

Planejamento, Desenho, Avaliação Toxicológica e Docking Molecular de uma Nova Série de Inibidores da Enzima FAAH

Planning, Design, Toxicological Evaluation and Molecular Docking of a New Inhibitor Series Enzyme FAAH

Valter Luiz da C. Gonçalves^{1*}, Vitória Braziellas Justiniano¹, Bárbara Carracena de Souza¹,
Andrielle M. Domard¹, Rodrigo da S. Bitzer¹

¹Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO – *Doutor em Ciências pelo Instituto de Química da UFRJ.

Resumo

A inibição da enzima FAAH tem sido proposta como modo de ação potencial para várias aplicações terapêuticas. Os resultados de docking molecular mostram que as séries 2 e 3 apresentam energias de ligação global na ordem de 8.8 – 12.1 (Kcal/mol). O risco toxicológico é baixo e os valores das propriedades físico-químicas como *drug-likeness* e *drug-score* qualificam as séries 2 e 3 a candidatos a ensaios *in vitro* e *in vivo*.

Palavras-chaves: Endocanabinóide, Inibidores da Enzima FAAH, Modelagem Molecular

Abstract

Inhibition of FAAH enzyme has been proposed as a potential mode of action for various therapeutic applications. Molecular docking results showed that at 2 and 3 sets have overall binding energy in the range of 8.8 - 12.1 (kcal/mol). The toxicological risk is low and the values of the physico-chemical properties as drug-likeness and drug-score qualify the series 2 and 3 candidates for *in vitro* assays and *in vivo*.

Keywords: Endocannabinoid, Inhibitors of the Enzyme FAAH, Molecular Docking

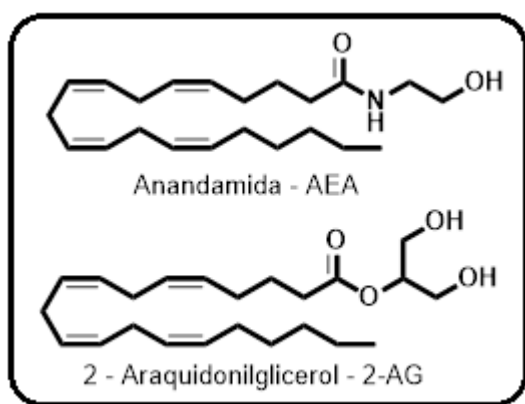
INTRODUÇÃO

O sistema endocanabinóide (SEC) é formado por um grupo de endocanabinóides e seus receptores transmembranares denominados canabinóide 1 e 2 (CB), assim como por proteínas responsáveis pela sua biossíntese, recaptação e degradação. O SEC está envolvido numa variedade de processos celulares tanto no sistema nervoso central quanto no periférico assim como em outros sistemas (PERTWEE, 2014).

Estudos mostraram que a modulação dos receptores CB1 e CB2 utilizando agonistas como agentes terapêuticos apresentam limitações. Isto se deve ao perfil de efeitos colaterais indesejáveis que estas substâncias exógenas exercem ao ativarem os receptores CB, incluindo disforia, tontura, efeitos na piora da coordenação motora e memória (CRAWLEY et al., 1993).

Os endocanabinóides, N-araquidonoiletanolamida – (AEA) e o 2-araquidonoilglicerol (2-AG), desempenham suas funções biológicas ao se ligarem aos receptores CB1 e CB2, modulando diversos processos fisiopatológicos associados à cognição, percepção da dor, inflamação, apetite, esclerose múltipla, câncer, esquizofrenia, transtornos de estresse pós-traumáticos, algumas doenças intestinais e cardiovasculares entre outros (DI MARZO, 2009; BENSON et al., 2014; SCOTTER et al., 2010; MOUSLESCH e VALLA, 2009).

Figura 1. Endocanabinóides - AEA e 2-AG



Além dos efeitos fisiológicos o aumento da concentração de AEA nos tecidos melhora a eficiência da resposta dos receptores CB em uma série de distúrbios, sem apresentar os efeitos indesejados exercidos pelos agonistas exógenos. Além de modular o sítio de ligação, AEA exerce uma ação específica sobre o sítio alostérico do receptor CB. O sítio alostérico promove maior estabilização sobre as subunidades acopladas a proteína G do receptor CB formando um complexo ternário estável que impede os efeitos deletérios (PERTWEE, 2005; PRETOSINO e DI MARZO, 2010).

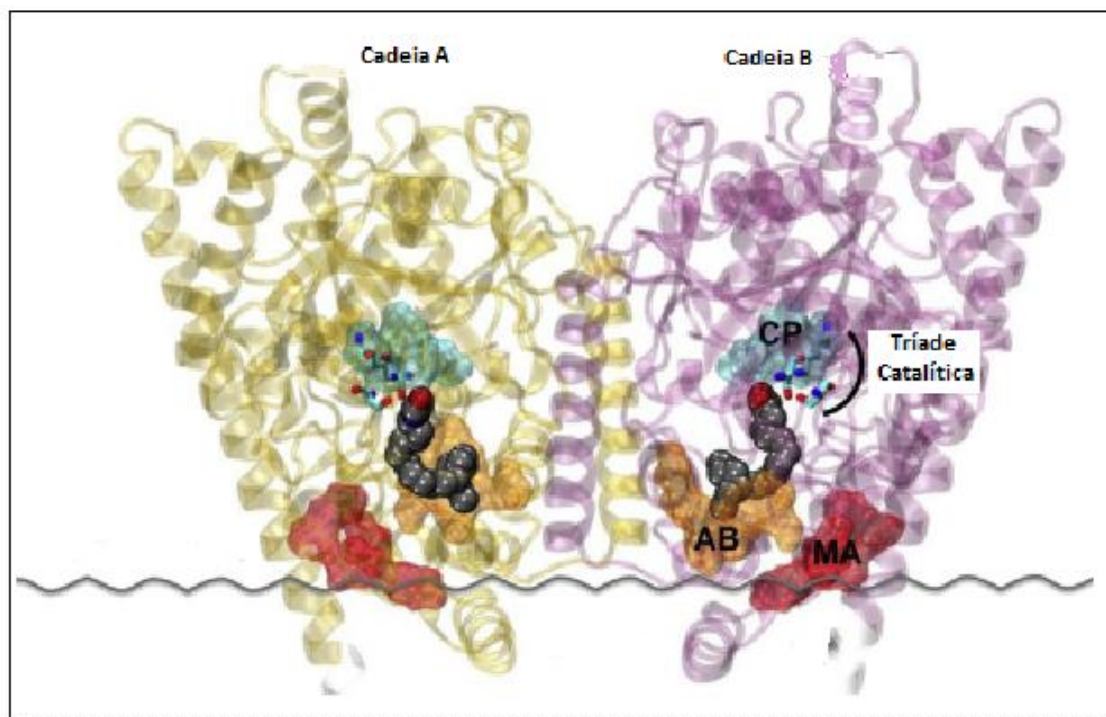
Entretanto, o principal endocanabinóide, a AEA, sofre a ação de degradação da enzima hidrolase de amidas de ácidos graxos (FAAH). Assim, a aplicação terapêutica da anandamida nos processos fisiopatológicos é inviabilizada face ao seu curto tempo de meia vida (CRAVATT et al., 1996; SAARIO e LAITINE, 2007; MILENI et al., 2010).

A FAAH é uma proteína integral de membrana intracelular que pertence a uma grande família de enzimas que compartilham uma região altamente conservada contendo 130 aminoácidos denominada de “Serina Hidrolases” (GIANG e CRAVATT, 1997).

A enzima FAAH é composta por duas cadeias peptídicas e possui três regiões que permitem acesso ao seu sítio catalítico, figura 2. O canal de acesso à membrana (MA), marcado em vermelho, é a região responsável por conectar a membrana ancorada na face da enzima ao seu sítio catalítico. A bolsa de ligação da cadeia acila (AB) marcada em laranja é região contendo uma cavidade hidrofóbica onde ocorrem as reações catalíticas. E por último, a porta citosólica (CP), marcada em azul, é uma cavidade hidrofílica permeada por moléculas de água e que permite a saída dos produtos de catalise enzimática para o citoplasma (PALERMO et al., 2015).

A FAAH está presente em muitos tecidos que formam: o cérebro, intestinos, fígado, testículos, útero, rim, tecidos oculares, do baço e do pulmão (THOMAS et al., 1997). Dentro do cérebro, a expressão da FAAH varia de

Figura 2. Enzima FAAH (cadeias A e B) e suas três regiões



Adaptado de Palermo et al., 2015.

uma região para outra, apresentando maior atividade no hipocampo e menor na medula. No cérebro, a FAAH é expressa muitas vezes nas mesmas células em que o receptor canabinoide CB1 está expresso. No sistema imune, os linfócitos e macrófagos expressam FAAH e a expressão é um pouco menor do que no SNC (EGERTOVA et al., 1998).

Vários estudos têm demonstrado que os inibidores seletivos da enzima FAAH podem oferecer uma abordagem terapêutica racional no tratamento de determinadas doenças e estados, onde a maior atividade endocanabinoide traz um benefício máximo, uma vez que a vantagem da inibição da enzima sobre a ação direta de agonistas canabinóides pode resultar em maior seletividade, como seria aumentar a atividade do sistema endocanabinoide apenas em locais onde a produção dos endocanabinóides está ocorrendo (NICOLUSSI, et al., 2014; DUNCAN, et al., 2014; FAURE, et al., 2014).

Desta forma, no presente estudo propomos a obtenção de uma nova série de inibidores da enzima FAAH através de modificação molecular da série 2, com

posterior avaliação das séries 2 e 3 por Docking Molecular e obtenção de suas propriedades físico-químicas e toxicológicas.

METODOLOGIA

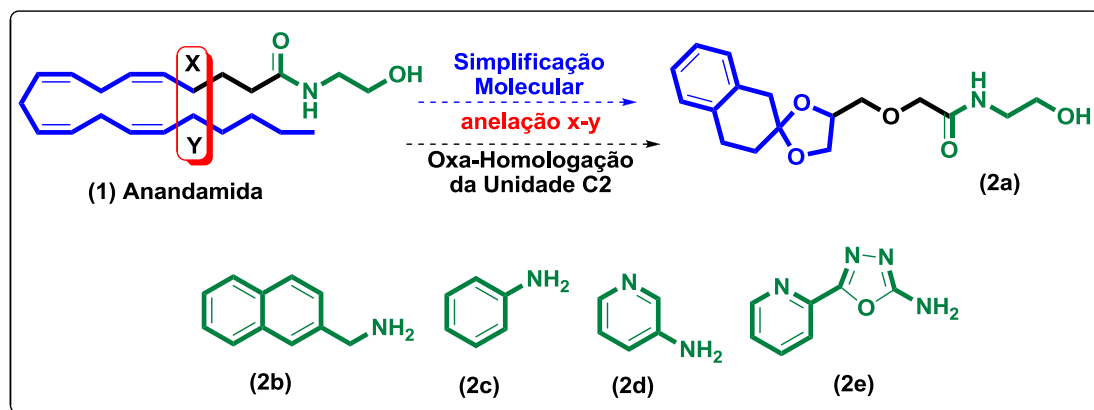
Planejamento e Desenho Estrutural da Nova Série de Inibidores da FAAH

Inserido no paradigma multidisciplinar da Química Medicinal no presente trabalho visamos o planejamento e o desenho da nova série de inibidores da enzima FAAH a partir da modificação molecular da série (2a-e), estruturalmente delineados explorando o padrão estrutural contendo anel spiro-benzílico, conforme os esquemas 1 e 2.

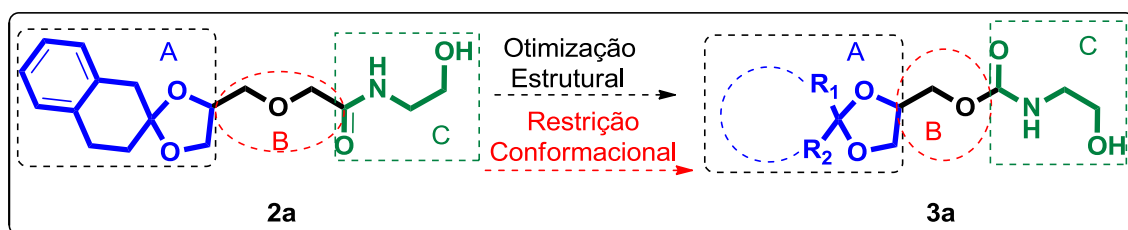
A nova série (3a-e) desenhada a partir do padrão estrutural (2a), visa estudar a influência de mudanças na natureza da região B (em vermelho) de (2a), utilizando a técnica de otimização estrutural mantendo o núcleo spiro-benzílico por simplificação molecular, seguida de uma restrição conformacional, esquema 2. A região A foi mantida inalterada, enquanto na região C foram utilizados os

mesmos substituintes da série 2 na nova série 3.

Esquema 1. Gênese do padrão estrutural da série (2a-e) desenhados como inibidores da enzima FAAH



Esquema 2. Planejamento e desenho da nova série (3a-e) a partir do padrão estrutural (2a)



Estudos de Docking Molecular

A construção do modelo da enzima FAAH1 humana ocorreu a partir da superposição entre as sequências das estruturas cristalinas das enzimas (ID 3OJ8A e 3PPMA) em complexo com os ligantes (ID OJ8 e JG1) a partir do Protein Data Bank. O modelo foi validado com 96% de qualidade usando o servidor completamente automatizado SWISS-MODEL.

O programa AutoDock Tools foi empregado para preparação dos arquivos de entrada para as enzimas e ligantes das séries 2 e 3 no formato pdbqt. Antes do docking, os ligantes nativos e moléculas de águas foram manualmente removidos da estrutura da enzima 3PPMA, assim como adicionados átomos de hidrogênio polares e cargas de Kollman. A localização nativa dos inibidores

(OJ8 e JG1) co-cristalizados na estrutura da enzima 3PPMA, foram utilizados como referência para orientar o docking (MORRIS et al., 2009). O programa AutoDock Vina foi utilizado para implementar a operação de docking molecular entre a estrutura tridimensional experimental de FAAH - 3PPMA e os ligantes das séries 2 e 3, para explorar os potenciais modos de ligação do complexo ligante - enzima (TROTT e OLSON, 2010).

Predição de Propriedades Físico-Químicas e de Risco Toxicológico In Silico

OSIRIS Property Explorer e Chemicalize foram utilizados para estimar o risco de efeitos tóxicos, tais como: tumorigênico, mutagênico, irritante e de efeitos reprodutivos, assim como para propriedades físico-químicas relevantes para

fármacos, tais como: CLogP, LogS, drug-likeness (fármaco-similar/semelhança), drug-score (ORGANIC CHEMISTRY PORTAL, 2015).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos de Docking MolecularAs energias de ligação entre o complexo (ligante – enzima) para as séries 2 e 3 e o sítio ativo da enzima 3PPMA, estão na tabela 1.

Os ligantes das séries 2 e 3 foram avaliados quanto a sua capacidade de ligação para formação do complexo (ligante-enzima) de forma individual nos ensaios de docking molecular utilizando o programa AutoDock Vina. O valor de energia de ligação global para cada complexo variou entre 8.8 – 12.1 (Kcal/mol).

Os ligantes co-cristalizados experimentalmente no sítio ativo da enzima FAAH, OJ8 considerado reversível e JG1 não reversível, apresentaram energias de ligação global de -10.3 e -9.4, respectivamente. Estes dados mostram que vários ligantes das séries 2 e 3 apresentaram energias de ligação global na formação do complexo (ligante-enzima) com valores superiores às encontradas para os ligantes co-cristalizados na enzima FAAH.

As energias de ligação global obtidas para os complexos contendo os ligantes (2b, 3b e 3e) apresentaram valores acima de 11(Kcal/mol), enquanto os ligantes (2a e 3a) valores menores que 9 (Kcal/mol). Estes resultados sugerem que a maior energia de ligação do complexo contendo os ligantes (2b, 3b e 3e) pode estar relacionada as interações do tipo $\pi - \pi$ entre os anéis da região C dos ligantes e o resíduo de aminoácidos Fenilalanina 192 do sítio ativo da enzima.

A figura 3 mostra o complexo entre o sítio ativo da enzima 3PPMA e o inibidor 3e. A linha tracejada em amarelo mostra as interações entre os aminoácidos [Ser 217, Ser 241 e Lis 142] da tríade catalítica da enzima e a estrutura do inibidor 3e.

A retirada do fragmento metileno (–CH₂) das estruturas químicas da série 2 para

gerar a série 3 restringe a liberdade conformacional da região B. Os resultados mostram que esta estratégia alterou a energia de ligação global comparando o mesmo par de substituinte da região C nas séries 2 e 3. A maior diferença ocorreu no par dos ligantes (2e e 3e) de 0.6 (Kcal/Mol) na energia de ligação global.

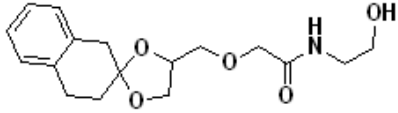
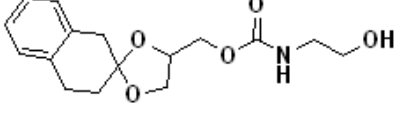
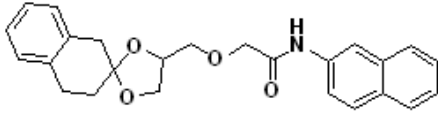
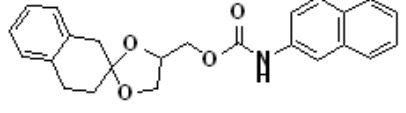
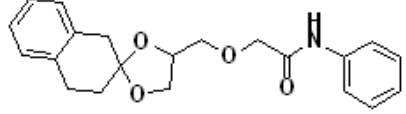
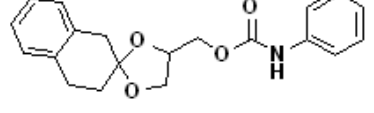
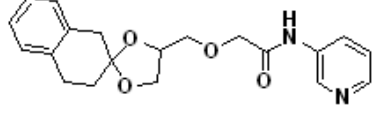
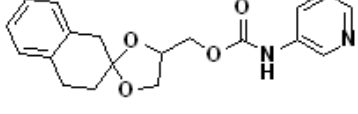
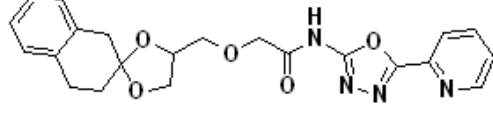
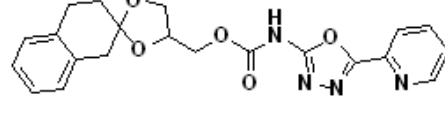
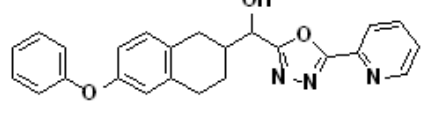
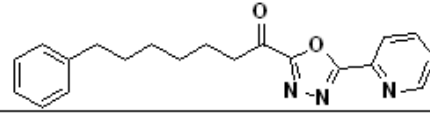
Os resultados de Docking molecular indicam que as séries 2 e 3 apresentam padrão estrutural com características que permitem a interação com o sítio de ligação e ativo da enzima FAAH que são constituídos pelos aminoácidos (Metionina 191 e Serina 217) e (Lisina 142, Serina 217 e Serina 241), respectivamente.

Predição de Propriedades Físico-Químicas e de Risco Toxicológico In Silico

Atualmente, várias abordagens têm sido desenvolvidas para avaliar a drug-likeness (fármaco-similaridade/semelhança) de compostos bioativos a partir de descritores topológicos, impressões digitais da estrutura molecular e outras propriedades físico-químicas, tais como peso molecular (PM), solubilidade em água (LogS) e coeficiente de partição (CLogP) (TETKO, 2005).

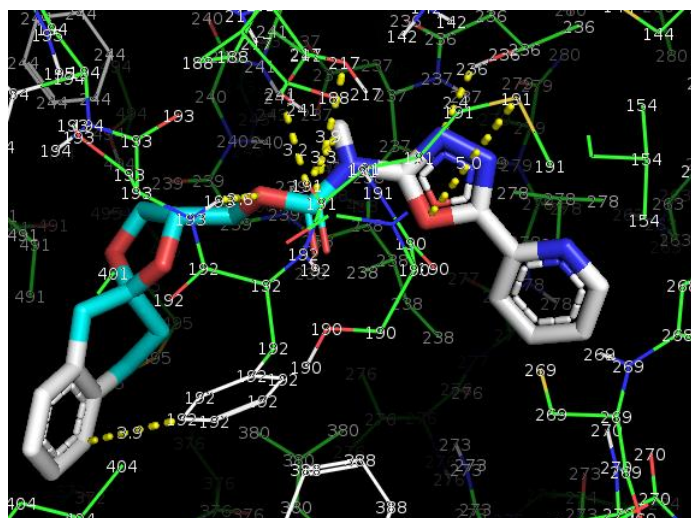
Neste trabalho, o programa de código aberto OSIRIS foi utilizado para prever a drug-likeness, LogS, CLogP, PM, drug-score e o risco de efeitos toxicológicos para as estruturas dos ligantes das séries 2 e 3 e dos ligantes co-cristalizados na estrutura da enzima 3PPMA (JG1 e OJ8).

Tabela 1 – Energias de ligação das séries 2 e 3 por docking molecular

Ligantes	Estruturas	Score (Kcal/Mol) *	Diferença (Kcal/Mol)
		3PPMA	
2a		-8.8	0.4
3a		-9.2	
2b		-11.1	0.1
3b		-11.2	
2c		-9.6	0.2
3c		-9.8	
2d		-9.5	0.3
3d		-9.8	
2e		-11.5	0.6
3e		-12.1	
OJ8		-10.3	-
JG1		-9.4	-

Score (Kcal/Mol) * – energias de ligação global das estruturas das séries 2 e 3 e dos ligantes co-cristalizados no sítio ativo da enzima 3PPMA

Figura 3. Inibidor 3e e o sítio ativo da enzima FAAH



O OSIRIS possui um banco de dados de 3300 estruturas químicas de medicamentos comercializados e de 15000 compostos químicos disponíveis comercialmente da empresa FLUKA. Esse conjunto de dados é utilizado para avaliar e determinar a frequência de ocorrência de cada fragmento da

estrutura do ligante individual analisado. Além de prever as propriedades físico-químicas e de risco toxicológico, o programa estima a drug-score. Esta é uma medida do potencial de compostos químicos para satisfazer os critérios para se tornar um possível candidato a fármaco. A drug-score cria uma pontuação geral estimada pela combinação dos resultados de CLogP, LogS, PM, drug-likeness e o registro de riscos de toxicidade (ORGANIC CHEMISTRY PORTAL, 2015).

Os resultados obtidos por estimativa computacional *in silico* para as propriedades toxicológicas dos ligantes das séries 2 e 3, estão na tabela 2. Os resultados da avaliação dos riscos toxicológicos por meio da base de dados OSIRIS, mostram que os ligantes das séries 2 e 3 não apresentaram resultados positivos para mutagenicidade, efeitos irritantes, efeitos reprodutivos e atividade tumorigênica. Como pode ser observado na tabela 2, apenas os ligantes 2e e 3e apresentaram indicações de risco positivo para efeito tumorigênico.

Tabela 2 – Avaliação do risco de toxicidade dos ligantes e propriedades físico-químicas

Ligantes	Risco Toxicológico				Propriedades Físico-Químicas	
	Mutagênico	Tumorigênico	Irritante	Efeitos reprodutivos	Drug-likeness	Drug-Score
2a	(-)	(-)	(-)	(-)	-1.93	0.51
3a	(-)	(-)	(-)	(-)	-11.5	0.35
2b	(-)	(-)	(-)	(-)	-2.74	0.31
3b	(-)	(-)	(-)	(-)	-14.1	0.24
2c	(-)	(-)	(-)	(-)	-0.28	0.58
3c	(-)	(-)	(-)	(-)	-10.2	0.36
2d	(-)	(-)	(-)	(-)	-0.67	0.58
3d	(-)	(-)	(-)	(-)	-8.7	0.41
2e	(-)	(+)	(-)	(-)	0.31	0.32
3e	(-)	(+)	(-)	(-)	-7.7	0.18
OJ8	(-)	(-)	(-)	(-)	0.8	0.45
JG1	(-)	(-)	(-)	(-)	-12.3	0.32

Legenda: previsão de risco negativo (-) e positivo (+). Drug-likeness (faixa de -13 a 7). Drug-score (0-1)

Uma característica estrutural presente nas estruturas químicas dos ligantes 2e e 3e é a presença de mais de um anel aromático que na análise de avaliação de risco pode estar contribuindo com uma pontuação maior de acordo com o método utilizado pela base de dados do OSIRIS, não significando que a estrutura vá efetivamente apresentar este risco, para esta confirmação seriam necessários testes *in vitro* e *in vivo*.

Os resultados de drug-likeness e drug-score para as séries 2 e 3 variaram de (-11.5 a 0.31) e (0.18 a 0.58), respectivamente. De forma geral, a restrição conformacional

altera os valores de drug-likeness e drug-score comparando o mesmo par de substituinte da região C nas séries 2 e 3, como pode ser observado na tabela 2. Contudo, os resultados permanecem dentro da faixa padrão para estas duas propriedades físico-químicas (ORGANIC CHEMISTRY PORTAL, 2015). Os resultados obtidos por estimativa computacional *in silico* das propriedades físico-químicas utilizadas para predição das fases de absorção, distribuição, metabolismo, excreção - ADME dos ligantes das séries 2 e 3, estão na tabela 3.

Tabela 3 – Propriedades físico-químicas dos ligantes

Ligantes	PM	cLogP	LogS	PSA/Å ²	HBA	HBD	nrotb
2a	321,4	1.01	-1.95	77.02	5	2	6
3a	307,1	1.06	-2.65	77.02	4	2	5
2b	417,5	3.49	-5.19	56.79	4	1	6
3b	403,0	4.19	-5.78	56.79	3	1	5
2c	353,4	2.31	-3.49	56.79	4	1	5
3c	339,4	3.29	-4.36	56.79	3	1	4
2d	354,4	1.59	-2.87	69.68	5	1	5
3d	340,1	2.29	-3.57	69.68	4	1	4
2e	422,4	1.88	-4.56	108.6	8	1	6
3e	408,1	2.59	-5.26	108.6	7	1	5
OJ8	414,2	3.66	-5.66	81.27	4	1	5
JG1	335.2	4.05	-4.71	68.88	4	0	9

Legenda e valores de referência: PM – Peso Molecular (PM < 450); cLogP – Coeficiente de Partição (cLogP < 5); LogS – Solubilidade aquosa (LogS ~ -4); PSA – Área de Superfície Polar (PSA/Å² 60~130 Å²); HBA – Átomos aceptores de Hidrogênio (HBA <10); HBD – Átomos Doadores de Hidrogênio (HBD <3); nrotb – Número de ligações rotacionáveis (nrotb < 8)

Os ligantes das séries 2 e 3 apresentaram valores das propriedades físico-químicas compatíveis com os de referência parametrizados para fármacos que atuam no sistema nervoso central. Os dados mostram que a retirada do fragmento metileno (-CH₂) no processo de planejamento por restrição conformacional levando ao desenho da série 3

a partir da série 2, parece influenciar muito pouco nos valores das propriedades físico-químicas quando são comparados os pares de ligantes das séries 2 e 3 contendo o mesmo grupo substituinte na região C da estrutura química.

A partir dos estudos de Lipinski (2004), o conjunto de propriedades físico-

químicas como as descritas na tabela 3, vem sendo utilizadas para estimar a solubilidade aquosa e permeabilidade de compostos ativos e compreendem os primeiros passos para uma boa biodisponibilidade por via oral. A solubilidade aquosa de um composto afeta significativamente as suas características de absorção e de distribuição. Tipicamente, uma baixa solubilidade, leva a uma má absorção. Essa condição ficou conhecida como “Regra dos Cinco”, porque para cada um dos parâmetros, os valores encontrados eram próximos a cinco ou múltiplos de cinco (LIPINSKI, 2004).

A combinação das propriedades físico-químicas e de predição dos riscos de toxicidade são usadas para julgar o potencial total de estruturas químicas que são qualificadas para ensaios farmacológicos e posterior uso em um determinado alvo terapêutico (TETKO, 2005). Neste sentido os ligantes das séries 2 e 3 apresentaram valores de drug-score que os qualificam para a sua obtenção por síntese química e posterior avaliação farmacológica em ensaios *in vitro* e *in vivo*.

CONCLUSÃO

Os resultados do docking molecular confirmaram a formação dos complexos (enzima – ligante) entre as estruturas químicas das séries 2 e 3 e a estrutura da enzima FAAH (3PPMA). As energias de ligação global dos ligantes (2b, 2e e 3e) apresentaram valores superiores aos dos ligantes co-cristalizados na estrutura da enzima. Estes resultados corroboram o planejamento e desenho estrutural da nova série de inibidores da enzima FAAH a partir da construção da série 2 oriunda inicialmente do ligante endógeno anandamida por estratégias de química medicinal.

Os resultados de docking molecular demonstraram ainda que a restrição na liberdade conformacional da série 2, influencia de forma direta as energias de ligação global da série 3, que apresentaram valores entre 0.1 a 0.6 (Kcal/Mol) superiores comparando os

pares de ligantes com mesmo substituinte na região C da estrutura.

Os dados da predição de risco de toxicidade para as séries 2 e 3 mostraram risco baixo. Apenas dois ligantes apresentaram risco relativo em apenas uma medida. Já as análises de propriedades físico-químicas como drug-likeness e drug-score e as relacionadas a Regra do Cinco estimadas para as séries 2 e 3 satisfazem aos parâmetros farmacocinéticos e qualificam o padrão estrutural das séries para ensaios *in vitro* e *in vivo*.

REFERÊNCIAS

1. BENSON, N. et al. A Systems Pharmacology Perspective on the Clinical Development of Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibitors for Pain. *CPT: Pharmacometrics Systems Pharmacology*. 3, e91; 2014.
2. CRAVATT, B. F. et al. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. *Nature*. 384, 6604, 83-87. 1996.
3. CRAWLEY, J. N. et al. Anandamide, an Endogenous Ligand of the Cannabinoid Receptor, Induces Hypomotility and Hypothermia *in Vivo* in Rodents. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 46. 4, 967-972. 1993.
4. DI MARZO, V. The endocannabinoid system: Its general strategy of action, tools for its pharmacological manipulation and potential therapeutic exploitation. *Pharmacological Research*, 60, 2, 77-84. 2009.
5. DUNCAN, K. K.; OTRUBOVA, K.; BOGER, D. L. α -Ketoheterocycle inhibitors of fatty acid amide hydrolase: Exploration of conformational constraints in the acyl side chain. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 22. 2763–2770. 2014.
6. EGERTOVA, M. et al. A new perspective on cannabinoid signalling: complementary localization of fatty

- acid amide hydrolase and the CB1 receptor in rat brain. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 265, 1410, 2081-2085. 1998.
7. FAURE, L.; NAGARAJAN, S.; HWANG, H. Synthesis of Phenoxyacyl-Ethanolamides and Their Effects on Fatty Acid Amide Hydrolase Activity. *The Journal of Biological Chemistry*. 289, 13, 9340–9351, 2014.
 8. GIANG, D. K., e CRAVATT. B. F. Molecular characterization of human and mouse fatty acid amide hydrolases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94, 6, 2238-2242. 1997.
 9. LIPINSKI, C. A. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*. 1, 4, 337-341. 2004.
 10. MILENI, M. et al. Crystal Structure of Fatty Acid Amide Hydrolase Bound to the Carbamate Inhibitor URB597: Discovery of a Deacylating Water Molecule and Insight into Enzyme Inactivation. *Journal of Molecular Biology*, 400, 4, 743-754. 2010.
 11. MORRIS, G. M. et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal Computational Chemistry*. 30, 16, 2785-2791. 2009.
 12. MOUSLECH, Z. e VALLA. V. Endocannabinoid System: An overview of its potential in current medical practice. *Neuroendocrinology Letters*, 30, 2, 153-179. 2009.
 13. NICOLUSSI, S. et al. Correlating FAAH and anandamide cellular uptake inhibition using N-alkylcarbamate inhibitors: From ultrapotent to hyperpotent. *Biochemical Pharmacology*. 92, 669–689. 2014.
 14. ORGANIC CHEMISTRY PORTAL. 2015. Available at <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>. Acessado em 22 de setembro de 2015.
 15. PALERMO, G. et al. Computational insights into function and inhibition of fatty acid amide hydrolase. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 91, 15-26. 2015.
 16. PERTWEE, R. G. Elevating endocannabinoid levels: pharmacological strategies and potential therapeutic applications. *Proceedings of the Nutrition Society*. 73, 96–105. 2014.
 17. PERTWEE, R. G. The therapeutic potential of drugs that target cannabinoid receptors or modulate the tissue levels or actions of endocannabinoids. *Aaps Journal*. 7, 3, E625-E654. 2005.
 18. PETROSINO, S. e DI MARZO, V. FAAH and MAGL inhibitors: Therapeutic opportunities from regulating endocannabinoid levels. *Current Opinion in Investigational Drugs*, 11, 1, 51-62. 2010.
 19. SAARIO, S. M. e LAITINEN. J. T. Therapeutic potential of endocannabinoid-hydrolysing enzyme inhibitors. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 101, 5, 287-293. 2007.
 20. SCOTTER, E. L. et al. The endocannabinoid system as a target for the treatment of neurodegenerative disease. *British Journal of Pharmacology*. 160, 3, 480-498. 2010.
 21. TETKO, I. V. Computing chemistry on the web. *Drug Discovery Today*. 10, 22, 1497–1500. 2005.
 22. THOMAS, E. A. et al. Fatty acid amide hydrolase, the degradative enzyme for anandamide and oleamide, has selective distribution in neurons within the rat central nervous system. *Journal of Neuroscience Research*. 50, 6, 1047-1052. 1997.
 23. TROTT, O. e OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading.

Journal Computational Chemistry. 31,
2. 455-61. 2010.

Contato:

Nome: Valter L. C. Gonçalves

e-mail: valsax@gmail.com