

# *PLANEJAMENTO, MODELAGEM MOLECULAR E TOXICOLOGIA IN SILICO DE NOVAS CLASSES DE ÉSTERES INIBIDORES DA HIDROLASE DE AMIDAS DE ÁCIDOS GRAXOS 1 (FAAH1) DERIVADOS DO GLICEROL*

*PLANNING, MOLECULAR MODELING AND INSILIC TOXICOLOGY OF NEW CLASSES OF ESTER INHIBITORS OF HYDROLASE OF FATTY ACID AMIDES 1 (FAAH1) DERIVED FROM GLYCEROL*

**Valter Luiz da C. Gonçalves\*, Andrielle Mendes Domard, Deborah Castro Ferreira e Mayara Conde Almeida**

*Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO – \*D.Sc. pelo Instituto de Química da UFRJ.*

## **RESUMO**

O SEC é um sistema neuromodulador que age na regulação de diversas patologias. É composto pelos receptores canabinóides CB1 e CB2, os ligantes endógenos AEA e 2-AG e as enzimas FAAH1 e a MAGL, envolvidas respectivamente no metabolismo destes ligantes. Estudos comprovam que a inibição da enzima FAAH1 e consequente elevação da concentração de AEA consiste em uma estratégia terapêutica promissora no tratamento das doenças reguladas por este sistema, com menos risco de promover os efeitos adversos. Neste trabalho teórico-experimental investigamos um grupo de novos ligantes, derivados de ésteres, candidatos em potencial para a inibição reversível da enzima FAAH1. Quatro etapas foram utilizadas para a realização do estudo: desenho de estruturas de ésteres através de técnicas de química medicinal; investigação de efeitos toxicológicos, avaliação das características físico-químicas e da regra de lipinski utilizando bases de dados e servidores online; e ensaio de docking molecular semirrígido em plataformas e softwares. As análises levaram em consideração a baixa probabilidade de causar risco de efeitos toxicológicos, a aprovação da Regra de Lipinski, e a proximidade das estruturas com o sítio catalítico da enzima FAAH1, dispoendo da Ser241 como referência, e simultaneamente, realizando uma triagem em cada etapa. Sendo assim, o estudo resultou em 26 estruturas com características toxicológicas e físico-químicas satisfatórias e capazes de interagir com a enzima FAAH1 de modo a fazer uma inibição indireta dos receptores canabinóides sem efeitos adversos.

**Palavras-chave:** inibidores da FAAH1, ésteres, dor neuropática.

## **ABSTRACT**

The ECS is a neuromodulator system that acts in the regulation of several pathologies. It is composed of CB1 and CB2 cannabinoid receptors, AEA and 2-AG endogenous ligands, and FAAH1 and MAGL, enzymes involved in the metabolism of these ligands respectively. Studies have shown that the inhibition of the FAAH1 enzyme and consequent elevation of AEA concentration is a promising therapeutic strategy in the treatment of neuropathic pain, with fewer risk of adverse effects. This is a theoretical and experimental work aimed at investigating a group of new ligands derived esters, potential candidates for the reversible inhibition of FAAH1 enzyme, through the analysis of their physicochemical and toxicological properties and their interactions by Molecular Docking. For the accomplishment of the study, four stages were proposed: design of esters structures employing medicinal chemistry techniques; evaluation of physico-chemical characteristics and Lipinski's rule using online databases and servers; and semi-rigid molecular docking on platforms and software. The analyzes took into consideration the low probability of causing risks of toxicological effects, the approval of Lipinski's rule as well as the proximity of the structures to the catalytic site of the FAAH1 enzyme, adopting the Ser241 as reference, simultaneously performing a screening in each step, i.e., only approved structures advanced to the next step. Thus, the study resulted in 26 structures with satisfactory toxicological and physicochemical characteristics capable of interacting with the FAAH1 enzyme in order to induce indirect inhibition of the cannabinoid receptors without adverse effects.

**Keywords:** FAAH1 inhibitors, esters, neuropathic pain.

## INTRODUÇÃO

O Sistema Endocanabinóide (SEC) é um sistema neuromodulador envolvido na regulação de diversos processos fisiológicos dentre eles, a dor e inflamação (BLANKMAN; CRAVATT, 2013). Sua composição conta com os receptores canabinóides acoplados à proteína G, CB1 expresso principalmente nos neurônios do SNC, e CB2 mais expresso nas células do sistema imunológico, os bioligantes endógenos — endocanabinóides — anandamida (AEA) e 2-araquidonilglicerol (2-AG) e as enzimas amido hidrolase de ácidos graxos 1 (FAAH1) e a lipase monoacilglicerol (MAGL), envolvidas no metabolismo destes ligantes, respectivamente. É considerado um potencial alvo terapêutico, uma vez que, através do aumento na liberação dos endocanabinóides, é capaz de reduzir os sintomas, e, retardar a progressão da doença (FONSECA et al., 2013; PERTWEE, 2014).

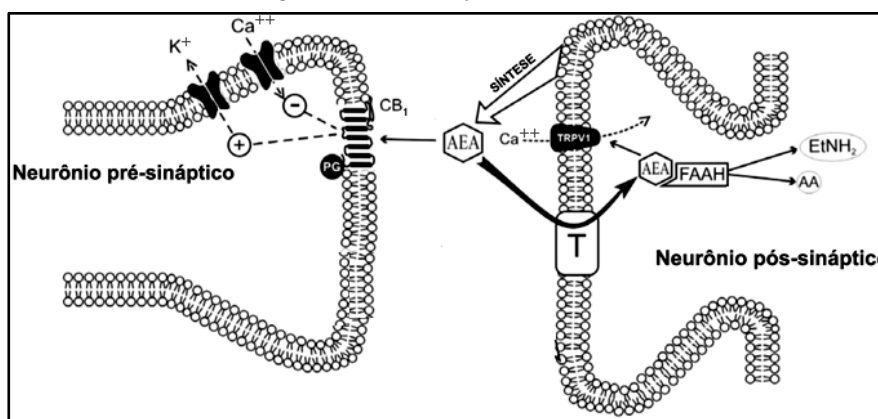
O endocanabinóide AEA é considerado um mediador retrógrado, uma vez que apresenta uma síntese diferente dos demais neurotransmissores. Ela é produzida nos neurônios pós-sinápticos através de um estímulo no momento e no local em que for necessário para diminuir a sensibilidade à dor, não havendo, portanto, necessidade de armazenamento, e rapidamente é liberada na fenda sináptica ativando os receptores CB1 na membrana pré-sináptica, abrindo os canais de potássio e fechando dos canais de cálcio, impedindo a liberação de neurotransmissores, e consequentemente bloqueando o potencial de ação e a transmissão excitatória da dor. (HONÓRIO; ARROIO; SILVA, 2006; RANG,

2012; LESSA; CAVALCANTI; FIGUEIREDO, 2016; SAITO; WOTJAK; MOREIRA, 2010; TUO et al., 2016).

Os receptores CB1 estão distribuídos predominantemente no sistema nervoso central e periférico, mas podem ser encontrados também no fígado, tecido adiposo e trato gastrointestinal, e os CB2, também são expressos no SNC, porém são mais evidentes nas células do sistema imunológico (BLANKMAN; CRAVATT, 2013; TOLEDO et al., 2015). É por conta desta variada distribuição, que o SEC está envolvido em diferentes fisiopatologias, entretanto, a ativação direta dos receptores CB pelos endocanabinóides pode apresentar efeitos adversos como hipotermia, catalepsia, amnésia e disfunção cognitiva (SAITO; WOTJAK; MOREIRA, 2010; MALDONADO; BAÑOS; CABAÑERO, 2016).

A expressão dos receptores canabinóides pelos neurônios e pelas células do sistema imunológico, garante ao sistema endocanabinóide um papel de grande relevância na dor neuropática tanto a nível periférico quanto central, a ativação do sistema acontece após a injúria fazendo a modulação da dor, inibindo os estímulos nociceptivos, além de gerar oportunidades para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas. Enquanto o CB1 faz a inibição nociceptiva impedindo a liberação de neurotransmissores e a propagação da dor ascendente o CB2 atua nas células imunológicas reduzindo a liberação dos mediadores modulando a resposta imunológica (MALDONADO; BAÑOS; CABAÑERO, 2016; MÜCKE et al., 2018).

Figura 1: Sinalização endocanabinóide

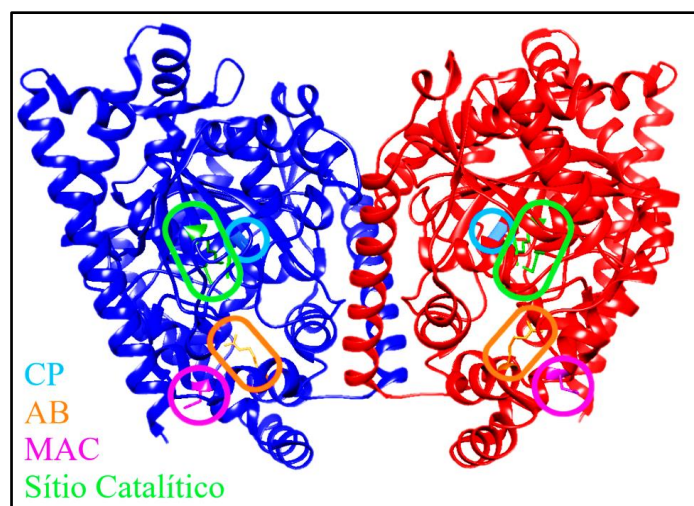


Fonte: Adaptado de Saito, Wotjak e Moreira (2010)

A enzima amido hidrolase de ácidos graxos 1 (FAAH1) (Figura 2) é uma enzima homodimérica integral de membrana pós-sinápticas, pertencente a duas classes de enzimas, a família amidase e a serina hidrolase, esta última são enzimas que devem sua atividade catalítica à uma serina nucleofílica (BLANKMAN; CRAVATT, 2013), seu sítio catalítico possui uma estrutura complexa composta por três canais: o canal de acesso à membrana (MAC), pelo qual os substratos chegam até o sítio de ligação, onde se concentra a atividade da enzima através da tríade catalítica Lis142-Ser217-Ser241, responsável pela

hidrólise e catabolismo de amidas de ácido graxo neuromoduladores, através do ataque nucleofílico da Ser241 ao grupo carbonila do seu principal substrato AEA de modo a regular sua sinalização modulando a percepção da dor (PATRICELLI; CRAVATT, 2001; CHUDYK et al., 2013; PALERMO, 2015). O outro canal é a porta citosólica (CP), que após a catálise dos substratos permite a saída dos produtos. E o último canal é a cavidade de ligação da cadeia acila (AB) que auxilia na acomodação do substrato ao longo da reação (PALERMO et al., 2015).

Figura 2: Enzima FAAH1 e seus principais sítios



Com a distribuição já bem caracterizada, a FAAH1 está presente no cérebro, fígado, intestino delgado, tecidos oculares, pâncreas, rins e em diversos outros órgãos (DEUTSCH; UEDA; YAMAMOTO, 2002). É comprovada a eficácia dos inibidores da FAAH1 e agonistas de CB1 na neuromodulação e tratamento da dor, uma vez que há o aumento da concentração de AEA, a inibição dos mecanismos catabólicos da AEA realizados pela enzima FAAH1 constitui uma das estratégias em fase de desenvolvimento (SAITO; WOTJAK; MOREIRA, 2010; BENSON et al., 2014).

Do ponto de vista farmacológico a inibição da enzima FAAH1 se mostra como uma forma eficaz na modulação do SEC, aliviando os sintomas de diferentes patologias,

as quais o SEC está envolvido, sem a ocorrência dos efeitos adversos observados em agonistas diretos do CB1, isso acontece porque a ativação direta tem como alvo o sítio ortostérico do receptor, e com a ação indireta por meio da inibição da FAAH1 que resulta no aumento da síntese da AEA há o efeito potencializado da AEA sobre o CB1, porque além da ligação ao sítio ortostérico também há ligação no sítio alostérico, permitindo uma alteração conformacional no receptor deixando-o mais estável (CAWSTON; HUNTER; GLASS, 2017; PERTWEE, 2012).

Resultados do nosso grupo ressaltaram o planejamento e desenho satisfatórios de uma série de candidatos a inibidores da FAAH1 derivados do glicerol com padrão estrutural

inovador. Além disso, ensaios de docking molecular frente a enzima FAAH1 evidenciaram um excelente perfil de inibição, tendo apresentado resultados de energia de ligação no sítio ativo da enzima (binding site) superiores ao encontrado com o ligante padrão JG1600 (co-cristalizado com o modelo obtido pelo template 2WJ1).

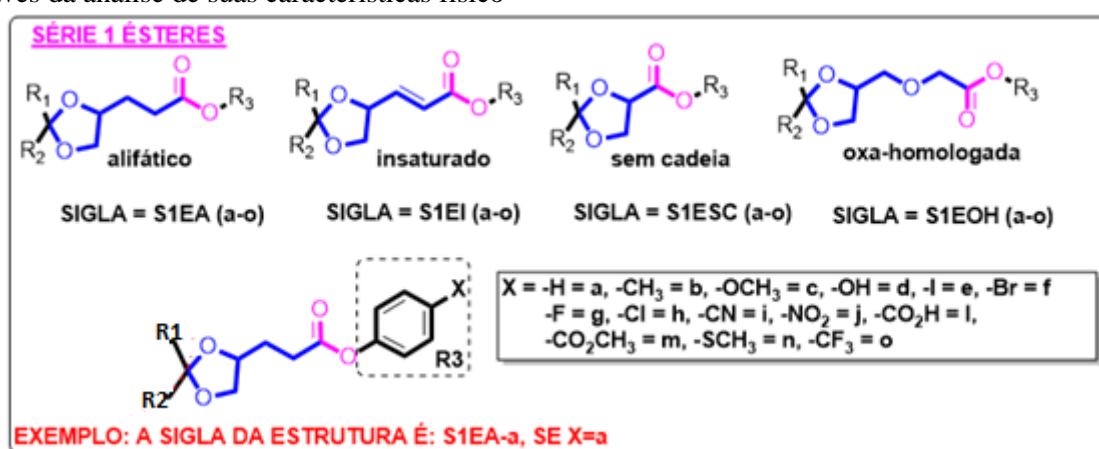
Neste trabalho nos debruçamos na investigação de um novo grupo de ligantes, derivados de ésteres, candidatos em potencial para a inibição reversível da enzima FAAH1, através da análise de suas características físico-

químicas, toxicológicas e de suas interações por meio do Docking Molecular.

## METODOLOGIA

Uma biblioteca de 56 moléculas foi estruturalmente delineada explorando o protótipo anandamida, principal substrato endógeno da enzima FAAH1, conforme mostra a figura abaixo.

Figura 3. Esquema do desenho de novos inibidores da FAAH1.



Seguindo referências da Química Medicinal a série se divide em quatro classificações contendo moléculas alifáticas, insaturadas, sem cadeia e oxa-homologadas. Possuem três diferentes radicais (R1, R2 e R3), sendo este último o mais importante, pois sofre modificações do substituinte X.

Na primeira etapa deste estudo utilizamos a Triagem Virtual (VS), pelo fato da mesma proporcionar rapidez e baixo custo para seleção dos melhores compostos ou hits de um processo de desenho e planejamento de fármacos (ALVES *et al.*, 2017). A série de ésteres foi então submetida a VS para obtenção de dados estimados das propriedades físico-químicas e in silico ADMET.

Foram utilizadas as plataformas OSIRIS Property Explorer (<http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>) e Chemicalize da ChemAxon (<http://www.chemicalize.org/>) para estimar o risco de efeitos tóxicos, tais como

perfil tumorigênico, mutagênico, irritante e de efeitos reprodutivos.

Assim como para propriedades físico-químicas relevantes para fármacos, tais como logP, Druglikeness e Drug-Score e a sua adequação a Regra de Lipinski Modificada para fármacos atuantes no sistema nervoso central.

Numa segunda etapa as moléculas candidatas com melhores resultados foram submetidas a ancoragem molecular rígida (docking) visando a compreensão do mecanismo de ligação do complexo FAAH-inibidor. A plataforma Swiss Dock (<http://www.swissdock.ch/docking>) foi utilizada para por em prática a operação entre a estrutura tridimensional experimental e os ligantes da série.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira base de dados em que foram submetidas, o PubChem, observou-se que todas



as 168 estruturas não foram previamente descritas na literatura. Extraíu-se também seus respectivos códigos SMILES. Na plataforma OSIRIS Property Explorer, foi feita a primeira triagem, as estruturas foram avaliadas de acordo com a possibilidade de causar algum efeito toxicológico (mutagenicidade, tumorigenicidade e efeito irritante e sobre o sistema reprodutor), a série 1 apresentou bons resultados em sua maioria, apenas oito estruturas, quatro continham o substituinte -CH<sub>3</sub> e quatro o substituinte -OCH<sub>3</sub>, apresentaram efeitos irritantes e duas efeitos sobre o sistema reprodutor ambas continham o -Cl como substituinte, porém uma pertencia ao grupo sem cadeia e a outra a cadeia oxa-homologada.

Com os resultados obtidos e excluindo as estruturas que apresentaram risco ou não foram reconhecidas, as estruturas aprovadas foram então submetidas a análise físico-química. Seus respectivos SMILES foram inseridos no Chemicalize a fim de obter os parâmetros físico-químicos necessários para a Regra de Lipinski modificada e efetuar mais uma triagem. Como citado anteriormente os seguintes parâmetros foram analisados em cada uma das estruturas:

- Massa molecular  $\leq 400$  Da;
- Lipofilicidade (cLogP)  $\leq 5$ ;

- Número de grupos aceptores de ligação hidrogênio (HBA)  $\leq 7$ ;
- Número de grupos doadores de ligação hidrogênio (HBD)  $\leq 3$ ;
- Área de superfície polar (PSA)  $< 90 \text{ \AA}^2$ ;
- Número de ligações rotáveis  $< 10$

As moléculas que apresentaram alguma não conformidade físico-química foram excluídas, restando 26 estruturas que não violaram a regra e apresentam um potencial farmacológico (Tabela 1), estas foram selecionadas para então realizar o *docking* com a enzima previamente tratada no UCSF Chimera, mas antes cada uma das 26 passou por uma otimização da geometria com o auxílio do Avogadro.

O servidor SwissDock agrupa os resultados em *clusters*, mas como cada *cluster* apresenta um valor de *fulfitness* diferente, os resultados foram analisados mediante a um *ranking* dos 10 melhores valores de *fulfitness* para o *docking* dos ésteres. Para a análise dos resultados de *docking* utilizou-se o UCSF Chimera. foram mensuradas as distâncias, em Angstroms (Å), da AEA e do JG1, tendo como referência a Ser241, responsável pelo início da catálise, e também as distâncias destes com os resíduos de aminoácidos determinados (Asp403, Arg428 e Thr236)

Tabela 1: Resultados físico-químicos das estruturas selecionadas

Estrutura	Massa molecular (Da)	cLogP	HBA	HBD	PSA (Å <sup>2</sup> )	Nº de ligações rotáveis
S1EA - a	338,403	4,37	3	0	44,76	5
S1EA - d	354,402	4,46	4	1	64,99	4
S1EA - g	356,393	4,52	3	0	44,76	5
S1EA - h	372,850	4,98	3	0	44,76	5
S1EA - i	363,413	4,23	4	0	68,55	5
S1EA - l	382,412	4,03	5	1	82,06	6
S1EA - m	396,439	4,38	4	0	71,06	7

S1EI - a	338,403	4,28	3	0	44,76	4
S1EI - d	352,386	4,46	4	1	64,99	4
S1EI - g	354,377	4,90	3	0	44,76	4
S1EI - i	361,397	4,62	4	0	68,55	4
S1EI - l	380,396	4,42	5	1	82,06	5
S1EI - m	394,423	4,76	4	0	71,06	6
S1ESC - a	324,376	3,76	3	0	44,76	4
S1ESC - d	326,348	3,70	4	1	64,99	3
S1ESC - f	389,245	4,77	3	0	44,76	3
S1ESC - g	328,339	4,14	3	0	44,76	3
S1ESC - i	335,359	3,86	4	0	68,55	3
S1ESC - l	354,358	3,66	5	1	82,06	4
S1ESC - m	368,385	4,00	4	0	71,06	5
S1ESC - n	356,440	4,63	3	0	44,76	4
S1ESC - o	378,347	4,88	3	0	44,76	4
S1EOH - a	354,402	3,80	4	0	53,99	6
S1EOH - d	370,401	3,50	5	1	74,22	6
S1EOH - g	372,392	3,94	4	0	53,99	6
S1EOH - i	379,412	3,66	5	0	77,78	6

A análise dos ligantes AEA e JG1 foi feita de duas formas, a primeira considera somente a pose mais próxima da Ser241 independente do valor de *fullfitness* e a segunda análise também levou em consideração a pose mais próxima da Ser241, porém as poses analisadas estavam dentro do *ranking* dos 10 melhores valores de *fullfitness*, na tentativa de criar um intervalo e verificar se os ésteres se

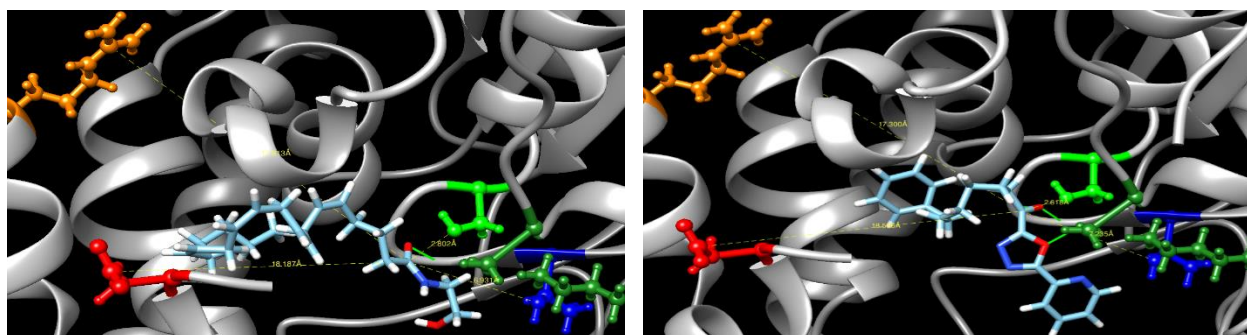
enquadrariam dentro do mesmo, estes dados foram organizados na Tabela 2 (Figuras 4).

Estes resultados serviram de comparativo para avaliar o *docking* das 26 estruturas dos ésteres propostos a fim de verificar se estes se comportam do mesmo modo. Em cada uma das 26 estruturas foram consideradas as mais próximas da Ser241 dentro do *ranking* dos 10 melhores valores de *fullfitness* (Tabela 3).

Tabela 2: Resultados do *docking* da AEA E JG1

Ligante	Cluster	Element	Fullfitness	Ser 241 O	MAC (Asp 403) C $\gamma$	CP (Thr236) O	AB (Arg 428) C $\zeta$
AEA	23	5	-1900.6748	2,802	18,187	6,931	17,813
	2	0	-1955.3464	6,092	14,781	11,537	13,347
JG1	53	0	-1734.8076	2,618	18,536	7,235	17,300
	0	0	-1895.5249	3,820	16,588	9,487	15,087

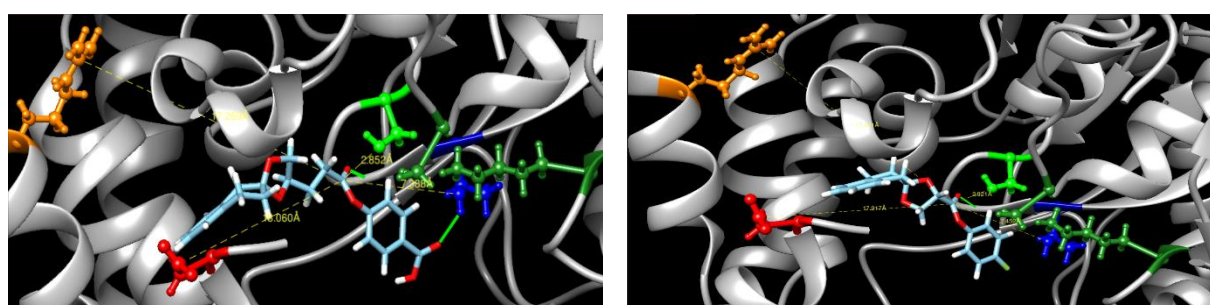
Figura 4: Representação tridimensional da AEA/ JG1 e suas distâncias com relação aos resíduos de aminoácidos



O critério utilizado para a mensuração das distâncias foi o mesmo para todas as estruturas, partindo da carbonila do ligante até o oxigênio da Ser241, o carbono gama da Asp403, o carbono zeta da Arg428 e o oxigênio da Thr236. Os resultados da AEA e do JG1 apontam que as poses mais próximas do resíduo da Ser241, não necessariamente estão

relacionadas com os melhores valores de *fullfitness*, e o mesmo princípio é válido para a análise dos ésteres. Portanto, comparando os ésteres com a AEA e JG1 percebe-se que a variação entre a proximidade com a Ser241 foi muito pequena, de modo que essa proximidade permite que todos os ligantes possam interagir com o sítio catalítico.

Figura 5: Pose da estrutura S1EA - 1 e S1ESC - g



Não houve muita variação no que diz respeito a orientação das estruturas, os resultados indicam interação nos dois canais de acesso ao sítio catalítico, enquanto a parte mais

apolar (Radicais 1 e 2) pode bloquear o canal de acesso MAC (Asp403, em vermelho), a parte que contém os substituintes interagem podendo bloquear o canal de saída CP (Thr236, em azul),

impedindo a entrada de outra estrutura tanto pela MAC quanto pela CP (Figura 5).

Tabela 3: Resultados do *docking* dos 26 ligantes ésteres

Ligante	Cluster	Element	FullFitness	Ser 241 O	MAC (Asp 403) C $\gamma$	CP (Thr236) O	AB (Arg 428) C $\zeta$
S1EA - a	0	4	-1903.0017	3,949	18,799	5,841	19,627
S1EA - d	1	2	-1899.9302	3,133	17,495	8,029	16,625
S1EA - g	0	0	-1900.8450	3,399	18,250	6,405	18,763
S1EA - h	0	1	-1899.1404	3,607	17,635	7,245	17,955
S1EA - i	0	4	-1879.4276	2,895	17,220	7,982	16,736
S1EA - l	0	4	-1895.2190	2,852	18,060	7,388	17,259
S1EA - m	0	4	-1885.0581	3,624	17,530	7,365	17,783
S1EI - a	0	2	-1871.0853	3,053	17,458	7,966	16,701
S1EI - d	0	7	-1885.2877	3,446	17,319	8,180	16,565
S1EI - g	0	0	-1888.5974	3,667	17,635	7,222	17,979
S1EI - i	0	2	-1870.8887	3,376	17,573	7,666	17,201
S1EI - l	0	3	-1885.0687	3,582	17,606	7,251	17,901
S1EI - m	0	1	-1880.8104	3,466	18,693	5,921	19,270
S1ESC - a	1	3	-1882.7838	3,511	17,011	7,931	17,083
S1ESC - d	1	1	-1892.9644	3,493	17,029	7,900	17,115
S1ESC - f	0	0	-1879.9750	2,912	17,877	7,521	17,147
S1ESC - g	0	3	-1881.9558	2,921	17,917	7,452	17,231
S1ESC - i	1	5	-1872.9727	2,925	17,862	7,526	17,148
S1ESC - l	0	7, 8 e 9	-1882.2827	2,917	17,905	7,465	17,215
S1ESC - m	0	3	-1871.7712	2,915	17,857	7,547	17,118
S1ESC - n	0	2	-1885.3535	2,926	17,899	7,471	17,211
S1ESC - o	2	0	-1863.0503	2,913	17,878	7,521	17,147
S1EOH - a	0	2	-1867.5793	3,899	17,861	6,909	18,491
S1EOH - d	4	2	-1869.5564	2,881	17,836	7,412	17,298
S1EOH - g	2	1	-1866.0428	3,853	18,384	6,297	19,120
S1EOH - i	1	0	-1857.0282	3,550	17,413	7,709	17,272



Analisando os ésteres pelo tipo de cadeia, é possível observar que o tipo “sem cadeia” permite que as estruturas se aproximem mais do sítio catalítico do que as outras cadeias. Já a análise dos substituintes revela que apesar da maioria das estruturas possuir átomos eletronegativos, eles vão influenciar de formas diferentes na cadeia.

Fazendo uma extrapolação de dados na tentativa de traçar um perfil e observar esta influência foram utilizados os valores energéticos de *fullfitness* obtidos na tabela 3 e os parâmetros estereoeletrônicos de Hammett ( $\sigma$ ) de cada substituinte no Radical 3 na posição *para* correspondente, para elaborar a seguinte equação:  $\text{Log fullfitness H} / \text{fullfitness X}$ . Vale ressaltar que esta análise não visa a exclusão de substituintes, uma vez que apresentam energia e distância de interesse para o estudo, apenas investigar como os substituintes se comportam pela característica eletrônica. Os resultados estão apresentados na Figura 6, a seguir, onde pode-se observar como cada substituinte interfere na cadeia e conseqüentemente na interação com o resíduo da Ser241.

Quanto maior o valor do Log em relação ao  $\sigma$ , mais o substituinte deixa a carbonila da estrutura suscetível ao ataque nucleofílico da Ser241 por conta do efeito estereoeletrônico, no qual o substituinte “puxa” a densidade

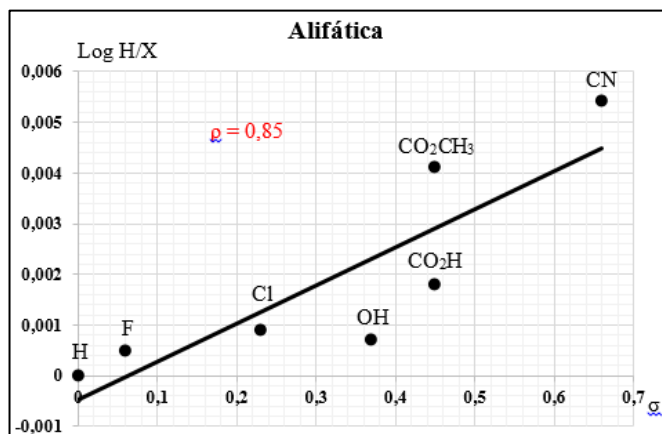
eletrônica para si deixando a carbonila com uma carga parcial ( $\delta$ ) positiva formando um momento dipolo facilitando e acelerando a reação através da diminuição da energia de ativação. O valor de  $\rho$  demonstra a suscetibilidade da reação frente ao efeito do substituinte quanto mais próximo de 1, mais sensível é a reação aos substituintes.

Os substituintes H, F, OH e CN estão presentes em todas as cadeias constatando que não só foram aprovados nas etapas físico-química e toxicológica, mas também estão aptos para interagir com a Ser241.

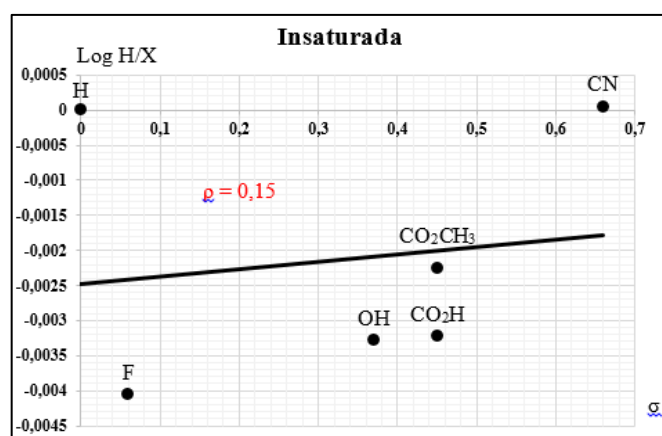
Também pode-se observar um perfil no qual os substituintes OH,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$  e  $\text{CO}_2\text{H}$  se comportam de maneira similar nas cadeias alifática, insaturada e sem cadeia, sendo que o OH parece ter menos influência sobre a carbonila, estando abaixo da reta em todos os tipos, com exceção da insaturada e alifática, nas quais o F é ainda mais baixo, e em contrapartida o CN é o que tem os melhores resultados estando sempre acima, mais próximo da reta, com exceção da insaturada, e, diferentemente do  $\text{CF}_3$  na sem cadeia, que apesar de estar acima da reta está mais distante, ou seja, sua contribuição também não é uma das mais favoráveis.

Figura 6: Valores referentes a cadeia do tipo Alifática, Insaturada, sem cadeia e resultados da equação aplicada

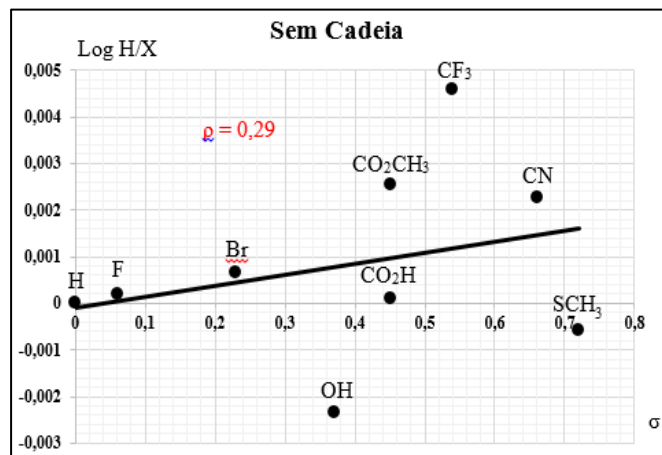
Substituente	Sigma ( $\sigma$ )	fullfitness	Log H/X
H	0	-1871,0853	0
F	0,06	-1888,5974	-0,00404580
OH	0,37	-1885,2877	-0,00328405
CO <sub>2</sub> H	0,45	-1885,0687	-0,00323360
CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0,45	-1880,8104	-0,00225143
CN	0,66	-1870,8887	0,00004563



Substituente	Sigma ( $\sigma$ )	fullfitness	Log H/X
H	0	-1903,0017	0
F	0,06	-1900,8450	0,000492471
Cl	0,23	-1899,1404	0,000882104
OH	0,37	-1899,9302	0,000701530
CO <sub>2</sub> H	0,45	-1895,2190	0,001779775
CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0,45	-1885,0581	0,004114436
CN	0,66	-1879,4276	0,005413576



Substituente	Sigma ( $\sigma$ )	fullfitness	Log H/X
H	0	-1882,7838	0
F	0,06	-1881,9558	0,00019103
Br	0,23	-1879,9750	0,00064838
OH	0,37	-1892,9644	-0,00234199
CO <sub>2</sub> H	0,45	-1882,2827	0,00011560
CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0,45	-1871,7712	0,00254769
CF <sub>3</sub>	0,54	-1863,0503	0,00457587
CN	0,66	-1872,9727	0,00226901
SCH <sub>3</sub>	0,72	-1885,3535	-0,00059234



A cadeia alifática apresenta os melhores resultados estereoeletrônicos, nenhum substituinte abaixo de 0 e todos próximos a reta, exceto o OH. A cadeia também apresenta os melhores valores energéticos de *fullfitness*, comparados com as outras cadeias a maioria das estruturas tem valores mais altos, mesmo sendo pequena a diferença entre ele, além disso possui o mais alto valor de  $\rho$ .

A estrutura base das cadeias alifática e insaturada é a mesma, diferindo em apenas uma insaturação que reflete nos resultados da cadeia insaturada revelando que independente do substituinte a insaturação presente na cadeia faz com que a estrutura fique mais rígida, desta forma pode-se supor que a flexibilidade seja um fator importante para a reação, além disso a insaturação também dificulta a ação do substituinte na densidade eletrônica e por conta disso os valores foram mais baixos, inclusive o valor de  $\rho$ . Outro fator com relação a este tipo de cadeia foi que a insaturação também não foi favorável à distância com o resíduo da Ser241, já que nenhuma estrutura se localizou a menos de 3,0 Å de distância, mas considerando a AEA de melhor energia, a cadeia insaturada ainda apresenta potencial.

A série sem cadeia foi o que mais teve substituintes aprovados para a realização do *docking*, demonstrando que estrutura da cadeia favorece a interação com a Ser241, o tamanho relativamente menor em relação as outras, permitiu que mais estruturas se aproximassem do resíduo. Apenas dois substituintes ficaram abaixo de 0 na equação aplicada, o OH e SCH<sub>3</sub>, podendo considerar o H, F, Br, CO<sub>2</sub>H e CN como os de melhor influência sobre a carbonila, porque estão mais próximos a reta.

A cadeia oxa-homologada apresenta um perfil parecido com as outras, no qual a OH tem um valor mais baixo e o CN é um dos que facilita o ataque da Ser241 à carbonila. A presença de um oxigênio no meio da estrutura não atrapalhou esses resultados estereoeletrônicos, apenas fez com que três de quatro estruturas estivessem a uma distância maior que 3,0 Å, mas assim como a instaurada

quando comparada com a AEA de melhor energia, esta cadeia também pode apresentar atividade.

## CONCLUSÕES

Foi possível compreender de que forma as ferramentas computacionais podem auxiliar nos estudos *in silico* com o modelo da FAAH1, uma vez que foram utilizadas para planejar estruturas de ésteres e fazer uma previsão de suas características físico-químicas e toxicológicas, empregando diferentes parâmetros para filtrar e criar um grupo que resultou em 26 estruturas com potencial capacidade de interação com a enzima FAAH1 dando suporte para a continuação do estudo.

Com os ensaios realizados observa-se que o tipo de cadeia e o seu tamanho interferem na forma como os substituintes agem, se propiciam o ataque nucleofílico ou não. Também identifica-se que os substituintes que têm melhor influência sobre a carbonila das estruturas, exceto na cadeia insaturada, são o H, F, Br, CO<sub>2</sub>H, Cl, e CN, ao mesmo tempo que podem interagir e bloquear a entrada da AEA na parte hidrofóbica da enzima, principalmente as estruturas sem cadeia e alifáticas, contudo, estes ensaios não são suficientes para descartar os demais substituintes e/ou tipos de cadeia, sendo necessário, portanto, a realização de estudos mais elaborados.

Os candidatos parecem se comportar como inibidores reversíveis competitivos, através do *docking molecular* observa-se que a proximidade das estruturas de ésteres propostas com a Ser241 permite a interação com a enzima FAAH1 e possível competição com a AEA, ocupando o sítio ativo impedindo a sua ligação, desta forma, a concentração da AEA na fenda sináptica pode aumentar e os sintomas da patologia serão reduzidos, permitindo uma ação farmacológica indireta com menos risco de efeitos adversos.

Outro parâmetro interessante observado no *docking* é o energético, quando comparadas o valor de *fullfitness* da AEA e do ligante JG1

nota-se que as energias dos ésteres estão bem próximas, permitindo uma boa afinidade de ligação, considerando o ajuste e o modo de ligação à enzima.

Portanto, até esta última etapa do estudo nota-se que as estruturas apresentam um bom potencial *in silico*, tendo em vista que estão livres de causar efeitos tóxicos ao organismo, apresentam características físico-químicas satisfatórias atendendo a Regra de Lipinski modificada, e são capazes de interagir com a enzima FAAH1.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, V. et al. QUIMIOINFORMÁTICA: UMA INTRODUÇÃO. **Química Nova**, [s.l.], p.202-212, 2017. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170145>
- BENSON, N. et al. A Systems Pharmacology Perspective on the Clinical Development of Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibitors for Pain. **CPT: Pharmacometrics Systems Pharmacology**, [s.l.], v. 3, n. 1, p.1-7, 15 jan. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1038/psp.2013.72>.
- BLANKMAN, J. L.; CRAVATT, B. F. Chemical Probes of Endocannabinoid Metabolism. **Pharmacological Reviews**, [s.l.], v. 65, n. 2, p.849-871, 19 mar. 2013. American Society for Pharmacology & Experimental Therapeutics (ASPET). <http://dx.doi.org/10.1124/pr.112.006387>.
- CAWSTON, E. E.; HUNTER, M. R.; GLASS, M. Allosteric Modulation of the Cannabinoid CB1 Receptor. **Handbook Of Cannabis And Related Pathologies**, [s.l.], p.573-583, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-800756-3.00070-3>.
- CHUDYK, E. I. et al. Nonempirical Energetic Analysis of Reactivity and Covalent Inhibition of Fatty Acid Amide Hydrolase. **The Journal of Physical Chemistry B**, [s.l.], v. 117, n. 22, p.6656- 6666, 28 maio 2013. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jp401834v>
- DEUTSCH, D. G.; UEDA, N.; YAMAMOTO, S. The fatty acid amide hydrolase (FAAH). **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (plefa)**, [s.l.], v. 66, n. 2-3, p.201-210, fev. 2002. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1054/plef.2001.0358>.
- FONSECA, B. M. et al. O Sistema Endocanabinóide – uma perspectiva terapêutica. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, v. 2, n. 2, p. 97- 104, 2013.
- HONÓRIO, K. M.; ARROIO, A.; SILVA, A. B. F. Aspectos terapêuticos de compostos da planta Cannabis sativa. **Química Nova**, [s.l.], v. 29, n. 2, p.318-325, abr. 2006. Fap UNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422006000200024>.
- MALDONADO, R.; BAÑOS, J. E.; CABAÑERO, D. The endocannabinoid system and neuropathic pain. **Pain**, [s.l.], v. 157, p.23-32, fev. 2016. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000428>.
- MÜCKE, M. et al. Cannabis-based medicines for chronic neuropathic pain in adults. **Cochrane Database Of Systematic Reviews**, [s.l.], p.1-104, 7 mar. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.cd012182.pub2>.
- PALERMO, G. et al. Keys to Lipid Selection in Fatty Acid Amide Hydrolase Catalysis: Structural Flexibility, Gating Residues and Multiple Binding Pockets. **Plos Computational Biology**, [s.l.], v. 11, n. 6, p.1-25, 25 jun. 2015. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004231>.
- PATRICELLI, M. P.; CRAVATT, B. F. Characterization and Manipulation of the Acyl Chain Selectivity of Fatty Acid Amide Hydrolase. **Biochemistry**, [s.l.], v. 40, n. 20,

p.6107- 6115, maio 2001. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/bi002578r>.

RANG, H. P., DALE, M. M., RITTER, J. M., FLOWER, R. J., HENDERSON, G. **Farmacologia**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

SAITO, V. M.; WOTJAK, C. T.; MOREIRA, F. A. Exploração farmacológica do sistema endocanabinoide: novas perspectivas para o tratamento de transtornos de ansiedade e depressão?. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, [s.l.], v. 32, n. 1, p.57-514, maio 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-44462010000500004>.

TOLEDO, R. C. L. et al. **Ação da mangiferina e do extrato das folhas de manga Ubá (Mangífera indica L) no estresse oxidativo e na inflamação em animais alimentados com dieta de cafeteria**. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola). Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais 2015.

TUO, W. et al. Therapeutic Potential of Fatty Acid Amide Hydrolase, Monoacylglycerol Lipase, and N-Acylethanolamine Acid Amidase Inhibitors. **Journal Of Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 60, n. 1, p.4-46, 14 nov. 2016. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00538>.