

LAISE PELLEGRINI ALENCAR CHIARI

Estudos teóricos de compostos canabinoides e suas interações com os receptores
CB1 e CB2

Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos
da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos
para a obtenção do título de Doutora em Ciências.

Área de concentração: Físico-química

Orientador: Prof. Dr. Albérico Borges Ferreira da Silva

São Carlos
2024

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Assinatura: *Laise P. A. Chiari*
Data: 04/01/2024

Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Referência e Atendimento ao Usuário do SBI/IQSC

Chiari, Laise Pellegrini Alencar

Estudos teóricos de compostos canabinoides e suas interações com os receptores CB1 e CB2 / Laise Pellegrini Alencar Chiari. — São Carlos, 2024.

220 f.

Tese (Doutorado em Físico-Química) — Instituto de Química de São Carlos / Universidade de São Paulo, 2024.

Orientador: Prof. Dr. Albérico Borges Ferreira

Sonia Alves - CRB: 4280/8



Ao meu querido marido, amor da minha vida, amigo e companheiro, Thiago.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos aqueles que tornaram possível a realização deste caminho tão significativo em minha vida.

Começo por dirigir meus agradecimentos ao meu Pai Celestial. Pela dádiva da vida, pelas oportunidades que me proporcionou e pelas inúmeras bênçãos que generosamente me concedeu. Ao meu Salvador Jesus Cristo, pelo exemplo que deixou, pelo sacrifício expiatório que fez por nós, pelo seu amor perfeito e pela força diária que me concede.

Aos meus amados pais, Rita e Valdir, um agradecimento especial. Seus cuidados e exemplos admiráveis moldaram quem sou. Agradeço por cada ensinamento transmitido, pela dedicação constante e pelos sacrifícios que fizeram e continuam fazendo por mim. Também não posso deixar de reconhecer os pais que a vida me presenteou: Pedro, cujo exemplo marcante de caridade permanece em minha memória, e Margarida, pelo amor e devoção que sempre demonstra.

Aos meus queridos irmãos, Livia, Vitor e Isaac, expresso minha gratidão pelo companheirismo, pelas risadas compartilhadas e pelas memórias preciosas que carregou de nossa infância e adolescência juntos.

A todos os familiares que me apoiaram ao longo desta jornada, oferecendo apoio e incentivo, gostaria de expressar minha profunda gratidão. Isso inclui meus avós, tios, primos e sogros. À avó Cida, que nos deixou durante o desenvolvimento desse trabalho. Aos meus sogros, que cuidaram do nosso cachorrinho Bidu enquanto estávamos fora do país. Aos primos Tiago e Morgana, que se fizeram presentes ao longo de toda essa jornada, inclusive durante nossa estadia em San Diego.

A todos os amigos que caminharam ao meu lado e me ofereceram apoio durante o desenvolvimento deste trabalho, quero expressar meu sincero reconhecimento. Desejo destacar minha gratidão especial aos amigos Sandra, Renata, Grazi, Marques, Lilian e Marcelo, que estiveram ao meu lado e ao lado de minha família em Botucatu, pelo inestimável companheirismo e amizade, sentimos muitas saudades de estar com vocês. Aos queridos amigos em Uberlândia, em especial à família Tominaga (Silvana e Jeferson), à família Sousa (Diana e Pedro), à família Kretly (Camila e Guigo), à família Fernandes (Juliana e Rodrigo), agradeço sinceramente pela amizade, apoio e encorajamento, especialmente durante os momentos de transição, que costumam ser os mais desafiadores, como a nossa ida e retorno de San Diego.

Aos amigos de San Diego, desejo expressar minha sincera gratidão por todos os que cruzaram nossos caminhos e tornaram essa jornada especial. Embora seja

difícil mencionar todos os nomes daqueles que de alguma forma fizeram a diferença em nossas vidas durante esse período, saibam que cada gesto e encontro deixaram uma marca valiosa em nossos corações. Sinto que conhecer cada um de vocês não foi mera coincidência, mas sim que cada um foi colocado em nosso caminho por Deus para nos ajudar de alguma maneira. Suas amizades iluminaram nossos dias em um período que pra nós foi tão intenso, repleto de tantos ajustes e tantas mudanças difíceis de expressar com palavras. Apesar de não conseguir citar o nome de todos, gostaria de fazer um agradecimento especial aos queridos e amados Johnson's, que nos receberam tão calorosamente, como se fossemos da família, nos apoiando e se fazendo presente durante toda a nossa estadia na cidade. Aos DeMartini's, pela amizade valiosa que tornou nossa adaptação mais feliz e pelas memórias inesquecíveis que compartilhamos, nunca nos esqueceremos de vocês. Aos Groesbeck's, que generosamente compartilharam sua amizade e atenção. À Rafa Porto e Rafa Menna, que conheci "por acaso" e que me ajudaram em momentos que tanto precisei. Ao Zé, pela sua dedicação às minhas filhas na escola, sempre alegre, dando todo o apoio que elas precisavam. Ao Jadson Alves, pelo imenso apoio, mesmo que à distância, mas que fez toda a diferença para nós. Cada um de vocês deixou uma marca única em nossas vidas, e seremos eternamente gratos por isso.

Ao Professor Albérico, meu orientador, estendo meus sinceros agradecimentos. Sua orientação sábia, otimismo inspirador e apoio foram essenciais para minha jornada acadêmica, além das conversas regadas sempre a muitas risadas! É simplesmente impossível passar alguns instantes na companhia do Prof. Albérico sem rir e se divertir com seu bom humor contagiante e com sua personalidade única!

Agradeço também ao Professor Andrei Leitão pelo incentivo à minha ida ao exterior para a realização do estágio, sua ajuda foi essencial.

Aos meus colegas do IQSC, especialmente à Aldinéia, cuja amizade e parceria enriqueceu minha experiência de estudo e pesquisa durante todo o tempo do doutorado.

Ao Professor Michael K. Gilson, por possibilitar meu estágio do doutorado no exterior, tornando possível a realização desse momento tão esperado por mim. Pelo acolhimento em seu laboratório e por toda sua paciência, sempre disposto a ouvir e ensinar com muita humildade e dedicação. Aos colegas do Gilson Lab, Chapin, Meena, Jake e em especial à Willa Wang e Jeffrey Setiadi, agradeço pelo acolhimento, amizade e apoio, além dos valiosos ensinamentos que recebi, os quais contribuíram grandemente para o meu crescimento acadêmico.

Às minhas queridas filhas, Manuela e Melissa, dedico todo o meu amor e gratidão. Enquanto buscava trilhar o caminho de uma carreira acadêmica, vocês estiveram ao meu lado, mantendo vivo o maior sonho que sempre tive: ser mãe! A presença de vocês me deu forças diariamente e meu caminho foi iluminado com alegria, mesmo nos momentos mais difíceis. Obrigada pela paciência que tiveram e por viverem tudo isso comigo. Não existe alegria maior em minha vida do que ter vocês ao meu lado todos os dias, pois trilhar esse caminho com vocês torna tudo isso significativo. Na verdade, vocês são o significado de tudo, inclusive da minha existência. São a melhor parte de mim, a parte com a qual me identifico profundamente, a parte da minha vida que mais amo! Vocês são definitivamente a minha alegria de viver!

Ao meu querido marido, amigo e companheiro, Thiago, palavras jamais serão suficientes para expressar minha infinita gratidão. Seu apoio incansável, enormes sacrifícios e companheirismo constante foram os pilares que sustentaram a conclusão deste trabalho. Qualquer mérito que eu possa receber na realização deste feito deve ser compartilhado igualmente contigo, e por isso esse trabalho é dedicado totalmente a você. Agradeço por embarcar em todas as aventuras com as quais sonho vivenciar e por fazer todos os meus sonhos e desejos se tornarem realidade. Dividir a vida com você é uma das maiores bênçãos que eu poderia receber. Todas as pessoas mencionadas aqui sem dúvidas foram importantes para que eu realizasse esse trabalho, no entanto reconheço que você é o ponto chave desse trabalho e da minha história, nada disso teria sido possível sem você. Palavras jamais serão suficientes pra expressar todo meu amor e gratidão. Trilhar esse caminho ao teu lado me faz tão feliz.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)
- Código de Financiamento 001, pelo apoio financeiro concedido.

A todos vocês, que contribuíram de alguma forma para que eu chegasse até aqui, expresso, com sincera alegria e gratidão, o meu MUITO OBRIGADA!

RESUMO

A utilização da planta *Cannabis sativa*, devido às suas propriedades terapêuticas atribuídas aos compostos canabinoides nela contidos, desperta interesse em potenciais aplicações medicinais. No entanto, os efeitos psicotrópicos associados à essa classe de compostos têm limitado sua aplicação como fármacos. Na literatura, há um conjunto de 50 compostos canabinoides que foram avaliados na década de 80 quanto à psicoatividade, classificados como psicoativos ou psicoinativos. Com base no conhecimento atual, no qual o receptor CB1 é o responsável pelos efeitos psicotrópicos, enquanto o receptor CB2 não é, foram propostas nesse trabalho três hipóteses relacionadas à psicoatividade desses compostos. A ausência de dados experimentais de atividade biológica para esses compostos impulsionou a seleção de uma nova série de compostos canabinoides, estruturalmente semelhantes aos anteriores, mas com atividades biológicas conhecidas, com o intuito de gerar e validar modelos QSAR capazes de identificar os compostos com maiores valores de atividade biológica predita, expressas em termos de pK_i . Assim, os compostos com atividade biológica preditas em destaque foram submetidos a estudos subsequentes de *docking* e dinâmica molecular. Os resultados dessas análises, na interação com o receptor CB1, identificaram o composto Ic19 como um possível antagonista. Por outro lado, na interação com o receptor CB2, os compostos Ic21, Ic18, Ic9, Ic16 e Ic20 se destacaram como potenciais agonistas seletivos. Esses resultados representam um avanço significativo no entendimento das propriedades e características dos compostos canabinoides, delineando possíveis alvos terapêuticos específicos para os receptores CB1 e CB2.

Palavras-chave: canabinoides, dinâmica molecular, *docking*, QSAR

ABSTRACT

The use of the *Cannabis sativa* plant, due to its therapeutic properties attributed to the cannabinoid compounds it contains, sparks interest in potential medical applications. However, the psychotropic effects associated with this class of compounds have limited their application as pharmaceuticals. In the literature, there is a set of 50 cannabinoids that were evaluated in the 1980s for psychoactivity, classified as psychoactive or psychoinactive. Based on current knowledge, where the CB1 receptor is responsible for psychotropic effects, while CB2 receptor is not, three hypotheses related to the psychoactivity of these compounds were proposed in this study. The lack of experimental data on the biological activity of these compounds prompted the selection of a new series of cannabinoids, structurally similar to the previous ones but with known biological activities, aiming to generate and validate QSAR models capable of identifying compounds with higher values of predicted biological activity, expressed in terms of pK_i . Therefore, compounds highlighted for their predicted biological activity underwent subsequent docking and molecular dynamics studies. The results of these analyses, in interaction with the CB1 receptor, identified compound Ic19 as a possible antagonist. On the other hand, in interaction with the CB2 receptor, compounds Ic21, Ic18, Ic9, Ic16, and Ic20 stood out as potential selective agonists. These findings represent a significant advancement in understanding the properties and characteristics of cannabinoids, delineating potential specific therapeutic targets for CB1 and CB2 receptors.

Keywords: cannabinoids, docking, molecular dynamics, QSAR

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	Compostos canabinoides.....	11
1.2	O Sistema Endocanabinoide.....	17
1.3	Modelos teóricos.....	30
1.4	Modelos QSAR.....	39
1.5	Estudos de <i>docking</i>	42
1.6	Estudos de dinâmica molecular (DM).....	46
2	OBJETIVOS.....	49
2.1	Objetivo geral.....	49
2.2	Objetivos específicos.....	49
3	METODOLOGIA.....	50
3.1	Geração dos modelos QSAR.....	50
3.1.1	Seleção dos compostos canabinoides.....	50
3.1.2	Otimização das estruturas e geração de descritores.....	53
3.1.3	Seleção de descritores.....	53
3.1.4	Modelos PLS-CB1 e PLS-CB2.....	54
3.2	<i>Docking</i> molecular.....	55
3.3	Dinâmica molecular.....	57
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
4.1	Geração dos modelos QSAR.....	59
4.1.1	Seleção dos compostos canabinoides.....	59
4.2	Modelo PLS-CB1.....	70
4.3	Modelo PLS-CB2.....	80
4.4	Descritores selecionados para os modelos PLS.....	90
4.4.1	Descritores do modelo PLS-CB1.....	90
4.4.2	Descritores do modelo PLS-CB1.....	94
4.5	Predição da atividade biológica dos compostos canabinoides.....	95
4.6	Análises de <i>docking</i> molecular.....	99
4.6.1	Análises de <i>docking</i> molecular com o receptor CB1.....	99
4.6.2	Análises de <i>docking</i> molecular com o receptor CB2.....	113

4.7	Análises de dinâmica molecular.....	129
4.7.1	Análise de dinâmica molecular com o receptor CB1.....	129
4.7.1.1	Análises de RMSD.....	129
4.7.1.2	Análises de RMSF.....	132
4.7.1.3	Análises de raio de giro.....	134
4.7.1.4	Análises de formação de ligações de hidrogênio.....	140
4.7.2	Análise de dinâmica molecular com o receptor CB2.....	145
4.7.2.1	Análises de RMSD.....	145
4.7.2.2	Análises de RMSF.....	152
4.7.2.3	Análises de raio de giro.....	154
4.7.2.4	Análises de formação de ligações de hidrogênio.....	155
5	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	163
	REFERÊNCIAS.....	168
	APENDICE A.....	185
	APENDICE B	206

1 INTRODUÇÃO

1.1 Compostos canabinoides

A *Cannabis sativa*, uma planta herbácea de origem indiana, é popularmente conhecida no Brasil como maconha. Acredita-se que tenha sido introduzida no país por escravos africanos no século XVI.¹ Esta planta abriga uma rica diversidade de compostos químicos e têm sido empregada durante séculos para o tratamento de uma ampla variedade de condições e enfermidades, incluindo usos como anestésico, laxante, tranquilizante, diurético, dentre muitos outros.^{2,3}

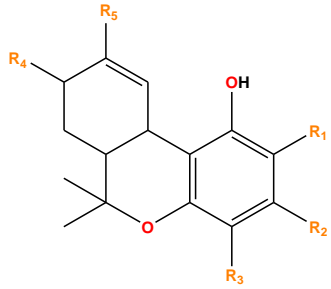
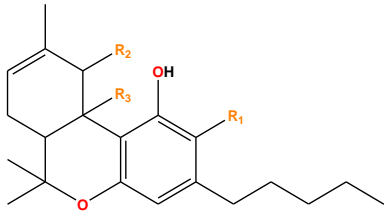
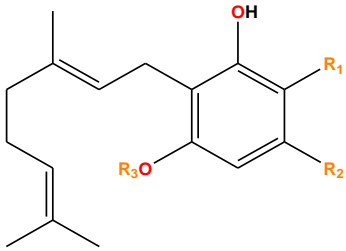
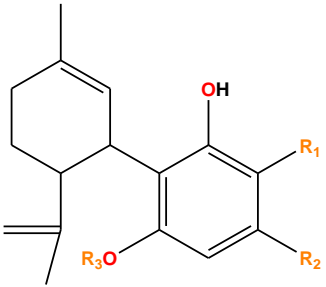
No entanto, o uso da planta também desencadeia efeitos psicoativos ou psicotrópicos, que são aqueles capazes de afetar o sistema nervoso central, causando alterações no humor (como euforia e ansiedade), na percepção (como alucinações) e no desenvolvimento cognitivo e psicomotor (como prejudicar a coordenação motora, diminuir tempo de reação de um indivíduo e déficit na memória a curto prazo).⁴ Além disso, o uso prolongado pode acarretar uma série de efeitos adversos, incluindo dependência, problemas respiratórios e cardiovasculares.⁴ Também tem sido objeto de estudos e investigações quanto à sua possível associação com distúrbios psicóticos, como a esquizofrenia.⁵⁻⁶

Dos mais de 500 compostos químicos identificados na *Cannabis sativa*, destacam-se 125 que pertencem à classe dos canabinoides (também conhecidos como fitocannabinoides), que podem variar em quantidade e proporção na planta de acordo com alguns fatores, tais como a genética da planta, ambiente de crescimento, práticas de cultivo e estágio de desenvolvimento da planta, por exemplo.⁷⁻⁸ Essa classe de compostos pode ser subdividida em 10 subclasses que possuem estruturas químicas básicas e uma subclasse denominada "tipos variados", que compreende 30 compostos e engloba canabinoides que não se encaixam claramente em nenhuma das subclasses mais específicas, o que impossibilita a determinação de uma estrutura básica para eles.⁸ A Tabela 1 mostra as 10 subclasses dos compostos canabinoides acompanhadas dos respectivos números correspondentes de compostos, bem como de suas estruturas químicas comuns, para uma visão geral dos mesmos. Ainda, uma lista completa de todas as

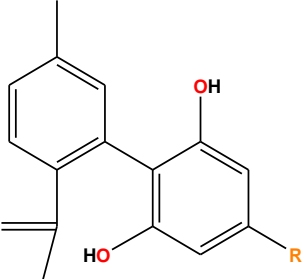
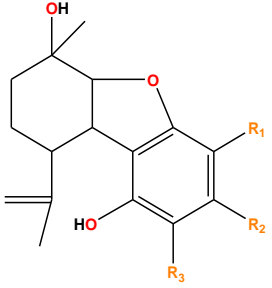
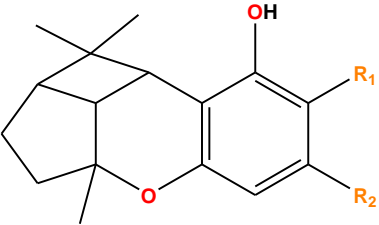
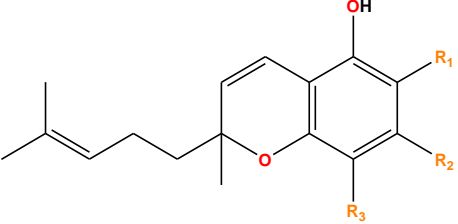
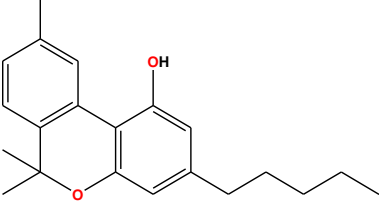
estruturas químicas e nomes dos 125 compostos canabinoides isolados e identificados até o momento na planta *Cannabis sativa*, estão disponíveis no Apêndice A.

Tabela 1 Subclasses dos compostos canabinoides isolados e identificados na planta *Cannabis sativa*

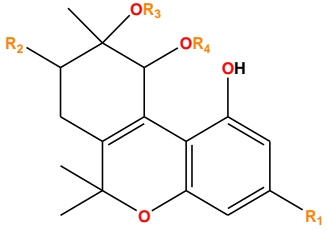
(continua)

Subclasse	Número de compostos	Estrutura química comum
Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC)	25	
Δ^8 -tetrahydrocannabinol (Δ^8 -THC)	5	
Canabigerol (CBG)	16	
Canabidiol (CBD)	10	

(continuação)

Subclasse	Número de compostos	Estrutura química comum
Canabinodiol ou (CBND)	2	
Canabielsoina (CBE)	5	
Canabiciolol (CBL)	3	
Canabicromeno (CBC)	9	
Canabinol (CBN)	11	

(conclusão)

Subclasse	Número de compostos	Estrutura química comum
Canabitriol (CBT)	9	

Fonte: Adaptado de RADWAN, M. M. et al., 2021.⁸

Dentre os 125 canabinoides encontrados na planta *Cannabis sativa*, destacam-se quatro de maior interesse: o Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) e o Δ^8 -tetrahydrocannabinol (Δ^8 -THC), que são os principais responsáveis pelos efeitos psicoativos, e o canabidiol (CBD) e o canabinol (CBN), que são compostos psicoativos.⁹⁻¹⁰

O Δ^9 -THC tem sido objeto de intensa pesquisa devido ao fato de ser o principal fitocanabinoide responsável pelos efeitos psicoativos e também por oferecer uma ampla variedade de benefícios terapêuticos.¹¹ Ele demonstrou eficácia como analgésico no tratamento de dor crônica, incluindo dores associadas à esclerose múltipla, artrite e câncer.¹¹⁻¹² Além disso, tem a capacidade atuar como anti-emético ao reduzir náuseas e vômitos em pacientes submetidos à quimioterapia e estimular o apetite em pessoas com anorexia e perda de peso devido ao câncer ou AIDS.¹¹⁻¹⁴ Também pode agir como relaxante muscular em pacientes com esclerose múltipla, diminuir a pressão intraocular no tratamento de glaucoma, agir como broncodilatador para tratar asma e, ainda, estudos têm analisado sua ação no tratamento de transtornos psiquiátricos, como a Síndrome de Tourette, e em doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer.¹³⁻¹⁷

O Δ^8 -THC exibe efeitos psicoativos mais suaves em comparação com o Δ^9 -THC, porém compartilha propriedades terapêuticas similares, o que o torna um alvo fundamental para estudo.^{10,18} Ele pode desempenhar um papel semelhante ao Δ^9 -THC no tratamento da dor, na redução da ansiedade, no estímulo do apetite e no

alívio de náuseas e vômitos.¹⁹⁻²⁰ Além disso, estão em curso pesquisas para investigar suas propriedades anti-inflamatórias.²¹

O CBD é um fitocanabinoide importante por estar presente em grande quantidade na planta, por apresentar ausência de efeitos psicoativos e devido à sua ampla variedade de benefícios terapêuticos, ainda que apresente alguns efeitos colaterais, tais como sonolência, cansaço e problemas gastrointestinais.²²⁻²³ Ele tem mostrado eficácia no tratamento da epilepsia resistente a medicamentos e no tratamento de dor crônica e inflamação. Ainda, o CBD tem potencial para agir no tratamento de câncer, ansiedade, esquizofrenia, doença de Parkinson, doença de Huntington, dor neuropática e autismo.²²⁻²⁴

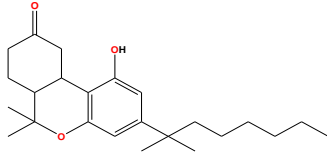
Quanto ao CBN, além da ausência de psicoatividade, este é especialmente relevante no tratamento da insônia devido às suas potentes propriedades relaxantes.²⁵⁻²⁶

Já existem alguns medicamentos com compostos canabinoides aprovados em diferentes países, incluindo o Brasil, contendo como princípios ativos o CBD e o Δ^9 -THC, conforme mostrado na Tabela 2.²⁷ No entanto, ainda há uma discussão significativa na comunidade científica relacionada ao uso de compostos canabinoides como fármacos, especialmente no que tange à eficácia e segurança no uso de medicamentos a base dos mesmos, visto que seus efeitos adversos incluem alucinações, perda e/ou comprometimento da memória, convulsões, depressão, surtos psicóticos e idealizações suicidas.²⁷⁻²⁸

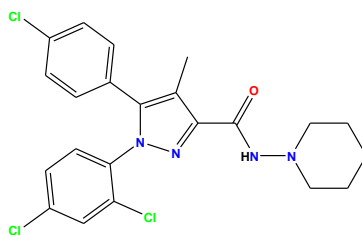
Como exemplo pertinente desta discussão sobre segurança de medicamentos à base de compostos canabinoides, pode-se citar o Acomplia®. Esse medicamento tem como princípio ativo o canabinoide Rimonabanto (Figura 1), que interage com o receptor CB1 atuando na supressão do apetite. Durante seus testes clínicos, foram apresentados efeitos colaterais graves, como depressão, ansiedade e tendências suicidas, levando à sua rejeição nos Estados Unidos. Embora tenha sido aprovado na União Europeia em 2006 e no Brasil em 2007, o Rimonabanto acabou sendo retirado do mercado em ambos os locais no ano de 2008 devido a tais efeitos adversos. A avaliação indicou que seus efeitos colaterais

superavam seus benefícios terapêuticos, levando à decisão de retirada do mercado.²⁹⁻³¹

Tabela 2 Medicamentos a base de compostos canabinoides aprovados em diferentes países

Medicamento	Tratamento	Princípio(s) ativo(s)	País(es) aprovado(s)
Sativex®	Rigidez dos músculos em pacientes com esclerose múltipla e tratamento de dor neuropática	CBD e Δ^9 -THC	Alemanha, Austrália, Brasil, Canadá, Dinamarca, Israel, Países Baixos, Reino Unido e Suíça
Epidiolex® / Epidyolex®	Epilepsia infantil (particularmente Síndrome de Lennox-Gastaut e Síndrome de Gravel)	CBD	Austrália, Brasil, Estados Unidos, Israel, Países Baixos, Reino Unido, Suíça e União Européia
Marinol® / Dronabinol	Náusea e vômitos induzidos por quimioterapia e anorexia associada à AIDS	Dronabinol (Isômero do Δ^9 -THC)	Dinamarca, Estados Unidos e Suíça
Cesamet® / Nabilone	Náusea e vômitos induzidos por quimioterapia	Nabilone (canabinoide sintético análogo ao Δ^9 -THC) 	Alemanha, Canadá, Dinamarca, Estados Unidos e Reino Unido
Bediol®	Alívio da dor e anti-inflamatório	CBD (8%) e Δ^9 -THC (6,3%)	Países Baixos
Bedrocan®	Tratamento de sintomas como perda de apetite, perda de peso, náusea, vômito, anorexia, caquexia e vômito.	CBD (<1%) e Δ^9 -THC (22%)	Países Baixos
Bedica®	Tratamento de sintomas como perda de apetite, perda de peso, náusea, vômito, anorexia, caquexia e vômito.	CBD (<1%) e Δ^9 -THC (14%)	Países Baixos
Bedrobinol®	Tratamento de sintomas como perda de apetite, perda de peso, náusea, vômito, anorexia, caquexia e vômito.	CBD (<1%) e Δ^9 -THC (13,5%)	Países Baixos
Bedrolite®	Tratamento de epilepsia	CBD (7,5%) e Δ^9 -THC (<1%)	Países Baixos

Fonte: Autoria própria

Figura 1 Estrutura molecular do Rimonabanto

Fonte: Autoria própria

Os medicamentos aprovados listados na Tabela 2, exceto pelo Nabinole, um análogo sintético do Δ^9 -THC, apresentam em sua composição somente os compostos canabinoides Δ^9 -THC e CBD. Diante dessa observação, considerando a ampla variedade de compostos canabinoides já isolados da planta *Cannabis sativa* e seu vasto potencial no tratamento de diversas doenças, torna-se fundamental prosseguir com pesquisas direcionadas a essa classe de substâncias.

Assim, é evidente a necessidade contínua de investigações para explorar ainda mais esses compostos e seu potencial terapêutico, concentrando-se na busca por compostos que causem uma redução nos efeitos colaterais, especialmente nos efeitos psicotrópicos. Isso garantirá que medicamentos com base em compostos canabinoides possam ser utilizados de maneira mais segura e eficaz, ampliando seu potencial terapêutico para um espectro mais amplo de condições médicas ao se ter um menor impacto adverso.

1.2 O Sistema Endocanabinoide

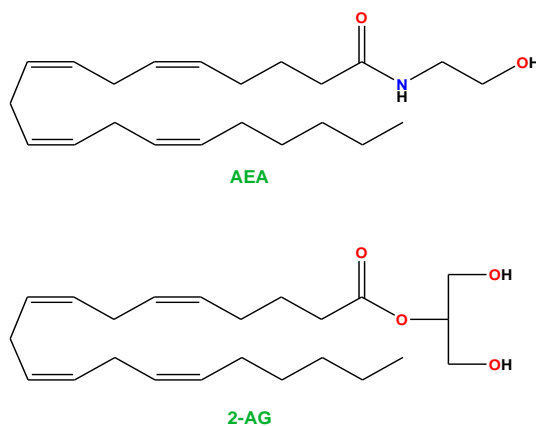
O sistema endocanabinoide é um sistema de regulação celular encontrado em mamíferos, incluindo os seres humanos, que tem sido amplamente estudado devido ao seu papel fundamental na regulação de uma ampla diversidade de funções fisiológicas e processos, podendo citar a modulação da percepção da dor e da resposta a estímulos dolorosos, a regulação do sistema imunológico, a influência no sistema nervoso, a regulação do sistema cardiovascular e a regulação no sistema gastrointestinal.³²⁻³⁴

Visto que o sistema endocanabinoide regula uma variedade de funções fisiológicas, sua disfunção está associada a várias doenças e condições, como por exemplo, dor crônica (como artrite e dor neuropática), distúrbios neurológicos (incluindo epilepsia, Alzheimer, doença de Parkinson), distúrbios alimentares, doenças autoimunes (como esclerose múltipla), distúrbios gastrointestinais, entre outros.³⁵⁻⁴⁴ Portanto, compreender melhor esse sistema é de grande importância, pois possibilita o desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento de diversas doenças.⁴⁵

O sistema endocanabinoide engloba três componentes principais: compostos endocanabinoides, enzimas e os receptores canabinoides.³²⁻³⁴

Os endocanabinoides são compostos endógenos, ou seja, compostos canabinoides produzidos naturalmente pelo corpo humano. Os principais endocanabinoides incluem a N-araquidoniletanolamida (AEA ou anadamida) e o 2-araquidonilglicerol (2-AG) que agem como mensageiros e têm a função de transmitir sinais no sistema endocanabinoide. Suas estruturas moleculares são mostradas na Figura 2.⁴⁶⁻⁴⁹

Figura 2 Estrutura molecular dos principais compostos endocanabinoides



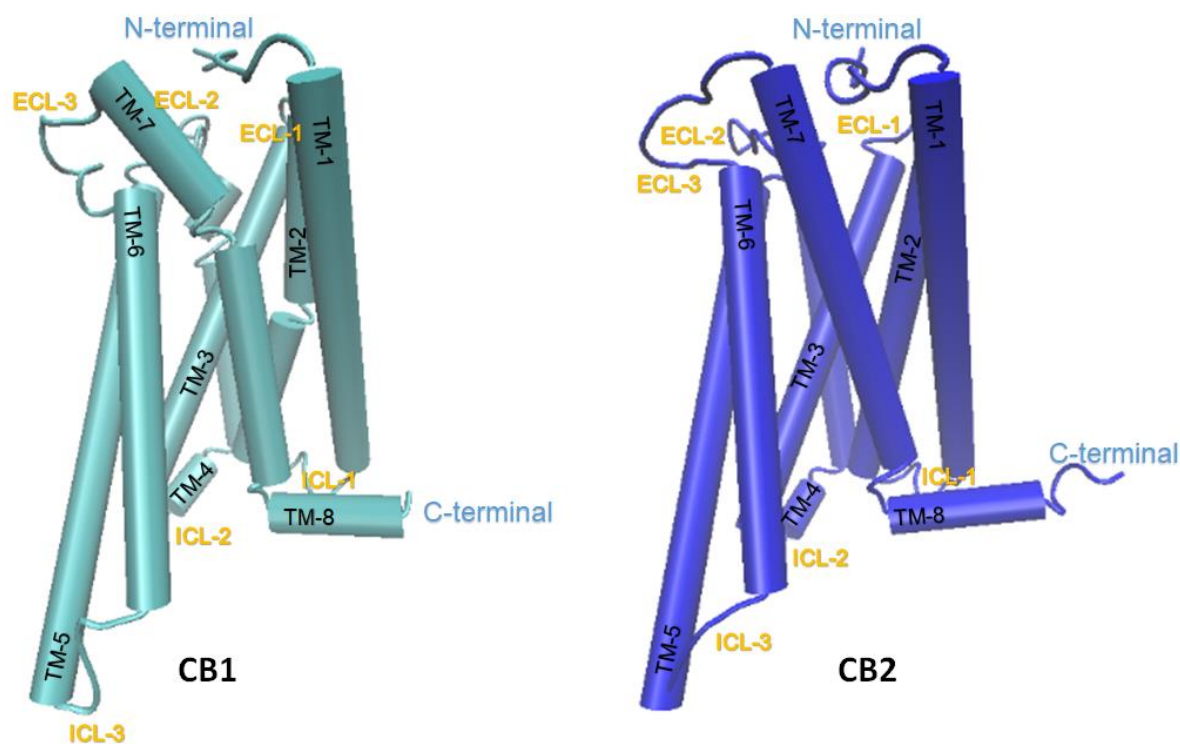
Fonte: Autoria própria

As enzimas são responsáveis pela síntese e degradação dos endocanabinoides. Duas enzimas principais estão envolvidas nesse processo: a enzima hidrolase de amida de ácido graxo (FAAH) (amidoidrolase de ácido graxo) e a enzima amidase de ácido N-aciletanolamina ou lipase de monoacilglicerol

(MAG-Lipase), que degradam os endocanabinoides AEA e 2-AG, respectivamente.³²⁻³⁴

Na década de 90 foram identificados, clonados e caracterizados os dois receptores biológicos que fazem parte do sistema endocanabinoide, nomeados receptores CB1 e CB2.⁵⁰⁻⁵¹ O receptor CB2 tem semelhança com o receptor CB1 de 44% na sequência de aminoácidos e 68% no domínio transmembranar.⁵² Eles também se diferem quanto à sua localização no corpo: o receptor CB1 é encontrado principalmente no sistema nervoso central, como cérebro e medula espinhal, sendo assim o principal mediador dos efeitos psicoativos dos canabinoides, desempenhando funções-chave na regulação da dor, apetite, humor, memória e coordenação motora (também se encontra em outros tecidos do corpo em menor quantidade, como no sistema cardiovascular e no trato gastrointestinal); o receptor CB2 se localiza principalmente nas células do sistema imunológico, mas também em alguns órgãos periféricos e em tecidos como o fígado e o trato gastrointestinal, por isso interações com o receptor CB2 não estão associadas aos efeitos psicotrópicos, sendo portanto um importante alvo no tratamento de dor e inflamação.⁵³

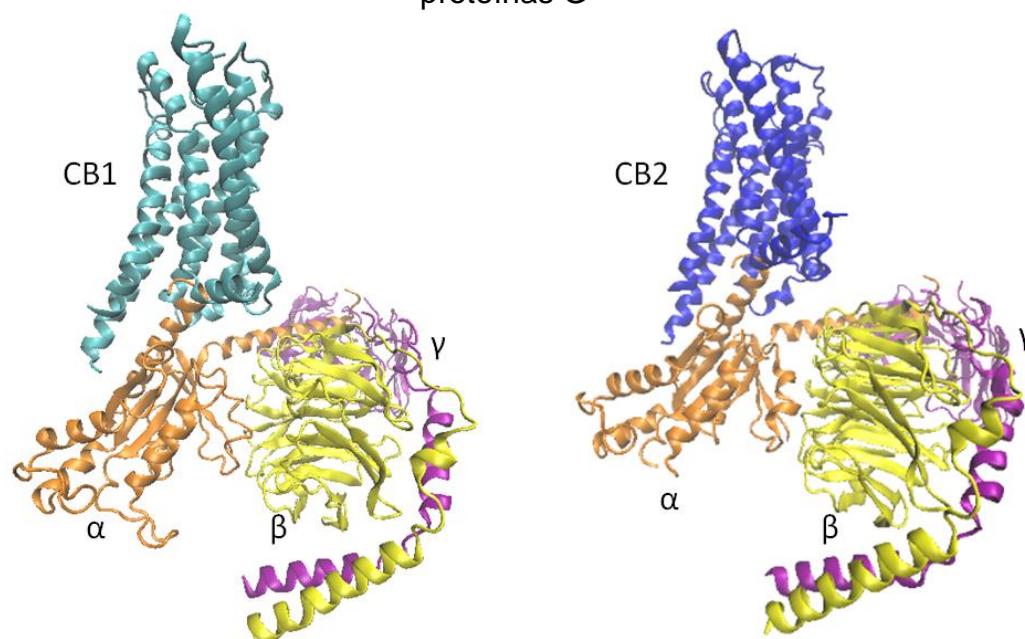
Ambos os receptores CB1 e CB2 pertencem à família de Receptores Acoplados à Proteína G (GPCRs, do inglês *G protein-coupled receptors*), uma família diversa de receptores localizados na membrana celular que se associam às Proteínas G ao serem ativados por compostos ligantes.⁵⁴ Como é característico dessa família de receptores, tanto o CB1 quanto o CB2 possuem um domínio extracelular N-terminal, sete alfa-hélices transmembranares, três *loops* extracelulares, três *loops* intracelulares e um domínio intracelular C-terminal, acoplado-se ao complexo de proteínas G, conforme mostrado na Figura 3.⁵⁴ A principal diferença entre esses receptores se encontra nos domínios N-terminal e C-terminal e no *loop* extracelular 2.

Figura 3 Representação dos receptores CB1 e CB2

Fonte: Adaptado de Brust, Swanson e Bohn, 2023.⁵⁵

O complexo de proteínas G compreende três subunidades chamadas de α , β e γ , sendo que a subunidade α é a principal responsável na interação com os receptores CB1 e CB2, realizando a troca de GTP por GDP e dissociando-se das subunidades $\beta\gamma$. A representação dos receptores CB1 e CB2 acoplados às proteínas G pode ser observada na Figura 4.⁵⁴⁻⁵⁸

Figura 4 Representação dos receptores CB1 e CB2 acoplados ao complexo de proteínas G



Fonte: Adaptado de Li et al., 2020.⁵⁷

Ainda, a subunidade α pode ser subdividida em três diferentes subclasses, G_s (estimuladoras) e G_q (ativadoras) e G_i (inibitórias). A proteína G_s ativa a enzima adenilato ciclase, resultando no aumento da concentração de adenosina monofosfato cíclico (AMPC) intracelular e subsequente ativação da proteína cinase dependente de AMPC (PKA). A proteína G_q ativa a fosfolipase C, que gera segundos mensageiros como IP3 e DAG, desencadeando uma série de respostas intracelulares, incluindo liberação de cálcio e ativação de proteínas cinases. A proteína G_i inibe a adenilato ciclase, reduzindo os níveis de AMPC, estando envolvida em várias respostas celulares inibitórias, desempenhando um papel fundamental em processos que requerem inibição.⁵⁹

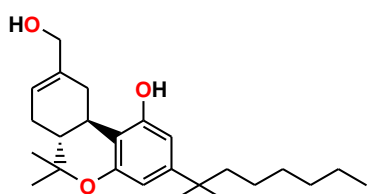
A interação com receptores biológicos pode se dar com compostos que atuem como agonistas, agonistas parciais, antagonistas ou agonistas inversos.⁶⁰ Na atuação agonista, tem-se a interação de compostos com os receptores desencadeando uma resposta biológica, enquanto que agonistas parciais ativam parcialmente o receptor, impedindo que um outro composto agonista interaja com

ele. O papel antagonista se dá quando ocorre a interação de um ligante com os receptores, bloqueando a ação de compostos agonistas. Na ação de agonistas inversos, similar ao antagonista, ocorre a interação com os receptores mas com efeitos opostos aos esperados de compostos agonistas.⁶⁰⁻⁶¹

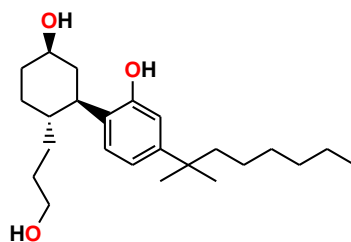
Com relação a atuação de compostos fitocanabinoides, o Δ^9 -THC interage com os receptores CB1 e CB2 como um agonista parcial, enquanto o CBD atua como um antagonista na interação com ambos os receptores.⁶²⁻⁶⁴ Uma variedade de compostos canabinoides sintéticos foram identificados como agonistas e/ou antagonistas dos receptores CB1 e CB2 e alguns estão sendo estudados quanto à sua eficácia e segurança como potenciais fármacos.⁶⁵ Dentre esses compostos sintéticos, destacam-se como agonistas dos receptores CB1 e CB2 o HU-210, CP55,940 e WIN55,212; como antagonistas do receptor CB1 o rimonabanto, AM251, AM281, LY320135 e Taranabant; e como agonistas seletivos do receptor CB2, pode-se citar o JWH-133, HU-308, JWH-015 e AM1241.⁶⁵ A Figura 5 mostra a estrutura química desses compostos.

Figura 5 Estrutura molecular de compostos canabinoides

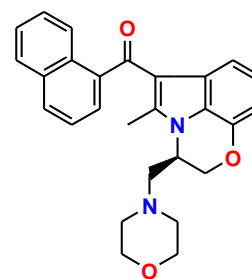
Agonistas dos receptores CB1 e CB2



HU-210

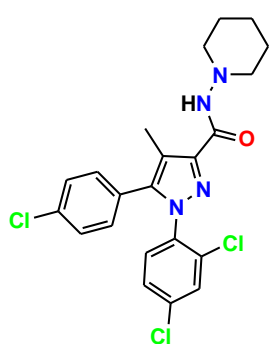


CP55,940

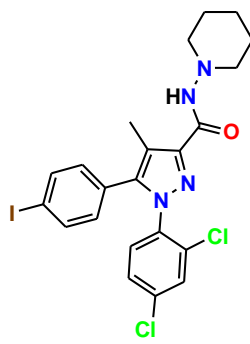


WIN55,212

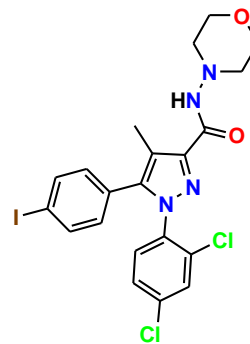
Antagonistas/ agonistas inversos do receptor CB1



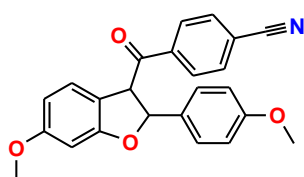
Rimonabanto



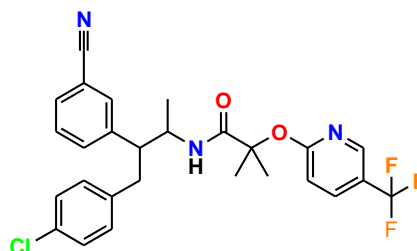
AM251



AM281

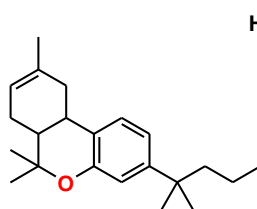


LY320135

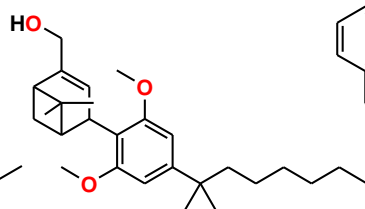


Taranabant

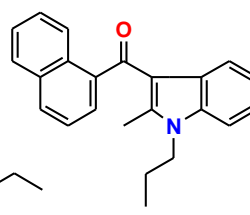
Agonistas seletivos do receptor CB2



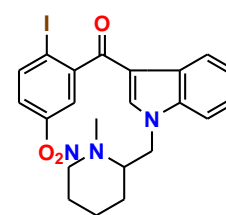
JWH-133



HU-308



JWH-015



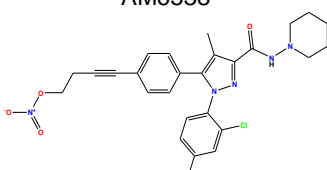
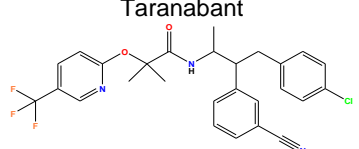
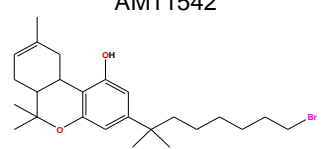
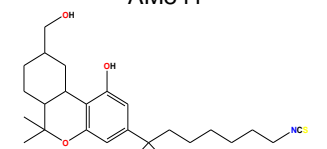
AM1241

Fonte: Adaptado de Pertwee, 2010.⁶⁵

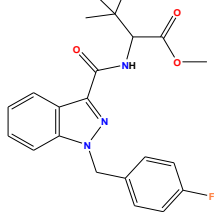
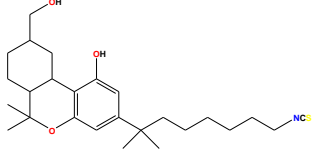
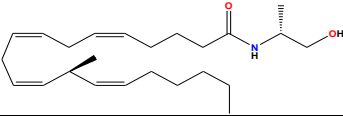
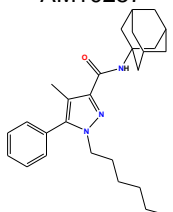
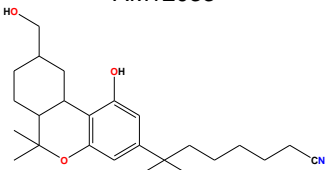
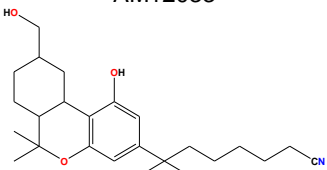
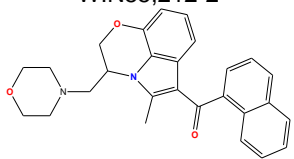
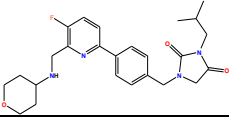
Recentemente, dados experimentais de estruturas cristalográficas dos receptores CB1 e CB2 foram obtidos em seus estados ativos, ativo-similar e inativos, permitindo uma melhor compreensão da interação de compostos canabinoides com os mesmos, fornecendo assim informações detalhadas sobre suas estruturas e funções, elucidando seus sítios ortostéricos (principal região de interação entre compostos ligantes e receptores biológicos), juntamente com o caráter da ligação com o ligante canabinoide cocrystalizado (agonista ou antagonista), além de sítios alostéricos (regiões secundárias de interação entre compostos ligantes e receptores biológicos).^{55,58} Informações dessas estruturas cristalográficas dos receptores CB1 e CB2 estão disponíveis no banco de dados PDB (do inglês *Protein Data Bank*), que fornece dados de mais de 200 mil estruturas de proteínas, DNA e RNA obtidas experimentalmente.⁶⁶⁻⁶⁷

A Tabela 3 apresenta os nomes das estruturas PDB dos receptores CB1 e CB2, juntamente com os anos de depósito no banco de dados PDB. Também inclui informações sobre as estruturas moleculares e a natureza das ligações dos compostos cocrystalizados com esses receptores.

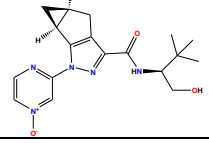
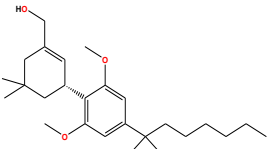
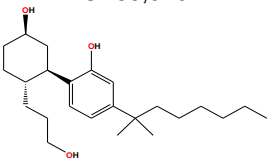
Tabela 3 Estruturas PDB dos receptores CB1 e CB2
(continua)

Receptor	Código PDB	Ano de depósito	Ligante cocrystalizado	Caráter da ligação
CB1	5TGZ	2016	AM6538 	Antagonista
	5U09	2016	Taranabant 	Agonista inverso
	5XRA	2017	AM11542 	Agonista
	5XR8	2017	AM841 	Agonista

(continuação)

Receptor	Código PDB	Ano de depósito	Ligante cocristalizado	Caráter da ligação
CB1	6N4B	2019	MDMB-Fubinaca 	Agonista
	6KPG	2020	AM841 	Agonista
	8GHV	2023	AMG315 	Agonista
CB2	5ZTY	2019	AM10257 	Antagonista
	6KPC	2020	AM12033 	Agonista
	6KPF	2020	AM12033 	Agonista
	6PT0	2020	WIN55,212-2 	Agonista
	8GUT	2023	LEI-102 	Agonista seletivo

(conclusão)

Receptor	Código PDB	Ano de depósito	Ligante cocrystalizado	Caráter da ligação
CB2	8GUQ	2023	APD371 	Agonista seletivo
	8GUS	2023	HU308 	Agonista seletivo
	8GUR	2023	CP55,940 	Agonista

Fonte: Autoria própria

Para o receptor CB1, tem-se disponíveis as estruturas com o código PDB 5TGZ⁶⁸, 5U09⁶⁹, 5XRA⁷⁰, 5XR8⁷⁰, 6N4B⁷¹, 6KPG⁷² e 8GHV⁷³.

Da estrutura 5TGZ⁶⁸, a primeira estrutura cristalográfica a ser depositada do receptor CB1 (difração de raio-x, resolução de 2,8 Å), cocrystalizada com o antagonista AM6538, que adota uma conformação estendida, alguns pontos importantes foram elucidados a respeito da interação antagonista, mostrando que o ligante reside profundamente no bolso de ligação diretamente acima do resíduo Trp356, estabelecendo interações hidrofóbicas com a ECL2 e o N-terminal (Figura 2) e mostrando que os resíduos 99-112 formam um *loop* em forma de "V" que se insere no bolso de ligação. Interações hidrofóbicas entre o núcleo do anel pirazol do composto AM6538 foram estabelecidas com os resíduos Phe170, Phe379 e Ser383, sendo que na interação com o resíduo Phe170, ocorrem mudanças conformacionais, incluindo a inclinação de TM2 em direção a TM1. Os resíduos Phe170 e Phe174 estão envolvidos em interações π - π levando a um deslocamento de TM1 em aproximadamente 27 Å. Ainda, estudos de docking dessa estrutura com o composto Δ^9 -THC mostraram sua interação com o resíduo Phe268 através de interações π - π , além de evidenciar que a anandamida (endocanabinoide) ocupa

uma espaço similar ao Δ^9 -THC na interação com o CB1. Análises adicionais de docking também foram feitas com compostos agonistas e todos mostraram interação com os resíduos Phe268 e Phe379.⁶⁸

Semelhante à estrutura 5TGZ⁶⁹, na estrutura 5U09 (difração de raio-x, resolução de 2,6 Å), cocrystalizado com o taranabant (agonista inverso) o N-terminal se posiciona sobre o local de ligação do ligante, protegendo o ligante da exposição ao solvente. As principais interações se dão com os resíduos Phe170, Phe174, Leu193, Trp279, Trp356, Phe379 e Leu387.⁶⁹

As estruturas do receptor CB1 com os agonistas AM11542, código PDB 5XRA⁷⁰ (difração de raio-x, resolução de 2,8 Å) e AM841, código PDB 5XR8⁷⁰ (difração de raio-x, resolução de 2,95 Å), que adotam uma conformação em forma de L (muito menor que a conformação estendida adotada pelo antagonista AM6538 na estrutura 5TGZ), revelaram que os anéis tricíclicos desses agonistas estabelecem interações π - π com resíduos aromáticos, como Phe177, Phe189, Phe268, e Phe379, a hidroxila na posição 1 forma uma ligação hidrogênio com o resíduo Ser383 e ocorrem interações hidrofóbicas com regiões do receptor que incluem os resíduos Leu193, Val196, Tyr275, Leu276, Leu359 e Met363. Verificou-se também que os agonistas induzem as hélices TM1, TM2 e TM7 em um movimento para dentro. Também foi elucidado no receptor CB1 um interruptor de alternância duplo (*twin-toggle switch*, um mecanismo molecular que ocorre em receptores de membrana envolvendo dois aminoácidos específicos que podem alternar entre duas posições diferentes), abrangendo os resíduos Phe200 e Trp356, mostrando que desempenha um papel fundamental na mudança conformacional do receptor durante a ativação por agonistas, com rotações e movimentos em várias hélices, como TM3, TM6 e TM7.⁷⁰

A estrutura 6N4B (microscopia eletrônica, resolução de 3 Å) do receptor CB1 foi a primeira em complexo com a proteína Gi. O anel indazol do agonista sintético MDMB-Fubinaca apresentou fortes interações aromáticas com os resíduos Phe200 e Trp356 (importante para resultados), parecendo diferenciar esse composto como um agonista total em comparação com outros agonistas parciais, como o Δ^9 -THC.⁷¹

Na estrutura 6KPG (microscopia crioeletrônica, resolução de 3Å), tem-se o receptor CB1 cocristalizado com o composto agonista AM841, sendo semelhante à estrutura 5XR8, confirmando a importância dos resíduos Phe200 e Trp356, que atuam como interruptores de alternância duplo na ativação do CB1, e diferenciando as duas estruturas com relação a interface de ligação à proteína G, especificada agora como Gi. Além disso, a estrutura também elucidou que o receptor CB1 responde a uma maior variedade de ligantes ao se comparar com o receptor CB2.⁷²

A estrutura mais recente de CB1-Gi é a 8GHV (microscopia eletrônica, resolução de 2,8 Å), em complexo com o AMG315, revelando que seu grupo carbonila interage com os resíduos Phe268 e Ile267, localizados no ECL2, enquanto sua cadeia acila se encontra profundamente no bolso ortostérico. Essas interações podem explicar a seletividade do AMG315 pelo CB1 em relação ao CB2, uma vez que o ECL2 do CB1 é distinto do CB2.⁷³

Para o receptor CB2, tem-se disponíveis no banco de dados PDB até o momento as estruturas: 5ZTY⁷⁴, 6KPC⁷², 6KPF⁷², 6PT0⁷⁵, 8GUT⁷⁶, 8GUQ⁷⁶, 8GUS⁷⁶ e 8GUR⁷⁶.

A primeira estrutura depositada no banco de dados PDB do CB2 é a 5ZTY⁷⁴ (difração de raio-x, resolução de 2,8 Å). Nessa estrutura, o receptor CB2 está em complexo com o antagonista AM10257, revelando que o núcleo do anel de pirazol do AM10257 forma interações π - π com o resíduo Phe183 e interações hidrofóbicas com os resíduos Phe87 e Val113, enquanto o grupo 5-hidroxipentil estabelece interações hidrofóbicas com Thr114, Phe183, Ile186 e Trp194. Além disso, a estrutura mostra que o receptor CB2 não possui um interruptor de alternância duplo como foi constatado no CB1. A conformação do CB2 com o antagonista AM10257 mantém o resíduo Trp258 em uma conformação que restringe o movimento para fora de TM6 e mantém o receptor inativo. Verificou-se também que o N-terminal do CB2 não se encontra no bolso ortostérico, como ocorre no CB1, e o volume do bolso de ligação do CB2 é consideravelmente menor do que o do CB1.⁷⁴

Em 2020, foram obtidas estruturas do receptor CB2 com o agonista AM12033, estruturas PDB 6KPC⁷² (difração de raio-x, resolução de 3,2 Å) e 6KPF⁷² (microscopia eletrônica, resolução de 2,9 Å). Para a estrutura 6KPC, as interações

se mostraram principalmente hidrofóbicas e incluem resíduos de ECL2, TM3, TM5, TM6 e TM7. O anel tricíclico do AM12033 mostrou a formação interações π - π com os resíduos Phe183, Phe281 e Phe94. Verificou-se ainda que a hidroxila da posição 1 forma ligação de hidrogênio com Ser285 e mostrou-se também que o bolso de ligação do receptor CB2 é mais compacto em comparação com o bolso de ligação do receptor CB1 na interação agonista.⁷²

A estrutura 6PT0⁷⁵ (microscopia eletrônica, resolução de 3,2 Å), em complexo com o agonista WIN55,212-2 e com a proteína Gi revelou interações π - π e hidrofóbicas envolvendo resíduos como Phe91, Phe94, Phe87, His95, Pro184, Phe117, Trp258, Ile110, Val113, Phe183, Val261 e Met265.⁷⁵

As estruturas mais recentes do complexo CB2-Gi incluem a 8GUT (microscopia eletrônica, resolução de 2,98 Å), 8GUQ (microscopia eletrônica, resolução de 3,08 Å) e 8GUS (microscopia eletrônica, resolução de 2,97 Å), em complexo com agonistas seletivos LEI-102, APD371 e HU308, respectivamente.⁷⁶ Tem-se também a estrutura 8GUR (microscopia eletrônica, resolução de 2,84 Å) em complexo com o agonista CPP55,940. Verificou-se que os resíduos de CB2 Phe87, Ser90, Phe94, Phe183, Ser285, Val113, Phe117 e Phe281 são comum aos quatro compostos agonistas aqui mencionados. Os resíduos Leu182, Phe91 e Cys288 interagem somente no composto CPP55,940, que não é um agonista seletivo. Para os três compostos agonistas seletivos, verificou-se em comum os seguintes resíduos: Phe106, Lys109, Pro184, Phe87, Ile110, Thr114, Ile186, Leu191, Trp194, Met265. Embora o LEI-102 interaja principalmente com o CB2 por meio de interações hidrofóbicas, também foi observada uma ligação de hidrogênio com o resíduo Thr114. Foi proposto que ligantes lipofílicos, como o HU308, podem acessar o bolso ortostérico por meio da bicamada lipídica, enquanto ligantes polares, como o LEI-102 e o APD371, podem seguir uma rota alternativa de entrada.⁷⁶

Assim, de acordo com os dados experimentais das estruturas cristalográficas até agora disponíveis, os receptores CB1 e CB2 compartilham semelhanças em seus sítios ortostéricos, mas possuem diferenças estruturais significativas, tais como interruptor de alternância duplo e a ocupação do N-terminal, presentes somente no CB1. Informações dos sítios ortostéricos incluem: a interação de

antagonistas seletivos com o receptor CB1 por meio de interações hidrofóbicas e aromáticas com resíduos da porção N-terminal, do *loop* extracelular 2 (ECL2), que forma uma estrutura em forma de gaiola ao redor do ligante e das hélices transmembranares; a interação de antagonistas com o receptor CB2 exibindo um modo de ligação diferente em comparação com os antagonistas do CB1 por ter um sítio de ligação mais contraído; interação de compostos agonistas com os receptores CB1 e CB2, que causam mudanças conformacionais em suas ativações, sendo que para o receptor CB1, os agonistas induzem a extensão da porção N-terminal e alterações significativas na região extracelular, enquanto para o receptor CB2 é mantida uma conformação inativa com movimento limitado da hélice TM6.⁵⁷⁻⁵⁸ Apesar de elucidarem informações importantes sobre cada receptor, ainda se tem a necessidade de maiores investigações para melhor compreensão a respeito da seletividade de um composto com relação aos receptores CB1 e CB2, sendo esse tópico ainda um desafio.^{29,56,57}

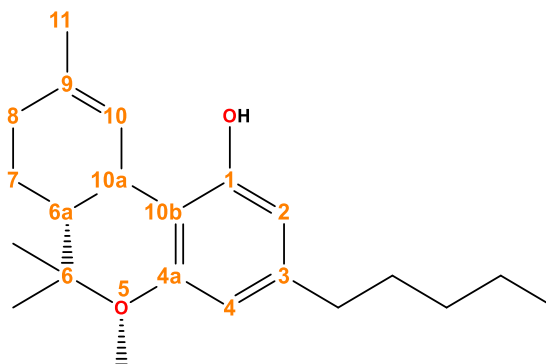
Dado o impacto significativo do sistema endocanabinoide no tratamento de diversas condições e doenças, torna-se fundamental a realização de pesquisas contínuas nessa área, buscando desenvolver compostos que possam interagir eficazmente com esse sistema com uma simultânea diminuição nos efeitos colaterais, visando aprimorar as opções terapêuticas disponíveis para uma ampla variedade de condições e enfermidades.

1.3 Modelos teóricos

Tem-se na literatura um modelo teórico que foi gerado para compreender quais propriedades são relevantes na relação entre a estrutura e a atividade psicotrópica de uma série de 50 compostos canabinoides.⁷⁷⁻⁷⁸ A atividade psicotrópica desses compostos foi avaliada qualitativamente décadas atrás por meio de injeções intravenosas aplicadas em macacos rhesus, que foram administradas contendo diferentes compostos canabinoides com diferentes concentrações, e os mesmos foram classificados como compostos ativos ou inativos de acordo com os sintomas apresentados pelos macacos dentro de um

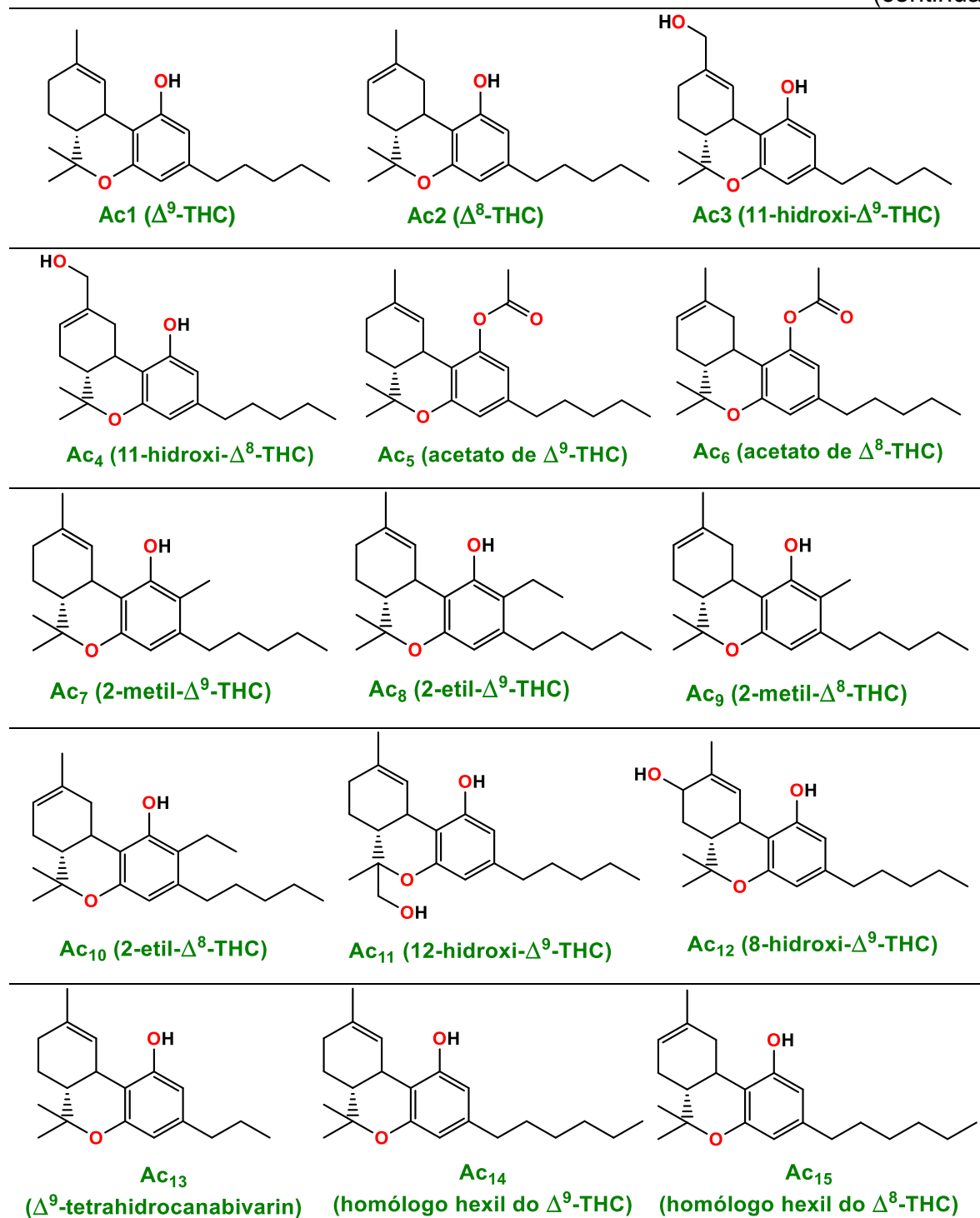
determinado período de tempo.⁷⁹⁻⁸⁰ Os compostos que tem em sua nomenclatura “Ac” foram os compostos considerados psicotropicamente ativos e os compostos que tem em sua nomenclatura “Ic” foram os compostos considerados psicotropicamente inativos. A estrutura base dos compostos canabinoides selecionados para esse trabalho e a numeração das posições de radicais comumente utilizadas é mostrada na Figura 6 e as estruturas químicas dos 50 compostos canabinoides pertencentes a essa série e seus respectivos nomes encontram-se na Tabela 4.⁷⁷⁻⁷⁸ Dentre esses compostos, tem-se compostos naturais, isolados da planta *Cannabis sativa* (Ac1, Ac2, ac12, Ac13, Ic1, Ic2, Ic8 e Ic21, correspondentes aos compostos 1, 26, 19, 6, 2, 27, 3 e 28 do Apêndice A, respectivamente, que contém todas as estruturas químicas dos compostos canabinoides isolados até o momento) e compostos canabinoides sintéticos.

Figura 6 Estrutura geral de um composto canabinoide com suas respectivas numerações

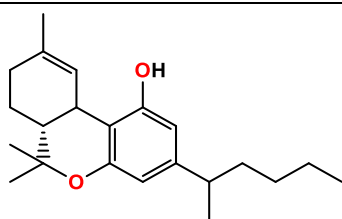


Fonte: Adaptado de Honório et al., 2010.⁷⁸

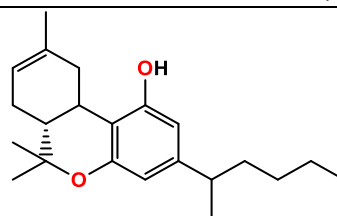
Tabela 4 Estruturas químicas e nomes da série de 50 compostos canabinoides
(continua)



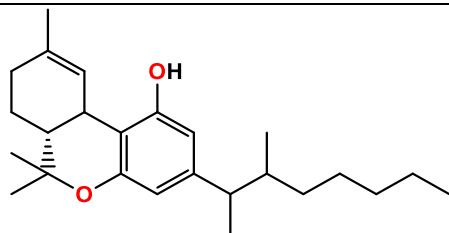
(continuação)



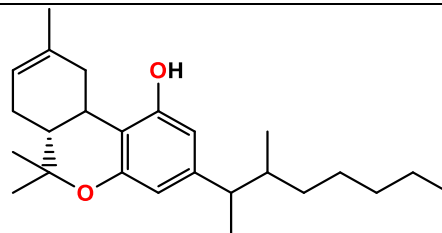
Ac₁₆
(homólogo 1'-metilpentil do Δ^9 -THC)



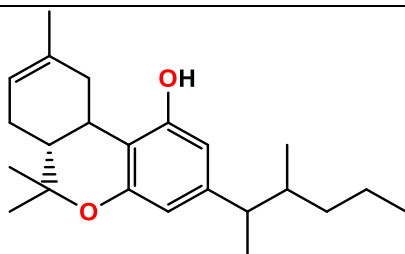
Ac₁₇
(homólogo 1'-metilpentil do Δ^8 -THC)



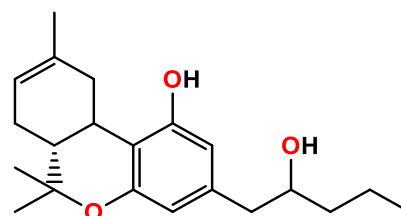
Ac₁₈
(homólogo 1', 2'-dimetileptil do Δ^9 -THC)



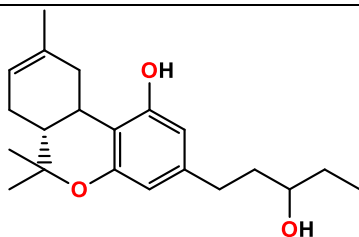
Ac₁₉
(homólogo 1', 2'-dimetilheptil do Δ^8 -THC)



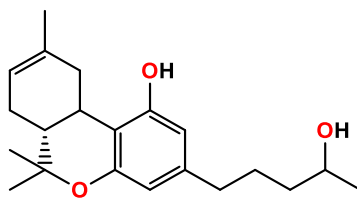
Ac₂₀
(homólogo 1', 2'-dimetilpentil do Δ^8 -THC)



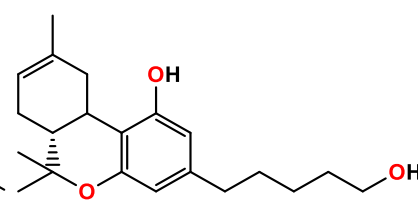
Ac₂₁ (2'-hidroxi- Δ^8 -THC)



Ac₂₂ (3'-hidroxi- Δ^8 -THC)

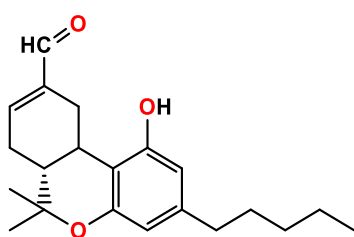
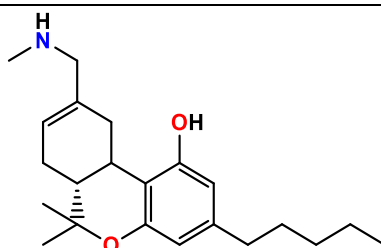
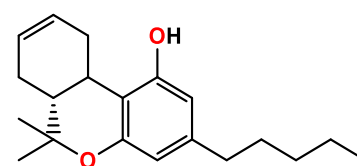
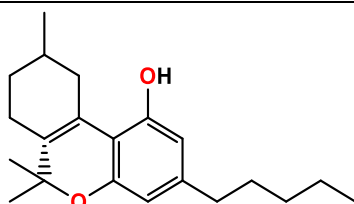
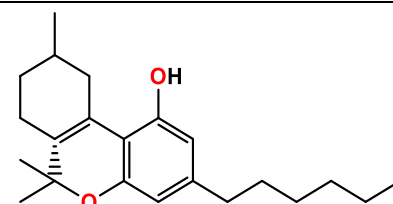
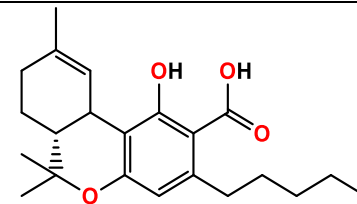
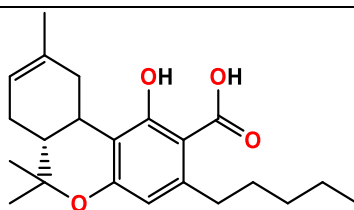
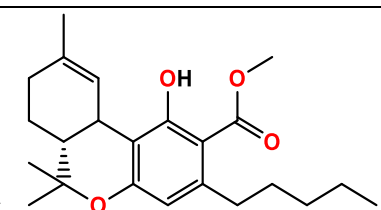
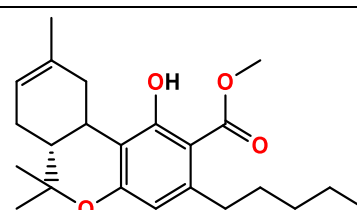
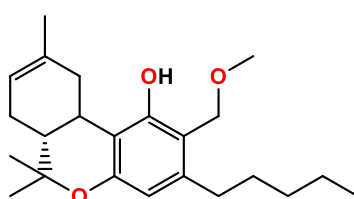
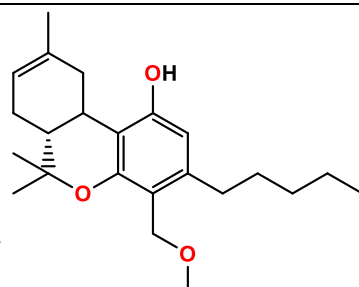
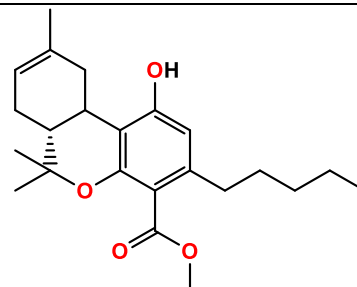
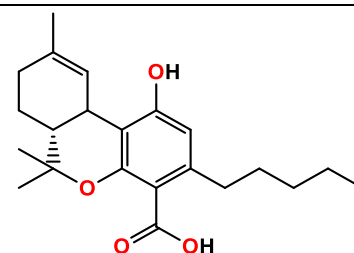
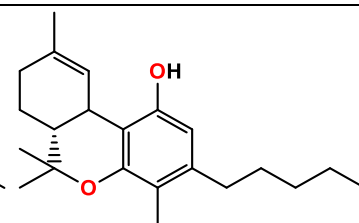
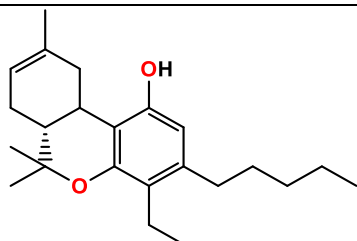


Ac₂₃ (4'-hidroxi- Δ^8 -THC)

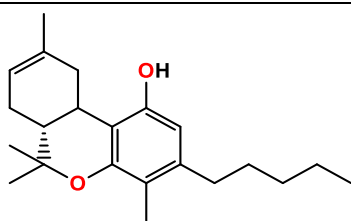
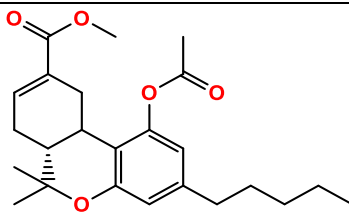
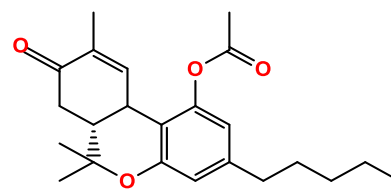
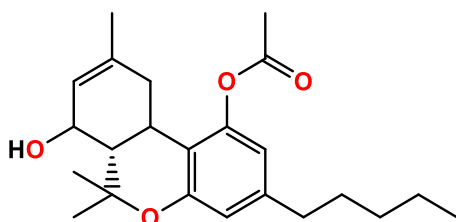
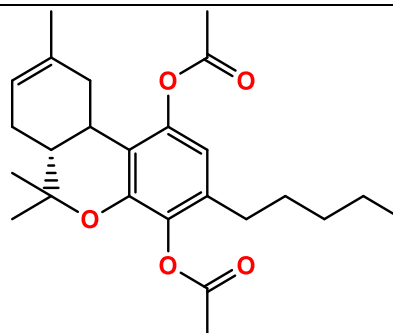
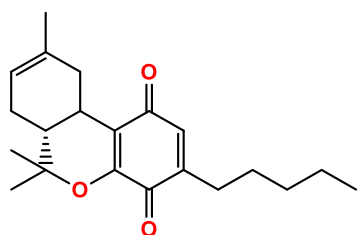
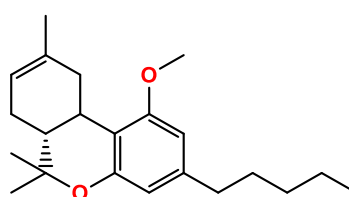
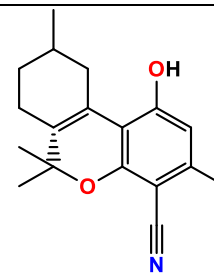
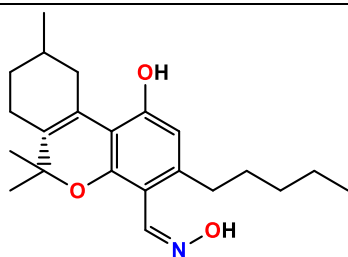
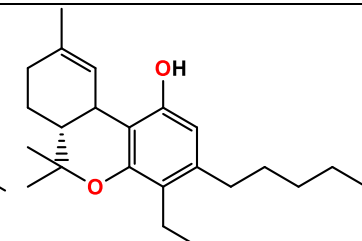
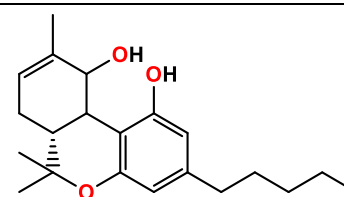


Ac₂₄ (5'-hidroxi- Δ^8 -THC)

(continuação)

**Ac₂₅ (11-oxo- Δ^8 -THC)****Ac₂₆ (11-metilamina- Δ^8 -THC)****Ac₂₇ (9-nor- Δ^8 -THC)****Ac₂₈ (Δ^{10a} -THC)****Ac₂₉
(homólogo hexil do Δ^{10a} -THC)****Ic₁ (2-carboxi- Δ^9 -THC)****Ic₂ (2-carboxi- Δ^8 -THC)****Ic₃ (2-carbometoxi- Δ^9 -THC)****Ic₄ (2-carbometoxi- Δ^8 -THC)****Ic₅ (2-acetil- Δ^8 -THC)****Ic₆ (4-acetil- Δ^8 -THC)****Ic₇ (4-carbometoxi- Δ^8 -THC)****Ic₈ (4-carboxi- Δ^9 -THC)****Ic₉ (4-metil- Δ^9 -THC)****Ic₁₀ (4-etil- Δ^8 -THC)**

(conclusão)

Ic₁₁ (4-metil- Δ^8 -THC)Ic₁₂ (acetato de 11-carbometoxi- Δ^8 -THC)Ic₁₃ (acetato de 8-oxo- Δ^9 -THC)Ic₁₄ (acetato de 7-hidroxi- Δ^8 -THC)Ic₁₅ (acetato de 4-acetoxi- Δ^8 -THC)Ic₁₆ (Δ^8 -THC quinona)Ic₁₇ (metil-éter- Δ^8 -THC)Ic₁₈
(3-metil-4-ciano- Δ^{10a} -THC)Ic₁₉ (3-metil-4-oxim- Δ^{10a} -THC)Ic₂₀ (4-etil- Δ^9 -THC)Ic₂₁ (10-hidroxi- Δ^8 -THC)

Fonte: Adaptado de Honório et al., 2010.⁷⁸

Para a construção desse modelo, foram feitas análises iniciais contendo 26 compostos desse grupo⁷⁷ e foram utilizados os seguintes métodos quimiométricos: análise dos componentes principais (PCA), análise hierárquica de agrupamentos

(HCA) e métodos dos vizinhos mais próximos (KNN). Esse modelo permitiu a seleção de quatro descritores moleculares que se mostraram mais relevantes na descrição da psicoatividade de 26 compostos canabinoides. Os descritores que foram selecionados são: E_{LUMO} (energia do orbital molecular mais baixo desocupado), LogP (logaritmo do coeficiente de partição), VC4 (volume do substituinte na posição C4) e LP1 (índice Lovasz-Pelikan, um índice de ramificação molecular). Posteriormente, mais 24 compostos canabinoides foram adicionados a esse grupo, formando um novo grupo totalizado por 50 compostos canabinoides. Foi utilizado o método de ANN (do inglês *Artificial Neural Networks*) através das técnicas MLP (do inglês *Multi-layer perceptron*) e Kohonen, mostrando que o modelo teórico contendo esses quatro descritores é capaz prever a psicoatividade dessa série de 50 compostos canabinoides e concluiu-se que as características eletrônicas (E_{LUMO}), hidrofóbicas (LogP), e estéreas (VC4) e topológicas (LP1) têm grande importância na psicoatividade dos mesmos.⁷⁸

Embora esses modelos teóricos tenham demonstrado eficácia na previsão da psicoatividade de uma série de 50 compostos canabinoides, não há dados experimentais disponíveis na literatura sobre a atividade biológica indicando a afinidade desses compostos com os receptores CB1 e CB2. Esses dados são de grande relevância para orientar pesquisas experimentais e teóricas.⁵⁶ Os estudos teóricos, também chamados de *in silico* quando são desenvolvidos utilizando de meios computacionais, desempenham um papel importante ao prever como esses compostos são metabolizados e como interagem no organismo, possibilitando assim a identificação de novos candidatos a fármacos.⁸¹ Além disso, tem-se dados de que diversos medicamentos aprovados pela FDA (do inglês *Food and Drug Administration*), que é o órgão do governo dos Estados Unidos responsável pela regulamentação e supervisão de alimentos, medicamentos, produtos médicos, produtos biológicos e outros aspectos relacionados à saúde pública, já aprovou diversos medicamentos que foram inicialmente desenvolvidos utilizando de métodos computacionais.⁸² Dentre os estudos teóricos utilizando de métodos computacionais que podem ser realizados com esse objetivo, é possível citar estudos QSAR, estudos de *docking* e estudos de dinâmica molecular.⁸¹⁻⁸²

Modelos QSAR (do inglês *Quantitative Structure-Activity Relationships*) consistem em relacionar as estruturas químicas de um conjunto de compostos com a atividade biológica que apresentam frente à um determinado receptor, podem ser aplicados no começo da pesquisa de novos medicamentos para selecionar candidatos com base em como funcionam e em possíveis efeitos colaterais.⁸²

Estudos de *docking* permitem prever a orientação favorável de um ligante em um determinado sítio de ligação de uma proteína alvo e calculam sua afinidade por meio de interações elétricas e interações de van der Waals.⁸²

Estudos de dinâmica molecular possibilitam prever os movimentos nos sítios ativos das proteínas receptoras e dos compostos com os quais interagem, auxiliando no entendimento das características estruturais das proteínas, da estabilidade dos complexos proteína-ligante e, inclusive, na identificação de sítios de ligação adicionais, chamados de alostéricos.⁸² Adicionalmente, cálculos de energia livre de ligação relativos podem ser realizados, para avaliarem a afinidade entre ligantes e proteínas em complexos moleculares por serem mais precisos e eficientes do que algumas outras abordagens de *docking*.⁸²

Assim, esses estudos teóricos utilizando de métodos computacionais têm grande importância para este trabalho, ao possibilitar identificar importantes propriedades e características a respeito da série de 50 compostos canabinoides nas interações que ocorrem com os receptores CB1 e CB2.

Portanto, dado as informações até aqui colocadas e visto que os compostos dessa série de 50 compostos canabinoides foram classificados como ativos e inativos antes de se terem informações sobre os receptores canabinoides CB1 e CB2⁷⁹⁻⁸⁰, no presente trabalho levantam-se três hipóteses sobre esses compostos e essa classificação:

- I. Todos os compostos considerados como ativos interagem de forma agonista ou agonista parcial com o receptor CB1, visto que é o receptor responsável pelos efeitos psicotrópicos;
- II. Dentre os compostos classificados como inativos (ou seja, compostos que não causaram efeitos psicotrópicos) pode-se ter compostos que

interagem de forma antagonista ou agonista inverso com o receptor CB1, impedindo a resposta a efeitos psicotrópicos

- III. Ainda considerando os compostos inativos, eles podem interagir de forma agonista ou agonista parcial somente com o receptor CB2, receptor esse que não causa efeitos psicotrópicos, e assim poderíamos investigar se esses compostos podem atuar de maneira seletiva ao interagir somente com o receptor CB2.

Para esse estudo, será de maior interesse os compostos classificados como inativos, dando ênfase às hipóteses II e III. Isso se deve ao fato de que os compostos classificados como ativos apresentam efeitos psicotrópicos, estando estabelecido que interagem com o receptor CB1 visto que esse é o receptor responsável por tais efeitos. No entanto, as interações específicas entre os compostos classificados como inativos e os receptores CB1 e CB2 ainda são desconhecidas, conforme levantado nas hipóteses II e III. Portanto, compreender essas interações é de fundamental importância para determinar como esses compostos inativos se relacionam com os receptores canabinoides, fornecendo informações importantes para o desenvolvimento de fármacos com compostos canabinoides.

Assim, modelos QSAR serão importantes para realizar o cálculo da predição da afinidade biológica desses compostos com cada um dos receptores, possibilitando identificar compostos que apresentam maiores afinidades com os receptores CB1 e CB2. Já os estudos de *docking* permitirão analisar as interações específicas entre os compostos canabinoides e os receptores CB1 e CB2 no sítio ativo e os estudos de dinâmica molecular serão fundamentais para avaliar a estabilidade ao longo do tempo de cada composto na interação com os receptores CB1 e CB2.

1.4 Modelos QSAR

Modelos QSAR (do inglês *Quantitative Structure-Activity Relationships*) relacionam a estrutura química de compostos com os valores da sua atividade biológica.⁸³ Essa relação se dá através da seleção de descritores, que representam características de uma molécula através de valores numéricos, tais como tamanho, forma, distribuição de cargas, distribuição de energia, dentre muitas outras, ao se contruírem modelos teóricos através da seleção dos descritores mais significativos.⁸⁴⁻⁸⁶

Os descritores podem ser classificados como topológicos (que representam as conectividades dos átomos nas moléculas, sendo comuns os índices Wiener, índices de conectividade e índices J de Balaban), geométricos (fornecem informações tridimensionais das moléculas, com relação ao tamanho, forma e distribuição dos átomos, como WHIM, do inglês *Weighted Holistic Invariant Molecular*; GETAWAY, do inglês *GEometry, Topology, and Atom-Weights Assembly* e MOrSE, do inglês *3D-Molecular representation of Structures based on Electron diffraction*), constitucionais.⁸⁶⁻⁹¹ Descritores constitucionais e geométricos são os mais comumente usados em modelos QSAR, pois descrevem a composição molecular de um composto, sua forma e tamanho.⁸⁶

Para gerar esses descritores, pode ser utilizado o método quântico DFT (do inglês *Density Function Theory*), que é baseado na resolução da equação de Schrödinger para elétrons de sistemas moleculares em função da posição do núcleo, no qual o estado fundamental de energia de um átomo ou molécula é expresso em termos de sua densidade eletrônica.⁹² Após a geração desses descritores, devem ser selecionados os que são mais relevantes na descrição de um conjunto de moléculas. Essa seleção de descritores pode ser feita ao utilizar técnicas computacionais como matriz de correlação e algoritmo genético.

A matriz de correlação correlaciona os valores dos descritores com os valores da atividade biológica, através do coeficiente de correlação de Pearson (R_{ij}), representado pela equação (1), no qual X_i e X_j correspondem aos valores dos descritores e atividades biológicas e n corresponde ao número de amostras, respectivamente.⁹³⁻⁹⁴

$$R_{ij} = \frac{\sum X_i X_j - \sum X_i \sum X_j / n}{\sqrt{(\sum X_i^2 - (\sum X_i)^2 / n) \cdot (\sum X_j^2 - (\sum X_j)^2 / n)}} \quad (1)$$

São desejáveis valores intermediários de R_{ij} , pois baixos valores indicam uma correlação muito baixa entre os valores dos descritores e da atividade biológica e altos valores são considerados repetitivos. Para estudos QSAR, é recomendado valores entre 0,3 a 0,6.⁹⁴

O algoritmo genético consiste na identificação e classificação dos compostos de acordo com suas características similares e através da análise dos parâmetros q^2 (coeficiente de correlação da validação cruzada) e R (coeficiente de correlação), torna possível a seleção dos descritores moleculares importantes para a construção do modelo.⁹⁵⁻⁹⁷

Com os descritores devidamente selecionados, pode ser utilizado o método de Mínimos Quadrados Parciais ou PLS (do inglês *Partial Least Squares*) para gerar modelos QSAR.⁹⁸ O método PLS desenvolve uma expressão matemática que correlaciona linearmente os valores de duas matrizes X e Y através de regressões lineares múltiplas, sendo que a matriz X corresponde aos valores de atividade biológica preditos e a matriz Y corresponde aos valores dos descritores selecionados. As matrizes X e Y podem ser descritas pelas equações (2) e (3), nas quais T e U representam as matrizes de escores, P' e Q' as matrizes de pesos, E e F as matrizes dos resíduos, t_a e u_a são os elementos das matrizes de escores T e U e p'_a e q'_a são os elementos das matrizes de pesos P' e Q' das matrizes X e Y , respectivamente.

$$X = TP' + E = \sum t_a p'_a + E \quad (2)$$

$$Y = UQ' + F = \sum u_a q'_a + F \quad (3)$$

Então, parâmetros como o coeficiente de determinação (r^2) e coeficiente de validação cruzada (q^2) são analisados, sendo considerados valores aceitáveis em

análises de PLS de r^2 e q^2 como sendo maiores do que 0,6 e 0,5, respectivamente. Os coeficientes r^2 e q^2 são calculados através das equações (4) e (5), nas quais y_{iexp} indica o valor experimental da atividade biológica de Y da i -ésima amostra, \hat{y}_{ival} representa o valor predito de Y pelo modelo construído sem a amostra i , y_{med} representa o valor experimental médio de Y e \hat{y}_{ical} representa o valor calculado de Y da i -ésima amostra utilizando o modelo construído com todas as amostras.⁹⁹⁻¹⁰⁰

$$q^2 = 1 - \frac{\sum(y_{iexp} - \hat{y}_{ival})^2}{\sum(y_{iexp} - y_{med})^2} \quad (4)$$

$$r^2 = 1 - \frac{\sum(y_{iexp} - \hat{y}_{ical})^2}{\sum(y_{iexp} - y_{med})^2} \quad (5)$$

Também são analisados os parâmetros estatísticos que mostram os valores de erros de predição, que são eles a soma dos quadrados dos erros de predição (do inglês PRESS - *Prediction Residues Error Square Sum*), erro padrão de validação (do inglês SEV - *Standard Error of Validation*), erro padrão de calibração (do inglês SEC - *Standard Error of Calibration*), calculados pelas equações (6), (7) e (8), respectivamente. Para um bom modelo PLS, os valores de erros estatísticos devem ser os menores possíveis.⁹⁴

$$PRESS = \sum (y_{iexp} - \hat{y}_{ival})^2 \quad (6)$$

$$SEV = \left[\frac{PRESS}{I} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (7)$$

$$SEC = \left[\frac{\sum (y_{iexp} - \hat{y}_{ical})^2}{I - a - 1} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (8)$$

O Teste F, que fornece a razão entre a variabilidade explicada e não explicada pelo modelo, também é um parâmetro importante e deve ter o maior valor

possível, pois assim pode indicar que é um bom modelo por ser capaz de explicar suas variações.¹⁰¹

$$Teste F = 1 - \frac{\sum(y_{iexp} - y_{med})^2 - (y_{iexp} - \hat{y}_{ical})^2}{\sum(y_{iexp} - \hat{y}_{ical})^2} \frac{(I - 1)}{VL} - 1 \quad (9)$$

Ao gerar o modelo PLS e verificar esses parâmetros estatísticos, devem ser realizados testes de validação para verificar sua eficácia ao predizer valores de atividade biológica. Dentre esses testes, tem-se a detecção de *outliers*, que identifica a presença de amostras atípicas, teste *leave-N-out*, que avalia a robustez do modelo e randomização, que identifica correlações ao acaso entre a variável dependente e os descritores.¹⁰²

Assim, após serem gerados e validados, esses modelos PLS são capazes de predizer a atividade biológica de compostos que tenham estruturas similares.

1.5 Estudos de *docking*

Estudos de *docking* têm sido amplamente utilizados no desenvolvimento de fármacos para prever a orientação e conformação (nomeadas também de pose) no sítio de ligação entre um alvo receptor macromolecular (proteína, enzima, DNA ou RNA) e um composto ligante.¹⁰³ Para a realização do *docking*, deve-se conhecer a estrutura do alvo receptor, que pode ser obtida através de dados experimentais, como pelo banco de dados PDB⁶⁶⁻⁶⁷, ou através de métodos computacionais de predição.

Os *softwares* que realizam análises de *docking* fazem a predição das poses através de algoritmos de busca, que são ranqueados pelas funções de pontuação, baseando-se em três principais abordagens, dependendo do nível de flexibilidade considerado: o *docking* com ligante e receptor rígidos, onde ambos são tratados como corpos rígidos, limitando a busca; o *docking* com ligante flexível e receptor rígido, adequado quando o ligante se ajusta à proteína, mas o receptor permanece rígido, economizando recursos computacionais; e o *docking* com ligante e receptor

flexíveis, crucial quando ambos sofrem ajustes conformacionais.¹⁰³⁻¹⁰⁴ Exemplos de software incluem DOCK¹⁰⁵ e FLOG¹⁰⁶ para a primeira abordagem, AutoDock¹⁰⁷ e FlexX¹⁰⁸ para a segunda, e programas como Glide¹⁰⁹, AutoDock Vina¹¹⁰ e MOE¹¹¹ para a terceira.

Os algoritmos de busca desempenham o papel fundamental de encontrar a posição ideal de um ligante em relação ao alvo macromolecular. Os *Matching Algorithms* (MA), como os encontrados em programas como DOCK¹⁰⁵, FLOG¹⁰⁶, LibDock¹¹² e SANDOCK¹¹³, mapeiam o ligante com base em características de forma e informações químicas, enquanto os métodos de *Incremental Construction* (IC), utilizados em DOCK 4.0¹¹⁴, FlexX¹⁰⁸, Hammerhead¹¹⁵, SLIDE¹¹⁶ e eHiTS¹¹⁷, ancoram o ligante de maneira incremental, dividindo-o em fragmentos. O MCSS (do inglês *Multiple Copy Simultaneous Search*)¹¹⁸ e o LUDI¹¹⁹ são outros métodos, com o MCSS sendo aplicado em programas como AutoDock¹²⁰ e ICM¹²¹, e o LUDI focando em ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. Além disso, os métodos estocásticos, como o Monte Carlo (MC), usado em AutoDock¹²⁰, ICM¹²¹, QXP¹²² e MOE¹¹¹, e o algoritmos genético (GA)¹²³, aplicados em programas como AutoDock¹²⁰, GOLD¹²⁴, DIVALI¹²⁵ e DARWIN¹²⁶, exploram o espaço conformacional do ligante por meio de modificações aleatórias.

Existem três principais tipos de funções de pontuação amplamente utilizadas no *docking* molecular: as baseadas em campo de força, como as encontradas em programas como DOCK¹⁰⁵, GOLD¹²⁴, AutoDock¹²⁰ e MOE¹¹¹, que calculam a energia de ligação considerando interações não ligadas; as empíricas, como LUDI, PLP¹²⁷ e ChemScore¹²⁸, que descompoem a energia de ligação em várias componentes ponderadas e são ajustadas com coeficientes obtidos de complexos de ligante-proteína conhecidos; e as baseadas em conhecimento, como PMF¹²⁹ e DrugScore¹³⁰, que usam análises estatísticas de complexos cristalinos ligante-proteína para calcular pontuações com base em frequências de contatos interatômicos.

O *Molecular Opening Environment* (MOE) é um software que integra visualização, modelagem e simulação, capaz de realizar diversas análises, incluindo análises de *docking*, que são realizadas através de dois protocolos

diferentes, têmpera simulada e busca tabu, que visam encontrar a melhor soluço para otimizar os contatos espaciais e as intera es eletrostáticas entre as moléculas.^{111,131}

As análises dos resultados de *docking* podem incluir a verifica o das intera es existentes no sítio de liga o entre o composto ligante e o alvo receptor (dadas pelas liga es hidrogênio, forças de van der Waals, intera es eletrostáticas e intera es hidrofóbicas), evidenciando quais regiões do composto ligante são mais importantes e com quais resíduos de aminoácidos eles interagem, além de verificar as distâncias dessas intera es, os valores de energia envolvidos e se realizado com mais de um composto ligante, quais compostos ligantes apresentam maior afinidade com o alvo macromolecular.¹³²

Estudos de *docking* com as estruturas cristalográficas dos receptores CB1 e CB2 disponíveis no banco de dados PDB com compostos canabinoides revelaram importantes resíduos nas intera es. No contexto das intera es com o receptor CB1, os agonistas apresentam intera es distintas com resíduos específicos, como Phe177, Phe189, Phe268 e Phe379, estabelecendo liga es π - π por meio dos anéis tricíclicos, além de intera es hidrofóbicas com Leu193, Val196, Tyr275, Leu276, Leu359 e Met363. Destaca-se também a participa o dos resíduos Phe200 e Trp356, atuando como interruptores essenciais para a ativa o do receptor CB1, induzindo movimentos nas hélices TM1, TM2 e TM7. Por outro lado, os antagonistas interagem profundamente com Trp356 no bolso de liga o, juntamente com Phe170, Phe174 e Phe379, estabelecendo intera es hidrofóbicas, enquanto Ser383 forma uma liga o de hidrogênio com o ligante. Esses resíduos específicos revelam as distintas intera es moleculares que influenciam as atividades e os efeitos funcionais exercidos pelos agonistas e antagonistas no receptor CB1.⁶⁸⁻⁷³

Em termos do receptor CB2, compostos agonistas mostram intera es π - π com resíduos como Phe183, Phe281 e Phe94, além de liga es de hidrogênio com Ser285. Esses ligantes estabelecem também intera es hidrofóbicas com Phe87, Val113, Thr114, Ile186, Trp194 e outros resíduos nas regiões ECL2, TM3, TM5, TM6 e TM7. Comparativamente, o bolso de liga o do CB2 durante a intera o agonista   mais compacto do que no CB1. Por outro lado, os antagonistas do CB2

mostram interações π - π com Phe183, interações hidrofóbicas com Phe87, Val113 e Thr114. Esses ligantes também formam interações hidrofóbicas adicionais com outros resíduos do receptor CB2. Essas interações indicam diferenças nos padrões de ligação entre agonistas e antagonistas no receptor CB2, influenciando em suas atividades funcionais.^{72,74-76}

Assim, através de estudos de *docking* é possível identificar quais compostos se mostram mais compatíveis com o alvo receptor em estudo, elucidando características importantes nas interações do complexo proteína-ligante. Para o presente estudo, deseja-se também esclarecer características relevantes de compostos canabinoides psicoativos na interação com o receptor CB1 que poderiam atuar como antagonistas, a fim de sustentar a hipótese II. Também pretende-se comparar as diferenças nas interações dos mesmos compostos canabinoides com os receptores CB1 e CB2 para sustentar a hipótese III, que supões que alguns compostos considerados como psicoativos possam atuar como agonistas seletivos do receptor CB2.

1.6 Estudos de dinâmica molecular (DM)

Inicialmente desenvolvidas nas décadas de 1950 e 1970, as simulações de dinâmica molecular são atualmente utilizadas amplamente devido ao avanço na obtenção de dados de estruturas experimentais e à melhoria da acessibilidade e precisão nos últimos anos, visto que para realizar tais simulações, é necessária uma configuração inicial de átomos derivada de dados experimentais, estruturas cristalinas ou outros métodos de simulação.¹³³

As simulações de dinâmica molecular, fundamentada nas leis do movimento de Newton e nos princípios da mecânica estatística, permitem capturar detalhes difíceis de obter experimentalmente ao calcular as forças entre átomos em sistemas biomoleculares, prevendo então as posições atômicas ao longo do tempo com condições controladas (como a conformação inicial do sistema, o ambiente molecular ao redor do sistema, a temperatura e a pressão, por exemplo), resultando

assim em uma trajetória tridimensional que representa a configuração do sistema em intervalos de tempo.¹³³⁻¹³⁵

Diferentes conjuntos (NVE, NVT, NPT) controlam temperatura, volume e número de partículas, enquanto termostatos e barostatos mantêm os níveis desejados de temperatura e pressão. Condições de contorno periódicas (*periodic boundary conditions*) simulam um sistema infinito replicando uma pequena célula unitária no espaço, eliminando efeitos superficiais artificiais.¹³⁴

Existem diversos tipos de simulações de dinâmica molecular, incluindo a DM Clássica, que trata os átomos como partículas clássicas (desconsiderando efeitos quânticos) e utiliza campos de força empíricos para calcular interações interatômicas¹³⁶, a DM *Ab Initio*, que incorpora princípios da mecânica quântica para descrever estruturas e interações eletrônicas¹³⁷, a DM *Coarse-Grained*, que simplifica a representação agrupando átomos¹⁴⁸, a DM Reativa, focada em reações químicas e dinâmica de ligações¹³⁹, a DM Quântica, combinando mecânica molecular e mecânica quântica¹⁴⁰, a DM de Amostragem Aprimorada, utilizando métodos para explorar superfícies de energia potencial de forma mais eficaz¹⁴¹ e DM de Não Equilíbrio, estudando sistemas afastados do equilíbrio onde ocorre troca de energia e momento com o ambiente.¹⁴² Essas abordagens diversas atendem a diferentes necessidades de pesquisa e ajudam a revelar detalhes em nível molecular em uma variedade de campos científicos.¹³⁴

Diversos *softwares* estão disponíveis para realizar simulações de dinâmica molecular, destacando-se pacotes de *software* como GROMACS¹⁴³, NAMD¹⁴⁴, AMBER¹⁴⁵ e CHARMM¹⁴⁶, que oferecem ferramentas avançadas para conduzir simulações de alta precisão e eficiência computacional.^{133,147}

O NAMD (do inglês *NAnoscale Molecular Dynamics*) é um *software* de simulação de dinâmica molecular usado principalmente para estudar sistemas biológicos complexos em uma escala molecular.¹⁴⁴ Desenvolvido pelo Theoretical and Computational Biophysics Group (Grupo de Biologia Teórica e Computacional) da Universidade de Illinois, o NAMD é projetado para executar simulações em sistemas de grande escala, como proteínas, ácidos nucleicos e membranas celulares. Ele utiliza técnicas de simulação eficientes, paralelização escalável e

algoritmos otimizados para explorar a dinâmica de biomoléculas em níveis atômicos. Com sua capacidade de realizar simulações detalhadas em larga escala, o NAMD é amplamente utilizado para investigar processos biológicos, interações proteína-ligante, conformações estruturais e outros aspectos fundamentais da biologia molecular.¹⁴⁴

A escolha do campo de força a ser empregado em uma simulação de dinâmica molecular é fundamental, tendo-se em vista que são limitados por serem aproximados. Alguns campos de força foram desenvolvidos para diferentes tipos de moléculas.¹⁴⁷ Para simulações de proteínas, pode-se empregar os campos de força AMBER¹⁴⁸, CHARMM¹⁴⁹ e GROMOS¹⁵⁰; para lipídeos, tem-se o CHARMM36¹⁵¹ e AMBER14¹⁵² para moléculas pequenas, pode-se citar o OPLS3¹⁵³ e CHARMM General Force Field (CGenFF)¹⁵⁴. O campo força CHARMM36, usado para modelar interações interatômicas em sistemas biomoleculares como proteínas, ácidos nucleicos, lipídios e carboidratos, é conhecido por sua precisão e sua capacidade de representar fielmente o comportamento das biomoléculas durante simulações de longo prazo.¹⁵¹

São diversas as aplicações da dinâmica molecular, podendo citar o aprimoramento e teste de estruturas moleculares modeladas (possibilitando refinar estruturas experimentais), a previsão de como sistemas biomoleculares respondem a perturbações (como a remoção de ligantes ou mutações em proteínas) e a visualização de processos funcionais (como o dobramento de proteínas, ligação de ligantes, mudanças conformacionais ou transporte através de membranas), elucidando assim a base estrutural desses eventos.¹³³ Portanto, simulações de dinâmica molecular permitem testar hipóteses, filtrar candidatos no planejamento de ligantes e proteínas, além de direcionar experimentos. Experimentos motivados por simulações de dinâmica molecular podem verificar propriedades estruturais ou funcionais, testando mudanças em proteínas ou ligantes preditas pelas mesmas, potencializando a compreensão biomolecular.¹³³⁻¹³⁵

A análise dos resultados da dinâmica molecular inclui a avaliação de trajetórias de simulação para examinar propriedades estruturais, conformacionais e termodinâmicas, como análises de RMSD (do inglês *Root Mean Square Deviation*),

de RMSF (do inglês *Root Mean Square Fluctuation*), de formação de ligações de hidrogênio e raio de giro.¹⁵⁵⁻¹⁵⁶ Essas análises fornecem informações sobre a estabilidade estrutural, flexibilidade, interações moleculares e estados de transição dos sistemas em estudo, contribuindo para uma compreensão mais profunda de suas funções biológicas, podendo ser realizadas através do software VMD¹⁵⁷ (*Visual Molecular Dynamics*), comumente usado em conjunto com programas de simulação (como os já citados NAMD, GROMACS e AMBER) para análise e visualização de resultados de simulação.

Assim, a dinâmica molecular desempenha um papel muito importante na descoberta de medicamentos ao otimizar a eficácia dos ligantes por meio da compreensão das interações e rearranjos no bolso de ligação, fornecendo informações detalhadas sobre como as mudanças conformacionais afetam os perfis de sinalização das proteínas em estudo.

Análises de dinâmica molecular aplicada aos receptores CB1 e CB2, bem como aos compostos canabinoides, são fundamentais para auxiliar na compreensão dos mecanismos de interação e na estabilidade, contribuindo para o desenvolvimento de terapias direcionadas e mais eficazes.

Em síntese, por meio da utilização de modelos QSAR, análises de *docking* e dinâmica molecular aplicados aos compostos canabinoides selecionados, espera-se obter uma compreensão mais ampla de suas propriedades estruturais e físico-químicas. Isso possibilitará investigar se, entre os 50 compostos canabinoides classificados como psicoativos, existem substâncias que poderiam atuar como antagonistas do receptor CB, conforme sugerido na hipótese II, ou como agonistas seletivos do receptor CB2, conforme proposto na hipótese III. Essa abordagem visa elucidar características essenciais de suas ações agonistas e antagonistas, contribuindo potencialmente para o desenvolvimento de fármacos com compostos canabinoides.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi conduzir análises teóricas visando esclarecer aspectos importantes relacionados à psicoatividade de uma série de 50 compostos canabinoides na interação com os receptores CB1 e CB2.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho incluem a aplicação de métodos computacionais consolidados, frequentemente utilizados no desenvolvimento de fármacos, para o estudo de uma série de 50 compostos canabinoides, que são eles:

- Gerar modelos QSAR para prever a atividade biológica desses compostos com os receptores CB1 e CB2;
- Realizar de análises de *docking* e dinâmica molecular para investigar as interações e estabilidade entre os compostos canabinoides e os receptores CB1 e CB2.

3 METODOLOGIA

3.1 Geração de modelos QSAR

3.1.1 Seleção dos compostos canabinoides

Foram selecionados compostos canabinoides que apresentavam uma estrutura semelhante à mostrada na Figura 6, contendo variações em suas ramificações e ligações disponíveis, do banco de dados ChEMBL, que disponibiliza informações sobre compostos químicos e suas interações com alvos biológicos, reunindo dados experimentais da literatura científica e de patentes, permitindo acesso de dados sobre compostos, alvos biológicos e ensaios.¹⁵⁸⁻¹⁶⁰ A atividade biológica dos compostos selecionados se deu em termos de constante de dissociação do inibidor em sua forma logarítmica (pK_i) para os receptores CB1 e CB2.

Trabalhos na literatura mostraram que modelos QSAR podem ser construídos com moléculas extraídas de banco de dados mesmo que esses compostos tenham suas atividades biológicas aferidas em diferentes laboratórios desde que os compostos atendam à alguns critérios que possam torná-los equiparáveis.¹⁶⁰⁻¹⁶² No banco de dados ChEMBL, informações importantes a respeito dos compostos são disponibilizadas, como *BAO label* (do inglês *BioAssay Ontology*) que permite distinguir os ensaios bioquímicos baseados em células, tecidos ou organismos¹⁶³, *target organism* (organismo alvo) que se refere à espécie alvo, *target type* (tipo de alvo) que classifica a interação de um composto como alvo¹⁶⁴ e *assay description* (descrição do ensaio). Para este trabalho, todos os compostos selecionados seguiram os critérios mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 Critérios utilizados na seleção de compostos canabinoides no banco de dados ChEMBL

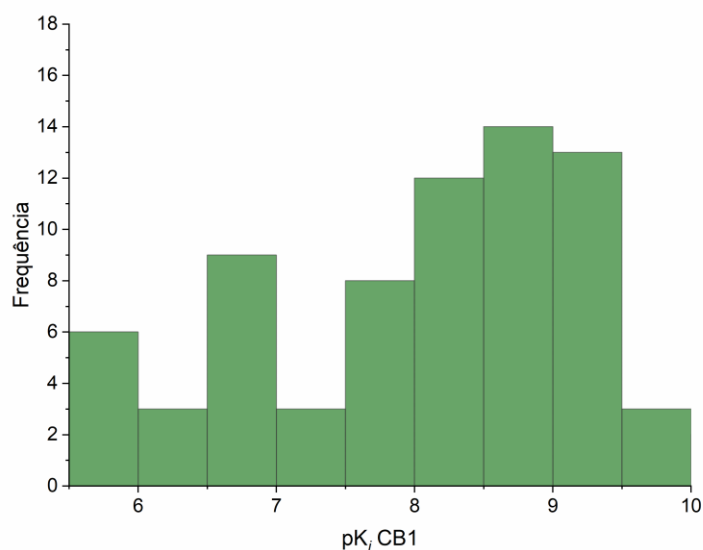
<i>BAO label</i>	<i>Target organismo</i>	<i>Target type</i>	<i>Assay description</i>
<i>Single protein format</i>	<i>Homo sapiens</i>	<i>Single protein</i>	<i>Binding affinity for Cannabinoid receptor 1 ou Binding affinity for Cannabinoid receptor 2</i>

Fonte: Autoria própria

Foi selecionado um total de 80 compostos, sendo que seus dados de pK_i , suas estruturas químicas e seus respectivos nomes do banco de dados ChEMBL¹⁵⁸⁻¹⁶⁰ e se encontram no apêndice B. Devido a nomenclatura do banco de dados ChEMBL consistir em uma sequência de diversos números, os compostos selecionados foram renomeados para facilitar no desenvolvimento do trabalho e na apresentação dos resultados e discussões (nomes esses que também estão inclusos no Apêndice B com seus respectivos nomes do banco de dados ChEMBL). Para a geração dos modelos QSAR, foram selecionados 69 compostos com dados de pK_i do receptor CB1 e 74 compostos com dados de pK_i do receptor CB2, sendo que 63 compostos são comuns em ambos os modelos.

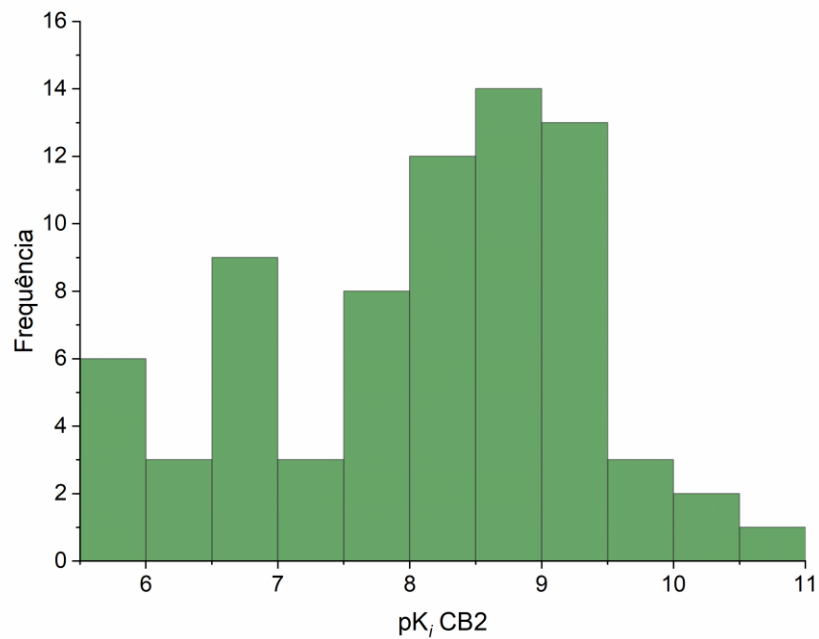
De acordo com a literatura, modelos QSAR devem apresentar um conjunto de compostos com uma faixa de no mínimo duas ordens de magnitude dos seus valores de atividade biológica.⁹³ A faixa de variação para o conjunto de compostos selecionados com valores de atividade biológica para os receptores CB1 e CB2 é de, 4,2 e 4,95 respectivamente, sendo, portanto faixas de valores aceitáveis. As figuras 7 e 8 mostram a distribuição dos valores de pK_i dos compostos selecionados para a construção dos modelos é possível notar que se tem uma distribuição relativamente homogênea referente aos valores de pK_i dos compostos selecionados para a construção dos modelos QSAR para ambos os receptores CB1 e CB2.

Figura 7 Distribuição dos valores de pK_i para o receptor CB1 dos compostos canabinoides selecionados do banco de dados ChEMBL.



Fonte: Autoria própria

Figura 8 Distribuição dos valores de pK_i para o receptor CB2 dos compostos canabinoides selecionados do banco de dados ChEMBL.



Fonte: Autoria própria

3.1.2 Otimização das estruturas e geração de descritores

Feita a seleção dos compostos canabinoides e verificação de que a faixa de valores de atividade biológica e a sua distribuição é aceitável para a construção dos modelos QSAR, as estruturas tridimensionais foram construídas utilizando o *software* Gaussian 09.¹⁶⁵ Em seguida, essas estruturas em seus estados neutros foram otimizadas utilizando o método de cálculo DFT com o funcional híbrido B3LYP e função de base 6-31g(d,p)¹⁶⁶, através do *software* Gaussian 09.

Com as estruturas dos compostos otimizadas, os descritores moleculares foram obtidos pelo *software* Dragon.¹⁶⁷ Descritores eletrônicos foram extraídos dos cálculos de otimização de geometria e frequências vibracionais, que são: a energia da molécula, energia no ponto zero, polarizabilidade isotrópica, momento dipolo final e energias dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO ($E_{\text{HOMO-4}}$, $E_{\text{HOMO-3}}$, $E_{\text{HOMO-2}}$, $E_{\text{HOMO-1}}$, E_{HOMO} , E_{LUMO} , $E_{\text{LUMO+1}}$, $E_{\text{LUMO+2}}$, $E_{\text{LUMO+3}}$ e $E_{\text{LUMO+4}}$).

Após a obtenção dos dados dos descritores eletrônicos e moleculares, foi então dado início às etapas de seleção dos descritores e geração dos modelos QSAR.

3.1.3 Seleção de descritores

Os descritores foram selecionados através das técnicas de matriz de correlação e algoritmo genético. Para a matriz de correlação, foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson (R), que é dado pelo grau de relação linear entre os valores de atividade biológica com os valores dos descritores, sendo que valores baixos de R indicam uma baixa associação linear entre os valores do descritor e da atividade biológica. Portanto, descritores que apresentaram valores de R menores do que 0,3 (em módulo) foram excluídos.

Com os descritores remanescentes, a técnica algoritmo genético foi realizada utilizando o *software* BuildQSAR¹⁶⁸, ao variar o número de descritores de 4 a 9 e número de gerações de 500 a 10000. O critério de corte para a correlação de descritores utilizado foi de 0,5.

Então, foram selecionados os modelos que apresentaram maiores valores de q^2 (coeficiente de correlação da validação cruzada), r (coeficiente de correlação) e Teste F e menores valores de s (desvio padrão). Esses modelos foram submetidos a análises prévias de PLS, utilizando o *software* Pirouette¹⁶⁹, no qual modelos PLS foram gerados com todos os compostos dos conjuntos CB1 e CB2 para verificar quais apresentaram maiores valores de q^2 (coeficiente de validação cruzada) e r^2 (coeficiente de determinação) e menores valores de erros (PRESS, SEV e SEC). Com essa verificação, foram selecionados modelos com os melhores resultados desses parâmetros, que tiveram os conjuntos totais separados em conjuntos treino e teste (para realizar a validação externa dos modelos), com o conjunto teste correspondendo a cerca de 20 a 30% do conjunto total.

3.1.4 Modelos PLS-CB1 e PLS-CB2

Os modelos foram gerados através da técnica PLS, utilizando o *software* Pirouette.¹⁷¹ Com os conjuntos divididos em treinamento e teste, novamente foram avaliados os valores dos parâmetros estatísticos q^2 , r^2 , SEV, SEC e PRESS apresentados pelos modelos previamente selecionados com os conjuntos totais.

Foram realizadas análises de *outliers*, que identificam compostos que tenham comportamentos anômalos com relação ao restante do conjunto treinamento e a predição dos valores de pK_i do conjunto teste, verificando qual o resíduo (ou diferença) da predição entre os valores experimentais e preditos do pK_i . Assim, foi selecionado um modelo PLS para o conjunto de composto com atividade biológica para o receptor CB1 (denominado modelo PLS-CB1) e um modelo PLS para o conjunto de composto com atividade biológica para o receptor CB2 (denominado modelo PLS-CB2), sendo considerados os modelos que apresentaram os melhores resultados.

Após a geração dos modelos PLS-CB1 e PLS-CB2, foram feitas validações internas através dos testes *leave-N-out* (que avalia a robustez do modelo) e randomização (que identifica correlações ao acaso entre o valor de atividade biológica e os descritores), utilizando o *software* QSARmodelling.¹⁷² Para o teste

leave-N-out, excluiu-se 20% do conjunto treinamento dos modelos, repetindo a análise 30 vezes. Para o teste de randomização, excluiu-se 20% do conjunto treinamento dos modelos e foram feitos 50 testes excluindo-se um composto por vez.

3.2 *Docking* molecular

As análises de *docking* molecular foram realizadas através do *software* MOE (Molecular Operating Environment)¹¹¹, incluindo a preparação e a execução do *docking* molecular. Essas análises foram conduzidas no Gilson Lab, localizado na Universidade da Califórnia San Diego (UCSD), durante o período de programa de estágio do doutorado, sob a supervisão do Professor Michael K. Gilson.

Os arquivos contendo as estruturas tridimensionais dos receptores CB1 e CB2 foram extraídos do banco de dados PDB.⁶⁶⁻⁶⁷ Dentre as estruturas cristalográficas disponíveis nesse banco de dados para os receptores CB1 e CB2, mostradas na Tabela 3, foram selecionadas para a realização do *docking* as que apresentam compostos ligantes cocrystalizados similares às estruturas dos compostos canabinoides do presente trabalho, sugerindo que os compostos do presente estudo irão interagir no mesmo sítio ortostérico. As estruturas selecionadas são identificadas com os códigos 6KPG (receptor CB1) e 6KPF (receptor CB2), as quais estão cocrystalizadas com os compostos AM841 e AM12033 (Tabela 3).⁷²

Simulações por *redocking* foram empregadas, no qual as estruturas 6KPG e 6KPF foram submetidas às análises de *docking* com seus respectivos ligantes cocrystalizados para verificar os valores de RMSD (do inglês *Root Mean Square Deviaton*), a fim de avaliar a capacidade do método utilizado para reproduzir a conformação conhecida do ligante em relação à proteína, verificando se o *software* MOE é capaz de recriar a ligação entre o ligante e o sítio ativo da proteína com precisão e acurácia. Valores de RMSD<2,00 são desejáveis a fim de prosseguir com a execução do *docking*.

Para realizar os estudos de *docking*, foram selecionados os principais compostos canabinoides (Ac1 e Ac2) e os compostos classificados como psicoativos que apresentaram valores similares ou maiores de atividade biológica preditas pelos modelos PLS-CB1 e PLS-CB2 para cada receptor do que os compostos Ac1 e Ac2, a fim de realizar análises e comparações para sustentar as hipóteses II (dentro os compostos psicoativos há compostos que interagem de forma antagonista com o receptor CB1) e III (dentro os compostos psicoativos há compostos seletivos para o receptor CB2, que não interagem com o receptor CB1). Assim, para realização de *docking* com o receptor CB1, foram selecionados os compostos Ac1, Ac2, Ic6, Ic14, Ic18 e Ic19. Já para o receptor CB2, as análises foram realizadas com os compostos Ac1, Ac2, Ic9, Ic10, Ic11, Ic14, Ic16, Ic18, Ic19, Ic20 e Ic21.

Antes de realizar o *docking*, as estruturas moleculares foram processadas no MOE¹¹¹, incluindo a adição de hidrogênios, remoção de água e íons desnecessários e a minimização da energia das estruturas.

Na execução do *docking*, 1000 simulações foram realizadas para cada ligante, gerando 100 conformações possíveis para posterior análise. Os resultados de foram analisados quanto às conformações preferenciais de ligação para cada ligante nas proteínas CB1 e CB2 e com relação à pontuação calculada pelo algoritmo do *software* MOE¹¹¹ com base em diferentes critérios, como a complementaridade de formas, interações eletrostáticas, interações hidrofóbicas, entre outros fatores, dada por S (*score*). Quanto mais negativo for o valor de S, maior é a previsão de afinidade entre o ligante e o sítio ativo da proteína, indicando uma possível interação mais forte e favorável.

Após selecionada uma conformação preferencial para cada ligante, as interações entre ligante e proteína foram identificadas, incluindo ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. As interações entre os principais compostos canabinoides psicoativos (Ac1 e Ac2) foram comparadas com as interações apresentadas pelos compostos psicoativos. Resultados com os dados experimentais conhecidos das estruturas 6KPG e 6KPF e de análises de *docking* com outros compostos canabinoides também foram comparados.⁷²

3.3 Dinâmica Molecular

Para realizar a dinâmica molecular, foi utilizado o *software* NAMD.¹⁴⁵ As análises de dinâmica molecular foram conduzidas no Gilson Lab, localizado na Universidade da Califórnia San Diego (UCSD), durante o período de programa de estágio do doutorado, sob a supervisão do Professor Michael K. Gilson.

As estruturas cristalinas dos receptores CB1 e CB2 foram obtidas inicialmente no banco de dados PDB (6KPG e 6KPF, respectivamente).⁷² Essas estruturas foram inseridas em membranas lipídicas POPC (do inglês *Palmitoyl-Oleoyl-Phosphatidylcholine*), a fim de se assemelhar às condições fisiológicas por considerar a interação das proteínas com uma membrana lipídica.⁷² Para inserção das proteínas na membrana, foi utilizada a plataforma CHARMM-GUI, uma interface gráfica para modelagem e simulações moleculares.¹⁷¹⁻¹⁷²

O campo de força CHARMM36¹⁵¹ foi aplicado para representar as interações entre os átomos durante as simulações. Durante a simulação, as condições de temperatura e pressão foram mantidas constantes para simular um ambiente biológico típico. O *ensemble* NPT (Número de Partículas, Pressão e Temperatura constante) foi utilizado, com temperatura de 310K (37°C) e pressão de 1 bar.

O processo de simulação foi dividido em quatro etapas sequenciais. As três primeiras etapas consistiram em fases de minimização de energia, totalizando a duração de aproximadamente 10 ns. Essas etapas foram essenciais para relaxar a estrutura inicial e reduzir as tensões ou distorções na estrutura. Após as etapas de minimização, seguiu-se então para a fase de equilíbrio, com duração de 100 ns, para estabilizar o sistema em condições termodinâmicas adequadas.

Para a análise dos resultados das simulações, o *software* de visualização e análise VMD (*Visual Molecular Dynamics*) foi utilizado.¹⁵⁷ Essa ferramenta permitiu a visualização tridimensional das estruturas moleculares e proporcionou meios para analisar aspectos específicos das simulações, como conformações, interações atômicas, e movimentos das proteínas em relação às membranas lipídicas. Essas análises são fundamentais para compreender o comportamento molecular e as interações das proteínas com o ambiente simulado.

Além de permitir a visualização tridimensional das estruturas moleculares, o VMD¹⁵⁹ também possibilitou a realização de análises essenciais para compreender o comportamento dinâmico das proteínas em simulação. Foram realizadas análises de RMSD (do inglês *Root Mean Square Deviation*), que medem as flutuações estruturais ao longo do tempo, RMSF (do inglês *Root Mean Square Fluctuation*), que avaliam a flexibilidade de diferentes regiões da proteína, o raio de giro para compreender a compactação da estrutura, além de análises das ligações de hidrogênio formadas entre a proteína e outros componentes do sistema.¹⁵⁵⁻¹⁵⁶

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Geração dos modelos QSAR

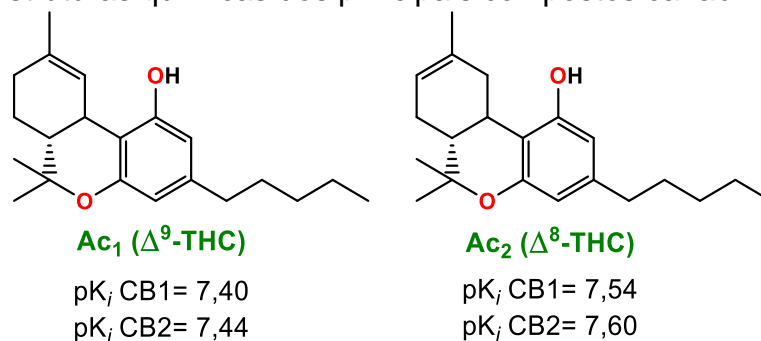
4.1.1 Seleção de compostos canabinoides

Foi realizada uma seleção contendo um total de 80 compostos canabinoides do banco de dados ChEMBL⁶⁶⁻⁶⁷, respeitando as condições estabelecidas conforme mostradas na Tabela 5. Dentre esses 80 compostos, 63 são comuns em ambos os conjuntos, sendo que 69 compostos apresentaram valor de atividade biológica pK_i para o receptor CB1 e 74 compostos apresentaram valor de atividade biológica pK_i para o receptor CB2. Os compostos selecionados para o modelo PLS-CB1 que não estão no modelo PLS-CB2 são CN53, CNP2, CNP5, CNP11, CNP12 e CNP14. Os compostos que não estão no modelo PLS-CB1 e estão no modelo PLS-CB2 são CN22, CN23, CN28, CN54, CNP21 a CNP27.

Realizou-se uma análise inicial das variações que ocorreram nas estruturas dos compostos selecionados do banco de dados ChEMBL com seus valores de atividade biológica, tendo como parâmetro os principais compostos canabinoides, o Δ^9 -THC e Δ^8 -THC, que foram chamados de Ac1 e Ac2, respectivamente, na série de 50 compostos canabinoides, considerando as posições de substituintes mostrados na Figura 6. As estruturas moleculares dos compostos Ac1 e Ac2 podem ser visualizadas na Figura 9.

Essa análise inicial teve como objetivo analisar áreas dos compostos canabinoides que se demonstrassem mais importantes na interação de compostos ligantes com os receptores CB1 e CB2 de acordo com os valores experimentais de pK_i , podendo antever o que se esperar dos valores de atividade biológica dos compostos canabinóides que teriam suas atividades biológicas preditas pelos modelos PLS-CB1 e PLS-CB2 e direcionar as análises de *docking* e dinâmica molecular.

Figura 9 Estruturas químicas dos principais compostos canabinoides



Fonte: Autoria própria

A diferença entre os compostos Ac1 e Ac2 consiste na dupla ligação que no composto Ac1 se encontra na posição 9 e no composto Ac2 se encontra na posição 8. Variando-se somente as posições dessa dupla ligação nota-se que o valor da atividade biológica sofre uma variação pouco significativa para ambos receptores CB1 e CB2, tendo um leve aumento nos valores de pK_i para o composto Ac2 em relação ao composto Ac1 para ambos receptores CB1 e CB2, apresentando afinidade semelhante para o receptor CB1 e para o receptor CB2.

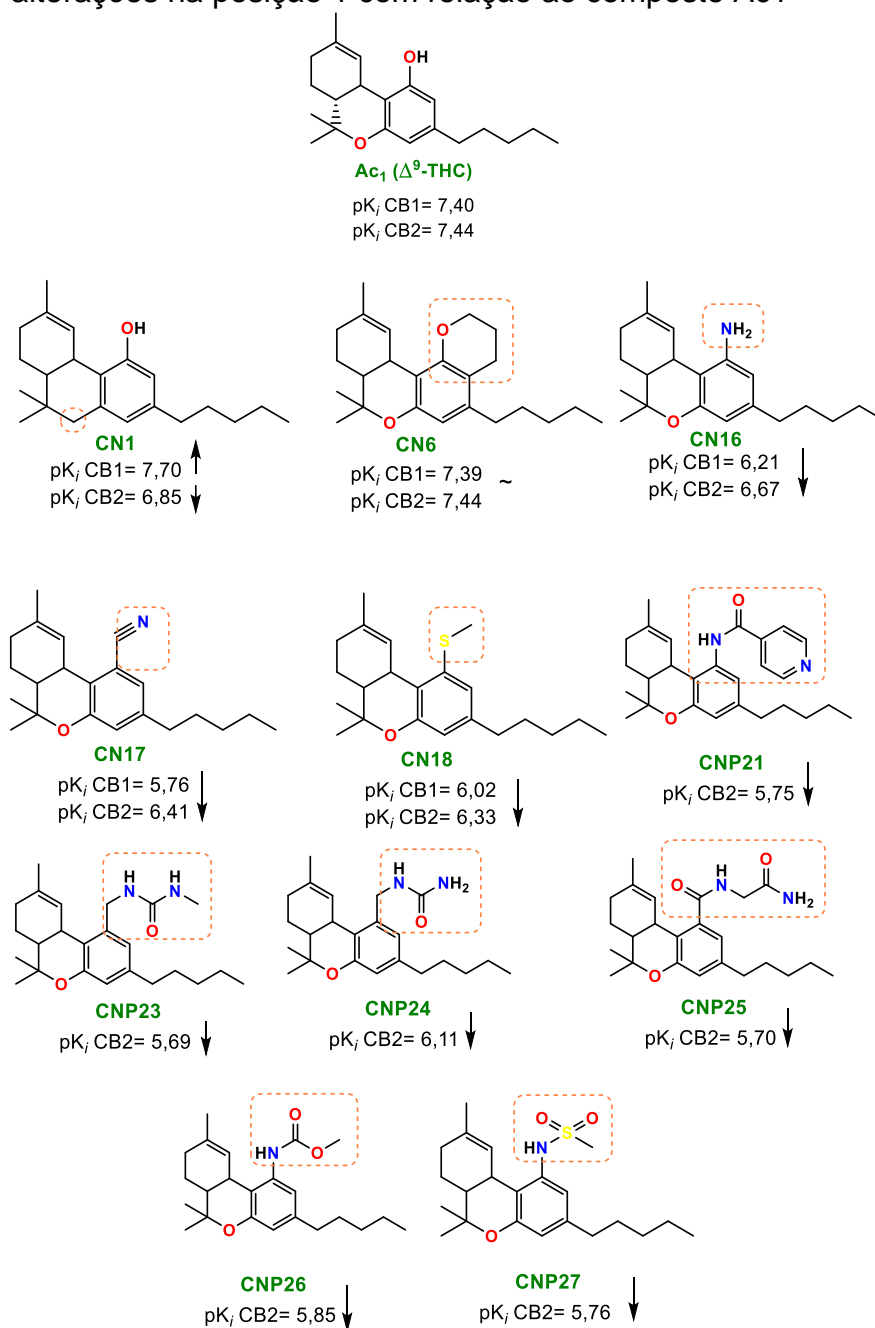
Os compostos selecionados do banco de dados ChEMBL apresentam variações nos grupos funcionais em relação a Ac1 e Ac2, sendo que essas modificações se deram em sua maioria nas posições 1, 3 e 9 (posições essas mostradas na Figura 6).

Os compostos que sofreram alterações nos grupos funcionais com relação ao composto Ac1, no qual a dupla ligação se encontra na posição 9, são mostrados nas Figuras 10 e 11.

A Figura 10 mostra modificações na posição 1 com relação ao Ac1, que tem uma hidroxila ligado nessa posição (com exceção do composto CN1, que tem um átomo de carbono substituindo o oxigênio na posição 5). Nota-se que o composto CN6 apresentou valores de atividade biológica similares ao Ac1 para ambos os receptores ao substituir o hidrogênio da hidroxila na posição 1 por um radical cíclico que se liga também na posição 2. Os compostos CN16, CN17 e CN18 tem a hidroxila da posição 1 substituída por uma amina, uma nitrila e um tioéter,

respectivamente, nos quais tem-se para ambos receptores CB1 e CB2 diminuição considerável nos valores de pK_i com relação a Ac1, sendo mais considerável para o receptor CB1 do que para o receptor CB2. Essa diminuição pode se dar pelo fato de que os átomos de nitrogênio e enxofre são maiores do que o átomo de oxigênio, causando um maior impedimento estérico na interação com os receptores. O mesmo ocorre nos compostos CNP21, CNP23, CNP24, CNP25, CNP26 e CNP27 (que só apresentam valores de pK_i para o receptor CB2), os quais têm a hidroxila da posição 1 substituída por grupos volumosos, causando diminuição nos valores de pK_i na interação com o receptor CB2.

Figura 10 Compostos selecionados do banco de dados ChEMBL que sofreram alterações na posição 1 com relação ao composto Ac1

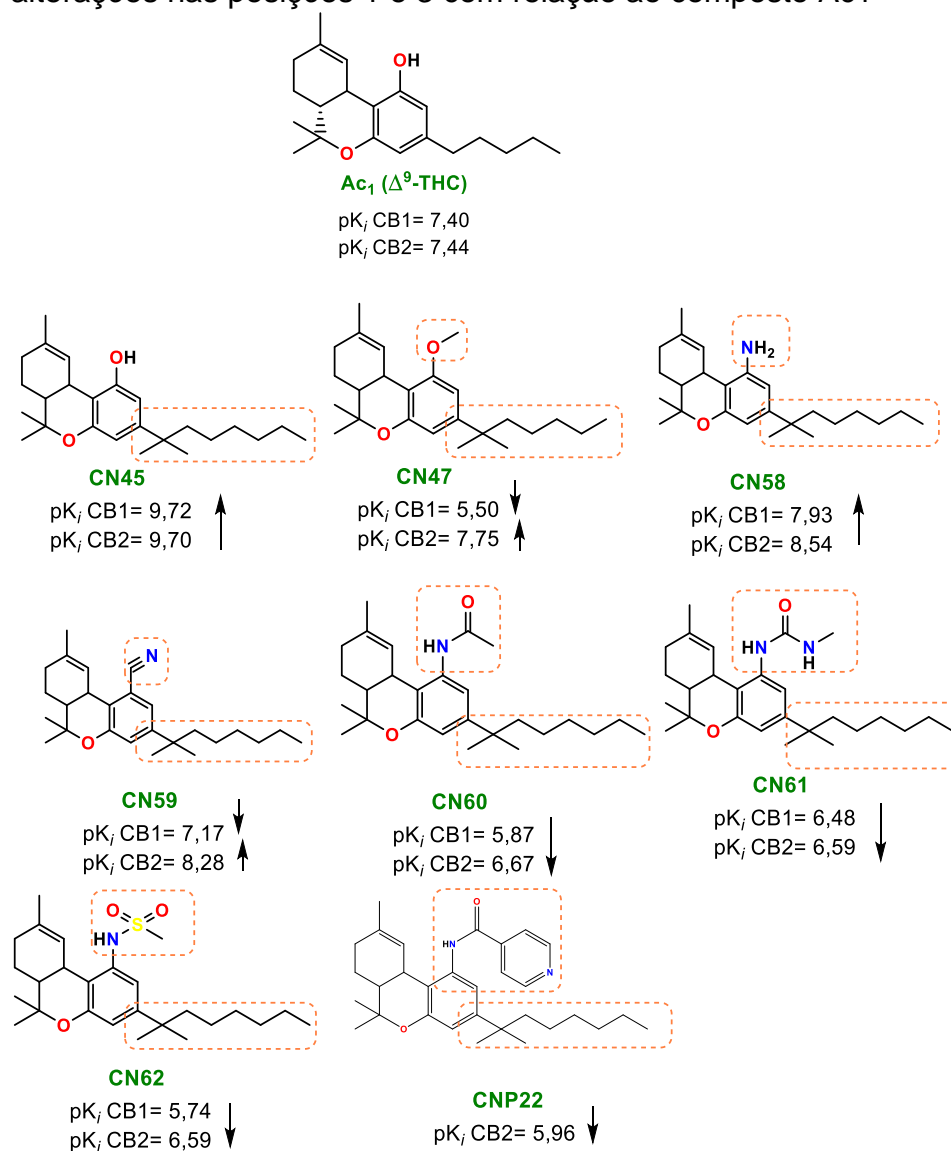


Fonte: Autoria própria

A Figura 11 mostra as variações de grupos funcionais com relação ao composto Ac1 nas posições 1 e 3. O composto CN45 teve somente o radical da posição 3 alterado, no qual teve um aumento da cadeia carbônica de 5 para 7 carbonos e 2 radicais metila ligados ao primeiro carbono dessa cadeia. Esse

aumento da cadeia carbônica na posição apresentou um aumento significativo no valor de pK_i para ambos os receptores, mostrando que uma maior hidrofobicidade nessa região do ligante confere uma melhor interação com os receptores. O composto CN47 teve a hidroxila substituída por uma metoxila na posição 1 e uma cadeia carbônica de 6 carbonos com duas metilas ligados ao primeiro carbono na posição 3, sendo que para o receptor CB1 teve uma queda significativa no valor do pK_i para CB1 e um leve aumento no valor de pK_i para o CB2, enfatizando o que já foi discutido anteriormente de que grupos funcionais mais volumosos na posição 1 desfavorecem a interação com os receptores CB1 e CB2. O composto CN58 apresenta uma amina no lugar da hidroxila na posição 1, assim como no composto CN16 (que apresentou diminuição nos valores de pK_i para ambos os receptores). No entanto, no composto CN58 tem-se o aumento da cadeia carbônica na posição 3 e um leve aumento da atividade biológica para o receptor CB1 e aumento significativo para o receptor CB2, mostrando a importância da cadeia carbônica na posição 3, especialmente para o receptor CB2. O composto CN59 apresenta uma nitrila no lugar da hidroxila na posição 1, assim como no composto CN17 (que apresentou diminuição nos valores de pK_i para ambos os receptores). No entanto no composto CN59 tem-se o aumento da cadeia carbônica na posição 3 sendo que para o receptor CB1 teve uma queda significativa no valor do pK_i para CB1 e um leve aumento no valor de pK_i para o CB2, ocorrendo o mesmo que no composto CN47. Para os compostos CN60, CN61, CN62 e CNP22 que tiveram a hidroxila da posição 1 substituída por grupos volumosos e cadeia carbônica maior na posição 3, todos tiveram queda nos valores de pK_i para ambos os receptores, sendo uma queda mais significativa para o receptor CB1 (com exceção do CNP22, que não apresenta valor de pK_i para CB1).

Figura 11 Compostos selecionados do banco de dados ChEMBL que sofreram alterações nas posições 1 e 3 com relação ao composto Ac1



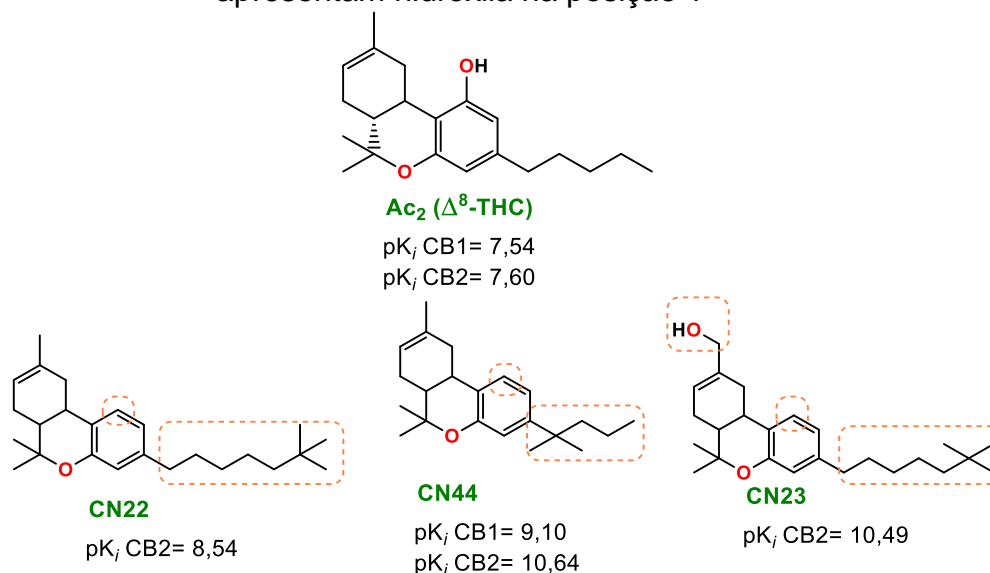
Fonte: Autoria própria

Os compostos que sofreram alterações nos grupos funcionais com relação ao composto Ac2, no qual a dupla ligação se encontra na posição 8, são mostrados nas Figuras 12 a 16.

Na Figura 12, têm-se os compostos CN22, CN44 e CN23, os quais não apresentam a hidroxila na posição 1, e tem um aumento das cadeias carbônicas na posição 3 nos compostos CN22 e CN23, assim como ramificações na cadeia carbônica no composto CN44 na posição 3. O composto CN23 tem uma hidroxila

ligada ao carbono da posição 11. Todos os compostos apresentaram aumento de pK_i para CB1 e CB2 provavelmente devido a cadeia carbônica maior e ramificada na posição 3 e também mostrou que a exclusão da hidroxila na posição 1 teve um aumento na interação com relação ao receptor CB2.

Figura 12 Compostos selecionados do banco de dados ChEMBL que não apresentam hidroxila na posição 1

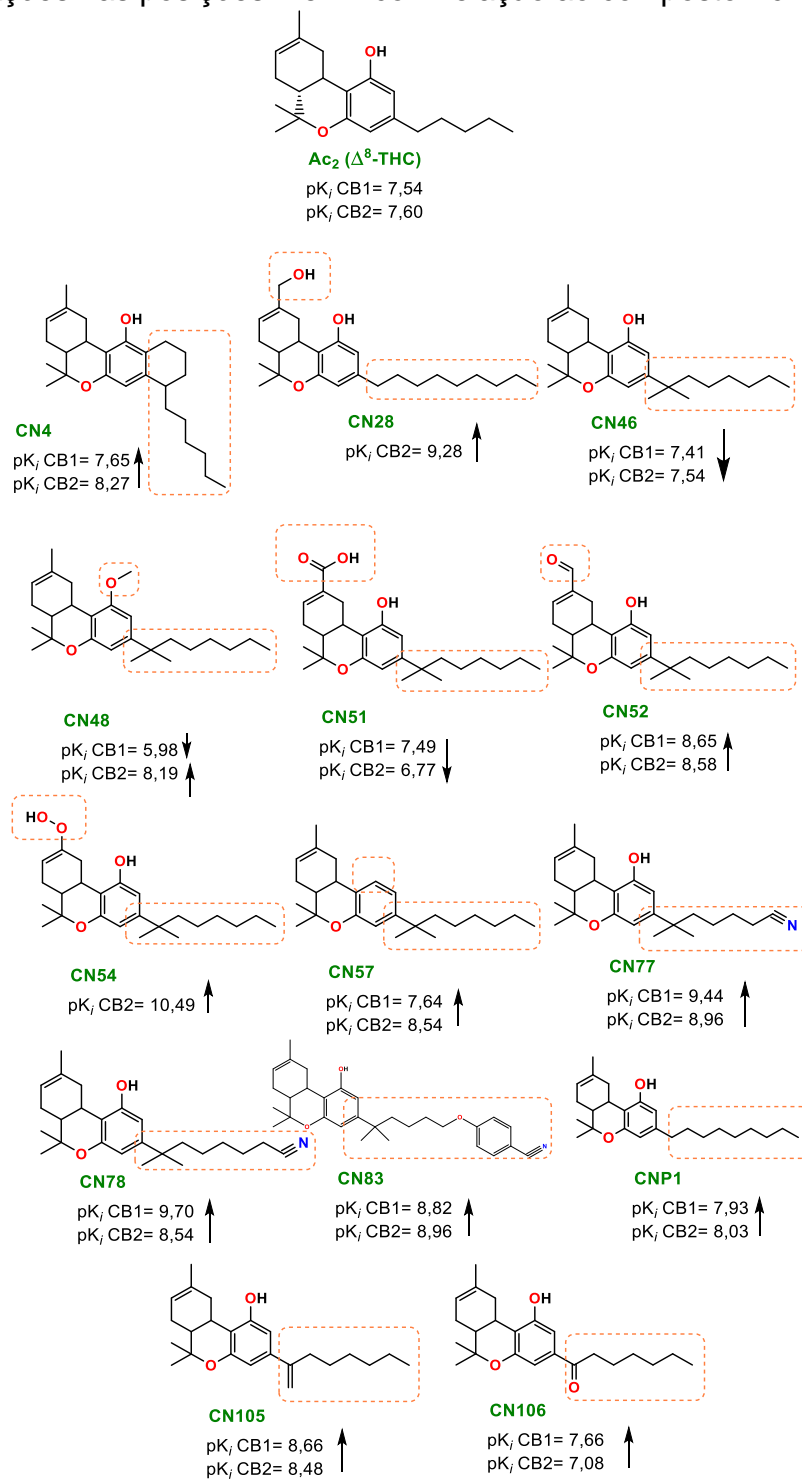


Fonte: Autoria própria

A Figura 13 mostra compostos que tiveram modificações dos radicais nas posições 3 e em alguns na posição 11 em relação ao composto Ac2. Nota-se que o aumento da cadeia carbônica na posição 3 para a maioria desses compostos implicou no aumento da atividade biológica para ambos os receptores CB1 e CB2, com exceção dos compostos CN48 (que teve o pK_i diminuído para o receptor CB1 com a substituição da hidroxila por um éter na posição 1), do composto CN106 (que tem uma cetona ligada à cadeia carbônica da posição 3 e causou um leve aumento do pK_i para o receptor CB1 e diminuição do pK_i para o receptor CB2), do composto CN46 (que teve alteração somente na cadeia carbônica da posição 3) e do composto CN51 (que teve um ácido carboxílico adicionado na posição 11 e causou diminuição no pK_i de ambos receptores, principalmente no receptor CB2, provavelmente causando um impedimento estérico ou interações desfavoráveis).

Nota-se também que o composto CN54 apresentou aumento considerável do pK_i para o receptor CB2 com a modificação na posição 11.

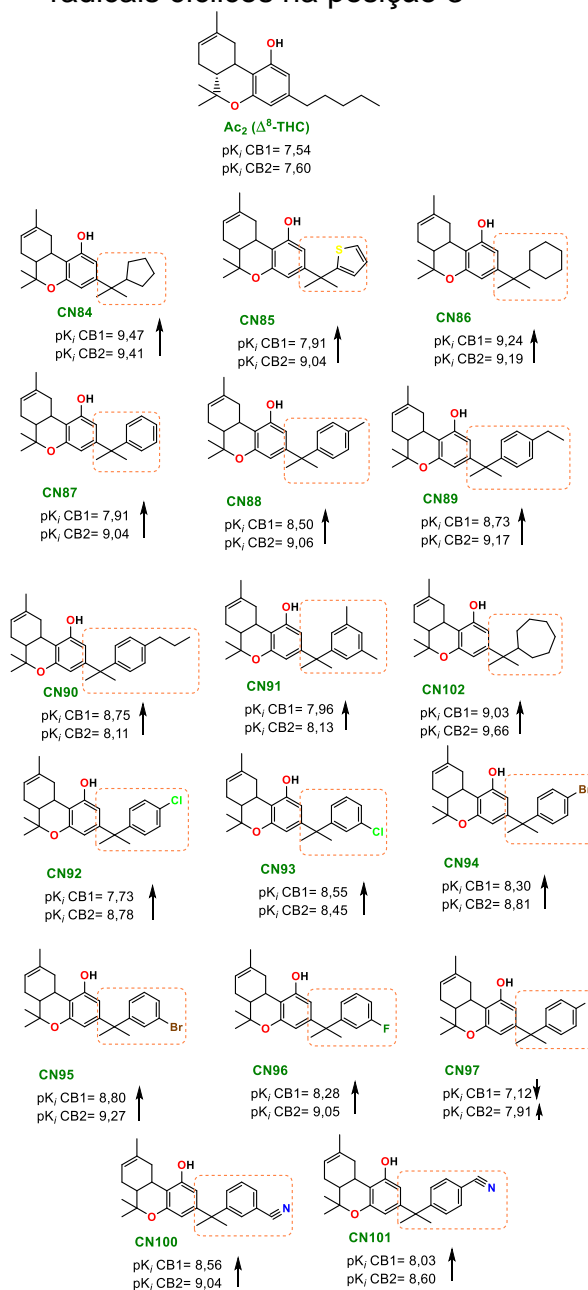
Figura 13 Compostos selecionados do banco de dados ChEMBL que sofreram alterações nas posições 1 e 11 com relação ao composto Ac2



Fonte: Autoria própria

A Figura 14 mostra radicais cíclicos adicionados à posição 3, sendo que em alguns deles tem-se a presença de anéis aromáticos e haletos ligados a eles, como nos compostos CN93 e CN94, por exemplo. De forma geral, houve aumento significativo do pK_i para ambos os receptores CB1 e CB2 dos compostos.

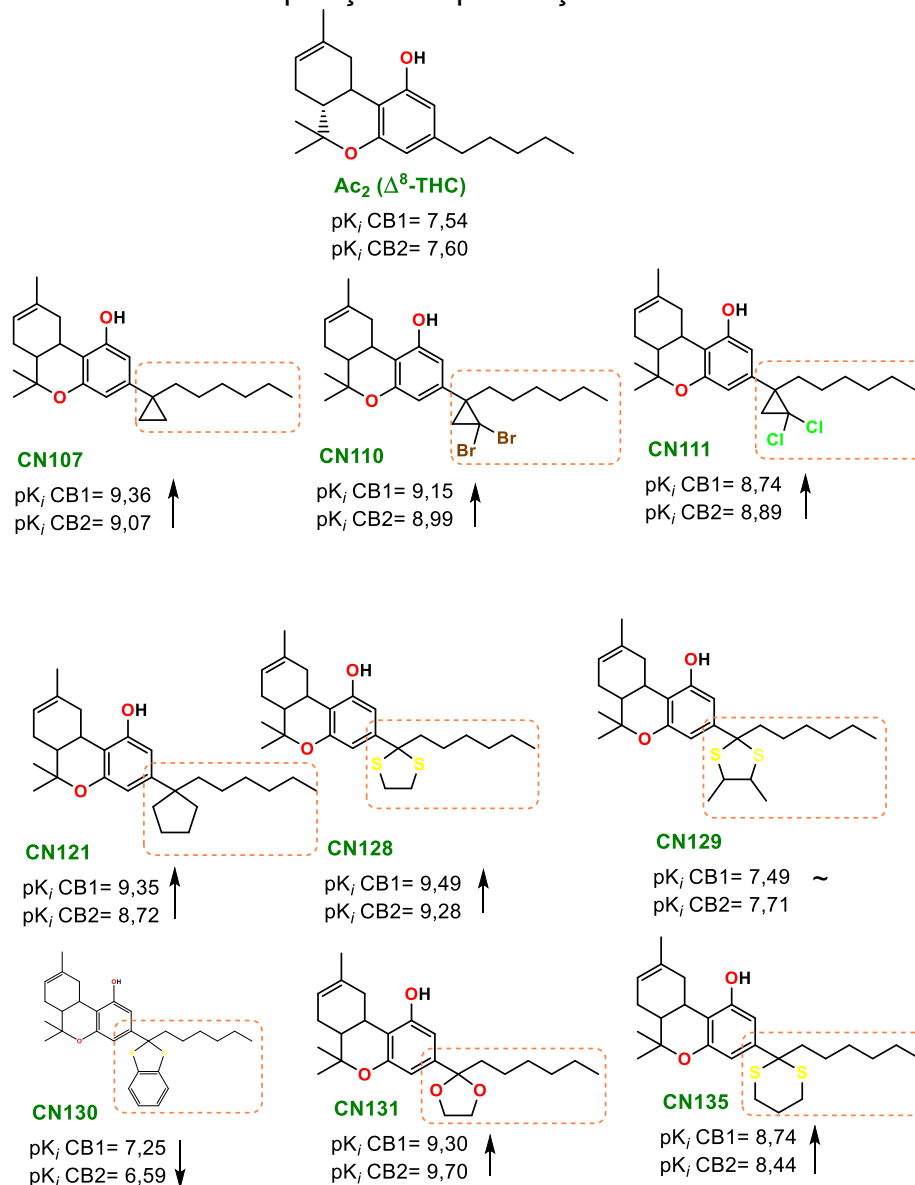
Figura 14. Compostos selecionados do banco de dados ChEMBL que apresentam radicais cíclicos na posição 3



Fonte: Autoria própria

A Figura 15 mostra radicais cíclicos ligados à cadeia carbônica da posição 3 (como o ciclopropano no compostos CN107 e o ciclopentano no composto CN121) e em alguns desses compostos há presença de átomos de bromo, cloro e enxofre (como nos compostos CN111 e CN128, por exemplo), ocorrendo um aumento do pK_i para ambos os receptores CB1 e CB2 para todos os compostos.

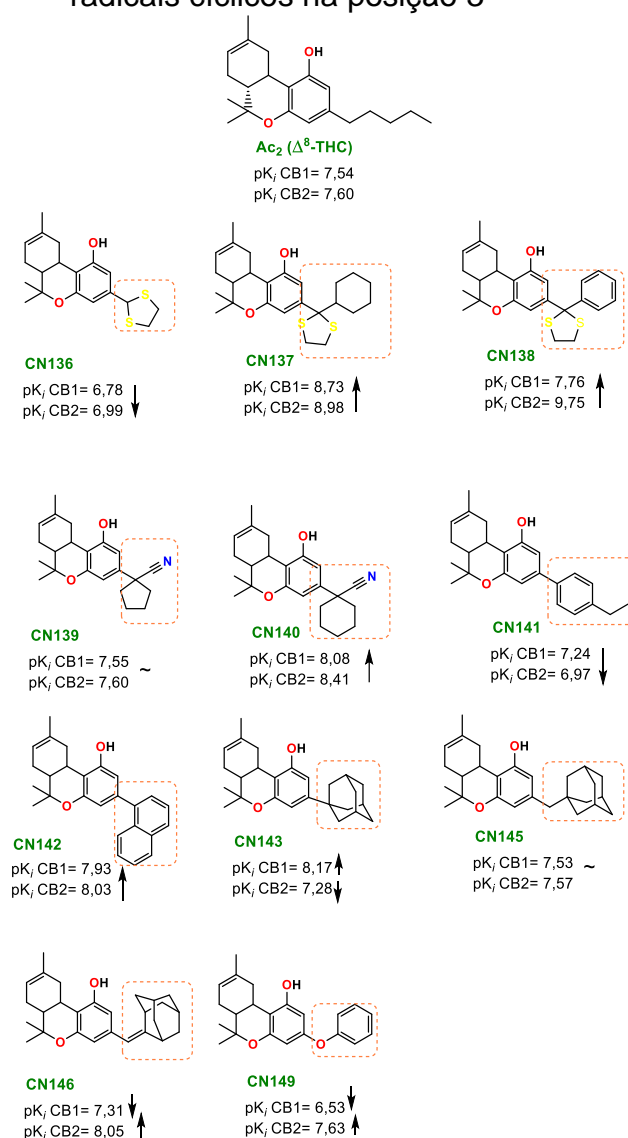
Figura 15 Compostos selecionados do banco de dados ChEMBL que apresentam radicais cíclicos na posição 3 e presença de heteroátomos



Fonte: Autoria própria

Por fim, a Figura 16 mostra compostos que também tiveram radicais cíclicos ligados na posição 3, no entanto sem que haja uma cadeia carbônica nessa posição. Alguns compostos tiveram o pK_i diminuído para ambos os receptores CB1 (como no caso dos compostos CN136 e CN141), outros mostraram aumento no pK_i para ambos os receptores CB1 e CB2 (como os compostos CN137 e CN140) e outros mostraram diminuição para um receptor e aumento para outro (como os compostos CN146 e CN149, que mostraram diminuição do pK_i para o receptor CB1 e aumento para o receptor CB2).

Figura 16 Compostos selecionados do banco de dados ChEMBL que apresentam radicais cíclicos na posição 3



Fonte: Autoria própria

Portanto, ao analisar os compostos selecionados do banco de dados ChEMBL que tem seus valores de pK_i determinados experimentalmente para os receptores CB1 e CB2, é possível destacar dois pontos importantes que influenciam nos valores da atividade biológica: o aumento da cadeia carbônica, ou seja, da hidrofobicidade na região da posição 3 influencia no aumento da atividade biológica para ambos receptores e substituintes volumosos na região da posição 1 influenciam na diminuição da atividade biológica para ambos os receptores CB1 e CB2.

4.2 Modelo PLS-CB1

Foram gerados 1481 descritores moleculares pelo *software* Dragon para o conjunto de compostos com atividade biológica pK_i para o receptor CB1 e 14 descritores eletrônicos foram extraídos dos cálculos de otimização, totalizando 1495 descritores. Com a aplicação da técnica matriz de correlação (no qual os descritores que apresentaram o valor de coeficiente de correlação de Pearson R menor do que 0,3 foram excluídos), restaram 62 descritores.

Então, esses 62 descritores foram submetidos à técnica de algoritmo genético, gerando 600 modelos por essa técnica. Os valores dos parâmetros r , q^2 teste F e s foram analisados, além da frequência dos descritores nesses modelos. Com isso, foram selecionados 8 modelos de algoritmo genético para serem submetidos às análises prévias de PLS (que consistiu em gerar modelos PLS com o conjunto total de 69 compostos canabinoides), no qual os modelos que apresentaram os melhores valores de r^2 , q^2 , SEV, SEC e PRESS foram selecionados para dividir o conjunto de compostos em conjunto treinamento e conjunto teste (consistindo de cerca de 20 a 30% do conjunto total), sendo que o conjunto teste foi separado do conjunto treinamento para uma validação do modelo gerado. Modelos PLS que tiveram os valores dos parâmetros estatísticos q^2 , r^2 , SEV, SEC e PRESS foram novamente avaliados, além de análises de *outliers*, e a predição dos valores de pK_i do conjunto teste. Assim, foi escolhido o modelo PLS-CB1, que foi considerado o que apresentou os melhores valores dos parâmetros e

análises realizadas. Os descritores selecionados para o modelos PLS-CB1 foram o E3p (índice direcional de acessibilidade do 3º componente WHIM / ponderado pela polarizabilidade), R6e+ (auto correlação máxima R de retardamento 6 / ponderado pela eletronegatividade de Sanderson), Jhete (índice tipo Balaban de distância da matriz ponderada pela eletronegatividade), ATS6v (auto correlação Broto-Moreau de retardamento 6 - função logarítmica) / ponderado pelo volume de van der Waals), R6u (auto correlação R de retardamento 6 / não ponderado), H5m (auto correlação H de retardamento 5 / ponderado pela massa) e nRORPh (número de éteres - aromáticos).

Na Tabela 6 estão os parâmetros estatísticos do modelo selecionado PLS-CB1 gerado pela análise de algoritmo genético e na Tabela 7 estão os valores dos descritores selecionados (os 14 compostos compõem o conjunto teste estão sublinhados na tabela).

Tabela 6 Parâmetros estatísticos do modelo gerado pela técnica de algoritmo genético para o modelo PLS-CB1

Descritores:	r¹	s²	F³	q^{2 4}
E3p, R6e+, Jhete, ATS6v, R6u, H5m, nRORPh	0,836	0,609	20,244	0,638

¹Coefficiente de correlação. ²Desvio padrão. ³Teste F. ⁴Coefficiente de correlação da validação cruzada.

Fonte: Autoria própria

Tabela 7 Valores dos descritores selecionados para realizar a geração do modelo PLS-CB1 (os compostos do conjunto teste encontram-se sublinhados)
(continua)

Composto	pK_i	E3p	R6e+	Jhete	ATS6v	R6u	H5m	nRORPh
<u>CN1</u>	7,70	0,280	0,148	1,948	0,323	1,452	0,180	0
<u>CN4</u>	7,65	0,232	0,097	1,750	0,341	1,271	0,180	0
<u>CN6</u>	7,39	0,298	0,103	1,908	0,362	1,274	0,110	0
<u>CN16</u>	6,21	0,284	0,115	2,055	0,336	1,337	0,106	0
<u>CN17</u>	5,76	0,354	0,139	2,115	0,374	1,272	0,182	0
<u>CN18</u>	6,02	0,295	0,094	2,098	0,372	1,174	0,135	0
<u>CN44</u>	9,10	0,248	0,135	2,087	0,310	1,379	0,112	0
<u>CN45</u>	9,62	0,237	0,178	2,004	0,332	1,360	0,238	0
<u>CN46</u>	7,41	0,229	0,175	1,983	0,329	1,357	0,234	0
<u>CN47</u>	5,50	0,259	0,137	2,138	0,349	1,334	0,189	1
<u>CN48</u>	5,98	0,254	0,132	2,044	0,344	1,320	0,207	1

(continuação)

Composto	pK _i	E3p	R6e+	Jhete	ATS6v	R6u	H5m	nRORPh
CN51	7,49	0,224	0,174	2,004	0,333	1,353	0,302	0
CN52	8,65	0,227	0,182	1,994	0,334	1,368	0,277	0
<u>CN53</u>	9,09	0,250	0,173	1,968	0,319	1,421	0,251	0
CN55	8,74	0,256	0,170	1,980	0,323	1,424	0,237	0
CN57	7,64	0,235	0,120	1,899	0,326	1,278	0,166	0
<u>CN58</u>	7,93	0,230	0,148	2,001	0,335	1,413	0,216	0
CN59	7,17	0,267	0,135	2,063	0,365	1,358	0,268	0
CN60	5,87	0,318	0,114	2,158	0,365	1,380	0,244	0
CN61	6,48	0,285	0,106	2,202	0,369	1,334	0,250	0
CN62	5,74	0,308	0,089	2,197	0,368	1,277	0,242	0
CN77	9,44	0,249	0,185	1,999	0,340	1,396	0,245	0
CN78	9,70	0,230	0,178	1,927	0,337	1,365	0,280	0
CN83	8,82	0,183	0,170	1,486	0,342	1,309	0,447	1
CN84	9,47	0,259	0,184	1,842	0,316	1,537	0,184	0
CN85	7,91	0,249	0,195	1,905	0,345	1,382	0,228	0
CN86	9,24	0,309	0,174	1,811	0,322	1,555	0,181	0
<u>CN87</u>	7,91	0,262	0,176	1,891	0,346	1,431	0,225	0
CN88	8,50	0,261	0,171	1,871	0,357	1,344	0,227	0
<u>CN89</u>	8,73	0,261	0,163	1,840	0,351	1,344	0,249	0
<u>CN90</u>	8,75	0,255	0,159	1,800	0,347	1,382	0,289	0
CN91	7,96	0,248	0,146	1,889	0,349	1,531	0,243	0
CN92	7,73	0,265	0,177	1,876	0,358	1,426	0,249	0
CN93	8,55	0,261	0,175	1,891	0,361	1,426	0,385	0
CN94	8,30	0,261	0,177	1,875	0,364	1,425	0,272	0
CN95	8,80	0,259	0,175	1,890	0,369	1,424	0,601	0
CN96	8,28	0,263	0,176	1,894	0,348	1,430	0,305	0
CN97	7,12	0,260	0,178	1,878	0,348	1,432	0,234	0
CN100	8,56	0,261	0,169	1,881	0,365	1,417	0,297	0
CN101	8,03	0,263	0,176	1,854	0,359	1,390	0,272	0
<u>CN102</u>	9,03	0,285	0,166	1,792	0,326	1,620	0,221	0
CN105	8,66	0,226	0,140	1,938	0,338	1,292	0,190	0
CN106	7,66	0,191	0,145	1,941	0,338	1,188	0,260	0
CN107	9,36	0,254	0,151	1,693	0,338	1,305	0,220	0
CN110	9,15	0,218	0,158	1,756	0,379	1,303	0,642	0
CN111	8,74	0,233	0,159	1,758	0,366	1,299	0,408	0
<u>CN121</u>	9,35	0,199	0,129	1,740	0,332	1,326	0,234	0
CN128	9,49	0,245	0,130	1,750	0,353	1,354	0,453	0
CN129	7,49	0,243	0,099	1,784	0,361	1,201	0,396	0
CN130	7,25	0,242	0,102	1,606	0,402	1,129	0,452	0

(conclusão)

Composto	pK _i	E3p	R6e+	Jhete	ATS6v	R6u	H5m	nRORPh
CN131	9,30	0,246	0,116	1,776	0,332	1,346	0,287	0
CN135	8,74	0,259	0,118	1,760	0,355	1,333	0,451	0
CN136	6,78	0,318	0,174	1,876	0,347	1,255	0,274	0
CN137	8,73	0,286	0,143	1,647	0,348	1,583	0,374	0
CN138	7,76	0,240	0,111	1,714	0,371	1,359	0,347	0
CN139	7,55	0,231	0,162	1,910	0,346	1,207	0,200	0
CN140	8,08	0,263	0,172	1,887	0,350	1,209	0,234	0
CN141	7,24	0,220	0,136	1,858	0,358	1,139	0,223	0
CN142	7,93	0,229	0,136	1,746	0,377	1,201	0,207	0
CN143	8,17	0,257	0,174	1,456	0,342	1,312	0,193	0
CN145	7,53	0,335	0,110	1,354	0,359	1,344	0,187	0
CN146	7,31	0,253	0,156	1,430	0,370	1,186	0,202	0
CN149	6,53	0,230	0,198	1,898	0,356	1,182	0,203	1
CNP1	7,93	0,267	0,113	1,720	0,323	1,315	0,215	0
CNP2	7,85	0,219	0,228	2,244	0,331	1,200	0,136	0
CNP5	8,57	0,188	0,152	2,053	0,331	1,294	0,215	0
CNP11	9,07	0,181	0,136	1,881	0,329	1,254	0,288	0
CNP12	7,89	0,229	0,119	1,824	0,317	1,390	0,331	0
CNP14	8,04	0,226	0,122	1,501	0,344	1,243	0,434	0

Fonte: Autoria própria

A Tabela 8 mostra os parâmetros estatísticos do modelo PLS-CB1.

Tabela 8 Variância percentual acumulada, SEV, SEC, PRESS, q² e r² do modelo PLS-CB1 obtido para o conjunto treinamento

VL	%Var _{acumulada} ¹	SEV ²	PRESS _{val} ³	SEC ⁴	PRESS _{cal} ⁵	q ² ⁶	r ² ⁷
1	21,750	0,701	27,009	0,630	21,032	0,554	0,652
2	36,998	0,657	23,768	0,607	19,141	0,608	0,684
3	58,481	0,657	23,771	0,611	19,060	0,609	0,685
4	74,755	0,662	24,071	0,617	19,050	0,604	0,685
5	86,560	0,666	24,424	0,624	19,049	0,599	0,685
6	95,210	0,669	24,593	0,630	19,049	0,596	0,685
7	100,000	0,669	24,640	0,637	19,049	0,596	0,685

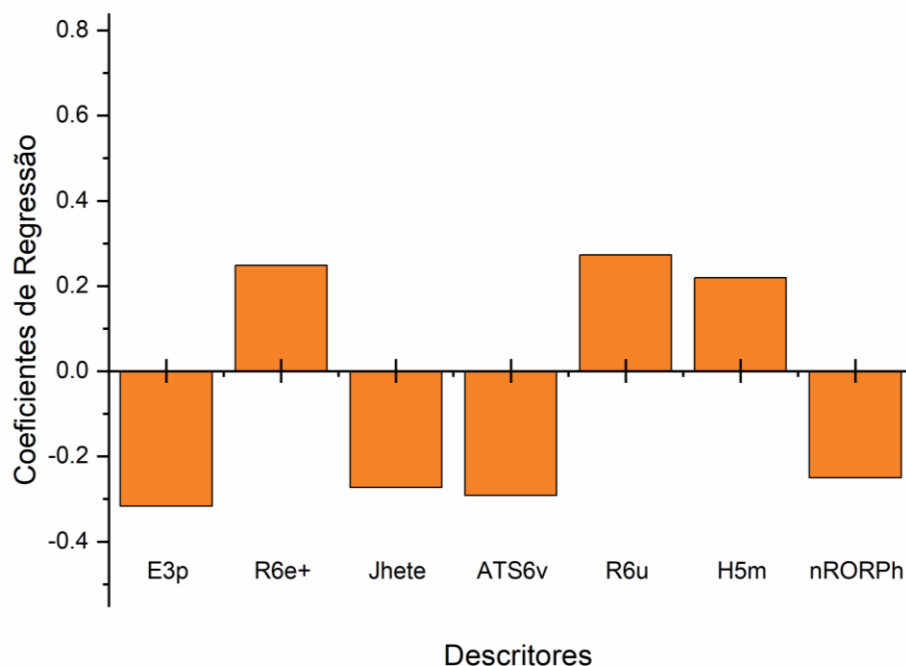
¹ Variância percentual acumulada. ² Erro padrão de validação. ³ Soma dos quadrados dos erros de previsão da validação. ⁴ Erro padrão de calibração. ⁵ Soma dos quadrados dos erros de previsão da calibração. ⁶ Coeficiente de correlação de validação cruzada. ⁷ Coeficiente de determinação múltipla.
Fonte: Autoria própria

De acordo com a literatura, são considerados resultados satisfatórios para um modelo PLS que apresentar valor de q² maior do que 0,5 e r² maior do que 0,6,

valores esses que se mostram satisfatórios como mostrados na tabela para 2, 3 e 4 variáveis latentes.¹⁷³⁻¹⁷⁴ Percebe-se que a partir de 3 variáveis latentes, o valor de $q^2=0,609$ e $r^2=0,685$, que são os maiores valores para esses parâmetros mostrados na tabela 5. Além disso, o valor de SEV é o menor valor dentre todas as variáveis latentes e o valor de SEC é o segundo menor valor. Portanto, considerou-se que o número ótimo de variáveis latentes seria 3.

A Figura 17 mostra a contribuição dos descritores para o modelo. Nota-se que o descritor que teve a maior contribuição foi o E3p e o que teve a menor contribuição é o H5m, mostrando que o E3p teria mais influência na representação nas características do modelo gerado. No entanto, é interessante notar que todos mantiveram uma contribuição similar, mostrando a importância de todos os descritores em conjunto na descrição de compostos com atividade biológica para o receptor CB1.

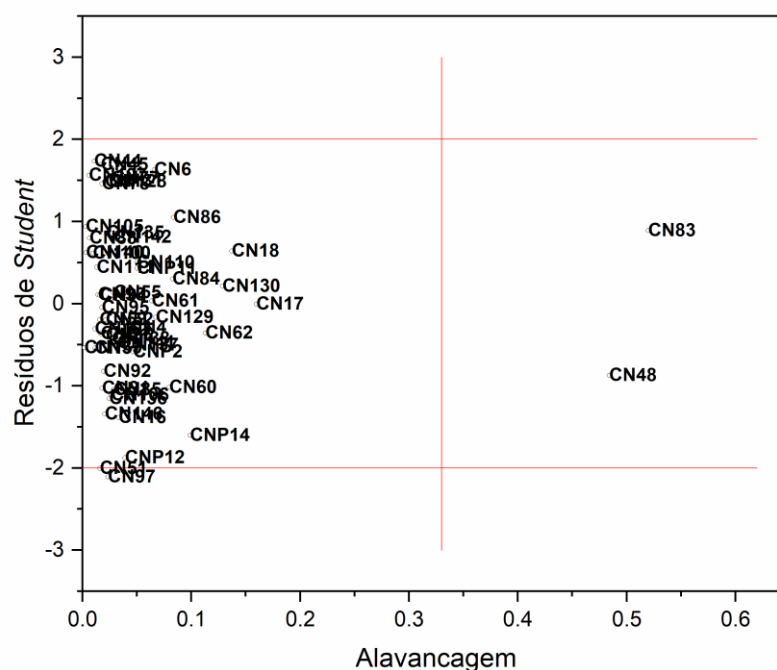
Figura 17 Contribuição dos descritores para o vetor de regressão do modelo PLS-CB1



Fonte: Autoria própria

Realizou-se a análise de presença de amostras atípicas (*outliers*), através do gráfico de resíduos de Student *versus* alavancagem mostrado na Figura 18. A linha vertical representa a alavancagem, sendo que as amostras devem apresentar valores menores que o demarcado por esta linha. As retas horizontais representam a faixa em que se devem encontrar os valores aceitáveis de resíduos de Student. Pela Figura 18, nota-se que os compostos CN48 e CN83 apresentaram valores altos de alavancagem, porém com valores de resíduos de Student aceitáveis. Os compostos CN51 se encontra bem no limite de resíduos de Student e o composto CN97 se encontra fora do limite de resíduos de Student mas dentro dos valores aceitáveis de alavancagem. Portanto, esses compostos não devem ser considerados como *outliers* por não se encontrarem fora de ambos os limites de resíduos de Student e alavancagem e nenhum composto foi excluído e todos os compostos foram mantidos no modelo PLS-CB1 e nas análises que se seguiram.

Figura 18 Detecção de *outliers* no modelo PLS-CB1



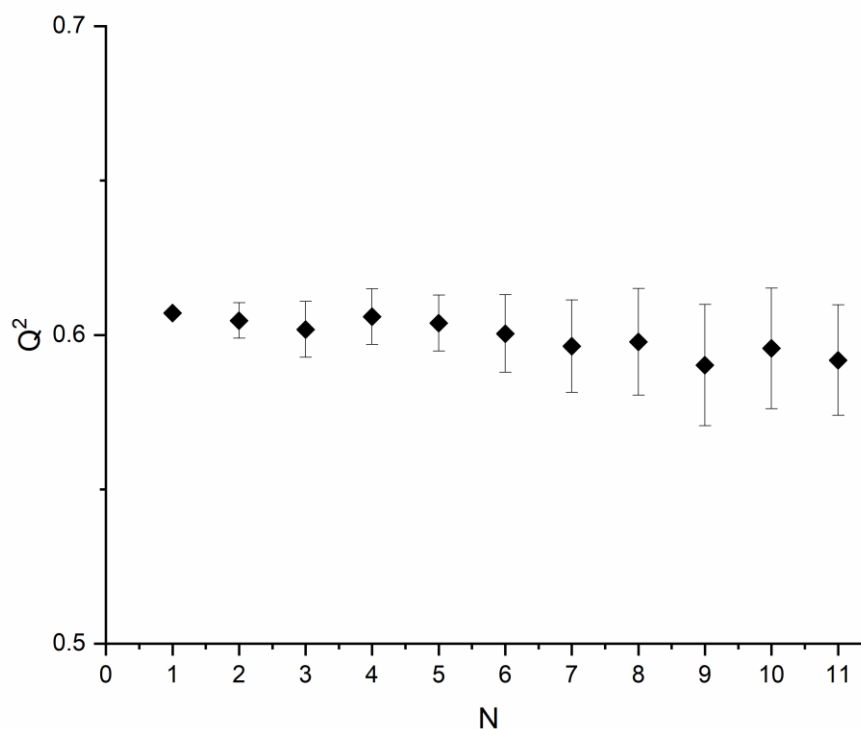
Fonte: Autoria própria

Para os testes de *leave-N-out* foram excluídos de 1 a 11 compostos (20% do conjunto treinamento). Para que um modelo seja considerado robusto (insensível à retirada de amostras), deve atender a dois requisitos. O primeiro requisito é de que o valor de q^2 com a retirada de uma amostra deve apresentar desvio médio nulo e o segundo é que com a retirada de N amostras deve manter os valores de desvio no intervalo de $\pm 0,05$. Como é possível notar pela tabela 9 e pela Figura 19, esses requisitos foram atendidos, mostrando que o modelo é robusto e estável.

Tabela 9 Dados dos testes de *leave-N-out* aplicados ao modelo PLS-CB1

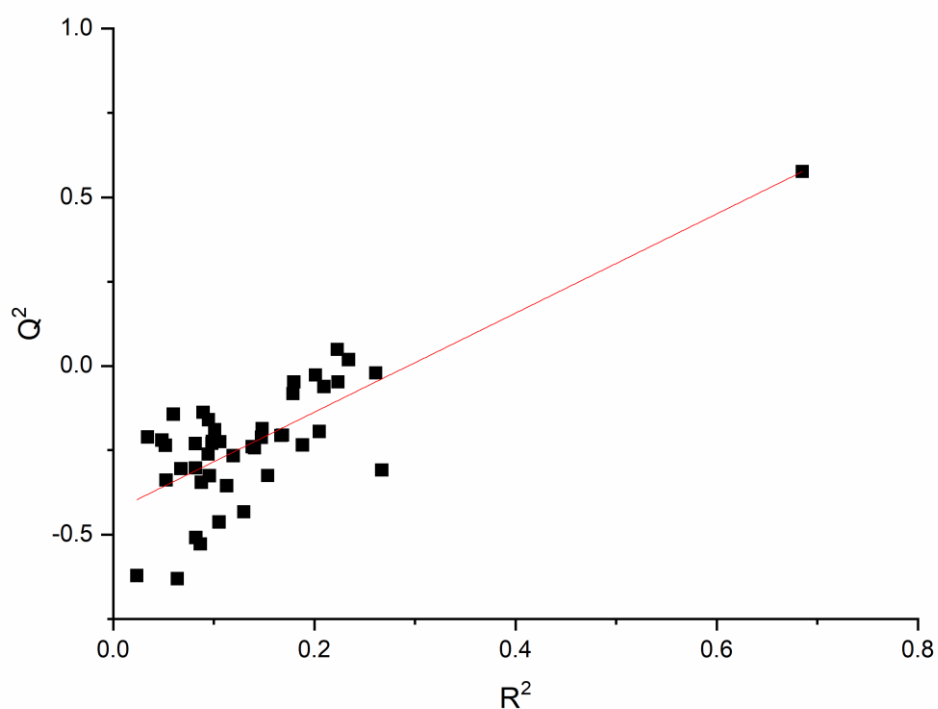
Amostras retiradas	Média	Desvio médio
1	0,607	0,000
2	0,605	0,006
3	0,602	0,009
4	0,606	0,009
5	0,604	0,009
6	0,600	0,013
7	0,596	0,015
8	0,598	0,017
9	0,590	0,020
10	0,596	0,020
11	0,592	0,018

Fonte: Autoria própria

Figura 19 Testes de *leave-N-out* aplicados ao modelo PLS-CB1

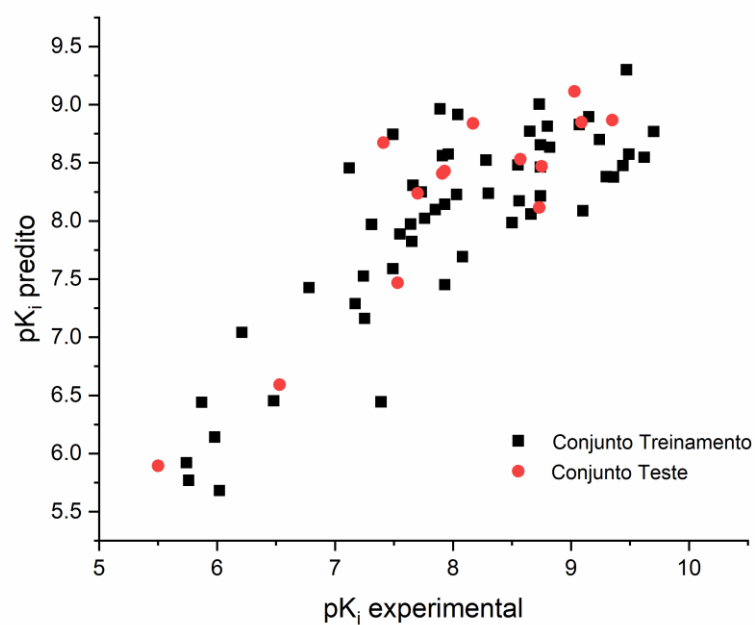
Fonte: Autoria própria

Para o teste de randomização, para que o modelo não apresente correlações ao acaso, os valores de q^2 e r^2 devem ser menores do que 0,3 e 0,4, respectivamente. Pode-se observar na Figura 20 que essas condições são atendidas, e portanto o modelo não apresenta correlações ao acaso.

Figura 20 Teste de randomização aplicado ao modelo PLS-CB1

Fonte: Autoria própria

Feitas as análises e testes de validação interna, foi realizado o teste de validação externa, que consiste na predição dos valores de atividade biológica do conjunto teste. Para a predição do conjunto teste, obteve-se valores de $SEV=0,517$, $PRESS=3,748$ e $r^2_{pred}=0,769$. A Figura 21 mostra a predição do modelo PLS-CB1 e a tabela 10 contém os valores de pK_i experimental, valores de pK_i predito do conjunto teste e valores de resíduos absoluto (que se dá pelo cálculo do valor de pK_i experimental subtraído pelo valor de pK_i predito).

Figura 21 Predição da atividade biológica pelo modelo PLS-CB1

Fonte: Autoria própria

Tabela 10 Resíduos de predição do conjunto teste pelo modelo PLS-CB1

Composto	$pK_{i,exp}$	$pK_{i,pred}$	Resíduo absoluto
CN1	7,70	8,24	-0,54
CN46	7,41	8,67	-1,26
CN47	5,50	5,89	-0,39
CN53	9,09	8,85	0,24
CN58	7,93	8,43	-0,50
CN87	7,91	8,41	-0,50
CN89	8,73	8,12	0,61
CN90	8,75	8,47	0,28
CN102	9,03	9,11	-0,08
CN121	9,35	8,87	0,48
CN143	8,17	8,84	-0,67
CN145	7,53	7,47	0,06
CN149	6,53	6,59	-0,06
CNP5	8,57	8,53	0,04

Fonte: Autoria própria

Com exceção do composto CN46, que apresentou resíduo maior do que 1, todos os outros compostos do conjunto teste apresentaram valores de resíduo absoluto compreendendo o intervalo $-1 < res_{\text{absoluto}} < 1$, mostrando que os valores de atividade biológica preditos ficaram muito próximo dos valores de atividade biológica experimentais.

Finalizados os testes de validação interna e externa, concluiu-se que o modelo PLS-CB1 se mostrou aceitável na predição de compostos canabinoides, podendo ser considerado um modelo preditivo.

4.3 Modelo PLS- CB2

Foram gerados 1481 descritores moleculares pelo *software* Dragon para o conjunto de compostos com atividade biológica pK_i para o receptor CB2 e 14 descritores eletrônicos foram extraídos dos cálculos de otimização, totalizando 1495 descritores. Com a aplicação da técnica matriz de correlação (no qual os descritores que apresentaram o valor de coeficiente de correlação de Pearson R menor do que 0,3 foram excluídos), restaram 211 descritores.

Então, esses 211 descritores foram submetidos à técnica de algoritmo genético, gerando 600 modelos por essa técnica. Os valores dos parâmetros r , q^2 teste F e s analisados, além da frequência dos descritores nesses modelos. Com isso, foram selecionados 27 modelos de algoritmo genético para serem submetidos às análises prévias de PLS (que consistiu em gerar modelos PLS com o conjunto total de 74 compostos canabinoides), no qual os modelos que apresentaram os melhores valores de r^2 , q^2 , SEV, SEC e PRESS foram selecionados para dividir o conjunto de compostos em conjunto treinamento e conjunto teste (consistindo de cerca de 20 a 30% do conjunto total), gerando modelos PLS que tiveram os valores dos parâmetros estatísticos q^2 , r^2 , SEV, SEC e PRESS novamente avaliados, além de análises de *outliers*, e a predição dos valores de pK_i do conjunto teste. Assim, foi escolhido o modelo PLS-CB2, que foi considerado o que apresentou os melhores valores dos parâmetros e análises realizadas. Os descritores selecionados foram ATS6v (auto correlação Broto-Moreau de retardamento 6 (função logarítmica) /

ponderado pelo volume de van der Waals), nOH (número de grupos hidroxila), R5v+ (auto correlação máxima R de retardamento 5 / ponderado pelo volume de van der Waals), JGI2 (índice médio de carga topológica de ordem 2), Hy (fator hidrofílico), MATS7p (auto correlação de Moran de retardamento 7 / ponderado pela polarizabilidade), Jhete (índice tipo Balaban de distância da matriz ponderada pela eletronegatividade) e MATS6e (auto correlação de Moran de retardamento 6 / ponderado pela eletronegatividade de Sanderson).

Na Tabela 11 estão os parâmetros estatísticos do modelo selecionado gerado pela análise de algoritmo genético e na Tabela 12 estão os valores dos descritores selecionados (14 compostos compõem o conjunto teste, que estão sublinhados na Tabela 9).

Tabela 11 Parâmetros estatísticos do modelo gerado pela técnica de algoritmo genético para o modelo PLS-CB2

Descritores:	r ¹	s ²	F ³	q ^{2 4}
ATS6v, nOH, R5v+, JGI2, Hy, MATS7p, Jhete, MATS6e	0,911	0,535	39,799	0,790

¹Coefficiente de correlação. ²Desvio padrão. ³Teste F. ⁴Coefficiente de correlação da validação cruzada.

Fonte: Autoria própria

Tabela 12 Valores dos descritores selecionados para realizar a geração do modelo PLS-CB2 (os compostos do conjunto teste encontram-se sublinhados)

(continua)

Composto	pK _i	ATS6v	nOH	R5v+	JGI2	Hy	MATS7p	Jhete	MATS6e
CN1	6,85	0,323	0	0,045	0,131	-0,494	-0,360	1,948	0,034
CN4	8,27	0,341	0	0,035	0,140	-0,497	-0,124	1,750	-0,058
CN6	7,44	0,362	0	0,035	0,133	-0,913	-0,180	1,908	-0,057
CN16	6,67	0,336	0	0,046	0,131	0,156	-0,372	2,055	0,006
CN17	6,41	0,374	0	0,059	0,126	-0,905	-0,467	2,115	-0,024
CN18	6,33	0,372	0	0,047	0,126	-0,905	-0,438	2,098	-0,077
CN22	8,54	0,325	0	0,043	0,133	-0,951	-0,196	1,697	0,010
CN23	10,4	0,324	1	0,042	0,128	-0,489	-0,202	1,711	0,034
CN28	9,28	0,323	1	0,040	0,107	0,110	-0,220	1,735	0,017
CN44	10,64	0,310	0	0,055	0,192	-0,944	-0,225	2,087	-0,088
CN45	9,70	0,332	0	0,050	0,162	-0,489	-0,142	2,004	-0,149
CN46	7,54	0,329	0	0,048	0,162	-0,489	-0,140	1,983	-0,143
CN47	7,75	0,349	0	0,037	0,162	-0,916	-0,255	2,138	-0,185
CN48	8,19	0,344	0	0,036	0,156	-0,919	-0,187	2,044	-0,174

(continuação)

Composto	pK _i	ATS6v	nOH	R5v+	JGI2	Hy	MATS7p	Jhete	MATS6e
CN51	6,77	0,333	0	0,048	0,167	0,130	-0,129	2,004	-0,099
<u>CN52</u>	8,58	0,334	0	0,050	0,156	-0,461	-0,123	1,994	-0,117
CN54	10,49	0,319	1	0,045	0,156	0,146	-0,052	2,002	0,046
<u>CN55</u>	9,24	0,323	0	0,047	0,162	-0,489	-0,133	1,980	-0,134
CN57	8,54	0,326	0	0,051	0,169	-0,951	-0,149	1,899	-0,092
CN58	8,54	0,335	0	0,047	0,162	0,089	-0,152	2,001	-0,141
CN59	8,28	0,365	0	0,063	0,156	-0,919	-0,255	2,063	-0,084
CN60	6,67	0,365	0	0,035	0,146	-0,891	-0,168	2,158	0,035
CN61	6,59	0,369	0	0,037	0,148	-0,863	-0,177	2,202	0,076
CN62	6,59	0,368	0	0,030	0,148	-0,831	-0,175	2,197	0,092
CN77	8,96	0,340	0	0,050	0,162	-0,452	-0,157	1,999	-0,171
CN78	8,54	0,337	0	0,049	0,156	-0,461	-0,157	1,927	-0,163
CN83	8,96	0,342	0	0,048	0,148	-0,477	-0,092	1,486	-0,068
<u>CN84</u>	9,41	0,316	0	0,055	0,187	-0,480	-0,168	1,842	-0,093
CN85	9,04	0,345	0	0,057	0,187	-0,442	-0,143	1,905	-0,049
CN86	9,19	0,322	0	0,054	0,179	-0,489	-0,117	1,811	-0,095
CN87	9,04	0,346	0	0,050	0,179	-0,489	-0,140	1,891	-0,103
CN88	9,06	0,357	0	0,049	0,189	-0,497	-0,233	1,871	-0,101
CN89	9,17	0,351	0	0,046	0,183	-0,504	-0,201	1,840	-0,089
CN90	8,11	0,347	0	0,046	0,176	-0,511	-0,164	1,800	-0,083
CN91	8,13	0,349	0	0,043	0,175	-0,504	-0,009	1,889	-0,101
<u>CN92</u>	8,78	0,358	0	0,050	0,189	-0,461	-0,201	1,876	-0,081
CN93	8,45	0,361	0	0,050	0,181	-0,461	-0,129	1,891	-0,157
CN94	8,81	0,364	0	0,051	0,189	-0,461	-0,214	1,875	-0,092
CN95	9,27	0,369	0	0,050	0,181	-0,461	-0,111	1,890	-0,151
<u>CN96</u>	9,05	0,348	0	0,050	0,181	-0,461	-0,140	1,894	-0,151
CN97	7,91	0,348	0	0,051	0,189	-0,461	-0,135	1,878	-0,059
<u>CN100</u>	9,04	0,365	0	0,048	0,175	-0,470	-0,127	1,881	-0,115
CN101	8,60	0,359	0	0,050	0,183	-0,470	-0,191	1,854	-0,099
<u>CN102</u>	9,66	0,326	0	0,051	0,173	-0,497	-0,077	1,792	-0,098
CN105	8,48	0,338	0	0,044	0,142	-0,480	-0,178	1,938	-0,055
CN106	7,08	0,338	0	0,039	0,142	-0,442	-0,232	1,941	-0,023
CN107	9,07	0,338	0	0,047	0,150	-0,489	-0,141	1,693	-0,103
CN110	8,99	0,379	0	0,063	0,206	-0,436	-0,090	1,756	0,163
<u>CN111</u>	8,89	0,366	0	0,058	0,206	-0,436	-0,113	1,758	0,210
<u>CN121</u>	8,72	0,332	0	0,038	0,151	-0,504	-0,093	1,740	-0,048
CN128	9,28	0,353	0	0,046	0,151	-0,436	-0,021	1,750	0,027
CN129	7,71	0,361	0	0,036	0,163	-0,454	-0,023	1,784	0,021
CN130	6,59	0,402	0	0,039	0,146	-0,470	-0,065	1,606	0,005

(conclusão)

Composto	pK _i	ATS6v	nOH	R5v+	JGI2	Hy	MATS7p	Jhete	MATS6e
CN131	9,70	0,332	0	0,048	0,151	-0,436	-0,163	1,776	-0,013
CN135	8,44	0,355	0	0,043	0,146	-0,445	-0,019	1,760	0,027
<u>CN136</u>	6,99	0,347	0	0,043	0,152	-0,365	-0,055	1,876	0,078
CN137	8,98	0,348	0	0,056	0,167	-0,436	0,012	1,647	0,053
CN138	7,75	0,371	0	0,049	0,167	-0,436	0,003	1,714	0,083
CN139	7,60	0,346	0	0,045	0,176	-0,432	-0,166	1,910	0,076
<u>CN140</u>	8,41	0,350	0	0,049	0,169	-0,442	-0,159	1,887	0,059
<u>CN141</u>	6,97	0,358	0	0,046	0,151	-0,480	-0,224	1,858	0,013
CN142	8,03	0,377	0	0,042	0,148	-0,497	-0,160	1,746	0,049
CN143	7,28	0,342	0	0,043	0,123	-0,497	-0,167	1,456	0,060
<u>CN145</u>	7,57	0,359	0	0,053	0,119	-0,504	-0,208	1,354	0,044
CN146	8,05	0,370	0	0,055	0,119	-0,504	-0,201	1,430	0,071
CN149	7,63	0,356	0	0,066	0,120	-0,432	-0,138	1,898	0,055
<u>CNP1</u>	8,03	0,323	0	0,043	0,111	-0,489	-0,215	1,720	0,011
CNP21	5,75	0,406	0	0,032	0,119	-0,863	-0,218	1,914	0,124
CNP22	5,96	0,393	0	0,025	0,144	-0,879	-0,108	1,903	0,023
CNP23	5,69	0,366	0	0,032	0,123	-0,848	-0,370	2,168	0,002
CNP24	6,11	0,368	0	0,035	0,120	-0,843	-0,384	2,164	-0,007
CNP25	5,70	0,386	0	0,033	0,127	-0,819	-0,370	2,214	-0,068
<u>CNP26</u>	5,85	0,373	0	0,034	0,120	-0,843	-0,281	2,230	0,186
CNP27	5,76	0,374	0	0,034	0,120	-0,806	-0,231	2,233	0,169

Fonte: Autoria própria

A Tabela 13 mostra os parâmetros estatísticos do modelo PLS-CB2.

Tabela 13 Variância percentual acumulada, SEV, SEC, PRESS, q² e r² do modelo PLS-CB2 obtido para o conjunto treinamento

VL	%Var _{acumulada} ¹	SEV ²	PRESS _{val} ³	SEC ⁴	PRESS _{cal} ⁵	q ² ⁶	r ² ⁷
1	28,637	0,718	30,444	0,672	25,737	0,671	0,722
2	37,300	0,638	23,988	0,558	17,420	0,742	0,812
3	53,176	0,599	21,188	0,543	16,201	0,772	0,825
4	60,018	0,602	21,358	0,547	16,160	0,770	0,825
5	76,829	0,600	21,214	0,552	16,153	0,771	0,825
6	85,951	0,600	21,251	0,557	16,150	0,771	0,825
7	92,211	0,600	21,271	0,563	16,149	0,771	0,825
8	100,000	0,600	21,265	0,568	16,149	0,771	0,825

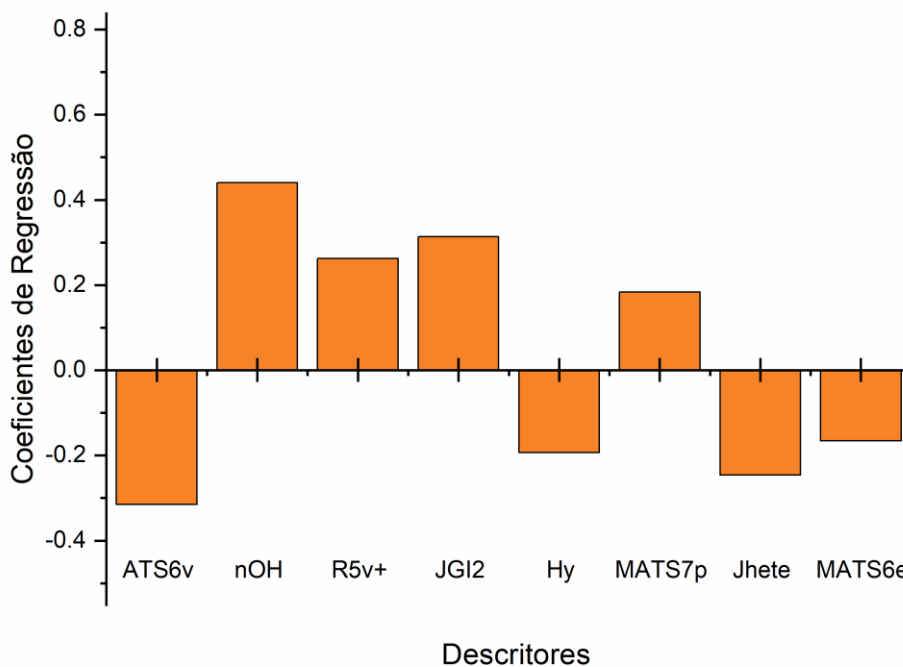
¹ Variância percentual acumulada. ² Erro padrão de validação. ³ Soma dos quadrados dos erros de previsão da validação. ⁴ Erro padrão de calibração. ⁵ Soma dos quadrados dos erros de previsão da calibração. ⁶ Coeficiente de correlação de validação cruzada. ⁷ Coeficiente de determinação múltipla.

Fonte: Autoria própria

De acordo com a literatura, são considerados resultados satisfatórios para um modelo PLS que apresentar valor de q^2 maior do que 0,5 e r^2 maior do que 0,6, valores esses que se mostram satisfatórios como mostrados na tabela. Percebe-se que a partir de 3 variáveis latentes, o valor de $q^2=0,600$ e $r^2=0,825$, que são os maiores valores para esses parâmetros na tabela 10. O número ótimo de variáveis foi considerado como sendo 6.

A Figura 22 mostra a contribuição dos descritores para o modelo. Nota-se que o descritor que teve a maior contribuição foi o nOH, seguido dos descritores ATS6v e JGI2 que apresentaram valores muito próximos de contribuição. Esses três descritores se mostraram, portanto, os mais significativos na descrição da atividade biológica com o receptor CB2 do conjunto de compostos.

Figura 22 Contribuição dos descritores para o vetor de regressão do modelo PLS-CB2

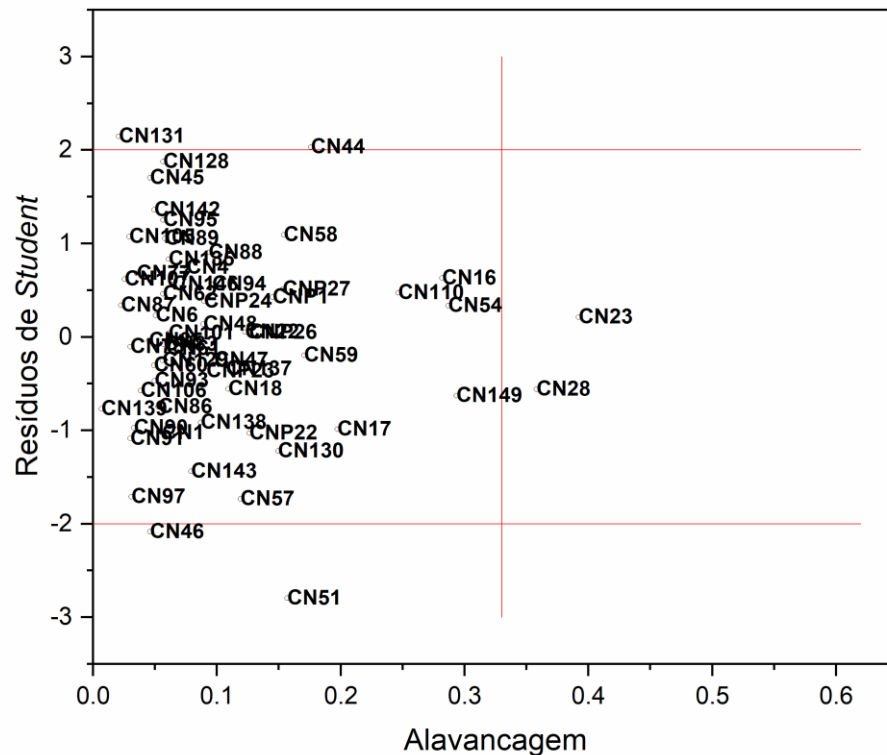


Fonte: Autoria própria

Realizou-se a análise de presença de amostras atípicas (*outliers*), através do gráfico de resíduos de *Student versus* alavancagem, mostrado na Figura 23. A linha

vertical representa a alavancagem, sendo que as amostras devem apresentar valores menores que o demarcado por esta linha. As retas horizontais representam a faixa em que se devem encontrar os valores aceitáveis de resíduos de *Student*. Pela Figura 23, nota-se que os compostos CN28 e CN23 apresentaram valores altos de alavancagem, porém com valores de resíduos de *Student* aceitáveis. Os compostos CN46, CN51, CN131 e CN44 se encontram fora do limite de resíduos mas dentro dos valores aceitáveis de alavancagem. Portanto, esses compostos não devem ser considerados como *outliers* por não se encontrarem simultaneamente fora dos limites de resíduos de *Student* e alavancagem e nenhum composto foi excluído e todos os compostos foram mantidos no modelo PLS-CB2 e nas análises que se seguiram.

Figura 23 Detecção de *outliers* no modelo PLS-CB2



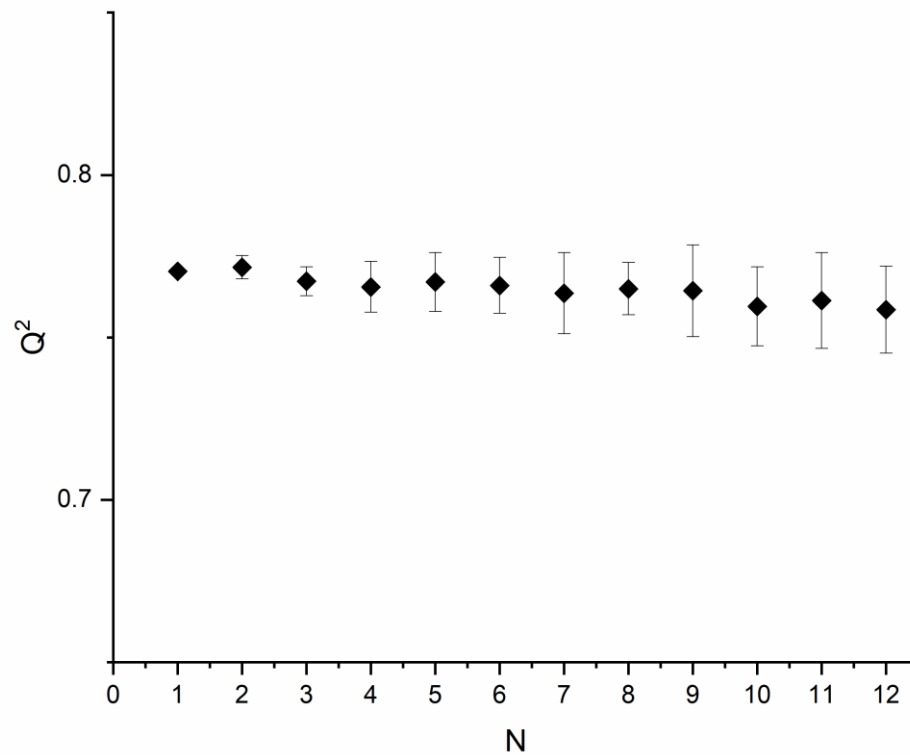
Fonte: Autoria própria

Para os testes de *leave-N-out* foram excluídos de 1 a 12 compostos (20% do conjunto treinamento). Para que um modelo seja considerado robusto (insensível à retirada de amostras), deve atender a dois requisitos. O primeiro requisito é de que o valor de q^2 com a retirada de uma amostra deve apresentar desvio médio nulo e o segundo é que com a retirada de N amostras deve manter os valores de desvio em $\pm 0,05$. Como é possível notar pela Tabela 14 e pela Figura 24, esses requisitos foram atendidos, mostrando que o modelo é robusto e estável.

Tabela 14 Dados dos testes de *leave-N-out* aplicados ao modelo PLS-CB2

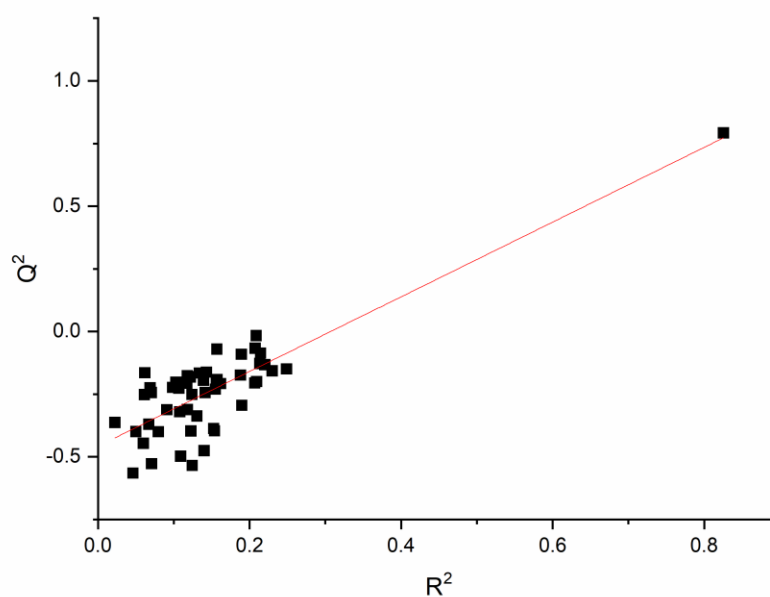
Amostras retiradas	Média	Desvio médio
1	0,770	0,000
2	0,772	0,004
3	0,767	0,004
4	0,766	0,008
5	0,767	0,009
6	0,766	0,009
7	0,764	0,012
8	0,765	0,008
9	0,764	0,014
10	0,760	0,012
11	0,761	0,015
12	0,759	0,013

Fonte: Autoria própria

Figura 24 Testes de *leave-N-out* aplicados ao modelo PLS-CB2

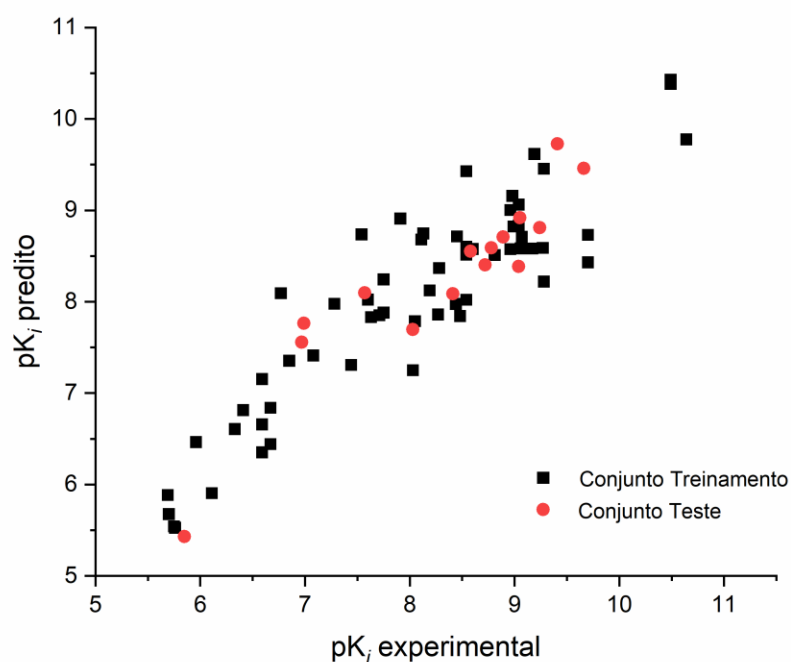
Fonte: Autoria própria

Para o teste de randomização, tem-se que para que o modelo não apresente correlações ao acaso, os valores de q^2 e r^2 devem ser menores do que 0,3 e 0,4, respectivamente. Pode-se observar na Figura 25 que essas condições são atendidas, e portanto, o modelo não apresenta correlações ao acaso.

Figura 25 Teste de randomização aplicado ao modelo PLS-CB2

Fonte: Autoria própria

Feitas as análises e testes de validação interna, foi realizado o teste de validação externa, que consiste na predição dos valores de atividade biológica do conjunto teste. Para a predição do conjunto teste, obteve-se valores de $SEV = 0,412$, $PRESS = 2,552$ e $r^2_{pred} = 0,845$. A Figura 26 mostra a predição do modelo PLS-CB1 e a tabela 12 contém os valores de pK_i experimental, valores de pK_i predito do conjunto teste e valores de resíduos absoluto (que se dá pelo cálculo do valor de pK_i experimental subtraído pelo valor de pK_i predito).

Figura 26 Predição da atividade biológica pelo modelo PLS-CB2

Fonte: Autoria própria

Tabela 15 Resíduos de predição do conjunto teste pelo modelo PLS-CB2

Composto	$pK_{i\text{exp}}$	$pK_{i\text{pred}}$	Resíduo absoluto
CN52	8,58	8,55	0,03
CN55	9,24	8,81	0,43
CN84	9,41	9,73	-0,32
CN100	9,04	8,39	0,65
CN102	9,66	9,46	0,20
CN121	8,72	8,40	0,32
CN140	8,41	8,09	0,32
CN141	6,97	7,56	-0,59
CN145	7,57	8,10	-0,53
CNP1	8,03	7,70	0,33
CNP26	5,85	5,43	0,42
CN92	8,78	8,59	0,19
CN96	9,05	8,92	0,13
CN111	8,89	8,71	0,18
CN136	6,99	7,76	-0,77

Fonte: Autoria própria

Todos os compostos do conjunto teste apresentaram valores de resíduo absoluto compreendendo o intervalo $-1 < res_{\text{absoluto}} < 1$, mostrando que os valores de atividade biológica preditos ficaram muito próximos dos valores de atividade biológica experimentais.

Finalizados os testes de validação interna e externa, concluiu-se que o modelo PLS-CB2 se mostrou aceitável na predição de compostos canabinoides na interação com o receptor CB2 que tenham a estrutura base mostrada na figura. Portanto, o modelo PLS-CB2 é um modelo preditivo.

4.4 Descritores selecionados para os modelos PLS

Os descritores selecionados utilizando a técnica de algoritmo genético para gerar os modelos PLS-CB1 e PLS-CB2 serão discutidos a seguir.

4.4.1 Descritores do modelo PLS-CB1

A Tabela 16 mostra a relação de descritores selecionados para geração do modelo PLS-CB1, suas definições e classes.

Tabela 16 Descritores selecionados para o modelo PLS-CB1

(continua)

Descritor	Definição	Classe
R6e+	Auto correlação máxima R de retardamento 6 / ponderado pela eletronegatividade de Sanderson	Descritores GETAWAY
R6u	Auto correlação R de retardamento 6 / não ponderado	
H5m	Auto correlação H de retardamento 5 / ponderado pela massa	
ATS6v	Auto correlação Broto-Moreau de retardamento 6 (função logarítmica) ponderado pelo volume de van der Waals	Auto correlações 2D
E3p	Índice direcional de acessibilidade do 3º componente WHIM / ponderado pela polarizabilidade	Descritores WHIM

(conclusão)

Descritor	Definição	Classe
Jhete	Índice tipo Balaban de distância da matriz ponderada pela eletronegatividade	Descritores topológicos
nRORPh	Número de éteres (Aromáticos)	Grupos funcionais

Fonte: Autoria própria

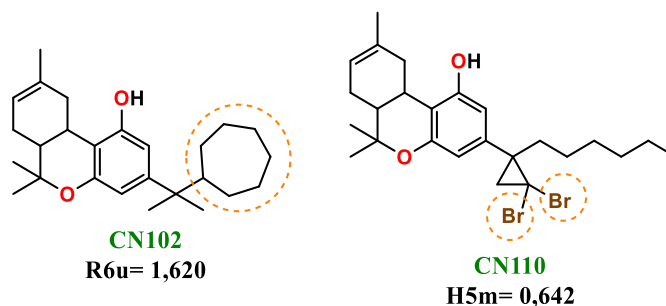
R6e+, R6u e H5m: esses três descritores pertencem à classe de descritores GETAWAY (do inglês *Geometry, topology, and atom-weights assembly*), que são definidos como descritores de estrutura química derivados da matriz molecular.¹⁷⁵

O descritor R6e+ é ponderado pela eletronegatividade de Sanderson e, de forma geral, compostos que apresentaram átomos mais eletronegativos (que não fossem o oxigênio ligado à posição 1 e na posição 5, comuns na estrutura química da maioria dos compostos selecionados) apresentaram maiores valores para esse descritor como, por exemplo, compostos que apresentam os átomos de cloro e flúor como o CN92 ($R6e+_{CN92}=0,177$) e CN97 ($R6e+_{CN97}=0,178$).

O descritor R6u, descritor não ponderado, teve seu maior valor (e único acima de 1,6) apontando para o composto CN102 (figura 25), que é o único que apresenta um cicloheptano ligado na posição 3.

O descritor H5m, que é ponderado pela massa, teve seu maior valor apontando o composto CN110 (Figura 27) que é o único conjunto que apresentou dois átomos de bromo, sendo o bromo o elemento químico de maior massa molecular presente em todos os compostos do conjunto selecionado.

Figura 27 Estruturas moleculares dos compostos CN102 e CN110



Fonte: Autoria própria

ATS6v: esse descritor é baseado na aplicação de uma função de auto correlação ao gráfico molecular para medir a distribuição das propriedades atômicas na topologia da molécula.¹⁷⁵ Os valores desse descritor apresentaram uma baixa faixa de variação (0,092), no entanto de forma geral pode-se dizer que menores valores desse descritor apontaram compostos com valores intermediários e altos de pK_i e maiores valores desse descritor apontaram compostos que apresentaram menores valores de pK_i .

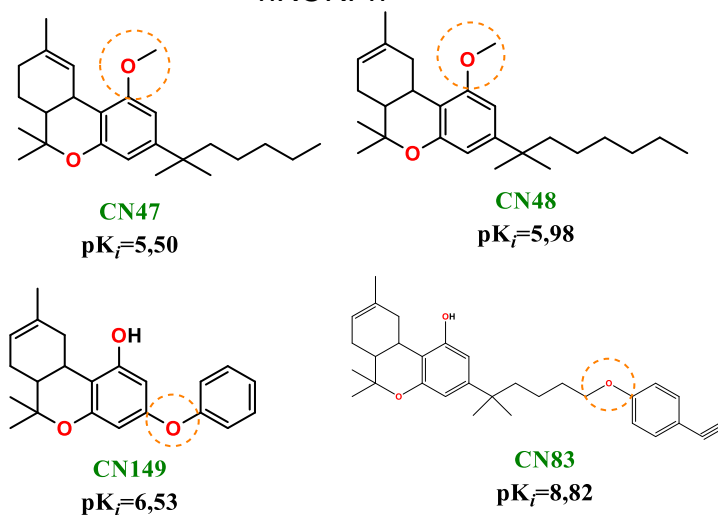
E3p: pertence à classe de descritores WHIM (do inglês *Weighted holistic invariant molecular*) que, por sua vez, é incluído entre os descritores geométricos e fornece informações tridimensionais moleculares relevantes em relação ao tamanho, forma, simetria e distribuição atômica com respeito a referenciais invariáveis. Essa classe de descritores considera os átomos de uma molécula como uma configuração de pontos no espaço tridimensional definido pelos eixos cartesianos, no qual os principais eixos da molécula são calculados e as projeções dos átomos pelos eixos principais são realizadas à medida que sua dispersão e distribuição em torno do centro geométrico são avaliados. O descritor E3p é ponderado pela polarizabilidade.¹⁷⁵

Para o conjunto de compostos canabinoides com valor de pK_i para o receptor CB1, tem-se os valores desse descritor variando de 0,181 a 0,354. De forma geral, pode-se dizer que os maiores valores desse descritor (maior do que 0,3) apontaram compostos com valores menores de pK_i (CN17, CN60, CN62) e menores valores desse descritor (menor do que 0,2) apontaram compostos com valores mais altos de pK_i (CN83, CN121, CNP11).

Jhete: é um descritor topológico, o qual é calculado a partir do gráfico molecular, que codifica a conectividade molecular em valores numéricos (índices topológicos), nesse caso se dando pelo índice topológico de Balaban.¹⁷⁵ Também ocorreu que maiores valores desse descritor apontaram compostos que apresentaram menores valores de pK_i e menores valores apontaram compostos com maiores valores de pK_i .

nRORPh: esse descritor indica presença de éteres ligados a um anel aromático. Ele apontou a presença de éteres ligados a anéis aromáticos nos compostos CN47, CN48, CN83 e CN149, conforme mostrado na Figura 28. Nota-se que a presença do grupo funcional éter na posição 1 diminui o valor da atividade biológica nos compostos CN47 e CN48. Na região da posição 3 no composto CN149, tem-se um valor de pK_i baixo, porém provavelmente devido uma baixa hidrofobicidade nessa região que já se mostrou necessária para a elevação do pK_i e não somente com relação a presença do éter ligado ao anel aromático em si. No composto CN83 tem-se um valor de pK_i maior provavelmente devido à presença da cadeia carbônica maior na posição 3.

Figura 28 Estruturas moleculares das moléculas em destaque para o descritor nRORPh



Fonte: Autoria própria

4.4.2 Descritores do modelo PLS-CB2

A Tabela 17 mostra a relação de descritores selecionados para geração do modelo PLS-CB2, suas definições e classes.

Tabela 17 Descritores selecionados para o modelo PLS-CB2

Descritor	Definição	Classe
ATS6v	Auto correlação Broto-Moreau de retardamento 6 (função logarítmica) / ponderado pelo volume de van der Waals	Auto correlações 2D
JGI2	Índice médio de carga topológica de ordem 2	
MATS7p	Auto correlação de Moran de retardamento 7 / ponderado pela polarizabilidade	
MATS6e	Auto correlação de Moran de retardamento 6 / ponderado pela eletronegatividade de Sanderson	
R5v+	Auto correlação máxima R de retardamento 5 / ponderado pelo volume de van der Waals	Descritores GETAWAY
Hy	Fator hidrofílico	Propriedades moleculares
Jhete	Índice tipo Balaban de distância da matriz ponderada pela eletronegatividade	Topological descriptors
nOH	Número de grupos hidroxila	Grupos funcionais

Fonte: Autoria própria

ATS6v, JGI2, MATS7p, MATS6e: esses descritores pertencem à mesma classe de auto correlações 2D.¹⁷⁵

O descritor ATS6v também foi selecionado para a geração do modelo PLS-CB1 e, da mesma forma que ocorreu no modelo PLS-CB1, os valores desse descritor apresentaram também para o modelo PLS-CB2 uma baixa faixa de variação (0,096) e menores valores desse descritor apontaram compostos com valores intermediários e altos de pK_i e maiores valores desse descritor apontaram compostos que apresentaram menores valores de pK_i .

Os descritores MATS7p e MATS6e são funções de auto correlação de Moran que medem distribuições espaciais e são ponderados pela polarizabilidade e eletronegatividade de Sanderson, respectivamente.

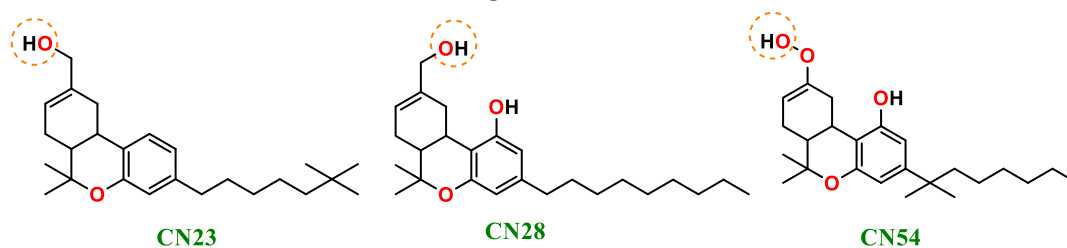
R5v+: pertence à classe de descritores GETAWAY e é ponderado pelo volume de van der Waals.¹⁷⁵ Nota-se que menores valores desse descritor indica compostos que apresentaram baixos valores de pK_i , assim como valores maiores do descritor apontaram compostos com maiores valores de pK_i .

Hy: esse descriptor é definido como fator hidrofílico e é possível notar que compostos que apresentaram valores menores para esse descritor são aqueles que possuem menor quantidade de átomos polares como por exemplo, o oxigênio e nitrogênio, e também maior quantidade de ramificações e cadeias carbônicas maiores. Compostos que apresentam maior quantidade de átomos polares tem maiores valores para esse descritor.

Jhete: é um descritor topológico, sendo também selecionado para o modelo PLS-CB1.

nOH: esse descritor indica presença de grupos hidroxila e apesar de vários compostos presentes no conjunto de compostos selecionados para o modelo PLS-CB2 apresentarem o grupo hidroxila, ele apontou a presença de hidroxila somente nos compostos CN23, CN28 e CN54, que foram os compostos que tem uma hidroxila ligada na posição 11, mostrados na Figura 29.

Figura 29 Estruturas moleculares das moléculas em destaque para o descritor nOH



Fonte: Autoria própria

4.5 Predição da atividade biológica dos compostos canabinoides

Com a geração dos modelos PLS-CB1 e PLS-CB2, foi possível realizar a predição dos compostos canabinoides que, em sua maioria, não havia disposição de dados de suas atividades biológicas na interação com os receptores CB1 e CB2.

A Tabela 18 mostra a atividade biológica predita utilizando os modelos PLS-CB1 e PLS-CB2 para os compostos canabinoides.

Tabela 18 Predição da atividade biológica para a série de 50 compostos canabinoides pelos modelos PLS-CB1 e PLS-CB2

(continua)

Composto	pK_i predito CB1	pK_i predito CB2
Ac1	7,43	7,20
Ac2	7,61	7,48
Ac3	7,10	8,80
Ac4	7,35	8,96
Ac5	6,12	6,42
Ac6	6,26	6,60
Ac7	6,72	7,30
Ac8	7,38	7,12
Ac9	6,94	7,43
Ac10	8,20	7,17
Ac11	7,55	9,39
Ac12	7,24	9,47
Ac13	7,58	7,28
Ac14	7,25	7,20
Ac15	7,81	7,43
Ac16	7,62	8,22
Ac17	7,60	8,28
Ac18	8,73	8,64
Ac19	8,86	8,62
Ac20	8,51	8,29
Ac21	7,96	9,03
Ac22	7,77	9,66
Ac23	7,09	9,30
Ac24	6,82	9,31
Ac25	7,58	6,95
Ac26	7,32	6,73
Ac27	7,79	8,44
Ac28	7,59	7,61
Ac29	8,27	7,74
Ic1	6,65	6,24
Ic2	7,65	6,94
Ic3	6,47	5,27
Ic4	6,34	5,54
Ic5	7,48	7,44
Ic6	7,96	7,28
Ic7	5,89	5,73

(conclusão)

Composto	pK_i predito CB1	pK_i predito CB2
lc8	7,36	6,93
lc9	7,30	8,23
lc10	7,60	7,91
lc11	7,42	8,21
lc12	6,45	6,83
lc13	5,80	6,54
lc14	7,80	8,48
lc15	5,72	6,02
lc16	7,07	8,32
lc17	3,77	6,90
lc18	7,95	7,69
lc19	7,83	8,36
lc20	7,51	7,78
lc21	7,02	10,36

Fonte: Autoria própria

Ao comparar os dados de pK_i predito dos compostos pelos modelos PLS-CB1 e PLS-CB2 mostrados nas tabelas, é possível verificar que um número maior de compostos canabinoides classificados como inativos apresentaram maiores valores de pK_i , mostrando que esses compostos tem uma maior afinidade com o receptor CB2 do que com o receptor CB1, sendo um fator que possa sustentar a hipótese III, de que dentre os compostos classificados como psicoativos há compostos seletivos para o receptor CB2 agindo de forma antagonistas.

Os compostos Ac1, Ac2, Ac4, Ac12, Ac13, Ac28, lc1 e lc21 apresentavam dados de pK_i disponíveis no banco de dados ChEMBL, seguindo os protocolos estabelecidos na seleção de compostos, conforme detalhado na Tabela 5 para Ac1 e Ac2. Já para Ac4, Ac12, Ac13, Ac28, lc1 e lc21, há uma diferença em *BAO Label* (*BioAssay Ontology Label*), visto que os dados experimentais disponíveis são para um formato baseado em células (*cell-based format*) e não para proteína única, ao contrário dos compostos Ac1, Ac2 e dos selecionados para gerar os modelos QSAR. Assim, é possível calcular o resíduo da predição para esses compostos, como mostrado na Tabela 19. Observa-se que, de modo geral, os resíduos de predição permaneceram baixos, com exceção dos compostos Ac12 e lc21 para o

receptor CB2. No entanto, os valores previstos pelos modelos se aproximaram significativamente dos valores experimentais.

Tabela 19 Resíduos de predição dos compostos com dados experimentais disponíveis

Composto	Nome ChEMBL	pK_i exp CB1	pK_i pred CB1	Resíduo absoluto CB1	pK_i exp CB2	pK_i pred CB2	Resíduo absoluto CB2
Ac1	CHEMBL465	7,40	7,43	0,03	7,44	7,20	0,24
Ac2	CHEMBL267227	7,54	7,61	0,07	7,60	7,48	0,12
Ac4	CHEMBL111099	-	-	-	8,13	8,96	0,83
Ac12	CHEMBL3586105	7,19	7,24	0,05	7,06	9,47	2,41
Ac13	CHEMBL2387541	7,12	7,58	0,46	7,20	7,28	0,08
Ac28	CHEMBL3329946	7,54	7,59	0,05	7,75	7,61	0,06
Ic1	CHEMBL465718	7,62	6,65	0,97	7,25	6,24	1,01
Ic21	CHEMBL3586106	7,51	7,02	0,49	7,52	10,36	2,84

Fonte: Autoria própria

É interessante destacar que a análise feita no item 4.1 com relação à modificação dos substituintes nos compostos selecionados do banco de dados ChEMBL indicou que o aumento da hidrofobicidade na região da posição 3 implica no aumento da atividade biológica para ambos os receptores e grupos volumosos na região da posição 1 acarreta na diminuição do valor da atividade biológica para ambos os receptores CB1 e CB2, fatos esses que foram também notados na predição da série de 50 compostos canabinoides.

Os compostos Ac5, Ac6, Ic14 e Ic15 tem um acetato ligado à posição 1 (que é um grupo mais volumoso do que a hidroxila ligada nessa posição nos compostos Ac1 e Ac2, ver tabela 1 para visualizar as estrutura químicas desses compostos) e apresentaram diminuição considerável nos valores de pK_i predito pelos modelos PLS-CB1 e PLS-CB2 (ver Tabela 15). Esperava-se também uma diminuição no valor de pK_i para ambos os receptores CB1 e CB2 também para o composto Ic14, visto que esse composto também tem um acetato ligado na posição, o que não ocorreu, sendo que o pK_i predito para o receptor CB1 teve um leve aumento (pK_i predito CB1 Ic14=7,80) e para o receptor CB2 um aumento considerável (pK_i predito CB2 Ic14=8,48). No entanto, esse composto possui uma hidroxila ligada à posição 7, ao que deve ser atribuído o aumento da atividade biológica desse composto mesmo que ele tenha um grupo volumoso na região da posição 1.

Para compostos que tiveram um aumento na cadeia carbônica da região da posição 3, esperava-se um aumento da atividade biológica para ambos os receptores CB1 e CB2. Isso ocorreu nos compostos Ac16, Ac17, Ac18, Ac19, Ac20 e Ac29.

Os resultados desse parte do trabalho com relação à geração de modelos QSAR e predição da atividade biológica dos 50 compostos canabinoides já foram publicados encontram-se disponíveis na literatura.¹⁷⁶

4.6 Análises de *docking* molecular

As estruturas cristalográficas dos receptores CB1 e CB2 foram extraídas do banco de dados PDB, sendo identificadas como 6KPG (CB1) e 6KPF (CB2)⁷². Foram realizados cálculo de *redocking* das proteínas com seus ligantes cocrystalizados para verificar se os valores de RMSD (do inglês *Root Mean Square Deviation*) eram menores do que 2 para que o método fosse considerado validado. Os valores obtidos de RMSD dos cálculos de *redocking* dos receptores CB1 e CB2 com seus ligantes cocrystalizados, AM841 e AM12033 foram 0,6315 e 0,5613, respectivamente. Portanto, seguiu-se para os cálculos de *docking* de compostos que foram selecionados dentre a série de 50 compostos canabinoides com os receptores CB1 e CB2, conforme discutido a seguir.

4.6.1 Análises de *docking* molecular com receptor CB1

Para realizar os cálculos de *docking* com o receptor CB1, foram selecionados os principais compostos canabinoides, Δ^9 -THC e Δ^8 -THC (chamados de Ac1 e Ac2 na série de 50 compostos canabinoides) e os compostos psicoativos que apresentaram os maiores valores de pK_i predito pelo modelo PLS-CB1 na interação com esse receptor.

A escolha desses compostos para os estudos de *docking* do receptor CB1 se deu para que pudesse ser verificada a hipótese ii, a fim de ser feita uma análise e comparação das interações que ocorrem com o receptor CB1 na interação com

os compostos Ac1 e Ac2 (principais compostos canabinoides ativos psicotropicamente) com as interações que ocorrem entre compostos que são inativos psicotropicamente, mas que apresentaram valores de pK_i preditos similares ou maiores do que para Ac1 e Ac2, podendo verificar a sugestão de que esses compostos interajam de forma antagonista na interação com o receptor CB1.

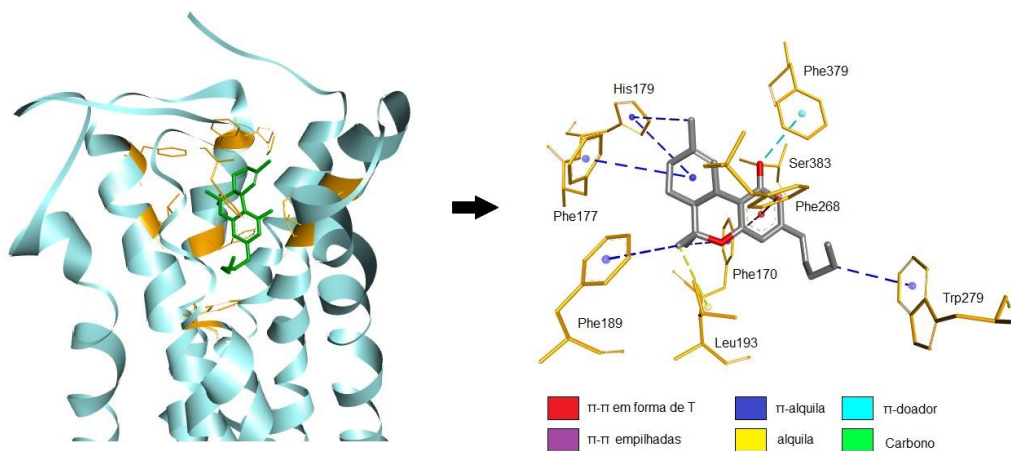
A Tabela 20 mostra os compostos selecionados para realização de estudos de *docking* com o receptor CB1, bem como os valores de pK_i pelo modelo PLS-CB1 para os mesmos e os valores de pontuação de energia de acordo com a análise de *docking* realizada utilizando o MOE.

Tabela 20 Compostos selecionados para a realização do *docking* com o receptor CB1

Composto	pK_i predito CB1	Pontuação de energia (kcal/mol)
Ac1	7,43	-7,27
Ac2	7,61	-7,56
Ic2	7,65	-7,79
Ic6	7,96	-8,31
Ic14	7,80	-8,99
Ic18	7,95	-6,86
Ic19	7,83	-8,31

Fonte: Autoria própria

As Figuras 30 a 37 mostram os principais resíduos do receptor CB1 que interagem com os compostos Ac1, Ac2, Ic2, Ic6, Ic14, Ic18 e Ic19, respectivamente. As Tabelas 21 a 27 mostram os resíduos, juntamente com os dados de interações com o receptor CB1 e as regiões do composto canabinoide que ocorrem, além da distancia dessas interações.

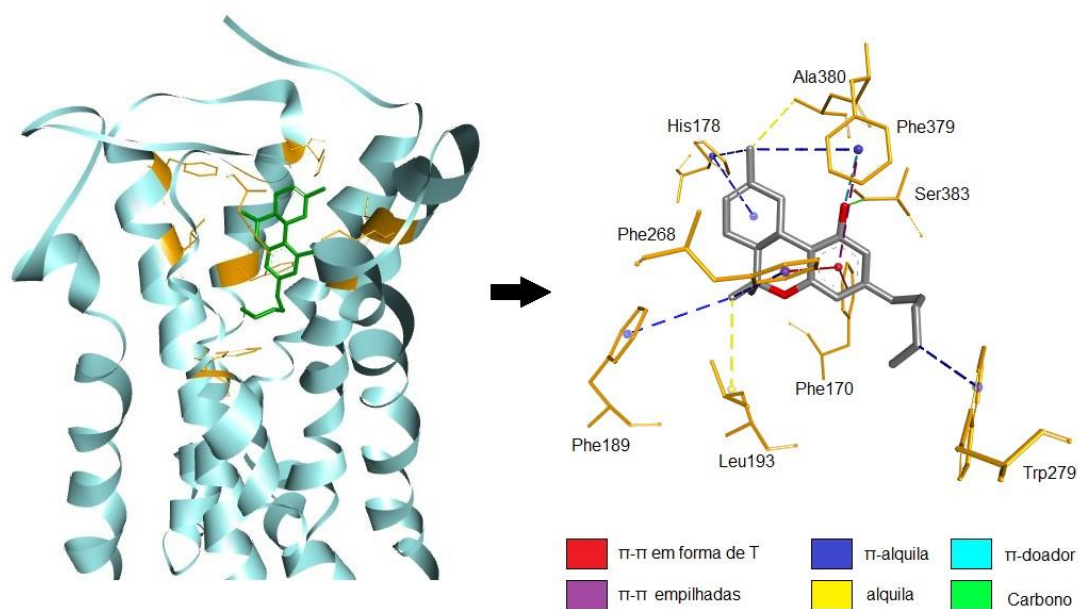
Figura 30 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ac1

Fonte: Autoria própria

Tabela 21 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ac1

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ac1
Phe379	3,62	π -doador	Hidroxila - posição 1
Ser383	3,28	Carbono-hidrogênio	Hidroxila - posição 1
Phe268	5,28	π - π em forma de T	Anel aromático
Phe170	5,12	π - π em forma de T	Anel aromático
	4,49	π -alquila	Metil - posição 6
Trp279	4,08	π -alquila	Cadeia carbônica, posição 3
Phe189	4,91	π -alquila	Metil - posição 6
Leu193	4,22	Alquila	Metil - posição 6
Phe177	5,45	π -alquila	Anel, região da dupla ligação - posição 9
His178	5,38	π -alquila	Anel, região da dupla ligação - posição 9
	4,38	π -alquila	Metil - posição 11

Fonte: Autoria própria

Figura 31 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ac2

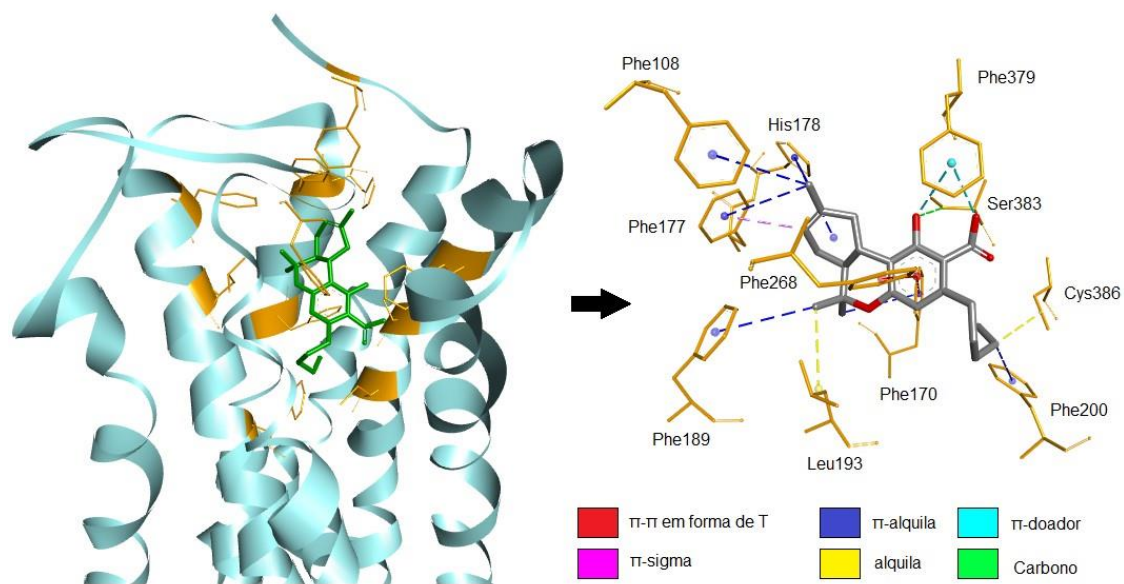
Fonte: Autoria própria

Tabela 22 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ac2

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ac2
His178	5,16	π-alquila	Dupla ligação na posição 8
	4,30	π-alquila	Metil – posição 11
Ala380	4,18	Alquila	Metil – posição 11
	5,47	π-alquila	Metil – posição 11
Phe379	5,76	π-π em forma de T	Anel aromático
	3,40	π-doador	Hidroxila posição 1
Phe170	4,99	π-alquila	Anel aromático
Phe189	4,71	π-alquila	Metil – posição 6
Leu193	4,26	Alquila	Metil – posição 6
Trp279	4,23	π-alquila	Cadeia carbônica, posição 3
Phe268	5,49	π-alquila	Metil – posição 6
	5,44	π-π em forma de T	Anel aromático
Ser383	3,12	Carbono-hidrogênio	Hidroxila - posição 1

Fonte: Autoria própria

Figura 32 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ic2



Fonte: Autoria própria

Figura 33 Ligação de hidrogênio no composto Ic2

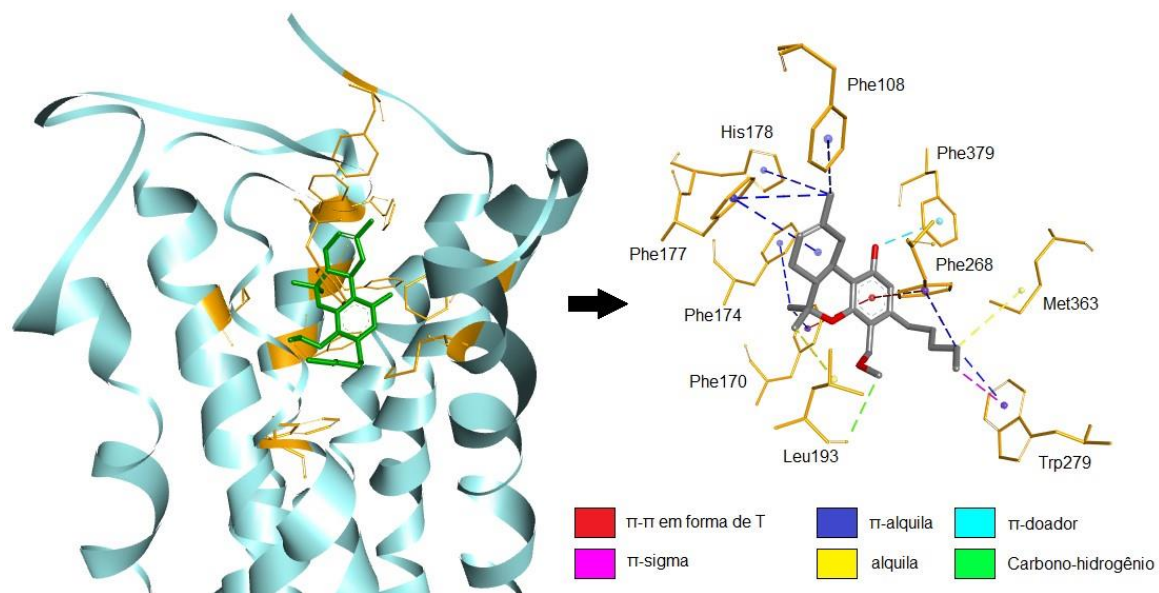


Fonte: Autoria própria

Tabela 23 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ic2

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic2
Phe379	3,83	π -doador	Hidroxila posição 1
	3,41	π -doador	Hidroxila do ácido carboxílico - posição 2
Ser383	3,09	Carbono-hidrogênio	Hidroxila posição 1
Cys386	3,94	Alquila	Cadeia carbônica - posição 3
Phe200	4,74	π -alquila	Cadeia carbônica - posição 3
Phe268	4,73	π - π em forma de T	Anel aromático
Phe170	5,65	π - π em forma de T	Anel aromático
	4,96	π -alquila	Metil – posição 6
Phe189	4,67	π -alquila	Metil – posição 6
Leu193	4,12	Alquila	Metil – posição 6
Phe177	3,83	π -sigma	Dupla ligação posição 8
	4,72	π -alquila	Metil – posição 11
His178	5,27	π -alquila	Anel região dupla ligação - posição 8
	4,68	π -alquila	Metil – posição 11
Phe108	4,80	π -alquila	Metil – posição 11

Fonte: Autoria própria

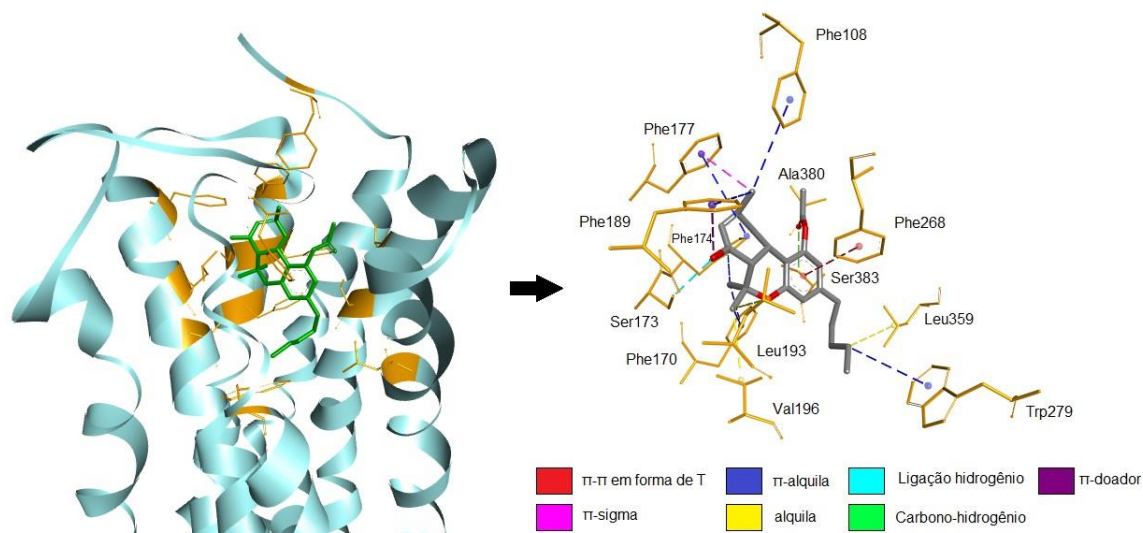
Figura 34 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ic6

Fonte: Autoria própria

Tabela 24 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ic6

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic6
Phe379	3,71	π -doador	Hidroxila posição 1
Met363	4,63	Alquila	Cadeia carbônica - posição 3
Trp279	3,98	π -alquila	Cadeia carbônica - posição 3
	3,84	π -sigma	Cadeia carbônica - posição 3
Phe268	4,50	π -alquila	Cadeia carbônica, posição 3
	5,21	π - π em forma de T	Anel aromático
Phe170	5,29	π - π em forma de T	Anel aromático
	4,29	π -alquila	Metil - posição 6
Leu193	3,77	Carbono-hidrogênio	Metil - posição 4
	4,18	Alquila	Metil - posição 6
Phe177	5,03	π -alquila	Região da dupla - posição 8
	4,69	π -alquila	Metil - posição 11
His178	4,73	π -alquila	Metil - posição 11
Phe108	4,57	π -alquila	Metil - posição 11
Phe174	5,31	π -alquila	Metil - posição 6

Fonte: Autoria própria

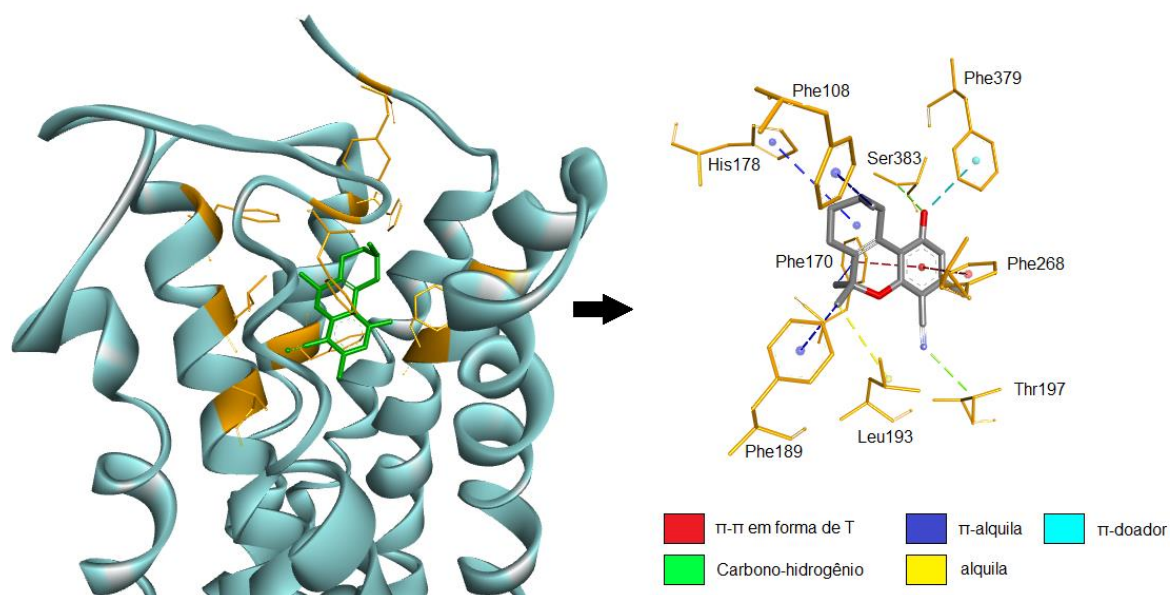
Figura 35 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ic14

Fonte: Autoria própria

Tabela 25 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ic14

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic14
Ala380	3,48	Carbono-hidrogênio	Éster - posição 1
Ser383	3,36	Carbono-hidrogênio	Éster - posição 1
Leu359	5,18	Alquila	Cadeia carbônica - posição 3
Trp279	5,24	π -alquila	Cadeia carbônica - posição 3
Phe268	5,02	π - π em forma de T	Anel aromático
Leu193	4,44	Alquila	Metil - posição 6
Val196	3,79	Alquila	Metil - posição 6
Phe170	5,44	π -alquila	Metil - posição 6
	4,07	π -alquila	Metil - posição 6
Ser173	3,04	Ligação hidrogênio	Hidroxila - posição 7
Phe189	3,88	π -doador	Hidroxila - posição 7
	5,32	Alquila	Metil - posição 11
Phe177	3,37	π -sigma	Metil - posição 11
	5,0	π -alquila	Região da dupla - posição 8
Phe108	5,21	π -alquila	Metil - posição 11

Fonte: Autoria própria

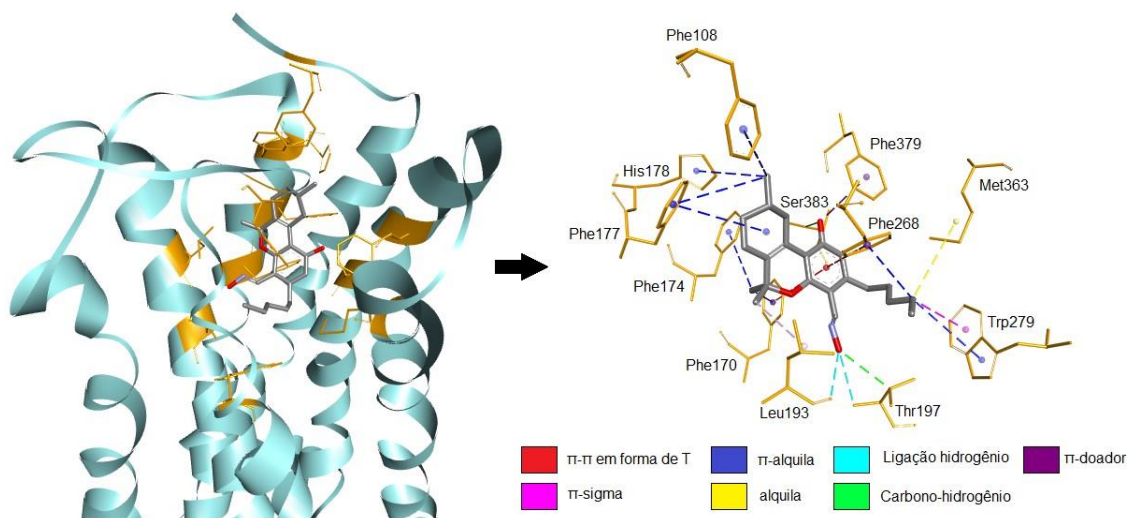
Figura 36 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ic18

Fonte: Autoria própria

Tabela 26 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ic18

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic18
Phe379	3,96	π -doador	Hidroxila - posição 1
Ser383	3,08	Carbono-hidrogênio	Hidroxila - posição 1
Phe268	4,87	π - π em forma de T	Anel aromático
Phe170	5,51	π - π em forma de T	Anel aromático
	4,42	π -alquila	Metil - posição 6
Leu193	4,25	Alquila	Metil - posição 6
Phe189	4,81	π -alquila	Metil - posição 6
His178	5,47	π -alquila	Anel região da dupla
Phe108	5,29	π -alquila	Metil - posição 11
Thr197		Carbono-hidrogênio	Posição 4

Fonte: Autoria própria

Figura 37 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ic19

Fonte: Autoria própria

Tabela 27 Principais resíduos do receptor CB1 na interação com o composto Ic19

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic19
Ser383	3,14	Carbono-hidrogênio	Hidroxila - posição 1
Phe379	3,71	π -doador	Hidroxila - posição 1
Met363	5,20	Alquila	Cadeia carbônica - posição 3
Trp279	3,84	π -sigma	Cadeia carbônica - posição 3
	4,89	π -alquila	Cadeia carbônica - posição 3
Phe268	4,40	π -alquila	Cadeia carbônica - posição 3
	4,98	π - π em forma de T	Anel aromático
Phe170	5,41	π - π em forma de T	Anel aromático
	4,26	π -alquila	Metil - posição 6
Phe174	5,40	π -alquila	Metil - posição 6
Leu193	2,87	Ligação hidrogênio	Hidroxila - posição 4
	4,26	Alquila	Metil - posição 6
Thr197	3,32	Ligação hidrogênio	Hidroxila - posição 4
	3,42	Carbono-hidrogênio	Hidroxila - posição 4
Phe177	5,24	π -alquila	Anel região da dupla
	5,16	π -alquila	Metil - posição 11
His178	4,74	π -alquila	Metil - posição 11
Phe108	4,95	π -alquila	Metil - posição 11

Fonte: Autoria própria

Ao analisar os resíduos dos compostos selecionados para os estudos de docking na interação com o receptor CB1, é notável a presença dos resíduos Phe170, Phe268 e Leu193 em todos eles, tanto nos compostos psicotropicamente ativos quanto inativos, indicando que são resíduos importantes na estabilização dos complexos ligante-receptor comuns a ambos papéis agonistas e antagonistas. Esses resíduos também se mostraram importantes na análise da estrutura 6KPG em complexo com o agonista AM841. A Fenilalanina (Phe) é um aminoácido aromático com um anel fenil, propenso a interagir com regiões hidrofóbicas dos compostos ligantes como anéis aromáticos ou grupos alquila. No caso dos compostos em estudos, nota-se que os resíduos Phe170 e Phe268 interagem com o anel aromático, metil da posição 6 e a cadeia carbônica da posição 3 através de interações π - π e π -alquila. A Leucina (Leu), por sua vez, é outro aminoácido hidrofóbico, com uma cadeia lateral alifática, frequentemente envolvida em interações hidrofóbicas, especialmente com grupos alquila ou regiões hidrofóbicas de compostos ligantes. Nos compostos em estudo, estabiliza o complexo ligante através de interações alquila com metil na posição 6, através de interações

hidrofóbicas π -alquila ou alquila ao interagirem com o anel aromático ou com os radicais metil da posição 6 e no composto Ic19, o resíduo Leu193 interage também com a hidroxila na posição 4 através de uma ligação hidrogênio.

Ao analisar cada região dos compostos classificados como ativos e inativos psicotropicamente, tem-se em todos os mesmos resíduos interagindo com as posições 1 (Phe379 e/ou Ser383, com exceção do Ic14 que apresenta também interação com o resíduo Ala380 através de uma interação carbono-hidrogênio, provavelmente por ser o único dentre os compostos em estudo que apresenta um éster nessa posição ao invés da hidroxila), anel aromático (Phe268 e/ou Phe170) e região da dupla ligação na posição 8 ou 9 (Phe177 e/ou His178), podendo supor que esses resíduos são comuns aos compostos canabinoides independentemente de sua atividade agonista ou antagonista.

Com relação aos compostos psicotropicamente ativos, Ac1 e Ac2, é notável que compartilham os mesmos resíduos de interação (Phe379, Ser383, Phe268, Phe170, Trp279, Phe189, Leu193 e His178), com exceção do resíduo Phe177, que só interage com o Ac1 na região do anel que contém a dupla ligação na posição 9, e Ala380, que só interage com o Ac2, interagindo com o metil na posição 11. Essas interações são predominantemente hidrofóbicas e ocorrem por meio de interações π -alquila e alquila, respectivamente.

Ao analisar mais detalhadamente as interações dos resíduos do receptor CB1 com os compostos Ac1 e Ac2, observa-se que os resíduos Phe268 e Phe170 interagem com ambos os compostos contribuindo na estabilização do anel aromático. No entanto, na interação entre o receptor CB1 e Ac2, tem-se também o resíduo Phe379 interagindo adicionalmente com o anel aromático. Nota-se também que ambos os compostos Ac1 e Ac2 tem o metil da posição 11 estabilizado por interações com o resíduo His178, e no composto Ac2 os resíduos Ala380 e Phe379 interagem também com o metil na posição 11 no Ac2. Assim, é notável que ambos os compostos Ac1 e Ac2 ocupam praticamente o mesmo local no sítio de interação com o receptor CB1, porém o composto Ac2 apresenta interações com resíduos adicionais, o que pode contribuir para a sua ligeira maior afinidade pelo receptor CB1, como evidenciado pelos valores de pK_i , tanto preditos quanto experimentais.

Ao analisar os compostos inativos, destaca-se o resíduo Phe108, que apresenta interação exclusivamente com os compostos considerados como psicotropicamente inativos em análise (Ic2, Ic6, Ic14, Ic18 e Ic19) por meio de interações π -alquila com o metil presente na posição 11. É importante notar que o metil na posição 11 está presente em todos os compostos analisados neste estudo e a observação de que essa interação é significativa nos compostos inativos psicotropicamente sugere que pode ter ocorrido uma leve reorganização da posição desses compostos dentro do sítio de ligação, afetando a interação com o resíduo Phe108. Portanto, a interação diferencial do resíduo Phe108 com os compostos inativos em comparação com os compostos ativos destaca a possível relevância desse resíduo na modulação das propriedades psicoativas dos compostos estudados e reforça a hipótese de sua contribuição para a atividade antagonista ou agonista inversa na interação com o receptor CB1.

Os únicos compostos que apresentaram ligação hidrogênio foram o Ic14 e Ic19. No composto Ic14, a ligação hidrogênio ocorre com o resíduo Ser173 e envolve a hidroxila na posição 7. Já no Ic19, as ligações hidrogênio envolvem os resíduos Thr197 e Leu193, ambos interagindo com a hidroxila na posição 4. Essas interações sugerem que as hidroxilas nas posições 4 e 7 podem desempenhar um papel relevante na psicoinatividade desses compostos na interação com o receptor CB1. Além disso, a semelhança nos valores de pK_i em torno de 7,80 para ambos Ic14 e Ic19 relaciona as ligações de hidrogênio com a atividade biológica predita. O composto Ic2 também apresenta uma ligação hidrogênio, no entanto esta não se dá entre os resíduos do receptor e o composto ligante, mas sim entre as hidroxilas da posição 1 e o ácido carboxílico da posição 2, sendo de caráter intramolecular.

Os compostos que apresentaram radical na posição 4 (Ic6, Ic18 e Ic19) interagiram com os resíduos Leu193 e/ou Thr197. O resíduo Leu193 aparece também nos compostos ativos estabilizando os radicais metil da posição 6, mas o resíduo Thr197 aparece na interação somente com os compostos inativos Ic18 e Ic19, provavelmente devido a presença de átomos de nitrogênio envolvendo ligações dupla e tripla com átomos de carbono na posição 4.

Os resíduos Met363 e Phe174 apareceram somente nos compostos Ic6 e Ic19, interagindo com a cadeia carbônica, e os resíduos Leu359, Val196 e Ser173 somente no composto Ic14 ao interagir com a cadeia carbônica, metil na posição 6 e hidroxila na posição 7, respectivamente. Os resíduos Val196 e Leu359 não podem aparecer na estrutura 6KPG com o AM841, um composto agonista na interação com CB1, portanto não poderíamos afirmar que são resíduos importantes no antagonismo de um composto (que causaria a psicoinatividade e sustentaria a hipótese ii). Os resíduos Cys386 e Phe200 aparecem na interação somente com o composto Ic2, através de interações hidrofóbicas com a cadeia carbônica da posição 3.

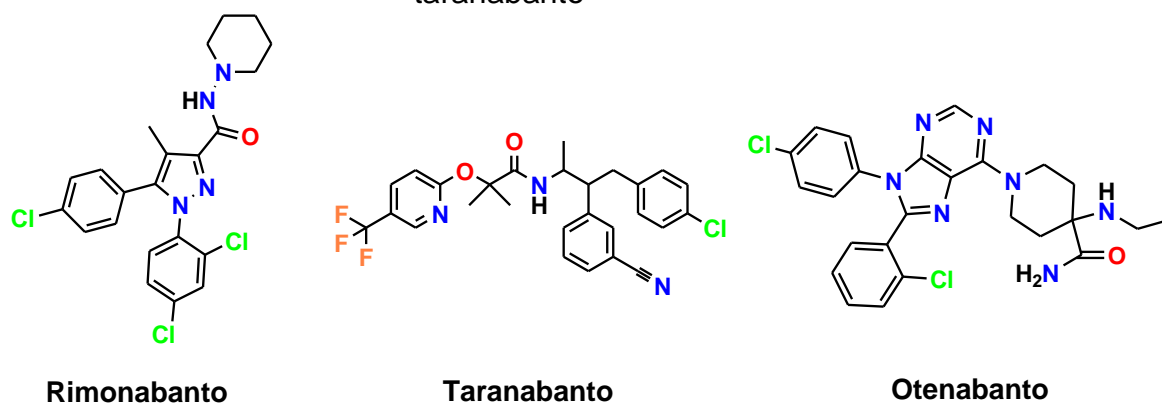
O composto Ic6, que teve o maior valor de atividade biológica predita pelo modelo CB1-PLS, é o único composto que não apresenta interação com o resíduo Ser383, que aparece comumente nos outros compostos, tanto psicotropicamente ativos como inativos, estabilizando o radical na na posição1 (hidroxila ou éster), e nesse caso a hidroxila da posição 1 interage somente com o resíduo Phe379.

Em síntese, a análise dos resíduos na interação entre compostos canabinoides e o receptor CB1 revelou a presença consistente de resíduos-chave, como Phe170, Phe268 e Leu193, independentemente da atividade agonista ou antagonista, sendo que para a estrutura 6KPG, cocrystalizada com o agonista AM841, o resíduo Phe268 se mostrou em destaque na estabilização dos anéis tricíclicos. Alguns resíduos se mostraram específicos dos compostos inativos, como Phe108, Cys386, Phe200, Met363, Phe174, Ser173 e Thr197. O resíduo Phe200, que é um importante resíduo no receptor CB1 por fazer parte do interruptor de alternância duplo, podendo verificar se ele seria um importante resíduo a contribuir para o antagonismo desses compostos.

Além disso, foram identificadas ligações de hidrogênio nos compostos Ic14 e Ic19 com os resíduos Ser173, Thr197 e Leu193, evidenciando a relevância das hidroxilas presentes nas posições 4 e 7. Notavelmente, o composto Ic19 se destaca como um potencial candidato a antagonista do receptor CB1. Isso se baseia em estudos de *docking* realizados com a estrutura cristalográfica 5TGZ e os antagonistas rimonabanto, otenabanto e taranabanto (Figura 38), que revelaram a

importância do grupo nitrato na interação com o resíduo Thr197, estabelecendo uma ligação de hidrogênio significativa.⁶⁸ Embora esses compostos antagonistas não possuam uma estrutura semelhante ao Ic19, este foi o único composto a demonstrar uma ligação de hidrogênio na posição 4, onde um átomo de nitrogênio está ligado a uma hidroxila nessa posição específica. Adicionalmente, a análise de docking da estrutura 5TGZ com os antagonistas acima citados sugere que grupos volumosos podem ser uma característica essencial dos compostos antagonistas do receptor CB1. Ao comparar os compostos Ic18 e Ic19, sendo os únicos a interagir com o resíduo Thr197, observa-se que o Ic18 é consideravelmente menos volumoso do que o Ic19, tanto na posição 3 quanto na posição 4.

Figura 38 Estruturas moleculares dos compostos rimonabanto, otenabanto e taranabanto



Fonte: Autoria própria

A Tabela 28 mostra os resíduos que se mostraram exclusivos de compostos psicotropicamente inativos conforme os estudos de *docking* realizados para esses compostos.

Tabela 28 Resíduos do receptor CB1 que interagiram exclusivamente com os compostos psicoativos

Resíduo de CB1	Composto
Phe108	lc2, lc6, lc14, lc18, lc19
Cys386	lc2
Phe200	lc2
Met363	lc6, lc19
Phe174	lc6, lc19
Ser173	lc14
Thr197	lc18, lc19

Fonte: Autoria própria

Assim, esses resíduos e interações devem ser mais investigados em outras análises, como análises de dinâmica molecular, por exemplo. Ainda, é necessário uma futura realização de *docking* com os outros compostos ativos e inativos psicotropicamente dessa série de 50 compostos para que sejam feitas comparações adicionais e verificação dos dados até agora analisados. Essas análises mais abrangentes possibilitarão comparações detalhadas e a validação dos dados já examinados, permitindo explorar a hipótese II, de que dentre esses compostos possa haver alguns que interajam de forma antagonista com o receptor CB1.

4.6.2 Análises de *docking* molecular com o receptor CB2

Para a realização do *docking* com o receptor CB2, foram também selecionados os compostos Ac1 e Ac2 (principais compostos canabinoides responsáveis pelos efeitos psicotrópicos) e os compostos considerados como inativos que apresentaram maiores valores de pK_i predito pelo modelo PLS-CB2. No entanto, para análise dos compostos canabinoides interagindo com o receptor CB2, visa-se a investigação proposta na hipótese III, de que esses compostos poderiam interagir somente com o receptor CB2 e não causarem efeitos psicotrópicos, visto que esse receptor não é o responsável por tais efeitos.

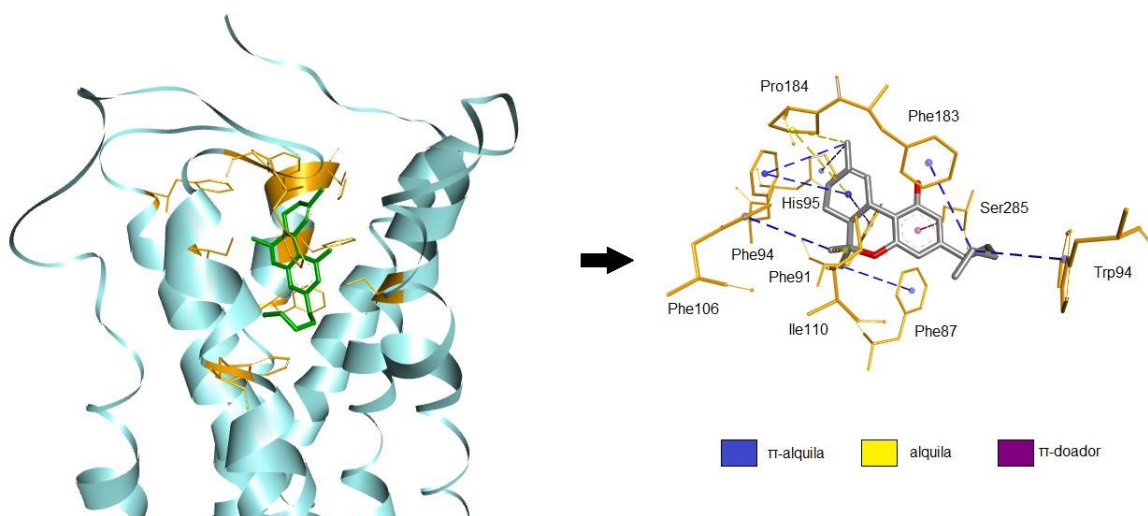
A Tabela 29 mostra os compostos selecionados para realização de estudos de *docking* com o receptor CB2, bem como os valores de pK_i pelo modelo PLS-CB2 para os mesmos e os valores de pontuação de energia de acordo com a análise de *docking* realizada utilizando o MOE.

Tabela 29 Compostos selecionados para a realização do *docking* com o receptor CB2

Composto	pK_i predito CB2	Pontuação de energia (kcal/mol)
Ac1	7,20	-7,61
Ac2	7,48	-7,27
Ic9	8,23	-7,08
Ic10	7,91	-7,62
Ic11	8,21	-7,98
Ic14	8,48	-7,50
Ic16	8,32	-7,75
Ic18	7,69	-6,91
Ic19	8,36	-7,67
Ic20	7,78	-8,43
Ic21	10,36	-7,78

Fonte: Autoria própria

As Figuras 39 a 49 a mostram os principais resíduos do receptor CB2 que interagem com os compostos Ac1, Ac2, Ic9, Ic10, Ic11, Ic14, Ic16, Ic18, Ic19, Ic20 e Ic21, respectivamente. As Tabelas 30 a 40 mostram os resíduos, juntamente com os dados de interações com o receptor CB2 e as regiões do composto canabinoide que ocorrem, além da distancia dessas interações.

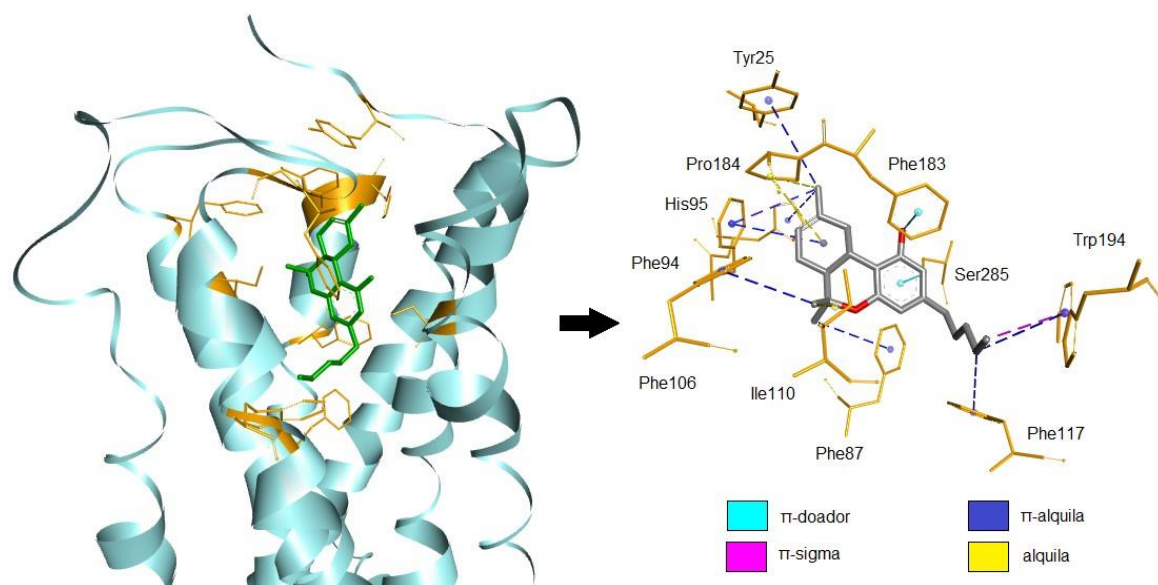
Figura 39 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ac1

Fonte: Autoria própria

Tabela 30 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ac1

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ac1
Ser285	3,56	π -doador	Anel aromático
Trp194	4,87	π -alquila	Cadeia carbônica – posição 3
Phe183	4,82	π -alquila	Cadeia carbônica – posição 3
Ile110	4,29	Alquila	Metil – posição 6
Phe106	4,91	π -alquila	Metil – posição 6
Phe87	5,02	π -alquila	Metil – posição 6
Pro184	4,64	Alquila	Metil – posição 11
	5,16	Alquila	Anel – região da dupla na posição 9
Phe94	4,95	π -alquila	Anel – região da dupla na posição 9
	4,94	π -alquila	Metil – posição 11
His95	5,09	π -alquila	Metil – posição 11
Phe91	5,48	π -alquila	Anel – região da dupla na posição 9

Fonte: Autoria própria

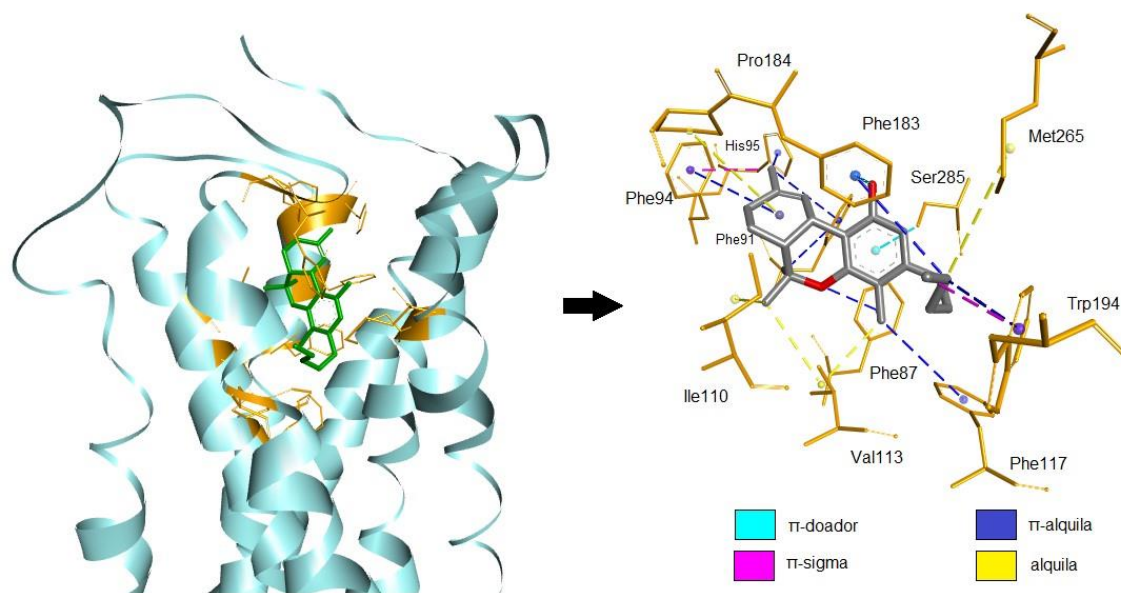
Figura 40 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ac2

Fonte: Autoria própria

Tabela 31 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ac2

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ac2
Phe183	4,12	π-doador	Hidroxila – posição 1
Ser285	3,44	π-doador	Anel aromático
Trp194	5,02	π-alquila	Cadeia carbônica – posição 3
	3,83	π-sigma	Cadeia carbônica – posição 3
Phe177	5,35	π-alquila	Cadeia carbônica – posição 3
Ile110	4,13	Alquila	Metil – posição 6
Phe106	4,95	π-alquila	Metil – posição 6
Phe87	5,25	π-alquila	Metil – posição 6
Pro184	4,59	π-alquila	Metil – posição 11
	5,01	π-alquila	Anel, região da dupla na posição 8
Phe94	4,84	π-alquila	Anel, região da dupla na posição 8
	4,76	π-alquila	Metil – posição 11
His95	4,97	π-alquila	Metil – posição 11
Tyr25	5,32	π-alquila	Metil – posição 11

Fonte: Autoria própria

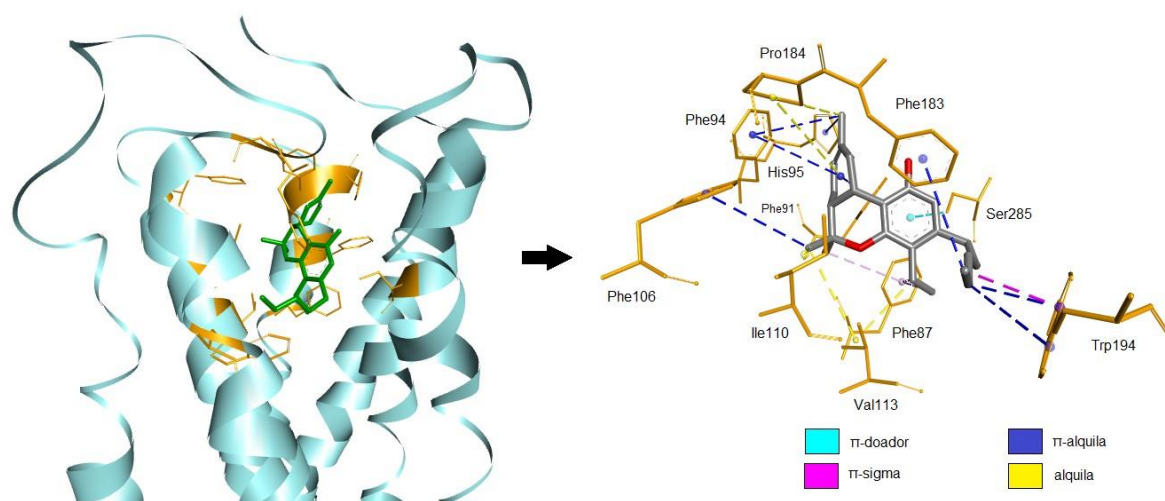
Figura 41 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic9

Fonte: Autoria própria

Tabela 32 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic9

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic9
Ser285	3,39	π -doador	Anel aromático
Phe183	4,11	π -doador	Hidroxila – posição 1
	4,99	π -alquila	Cadeia carbônica – posição 3
Met265	5,20	Alquila	Cadeia carbônica – posição 3
Trp194	4,19	π -alquila	Cadeia carbônica – posição 3
	3,80	π -sigma	Cadeia carbônica – posição 3
Phe177	5,27	π -alquila	Metil – posição 4
Val113	3,64	Alquila	Metil – posição 4
	4,10	Alquila	Metil – posição 6
Ile110	4,59	Alquila	Metil – posição 6
Phe87	3,74	π -sigma	Metil – posição 4
	5,03	π -alquila	Metil – posição 6
Phe91	5,09	π -alquila	Metil – posição 6
	5,05	π -alquila	Metil – posição 11
Phe94	3,76	π -sigma	Metil – posição 11
	5,31	π -alquila	Anel, região da dupla da posição 9
His95	3,90	π -alquila	Metil – posição 11
Pro184	5,18	Alquila	Anel, região da dupla da posição 9

Fonte: Autoria própria

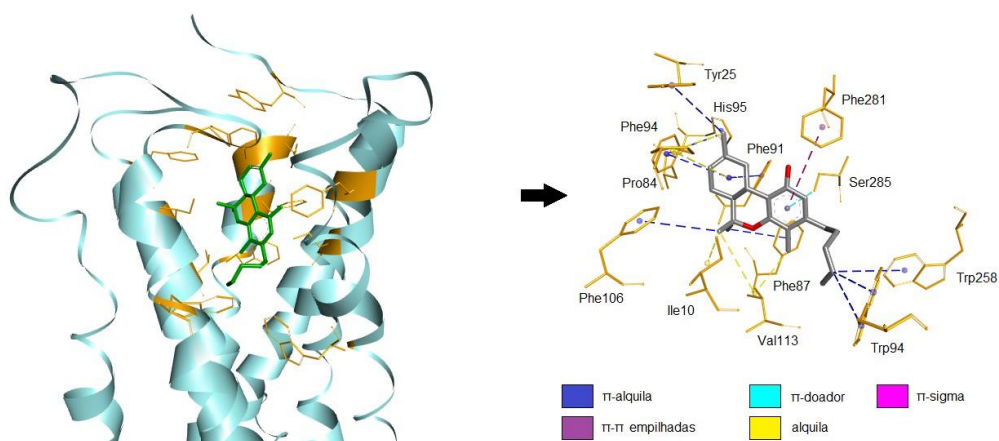
Figura 42 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic10

Fonte: Autoria própria

Tabela 33 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic10

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic10
Ser285	3,56	π -doador	Anel aromático
Trp194	3,73	π -sigma	Cadeia carbônica da posição 3
	5,03	π -alquila	Cadeia carbônica da posição 3
	3,95	π -alquila	Cadeia carbônica da posição 3
Phe183	5,41	π -alquila	Cadeia carbônica da posição 3
Phe87	4,84	π -alquila	Metil – posição 6
	4,02	π -alquila	Etil – posição 4
	3,31	π -sigma	Etil – posição 4
Val113	3,86	Alquila	Etil – posição 4
	4,79	Alquila	Metil – posição 6
Ile110	4,21	Alquila	Metil – posição 6
Phe106	5,20	π -alquila	Metil – posição 6
Phe91	5,41	π -alquila	Anel, região da dupla na posição 8
Phe94	5,11	π -alquila	Anel, região da dupla na posição 8
	4,70	π -alquila	Metil – posição 11
His95	5,03	π -alquila	Metil – posição 11
Pro184	5,30	Alquila	Anel, região da dupla na posição 8
	4,51	Alquila	Metil – posição 11

Fonte: Autoria própria

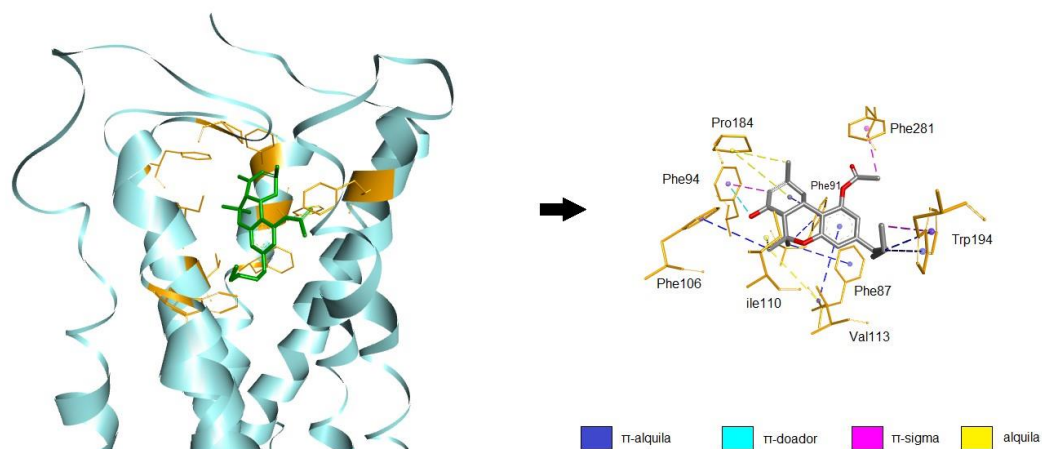
Figura 43 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic11

Fonte: Autoria própria

Tabela 34 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic11

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic11
Phe281	5,95	π - π empilhadas	Anel aromático
Ser285	3,29	π -doador	Anel aromático
Trp258	5,44	π -alquila	Cadeia carbônica da posição 3
Trp194	4,09	π -alquila	Cadeia carbônica da posição 3
	5,43	π -alquila	Cadeia carbônica da posição 3
Val113	3,84	Alquila	Metil – posição 4
	5,13	Alquila	Metil – posição 6
Phe87	3,97	π -sigma	Metil – posição 4
	5,02	π -alquila	Metil – posição 6
Ile110	4,13	Alquila	Metil – posição 6
Phe106	5,27	π -alquila	Metil – posição 6
Pro184	4,52	Alquila	Metil – posição 11
	5,10	Alquila	Anel, região da dupla na posição 8
Tyr25	5,26	π -alquila	Metil – posição 11
Phe94	4,85	π -alquila	Anel, região da dupla na posição 8
	4,56	π -alquila	Metil – posição 11
Phe91	5,47	π -alquila	Anel, região da dupla na posição 8
His95	4,87	π -alquila	Metil – posição 11

Fonte: Autoria própria

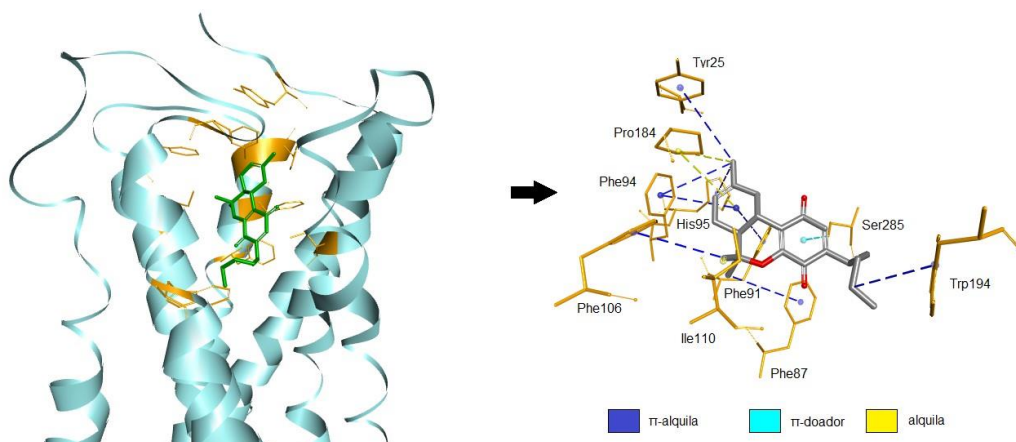
Figura 44 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic14

Fonte: Autoria própria

Tabela 35 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic14

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic14
Phe281	3,54	π -sigma	Metil do éster - posição 1
Trp194	3,84	π -sigma	Cadeia carbônica - posição 3
	5,15	π -alquila	Cadeia carbônica - posição 3
	4,08	π -alquila	Cadeia carbônica - posição 3
Val113	5,27	π -alquila	Anel aromático
	4,82	Alquila	Metil - posição 6
Ile110	4,35	Alquila	Metil - posição 6
Phe106	5,01	π -alquila	Metil - posição 6
Pro184	5,38	Alquila	Anel, região da dupla na posição 8
	4,41	Alquila	Metil - posição 11
Phe94	3,61	π -sigma	Dupla ligação - posição 8
	3,89	π -doador	Hidroxila - posição 7
Phe91	5,43	π -alquila	Anel, região da dupla na posição 8
	5,40	π -alquila	Metil - posição 6
Phe87	5,05	π -alquila	Metil - posição 6

Fonte: Autoria própria

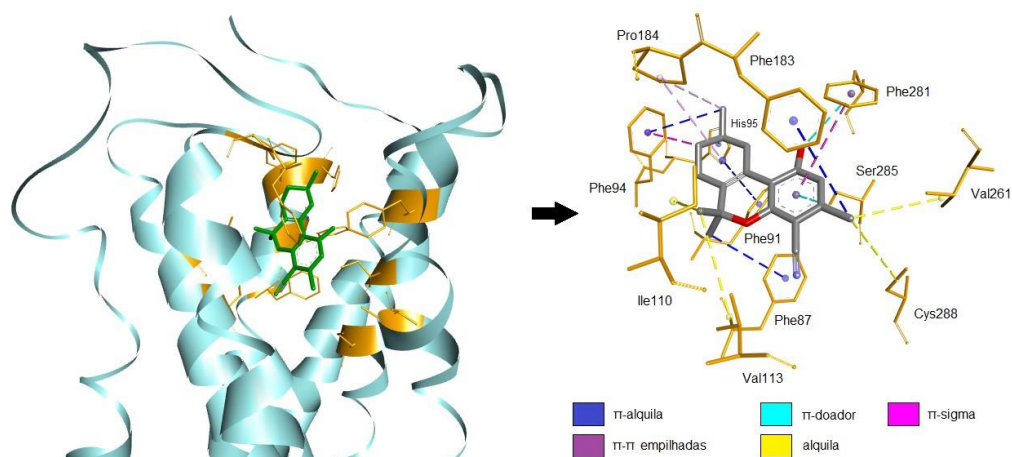
Figura 45 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic16

Fonte: Autoria própria

Tabela 36 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic16

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic16
Ser285	3,41	π-doador	Anel aromático
Trp194	4,88	π-alquila	Cadeia carbônica da posição 3
Phe87	5,26	π-doador	Metil – posição 6
Phe106	5,08	π-alquila	Metil – posição 6
Ile110	4,12	Alquila	Metil – posição 6
Phe91	5,48	π-alquila	Anel, região da dupla na posição 8
Pro184	4,77	Alquila	Metil – posição 11
	5,08	Alquila	Anel, região da dupla na posição 8
Tyr25	5,39	π-alquila	Metil – posição 11
His95	4,88	π-alquila	Metil – posição 11
Phe94	4,88	π-alquila	Anel, região da dupla na posição 8
	4,86	π-alquila	Metil – posição 11

Fonte: Autoria própria

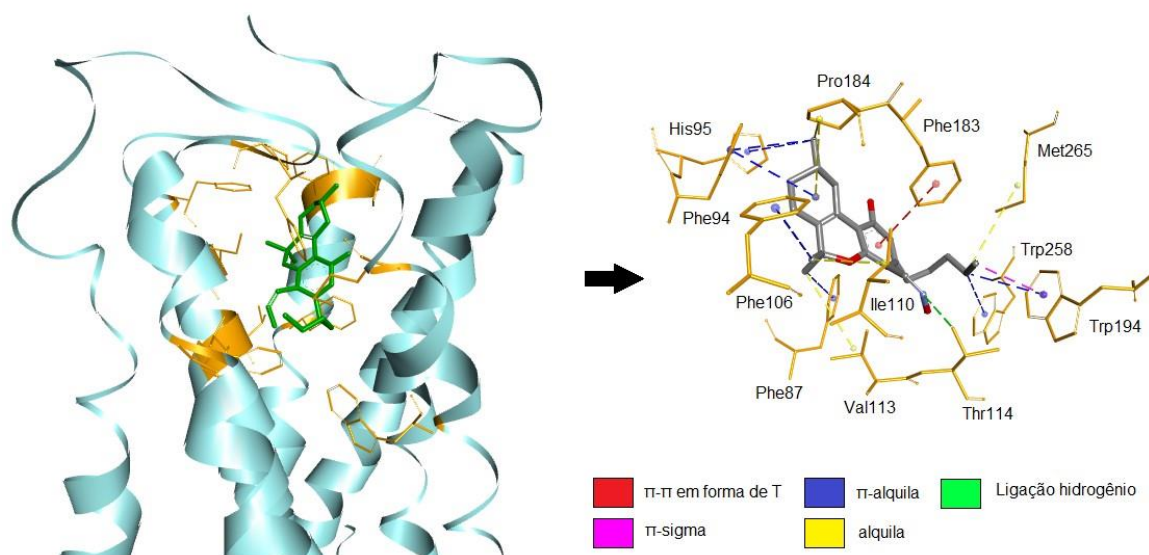
Figura 46 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic18

Fonte: Autoria própria

Tabela 37 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic18

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic18
Phe281	3,71	π-doador	Hidroxila – posição 1
	5,74	π-π empilhadas	Anel aromático
Ser285	3,21	π-doador	Anel aromático
Val261	4,94	Alquila	Metil – posição 3
Cys288	4,73	Alquila	Metil – posição 3
Phe183	5,42	π-alquila	Metil – posição 3
Val113	5,02	Alquila	Metil – posição 6
Ile110	4,13	Alquila	Metil – posição 6
Phe87	4,85	π-alquila	Metil – posição 6
Phe91	5,23	π-alquila	Anel
Phe94	3,58	π-sigma	Carbono - posição 8
	4,40	π-alquila	Metil – posição 11
His95	4,68	π-alquila	Metil – posição 11
Pro184	4,60	Alquila	Metil – posição 6
	5,35	Alquila	Anel

Fonte: Autoria própria

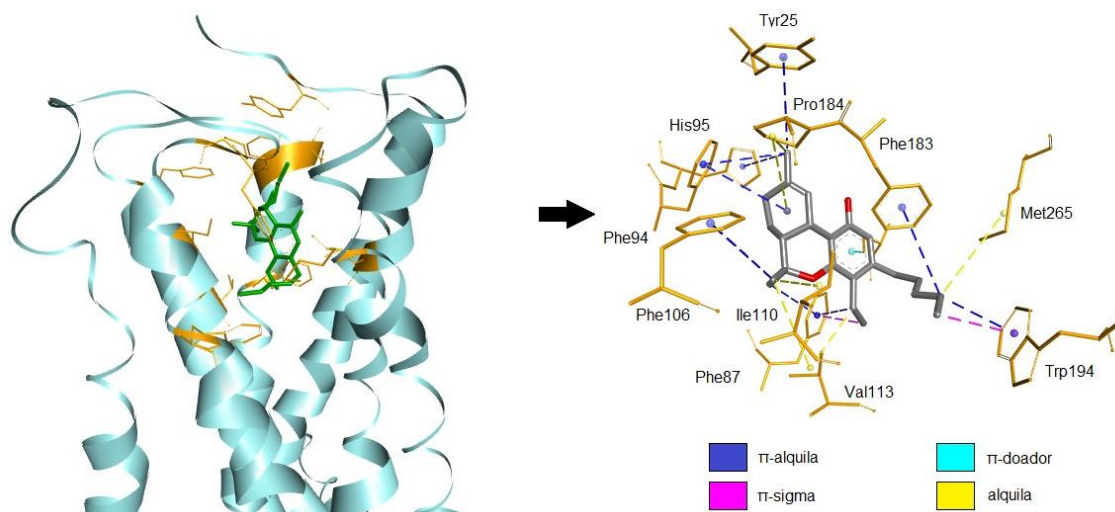
Figura 47 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic19

Fonte: Autoria própria

Tabela 38 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic19

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic19
Phe183	4,76	π - π em forma de T	Anel aromático
Met265	5,45	Alquila	Cadeia carbônica da posição 3
Trp258	5,30	π -alquila	Cadeia carbônica da posição 3
Trp194	3,77	π -sigma	Cadeia carbônica da posição 3
	4,20	π -alquila	Cadeia carbônica da posição 3
Thr114	2,98	Ligação hidrogênio	Nitrogênio da posição 4
Val113	4,57	Alquila	Metil – posição 6
Phe87	4,90	π -alquila	Metil – posição 6
Phe106	4,70	π -alquila	Metil – posição 6
Ile110	4,19	Alquila	Metil – posição 6
	4,19	Alquila	Metil – posição 6
Phe94	4,40	π -alquila	Metil – posição 11
	4,78	π -alquila	Anel
His95	4,95	π -alquila	Metil – posição 11
Pro184	5,12	Alquila	Metil – posição 11
	4,36	Alquila	Anel

Fonte: Autoria própria

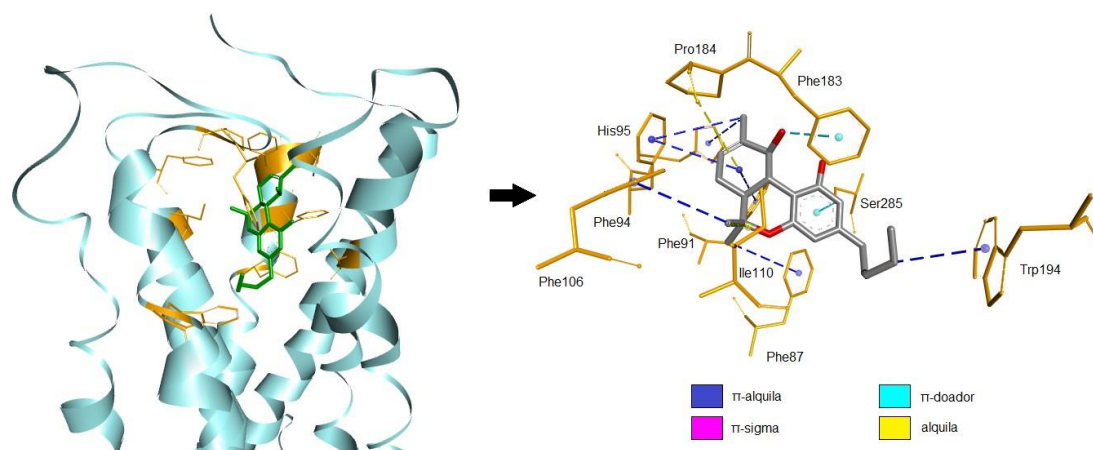
Figura 48 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic20

Fonte: Autoria própria

Tabela 39 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic20

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic20
Ser285	3,58	π -doador	Anel aromático
Phe183	4,89	π -alquila	Cadeia carbônica posição 3
Met265	5,24	Alquila	Cadeia carbônica posição 3
Trp194	3,70	π -sigma	Cadeia carbônica posição 3
	3,93	π -alquila	Cadeia carbônica posição 3
Val113	3,92	Alquila	Etil - posição 4
	4,87	Alquila	Metil - posição 6
Phe87	4,86	π -alquila	Etil - posição 4
	3,52	π -sigma	Metil - posição 6
	4,06	π -alquila	Metil - posição 6
Ile110	4,22	Alquila	Metil - posição 6
Phe106	5,09	π -alquila	Metil - posição 6
Phe94	4,74	π -alquila	Anel, região da dupla na posição 9
	4,25	π -alquila	Metil - posição 11
His95	5,01	π -alquila	Metil - posição 11
Tyr25	5,16	π -alquila	Metil - posição 11
Pro184	5,06	Alquila	Anel, região da dupla na posição 9
	4,16	Alquila	Metil - posição 11

Fonte: Autoria própria

Figura 49 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic21

Fonte: Autoria própria

Figura 50 Ligação de hidrogênio no composto Ic21

Fonte: Autoria própria

Tabela 40 Principais resíduos do receptor CB2 na interação com o composto Ic21

Resíduo	Distância (Å)	Interação	Região de Ic21
Ser285	3,53	π -doador	Anel aromático
Trp194	4,29	π -alquila	Cadeia carbônica
Ile110	4,18	Alquila	Metil – posição 6
Phe106	5,00	π -alquila	Metil – posição 6
Phe87	5,15	π -alquila	Metil – posição 6
Phe94	4,81	π -alquila	Anel, região da dupla posição 8
	4,92	π -alquila	Metil – posição 11
His95	4,52	π -alquila	Metil – posição 11
Phe91	5,37	π -alquila	Anel, região da dupla posição 8
Pro184	5,23	Alquila	Anel, região da dupla posição 8
Phe183	3,95	π -doador	Hidroxila – posição 10

Fonte: Autoria própria

Ao analisar as interações dos presentes compostos com o receptor CB2, tem-se destaque para o composto Ic21. Esse composto, que teve o maior valor de atividade biológica predita pelo modelo PLS-CB2 dentre todos os 50 compostos (pK_i predito=10,36), apresentou na análise de *docking* exatamente todos os resíduos do receptor CB2 interagindo com as mesmas regiões que interagem com o principal composto canabinoide, Δ^9 -THC, chamado de composto Ac1 no presente trabalho (com exceção do resíduo Phe183 que em Ac1 interage com a cadeia carbônica e no Ic21 interage a hidroxila na posição 10), indicando que o composto Ic21 ocupou exatamente o mesmo bolso de ligação de Ac1. Assim, como esse composto foi classificado como inativo e apresentou uma afinidade bem maior com o receptor CB2, esses resultados podem sustentar a hipótese III, de que ele interaja de forma agonista preferencialmente com o receptor CB2, agindo assim de forma seletiva. Portanto, isso o torna um importante alvo de estudo. Além disso, foi verificado que ele apresenta uma ligação hidrogênio entre a hidroxila da posição 10 e da posição 1, conforme mostrado na Figura 50, que pode também influenciar nessa maior afinidade com o receptor CB2.

Todos os compostos, ativos e inativos, apresentam os resíduos Ile110 e Phe87 (que estabilizam o metil na posição 6), Pro184 e Phe94 (que interagem com o anel na região da dupla ligação da posição 8 ou 9 e no composto Ic14, o Phe94 interage com a hidroxila na posição 7), Ser285 (interage com o anel aromático, com exceção do composto Ic14), His95 (este último não se mostra presente somente no composto Ic14), podendo ser considerados resíduos comuns importantes na estabilidade para todos os compostos canabinoides em estudo na interação com o receptor CB2.

Análises das interações dos compostos canabinoides com o receptor CB2 mostram que em sua maioria são interações hidrofóbicas, sendo que a ligação hidrogênio ocorre somente no composto Ic19 com o resíduo Thr114, que estabiliza o nitrogênio na posição 4.

Todos os resíduos que apresentam interações com Ac1 e Ac2 também se encontram nos compostos inativos, e os resíduos que aparecem somente nos compostos considerados inativos são Met 265 (Ic9, Ic19 e Ic20, na estabilização da

cadeia carbônica), Val113 (Ic9, Ic10, Ic11, Ic14, Ic18, Ic19 e Ic20, estabilizando interações no anel aromático, na posição 4 e na posição 6), Phe281 (Ic11, Ic14 e Ic18, estabilizando as interações no anel aromático ou na hidroxila na posição 1), Trp258 (Ic11 e Ic19, na cadeia carbônica), Thr114 (Ic19, a posição 4), Val261 e Cys288 (ambos em Ic18 interagindo com a cadeia carbônica). Também é interessante notar que em Ac1, Ic10, Ic11, Ic16, Ic19, Ic20 e Ic21 a hidroxila da posição 1 não apresentou interação com nenhum resíduo do receptor CB2.

Também foi realizada uma análise comparativa dos resíduos que interagem com os compostos Ic14, Ic18 e Ic19 em ambos os receptores CB1 e CB2. Essa análise de docking incluiu esses compostos visando identificar características que pudessem sustentar a hipótese iii, a qual sugere que esses compostos poderiam interagir seletivamente apenas com o receptor CB2, justificando assim sua classificação como inativos. Resíduos de aminoácidos Fenilalanina (Phe), Triptofano (Trp), Histidina (His) e Valina (Val) se mostraram comuns nas interações com compostos canabinoides nas suas diversas regiões em ambos os receptores CB1 e CB2. Portanto, a presença consistente desses resíduos em ambos os receptores sugere que eles desempenham um papel fundamental na interação entre os compostos canabinoides e os receptores CB1 e CB2, não podendo ser feita uma comparação entre a seletividade dos mesmos.

Tem-se que resíduos do aminoácido Leucina aparecem interagindo somente no receptor CB1, na região do composto canabinoide que se tem radicais metil na posição 6 (Leu193), enquanto que no receptor CB2 isso acontece com resíduos de Isoleucina (Ile110), que não aparece nas interações com nenhuma região dos compostos Ic14, Ic18 e Ic19 no receptor CB1. A Leucina e a Isoleucina são aminoácidos hidrofóbicos que compartilham características estruturais semelhantes, incluindo uma cadeia lateral alifática ramificada. No entanto, a principal diferença entre eles está na ramificação da cadeia lateral. A Isoleucina possui um grupo metil a mais em sua cadeia lateral em comparação com a Leucina, o que a torna ligeiramente maior e com uma conformação espacial diferente. Isso pode influenciar a capacidade do receptor CB2 de interagir seletivamente com compostos canabinoides.

Também tem-se destaque para resíduos de Prolina, que interagem significativamente somente no receptor CB2, nas regiões do anel em que contém a dupla ligação da posição 8 ou 9 e metil na posição 11 (Pro184). Essa observação pode ser relevante para entender a seletividade de um composto canabinoide em preferir interagir com o receptor CB2 em relação ao receptor CB1. A Prolina tem estrutura cíclica que forma um anel com a cadeia lateral, no qual a amida na cadeia lateral se dobra de tal forma que se fecha sobre o próprio grupo amino, criando uma rigidez na cadeia lateral e assim podendo afetar a conformação espacial do resíduo no sítio de ligação do receptor, sugerindo que o resíduo de Prolina pode ser importante para determinar a seletividade de um composto canabinoide em preferir interagir com o receptor CB2 em vez do receptor CB1 e o receptor CB2 pode ter uma conformação que permite uma interação mais favorável com a Prolina nas posições específicas mencionadas.

Ainda, ao comparar os resultados de *docking* com os das estruturas cristalográficas depositadas no banco de dados PDB 8GUT, 8GUQ e 8GUS, em complexo com agonistas seletivos LEI-102, APD371 e HU308, respectivamente, tem-se que somente os compostos Ic11 e Ic19 interagem com o resíduo Trp258, um dos que se mostrou exclusivo na interação com esses compostos agonistas seletivos. Tem-se também destaque para o resíduo Thr114, que também se mostrou exclusivo dos agonistas seletivos e que interage somente com composto Ic19 por uma ligação de hidrogênio com o átomo de nitrogênio na posição 4, assim como no LEI-102, agonista altamente seletivo para o receptor CB2, que também apresenta uma ligação hidrogênio com o resíduo Thr114. Ainda, o composto Ic18 foi o único que apresentou interações com os resíduos Val261 e Cys288, que se mostraram exclusivos na interação com os compostos agonistas seletivos, indicando o potencial desse composto na seletividade. Estudos de dinâmica molecular podem esclarecer a importância desse resíduo na interação com o receptor CB2, podendo ser um resíduo importante para a seletividade agonista com o mesmo.

4.7 Análises de dinâmica molecular

Os estudos de dinâmica molecular foram realizados com os mesmos compostos selecionados para a realização dos estudos de *docking* para os receptores CB1 e CB2, conforme constam nas Tabelas 20 e 29, respectivamente.

Para determinar a estabilidade entre os complexos proteína-ligante com os compostos selecionados para a dinâmica molecular, análises de RMSD, RMSF, raio de giro e análise de ligações de hidrogênio foram realizadas.

4.7.1 Análise de dinâmica molecular com o receptor CB1

4.7.1.1 Análises de RMSD

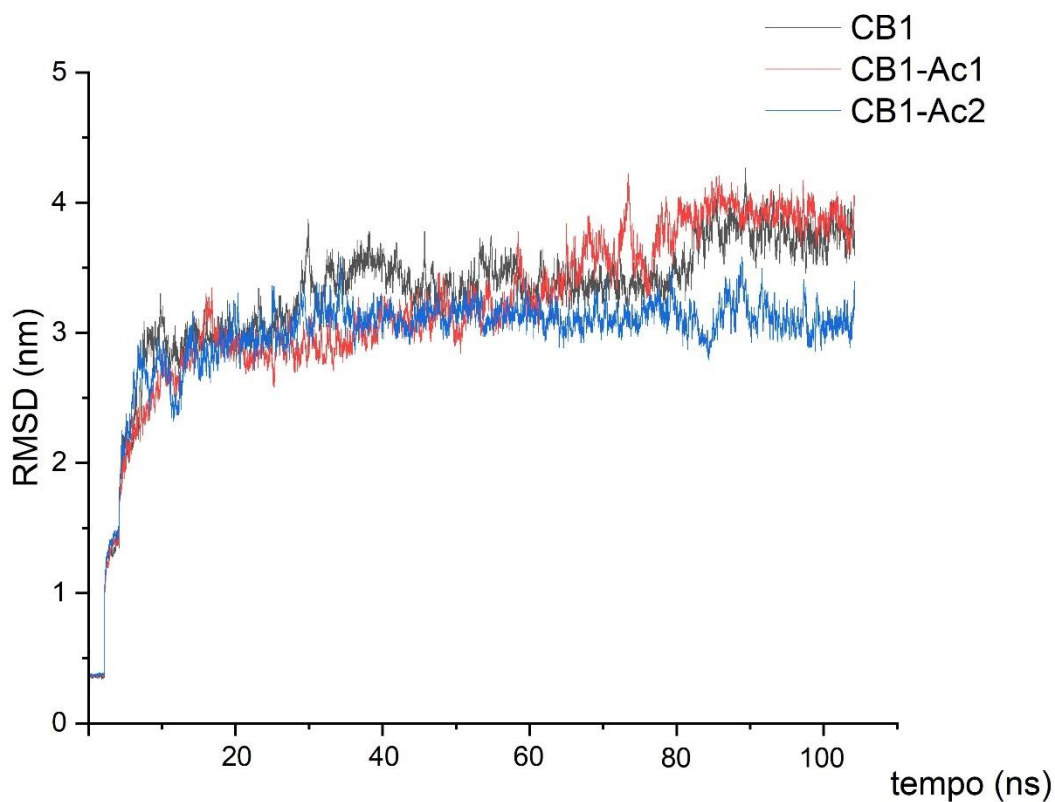
Os gráficos de RMSD representam a estabilidade da proteína ao longo da simulação. Ao se comparar dados de RMSD de uma mesma proteína em complexo com ligantes similares, é possível verificar quais sistemas apresentaram maior estabilidade e, portanto, tendem a ser mais promissoras em relação a outras, indicando uma maior consistência conformacional ou uma menor variação ao longo da simulação de dinâmica molecular.

A Figura 51 exibe os valores de RMSD da proteína durante simulações do receptor CB1 em três cenários: o receptor isolado (sem ligação a nenhum composto), o receptor em complexo com Ac1 e o receptor em complexo com Ac2, os principais compostos canabinoides da planta *Cannabis sativa* responsáveis pelos efeitos psicotrópicos, Δ^9 -THC e Δ^8 -THC, respectivamente. Ao analisar o gráfico, observa-se que quando o sistema envolve o complexo CB1-Ac1, a estabilidade é comparável à do receptor CB1 isolado, já que ambos apresentam valores de RMSD entre 3,5 e 4,5. Em contraste, a proteína em complexo com Ac2 revela maior estabilidade do que tanto o complexo CB1-Ac1 quanto o CB1 isolado, demonstrando valores de RMSD entre 3,0 e 3,5.

Esses resultados fortalecem os dados de atividade biológica, os quais sugerem uma afinidade ligeiramente superior do receptor CB1 por Ac2 em comparação com Ac1, confirmado pelos dados experimentais de pK_i , nos quais o

Ac2 demonstra uma afinidade um pouco maior pelo receptor CB1 em comparação com o Ac1 ($pK_i_{Ac1}=7,40$ e $pK_i_{Ac2}=7,54$).

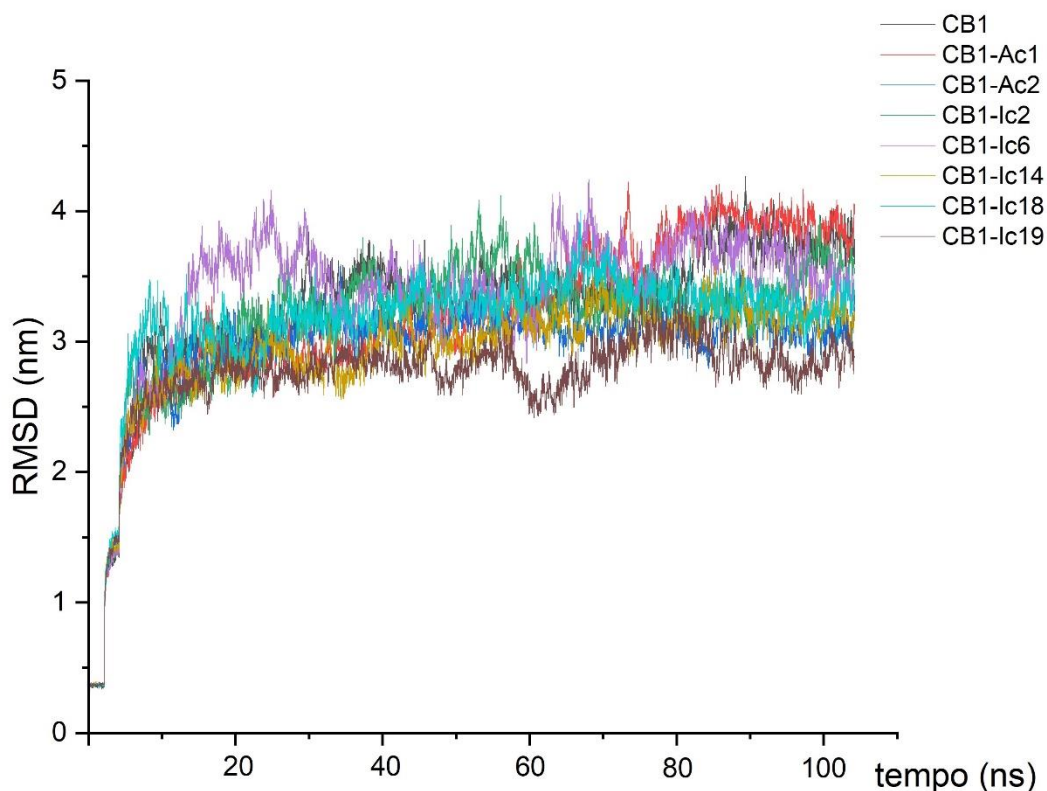
Figura 51 Comparação dos valores de RMSD da proteína para CB1 isolado e em complexo com Ac1 e Ac2



Fonte: Autoria própria

A Figura 52 exibe os resultados do RMSD obtidos a partir da simulação de dinâmica molecular do receptor CB1 em complexo com os compostos selecionados para este estudo, que são Ac1, Ac2, Ic2, Ic6, Ic14, Ic18 e Ic19.

Figura 52 Análise de RMSD da proteína para CB1 isolado e em complexo com compostos canabinoides selecionados para estudos de dinâmica molecular

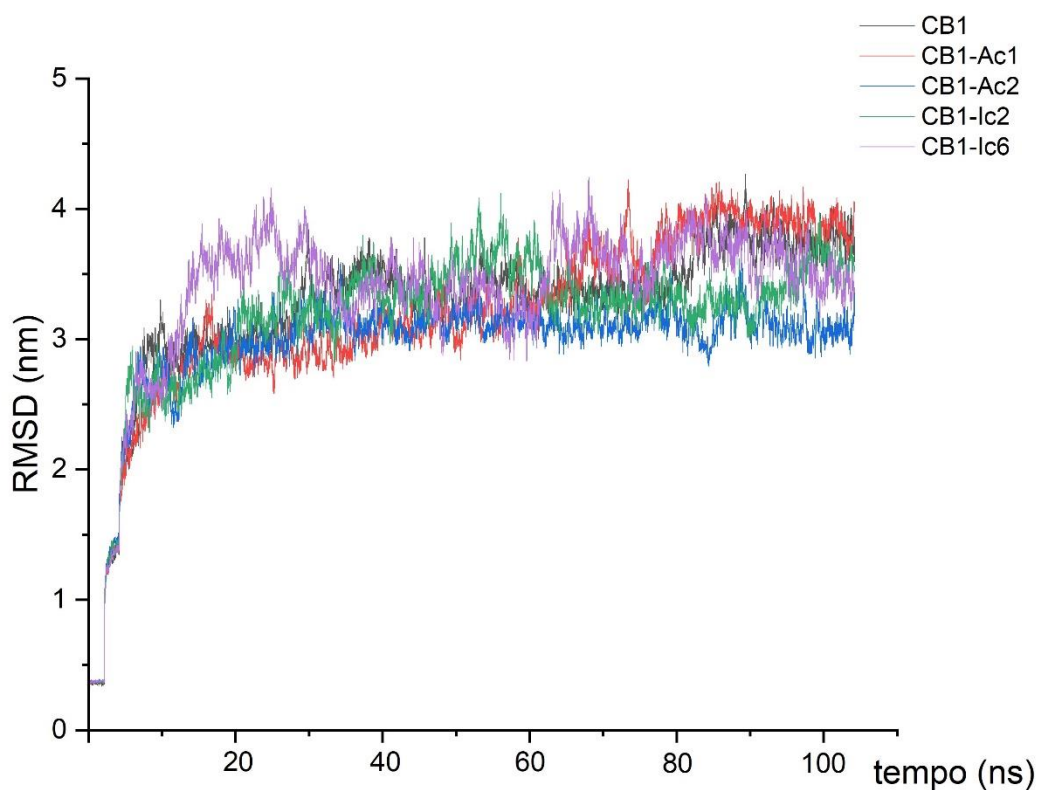


Fonte: Autoria própria

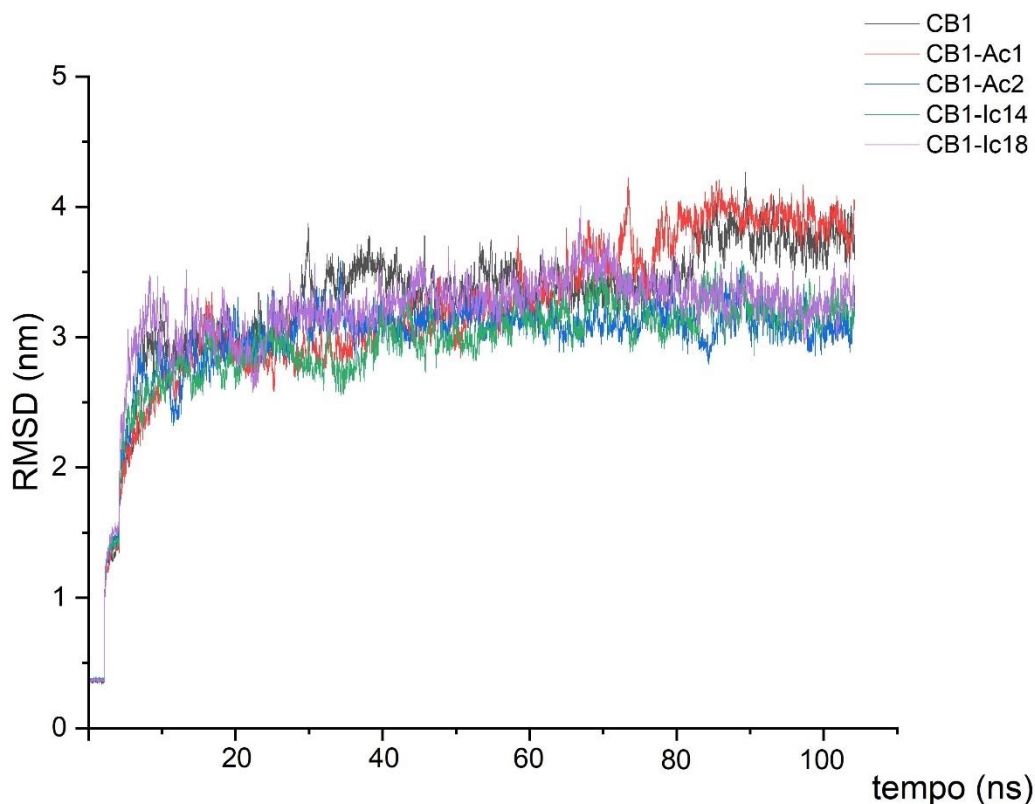
Ao analisar a Figura 52, destaca-se o composto Ic19 devido à sua notável estabilidade, exibindo os menores valores de RMSD entre todos os compostos investigados no estudo. Esse composto também se destacou nas análises de *docking* devido às ligações de hidrogênio estabelecidas com os resíduos Thr197 e Leu193, além da presença do átomo de nitrogênio na posição 4, que pode ser importante no antagonismo, visto que outros antagonistas conhecidos do receptor CB1 apresentam átomos de nitrogênio em sua estrutura molecular (Figura 38), sugerindo um potencial significativo do compostos Ic19 como antagonista do receptor CB1. Assim, o Ic19 se sobressai por sua estabilidade superior em relação aos compostos inativos e aos principais canabinoides Ac1 e Ac2.

Em relação aos demais compostos estudados, a Figura 52 revela que todos exibiram valores de RMSD próximos ou menores do que os valores do CB1 isolado, indicando interações favoráveis com o receptor CB1. Entretanto, os compostos Ic2 e Ic6 demonstraram valores de RMSD superiores aos do Ac2, sugerindo uma interação menos favorável com o receptor CB1 em comparação com o Ac2 (Figura 53). Por outro lado, os compostos Ic14 e Ic18 apresentaram valores de RMSD semelhantes aos do Ac2 (Figura 54), denotando estabilidade comparável a este composto, que exibe maior estabilidade do que o composto Ac1, tanto em dados experimentais quanto em análises computacionais.

Figura 53 Dados de RMSD de CB1 em complexo com Ac1, Ac2, Ic2 e Ic6



Fonte: Autoria própria

Figura 54 Dados de RMSD de CB1 em complexo com Ac1, Ac2, Ic14 e Ic18

Fonte: Autoria própria

Assim, os resultados de RMSD obtidos da simulação do receptor CB1 em complexo com diferentes compostos mostraram que Ic14 e Ic18 apresentaram valores de RMSD semelhantes aos do Ac2, indicando uma estabilidade comparável a este composto, que já mostrou ter maior estabilidade do que o composto Ac1, tanto em dados experimentais quanto em análises computacionais. A similaridade na estabilidade desses compostos psicoativos em relação ao Ac2 pode sugerir uma capacidade potencial de competir ou bloquear parcialmente os efeitos mediados pelos agonistas parciais, interferindo em sua atividade no receptor CB1. Além disso, o destaque do composto Ic19 devido à sua notável estabilidade, sugere um potencial significativo como antagonista do receptor CB1. Isso pode indicar que

o Ic19, pode inibir ou bloquear a atividade do receptor CB1, interferindo nos efeitos psicoativos mediados por agonistas como Ac1 e Ac2.

4.7.1.2 Análises de RMSF

As análises de gráficos de RMSF podem sugerir a flexibilidade ou rigidez de diferentes regiões de uma molécula ao longo do tempo da simulação. Valores elevados de RMSF indicam maior movimento ou flutuação em determinadas regiões da proteína sugerindo flexibilidade ou maior dinâmica conformacional. Por outro lado, valores baixos de RMSF indicam menor variação estrutural, sugerindo rigidez ou estabilidade nessas regiões. Quando se comparam os valores de RMSF de sistemas similares, é possível identificar diferenças nas flutuações de regiões específicas entre esses sistemas, identificando compostos ligantes que se mostrem mais estáveis no bolso ortostérico.

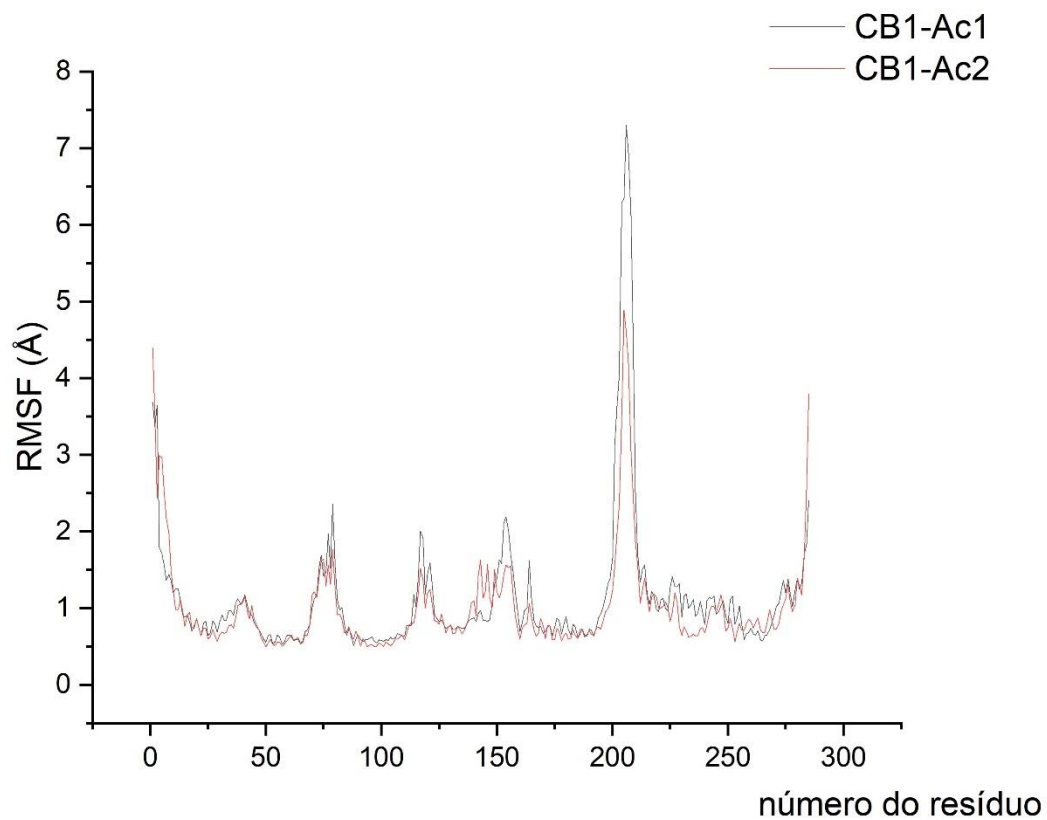
Nas Figuras 55 e 56, os picos representam as regiões dos *loops* extracelulares e intracelulares, conforme ilustrado na Figura 3, e portanto esses picos são esperados nas análises de RMSF. Assim, variações nos valores dessas regiões para diferentes compostos não devem revelar características relevantes para essa análise, uma vez que essas regiões não estão localizadas no sítio ortostérico.

Observa-se na Figura 55 que, quando em complexo com o composto Ac2, o receptor CB1 apresenta menores variações em sua estrutura em comparação ao complexo CB1-Ac1, sugerindo maior estabilidade com o Ac2. Já a Figura 56 evidencia que os valores de RMSF do CB1 em complexo com os compostos em estudo exibem um perfil semelhante, com os resíduos considerados como resíduos-chave na análise de *docking* (Phe170, Phe268, Leu193, Ser173, Thr197 e Fhe108) mantendo-se próximos em valores para todos os compostos.

Esses resultados indicam que, apesar das variações nas regiões dos *loops* extracelulares e intracelulares, não houve uma influência significativa nos resíduos-chave do sítio ortostérico do receptor CB1. Isso sugere que as mudanças estruturais observadas nas regiões dos *loops* não afetaram diretamente os principais resíduos

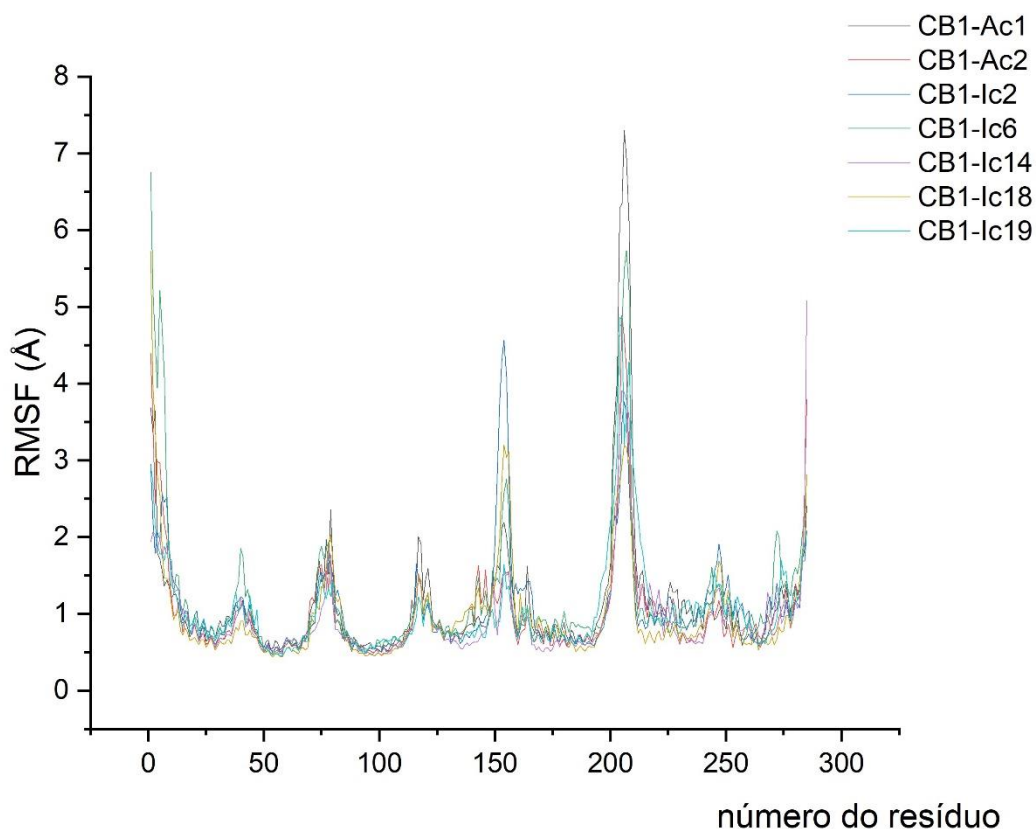
para a interação dos compostos estudados com o receptor CB1, corroborando a estabilidade global desses resíduos-chave independentemente do composto ligante.

Figura 55 RMSF para os sistemas CB1-Ac1 e CB1-Ac2



Fonte: Autoria própria

Figura 56 RMSF dos compostos canabinoides em estudo em complexo com o receptor CB1



Fonte: Autoria própria

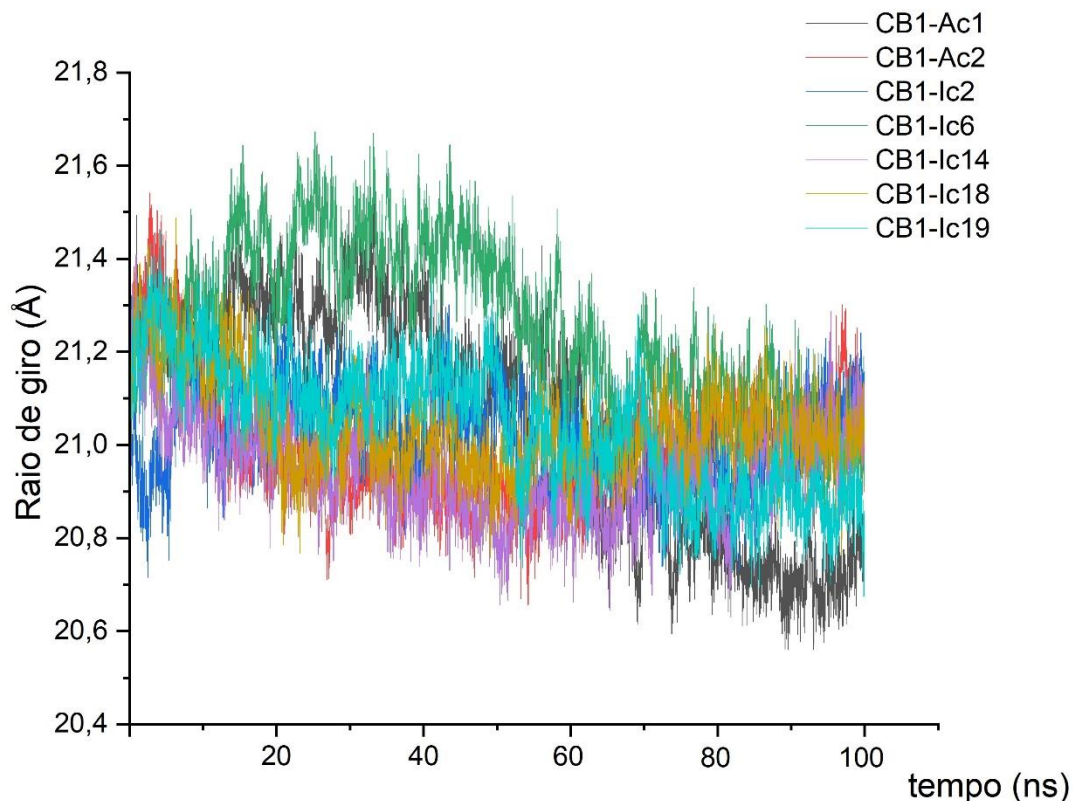
4.7.1.3 Análises de raio de giro

Os gráficos de raios de giro podem indicar mudanças na forma ou na estrutura da molécula durante a simulação, bem como identificar períodos de maior ou menor flexibilidade. Se o raio de giro diminuir ao longo do tempo em uma simulação de dinâmica molecular, geralmente isso sugere uma maior compactação ou menor extensão espacial da molécula. Isso pode indicar que a molécula está se tornando mais compacta, dobrando-se ou assumindo uma conformação mais restrita, ocupando um espaço menor em relação à sua estrutura inicial.

Ao comparar os raios de giro de sistemas similares, é possível observar diferenças ou semelhanças na conformação e na flexibilidade das moléculas. Se sistemas semelhantes apresentam raios de giro consistentemente próximos ao longo do tempo, isso pode sugerir que suas estruturas e flexibilidade são comparativamente estáveis e semelhantes entre si. Por outro lado, variações significativas nos raios de giro podem indicar diferentes graus de flexibilidade ou mudanças conformacionais entre os sistemas.

Pela análise da Figura 57, que representa os dados de raio de giro para todos os complexos, observa-se um padrão interessante ao longo do tempo. Verifica-se uma tendência de ajuste estrutural em direção a uma compactação entre os compostos Ac1 e Ac2, sugerindo que todas as estruturas buscaram uma conformação mais compacta entre os principais compostos canabinoides. Notavelmente, o complexo CB1-Ac1 se manteve como a estrutura mais estável ao longo do período avaliado.

Figura 57 Raio de giro para os compostos canabinoides em estudo em complexo com CB1

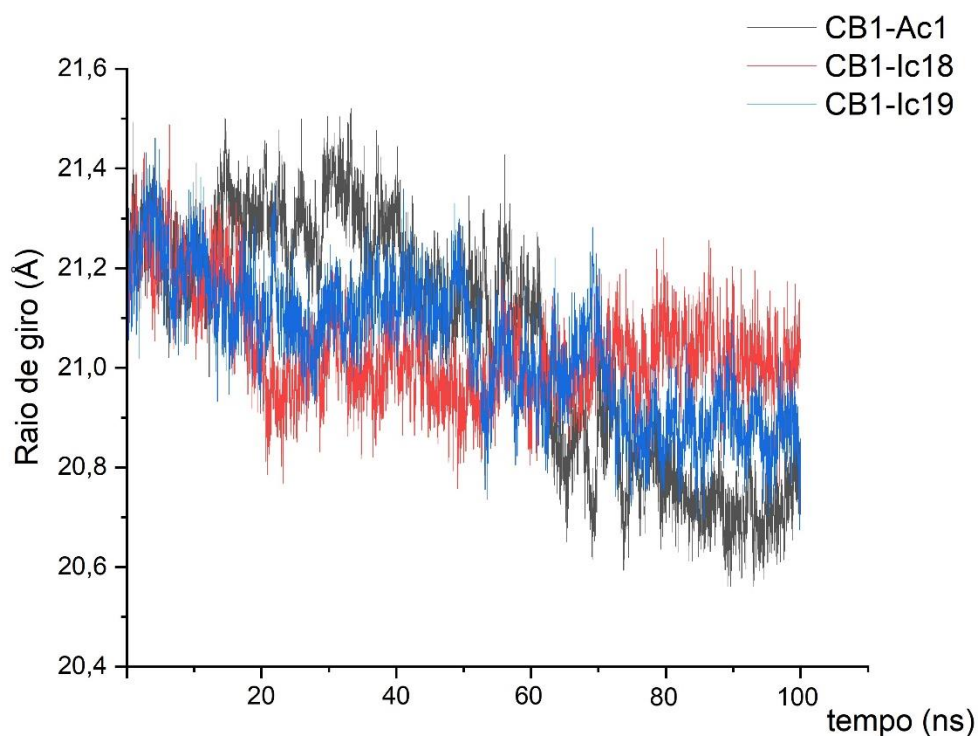


Fonte: Autoria própria

A análise mais detalhada na Figura 58 permite visualizar de maneira mais clara que os complexos CB1-lc18 e CB1-lc19 apresentaram uma maior proximidade estrutural com o complexo CB1-Ac1. Essa proximidade pode indicar uma tendência desses compostos em direção a uma conformação similar à do Ac1 ao longo do tempo da simulação. Esse comportamento sugere que, embora todos os complexos tenham demonstrado uma busca por uma conformação mais compacta entre os principais compostos canabinoides, o Ac1 manteve sua estabilidade estrutural. Além disso, os compostos lc18 e lc19 mostraram uma tendência a se aproximarem estruturalmente do Ac1, o que pode indicar uma potencial semelhança na estabilidade estrutural entre esses compostos. Em relação aos dados de raio de giro, é possível hipotetizar sobre o potencial antagonista de lc18 e lc19 observando suas propriedades estruturais e comparando-as com o perfil do agonista Ac1. Se

Ic18 e Ic19 demonstrarem uma maior proximidade estrutural com o agonista Ac1 em termos de raio de giro, isso pode sugerir que esses compostos possuem uma conformação semelhante ou se comportam estruturalmente de forma mais próxima do Ac1. No entanto, como são psicoativos e opostos ao efeito psicoativo do Ac1, essa semelhança estrutural pode indicar um potencial antagonista. Uma hipótese derivada dos dados de raio de giro seria que, embora Ic18 e Ic19 apresentem características estruturais similares ao Ac1, essa semelhança não resulta em ativação do receptor CB1 ou em resposta psicoativa. Isso sugere a possibilidade de que esses compostos, por compartilharem propriedades estruturais com o agonista Ac1, possam atuar como antagonistas, competindo pelo sítio de ligação do receptor CB1 e bloqueando a ação do Ac1 sem desencadear a resposta biológica associada à ativação do receptor.

Figura 58 Raio de giro para compostos Ac1, Ic18 e Ic19 em complexo com CB1



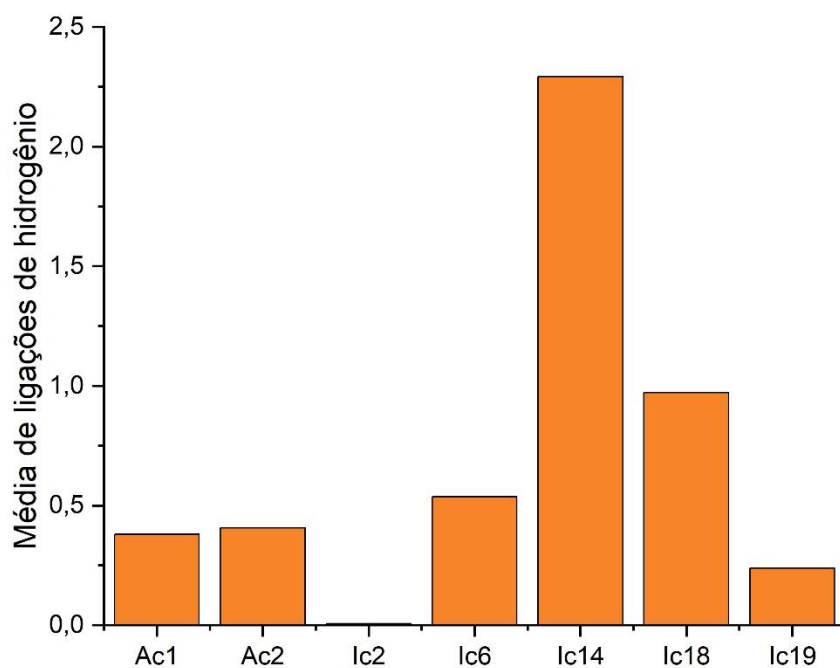
Fonte: Autoria própria

4.7.1.4 Análises de formação de ligações de hidrogênio

As análises das ligações de hidrogênio fornecem informações sobre a estabilidade dos ligantes na interação com o receptor ao longo do tempo. Ao comparar dados de ligações de hidrogênio de simulações de dinâmica molecular de sistemas similares, é possível identificar quais compostos se mostraram mais estáveis quando apresentam formação de um número maior de ligações hidrogênio com a proteína.

A Figura 59 mostra a média de ligações de hidrogênio formadas durante a simulação de dinâmica molecular.

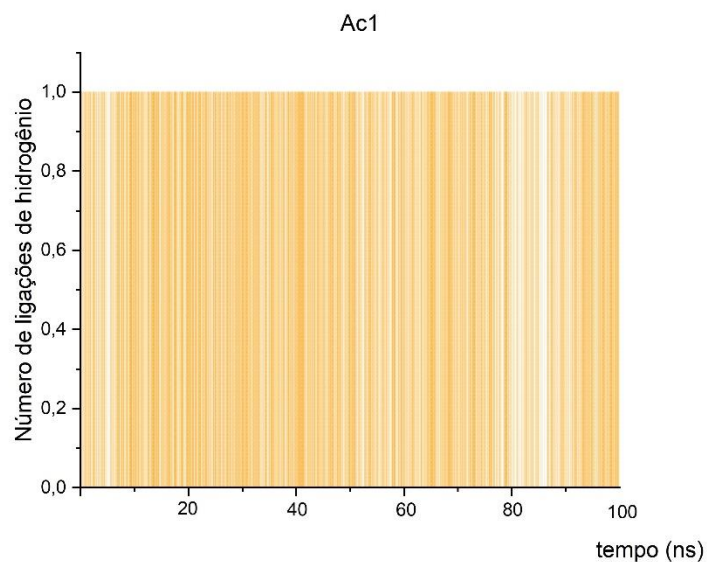
Figura 59 Média de formação de ligação de hidrogênio durante a simulação de dinâmica molecular para os compostos canabinoides em estudo com o receptor CB1



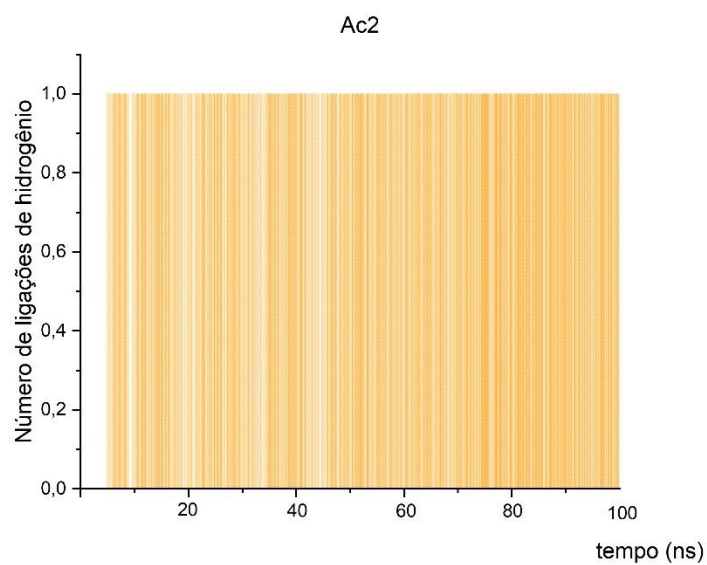
Fonte: Autoria própria

Observa-se claramente que os compostos Ic14, Ic18 e Ic6 formaram uma média superior de ligações de hidrogênio durante a simulação, sugerindo uma notável estabilidade desses compostos no sítio de ligação. Esses resultados estão em concordância com os valores de atividade biológica previstos pelo modelo PLS-CB1, onde os valores de pK_i preditos para Ic14, Ic18 e Ic6 foram de 7,80, 7,95 e 7,96, respectivamente, representando os maiores valores preditos para o receptor CB1. Além disso, observa-se que tanto Ac1 quanto Ac2 mantiveram uma média similar de ligações de hidrogênio, sugerindo estabilidade comparável entre ambos, o que é consistente com os valores de atividade biológica experimental. Por outro lado, notou-se um número reduzido de formações de ligação de hidrogênio para o composto Ic2, sugerindo que este composto pode não ter se posicionado favoravelmente no sítio ortostérico do receptor CB1.

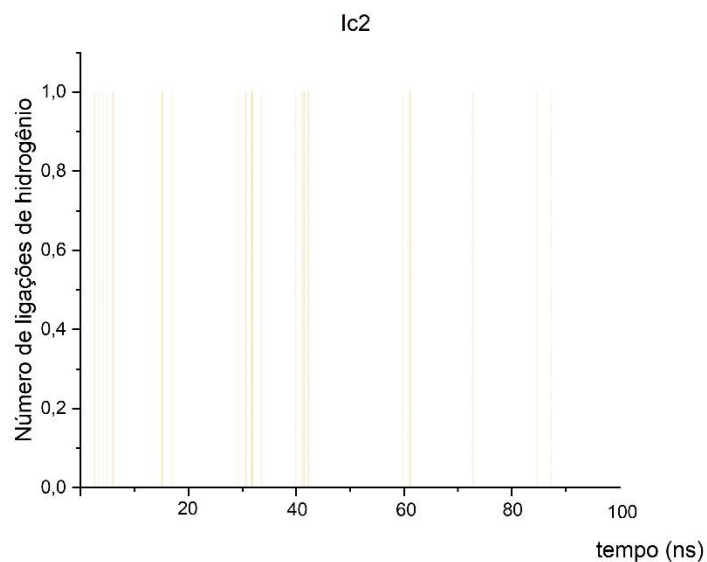
Ao analisar a formação de ligações de hidrogênio ao longo da simulação de dinâmica molecular para cada composto individualmente, conforme apresentado nas figuras 60 a 66, destaca-se o comportamento do composto Ic19. Apesar de ter uma média menor do que os compostos Ac1 e Ac2, observa-se nos últimos 20 ns de simulação um aumento na formação de ligações de hidrogênio para o Ic19 (Figura 66). Este aumento sugere que, durante esse período, o Ic19 interagiu no bolso ortostérico de maneira similar aos compostos Ac1 e Ac2, indicando seu posicionamento e possível ação como antagonista do receptor CB1. Essas observações sugerem uma possível relação entre a formação de ligações de hidrogênio, a estabilidade no sítio de ligação e a atividade biológica prevista para esses compostos.

Figura 60 Formação de ligação de hidrogênio para Ac1 em complexo com CB1

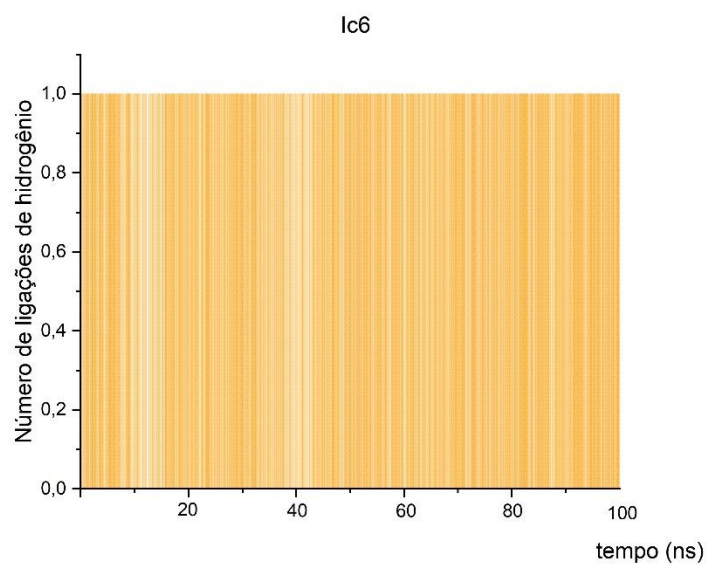
Fonte: Autoria própria

Figura 61 Formação de ligação de hidrogênio para Ac2 em complexo com CB1

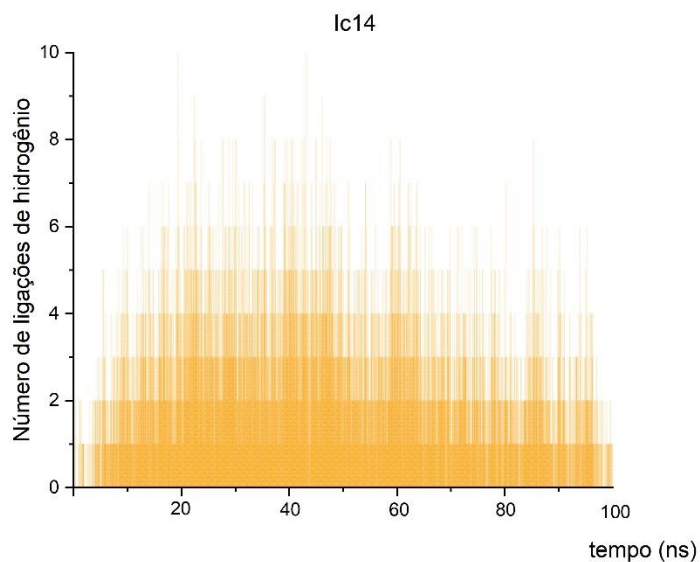
Fonte: Autoria própria

Figura 62 Formação de ligação de hidrogênio para Ic2 em complexo com CB1

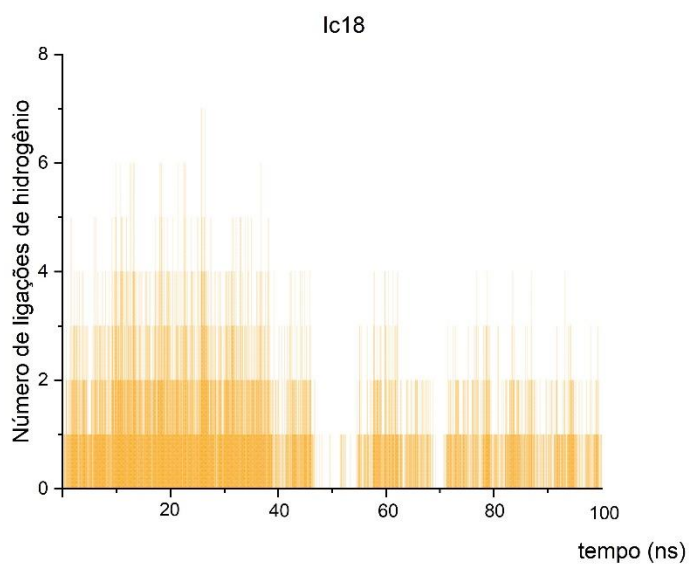
Fonte: Autoria própria

Figura 63 Formação de ligação de hidrogênio para Ic6 em complexo com CB1

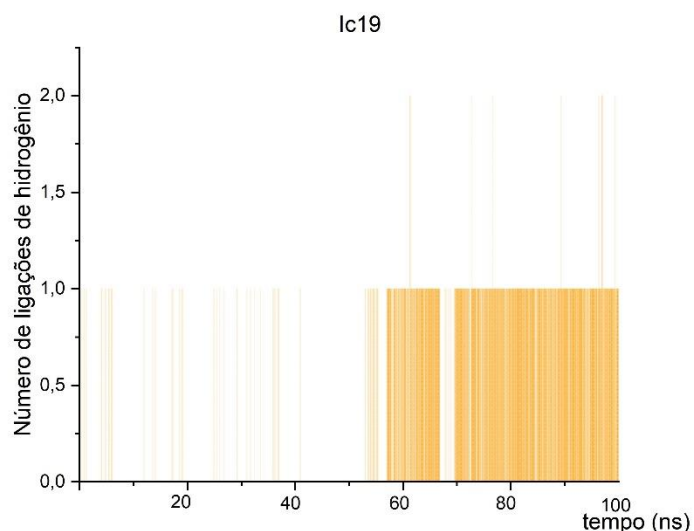
Fonte: Autoria própria

Figura 64 Formação de ligação de hidrogênio para Ic14 em complexo com CB1

Fonte: Autoria própria

Figura 65 Formação de ligação de hidrogênio para Ic18 em complexo com CB1

Fonte: Autoria própria

Figura 66 Formação de ligação de hidrogênio para Ic19 em complexo com CB1

Fonte: Autoria própria

Com base nos resultados de formação de ligação de hidrogênio e na característica psicoativa dos compostos Ic2, Ic6, Ic14, Ic18 e Ic19, em oposição aos compostos psicoativos e agonistas parciais Ac1 e Ac2, pode levar à hipótese de que os compostos psicoativos com destaque nessa análise, como Ic14, Ic18 e Ic19, atuam possivelmente como antagonistas do receptor CB1. Eles podem competir com os agonistas Ac1 e Ac2 (que são os principais compostos canabinoides Δ^9 -THC e Δ^8 -THC, respectivamente), pelo sítio de ligação do receptor CB1, porém, sem ativar completamente o receptor ou sem desencadear a resposta biológica associada à ativação do receptor, sustentando assim a hipótese II.

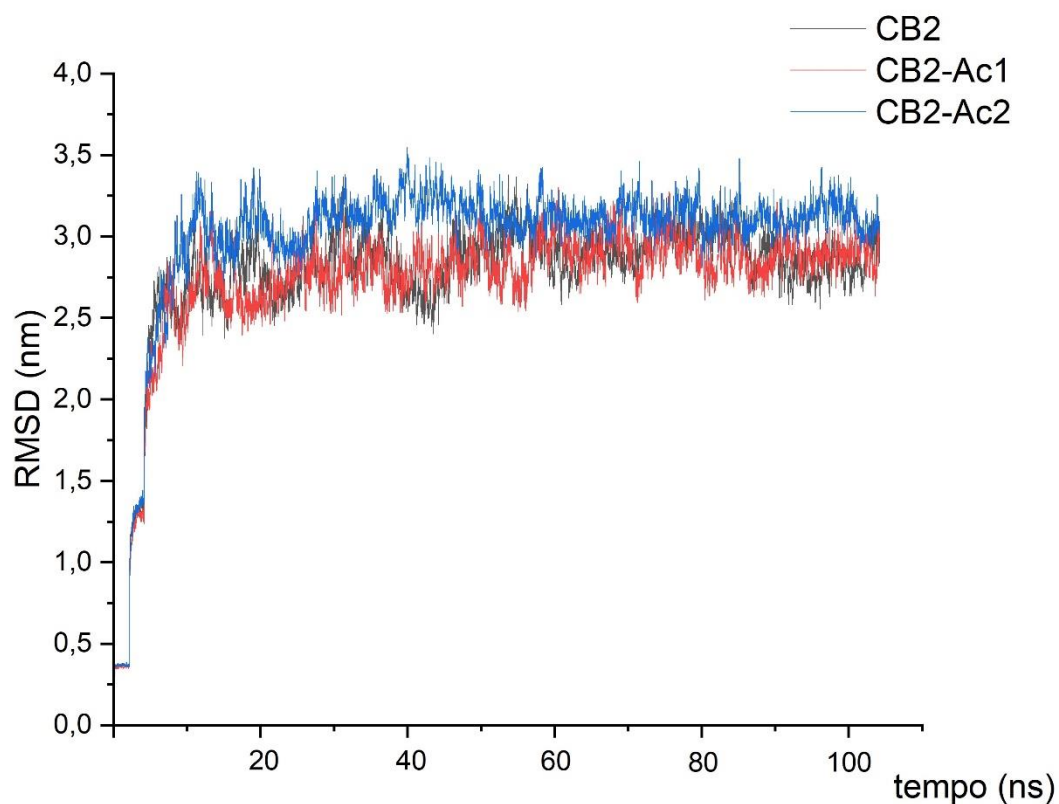
4.7.2 Análise de dinâmica molecular com o receptor CB2

4.7.2.1 Análises de RMSD

Os gráficos de RMSD fornecem uma visão detalhada da dinâmica molecular dos compostos estudados em interação com o receptor CB2. Na Figura 67, observa-se que a simulação do receptor CB2, tanto isolado quanto em complexo com Ac1,

demonstrou uma estabilidade comparável e mais consistente em comparação com o receptor CB2 em complexo com Ac2.

Figura 67 Comparação dos valores de RMSD da proteína para CB1 isolado e em complexo com Ac1 e Ac2

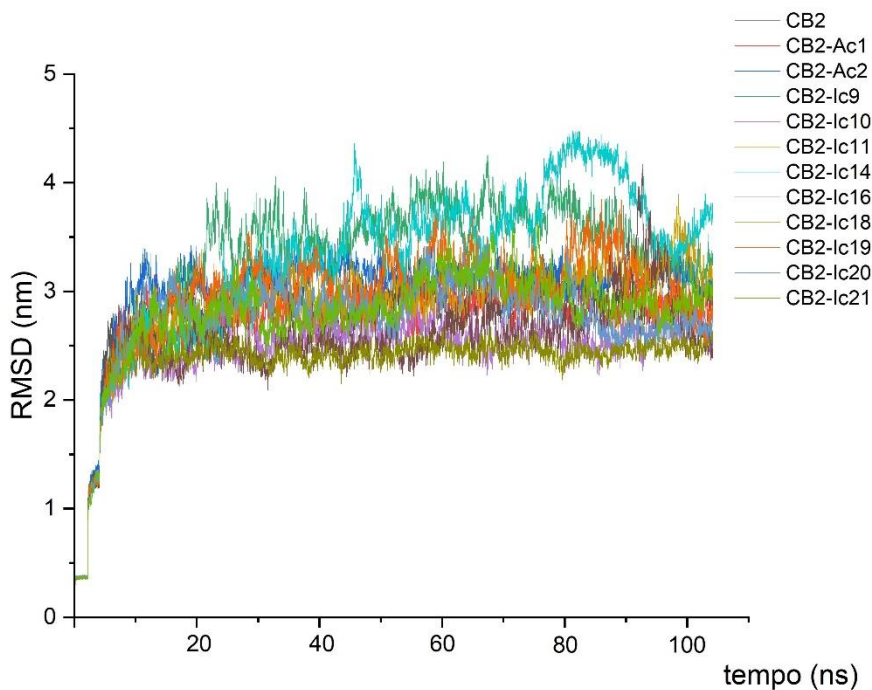


Fonte: Autoria própria

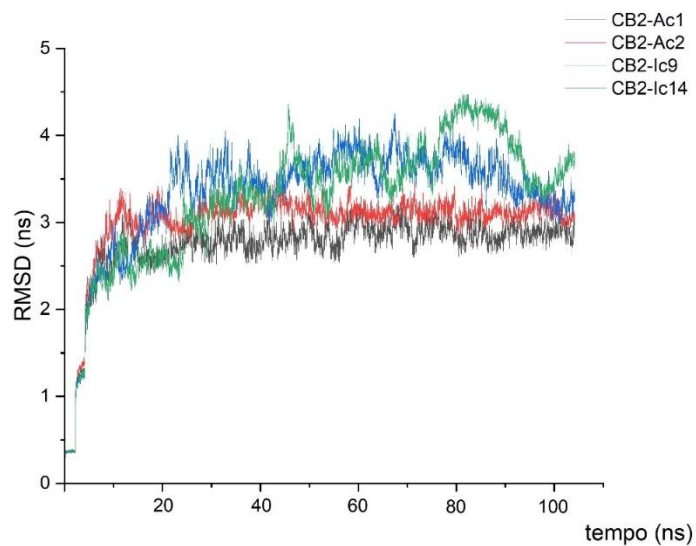
Analisando os resultados das simulações dos complexos com o receptor CB2, mostrados na Figura 68, os compostos Ic9 e Ic14 exibiram valores mais elevados de RMSD em relação aos complexos CB2-Ac1 e CB2-Ac2, indicando uma menor estabilidade em comparação com outros compostos (mostrado também na Figura 69 para melhor visualização). Em contrapartida, os compostos Ic11, Ic19, Ic20 e Ic21 apresentaram valores de RMSD muito próximos aos de Ac1 e Ac2

(Figuras 70 a 73). Por outro lado, os compostos Ic10 e Ic18 demonstraram valores significativamente menores de RMSD, sendo que o Ic18 se destacou ao apresentar os menores valores e uma trajetória mais estável (Figuras 74 e 75). Os compostos Ic16 (Figura 76) e Ic20 (Figura 72), especialmente nos últimos 20 ns de simulação, revelaram uma estabilidade maior em comparação com Ac1 e Ac2 ao demonstrarem valores de RMSD menores. Estas observações fornecem indícios importantes sobre a capacidade de interação dos compostos psicoativos Ic10, Ic18, Ic11, Ic19, Ic20 e Ic21 com o receptor CB2, sugerindo a possibilidade de uma interação seletiva de alguns desses compostos como agonistas no receptor CB2, sustentando a hipótese III.

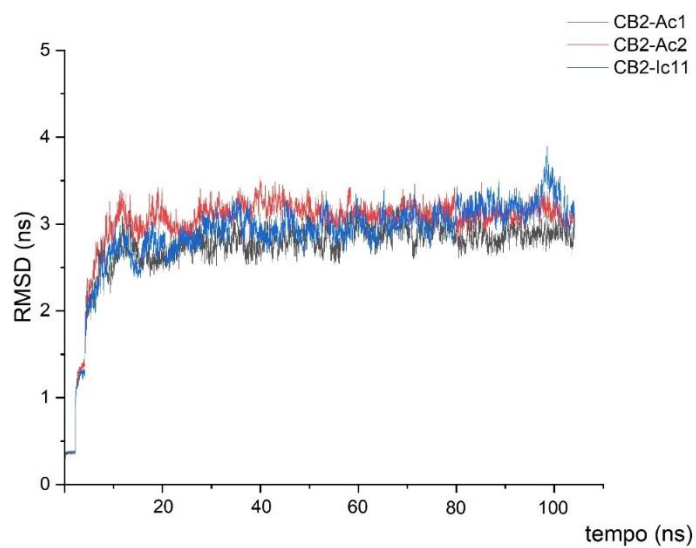
Figura 68 Análise de RMSD da proteína para CB2 isolado e em complexo com compostos canabinoides selecionados para estudos de dinâmica molecular



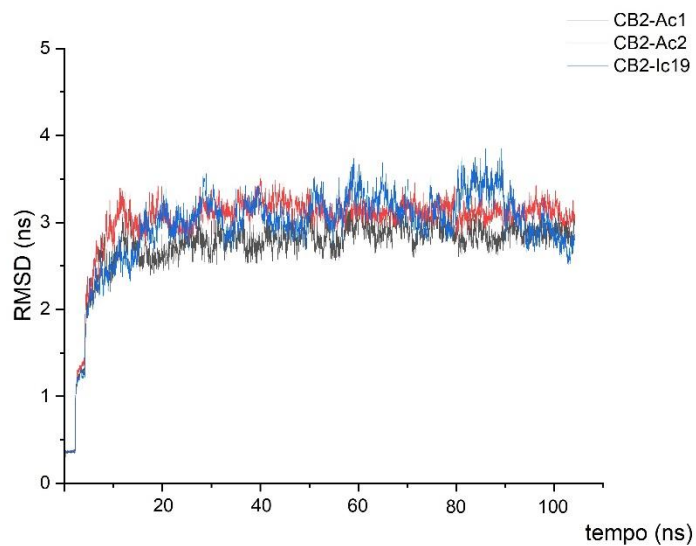
Fonte: Autoria própria

Figura 69 Dados de RMSD de CB2 em complexo com Ac1, Ac2, Ic9 e Ic14

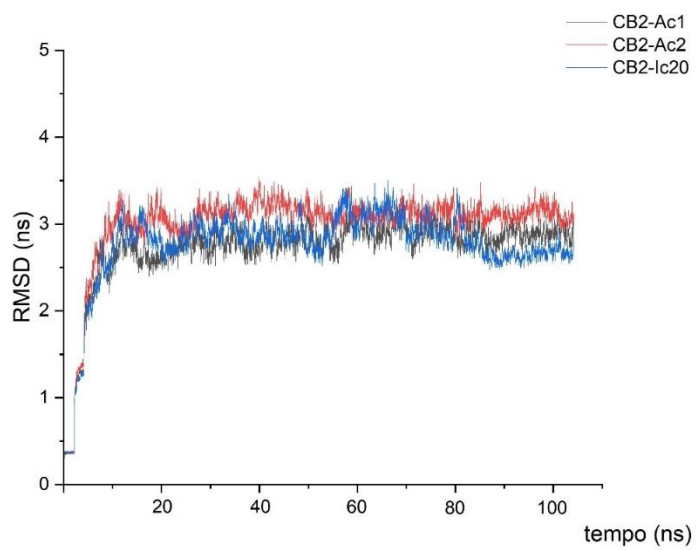
Fonte: Autoria própria

Figura 70 Dados de RMSD de CB2 em complexo com Ac1, Ac2 e Ic11

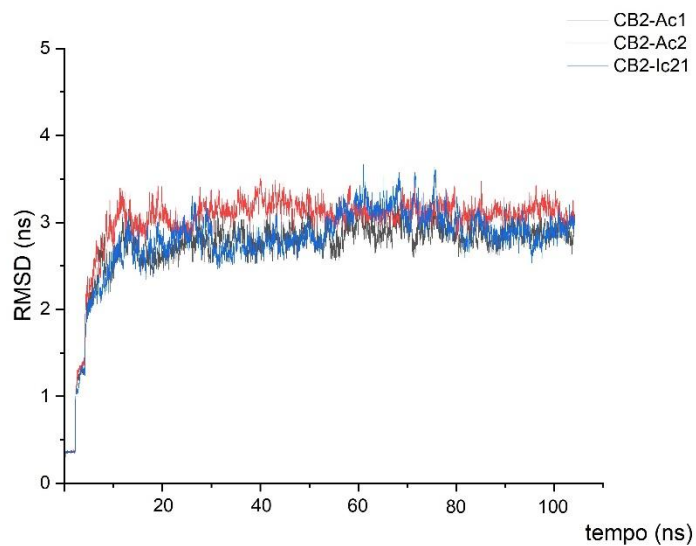
Fonte: Autoria própria

Figura 71 Dados de RMSD de CB2 em complexo com Ac1, Ac2 e Ic19

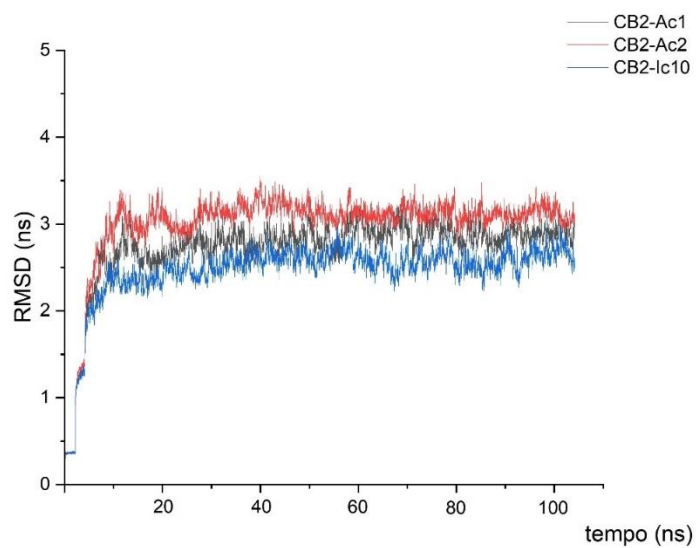
Fonte: Autoria própria

Figura 72 Dados de RMSD de CB2 em complexo com Ac1, Ac2 e Ic20

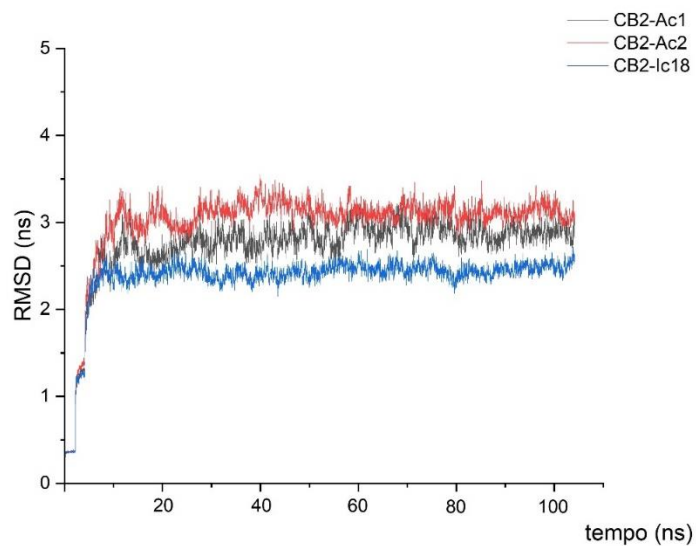
Fonte: Autoria própria

Figura 73 Dados de RMSD de CB2 em complexo com Ac1, Ac2 e Ic21

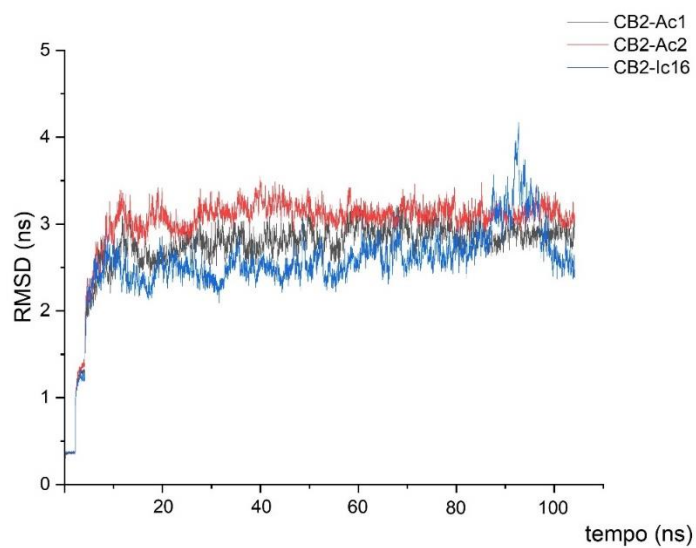
Fonte: Autoria própria

Figura 74 Dados de RMSD de CB2 em complexo com Ac1, Ac2 e Ic10

Fonte: Autoria própria

Figura 75 Dados de RMSD de CB2 em complexo com Ac1, Ac2 e Ic18

Fonte: Autoria própria

Figura 76 Dados de RMSD de CB2 em complexo com Ac1, Ac2 e Ic16

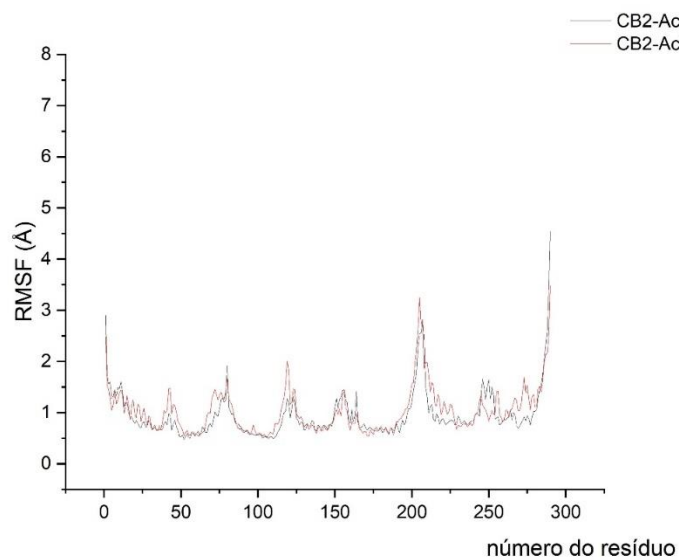
Fonte: Autoria própria

4.7.2.2 Análises de RMSF

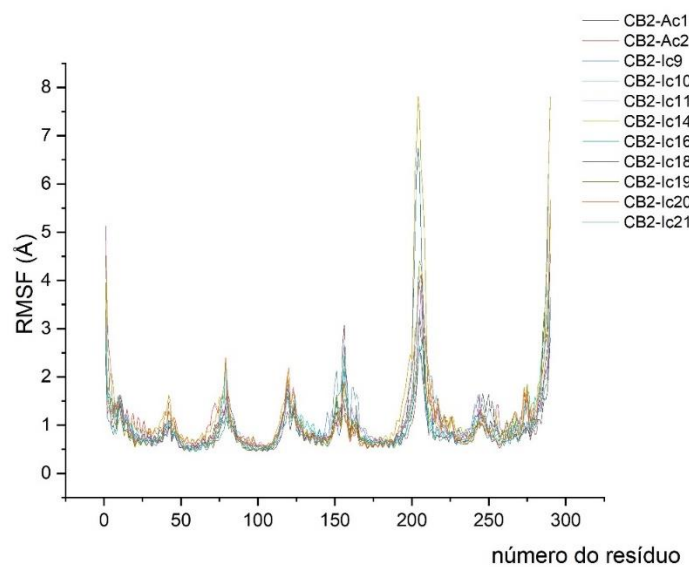
Os gráficos de RMSF dos complexos formados entre os compostos canabinoides em estudo com os receptores CB2 são mostrados nas Figuras 77 e 78. Os picos que representam as áreas dos *loops* extracelulares e intracelulares, conforme ilustrado na Figura 3, e são esperados nas análises de RMSF.

Ao examinar a Figura 77, é possível notar que o receptor CB2, quando em complexo com o composto Ac1, exibe menores variações em sua estrutura em comparação com o complexo CB2-Ac2, indicando maior estabilidade com o Ac1. Por outro lado, a Figura 78 mostra que os valores de RMSF do CB2, quando em complexo com os compostos em análise, seguem um padrão semelhante e os resíduos considerados chave na análise de *docking* (Ile110, Phe87, Pro184, Phe94, Ser285 e His95) mantêm valores próximos para todos os compostos.

Esses resultados apontam que, apesar das variações nas áreas dos *loops* extracelulares e intracelulares, não houve um impacto significativo nos resíduos-chave do sítio ortostérico do receptor CB2. Isso sugere que as mudanças estruturais observadas nessas áreas dos *loops* não afetaram diretamente os principais resíduos envolvidos na interação dos compostos estudados com o receptor CB2, confirmando a estabilidade global desses resíduos-chave independentemente do composto ligante.

Figura 77 RMSF para os sistemas CB2-Ac1 e CB2-Ac2

Fonte: Autoria própria

Figura 78 RMSF dos compostos canabinoides em estudo em complexo com o receptor CB2

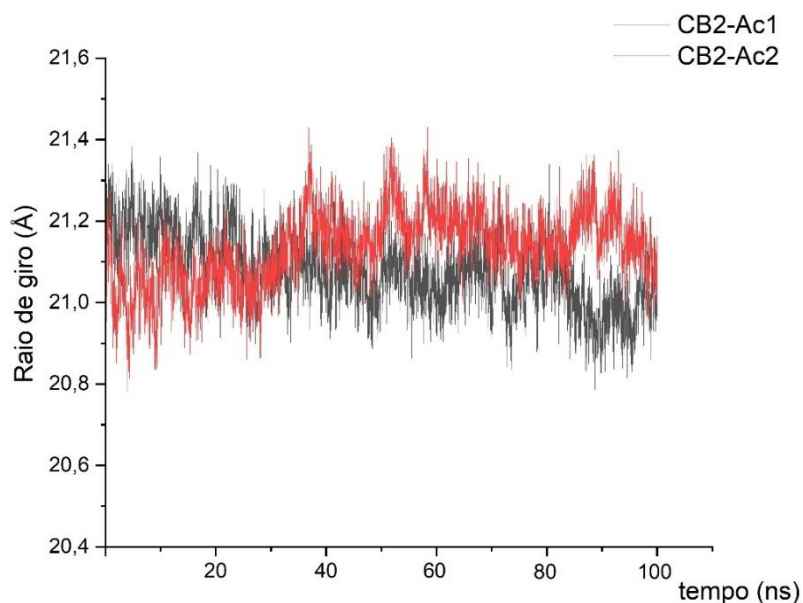
Fonte: Autoria própria

4.7.2.3 Análises de raio de giro

Análises do raio de giro comparando os ligantes Ac1 e Ac2 na interação com o receptor CB2 mostra que o composto Ac1 apresentou uma estrutura mais compacta ao longo da simulação em comparação com o Ac2, indicando uma estabilidade conformacional superior para o Ac1, mostrado na Figura 79.

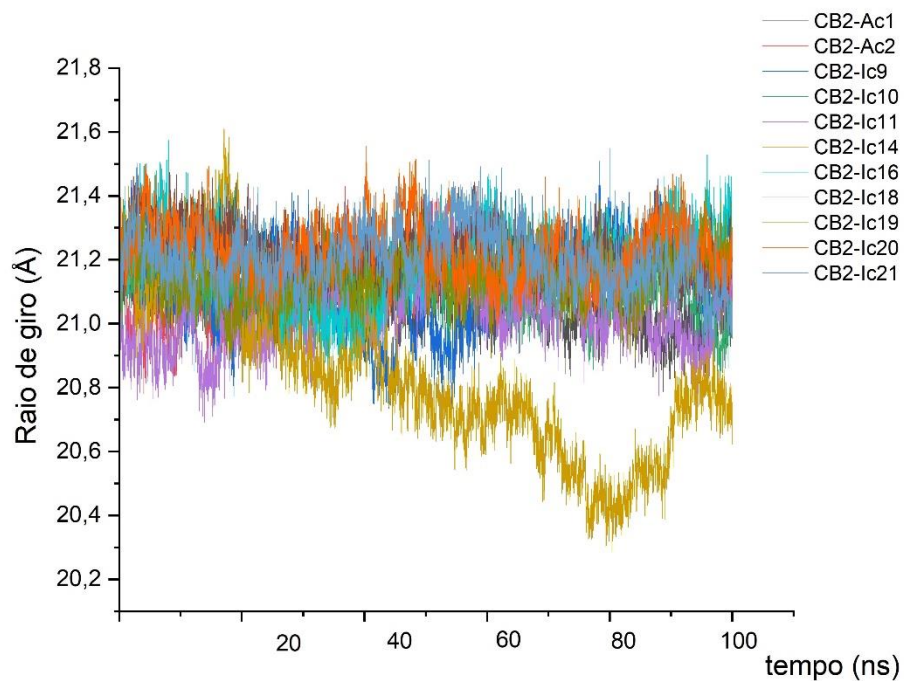
Ao examinar os valores de raio de giro ao longo das simulações para os compostos canabinoides em estudo, verifica-se que a maioria dos complexos exibiu valores de raio de giro consistentes, indicando uma estabilidade estrutural geral durante o período de simulação, com exceção para o composto Ic14, que demonstrou uma diminuição marcante em seu raio de giro por volta dos 80 ns de simulação. Esse decréscimo sugere uma compactação na estrutura molecular desse composto em um ponto específico da simulação, o que pode estar diretamente relacionado aos valores mais altos de RMSD observados para o Ic14 em momentos semelhantes.

Figura 79 Raio de giro para os compostos Ac1 e Ac2 em complexo com CB2



Fonte: Autoria própria

Figura 80 Raio de giro para os compostos canabinoides em estudo em complexo com CB2

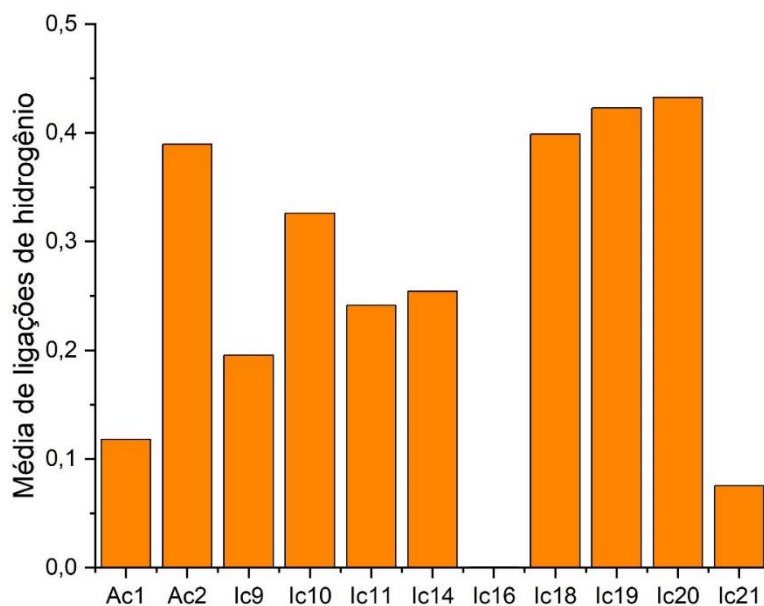


Fonte: Autoria própria

4.7.2.4 Análises de formação de ligações de hidrogênio

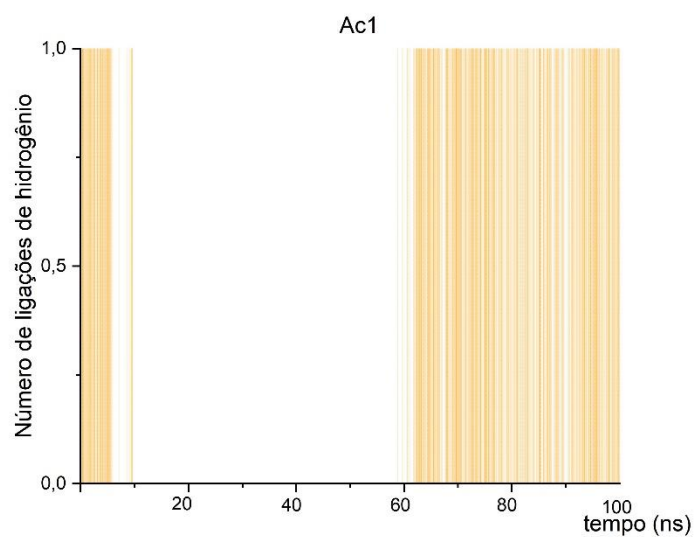
Os resultados apresentados na Figura 81, que destacam as médias das ligações de hidrogênio durante a simulação de dinâmica molecular dos compostos em estudo com o receptor CB2. Ao comparar a média de formação de ligações de hidrogênio entre os compostos Ac1 e Ac2, nota-se que Ac2 demonstra uma média de formação de ligações de hidrogênio significativamente superior à de Ac1. Além disso, os compostos Ic18, Ic19 e Ic20 exibem médias ainda mais altas do que Ac1, sugerindo uma propensão a uma maior formação dessas interações e portanto, uma maior estabilidade. Por outro lado, Ic16 e Ic21 apresentam médias de formação de ligações de hidrogênio inferiores às de Ac1, indicando uma menor estabilidade.

Figura 81 Média de formação de ligação de hidrogênio durante a simulação de dinâmica molecular para os compostos canabinoides em estudo com o receptor CB1

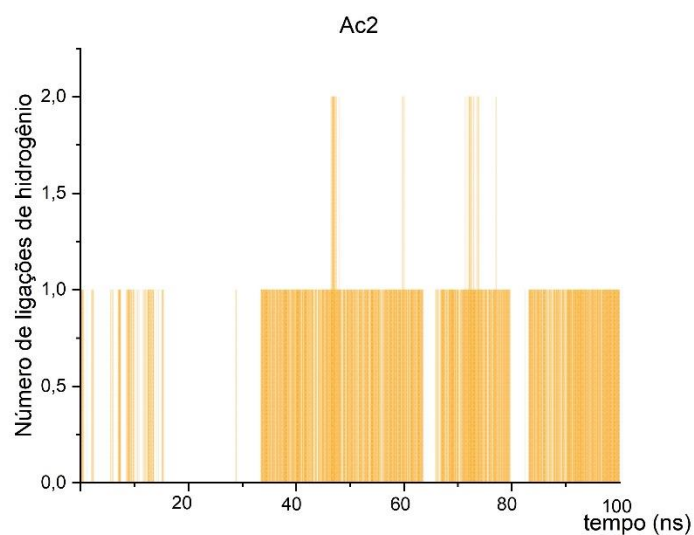


Fonte: Autoria própria

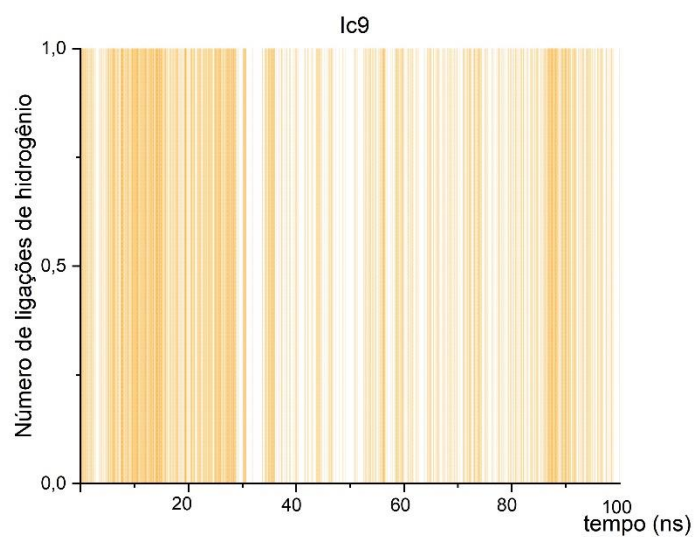
Ao analisar a formação de ligações de hidrogênio ao longo da simulação de dinâmica molecular para cada composto individualmente, conforme apresentado nas figuras 82 a 92, nota-se que os únicos compostos que chegaram a apresentar a formação de 2 ligações de hidrogênio, tal como o Ac2, foram o Ic9, Ic14, Ic18, Ic19 e Ic21, sugerindo que esses compostos têm a capacidade de estabelecer uma quantidade mais substancial de ligações de hidrogênio, similar ao comportamento do Ac2, mostrando uma maior estabilidade.

Figura 82 Formação de ligação de hidrogênio para Ac1 em complexo com CB2

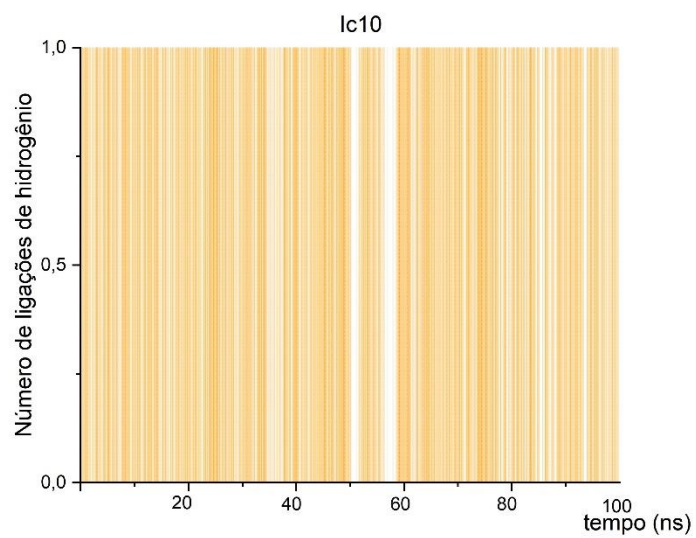
Fonte: Autoria própria

Figura 83 Formação de ligação de hidrogênio para Ac2 em complexo com CB2

Fonte: Autoria própria

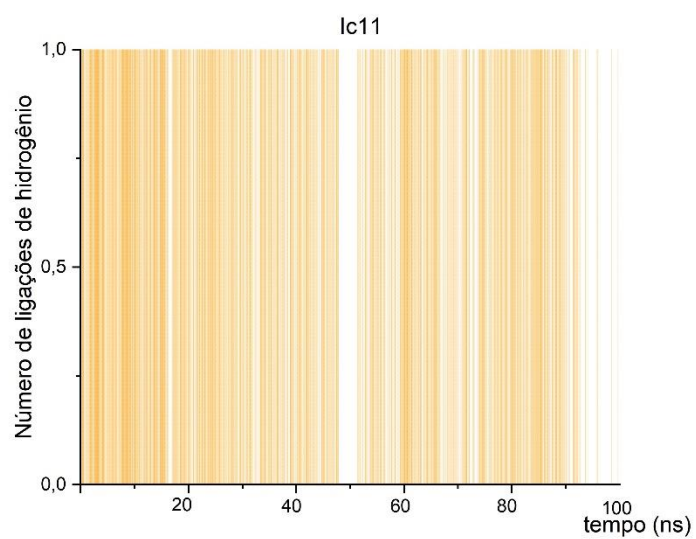
Figura 84 Formação de ligação de hidrogênio para Ic9 em complexo com CB2

Fonte: Autoria própria

Figura 85 Formação de ligação de hidrogênio para Ic10 em complexo com CB2

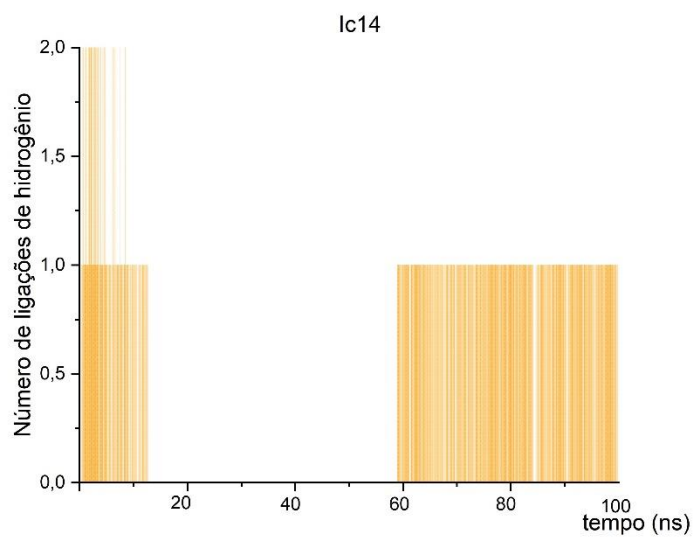
Fonte: Autoria própria

Figura 86 Formação de ligação de hidrogênio para Ic11 em complexo com CB2



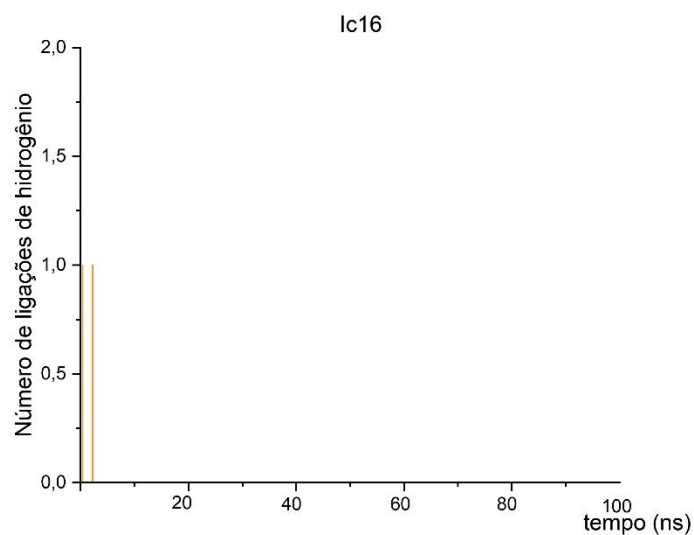
Fonte: Autoria própria

Figura 87 Formação de ligação de hidrogênio para Ic14 em complexo com CB2



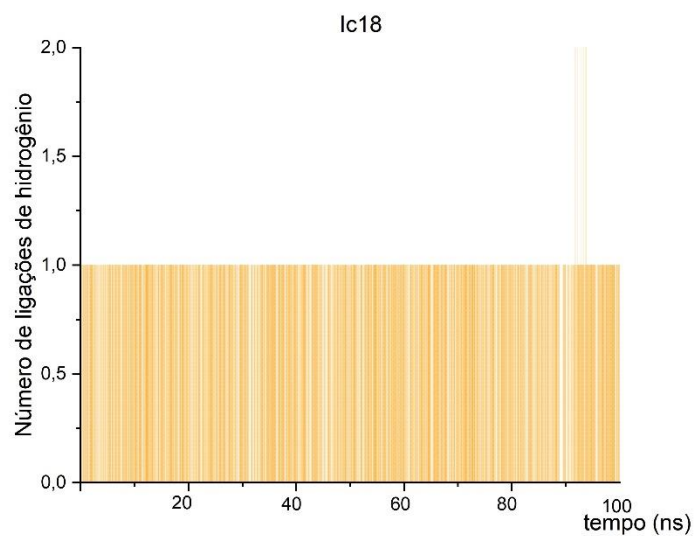
Fonte: Autoria própria

Figura 88 Formação de ligação de hidrogênio para Ic16 em complexo com CB2



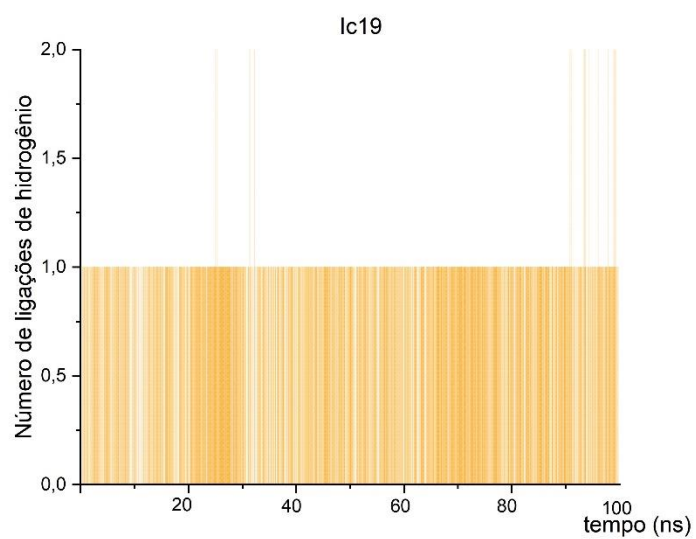
Fonte: Autoria própria

Figura 89 Formação de ligação de hidrogênio para Ic8 em complexo com CB2



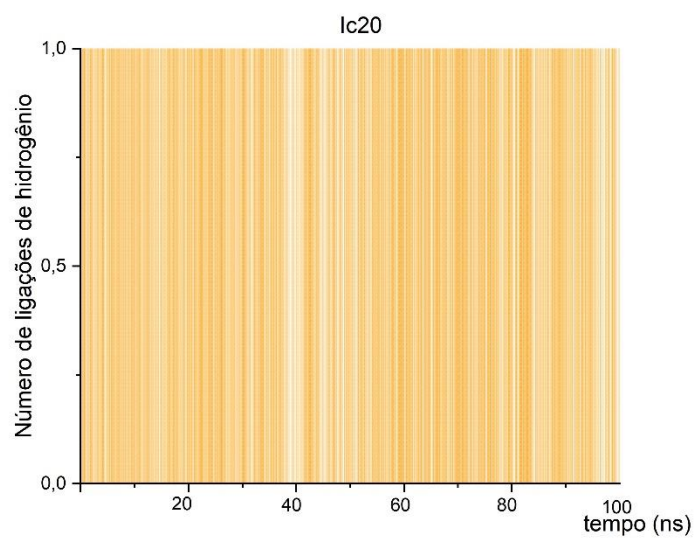
Fonte: Autoria própria

Figura 90 Formação de ligação de hidrogênio para Ic19 em complexo com CB2



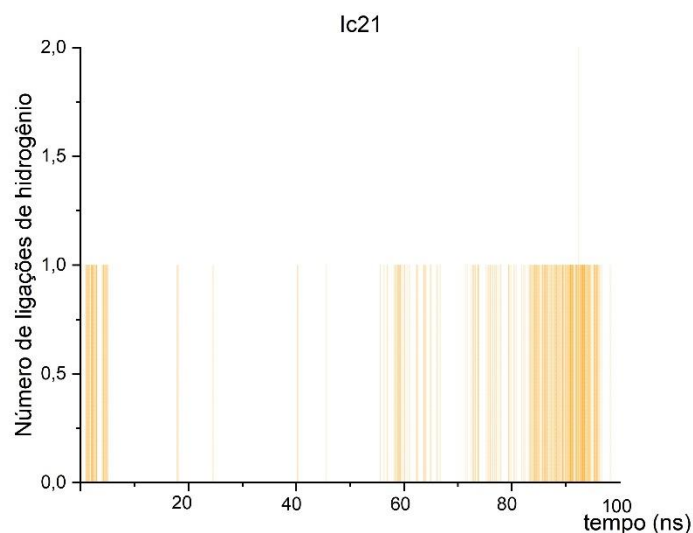
Fonte: Autoria própria

Figura 91 Formação de ligação de hidrogênio para Ic20 em complexo com CB2



Fonte: Autoria própria

Figura 92 Formação de ligação de hidrogênio para Ic21 em complexo com CB2



Fonte: Autoria própria

Ainda, ao comparar os resultados das análises de dinâmica molecular dos compostos que foram analisados para ambos os receptores CB1 e CB2, Ic14, Ic18 e Ic19, nota-se que os valores de RMSD para o composto Ic18 se mostraram bem menores quando em complexo com CB2 do que em complexo com CB1. Isso pode indicar uma maior estabilidade do composto Ic18 com o receptor CB2 do que com o receptor CB1, reforçando a hipótese III, de que ele atuaria como um composto seletivo do receptor CB2.

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Foram propostas três hipóteses com relação a um grupo de 50 compostos canabinoides com psicoatividade conhecida, dando ênfase às hipóteses que dizem respeito a psicoatividade desses compostos, que são elas a hipótese II (compostos psicoativos interagem com o receptor CB1 de forma antagonista) e a hipótese III (compostos psicoativos interagem de forma seletiva com o receptor CB2). Assim, foram gerados e validados modelos QSAR usando o método PLS para prever a atividade biológica dessa série de 50 compostos canabinoides na interação com os receptores CB1 e CB2, possibilitando a identificação dos compostos com maior atividade biológica predita, expressa em termos de pK_i , com destaque para os compostos Ic2, Ic6, Ic14, Ic18 e Ic19 na interação com o receptor CB1 e Ic9, Ic10, Ic11, Ic14, Ic16, Ic18, Ic19, Ic20 e Ic21 na interação com o receptor CB2.

Essa abordagem de geração de modelos QSAR e predição da atividade biológica desses compostos com os receptores CB1 e CB2 direcionou a atenção para os compostos psicoativos mais promissores, prosseguindo para análises de *docking* e dinâmica molecular, com o objetivo de aprofundar a compreensão desses compostos específicos, com o foco em elucidar aspectos fundamentais da psicoatividade dos mesmos a fim de sustentar as hipóteses II e III.

Análises de *docking* das interações entre os compostos canabinoides psicoativos selecionados com o receptor CB1 destacaram resíduos-chave como Phe170, Phe268 e Leu193, consistentemente presentes independentemente da atividade agonista ou antagonista. Esses resíduos desempenham papéis fundamentais na estabilização dos complexos ligante-receptor na interação de compostos canabinoides com o receptor CB1. Por outro lado, os compostos inativos exibiram interações específicas com resíduos como Phe108, Cys386, Phe200, Met363, Phe174, Ser173 e Thr197, sugerindo sua possível contribuição para a modulação das propriedades psicoativas. As ligações de hidrogênio identificadas nos compostos Ic14 e Ic19 com os resíduos Ser173, Thr197 e Leu193 enfatizam a importância das hidroxilas nas posições 4 e 7, sugerindo o potencial do Ic19 como um candidato a antagonista do receptor CB1.

Análises de *docking* das interações dos compostos canabinoides com o receptor CB2 mostraram destaque para o composto Ic21, que demonstrou uma afinidade substancialmente elevada com o receptor CB2 predita pelo modelo PLS-CB2, apresentando exatamente os mesmos resíduos de interação com o principal composto canabinoide Δ^9 -THC, mostrando que Ic21 e Δ^9 -THC ocupam exatamente o mesmo local de ligação, respaldando a hipótese III de que o Ic21 pode interagir de forma seletiva como um agonista preferencial do receptor CB2. Essa descoberta posiciona o Ic21 como um alvo de estudo promissor para a compreensão de suas interações e potenciais aplicações terapêuticas. A identificação de resíduos comuns na interação com o receptor CB2, como Ile110, Phe87, Pro184, Phe94, Ser285 e His95, revelam sua importância na estabilidade e interações de todos os compostos canabinoides com tal receptor. Predominantemente, as interações foram hidrofóbicas, exceto pelo composto Ic19, que apresentou uma significativa ligação de hidrogênio com o resíduo Thr114, estabilizando o nitrogênio na posição 4.

Ainda, a análise comparativa dos resíduos interagindo com os compostos Ic14, Ic18 e Ic19 nos receptores CB1 e CB2 destacou diferenças significativas. A presença comum de resíduos como Phe, Trp, His e Val em ambas as interações sugere seu papel fundamental na interação com esses receptores, enquanto a distinção entre Leucina no receptor CB1 e Isoleucina no receptor CB2 pode influenciar a seletividade do receptor para os compostos canabinoides. Particularmente relevante é a observação da Prolina interagindo exclusivamente no receptor CB2, especialmente na região do anel com a dupla ligação das posições 8 ou 9 e metil na posição 11 (Pro184). Essa peculiaridade estrutural da Prolina, com sua configuração cíclica, sugere seu possível papel na determinação da seletividade dos compostos canabinoides para o receptor CB2, considerando sua rigidez conformacional e impacto na interação espacial.

Adicionalmente, ao comparar os resultados de *docking* aqui obtidos com resultados disponíveis na literatura com estruturas cristalográficas de agonistas seletivos, como LEI-102, APD371 e HU308, alguns compostos desse estudo, como Ic11, Ic18 e Ic19, demonstraram interações exclusivas com resíduos específicos (Trp258, Thr114, Val261 e Cys288) associados aos agonistas seletivos, indicando

seu potencial na seletividade para o receptor CB2, apontando a importância desses resíduos específicos na seletividade dos compostos canabinoides para o receptor CB2.

Da dinâmica molecular com o receptor CB1, dados de RMSD do composto Ic19 demonstrou notável estabilidade ao longo da simulação, sugerindo um potencial como antagonista do receptor CB1 ao apresentar comportamento semelhante aos agonistas Ac1 e Ac2. Compostos como Ic14 e Ic18 exibiram estabilidade comparável ao Ac2, indicando possível capacidade de competir com agonistas parciais. Assim, esses compostos psicoativos, especialmente Ic19, podem atuar como antagonistas, interferindo nos efeitos dos agonistas sem desencadear completamente a resposta biológica associada à ativação do receptor CB1. As análises de RMSF e raio de giro reforçaram a estabilidade estrutural desses compostos, indicando comportamento similar aos agonistas. Adicionalmente, a análise das formações de ligações de hidrogênio sugeriu que compostos como Ic14, Ic18 e Ic19, ao apresentarem uma média superior dessas ligações, possuem uma possível ação antagonista, competindo pelo sítio de ligação do receptor CB1 sem desencadear sua ativação completa. Em conjunto, os resultados obtidos nessas análises reforçam a hipótese de que compostos psicoativos, especialmente Ic19, podem agir como antagonistas do receptor CB1, conforme proposto na hipótese II.

Resultados das análises da dinâmica molecular com o receptor CB2 mostram que os compostos Ic9 e Ic14 apresentaram valores mais altos de RMSD, indicando uma menor estabilidade, enquanto Ic10 e Ic18 se destacaram com valores significativamente menores, denotando uma trajetória mais estável. Em momentos específicos, Ic16 e Ic20 demonstraram maior estabilidade do que Ac1 e Ac2, sugerindo possíveis interações seletivas com o receptor CB2. A maioria dos compostos exibiu valores consistentes de raio de giro, exceto o Ic14, que mostrou uma diminuição acentuada, sugerindo uma alteração estrutural específica durante a simulação. Os gráficos de RMSF não evidenciaram impacto significativo nos resíduos-chave do sítio ortostérico do receptor CB2, apesar das variações nas áreas dos *loops* extracelulares e intracelulares, sugerindo uma estabilidade global desses resíduos. Quanto à formação de ligações de hidrogênio, Ac2 e alguns compostos

(Ic9, Ic14, Ic18, Ic19 e Ic21) demonstraram capacidade semelhante de formar múltiplas ligações, diferenciando-se dos outros compostos nesse aspecto.

Assim, na interação com o receptor CB1 tem-se destaque para o Ic19, visto que este composto se destacou nas análises de *docking* e de dinâmica molecular, indicando um comportamento estrutural consistente e estável, sugerindo um possível papel como antagonista do receptor CB1, reforçando a hipótese II e na interação com o receptor CB2, os compostos Ic21, Ic18, Ic9, Ic16 e Ic20 foram destaques com base nas análises de *docking* e dinâmica molecular. O Ic21 revelou uma afinidade substancialmente elevada com o receptor CB2, prevista pelo modelo PLS-CB2, e apresentou interações semelhantes ao principal composto canabinoide Δ^9 -THC, sugerindo que o Ic21 pode interagir seletivamente como um agonista preferencial do receptor CB2. Por outro lado, o Ic18 também se destacou nas análises de *docking* ao demonstrar interações específicas e uma notável estabilidade estrutural durante a dinâmica molecular, indicando uma possível capacidade de interação seletiva com o receptor CB2. Embora tenha exibido valores consistentes de RMSD, o Ic18 revelou momentos de estabilidade comparável ou superior a Ac1 e Ac2, sugerindo interações seletivas com o receptor CB2 em determinados períodos da simulação. Já o Ic9 demonstrou valores mais altos de RMSD, indicando uma menor estabilidade estrutural durante a simulação. No entanto, também apresentou momentos de maior estabilidade em comparação com Ac1 e Ac2, sugerindo possíveis interações seletivas com o receptor CB2 em períodos específicos da simulação. Por fim, os compostos Ic16 e Ic20 também mostraram, em momentos específicos da simulação, uma estabilidade maior do que Ac1 e Ac2, sugerindo possíveis interações seletivas com o receptor CB2. Esses compostos, embora não apresentem a mesma elevada afinidade predita como o Ic21, destacaram-se pela sua estabilidade estrutural relativa e momentos de interação potencialmente seletiva com o receptor CB2. Essas observações sugerem que estes compostos possuem características estruturais e dinâmicas que podem apontar para uma interação seletiva com o receptor CB2, reforçando a hipótese III de alguns desses compostos classificados como psicoativos interagirem de forma seletiva com este receptor.

Para dar continuidade a esta pesquisa, planeja-se realizar cálculos de energia livre de ligação para os compostos em estudo, visando verificar e confirmar a afinidade já prevista pelos modelos QSAR gerados. Também se pretende expandir o estudo incluindo mais compostos inativos tanto para o receptor CB1 quanto CB2 para um aprofundamento da hipótese III, com o objetivo de conduzir uma comparação mais abrangente da estabilidade e afinidade por meio de *docking* e dinâmica molecular com mais compostos, visando identificar possíveis padrões estruturais e comportamentais que diferenciem compostos inativos de agonistas seletivos para o receptor CB2 ao comparar os dados de CB1 e CB2.

Ademais, considera-se sugerir novos compostos canabinoides que possam atuar como antagonistas para o receptor CB1 e agonistas seletivos para o receptor CB2, baseando-se nos resultados deste e de futuros estudos, com o intuito de contribuir para o desenvolvimento de moléculas com propriedades de interação mais específicas com esses receptores, visando aplicações terapêuticas mais precisas e eficazes no contexto dos sistemas endocanabinoides.

REFERÊNCIAS

- ¹CARLINI, E. A. A história da maconha no Brasil. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, Rio de Janeiro, v. 55, n. 4, p. 314-317, jul. 2006.
- ²ZUARDI, A. W. History of cannabis as a medicine: a review. **Brazilian Journal of Psychiatry**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 153-157, Jun. 2006.
- ³RYZ, N. R.; REMILLARD, D. J.; RUSSO, E. B. Cannabis roots: a traditional therapy with future potential for treating inflammation and pain. **Cannabis and Cannabinoid Research**, New Rochelle, v. 2, n. 1, p. 210-216, Aug. 2017.
- ⁴ASHTON, C. Pharmacology and effects of cannabis: a brief review. **British Journal of Psychiatry**, Cambridge, v. 178, n. 2, p. 101-106, Feb. 2001.
- ⁵SEWELL R. A.; RANGANATHAN, M.; D'SOUZA, D. C. Cannabinoids and psychosis. **International Review of Psychiatry**, Oxon, v. 21, n. 2, p. 152-162, Jul. 2009.
- ⁶HAMILTON, I., MONAGHAN, M. Cannabis and psychosis: are we any closer to understanding the relationship? **Current Psychiatry Reports**, New York, v. 21, n. 7, p. 48, Jun. 2019.
- ⁷DE MEIJER, E. P. M.; HAMMOND, K. M.; MICHELER, M. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. (III): variation in cannabichromene proportion. **Euphytica**, Dordrecht, v. 165, p. 293–311, Jan. 2009.
- ⁸RADWAN, M. M.; CHANDRA, S.; GUL, S.; ELSOHLI, M. A. Cannabinoids, phenolics, terpenes and alkaloids of cannabis. **Molecules**, Basel, v. 26, n. 9, p. 2774, May 2021.
- ⁹GAONI, Y.; MECOULAM, R. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 86, n. 8, p. 1646-1647, Apr. 1964.
- ¹⁰ATAKAN, Z. Cannabis, a complex plant: different compounds and different effects on individuals. **Therapeutic Advances in Psychopharmacology**, London, v. 2, n.6, p. 241- 254, Dec. 2012.
- ¹¹PAGANO, C.; NAVARRA, G.; COPPOLA, L.; AVILIA, G.; BIFULCO, M.; LAEZZA, C. Cannabinoids: therapeutic use in clinical practice. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 23, n. 6, p. 3344, Mar. 2022.
- ¹²MILLER, H. P.; BONAWITZ, S. C.; OSTROVSKY, O. The effects of delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) on inflammation: a review. **Cellular Immunology**, San Diego, v. 352, p. 104111, Apr. 2020.
- ¹³CARLINI, E. A. The good and the bad effects of (–)trans-delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) on humans. **Toxicon**, Oxford, v. 44, n. 4, p. 461-467, Sept. 2004.

- ¹⁴KUMAR, R. N.; CHAMBERS, W. A.; PERTWEE, R. G. Pharmacological actions and therapeutic uses of cannabis and cannabinoids. **Anaesthesia**, Hoboken, v. 56, n. 11, p. 1059-1068, Nov. 2001.
- ¹⁵KOPUSTINSKIENE D. M.; MASTEIKOVA R., LAZAUSKAS R., BERNATONIENE J. Cannabis sativa L. bioactive compounds and their protective role in oxidative stress and inflammation. **Antioxidants**, Basel, v. 11, n. 4, p. 660, Mar. 2022.
- ¹⁶SZEJKO, N.; JAKUBOVSKI, E.; FREMER, C.; KUNERT, K.; MUELLER-VAHL, K. Delta-9-tetrahydrocannabinol for the treatment of a child with Tourette syndrome - case report. **Journal of Medical Case Reports**, London, v. 2, n. 2, p. 39-41, Mar. 2018.
- ¹⁷FREITAS, A. K. L.; CRUZ, G. S.; SILVA, K. M. S.; SILVA, M. D. S.; GOMES, M. L. S.; PASTANA, R. R.; SILVA, C. Q.; LAMEIRA, C. N. The use of Cannabis sativa in treatment of Alzheimer. **Research, Society and Development**, Vargem Grande do Sul, v. 11, n. 11, p. e270111133543, Aug. 2022.
- ¹⁸PERTWEE, R. G. The central neuropharmacology of psychotropic cannabinoids. **Pharmacology & Therapeutics**, Oxford, v. 36, n. 2-3, p. 189-261, Jan. 1988.
- ¹⁹KRUGER, D. J.; KRUGER, J. S. Consumer experiences with Delta-8-THC: medical use, pharmaceutical substitution, and comparisons with Delta-9-THC. **Cannabis and Cannabinoid Research**, New Rochelle, v. 8, n. 1, p. 166-173, Feb. 2023.
- ²⁰KRUGER, D. J.; KRUGER, J. S. Delta-8-THC: Delta-9-THC's nicer younger sibling? **Journal of Cannabis Research**, London, v. 4, n. 4, Jan. 2022.
- ²¹HAMIDA, FNU; KAKAR, K.; NAGARKATTI, P.; NAGARKATTI, M. Effect of delta-8-tetrahydrocannabinol (Δ 8-THC) in modulating immune response and gut microbial dysbiosis in concanavalin-induced acute liver injury. **Journal of Immunology**, Bethesda, v. 210, n. 01_Supplement, p. 166.03, May 2023.
- ²²WHITE, C. M. A review of human studies assessing Cannabidiol's (CBD) therapeutic actions and potential. **Journal of Clinical Pharmacology**, Hoboken, v. 59, n. 7, p. 923-934, Jul. 2019.
- ²³STELLA, N. THC and CBD: similarities and differences between siblings. **Neuron**, Cambridge, v. 111, n. 3, p. 302-327, Feb. 2023.
- ²⁴YAN, C.; LI, Y.; LIU, H.; CHEN, D.; WU, J. Antitumor mechanism of cannabidiol hidden behind cancer hallmarks. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1878, n. 4, p. 188905, Jul. 2023.
- ²⁵WALSH, J.H.; MADDISON, K. J.; RANKIN, T.; MURRAY, K.; MCARDLE, N.; REE, M. J.; HILLMAN, D. R.; EASTWOOD, P. R. Treating insomnia symptoms with medicinal cannabis: a randomized, crossover trial of the efficacy of a

cannabinoid medicine compared with placebo. **Sleep**, Cary, v. 44, n. 11, Nov. 2021.

- ²⁶CORROON, J. Cannabinol and sleep: separating fact from fiction. **Cannabis and Cannabinoid Research**, New Rochelle, v. 6, n. 5, p. 366-371, Oct. 2021.
- ²⁷BARATTA, F.; PIGNATA, I.; ENRI, L. R.; BRUSA, P. Cannabis for medical use: analysis of recent clinical trials in view of current legislation. **Frontiers in Pharmacology**, Lausanne, v.13, May 2022.
- ²⁸STELLA, B.; BARATTA, F.; PEPA, C. D.; ARPICCO, S.; GASTALDI, D.; DOSIO, F. Cannabinoid formulations and delivery systems: current and future options to treat pain. **Drugs**, Auckland, v. 81, p. 1513-1557, Sept. 2021.
- ²⁹RAMESH, K.; ROSENBAUM, D. M. Molecular basis for ligand modulation of the cannabinoid CB1 receptor. **British Journal of Pharmacology**, Hoboken, v. 179, n. 14, p. 3487-3495, Jul. 2022.
- ³⁰AN, D.; PEIGNEUR, S.; HENDRICKX, L. A.; TYTGAT, J. Targeting cannabinoid receptors: current status and prospects of natural products. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 21, n. 14, p. 5064, Jul. 2020.
- ³¹KAUR, R.; AMBWANI, S.; SINGH, S. Endocannabinoid system: a multi-facet therapeutic target. **Current Clinical Pharmacology**, Sharjah, v. 11, n. 2, p. 110-117, Apr. 2016.
- ³²FONSECA, F. R.; ARCO, I.; BERMUDEZ-SILVA, F. J.; BILBAO, A.; CIPPITELLI, A.; NAVARRO, M. The endocannabinoid system: physiology and pharmacology. **Alcohol and Alcoholism**, Oxford, v. 40, n. 1, p. 2–14, Jan. 2005.
- ³³LU, H.; MACKIE, K. Review of the endocannabinoid system. **Biological Psychiatry-Cognitive Neuroscience and Neuroimaging**, Amsterdam, v. 6, n. 6, p. 607-615, Jun. 2021.
- ³⁴SHARMA, D. S.; PADDIBHATLA, I.; RAGHUWANSHI, S.; MALLESWARAPU, M.; SANGEETH, A.; KOVURU, N.; DAHARIYA, S.; GAUTAM, D. K.; PALLEPATI, A.; GUTTI, R. K. Endocannabinoid system: role in blood cell development, neuroimmune interactions and associated disorders. **Journal of Neuroimmunology**, Amsterdam, v. 353, p. 577501, Apr. 2021.
- ³⁵ALY, E.; MASOCHA, W. Targeting the endocannabinoid system for management of HIV-associated neuropathic pain: a systematic review. **IBRO Neuroscience Reports**, Amsterdam, v.10, p. 109-118, Jan. 2021.
- ³⁶MLOST, J.; WĄSIK, A.; STAROWICZ, K. Role of endocannabinoid system in dopamine signalling within the reward circuits affected by chronic pain. **Pharmacological Research**, London, v. 143, p. 40-47, May 2019.

- ³⁷BLANTON, H.; REDDY, P. H.; BENAMAR, K. Chronic pain in Alzheimer's disease: endocannabinoid system. **Experimental Neurology**, San Diego, v. 360, p. 114287, Feb. 2023.
- ³⁸CROWE, M. S.; NASS, S. R.; GABELLA, K. M.; KINSEY, S. G. The endocannabinoid system modulates stress, emotionality, and inflammation. **Brain, Behavior, and Immunity**, San Diego, v. 42, p. 1-5, Nov. 2014.
- ³⁹MARTÍNEZ-AGUIRRE, C.; CINAR, R.; ROCHA, L. Targeting endocannabinoid system in epilepsy: for good or for bad. **Neuroscience**, Oxford, v. 482, p. 172-185, Feb. 2022.
- ⁴⁰GIUFFRIDA, A.; MARTINEZ, A. The endocannabinoid system and Parkinson disease. *In*: MURILLO-RODRÍGUEZ, E. (org.) **The endocannabinoid system**. San Diego: Academic Press, 2016. p. 63-91.
- ⁴¹SCHERMA, M.; SATTA, V.; FRATTA, W.; FADDA, P. The endocannabinoid system: anorexia nervosa and binge eating disorder. *In*: FATTORE, L. (org.) **Cannabinoids in neurologic and mental disease**. San Diego: Academic Press, 2015. p. 389-413.
- ⁴²BERNAL-CHICO, A.; MORENO-GARCIA, Á.; COLOMER, T.; SÁNCHEZ, E.; UTRILLA, C. L.; MATUTE, C.; BARAIBAR, A. M.; MATO, S. The endocannabinoid system and autoimmune demyelination: a focus on multiple sclerosis. *In*: PATEL, V. B.; PREEDY, V. R.; MARTIN, C. R. **Neurobiology and physiology of the endocannabinoid system**. San Diego: Academic Press, 2023. p. 229-240.
- ⁴³KAUR, I.; BEHL, T.; BUNGAU, S.; ZENGIN, G.; KUMAR, A.; EL-ESAWI, M. A.; KHULLAR, G.; VENKATACHALAM, T.; ARORA, S. The endocannabinoid signaling pathway as an emerging target in pharmacotherapy, earmarking mitigation of destructive events in rheumatoid arthritis. **Life Sciences**, Oxford, v. 257, p. 118109, Sept. 2020.
- ⁴⁴CUDDIHEY, H.; MACNAUGHTON, W. K.; SHARKEY, K. A. Role of the endocannabinoid system in the regulation of intestinal homeostasis. **Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology**, San Diego, v. 14, n. 4, p. 947-963, Jun. 2022.
- ⁴⁵AIZPURUA-OLAIZOLA, O.; ELEZGARAI, I.; RICO-BARRIO, I.; ZARANDONA, I.; ETXEBARRIA, N.; USOBIAGA, A. Targeting the endocannabinoid system: future therapeutic strategies. **Drug Discovery Today**, Oxon, v. 22, n. 1, p. 105-110, Jan. 2017.
- ⁴⁶DEVANE, W. A.; HANUS, L.; BREUER, A.; PERTWEE, R. G.; STEVENSON L. A.; GRIFFIN, G.; GIBSON, D.; MANDELBAUM, A.; ETINGER, A.; MECHOULAM, R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. **Science**, Washington, v. 258, n. 5090, p. 1946–1949, Dec. 1992.

- ⁴⁷MECHOULAM, R.; BEN-SHABAT, S.; HANUS, L.; LIGUMSKY, M.; KAMINSKI, N.E.; SCHATZ, A. R.; GOPHER, A.; ALMOG, S.; MARTIN, B. R.; COMPTON, D. R. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. **Biochemical Pharmacology**, Oxford, v. 50, n. 1, p. 83–90, Jun. 1995.
- ⁴⁸SUGIURA, T.; KONDO, S.; SUKAGAWA, A.; NAKANE, S.; SHINODA, A.; ITOH, K.; YAMASHITA, A.; WAKU, K. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 215, p. 89–97, Oct. 1995.
- ⁴⁹BISOGNO, T. Endogenous cannabinoids: structure and metabolism. **Journal of Neuroendocrinology**, Hoboken, v. 20, n. 1, p. 1-9, May 2008.
- ⁵⁰MATSUDA, L. A.; LOLAIT, S. J.; BROWNSTEIN, M. J.; YOUNG, A. C.; BONER, T. I. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. **Nature**, Berlin, v. 346, p. 561-564, Aug. 1990.
- ⁵¹SHIRE, D.; CALANDRA, B.; RINALDI-CARMONA, M.; OUSTRIC, D.; PESSÈGUE, B.; BONNIN-CABANNE, O.; LE FUR, G.; CAPUT, D.; FERRARA, P. Molecular cloning, expression and function of the murine CB2 peripheral cannabinoid receptor. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1307, n.2, p. 132-136, Jun. 1996.
- ⁵²MUNRO, S.; THOMAS, K. L.; ABU-SHAAR, M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. **Nature**, Berlin, v. 365, p. 61-65, Sept. 1993.
- ⁵³SVÍŽENSKÁ, I.; DUBOVÝ, P.; ŠULCOVÁ, A. Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures — a short review. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, Oxford, v. 90, n. 4, p. 501-511, Oct. 2008.
- ⁵⁴YANG, D.; ZHOU, Q.; LABROSKA, V.; QIN, S.; DARBALAEI, S.; WU, Y.; YULIANTIE, E.; XIE, L.; TAO, H.; CHENG, J.; LIU, Q.; ZHAO, S.; SHUI, W.; JIANG, Y; WANG, M. G protein-coupled receptors: structure- and function-based drug discovery. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, London, v. 6, n. 7, Jan. 2021.
- ⁵⁵BRUST, C. A.; SWANSON, M. A.; BOHN, L. M. Structural and functional insights into the G protein-coupled receptors: CB1 and CB2. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 51, n.4, p. 1533–1543, Aug. 2023.
- ⁵⁶SHAHBAZI, F.; GRANDI, V.; BANERJEE, A.; TRANT, J. F. Cannabinoids and cannabinoid receptors: the story so far. **iScience**, Cambridge, v. 23, n. 7, p. 101301, Jul. 2020.
- ⁵⁷LI, X.; SHEN, L.; HUA, T.; LIU, Z. Structural and functional insights into cannabinoid receptors. **Trends in Pharmacological Sciences**, London, v. 41, n. 9, p. 665-677, Sept. 2020.

- ⁵⁸YUAN, J.; YANG, B.; HOU, G.; XIE, X.; FENG, Z. Targeting the endocannabinoid system: structural determinants and molecular mechanism of allosteric modulation. **Drug Discovery Today**, Oxon, v. 28, n. 7. p. 103615, Jul. 2023.
- ⁵⁹MOURA, P. R.; VIDAL, F. A. P. Transdução de sinais: uma revisão sobre proteína G. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 21, n. 1, p. 31-36, jan. 2011.
- ⁶⁰WEIR, C. J. Ion channels, receptors, agonists and antagonists. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 62-68, Dec. 2020.
- ⁶¹BERG, K. A.; CLARKE, W. P. Making sense of pharmacology: inverse agonism and functional selectivity. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, Oxford, v. 21, n. 10, p. 962-977, Aug. 2018.
- ⁶²SHEN, M.; THAYER, S. A. Delta9-tetrahydrocannabinol acts as a partial agonist to modulate glutamatergic synaptic transmission between rat hippocampal neurons in culture. **Molecular Pharmacology**, Bethesda, v. 55, n. 1, p. 8-13, Jan. 1999.
- ⁶³THOMAS, A.; BAILLIE, G. L.; PHILLIPS, A. M.; RAZDAN, R. K.; ROSS, R. A.; PERTWEE, R. G. Cannabidiol displays unexpectedly high potency as an antagonist of CB1 and CB2 receptor agonists in vitro. **British Journal of Pharmacology**, Hoboken, v. 150, n. 5, p. 613-23, Mar. 2007.
- ⁶⁴ARAÚJO, M.; ALMEIDA, M. B.; ARAÚJO, L. L. N. The cannabinoids mechanism of action: an overview. **Brazilian Journal of Pain**, São Paulo, v. 6, p. 109–113, Apr. 2023.
- ⁶⁵PERTWEE, R. G. Receptors and channels targeted by synthetic cannabinoid receptor agonists and antagonists. **Current Medicinal Chemistry**, Sharjah, v. 17, n. 14, p.1360-81, 2010.
- ⁶⁶BERMAN, H.M.; WESTBROOK, J.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT, T.N.; WEISSIG, H.; SHINDYALOV, I.N.; BOURNE, P.E. The protein data bank. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 28, p. 235-242, Jan. 2000.
- ⁶⁷BURLEY, S.K.; BHIKADIYA, C.; BI, C.; BITTRICH, S.; CHEN, L.; CRICHLLOW, G.V.; CHRISTIE, C.H.; DALENBERG, K.; CONSTANZO, L.D.; DUARTE, J.M.; DUTTA, S.; FENG, K.; GANESAN, S.; GOOSELL, D.S.; GHOSH, S.; GREEN, R.K.; GURANOVIC, V.; GUZENKO, D.; HUDSON, B.P.; LAWSON, C.L.; LIANG, Y.; LOWE, R.; NAMKONG, H.; PEISACH, E.; PERSIKIVA, I.; RANDLE, C.; ROSE, A.; ROSE, Y.; SALI, A.; SEGURA, J.; SEKHARAN, M.; SHAO, C.; TAO, Y.; VOIGT, M.; WESTBROOK, J.D.; YOUNG, J.Y.; ZARDECKI, C.; ZHURAVLEVA, M. RCSB protein data bank: powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology, bioengineering and energy sciences. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.49, p. D437–D451, Jan. 2021.

- ⁶⁸HUA, T.; VEMURI, K.; PU, M.; QU, L.; HAN, G. W.; WU, Y.; ZHAO, S.; SHUI, W.; LI, S.; KORDE, A.; LAPRAIRIE, R. B.; STAHL, E. L.; HO, J.; ZVONOK, N.; ZHOU, H.; KUFAREVA, I.; WU, B.; ZHAO, Q.; HANSON, M. A.; BOHN, L. M.; MAKRIYANNIS, A.; STEVENS, R. C.; LIU, Z. Crystal structure of the human cannabinoid receptor CB1. **Cell**, Cambridge, v. 167, n. 3, p. 750- 762.e14, Oct. 2016.
- ⁶⁹SHAO, Z.; YIN, J.; CHAPMAN, K.; GRZEMSKA, M.; CLARK, L.; WANG, J.; ROSENBAUM, D. M. High-resolution crystal structure of the human CB1 cannabinoid receptor. **Nature**, Berlin, v. 540, n. 7634, p. 602-606, Dec. 2016.
- ⁷⁰HUA, T.; VEMURI, K.; NIKAS, S. P.; LAPRAIRIE, R. B.; WU, Y.; QU, L.; PU, M.; KORDE, A.; JIANG, S.; HO, J.; HAN, G. W.; DING, K.; LI, X.; LIU, H.; HANSON, M. A.; ZHAO, S.; BOHN, L. M.; MAKRIYANNIS, A.; STEVENS, R. C.; LIU, Z. Crystal structures of agonist-bound human cannabinoid receptor CB1. **Nature**, Berlin, v. 547, n. 7664, p. 468-471, Jul. 2017.
- ⁷¹KUMAR, K. K.; SHALEV-BENAMI, M.; ROBERTSON, M. J.; HU, H.; BANISTER, S. D.; HOLLINGSWORTH, S. A.; LATORRACA, N. R.; KATO, H. E.; HILGER, D.; MAEDA, S.; WEIS, W. I.; FARRENS, D. L.; DROR, R. O.; MALHOTRA, S. V.; KOBILKA, B. K.; SKINIOTIS, G. Structure of a signaling cannabinoid receptor 1-G protein complex. **Cell**, Cambridge, v. 176, n. 3, p. 448-458.e12, Jan. 2019.
- ⁷²HUA, T.; LI, X.; WU, L.; ILIOPOULOS-TSOUSOUVAS, C.; WANG, Y.; WU, M.; SHEN, L.; JOHNSTON, C.A.; NIKAS, S.P.; SONG, F.; SONG, X.; YUAN, S.; SUN, Q.; WU, Y.; JIANG, S.; GRIM, T.W.; BENCHAMA, O.; STAHL, E.L.; ZVONOK, N.; ZHAO, S.; BOHN, L.M.; MAKRIYANNIS, A.; LIU, Z.J. Activation and signaling mechanism revealed by cannabinoid receptor-GiComplex structures. **Cell**, Cambridge, v. 180, n. 4, p. 655-665.e18, Feb. 2020.
- ⁷³KRISHNA KUMAR, K.; ROBERTSON, M.J.; THADHANI, E.; WANG, H.; SUOMIVUORI, C.M.; POWERS, A.S.; JI, L.; NIKAS, S.P.; DROR, R.O.; INOUE, A.; MAKRIYANNIS, A.; SKINIOTIS, G.; KOBILKA, B. Structural basis for activation of CB1 by an endocannabinoid analog. **Nature Communications**, Berlin, v. 14, p. 2672-2672, May 2023.
- ⁷⁴LI, X.; HUA, T.; VEMURI, K.; HO, J.H.; WU, Y.; WU, L.; POPOV, P.; BENCHAMA, O.; ZVONOK, N.; LOCKE, K.; QU, L.; HAN, G.W.; IYER, M.R.; CINAR, R.; COFFEY, N.J.; WANG, J.; WU, M.; KATRITCH, V.; ZHAO, S.; KUNOS, G.; BOHN, L.M.; MAKRIYANNIS, A.; STEVENS, R.C.; LIU, Z.J. Crystal structure of the human cannabinoid receptor CB2. **Cell**, Cambridge, v. 176, p. 459-467.e13, Jan. 2019.
- ⁷⁵XING, C.; ZHUANG, Y.; XU, T.H.; FENG, Z.; ZHOU, X.E.; CHEN, M.; WANG, L.; MENG, X.; XUE, Y.; WANG, J.; LIU, H.; MCGUIRE, T.F.; ZHAO, G.; MELCHER, K.; ZHANG, C.; XU, H.E.; XIE, X.Q. Cryo-EM structure of the human cannabinoid receptor CB2-Gi signaling complex. **Cell**, Cambridge, v. 180, p. 645, Feb. 2020.

- ⁷⁶LI, X.; CHANG, H.; BOUMA, J.; DE PAUS, L.V.; MUKHOPADHYAY, P.; PALOCZI, J.; MUSTAFA, M.; VAN DER HORST, C.; KUMAR, S.S.; WU, L.; YU, Y.; VAN DEN BERG, R.J.B.H.N.; JANSSEN, A.P.A.; LICHTMAN, A.; LIU, Z.J.; PACHER, P.; VAN DER STELT, M.; HEITMAN, L.H.; HUA, T. **Nature Communications**, Berlin, v. 14, p. 1447-1447, Mar. 2023.
- ⁷⁷HONÓRIO, K. M.; SILVA, A. B. F. A study on the influence of molecular properties in the psychoactivity of cannabinoid compounds. **Journal of Molecular Modeling**, New York, v. 11, n. 3, p. 200-209, Jun. 2005.
- ⁷⁸HONÓRIO, K. M.; LIMA, E. F.; QUILES, M. G.; ROMERO, R. A.; MOLFETTA, F. A.; DA SILVA, A. B. Artificial neural networks and the study of the psychoactivity of cannabinoid compounds. **Chemical Biology & Drug Design**, Hoboken, v. 75, n. 6, p. 632-640, Jun. 2010.
- ⁷⁹RAZDAN, R. K. Structure-activity relationships in cannabinoids. **Pharmacological Reviews**, Bethesda, v. 38, n. 2, p. 75-149, Jun. 1986.
- ⁸⁰DA SILVA, A. B. F.; TRSIC, M. Theoretical and conformational studies of a series of cannabinoids. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 356, n. 3, p. 247-256, Nov. 1995.
- ⁸¹KAZMI, S. R.; JUN, R.; YU, M.; JUNG, C.; NA, D. In silico approaches and tools for the prediction of drug metabolism and fate: a review. **Computers in Biology and Medicine**, Oxford, v. 106, p. 54-64, Mar. 2019.
- ⁸²SHAKER, B.; AHMAD, S.; LEE, J.; JUNG, C.; NA, D. In silico methods and tools for drug discovery. **Computers in Biology and Medicine**, Oxford, v. 137, p. 104851, Oct. 2021.
- ⁸³ROY, K.; DAS, R. N. A review on principles, theory and practices of 2D-QSAR. **Current Drug Metabolism**, Sharjsh, v. 15, p. 346-379, 2014.
- ⁸⁴OKSEL, C.; MA, C. Y.; LIU, J. J.; WILKINS, T.; WANG, X. Z. (Q)SAR modelling of nanomaterial toxicity: a critical review. **Particuology**, New York, v. 21 p. 1-19, Oct. 2015.
- ⁸⁵HUANG, J.; FAN, X. Why QSAR fails: an empirical evaluation using conventional computational approach. **Molecular Pharmaceutics**, Washington, v. 8, p. 600-608, Apr. 2011.
- ⁸⁶DANISHUDDIN; KHAN, A. U. Descriptors and their selection methods in QSAR analysis: paradigm for drug design. **Drug Discovery Today**, Oxford, v. 21, n. 8, p. 1291-1302, Aug. 2016.
- ⁸⁷WIENER, H. Structural determination of paraffin boiling points. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 69, p. 17-20, Jan. 1947.

- ⁸⁸Randic, M. On characterization of molecular branching. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 97, p. 6609-6614, Oct. 1975.
- ⁸⁹Balaban, A. T. Highly discriminating distance-based topological index. **Chemical Physics Letters**, Amsterdam, v. 89, n. 5, p. 399-404, Jul. 1982.
- ⁹⁰TODESCHINI, R.; CONSONNI, V. **Handbook of molecular descriptors**. Weinheim: Wiley-VCH, 2000.
- ⁹¹SOLTZBERG, L. J.; WILKINS, C. L. Molecular transforms: a potential tool for structure-activity studies. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 99, p. 439-443, 1977.
- ⁹²ZHANG, L.; WAN, J., YANG, G. A DFT-based QSARs study of protoporphyrinogen oxidase inhibitors: phenyl triazolinones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 12, p. 6183-6191, Dec. 2004.
- ⁹³FERREIRA, M. M. C.; KIRALJ, R. Métodos quimiométricos em relações quantitativas estrutura-atividade (QSAR). *In*: MONTANARI, C. A. (ed.). **Química medicinal: métodos e fundamentos em planejamento de fármacos**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2011. p. 387-453.
- ⁹⁴FERREIRA, M. M. C.; MONTANARI, C. A.; GAUDIO, A. C. Seleção de variáveis em QSAR. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 439-448, maio 2002.
- ⁹⁵MAHALAKSHMI, M.; KALAIVANI, P.; NESALAMAR, E. K. A review on genetic algorithm and its applications. **International Journal of Computing Algorithm**, v. 2, p. 415-423, 2013.
- ⁹⁶EKA'RT, A.; RENNER, G. Genetic algorithms in computer aided design. **Computer-Aided Design**, Oxford, v.35, p. 709-726, Jul. 2003.
- ⁹⁷ARROIO, A.; HONÓRIO, K. M.; SILVA, A. B. F. Propriedades químico-quânticas empregadas em estudos das relações estrutura-atividade. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 694-699, fev. 2010.
- ⁹⁸ZHANG, L.; WAN, J., YANG, G. A DFT-based QSARs study of protoporphyrinogen oxidase inhibitors: phenyl triazolinones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 12, p. 6183-6191, Dec. 2004.
- ⁹⁹ROY, P. P.; ROY, K. On some aspects of variable selection for partial least squares regression models. **QSAR & Combinatorial Science**, Weinheim, v. 27, n. 3, p. 302-313, Mar. 2008.
- ¹⁰⁰ALEXANDER, D. L. J.; TROPSHA, A.; WINKLER, D. A. Beware of R²: simple, unambiguous assessment of the prediction accuracy of QSAR and QSPR models. **Journal of Chemical Information and Modeling**, Washington, n. 55, v. 7, p. 1316-1322, Jul. 2015.

- ¹⁰¹GAUDIO, A. C.; ZANDONADE, E. Proposição, validação e análise dos modelos que correlacionam estrutura química e atividade biológica. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 5, p. 658-671, out. 2001.
- ¹⁰²MARTINS, J. P. A.; FERREIRA, M. M. C. QSAR *modeling*: um novo pacote computacional *open source* para gerar e validar modelos QSAR. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 4, p.554-560, mar. 2013.
- ¹⁰³MENG, X.; ZHANG, H.; MEZEI, M.; CUI, M. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. **Current Computer-Aided Drug Design**, Sharjah, v. 7, n. 2, p. 146-157, Jun. 2011.
- ¹⁰⁴AGU, P. C.; AFIUKWA, C. A.; ORJI, O. U.; EZEH, E. M.; OFOKE, I. H.; OGBU, C. O.; UGWUJA, E. I.; AJA, P. M. Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. **Scientific Reports**, Berlin, v. 13, n. 1, p. 13398, Ago. 2023.
- ¹⁰⁵KUNTZ, I. D.; BLANEY, J. M.; OATLEY, S. J.; LANGRIDGE, R., FERRIN, T. E. A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. **Journal of Molecular Biology**, London, v. 161, n. 2, p. 269–288, Oct. 1982.
- ¹⁰⁶MILLER, M. D.; KEARSLEY, S. K.; UNDERWOOD, D. J.; SHERIDAN, R. P. FLOG: a system to select ‘quasi-flexible’ ligands complementary to a receptor of known three-dimensional structure. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, Dordrecht, v. 8, n. 2, p. 153–174, Apr. 1994.
- ¹⁰⁷GOODSELL, D. S.; OLSON, A. J. Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing. **Proteins**, v. 8, n. 3, p. 195–202, 1990.
- ¹⁰⁸RAREY, M.; KRAMER, B.; LENGAUER, T.; KLEBE, G. A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm. **Journal of Molecular Biology**, London, v. 261, n. 3, p. 470–489, Aug. 1996.
- ¹⁰⁹FRIESNER, R. A.; BANKS, J. L.; MURPHY, R. B.; HALGREN, T. A.; KLICIC, J. J.; MAINZ, D. T.; REPASKY, M. P.; KNOLL, E. H.; SHELLEY, M.; PERRY, J. K.; SHAW, D. E.; FRANCIS, P.; SHENKIN, P. S. Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 47, n.7, p. 1739–1749, Mar. 2004.
- ¹¹⁰TROTT, 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**, Hoboken, v. 31, n. 2, p. 455-461, Jan. 2010.
- ¹¹¹MOLECULAR OPERATING ENVIRONMENT (MOE), 2022.02. Montreal: Chemical Computing Group, 2023.

- ¹¹²DILLER, D. J.; MERZ, K. M. JR. High throughput docking for library design and library prioritization. **Proteins-Structure, Function and Bioinformatics**, Hoboken, v. 43, n. 2, p.113–124, May 2001.
- ¹¹³BURKHARD, P.; TAYLOR, P.; WALKINSHAW, M. D. An example of a protein ligand found by database mining: description of the docking method and its verification by a 2.3 Å X-ray structure of a thrombin-ligand complex. **Journal of Molecular Biology**, London, v. 277, n. 2, p. 449–466, Mar. 1998.
- ¹¹⁴EWING, T. J.; MAKINO, S.; SKILLMAN, A. G.; KUNTZ, I. D. DOCK 4.0: search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, Dordrecht, v. 15, n. 5, p. 411–428, May 2001.
- ¹¹⁵WELCH, W.; RUPPERT, J.; JAIN, A. N. Hammerhead: fast, fully automated docking of flexible ligands to protein binding sites. **Chemistry & Biology**, Cambridge, v. 3, n. 6, p. 449–462, Jun. 1996.
- ¹¹⁶SCHNECKE, V.; KUHN, L. A. Virtual screening with solvation and ligand-induced complementarity. **Perspectives in Drug Discovery and Design**, Dordrecht, v. 20, p. 171–190, Dec. 2000.
- ¹¹⁷ZSOLDOS, Z.; REID, D.; SIMON, A.; SADJAD, B. S.; JOHNSON, A. P. eHiTS: an innovative approach to the docking and scoring function problems. **Current Protein and Peptide Science**, Sharjah, v. 7 n. 5, p. 421–435, Oct. 2006.
- ¹¹⁸MIRANKER, A.; KARPLUS, M. Functionality maps of binding sites: a multiple copy simultaneous search method. **Proteins-Structure, Function, and Bioinformatics**, Hoboken, v. 11, n. 1, p. 29–34, Aug. 1991.
- ¹¹⁹BOHM, H. J. LUDI: rule-based automatic design of new substituents for enzyme inhibitor leads. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, Dordrecht, v. 6, n. 6, p. 593–606, Dec. 1992.
- ¹²⁰GOODSELL, D. S.; OLSON, A. J. Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing. **Proteins-Structure, Function, and Bioinformatics**, Hoboken, v. 8, n. 3, p. 195–202, 1990.
- ¹²¹ABAGYAN, R.; TOTROV, M.; KUZNETSOV, D. ICM-A new method for protein modeling and design: applications to docking and structure prediction from the distorted native conformation. **Journal of Computational Chemistry**, Hoboken, v. 15, p. 488–506, May 1994.
- ¹²²MCMARTIN, C.; BOHACEK, R. S. QXP: powerful, rapid computer algorithms for structure-based drug design. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, Dordrecht, v. 11, n. 4, p. 333–344, Jul. 1997.
- ¹²³MORRIS, G. M.; GOODSELL, D. S.; HALLIDAY, R. S.; HUEY, R.; HART, W. E.; BELEW, R. K.; OLSON, A. J. Automated docking using a Lamarckian

genetic algorithm and an empirical binding free energy function. **Journal of Computational Chemistry**, Hoboken, v. 19, n. 14, p. 1639–1662, Nov. 1998.

- ¹²⁴VERDONK, M. L.; COLE, J. C.; HARTSHORN, M. J.; MURRAY, C. W.; TAYLOR, R. D. Improved protein-ligand docking using GOLD. **Proteins-Structure, Function, and Bioinformatics**, Hoboken, v. 52, n. 4, p. 609–623, Sept. 2003.
- ¹²⁵AJAY, K. P. C. Flexible ligand docking without parameter adjustment across four ligand- receptor complexes. **Journal of Computational Chemistry, Hoboken**, v. 16, p. 1210–1226, Oct 1995.
- ¹²⁶TAYLOR, J. S.; BURNETT, R. M. DARWIN: a program for docking flexible molecules. **Proteins-Structure, Function, and Bioinformatics**, Hoboken, v. 41, n. 2, p.173–191, Nov. 2000.
- ¹²⁷GEHLHAAR, D. K.; MOERDER, K. E.; ZICHI, D.; SHERMAN, C. J.; OGDEN, R. C.; FREER, S. T. De novo design of enzyme inhibitors by Monte Carlo ligand generation. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 38, n. 3, p. 466–472, Feb. 1995.
- ¹²⁸ELDRIDGE, M. D.; MURRAY, C. W.; AUTON, T. R.; PAOLINI, G. V.; MEE, R. P. Empirical scoring functions: I. The development of a fast empirical scoring function to estimate the binding affinity of ligands in receptor complexes. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, Dordrecht, v. 11, n. 5, p. 425–445, Sept. 1997.
- ¹²⁹MUEGGE, I.; MARTIN, Y. C. A general and fast scoring function for protein-ligand interactions: a simplified potential approach. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v.42, n. 5, p. 791–804, Feb. 1999.
- ¹³⁰GOHLKE, H.; HENDLICH, M.; KLEBE, G. Knowledge-based scoring function to predict protein-ligand interactions. **Journal of Molecular Biology**, London, v. 295, n. 2, p. 337-356, Jan. 2000.
- ¹³¹VILAR, S.; COZZA, G.; MORO, S. Medicinal chemistry and the molecular operating environment (MOE): application of QSAR and molecular docking to drug discovery. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, Sharjah, v. 8, n. 18, p.1555-1572, 2008.
- ¹³²MOHANTY, M; MOHANTY, P.S. Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: a tutorial review. **Monatshefte für Chemie**, Wien, v. 154, p. 683–707, Jun. 2023.
- ¹³³HOLLINGSWORTH, S. A.; DROR, R. Molecular dynamics simulation for all. **Neuron**, Cambridge, v. 99, n. 6 p. 1129-1143, Sept. 2018.
- ¹³⁴BARBHUIYA, S.; DAS, B. B. Molecular dynamics simulation in concrete research: a systematic review of techniques, models and future directions. **Journal of Building Engineering**, Amsterdam, v. 76, p. 107267, Oct. 2023.

- ¹³⁵MOUVET, F.; VILLARD, J.; BOLNYKH, V.; ROTHLSBERGER. Recent advances in first-principles based molecular dynamics. **Accounts of Chemical Research**, Washington, v. 55, n. 3, p. 221-230, Feb. 2022.
- ¹³⁶GISSINGER, J. R.; JENSEN, B. D.; WISE, K. E. Modeling chemical reactions in classical molecular dynamics simulations. **Polymer**, Oxon, v. 128, p. 211-217, Oct. 2017.
- ¹³⁷JOUTSUKA, T. Molecular mechanism of autodissociation in liquid water: ab initio molecular dynamics simulations. **Journal of Physical Chemistry B**, Washington, v. 126, n. 24, p. 4565-4571, Jun. 2022.
- ¹³⁸SUTER, J. L.; ANDERSON, R. L.; GREENWELL, H. C.; COVENEY, P. V. Recent advances in large-scale atomistic and coarse-grained molecular dynamics simulation of clay minerals. **Journal of Materials Chemistry**, Cambridge, v. 19, n. 17, p. 2482-2493, Feb. 2009.
- ¹³⁹MARTINI, A.; EDER, S. J.; DÖRR, N. Tribochemistry: a review of reactive molecular dynamics simulations. **Lubricants**, Basel, v. 8, n. 4, p. 44, Apr. 2020.
- ¹⁴⁰RICHINGS, G.W.; POLYAK, I.; SPINLOVE, K. E.; WORTH, G. A.; BURGHARDT, I.; LASORNE, B. Quantum dynamics simulations using Gaussian wavepackets: the vMCG method. **International Reviews in Physical Chemistry**, Oxon, v. 34, n. 2, p. 269-308, May 2015.
- ¹⁴¹YANG, Y. I; SHAO, Q.; ZHANG, J.; YANG, L.; GAO, Y. Q. Enhanced sampling in molecular dynamics. **Journal of Chemical Physics**, Melville, v. 151, n. 7, Article 070902, Aug. 2019.
- ¹⁴²TODD, B. D.; DAIVIS, P. J. Homogeneous non-equilibrium molecular dynamics simulations of viscous flow: techniques and applications. **Molecular Simulation**, Oxon, v. 33, n. 3, p. 189-229, 2007.
- ¹⁴³HESS, B.; KUTZNER, C.; VAN DER SPOEL, D.; LINDAHL, E. GROMACS 4: Algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation. **Journal of Chemical Theory and Computation**, Washington, v. 4, p. 435-447, 2008.
- ¹⁴⁴PHILLIPS, J.C.; HARDY, D.J.; MAIA, J.D.C.; STONE, J.E.; RIBEIRO, J.V.; BERNARDI, R.C.; BUCH, R.; FIORIN, G.; HÉNIN, J.; JIANG, W.; MCGREEVY, R.; MELO, M. C. R.; RADAČ, B. K.; SKEEEL, R. D.; SINGHAROV, A.; WANG, Y.; ROUX, B.; AKSIMENTIEV, A.; LUTHEY-SCHUKTEN, Z.; KALÉ, L.; SCHULTEN, K.; CHIPOT, C.; TAJKHORSHID, E. Scalable molecular dynamics on CPU and GPU architectures with NAMD. **Journal of Chemical Physics**, Melville, v. 153, p. 044130, Jul. 2020.
- ¹⁴⁵SALOMON-FERRER, R.; CASE, D.A.; WALKER, R.C. An overview of the Amber biomolecular simulation package. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, Hoboken, v. 3, p. 198-210, Mar. 2013.

- ¹⁴⁶BROOKS, B.R.; BROOKS III, C.L.; MACKERELL, A.D., JR.; NILSSON, L.; PETRELLA, R.J.; ROUX, B.; WON, Y.; ARCHONTIS, G.; BARTELS, C.; BORESCH, S. et al. CHARMM: the biomolecular simulation program. **Journal of Computational Chemistry**, Hoboken, v. 30, p. 1545–1614, Jul. 2009.
- ¹⁴⁷SALO-AHEN, O.M.H.; ALANKO, I.; BHADANE, R.; BONVIN, A.M.J.J.; HONORATO, R.V.; HOSSAIN, S.; JUFFER, A.H.; KABEDEV, A.; LAHTELA-KAKKONEN, M.; LARSEN, A. S.; LESCRIER, E.; MARIMUTHU, P.; MIRZA, M. U.; MUSTAFÁ, G.; NUNES-ALVES, A.; PANTSAR, T.; SAADABADI, A.; SINGARAVELU, K.; VANMEERT, M. Molecular dynamics simulations in drug discovery and pharmaceutical development. **Processes**, Basel, v. 9, p. 71, Dec. 2020.
- ¹⁴⁸HORNAK, V.; ABEL, R.; OKUR, A.; STROCKBINE, B.; ROITBERG, A.; SIMMERLING, C. Comparison of multiple Amber force fields and development of improved protein backbone parameters. **Proteins-Structure Function And Bioinformatics**, Hoboken, v. 65, n. 3, p. 712–725, Nov. 2006.
- ¹⁴⁹BEST, R.B.; ZHU, X.; SHIM, J.; LOPES, P.E.; MITTAL, J.; FEIG, M.; MACKERELL, A.D., Jr. Optimization of the additive CHARMM all-atom protein force field targeting improved sampling of the backbone ϕ , ψ and side-chain $\chi(1)$ and $\chi(2)$ dihedral angles. **Journal of Chemical Theory and Computation**, Washington, v. 8, n. 9, p. 3257–3273, Sept. 2012.
- ¹⁵⁰OOSTENBRINK, C.; VILLA, A.; MARK, A. E.; VAN GUNSTEREN, W. F. A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: The GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6. **Journal of Computational Chemistry**, Hoboken, v. 25, n. 13, p. 1656–1676, Oct. 2004.
- ¹⁵¹VENABLE, R. M.; SODT, A. J.; ROGASKI, B.; RUI, H.; HATCHER, E.; MACKERELL JUNIOR, A.D.; PASTOR, R. W.; KLAUDA, J. B. CHARMM all-atom additive force field for sphingomyelin: elucidation of hydrogen bonding and of positive curvature. **Biophysical Journal**, Cambridge, v. 107, n. 1, p. 134–145, Jul. 2014.
- ¹⁵²DICKSON, C.J.; MADEJ, B.D.; SKJEVIK, Å.A.; BETZ, R.M.; TEIGEN, K.; GOULD, I.R.; WALKER, R.C. Lipid14: The Amber lipid force field. **Journal of Chemical Theory and Computation**, Washington, v. 10, n. 2, p. 865–879, Feb. 2014.
- ¹⁵³HARDER, E.; DAMM, W.; MAPLE, J.; WU, C.; REBOUL, M.; XIANG, J.Y.; WANG, L.; LUPYAN, D.; DAHLGREN, M.K.; KNIGHT, J.L. et al. OPLS3: A force field providing broad coverage of drug-like small molecules and proteins. **Journal of Chemical Theory and Computation**, Washington, v. 12, n. 1, p. 281–296, Jan. 2016.
- ¹⁵⁴VANOMMESLAEGHE, K.; HATCHER, E.; ACHARYA, C.; KUNDU, S.; ZHONG, S.; SHIM, J.; DARIAN, E.; GUVENCH, O.; LOPES, P.; VOROBYOV, I. CHARMM general force field: a force field for drug-like molecules compatible

with the CHARMM all-atom additive biological force fields. **Journal of Computational Chemistry**, Hoboken, v. 31, n. 4, p. 671–690, Mar. 2010.

- ¹⁵⁵RAMPOGU, S.; LEE, G.; PARK, J. S.; LEE, K. W.; KIM, M.O. Molecular docking and molecular dynamics simulations discover curcumin analogue as a plausible dual inhibitor for SARS-CoV-2. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 23, n. 3, p. 1771, Feb. 2022.
- ¹⁵⁶SHRIVASTAVA, A.; MATHUR, K.; VERMA, K.; MAGANI, K. J.; VYAS, D. K.; SINGH, A. Molecular dynamics study of tropical calcific pancreatitis (TCP) associated calcium-sensing receptor single nucleotide variation. **Frontiers in Molecular Biosciences**, Lausanne, v. 9, Oct. 2022.
- ¹⁵⁷HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics & Modelling**, New York, v. 14, n. 1, p. 33-38, Feb. 1996.
- ¹⁵⁸DAVIES, M.; NOWOTKA, M.; PAPADATOS, G.; DEDMAN, N.; GAULTON, A.; ATKINSON, F.; BELLIS, L.; OVERINGTON, J.P. ChEMBL web services: streamlining access to drug discovery data and utilities. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 43, p. W612-W620, Jul. 2015.
- ¹⁵⁹MENDEZ, D.; GAULTON, A.; BENTO, A.P.; CHAMBERS, J.; VEIJ, M. D.; FELIX, E.; MARGARINOS, M.P.; MOSQUERA, J. F.; MUTOWO, P.; NOWOTKA, M.; GORDILLO-MARAÑÓN, M.; HUNTER, F.; JUNCO, L.; MUGUMBATE, G.; RODRIGUEZ-LOPES, M.; ATKINSON, F.; BOSCH, N.; RADOUX, C.J.; SEGURA-CABRERA, A.; HERSEY, A.; LEACH, A.R. ChEMBL: towards direct deposition of bioassay, data. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 47, p. D930-D940, Jan. 2019.
- ¹⁶⁰TARASOVA, O.A.; UROSOVA, A.F.; FILIMONOV, D.A.; NICKLAUS, M.C.; ZAKHAROV, A.V.; POROIKOV, V.V. QSAR modeling using large-scale databases: case study for HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. **Journal of Chemical Information and Modeling**, Washington, v. 55, p. 1388-1399, Jul. 2015.
- ¹⁶¹BEDIAGA, H.; ARRASATE, S.; GONZÁ LEZ-DÍAZ, H. PTML Combinatorial model of ChEMBL compounds assays for multiple types of cancer. **ACS Combinatorial Science**, Washington, v. 20, p. 621–632, Nov. 2018.
- ¹⁶²ŠKUTA, C.; CORTÉS-CIRIANO, I.; DEHAEN, W.; KŘÍŽ, P.; VAN WESTEN, G. J. P.; TETKO, I. V.; BENDER, A.; SVOZIL, D. QSAR-derived affinity fingerprints (part 1): fingerprint construction and modeling performance for similarity searching, bioactivity classification and scaffold hopping. **Journal of Cheminformatics**, London, n. 12, May 2020.
- ¹⁶³GAULTON, A.; HERSEY, A.; NOWOTKA, M.; BENTO, A.P.; CHAMBERS, J.; MENDEZ, D.; MUTOWO, P.; ATKINSON, F.; BELLIS, L.J.; CIBRIÁN-UHALTE, E.; DAVIES, M.; DEDMAN, N.; KARLSSON, A.; MARGARIÑOS, M.P.; OVERINGTON, J.P.; PAPADATOS, G.; SMIT, I.; LEACH, A.R. The ChEMBL

database in 2017. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 45, n. D1, p. D945–D954, Jan. 2017.

- ¹⁶⁴BENTO, A.P.; GAULTON, A.; HERSEY, A.; BELLIS, L.J.; CHAMBERS, J.; DAVIES, M.; KRÜGER, F.A.; LIGHT, Y.; MAK, L.; MCGLINCHEY, S.; NOWOTKA, M.; PAPADATOS, G.; SANTOS, R.; OVERINGTON, J.P. The ChEMBL bioactivity database: an update. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 42, p. D1083–D1090, Jan. 2014.
- ¹⁶⁵FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G.E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; SCALMANI, G.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; CARICATO, M.; LI, X.; HRATCHIAN, H.P.; IZMAYLOV, A. F.; BLOINO, J.; ZHENG, G.; SONNENBERG, J. L.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; VREVEN, T.; MONTGOMERY, JR. J. A.; PERALTA, J. E.; OGLIARO, F.; BEARPARK, M.; HEYD, J. J.; BROTHERS, E.; KUDIN, K N.; STAROVEROV, V. N.; KOBAYASHI, R.; NORMAND, J.; RAGHAVACHARI, K.; RENDELL, A.; BURANT, J. C.; IYENGAR, S.S.; TOMASI, J.; COSSI, M.; REGA, N.; MILLAM, N. J.; KLENE, M.; KNOX, J. E.; CROSS, J. B.; BAKKEN, V.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERS, R.; STRATMANN, R. E.; YAZYEV, O.; AUSTIN, A. J.; CAMMI, R.; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J. W.; MARTIN, R. L.; MOROKUMA, K.; ZAKRZEWSKI, V. G.; VOTH, G. A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J. J.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A.D.; FARKAS, O.; FORESMAN, J. B.; ORTIZ, J. V.; CIOSLOWSKI, J.; FOX, D. J. **Gaussian 09**. Revision A. 01. Wallingford: Gaussian, 2009.
- ¹⁶⁶LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, College Park, v. 785, n. 37, Jan. 1988.
- ¹⁶⁷TODESCHINI, R.; CONSONNI, V.; PAVAM, M. **Dragon**. Software 2.1. Milano: Chemometrics & Research Group, 2002.
- ¹⁶⁸DE OLIVEIRA, D. B.; GAUDIO, A. C.; BuildQSAR: a new computer program for QSAR analysis. **Quantitative Structure-Activity Relationships**, Weinheim, v. 19, n. 6, p. 599-601, Jan. 2001.
- ¹⁶⁹INFOMETRIX. **PIROUETTE**. Versão 3.10. Bothell, 2002.
- ¹⁷⁰MARTINS, J. P. A.; FERREIRA, M. M. C. QSAR modeling: um novo pacote computacional *open source* para gerar e validar modelos QSAR. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 4, p.554-560, 2013.
- ¹⁷¹JO, S.; KIM, T.; IYER, V. G.; IM, W. CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM. **Journal of Computational Chemistry**, Hoboken, v. 29, p. 1859-1865, Aug. 2008.
- ¹⁷²LEE, J.; CHENG, X.; SWAILS, J. M.; YEOM, M. S.; EASTMAN, P. K.; LEMKUL, J. A.; WEI, S.; BUCKNER, J.; JEONG, J. C.; QI, Y.; JO, S.; PANDE,

V. S.; CASO, D. A.; BROOKS III, C. L.; MACKERELL JUNIOR, A. D.; KLAUDA, J. B.; IM, W. 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**, Washington, v. 12, n. 1, p. 405-413, Jan. 2016.

¹⁷³GOLBRAIKH, A.; TROPSHA, A. Beware of q^2 ! **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, New York, v. 20, n. 4, p. 269-276, Jan. 2002.

¹⁷⁴TROPSHA, A.; GRAMATICA, P.; GOMBAR, V. K. The importance of being earnest: validation is the absolute essential for successful application and interpretation of QSPR models. **QSAR & Combinatorial Science**, Weinheim, v. 22, n. 1, p. 69-77, Dec. 2003.

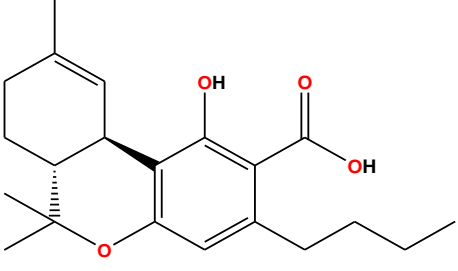
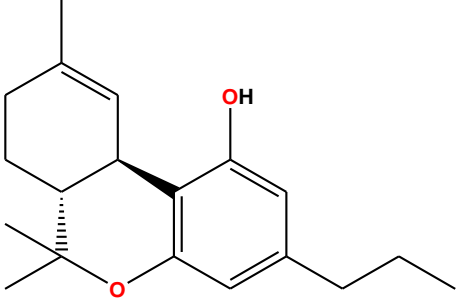
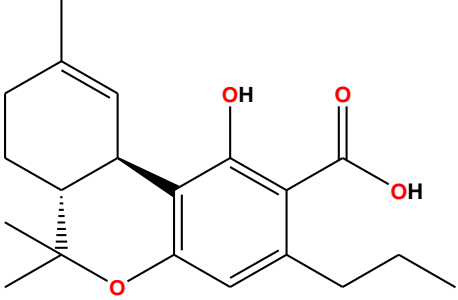
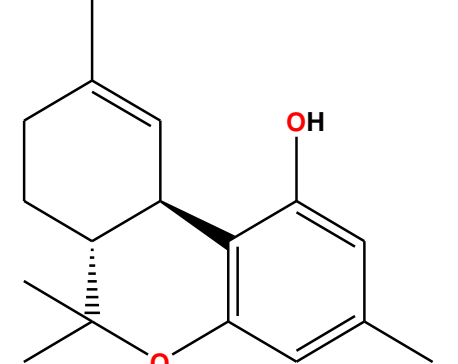
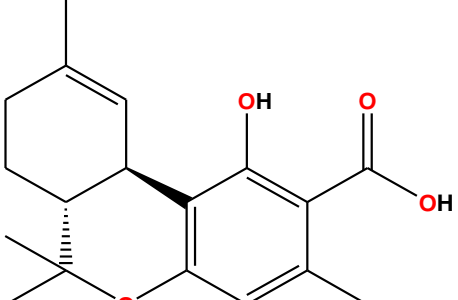
¹⁷⁵TODESCHINI, R.; CONSONNI, V. **Handbook of molecular descriptors**. Weinheim: Wiley-VCH, 2000.

¹⁷⁶CHIARI, L. P. A.; SILVA, A. P.; HONORIO, K. M.; SILVA, A. B. F. A PLS study on the psychotropic activity for a series of cannabinoid compounds. **Journal of Molecular Modeling**, New York, v. 29, n. 2, p. 46, Jan 2023.

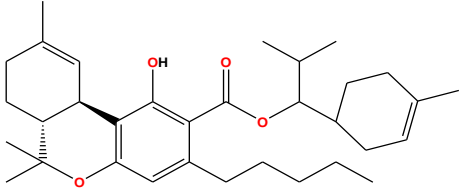
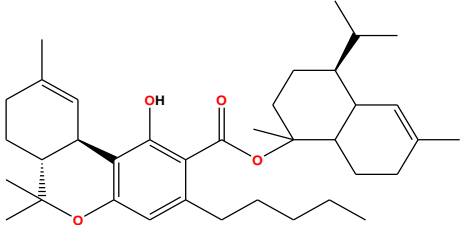
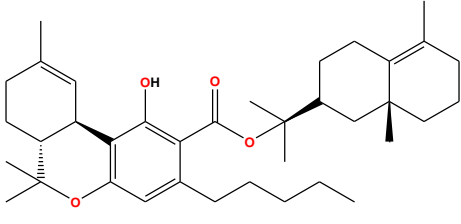
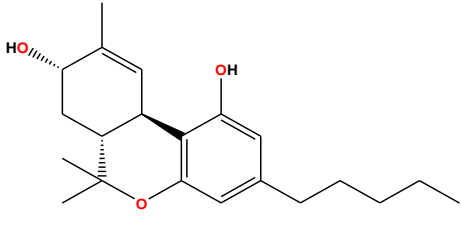
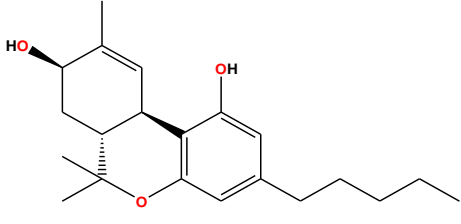
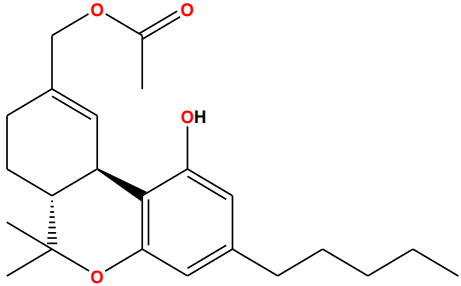
APÊNDICES

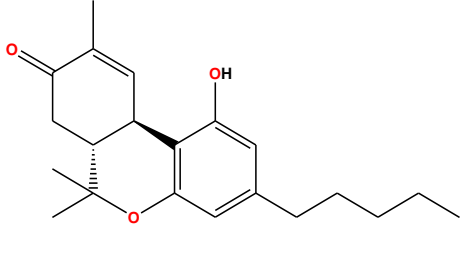
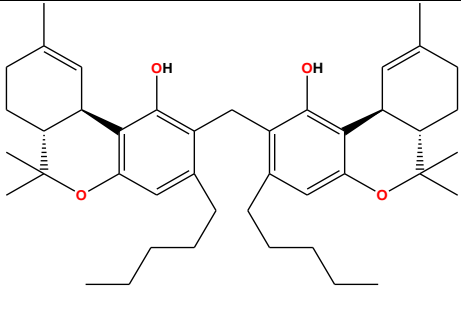
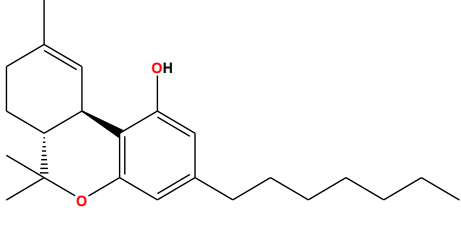
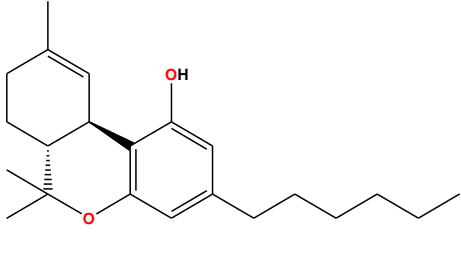
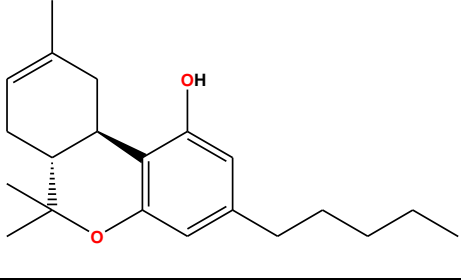
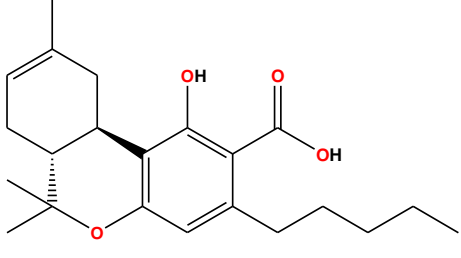
Apêndice A. Compostos canabinoides isolados e identificados na planta *Cannabis sativa*.

Subclasse	Numeração	Composto	Estrutura molecular
Δ^9 - tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC)	1	Δ^9 - tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC ou Δ^9 -THC- C ₅)	
	2	Ácido Δ^9 - tetrahydrocannabinólico o A (Δ^9 -THCAA-C ₅)	
	3	Ácido Δ^9 - tetrahydrocannabinólico o B (Δ^9 -THCAB-C ₅)	
	4	Δ^9 - tetrahydrocannabinol- C ₄ (Δ^9 -THC-C ₄)	

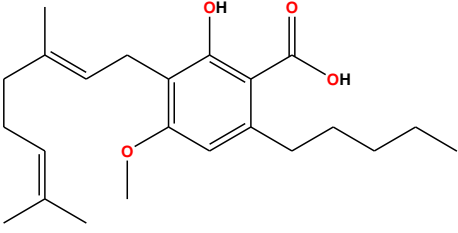
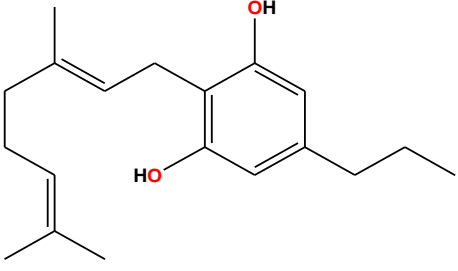
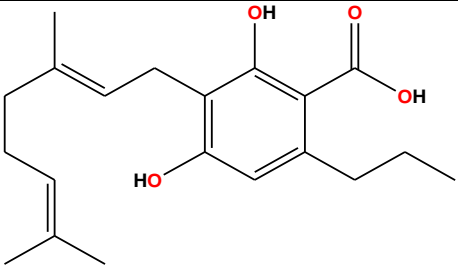
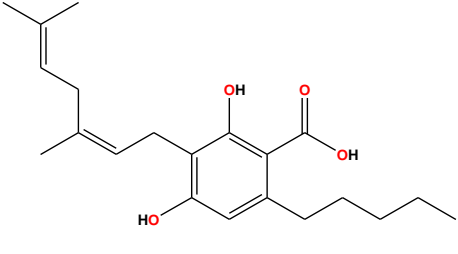
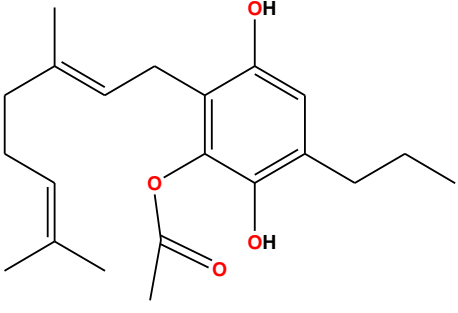
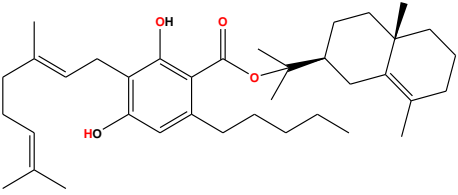
5	<p>Ácido Δ^9- tetrahydrocannabinólic o A-C₄ (Δ^9-THCAA- C₄)</p>	
6	<p>Δ^9- tetrahydrocannabivari n (Δ^9-THCV)</p>	
7	<p>Ácido Δ^9- tetrahydrocannabivari nico (Δ^9-THCVAA)</p>	
8	<p>Δ^9- tetrahydrocannabinorco I (Δ^9-THCO)</p>	
9	<p>Ácido Δ^9- tetrahydrocannabinorcó lico (Δ^9-THCOAA)</p>	

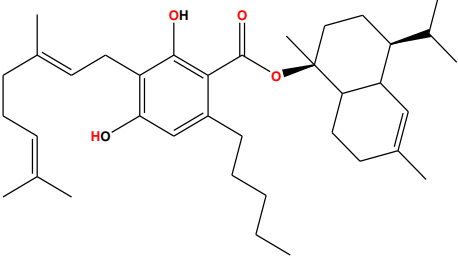
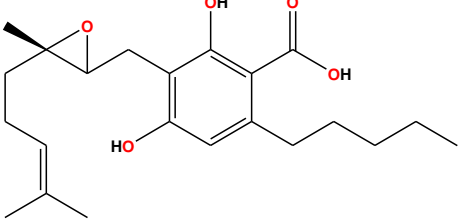
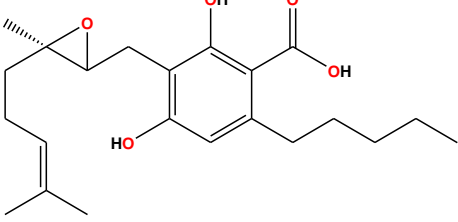
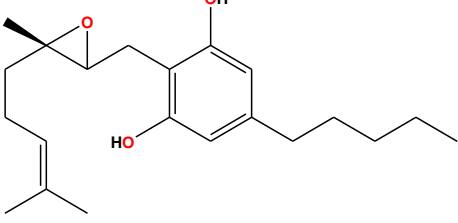
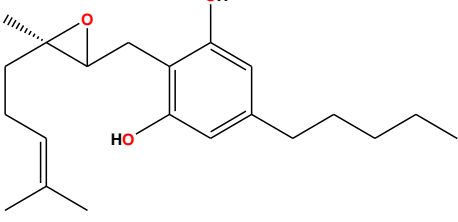
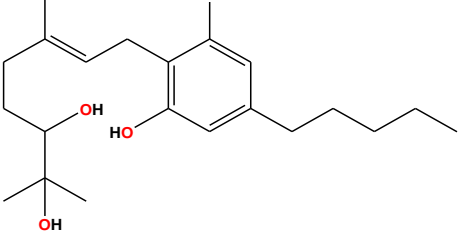
10	Δ^9 - tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC-aldeído)	
11	β -fenquil- Δ^9 - tetrahydrocannabinol	
12	α -fenquil- Δ^9 - tetrahydrocannabinol	
13	epi-bornil- Δ^9 - tetrahydrocannabinol	
14	bornil- Δ^9 - tetrahydrocannabinol	
15	α -terpenil- Δ^9 - tetrahydrocannabinol	

16	4-terpenil- Δ^9 -tetrahydrocannabinol	 <p>The structure shows a central benzene ring with a hydroxyl group at the 1-position and a pentyl group at the 5-position. At the 2-position, there is a cyclohexane ring with a methyl group at the 1-position and a propyl group at the 4-position. At the 3-position, there is a propyl group. At the 4-position, there is a propyl group.</p>
17	α -cadinil- Δ^9 -tetrahydrocannabinol	 <p>The structure is similar to 4-terpenil-Δ^9-THC, but the propyl group at the 4-position of the cyclohexane ring is replaced by a 1,2,3,4,4a,8-hexahydrocannabinol-1-yl group.</p>
18	γ -eudesmil- Δ^9 -tetrahydrocannabinol	 <p>The structure is similar to 4-terpenil-Δ^9-THC, but the propyl group at the 4-position of the cyclohexane ring is replaced by a 1,2,3,4,4a,8-hexahydrocannabinol-1-yl group with a methyl group at the 4-position.</p>
19	8 α -hidroxi- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (8 α -OH- Δ^9 -THC)	 <p>The structure is similar to 4-terpenil-Δ^9-THC, but with a hydroxyl group at the 8-position of the cyclohexane ring, shown with a dashed bond.</p>
20	8 β -hidroxi- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (8 β -OH- Δ^9 -THC)	 <p>The structure is similar to 4-terpenil-Δ^9-THC, but with a hydroxyl group at the 8-position of the cyclohexane ring, shown with a wedged bond.</p>
21	11-acetoxi- Δ^9 -tetrahydrocannabinol	 <p>The structure is similar to 4-terpenil-Δ^9-THC, but with an acetoxy group at the 11-position of the cyclohexane ring.</p>

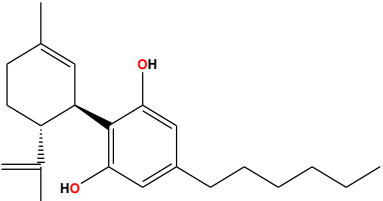
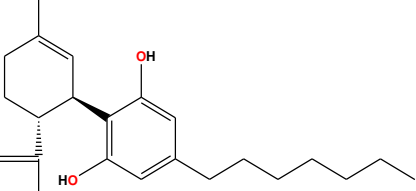
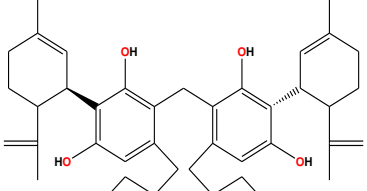
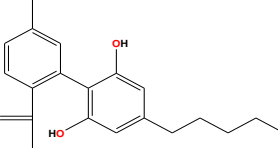
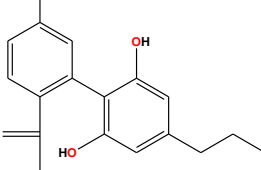
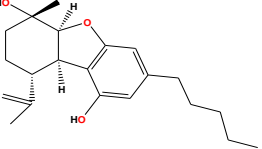
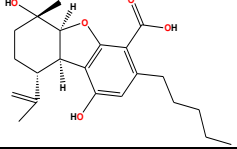
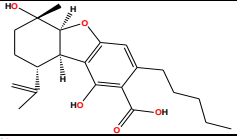
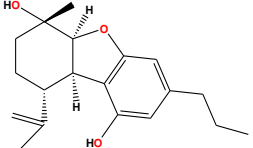
	22	8-oxo- Δ^9 - tetrahydrocannabinol	
	23	Canabisol	
	24	Δ^9 - tetrahydrocannabinol	
	25	Δ^9 - tetrahydrocannabinol	
Δ^8 - tetrahydrocannabinol ol (Δ^8 -THC)	26	Δ^8 - tetrahydrocannabinol (Δ^8 -THC)	
	27	Ácido Δ^8 - tetrahydrocannabinólic o A (Δ^8 -THCA)	

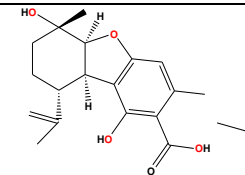
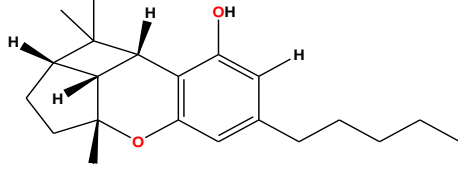
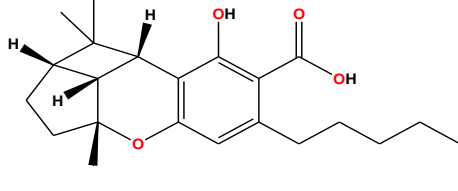
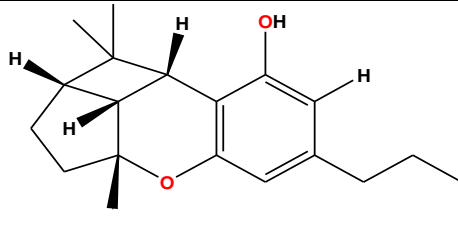
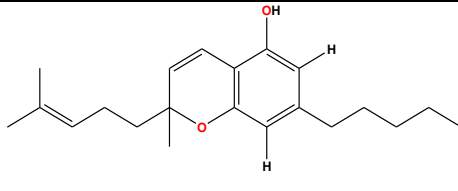
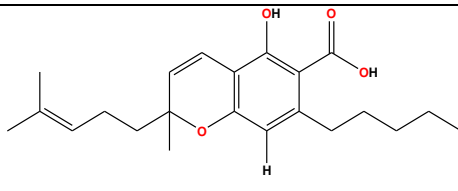
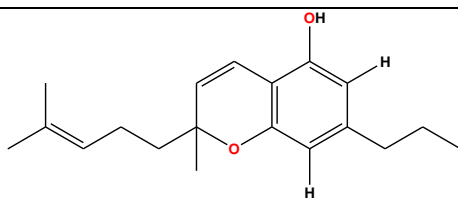
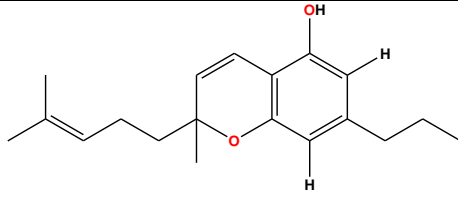
	28	10 α -hidroxi- Δ^8 -tetra- hidrocanabinol (10 α -OH- Δ^8 -THC)	
	29	10 β -hidroxi- Δ^8 - tetrahidrocanabinol (10 β -OH- Δ^8 -THC)	
	30	10 α -hidroxi-10-oxo- Δ^8 - tetrahidrocanabinol (10 α -10-oxo-OH- Δ^8 -THC)	
Canabigerol (CBG)	31	Canabigerol	
	32	Ácido canabigerólico (CBGAA)	
	33	Éter monometílico de canabigerol (CBGM)	

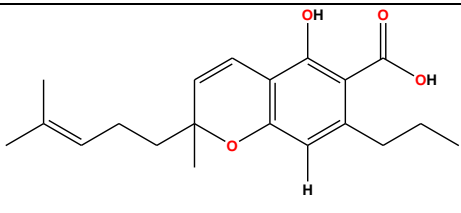
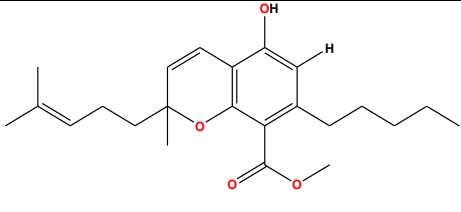
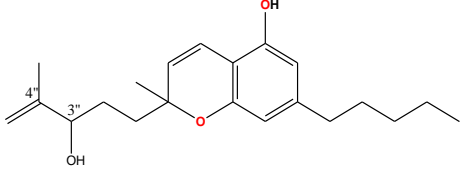
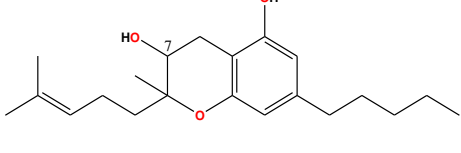
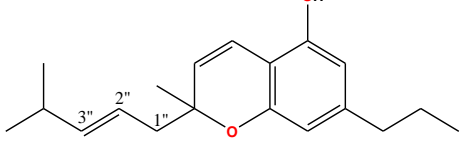
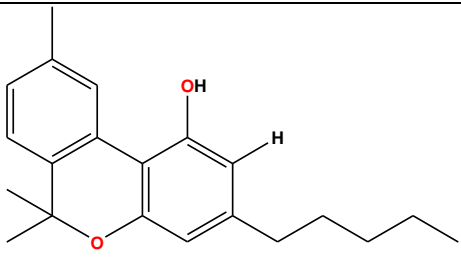
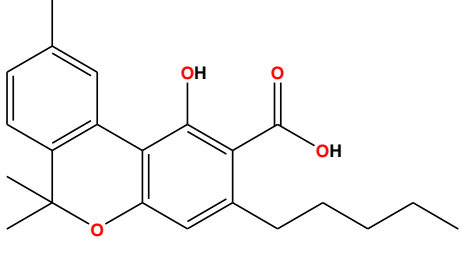
34	Éter monometílico de ácido canabigerólico (CBGAM)	
35	Canabigerovarín (CBGV)	
36	Ácido canabigerovarínico (CBGVA)	
37	Ácido canabinerólico (CBGA-C ₅)	
38	5-acetil-4-hidroxi-canabigerol	
39		

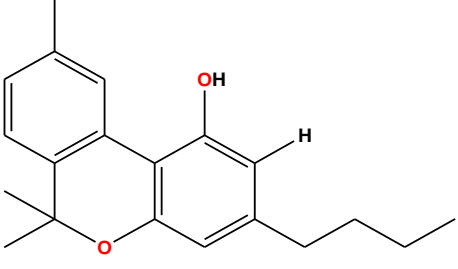
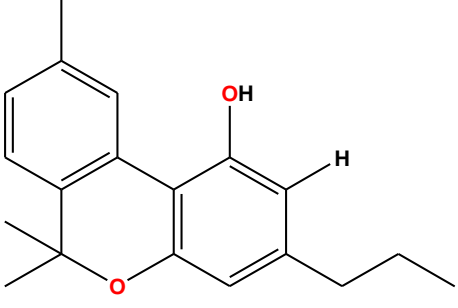
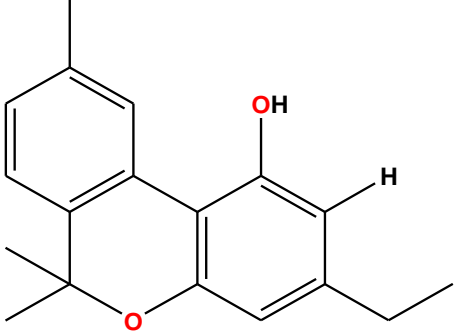
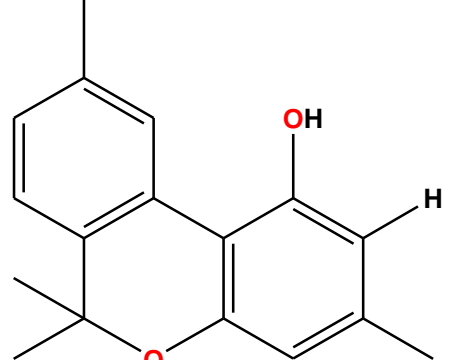
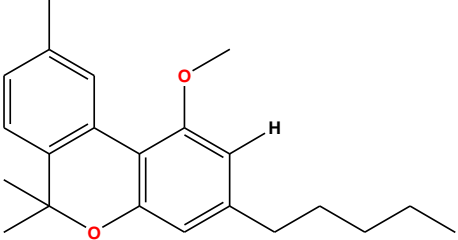
40		
41		
42		
43		
44		
45	Camagerol	

	46	Sesquicanabigerol	
Canabidiol (CBD)	47	Canabidiol (CBD)	
	48	CBDA	
	49	CBDM	
	50	CBD-C4	
	51	CBDV	
	52	CBDVA	
	53	CBD-C1	

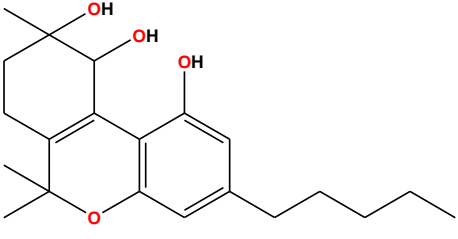
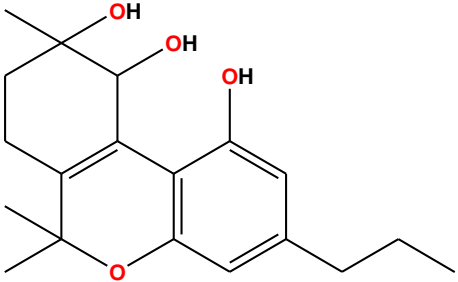
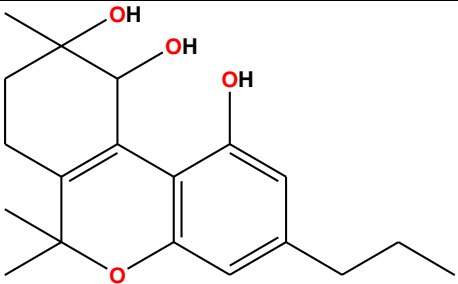
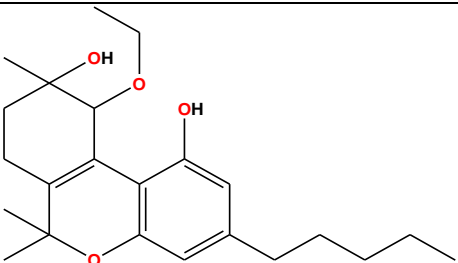
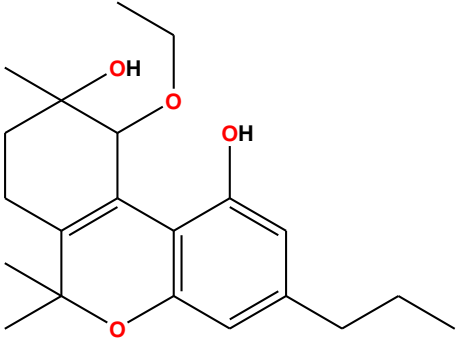
	54	CBDH	
	55	CBDP	
	56	CBDD	
Canabinodiol ou (CBND)	57	CBND-C ₅	
	58	CBND-C ₃	
Canabielsoina (CBE)	59	CBE-C ₅	
	60	CBEAA-C ₅	
	61	CBEAB-C ₅	
	62	CBE-C ₃	

	63	CBEAB-C ₃	
Canabiciól (CBL)	64	Canabiciól (CBL)	
	65	Ácido canabiciól (CBLA)	
	66	Canabiciólvarin (CBLV)	
Canabicromeno (CBC)	67	Canabicromeno (CBC)	
	68	Ácido canabicromênico (CBCA)	
	69	Canabivaricromeno (±CBCV)	
	70	Canabicromevarin (+CBCV)	

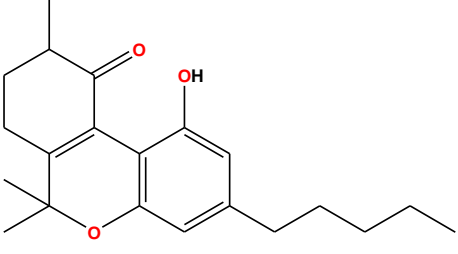
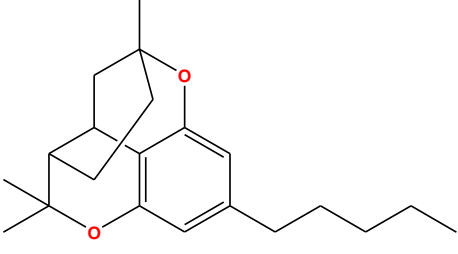
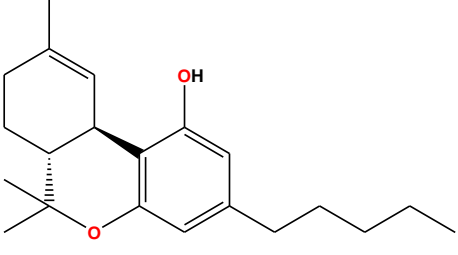
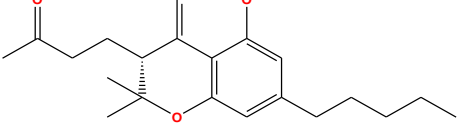
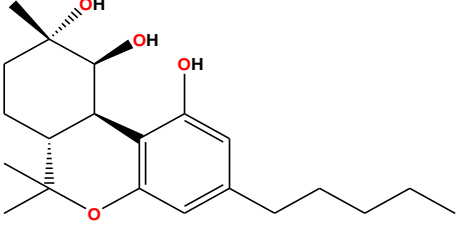
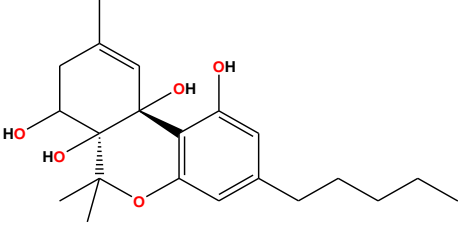
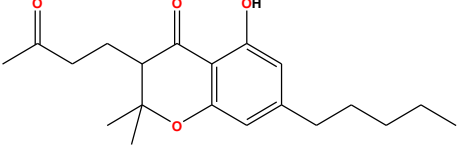
	71	Ácido canabícromevarínico (CBCVA)	
	72	(±)-4-acetoxi-canabícromeno	
	73	(±)-3''-hidroxi-Δ ^{4''} -canabícromeno	
	74	(-)-7-hidroxicanabícromeno	
	75	CBC-C ₃	
Canabinol (CBN)	76	CBN-C ₅	
	77	CBNA-C ₅	

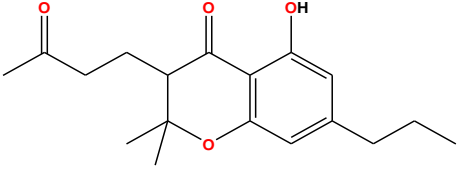
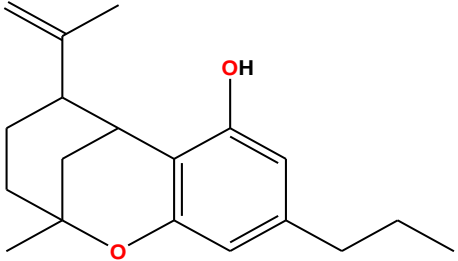
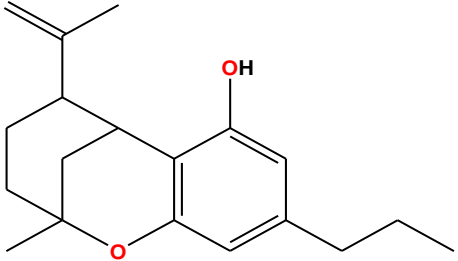
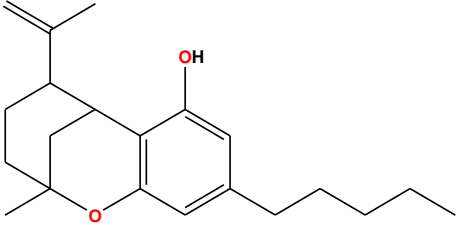
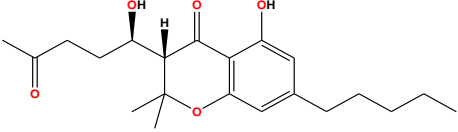
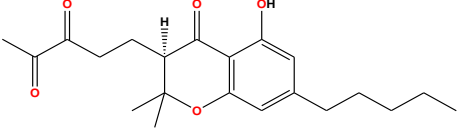
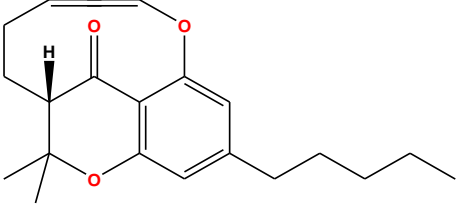
78	CBN-C ₄	
79	CBN-C ₃	
80	CBN-C ₂	
81	CBN-C ₁	
82	CBNM-C ₅	

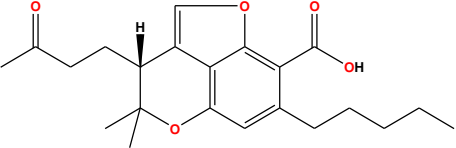
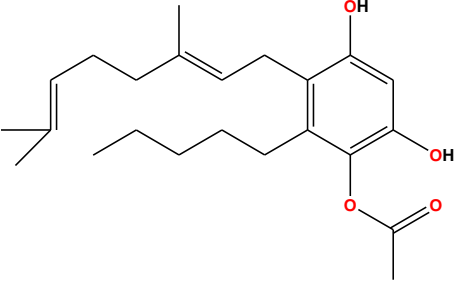
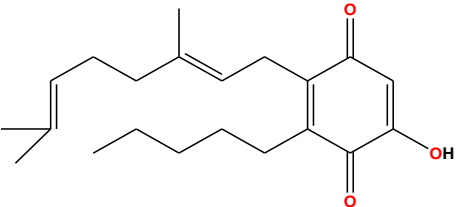
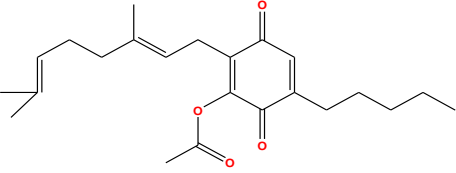
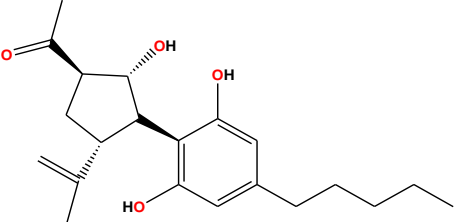
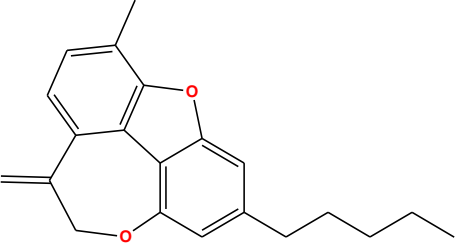
	83	8-hidroxicanabinol (8-OH-CBN)	
	84	Ácido 8-hidroxi canabinólico A (8-OH-CBNA)	
	85	1'S-hidroxi- canabinol (1'S-OH-CBN)	
	86	4-terpenil- canabinolato	
Canabitriol (CBT)	87	(-)-trans-CBT-C ₅	
	88	(+)-trans-CBT-C ₅	

89	(\pm) -cis-CBT-C ₅	
90	(\pm) -trans-CBT-C ₃	
91	Homólogo do CBT-C ₃	
92	$(-)$ -trans-CBT-OEt-C ₅	
93	$(-)$ -trans-CBT-OEt-C ₃	

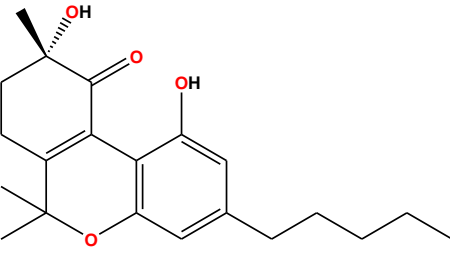
	94	8,9-Di-OH-CBT-C ₅	
	95	Éster CBDA-C ₅ 9-OH-CBT-C ₅	
Variados	96	Dehidrocanabifuran (DCBF-C ₅)	
	97	Canabifuran (CBF-C ₅)	
	98	8-hidroxi- isohexaidrocanabivir in (OH-iso-HHCV-C ₃)	

99	10-oxo- $\Delta^{6a(10a)}$ -tetrahydrocannabinol (OTHC)	
100	Canabicitran	
101	(-)- Δ^9 -cis-(6aS,10aR)-tetrahydro-cannabinol (cis- Δ^9 -THC)	
102	canabicumaronona (CBCON-C ₅)	
103	Canabiripsol (CBR)	
104	Canabitetrol (CBTT)	
105	Canabicromanona-C ₅ (CBCN-C ₅)	

106	Canabicyclanona- C ₃ (CBCN-C ₃)	
107	(±)-Δ ⁷ -cis- isotetrahydrocannabi- varin-C ₃ (cis-iso-Δ ⁷ -THCV)	
108	(–)-Δ ⁷ - trans-(1R,3R,6R)- isotetrahydrocannabi- varin-C ₃ (trans-iso-Δ ⁷ -THCV)	
109	(–)-Δ ⁷ -trans- (1R,3R,6R)- isotetrahydrocannabi- nol-C ₅ (trans-iso-Δ ⁷ -THC)	
110	Canabicyclanona B	
111	Canabicyclanona C	
112	Canabicyclanona D	

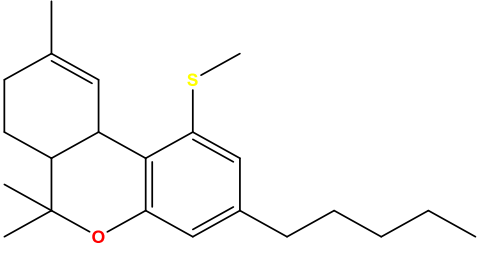
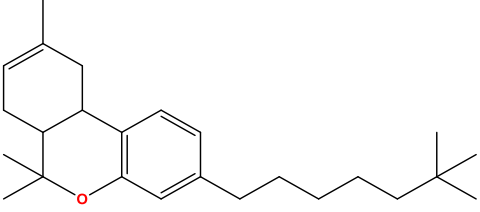
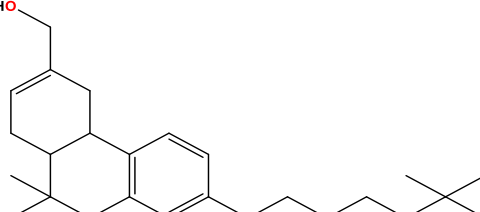
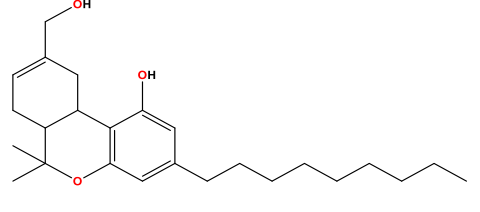
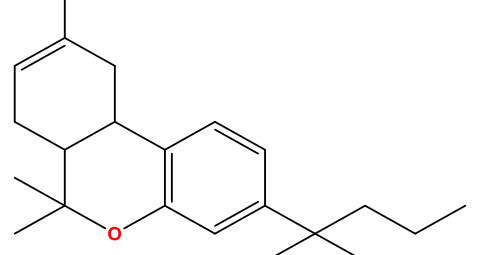
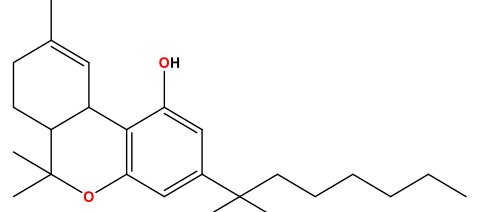
113	Ácido (-)-(7R)- canabicoumaronônic o	
114	4-acetoxi-2-geranol- 5-hidroxi-3-n- pentilfenol	
115	2-geranil-5-hidroxi- 3-npentil- 1,4-benzoquinona	
116	5-acetoxi-6-geranil- 3-n-pentil-1,4- benzoquinona	
117	Canabimovona (CBM)	
118	Canabioxipena (CBX)	

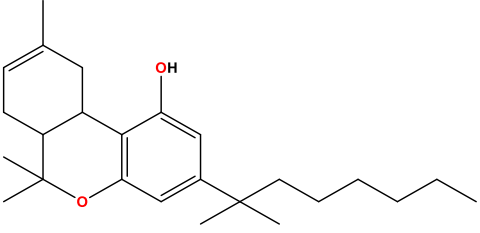
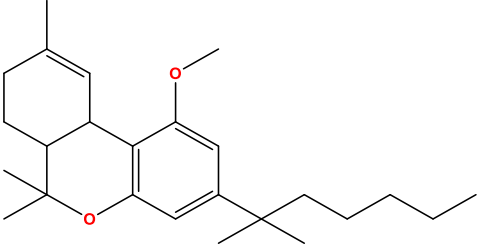
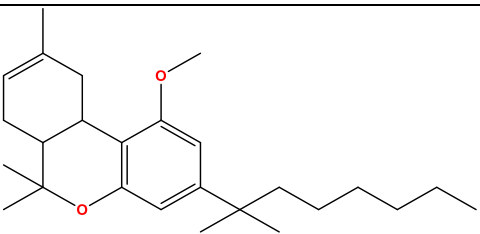
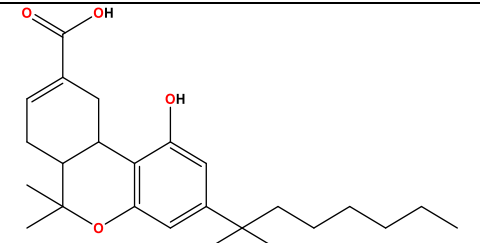
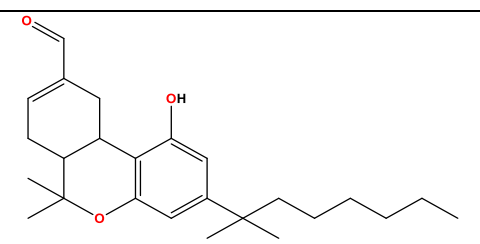
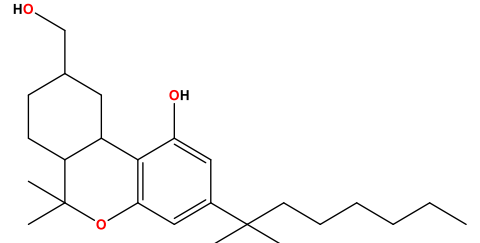
119	10 α -hidroxi- $\Delta^{9,11}$ -hexahidrocanabinol	
120	9 β ,10 β -epoxihexahidrocanabinol	
121	9 α -hidroxihexahidrocanabinol	
122	7-oxo-9 α -hidroxihexahidrocanabinol	
123	10 α -hidroxihexahidrocanabinol	
124	10aR-hidroxihexahidrocanabinol	

	125	9 α -hidroxi-10-oxo- $\Delta^{6a,10a}$ -THC	
--	-----	--	--

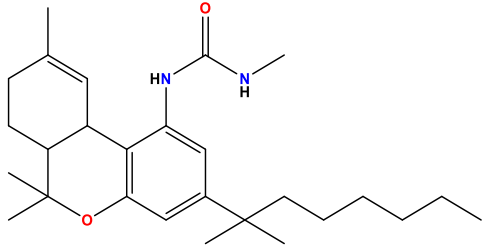
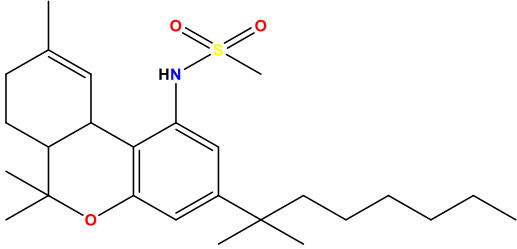
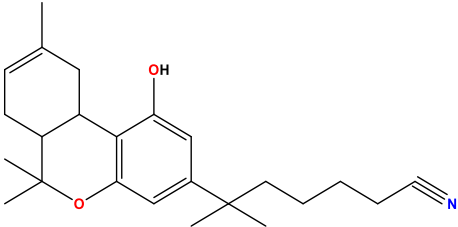
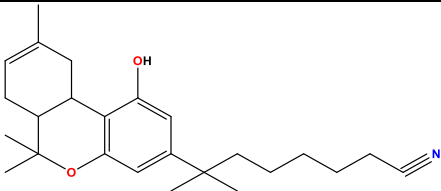
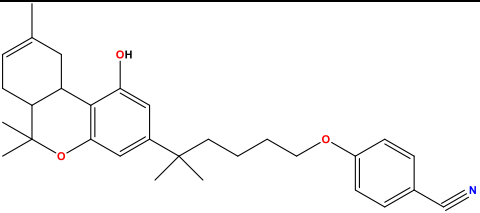
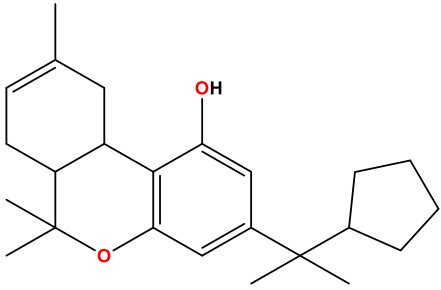
Apêndice B. Compostos selecionados do banco de dados ChEMBL.

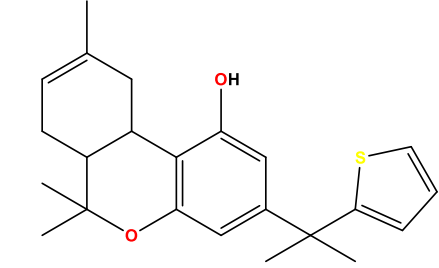
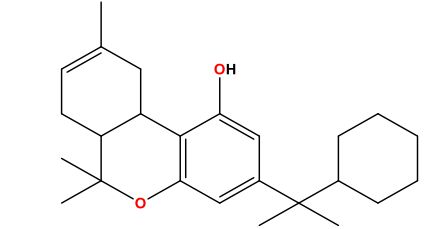
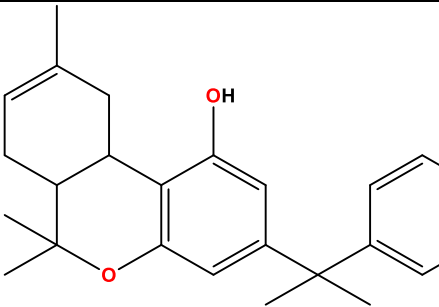
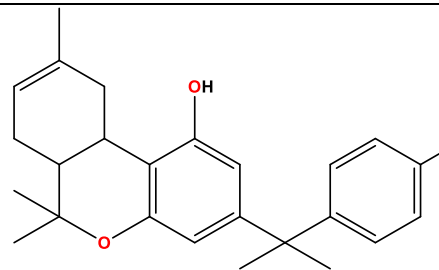
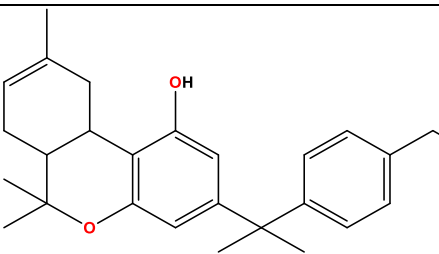
Composto	Estrutura molecular	pK _i CB1	pK _i CB2	Nomenclatura ChEMBL
CN1		7,70	6,85	CHEMBL250427
CN4		7,65	8,27	CHEMBL303479
CN6		7,39	7,44	CHEMBL114189
CN16		6,21	6,67	CHEMBL590737
CN17		5,76	6,41	CHEMBL597907

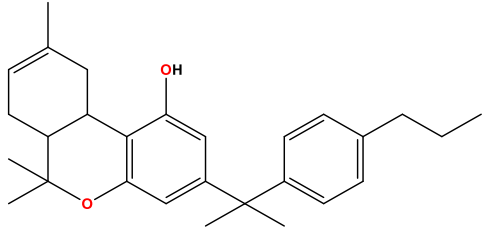
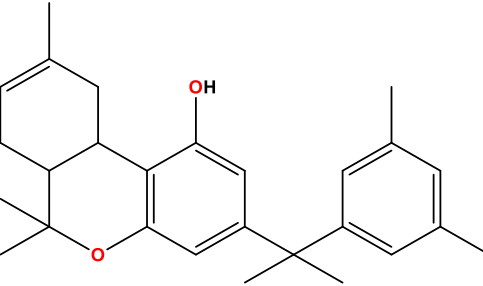
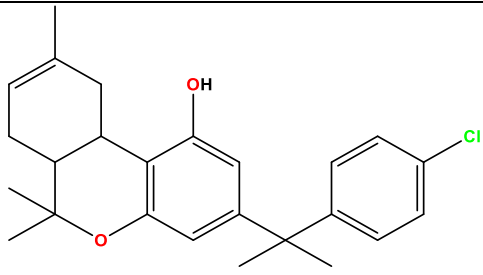
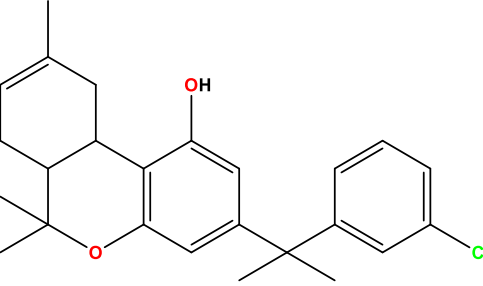
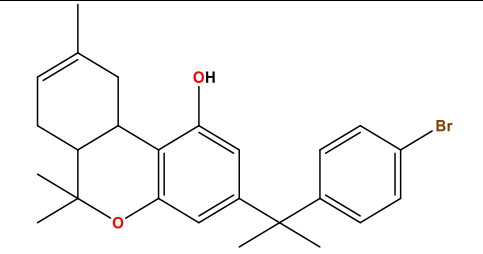
CN18		6,02	6,33	CHEMBL602702
CN22		-	8,54	CHEMBL2112646
CN23		-	10,49	CHEMBL2112647
CN28		-	9,28	CHEMBL338484
CN44		9,10	10,64	CHEMBL371214
CN45		9,62	9,70	CHEMBL600602

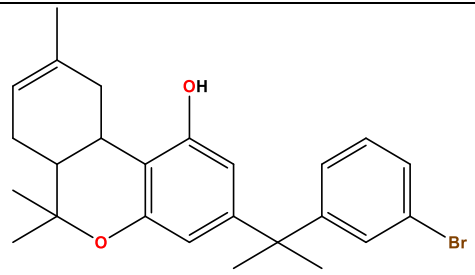
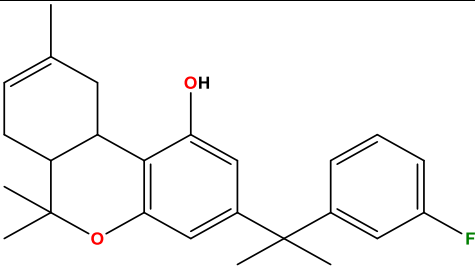
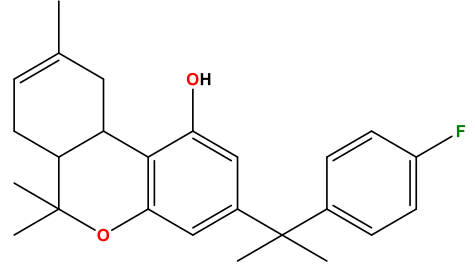
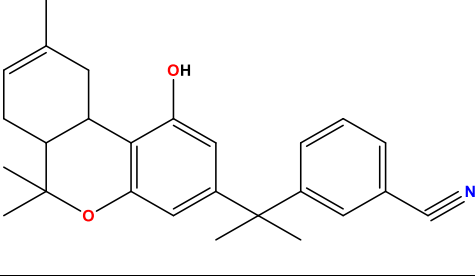
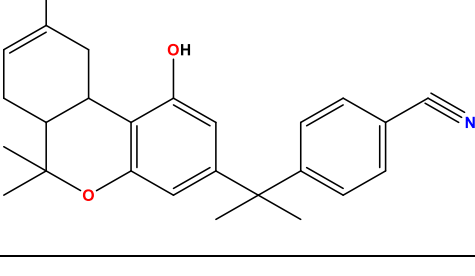
CN46		7,41	7,54	CHEMBL58501
CN47		5,50	7,75	CHEMBL498346
CN48		5,98	8,19	CHEMBL57367
CN51		7,49	6,77	CHEMBL456341
CN52		8,65	8,58	CHEMBL59540
CN53		9,09	-	CHEMBL70625

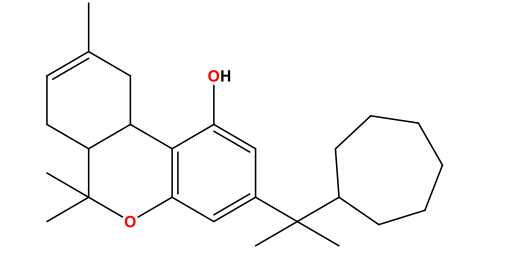
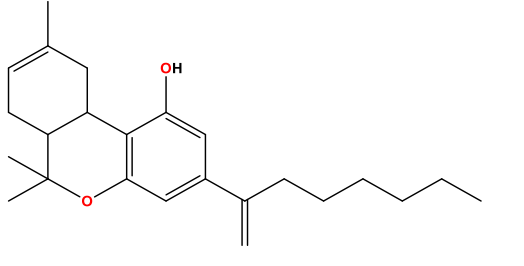
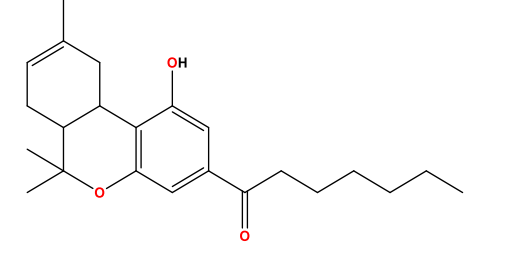
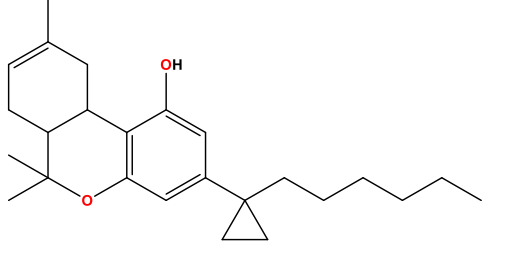
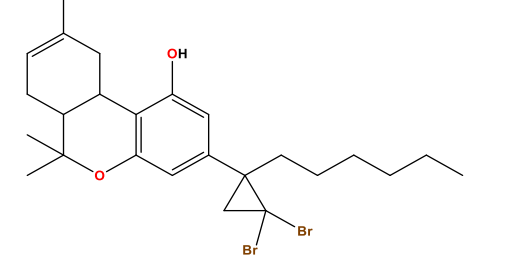
CN54		-	10,49	CHEMBL3233404
CN55		8,74	9,24	CHEMBL57802
CN57		7,64	8,54	CHEMBL57723
CN58		7,93	8,54	CHEMBL604746
CN59		7,17	8,28	CHEMBL600801
CN60		5,87	6,67	CHEMBL600195

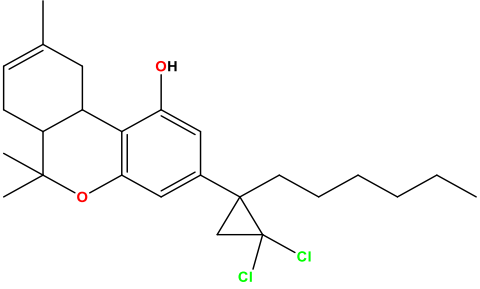
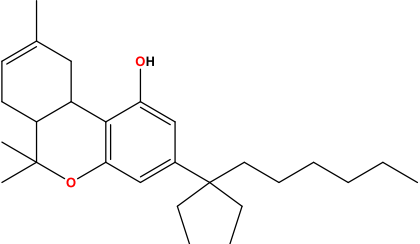
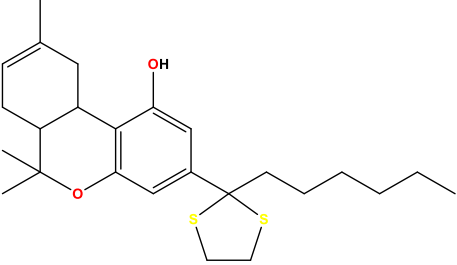
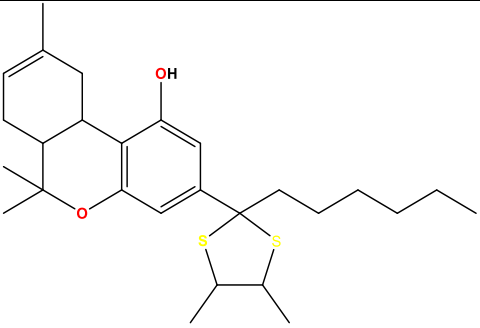
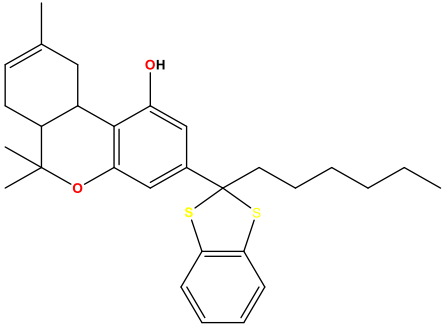
CN61		6,48	6,59	CHEMBL600396
CN62		5,74	6,59	CHEMBL601865
CN77		9,44	8,96	CHEMBL336670
CN78		9,70	8,54	CHMBL138917
CN83		8,82	8,96	CHEMBL136120
CN84		9,47	9,41	CHEMBL252947

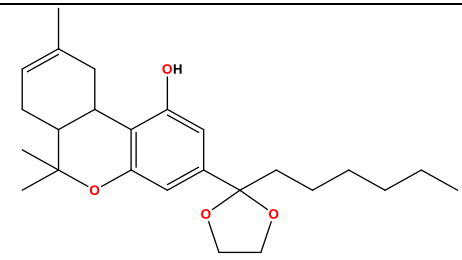
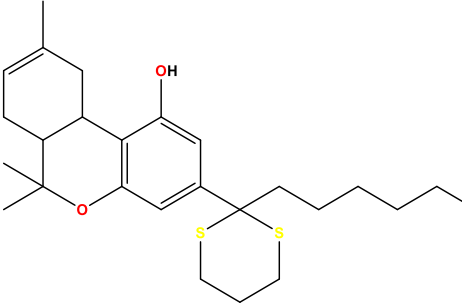
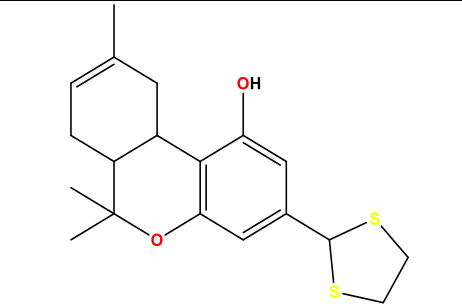
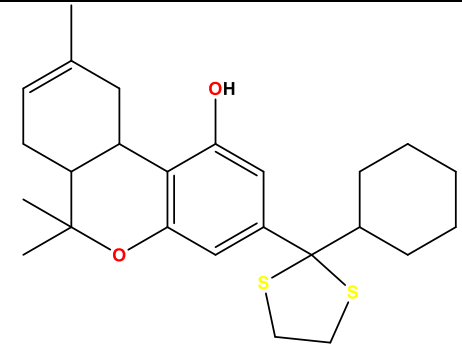
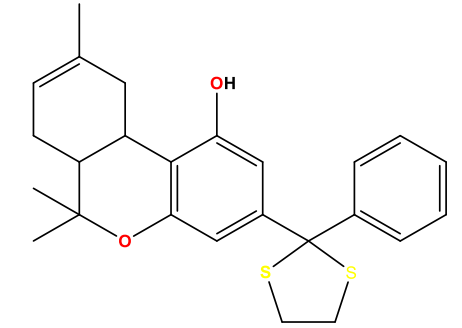
CN85		7,91	9,04	CHEMBL519575
CN86		9,24	9,19	CHEMBL325389
CN87		7,91	9,04	CHEMBL119592
CN88		8,50	9,06	CHEMBL512511
CN89		8,73	9,17	CHEMBL471297

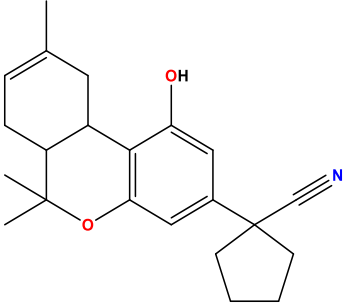
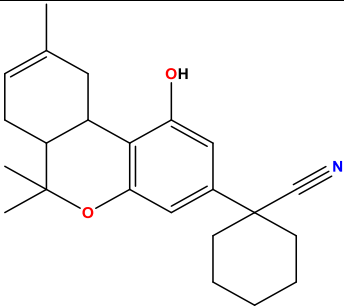
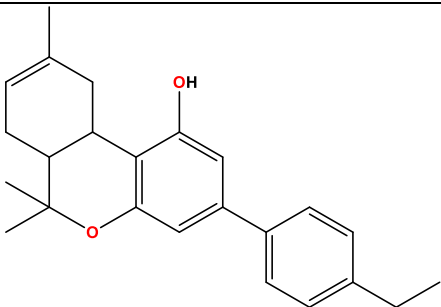
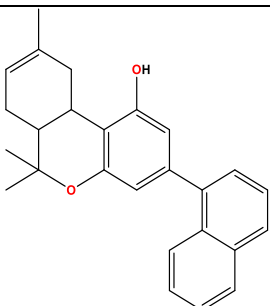
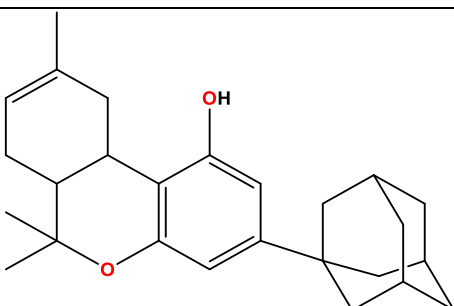
CN90		8,75	8,11	CHEMBL471122
CN91		7,96	8,13	CHEMBL471296
CN92		7,73	8,78	CHEMBL471988
CN93		8,55	8,45	CHEMBL521366
CN94		8,30	8,81	CHEMBL487463

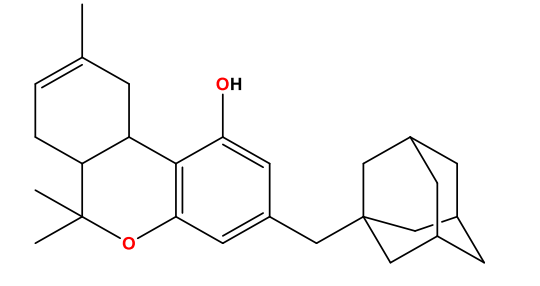
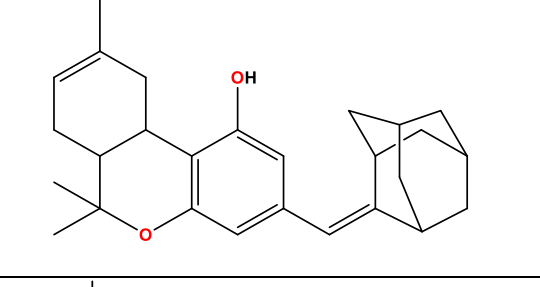
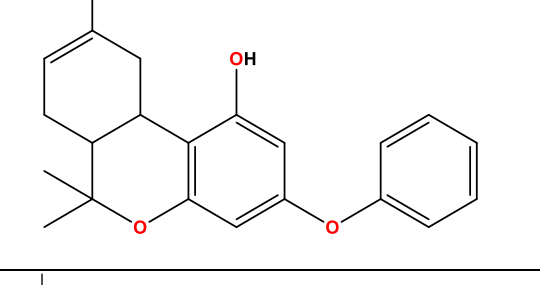
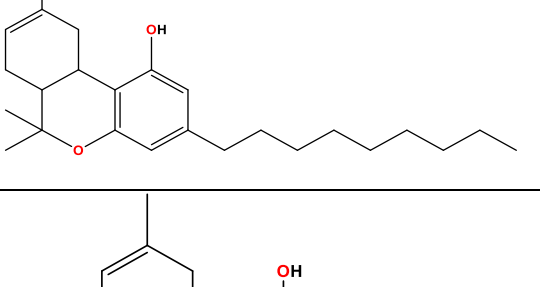
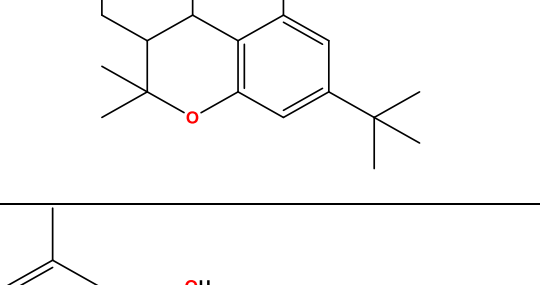
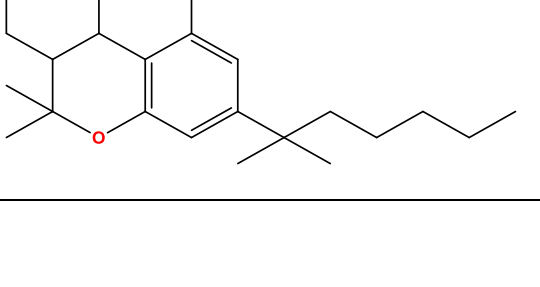
CN95		8,80	9,27	CHEMBL487464
CN96		8,28	9,05	CHEMBL512531
CN97		7,12	7,91	CHEMBL471123
CN100		8,56	9,04	CHEMBL471366
CN101		8,03	8,60	CHEMBL472115

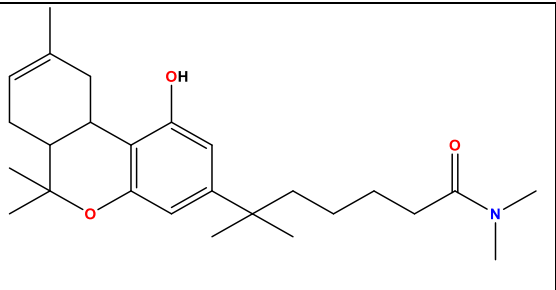
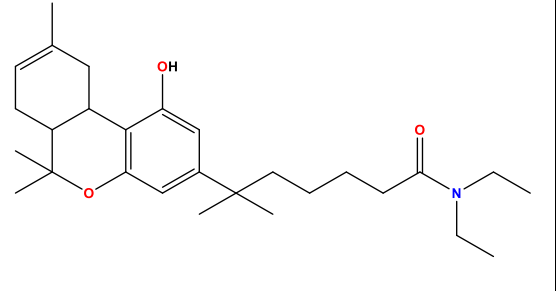
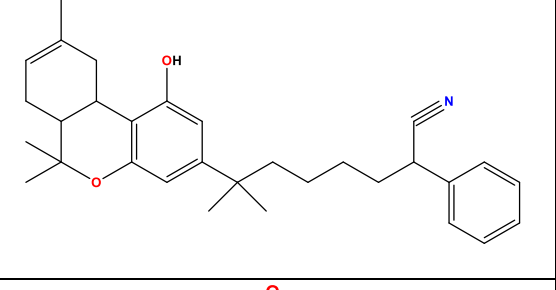
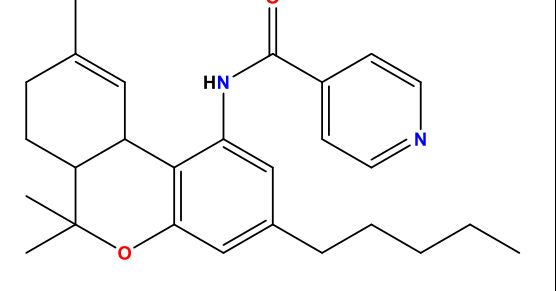
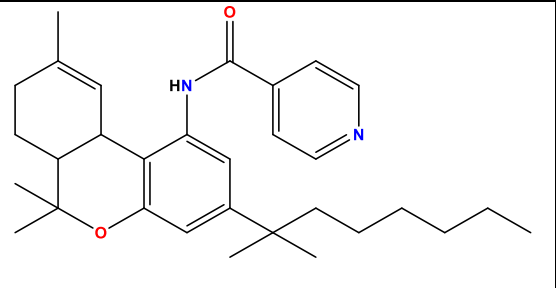
CN102		9,03	9,66	CHEMBL252949
CN105		8,66	8,48	CHEMBL239840
CN106		7,66	7,08	CHEMBL418555
CN107		9,36	9,07	CHEMBL19847
CN110		9,15	8,99	CHEMBL118631

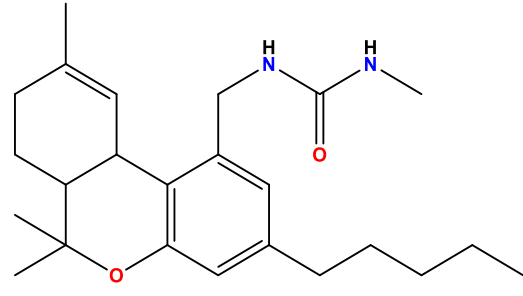
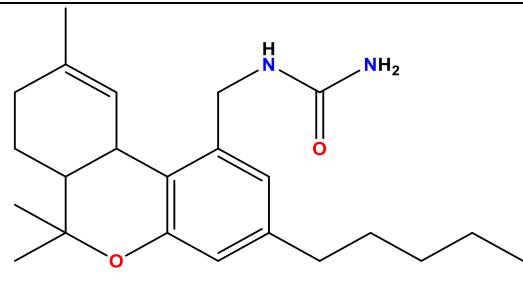
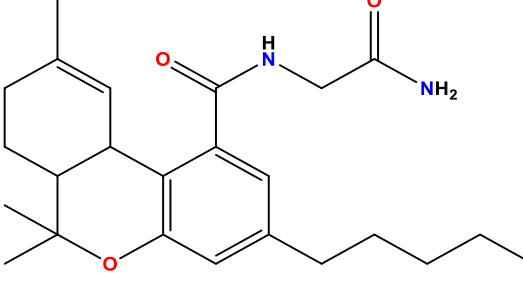
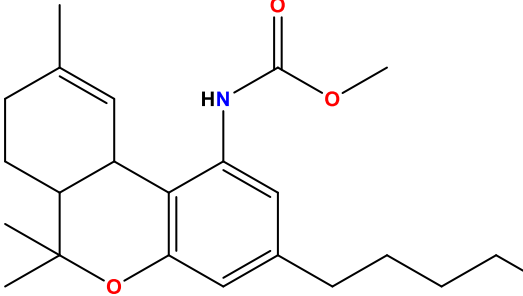
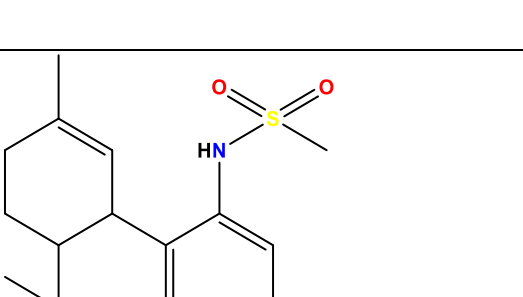
CN111		8,74	8,89	CHEMBL120669
CN121		9,35	8,72	CHEMBL108868
CN128		9,49	9,28	CHEMBL476325
CN129		7,49	7,71	CHEMBL325135
CN130		7,25	6,59	CHEMBL322112

CN131		9,30	9,7	CHEMBL108085
CN135		8,74	8,44	CHEMBL108392
CN136		6,78	6,99	CHEMBL111345
CN137		8,73	8,98	CHEMBL117033
CN138		7,76	7,75	CHEMBL118028

CN139		7,55	7,60	CHEMBL206859
CN140		8,08	8,41	CHEMBL205888
CN141		7,24	6,97	CHEMBL205908
CN142		7,93	8,03	CHEMBL381492
CN143		8,17	7,28	CHEMBL434351

CN145		7,53	7,57	CHEMBL480107
CN146		7,31	8,05	CHEMBL191324
CN149		6,53	7,63	CHEMBL398907
CNP1		7,93	8,03	CHEMBL381492
CNP2		7,85	-	CHEMBL276083
CNP5		8,57	-	CHEMBL252742

CNP11		9,07	-	CHEMBL344455
CNP12		7,89	-	CHEMBL344623
CNP14		8,04	-	CHEMBL337536
CNP21		-	5,75	CHEMBL602049
CNP22		-	5,96	CHEMBL600397

CNP23		-	5,69	CHEMBL602856
CNP24		-	6,11	CHEMBL600024
CNP25		-	5,70	CHEMBL599772
CNP26		-	5,85	CHEMBL605128
CNP27		-	5,76	CHEMBL597908