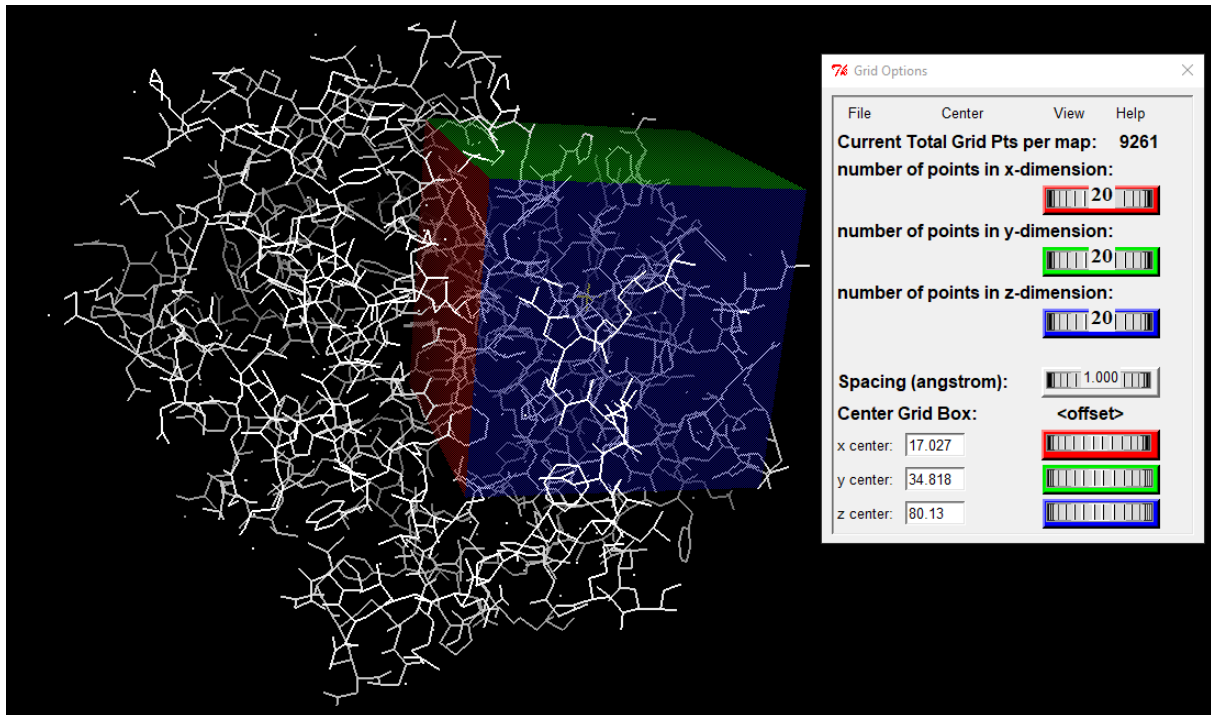
3.2 Preparo do receptor e dos ligantes

3.2.1 Preparo do receptor

A enzima Eversa[®] Transform 2.0 foi a escolhida para a realização do estudo. Esta formulação enzimática produzida com o intuito de ser um biocatalisador mais barato e diretamente usado em sua forma líquida, já possui um resultado interessante na literatura para a síntese de biolubrificantes, onde o seu uso como agregado enzimático reticulado obteve 90% de rendimento da síntese de ésteres graxos isoamílicos (GUIMARÃES et al., 2021). Esta lipase é produzida do microrganismo *Aspergillus oryzae*, cuja estrutura cristalina é encontrada na base de dados *Protein Data Bank* (PDB) registrada sob o código 5XK2. A mesma foi tratada no programa *AutoDockTools* 4.2.6 para remoção das moléculas de água e outros ligantes, correção de resíduos ausentes, e separação de um monômero para uso. A preparação do arquivo PDBQT necessário para a docagem ainda necessitou da adição de hidrogênios polares, da adição das cargas parciais Gasteiger (GASTEIGER e MARSILI, 1978; GASTEIGER e MARSILI, 1980) e da fusão de hidrogênios apolares, com todas as coordenadas necessárias para a execução da docagem.

Em seguida, foi definido o espaço tridimensional de procura, dentro do qual o ligante, a partir de interações de cargas, se conforma à estrutura da proteína (Figura 6). Este espaço foi definido para englobar todo o sítio ativo da lipase, de forma que o ligante tivesse espaço suficiente para se conformar nesta zona, que é a responsável pelas interações catalíticas da enzima. Os resíduos que compõem sítio ativo da lipase de estudo foram obtidos na literatura, sendo formado pela tríade Ser 153-Asp 206-His 268 (LAN et al., 2021). As coordenadas obtidas dentro do *AutodockTools* foram salvas nos arquivos de configurações para uso posterior na docagem feita pelo software *AutoDock Vina* (Tabela 2).

Figura 6 – Demonstração do espaço tridimensional delimitado para a macromolécula, ou *gridbox*. Os parâmetros do mesmo são visualizados na caixa de diálogo do programa *AutoDockTools*.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 2 – Exemplo de parâmetros utilizados para docagem no *AutoDock Vina*.

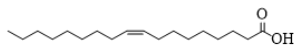
Parâmetro	Exemplo (Ligante I)
receptor	<i>protein.pdbt</i>
ligand	<i>oleic.pdbqt</i>
<i>center_x</i>	17.027
<i>center_y</i>	34.818
<i>center_z</i>	80.130
<i>size_x</i>	20
<i>size_y</i>	20
<i>size_z</i>	20
energy_range	4
exhaustiveness	8

Fonte: elaborado pelo autor.

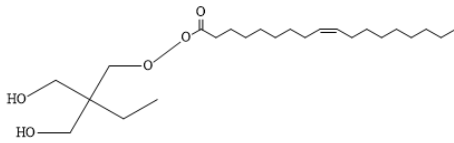
3.2.2 Preparo dos ligantes

(CAVALCANTI et al., 2018) Os ligantes, constituídos pelo ácido oleico na primeira etapa de reação, e pelos ésteres resultantes da combinação deste ácido com os álcoois usados foram primeiramente desenhados usando o software *ChemDraw*[®] 17.0, conforme apresentado na Figura 7. Os álcoois usados estão entre os mais mencionados na literatura para a transformação química de fontes oleaginosas em ésteres lubrificantes, além de também já serem citados na produção biocatalisada dessas substâncias (BASSI et al., 2016; BOLINA; GOMES; MENDES, 2021; GUIMARÃES et al., 2021; HAPPE et al., 2014; VILAS BÔAS et al., 2021).

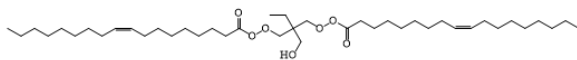
Figura 7 – Ligantes usados nas simulações de docagem e dinâmica molecular.



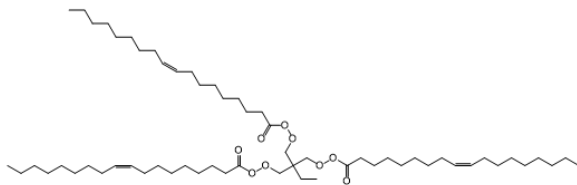
(I) Ácido oleico



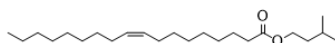
(II) 2,2-bis (hidroximetil) butil (Z) -octadec-9-eneperoxoato.
Ou monoéster produto da reação entre ácido oleico e trimetilolpropano.



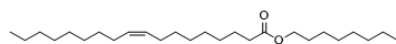
(III) 2-etil-2- (hidroximetil) propano-1,3-diil (9Z, 9'Z) -bis (octadec-9-eneperoxoato).
Ou diéster produto da reação entre ácido oleico e trimetilolpropano.



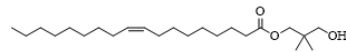
(IV) 2-etil-2-((oleoilperoxi)metil)propano-1,3-diil(9Z, 9'Z)-bis(octadec-9-eneperoxoato).
Ou triéster produto da reação entre ácido oleico e trimetilolpropano.



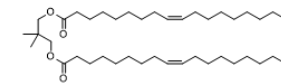
(V) Oleato de Isopentila.
Ou éster produto da reação entre ácido oleico e álcool isoamílico



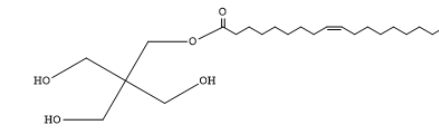
(VI) Oleato de octila
Ou éster produto da reação entre ácido oleico e octanol.



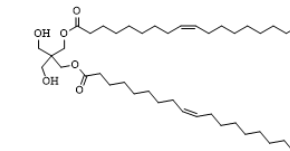
(VII) 3-hidroxi-2,2-dimetilpropil oleato .
Ou monoéster produto da reação entre ácido oleico e neopentil glicol.



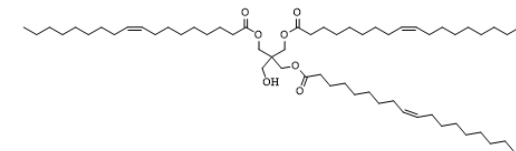
(VIII) 2,2-dimetilpropano-1,3-diil dioleato.
Ou diéster produto da reação entre ácido oleico e neopentil glicol.



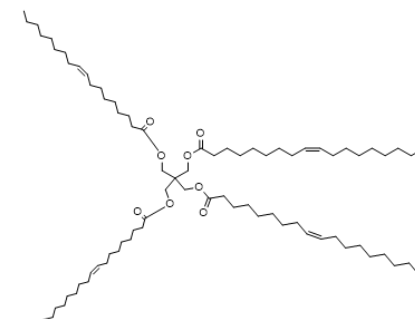
(IX) 3-hidroxi-2,2-bis(hidroximetil)propil oleato.
Ou monoéster produto da reação entre ácido oleico e pentaeritritol.



(X) 2,2-bis (hidroximetil) propano-1,3-diil dioleato.
Ou diéster produto da reação entre ácido oleico e pentaeritritol.



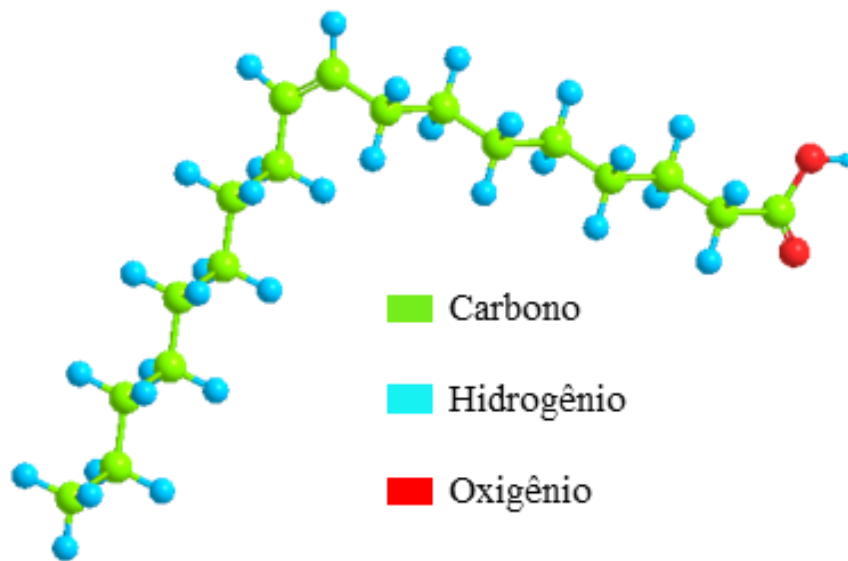
(XI) 2-(hidroximetil) -2-((oleoiloxi)metil)propano-1,3-diil dioleato .
Ou diéster produto da reação entre ácido oleico e pentaeritritol.



(XII) 2,2-bis((oleoiloxi)metil)propano-1,3-diil dioleato.
Ou tetraéster produto da reação entre ácido oleico e pentaeritritol.

Essas estruturas foram transferidas para o programa *Chem3D*[®] 17.0, onde tiveram suas geometrias otimizadas pela ferramenta de minimização de energia, usando o campo de força MM2 com um gradiente RMS de 0,001, conforme exemplifica a Figura 8. Este campo de força possui amplo uso para hidrocarbonetos e outras moléculas pequenas (ALLINGER, 1977; LEWIS-ATWELL; TOWNSEND; GRAYSON, 2021; SON; RYBOLT, 2013).

Figura 8 – Exemplo de ligante (ácido oleico) com geometria otimizada usando o campo de força MM2 no software *Chem3D*[®] 17.0.



Fonte: elaborado pelo autor.

3.3 Execução das docagens e análise dos resultados

Após a preparação dos ligantes, da proteína e dos arquivos de configurações, as docagens foram realizadas no software *Autodock Vina*, cuja metodologia de obtenção das melhores conformações em função da energia de afinidade se encontra discutida no trabalho de Trott e Olson (TROTT; OLSON, 2009). Foram obtidas as nove melhores conformações energéticas, que foram analisadas de duas formas para determinar a melhor pose. A primeira consistiu do uso da função de pontuação baseada em rede neural *NNScore 2.0*, que conforme observado no trabalho de Durant e Mccammon é geralmente mais capacitado de prever a afinidade entre proteína e substrato, além de estimar a constante de desativação enzimática pK_d (DURRANT; MCCAMMON, 2011). Já a segunda, consistiu na observação das

interações entre os ligantes e os resíduos que constituem o sítio ativo da enzima, usando o programa *Discovery Studio*[®].

3.4 Simulações de dinâmica molecular

Para a construção das soluções de estudo, além dos próprios *scripts* de dinâmica molecular, foi usando o *site CHARMM-GUI* (BROOKS et al., 2009; JO et al., 2008; LEE et al., 2016). Através da ferramenta *solution builder* e o PDB do complexo formado pela enzima e o ligante em sua melhor pose de docagem, foi adicionada uma caixa de água retangular ajustada à uma distância de borda de 10 Å da proteína. Foi criado então um sistema cúbico de aresta igual a 75 Å e ângulos cristalinos de 90° (Alfa, Beta e Gama). As condições periódicas de fronteira PME e FFT foram geradas automaticamente. O campo de força adotado foi o Charmm36m. Após isso, foram gerados os arquivos de input usando um script de linguagem tipo tcl, para execução no software Visual Molecular Dynamics (VMD). Em todas as simulações de Dinâmica Molecular, foram utilizadas as seguintes condições fixas: temperatura de 303.15 K, pressão de 1atm e pH 7,0 e o modelo de água TIP3P (PHILLIPS et al., 2020). Para cada simulação, foi realizada uma minimização de energia com 10 mil passos em ensemble NVT. Em seguida, foram realizadas simulações de equilíbrio com 30 ns em ensemble NpT, e por fim uma simulação de produção iniciando em 10 ns, sendo estendida até se observar uma situação de equilíbrio do complexo no gráfico de RMSD, mas nunca ultrapassando o tempo de 30 ns. Todas as simulações tiveram um passo de integração de 1 fs (PHILLIPS et al., 2020).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise dos resultados de docagem molecular

A partir da docagem molecular foram obtidas nove conformações para cada ligante e os valores das suas energias de ligação da interação lipase-substrato. A melhor conformação definida pelo *Autodock Vina* foi q que apresentou valor de energia de interação mais negativo. A Tabela 3 mostra os valores das constantes de inibição (Kd) e as energias de ligação através das simulações de docagem molecular realizado no programa *AutoDock Vina* e usando o *NNScore 2.0* para a enzima e os 12 substratos da síntese de biolubrificantes.

Tabela 3 – Dados das poses obtidas nos processos de docagem.

Substrato	Pose escolhida	Vina ΔG (kCal/mol)	Vina RMSD (Å)	Vina pKi	Binding score neural	Predicted Kd
Ligante (I)	8	-5	2,828	3,667	6,841	144,29 nM
Ligante (II)	3	-5	5,005	3,667	7,348	44,88 nM
Ligante (III)	3	-3,91	2,859	2,868	8,888	1,29 nM
Ligante (IV)	1	-3,91	0	2,868	8,488	3,25 nM
Ligante (V)	5	-4,52	1,635	3,315	13,876	13,31 fM
Ligante (VI)	1	-4,33	0	3,155	7,953	11,14 nM
Ligante (VII)	8	-4,47	1,282	3,278	7,635	23,18 nM
Ligante (VIII)	4	-3,9	2,197	2,860	8,993	1,02 nM
Ligante (IX)	2	-4,91	1,240	3,601	6,976	105,77 nM
Ligante (X)	2	-4,03	2,483	2,955	7,806	15,64 nM
Ligante (XI)	6	-5,1	6,001	3,740	10,304	49,49 pM
Ligante (XII)	2	-5,27	5,363	3,865	10,391	40,63 pM

Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com a tabela, a energia de afinidade calculada pelo *Autodock Vina* e o *NNscore 2.0* não tiveram correlação direta em quantidade, por exemplo, o caso do ligante **XII**, que teve menor energia de afinidade pelo *Vina*, mas não teve o menor *Binding score* calculado pelo *NNscore*. Segundo o trabalho de Hidayat (HIDAYAT et al., 2015), a previsão da afinidade de ligação calculada somente a partir de um programa de docagem, às vezes cria resultados falso-positivos ou falso negativos. Para obter resultados mais precisos, é necessário então o uso de uma nova função pontuação, usando um método mais robusto, além da adição de cálculos empíricos para imitar o sistema real. A função de pontuação da rede neural *Nnscore 2.0* é adequada para reclassificar os resultados do *Autodock Vina*, podendo se aproximar melhor do sistema real, dependendo do tipo do receptor (DURRANT; MCCAMMON, 2011; HIDAYAT et al., 2015). Somente para o ligante **VI** não foi escolhida a melhor pose definida pelo *NNScore*, foi observado que a pose 1 se conformava mais proximamente do resíduos do sítio catalítico da lipase. Além deste ligante, apenas para o ligante **IV** a melhor pose definida pelo *Vina* foi a mesma definida pelo *NNscore*. Segundo o *Autodock Vina*, a formação dos ésteres mais complexos, pelo caminho reacional direto, é

favorecida, exceto para o pentaeritritol, que apresentou triésteres e tetraésteres teoricamente mais reativos do que os ésteres que lhe deram origem, possivelmente fazendo com que a reação seja deslocada para o sentido inverso. Segundo apenas o ΔG calculado pelo Vina, a combinação do ácido oleico com o neopentil glicol teria o melhor rendimento de reação, considerando as condições do ambiente de estudo. Já analisando a pontuação dada pelo *NNscore* 2.0, as conformações dos ésteres mais complexos também foram, em geral, maiores, com exceção das combinações com o trimetilolpropano. O aumento desse score calculado indica a estabilidade do complexo enzima/substrato formado (DURRANT; MCCAMMON, 2011). Para este álcool também foi observado um valor igual de ΔG calculado pelo Vina entre os di e triglicerídeos, indicando que possivelmente os produtos obtidos dessa reação seria de uma mistura com quantidades similares desses dois componentes. Uma suposição deste tipo seria coerente, visto o comportamento semelhante observado no trabalho experimental de Åkerman (ÅKERMAN et al., 2011b). Neste trabalho, foi observado que para as diferentes condições reacionais utilizadas de temperatura, razão molar e carga enzimática a conversão de diéster em triésteres foi lenta, e para uma grande quantidade de experimentos, os diésteres representaram a maior fração percentual dos produtos formados da transesterificação do ácido oleico com TMP catalisada pela lipase Novozym[®] 435 (ÅKERMAN et al., 2011b). Com relação às constantes teóricas de desativação enzimática, todas apresentaram um valor muito menor que 25 μM , indicando a boa afinidade entre os ligantes e a lipase (HIDAYAT et al., 2015). Levando em consideração apenas o crescimento das pontuações do *NNscore* 2.0, além dos seus valores absolutos e das constantes de desassociação, o uso de octanol e do pentaeritritol como doadores de alquila foram os que mais se destacaram.

É importante se destacar que essas análises se limitam em demonstrar as afinidades e especificidade da lipase para com os substratos. Para as aplicações de ésteres alquílicos como biolubrificantes, as propriedades físico-químicas e tribológicas do produto são mais importantes do que a taxa de conversão reacional. Entretanto, essas propriedades estão intrinsecamente ligadas à composição de seus hidrocarbonetos. Produtos intermediários de reações com polióis, tais como mono e diésteres não agregam estabilidade de corrosão, estabilidade térmica ou estabilidade à baixas temperaturas. Em altas temperaturas, estes chamados ésteres parciais também possuem baixas viscosidades (GUNSTONE; HAMILTON, 2001). As propriedades térmicas dos biolubrificantes podem ser melhoradas à partir do uso de álcoois com cadeias alquílicas mais longas ou cadeias ramificadas, tais como o trimetilolpropano, neopentil glicol, pentaeritritol e 2-etilhexanol (BOLINA; GOMES;

MENDES, 2021). Álcoois de cadeia ramificada produzem biolubrificantes com menores índices de viscosidade e menores pontos de fluidez, que podem ser desejáveis para determinadas aplicações de biolubrificantes (CECILIA et al., 2020). Para a aplicação em motores de aeronaves, por exemplo, o uso de álcoois ramificados, como o neopentil glicol, é interessante para a formulação de seus biolubrificantes (AGARWAL, 2016). Já para aplicações em turbinas a gás, o uso do pentaeritritol é eficaz (AIREY et al., 2020; ELMAGLY; NAGIB; MOKHTAR, 2013). O trimetilolpropano, por outro lado, gera um lubrificante usado em óleos de motor marítimo, fluidos hidráulicos de óleo de compressor, óleos de engrenagens e em formulações de graxas (OWUNA et al., 2020; WU et al., 2013). Polióis de baixa massa molecular também conferem ao biolubrificante maiores estabilidades oxidativas e menores atividades hidrolíticas (KANIA et al., 2015). De toda forma, tomando o cuidado de remover o excesso de água formado no meio reacional, a literatura apresenta dados satisfatórios para a combinação do ácido oléico com todos os álcoois escolhidos para o presente estudo (BASSI et al., 2016; BOLINA; GOMES; MENDES, 2021; CAVALCANTI et al., 2018; HAPPE et al., 2014; VILAS BÔAS et al., 2021; WAFTI et al., 2021). Além do manejo das propriedades mencionadas, também sabe-se que os tempos de reação também aumentarão de acordo com o número de hidroxilas do álcool escolhido. Levando em consideração esses aspectos e os resultados de docagem da Tabela 3, pode-se supor que ao utilizar o ácido oleico e a lipase Eversa[®], os álcoois interessantes de serem avaliados experimentalmente seriam o octanol, o isoamílico e o neopentil glicol.

Os tipos e os resíduos envolvidos nas interações entre os ligantes e a lipase estão discriminados na Tabela 4. Além do sítio catalítico, a cavidade oxianion de uma enzima é formada por alguns de seus resíduos nesta região, tendo como papel ajudar a estabilizar a carga negativa dos intermediários formados durante o processo catalítico (ZHANG et al., 2020). Conforme mencionado anteriormente, a tríade catalítica da lipase de *Aspergillus oryzae* é composta pelos três resíduos de aminoácidos Ser153, Asp206 e His268. Já a cavidade oxânion, é formada pelos resíduos Ser91 e Leu154 (LAN et al., 2021). Quatro tipos de interações não covalentes são particularmente importantes na ligação enzima-ligante. Estas são as interações eletrostáticas, as ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e forças de van der Waals (COPELAND, 2001).

Tabela 4 – Interações dos ligantes com a lipase após as docagens. Os índices numéricos referem-se à ordem apresentada na **Figura 5**.

Ligante	Resíduos envolvidos			
	Ligações de hidrogênio	Interações de Van der Waals	Interações Hidrofóbicas	Interação desfavorável
Ligante (I)	HIS274 (4,38 Å).	ARG95, HIS266, VAL269, ASP276.	TYR92, ILE94, LEU262, PHE265.	-
Ligante (II)	HIS274 (5,25 Å).	TYR92, HIS266, ASP276.	ILE94, ARG95, LEU262, LEU263, PHE265, VAL269.	-
Ligante (III)	-	GLY90, SER91, SER93, HIS152, SER153, LEU154, GLY155, LEU262, HIS266, VAL269, HIS274 ASP276	TYR29, ARG89, TYR92, ILE94, ARG95, LEU263, PHE265, HIS268, TRP270.	-
Ligante (IV)	TYR92 (5,64Å).	SER153, ASP231, ASN232, LEU262, HIS266, VAL269, HIS274, ASP276, LYS279.	TYR29, ILE94, HIS152, LEU263, PHE265, HIS268, TRP270, ALA277.	-
Ligante (V)	TYR92 (6,03Å).	TYR29, SER91, SER93, ARG95, SER153, LEU262, HIS266, HIS268, ASP276.	ILE92, PH265, VAL269.	-
Ligante (VI)	TYR92 (4,09Å)	SER93, ARG95, SER153, LEU263, HIS266, ASP276	TYR29, ILE94, HIS152, LEU262, PHE265, VAL269	-

Tabela 4 – Continuação.

Ligante (VI)	TYR92 (4,09Å)	SER93, ARG95, SER153, LEU263, HIS266, ASP276	TYR29, ILE94, HIS152, LEU262, PHE265, VAL269	-
Ligante (VII)	ARG95 (5,41Å).	VAL98, LEU211, PRO260, HIS266, ASP276.	TYR92, ILE94, PRO207, VAL208, LEU262, LEU263, PHE265, VAL269	-
Ligante (VIII)	-	SER91, SER93, ARG95, HIS152, SER153, LEU154, LEU263, HIS266, HIS274, ASP276.	TYR29, TYR92, ILE94, LEU262, PHE265, HIS268, VAL269, TRP270	-
Ligante (IX)	ASP276 (4,11Å).	TYR29, SER153, HIS266, VAL269, HIS274, ALA277, LYS279.	ILE94, PHE265, HIS268.	TYR92 (5,68Å)
Ligante (X)	TYR92 (5,83Å).	TYR29, SER93, SER153, ASP231, ASN232, LEU262, LEU263, VAL269, HIS274, ASP276.	ILE94, ARG95, PHE265, HIS266, HIS268, TRO270.	-
Ligante (XI)	LEU262 (3,98Å).	SER93, PRO207, VAL208, MET216, LEU263, HIS266, HIS268, ASP276.	TYR92, ILE94, ARG95, VAL98, ALA101, PHE103, LEU211, LEU213, LEU259, PRO260, PHE265, VAL269.	-
Ligante (XII)	SER93, ASN 96 (4,25 e 4,34 Å).	THR69, ASP70, GLY90, SER91, TYR92, TRP97, ALA101, PHE103, GLY119, SER153, HIS266, HIS274, ASP276.	TYR29, ILE94, ARG95, VAL98, PHE120, ALA123, ILE158, PRO207, LEU211, PRO260, LEU262, PHE265, HIS268, VAL269, TRP270.	-

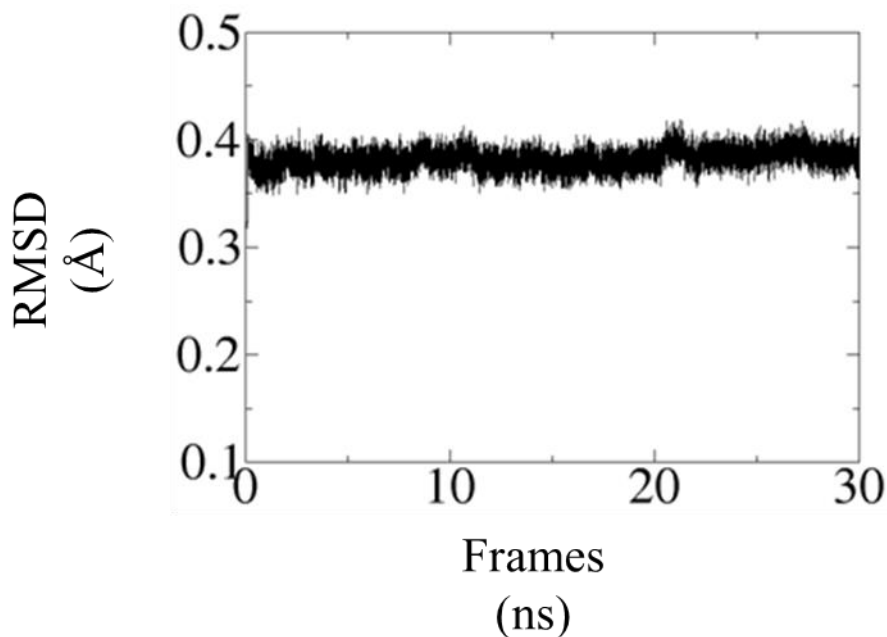
Fonte: elaborado pelo autor.

Normalmente, ligações de Van der Waals possuem baixas energias de ligação. Entretanto, quando as condições permitem que um grande número de ligações de van der Waals se formem simultaneamente, suas forças de atração combinadas podem fornecer uma energia estabilizadora significativa para as interações proteína-proteína e proteína-ligante (K.; BRONOWSKA, 2011). Na maioria dos casos, as interações iniciais entre a enzima e as moléculas de substrato (ou seja, os eventos de ligação) são não covalentes, fazendo uso de ligações de hidrogênio, eletrostáticas, interações hidrofóbicas e forças de Van der Waals (COPELAND, 2001). Estas interações fracas irão favorecer a ocorrência de reações (WILLIAMS; WESTWELL, 1998). Dentre as observações gerais que podem ser feitas a respeito das interações, percebe-se: A ocorrência de ligações de hidrogênio apenas quando o substrato foi o ácido oleico, os monos e triésteres de ácidos graxos, indicando a preferência da lipase para esses substratos, à exceção do oleato de isopentila (ligante **VI**). Conforme o aumento da cadeia carbônica do ligante, cresceu também o número de interações hidrofóbicas com os resíduos da lipase, dado o próprio desenvolvimento desse caráter nas substâncias. Não houveram quaisquer interações dos ligantes com o resíduo Asp206 da lipase, que faz parte do seu sítio catalítico. O resíduo Ser153 do sítio, além dos resíduos da cavidade oxianion interagiram com quase todos os ligantes, em sua maioria, a partir de forças de Van der Waals. Isso demonstra que essas interações foram as mais importantes no processo biocatalítico. Já o resíduo His268 do sítio, interagiu, em maioria, de forma hidrofóbica com os ligantes. O resíduo Tyr92 interagiu por ligação de hidrogênio com três ligantes, além de interagir de forma hidrofóbica com vários dos outros, sendo então bastante influente no processo catalítico deste sistema. Os resíduos que interagiram de maneira hidrofóbica se repetiram na maioria dos ligantes, vale também mencionar o resíduo Val269, que interagiu de maneira hidrofóbica com alguns ligantes, e por forças de Van der Waals com outros. As maiores energias de afinidade (em módulo) foram as dos ligantes que tiveram interações por ligações de hidrogênio, levando a valores menores de ΔG . Isso sugere que os contatos hidrofóbicos contribuem principalmente para a estabilidade do complexo lipase/substrato (QIN; ZHONG; WANG, 2021). A pose de cada ligante foi selecionada baseada conforme *score* de encaixe, que representa a afinidade da ligação entre o alvo e o receptor e na proximidade com os resíduos do sítio catalítico da lipase, que conferem maior probabilidade de se assemelharem com o mecanismo catalítico real. Estas poses foram usadas como conformações iniciais para as simulações de dinâmica molecular na presença de solvente.

4.2 Simulações de dinâmica molecular

A partir dos estudos de docagem, os ligantes selecionados foram conformados com sucesso ao sítio catalítico da lipase Eversa[®]. As simulações de dinâmica molecular foram realizadas com os complexos lipase-ligante para avaliar a mudança conformacional geral e a estabilidade da lipase após cada conformação, além de obter informações sobre o mecanismo de interação dos complexos à nível molecular. Na etapa de estabilização das simulações. O comportamento do RMSD em relação ao tempo de simulação foi bastante similar, para todos os ligantes. Por esta razão, apenas uma representação é capaz de representar o sistema, que se encontra apresentado na Figura 9.

Figura 9 – Raiz Quadrada do Desvio Quadrático Médio (*RMSD*), em relação à conformação inicial do complexo ácido oleico-lipase *versus* o tempo de simulação (ns) na etapa de estabilização.

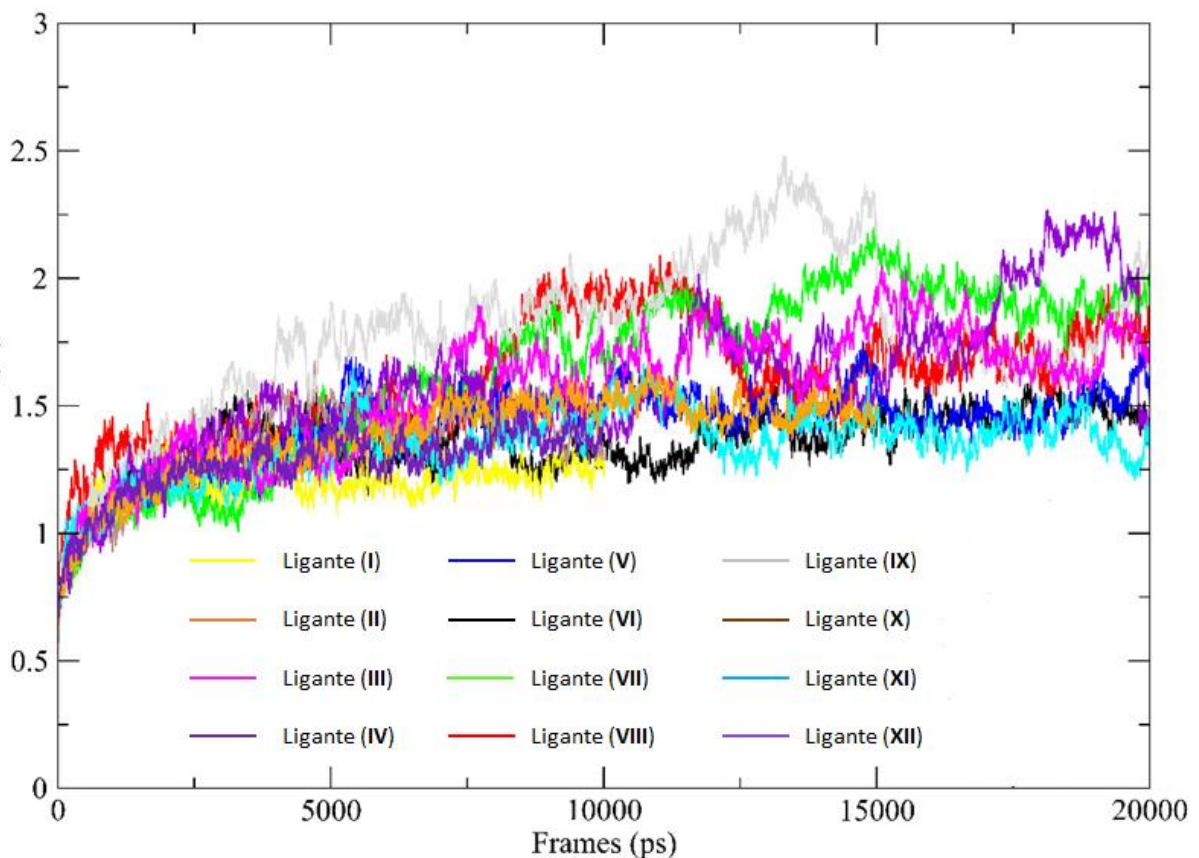


Fonte: elaborado pelo autor.

Das simulações de equilíbrio dos complexos lipase-ligante no solvente, obtiveram-se informações iniciais do comportamento conformacional para a dinâmica. A etapa de minimização, incluída no início de cada estabilização, é necessária para retirar possíveis tensões espúrias existentes na configuração inicial (BROOKS et al., 1983). Já a etapa de estabilização é requerida para colocar o sistema em uma configuração compatível

com o estado de equilíbrio termodinâmico, com valores fixos de pressão e temperatura (TAM; LAU, 2014). Estas etapas são fundamentais para remover possíveis interações repulsivas e de Van der Waals fortes. Se estas interações são mantidas, o sistema pode sofrer uma distorção estrutural local, resultando em uma simulação instável (PATEL; MACKERELL; BROOKS, 2004). Como esta etapa de equilibração foi feita a partir apenas do movimento dos íons e do solvente do sistema, isto explica os baixos valores de *RMSD* em comparação com configuração inicial, no decorrer do tempo de simulação (JO et al., 2013). Já os valores de *RMSD* nas etapas de produção, estão encontrados na Figura 10.

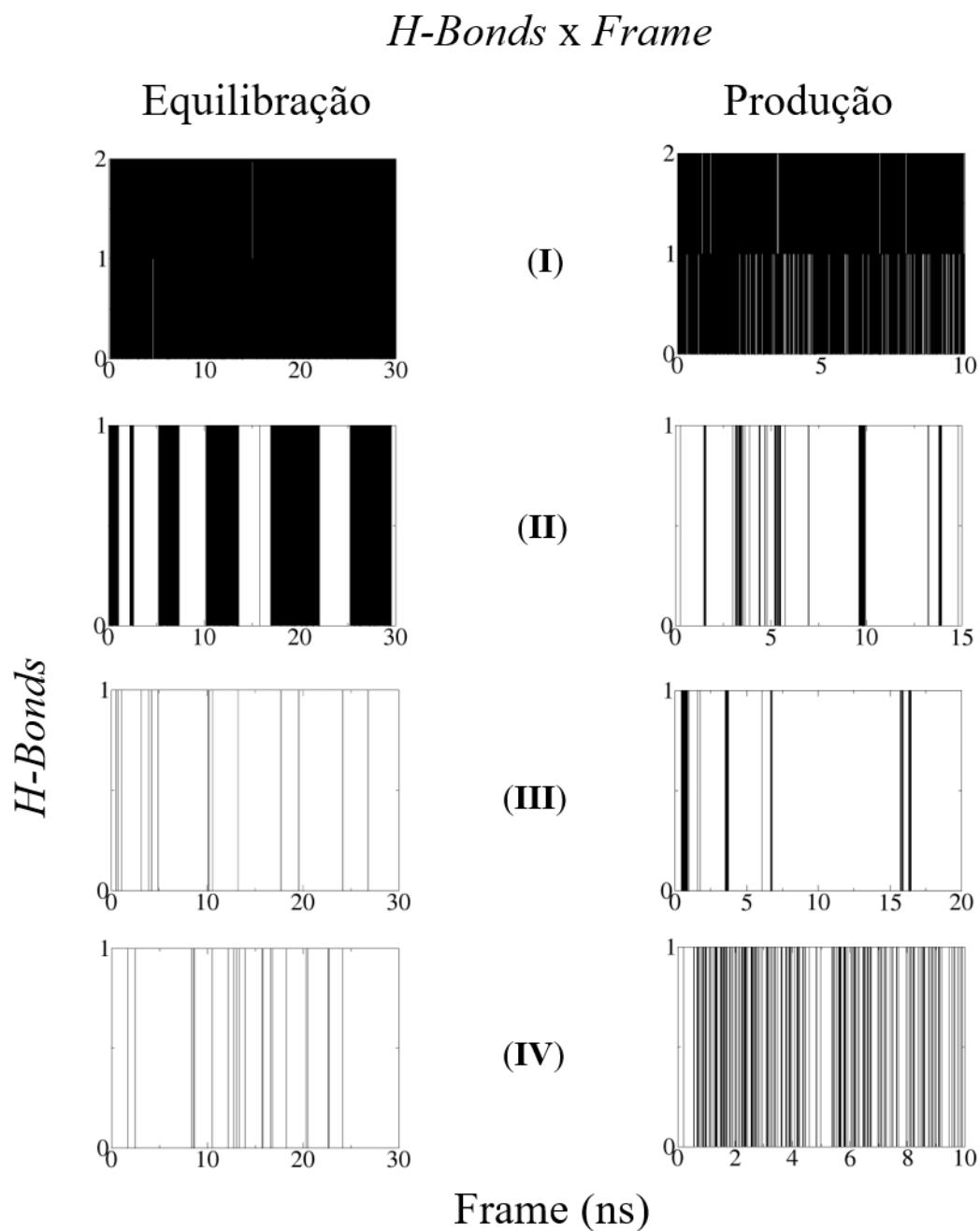
Figura 10 – Raiz Quadrada do Desvio Quadrático Médio (*RMSD*), em relação à conformação inicial do complexo *versus* o tempo de simulação (ns) na etapa de produção. Os índices numéricos referem-se à ordem apresentada na Figura 5.



Fonte: elaborado pelo autor.

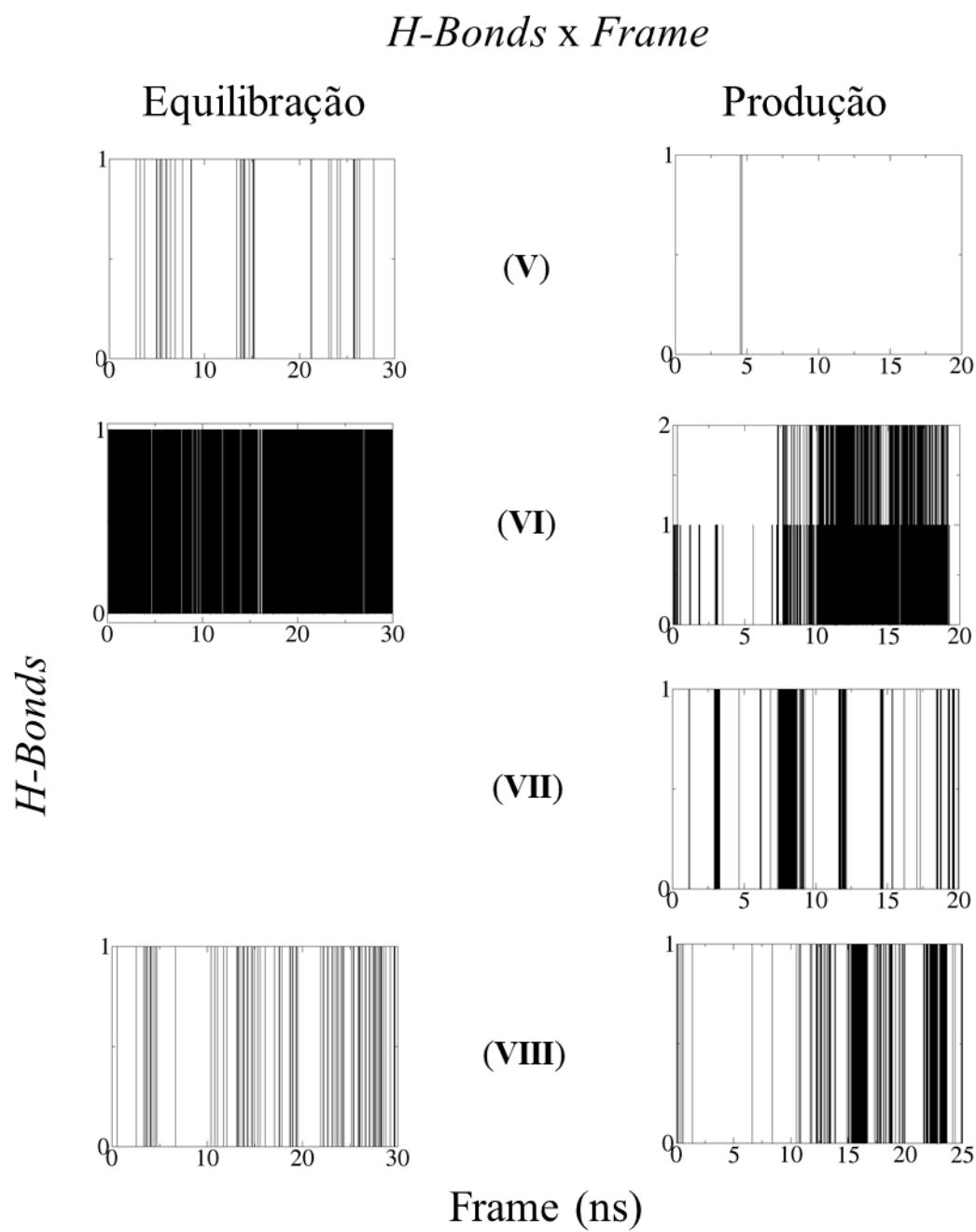
Pode se observar que os valores de estabilização de *RMSD* foram baixos, em torno de 1 e 2 Å em baixos tempos de simulação, variando entre 10 e 25 ns. Assim, pode-se concluir que não houveram grandes alterações conformacionais dos complexos lipase-ligante durante os tempos de simulações. Esses resultados sugerem que as trajetórias das simulações de dinâmica molecular para todos os complexos após as etapas de equilíbrio e produção são confiáveis para análises posteriores (QIN; ZHONG; WANG, 2021). O número de ligações de hidrogênio intermoleculares é importante para a estabilidade de um complexo de proteínas (RAGUNATHAN; MALATHI; ANBARASU, 2018). A Figura 11 representa as ligações de hidrogênio formadas entre a lipase e os ligantes nas etapas de equilíbrio e produção longo de dinâmica molecular

Figura 11 – Ligações de hidrogênio formadas entre a proteína e o ligante durante as duas etapas de simulação. Os índices numéricos referem-se à ordem apresentada na Figura 5.



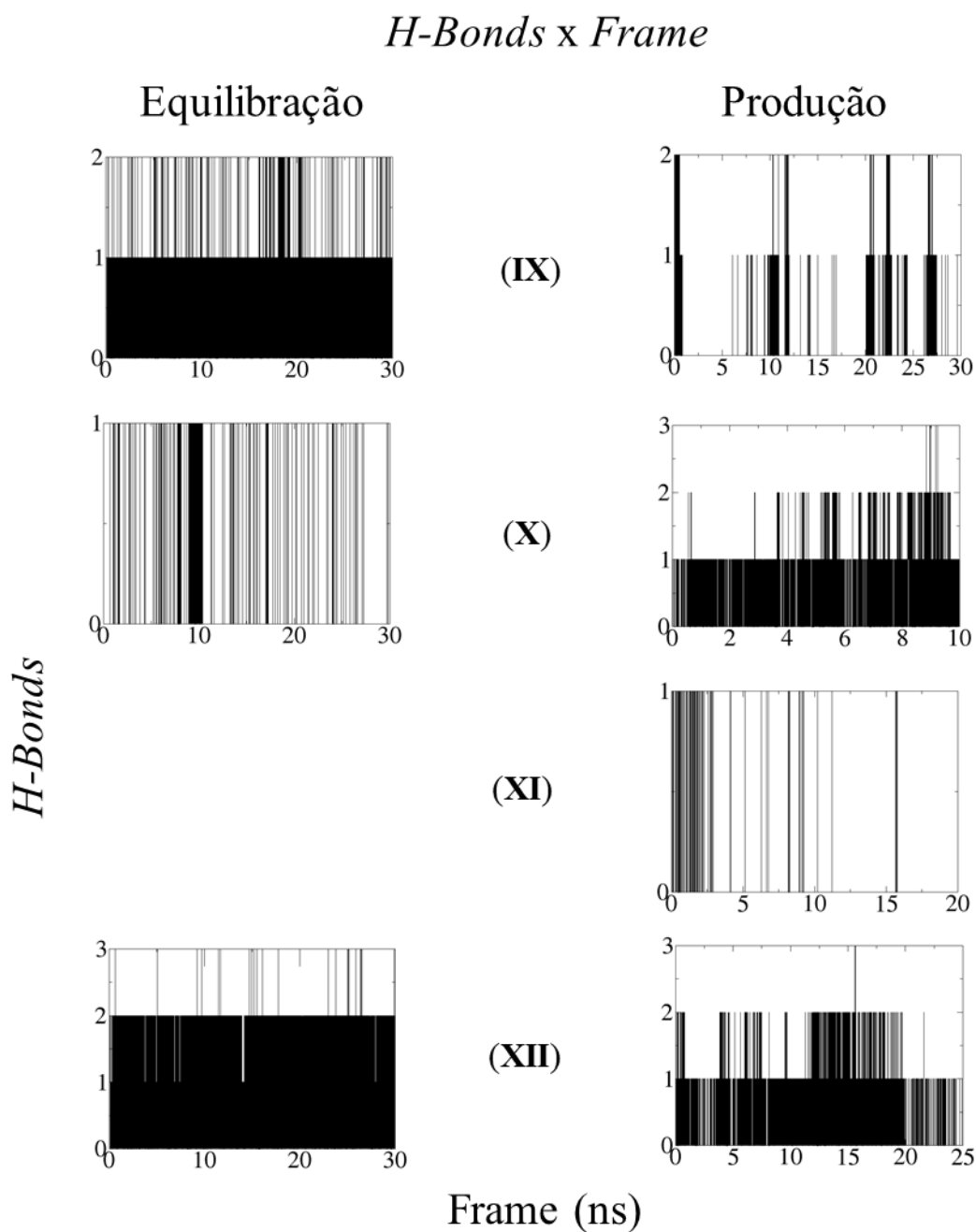
Fonte: elaborado pelo autor

Figura 11 – Continuação.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 11 – Conclusão.



Fonte: elaborado pelo autor.

Houveram mudanças nas redes de ligações de hidrogênio ao longo da simulação, e o número de ligações de hidrogênio flutuando entre 0 e 3. As ligações de hidrogênio isoladas e o baixo número médio de ligações de hidrogênio por período de tempo sugeriram que as redes de ligações desse tipo foram fracas nos complexos. Os momentos nos quais estas

ligações desaparecem sugerem que a estabilidade do complexo foi mantida por outros tipos de interações (QIN; ZHONG; WANG, 2021). As ligações de hidrogênio transientes, observadas na maioria dos ligantes, contribuem pouco para a afinidade de associação, e indicam alta reatividade dos ligantes na presença da lipase (LIU et al., 2007). Ao se comparar as ligações de hidrogênio formadas na dinâmica molecular com as obtidas anteriormente no processo de docagem, pode ser observado poucas correlações, indicando a divergência de um processo estático com um processo contínuo, além de possivelmente indicar que as ligações de hidrogênio excedentes formadas foram em decorrência da interação com o solvente do sistema.

5 CONCLUSÃO

Este estudo permitiu modelar as ligações entre a lipase *Eversa Transform*[®] 2.0. com substratos que podem ser matérias-primas de biolubrificantes, que são produtos renováveis, ambientalmente amigáveis e de alto valor agregado. Os ligantes, constituídos do ácido oleico e de seus produtos de esterificação com álcoois de diferentes tipos, foram modelados e tiveram suas geometrias otimizadas. Através dos resultados de docagem conseguiu-se observar a natureza das interações entre os resíduos no entorno do sítio catalítico da enzima com cada ligante, concluindo-se que as forças de Van der Waals, e as interações hidrofóbicas foram as principais responsáveis pela manutenção dos complexos enzima-substrato, em suas poses de conformação.

A partir dos resultados de afinidade do *Autodock Vina*, pode se perceber que o neopentil glicol, o octanol e o álcool isoamílico podem ser receptores de alquila com potenciais de maior conversão em produtos. Já pelos *scores* de docagem calculados pelo *NNScore 2.0*, os produtos obtidos pelo uso do octanol e do pentaeritritol obtiveram melhores poses de conformação com a lipase. Levando em consideração as condições do estudo e os resultados de docagem, foi possível identificar os álcoois octanol, isoamílico e neopentil glicol como mais promissores para o processo.

Por meio da dinâmica molecular foi possível se observar que as simulações apresentaram estabilidade durante seus processos de equilíbrio e produção. Os baixos valores de *RMSD* indicam que as poses de docagem escolhidas foram adequadas e que para as condições de estudo, a reação pode ocorrer sem impedimentos. A partir dos gráficos de ligações de hidrogênio pode se comprovar que as ligações desse tipo não foram as primordiais para estabilidade dos complexos enzima-substratos modelados.

As simulações presentes nesse trabalho permitiram a avaliação de escolhas de álcoois para a síntese de biolubrificantes, utilizando o ácido oleico e a lipase Eversa[®] *Transform 2.0*, eliminando-se, portanto, o gasto dos demais reagentes, que seria inevitável para uma abordagem experimental desse estudo. Entretanto, deve se levar em consideração que para situações experimentais, outras variáveis possuem crítica importância para a otimização da síntese desses produtos, tais como as condições de transporte no meio, a alteração de atividade catalítica, a possibilidade de inibição enzimática, as alterações das condições de equilíbrio do sistema, e as características físico-químicas dos biolubrificantes produzidos, para determinar se eles são serão apropriados para a aplicação de interesse. Essas devem ser as etapas a serem superadas em estudos futuros.

REFERÊNCIAS

- AAMER MEHMOOD, M. Use of Bioinformatics Tools in Different Spheres of Life Sciences. **Journal of Data Mining in Genomics & Proteomics**, v. 05, n. 02, 2014.
- AFIFAH, A. N. et al. Biolubricant production from palm stearin through enzymatic transesterification method. **Biochemical Engineering Journal**, v. 148, p. 178–184, ago. 2019.
- AGARWAL, R. K. **Recent Progress in Some Aircraft Technologies**. [s.l.] InTech, 2016.
- AGUIEIRAS, É. C. G. et al. Enzymatic synthesis of neopentyl glycol-bases biolubricants using biodiesel from soybean and castor bean as raw materials. **Renewable Energy**, v. 148, p. 689–696, abr. 2020.
- AIREY, J. et al. The effect of gas turbine lubricant base oil molecular structure on friction. **Tribology International**, v. 146, n. October 2019, p. 106052, jun. 2020.
- ÅKERMAN, C. O. et al. Clean synthesis of biolubricants for low temperature applications using heterogeneous catalysts. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 72, n. 3–4, p. 263–269, nov. 2011a.
- ÅKERMAN, C. O. et al. Biolubricant synthesis using immobilised lipase: Process optimisation of trimethylolpropane oleate production. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 12, p. 2225–2231, dez. 2011b.
- ALLINGER, N. L. Conformational Analysis. 130. MM2. A Hydrocarbon Force Field Utilizing V1 and V2 Torsional Terms 1,2. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 25, p. 8127–8134, 1977.
- ALONSO, H.; BLIZNYUK, A. A.; GREASY, J. E. Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design. **Medicinal Research Reviews**, v. 26, n. 5, p. 531–568, set. 2006.
- AMARO, R. E.; MULHOLLAND, A. J. Multiscale methods in drug design bridge chemical and biological complexity in the search for cures. **Nature Reviews Chemistry**, v. 2, n. 4, p. 0148, 11 abr. 2018.
- ANGULO, B. et al. Bio-lubricants production from fish oil residue by transesterification with trimethylolpropane. **Journal of Cleaner Production**, v. 202, p. 81–87, nov. 2018.
- ATADASHI, I. M. et al. The effects of water on biodiesel production and refining technologies: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 5, p. 3456–3470, 2012.
- BARBOSA, M. S. et al. Optimization of the enzymatic hydrolysis of *Moringa oleifera* Lam oil using molecular docking analysis for fatty acid specificity. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 66, n. 5, p. 823–832, 26 set. 2019.
- BASSI, J. J. et al. Interfacial activation of lipases on hydrophobic support and application in the synthesis of a lubricant ester. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92,

p. 900–909, nov. 2016.

BELL, E. L. et al. Biocatalysis. **Nature Reviews Methods Primers**, v. 1, n. 1, p. 46, 24 dez. 2021.

BÖHM, H. J. Prediction of binding constants of protein ligands: A fast method for the prioritization of hits obtained from de novo design or 3D database search programs. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 12, n. 4, p. 309, 1998.

BOLINA, I. C. A.; GOMES, R. A. B.; MENDES, A. A. Biolubricant Production from Several Oleaginous Feedstocks Using Lipases as Catalysts: Current Scenario and Future Perspectives. **BioEnergy Research**, 5 jan. 2021.

BOYDE, S. Green lubricants. Environmental benefits and impacts of lubrication. **Green Chemistry**, v. 4, n. 4, p. 293–307, 8 ago. 2002.

BROOKS, B. R. et al. CHARMM: A program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 4, n. 2, p. 187–217, 1983.

BROOKS, B. R. et al. CHARMM: The biomolecular simulation program. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 10, p. 1545–1614, 2009.

BUKOVNIK, S. et al. Thermo-elasto-hydrodynamic lubrication model for journal bearing including shear rate-dependent viscosity. **Lubrication Science**, v. 19, n. 4, p. 231–245, out. 2007.

CAMPBELL, I. B.; MACDONALD, S. J. F.; PROCOPIOU, P. A. Medicinal chemistry in drug discovery in big pharma: past, present and future. **Drug Discovery Today**, v. 23, n. 2, p. 219–234, fev. 2018.

CAVALCANTI, E. D. C. et al. Improved production of biolubricants from soybean oil and different polyols via esterification reaction catalyzed by immobilized lipase from *Candida rugosa*. **Fuel**, v. 215, n. November 2017, p. 705–713, 1 mar. 2018.

CECILIA, J. A. et al. An Overview of the Biolubricant Production Process: Challenges and Future Perspectives. **Processes**, v. 8, n. 3, p. 257, 25 fev. 2020.

CHRISTELLE, B. et al. Combined docking and molecular dynamics simulations to enlighten the capacity of *Pseudomonas cepacia* and *Candida antarctica* lipases to catalyze quercetin acetylation. **Journal of Biotechnology**, v. 156, n. 3, p. 203–210, dez. 2011.

COPELAND, R. A. Enzymes: a practical introduction to structure, mechanism, and data analysis. **Choice Reviews Online**, v. 38, n. 07, p. 38-3881-38-3881, 1 mar. 2001.

CUNNINGHAM, B. et al. A sustainability assessment of a biolubricant. **Journal of Industrial Ecology**, v. 7, n. 3–4, p. 179–192, jun. 2003.

DA SILVA, J. A. C. et al. Enzymatic production and characterization of potential biolubricants from castor bean biodiesel. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 122, p. 323–329, dez. 2015.

DE SOUZA, R. O. M. A.; MIRANDA, L. S. M.; BORNSCHEUER, U. T. A Retrosynthesis Approach for Biocatalysis in Organic Synthesis. **Chemistry - A European Journal**, v. 23, n. 50, p. 12040–12063, 7 set. 2017.

DIAZ, P. A. B.; KRONEMBERGER, F. DE A.; HABERT, A. C. A pervaporation-assisted bioreactor to enhance efficiency in the synthesis of a novel biolubricant based on the enzymatic transesterification of a castor oil based biodiesel. **Fuel**, v. 204, p. 98–105, set. 2017.

DÖRMÖ, N. et al. Manufacture of an environmental-safe biolubricant from fusel oil by enzymatic esterification in solvent-free system. **Biochemical Engineering Journal**, v. 21, n. 3, p. 229–234, nov. 2004.

DURRANT, J. D.; MCCAMMON, J. A. NNScore 2.0: A neural-network receptor-ligand scoring function. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 51, n. 11, p. 2897–2903, 28 nov. 2011.

EL-MAGLY, I. A.; NAGIB, H. K.; MOKHTAR, W. M. Aspects of the behavior of some pentaerythritol ester base synlubes for turbo-engines. **Egyptian Journal of Petroleum**, v. 22, n. 1, p. 169–177, jun. 2013.

ELGHARBAWY, A. A. et al. Ionic liquids as a potential solvent for lipase-catalysed reactions: A review. **Journal of Molecular Liquids**, v. 251, p. 150–166, fev. 2018.

ESSMANN, U. et al. A smooth particle mesh Ewald method. **The Journal of Chemical Physics**, v. 103, n. 19, p. 8577–8593, 15 nov. 1995.

FERNANDES, K. V. et al. Enzymatic esterification of palm fatty-acid distillate for the production of polyol esters with biolubricant properties. **Industrial Crops and Products**, v. 116, n. 3, p. 90–96, jun. 2018.

FERNANDES, K. V. et al. Enzymatic synthesis of biolubricants from by-product of soybean oil processing catalyzed by different biocatalysts of *Candida rugosa lipase*. **Catalysis Today**, v. 362, n. November 2019, p. 122–129, fev. 2021.

FILHO, D. G.; SILVA, A. G.; GUIDINI, C. Z. Lipases: sources, immobilization methods, and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 18, p. 7399–7423, 2 set. 2019.

FORTUNE BUSINESS INSIGHTS (Índia). **Bio lubricants Market Size, Share & COVID-19 Impact Analysis, By Application (Hydraulic Fluids, Metalworking Fluids, Chaisaw Oils, Mold Release Agents, Two-Cycle Engine Oils, Gear Oils, Greases and Others), By End-use Industry (Automotive and Other Transportation, Metalworking Mining, Forestry, Marine, Engine, and Others), And Regional Forecast 2021-2027**. 2021a. Disponível em: <<https://www.fortunebusinessinsights.com/bio-lubricants-market-104654>>. Acesso em: 30 nov. 2021.

FORTUNE BUSINESS INSIGHTS (Índia). **Lubricants Market Size, Share & COVID-19 Impact Analysis, By Type, (Automotive Oils, Industrial Oils, Marine Oil, and Process Oils), By Grade (Mineral Synthetic, and Semi-synthetic), By Application (Automotive, Industrial and Others), and Regional Forecast 2021-2028**. 2021b. Disponível em:

<<https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/lubricants-market-101771>>. Acesso em: 30 nov. 2021.

GAI, W. H.; GUO, R. The basic theories of molecular dynamics simulation. **Applied Mechanics and Materials**, v. 444–445, p. 1483–1488, 2014.

GAO, Z. **Research on Numerical Integration Algorithm in Molecular Dynamics Simulation**. Proceedings of the 2017 2nd International Conference on Machinery, Electronics and Control Simulation (MECS 2017). **Anais...** Paris, France: Atlantis Press, 2017 Disponível em: <<http://www.atlantis-press.com/php/paper-details.php?id=25878981>>. Acesso em 20/10/2021.

GARREC, D. A.; NORTON, I. T. The influence of hydrocolloid hydrodynamics on lubrication. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 2, p. 389–397, mar. 2012.

GOEL, S.; LUO, X.; REUBEN, R. L. Molecular dynamics simulation model for the quantitative assessment of tool wear during single point diamond turning of cubic silicon carbide. **Computational Materials Science**, v. 51, n. 1, p. 402–408, jan. 2012.

GOHLKE, H.; HENDLICH, M.; KLEBE, G. Knowledge-based scoring function to predict protein-ligand interactions. **Journal of Molecular Biology**, v. 295, n. 2, p. 337–356, jan. 2000.

GRECO-DUARTE, J. et al. Two-step enzymatic production of environmentally friendly biolubricants using castor oil: Enzyme selection and product characterization. **Fuel**, v. 202, p. 196–205, ago. 2017.

GRIGERA, J. Molecular Dynamics Simulation for Ligand-Receptor Studies. Carbohydrates Interactions in Aqueous Solutions. **Current Pharmaceutical Design**, v. 8, n. 17, p. 1579–1604, 1 ago. 2002.

GUEDES, I. A.; DE MAGALHÃES, C. S.; DARDENNE, L. E. Receptor–ligand molecular docking. **Biophysical Reviews**, v. 6, n. 1, p. 75–87, 21 mar. 2014.

GUIMARÃES, J. R. et al. Immobilization of Eversa® Transform via CLEA Technology Converts It in a Suitable Biocatalyst for Biolubricant Production Using Waste Cooking Oil. **Molecules**, v. 26, n. 1, p. 193, 2 jan. 2021.

GUNDA, R. K.; NARALA, S. K. R. Evaluation of friction and wear characteristics of electrostatic solid lubricant at different sliding conditions. **Surface and Coatings Technology**, v. 332, n. September, p. 341–350, dez. 2017.

GUNSTONE, Frank Denby; HAMILTON, Richard John (Ed.). **Oleochemical manufacture and applications**. CRC Press, 2001.

HAPPE, M. et al. Microwave barrel reactor use in trimethylolpropane oleate synthesis by *Candida antarctica* lipase in a biphasic non-solvent process. **Green Chemistry**, v. 14, n. 8, p. 2337–2345, 2012.

HAPPE, M. et al. Size selectivity in lipase catalysed tetrol acylation. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 109, p. 40–46, nov. 2014.

- HIDAYAT, A. N. et al. Insight into human protease activated receptor-1 as anticancer target by molecular modelling. **SAR and QSAR in Environmental Research**, v. 26, n. 10, p. 795–807, 3 out. 2015.
- HUANG, C. et al. Effect of cut-off distance used in molecular dynamics simulations on fluid properties. **Molecular Simulation**, v. 36, n. 11, p. 856–864, set. 2010.
- HUANG, S.-Y.; GRINTER, S. Z.; ZOU, X. Scoring functions and their evaluation methods for protein–ligand docking: recent advances and future directions. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 12, n. 40, p. 12899, 2010.
- HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, v. 14, n. 1, p. 33–38, fev. 1996.
- JIN, F. J. et al. Advances in Genetic Engineering Technology and Its Application in the Industrial Fungus *Aspergillus oryzae*. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 23 fev. 2021.
- JO, S. et al. CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM. **Journal of Computational Chemistry**, v. 29, n. 11, p. 1859–1865, 2008.
- JO, S. et al. CHARMM-GUI Ligand Binder for Absolute Binding Free Energy Calculations and Its Application. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 1, p. 267–277, 28 jan. 2013.
- K., A.; BRONOWSKA, A. K. Thermodynamics of ligand-protein interactions: implications for molecular design. In: **Thermodynamics-Interaction Studies-Solids, Liquids and Gases**. [s.l.] IntechOpen, 2011.
- KAJIWARA, S. et al. Development of sucrose-complexed lipase to improve its transesterification activity and stability in organic solvents. **Biochemical Engineering Journal**, v. 121, p. 83–87, maio 2017.
- KALIBAEVA, G.; FERRARIO, M.; CICCOTTI, G. Constant pressure-constant temperature molecular dynamics: a correct constrained NPT ensemble using the molecular virial. **Molecular Physics**, v. 101, n. 6, p. 765–778, 20 mar. 2003.
- KANIA, D. et al. A review of biolubricants in drilling fluids: Recent research, performance, and applications. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 135, p. 177–184, nov. 2015.
- KATAYAMA, M. et al. Hydration-aggregation pretreatment for drastically improving esterification activity of commercial lipases in non-aqueous media. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 105, p. 30–37, out. 2017.
- KLEPEIS, J. L. et al. Long-timescale molecular dynamics simulations of protein structure and function. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 19, n. 2, p. 120–127, abr. 2009.
- LAN, D. et al. Structure-Guided Rational Design of a Mono- and Diacylglycerol Lipase from *Aspergillus oryzae*: A Single Residue Mutant Increases the Hydrolysis Ability. **Journal of**

Agricultural and Food Chemistry, v. 69, n. 18, p. 5344–5352, 12 maio 2021.

LAND, H.; HUMBLE, M. S. YASARA: A tool to obtain structural guidance in biocatalytic investigations. In: **Methods in Molecular Biology**. [s.l.: s.n.]. v. 1685p. 43–67.

LEE, J. et al. CHARMM-GUI Input Generator for NAMD, GROMACS, AMBER, OpenMM, and CHARMM/OpenMM Simulations Using the CHARMM36 Additive Force Field. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 12, n. 1, p. 405–413, 2016.

LEWIS-ATWELL, T.; TOWNSEND, P. A.; GRAYSON, M. N. Comparisons of different force fields in conformational analysis and searching of organic molecules: A review. **Tetrahedron**, v. 79, p. 131865, jan. 2021.

LI, X. et al. Evaluation of the performance of four molecular docking programs on a diverse set of protein-ligand complexes. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 11, p. 2109–2125, 1 fev. 2010.

LINDAHL, E. Molecular Dynamics Simulations. In: **Methods in Molecular Biology**. [s.l.: s.n.]. v. 1215p. 3–26.

LIU, F.-F. et al. Rational design of peptide ligand for affinity chromatography of tissue-type plasminogen activator by the combination of docking and molecular dynamics simulations. **Journal of Chromatography A**, v. 1175, n. 2, p. 249–258, dez. 2007.

LIU, J.; WANG, R. Classification of current scoring functions. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 55, n. 3, p. 475–482, 2015.

MADANHIRE, I.; MBOHWA, C. Introduction. In: **Mitigating Environmental Impact of Petroleum Lubricants**. Cham: Springer International Publishing, 2016. p. 1–15.

MATHPATI, A. C.; BADGUJAR, K. C.; BHANAGE, B. M. Kinetic modeling and docking study of immobilized lipase catalyzed synthesis of furfuryl acetate. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 84, p. 1–10, mar. 2016.

MATHPATI, A. C.; BHANAGE, B. M. Combined docking and molecular dynamics study of lipase catalyzed kinetic resolution of 1-phenylethanol in organic solvents. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 133, p. S119–S127, nov. 2016.

MCNUTT, J.; HE, Q. S. Development of biolubricants from vegetable oils via chemical modification. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 36, p. 1–12, abr. 2016.

MENEZES, P. L.; REEVES, C. J.; LOVELL, M. R. Fundamentals of lubrication. In: **Tribology for Scientists and Engineers: From Basics to Advanced Concepts**. New York, NY: Springer New York, 2013. v. 9781461419p. 295–340.

MENG, X.-Y. et al. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. **Current Computer Aided-Drug Design**, v. 7, n. 2, p. 146–157, 1 jun. 2011.

MICHEL, J.; ESSEX, J. W. Prediction of protein–ligand binding affinity by free energy simulations: assumptions, pitfalls and expectations. **Journal of Computer-Aided Molecular**

Design, v. 24, n. 8, p. 639–658, 28 ago. 2010.

MOBARAK, H. M. et al. The prospects of biolubricants as alternatives in automotive applications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 33, p. 34–43, maio 2014.

MONTEIRO, R. R. C. et al. Liquid lipase preparations designed for industrial production of biodiesel. Is it really an optimal solution? **Renewable Energy**, v. 164, p. 1566–1587, fev. 2021.

MORDOR INTELLIGENCE (Índia). **Lubricants Market - Growth, Trends, COVID-19 Impact, and Forecasts (2021 - 2026)**. 2020. Disponível em: <<https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/lubricants-market>. Acesso em: 30 nov. 2021>. Acesso em 30/11/2021.

NORRBY, P. Deriving force field parameters for coordination complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 212, n. 1, p. 79–109, fev. 2001.

OWUNA, F. J. J. et al. Chemical modification of vegetable oils for the production of biolubricants using trimethylolpropane: A review. **Egyptian Journal of Petroleum**, v. 29, n. 1, p. 75–82, mar. 2020.

PAGADALA, N. S.; SYED, K.; TUSZYNSKI, J. Software for molecular docking: a review. **Biophysical Reviews**, v. 9, n. 2, p. 91–102, 16 abr. 2017.

PATEL, A. et al. Assessment of fuel properties on the basis of fatty acid profiles of oleaginous yeast for potential biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 77, n. April, p. 604–616, 2017.

PATEL, S.; MACKERELL, A. D.; BROOKS, C. L. CHARMM fluctuating charge force field for proteins: II Protein/solvent properties from molecular dynamics simulations using a nonadditive electrostatic model. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 12, p. 1504–1514, set. 2004.

PAVÓN VALDERRAMA, M.; ARRIOLA, E. R. Renormalization of the NN interaction with a chiral two-pion-exchange potential: Central phases and the deuteron. **Physical Review C - Nuclear Physics**, v. 74, n. 5, p. 054001, 8 nov. 2006.

PELLIS, A. et al. Evolving biocatalysis to meet bioeconomy challenges and opportunities. **New Biotechnology**, v. 40, n. 16, p. 154–169, jan. 2018.

PHILLIPS, J. C. et al. Scalable molecular dynamics on CPU and GPU architectures with NAMD. **Journal of Chemical Physics**, v. 153, n. 4, p. 044130, 28 jul. 2020.

POIER, P. P. et al. Molecular Dynamics Using Nonvariational Polarizable Force Fields: Theory, Periodic Boundary Conditions Implementation, and Application to the Bond Capacity Model. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 15, n. 11, p. 6213–6224, 12 nov. 2019.

PONDER, J. W.; CASE, D. A. Force fields for protein simulations. In: **Advances in Protein Chemistry**. [s.l: s.n.]. v. 66p. 27–85.

- PR NEWSWIRE. **Global Biolubricants Industry**. 2020. Disponível em: <<https://www.prnewswire.com/news-releases/global-biolubricants-industry-301124981.html>>. Acesso em: 30 nov. 2021.
- QIN, X.; ZHONG, J.; WANG, Y. A mutant T1 lipase homology modeling, and its molecular docking and molecular dynamics simulation with fatty acids. **Journal of Biotechnology**, v. 337, n. February, p. 24–34, ago. 2021.
- RAGUNATHAN, A.; MALATHI, K.; ANBARASU, A. MurB as a target in an alternative approach to tackle the *Vibrio cholerae* resistance using molecular docking and simulation study. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 119, n. 2, p. 1726–1732, 12 fev. 2018.
- REEVES, C. J.; SIDDAIAH, A.; MENEZES, P. L. A Review on the Science and Technology of Natural and Synthetic Biolubricants. **Journal of Bio- and Tribo-Corrosion**, v. 3, n. 1, p. 1–27, 2017.
- REMONATTO, D. et al. FAME Production from Waste Oils Through Commercial Soluble Lipase Eversa ® Catalysis. **Industrial Biotechnology**, v. 12, n. 4, p. 254–262, ago. 2016.
- ROE, D. R.; BROOKS, B. R. A protocol for preparing explicitly solvated systems for stable molecular dynamics simulations. **The Journal of Chemical Physics**, v. 153, n. 5, p. 054123, 7 ago. 2020.
- ROYLANCE, B. J. c. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology**, v. 217, n. 5, p. 349–364, 1 maio 2003.
- SAGUI, C.; PEDERSEN, L. G.; DARDEN, T. A. Towards an accurate representation of electrostatics in classical force fields: Efficient implementation of multipolar interactions in biomolecular simulations. **The Journal of Chemical Physics**, v. 120, n. 1, p. 73–87, jan. 2004.
- SAHA, B.; VLACHOS, D. G. Synthesis of (hemi)cellulosic lubricant base oils via catalytic coupling and deoxygenation pathways. **Green Chemistry**, v. 23, n. 14, p. 4916–4930, 2021.
- SALIMON, J. et al. Synthesis, reactivity and application studies for different biolubricants. **Chemistry Central Journal**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2014.
- SALMASO, V.; MORO, S. Bridging Molecular Docking to Molecular Dynamics in Exploring Ligand-Protein Recognition Process: An Overview. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, n. AUG, p. 1–16, 22 ago. 2018.
- SARGSYAN, K.; GRAUFFEL, C.; LIM, C. How Molecular Size Impacts RMSD Applications in Molecular Dynamics Simulations. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 13, n. 4, p. 1518–1524, 2017.
- SCARAGGI, M. et al. Minimize friction of lubricated laser-microtextured-surfaces by tuning microholes depth. **Tribology International**, v. 75, p. 123–127, jul. 2014.
- SCHNEIDER, M. V. et al. Bioinformatics training: a review of challenges, actions and

support requirements. **Briefings in Bioinformatics**, v. 11, n. 6, p. 544–551, 1 nov. 2010.

SHEHATA, M. et al. Lipase and Water in a Deep Eutectic Solvent: Molecular Dynamics and Experimental Studies of the Effects of Water-In-Deep Eutectic Solvents on Lipase Stability.

SON, Jae H. et al. RYBOLT, Thomas. R. Force field based MM2 molecule-surface binding energies for graphite and graphene. **Graphene**, v. 2, n. 01, p. 18, 2013.

SONI, S.; AGARWAL, M. Lubricants from renewable energy sources – a review. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 7, n. 4, p. 359–382, 2 out. 2014.

SWAIN, S. S. et al. Molecular docking and simulation study for synthesis of alternative dapson derivative as a newer antileprosy drug in multidrug therapy. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 119, n. 12, p. 9838–9852, 20 dez. 2018.

TAM, L. H.; LAU, D. A molecular dynamics investigation on the cross-linking and physical properties of epoxy-based materials. **RSC Advances**, v. 4, n. 62, p. 33074–33081, 2014.

TAO, X. et al. Recent developments in molecular docking technology applied in food science: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 33–45, 6 jan. 2020.

TESSARO, F. et al. Review How “Protein-Docking” Translates into the New Emerging Field of Docking Small Molecules to Nucleic Acids? **Molecules**, v. 25, n. 12, 2020.

TESSER, R. et al. Bio-lubricants synthesis from the epoxidized oil promoted by clays: Kinetic modelling. **Chemical Engineering Science**, v. 214, p. 115445, mar. 2020.

TIRONI, I. G. et al. A generalized reaction field method for molecular dynamics simulations. **The Journal of Chemical Physics**, v. 102, n. 13, p. 5451–5459, abr. 1995.

TORRES, P. H. M. et al. Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4574, 15 set. 2019.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 2, p. NA-NA, 2009.

TUCKERMAN, M. E.; MARTYNA, G. J. Understanding Modern Molecular Dynamics: Techniques and Applications. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 104, n. 2, p. 159–178, 1 jan. 2000.

VAN GUNSTEREN, W. F.; BERENDSEN, H. J. C. Molecular dynamics computer simulation. Method, application and perspectives in chemistry. **Section Title: Physical Organic Chemistry**, v. 102, n. 9, p. 1020–1055, 1990.

VIANELLO, R.; DOMENE, C.; MAVRI, J. The Use of Multiscale Molecular Simulations in Understanding a Relationship between the Structure and Function of Biological Systems of the Brain: The Application to Monoamine Oxidase Enzymes. **Frontiers in Neuroscience**, v. 10, n. JUL, p. 1–24, 15 jul. 2016.

VILAS BÔAS, R. N. et al. Batch and continuous production of biolubricant from fusel oil and oleic acid: Lipase screening, reactor system development, and reaction optimization. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, v. 168, n. February, p. 108568, nov. 2021.

VISCARDY, S.; GASPARD, P. Viscosity in molecular dynamics with periodic boundary conditions. **Physical Review E**, v. 68, n. 4, p. 041204, 23 out. 2003.

WAFI, N. S. A. et al. Immobilized lipase-catalyzed transesterification for synthesis of biolubricant from palm oil methyl ester and trimethylolpropane. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 44, n. 11, p. 2429–2444, 16 nov. 2021.

WAIDYASOORIYA, H. M.; HARIYAMA, M.; KASAHARA, K. An FPGA Accelerator for Molecular Dynamics Simulation Using OpenCL. **International Journal of Networked and Distributed Computing**, v. 5, n. 1, p. 52, 2017.

WANG, Z. et al. Research Progress on Monitoring and Separating Suspension Particles for Lubricating Oil. **Complexity**, v. 2018, p. 1–9, 5 jun. 2018.

WILLIAMS, D. H.; WESTWELL, M. S. Aspects of weak interactions. **Chemical Society Reviews**, v. 27, n. 1, p. 57–63, 1998.

WONG, C. F. Flexible ligand–flexible protein docking in protein kinase systems. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics**, v. 1784, n. 1, p. 244–251, jan. 2008.

WU, Y. et al. Improvement of oxidative stability of trimethylolpropane trioleate lubricant. **Thermochimica Acta**, v. 569, p. 112–118, out. 2013.

YADAVA, U. Search algorithms and scoring methods in protein-ligand docking. **Endocrinology & Metabolism International Journal**, v. 6, n. 6, 13 nov. 2018.

YEH, I.-C.; HUMMER, G. System-Size Dependence of Diffusion Coefficients and Viscosities from Molecular Dynamics Simulations with Periodic Boundary Conditions. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 108, n. 40, p. 15873–15879, 1 out. 2004.

ZAINAL, N. A. et al. A review on the chemistry, production, and technological potential of bio-based lubricants. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, n. June 2017, p. 80–102, fev. 2018.

ZHANG, M. et al. Directed evolution of *Aspergillus oryzae* lipase for the efficient resolution of (R,S)-ethyl-2-(4-hydroxyphenoxy) propanoate. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 43, n. 12, p. 2131–2141, 21 dez. 2020.

ZHU, W. et al. Enzymatic Synthesis of a Polyol Ester from Levulinic Acid and Trimethylolpropane and Its Tribological Behavior as Potential Biolubricant Basestock. **Polymers**, v. 12, n. 10, p. 2256, 1 out. 2020.

ZÍGOLO, M. A.; GARCÍA LIÑARES, G.; BALDESSARI, A. New cholic acid derivatives: Biocatalytic synthesis and molecular docking study. **Steroids**, v. 107, p. 10–19, mar. 2016.