



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Luiz Felipe Moennich Araújo Benicio

Modelagem molecular da interação de canabinoides raros e receptores acoplados
à proteína G (GPCRs)

Brasília – DF

2025

Luiz Felipe Moennich Araújo Benicio

Modelagem molecular da interação de canabinoides raros e receptores acoplados
à proteína G (GPCRs)

Dissertação de Mestrado apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Faculdade de Saúde, como
requisito para obtenção do título de Mestre em
Ciências Farmacêuticas.

Orientador:

Prof. Dr. João Batista Lopes Martins

Coorientadora:

Profa. Dra. Erica Cristina Moreno Nascimento

Brasília – DF

2025

Luiz Felipe Moennich Araújo Benicio

Modelagem molecular da interação de canabinoides raros e receptores acoplados
à proteína G (GPCRs)

Dissertação de Mestrado apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Faculdade de Saúde, como
requisito para obtenção do título de Mestre em
Ciências Farmacêuticas.

Apresentação em 27 de agosto de 2025

Banca Examinadora:

Presidente: Prof. Dr. João Batista Lopes Martins

Membro: Profa. Dra. Erica Cristina Moreno Nascimento

Membro: Profa. Dra. Ana Maria Vicente Cunha

Membro: Profa. Dra. Sônia Maria de Freitas

Membro: Prof. Dr. Mauricio Homem de Mello

Dedico este trabalho a minha família que me dá suporte diariamente para a realização dos meus sonhos. Aos meus amigos, por serem presentes do destino. Aos meus orientadores, por propiciarem o ambiente, os desafios e as ferramentas. A minha noiva, por compartilhar a vida com suas alegrias e tristezas.

AGRADECIMENTOS

Exprimo meus agradecimentos a todos aqueles que, de alguma forma, permitiram que este se concretize.

Inicialmente agradeço a Professora Dra. Érica Cristina Moreno Nascimento, do Instituto de Química, pela oportunidade de trilhar o caminho acadêmico sob sua orientação ao longo dos anos. Agradeço ainda pela amizade e orientação para além da vida acadêmica, estes aprendizados enriqueceram não só o profissional, mas também o indivíduo.

Agradeço ao professor Dr. João Batista Lopes Martins, do Instituto de Química, por acreditar nas minhas ideias e me permitir florescer com elas. Assim como, me ensinar que o maior desafio é aquele que você não se propõe a realizar.

Agradeço aos meus colegas de laboratório Leticia Almeida, Nicolas Ricardo, Rafael Campos, Kelvyn Rocha, Arthur Nascimento, Rafael Almeida e Wendel Souza por todo o conhecimento compartilhado e o companheirismo no laboratório e congressos.

Agradeço ao Sistema Único Saúde (SUS) e o suporte imensurável provido a milhões de brasileiros. Eu sou prova viva da excelência do SUS e uma vida que pode afirmar ter sido salva pela competência dos seus integrantes. Viva o SUS!

Agradeço a minha família com ênfase para os meus avôs Marcos Moennich, Sonia Silva, Jecy Araújo e Juarez Benicio. Infelizmente alguns partiram e fazem muita falta porém em histórias e memórias compartilhadas que nunca serão esquecidas as presenças se fazem diárias. Agradeço as lições, aos mimos, as brincadeiras e ao amor compartilhado.

Agradeço aos meus pais André e Ana Que se fazem presentes nos momentos de maior alegria e permanecem como alicerces nos momentos tempestuosos. Agradeço principalmente pela vida, assim como pelo apoio, amor e afeto incondicional.

Aos meus sogros Irene Miranda e Nilson Galeno que me acolheram como filho em sua casa e os quais eu tomei como mãe e pai para a vida. Agradeço por todo o carinho, consideração e respeito.

A minha noiva, Kimberly Miranda, minha companheira de vida e pessoa qual eu compartilho os meus dias. Perante todas as preciosidades que existem no mundo, você é aquela que eu tenho o prazer de dizer que escolhi. Agradeço ao seu amor e ao seu companheirismo diário, que esse sejam os primeiros de diversos votos ao nosso amor.

A todos os meus sinceros agradecimentos.

Um homem não entra duas vezes no mesmo rio.

Heráclito de Éfeso

Resumo

Atualmente, a dor crônica afeta mais de dois terços da população brasileira diariamente, com tratamentos que não contemplam de forma ampla as necessidades dos pacientes, gerando resquícios de dor ou tratamentos ineficazes. A utilização de moléculas da canabis, como alternativa para o tratamento de dor se mostra promissora, devido ao seu potencial anti-inflamatório, analgésico e antinociceptivo, baseada nas vias de ativação dos receptores endocanabinoides. Os receptores acoplados à proteína G (GPCR) da família dos canabinoides do tipo I (CB₁) e do tipo II (CB₂), assim como os receptores putativos de canabinoides das famílias GPR119, GPR55 e GPR18, estão envolvidos em cascatas de sinalização que apresentam atividade pro-nociceptiva no estado de dor neuropática. O objetivo desta pesquisa consistiu no estudo do perfil farmacológico de 40 ligantes, observando as propriedades físico-químicas dos ligantes, utilizando métodos de mecânica quântica (QM), bem como as tendências farmacocinéticas e toxicológicas, agregadas a modelagem da interação destas moléculas com as GPCRs de interesse. Realizamos a modelagem da interação das moléculas com as estruturas dos receptores CB₁ (PDB: 6KQI), CB₂ (PDB: 8GUR), GPR119 (PDB: 7WCM), GPR55 (PDB: 8ZX4) e GPR18 (AlphaFold), por meio de docking molecular e ONIOM. Calculamos a estrutura eletrônica dos ligantes com a teoria do funcional da densidade (DFT), utilizando o funcional e função de base B3LYP/6-311+G(d,p). Análises estruturais foram realizadas, para avaliar a reatividade (Δ_{FOM}) e tendências de interação. Observamos que canabinoides e seus miméticos apresentam a tendência de localização dos orbitais de fronteira, HOMO e LUMO, sobrepostos ao grupamento resorcinol, indicando as regiões mais reativas. Utilizamos os indicies de Fukui para localizar sítios suscetíveis para ataques eletrofilicos e correlacionar com as principais interações, do tipo ligações de hidrogênio, estabelecidas com os receptores alvo. Adicionalmente, utilizamos o método híbrido ONIOM para estudo QM/MM e observamos que as interações hidrofóbicas desempenham papel estratégico, na ativação do receptor canabinoide. Por fim, foi possível estabelecer algumas relações que os canabinoides e análogos apresentam. Onde diferenças eletrônicas podem afetar o perfil de interação com os receptores, como por exemplo no caso dos ligantes THCV e Δ 8-THC, que apresentam a melhor tendência de interação com os receptores da família GPR119, GPR55 e GPR18.

Palavras-Chave: Canabinoides raros, GPCR (119, 55, 18, CB₁ e CB₂), ADMET, estrutura eletrônica, DFT, MEP, data mining, docking, ONIOM.

Abstract

Currently, chronic pain affects over two-thirds of the Brazilian population on a daily basis, with treatments that fail to comprehensively address patients' needs, often resulting in residual pain or ineffective outcomes. The use of Cannabis-derived molecules as an alternative for pain management has shown promise due to their anti-inflammatory, analgesic, and antinociceptive properties, which are mediated by endocannabinoid receptor activation pathways. G protein-coupled receptors (GPCRs) of the cannabinoid family—type I (CB₁) and type II (CB₂)—as well as putative cannabinoid receptors from the GPR119, GPR55, and GPR18 families, are involved in signaling cascades that exhibit pronociceptive activity in neuropathic pain states. This study aimed to investigate the pharmacological profile of 40 ligands by analyzing their physicochemical properties using quantum mechanics (QM) methods, along with pharmacokinetic and toxicological trends, while also modeling their interactions with target GPCRs. We performed molecular docking and ONIOM simulations to model the interactions between the ligands and the following receptor structures: CB₁ (PDB: 6KQI), CB₂ (PDB: 8GUR), GPR119 (PDB: 7WCM), GPR55 (PDB: 8ZX4), and GPR18 (AlphaFold). The electronic structure of the ligands was calculated using density functional theory (DFT) with the B3LYP/6-311+G(d,p) functional and basis set. Structural analyses were conducted to assess reactivity (ΔFOM) and interaction trends. Our findings revealed that cannabinoids and their mimetics exhibit frontier orbital (HOMO and LUMO) overlap in the resorcinol group, highlighting the most reactive regions. Fukui indices were employed to identify electrophilic attack sites and correlate them with key interactions, such as hydrogen bonds, formed with the target receptors. Additionally, hybrid ONIOM (QM/MM) studies demonstrated that hydrophobic interactions play a strategic role in cannabinoid receptor activation. Finally, we established key relationships between cannabinoids and their analogs, showing that electronic differences can significantly influence receptor interaction profiles. THCV and $\Delta 8$ -THC ligands exhibited the strongest binding affinity for the GPR119, GPR55, and GPR18 receptor families.

Keywords: Minor cannabinoids, GPCR (119, 55, 18, CB₁, and CB₂), ADMET, electronic structure, DFT, MEP, data mining, docking, ONIOM.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1. DIVISÕES DA SUPERFAMÍLIA A POR PROCESSOS SENSORIAIS, REGULAÇÃO DE PROCESSOS FISIOLÓGICOS E INTERAÇÃO COM LIGANTES (FONTE GPCRDB)[26] | 25 |
| FIGURA 2. ESTRUTURAS BIDIMENSIONAIS DOS ENDOCANABINOIDES 2-AG, ANANDAMIDA E LPI. | 27 |
| FIGURA 3. REPRESENTAÇÃO DAS ESTRUTURAS CRISTALOGRÁFICAS DOS RECEPTORES GPR119, GPR55 E GPR18 OBTIDOS A PARTIR DAS ESTRUTURAS CRISTALOGRÁFICAS 7WCM, 8ZX4 E PROGRAMA DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL ALPHAFOLD | 28 |
| FIGURA 4. REPRESENTAÇÃO DAS ESTRUTURAS CRISTALOGRÁFICAS DOS RECEPTORES CANABINOIDES CB ₁ E CB ₂ , OBTIDOS A PARTIR DAS ESTRUTURAS CRISTALOGRÁFICAS DEPOSITADAS NO PDB, SOB CÓDIGOS 6KQI E 8GUR..... | 30 |
| FIGURA 5. DIVISÃO DAS ESTRUTURAS BIDIMENSIONAL DOS CANABINOIDES NOS GRUPOS ISOPRENIL (VERDE), RESORCINOL (VERMELHO) E ALQUIL (AZUL)..... | 32 |
| FIGURA 6. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS 11 MOLÉCULAS SELECIONADAS DE CADA SUBFAMÍLIA DOS CANABINOIDES ASSIM COMO AS MOLÉCULAS ÁCIDAS CBDA E CBCA E A MOLÉCULAS THCV. | 33 |
| FIGURA 7. ESQUEMA DE DIVISÃO DAS MOLÉCULAS ESTUDADAS EM ENDOCANABINOIDES (LILÁS), CANABINOIDES (VERDE), ANÁLOGOS DE CBG (AZUL), ANÁLOGOS DE CBC (ROXO) E SUPOSTOS CANABINOIDES (ROSA). | 35 |
| FIGURA 8. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS ESTRUTURAS MOLECULARES DOS COMPOSTOS QUE INTEGRAM OS GRUPOS DE ANÁLOGOS DE CBC (ROXO), ANÁLOGOS DE CBG (AZUL) E SUPOSTOS CANABINOIDES (ROSA)..... | 36 |
| FIGURA 9. DISTRIBUIÇÃO EM GRUPO DAS SUBFAMÍLIAS DAS MOLÉCULAS UTILIZADAS PARA A VARREDURA (SCREENING) INICIAL, COM 261 COMPOSTOS..... | 51 |
| FIGURA 10. ANÁLISE DE CONTRIBUIÇÃO DOS DESCRITORES PARA A FORMAÇÃO DAS DUAS PRINCIPAIS PCs; EIXO X REPRESENTADO A PC1 E O EIXO Y REPRESENTANDO A PC2. | 63 |
| FIGURA 11. RELAÇÃO DOS DADOS OBTIDOS PELA ANÁLISE PCA COM PC1 (x), PC2 (y) E PC3 (z) COMO EIXOS E DIVISÃO POR CORES EM 4 GRUPOS DAS MOLÉCULAS ESTUDADAS A PARTIR DO ALGORITMO K-MEANS..... | 64 |
| FIGURA 12. MOLÉCULA CP55940: (A) ESTRUTURAS 2D; (B) MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DE CARGAS DO TIPO CHELPG (VALORES EM U.A.); (C) MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO, VALORES EM KCAL/MOL | 67 |
| FIGURA 13. CP55940, DISTRIBUIÇÃO DOS ORBITAIS MOLECULARES: (A) HOMO E (B) LUMO..... | 68 |
| FIGURA 14. REPRESENTAÇÃO DOS ÍNDICES DE FUKUI F COM SEUS RESPECTIVOS VALORES DE CDFT EM U.A. PARA A MOLÉCULA CP55940. | 69 |
| FIGURA 15. MOLÉCULAS AR231453 (A, B, C) E MBX2982 (D, E, F): (A, D) ESTRUTURAS 2D, (B, E) MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DE CARGAS DO TIPO CHELPG (VALORES EM U.A.), (C, F) MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO, VALORES EM KCAL/MOL..... | 70 |
| FIGURA 16. MOLÉCULAS AR231453 E MBX2982, DISTRIBUIÇÃO DOS ORBITAIS MOLECULARES: (A, C) HOMO, E (B, D) LUMO. . | 71 |
| FIGURA 17. REPRESENTAÇÃO DOS ÍNDICES DE FUKUI F COM SEUS RESPECTIVOS VALORES DE CDFT EM U.A. PARA AS MOLÉCULAS AR231453 (A) E MBX2982 (B). | 72 |
| FIGURA 18. MOLÉCULAS 2-AG, ANANDAMIDA E LPI. (A, C, E) MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DE CARGAS DO TIPO CHELPG (VALORES EM U.A.), (B, D, F) MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO, VALORES EM KCAL/MOL. | 73 |
| FIGURA 19. DISTRIBUIÇÃO DE ENERGIA DOS ORBITAIS MOLECULARES (HOMO-6 A LUMO+6) CALCULADOS PARA OS ENDOCANABINOIDES..... | 74 |
| FIGURA 20. MOLÉCULAS 2-AG, ANANDAMIDA E LPI, DISTRIBUIÇÃO DOS ORBITAIS MOLECULARES: (A, C, E) HOMO E (B, D, F) LUMO. | 75 |
| FIGURA 21. REPRESENTAÇÃO DOS ÍNDICES DE FUKUI F COM SEUS RESPECTIVOS VALORES DE CDFT EM U.A. PARA AS MOLÉCULAS 2-AG (A), ANANDAMIDA (B) E LPI (C)..... | 76 |
| FIGURA 22. MOLÉCULAS THCV, Δ^8 -THC E CBL: (A, D, G) ESTRUTURAS 2D; (B, E, H) MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DE CARGAS DO TIPO CHELPG (VALORES EM U.A.); (C, F, I) MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO, VALORES EM KCAL/MOL. | 77 |
| FIGURA 23. DISTRIBUIÇÃO DE ENERGIA DOS ORBITAIS MOLECULARES (HOMO-6 A LUMO+6) CALCULADOS PARA OS CANABINOIDES. | 78 |
| FIGURA 24. DISTRIBUIÇÃO DOS ORBITAIS MOLECULARES DAS MOLÉCULAS THCV, Δ^8 -THC E CBL: (A, C, E) HOMO, E (B, D, F) LUMO. | 79 |
| FIGURA 25. REPRESENTAÇÃO DOS ÍNDICES DE FUKUI F COM SEUS RESPECTIVOS VALORES DE CDFT EM U.A. PARA AS MOLÉCULAS THCV (A), Δ^8 -THC (B) E CBL (C)..... | 80 |
| FIGURA 26. MOLÉCULAS RADULANINA I E RADULANINA I B: (A, D) ESTRUTURAS 2D, (B, E) MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DE CARGAS DO TIPO CHELPG (VALORES EM U.A.), (C, F) MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO, VALORES EM KCAL/MOL. | 81 |
| FIGURA 27. DISTRIBUIÇÃO DE ENERGIA DOS ORBITAIS MOLECULARES (HOMO-6 A LUMO+6) CALCULADOS PARA OS ANÁLOGOS DO CANABIGEROL..... | 82 |

| | |
|--|-----|
| FIGURA 28. MOLÉCULAS RADULANINA I E RADULANINA I B, DISTRIBUIÇÃO DOS ORBITAIS MOLECULARES: (A, C) HOMO, E (B, D) LUMO. | 83 |
| FIGURA 29. REPRESENTAÇÃO DOS ÍNDICES DE FUKUI F COM SEUS RESPECTIVOS VALORES DE CDFT EM U.A. PARA AS MOLÉCULAS RADULANINA I (A) E RADULANINA I B (B). | 84 |
| FIGURA 30. MOLÉCULAS 69A E 70B: (A, D) ESTRUTURAS 2D, (B, E) MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DE CARGAS DO TIPO CHELPG (VALORES EM U.A.), (C, F) MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO. VALORES EM KCAL/MOL..... | 85 |
| FIGURA 31. DISTRIBUIÇÃO DE ENERGIA DOS ORBITAIS MOLECULARES (HOMO-6 A LUMO+6) CALCULADOS PARA OS ANÁLOGOS DO CANABICROMENO. | 86 |
| FIGURA 32. MOLÉCULAS 69A E 70B, DISTRIBUIÇÃO DOS ORBITAIS MOLECULARES: (A, C) HOMO, E (B, D) LUMO..... | 86 |
| FIGURA 33. REPRESENTAÇÃO DOS ÍNDICES DE FUKUI F COM SEUS RESPECTIVOS VALORES DE CDFT EM U.A. PARA AS MOLÉCULAS 69A (A) E 70B (B). | 87 |
| FIGURA 34. MOLÉCULAS 6-METILTRAPTEROL A E DESMODIANONA E: (A, D) ESTRUTURAS 2D, (B, E) MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DE CARGAS DO TIPO CHELPG (VALORES EM U.A.), (C, F) MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO. VALORES EM KCAL/MOL. | 88 |
| FIGURA 35. DISTRIBUIÇÃO DE ENERGIA DOS ORBITAIS MOLECULARES (HOMO-6 A LUMO+6) CALCULADOS PARA OS SUPOSTOS CANABINOIDES. | 89 |
| FIGURA 36. MOLÉCULAS 6-METILTRAPTEROL A E DESMODIANONA E, DISTRIBUIÇÃO DOS ORBITAIS MOLECULARES: (A, C) HOMO, E (B, D) LUMO. | 90 |
| FIGURA 37. REPRESENTAÇÃO DOS ÍNDICES DE FUKUI F COM SEUS RESPECTIVOS VALORES DE CDFT EM U.A. PARA AS MOLÉCULAS 6-METILTRAPTEROL A (A) E DESMODIANONA E (B). | 91 |
| FIGURA 38. REPRESENTAÇÃO DAS PROPRIEDADES DO NHD, NHA, PESO MOLECULAR DIVIDO POR 100 E LOGP PARA REPRESENTANTES DOS GRUPOS ESTUDADOS COM OS LIMITES DA REGRA DE LIPINSKY HACHURADO. | 92 |
| FIGURA 39. SEQUÊNCIA DE RESÍDUOS DO CB ₁ | 97 |
| FIGURA 40. RMSD DO MODELO UTILIZADO EM COMPARAÇÃO COM A ESTRUTURA CRISTALOGRÁFICA 6KQI..... | 98 |
| FIGURA 41. SEQUÊNCIA DE RESÍDUOS DO CB ₂ | 98 |
| FIGURA 42. RMSD DO MODELO UTILIZADO EM COMPARAÇÃO COM A ESTRUTURA CRISTALOGRÁFICA 8GUR. | 99 |
| FIGURA 43. SEQUÊNCIA DE RESÍDUOS DO GPR119. | 100 |
| FIGURA 44. RMSD DO MODELO UTILIZADO EM COMPARAÇÃO COM A ESTRUTURA CRISTALOGRÁFICA 7WCM..... | 100 |
| FIGURA 45. SEQUÊNCIA DE RESÍDUOS DO GPR55. | 101 |
| FIGURA 46. RMSD DO MODELO UTILIZADO EM COMPARAÇÃO COM A ESTRUTURA CRISTALOGRÁFICA 8ZX4. | 102 |
| FIGURA 47. SEQUÊNCIA DE RESÍDUOS DO GPR18. | 103 |
| FIGURA 48. SÍTIOS P0 E P1 DO CB ₁ (A) E RESÍDUOS QUE REALIZAM AS INTERAÇÕES LIGAÇÃO DE HIDROGÊNIO E π -STACK COM O CP55940. | 104 |
| FIGURA 49. SÍTIOS P0 E P1 DO CB ₂ (A) E RESÍDUOS QUE REALIZAM AS INTERAÇÕES LIGAÇÃO DE HIDROGÊNIO E π -STACKING COM O CP55940. | 106 |
| FIGURA 50. SÍTIOS P0 E P1 DA GPR119 (A) E RESÍDUOS QUE REALIZAM AS INTERAÇÕES COM MBX2982..... | 108 |
| FIGURA 51. SÍTIOS P0 E P1 DA GPR55 (A) E RESÍDUOS QUE REALIZAM AS INTERAÇÕES LIGAÇÃO DE HIDROGÊNIO E PONTE SALINA COM O LPI..... | 110 |
| FIGURA 52. SÍTIOS P0, P1 E P5 DA GPR18. | 112 |
| FIGURA 53. REPRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO DE DOCKING DO CP55940 COM O CB ₁ EM 2D (A) E O DO ESTUDO DE IGM (B). | 113 |
| FIGURA 54. RESULTADOS DE DOCKING EM KCAL/MOL COM O RECEPTOR CB ₁ , REPRESENTADO PELOS GRUPOS SUPOSTOS CANABINOIDES (A), ANÁLOGOS DE CBC (B), ANÁLOGOS DE CBG (C), CANABINOIDES (D), ENDOCANABINOIDES (E) E LIGANTES DE REFERÊNCIA (F) COM O CRIVO DE SELEÇÃO EM -8,40 KCAL/MOL..... | 114 |
| FIGURA 55. REPRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO DE DOCKING DO THCV COM O CB ₁ EM 2D (A) E O DO ESTUDO DE IGM (B). | 115 |
| FIGURA 56. REPRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO DE DOCKING DA DESMODIANONA E COM O CB ₁ EM 2D (A) E O DO ESTUDO DE IGM (B). | 116 |
| FIGURA 57. REPRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO DE RE-DOCKING DO CP55940 COM O CB ₂ EM 2D (A) E O DO ESTUDO DE IGM (B). | 117 |
| FIGURA 58. RESULTADOS DE DOCKING EM KCAL/MOL COM O RECEPTOR CB ₂ , REPRESENTADO PELOS GRUPOS SUPOSTOS CANABINOIDES (A), ANÁLOGOS DE CBC (B), ANÁLOGOS DE CBG (C), CANABINOIDES (D) E LIGANTES DE REFERÊNCIA (E) COM O CRIVO DE SELEÇÃO EM -8,42 KCAL/MOL..... | 118 |
| FIGURA 59. REPRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO DE DOCKING DO THCV COM O CB ₂ EM 2D (A) E O DO ESTUDO DE IGM (B). | 120 |
| FIGURA 60. REPRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO DE DOCKING DA DESMODIANONA E COM O CB ₂ EM 2D (A) E O DO ESTUDO DE IGM (B). | 121 |

| | |
|---|-----|
| FIGURA 61. REPRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO DE RE-DOCKING DO MBX2982 COM A GPR119 EM 2D (A) E O DO ESTUDO DE IGM (B). | 122 |
| FIGURA 62. RESULTADOS DE DOCKING EM KCAL/MOL COM O RECEPTOR GPR119, REPRESENTADO PELOS GRUPOS SUPOSTOS CANABINOIDES (A), ANÁLOGOS DE CBC (B), ANÁLOGOS DE CBG (C), CANABINOIDES (D), ENDOCANABINOIDES (E) E LIGANTES DE REFERÊNCIA (F) COM O CRIVO DE SELEÇÃO EM -8,40 KCAL/MOL. | 123 |
| FIGURA 63. REPRESENTAÇÃO 2D DAS INTERAÇÕES DO LIGANTE MBX2982 OTIMIZADO COM DFT COM A GPR119 (A) E REPRESENTAÇÃO 3D DE INTERAÇÕES REALIZADAS PELO LIGANTE MBX2982 OTIMIZADO COM DFT COM A GPR119 E POSIÇÃO DE REFERÊNCIA DO LIGANTE MBX2982 EM AZUL (B) | 124 |
| FIGURA 64. REPRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO DE DOCKING DO 6-METILTETRAPTEROL A COM O GPR119 EM 2D (A) E O DO ESTUDO DE IGM (B). | 126 |
| FIGURA 65. REPRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO DE RE-DOCKING DO LPI COM A GPR55 EM 2D (A) E O DO ESTUDO DE IGM (B). | 127 |
| FIGURA 66. RESULTADOS DE DOCKING EM KCAL/MOL COM O RECEPTOR GPR55, REPRESENTADO PELOS GRUPOS SUPOSTOS CANABINOIDES (A), ANÁLOGOS DE CBC (B), ANÁLOGOS DE CBG (C), CANABINOIDES (D), ENDOCANABINOIDES (E) E LIGANTES DE REFERÊNCIA (F) COM O CRIVO DE SELEÇÃO EM -8,40 KCAL/MOL. | 128 |
| FIGURA 67. REPRESENTAÇÃO DA SOLUÇÃO DE DOCKING DA DESMODIANONA D B COM A GPR55 EM 2D (A) E O DO ESTUDO DE IGM (B). | 130 |
| FIGURA 68. RESULTADOS DE DOCKING EM KCAL/MOL COM O RECEPTOR GPR18, REPRESENTADO PELOS GRUPOS SUPOSTOS CANABINOIDES (A), ANÁLOGOS DE CBC (B), ANÁLOGOS DE CBG (C), CANABINOIDES (D), ENDOCANABINOIDES (E) E LIGANTES DE REFERÊNCIA (F) COM O CRIVO DE SELEÇÃO EM -8,40 KCAL/MOL. | 131 |
| FIGURA 69. RESULTADO DO ESTUDO DE DOCKING DA MOLÉCULA CBL COM O RECEPTOR GPR18 (A) E ESTUDO DE NCI (B). | 132 |
| FIGURA 70. HEATMAP COM OS DADOS OBTIDOS A PARTIR DAS ESTRUTURAS ELETRÔNICAS. | 134 |
| FIGURA 71. HEATMAP DAS MOLÉCULAS ESTUDADAS COM OS DADOS OBTIDOS A PARTIR DOS ESTUDOS DE ESTRUTURA ELETRÔNICA, ADMET E DOCKING. | 136 |
| FIGURA 72. COMPARAÇÃO DOS ORBITAIS DOS COMPLEXOS ESTUDADOS. | 139 |
| FIGURA 73. DISTRIBUIÇÃO DOS ORBITAIS MOLECULARES DO ESTUDO DE ONIOM PM6:AMBER PARA O RECEPTOR CB ₁ E COMPLEXO CB ₁ -CP55940: HOMO (A, C) E LUMO (B, D). | 141 |
| FIGURA 74. DISTRIBUIÇÃO DOS ORBITAIS MOLECULARES DO ESTUDO DE ONIOM B3LYP/6311+G(D,P):AMBER PARA O RECEPTOR CB ₁ E COMPLEXO CB ₁ -CP55940: HOMO (A, C) E LUMO (B, D). | 142 |
| FIGURA 75. DISTRIBUIÇÃO DOS ORBITAIS MOLECULARES DO ESTUDO DE ONIOM PM6:AMBER PARA O RECEPTOR CB ₂ E COMPLEXO CB ₂ -CP55940: HOMO (A, C) E LUMO (B, D). | 143 |
| FIGURA 76. DISTRIBUIÇÃO DOS ORBITAIS MOLECULARES DO ESTUDO DE ONIOM B3LYP/6311+G(D,P):AMBER PARA O RECEPTOR CB ₂ E COMPLEXO CB ₂ -CP55940: HOMO (A, C) E LUMO (B, D). | 144 |
| FIGURA 77. DISTRIBUIÇÃO DOS ORBITAIS MOLECULARES DO ESTUDO DE ONIOM PM6:AMBER PARA O RECEPTOR GPR119 E COMPLEXO GPR119-MBX2982: HOMO (A, C) E LUMO (B, D). | 146 |
| FIGURA 78. DISTRIBUIÇÃO DOS ORBITAIS MOLECULARES DO ESTUDO DE ONIOM PM6:AMBER PARA O RECEPTOR GPR55 E COMPLEXO GPR55-LPI: HOMO (A, C) E LUMO (B, D). | 147 |
| FIGURA 79. ENERGIA DE FORMAÇÃO DOS COMPLEXOS ESTUDADOS PELA METODOLOGIA DE ONIOM. | 148 |
| FIGURA 80. REPRESENTAÇÃO DOS ÍNDICES DE FUKUI F^- (A), F^0 (B) E F^+ (C) COM SEUS RESPECTIVOS VALORES DE CDFT EM U.A. PARA A MOLÉCULA CP55940. | 165 |
| FIGURA 81. REPRESENTAÇÃO DOS ÍNDICES DE FUKUI F^- (A, D), F^0 (B, E) E F^+ (C, F) COM SEUS RESPECTIVOS VALORES DE CDFT EM U.A. PARA AS MOLÉCULAS AR231453 E MBX2982. | 165 |
| FIGURA 82. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE A MOLÉCULA CP55940 COM CONFORMAÇÃO RETIRADA DO CRISTAL 6KQI COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES CB1 (A), CB2 (B), GPR119 (C), GPR55 (D) E GPR18. | 166 |
| FIGURA 83. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE A MOLÉCULA CP55940 COM CONFORMAÇÃO RETIRADA DO CRISTAL 8GUR COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES CB1 (A), CB2 (B), GPR119 (C), GPR55 (D) E GPR18. | 167 |
| FIGURA 84. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE A MOLÉCULA CP55940 COM CONFORMAÇÃO OTIMIZADA COM B3LYP/6311+G(D,P) COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES CB1 (A), CB2 (B), GPR119 (C), GPR55 (D) E GPR18. | 168 |
| FIGURA 85. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE A MOLÉCULA AR 231453 COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES CB1 (A), CB2 (B), GPR119 (C), GPR55 (D) E GPR18. | 169 |
| FIGURA 86. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE A MOLÉCULA MBX2982 OTIMIZADA COM DFT COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES CB1 (A), CB2 (B), GPR119 (C), GPR55 (D) E GPR18. | 170 |

| | |
|--|-----|
| FIGURA 87. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE A MOLÉCULA MBX2982, CONFORMAÇÃO CRISTALIZADA, COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES CB1 (A), GPR119 (c), GPR55 (d) E GPR18. | 171 |
| FIGURA 88. REPRESENTAÇÃO DOS ÍNDICES DE FUKUI F^- (A, D, G), F^0 (B, E, H) E F^+ (C, F, I) COM SEUS RESPECTIVOS VALORES DE CDFT EM U.A. PARA AS MOLÉCULAS 2-AG, ANANDAMIDA E LPI. | 172 |
| FIGURA 89. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE A MOLÉCULA 2-ARAQUIDONOILGLICEROL COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES GPR119 (A) E GPR55 (B). | 173 |
| FIGURA 90. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE A MOLÉCULA ANANDAMIDA COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES CB1 (A), CB2 (B), GPR119 (c), GPR55 (d) E GPR18. | 174 |
| FIGURA 91. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE A MOLÉCULA LPI COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES GPR119 (A) E GPR55 (B). | 175 |
| FIGURA 92. REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DAS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS CANABINOIDES COM COLORAÇÃO ATÔMICA BASEADA NA CARGA ESP. | 176 |
| FIGURA 93. MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO DAS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS CANABINOIDES VARIANDO DE -62,75 KCAL/MOL A 62/75 KCAL/MOL. | 177 |
| FIGURA 94. ISOSUPERFÍCIES DOS ORBITAIS MOLECULARES DE FRONTEIRA HOMO (A) E LUMO (B) DAS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS CANABINOIDES. | 178 |
| FIGURA 95. ESTUDO DE FUKUI DAS MOLÉCULAS CBE, CBG, CBN, CBT, CBF, CBD, Δ^9 -THC E CBL. ISOSUPERFÍCIES CALCULADAS COM AS FUNÇÕES F^- (A), F^0 (B) E F^+ (C). | 179 |
| FIGURA 96. ESTUDO DE FUKUI DAS MOLÉCULAS CBND, Δ^8 -THC, CBC, CBDA, CBCA E THCV. ISOSUPERFÍCIES CALCULADAS COM AS FUNÇÕES F^- (A), F^0 (B) E F^+ (C). | 179 |
| FIGURA 97. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS CANABINOIDES COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES CB ₁ | 180 |
| FIGURA 98. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS CANABINOIDES COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES CB ₂ | 180 |
| FIGURA 99. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS CANABINOIDES COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES GPR119. | 181 |
| FIGURA 100. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS CANABINOIDES COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES GPR55. | 181 |
| FIGURA 101. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS CANABINOIDES COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES GPR18. | 182 |
| FIGURA 102. REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DAS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS ANÁLOGOS DE CBG COM COLORAÇÃO ATÔMICA BASEADA NA CARGA ESP. | 183 |
| FIGURA 103. MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO DAS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS ANÁLOGOS DE CBG VARIANDO DE -62,75 KCAL/MOL A 62/75 KCAL/MOL. | 184 |
| FIGURA 104. ISOSUPERFÍCIES DOS ORBITAIS MOLECULARES DE FRONTEIRA HOMO (A) E LUMO (B) DAS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS ANÁLOGOS DE CBG. | 185 |
| FIGURA 105. ESTUDO DE FUKUI DAS MOLÉCULAS DO GRUPO DE ANÁLOGOS DE CBG. ISOSUPERFÍCIES CALCULADAS COM AS FUNÇÕES F^- (A), F^0 (B) E F^+ (C). | 186 |
| FIGURA 106. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS ANÁLOGOS DE CBG COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES CB ₁ | 186 |
| FIGURA 107. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS ANÁLOGOS DE CBG COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES CB ₂ | 187 |
| FIGURA 108. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS ANÁLOGOS DE CBG COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES GPR119. | 187 |
| FIGURA 109. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS ANÁLOGOS DE CBG COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES GPR55. | 188 |
| FIGURA 110. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS ANÁLOGOS DE CBG COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES GPR18. | 188 |
| FIGURA 111. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE A MOLÉCULA 69A COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES CB1 (A), CB2 (B), GPR119 (c), GPR55 (d) E GPR18. | 189 |
| FIGURA 112. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE A MOLÉCULA 70B COM OS RESÍDUOS DOS RECEPTORES CB1 (A), CB2 (B), GPR119 (c), GPR55 (d) E GPR18. | 190 |

| | |
|---|-----|
| FIGURA 113. REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DAS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS SUPOSTOS CANABINOIDES COM COLORAÇÃO ATÔMICA BASEADA NA CARGA ESP. | 191 |
| FIGURA 114. MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO DAS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS SUPOSTOS CANABINOIDES VARIANDO DE -62,75 KCAL/MOL A 62/75 KCAL/MOL. | 192 |
| FIGURA 115. ISOSUPERFÍCIES DOS ORBITAIS MOLECULARES DE FRONTEIRA HOMO (A) E LUMO (B) DAS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS SUPOSTOS CANABINOIDES. | 193 |
| FIGURA 116. ESTUDO DE FUKUI DAS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS SUPOSTOS CANABINOIDES. ISOSUPERFÍCIES CALCULADAS COM AS FUNÇÕES $F(A)$, $F^0(B)$ E $F^+(C)$ | 194 |
| FIGURA 117. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS SUPOSTOS CANABINOIDES COM OS RESÍDUOS DO RECEPTOR CB ₁ | 194 |
| FIGURA 118. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS SUPOSTOS CANABINOIDES COM OS RESÍDUOS DO RECEPTOR CB ₂ | 195 |
| FIGURA 119. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS SUPOSTOS CANABINOIDES COM OS RESÍDUOS DO RECEPTOR GPR119. | 195 |
| FIGURA 120. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS SUPOSTOS CANABINOIDES COM OS RESÍDUOS DO RECEPTOR GPR55. | 196 |
| FIGURA 121. REPRESENTAÇÃO BIDIMENSIONAL DAS INTERAÇÕES ENTRE AS MOLÉCULAS DO GRUPO DOS SUPOSTOS CANABINOIDES COM OS RESÍDUOS DO RECEPTOR GPR18. | 196 |
| FIGURA 122. HEATMAP DAS PROPRIEDADES COM OS DADOS DE ADMET, ESTRUTURA ELETRÔNICA E RESULTADOS DE DOCKING COM RÓTULOS. | 197 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|-----|
| TABELA 1. DESCRITORES FÍSICO-QUÍMICOS E DESCRITORES DE REATIVIDADE GLOBAL DAS MOLÉCULAS A NÍVEL DE B3LYP/6-311+G (D,P). | 61 |
| TABELA 2. DESCRITORES FÍSICO-QUÍMICOS E DESCRITORES DE REATIVIDADE GLOBAL DAS MOLÉCULAS A NÍVEL DE B3LYP/6-311+G (D,P) (CONTINUAÇÃO). | 62 |
| TABELA 3. AGRUPAMENTO DAS MOLÉCULAS ESTUDADAS A PARTIR DO ALGORITMO K-MEANS UTILIZANDO OS DADOS OBTIDOS PELA PCA. | 65 |
| TABELA 4. RESULTADOS DOS ORBITAIS DE FRONTEIRA DOS LIGANTES SELECIONADOS | 68 |
| TABELA 5. PORCENTAGEM DE RESÍDUOS CARREGADOS E NÃO CARREGADOS EM RELAÇÃO AO TOTAL DE RESÍDUOS DA PROTEÍNA | 97 |
| TABELA 6. SÍTIOS ENCONTRADOS PARA O MODELO DO RECEPTOR CB ₁ | 103 |
| TABELA 7. SÍTIOS ENCONTRADOS PARA O MODELO DO RECEPTOR CB ₂ | 105 |
| TABELA 8. SÍTIOS ENCONTRADOS PARA O MODELO DO RECEPTOR GPR119. | 107 |
| TABELA 7. SÍTIOS ENCONTRADOS PARA O MODELO DO RECEPTOR GPR55. | 109 |
| TABELA 8. SÍTIOS ENCONTRADOS PARA O MODELO DO RECEPTOR GPR18..... | 111 |
| TABELA 9. ENERGIA DOS ORBITAIS MOLECULARES E GAP (Δ_{FOM}) DAS MOLÉCULAS ESTUDADAS EM KCAL/MOL. | 199 |
| TABELA 10. ENERGIA DOS ORBITAIS MOLECULARES E GAP (Δ_{FOM}) DAS MOLÉCULAS ESTUDADAS EM KCAL/MOL (CONTINUAÇÃO). ... | 200 |
| TABELA 11. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS BÁSICAS, ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO E METABOLISMO DAS MOLÉCULAS ESTUDADAS. . | 201 |
| TABELA 12. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS BÁSICAS, ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO E METABOLISMO DAS MOLÉCULAS ESTUDADAS (CONTINUAÇÃO). | 202 |
| TABELA 13. PROPRIEDADES CALCULADAS PARA EXCREÇÃO E INDICADORES TOXICOLÓGICOS. | 203 |
| TABELA 14. PROPRIEDADES CALCULADAS PARA EXCREÇÃO E INDICADORES TOXICOLÓGICOS (CONTINUAÇÃO). | 204 |
| TABELA 15. RESULTADOS EM SCORE (KCAL/MOL) DO ESTUDO DE DOCKING UTILIZANDO O ALGORITMO AUTODOCK4 E PK _i TEÓRICO. | 205 |
| TABELA 16. RESULTADOS EM SCORE (KCAL/MOL) DO ESTUDO DE DOCKING UTILIZANDO O ALGORITMO AUTODOCK4 E PK _i TEÓRICO (CONTINUAÇÃO). | 206 |
| TABELA 17. ENERGIA DOS ORBITAIS MOLECULARES HOMO-6 AO LUMO+6 DOS COMPLEXOS ESTUDADOS POR ONIOM. | 207 |
| TABELA 18. ENERGIAS DOS COMPONENTES INDIVIDUAIS E DO SISTEMA COMPLETO UTILIZADOS PARA CALCULAR A ENERGIA DE FORMAÇÃO DOS COMPLEXOS ESTUDADOS POR ONIOM | 208 |

LISTA DE ABREVIATURAS

Å: Angström

AA: Aminoácidos

ADMET: Absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AMBER: Assisted Model Building with Energy Refinement

Ala - A: Alanina

Arg - R: Arginina

Asn - N: Asparagina

Asp - D: Aspartato

CAS: Chemical Abstracts Service

CBC: Canabicromeno

CBCA: Ácido canabicromenico

CBD: Canabidiol

CBDA: Ácido canabidiólico

CBE: Canabielsoina

CBF: Canabifurano

CBG: Canabigerol

CBN: Canabinol

CBND: Canabinodiol

CBL: Canabiciclol

CBT: Canabitriol

CDFT: Teoria de Funcional da Densidade Conceitual

CNR1 - CB₁: Receptor Canabinoide I (CB₁)

CNR2 - CB₂: Receptor Canabinoide II (CB₂)

Cys - C: Cisteína

CYP: superfamília citocromo P450

DFT: Density functional theory

u.a.: Unidade atômica

FDA: Food and Drug Administration

GCPR: Glico-proteína-P

GPCR: receptores acoplados à proteína G

GPR18: receptor acoplado a proteína G 18

GPR55: receptor acoplado a proteína G 55
GPR119: receptor acoplado a proteína G 119
Gln - Q: Glutamina
Glu - E: Glutamato
Gly - G: Glicina
His - H: Histidina
HOMO: Highest occupied molecular orbital
IGM: Modelo de gradiente independente
Ile - I: Isoleucina
Leu - L: Leucina
LUMO: Lowest unoccupied molecular orbital
Lys - K: Lisina
Met - M: Metionina
NCI: interações não covalentes
OMS: Organização Mundial da Saúde
ONIOM: Our own n-layered Integrated molecular Orbital and Molecular mechanics
OPS: Opsina
PCM: modelo de polarização contínua
PDB: Protein Data Bank
Phe - F: Fenilalanina
Pro - P: Prolina
Ser - S: Serina
SMILES: Simplified molecular-input line-entry system
SMD: modelo de solvatação baseado em densidade
THCV - Tetrahydrocannabinol
 Δ^8 -THC: Δ^9 -Tetrahydrocannabinol
 Δ^9 -THC: Δ^9 -Tetrahydrocannabinol
 Π : pi
 δ : Delta
 λ : Lambda
 σ : Sigma
 ρ : Rho

Sumário

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Introdução..... | 21 |
| 1.1 | Dor aguda e crônica..... | 21 |
| 1.2 | Receptores acoplados a proteína G (GPCRs)..... | 23 |
| 1.3 | GPR119, GPR55 e GPR18..... | 26 |
| 1.4 | Sistema Endocanabinoide..... | 29 |
| 1.5 | Fitocanabinoides..... | 31 |
| 1.6 | Moléculas derivadas de canabinoides (e análogos)..... | 34 |
| 2 | Objetivo..... | 38 |
| 2.1 | Objetivos específicos..... | 38 |
| 3 | Referencial teórico..... | 39 |
| 3.1 | Estudo de perfil ADMET..... | 39 |
| 3.2 | Estudo de Estrutura Eletrônica..... | 39 |
| 3.3 | Estruturas cristalográficas..... | 45 |
| 3.4 | Docking molecular..... | 46 |
| 3.5 | Our own N-layered Integrated molecular Orbital and molecular Mechanics (ONIOM) 47 | |
| 3.6 | Análise de componentes principais (PCA)..... | 48 |
| 3.7 | Agrupamento por K-means..... | 49 |
| 4 | Metodologia..... | 51 |
| 4.1 | Seleção dos ligantes e estudos iniciais..... | 51 |
| 4.2 | Estudo de perfil ADMET..... | 52 |
| 4.3 | Estudo de Estrutura Eletrônica..... | 53 |
| 4.4 | Estruturas cristalográficas..... | 55 |
| 4.5 | Docking molecular..... | 55 |
| 4.6 | Our own N-layered Integrated molecular Orbital and molecular Mechanics (ONIOM) 57 | |
| 4.7 | Análise de componentes principais (PCA) e K-means..... | 58 |
| 5 | Resultados e Discussão..... | 59 |
| 5.1 | Estrutura eletrônica, Análise PCA e K-means..... | 59 |
| 5.1.1 | Ligantes de referência..... | 66 |
| 5.1.2 | Endocanabinoides..... | 72 |
| 5.1.3 | Canabinoides..... | 76 |
| 5.1.4 | Análogos do CBG..... | 80 |
| 5.1.5 | Análogos do CBC..... | 84 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 5.1.6 | Supostos canabinoides | 87 |
| 5.2 | Aspectos farmacocinéticos (ADMET) | 91 |
| 5.2.1 | Tendência de absorção..... | 91 |
| 5.2.2 | Propriedades de distribuição..... | 93 |
| 5.2.3 | Propriedades de metabolismos | 94 |
| 5.2.4 | Indicadores toxicológicos | 95 |
| 5.3 | Proteínas | 96 |
| 5.3.1 | Validação das estruturas modeladas e análise por BLAST | 96 |
| 5.3.2 | Análise dos bolsões de interação | 103 |
| 5.4 | Docking com os receptores CB ₁ , CB ₂ , GPR119, GPR55 e GPR18. | 112 |
| 5.4.1 | Receptor canabinoide do tipo I (CB ₁)..... | 112 |
| 5.4.2 | Receptor canabinoide do tipo II (CB ₂) | 117 |
| 5.4.3 | Receptor acoplado a proteína G119 (GPR119) | 122 |
| 5.4.4 | Receptor acoplado a proteína G 55 (GPR55) | 126 |
| 5.4.5 | Receptor acoplado a proteína G 18 (GPR18) | 130 |
| 5.5 | Correlação por Heatmap | 133 |
| 5.6 | Estudo ONIOM. | 138 |
| 5.6.1 | Receptor CB ₁ | 138 |
| 5.6.2 | Receptor CB ₂ | 139 |
| 5.6.3 | Receptor GPR119 | 139 |
| 5.6.4 | Receptor GPR55 | 140 |
| 5.6.5 | Receptor canabinoide do tipo I (CB ₁) e complexo CB ₁ -CP55940 | 140 |
| 5.6.6 | Receptor canabinoide do tipo II (CB ₂) e complexo CB ₂ -CP55940..... | 142 |
| 5.6.7 | Receptor acoplado a proteína G 119 (GPR119) e complexo GPR119-MBX2982 145 | |
| 5.6.8 | Receptor acoplado a proteína G 55 (GPR55) e complexo GPR55-LPI ... | 146 |
| 5.6.9 | Energia de formação dos complexos. | 148 |
| 6 | Conclusão | 150 |
| 7 | Referencias: | 152 |
| 8 | Apêndices | 165 |
| 9 | Tabelas | 198 |

1 Introdução

1.1 Dor aguda e crônica

A dor está entre os sintomas crônicos mais comuns em panorama global, afetando cerca de 20% da população global, com um progressivo aumento anual no número de acometidos, devido a fatores ocupacionais, biológicos e sociais ¹. Entretanto, mais do que um incômodo, a dor possui uma função biológica essencial, atuando como um mecanismo de defesa e alerta, sinalizando ao organismo a necessidade de evitar ou minimizar danos ². No contexto clínico, a dor é subdividida em duas categorias: dor aguda e dor crônica ². A dor aguda é definida como uma experiência sensorial de curta duração, geralmente associada a lesões teciduais ou processos inflamatórios transitórios ². Por outro lado, a dor crônica caracteriza-se pela persistência do estado de dor por um período superior a seis meses, ultrapassando o tempo esperado de cicatrização dos tecidos ou da resolução da lesão ou processo inicial ³.

A relevância da dor crônica consiste principalmente na perpetuação de sua função biológica a longo prazo, promovendo sequelas cognitivas e comportamentais, como depressão e ideação suicida ¹. Estima-se que mais de dois terços da população brasileira convivam diariamente com algum tipo de dor crônica, o que indica uma alta incidência e, conseqüentemente, um elevado custo associado à manutenção dos pacientes com essa condição ⁴. Desta forma, o tratamento farmacológico consistiu uma terapia preventiva da dor, na qual o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e analgésicos não opioides mostram-se eficazes para a maioria dos casos relacionados à dor aguda ⁵. Por outro lado, o tratamento da dor crônica geralmente requer uma abordagem terapêutica mais complexa, combinando analgésicos convencionais, utilizados na dor aguda, com opioides, como a morfina e a oxicodeona ⁶.

Nesse contexto, os opioides se destacam como fármacos potentes que atuam no sistema nervoso por meio da interação com receptores opioides que modulam a percepção da dor ⁷. Apesar de sua elevada eficácia analgésica, o uso contínuo de medicamentos, dessa classe medicamentosa, pode levar ao desenvolvimento de tolerância/resistência, fazendo com que o organismo exija doses crescentes para alcançar o mesmo efeito terapêutico ^{8,9}. O reflexo em ampla escala do efeito de resistência apresentado nos opioides consiste na denominada "crise dos opioides", cuja principal causa está relacionada ao aumento expressivo do número de indivíduos dependentes da oxicodeona ¹⁰.

O aumento do consumo, impulsionado pelo efeito de resistência, elevou o número de

usuários com dependência e subsequente sobrecarga do sistema de saúde dos Estados Unidos da América (EUA) durante a década de 90, culminando na crise de saúde mais severa da história daquele país ^{8,11}. Reconhecida como uma crise silenciosa de saúde pública, essa situação evidenciou fragilidades significativas na capacidade do sistema de saúde norte-americano de gerenciar de forma adequada a prescrição de medicamentos opioides, tanto para o tratamento da dor aguda quanto da dor crônica ⁸. As consequências dessa crise persistem até os dias atuais, exigindo políticas públicas voltadas à contenção da crise e à redução de danos, sobretudo em grandes centros urbanos ⁸.

No Brasil observa-se o reflexo dessa crise na adoção de medidas regulatórias mais rigorosas, que têm contribuído para impedir que o cenário nacional atinja as mesmas proporções observadas nos EUA. Dentre essas ações, destacam-se a exigência de registros específicos para fármacos contendo opioides junto aos órgãos competentes, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), e o fortalecimento dos sistemas de vigilância e controle sobre a prescrição de substâncias sujeitas à dependência química ¹².

Além das ações institucionais realizadas pelos órgãos reguladores, relata-se a insegurança dos prescritores na indicação de opioides tornando-os medicamentos de última escolha entre prescritores para o tratamento da dor crônica e na dor aguda ⁷. No entanto, os protocolos terapêuticos atualmente disponíveis nem sempre são suficientes para atender às necessidades clínicas dos pacientes com dor crônica, resultando na persistência de dor e uma manutenção ineficaz dos quadros mais graves ¹³.

Diante das limitações da eficácia e dos riscos de dependência associados ao uso prolongado de opioides, cresce o interesse pelo uso de canabinoides como alternativa terapêutica no tratamento da dor crônica ¹⁴. Considerados possíveis aliados na composição do acervo farmacológico contra a dor, os extratos da planta *Cannabis sativa* têm se mostrado promissores devido ao seu potencial de inibição de vias inflamatórias (efeito anti-inflamatório), à sua capacidade de reduzir o nível de consciência (efeito analgésico) e à ação na diminuição da percepção da dor, ao bloquear os sinais enviados ao sistema nervoso (efeito antinociceptivo) ¹⁵.

A utilização medicinal da cannabis é reforçada por estudos epidemiológicos realizados nos EUA, os quais demonstraram que, em regiões onde o uso terapêutico foi autorizado, observou-se uma redução de até 23% nas internações hospitalares relacionadas ao uso de opioides, bem como uma queda de 13% nos casos de overdose. Esses dados evidenciam o potencial benéfico da utilização combinada de canabinoides e opioides no manejo da dor ¹⁵.

O mecanismo de ação da cannabis na modulação da dor é complexo e envolve a interação dos canabinoides com receptores celulares, os quais promovem um efeito sinérgico quando combinados com opioides, permitindo a redução nos níveis de dor e a possibilidade da diminuição da dosagem de opioides ^{15,16}. Portanto, a ativação seletiva de receptores celulares desencadeia uma série de processos bioquímicos intracelulares que modulam a comunicação intercelular e intracelular, atuando diretamente sobre os mecanismos fisiopatológicos que sustentam os processos geradores de dor.

1.2 Receptores acoplados a proteína G (GPCRs)

O processo de comunicação intracelular e intercelular são essenciais para o equilíbrio fisiológico, homeostase, processos geradores de dor e consequente manutenção da vida ¹⁷. A comunicação intercelular consiste na transmissão de informações entre células, mediada por moléculas como íons, peptídeos, proteínas ou pequenos mensageiros químicos, que são liberados no meio extracelular e interagem com estruturas proteicas específicas presentes na membrana de células-alvo, denominadas receptores ¹⁸.

Os receptores desempenham um papel central na farmacologia, pois são responsáveis pela detecção e transdução dos sinais extracelulares em respostas bioquímicas intracelulares. As diversidades estruturais e funcionais dos receptores garantem suas qualidades como alvos estratégicos no desenvolvimento de fármacos ¹⁹.

Desta forma, os receptores são classificados em 4 superfamílias ²⁰: I – canais iônicos controlados por ligantes (receptores ionotrópicos), que permitem o fluxo de íons através da membrana; II – receptores acoplados a proteína G (receptores metabotrópicos ou GPCRs), que desencadeiam respostas intracelulares via proteínas G; III – receptores ligados a quinases (receptores tirosina-quinase), que ativam diretamente cascatas de fosforilação de proteínas; e IV- receptores nucleares, localizados no citoplasma ou no núcleo, que regulam diretamente a expressão gênica ²¹.

Entre essas superfamílias, destacam-se a família dos receptores de membrana, que compartilham uma arquitetura estrutural comum composta por três domínios: um domínio extracelular (responsável pela interação com o ligante), um domínio transmembrana (que atravessa a bicamada lipídica) e um domínio intracelular (responsável pela ativação das vias de sinalização) ²². Os receptores de membrana são representados pelos canais iônicos (I), receptores acoplados a proteína G (II) e receptores ligados a quinases (III) ²⁰.

As superfamílias I (canais iônicos) e III (receptores tirosina-quinase) geralmente promovem respostas lineares, nas quais cada interação ligante-receptor desencadeia uma

sequência proporcional de eventos bioquímicos. Por outro lado, os receptores da superfamília II (GPCRs) são capazes de gerar respostas amplificadas, pois sua ativação pode recrutar múltiplas isoformas de proteínas G, potencializando o sinal intracelular muito além da intensidade do estímulo inicial ²³.

Os GPCRs possuem especial relevância na comunicação celular por detectarem sinais extracelulares e os converterem em respostas intracelulares, por meio da ativação de proteínas efetoras conhecidas como proteínas G, que interagem subsequente com moléculas intracelulares responsáveis por propagar e amplificar o sinal — os segundos mensageiros ²⁴. A inibição do processo de sinalização de GPCRs pela interação destes receptores com ligantes é reconhecido como uma forma de ação de fármacos analgésicos e antinociceptivos no processo de inibição da dor. Atualmente, estima-se que cerca de 34% dos fármacos aprovados pela FDA (Food and Drug Administration) atuem sobre GPCRs, destacando o enorme potencial farmacológico desta família de receptores ^{25,26}.

Diante disto, é pertinente o anseio de aprimorar o entendimento sobre os GPCRs e o envolvimento com processos relacionados ao mecanismo de dor. Esta é a maior superfamília de receptores de membrana, com aproximadamente 826 estruturas caracterizadas até o momento ²⁷. A classificação das famílias dos GPCRs é realizada pela relação de similaridade, pela sequência de aminoácidos, sendo de maior relevância a variação presente nos domínios transmembrana ²⁸.

Os GPCRs são usualmente divididos em 6 classes, de A a F ²⁸⁻³⁰: classe A (rodopsinas) ³¹; classe B1 (secretinas) ³², da qual deriva a classe B2 (receptores de adesão) ³³; classe C (glutamato) ³⁴; classe D (feromônio fúngico similar a Ste2) ²⁹; classe E (adenina mono fosfato) ³⁵; e classe F (*Frizzled/Smoothened*) ³⁶. Entre estas, a classe A (rodopsinas), ou superfamília dos receptores (Figura 1) com sete domínios transmembrana (7TM), contém cerca de 680 receptores, sendo de longe a mais abundante por possuir o maior número de representantes ³⁷. Devido à sua vasta diversidade funcional, a classe A é subdividida em 12 subfamílias, agrupadas tanto pelas funções fisiológicas quanto pelos tipos de ligantes que interagem com seus receptores (Figura 1) ²⁶. De acordo com as funções fisiológicas, os receptores da classe das rodopsinas podem ser agrupados como sensoriais ou não sensoriais.

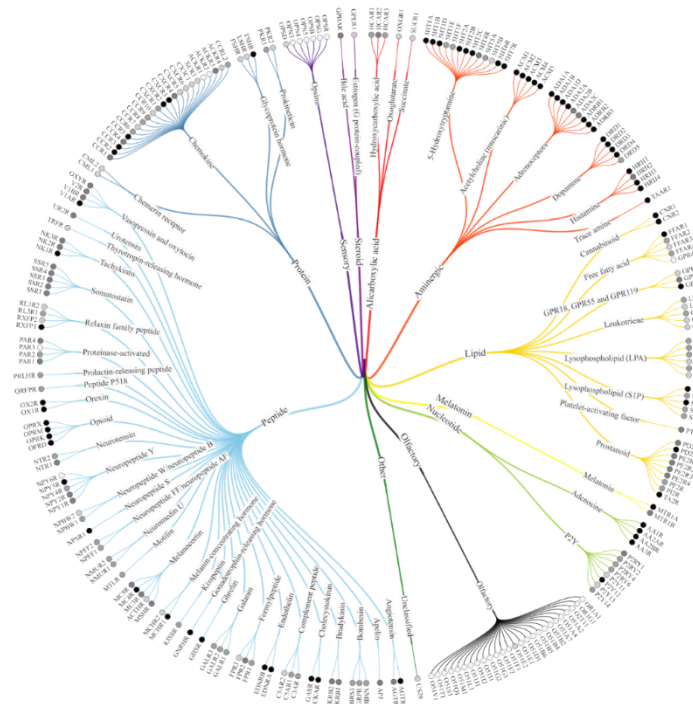


Figura 1. Divisões da superfamília A por processos sensoriais, regulação de processos fisiológicos e interação com ligantes (fonte GPCRdb) ²⁶.

Os processos sensoriais medeiam as funções dos processos de neurotransmissão, resposta imune, visão, olfato, paladar e reconhecimento de feromônios ³¹. Assim, os receptores sensoriais são divididos em 2 grupos ³⁸: opsina, os receptores envolvidos em processos de visão ³⁹; e olfatórios, os receptores envolvidos processamento olfatório. A função não sensorial, associados à regulação de processos fisiológicos internos, é dividida em 2 classes: receptores do tipo “outros” (US28, receptor de quimiocina), que estão envolvidos em processos endógenos ⁴⁰; e receptores órfãos (GPR52), ou seja, aqueles que não possuem processo ou ligante bem definidos ⁴¹.

Quanto à interação com moléculas pequenas e macromoléculas, os GPCRs apresentam uma ampla gama de moléculas capazes de ativá-los. Os sistemas moleculares capazes de ativar os GPCRs são: proteínas ⁴², peptídeos ⁴³, nucleotídeos ⁴⁴, melatonina ⁴⁵, lipídeos ⁴⁶, aminérgicos ⁴⁷, ácidos hidroxicarboxílicos ⁴⁸ e esteroides ⁴⁹. A modulação de processos envolvidos na fisiopatologia da dor está principalmente correlacionada com a interação destes mediadores químicos com os GPCRs, com destaque para os receptores opioides, canabinoides, muscarínicos e GABAérgicos ¹.

A atividade farmacológica gerada por canabinoides em receptores não canabinoides do tipo I (CB₁) e tipo II (CB₂), gera a denominação desses receptores como receptores putativos de canabinoides. Dentre o grupo das estruturas que são ativadas por lipídeos, a subclasse dos receptores GPR119, GPR55 e GPR18 se destacam por serem receptores putativos de canabinoides e apresentarem potencial para a inibição da modulação do processo de dor^{50,51}. Esta subclasse de receptores apresenta conformação ativa na presença de canabinoides endógenos, moléculas derivadas da planta canabis (fitocannabinoides) e canabinoides sintéticos⁵². Um exemplo recente é o composto sintético CP55940 (2-[(1R,2R,5R)-5-hidroxi-2-(3-hidroxipropil)ciclohexil]-5-(2-metiloctan-2-il)fenol), utilizado experimentalmente para caracterização da atividade de receptores canabinoides^{53,54}.

1.3 GPR119, GPR55 e GPR18

O grupo de receptores GPR119, GPR55 e GPR18 apresenta alta capacidade de ser ativado por uma ampla gama de moléculas lipofílicas, incluindo metabólitos derivados de ácidos graxos e canabinoides. Entre os ligantes identificados para esse grupo, destacam-se (Figura 2):

- *N*-[(5Z,8Z,11Z,14Z)-1-oxo-5,8,11,14-eicosatetraen-1-il]glicina (N-araquidonoil glicina)⁵⁵;
- *D-mio*-inositol 1-[(2R)-2-hidroxi-3-[(1-oxooctadecil)oxi]propil hidrogênio fosfato] (LPI)^{56,57};

Além destes, os receptores GPR55 e GPR18 também possuem atividade quando interagem com endocannabinóides, como:

- (5Z,8Z,11Z,14Z)-*N*-(2-hidroxietil)-5,8,11,14-eicosatetraenamida (Anandamida)⁵⁸;
- 2-araquidonoilglicerol (2-AG)⁵⁹.

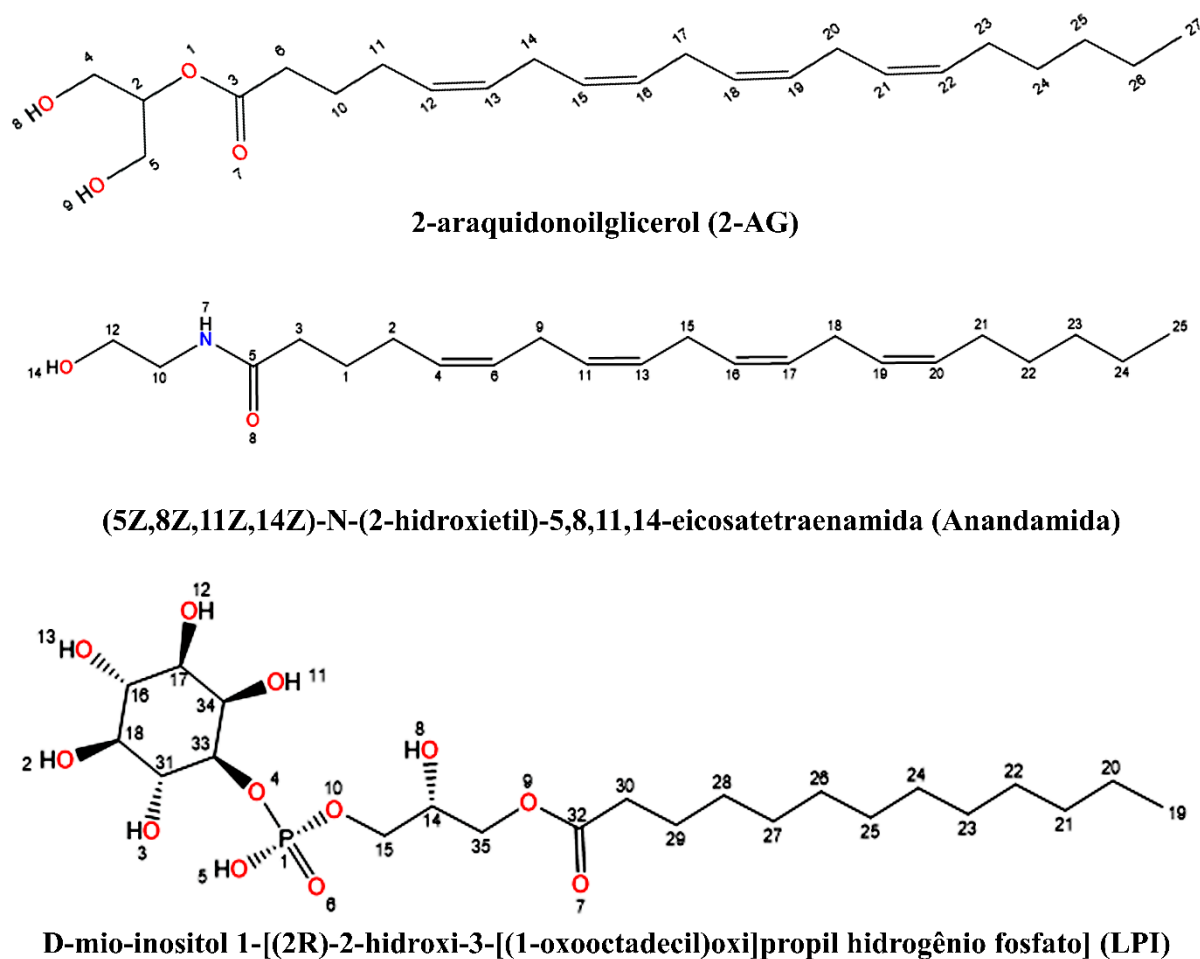


Figura 2. Estruturas bidimensionais dos endocanabinoides 2-AG, anandamida e LPI.

Além dos endocanabinoides, esses receptores são modulados pelos fitocanabinoides, compostos bioativos extraídos da planta *Cannabis sativa*, e por canabinoides sintéticos, como:

- (6aR,10aR)-6a,7,8,10a-tetrahidro-6,6,9-trimetil-3-pentil-6H-dibenzo[b,d]piran-1-ol (Δ^9 -THC);
- 2-[(1R,6R)-3-metil-6-(1-metiletenil)-2-ciclohexen-1-il]-5-pentil-1,3-benzenediol (CBD)⁶⁰;
- Canabinoides raros ou minoritários⁶¹;
- CP55940⁶⁰.

Desta forma, os receptores GPR55 e GPR18 (Figura 3) são reconhecidos como supostos receptores putativos de canabinoides, embora não pertençam à classe dos canabinoides clássicos, cuja atividade biológica é modulada pelos fitocanabinoides Δ^9 -THC e CBD⁶²⁻⁶⁴.

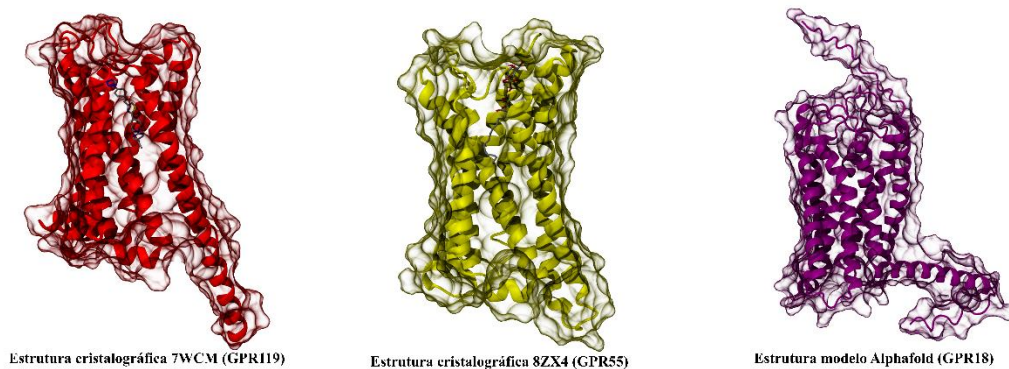


Figura 3. Representação das estruturas cristalográficas dos receptores GPR119, GPR55 e GPR18 obtidos a partir das estruturas cristalográficas 7WCM, 8ZX4 e programa de inteligência artificial AlphaFold.

O GPR119, registrado na base UniProt sob o código Q8TDV5, desempenha funções cruciais no controle metabólico. Este receptor, quando ativado, estimula a liberação do peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1), que, por sua vez, ativa os receptores de GLP-1, promovendo a secreção de insulina e a supressão da secreção de glucagon ⁶⁵. Esse mecanismo favorece o tratamento da diabetes através do controle glicêmico, tornando o GPR119 um alvo promissor para o desenvolvimento de fármacos voltados ao tratamento do diabetes mellitus tipo 2 (DM2), com a vantagem de apresentar baixo risco de efeitos adversos significativos ⁵².

Os ligantes sintéticos *N*-[2-fluoro-4-(metilsulfonil)fenil]-6-[4-[3-(1-metiletil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-1-piperidinil]-5-nitro-4-pirimidinamine (AR231453) e o 5-etil-2-[4-[4-[[4-(1*H*-tetrazol-1-il)fenoxi]metil]-2-thiazol]-1-piperidinil]pirimidina (MBX2982) são reconhecidos como agonistas orais, com alta eficácia no controle da glicemia, e já apresentam resultados em ensaios clínicos de fase 2 ⁵².

O GPR55, catalogado sob o código UniProt Q9Y2T6, apresenta ampla expressão no sistema nervoso central ⁶⁶, no sistema imune ⁶⁷ e em tecidos associados ao metabolismo energético ⁶⁸. O GPR55 possui associação com atividade inflamatória e envolvimento com dor neuropática ^{56,69}. Este receptor é reconhecido como um receptor putativo de canabinoides, pois é antagonizado pelo CBD, o que significa que o canabidiol bloqueia sua atividade, produzindo efeitos inibitórios na dor e na inflamação ^{51,53}. O GPR55 possui afinidade elevada com o LPI (lisofosfatidilinositol), que é atualmente considerado seu ligante endógeno mais provável, fato corroborado pela resolução de sua estrutura cristalográfica complexada com LPI, fornecendo fortes evidências para essa interação ⁵⁷.

O GPR18 (UniProt Q14330) interage de forma preferencial com a *N*-araquidonoil glicina, motivo pelo qual também é conhecido como receptor de *N*-araquidonoil glicina ⁵⁵. Sua expressão é predominante em linhagens de células do sistema imunológico, como células T e

células B, similar à localização observada para o CB₂, estando associado a cascatas inflamatórias e processos inflamatórios⁵⁰. Estudos indicam que a baixa expressão do GPR18 correlaciona-se com pior prognóstico em casos de sepse, condição caracterizada pela inflamação sistêmica grave⁷⁰. Reforçando os relatos de interação com canabinoides do GPR18⁶⁴, Linda Console e colaboradores demonstraram que este receptor apresenta atividade farmacológica na presença de canabinoides sintéticos reforçando o relato como receptor putativo de canabinoides⁶⁴.

O conjunto dos receptores GPR119, GPR18 e GPR55 destaca-se não apenas pela capacidade de interagir com compostos derivados da *Cannabis sativa*, mas também por seu envolvimento em processos metabólicos, inflamatórios, imunológicos e neurológicos. O perfil de envolvimento em processos homeostáticos, inflamatórios e metabólicos dos receptores GPR119, GPR18 e GPR55, assim como a interação com canabinoides, indica a correlação desses receptores com o sistema endocanabinoide^{71,72}.

1.4 Sistema Endocanabinoide

O sistema endocanabinoide é constituído por três elementos: os receptores endocanabinoides, as moléculas endocanabinoides e as enzimas que realizam o metabolismo e transporte de canabinoides. Este sistema é altamente conservado evolutivamente e exerce papel na homeostase a partir da regulação de processos fisiológicos como dor, inflamação, metabolismo, imunidade e modulação da atividade neuronal^{59,73,74}.

Os receptores do sistema endocanabinoide são reconhecidos como os receptores canabinoides de tipo I (CNR1 ou CB₁) e tipo II (CNR2 ou CB₂), ambos pertencentes à família dos receptores acoplados à proteína G (GPCRs), respectivamente depositados sobre os códigos UniProt P21554 e P34972 (Figura 4). Os receptores canabinoides são expressos em diversas linhagem celulares envolvidas em processos nervosos, imunes e metabólicos⁷⁵⁻⁷⁷. Os receptores canabinoides, quando expressos em neurônios, estão localizados na fenda sináptica⁶² com o CB₁ expresso nos terminais pré-sinápticos e o CB₂ em terminais pós-sinápticos. Os receptores canabinoides possuem ação farmacológica definida, como mediadores de processos GABAérgicos, por meio de processos despolarizadores de canais de cálcio, envolvido em processos nociceptivos mediante processos de indução por despolarização^{78,79}.



Estrutura cristalográfica 6KQI (CB₁)



Estrutura cristalográfica 8GUR (CB₂)

Figura 4. Representação das estruturas cristalográficas dos receptores canabinoides CB₁ e CB₂, obtidos a partir das estruturas cristalográficas depositadas no PDB, sob códigos 6KQI e 8GUR.

Receptores CB₁ são expressos em adipócitos brancos, estando correlacionados com regulação de processos metabólicos relacionados com a obesidade ⁸⁰. Em micróglias e macrófagos, células do sistema imune, observa-se a expressão de receptores do tipo CB₂ que modulam processos de pró-inflamação por mediação da produção de espécies reativas de oxigênio ^{81,82}. Receptores canabinoides estão associados a processos de fibrose hepática em linhagens hepáticas, com envolvimento em regulação metabólica lipídica, contribuindo para a lipogênese e resistência à insulina ⁸³.

Os ligantes endógenos do sistema endocanabinoide, denominados endocanabinoides, são moléculas lipofílicas derivadas de ácidos graxos poli-insaturados, sintetizadas sob demanda em resposta a estímulos celulares. Esses mensageiros atuam predominantemente como sinalizadores retrógrados, sendo produzidos no neurônio pós-sináptico e atuando nos receptores localizados na membrana pré-sináptica, modulando a liberação de neurotransmissores ⁷³.

Os endocanabinoides anandamida e 2-AG são moléculas bem caracterizadas, ambos apresentam elevada afinidade pelos receptores CB₁ e CB₂, sendo responsáveis pela regulação de processos relacionados à neurotransmissão, à resposta imune, à dor e ao metabolismo energético ⁷⁷.

Também caracterizados como endocanabinoides, a molécula N-araquidonoil dopamina, e seus derivados atuam como agonistas dos receptores canabinoides, modulando a atividade neuroprotetora e anti-inflamatória ⁸⁴.

O funcionamento do sistema endocanabinoide ocorre por meio da ativação dos

receptores CB₁ e CB₂ pelos seus ligantes endógenos, desencadeando respostas celulares que promovem a regulação de diversos processos fisiológicos⁷⁸. No sistema nervoso, essa ativação resulta em efeitos antinociceptivos, uma vez que a inibição da liberação de neurotransmissores excitatórios contribui para a redução da propagação dos sinais de dor^{15,78}. Por meio dos receptores canabinoides CB₁ e CB₂ observa-se a atividade dos endocanabinoides com o sistema imune, na diferenciação celular e na sinalização⁷⁸.

A atividade farmacológica associada ao sistema endocanabinoide não se limita apenas aos ligantes endógenos⁷⁸. Compostos derivados da planta *Cannabis sativa*, conhecidos como fitocanabinoides, como o Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) e o canabidiol (CBD), bem como canabinoides sintéticos, interagem diretamente com os receptores CB₁ e CB₂, além de receptores putativos como GPR18, GPR55 e GPR119, ampliando as possibilidades terapêuticas e farmacológicas associadas à modulação desse sistema^{73,85}.

1.5 Fitocanabinoides

A canabis é uma planta reconhecida por suas representantes *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* e *Cannabis ruderalis*, que possui relatos de participação como insumo de interesse nas civilizações egípcia, indiana, grega, assíria e chinesa⁸⁶. Devido às suas diversas propriedades, a canabis possui registros de utilização em rituais religiosos, procedimentos médicos e transações comerciais⁸⁷. Apesar de sua variedade de uso, sua origem é datada de 4.000 a.C. em territórios da Ásia Central, sendo seu primeiro registro histórico de utilizações para fins medicinais encontrado na farmacopeia chinesa, Shen Nung Pen Ts'ao Ching^{86,87}.

Os fitocanabinoides, moléculas derivadas da canabis, apresentam papel crucial no processo evolutivo e na defesa da planta contra herbívoros, mecanismos de defesa contra pragas e estresses ambientais⁸⁸. A primeira extração de fitocanabinoides relatada em uma publicação científica ocorreu em 1864 com os compostos Δ^9 -THC e CBD (Figura 5) como compostos presentes no haxixe (*Canabis sativa* L.) sendo que o Δ^9 -THC apresenta atividade biológica psicotrópica⁸⁹.

Atualmente a canabis possui indicações farmacêutica para ser usada como anti-inflamatório, anticonvulsivante, antiemético, antinociceptivo e psicotrópico⁷⁴. Segundo a Organização Mundial de Saúde, por meio do *World Drug Report 2022*, os usuários de canabis abrangem uma população de 209 milhões de pessoas, entre as faixas etárias de 15 a 64 anos¹¹. Isso torna a canabis a droga mais usada mundialmente, devido aos seus potenciais medicinais e alucinógenos¹¹. A composição da canabis envolve diversas classes de moléculas, entre essas são relatados flavonoides, terpenoides e 125 fitocanabinoides, responsáveis pela amplo e

complexo escopo de uso da cannabis ⁷⁴.

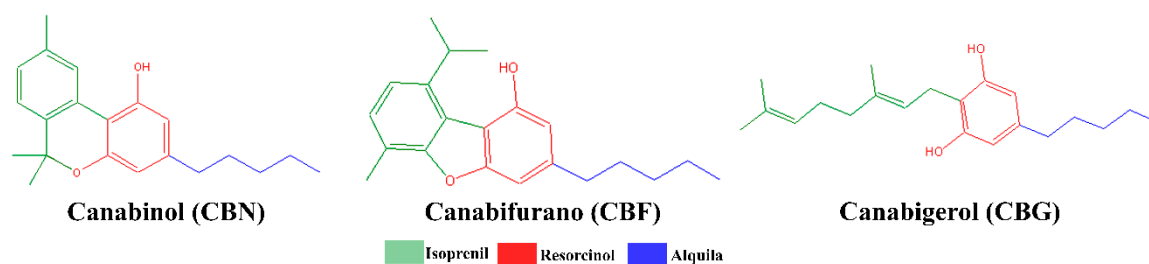


Figura 5. Divisão das estruturas bidimensional dos canabinoides nos grupos isoprenil (verde), resorcinol (vermelho) e alquil (azul).

Os fitocanabinoides apresentam, em sua estrutura química, apenas três tipos de átomos: carbono, hidrogênio e oxigênio ⁹⁰. Como observado em outras moléculas derivadas de plantas, os canabinoides são isentos de nitrogênio em sua composição ⁹⁰. Os canabinoides possuem estrutura química composta por três unidades básicas: um resíduo derivado de isoprenil, um resorcinol e um grupo alquil (Figura 5) ⁹¹.

Atualmente, são identificados 125 fitocanabinoides, classificados em 11 subclasses, de acordo conforme a similaridade com a cadeia principal da molécula primária de cada classe, a qual dá nome à sua subclasse ⁹². Na Figura 6 estão apresentadas as estruturas em 2D destas 11 subclasses: canabicromeno (CBC), CBD, canabielsoina (CBE), canabigerol (CBG), canabicitrolol (CBL), canabinol (CBN), canabinodiol (CBND), canabitriol (CBT), Δ^8 -*trans*-tetrahydrocanabinol (Δ^8 -THC), Δ^9 -THC e canabinoides variados ⁹².

Os demais componentes de cada subclasse são constituídos por radicais originados a partir do metabolismo da planta, dos quais os principais, relatados na literatura, são: a variação ácida dos compostos principais, a partir da adição do grupo ácido carboxílico no grupo resorcinol, como o ácido canabicromênico (CBCA) e o ácido canabidiólico (CBDA); e a variação na quantidade de carbonos na cadeia alquila, como na tetrahydrocanabivarina (THCV) ⁹¹.

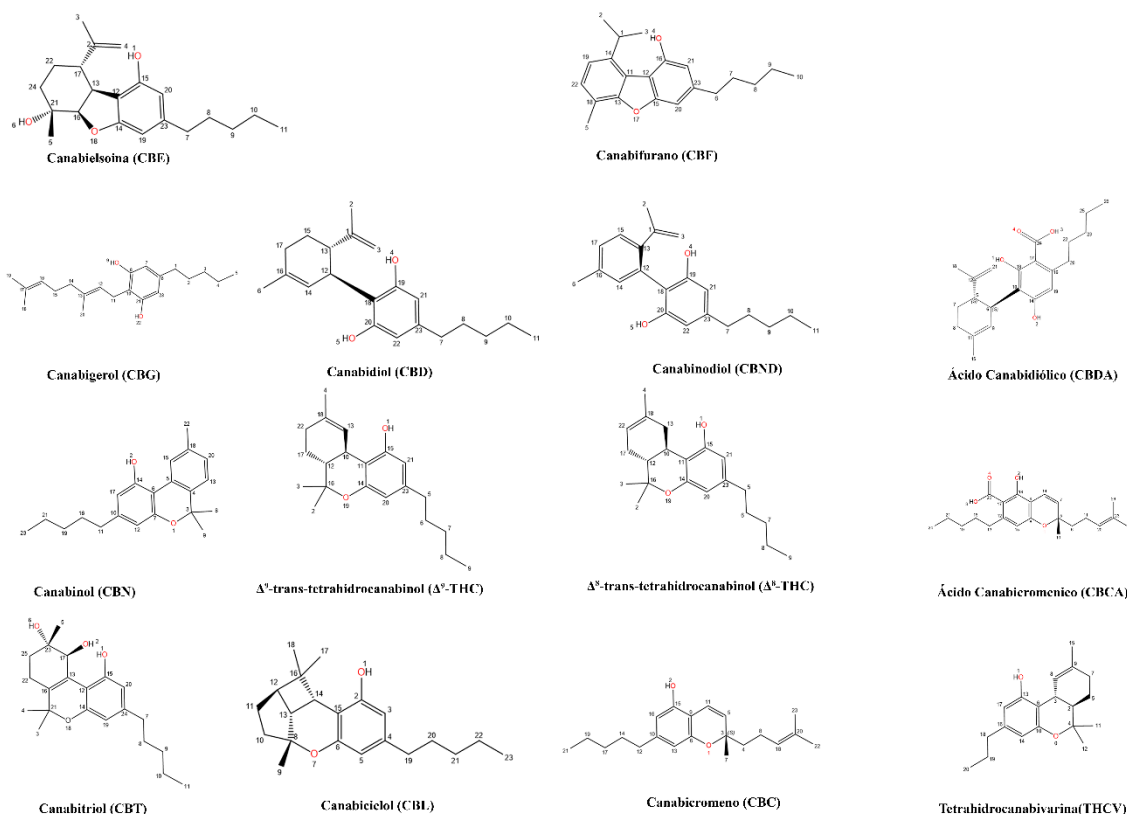


Figura 6. Representação bidimensional das 11 moléculas selecionadas de cada subfamília dos canabinoides assim como as moléculas ácidas CBDA e CBCA e a moléculas THCV.

A classe dos fitocanabinoides possui uma divisão baseada na concentração dos compostos presentes na planta *Cannabis sativa*. Essa divisão corresponde às moléculas com maior concentração na planta, os canabinoides principais, e às moléculas com menor concentração, os canabinoides menores ou raros ⁷⁴. As moléculas que compõem o grupo dos canabinoides principais têm dois representantes: o Δ^9 -THC e o CBD ⁹³ enquanto as demais subclasses e metabolitos desses são considerados canabinoides raros ⁹³.

No mercado, os fitocanabinoides já são encontrados em formulações com as moléculas CBD, CBG e Δ^9 -THC isoladas, nas quais os efeitos anti-inflamatório e atividade analgésica são explorados para tratamentos de pacientes que apresentam dor crônica ⁹⁴⁻¹⁰⁰. Porém, a utilização de tratamentos com cannabis apresenta a característica indesejada da reação adversa psicotrópica associada à molécula do Δ^9 -THC ¹⁰¹.

Assim, medicamentos à base de cannabis, composto por formulações padronizadas e autorizados pela ANVISA, possuem em sua composição dois princípios ativos: o CBD e o Δ^9 -THC ¹⁰². A molécula CBD é utilizada como princípio ativo em maior concentração devido à capacidade de amenizar reação adversa psicotrópica causada pelo Δ^9 -THC ¹⁰¹. A resolução da

diretoria colegiada 327/2019 padroniza os medicamentos à base de cannabis ¹², estipulando que estes fármacos devem conter predominantemente CBD e menos de 0,2% de teor de concentração de Δ^9 -THC em sua composição; exceto os medicamentos de uso paliativo, no quais o Δ^9 -THC pode estar presente em concentração superior a 0,2% ¹². Assim, os principais efeitos terapêuticos dos fármacos com CBD e Δ^9 -THC relatados incluem seu potencial farmacológico como antiemético ¹⁰³, analgésico ¹⁰⁴, antiepilético ¹⁰⁵, ansiolítico ¹⁰⁶, antipsicótico ¹⁰⁷, neuroprotetor ¹⁰⁸ e psicotrópico ^{74,109}.

A resolução da diretoria colegiada da ANVISA ¹² demonstra a necessidade de regulação das moléculas oriundas do Δ^9 -THC e CBD devidos ao seu potencial farmacológico como moléculas isoladas. Contudo, observa-se o “efeito entourage”, que consiste em evidências de que as moléculas principais, CBD e Δ^9 -THC, possuem maior eficácia quando combinados com flavonoides, terpenos e os canabinoides raros ^{110,111}. A sinergia apresentada pelo efeito entourage indica o potencial farmacológico dos canabinoides raros em baixas concentrações ^{112,113}.

Os canabinoides raros possuem efeitos farmacológicos diversos e de interesse para a modulação da dor ¹¹⁴. Além de compartilharem a característica de minimizar a reação adversa psicotrópico do Δ^9 -THC ⁷⁴. Entre os principais efeitos farmacológicos dos canabinoides raros destacam-se seu potencial anti-inflamatório ¹¹⁵, anticonvulsivante ¹¹⁶, antiemético ¹⁰³, neuroprotetor ¹⁰⁸ e antinociceptivo ^{74,114}.

Dessa forma, considerando o efeito antinociceptivo e o potencial de modulação da dor, ressaltamos 5 moléculas que apresentaram potencial antinociceptivo em estudos por outros autores: CBN ⁹⁶, CBC ^{94,95}, o CBDV ⁹⁹, CBE ¹⁰⁰, CBM ¹⁰⁰ e THCV ^{93,98}. Frente à minimização de efeitos adversos, a utilização dos canabinoides raros e de moléculas com estrutura química semelhante aos canabinoide são demonstrados como promissoras para o desenvolvimento de potenciais fármacos para o tratamento da dor ^{63,94}.

1.6 Moléculas derivadas de canabinoides (e análogos)

As moléculas bioativas derivadas de espécies distintas da *Cannabis sativa*, porém com estruturas químicas semelhantes, são classificadas como análogos de canabinoides ou, em alguns contextos, como compostos “*cannabinoid-like*” (Figura 7 e 8). Essas moléculas compartilham a estrutura química base dos canabinoide, mas apresentam variações nas cadeias

laterais, decorrentes de diferenças nos processos metabólicos específicos de cada espécie, bem como de adaptações às condições ambientais ¹¹⁷. Estudos estruturais demonstram que compostos canabinoides ⁹¹ não são exclusivos do gênero *Canabis*, sendo identificados em outros gêneros vegetais, como *Cylindrocarpon* ¹¹⁸ e *Glycyrrhiza* ¹¹⁹.

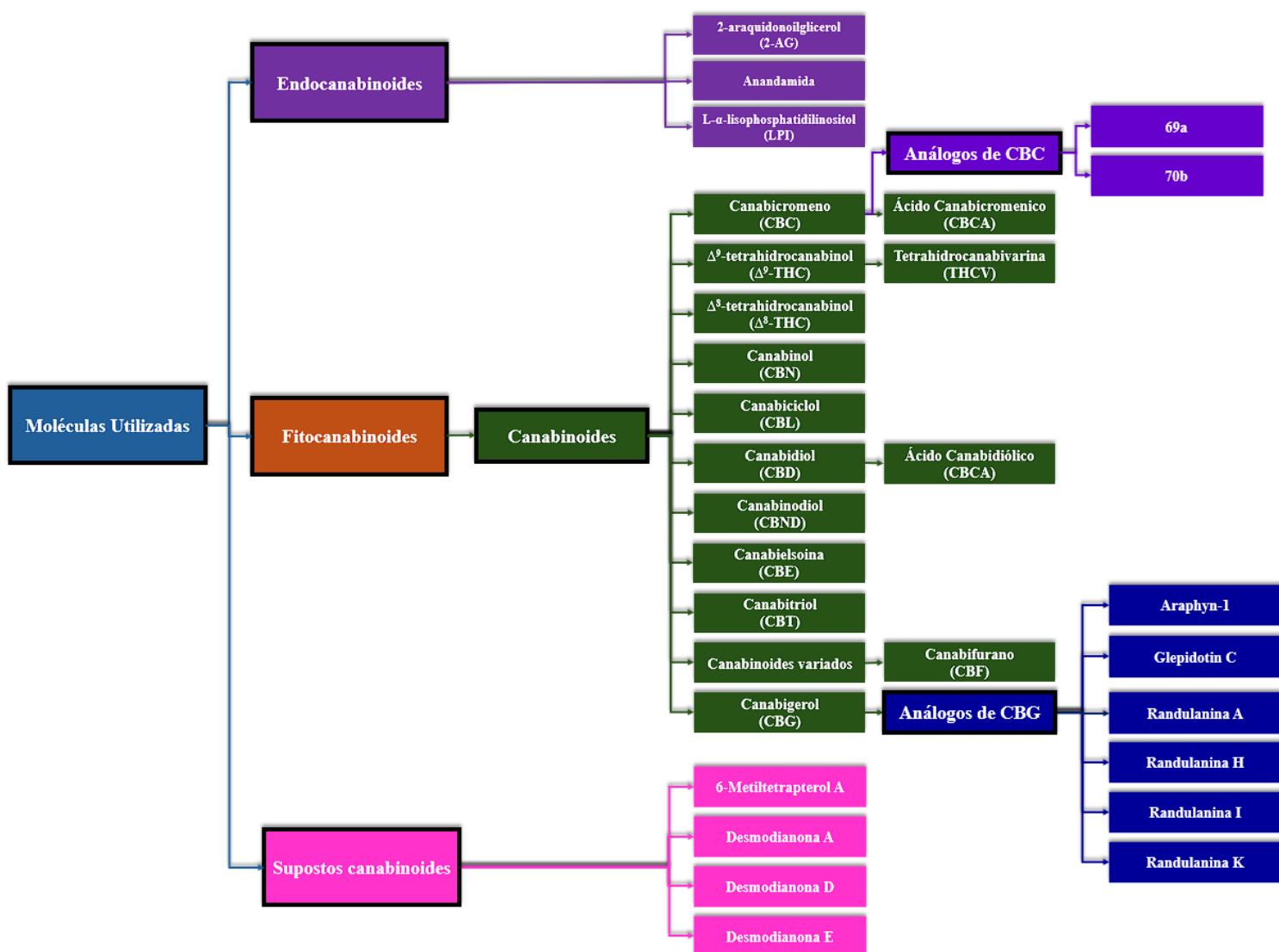


Figura 7. Esquema de divisão das moléculas estudadas em endocanabinoides (lilás), canabinoides (verde), análogos de CBG (azul), análogos de CBC (roxo) e supostos canabinoides (rosa).

Dentre os análogos de CBC e seus derivados (Figura 8), destacam-se, para este estudo, composto extraídos dos gêneros *Rhododendron*. Este gênero possui em sua composição as moléculas 2(S)-2-metil-2-(4-metil-3-pentenil)-7-hidroxi-5-(2-feniletil) cromeno (CAS No 133521-96-7) e 2,2-dimetil-5-hidroxi-7-(2-feniletil) cromeno (CAS No 70610-15-0), denominadas 69a e 70b (segundo denominação do artigo original), e são citados na literatura

como derivados do cromeno com espectrometria idêntica ao canabicromeno¹²⁰⁻¹²².

Os análogos de CBG (Figura 8) possuem alguns representantes, o gênero *Helichrycum* apresenta em sua composição o canabigerol, assim como outras moléculas análogas, como o araphyn-1 ou trans-4'-deoxiaraquidin-3araphyn-1 (CAS No. 1114548-05-8)¹²³. As séries das moléculas radulaninas, incluindo a radulanina A (CAS No. 68104-12-1), radulanina H (CAS No. 85526-70-1), radulanina I (CAS No. 132839-41-9) e radulanina K (CAS No. 132839-43-1) são extraídas do gênero *Radula* e possuem estrutura de esqueleto análogos ao CBG^{124,125}. A molécula glepidotin C (CAS No. 126026-25-3) foi extraída da *Glycyrrhiza lepidota*¹²⁶.

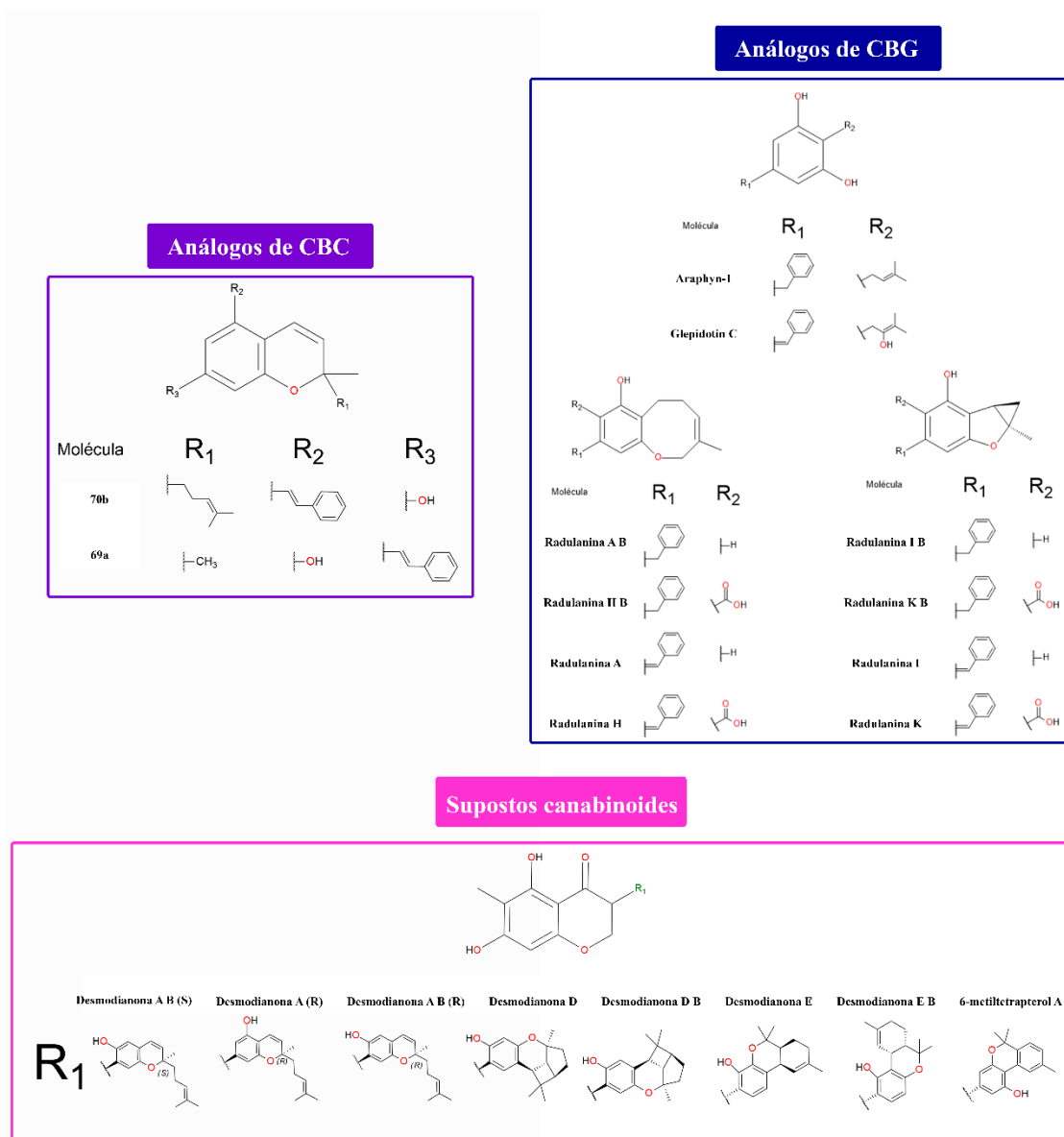


Figura 8. Representação bidimensional das estruturas moleculares dos compostos que integram os grupos de análogos de CBC (roxo), análogos de CBG (azul) e supostos canabinoides (rosa).

Além dos análogos estruturais relacionados às classes do CBC e do CBG, as moléculas

presentes na planta *Desmodium canum* são isoflavonas isopreniladas com um anel- β -meta-dihidroxiado, extraídas do gênero *Desmodium*, que apresentam estrutura análogas a canabinoides como o CBL^{127,128}. Essa subclasse é composta pelas moléculas 6-metiltetrapterol A (CAS No. 622828-14-2), desmodianona A (CAS No. 173294-79-6), desmodianona D (CAS No. 623144-10-5) e desmodianona E (CAS No. 623144-11-6)¹²⁸.

Estas moléculas são frequentemente denominadas, na literatura, como “canabinoides ilegítimos” ou “*spurious cannabinoids*”. Embora compartilhem características estruturais dos canabinoides, sua biossíntese ocorre independentemente da via metabólica clássica dos canabinoides encontrada na *Cannabis sativa*, sendo originadas a partir de modificações específicas da biossíntese de flavonoides e terpenos próprios do gênero *Desmodium*¹²⁷.

Além do interesse estrutural, as moléculas componentes da série das desmodianonas apresentam atividade biológica significativa, especialmente com propriedades antimicrobianas. O potencial farmacológico destas moléculas ressalta a importância do estudo de compostos canabinoide-like provenientes de fontes naturais diversas, além da *Cannabis*¹²⁸.

Desta forma, diante do panorama da dor e o agravamento de crise dos opioides¹¹, torna-se necessário o desenvolvimento de novos candidatos não-opioides, que tenham como alvo receptores envolvidos com a dor aguda¹⁴ e dor crônica¹²⁹ assim como fármacos que substituam ou diminuam o uso de opioides. Assim, os canabinoides e análogos de canabinoides compõem uma classe de moléculas com potencial farmacológico antinociceptivo para atuarem no sistema endocanabinoide, assim como no receptores GPR119, GPR55^{51,64} e GPR18⁶⁴, que são receptores envolvidos na fisiopatologia da dor.

2 Objetivo

Neste trabalho, temos como meta analisar *in silico* o potencial farmacológico de canabinoides raros, através da interação *multi-targeting* com GPCRs para o tratamento da dor crônica. Para tal são utilizados a teoria do funcional da densidade aliada a técnicas de docking molecular, ONIOM e análise de ligação, para caracterizar o perfil de interação dos canabinoides minoritários com possíveis alvos proteicos dos receptores CB₁, CB₂, GPR18, GPR55 e GPR119. Por meio de estudos de estrutura eletrônica usando cálculos *ab initio* caracterizar os canabinoides raros em seus aspectos físico-químicos, caracterizar o sítio de ligação dos canabinoides raros com os alvos estabelecidos e ranquear as melhores soluções para cada proteína alvo.

2.1 Objetivos específicos

- Obter a predição *in silico* dos aspectos farmacocinéticos: absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET) das moléculas estudadas.
- Estudar as estruturas eletrônicas das moléculas selecionadas e realizar a otimização por meio do método DFT com o funcional B3LYP em meio aquoso.
- Calcular as frequência e pontos mínimos globais de energia das estruturas otimizadas.
- Efetuar o estudo dos índices de reatividade química e de Fukui.
- Efetuar estudo de docking entre o CB₁, CB₂, GPR119, GPR55 e |GPR18 com os canabinoides raros escolhidos.
- Analisar as interações não covalentes (NCI) por meio dos complexos receptor-ligante gerados a partir do docking .
- Estudar aspectos de formação dos complexos de interesse, utilizando o método ONIOM.

3 Referencial teórico

3.1 Estudo de perfil ADMET.

Um perfil farmacológico seguro de uma molécula é essencial no processo de desenvolvimento de novos candidatos a fármacos e no posterior avanço nas escalas de testes pré-clínicos e clínicos. O perfil de segurança abrange os parâmetros farmacocinéticos, farmacodinâmicos e toxicológicos, sendo mais amplamente reconhecidos como o perfil ADMET. A integração de metodologias computacionais com técnicas de relação estrutura-atividade quantitativa (SAR), aprendizado de máquina (ML) e inteligência artificial (IA) possibilita a previsão de aspectos de ADMET ^{130,131}.

A predição *in silico*, por meio de softwares, de aspectos do ADMET já é estabelecida como um excelente parâmetro para a análise prévia de novos candidatos, sendo posteriormente complementada por análises experimentais confirmatórias. Entre os benefícios da análise por predição destaca-se o menor custo e o alto potencial de avaliação em pouco tempo ¹³².

Modelos baseados em representações moleculares, como o simplified molecular-input line-entry system (SMILES), têm demonstrado desempenho competitivo em múltiplos conjuntos de dados relacionados ao ADMET. Modelos de análise iniciais, como a regra dos 5 de Lipinsky ¹³³, o triângulo dourado ¹³⁴, o alerta de grupos toxicológicos ¹³² e PAINS ¹³⁵ aumentam o potencial de sucesso no processo de *drug design* ^{131,134,136}. O uso de ferramentas computacionais pode viabilizar o processo de *drug design* em situações e locais com recursos limitados, promovendo maior autonomia e disseminação de conhecimento ¹³⁴.

Entretanto, estes modelos são limitados aos bancos de dados utilizados, sendo necessária uma validação externa robusta e a integração de múltiplas fontes de dados. Os modelos de predição representam um método que permite a identificação precoce de potenciais falhas e a priorização de compostos com perfis farmacocinéticos e toxicológicos favoráveis ¹³⁷.

3.2 Estudo de Estrutura Eletrônica.

A utilização dos métodos advindos da química teórica e computacional para o estudo da estrutura eletrônica de um determinado sistema molecular baseia-se em uma primeira abordagem na teoria da função de onda de Schrödinger. A forma independente do tempo da equação de Schrödinger (Equação 1) correlaciona o operador Hamiltoniano (**H**), representado pela energia cinética e potencial do sistema, com a função de onda (Ψ), obtendo-se a energia

total do estado (E). A solução da equação de Schrödinger permitiria obter as autofunções e autovalores do sistema estudado ¹³⁸.

$$H\Psi = E\Psi \quad (1)$$

Entretanto, é no quadrado da função de onda, $|\Psi|^2$, que se encontra a forma de obter a densidade de probabilidade de encontrar uma partícula no espaço. A interpretação probabilística da densidade é fundamental na mecânica quântica para a compreensão da distribuição de elétrons em sistemas atômicos e moleculares ¹³⁹.

A base teórica gerada pela mecânica quântica conduziu Heitler e London na explicação da molécula de hidrogênio, por meio da superposição das funções de onda dos elétrons dos átomos de hidrogênio ¹⁴⁰. A teoria de Heitler-London, com adição do princípio da exclusão de Pauli e a simetria das funções de onda, resultaram na Teoria da Ligação de Valência descrevendo a formação de ligações químicas ¹⁴¹. Esse trabalho pioneiro marcou o início da aplicação da mecânica quântica na química, estabelecendo as bases para a química computacional moderna.

Por outro lado, a aproximação de Hartree-Fock foi o princípio para estudos de sistemas atômicos e moleculares, posteriormente, com a introdução da aproximação da combinação linear de orbitais atômicos em moleculares (CLOA-OM), proporcionando os fundamentos que possibilitam o cálculo das propriedades dos sistemas ¹⁴². Com o crescente aumento do poder computacional e subsequente aumento da assertividade de estruturas, a química computacional vem sendo cada dia mais utilizada para a compreensão estrutural de moléculas, das propriedades físico-químicas e de análise de orbitais moleculares (MO) ¹⁴³.

Os métodos utilizados para os cálculos são divididos em dois grupos: *ab initio* e semiempírico. Os métodos *ab initio* são baseados em grandezas físicas fundamentais, enquanto que os métodos semiempíricos baseados em parametrizações híbridas, tendo parte dos parâmetros incluídos nos cálculos de forma empírica ^{142,144}.

Métodos semiempíricos são abordagens computacionais que utilizam aproximações empíricas, como a exclusão de determinadas integrais bi-eletrônicas, a fim de reduzir o custo computacional na modelagem de sistemas moleculares complexos ¹⁴⁵. No entanto, essas simplificações podem comprometer a precisão dos resultados, afastando-os dos dados experimentais ¹⁴⁵. Para mitigar essas limitações, tais métodos são parametrizados com base em dados experimentais e/ou cálculos *ab initio*, ajustando seus resultados por meio de um conjunto otimizado de parâmetros ¹⁴⁶.

Um exemplo notável é o método PM6 (Parameterized Model number 6), uma implementação da aproximação *Neglect of Diatomic Differential Overlap* (NDDO), originalmente proposta por John Pople ¹⁴⁶, ganhador do prêmio Nobel de 1998. O método PM6 incorpora melhorias significativas na parametrização para elementos químicos de interesse biológico, comparativamente a seus antecessores, apresentando desempenho satisfatório na descrição de propriedades estruturais e energéticas de sistemas bioquímicos, como proteínas e ligantes orgânicos ¹⁴⁷.

Dentre os métodos *ab initio*, a Teoria do Funcional de Densidade (do inglês, Density Functional Theory, DFT) é fundamentada nos teoremas de Hohenberg-Kohn (1964), ganhadores do prêmio Nobel de 1998 ¹⁴⁸⁻¹⁵⁰. Os teoremas de Hohenberg-Kohn demonstram que, em princípio, a distribuição da densidade eletrônica no estado fundamental detém a energia total do sistema e outras propriedades físicas ^{148,150}. Este princípio é calculado por meio do funcional de energia, proposto por Kohn e Shan, que é uma função derivada da densidade eletrônica ¹⁴⁸.

A DFT é utilizada para o cálculo da estrutura tridimensional e suas coordenadas espaciais com alta precisão, gerando a densidade eletrônica de sistemas atômicos simples ou complexos ¹⁴⁸. Contrastando com o conceito clássico, no qual a função de onda desempenha o papel central para o cálculo das propriedades, sendo necessário o uso de diversas determinantes de Slater para obter alta acurácia nos resultados de cálculos de sistemas complexos ¹⁴⁸.

O funcional híbrido Becke-3-Lee-Yang-Parr (B3LYP) combina parcialmente a troca exata de Hartree-Fock com correlações de gradiente Becke 88 e Lee-Yang-Parr ¹⁵¹. O B3LYP descreve com boa precisão as estruturas globais dos estados de energia do que aproximações puramente locais, equilibrando precisão e custo computacional para moléculas orgânicas ¹⁵². Quando associado ao conjunto de base de Pople 6-311+G(d,p), o B3LYP/6-311+G(d,p) apresenta maior flexibilidade orbital, proporcionada pelas funções difusas e pelas funções de polarização ¹⁵³. Esse nível de cálculo é capaz de alcançar estruturas com geometrias moleculares e energia total com alto grau de precisão ¹⁵³.

Solventes são primordiais para a manutenção da vida; processos catalíticos, permeabilidade de membranas e estruturas de fármacos têm sua funcionalidade com dependência da presença de solventes ¹⁵⁴. A utilização de solvente para a obtenção de estruturas moleculares no estado de mínimo de energia é comumente utilizada de forma explícita, com a alocação de moléculas do solvente de interesse, ou implicitamente, por meio da implementação de um campo dielétrico que mimetizam o efeito do solvente. Métodos de solvatação explícita

implicam no aumento do número de átomo no sistema e consequente aumento do custo computacional envolvido, tornando o cálculo muitas vezes inviável. Dessa forma, a utilização do método implícito condiz com um menor custo computacional e a obtenção de conformações com possivelmente maior similaridade às estruturas biológicas ¹⁵⁴.

O método de solvatação implícita representa o solvente como um meio contínuo, caracterizado por uma constante dielétrica, envolvendo a molécula do soluto em uma cavidade definida por sua superfície molecular [17]. A interação entre o campo elétrico do soluto e o meio polarizável do solvente é então calculada para ajustar a energia e a geometria da molécula em estudo. Os modelos de solvatação implícita, como o modelo de solvatação baseado em densidade (SMD) ¹⁵⁵ e o modelo de polarização contínua (PCM) ¹⁵⁶, são amplamente utilizados para estimar os efeitos do solvente na otimização de estruturas moleculares [17].

A obtenção da estrutura de mínimo de energia é fundamental para garantir a estabilidade conformacional da molécula, permitindo uma análise confiável da sua distribuição eletrônica. ¹⁵⁷. Estruturas de mínimo de energia são essenciais para a obtenção da localização dos orbitais de fronteira (FMO, do inglês frontier molecular orbital), especialmente os orbitais mais alto ocupado (HOMO, do inglês highest occupied molecular orbital) e mais baixo desocupado (LUMO, do inglês lowest unoccupied molecular orbital).

A análise da reatividade molecular foi conduzida com base na teoria dos orbitais de fronteira, que considera a diferença das energias dos orbitais HOMO e LUMO como determinante na interação química ¹⁵⁷. Quantitativamente a reatividade molecular global pode ser predita pelos descritores globais, como o *gap* (é usual utilizar o termo em inglês para a lacuna de energia) (Δ_{FOM}), a variável de eletronegatividade (χ), a dureza global (η), o potencial químico (μ), o índice de eletrofilicidade (ω), a maciez global (S) e o índices de Fukui (CDFT) ¹⁵⁸.

$$\Delta_{FOM} = LUMO - HOMO \quad (2)$$

O *gap* é obtido pela diferença entre a energia dos orbitais LUMO e HOMO (Equação 2) demonstrando a tendência de mobilidade eletrônica. O Δ_{FOM} apresenta uma tendência inversa em relação a reatividade. Desta forma, quanto maior o valor do *gap*, menor a reatividade de uma estrutura ¹⁵⁹. Correlacionada ao Δ_{FOM} , a dureza global (η) é obtida a partir do Δ_{FOM} dividido por 2 (Equação 3) e representa a tendência de uma molécula à troca de elétrons. A dureza apresenta uma relação inversa com a polarização da molécula ¹⁵⁹. A maciez global (S), que é o inverso de η (Equação 4), representa a tendência de mudança de conformação mediante

as interações eletrônicas ¹⁶⁰.

$$\eta = \frac{LUMO - HOMO}{2} \quad (3)$$

e

$$S = \frac{1}{\eta} \quad (4)$$

O potencial químico (μ) é a soma dos valores de energia dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO dividida por 2, em relação a um potencial externo fixo (Equação 5). Este potencial representa a tendência de fluxo de elétrons de uma molécula, onde sistemas com valores elevados apresentam tendência à doação de elétrons e sistemas com valores baixos indicam tendência à captação de elétrons ¹⁶¹. A variável de eletronegatividade (χ) corresponde ao oposto do potencial químico (Equação 6), indicando a tendência de uma molécula atrair elétrons, ou seja, sua afinidade eletrônica ¹⁵⁸.

$$\mu = \frac{LUMO + HOMO}{2} \quad (5)$$

e

$$\chi = -1 \cdot \frac{LUMO + HOMO}{2} \quad (6)$$

Outro índice que pode ser derivado dos orbitais moleculares de fronteira é a eletrofilicidade (ω), que corresponde ao quadrado do potencial químico dividido pelo dobro da dureza global (Equação 7). Altos índices de eletrofilicidade correlacionam-se com reatividade em centros de ataque eletrofilico. O índice de eletrofilicidade corresponde à tendência global da molécula de sofrer ataque eletrofilico ¹⁶².

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (7)$$

Com base na DFT, os descritores provenientes dos índices de Fukui foram estudados para a análise de reatividade local em regiões das moléculas. As funções de Fukui (Equação 8) contribuem significativamente para a compreensão de mecanismos de reação moleculares, a partir da derivada da densidade eletrônica $\rho(r)$ em relação ao número de elétrons (N), mantendo constante o potencial externo $v(r)$ ¹⁶².

$$f(r) = \left(\frac{\partial \rho(r)}{\partial N} \right)_{v(r)} \quad (8)$$

Os cálculos dos índices de Fukui são realizados a partir da alteração da densidade eletrônica de uma molécula pela adição ou remoção de carga, possibilitando a identificação de regiões nas moléculas mais propensas a sofrerem ataques do tipo nucleofílicos (f^+), eletrofílicos (f^-) e radicalar (f^0)¹⁶².

$$f^+(r) = \rho_{N+1}(r) - \rho_N(r) \quad (9)$$

$$f^-(r) = \rho_N(r) - \rho_{N-1}(r) \quad (10)$$

$$f^0(r) = \frac{1}{2} [f^+(r) + f^-(r)] \quad (11)$$

Os valores das funções de Fukui são baseados na Teoria de Funcional da Densidade Conceitual (CDFT) e utilizados para mapear os sítios reativos de moléculas de interesse, orientando modificações estruturais visando à maior estabilidade metabólica, assim como maior especificidade de alvos com na interação com resíduos-chave de bioreceptores¹⁶³. Outra possibilidade gerada pelo estudo das funções de Fukui consiste na identificação de regiões de máximos locais da função de Fukui, calculados a partir das funções f^+ e f^- . Os máximos locais possibilitam a predição de regiões da molécula vulneráveis à oxidação, permitindo o redesenho racional da estrutura molecular para evitar rotas de reação indesejáveis¹⁶⁴. As funções de Fukui emergem como ferramentas fundamentais no desenvolvimento moderno de fármacos, especialmente na fase de otimização de candidatos.

As identificação e caracterização das interações intermoleculares são primordiais para a compreensão da formação do complexo. Dentre estas, as interações não covalentes são consideradas como primordiais para o reconhecimento molecular do complexo receptor-ligante e subsequente ação farmacológica de ligantes. As interações intermoleculares de sistemas e complexos moleculares de receptores biológicos, por sua vez, são compostas principalmente por interações do tipo ligações de hidrogênio, forças de van der Waals, interações do tipo π - π , interações do tipo σ - π e interações hidrofóbicas. O perfil das interações moleculares de um sistema bioquímico modulam principalmente o reconhecimento molecular, a afinidade e a seletividade dos ligantes por bioreceptores¹⁶⁵.

A análise das interações intermoleculares, por meio da densidade eletrônica, é uma forma de caracterização quantitativa e qualitativa (visual) em moléculas e complexos do tipo

receptor-ligante. Dentre estas, destacam-se os métodos de interação não covalente (NCI), função de localização de elétrons (ELF) e modelo de gradiente independente (IGM) ¹⁶⁶.

O método NCI (do inglês: Non-Covalent Interaction) é baseado na análise do gradiente da densidade eletrônica reduzido (RDG), aprimorado para identificar e visualizar regiões de interação do espaço molecular. A correlação entre o RDG e o segundo autovalor da matriz Hessiana da densidade eletrônica (λ_2), possibilita a separação entre interações de atração ($\lambda_2 < 0$), ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas; interações repulsivas ($\lambda_2 > 0$), como impedimentos estéricos; e interações fracas ($\lambda_2 \approx 0$), do tipo van der Waals ¹⁶⁵.

Derivado do modelo de NCI e, conseqüentemente, do RDG, o método IGM aperfeiçoa a análise feita pelo método de NCI ao separar as interações intermoleculares das interações intramoleculares em sistemas complexos, por meio da decomposição do gradiente de densidade em componentes independentes, resolvendo a problemática de sobreposição de sinais. Desta forma, o IGM apresenta melhores respostas em sistemas de alta complexidade ¹⁶⁶. Ambos os métodos permitem a geração de mapas tridimensionais com uma resolução significativamente maior, facilitando a compreensão das interações presentes em ligantes e em complexos receptor-ligante.

Enquanto a densidade eletrônica descreve a probabilidade de encontrar os elétrons por região, a ELF revela onde os elétrons estão localizados, permitindo a visualização de regiões de localização na estrutura molecular. O estudo de ELF é fundamental para compreender regiões de ligação covalente, especialmente em doadores e aceptores de pares de elétrons, auxiliando na compreensão da localização dos elétrons nas nuvens eletrônicas do ligante, bem como no ajuste de regiões de alta densidade eletrônicas no complexo receptor-ligante formados ¹⁶⁷.

3.3 Estruturas cristalográficas

O banco de dados do *Protein Data Bank* (PDB), estabelecido em outubro de 1971 no Brookhaven National Laboratory sob a coordenação de Walter Hamilton, constituiu no primeiro repositório público dedicado ao armazenamento de estruturas tridimensionais de macromoléculas biológicas. Desde então, o PDB tem sido referência para a obtenção de estruturas cristalográficas de proteínas e estruturas biológicas. O acesso irrestrito às coordenadas atômicas no PDB impulsionou substancialmente as investigações em bioquímica estrutural e biologia molecular. A qualidade e a riqueza desses dados fomentaram o desenvolvimento de ferramentas de modelagem computacional, técnicas de predição de interações proteína-proteína e o desenvolvimento de fármacos ¹⁶⁸.

O Alphafold destacou-se como ferramenta computacional, sendo o responsável pela concessão do prêmio Nobel de Química de 2024 para Demis Hassabis e John Jumper. O Alphafold é um modelo de inteligência artificial desenvolvido pela empresa DeepMind, em 2020, que utiliza redes neurais profundas e mecanismos de atenção para prever a conformação tridimensional de proteínas ¹⁶⁹. O Alphafold utiliza as estruturas cristalográficas de bioreceptores disponíveis em bases de dados para o aperfeiçoamento da predição da estrutura tridimensional de proteínas não cristalizadas, possibilitando a modelagem molecular de novos alvos. Estruturas tridimensionais de bioreceptores são ferramentas essenciais para o *design* racional de fármacos e estudos de dinâmica molecular. A integração dessas ferramentas com simulações de dinâmica molecular e triagens virtuais é fundamental para acelerar a descoberta de alvos terapêuticos.

3.4 Docking molecular

A simulação computacional de sistemas biológicos constitui uma área com demanda crescente e contribuição significativa para o desenvolvimento racional de fármacos. Dentre as técnicas de simulação, a técnica de docking molecular se destaca por representar baixo custo computacional e predições aceitáveis de possíveis posições de complexos de interação ligante-receptor observados em sistemas farmacológicos. Assim, o docking molecular é uma técnica computacional estruturada que prevê possíveis conformações do ligante (solução) que podem realizar interações com base na estrutura molecular do receptor resultando por fim na estimativa da energia de ligação e/ou interação (score) envolvida no complexo ligante-receptor ¹⁷⁰.

As técnicas podem ser realizadas por meio da flexibilização ou restrição das conexões atômicas das estruturas envolvidas. Quando as ligações rotacionais do receptor são consideradas rígidas e as ligações rotacionáveis do ligante flexíveis, o estudo de docking é denominado rígido-flexível. Contudo, também é possível a execução de estudos de docking do tipo rígido-rígido e/ou flexível-flexível. Os algoritmos de busca, como o algoritmo genético Lamarckiano (LGA), são empregados para realizar buscas estocástica no espaço conformacional, com o intuito de obtenção da energia livre, com a convergência para os mínimos de energia dos complexos receptor-ligante formados ^{171,172}.

A afinidade do ligante com o receptor biológico, a partir do cálculo de energia de interação do complexo formado por meio do uso do algoritmo implementado no script do AutoDock 4.2.26 (usando o LGA), possibilita a correlação de simulações computacionais com resultados experimentais por meio da correlação com a constante de inibição (K_i) e estudos de IC_{50} . A afinidade do ligante (ou score) se correlaciona com a constante de inibição (K_i) por

meio da Equação 12 ¹⁷³. Dessa forma, essa técnica busca soluções com tendência à formação de complexos receptor-ligante (R-L) mais estáveis dentro do sistema estabelecido ^{172,173}.

$$\Delta G_{bind} = -RT \ln K_i \quad (12)$$

O estudo de docking reflete a tendência à minimização da energia livre total do sistema complexado. Observamos a mesma tendência de minimização de energia livre na busca por complexos R-L mais estáveis, correlacionando maiores K_i . Pelo qual, configurações com menores valores de K_i correspondem a um mínimo local (ou global) de energia potencial no arranjo cristalino ¹⁷⁴.

Entretanto, a técnica de docking molecular utiliza de princípios e postulados da mecânica clássica (MM), utilizando campos de força para a obtenção dos complexos R-L. Desta forma, os algoritmos de busca tentam construir uma função de energia potencial que descreve o comportamento de sistemas moleculares. O algoritmo do AutoDock 4.2 realiza essa busca da energia livre através da correlação das energias do ligante (V^{L-L}), receptor (V^{R-R}), complexo receptor-ligante (V^{R-L}) e a contribuição entrópica envolvida (ΔS_{conf}). A relação entre os estados ligados e não ligados representa a diferença na energia interna da estrutura quando está ligado ao receptor em comparação ao seu estado livre na solução, refletindo a possível distorção conformacional gerada da interação entre as partes ¹⁷⁴.

$$\Delta G_{bind} = (V_{ligado}^{L-L} - V_{desligado}^{L-L}) + (V_{ligado}^{R-R} - V_{desligado}^{R-R}) + (V_{ligado}^{R-L} - V_{desligado}^{R-L} + \Delta S_{conf}) \quad (13)$$

Sendo assim, em modelos de docking rígido-rígido, onde não possui a alteração conformacional das estruturas, apenas os termos envolvidos no complexo receptor-ligante (V^{R-L}) e a contribuição entrópica envolvida (ΔS_{conf}) compõem a sua função de score. Onde, o termo correspondente ao complexo receptor-ligante no estado não ligado ($V_{nãoligado}^{R-L}$) é modelado pela interação entre o ligante e o receptor. Esta é compreendida pela soma da energia aproximada envolvida, em respectivas interações moleculares, como forças de van der Waals, interações eletrostáticas e forças hidrofóbicas ¹⁷⁴.

Assim, a integração de metodologias de mecânica quântica com os métodos envolvidos no estudo de docking tende a diminuir custos no desenvolvimento de novos candidatos, ao mesmo tempo que aumenta a precisão dos resultados e as estimativas de K_i ¹⁷¹.

3.5 Our own N-layered Integrated molecular Orbital and molecular Mechanics (ONIOM)

A determinação precisa da estrutura eletrônica em complexos ligante–receptor por meio

de métodos puramente quânticos torna-se muitas vezes inviável para sistemas macromoleculares. O grande porte desses sistemas biológicos, representado pela grande quantidade de elétrons nestes sistemas, gera elevados custos computacionais, muitas vezes proibitivo, traspassando a relação custo-benefício. Nessa perspectiva, a metodologia ONIOM oferece uma solução multiescala para superar essa limitação ¹⁷⁵.

A metodologia de ONIOM consiste na divisão do sistema em estudo em camadas, concentrando a região de maior interesse na denominada camada interna ou camada alta (HL), e a região complementar na camada externa ou camada baixa (LL). Essa partição permite a utilização de diferentes métodos e níveis de cálculos, combinando, normalmente, métodos de mecânica quântica (QM) para os átomos contidos na camada alta e a aplicação de métodos de mecânica clássica (MM) para os átomos contidos na camada baixa (ou métodos de menor custo computacional) ¹⁷⁶.

$$E_{ONIOM} = E^{QM}(HL) + (E^{MM}(HL + LL) - E^{MM}(LL)) \quad (14)$$

A decomposição da energia do ONIOM corresponde à energia da camada alta, calculada com métodos de mecânica quântica (E^{QM}), somada à diferença entre a energia do sistema completo (HL+LL) e a energia da camada baixa (LL), ambas calculadas com métodos de mecânica clássica (E^{MM}) ¹⁷⁷. Desta forma, a soma das energias representa a eliminação da sobreposição de energia calculada com MM e QM na camada alta, assim como assegura que a parte de interesse seja realizada com cálculos de melhor precisão. Os modelos de ONIOM são utilizados no desenvolvimentos de fármacos e materiais, bem como na compreensão de processos fotobiológicos e excitatórios, entre outras aplicações ^{176,178}.

3.6 Análise de componentes principais (PCA)

Como abordado no tópico sobre o método ONIOM, a complexidade dos sistemas biológicos deve ser levada em consideração, tendo em vista a relação desses sistemas com um grande volume de informações. Uma forma de abordagem matemática dessas informações é por meio da classificação, conversão, quantificação e padronização em forma de variáveis, algumas independentes e outras dependentes ^{179,180}. Dessa forma, a abordagem estatística permite compreender os sistemas biológicos dentro de uma abordagem de sistemas multivariados ou multidimensionais, cujos bancos de dados podem ser explorados para fins de análise e elucidação ¹⁸¹.

Ao considerar esses sistemas como multivariados, com dados previamente

quantificados, uma forma eficiente de analisá-los é por meio de técnicas estatísticas que busquem interpretar analiticamente as relações entre variáveis complexas ¹⁸². Dentre o arcabouço dessas técnicas, destaca-se o método da Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês Principal Component Analysis), uma técnica de análise multivariada voltada à redução da dimensionalidade em conjuntos de dados. Criada por Karl Pearson em 1901, a PCA utiliza uma matriz de dados para compreender as relações de variância e covariância entre as variáveis originais, permitindo a formação de um novo conjunto de variáveis independentes denominadas componentes principais (PCs), preservando, idealmente, pelo menos 70% da variância inicial ¹⁸¹.

A relação entre as variáveis originais permite a construção da matriz de covariância, que revela as correlações existentes no conjunto de dados, sendo possível a determinação de autovalores e autovetores associados a cada variável ^{181,182}. Esses autovalores e autovetores são utilizados como pesos na combinação linear das variáveis originais, resultando na formação das PCs ¹⁸².

As PCs são organizadas em ordem crescente, de PC_1 até PC_{n-1} , sendo que a variância explicada é distribuída de forma decrescente entre elas, ou seja, a PC_1 explica a maior porcentagem da variância, enquanto PC_{n-1} explica a menor ¹⁸¹. A variação entre os autovalores na formação das PCs permite uma análise comparativa direta da contribuição e relevância de cada componente: quanto maior o autovalor, maior a contribuição daquela componente principal para a explicação da variabilidade dos dados ¹⁸¹. Isso possibilita identificar quais variáveis têm maior influência no sistema, com base nos autovalores obtidos na análise de componentes principais.

3.7 Agrupamento por K-means

A utilização das três primeiras componentes principais (PCs) possibilita a redução do espaço amostral com a criação de um espaço tridimensional (x, y e z) para a localização dos objetos estudados, com a conservação de grande parte da variância dos dados. Assim, o uso das PCs como eixos permite a visualização gráfica das relações geradas pela PCA e o agrupamento dos objetos de estudo. Entretanto, a forma visual de análise de agrupamentos, sem o apoio de parâmetros matemáticos bem definidos, depende de fatores como a experiência pessoal e o viés do pesquisador, o que pode comprometer a confiabilidade do processo. A correlação entre grupos, com base em parâmetros euclidianos, torna-se uma forma de contornar essas limitações, aprimorando o processo de agrupamento ¹⁸⁰.

O algoritmo de agrupamento K-means destaca-se entre as técnicas de agrupamento não

supervisionadas estabelecidas na literatura, devido à sua simplicidade e baixo custo computacional ¹⁸³. Proposto inicialmente por Steinhaus, em 1956, o K-means realiza o agrupamento dos dados buscando maximizar a similaridade entre os elementos de um mesmo grupo (intra-cluster) e minimizar a similaridade com elementos de grupos distintos (inter-cluster) ¹⁸⁴.

O processamento do K-means para a geração de agrupamentos ocorre em quatro etapas principais ¹⁸⁵:

1. Definição prévia do número de grupos (K);
2. Cálculo dos K centróides com base na distância euclidiana entre os dados;
3. Reajuste dos centróides com base na média dos pontos de cada cluster; e
4. Repetição da etapa anterior até que os centróides se estabilizem.

O algoritmo apresenta alguns desafios, sendo a predefinição do número K de grupos uma das principais limitações, pois influencia diretamente a formação dos centróides e, portanto, o funcionamento do agrupamento ¹⁸⁶. Contudo, essa limitação pode ser atenuada por meio de estratégias auxiliares. Como a aplicação do índice de silhueta para a identificação do ajuste dos objetos estudados, a partir do número de grupos K estabelecidos através de uma escala de 0 a 1, do índice da silhueta. Assim, os valores obtidos para o índice de silhueta identificam o quão adequado é o agrupamento, possibilitando a estimativa da quantidade de grupos K com maior adequação para um conjunto de dados ¹⁸⁷.

4 Metodologia

4.1 Seleção dos ligantes e estudos iniciais.

Com base com base no trabalho de Hanus, L.O. ¹²⁷ e de Radwan ⁹², nos quais estão descritas 125 estruturas de canabinoides e 136 estruturas de análogos de canabinoides, realizamos a seleção das estruturas moleculares tridimensionais dos canabinoides raros e dos análogos de canabinoides. Então as subfamílias das moléculas estudadas na triagem estão elencadas na Figura 9, totalizando 261 moléculas na triagem inicial. Utilizamos o Chemical Abstracts Service (CAS) para confirmação da fórmula química e estrutura molecular. Após a catalogação, realizamos uma primeira otimização das estruturas moleculares por meio do campo de força MM2.

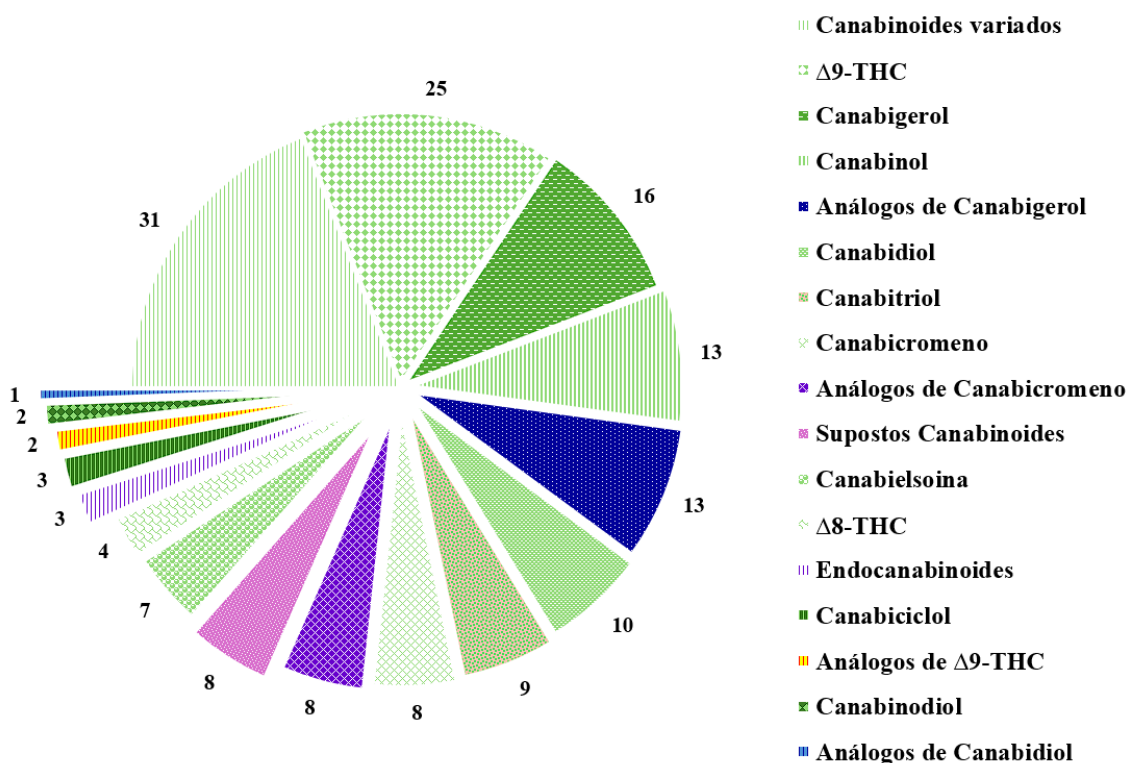


Figura 9. Distribuição em grupo das subfamílias das moléculas utilizadas para a varredura (screening) inicial, com 261 compostos. O número ao lado de cada área refere-se ao quantitativo de moléculas no agrupamento.

Após a capturação das estruturas moleculares dos canabinoides, utilizamos o banco de dados do CAS com o intuito de obter as estruturas moleculares dos endocanabinóides anandamida, 2-AG e LPI, o canabinoide sintético CP55940 (9GF) e os ligantes MBX2982

(8VP) e AR-231453 (8WL) totalizando 268 (destas, 261 são moléculas pertencentes às subfamílias, mais sete de referência) estruturas de ligantes para a realização dos estudos posteriores. Devido ao alto custo computacional relacionado ao estudo com as 268 estruturas obtidas com DFT, previamente, realizamos o estudo de virtual screening com o algoritmo do AutoDock Vina ¹⁸⁸, para a triagem inicial das moléculas com as estruturas das CB₁, CB₂, GPR119, GPR55 e GPR18. Subsequentemente, realizamos a seleção das moléculas com maior potencial de interação com os receptores selecionados, observando que tais moléculas apresentavam apenas átomos de carbono, oxigênio e hidrogênio em sua composição, similar como encontrado nos canabinoides.

Desta forma, selecionamos 34 moléculas a partir da triagem inicial, incluindo os endocanabinoides anandamida, 2-AG e LPI, e os ligantes de referência CP55940, MBX2982 (8VP) e AR231453 para estudos de descritores ADMET, estrutura eletrônica utilizando DFT e docking utilizando o AutoDock 4.2. Utilizamos essas moléculas como referência por apresentarem atividade descrita na literatura para os alvos selecionados, bem como por possuírem complexos receptor-ligante definidos a partir de estruturas cristalográficas, os quais são descritos com maior detalhe na seção de estrutura cristalográfica. Desta forma, esses ligantes foram utilizados como referência para a análise de descritores físico-químicos derivados da estrutura eletrônica, bem como para a identificação do perfil de interação com os receptores-alvo através dos estudos de docking.

Neste estudo, foram modeladas 40 moléculas, as quais são separadas em grupos conforme a classificação encontrada na literatura ¹²⁷. Separamos as moléculas dentre os grupos endocanabinoides, ligantes de referência, canabinoides, análogos de CBG, análogos de CBC e supostos canabinoides. Para melhor compreensão, os grupos foram separados de forma visual na Figura 7.

Realizamos o aumento da aromaticidade, com a troca da função benzeno pela função estireno, das moléculas do grupo dos análogos de CBG, com a série de moléculas radulanina X-B, assim como os estudos dos isômeros (R) e (S) da molécula desmodianona A B para observar os efeitos de alterações de ressonância de isomeria na distribuição da densidade eletrônica assim como possíveis alterações em interações no estudo de docking.

4.2 Estudo de perfil ADMET.

A predição computacional dos aspectos farmacocinéticos e outras propriedades de relevância como toxicidade foram realizadas por meio de estudo ADMET usando os SMILES

das estruturas dos ligantes por meio do software ADMETlab 3.0¹³². Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente. Em seguida, selecionamos apenas as propriedades mais relevantes para a análise dos ligantes estudados, excluindo aquelas propriedades que não apresentavam pertinência para os alvos em questão. As propriedades foram organizadas em seis categorias para facilitar a análise: propriedades físico-químicas, absorção, distribuição, metabolismo, excreção e indicadores toxicológicos.

Os descritores considerando as propriedades físico-químicas básicas incluídas foram: peso molecular (MW / g.mol⁻¹), volume molecular (Vol / Å³), número de aceptores de hidrogênio (nHA), área de superfície polar topológica (TPSA), número de heteroátomos (nHet), número de anéis (nRig), flexibilidade molecular (Flex) e fração de carbonos sp³ (Fsp³).

Os descritores das propriedades relacionadas à absorção foram: pKa ácido, pKa básico, absorção intestinal humana (HIA), logaritmo da solubilidade aquosa (logS), logaritmo do coeficiente de distribuição (logD) e logaritmo do coeficiente de partição octanol/água (logP).

Os descritores para as propriedades de distribuição incluídas foram: ligação às proteínas plasmáticas (PPB), logaritmo do volume de distribuição no estado de equilíbrio (logVDss) e passagem pela barreira hematoencefálica (BBB).

Os descritores para as propriedades de metabolismo avaliados foram: substrato da CYP2C9 (CYP2C9-sub), inibidor da CYP2B6 (CYP2B6-inh) e inibidor da CYP2C8 (CYP2C8-inh).

Os descritores para as propriedades de excreção analisados foram: depuração plasmática (Cl-plasma) e meia-vida plasmática (t_{0,s}).

Por fim, os indicadores toxicológicos analisados foram: dose diária recomendada (FDAMDD), potencial carcinogênico (Genotoxicidade), toxicidade respiratória (Respiratório), hepatotoxicidade (H-HT), neurotoxicidade (Neurotoxicidade-DI), ototoxicidade (Ototoxicidade), hematotoxicidade (Hematotoxicidade), nefrotoxicidade (Nefrotoxicidade-DI), presença de grupos funcionais reativos (Reatividade) e promiscuidade de ligação (Promiscuidade).

4.3 Estudo de Estrutura Eletrônica.

O estudo de estrutura eletrônica foi realizado a partir da otimização das estruturas das 34 moléculas canabinoides e análogas a canabinoides selecionadas no estudo de virtual screening, 3 moléculas de referência e 3 moléculas endocanabinoides, totalizando 40 moléculas, que apresentaram melhor score na triagem inicial (Figura 1) realizado no estudo de docking. Cálculos em nível *ab initio* com o nível B3LYP/6-311+G (d,p) foram utilizados para

a otimização das estruturas tridimensionais dos ligantes. Observando que, sistemas celulares são dependentes do equilíbrio citoplasmático para seu funcionamento ótimo, e considerando que o solvente mais abundante nos sistemas celulares biológicos é a água, consideramos para os cálculos realizados a utilização do método de solvatação implícita por meio do modelo de solvatação baseado em densidade (SMD), usando a água como solvente para a otimização das estruturas [17].

Após a etapa de otimização da geometria dos ligantes, realizamos os cálculos de frequências para caracterização da estrutura do mínimo global de energia. Todos os cálculos de estrutura eletrônica foram realizados com o pacote Gaussian16 [29]. As energias dos orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO foram usados para a predição dos descritores de reatividade global. Os descritores globais de reatividade global analisados foram: gap (Δ_{FOM}), variável de eletronegatividade (χ), dureza global (η), potencial químico (μ), índice de eletrofilicidade (ω), maciez global (S).

Também foram analisadas as energias dos orbitais moleculares de fronteira (FMO) HOMO-6 ao LUMO+6, carga do heteroátomo mais negativo, carga dos hidrogênios mais ácidos (H1 e H2), distância entre os hidrogênios mais ácido (H-H), tamanho molecular, momento dipolo.

Para a análise dados foi utilizado o software GaussView ¹⁸⁹, enquanto que a visualização das isosuperfícies foi realizada através do software Chemcraft ¹⁹⁰, com o contorno de 0,05 u.a. para sua renderização. Os cálculos dos índices de Fukui foram realizados por meio da análise da teoria do funcional de densidade conceitual (CDFT), utilizado do software de análise de função de onda multifuncional, Multiwfn [30]. Utilizamos o software Virtual Molecular Dynamics (VMD) [34] para a visualização das regiões calculadas pelos índices de Fukui, com a isosuperfície de 0,05 u.a. para sua renderização.

Realizamos o estudo de NCI para o estudo de interações intramoleculares das estruturas dos ligantes e o IGM para o estudo das interações intermoleculares dos complexos receptor ligante gerados a partir dos estudos de docking molecular, sendo que para ambos foi utilizado o Multiwfn [30]. Utilizamos as isosuperfícies de 0,3 u.a. e 0,02 u.a. com software VMD a partir dos mapas tridimensionais de densidade das moléculas para a confecção das imagens de NCI e IGM respectivamente. Para o estudo de ELF, utilizamos o software Multiwfn [30], para a geração dos mapas tridimensionais em conjunto com o software VMD [34], com a isosuperfície de 0,9 u.a. para a visualização dos pares de elétrons nas moléculas estudadas.

4.4 Estruturas cristalográficas

Neste estudo, empregamos como base para a modelagem molecular as estruturas cristalográficas disponibilizadas pelo PDB. Para os receptores canabinoídeos CB₁ e CB₂ detentoras dos códigos UniProt: P21554 e P34972. Selecionamos especificamente as estruturas complexadas com o ligante CP55940 (9GF), das quais destacam-se as entradas do PDB 6KQI, 7FEE, 7V3Z e 7WV9 para CB₁, e 8GUR para CB₂. Selecionamos as estruturas cristalográficas 6KQI e 8GUR por apresentarem a resolução de 3,25 Å, 2,84 Å respectivamente.

No PDB também estão disponibilizadas as estruturas da família GPR119, GPR55 e GPR18. Para as estruturas GPR55 (UniProt: Q9Y2T6) e GPR119 (UniProt: Q8TDV5), selecionamos as estruturas cristalográficas 8ZX4 e 7WCM, complexados com os ligantes MBX2982 e lisofosfatidilinositol, respectivamente. A estrutura 8ZX4 têm resolução 2,33 Å, e a estrutura 7WCM resolução de 2,85 Å. Em razão da indisponibilidade de estruturas cristalográficas experimentais para GPR18 (UniProt: Q14330), adotamos o modelo ativo multiestado fornecido pelo AlphaFold2 ¹⁶⁹.

Utilizamos a modelagem das estruturas pelo Swissmodel recuperando as estruturas de alça que não estão presentes na estrutura cristalográfica. Os modelos foram validados por RMSD de cada um dos resíduos, indicando diferença interior a 1,00 Å. Posteriormente, utilizamos o protocolo fornecido pelo software APBS-PDB2PQR suíte ¹⁹¹ para os estudos do estado de protonação de cada resíduo das proteínas modeladas. Estas foram submetidos ao campo de força AMBER em pH 7.3, identificado como o ideal para sistema do líquido cefalorraquidiano. Realizamos análise do estado de protonação dos resíduos His, Glu, Asp e Cys para a modelagem do receptor ativado. Realizamos a análise de similaridade de sequência via BLAST e de dobramento tridimensional por meio do serviço PDBeFOLD, constatando elevado grau de conservação dos sítios de interação com ligantes.

Para fins de validação metodológica, selecionamos as estruturas 6KQI (CB₁), 8GUR (CB₂), 7WCM (GPR119), 8ZX4(GPR55) e os validação de protocolo via processo de re-docking com algoritmo AutoDock 4.2. Calculamos o RMSD dos complexos cristalinos com CP55940 (para CB₁ e CB₂) e os ligantes nativos (MBX2982 e lisofosfatidilinositol) em GPR119, visando avaliar a capacidade reprodutiva do protocolo e estabelecer uma base confiável para subseqüentes triagens virtuais.

4.5 Docking molecular

Utilizamos o pacote computacional AutoDockTools ¹⁹² assim como os algoritmos

AutoDock 4.2, AutoDock Vina¹⁸⁸ para a realização do estudo de docking. Utilizamos o algoritmo AutoDock 4.2 para realizar re-docking assim como para o refinamento dos parâmetros para o estudo de docking. Para o estudo com o algoritmo AutoDock 4.2, foi utilizado o algoritmo Genético (LGA) com 100 soluções, o número de avaliações de energia definidas para 25.000.000, e o tamanho populacional definido para 150. Os valores de escores de energia de ligação (valores mais negativos) foram avaliados para as estruturas dos complexos selecionados.

Realizamos a validação pelo protocolo de re-docking das estruturas canabinoides com o ligante CP55940. Utilizamos a conformação do ligante presente em cada estrutura cristalográfica com a estrutura cristalográfica e com o modelo do receptor. As coordenadas x,y,z dos pontos centrais para os receptores CB₁ e CB₂ foram 27,60 Å, -8,91 Å, 41,32 Å e 139,95 Å, 114,54 Å, 172,76 Å suas respectivas dimensões foram 25,50; 22,50; 23,25 Å³ e 23,25; 21,75; 27,00 Å³.

A precisão e validação do método estão diretamente correlacionadas com a qualidade das estruturas e conformação dos ligantes. A raiz do desvio quadrático médio (do inglês Root Mean Square Deviation, RMSD) é utilizado como medida para analisar a similaridade geométrica das soluções obtidas pelo docking em relação a posição original do ligante. RMSDs inferiores a 2,00 Å são considerados insatisfatórios para a reprodução de estudos de docking. Desta forma utilizamos o RMSD para a validação dos nossos estudos de re-docking. Entretanto, diminuimos o valor aceitável para 0,50 Å, para maior confiança. As soluções de re-docking para as estruturas cristalográficas dos receptores CB₁ e CB₂ apresentaram RMSD de 0,48 Å e 0,32 Å, apresentando uma diferença mínima do obtido para os modelos, 0,50 Å e 0,37 Å. Todas as soluções apresentaram RMSD inferiores a 0,5 Å, indicando a validação dos parâmetros utilizados.

O estudo de re-docking para as estruturas GPR119 e GPR55 seguiram os moldes estabelecidos para as estruturas canabinoides com utilização das conformações presente na estrutura cristalográfica dos ligantes. Para o receptor GPR119 utilizamos o ligante MBX2982 e o LPI para o GPR55. As coordenadas x,y,z dos pontos centrais para os receptores GPR119 e GPR55 foram 125,81 Å; 116,76 Å; 146,09 Å, e 110,88 Å; 111,92 Å; 76,07 Å suas respectivas dimensões foram 21,75; 26,50; 24,00 Å³ e 23,25; 15,00; 32,25 Å³. O RMSD das soluções de re-docking para as estruturas cristalográficas, 0,48 Å e 0,27 Å, e modelos, 0,45 Å e 0,17 Å, dos receptores GPR119 e GPR55 foram inferiores a 0,5 Å validando a os parâmetros utilizados.

O modelo da estrutura do GPR18 foi baseado na predição estrutural realizada por meio

do AlphaFold, desta forma não realizamos o estudo de re-docking para esta estrutura. As coordenadas x,y,z dos pontos centrais para o receptor GPR18 corresponde a 13,60 Å; 14,41 Å; -44,18 Å com dimensões de 21,00; 24,00; 25,50 Å³.

Os parâmetros utilizados nos estudos de re-docking foram replicados para os estudos de docking. Realizamos o estudo de docking com os modelos de estrutura dos receptores CB₁, CB₂, GPR119, GPR55 e GPR18 contra as conformações otimizadas em DFT das estruturas dos ligantes selecionados. A seleção das soluções seguiu os seguintes critérios:

- 1- A região de solução do ligante deve ser compatível com a região de interação da ligante referência;
 - 2- A pose da solução selecionada deve realizar ao menos uma interação com resíduos que realizam interações com o ligante de referência;
 - 3- O score da solução selecionada deve ser compatível com interação, score negativo.
- Utilizamos os softwares Discovery Studio Visualizer [33] e Virtual Molecular Dynamics (VMD) [34] para a visualização bidimensional e tridimensional das interações realizadas nos complexos receptor-ligante.

4.6 Our own N-layered Integrated molecular Orbital and molecular Mechanics (ONIOM)

Devido ao alto custo computacional, para os estudos de ONIOM foi utilizado o método semiempírico PM6 para a camada alta e o campo de força AMBER para a camada baixa. O estudo de ONIOM (PM6:AMBER) foi realizado para os modelos dos receptores CB₁, CB₂, GPR119 e GPR55, assim como para os complexos CB₁-CP55940, CB₂-CP55940, GPR119-MBC2982 e GPR55-LPI.

Também foram feitos estudos de ONIOM com DFT utilizando a B3LYP/6-311+G (d,p) para a camada alta e AMBER para a camada baixa. Entretanto, apenas as estruturas CB₁ e CB₂, assim como seus respectivos complexos, que foram selecionadas para o estudo utilizando DFT, devido ao menor tamanho destes sistemas e melhor convergência do ciclo autoconsistente (SCF). A camada alta foi selecionada com o intuito de compreensão de interações específicas com resíduos chave de cada complexo. As camadas altas foram modeladas para que possuíssem os resíduos chave para a ativação da estrutura, assim como o ligante, enquanto a camada baixa foi modelada com os outros átomos da proteína.

A seleção dos átomos de link da camada alta com a camada baixa foi padronizada para abranger de forma completa os resíduos estudados. Desta forma, padronizamos a seleção de

átomos de link para os carbonos alfa dos resíduos anterior e subsequente do resíduo de interesse. O carbono alfa de todos os resíduos possui a característica de ter hibridização do sp^3 e, portanto, apenas apresentar ligações simples, diminuindo possível viés.

Para os receptores canabinoides, a camada alta é composta pelo ligante CP55940 com os resíduos Lys192, Val196, Ile267, Phe268, Pro269 e Ser383 para o CB₁; e os resíduos Phe87, Leu182, Phe183, Leu185 e Ser285 para o CB₂. A camada alta do sistema GPR119 é formada pelo ligante MBX2982 e pelos resíduos Val93, Leu94, Leu169, Trp238, Phe241, Glu261 e Trp265. Enquanto a camada alta do GPR55 é formada pelo ligante LPI e pelos resíduos Phe12, Asn16, His170, Asn171, Met172 Trp177 e Arg253.

4.7 Análise de componentes principais (PCA) e K-means.

O método de análise do componente principal (PCA) foi utilizado a partir dos dados dos descritores eletrônicos calculados com a nível B3LYP/6-311+G(d,p) das moléculas selecionadas com o intuito de observar as correlações entre as moléculas e analisar o agrupamento gerado a partir das PCs. A análise por meio de PCA foi realizada com o software R ¹⁹³, mediante a utilização do ambiente integrado de desenvolvimento RStudios ¹⁹⁴ para o cálculo das PCs e análise de agrupamento a partir do algoritmo K-means.

Desta forma, observamos a contribuição de cada descritor para a formação dos 3 componentes principais (PCs) com o intuito de identificar quais apresentam maior peso para a divisão das moléculas. Inicialmente, todos os descritores foram utilizados para a formação das PCs, entretanto observamos que alguns descritores apresentavam baixa contribuição para a formação das PCS.

5 Resultados e Discussão

5.1 Estrutura eletrônica, Análise PCA e K-means

Os descritores eletrônicos foram obtidos a partir das estruturas geométricas otimizadas nas conformações de mínimo global de energia, com cálculos realizados no nível B3LYP/6-311+G (d,p), todos os descritores estão alocados nas Tabelas 1 e 2. A análise PCA foi realizada com o intuito de observar as correlações entre as 40 moléculas estudadas por meio do agrupamento gerado a partir das PCs. Desta forma, observamos a contribuição de cada descritor para a formação dos componentes principais com o intuito de identificar quais apresentam maior peso para a separação das moléculas. A primeira PCA gerada forneceu a seguinte informação sobre os pesos de cada descritor para as 3 primeiras PCS:

$$PC_1 = -0,273 \text{ (Eletronegatividade)} - 0,223 \text{ (Maciez Global)} - 0,202 \text{ (HOMO-5)} - 0,200 \text{ (HOMO-4)} - 0,188 \text{ (HOMO-6)} - 0,175 \text{ (HOMO-3)} - 0,137 \text{ (Dipolo)} - 0,131 \text{ (\Delta ESP)} - 0,123 \text{ (Range ESP Final)} - 0,090 \text{ (H-H)} - 0,087 \text{ (Tamanho)} - 0,075 \text{ (Carga H2)} - 0,041 \text{ (HOMO-2)} - 0,003 \text{ (HOMO)} + 0,040 \text{ (Carga H1)} + 0,069 \text{ (HOMO-1)} + 0,073 \text{ (Carga Het)} + 0,213 \text{ (GAP)} + 0,262 \text{ (LUMO+6)} + 0,266 \text{ (LUMO)} + 0,270 \text{ (LUMO+1)} + 0,271 \text{ (LUMO+2)} + 0,278 \text{ (LUMO+3)} + 0,278 \text{ (LUMO+5)} + 0,290 \text{ (LUMO+4)} + 0,273 \text{ (Potencial Químico)}$$

$$PC_2 = -0,364 \text{ (HOMO-1)} - 0,359 \text{ (HOMO)} - 0,312 \text{ (HOMO-2)} - 0,295 \text{ (Carga Het)} - 0,219 \text{ (Maciez Global)} - 0,151 \text{ (HOMO-3)} - 0,107 \text{ (HOMO-4)} - 0,048 \text{ (Potencial Químico)} - 0,035 \text{ (LUMO+6)} - 0,024 \text{ (HOMO-5)} - 0,020 \text{ (LUMO+5)} + 0,014 \text{ (LUMO+3)} + 0,022 \text{ (LUMO+4)} + 0,023 \text{ (HOMO-6)} + 0,033 \text{ (Carga H1)} + 0,048 \text{ (Eletronegatividade)} + 0,053 \text{ (LUMO+2)} + 0,071 \text{ (LUMO+1)} + 0,085 \text{ (Carga H2)} + 0,124 \text{ (H-H)} + 0,135 \text{ (LUMO)} + 0,253 \text{ (GAP)} + 0,277 \text{ (Dipolo)} + 0,288 \text{ (Range ESP Final)} + 0,304 \text{ (Tamanho)} + 0,314 \text{ (\Delta ESP)}$$

$$PC_3 = -0,407 \text{ (Carga H2)} - 0,375 \text{ (HOMO-5)} - 0,348 \text{ (HOMO-6)} - 0,333 \text{ (H-H)} - 0,331 \text{ (HOMO-4)} - 0,300 \text{ (HOMO-3)} - 0,297 \text{ (Carga H1)} - 0,220 \text{ (LUMO+2)} - 0,186 \text{ (LUMO+3)} - 0,111 \text{ (HOMO-2)} - 0,113 \text{ (LUMO+1)} - 0,107 \text{ (LUMO+4)} - 0,080 \text{ (LUMO)} - 0,072 \text{ (LUMO+5)} - 0,061 \text{ (GAP)} - 0,054 \text{ (LUMO+6)} - 0,038 \text{ (Eletrofilicidade)} - 0,021 \text{ (HOMO-1)} - 0,007 \text{ (HOMO)} + 0,027 \text{ (Tamanho)} + 0,034 \text{ (Dipolo)} + 0,036 \text{ (\Delta ESP)} + 0,053 \text{ (Range ESP Final)} + 0,056 \text{ (Maciez Global)} + 0,087 \text{ (Eletronegatividade)} + 0,103 \text{ (Potencial Químico)} + 0,113 \text{ (Carga Het)}$$

Após observamos a contribuição da variância inicial dos dados. As duas primeiras PCs, PC1 e PC2, apresentaram a maior covariância acumulada 59,40%. Entretanto, a soma das duas primeiras PCs representa menos de 70,00% dos dados, qualificando como insatisfatórias para a representação do conjunto de dados obtidos. Desta forma, realizamos a análise considerando as 3 primeiras PCs, na qual observamos a representatividade de 70,60% dos dados. É importante ressaltar que o objetivo do uso da PCA, neste estudo, é somente no intuito de buscar conexões qualitativas entre os dados amostrais. Seria necessária uma reavaliação das PCs, eliminando variáveis do conjunto amostral, que nos levariam a uma covariância maior que 90% (desejável), para as três primeiras PCs. Portanto, esta é uma busca inicial, que de um modo mais amplo

servirá para uma análise global das propriedades eletrônica, ou seja, os resultados devem ser tomados com cautela, não podendo gerar conclusões quantitativas.

Numa segunda etapa, utilizamos a PCA em conjunto com o algoritmo de K-means para o agrupamento dos dados obtidos. Utilizamos o índice de silhueta para a identificação mais adequada da quantidade de grupos, a serem utilizados com o algoritmo do K-means. O índice de silhueta indicou 4 grupos como o mais adequado, os quais apresentamos as suas coordenadas para PC1, PC2 e PC3 a seguir: 1 (2,989954; -0,6612912; 0,7647580), 2 (-7,313174; 2,8669731; 4,1509844), 3 (1,531600; 3,8653076; -1,0813051) e 4 (-2,023478; -1,0926508; -0,6955972).

Tabela 1. Descritores Físico-Químicos e descritores de reatividade global das moléculas a nível de B3LYP/6-311+g (d,p).

| Ligantes | Dipolo (Db) | Átomo de maior carga (u.a.) | Intervalo de carga (u.a.) | Heteroátomo com maior carga negativa (u.a.) | Carga H1 (u.a.) | Carga H2 (u.a.) | Tamanho molecular (Å) | Distância H-H (Å) | χ (eV) | η (eV) | ω (eV) | μ (eV) | s (eV) | RMSD (Å) |
|----------------------------------|-------------|-----------------------------|---------------------------|---|-----------------|-----------------|-----------------------|-------------------|-------------|-------------|---------------|------------|----------|----------|
| CP55940 | 2,96 | 0,66 | 1,59 | -0,93 | 0,50 | 0,47 | 16,64 | 10,56 | 3,19 | 2,88 | 1,77 | -3,19 | 0,35 | 1,75 |
| AR231453 | 10,40 | 1,10 | 1,96 | -0,81 | 0,23 | 0,18 | 20,96 | 4,93 | 3,52 | 2,20 | 2,83 | -3,52 | 0,45 | 1,89 |
| MBX2982 | 11,03 | 1,17 | 2,08 | -0,92 | 0,46 | 0,20 | 19,03 | 5,31 | 4,80 | 1,94 | 5,92 | -4,80 | 0,51 | 1,68 |
| 2-AG | 6,25 | 1,00 | 1,84 | -0,84 | 0,52 | 0,49 | 16,7 | 5,69 | 3,31 | 3,17 | 1,73 | -3,32 | 0,32 | 4,26 |
| Anandamida | 8,41 | 0,97 | 1,83 | -0,86 | 0,51 | 0,37 | 14,67 | 4,46 | 3,39 | 3,15 | 1,82 | -3,39 | 0,32 | 6,02 |
| LPI | 9,14 | 1,51 | 2,35 | -0,84 | 0,53 | 0,48 | 28,85 | 7,50 | 3,90 | 3,67 | 2,08 | -3,90 | 0,27 | 2,21 |
| CBE | 5,57 | 0,48 | 1,33 | -0,85 | 0,48 | 0,44 | 14,52 | 7,38 | 3,17 | 2,82 | 1,79 | -3,17 | 0,36 | 0,91 |
| Δ^9-THC | 4,87 | 0,81 | 1,53 | -0,72 | 0,48 | 0,22 | 15,40 | 3,48 | 3,10 | 2,87 | 1,67 | -3,10 | 0,35 | 1,30 |
| Δ^8-THC | 3,84 | 0,69 | 1,42 | -0,73 | 0,50 | 0,22 | 15,75 | 3,47 | 3,09 | 2,90 | 1,65 | -3,09 | 0,35 | 1,24 |
| CBL | 2,68 | 0,68 | 1,36 | -0,69 | 0,48 | 0,22 | 14,30 | 2,25 | 3,10 | 2,89 | 1,66 | -3,10 | 0,35 | 0,77 |
| CBD | 5,00 | 0,74 | 1,47 | -0,74 | 0,50 | 0,45 | 14,60 | 4,73 | 3,15 | 2,92 | 1,70 | -3,15 | 0,34 | 0,85 |
| CBND | 3,98 | 0,40 | 1,07 | -0,63 | 0,39 | 0,39 | 14,75 | 4,59 | 3,50 | 2,63 | 2,33 | -3,50 | 0,38 | 1,13 |
| CBT | 6,32 | 0,94 | 1,86 | -0,92 | 0,51 | 0,48 | 14,93 | 4,24 | 3,34 | 2,38 | 2,35 | -3,34 | 0,42 | 0,72 |
| CBF | 3,29 | 0,63 | 1,19 | -0,57 | 0,44 | 0,23 | 14,57 | 2,18 | 3,46 | 2,44 | 2,45 | -3,46 | 0,41 | 1,24 |
| CBG | 1,95 | 0,49 | 1,15 | -0,66 | 0,48 | 0,40 | 14,84 | 5,65 | 3,19 | 2,84 | 1,79 | -3,19 | 0,35 | 3,60 |
| CBN | 0,63 | 0,68 | 1,37 | -0,69 | 0,46 | 0,22 | 15,55 | 3,45 | 3,56 | 2,38 | 2,67 | -3,56 | 0,42 | 0,63 |
| CBC | 1,56 | 0,81 | 1,49 | -0,67 | 0,48 | 0,22 | 15,08 | 2,26 | 3,41 | 2,37 | 2,46 | -3,41 | 0,42 | 1,09 |
| CBDA | 7,28 | 1,08 | 1,83 | -0,74 | 0,48 | 0,47 | 15,20 | 4,19 | 3,70 | 2,66 | 2,57 | -3,70 | 0,38 | 0,37 |
| CBCA | 3,27 | 0,84 | 1,57 | -0,73 | 0,51 | 0,44 | 14,80 | 3,80 | 3,79 | 2,14 | 3,35 | -3,79 | 0,47 | 1,11 |
| THCV | 1,69 | 0,86 | 1,59 | -0,72 | 0,49 | 0,22 | 12,88 | 3,06 | 3,09 | 2,88 | 1,66 | -3,09 | 0,35 | 0,13 |

Tabela 2. Descritores Físico-Químicos e descritores de reatividade global das moléculas a nível de B3LYP/6-311+g (d,p) (continuação).

| Ligantes | Dipolo (Db) | Átomo de maior carga (u.a.) | Intervalo de carga (u.a.) | Heteroátomo com maior carga negativa (u.a.) | Carga H1 (u.a.) | Carga H2 (u.a.) | Tamanho molecular (Å) | Distância H-H (Å) | χ (eV) | η (eV) | ω (eV) | μ (eV) | S (eV) | RMSD (Å) |
|----------------------|-------------|-----------------------------|---------------------------|---|-----------------|-----------------|-----------------------|-------------------|-------------|-------------|---------------|------------|--------|----------|
| Glepidotin C | 4,52 | 0,53 | 1,36 | -0,76 | 0,53 | 0,47 | 14,32 | 4,15 | 3,33 | 2,80 | 1,98 | -3,33 | 0,36 | 1,01 |
| Araphyn-1 | 2,34 | 0,47 | 1,14 | -0,67 | 0,47 | 0,46 | 16,22 | 5,66 | 3,73 | 1,87 | 3,71 | -3,73 | 0,53 | 0,86 |
| Radulanina A | 2,62 | 0,62 | 1,31 | -0,70 | 0,49 | 0,20 | 14,31 | 5,65 | 3,75 | 2,00 | 3,51 | -3,75 | 0,50 | 0,19 |
| Radulanina A B | 2,66 | 0,57 | 1,25 | -0,68 | 0,48 | 0,21 | 14,57 | 2,23 | 3,39 | 2,85 | 2,02 | -3,39 | 0,35 | 1,10 |
| Radulanina H | 3,93 | 0,95 | 1,69 | -0,74 | 0,51 | 0,49 | 14,14 | 3,83 | 4,00 | 1,94 | 4,13 | -4,00 | 0,52 | 0,35 |
| Radulanina H B | 3,50 | 0,91 | 1,65 | -0,74 | 0,52 | 0,48 | 14,17 | 3,79 | 4,07 | 2,36 | 3,52 | -4,07 | 0,42 | 0,71 |
| Radulanina I | 4,64 | 0,48 | 1,19 | -0,71 | 0,48 | 0,22 | 14,62 | 3,49 | 3,68 | 1,95 | 3,46 | -3,68 | 0,51 | 0,16 |
| Radulanina I B | 2,12 | 0,48 | 1,18 | -0,70 | 0,48 | 0,23 | 14,70 | 2,25 | 3,27 | 2,74 | 1,95 | -3,27 | 0,36 | 1,11 |
| Radulanina K | 2,35 | 0,95 | 1,71 | -0,76 | 0,53 | 0,49 | 14,53 | 3,82 | 3,90 | 1,92 | 3,98 | -3,90 | 0,52 | 0,53 |
| Radulanina K B | 2,20 | 0,92 | 1,67 | -0,76 | 0,54 | 0,48 | 14,36 | 3,80 | 3,96 | 2,37 | 3,30 | -3,96 | 0,42 | 0,68 |
| 70b | 3,88 | 1,01 | 1,73 | -0,72 | 0,50 | 0,21 | 13,22 | 3,54 | 3,67 | 1,94 | 3,46 | -3,67 | 0,51 | 0,87 |
| 69a | 3,77 | 0,93 | 1,64 | -0,71 | 0,50 | 0,23 | 13,86 | 3,47 | 3,76 | 1,82 | 3,88 | -3,76 | 0,55 | 0,16 |
| 6-metiltetrapterol A | 3,23 | 0,80 | 1,54 | -0,74 | 0,50 | 0,47 | 16,92 | 4,57 | 3,88 | 2,15 | 3,50 | -3,88 | 0,46 | 0,36 |
| Desmodianona A (R) | 3,91 | 0,86 | 1,62 | -0,76 | 0,52 | 0,50 | 15,98 | 5,62 | 3,91 | 2,03 | 3,75 | -3,91 | 0,49 | 0,08 |
| Desmodianona A B (R) | 4,51 | 0,82 | 1,56 | -0,75 | 0,52 | 0,50 | 15,91 | 5,62 | 3,76 | 1,90 | 3,71 | -3,76 | 0,53 | 0,49 |
| Desmodianona A B (S) | 4,97 | 0,76 | 1,51 | -0,75 | 0,52 | 0,50 | 19,58 | 5,62 | 3,77 | 1,91 | 3,71 | -3,77 | 0,52 | 0,60 |
| Desmodianona D | 5,38 | 0,76 | 1,50 | -0,73 | 0,51 | 0,49 | 15,24 | 10,49 | 3,79 | 2,10 | 3,43 | -3,79 | 0,48 | 2,57 |
| Desmodianona D B | 4,30 | 0,80 | 1,53 | -0,73 | 0,50 | 0,49 | 16,14 | 8,70 | 3,70 | 2,01 | 3,41 | -3,70 | 0,50 | 0,58 |
| Desmodianona E | 7,62 | 0,84 | 1,59 | -0,75 | 0,48 | 0,46 | 14,82 | 5,56 | 3,83 | 2,15 | 3,41 | -3,83 | 0,46 | 2,58 |
| Desmodianona E B | 3,63 | 0,81 | 1,55 | -0,74 | 0,48 | 0,48 | 16,22 | 8,69 | 3,83 | 2,15 | 3,42 | -3,83 | 0,47 | 0,30 |

A Figura 10 traz a representação dos dados obtidos pela PCA e o algoritmo de K-means. Utilizamos as três primeiras PCs como eixos, assim PC1 como o eixo x, PC2 como o eixo y e PC3 como o eixo z. A representação da divisão dos grupos formados pelo K-means foi realizado por meio das cores, assim as moléculas são divididas em quatro cores seguindo os quatro grupos calculados pelo algoritmo de K-means. Pode-se observar que, os descritores derivados do orbital molecular HOMO encontram-se no mesmo quadrante (Figura 10). As propriedades derivadas do orbital HOMO, como a eletronegatividade, potencial químico e maciez global apresentaram contribuição significativa para a formação das PCs.

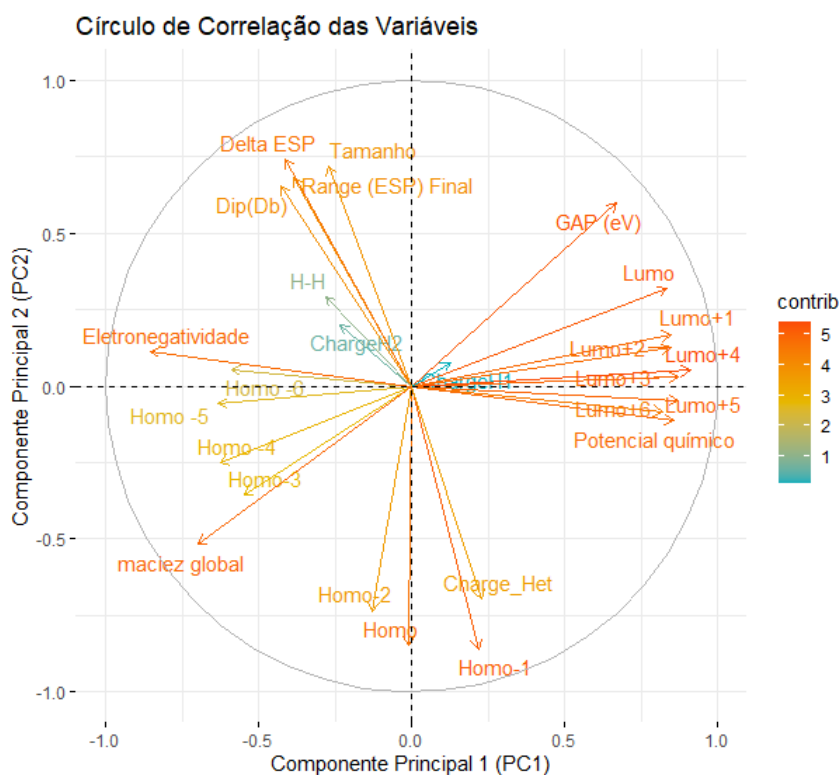


Figura 10. Análise de contribuição dos descritores para a formação das duas principais PCs; eixo X representado a PC1 e o eixo Y representando a PC2.

Observando a Figura 10, os descritores relacionados ao orbital LUMO, como LUMO+4, e LUMO+5 apresentam alto índice de contribuição positiva, enquanto os descritores eletronegatividade e maciez global apresentaram os maiores índices para contribuição negativa.

Na PC2, os descritores que têm as maiores contribuições positivas correspondem aos relacionados as cargas atômicas, o intervalo de carga (ΔESP), e o tamanho molecular. Entretanto, as contribuições negativas, com maior destaque, correspondem as energias relacionadas ao orbital HOMO e HOMO-1, incluindo também os heteroátomos com maior carga (Charge_Het). A PC3 apresentou basicamente a mesma tendência da PC2 e não foi apresentada na Figura 10.

Assim, utilizamos as correlações obtidas com a PCA em conjunto com o algoritmo de K-means para a formação de uma representação gráfica tridimensional, buscando as separações das moléculas estudadas que está mostrado na Figura 11. Para a formação dos grupos pelo algoritmo do K-means, consideramos a divisão básica das moléculas em quatro grupos. Estes são divididos como o grupo dos endocanabinoides (1), canabinoides (2), dos ligantes de referência (3) e dos análogos de canabinoides (4).

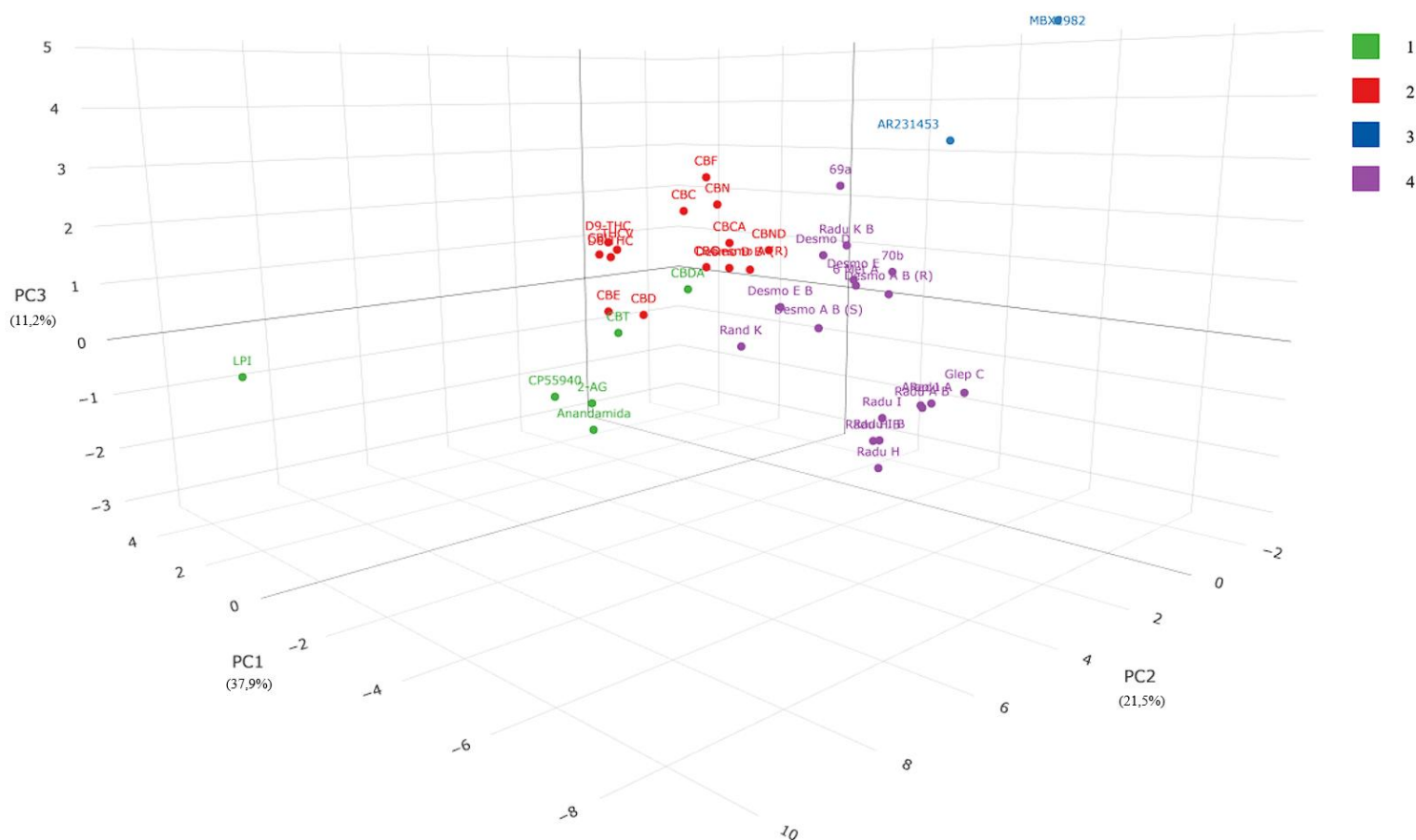


Figura 11. Relação dos dados obtidos pela análise PCA com PC1 (x), PC2 (y) e PC3 (z) como eixos e divisão por cores em 4 grupos das moléculas estudadas a partir do algoritmo K-means.

A divisão observada com o uso do algoritmo de K-means apresentou uma separação dos grupos, seguindo a classificação observada na literatura^{92,127,195}, com pequenas ressalvas de agrupamento de algumas moléculas em outros grupos. A Tabela 3 mostra a organização dos resultados dos agrupamentos obtidos da PCA (Figura 11). Os agrupamentos obtidos pelo algoritmo de K-means indicam a divisão das moléculas em quatro grupos como observado na literatura^{92,127,195}.

O grupo 3 corresponde aos ligantes de referência AR231453 e MBX2982 apresentaram

separação em relação ao ligante CP55940. Observamos que apenas o descritor de menor carga, apresentado na Tabela 1, apresenta similaridade entre os ligantes AR231453 e MBX2982 e o CP55940. O que pode ter levado a separação evidenciada pela PCA e o K-means. Desta forma, o grupo 3 tem uma considerável diferença em relação às demais moléculas estudadas.

O grupo 1 corresponde aos endocanabinoides. Assim como o observado com o grupo 3, o grupo 1 apresentou distância das demais moléculas estudadas, efeito da considerável diferença em relação aos descritores estudados. As moléculas CP55940, CBDA e CBT estão classificadas no grupo 1, apesar de serem encontradas na literatura como um ligante baseado no Δ^9 -THC e dois canabinoides. O modelo apresenta distinção perceptível entre o LPI e os demais membros do grupo 1, indicando a maior similaridade das moléculas CP55940, CBDA, CBT, anandamida e 2-AG com os grupos 2 e 4 (por proximidade), que são compostos por canabinoides e análogos de canabinoides.

Tabela 3. Agrupamento das moléculas estudadas a partir do algoritmo K-means utilizando os dados obtidos pela PCA.

| <i>Grupo</i> | <i>Molécula</i> |
|--------------|---|
| 1 | Anandamida, LPI, 2-AG, CP55940 , CBDA e CBT |
| 2 | <i>desmodianona A (R)</i> , <i>desmodianona D B</i> , CBE, D9-THC, D8-THC, CBL, CBD, CBND, CBF, CBG, CBN, CBC, CBCA e THCV |
| 3 | AR231453, MBX2982 |
| 4 | 70b, 69a, glepidotin c, araphyn-1, radulanina A, radulanina A B, radulanina H, radulanina H B, radulanina I, radulanina I B, radulanina K, radulanina K B, 6-metiltetrapterol A, desmodianona A B (R), desmodianona A B (S), desmodianona D, desmodianona E, desmodianona E B |

O grupo 2 aglomerou o conjunto das moléculas canabinoides. Entretanto, apresenta uma realocação dos análogos de canabinoides: desmodianona A (R) e desmodianona D B. Assim, o modelo descreve a similaridade entre os canabinoides e seus análogos, evidenciado pela pequena distância entre os grupos 2 e 4. Outro ponto de interesse foi a separação dos endocanabinoides e do CP55940 no grupo dos canabinoides, apesar da proximidade obtida, indicando que os descritores selecionados retêm os aspectos que correlacionam estas moléculas.

O grupo 4 converge as moléculas que compõem os grupos dos análogos de canabinoides, incluindo as moléculas que compõem o grupo dos supostos canabinoides. Este

agrupamento indica que a similaridade encontrada nos descritores eletrônicos que correlaciona tais moléculas, também aproxima de forma relevante as moléculas do grupo 3 com as moléculas no grupo 2, composto principalmente pelos canabinoides.

Para além da relação de analogia, observamos que estas moléculas apresentam distância significativa dos grupos 1 e 3, evidenciando a diferença das propriedades de estrutura eletrônica. A relação de proximidade entre o grupo 1 com os grupos 2 e 3, indica que os canabinoides e análogos de canabinoides apresentam relativamente maior similaridade com o CP55940 e os endocanabinoides que os demais ligantes de referência. Portanto, podemos esperar que apresentem resposta para os alvos CB₁ e CB₂, nos quais o CP55940 está presente na estrutura cristalográfica dos cristais 6KQJ e 8GUR.

Com relação aos dados da PCA, podemos observar que as cargas atômicas têm maior contribuição para a formação do grupo 1. Os orbitais de fronteira contribuem significativamente para a classificação destas moléculas. Os orbitais HOMO contribui para o deslocamento do grupo 1 no sentido negativo do eixo da PC2, fornecendo peso para a classificação do grupo 1 em relação aos outros grupos. Enquanto que, os orbitais LUMO contribuem também significativamente, deslocando o grupo 3 no sentido positivo na PC1, levando a divergência do grupo 4 entre os demais grupos. Dentre os descritores derivados do orbital HOMO, o descritor de eletronegatividade apresentou a maior significância para a formação das PCs. Apresenta grande contribuição, deslocando os grupos 1 e 4 no sentido negativo na PC1. Desta forma, selecionamos os descritores cargas atômicas, HOMO, LUMO e eletronegatividade para aprofundar a discussão dos ligantes.

5.1.1 Ligantes de referência

Como sugerido na análise de PCA, o ligante de referência CP55940 apresentou diferenças consideráveis nas propriedades de estrutura eletrônica em relação aos ligantes AR231453 e MBX2982, assim realizamos análises separadas do CP55940 e conjunta para os ligantes AR231453 e MBX2982.

CP55940

A Figura 12 apresenta os resultados da estrutura otimizada CP55940, assim como as cargas atômicas e o mapa superficial de potencial eletrostático molecular (MEP), que indica as regiões com maior possibilidade de interação onde as regiões coloridas em azul representam menor densidade eletrônica, e regiões coloridas em vermelho indicam maior densidade

eletrônica na região ou sob o átomo.

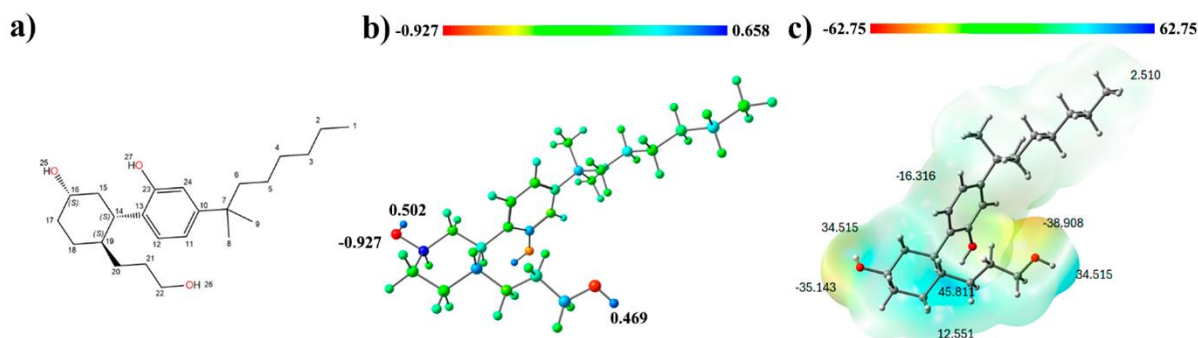


Figura 12. Molécula CP55940: (a) Estruturas 2D; (b) mapa de distribuição de cargas do tipo ChelpG (valores em u.a.); (c) mapa de potencial eletrostático, valores em kcal/mol.

Os átomos com carga neutra são indicados pela cor verde na Figura 12b, a maior parte da molécula não apresenta muitos átomos com carga muito alta, sendo representado em sua maioria pela cor verde. A cadeia alifática, composta pelos átomos 1 ao 9, é a região da molécula com maior índice hidrofóbico, como esperado. O heteroátomo com maior carga está localizado no grupo hidroxila (oxigênio O25), apresentando carga de -0,93 u.a. Entretanto, observamos que os hidrogênios ligados aos oxigênios O25 e O26 apresentam as maiores cargas positivas na molécula (0,50 u.a. e 0,47 u.a.) . Assim, indicando as regiões hidrofílicas, como a porção com os hidrogênios mais ácidos da molécula.

O MEP para o CP55940, indica que a cadeia alifática apresenta pequena densidade eletrônica. Portanto, apresenta baixo potencial de interação (2,51 kcal/mol) corroborando o observado na análise de cargas desta molécula. Entretanto, o MEP mostra além da análise das cargas, como a porção da molécula referente ao anel aromático densidade eletrônica de -16,32 kcal/mol.

Corroborando com as cargas dos hidrogênios mais ácidos, a porção com maior densidade eletrônica presente no ligante condiz com os terminais OH do O25 e O26 presentes na cadeia alifática e no anel de ciclohexano (-35,14 e -38,91 kcal/mol) onde ambos os hidrogênios mais ácidos apresentam densidade eletrônica similar (34,52 kcal/mol), indicando que ambas as regiões são potenciais sítios de interações de hidrogênio. O MEP forneceu informações significativas para a compreensão da convergência de similaridade do CP55940 com os endocanabinoides e os grupos 2 e 3 apresentados na PCA.

Na sequência, seguimos para os descritores dos orbitais moleculares de fronteira, indicados como significativos para a formação de grupos pela PCA. A Tabela 4 apresenta os resultados dos orbitais de fronteira B3LYP/6-311+G(d,p) para as moléculas que serão discutidas na parte de estrutura eletrônica, selecionadas a partir dos resultados de PCA. As

demais moléculas podem ser encontradas nas Tabelas 9 e 10 do Apêndice no final deste trabalho.

Tabela 4. Resultados dos orbitais de fronteira dos ligantes selecionados valores em kcal/mol.

| <i>Ligantes</i> | <i>HOMO</i> | <i>LUMO</i> | <i>Gap</i> |
|----------------------|-------------|-------------|------------|
| CP55940 | -139,93 | -7,24 | 132,69 |
| AR 231453 | -131,98 | -30,58 | 101,40 |
| MBX2982 | -155,36 | -65,79 | 89,57 |
| 2-AG | -149,42 | -3,29 | 146,13 |
| Anandamida | -150,93 | -5,48 | 145,45 |
| LPI | -174,61 | -5,43 | 169,19 |
| Δ^8 -THC | -138,04 | -4,42 | 133,61 |
| CBL | -138,16 | -4,68 | 133,48 |
| THCV | -137,61 | -4,91 | 132,70 |
| Radulanina I | -129,81 | -39,75 | 90,07 |
| Radulanina I B | -138,64 | -12,17 | 126,47 |
| 70b | -129,33 | -39,74 | 89,59 |
| 69a | -128,82 | -44,74 | 84,07 |
| 6-metiltetrapterol A | -139,16 | -39,84 | 99,32 |
| Desmodianona E | -137,95 | -38,68 | 99,27 |

A Figura 13 apresenta os orbitais HOMO e LUMO localizados na função fenol, parte central da molécula.

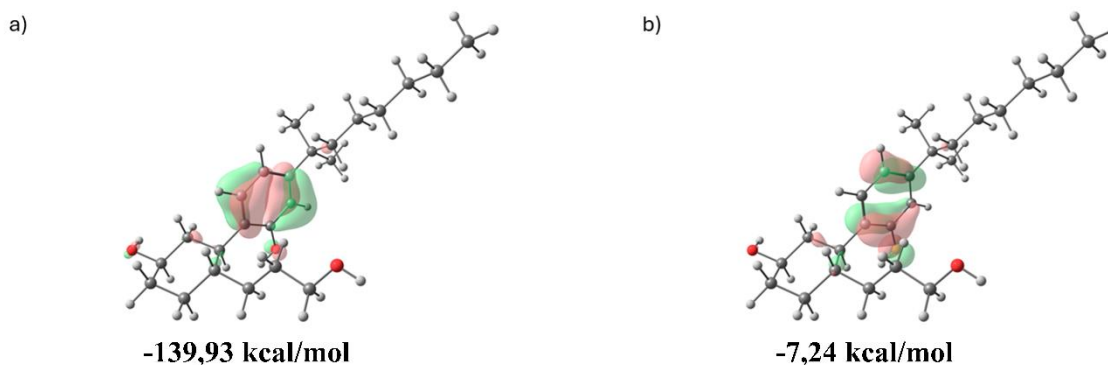


Figura 13. CP55940, distribuição dos orbitais moleculares: (a) HOMO e (b) LUMO.

A região onde os orbitais de fronteira estão distribuídos, se sobrepõem nos átomos da função fenol (átomos C9, C10, C11, C12, C22 e C23), parte da porção central da molécula. A sobreposição dos orbitais HOMO e LUMO, presentes no CP55940, é observada como uma possível tendência para a divisão das moléculas dos grupos 2 e 4 na PCA, já que esse comportamento não foi verificado para os outros ligantes (descritos nos próximos tópicos). O *gap* para a molécula é de 132,69 kcal/mol, um valor intermediário dentre o conjunto de moléculas estudado (Tabela 4).

Utilizamos dos índices quantitativos da Teoria de Funcional da Densidade Conceitual (CDFT), com os estudos dos índices de reatividade de Fukui para a localização das possíveis regiões reativas. O foco é tratar as regiões que irão sofrer o ataque eletrofílico, logo as regiões com menor eletronegatividade, através da função f^- , Figura 14 (imagens renderizadas das funções f^+ e f^0 , que indicam ataques nucleofílicos e ataques radiculares, estão disponibilizadas no Apêndice).

a)

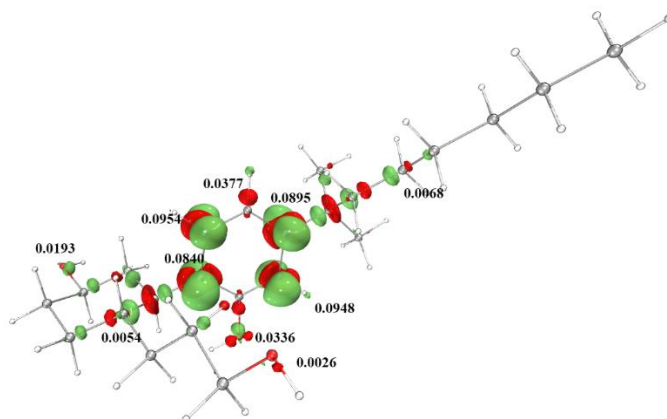


Figura 14. Representação dos índices de Fukui f^- com seus respectivos valores de CDFT em u.a. para a molécula CP55940.

As isosuperfícies do índice f^- indica potencial para sofrer ataque eletrofílico na região do anel aromático, com distribuição uniforme nas regiões dos átomos de carbono C9, C10, C12 e C21 com o intervalo de 0,0840 u.a. a 0,0954 u.a. (Figura 14). O maior potencial de regiões suscetíveis a ataques eletrofílicos nesta molécula corresponde a região onde estão localizados os orbitais de fronteira (HOMO e LUMO), seguindo a tendência apresentada para a divisão das moléculas dos grupos 2 e 4.

AR231453 e MBX2982

As moléculas AR231453 e MBX2982, Figura 15, são integrantes do grupo 3 e apresentaram diferenças significativas nos descritores eletrônicos quando comparadas com o CP55940.

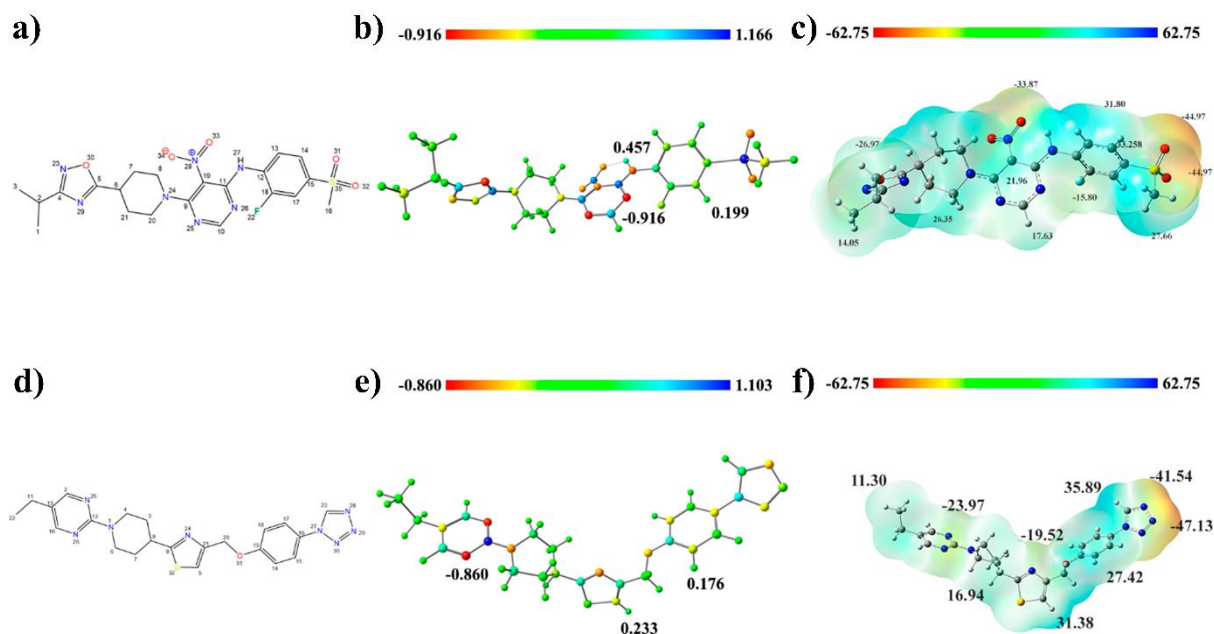


Figura 15. Moléculas AR231453 (a, b, c) e MBX2982 (d, e, f): (a, d) estruturas 2D, (b, e) mapa de distribuição de cargas do tipo ChelpG (valores em u.a.), (c, f) mapa de potencial eletrostático, valores em kcal/mol.

Em relação aos descritores de cargas atômicas observamos que o heteroátomo com maior carga está localizado no grupo pirimidina, em átomos de nitrogênio, onde observamos as cargas de -0,92 u.a. e -0,86 u.a. O AR231453 apresentou a carga do hidrogênio mais ácido, maior que o observado para o MBX2982, 0,46 u.a. e 0,23 u.a., enquanto que, o segundo hidrogênio mais ácido apresentou pouca diferença, 0,20 u.a. e 0,18 u.a. Entretanto, em ambas as moléculas, estão localizados nos grupos centrais, apresentando distâncias próximas a 5,00 Å. As moléculas possuem maior porção hidrofóbica, entretanto podemos perceber que as porções hidrofílicas, correspondentes a átomos com carga, são superiores as observadas para o CP55940.

O MEP do MBX2982 sugere que a região de maior densidade eletrônica da molécula está localizada na região do anelo tetrazol entre os átomos N28 e N29, -41,54 kcal/mol e -47,13 kcal/mol, respectivamente. A região de menor densidade eletrônica corresponde a localização do hidrogênio ligado ao átomo de carbono C23, 35,89 kcal/mol. O MEP desta molécula apresenta apenas uma região com alta densidade eletrônica, assim como a tendência da molécula apresentar menor densidade eletrônica, regiões mais azuladas. Este perfil de densidade diverge do observado para o CP55940. Assim, observamos que o MEP indica um novo perfil com maior densidade eletrônica, no geral, o qual diverge do observado para o CP55940, indicando que as moléculas que integram o grupo 3 da PCA apresentam diferenças eletrônicas dos outros grupos.

A molécula AR231453 apresenta a sobreposição dos orbitais de fronteira na parte central da molécula, indicando que esta região apresenta alta tendência de interação, Figura 16.

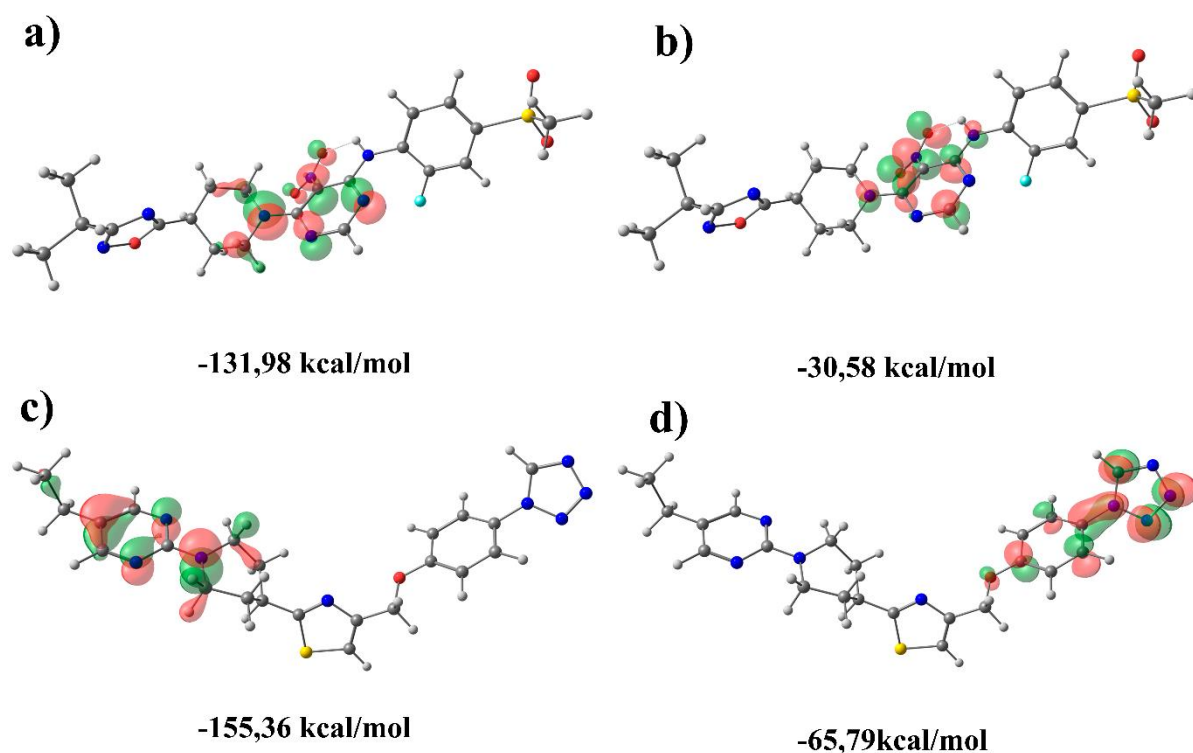


Figura 16. Moléculas AR231453 e MBX2982, distribuição dos orbitais moleculares: (a, c) HOMO, e (b, d) LUMO.

A molécula apresenta maior tendência de interação por meio de doação de elétrons, evidenciada pela energia do orbital HOMO, $-131,98 \text{ kcal/mol}$. Entretanto, para a molécula MBX2982, o orbital HOMO, energia de $-155,36 \text{ kcal/mol}$, está localizado na função pirimidina. Já o orbital LUMO está localizado nos anéis benzênico e tetrazol. A localização dos orbitais de fronteira não se sobrepõem e indicam duas possíveis regiões de interação. A localização dos orbitais em diferentes pontos, observada para a molécula MBX2982, sugere que os descritores de orbitais de fronteira auxiliam na divisão dos grupos, pois no AR231453 é o maior dos grupos 2 e 3, comparado com o observado para o MBX2982. As moléculas apresentaram tendência de reatividade no gap de $10,40$ e $89,57 \text{ kcal/mol}$, similar ao observado pelo CP55940.

A função f^- para o AR231453, Figura 17, indica alta sucessibilidade para ataques eletrofílicos, presente na região do grupo nitropirimidina principalmente sobre os átomos C19, O33 e O24 ($0,0778 \text{ u.a.}$, $0,0577 \text{ u.a.}$ e $0,0697 \text{ u.a.}$). Também podemos observar alta sucessibilidade para ataques eletrofílicos nos átomos de nitrogênios presentes nas funções amina, N27 $0,0607 \text{ u.a.}$, e piperidina, N24 $0,0449 \text{ u.a.}$

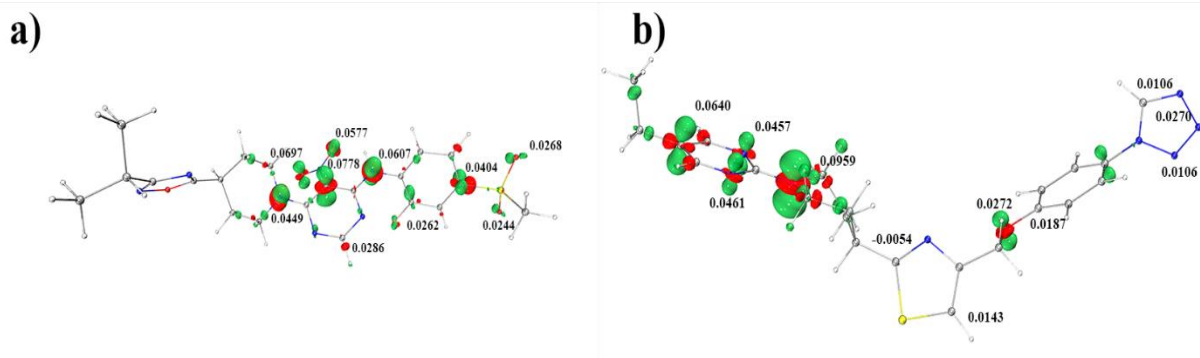


Figura 17. Representação dos índices de Fukui f^- com seus respectivos valores de CDFT em u.a. para as moléculas AR231453 (a) e MBX2982 (b).

A função f^- do MBX2982 demonstrou alta sucessibilidade para ataques eletrofílicos na função pirimidina, no átomo C13, N25 e N26, 0,0640 u.a., 0,0457 u.a. e 0,0461 u.a. Por final, a função piridina apresentou a região com a maior alta sucessibilidade para ataques eletrofílicos no átomo N1 (0,0959 u.a.).

5.1.2 Endocanabinoides

A Figura 18 apresenta a estrutura das moléculas 2-AG, anandamida e LPI trazendo a distribuição de cargas observada e MEP. Seguindo o perfil de lipídeos, as moléculas de endocanabinoides apresentam uma cadeia polar na parte superior da molécula seguida de uma cadeia apolar (Figura 18). Assim, o momento de dipolo supera 5,00 Debye indicando alta tendencia de polarização das moléculas, já esperado pela estrutura com dipolo estabelecido em uma das extremidades das moléculas. Comparando os endocanabinoides com os canabinoides e seus análogos, observamos que esta classe de moléculas mostrou o maior valor de dipolo entre as demais classes aqui estudadas.

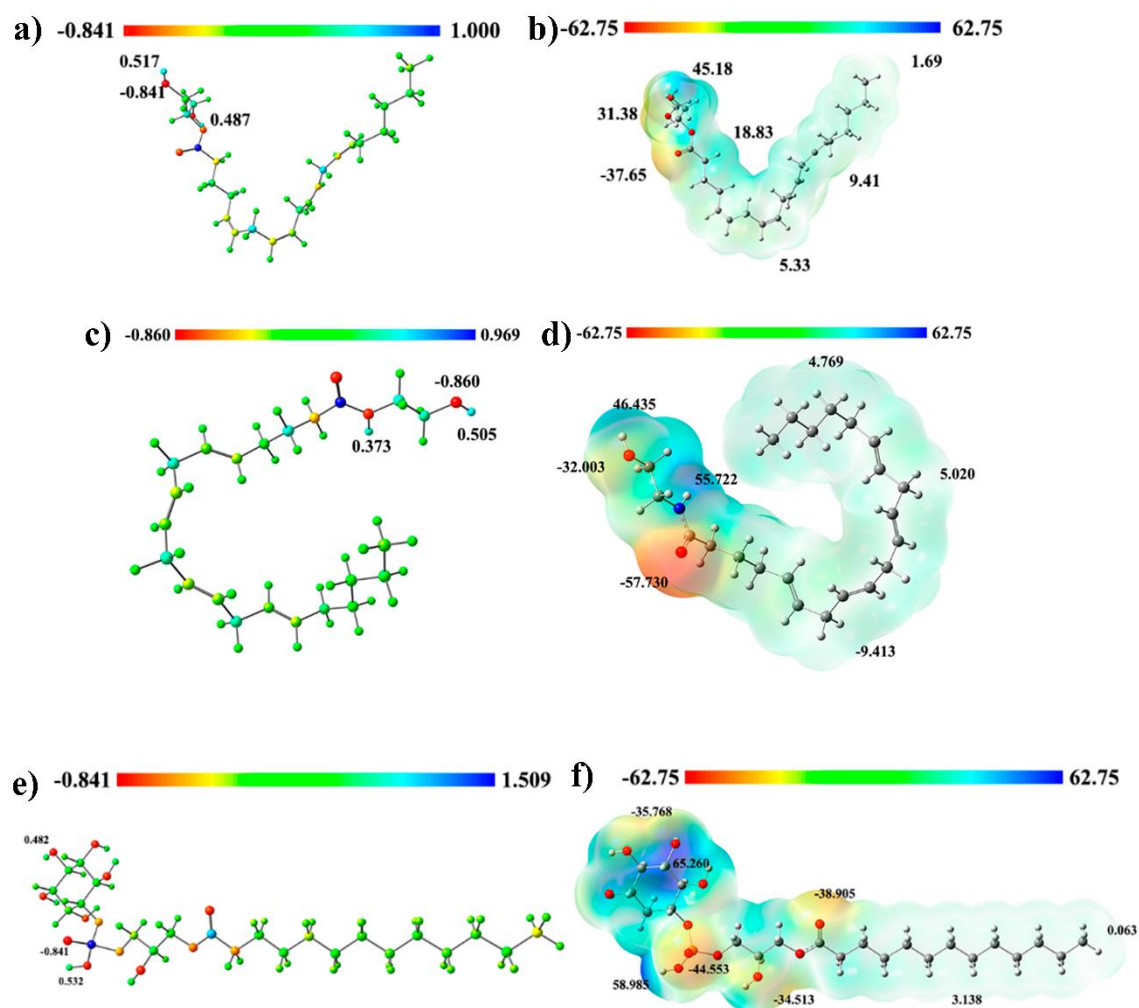


Figura 18. Moléculas 2-AG, anandamida e LPI. (a, c, e) Mapa de distribuição de cargas do tipo ChelpG (valores em u.a.), (b, d, f) mapa de potencial eletrostático, valores em kcal/mol.

Os endocanabinoides 2-AG e anandamida apresentam átomos de oxigênio como o heteroátomo de maior carga, -0,86 u.a. e -0,84 u.a respectivamente. Como esperado, a região polar da molécula corresponde a região dos átomos com maior carga, indicando alta tendência a hidrofiliicidade. Os hidrogênios mais ácidos são aqueles pertencentes à função hidroxila, adicionalmente para o 2-AG na função amina. As cargas observadas para estes hidrogênios variam de 0,37 u.a. a 0,53 u.a., similar ao observado para o CP55940 e alguns canabinoides. As cargas dos hidrogênios indicam convergência entre as moléculas que compõem os grupos 1, 2 e 4 na PCA, assim como a divergência com relação ao grupo 3.

Assim como as cargas, a distância entre os hidrogênios mais ácidos tem similaridade entre as moléculas 2-AG e anandamida com as moléculas do grupo dos canabinoides, distância

H-H de 4,46 Å a 5,59 Å. Entretanto, observamos que a molécula LPI apresentou distância H-H de 7,50 Å, indicando diferença do perfil encontrado para as outras moléculas do grupo 1. A localização das cargas relatadas evidencia a separação da parte hidrofílica e hidrofóbica destas moléculas, contrastando com o perfil encontrado com o CP55940.

Por meio da análise do MEP (Figura 18), observamos que as cadeias alifáticas das moléculas do grupo 1 se mostram mais hidrofóbicas, semelhante ao perfil observado para o CP55940. As regiões com maior densidade eletrônica destas moléculas encontram-se nas regiões do grupo fosfato e das funções cetona e hidroxila, -44,53 kcal/mol, -57,73 kcal/mol e -37,65 kcal/mol, indicando que as moléculas 2-AG e anandamida seguem a tendência de duas regiões de interação, enquanto que o LPI apresenta mais de duas regiões.

A Figura 19 apresenta as energias dos orbitais moleculares para os endocanabinoides, os valores utilizados estão disponibilizados nas Tabelas 9 e 10 do Apêndice.

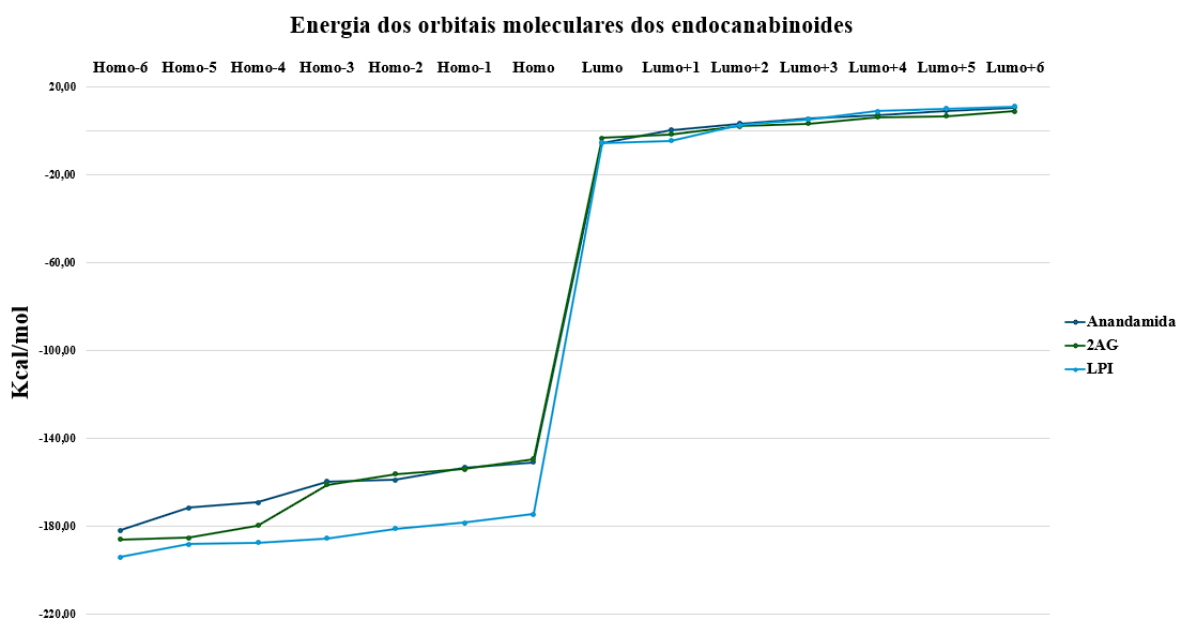


Figura 19. Distribuição de energia dos orbitais moleculares (HOMO-6 a LUMO+6) calculados para os endocanabinoides.

Os endocanabinoides não apresentaram energia do orbital HOMO superior ao observado para as outras moléculas. A energia do orbital HOMO contribui para a formação do grupo 1, grupo dos endocanabinoides, e diferenciação dos grupos 2 e 4, grupo dos canabinoides e análogos de canabinoides, indicando um descritor importante para a compreensão destas moléculas.

A energia do orbital de fronteira LUMO apresentou maior similaridade nas moléculas

do grupo, com energia variando de -3,29 kcal/mol a -5,48 kcal/mol, assim como a similaridade com o orbital LUMO apresentado pelo CP55940, indicando um fator de convergência do grupo 1 na PCA. Em seguida, realizamos a localização dos orbitais de fronteira e disponibilizamos na Figura 20.

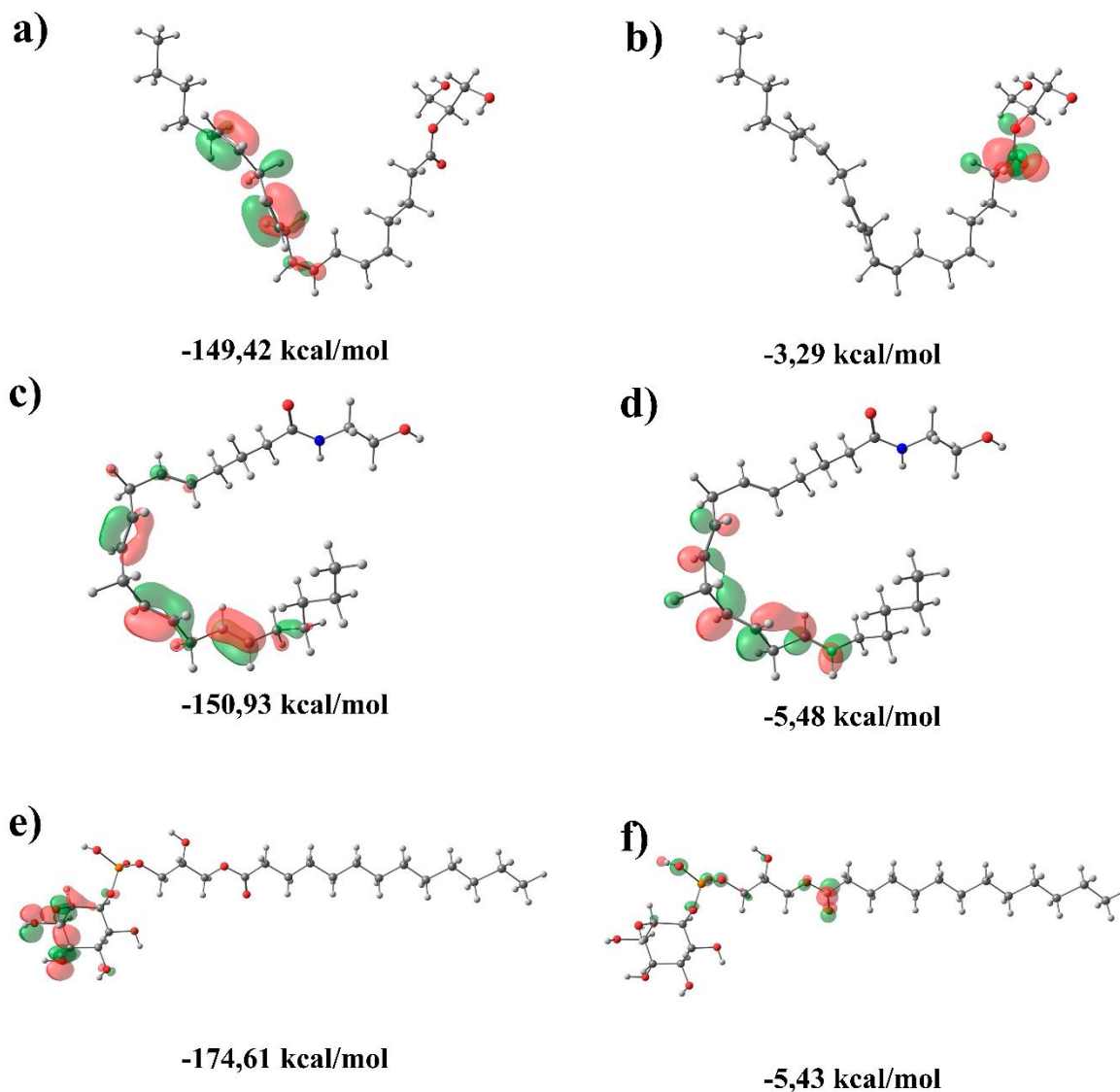


Figura 20. Moléculas 2-AG, anandamida e LPI, distribuição dos orbitais moleculares: (a, c, e) HOMO e (b, d, f) LUMO.

Apesar da molécula de 2-AG e anandamida apresentarem energias dos orbitais de fronteira similares ao CP55940, apenas a anandamida apresentou a localização dos orbitais HOMO e LUMO (Figura 23), na mesma região encontrada no CP55940. A anandamida apresenta a localização dos orbitais HOMO e LUMO na porção apolar da molécula, especificamente na cadeia alifática na região de carbonos com hibridização do tipo sp^2 .

Os indicies de Fukui indicaram que os endocanabinoides apresentaram maior

sucessibilidade para ataques eletrofilicos na porção polar da molécula, Figura 21.

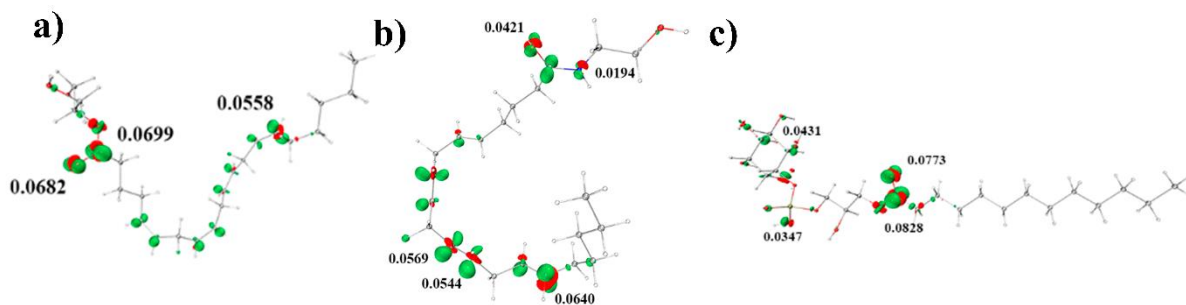


Figura 21. Representação dos índices de Fukui f^- com seus respectivos valores de CDFT em u.a. para as moléculas 2-AG (a), anandamida (b) e LPI (c).

5.1.3 Canabinoides

O grupo de canabinoides estudado é composto por representantes de diferentes subclasses de fitocanabinoides, indicando diferenças estruturais como observado para os representantes THCV, CBDA e CBCA, conforme ilustrado na Figura 6. O grupo de moléculas canabinoides apresenta, em sua maioria, átomos com distribuição de carga neutra, evidenciando o caráter hidrofóbico predominante dessas moléculas. Para ilustrar essa tendência, foram selecionados os compostos THCV, Δ^8 -THC e CBL, cujos mapas de distribuição de carga estão representados na Figura 22. Observa-se que a cadeia alifática com 5 carbonos mantém carga neutra, reforçando o perfil hidrofóbico típico do grupo.

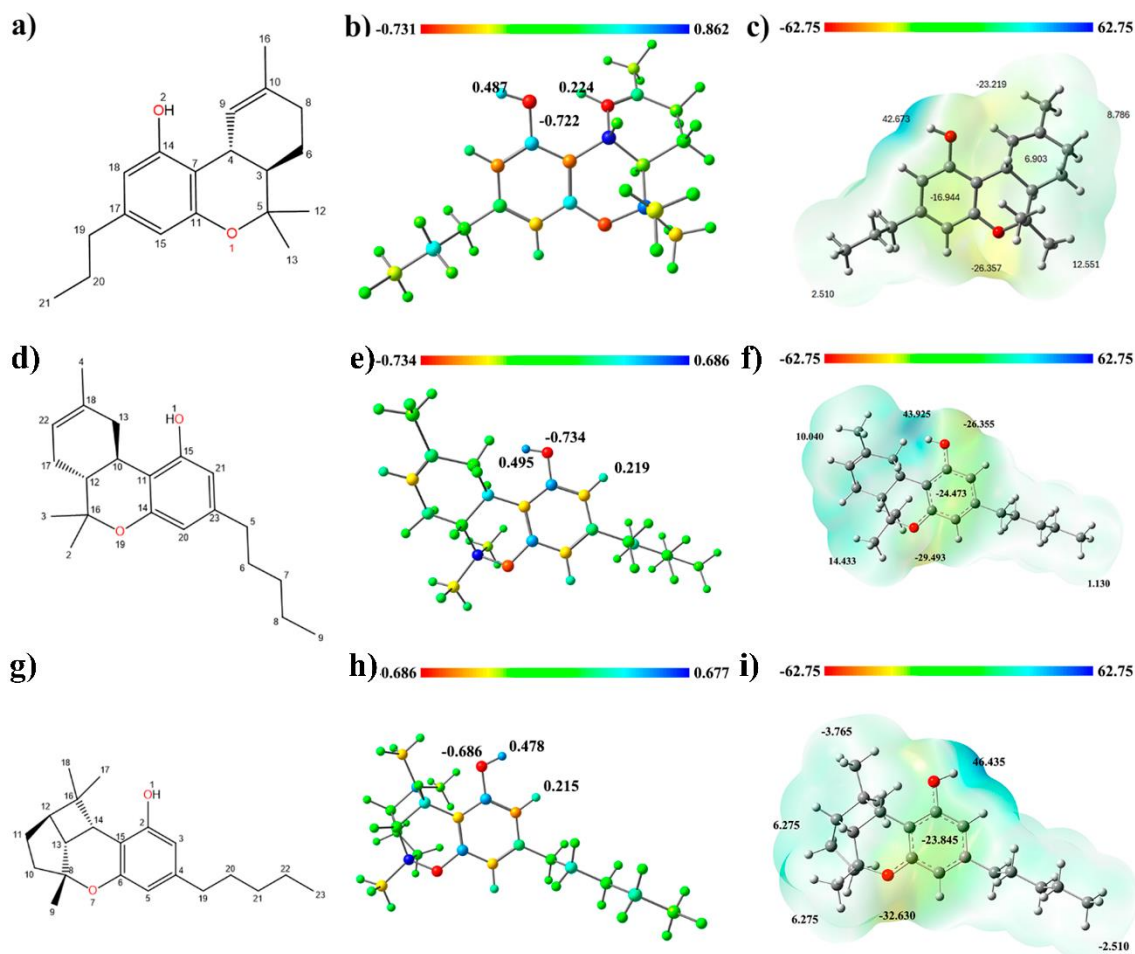


Figura 22. Moléculas THCv, Δ^8 -THC e CBL: (a, d, g) Estruturas 2D; (b, e, h) mapa de distribuição de cargas do tipo ChelpG (valores em u.a.); (c, f, i) mapa de potencial eletrostático, valores em kcal/mol.

Os heteroátomos localizados no grupo funcional hidroxila das moléculas canabinoides destacam-se como os centros com maior carga negativa. Os átomos de oxigênio O2, O1 e O4 constituem os centros com maior carga negativa (-0,72 u.a., -0,73 u.a. e -0,69 u.a.), THCv, Δ^8 -THC e CBL respectivamente.

Para o MEP (Figura 22) destes compostos observamos que a região da cadeia alifática apresenta densidade eletrônica intermediária nas moléculas, 2,51 kcal/mol, 1,13 kcal/mol e -2,51 kcal/mol. As regiões dos grupos metilas seguem o observado para as regiões alifáticas apresentando baixa densidade eletrônica e maior potencial aceptor, 12,55 kcal/mol, 14,43 kcal/mol e 6,28 kcal/mol. Destaca-se neste grupo a molécula do THCv, no qual a região com maior potencial de interação condiz com a região de menor densidade eletrônica indicando que a região da hidroxila apresenta tendência para interações de hidrogênio mais forte que a região do grupo dimetilpirano.

Apesar do observado para estes três ligantes, observou-se exceção para a molécula de

CBDA, cuja região de maior densidade eletrônica se encontra sobre o átomo de oxigênio localizado no grupo ácido carboxílico, -40,79 kcal/mol. A região com maior potencial de interação no CBDA seria a região de maior densidade eletrônica. As demais moléculas dos canabinoides seguiram a tendência de localização de densidade eletrônica e tendência de regiões com potenciais de interação descritas para a molécula do THCv.

A Figura 23 apresenta o perfil de energia dos orbitais moleculares para as moléculas canabinoides (valores utilizados estão disponibilizados nas Tabelas 9 e 10, Apêndice). O grupo dos canabinoides apresentaram o maior intervalo entre os orbitais HOMO-6 a LUMO+6, variando de -204,12 kcal/mol a 14,31 kcal/mol, com a molécula CBG apresentando o orbital HOMO-6 com maior energia.

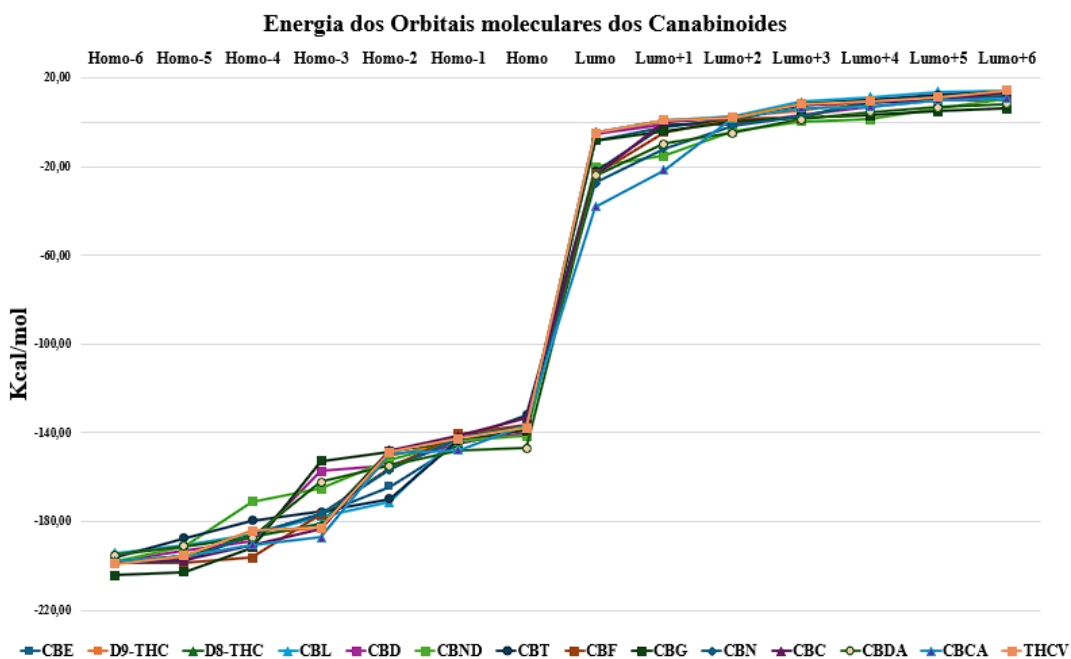


Figura 23. Distribuição de energia dos orbitais moleculares (HOMO-6 a LUMO+6) calculados para os canabinoides.

Com relação aos orbitais de fronteira, as moléculas do grupo do canabinoides apresentaram a tendência de energia em torno de -137,97 kcal/mol para o orbital de fronteira HOMO, no qual observamos a exceção para a molécula CBDA apresentando, -146,81 kcal/mol. Este dado corrobora para o agrupamento do CBDA no grupo 1 da PCA, indicando que, neste caso, o descritor relacionado ao orbital HOMO possibilita a dispersão das moléculas.

O orbital de fronteira LUMO apresentou maior variação de energia em comparação ao orbital HOMO, -37,98 kcal/mol a -4,42 kcal/mol. A tendência observada no orbital LUMO pelos canabinoides Δ^9 -THC, Δ^8 -THC, CBL, CBD, CBND e THCv é similar a energia

observada pelos endocanabinoides. Indicado que o orbital LUMO converge para a formação do grupo 2, grupo dos canabinoides, com aproximação das moléculas endocanabinoides. Entretanto, propicia a divergência com o grupo 3, grupo dos análogos de canabinoides.

O gap calculado para o grupo dos canabinoides varia entre 98,60 kcal/mol e 134,71 kcal/mol, CBCA e CBD. A Figura 24 apresenta a localização dos orbitais HOMO e LUMO nas moléculas THCV, Δ^8 -THC e CBL.

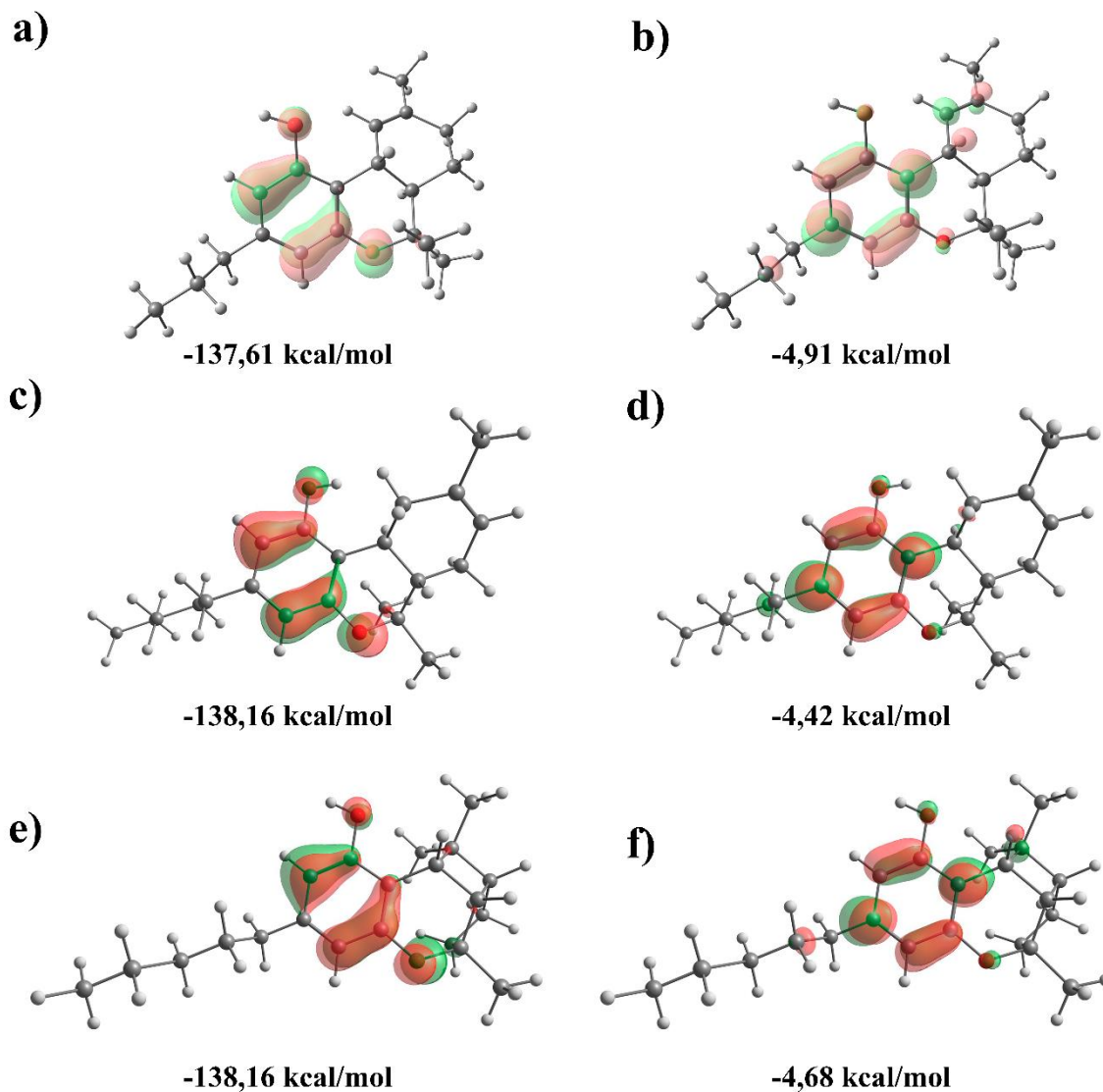


Figura 24. Distribuição dos orbitais moleculares das moléculas THCV, Δ^8 -THC e CBL: (a, c, e) HOMO, e (b, d, f) LUMO.

Para cada molécula mostrada na Figura 24, os orbitais HOMO e LUMO encontram-se em regiões diferentes, mas todos no centro da molécula. Entretanto, o THCV, Δ^8 -THC e CBL apresentam a localização do orbital HOMO no grupo resorcinol e do orbital LUMO sobre os grupos isoprenil e resorcinol. Os orbitais de fronteira para as demais moléculas canabinoides

segue a tendência observada para as moléculas THCV, Δ^8 -THC e CBL indicando um fator de convergência para o grupo.

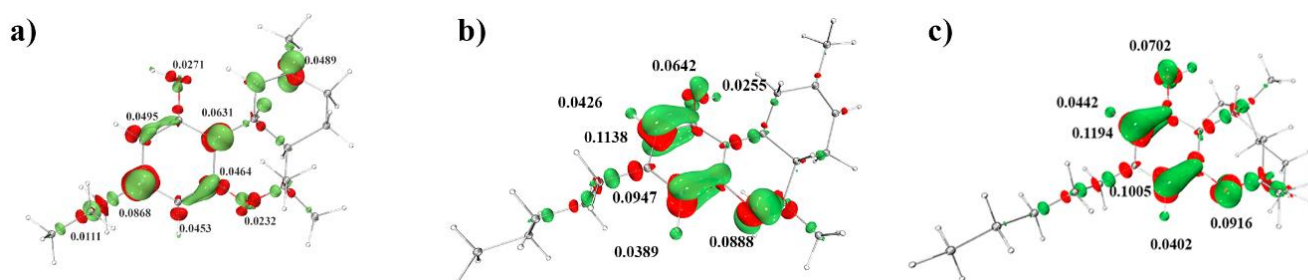


Figura 25. Representação dos índices de Fukui f^- com seus respectivos valores de CDFT em u.a. para as moléculas THCV (a), Δ^8 -THC (b) e CBL (c).

Os índices de Fukui relacionados com a função f^- dos canabinoides, Figura 25, apresentaram a sucessibilidade de ataque eletrofílico sobre o grupo resorcinol, assim como nos grupos de isobutano e hidroxila com ressalva para as funções ácido carboxílico em moléculas ácidas. As cadeias alifáticas dos canabinoides CBC, CBG, CBCA apresentaram sucessibilidade para ataques eletrofílicos como observado para o endocanabinoide 2-AG.

5.1.4 Análogos do CBG

Observamos uma pequena divisão estrutural, formando três grupos dentro dos análogos de CBG (ver Figura 8). Os três grupos apresentam nas suas moléculas estruturas de grupos benzeno-1,3-diol, (*Z*)-3-Methyl-5,6-dihydro-2*H*-1-benzoxocin-7-ol e 1a-methyl-1a,6b-dihydro-1*H*-cyclopropa[*b*]benzofuran-6-ol. Apesar, destas diferenças os resultados observados no estudo de PCA indicaram semelhanças nas moléculas estudadas.

Selecionamos os representantes radulanina I e radulanina I B para estudar a tendência observada no grupo dos análogos de CBG em relação as cargas atômicas e MEP (Figura 26). O grupo apresenta moléculas com a maioria dos átomos com carga neutra com contribuição do grupo etilbenzeno e estireno, esta característica colaboram para o potencial apolar da molécula no grupo assim como a tendência hidrofóbica como observada para os canabinoides.

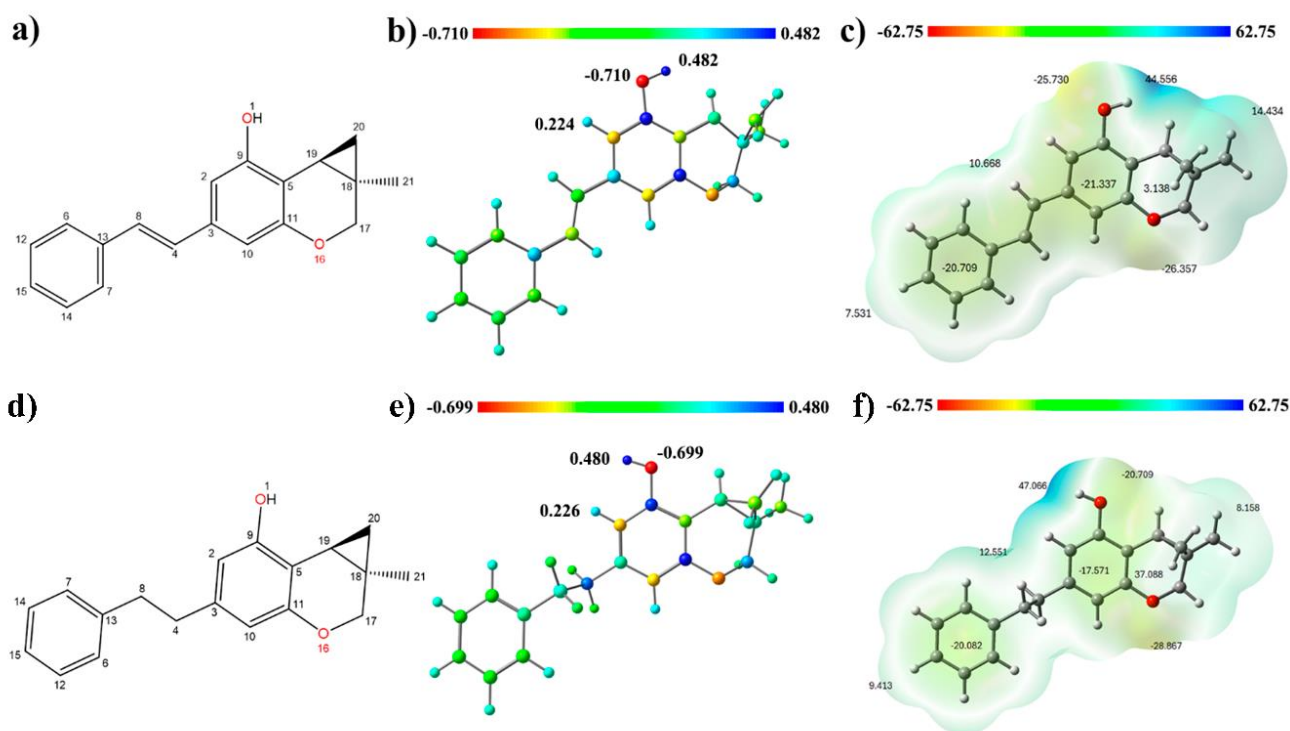


Figura 26. Moléculas radulanina I e radulanina I B: (a, d) estruturas 2D, (b, e) mapa de distribuição de cargas do tipo ChelpG (valores em u.a.), (c, f) mapa de potencial eletrostático, valores em kcal/mol.

A radulanina I e radulanina I B tem no heteroátomo O1 a maior carga, $-0,70$ u.a. e $-0,71$ u.a., e nos átomos de hidrogênios mais próximos do átomo O1 correspondem aos hidrogênios com maior carga, estes átomos estão localizados nos grupos fenólicos. O CBG será considerado como a molécula canabinoide de referência para este grupo. Um ponto interessante é que o heteroátomo de maior carga da molécula de CBG, de $-0,66$ u.a., tem menor carga que a média dos heteroátomos de maior carga das moléculas do grupo.

As moléculas radulaninas I e radulaninas I B apresentam as regiões com menor densidade eletrônica. Provavelmente, o efeito de ressonância afeta a densidade eletrônica da molécula, diminuindo da densidade presente no grupo hidroxila de respectivamente $47,07$ kcal/mol para $44,56$ kcal/mol. A maior parte das demais moléculas dos análogos de CBG apresentam perfil semelhante ao encontrado na radulanina I e radulanina I B.

Entretanto, a região com maior e menor densidade eletrônica nas moléculas de araphyn-1 e glepidotin C contrastam ao observado para a radulanina I e radulanina I B. Estando ambas as regiões localizadas nos grupos hidroxila. De forma geral, os análogos de canabinoides apresentaram perfil de densidade eletrônica com duas regiões propícias para a realização de ligações de hidrogênio, similar ao CP55940 e as canabinoides, contribuindo para a

convergência dos grupos. A Figura 27 apresenta as energias dos orbitais moleculares para as moléculas análogas de CBG, os valores utilizados estão disponibilizados nas Tabelas 9 e 10 do Apêndice.

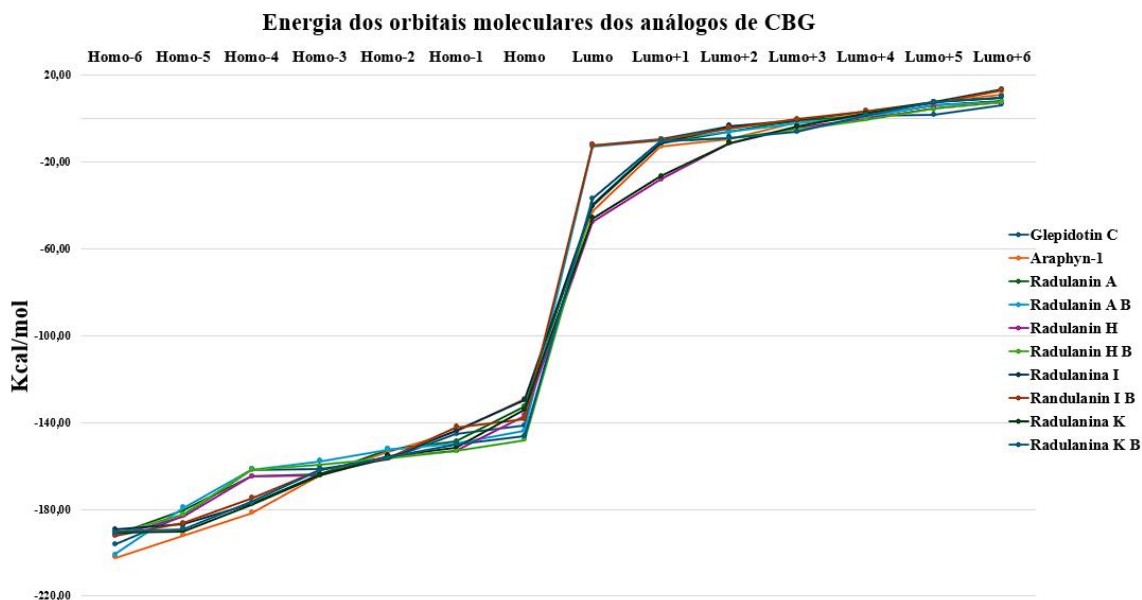


Figura 27. Distribuição de energia dos orbitais moleculares (HOMO-6 a LUMO+6) calculados para os análogos do canabigerol.

A energia dos orbitais no intervalo entre os orbitais HOMO-6 a LUMO+6, varia de -202,42 kcal/mol a 13,49 kcal/mol, enquanto que, o CBG apresenta uma variação de -204,12 a 6,14 kcal/mol. Mas, excluindo o LUMO, neste grupo cada orbital molecular apresenta uma variação de no máximo aproximadamente 10 kcal/mol. Deste grupo, a molécula araphyn-1 apresentou o orbital HOMO-6 com menor energia -202,42 kcal/mol. O orbital de fronteira HOMO para o grupo apresentou a variação de 10 kcal/mol em relação ao orbital HOMO da molécula CBG, -139,07 kcal/mol, indicando que os orbitais HOMO dos análogos possuem pouca variação em relação a molécula de referência. Esta pequena variação no orbital HOMO contribuiu para a convergência das moléculas canabinoides e análogas, grupo 2 e 3, no eixo da PC2 assim como a divergência dos análogos de canabinoides e ligantes de referência, grupo 3 e 4, no eixo da PC1.

O orbital de fronteira LUMO apresentou maior variação de energia em comparação ao orbital HOMO, -47,63 kcal/mol a -12,50 kcal/mol. As variações de energia observados para os análogos de CBG seguem a mesma tendência observada para o grupo dos canabinoides. Observamos que está variação contribuiu para a classificação da radulanina K como um canabinoide, ou seja, grupo 2.

O gap calculado para os análogos de CBG variou entre 86,47 kcal/mol e 131,27

kcal/mol, para as moléculas araphyn-1 e radulanina A B, respectivamente. Este baixo valor de gap sugere que as moléculas desta classe apresentam a maior reatividade entre as moléculas estudadas e maior reatividade que a molécula CBG, 130,92 kcal/mol. A Figura 28 apresenta a localização dos orbitais HOMO e LUMO nas moléculas radulanina I e radulanina I B.

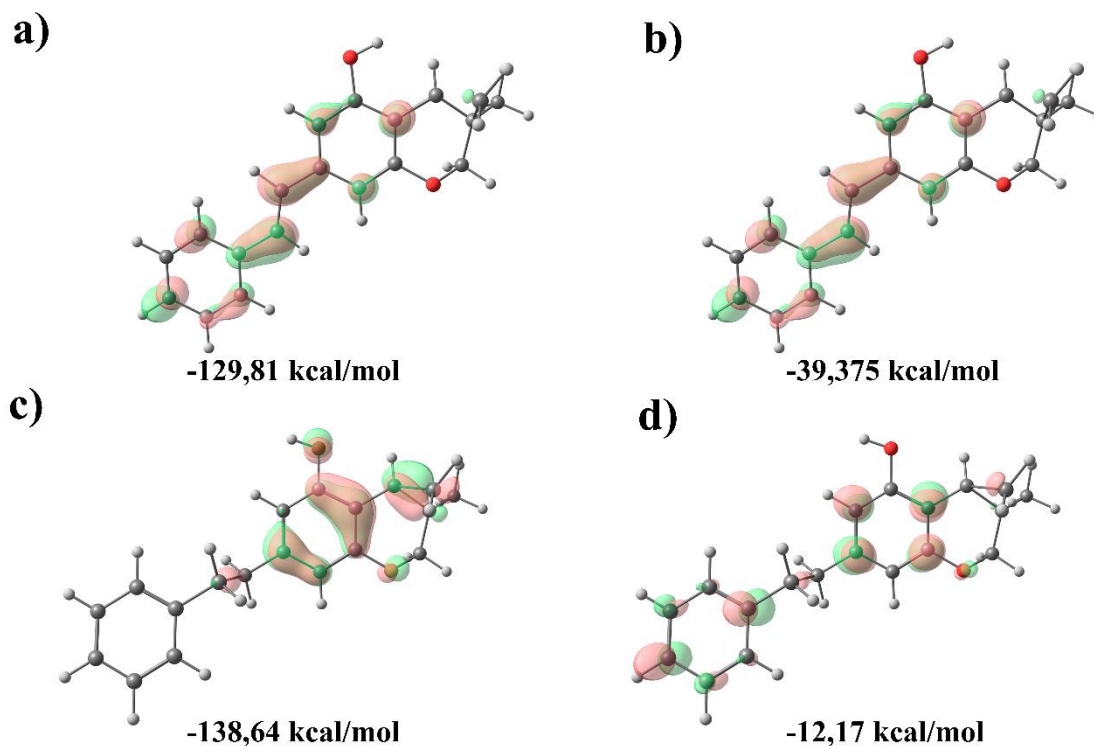


Figura 28. Moléculas radulanina I e radulanina I B, distribuição dos orbitais moleculares: (a, c) HOMO, e (b, d) LUMO.

Na radulanina I e radulanina I B, a localização do orbital HOMO e LUMO se complementam, com pequenas variações.

Os estudos dos índices de Fukui, Figura 29, indicam que a ressonância presente nos anéis aumenta a tendência de ataques eletrofílicos. Observamos que tendência de reatividade aumentava correspondente a ressonância nas moléculas.

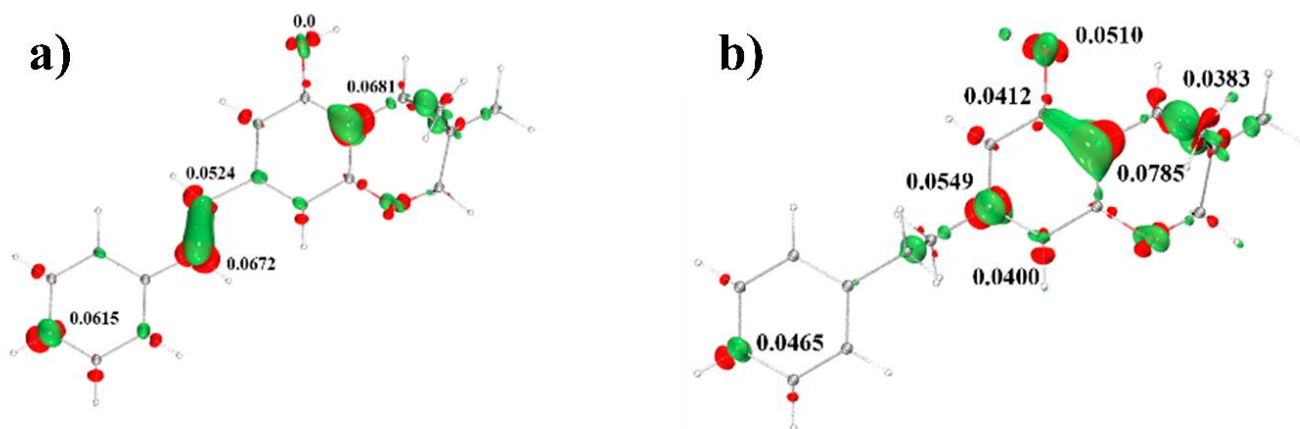


Figura 29. Representação dos índices de Fukui f^- com seus respectivos valores de CDFT em u.a. para as moléculas radulanina I (a) e radulanina I B (b).

A função f^- da radulanina I demonstrou a baixa sucessibilidade da molécula para ataques eletrofílicos. As principais regiões suscetíveis estão localizadas nos átomos C4, C5, C8 e C15, 0,0524 u.a., 0,0681 u.a., 0,0672 u.a. e 0,0615 u.a. Análogos de CBC

5.1.5 Análogos do CBC

As duas moléculas que compõem o grupo de análogos do CBC (Figura 30) compartilham semelhanças de propriedades com a molécula canabinoide CBC, por apresentarem o grupo metilcromeno em suas estruturas.

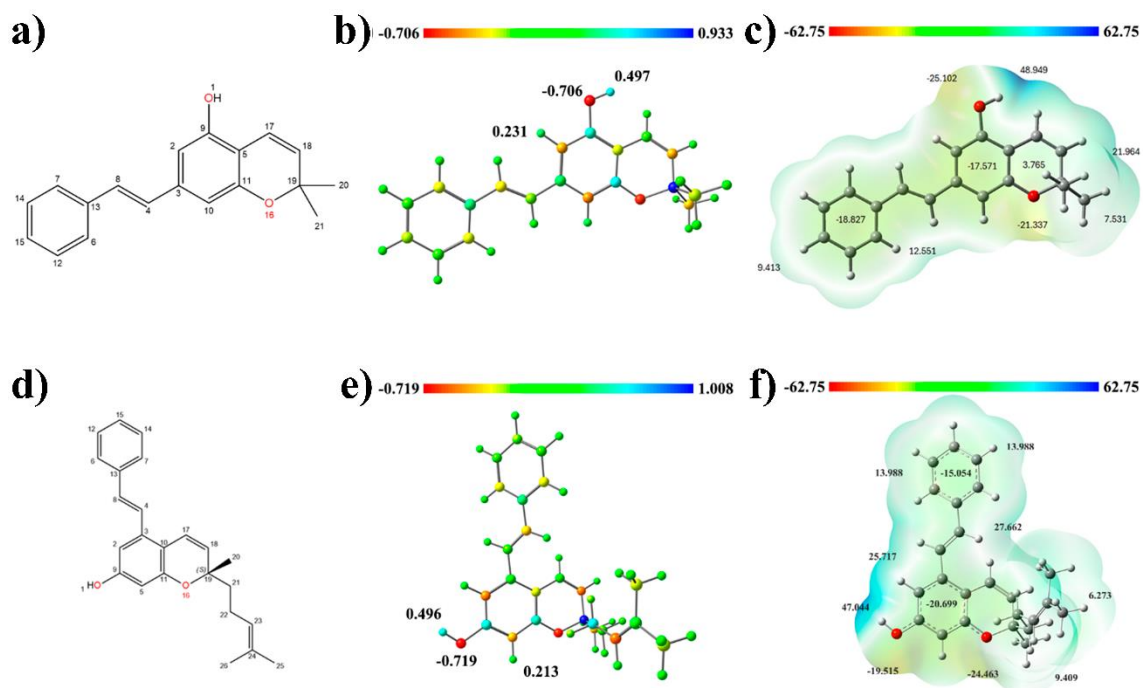


Figura 30. Moléculas 69a e 70b: (a, d) Estruturas 2D, (b, e) mapa de distribuição de cargas do tipo ChelpG (valores em u.a.), (c, f) mapa de potencial eletrostático. Valores em kcal/mol.

Assim como os outros grupos, as moléculas 69a e 70b apresentam a maior parte com carga neutra (Figura 30), evidenciando a característica hidrofóbica. Os hidrogênios com maiores cargas na molécula 69a e 70b estão localizados nos grupos hidroxila e cromeno apresentando cargas similares em ambas as moléculas. A diferença estrutural destas moléculas não altera o perfil eletrônico do grupo. Os resultados indicam que as semelhanças observadas nos parâmetros eletrônicos assemelham os análogos de CBC com o CBC, e conseqüentemente, com o perfil dos canabinoide, como observado para os outros análogos.

De acordo com o MEP, a região do oxigênio do grupo hidroxila apresenta alta densidade eletrônica, superior a região do oxigênio do grupo cromeno para a molécula 69A, -25,10 kcal/mol e -21,34 kcal/mol. Este comportamento é invertido na molécula 70b, -19,52 kcal/mol e -24,46 kcal/mol.

Assim como o observado para os outros análogos, os análogos de CBC seguem o perfil de densidade eletrônica com duas regiões com alta densidade eletrônica, similar ao grupo dos canabinoides. A Figura 31 apresenta as energias dos orbitais moleculares para os análogos de CBC, os valores utilizados estão disponibilizados na Tabela 10 do Apêndice.

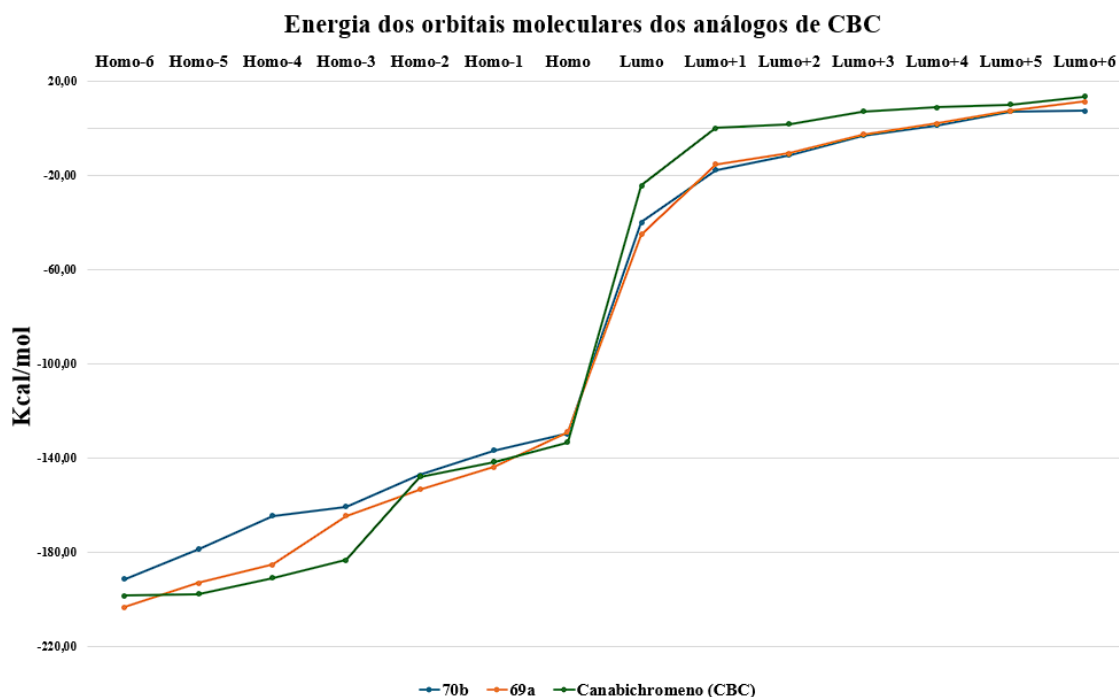


Figura 31. Distribuição de energia dos orbitais moleculares (HOMO-6 a LUMO+6) calculados para os análogos do canabichromeno.

O grupo dos análogos de CBC apresentaram o intervalo entre os orbitais HOMO-6 a LUMO+6, variando de -203,21 kcal/mol a 11,49 kcal/mol. O orbital de fronteira HOMO dos análogos de CBC apresentou a tendência de energia similar ao observado para o CBC (HOMO=-133,17 kcal/mol e LUMO=-24,06 kcal/mol), enquanto o orbital LUMO apresentou menor energia que o encontrado no CBC. Assim, o gap (Δ_{FOM}) dos análogos, 89,59 (70b) e 84,07 (69a) kcal/mol, é menor que o observado para o CBC, de 109,11 kcal/mol. Indicando que os análogos de CBC apresentam maior reatividade que o CBC. A Figura 32 apresenta a localização dos orbitais HOMO e LUMO nas moléculas 69a e 70b.

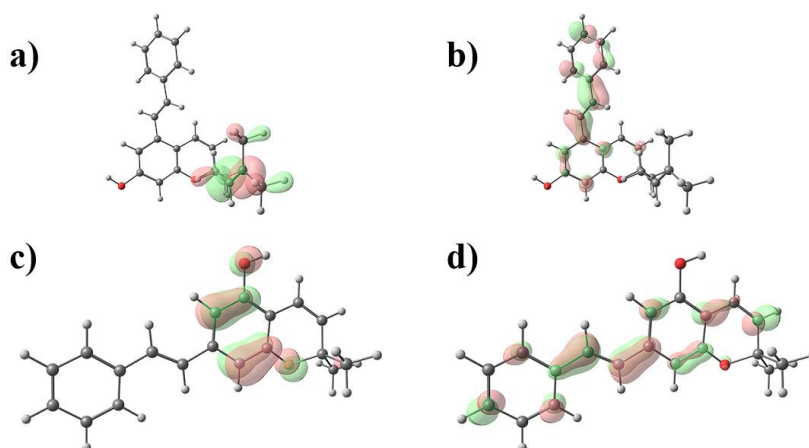


Figura 32. Moléculas 69a e 70b, distribuição dos orbitais moleculares: (a, c) HOMO, e (b, d) LUMO.

Novamente, os orbitais se complementam em sua maior parte, no 69a e 70b. O orbital HOMO na molécula 69A está localizado na cadeia alifática e no grupo cromeno para a molécula 70b. A localização do orbital HOMO da molécula CBC se assemelha ao observado para a molécula 70b.

A função f^- da molécula 69a demonstrou alta suscetibilidade de ataque eletrofilico no dihidropirano no átomo C10, 0,0693 u.a. (Figura 33). Para a função f^- da molécula 70b, uma baixa suscetibilidade de ataque eletrofilico está localizada na função difeniletano com a região no átomo C15, 0,0405 u.a. Observamos que o átomo O1 e C18 apresentam alta suscetibilidade, 0,542 u.a. e 0,0771 u.a. com a região do C18 com a maior reatividade. Os análogos de CBC, seguem o observado para os análogos de CBG, onde o perfil eletronegativo diverge estas moléculas dos canabinoides.

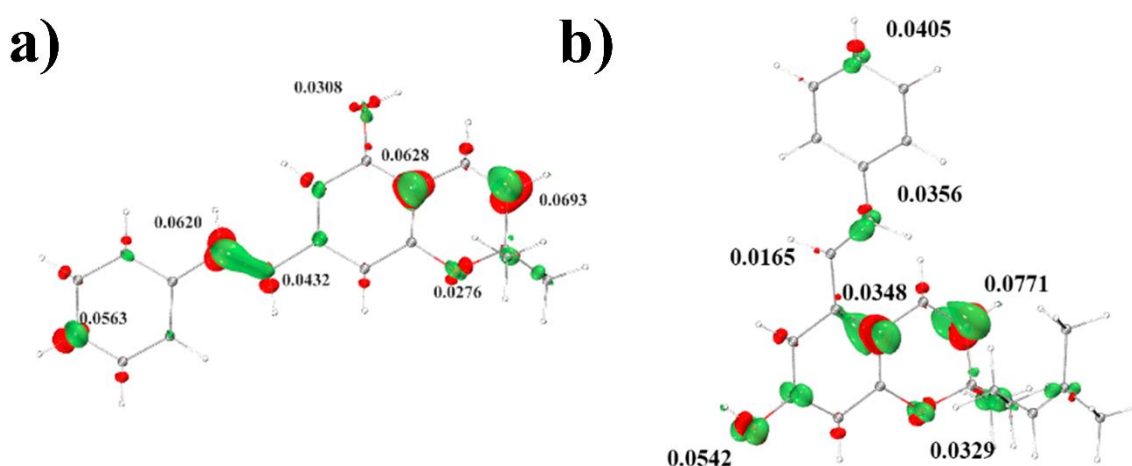


Figura 33. Representação dos índices de Fukui f^- com seus respectivos valores de CDF em u.a. para as moléculas 69a (a) e 70b (b).

5.1.6 Supostos canabinoides

Os supostos canabinoides apresentam a função dihidroxi-metilcromanona com as ramificações diferente para o grupo das desmodianonas X e desmodianonas X B (X= A, D, E), apresentados na Figura 8. Estas moléculas apresentam a maioria dos átomos com carga neutra, evidenciando o caráter hidrofílico. Selecionamos os representantes 6-metiltetrapterol A e desmodianona E para verificar a tendência observada no grupo dos supostos canabinoides. Os heteroátomos com maior carga observada nas estruturas corresponde ao oxigênio presente na função cetona com cargas respectivas de -0,74 u.a. e -0,75 u.a.

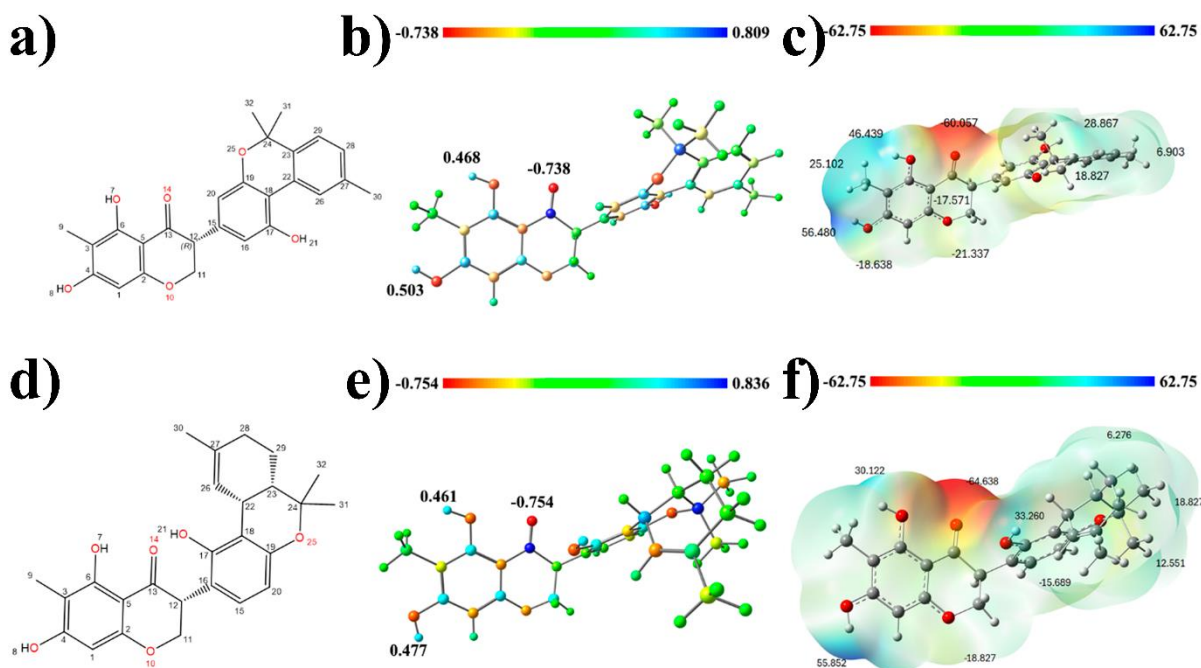


Figura 34. Moléculas 6-metiltrapterol A e desmodianona E: (a, d) Estruturas 2D, (b, e) mapa de distribuição de cargas do tipo ChelpG (valores em u.a.), (c, f) mapa de potencial eletrostático. Valores em kcal/mol.

Observamos que a carga dos hidrogênios polares e o descritor distância H-H nos supostos canabinoides são maiores que a observada nos canabinoides. Indicando regiões de interação mais distantes que os canabinoides, e, portanto, divergência no possível perfil farmacofórico.

Na análise do MEP, a região localizada no átomo de hidrogênio (H55), presente no grupo hidroxila, apresenta a menor densidade eletrônica no grupo dos supostos canabinoides. A molécula de 6-metiltrapterol A, Figura 34c, apresenta a menor densidade eletrônica na hidroxila, localizada na ramificação correspondente a molécula CBN e a desmodianona E no grupo dihidroxi-metilcromanona, Figura 34f. A intensidade apresentada na molécula 6-metiltrapterol A é superior que a apresentada na molécula desmodianona E, de 56,48 kcal/mol e 55,85 kcal/mol, respectivamente.

A presença do grupo dihidroxi-metilcromanona afeta de diferentes formas a densidade presente nos hidrogênios polares das ramificações similares aos canabinoides. Mostrando neste grupo uma região com baixa densidade, não encontrada nos outros grupos.

A Figura 35 apresenta as energias dos orbitais moleculares para as moléculas canabinoides, os valores utilizados estão disponibilizados na Tabela 10, ver Apêndice. O grupo dos supostos canabinoides apresentaram o intervalo entre os orbitais HOMO-6 a LUMO+6, variando de -187,03 kcal/mol a 9,26 kcal/mol. Observamos que os supostos canabinoides apresentam a energia do orbital HOMO similar com o canabinoide correspondente para a

ramificação em sua estrutura. Como exemplo, a energia do orbital HOMO do 6-metitetrapterol-A (-139,16 kcal/mol) apresentou similaridade com a energia do orbital HOMO do CBN, 137,01 kcal/mol.

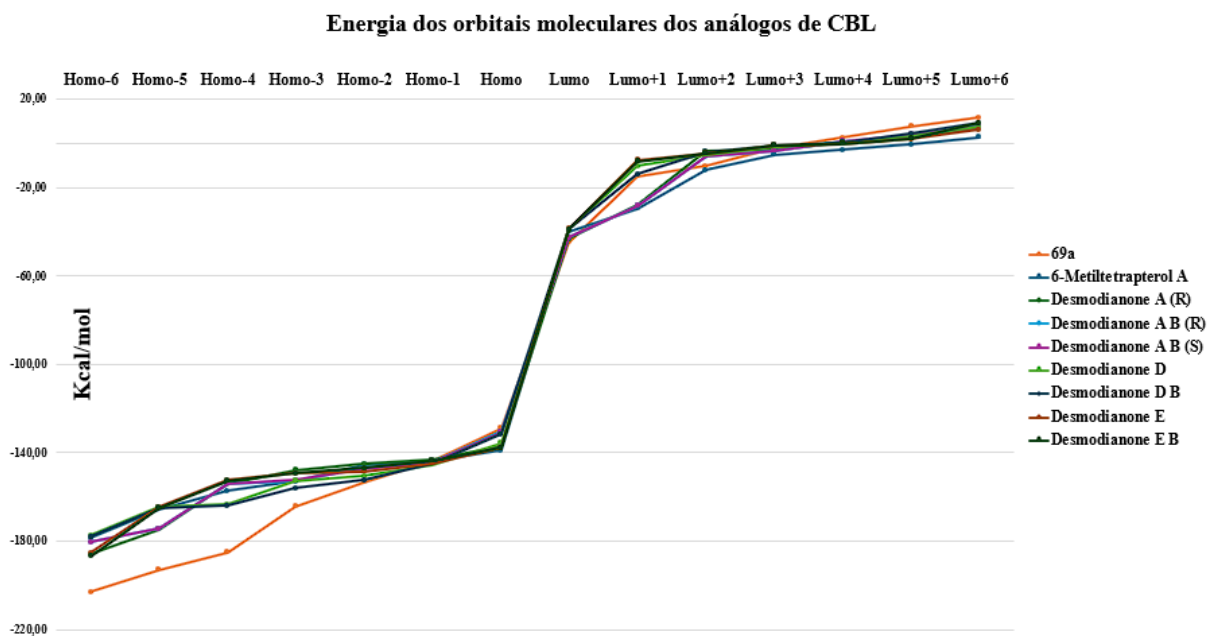


Figura 35. Distribuição de energia dos orbitais moleculares (HOMO-6 a LUMO+6) calculados para os supostos canabinoides.

A Figura 36 apresenta a localização dos orbitais HOMO e LUMO nas moléculas desmodianona E e 6-metitetrapterol-A.

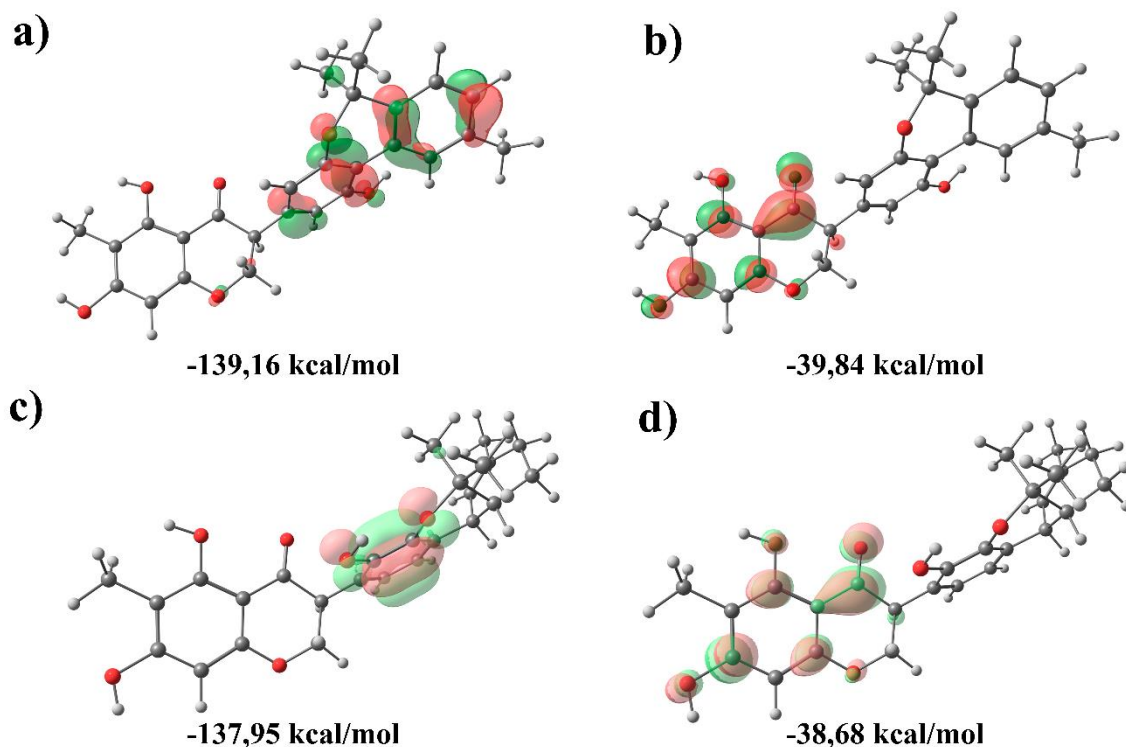


Figura 36. Moléculas 6-metiltrapterol A e desmodianona E, distribuição dos orbitais moleculares: (a, c) HOMO, e (b, d) LUMO.

As moléculas desmodianona E e 6-metiltrapterol-A apresentam a localização do orbital HOMO nas ramificações correspondente a estrutura canabinoide e a localização do orbital LUMO no grupo dihidroxi-metilcromanona. O 6-metiltrapterol-A que apresenta a estrutura CBN como ramificação tem a distribuição do orbital HOMO similar a distribuição do orbital LUMO no CBN. O mesmo comportamento foi observado para as desmodianonas. Sendo assim, percebemos o contraste de localização dos orbitais HOMO e LUMO entre estes dois grupos.

Os supostos canabinoides apresentaram suscetibilidade de ataque eletrofílico (Figura 37) nas ramificações representadas como R_1 (Figura 8). Não observamos similaridade nas tendências das funções de Fukui com os outros grupos. A forma f^- para a molécula 6-metiltrapterol apresenta maior suscetibilidade de ataque eletrofílico no átomo C28, 0,0499 u.a. assim como suscetibilidade nos átomos C16, C18 e C19, respectivamente 0,0409 u.a., 0,0483 u.a. e 0,0397 u.a.. A função f^- para a molécula desmodianona E demonstrou menor suscetibilidade de ataque eletrofílico na região do grupo dihidroxi-metilcromanona com a principal região no átomo C3, 0,0438 u.a.

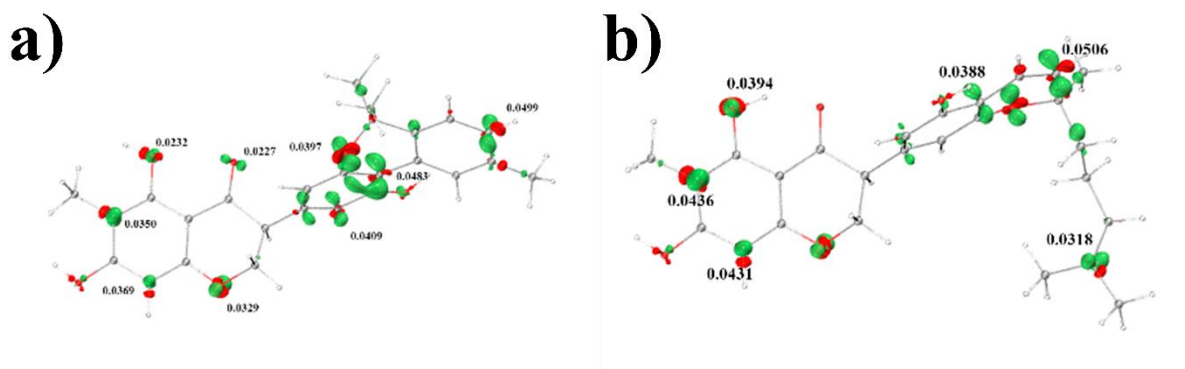


Figura 37. Representação dos índices de Fukui f^- com seus respectivos valores de CDFT em u.a. para as moléculas 6-metiltrapterol A (a) e desmodianona E (b).

5.2 Aspectos farmacocinéticos (ADMET)

As análises de ADMET foram conduzidas utilizando o software ADMET Lab 3.0. Os resultados obtidos estão apresentados em seis categorias para facilitar a análise: propriedades físico-químicas, absorção, distribuição, metabolismo, excreção e indicadores toxicológicos.

5.2.1 Tendência de absorção

A regra dos 5 de Lipinsky estipula que moléculas que possuam peso molecular (MW) inferior a 500,00 Da, logaritmo decimal do coeficiente de partição entre a fase octanol/água ($\log P$) inferior ou igual a 5,00, número de doadores de hidrogênio (nHD) menor ou igual 5 e número de aceptores de hidrogênio (nHA) menor ou igual 10 apresentam tendência de boa permeação e absorção¹³³. Embora seja uma estimativa bastante usada no desenvolvimento de novas moléculas com potencial atividade farmacológica, os descritores usados podem ser reavaliados. A Figura 38 apresenta a análise destas propriedades supracitadas com base na regra dos 5 de Lipinsky. Os dados da análise estão disponíveis nas Tabelas 11 e 12.

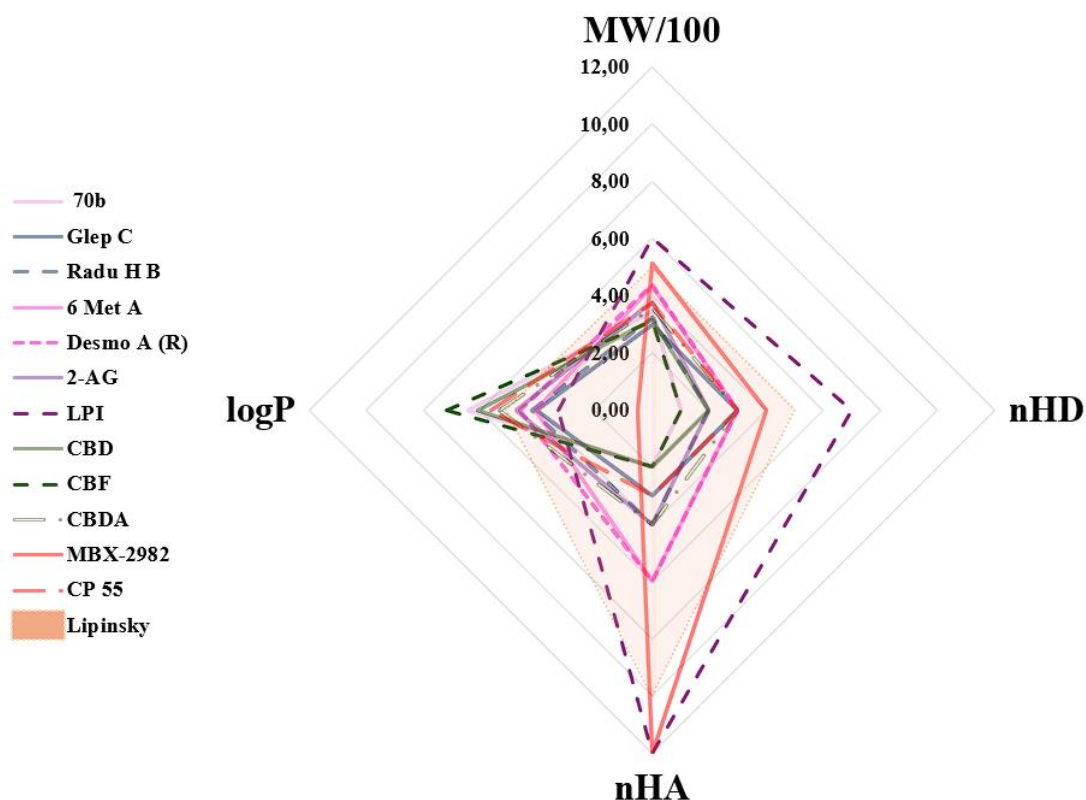


Figura 38. Representação das propriedades do nHD, nHA, peso molecular dividido por 100 e logP para representantes dos grupos estudados com os limites da regra de Lipinsky hachurado.

Os grupos dos canabinoides, análogos de CBC, análogos de CBG, supostos canabinoides, endocanabinoides e ligantes de referência apresentaram a tendência de não violação da regra de Lipinsky para as propriedades MW, nHD e nHA. Desta forma, apresentaram tendência de peso molecular inferior a 500,00 Da, nHD inferior a 4 e nHA inferior a 8. Observamos que os grupos apresentaram a tendência de maior de nHA que nHD.

O grupo dos ligantes de referência e análogos de CBC, correspondem ao grupo com maior e menor quantidade de nHA. Para os nHD, as moléculas do grupo dos endocanabinoides apresentaram a maior quantidade de doadores, enquanto as moléculas dos análogos de CBC a menor quantidades de doadores.

A molécula MBX2982 apresentou a violação do MW de 515,23 Da e nHA igual a 12. Observamos que este ligante tem como objetivo farmacológico a ação no trato gastrointestinal com interação com o receptor GPR119, portanto não possui a necessidade de absorção pelo sistema gastrointestinal, com ênfase para a baixa tendência de absorção pela via gastrointestinal. Sendo assim, a violação das regras não altera a possibilidade de interação com o alvo desejado.

A molécula LPI apresentou a violação da MW de 600,33 Da, nHD igual a 7 e nHA igual a 12. Estas características não são impeditivas para a função fisiológica do LPI considerando

que os endocanabinoides não apresentam a necessidade de absorção por definição. As outras moléculas não apresentaram violação da regra de Lipinsky para o número de doadores e aceptores de hidrogênio.

Os grupos dos análogos de CBC e Canabinoides violam o Log P indicando alta lipofilicidade, 6,03 e 6,12, respectivamente. Os resultados corroboram com o descrito para a má absorção do CBD presente em extratos e formulações convencionais ¹⁹⁶. Desta forma, moléculas destes grupos necessitam, em caso de administração, de formulações em nanoescala como nano emulsão, micelas e complexação para aumento de absorção e concomitante uso de menor doses ¹⁹⁷.

Todas as moléculas estudadas compartilham da tendência de maior pKa em meio ácido quando comparado com o pKa em meio básico. Em média, os valores de pKa seguiram a tendência: análogos de CBC (10,38), supostos canabinoides (9,42), canabinoides (8,85), ligantes de referência (8,41), análogos de CBG (7,47) e endocanabinoides (6,68). Esta característica indica que elas apresentaram a forma ionizada em meio ácido. Desta forma, infere-se que estas moléculas possuem a maior tendência de absorção em regiões da mucosa no intestino delgado, ambientes que apresentam o pH básico¹⁹⁸.

5.2.2 Propriedades de distribuição

Os grupos apresentaram tendência de ligação as proteínas plasmáticas superior a 85,00% para todos os grupos. A tendência de PPB segue a ordem: análogos de CBC (98,16%), canabinoides (97,98%), análogos de CBG (97,76%), supostos canabinoides (97,18%), endocanabinoides (96,24%) e ligantes de referência (85,69%), Tabelas 11 e 12 (ver apêndice).

A fração livre (Fu), corresponde ao inverso da tendência de interação com as proteínas plasmáticas, as moléculas de todos os grupos apresentaram baixa fração livre, com $F_u < 5,00\%$, corroborando para o encontrado para o THC em testes *in vivo* ¹⁹⁹. O ligante MBX2982 foi o único ligante que apresentou a tendência de estar com maior fração livre no plasma, PPB de 61,76% e Fu de 36,08%.

A alta tendência de PPB observada para os grupos indica que o mecanismo de distribuição ocorre pelo plasma por meio da interação com a albumina. A baixa tendência de fração livre diminui a interação *off-target* no plasma em concentração terapêutica. Indicando que seria necessário alta concentração destas moléculas para saturação das proteínas plasmáticas e subsequente interação com os alvos de interesse.

Os grupos dos análogos de CBC e canabinoides apresentaram a tendência de passagem da barreira hematoencefálica, BBB superior a 50,00%. Os outros grupos apresentaram baixa

tendência de passagem da barreira hematoencefálica, BBB inferior a 50,00%. A passagem da barreira hematoencefálica é uma característica primordial para a interação dos canabinoides com os receptores CB₁ e CB₂ em neurônios induzido efeitos antinociceptivo²⁰⁰.

O logaritmo do volume de distribuição no estado de equilíbrio (logVD_{ss}) indica que as moléculas dos grupos dos canabinoides e CP55940 apresentaram o volume de distribuição superior a 2,81 L/kg indicando a tendência de maior distribuição em tecidos. Observando a característica de similaridade com lipídeos das moléculas estudadas, os resultados indicam a deposição dos canabinoides em células com alta taxa de lipídeos como adipócitos, concordando com o observado para a molécula do CBD e Δ⁹-THC²⁰¹.

Os supostos canabinoides, análogos de CBG, análogos de CBC e as moléculas MBX2982 e AR 231453 apresentam baixa tendência de distribuição em tecidos com volume de distribuição inferior a 2,81 l/kg, e logVD_{ss} inferior a 0,45. Os endocanabinoides apresentaram a tendência de distribuição inferior a 0,71 L/kg indicando a tendência de permanecer no plasma sem a distribuição para tecidos ou deposição em células, logVD_{ss} inferior a -0,15.

O perfil de distribuição sugere a tendência das moléculas estudadas para o transporte no plasma por meio de albumina com baixa fração livre. A tendência de distribuição em tecidos é maior nos canabinoides em relação aos outros grupos.

5.2.3 Propriedades de metabolismos

As moléculas da classe dos canabinoides, dos ligantes de referência, dos endocanabinoides e os análogos de CBG apresentaram tendência de ação metabólica pela CYP2C9. As moléculas apresentam a tendência de metabolismo hepático com alta probabilidade de sofrerem efeito de primeira passagem devido a sua natureza lipofílica²⁰². Os análogos de CBC e supostos canabinoides apresentaram baixa tendência de metabolização pela CYP2C9, Tabelas 11 e 12 (ver apêndice).

Os canabinoides apresentaram tendência de inibição das CYP2C8 e CYP2B6. A CYP2B6 possui alto envolvimento na degradação de opioides, anti-inflamatórios e psicotrópicos utilizados para o controle de dor²⁰³. Desta forma, os canabinoides apresentam a tendência de contribuir para o controle de dor crônica mediante o prolongamento do efeito farmacológico de medicamentos.

A CYP2C8 é responsável pela degradação de quimioterápicos assim como anti-inflamatórios²⁰⁴, a tendência de inibição desta isoforma da enzima CYP sugere a possibilidade de interferência em esquemas terapêuticos e aumento de reações adversas medicamentosas

(RAM) como síndrome de Steve Johnson, prurido e rubor. Entretanto, a utilização de canabinoides em tratamentos quimioterápicos são benéficas pelo combate das reações adversas medicamentosas (RAM) de náusea, vômito e falta de apetite²⁰⁵. Os análogos de CBC, análogos de CBG, endocanabinoides e supostos canabinoides seguem a tendência apresentada para o grupo dos canabinoides. Os ligantes de referência apresentaram baixa tendência de inibição da CYP2C8 e CYP2B6.

5.2.4 Indicadores toxicológicos

Todas as moléculas estudadas apresentaram tendência elevada para sensibilidade cutânea (*SkinSen*) hepatotóxico (H-HT) e toxicidade respiratória (Respiratório) superiores a 70% (dados nas Tabelas 13 e 14). Os análogos de CBC, análogos de CBG, supostos canabinoides e endocanabinoides apresentaram tendência de perfil indutor de manifestações cutâneas. Destaca-se a molécula araphyn-1 que apresentou 99,00% de chance de sensibilização cutânea. A tendência de “rash” cutâneo destes grupos é relatada como uma RAM rara para usuários de CBD apesar de ter apresentado apenas 40,30 % de *SkinSen*²⁰⁶. As estruturas dos grupos com alta valor de *SkinSen* podem diminuir a raridade de reações adversas cutâneas.

Os grupos análogos de CBC, análogos de CBG, supostos canabinoides e os ligantes de referência apresentaram tendência de perfil hepatotóxico. Dentre as moléculas estudadas a molécula AR231453 apresentou o maior potencial hepatotóxico (94,70%). Os endocanabinoides e canabinoides tenderam a apresentar baixo potencial hepatotóxico. Os estudos indicam que o canabidiol apresenta 79,80 % de potencial hepatotóxico, o que correlaciona com a compreensão de que a elevação de enzimas hepáticas seja classificada como reação adversa comum²⁰⁷.

Os análogos de CBC, supostos canabinoides, canabinoides e os ligantes de referência apresentaram potencial para toxicidade respiratória. Dentre os grupos os canabinoides apresentaram o maior potencial para toxicidade respiratória, 93,00%. Observamos que a molécula CBG apresentou o maior potencial para toxicidade respiratória. Entretanto, não foram encontrados relatos de sintomas ou efeitos deletérios desta natureza, apenas encontramos que o CBG modula positivamente células do sistema imune no pulmão²⁰⁸.

Os grupos estudados apresentaram potencial carcinogênico inferior a 45,00%. Apenas o grupo dos supostos canabinoides apresentou 73,00% de potencial carcinogênico. A molécula AR231453 se destacou por apresentar potencial carcinogênico de 82,00%. Desta forma, observamos uma tendência baixa de carcinogenicidade nas moléculas estudadas.

Os perfis de hematotoxicidade, nefrotoxicidade, neurotoxicidade e ototoxicidade

apresentam relativa segurança das moléculas estudadas. Apenas a molécula MBX2982 apresentou tendências superiores a 70,00% para as propriedades ototoxicidade e nefrotoxicidade.

Todas as moléculas apresentaram baixa tendência de interação *off target*, promiscuidade inferior a 25,00%. A reatividade das moléculas indica baixa tendência de interações do tipo covalente, entretanto o grupo dos análogos de CBC apresentaram tendência de reatividade superior a 70,00%.

Por fim, o indicador de dose diária máxima recomendada pelo FDA (FDAMDD) sugere que os grupos análogos de CBC, supostos canabinoides e ligantes de referência indicam que dose diária necessária seria próxima do limite diário recomendado, FDMMD maior que 70,00%. Caso posteriormente estudadas, essas classes precisariam de estudos pré-clínicos que aperfeiçoassem a dose máxima e dose letal (LD). Entretanto, o CBD apresentou FDAMDD de 82,1% estando entre as 10 moléculas com maior FDAMDD, porém os relatos clínicos demonstram que doses diárias de até 1000 mg/dia são utilizadas com tolerância²⁰⁹. Indicando que os dados deste estudo devem ser levados para averiguação de testes *in-vitro* e posteriormente *in-vivo*.

5.3 Proteínas

5.3.1 Validação das estruturas modeladas e análise por BLAST

As estruturas das proteínas utilizadas no estudo foram modeladas a partir do software SWISS-MODEL. Para modelagem das estruturas utilizamos como referência as estruturas cristalográficas disponibilizados no PDB, sendo os receptores CB₁, CB₂, GPR119 e GPR55 modelados com base nas estruturas cristalográficas depositadas sob os códigos PDB 6KQI, 8GUR, 7WCM e 8ZX4, respectivamente. O receptor GPR18 não apresenta estrutura cristalográfica, desta forma utilizamos o modelo disponibilizado pelo Alphafold.

A Tabela 5 apresenta a relação da quantidade de resíduos em relação a todos os resíduos da proteína em percentual. Observamos que todas as estruturas possuem maior quantidade de resíduos apolares em relação a resíduos polares. As estruturas apresentam maior quantidade de resíduos polares com carga positiva em relação a resíduos polares com carga negativa. O receptor CB₁ apresentou maior porcentagem de resíduos polares positivos. A estrutura GPR119 apresentou o menor percentual de resíduos positivos. Todas as estruturas apresentaram tendência de interação com ligantes carregados negativamente. Vale a pena destacar que a análise dos bolsões será discutida em outro tópico.

Tabela 5. Porcentagem de resíduos carregados e não carregados em relação ao total de resíduos da proteína

| | CB1 | CB2 | GPR119 | GPR55 | GPR18 |
|-----------------|-------|-------|--------|-------|-------|
| APOLAR | 83,16 | 87,59 | 88,14 | 86,21 | 85,20 |
| POSITIVO | 10,31 | 7,93 | 7,12 | 7,84 | 9,67 |
| NEGATIVO | 6,53 | 4,48 | 4,75 | 5,96 | 5,14 |

5.3.1.1 Receptor CB₁

Para a validação dos modelos utilizados realizamos o RMSD de cada resíduo das estruturas cristalográficas em relação ao modelo gerado a partir do SWISS-MODEL. A Figura 39 apresenta a sequência do receptor CB₁ (UniProt: P21554). O modelo é composto por 291 resíduos numerados de 112 a 413. O CB₁ apresenta 17 resíduos de argininas e 13 resíduos de lisina, como resíduos polares com carga positiva. O receptor não apresentou histidinas na forma desprotonada (NH₂). Esses resíduos positivos correspondem a 10,31% do total de resíduos da proteína.

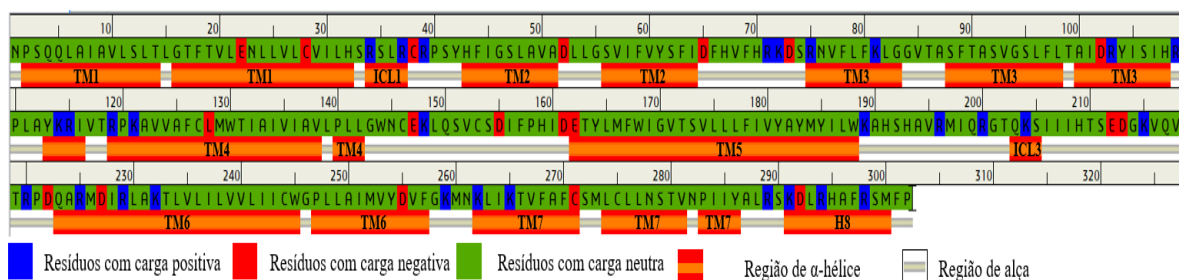


Figura 39. Sequência de resíduos do CB₁.

Os resíduos negativos correspondem a 6,53% do total de resíduos da proteína. Os demais 242 resíduos são compostos por resíduos com carga neutra. Os resíduos apolares correspondem a 83,16% do total de resíduos da proteína. A Figura 40 apresenta o resultado de RMSD. A Figura 40 apresenta média de 0,07 Å de RMSD para o receptor CB₁. Observamos um pico de 0,34 Å no resíduo A233. A estrutura cristalográfica 6KQI apresenta a ausência da sequência de resíduos da sequência 202 a 232. A correção da posição com a adição da sequência pelo modelo justifica a variação observada. A média de 0,07 Å de RMSD sugere que o modelo possui grande similaridade com a estrutura cristalográfica.

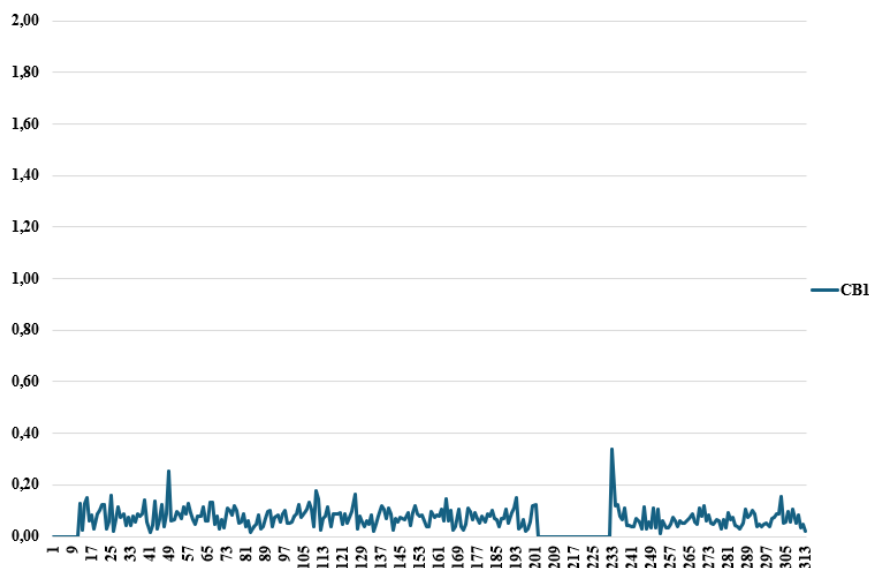


Figura 40. RMSD do modelo utilizado em comparação com a estrutura cristalográfica 6KQI.

5.3.1.2 Receptor CB₂

A sequência de resíduos do receptor CB₂ (UniProt: P34972) está representada na Figura 41. O modelo é composto por 290 resíduos numerados de 22 a 312. O CB₂ apresenta 13 resíduos de argininas e 10 resíduos de lisina, como resíduos polares com carga positiva. O receptor não apresentou histidinas na forma desprotonada (NH₂). Esses resíduos positivos correspondem a 7,93% do total de resíduos da proteína.

Observamos que o receptor também apresenta 8 resíduos de ácidos aspárticos, 3 resíduos de ácidos glutâmicos e 2 cisteínas desprotonadas como resíduos polares com carga negativa. Esses resíduos negativos correspondem a 4,48% do total de resíduos da proteína. Os demais 254 resíduos são compostos por resíduos com carga neutra. Os resíduos apolares correspondem a 87,59% do total de resíduos da proteína.

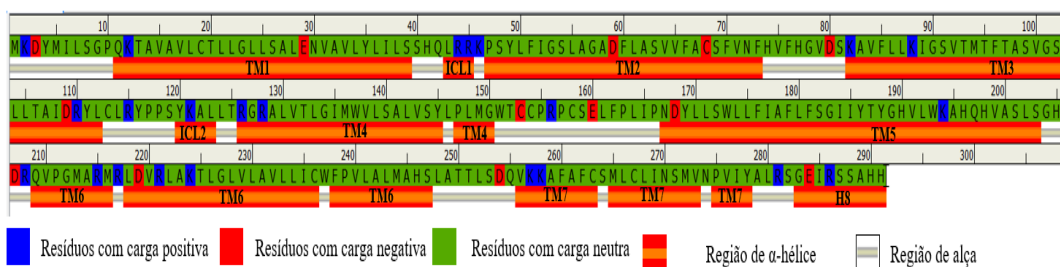


Figura 41. Sequência de resíduos do CB₂.

Desta forma a maior parte da sequência do CB₂ apresenta resíduos apolares. O receptor CB₂ apresenta maior hidrofobicidade que o receptor CB₁. A análise mostra que o receptor CB₂, em geral, possui tendência de realizar interação com grupos apolares em seguida de grupos carregados negativamente.

O valor de RMSD a 0,07 Å para o receptor CB₂, mostra que o modelo possui grande similaridade com a estrutura cristalográfica. O receptor CB₂ apresenta a mesma tendência observada no receptor CB₁ para o raio de van der Waals (Figura 42).

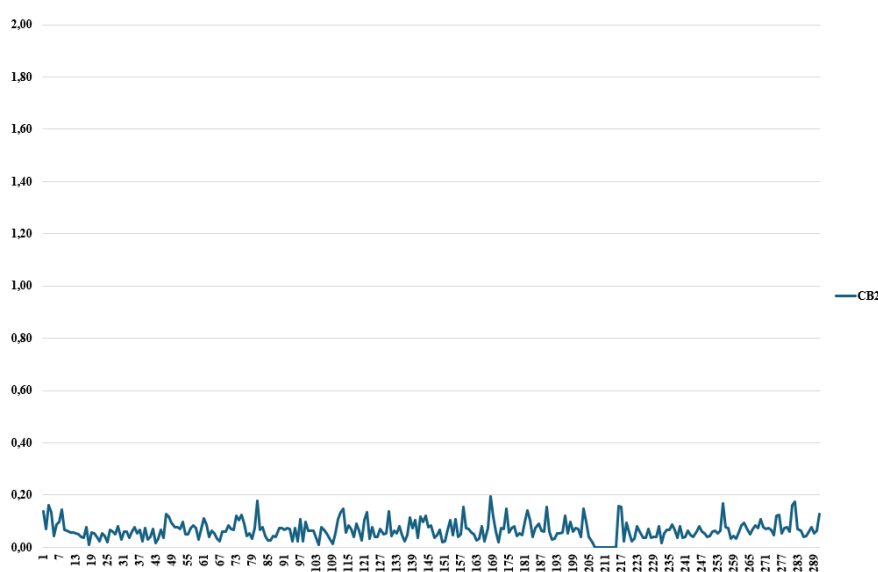


Figura 42. RMSD do modelo utilizado em comparação com a estrutura cristalográfica 8GUR.

5.3.1.3 Receptor GPR119

A sequência de resíduos do receptor GPR119 (UniProt: Q8TDV5) está representada na Figura 43. O modelo é composto por 295 resíduos numerados de 5 a 300. O GPR119 apresenta 10 resíduos de argininas e 11 resíduos de lisina, como resíduos polares com carga positiva. O modelo não apresentou histidinas na forma desprotonada (NH₂). Esses resíduos positivos correspondem a 7,12% do total de resíduos da proteína.

Observamos que o receptor também apresenta 6 resíduos de ácidos aspárticos, 4 resíduos de ácidos glutâmicos e 5 cisteínas desprotonadas como resíduos polares com carga negativa. O ácido aspártico 51 apresentou sua estrutura na forma neutra. Esses resíduos com carga negativa correspondem a 4,75% do total de resíduos da proteína. Os demais 260 resíduos são compostos

por resíduos polares com carga neutra. Os resíduos apolares correspondem a 88,14% do total de resíduos da proteína.

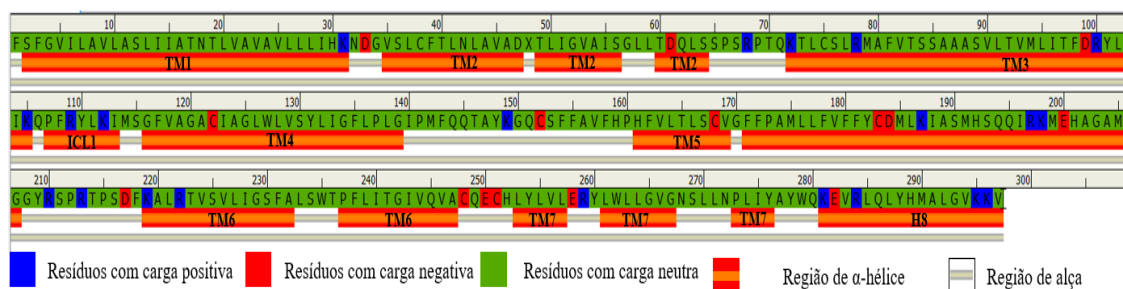


Figura 43. Sequência de resíduos do GPR119.

Desta forma a maior parte da sequência do GPR119 apresenta resíduos apolares. A Figura 44 traz a média de 0,06 Å de RMSD para o receptor GPR119. Observamos um pico com RMSD de 0,79 Å no resíduo Glu203. A estrutura cristalográfica apresenta ausência da sequência do resíduo 209 a 215. O resíduo Glu203 apresenta liberdade conformacional na estrutura cristalográfica devido à ausência da sequência 209 a 215 que justifica o alto RMSD obtido. Observamos que o modelo corrige a ausência da sequência 209 a 215, e conseqüentemente, o alto grau de liberdade observado na estrutura cristalográfica.

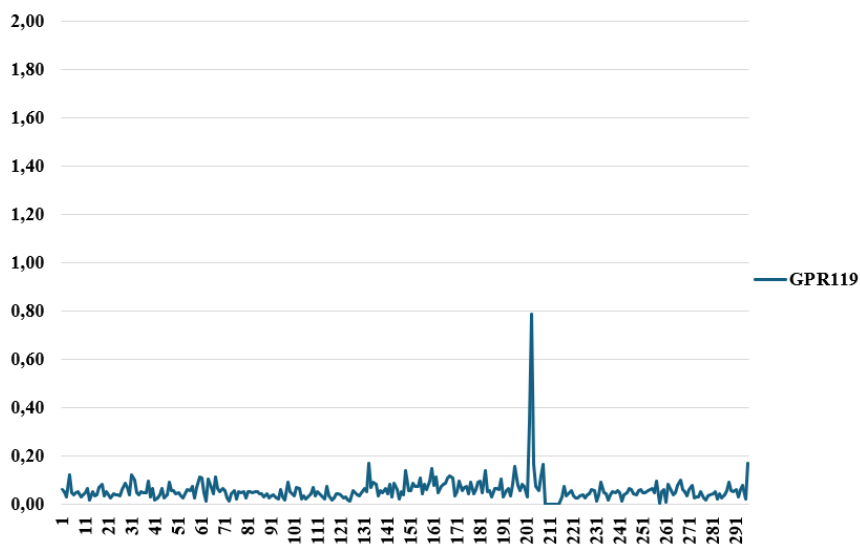


Figura 44. RMSD do Modelo utilizado em comparação com a estrutura cristalográfica 7WCM.

5.3.1.4 Receptor GPR55

A sequência de resíduos do receptor GPR55 (UniProt: Q9Y2T6) está representada na Figura 45. O modelo é composto por 319 resíduos numerados de 1 a 319. O GPR55 apresenta 15 resíduos de argininas e 10 resíduos de lisina, como resíduos polares com carga positiva. O modelo não apresentou histidinas na forma desprotonada (NH₂). Esses resíduos com carga positiva correspondem a 7,84 % do total de resíduos da proteína.

Observamos que o receptor também apresenta 9 resíduos de ácidos aspárticos, 6 resíduos de ácidos glutâmicos e 4 cisteínas desprotonadas como resíduos polares com carga negativa. Esses resíduos negativos correspondem a 5,96 % do total de resíduos da proteína. Os demais 275 resíduos são compostos por resíduos polares com carga neutra. Os resíduos apolares correspondem a 86,21% do total de resíduos da proteína.

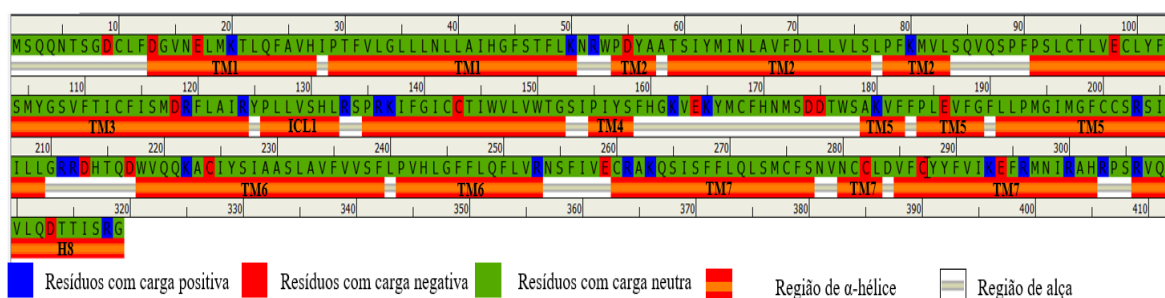


Figura 45. Sequência de resíduos do GPR55.

Desta forma a maior parte da sequência do GPR55 apresenta resíduos apolares. A Figura 46 apresenta a média de 1,00 Å de RMSD o receptor GPR55. O modelo apresenta RMSD maior que 1,2 Å nas regiões dos resíduos Leu11, Ser46 a Tyr56, Pro89, Ile123 a Arg133, Gly161 a Tyr166, Gly189 a Phe190, Arg212 a Val234 e Val285 a Met297. As sequências Leu11, Pro89, Gly161 a Tyr166 estão localizadas na porção superior da estrutura cristalográfica possuem alta liberdade conformacional sem interações com ligante. A estrutura cristalográfica não apresenta os resíduos das sequências Met1 a Asp9 e Asn298 a Asp313. A realocação da sequência Met1 a Asp9 restringe a liberdade das sequências Leu11, Pro89, Gly161 a Tyr166 alterando a posição dos resíduos e aumentando o RMSD.

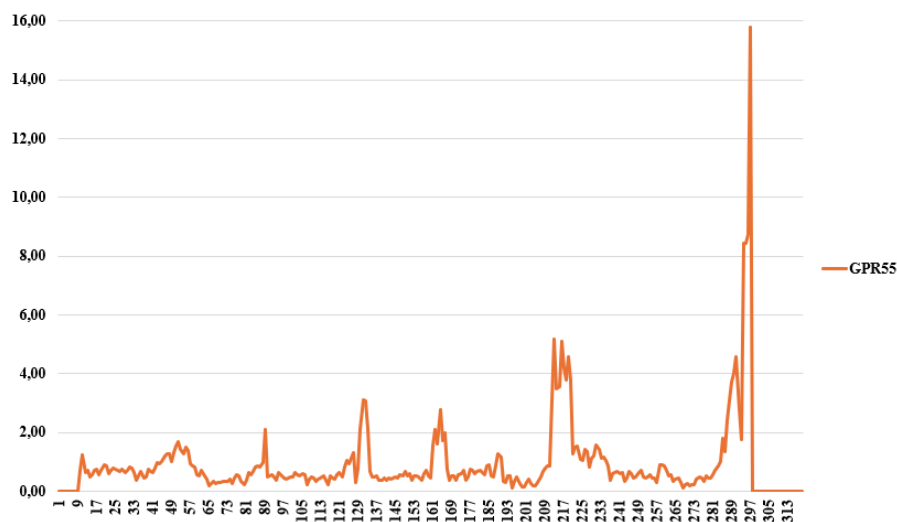


Figura 46. RMSD do modelo utilizado em comparação com a estrutura cristalográfica 8ZX4.

A média de 1,00 Å de RMSD sugere alteração da estrutura cristalográfica pelo modelo. As alterações observadas nos modelos estão relacionadas ao deslocamento de resíduos devido a adição de sequências que não estão apresentadas na estrutura cristalográfica.

5.3.1.5 Receptor GPR18

A sequência de resíduos do receptor GPR18 (UniProt: Q14330) está representada na Figura 47. O GPR18 apresenta 13 resíduos de argininas e 19 resíduos de lisina, como resíduos polares com carga positiva. Esses resíduos positivos correspondem a 9,67% do total de resíduos da proteína.

Observamos que o receptor também apresenta 10 resíduos de ácidos aspárticos e 7 resíduos de ácidos glutâmicos, como resíduos polares com carga negativa. Esses resíduos negativos correspondem a 5,14% do total de resíduos da proteína. Os demais 282 resíduos são compostos por resíduos polares com carga neutra. Os resíduos apolares correspondem a 85,20% do total de resíduos da proteína.

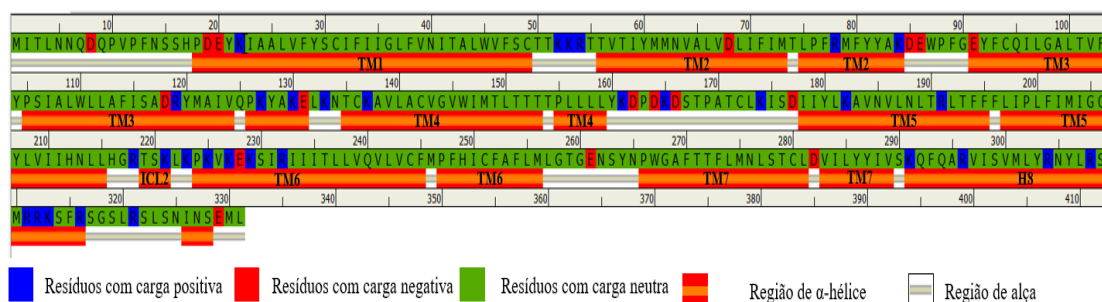


Figura 47. Sequência de resíduos do GPR18.

Desta forma a maior parte da sequência do GPR18 apresenta resíduos apolares. Não realizamos a análise de RMSD pois o receptor GPR18 não apresenta estrutura cristalográfica conhecida depositada no PDB.

5.3.2 Análise dos bolsões de interação

5.3.2.1 CB₁

A Tabela 6 apresenta os 11 sítios com potencial de interação na estrutura do receptor CB₁. Os sítios são constituídos de regiões ou bolsões acessíveis a solvente, do inglês “Pocket”. Observando a denominação usual de “S” para sítios catalíticos então denominados os sítios a partir da letra “P” seguido do número do sítio, para que não exista falha de compreensão. Utilizamos a média do tamanho molecular dos ligantes, 16,06 Å, como fator de exclusão de sítios. Após a exclusão foram selecionados os sítios P0 e P1 com profundidade de 33,83 Å e 26,35 Å, respectivamente. Os volumes apresentados são compatíveis com o tamanho dos ligantes estudados.

Tabela 6. Sítios encontrados para o modelo do receptor CB₁.

| Sítio | Volume (Å ³) | Profundidade (Å) | AA com carga negativa | AA com carga positiva | AA polar | AA apolar | Drugscore |
|-------|--------------------------|------------------|-----------------------|-----------------------|----------|-----------|-----------|
| P0 | 1360,26 | 33,83 | 8% | 11% | 27% | 55% | 81% |
| P1 | 852,16 | 26,35 | 5% | 24% | 26% | 45% | 85% |
| P2 | 273,28 | 15,47 | 5% | 15% | 20% | 60% | 64% |
| P3 | 259,33 | 15,25 | 0% | 0% | 20% | 80% | 63% |
| P4 | 256,26 | 13,61 | 0% | 22% | 22% | 56% | 57% |
| P5 | 204,74 | 8,92 | 9% | 9% | 9% | 73% | 36% |
| P6 | 192,77 | 9,62 | 0% | 0% | 24% | 76% | 38% |
| P7 | 153,15 | 10,39 | 0% | 0% | 30% | 70% | 37% |

| | | | | | | | |
|----|--------|-------|----|-----|-----|-----|-----|
| P8 | 150,59 | 7,36 | 0% | 11% | 44% | 44% | 23% |
| P9 | 143,1 | 10,48 | 0% | 0% | 20% | 80% | 36% |

Observamos valores de *drugscore* de 81% para o sítio P0 seguido de 85% para o sítio P1. Indicando que o sítio P1 possui maior potencial de interação com fármacos (*drugscore*) que o sítio P0. Em seguida observamos a localização das superfícies. A região de interação do CB₁ com a proteína G sobrepõe à região do sítio P1. Desta forma excluímos a superfície P1 e aprofundamos a análise no sítio P0. A região da superfície P0 coincide com a região de interação do CP55940 com a proteína na estrutura cristalográfica 6KQI

Os resíduos do sítio P0 (Figura 48) possuem majoritariamente características apolar (55%), polar (27%), carga positiva (11%) e carga negativa (8%). Observamos que o sítio apresenta 10 resíduos com carga. Os resíduos com carga positiva presentes são Lys183, Arg182, Lys183, Arg186 e Lys376. Os resíduos com carga negativa são Asp163, Asp176, Asp184, Asp266 e Asp366.

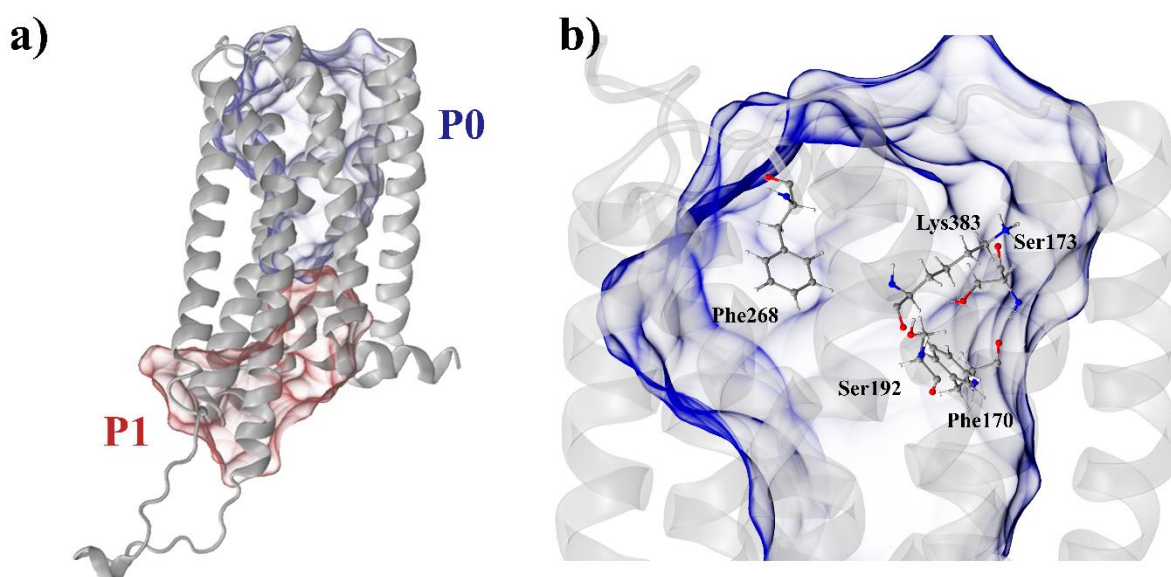


Figura 48. Sítios P0 e P1 do CB₁ (a) e resíduos que realizam as interações ligação de hidrogênio e π -stack com o CP55940.

O ligante CP55940 na estrutura cristalográfica presente no cristal 6KQI apresenta interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos Ser173, Ser192 e Lys383²¹⁰. O ligante CP55940 realiza interações do tipo π -stacking com os resíduos Phe268 e Phe170 assim como apresenta interações do tipo σ - σ e σ - π com os resíduos Phe177, Leu193, Val196, Trp197, Tyr275, Leu276, Trp279, Trp356, Leu359 e Phe379²¹⁰. Os resíduos que realizam interação com o ligante CP55940 estão presentes no sítio P0.

5.3.2.2 CB₂

Empregamos o mesmo método utilizado no receptor CB₁. Foram observados 8 sítios com potencial de interação na estrutura do receptor CB₂, mostrados na Tabela 7. Após a exclusão foram apresentados os sítios P0 e P1 com profundidade de 25,94 Å e 23,92 Å. Os sítios apresentaram volumes tridimensional de 1190,27 Å³ e 704,32 Å³, para os sítios P0 e P1 respectivamente. Observamos que o sítio P1 apresenta volume consideravelmente menor que o sítio P0. O sítio apresentado pelo sítio P0 apresenta maior possibilidade de interações com os ligantes.

Tabela 7. Sítios encontrados para o modelo do receptor CB₂.

| Sítio | Volume (Å ³) | Profundidade (Å) | AA com carga negativa | AA com carga positiva | AA polar | AA apolar | Drugscore |
|-------|--------------------------|------------------|-----------------------|-----------------------|----------|-----------|-----------|
| P0 | 1190,27 | 25,94 | 5% | 7% | 27% | 61% | 82% |
| P1 | 704,32 | 23,92 | 5% | 5% | 32% | 59% | 86% |
| P2 | 220,16 | 11,69 | 0% | 0% | 33% | 67% | 48% |
| P3 | 202,50 | 10,40 | 0% | 17% | 25% | 58% | 41% |
| P4 | 150,66 | 6,81 | 0% | 25% | 25% | 50% | 22% |
| P5 | 123,90 | 8,77 | 11% | 11% | 11% | 67% | 28% |
| P6 | 118,85 | 7,64 | 10% | 0% | 60% | 30% | 20% |
| P7 | 108,67 | 8,02 | 0% | 50% | 0% | 50% | 23% |
| P8 | 102,02 | 8,72 | 0% | 50% | 25% | 25% | 22% |

Observamos o valor de drugscore de 82% para o sítio P0 seguido de 86% para o sítio P1. A região de interação do CB₂ com a proteína G sobrepõe à região do sítio P1. Desta forma, excluimos a superfície P1 e aprofundamos a análise no sítio P0. A região da superfície P0 coincide com a região de interação do CP55940 com a proteína na estrutura cristalográfica 6KQI.

Os resíduos do sítio P0 (Figura 49) possuem majoritariamente característica apolar (61%), polar (27%), carga positiva (7%) e carga negativa (5%). Observamos que o sítio apresenta 7 resíduos com carga. Os resíduos com carga positiva presentes são Lys109, Lys278 e Lys279. Os resíduos com carga negativa são Asp24, Cys89, Asp101 e Glu181.

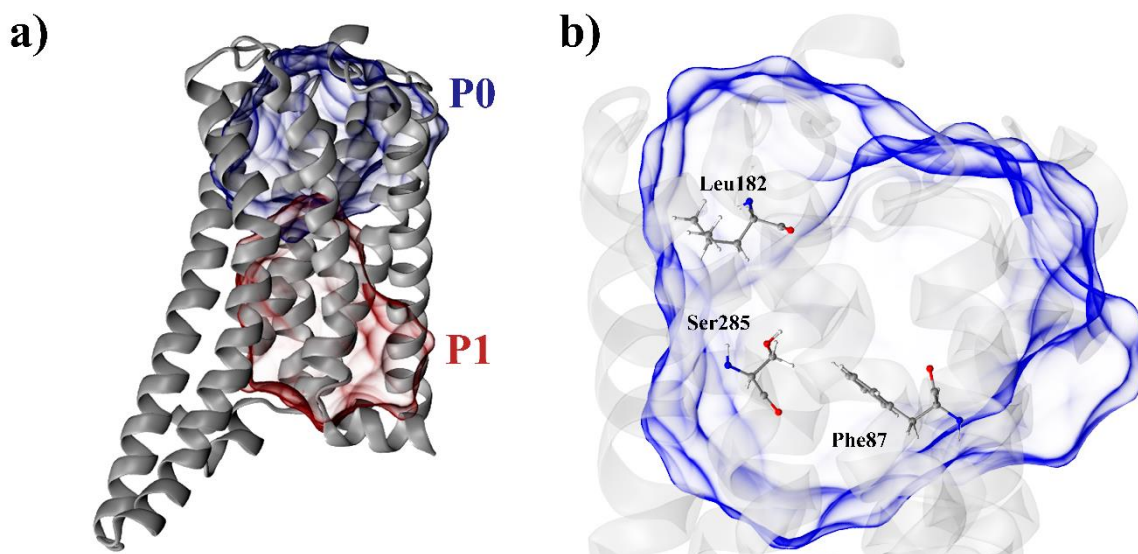


Figura 49. Sítios P0 e P1 do CB₂ (a) e resíduos que realizam as interações ligação de hidrogênio e π -stacking com o CP55940.

O ligante CP55940 complexado na estrutura cristalográfica presente no cristal 8GUR apresenta interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos Leu182 e Ser285⁵⁴. O ligante CP55940 realiza interação π -stacking com o resíduo Phe87 assim como apresenta interações σ - σ e σ - π com os resíduos Phe91, Phe94, Ile110, Phe117, Phe183, Pro184, Ile186, Trp194 e Phe28¹⁵⁴. Todos os resíduos que realizam interação com o ligante CP55940 estão presentes no sítio P0.

A estrutura cristalográfica deste receptor e os dados levantados pelo estudo de sítios indicam que os resíduos da porção interna do receptor possuem maior potencial de interação que os resíduos da porção externa do receptor. A tendência de maior *drugscore* nos sítios P1 dos receptores CB₁ e CB₂ reforça que o ligante CP55940 induz interação com a proteína G de alta potência^{54,211}. O complexo presente na estrutura cristalográfica 8GUR sugerem que as interações com o CP55940 induzem a formação de complexo ativado recrutador de proteína G²¹². Desta forma os resíduos Leu182, Ser285 e Phe87, envolvidos nestas interações, serão utilizados como parâmetro para um potencial de interação.

5.3.2.3 Receptor GPR119

O receptor GPR119 apresentou 8 sítios com potencial de interação, Tabela 8. Os sítios P0 e P1 com profundidade de 40,46 Å e 25,26 Å passaram da seleção inicial. Os sítios P0 e P1 apresentaram volumes tridimensional de 1621,82 Å³ e 794,05 Å³. O sítio P0 apresenta a maior profundidade dos receptores estudados corroborando para o conceito de receptor de lipídeos²¹³.

A diferença observada entre os sítios P0 e P1 são maiores no receptor GPR119.

Tabela 8. Sítios encontrados para o modelo do receptor GPR119.

| Sítio | Volume (Å ³) | Profundidade (Å) | AA com carga negativa | AA com carga positiva | AA polar | AA apolar | Drugscore |
|-----------|--------------------------|------------------|-----------------------|-----------------------|----------|-----------|-----------|
| P0 | 1621,82 | 40,46 | 4% | 4% | 29% | 62% | 81% |
| P1 | 794,05 | 25,26 | 5% | 3% | 26% | 66% | 86% |
| P2 | 257,47 | 8,28 | 8% | 23% | 31% | 38% | 34% |
| P3 | 216,83 | 12,15 | 0% | 0% | 20% | 80% | 49% |
| P4 | 201,09 | 8,74 | 0% | 0% | 18% | 82% | 35% |
| P5 | 185,86 | 13,13 | 0% | 15% | 38% | 46% | 49% |
| P6 | 154,11 | 8,64 | 8% | 0% | 17% | 75% | 31% |
| P7 | 150,66 | 8,57 | 0% | 20% | 40% | 40% | 27% |
| P8 | 124,42 | 8,66 | 0% | 14% | 29% | 57% | 27% |

Observamos valores de drugscore igual a 81% para o sítio P0 seguido de 86% para o sítio P1. A tendência de maiores valores de drugscore no sítio P1 em relação ao sítio P0 nos receptores canabinoides foi mantida para o receptor GPR119. A região de interação do GPR119 com a proteína G sobrepõe à região do sítio P1, como observado nos outros receptores. A região da superfície P0 coincide com a região de interação do MBX2982 com a proteína na estrutura cristalográfica 7WCM⁵².

Os resíduos do sítio P0 (Figura 50) possuem majoritariamente características apolares (62%), polares (29%), cargas positivas (4%) e cargas negativas (4%). Observamos que o sítio apresenta 6 resíduos com carga. Os resíduos com carga positiva presentes são Arg71, Arg81 e Arg262. Os resíduos com carga negativa são Asp51, Asp64 e Glu261.

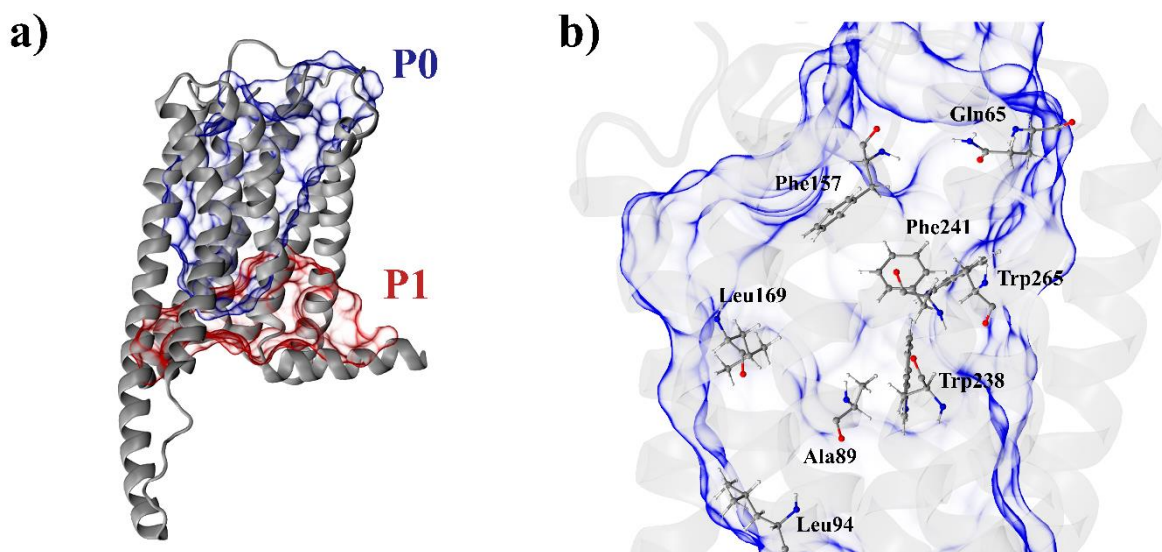


Figura 50. Sítios P0 e P1 da GPR119 (a) e resíduos que realizam as interações com MBX2982.

O ligante MBX2982 na estrutura cristalográfica presente no cristal 7WCM apresenta interações do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Gln65⁵². O ligante MBX2982 realiza interação π -stacking com os resíduos Phe241 e Trp265 assim como apresenta interações σ - σ e σ - π com os resíduos Ala89, leu94, Phe157, Leu169 e Trp238⁵². Os resíduos que realizam interação com o ligante MBX2982 estão presentes no sítio P0.

O receptor GPR119 apresenta maior potencial de interação com os resíduos internos que externos como apresentado para os receptores canabinoides. A tendência de maior *drugscore* permanece no sítio P1 indicando a tendência de ativação por moléculas não canabinoides²¹³. O complexo proteico da estrutura cristalográfica 7WCM sugerem que a modificação estrutural gerada pelo ligante gera o recrutamento da proteína G⁵². Desta forma os resíduos Gln65, Phe241, Trp265, Ala89, Leu94, Phe157, Leu169 e Trp238, serão utilizados como parâmetro para um potencial de interação.

5.3.2.4 Receptor GPR55

A Tabela 9 traz informação sobre os 11 sítios com potencial de interação na estrutura do receptor GPR55. Os sítios P0 e P1 com profundidade de 23,48 Å e 30,26 Å com volume tridimensional de 1543,48 Å³ e 1332,46 Å³. Observamos uma inversão na tendência apresentada nos receptores canabinoides onde o sítio P1 apresenta maior volume que o sítio P0.

Os volumes apresentado sugerem que o substrato natural e o ligante cristalizado, as moléculas anandamida e LPI, não são comportadas na conformação do seu mínimo de energia calculados com o método *ab-initio*, assim, o tamanho linear de 29,10 Å e 28,85 Å extrapola o tamanho do bolsão de interação do receptor⁶⁸. Desta forma, pode-se inferir que as interações

do receptor com o ligante alteram a conformação do ligante adaptando o ligante ao tamanho máximo do bolsão do receptor.

Tabela 9. Sítios encontrados para o modelo do receptor GPR55.

| Sítio | Volume (Å ³) | Profundidade (Å) | AA com carga negativa | AA com carga positiva | AA polar | AA apolar | Drugscore |
|-------|--------------------------|------------------|-----------------------|-----------------------|----------|-----------|-----------|
| P0 | 1543,48 | 23,48 | 5% | 10% | 34% | 51% | 82% |
| P1 | 1332,46 | 30,26 | 9% | 7% | 33% | 51% | 81% |
| P2 | 239,63 | 15,13 | 0% | 27% | 40% | 33% | 59% |
| P3 | 194,38 | 8,61 | 9% | 18% | 9% | 64% | 34% |
| P4 | 188,57 | 13,73 | 13% | 0% | 40% | 47% | 51% |
| P5 | 185,95 | 14,36 | 10% | 0% | 40% | 50% | 54% |
| P6 | 155,57 | 7,61 | 0% | 0% | 33% | 67% | 27% |
| P7 | 130,58 | 8,95 | 0% | 0% | 18% | 82% | 30% |
| P8 | 115,92 | 7,19 | 0% | 0% | 11% | 89% | 23% |
| P9 | 113,23 | 7,00 | 0% | 0% | 11% | 89% | 22% |
| P10 | 112,45 | 9,84 | 14% | 14% | 0% | 71% | 31% |
| P11 | 103,24 | 8,78 | 0% | 12% | 12% | 75% | 27% |

Observamos valores de *drugscore* igual a 82% para o sítio P0, seguido de 81% para o sítio P1. Indicando que o sítio P0 possui maior tendência de interação com fármacos. A ativação gerada pelo LPI gera um *drugscore* menor no sítio P1 em comparação com o sítio P0, tendência inversa observada nas outras estruturas cristalográficas. A conservação do baixo potencial no sítio P1 indica que o sítio P0 permanece com potencial a ser explorado.

A região da superfície P0 coincide com a região de interação do ligante com a proteína na estrutura cristalográfica 8ZX4. A região de interação do GPR55 com a proteína G sobrepõe à região do sítio P1. Desta forma excluimos a superfície P1 e aprofundamos a análise no sítio P0.

Os resíduos do sítio P0 (Figura 51) possuem majoritariamente características apolares (51%), polares (34%), cargas positivas (10%) e cargas negativas (5%). Observamos que o sítio

apresenta 6 resíduos com carga. Os resíduos com carga positiva presentes são Lys20, His170, Arg253 e Lys263, respectivamente. Os resíduos com carga negativa são Glu17 e Asp175.

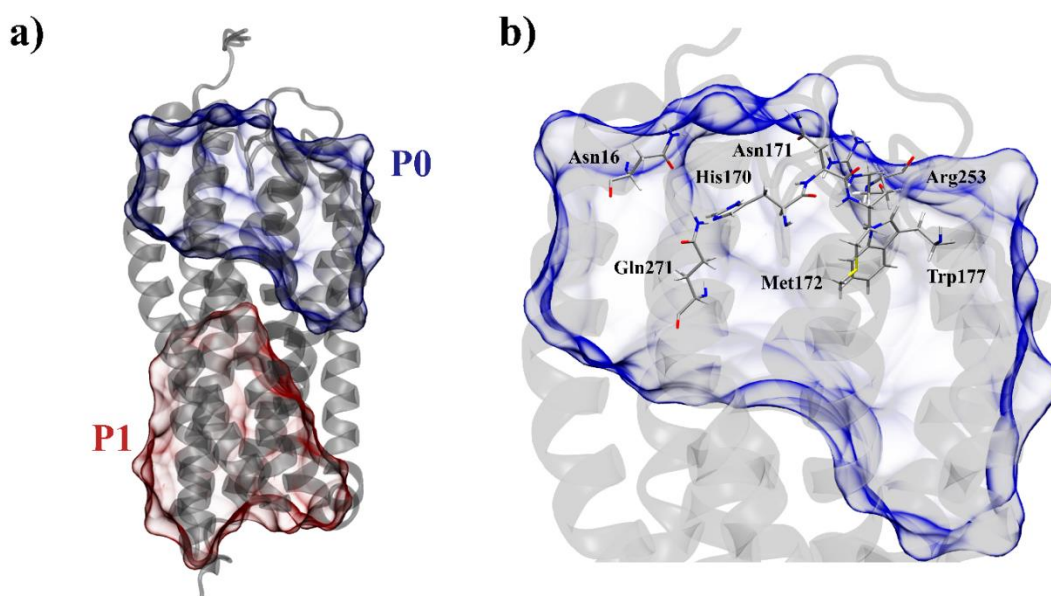


Figura 51. Sítios P0 e P1 da GPR55 (a) e resíduos que realizam as interações ligação de hidrogênio e ponte salina com o LPI.

A estrutura cristalográfica do cristal 8ZX4 apresenta interações do tipo ligação de hidrogênio entre o ligante LPI com os resíduos Phe16, His170, Asn171, Met172, Trp177 e Gln271⁵⁷. O ligante LPI realiza interações do tipo σ - σ e σ - π com os resíduos Phe102, Tyr106, Phe110, Leu148, Ile156, Phe159, Trp177, Ile185 e Phe246 assim como uma ponte salina com a Arg253⁵⁷.

Todos os resíduos que apresentam interação com o ligante nesta estrutura cristalográfica estão alocados no do bolsão P0. Os resíduos Phe12, Phe102, Tyr106, Phe110, Leu148, Val149, Gly152, Ile156, Leu185, Phe246, Gln249, Ser267, Leu270 e Met274 apresentaram distância menor que 5,0 Å do ligante na estrutura cristalográfica 8ZX4 e estão localizados no bolsão P0⁵⁷. O complexo formado sugere que a alteração conformacional gerado pelo ligante recruta o maquinário celular⁵⁷. A estrutura cristalográfica e os dados levantados pelo estudo do bolsão indicam que os resíduos que compõem o sítio P0 possuem potencial de interação a ser explorado.

5.3.2.5 Receptor GPR18

Realizamos o estudo do modelo da GPR18 baseado nas tendências apresentada pelos modelos baseados em estruturas cristalográficas de outros receptores análogos a este. A GPR18 apresentou 15 sítios com potencial de interação na estrutura, Tabela 10. Após a exclusão foram

apresentados os sítios P0, P1 e P5 com profundidade de 19,57 Å, 17,72 Å e 19,08 Å. Os sítios apresentaram volumes tridimensional de 1478,83 Å³, 562,12 Å³ e 267,28 Å³ para os sítios P0, P1 e P5 respectivamente. A GPR18 apresenta um sítio a mais que a tendencia observada nos outros modelos.

A tendencia de maior volume presente no sítio P0 em relação ao sítio P1 é conservada no modelo do receptor GPR18. O sítio P0 apresenta profundidade e volume condizente para interação com as estruturas do 2-araquinoilglicerol e com as estruturas dos canabinoides observados nos resultados dos cálculos quânticos, ligantes que apresentam atividade *in-vitro*⁵³. O sítio P5 não apresenta volume para realizar interações com os canabinoides e 2araquinoilglicerol.

Tabela 10. Sítios encontrados para o Modelo do receptor GPR18.

| Sítio | Volume (Å ³) | Profundidade (Å) | AA com carga negativa | AA com carga positiva | AA polar | AA apolar | Drugscore |
|------------|--------------------------|------------------|-----------------------|-----------------------|----------|-----------|-----------|
| P0 | 1478,83 | 19,57 | 8% | 10% | 40% | 42% | 80% |
| P1 | 562,12 | 17,72 | 7% | 18% | 29% | 46% | 79% |
| P2 | 455,23 | 9,83 | 6% | 6% | 44% | 44% | 56% |
| P3 | 319,59 | 10,72 | 6% | 18% | 24% | 53% | 51% |
| P4 | 297,50 | 13,37 | 0% | 23% | 15% | 62% | 59% |
| P5 | 267,28 | 19,08 | 0% | 11% | 16% | 74% | 73% |
| P6 | 226,02 | 12,02 | 0% | 0% | 50% | 50% | 48% |
| P7 | 152,01 | 8,09 | 0% | 0% | 25% | 75% | 29% |
| P8 | 150,01 | 12,62 | 6% | 0% | 38% | 56% | 45% |
| P9 | 139,5 | 10,16 | 0% | 0% | 20% | 80% | 35% |
| P10 | 136,17 | 9,06 | 0% | 22% | 11% | 67% | 30% |
| P11 | 125,39 | 12,73 | 11% | 11% | 22% | 56% | 43% |
| P12 | 122,46 | 7,96 | 0% | 29% | 57% | 14% | 19% |
| P13 | 116,87 | 7,66 | 0% | 14% | 43% | 43% | 22% |
| P14 | 106,35 | 9,20 | 0% | 14% | 14% | 71% | 28% |
| P15 | 100,5 | 8,93 | 15% | 0% | 31% | 54% | 26% |

Observamos valores de drugscore igual a 80% para o sítio P0, seguido de 79% para o sítio P1 e 48% para o sítio P5. Indicando que o sítio P0 possui maior tendencia de interação com fármacos como observado para a maioria dos receptores aqui estudados. A região da superfície P1 (Figura 52) coincide com a região Inter membrana do GPR18 de interação com a proteína G. Desta forma excluimos a superfície P1 e aprofundamos a análise no sítio P0 e P5.

Os bolsões P0 e P5 condizem com sítios de interações internos, como observado para os outros modelos.

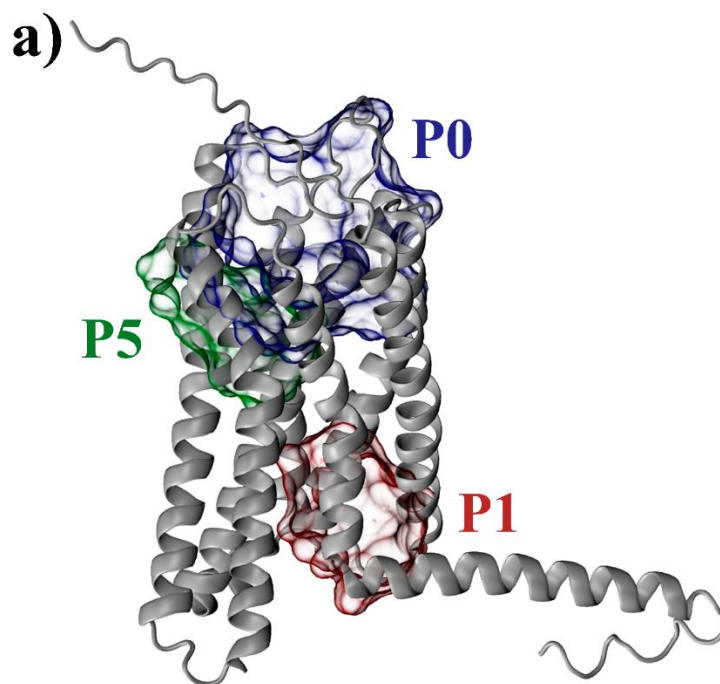


Figura 52. Sítios P0, P1 e P5 da GPR18.

Os resíduos do sítio P0 possuem majoritariamente características apolares (42%), polares (40%), cargas positivas (10%) e cargas negativas (8%). Observamos que o sítio apresenta 9 resíduos com carga. Os resíduos com carga positiva presentes são Arg78, Lys161, Lys165, Lys174 e Arg191, respectivamente. Os resíduos com carga negativa são Glu91, Asp162, Asp164 e Asp177. O sítio P5 apresenta características apolares (74%), polares (16%), cargas positivas (11%). O sítio apresenta o resíduo Arg191 como resíduo com carga. O sítio P0 e o sítio P5 compartilham do resíduo Arg191.

A tendência dos modelos baseados em estruturas cristalográficas é a apresentação de apenas dois sítios P0 e P1. Sendo P1 o sítio de interação com a proteína G. Sendo assim, a tendência condiz que os sítios P0 e P5 serão unificados. Os resíduos presentes nos bolsões P0 e P5 serão usados de base para a análise de interações.

5.4 Docking com os receptores CB₁, CB₂, GPR119, GPR55 e GPR18.

5.4.1 Receptor canabinoide do tipo I (CB₁)

O re-docking do CP55940 apresentou RMSD de 0,47 Å indicando alta sobreposição da

solução gerada pelo docking com a posição do ligante na estrutura cristalográfica. O ligante apresentou o score de -10,60 kcal/mol que corresponde ao pKi de 7,77. Shao e colaboradores relatam o pKi de 9,4 para o complexo em questão indicando que a energia de interação esperada deveria ser maior que a apresentada²¹⁰. Entretanto observamos que a literatura sugere que este ligante apresenta variações no pKi podendo ser observados valores entre 7,8 e 9,2^{214,215}. Estes dados indicam que o valor estimado no presente trabalho se aproxima com o observado na literatura assim como a posição do ligando no complexo formado é semelhante com o observado na estrutura cristalográfica.

O ligante CP55940 realiza interações do tipo ligação de hidrogênio (Figura 53) com os resíduos Lys192 (2,32 Å), Ser173 (1,96 Å e 3,20 Å), Ser383 (2,06 Å), Ile267 (2,20 Å), Leu193 (2,19 Å) e Pro269 (2,72 Å). As interações observadas com os resíduos Ser173, Lys192, Ser383 e Ile267 correspondem a interações forte com os heteroátomos O26, O27 e O25 apresentando distância inferior a 2,50 Å. As interações com os resíduos Leu193 e Pro269 possuem distância entre 2,50 e 3,20 Å com os heteroátomos O26 e O25.

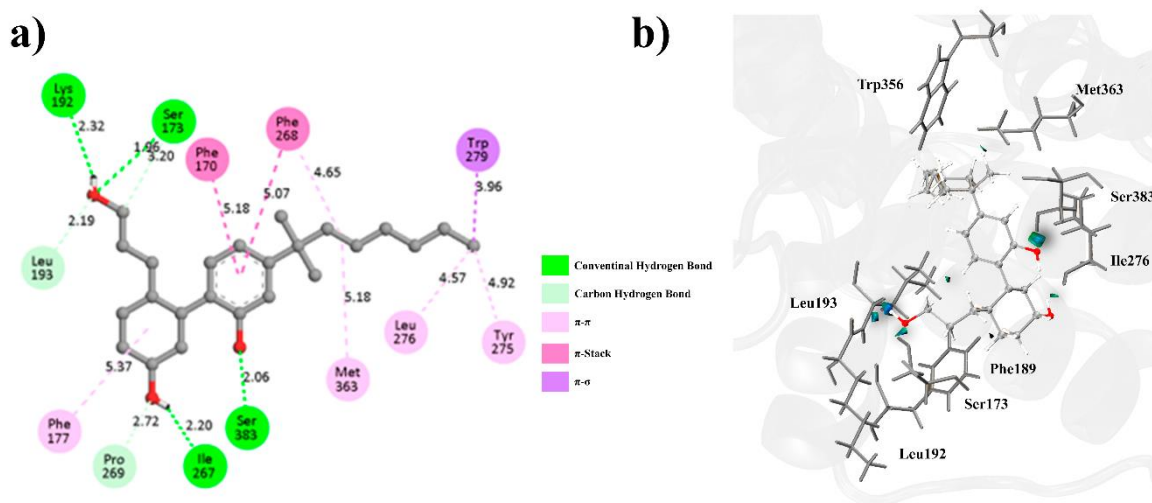


Figura 53. Representação da solução de docking do CP55940 com o CB₁ em 2D (a) e o do estudo de IGM (b).

Observamos perfil das interações do tipo ligação de hidrogênio, na estrutura cristalográfica, com os resíduos Ser173, Lys192 e Ser383, sugerindo a conservação das interações observadas na estrutura cristalográfica. Realizamos o estudo de modelo de gradiente independente (IGM), para uma análise mais meticulosa das interações e compreensão da densidade envolvida na solução gerada pelo estudo de docking. As interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos Ser173, Lys192, Ser383 e Ile267 apresentam interações fortes. A interação com o resíduo Ser383 apresentou a maior densidade indicando uma ligação de

soluções com score superiores a -8,40 kcal/mol. A energia de interação do grupo dos análogos de CBC segue a ordem: 69A (-8,35 kcal/mol) e 70b (-2,26 kcal/mol).

O grupo dos ligantes de referência apresentaram tendência de interação com o receptor, porém com baixa energia de interação, inferior a -7,00 kcal/mol.

As moléculas análogas de CBG, canabinoides e supostos canabinoides apresentaram tendência de interação com o receptor CB₁, scores superiores a - 8,40 kcal/mol.

As moléculas radulanina A e radulanina I apresentam tendência de interação com o receptor CB₁ com valores de score de -8,53 kcal/mol e -8,80 kcal/mol. As moléculas do grupo dos canabinoides apresentaram pouca interação com o receptor CB₁ com energia de interação variando de -6,71 kcal/mol a -8,61 kcal/mol para as moléculas CBD e Δ^8 -THC.

As interações entre os canabinoides e receptor CB₁ (Figura 55) foram majoritariamente hidrofóbicas. As ligações de hidrogênio de interesse foram observadas entre os resíduos Ser383 e Ile267 e os grupos hidroxila e cromanol constantes das moléculas desta classe; assim como as interações hidrofóbicas de interesse são observadas entre as ramificações alifáticas e as regiões cíclicas das moléculas com os resíduos Phe170, Phe177, Phe268.

Observamos que as regiões das moléculas que realizaram interações do tipo ligação de hidrogênio, no estudo de docking, com os resíduos do receptor CB₁ foram as mesmas evidenciadas a suscetíveis ataques eletrofílicos, identificadas nos estudos de índices de Fukui, reforçando que o perfil eletronegativo dos canabinoides, evidenciado na PCA coloca os ligantes desta classe de moléculas na lista de possíveis inibidores do receptor CB₁. A molécula Δ^8 -THC apresentou interações de interesse do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos Ile267 (1,70 Å), Phe268 (2,10 Å), His178 (2,83 Å) e Pro269 (2,62 Å) assim como, interações hidrofóbicas do tipo π - σ com os resíduos Phe170 (4,68 Å e 5,00 Å), Phe177 (4,25 Å), Leu359 (4,72 Å) e Phe379 (5,04 Å).

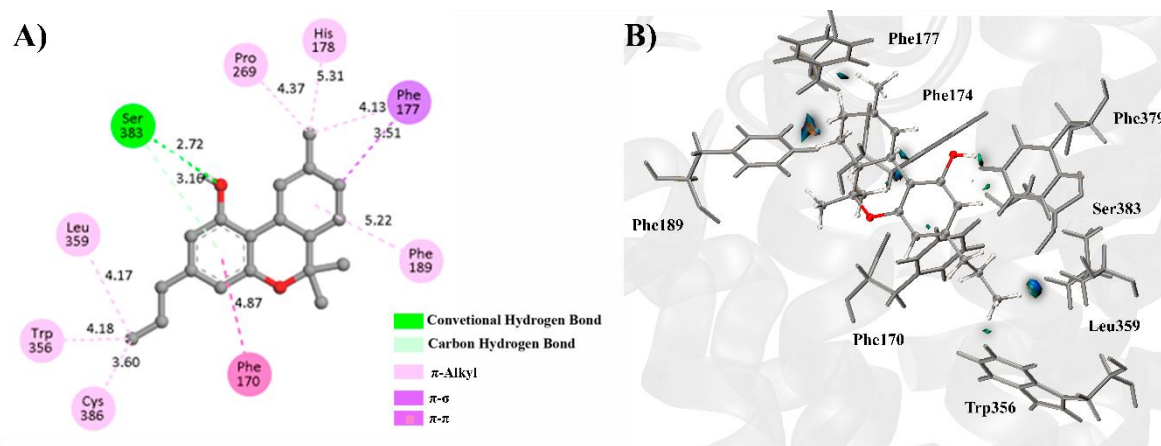


Figura 55. Representação da solução de docking do THCv com o CB₁ em 2D (a) e o do estudo de IGM (b).

O THCV (Figura 55) é outro exemplo de molécula com potencial de interação do grupo dos canabinoides, Figura 55, que apresentou interações de interesse do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Ser383 (2,72 Å e 3,10 Å), assim como interações hidrofóbicas do tipo π - σ , π -stacking e σ - σ com os resíduos Phe170 (4,87 Å), Phe177 (3,51 Å e 4,13 Å), Phe189 (5,22 Å), Leu359 (4,17 Å) e Trp356 (4,18 Å).

O estudo de IGM confirmou as interações com os resíduos Ser383, Trp356, Phe189, Phe359, Phe170, Phe174 e demonstrou interação com o resíduo Phe379 (3,40 Å). Observamos que o THCV segue a mesma tendência do CP55940 apresentando a maior interação com o resíduo Ser383. Os demais canabinoides seguiram a tendência relatada de maior número de interações hidrofóbicas que interações do tipo ligação de hidrogênio corroborando para a identificação das cargas neutras como relevantes para a identificação do perfil destas moléculas.

O grupo dos supostos canabinoides (Figura 56) apresentou majoritariamente interações de baixa intensidade com os resíduos do receptor CB₁ no qual a energia de interação variou de -5,33 kcal/mol a -8,83 kcal/mol para as moléculas desmodianona A (S) e desmodianona A (R), assim como uma energia de interação de alta intensidade de e -10,40 kcal/mol para a desmodianona E.

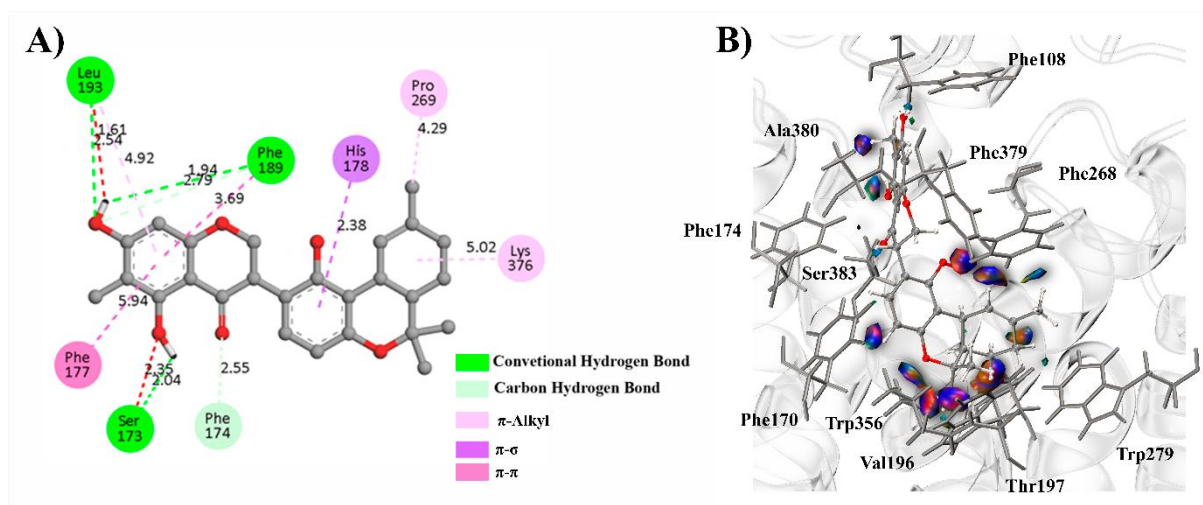


Figura 56. Representação da solução de docking da desmodianona E com o CB₁ em 2D (a) e o do estudo de IGM (b).

As interações estão localizadas no mesmo sítio onde ocorre as interações observadas no inibidor CP55940, sobre o grupo benzeno da molécula, e são majoritariamente do tipo ligação de hidrogênio e secundariamente hidrofóbicas. As interações do tipo ligação de hidrogênio ocorreram com os resíduos de interesse Ile267, Ser173 e Lys192 e os átomos dos grupos hidroxila, cromanol e cetona. A molécula desmodianona E apresenta alta densidade em suas

interações indicando a tendência de interação mais fortes com os resíduos do receptor quando comparado com o CP55940. O estudo de IGM indicou que o aumento no perfil de eletronegatividade assim como o aumento na suscetibilidade a ataques eletrofilicos afetam positivamente a interação com o receptor CB₁.

5.4.2 Receptor canabinoide do tipo II (CB₂)

O re-docking do CP55940 com o receptor CB₂ apresentou RMSD de 0,22 Å indicando excelente correlação na sobreposição da estrutura da solução gerada pelo docking com a posição do ligante na estrutura cristalográfica. O ligante apresentou o score de -8,42 kcal/mol que corresponderia ao pK_i de 6,17. O ensaio de inibição da estrutura cristalográfica 8GUR indica que a interação entre o CB₂ e o CP55940 apresenta o pK_i de 8,90⁵⁴. Desta forma, estimamos que as simulações apresentam confiança nas posições geradas com energias de interação subestimadas.

A Figura 57 apresenta os resultados do re-docking do CP55940 com o receptor CB₂ onde observamos interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos Ser285 (1,76 Å e 2,82 Å), Pro184 (2,11 Å), Leu182 (2,91 Å) e Phe87 (3,20 Å). As interações observadas com o resíduo Ser285 correspondem a uma interação forte com o heteroátomos O27 apresentando distância inferior a 2,50 Å. As interações com os resíduos Leu182 e Phe87 com os átomos C16 e O25 possuem distância entre 2,50 e 3,20 Å.

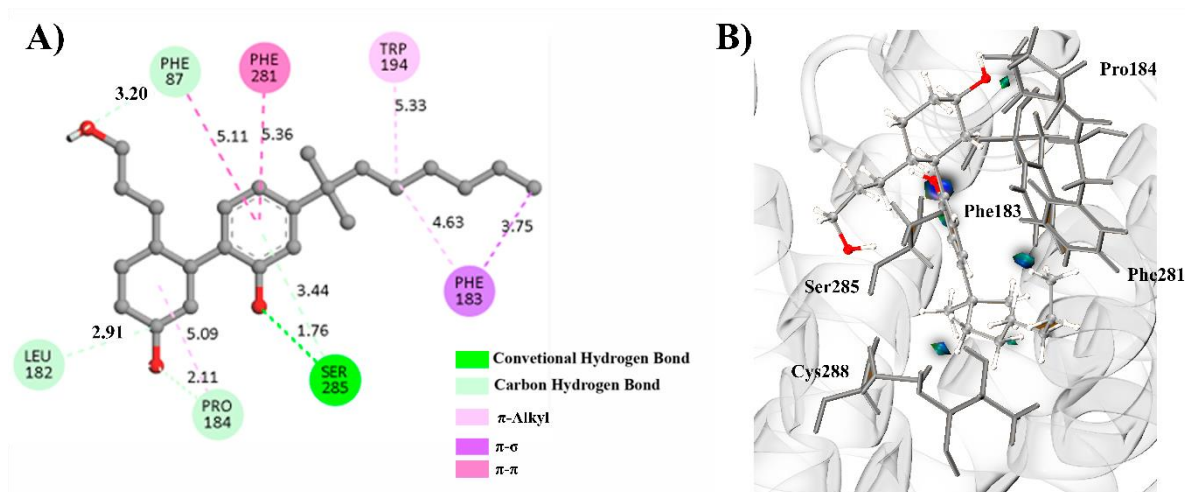


Figura 57. Representação da solução de re-docking do CP55940 com o CB₂ em 2D (a) e o do estudo de IGM (b).

O estudo de IGM indicou que a interação com o resíduo Ser285 apresenta maior densidade, cor azul escuro na Figura 57b, que a interação com o resíduo Leu182 indicando que a interação com resíduo Ser285 apresenta uma interação atrativa com maior força. Assim como o observado para as interações com o CB₁ as regiões de interações do tipo ligação de hidrogênio

com os resíduos do receptor CB₂ correspondem as áreas de susceptibilidade para ataques eletrofilicos do inibidor.

Interações hidrofóbicas com os resíduos Phe87 (5,11 Å), Phe183 (4,63 Å e 3,75 Å), Pro184 (5,09 Å), Trp194 (5,33 Å) e Phe281 (5,36 Å) foram observadas na formação do complexo receptor-ligante assim como na estrutura cristalográfica. O estudo de IGM demonstrou que as interações hidrofóbicas com os resíduos Phe281 e Phe183 dão suporte para a interação Ser285, identificada na estrutura cristalográfica como significativa para a mudança conformacional do CB₂ ⁵⁴. Ainda, destaca-se uma menor quantidade de interações do tipo ligação de hidrogênio assim como a conservação de interações do tipo hidrofóbicas necessárias para modulação do receptor, indicando maior contribuição do perfil hidrofóbico na modulação do receptor CB₂.

Desta forma, foram realizados estudos de docking com as demais moléculas e o receptor CB₂, observando os resíduos que apresentam interação com o CP55940. A Figura 58 apresenta os dados de energia de interação (score) em kcal/mol e pK_i das soluções de docking, onde foram selecionadas as poses com maior score e superposição com o ligante CP55940 para o receptor CB₂, os resultados estão representados nas Tabelas 15 e 16 (disponíveis na sessão do apêndice).

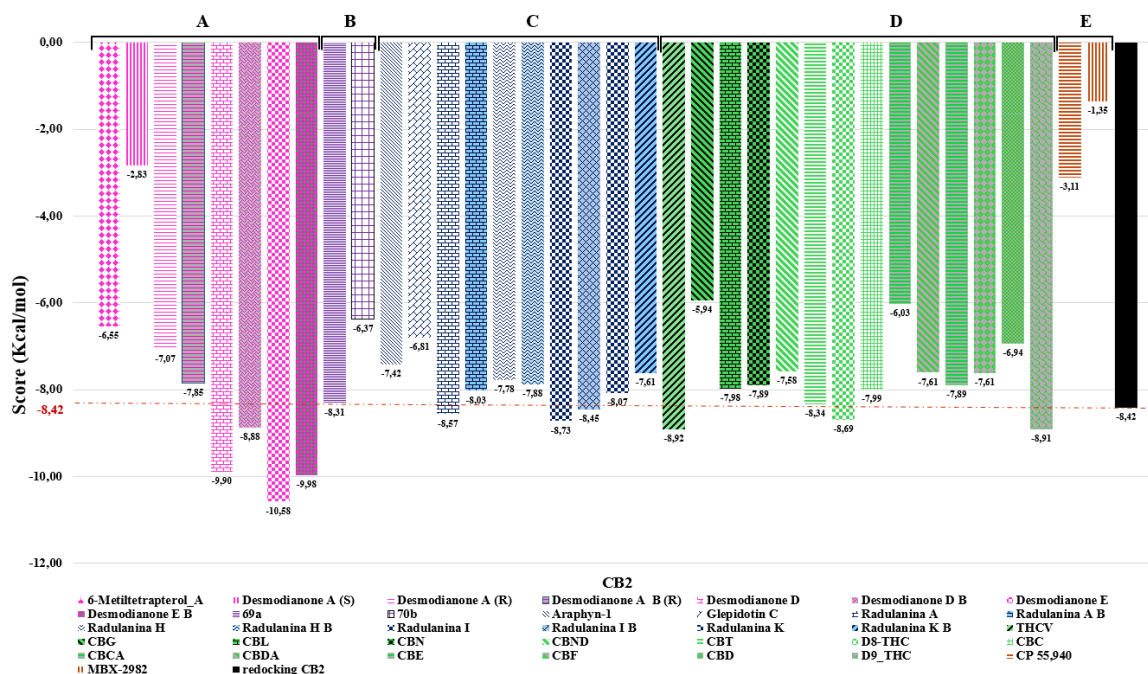


Figura 58. Resultados de docking em kcal/mol com o receptor CB₂, representado pelos grupos supostos canabinoides (A), análogos de CBC (b), análogos de CBG (C), canabinoides (D) e ligantes de referência (E) com o crivo de seleção em -8,42 kcal/mol.

O estudo de docking mostrou que apenas os endocannabinoides não apresentaram um

bom perfil de interação com o receptor. As demais moléculas apresentaram potencial para formar complexo com o receptor CB₂. Utilizamos a energia de interação obtida pelo re-docking (-8,42 kcal/mol) como valor mínimo para análise tendo em vista que o ligante CP55940 apresentou subestimação do pK_i em relação ao valor experimental.

Assim como para o receptor CB₁, as moléculas análogas de CBC, endocanabinoides e os ligantes de referência não apresentaram soluções com score inferiores ao valor de corte estabelecido (-8,42 kcal/mol). A molécula 69A apresentou score de -8,31 kcal/mol com interações do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Thr114 (2,30 Å) e interação do tipo π - π com o resíduo Phe87 (4,87 Å), Figura 111 disponibilizada no material suplementar. A molécula 69a apresentou a interações hidrofóbicas com os resíduos Phe281 (4,53 Å) e Phe91 (4,07 Å) similares ao observado nas interações entre o CP55940 e a proteína na estrutura cristalográfica.

As moléculas do grupo dos ligantes de referência CP55940 e MBX2982 apresentaram baixo potencial de interação com o receptor CB₂. A ordem de energia de interação das moléculas do grupo dos ligantes de referência segue a ordem: CP55940 (-3,11 kcal/mol), MBX2982 (-1,35 kcal/mol) e AR231453 (2,86 kcal/mol).

As moléculas do grupo dos análogos de CBG, canabinoides e supostos canabinoides apresentaram potencial para formar complexo com o receptor CB₂. No grupo dos análogos de CBG, observamos que as moléculas apresentaram de maior interação com o receptor quando comparado com o receptor CB₁ indicando que as moléculas deste grupo apresentam maior potencial de interação com o CB₂.

Como observado para o CB₁, as moléculas radulanina A (-8,57 kcal/mol) e radulanina I (-8,73 kcal/mol) apresentam a maior tendência de interação com o receptor CB₂ no grupo dos análogos de CBG. A molécula radulanina A apresentou interação do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo His95 (2,57 Å), Phe94 (3,00 Å) e Phe91 (2,32 Å). Também observamos as interações hidrofóbicas de interesse do tipo π - π com resíduo Phe87 (3,56 Å) e do tipo π - σ com o resíduo Ile110 (5,46 Å e 5,43 Å). As interações observada com o resíduo His95 indica que a radulanina A interage com resíduos envolvidos no mecanismo de ativação do CB₂⁵⁴. A molécula radulanina I apresenta ligação de hidrogênio com o resíduo Lys278 (2,13 Å) assim como interação de van der Waals com os resíduos Leu182 (2,94 Å), Glu181 (3,12 Å), Ala282 (2,79 Å) e Pro184 (2,90 Å). O efeito de ressonância altera de forma positiva a interação das moléculas radulanina A e radulanina I planificando a molécula e potencializando interações.

As interações realizadas pelos canabinoides são majoritariamente hidrofóbicas e

secundariamente ligação de hidrogênio como observado para o CB₁. Observamos que os canabinoides apresentam a interação do tipo ligação de hidrogênio com a Ser285 onde os ligantes que apresentam menor distância nesta interação apresentaram maior score. A interação com o resíduo Ser285 ativação do receptor tendo em vista que a mutação deste resíduo inibe a sua ativação ⁵⁴.

O estudo de IGM confirmou as interações do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Ser285 como uma atração forte e com alto gradiente de densidade. Observamos na Figura 59 que o estudo de IGM indica que o THCV realiza interação com os resíduos Phe94 (3,46 Å), Phe281 (3,46 Å) e Ala282 (3,46 Å). O estudo de IGM indica que as interações com os resíduos Ala282, Phe91, Phe94 e Trp258 apresentam característica de interações fortes, coloração de isosuperfícies azul.

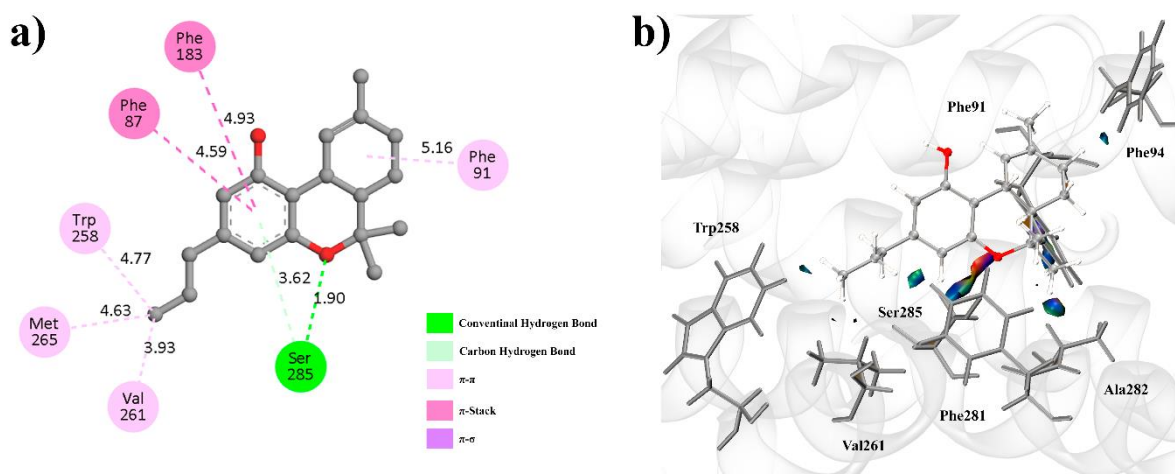


Figura 59. Representação da solução de docking do THCv com o CB2 em 2D (a) e o do estudo de IGM (b).

Como observado para o CB₁ a maior parte das interações são hidrofóbicas, essas interações no CB₂ são realizadas pela cadeia alifática com os resíduos Phe183 e Trp194. O grupo cromanol e hidroxila dos canabinoides estão principalmente envolvidos em ligações de hidrogênio com os resíduos Ser285 e His95. A molécula Δ^8 -THC e THCv apresentaram interações de interesse do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Ser285, de 2.05 Å e 1.90 Å, com as regiões de maior susceptibilidade a ataque eletrofílico, concordando com o resultado da função de Fukui. Observamos que o Δ^8 -THC apresentou interações hidrofóbicas com os resíduos de interesse Phe91 (5,38 Å), Phe94 (4,25 Å), Ile110 (5,47 Å), Phe117 (4,82 Å), Phe183 (4,86 Å) e Trp194 (3.88 Å). Enquanto o THCv apresentou interação com os resíduos de interesse Phe91 (5,16 Å), Phe87 (4,59 Å) e Phe183 (4,93 Å). As interações de ambas as

moléculas apresentam similaridade das interações das soluções geradas com as interações encontradas na estrutura cristalográfica. O perfil de interação com a cadeia alifática do CP55940 é similar ao observado para a cadeia alifática dos canabinoides.

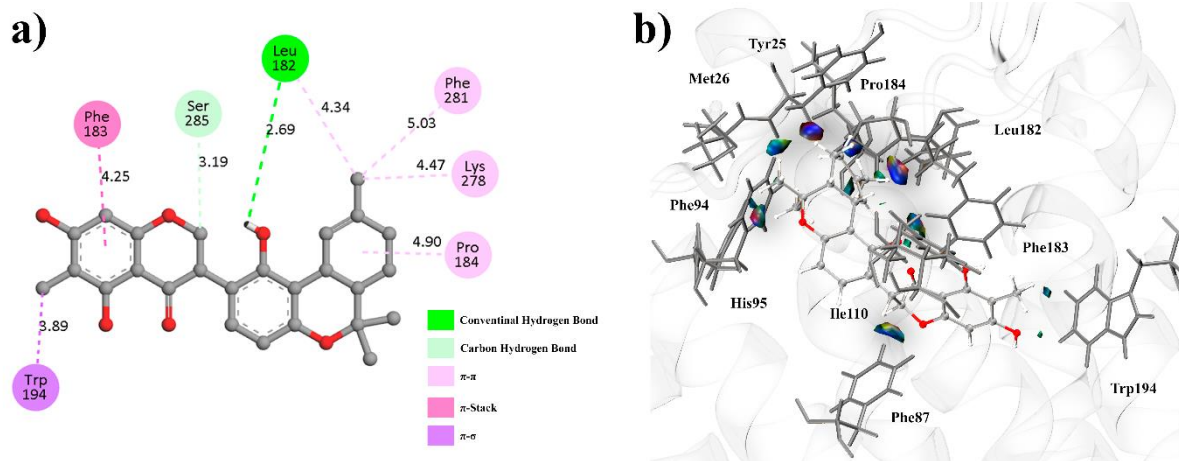


Figura 60. Representação da solução de docking da desmodianona E com o CB₂ em 2D (a) e o do estudo de IGM (b).

As moléculas do grupo dos supostos canabinoides apresentou tendência de interação forte com o receptor CB₂. As interações estão localizadas no mesmo sítio de interação do CP55940, as interações são principalmente hidrofóbicas e secundariamente do tipo ligação de hidrogênio, contrastando com o observado para o CB₁. As interações do tipo ligação de hidrogênio com maior potencial ocorrem com os grupos hidroxila e cromanol com os resíduos de interesse Ser285 e Leu182. A molécula desmodianona E permaneceu com o maior potencial de interação entre as moléculas estudadas com interações de interesse do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos Leu182 (2,69 Å), Ser285 (3,19 Å), Figura 60. Observamos as interações hidrofóbicas com os resíduos Phe183 (4,25 Å), Trp194 (3,89 Å), Pro184 (4,90 Å), Phe281 (5,03 Å) e Lys278 (4,47 Å). A molécula apresenta um perfil de interação mais amplo que o observado para os outros grupos no qual agrupa características observadas para o CP55940 como a interação com a Ser285 e maior tendência de interações hidrofóbicas.

Assim como observado para o CB₁, as interações observadas no IGM apresentam regiões de alta densidade para os complexos THCV-CB₂ e desmodianona E-CB₂. Este indício em conjunto com o potencial de interação observado para a desmodianona E aponta para um complexo de menor energia entre a molécula desmodianona E e o CB₂. Desta forma, o grupo dos receptores canabinoides apresentou maior potencial de interação com as moléculas desmodianona E e THCV.

5.4.3 Receptor acoplado a proteína G119 (GPR119)

O re-docking do MBX2982 apresentou RMSD de 0,39 Å indicando alta sobreposição da solução gerada pelo docking com a posição do ligante na estrutura cristalográfica. O ligante apresentou o score de -11,79 kcal/mol que corresponderia ao pK_i de 8,64. O ensaio de inibição da estrutura cristalográfica 7WCM indica que a interação entre o GPR119 e o MBX2982 apresenta o pK_i de 7,06⁵². Desta forma, estimamos que as simulações apresentam confiança nas posições geradas com energias de interação superestimadas.

A Figura 61 apresenta os resultados do re-docking do MBX2982 com a GPR119 onde observamos interações do tipo ligação de hidrogênio dos grupos tetrazola e ciclohexano com os resíduos Glu261 (2,75 Å) e Trp265 (2,96 Å). As interações do tipo ligação de hidrogênio observadas correspondem a interações fracas, com suas distâncias entre 2,50 e 3,20 Å.

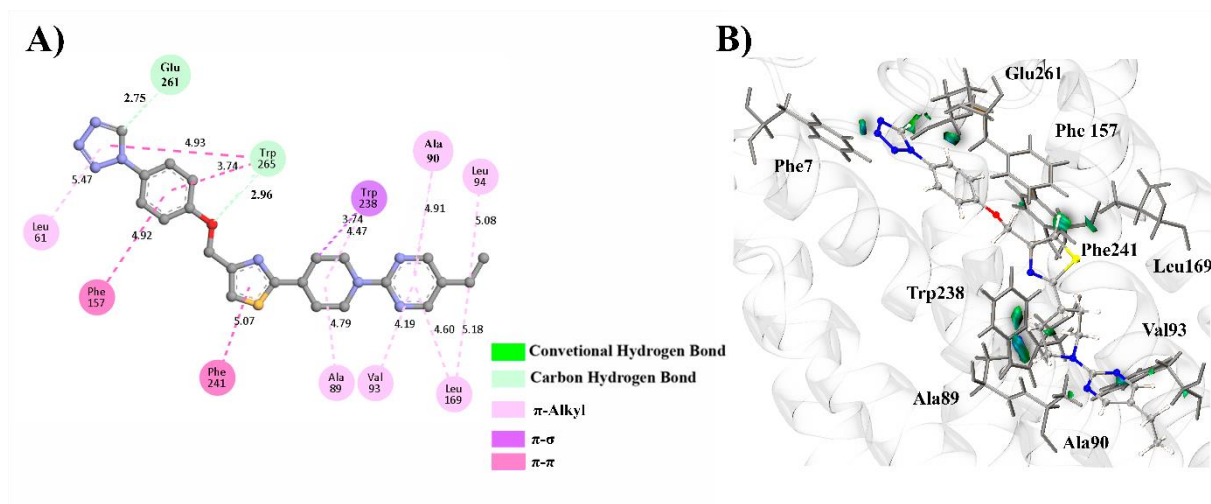


Figura 61. Representação da solução de re-docking do MBX2982 com a GPR119 em 2D (a) e o do estudo de IGM (b).

A proximidade do MBX2982 com o resíduo Gln65, correlacionado com o mecanismo de ativação da estrutura, foi reproduzida pelo docking entretanto sem indicação de interação do tipo ligação de hidrogênio no complexo receptor-ligante⁵². O estudo de IGM indica interação com o resíduo Glu261 com característica de baixa densidade. A interação com o resíduo Glu261 é um bom indicativo considerando que este resíduo está envolvido diretamente na redução significativamente o EC₅₀ mediante a sua ausência⁵².

As interações hidrofóbicas com os resíduos Ala89, Trp238 e Phe157 estão correlacionadas com a formação do bolsão hidrofóbico, necessária para a conformação ativa do receptor⁵². As interações hidrofóbicas com os resíduos Trp265, Phe241, Ala89, Phe157, Leu169 e Trp238 estão presentes no estudo de docking e na estrutura cristalográfica. Sendo

que, as interações de π -stacking com os resíduos Phe157 e Phe241, encontradas na solução de docking, são identificadas como importantes para ao processo de emparelhamento dos resíduos do receptor e ativação, processo denominado “stacking gate”⁵².

Desta forma, realizamos os demais estudos de docking com o receptor GPR119 observando com maior atenção os resíduos que apresentam interação hidrofóbica. A Figura 62 apresenta os dados de Score em kcal/mol e pK_i das soluções de docking selecionadas para o receptor GPR119, os resultados estão representados nas Tabelas 15 e 16 (ver na sessão do apêndice).

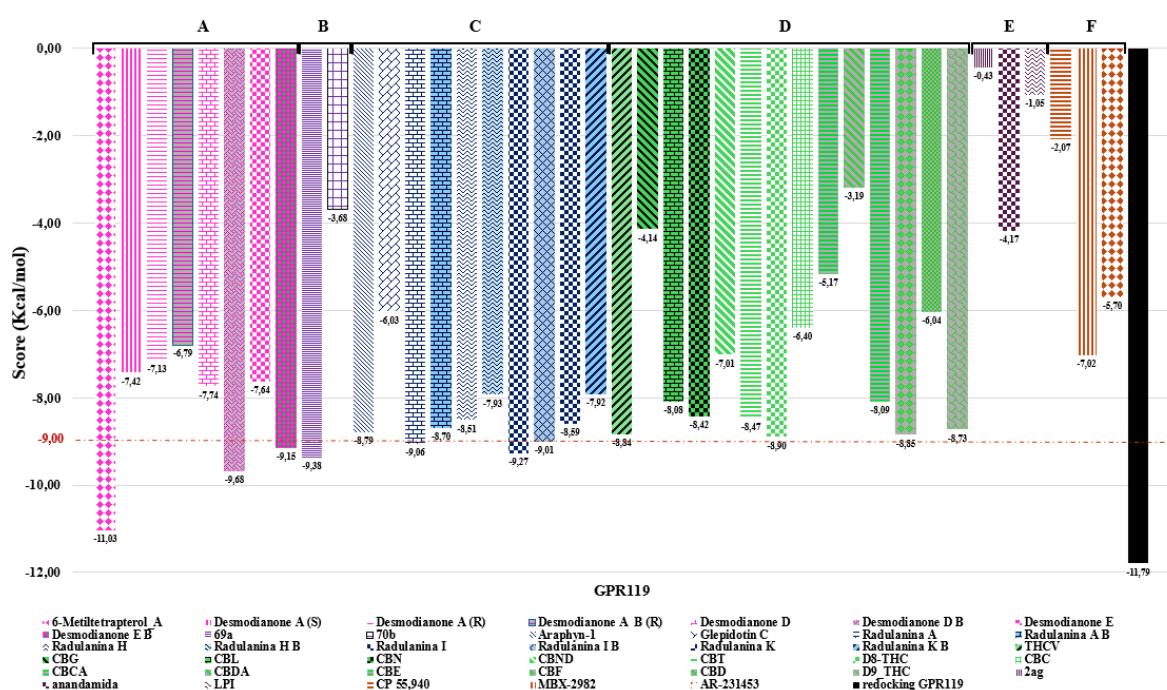


Figura 62. Resultados de docking em kcal/mol com o receptor GPR119, representado pelos grupos supostos canabinoides (A), análogos de CBC (b), análogos de CBG (C), canabinoides (D), endocanabinoides (E) e ligantes de referência (F) com o crivo de seleção em -8,40 kcal/mol.

Utilizamos a energia de interação de -9,00 kcal/mol como crivo para a identificação de estruturas com potencial ativação do receptor. O valor de utilizado correspondente a potencial de ativação da estrutura em concentração de 0,25 μ M, pK_i de 6,6. As estruturas da família GPR119, GPR55 e GPR18 não seguiram a tendência de grupo observado para os receptores canabinoides. Os canabinoides, endocanabinoides e ligantes de referência não apresentaram soluções com score inferiores ao crivo estabelecido (-9,00 kcal/mol).

As moléculas do grupo dos ligantes de referência apresentaram potencial de interação intermediário com o receptor GPR119. A ordem de interação no grupo dos ligantes de referência segue a ordem: MBX2982 (-7,02 kcal/mol), AR231453 (-5,70 kcal/mol) e CP55940

(-2,07 kcal/mol). O CP55940 apresentou baixo potencial de interação com o receptor GPR119, este dado corrobora com o encontrado na literatura de baixa atividade do receptor na presença deste ligante e de canabinoides ²¹⁷. Os ligantes MBX2982 (-7,02 kcal/mol) e AR231453 (-5,70 kcal/mol) apresentaram menor energia de interação com o receptor que o observado no re-docking.

O ligante MBX2982 apresentou estar localizado na mesma região do re-docking e apresenta interações hidrofóbicas com os resíduos Phe241 (4,86 Å), Trp265 (3,06 Å, 4,88 Å e 3,91 Å), Leu94 (4,34 Å e 2,23 Å), Phe157 (3,93 Å), Leu169 (5,18 Å e 3,91 Å) e Trp238 (4,93 Å). Observamos que a solução está localizada no sítio de referência com interações similares a estrutura cristalográfica, entretanto observamos a inversão em 180,00 graus do ligante, Figura 63.

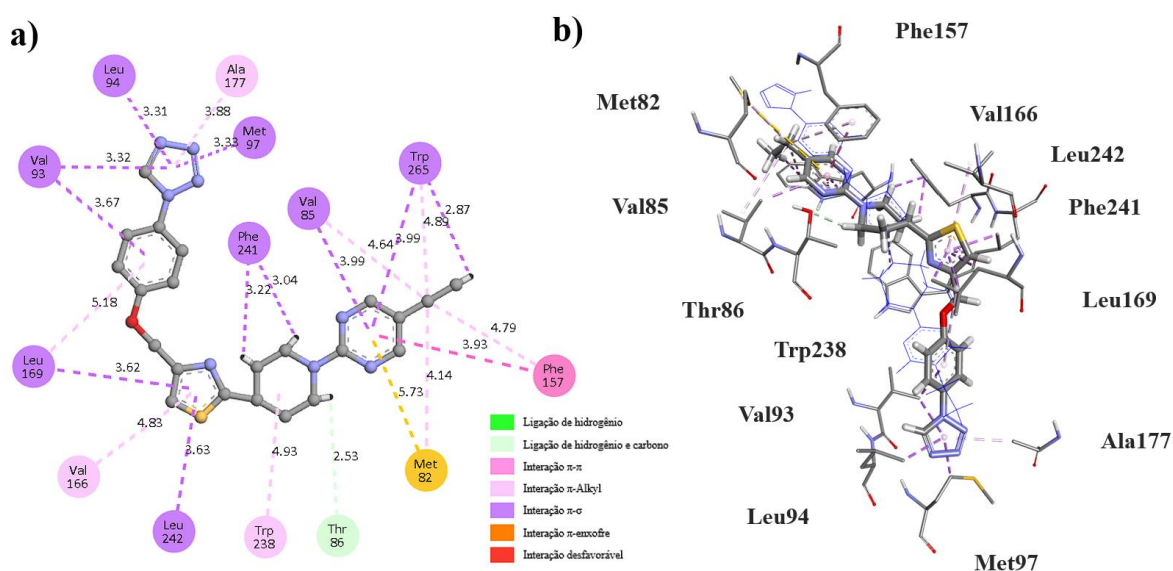


Figura 63. Representação 2D das interações do ligante MBX2982 otimizado com DFT com a GPR119 (a) e representação 3D de interações realizadas pelo ligante MBX2982 otimizado com DFT com a GPR119 e posição de referência do ligante MBX2982 em azul (b)

As moléculas de endocannabinoides apresentaram baixo potencial de interação com o receptor. O potencial de interação observada para o grupo segue a ordem: Anandamida (-4,17 kcal/mol), LPI (-4,17 kcal/mol) e 2-AG (-0,43 kcal/mol). A anandamida apresentou indicação de possível ativação do receptor por interações com resíduos diferentes dos observados na estrutura cristalográfica. Observamos interações de interesse do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Leu94 (2,20 Å) e hidrofóbicas com os resíduos Leu169 (4,82 Å) e Phe157 (4,87 Å e 4,94 Å).

O potencial de interação com o receptor GPR119 para as moléculas do grupo dos

canabinoides foi inferior ao observado para os receptores canabinoides. Observamos a adição do CBF neste grupo e conservação das moléculas Δ^8 -THC e THCV como principais canabinoides raros. Os canabinoides conservaram a tendência de realização majoritária de interações hidrofóbicas.

Como exemplo, o THCV apresentou interação do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Thr86 (2,18 Å) e interações hidrofóbicas de interesse do tipo π -alquil com os resíduos Phe157 (4,24 Å), Trp265 (4,11 Å), Ala89 (4,75 Å) e Leu169 (5,47 Å, 4,12 Å e 4,97 Å). Em contra partida o CBF apresentou a interação do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Val85 (2,38 Å) e interações hidrofóbicas de interesse do tipo π -alquil com os resíduos Phe157 (3,81 Å), Trp265 (3,56 Å), Trp238 (3,80 Å). Os demais canabinoides apresentaram tendência similar, ao realizar uma interação do tipo ligação de hidrogênio e as outras interações do tipo hidrofóbicas.

Os análogos de CBC, análogos de CBG e supostos canabinoides contém moléculas com potencial de interação superior ao crivo estabelecido. As moléculas do grupo dos análogos de CBC ,70b e 69a apresentaram energia de interação com score -3,68 kcal/mol e -9,38 kcal/mol. A molécula 69A apresentou o maior score de -9,38 kcal/mol com interações de interesse do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Ala90 (3,02 Å) e interação hidrofóbica do tipo com os resíduos Ala89 (4,67 Å) e Phe157 (3,20 Å), Trp238 (4,46 Å).

Os análogos de CBG possui moléculas com potencial de interação com o receptor GPR119. Esta classe de moléculas apresentou as melhores energias de interação com o receptor GPR119, quando comparado ao observado para os receptores canabinoides. A molécula radulanina A apresentou interação do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Ala90 (2,89 Å) e Thr86 (2,02 Å) assim como interações com os resíduos de interesse Leu169 (5,21 Å), Trp238 (3,74 Å e 4,57 Å), Ala89 (4,58 Å), Phe157 (4,42 Å) e Trp265 (3,98 Å). A molécula radulanina I apresentou menor quantidade de interações que a radulanina A, respectivamente uma interação do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Glu261 (2,37 Å) e interações hidrofóbicas de interesse com os resíduos Phe157 (4,01 Å), Trp265 (3,28 Å e 4,23 Å), Trp238 (4,86 Å) e Ala89 (4,15 Å).

As moléculas do grupo dos supostos canabinoides (Figura 64) apresentou forte potencial de interação com o receptor GPR119. As interações estão localizadas no mesmo sítio de interação do MBX2982 e são majoritariamente hidrofóbicas seguindo a tendência observada para os outros grupos.

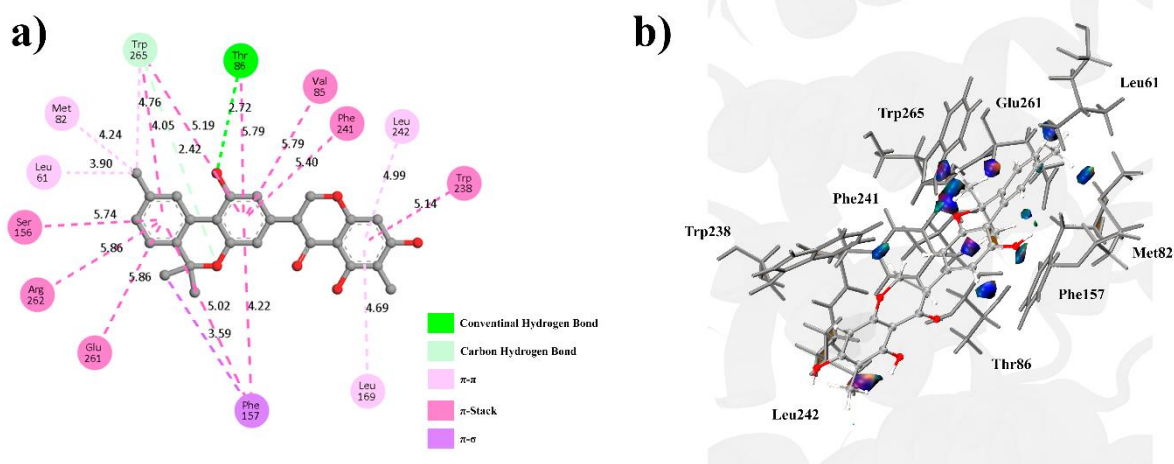


Figura 64. Representação da solução de docking do 6-metiltetraeprol A com o GPR119 em 2D (a) e o do estudo de IGM (b).

A molécula 6-metiltetraeprol A apresentou uma interação do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Thr86 (2,72 Å) e interações hidrofóbicas com os resíduos de interesse Phe241 (5,40 Å), Trp265 (4,05 Å), Phe157 (3,59 Å, 5,02 Å e 4,22 Å), Leu169 (4,69 Å) e Trp238 (5,14 Å), Figura 64. As interações e o estudo de IGM indicam que a moléculas 6-metiltetraeprol A apresenta forte potencial de modulação na conformação ativa do receptor GPR119. Os resultados observados no estudo indicam que as interações com os resíduos Trp238, Thr86, Leu242, Phe157, Met82, Leu61, Glu261, Trp265 e Phe241 apresentam alta densidade e consequente forte tendência de interações fortes.

5.4.4 Receptor acoplado a proteína G 55 (GPR55)

O re-docking do LPI apresentou RMSD de 0,23 Å indicando alta sobreposição da solução gerada pelo docking com a posição do ligante na estrutura cristalográfica. O ligante apresentou o score de -9,65 kcal/mol que corresponderia ao pK_i de 7,07. Ruixue e colaboradores demonstraram que o LPI apresentou a inibição da GPR55 com pK_i de 6,51⁵⁷. Desta forma, estimamos que as simulações apresentam confiança nas posições geradas com energias de interação próximas ao valor esperado.

A Figura 65 apresenta os resultados do re-docking do LPI com o GPR55 onde observamos interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos Met172 (1,612 Å), Trp177 (2,12 Å), Asn171 (2,01 Å, 2,25 Å e 2,29 Å), His170 (2,13 Å e 1,89 Å), Asn16 (2,58 Å e 2,20 Å) e Phe12 (2,28 Å). As interações observadas entre o LPI e os resíduos Met172, Trp177, Asn171, His170, Asn16 correspondem a interações forte com distância inferior a 2,50 Å. A interação com os resíduos Phe12 com o LPI possuem distância entre 2,50 e 3,20 Å. As

interações com os resíduos Met172, Trp177, Asn171, His170 são observadas na estrutura cristalográfica e consideradas essenciais para a fixação do LPI no receptor com subsequente modulação do receptor na conformação ativa ⁵⁷.

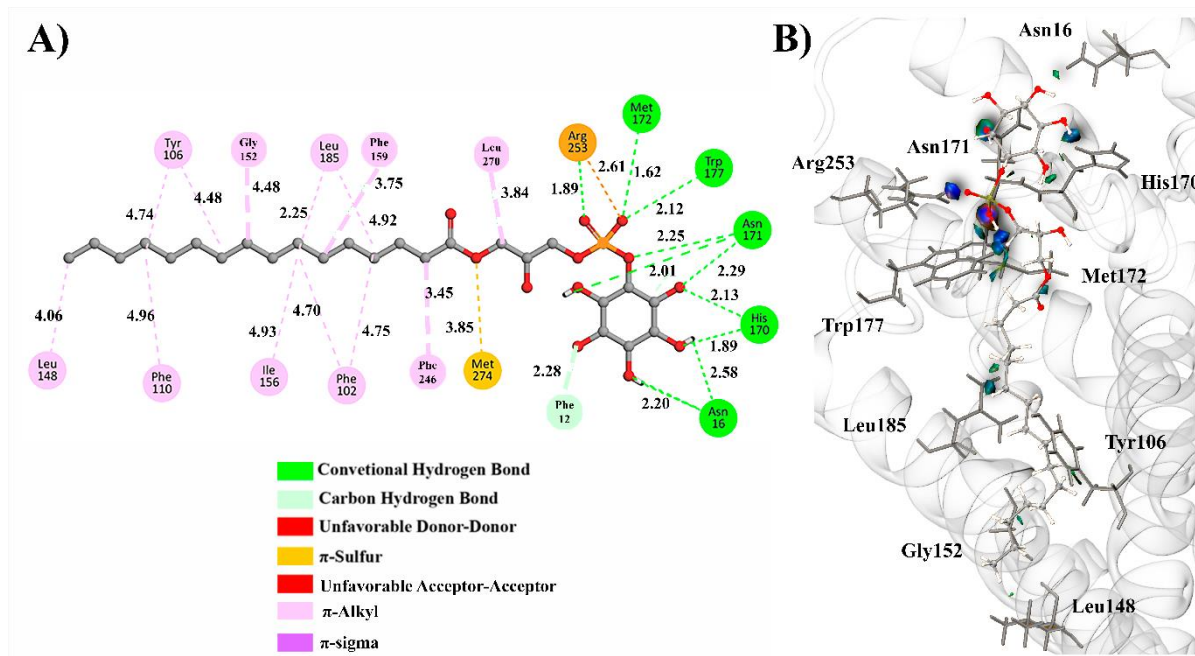


Figura 65. Representação da solução de re-docking do LPI com a GPR55 em 2D (a) e o do estudo de IGM (b).

O estudo de IGM indica que as interações com os resíduos Met172, Trp177, Asn171, His170 apresentam alta densidade estas regiões consistem com interações do tipo ligação de hidrogênio na estrutura cristalográfica, relatadas na literatura como estabilizadoras da posição do ligante ⁵⁷. A interação realizada pela Arg253 está relatada como chave para a atividade do receptor, podemos observar que esta interação é realizada com o grupo fosfato impedindo a entrada dos grupos polares do LPI na parte hidrofóbica do receptor ⁵⁷.

O LPI realiza interações hidrofóbicas do tipo π -alkyl com os resíduos Leu270 (3,84 Å), Phe246 (3,45 Å), Phe159 (3,75 Å), Phe102 (4,75 Å e 4,70Å), Leu185 (4,92 Å e 2,25 Å), Ile156 (4,93 Å), Gly152 (4,48 Å), Tyr106 (4,74 Å e 4,48 Å), Phe110 (4,96 Å) e Leu148 (4,06 Å) da estrutura do GPR55. Entre estas vale destacar interações com os resíduos de interesse Phe102, Ile156 e Tyr106 indicados como os principais resíduos do bolsão hidrofóbico ⁵⁷. O estudo de IGM sugere que os resíduos Leu185, Tyr106, Gly152 e Leu148 apresentam interações com o ligante com características de interação de van der Waals, a interação com os resíduos Leu185, Gly152 e Leu148 podem colaborar na estabilização da conformação ativa do receptor.

A Figura 66 apresenta os dados de Score em kcal/mol e pK_i das soluções de docking selecionadas para o receptor GPR55, os resultados estão representados nas tabelas 15 e 16 (ver sessão de Anexos).

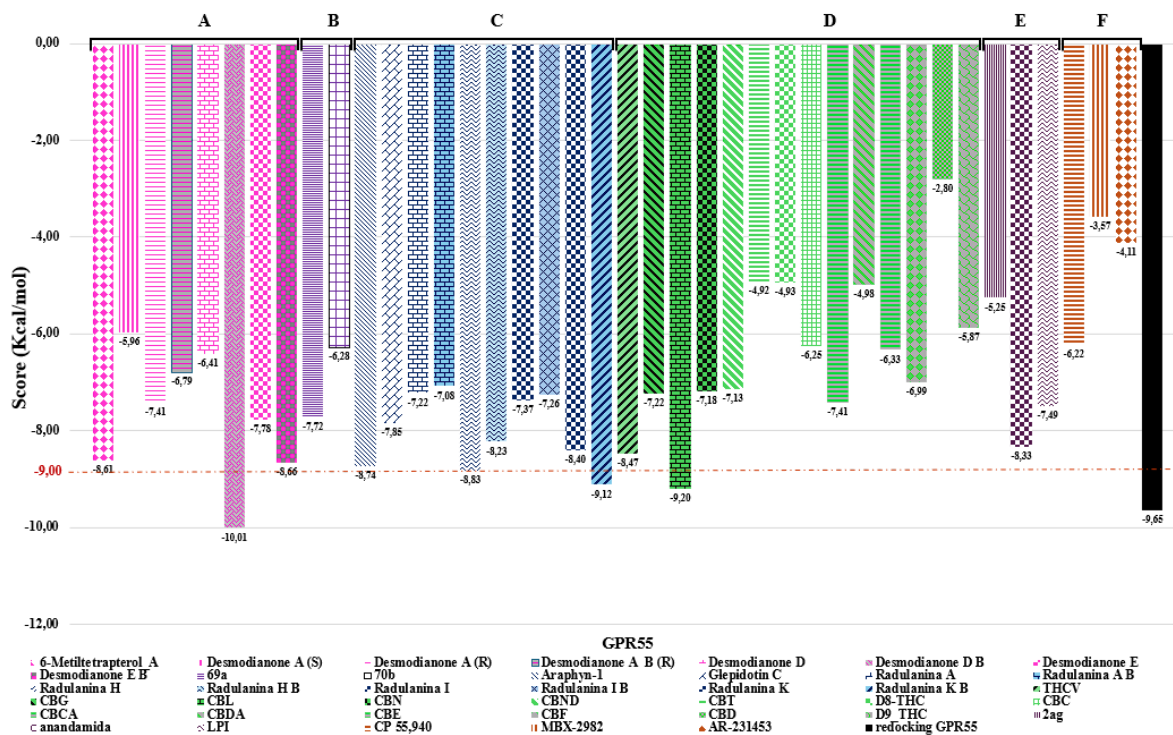


Figura 66. Resultados de docking em kcal/mol com o receptor GPR55, representado pelos grupos supostos canabinoides (A), análogos de CBC (b), análogos de CBG (C), canabinoides (D), endocanabinoides (E) e ligantes de referência (F) com o crivo de seleção em -8,40 kcal/mol.

Utilizamos o crivo de seleção para o estudo de docking da GPR119 na GPR55, energia de interação de -9,00 kcal/mol. A GPR55 apresentou menor potencial de interação que o observado para os outros receptores estudados neste trabalho. Seguindo a tendência dos receptores canabinoides, as moléculas de análogos de CBC, endocanabinoides e os ligantes de referência não apresentaram soluções com score inferiores ao crivo estabelecido (-9,00 kcal/mol).

As moléculas do grupo dos análogos de CBC, 70b e 69a apresentaram a energia de interação com score -7,72 kcal/mol e -6,28 kcal/mol. A molécula 69A apresentou o maior score de -7,572 kcal/mol com interações hidrofóbicas com os resíduos de interesse Met172 (5,65 Å), Trp177 (5,58 Å), Ile156 (4,94 Å) e Leu185 (5,47 Å). As interações hidrofóbicas apresentadas apresentaram similaridade com o observado na estrutura cristalográfica. As interações com os resíduos Met172 e Trp177 indicam que o ligante apresenta a potencial de interagir com a porção superior do receptor com os resíduos Met172 e Trp177 relatados como envolvidos no mecanismo de ativação do receptor⁵⁷.

As moléculas CP55940 e AR231453 do grupo dos ligantes de referência apresentaram baixo potencial de interação com a GPR55.

As moléculas de endocanabinoides apresentaram o maior potencial de interação com a GPR55 quando comparado aos demais receptores. A anandamida apresentou maior potencial de interação apresentando interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos Phe12 (3,69 Å) e Asn16 (2,55 Å). Ambos os resíduos estão envolvidos no bolsão hidrofóbico do receptor⁵⁷. A conformação do ligante LPI apresentou menor energia de interação com o receptor que o observado no re-docking. O ligante apresentou ligação de hidrogênio com os resíduos His70 (1,78 Å), Asn16 (2,65 Å), Ser267 (2,93 Å), Trp177 (2,39 Å) e Asn171 (2,36 Å, 3,07 Å e 2,97 Å). Observamos que o alto grau de liberdade da cadeia alifática do LPI é essencial para a interação com o bolsão hidrofóbico e subsequente modulação do receptor.

Os grupos dos análogos de CBG, canabinoides e supostos canabinoides apresentaram moléculas com potencial de interação com o receptor mimetizando o comportamento observado para os receptores canabinoides. A molécula radulanina K B apresentou interação do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Val181 (2,76 Å) assim como interações com os resíduos de interesse Trp177 (3,87 Å e 3,50 Å), Ile156 (5,25 Å) e Ile185 (2,89 Å), Phe102 (5,24 Å) e Met172 (3,44 Å). As interações realizadas pelo grupo são majoritariamente hidrofóbicas seguindo o comportamento observado para os outros receptores canabinoides. As demais moléculas seguiram o padrão de interação da molécula radulanina K B.

A molécula radulanina A não apresentou interações do tipo ligação de hidrogênio indicando baixo potencial de modulação do receptor. O efeito de ressonância, e consequente aumento da hidrofobicidade, modula de forma negativa a interação das moléculas com o receptor GPR55. O grupo das moléculas canabinoides apresentou maior potencial de interação com os receptores canabinoides que com o receptor GPR55. Os canabinoides apresentaram maior quantidade de interações hidrofóbicas que interações do tipo ligação de hidrogênio, e mostraram tendência de apresentarem soluções no estudo de docking, localizadas na região polar do LPI. Observamos que as interações do tipo ligação de hidrogênio ocorrem principalmente entre as regiões de alta densidade eletrônica dos ligantes com os resíduos Arg253, His170, Met172, Asn171 e Trp177. As interações observadas são similares a observado na estrutura cristalográfica. As moléculas do grupo dos supostos canabinoides (Figura 67) apresentou maior tendência de interação com a GPR119 que com a GPR55.

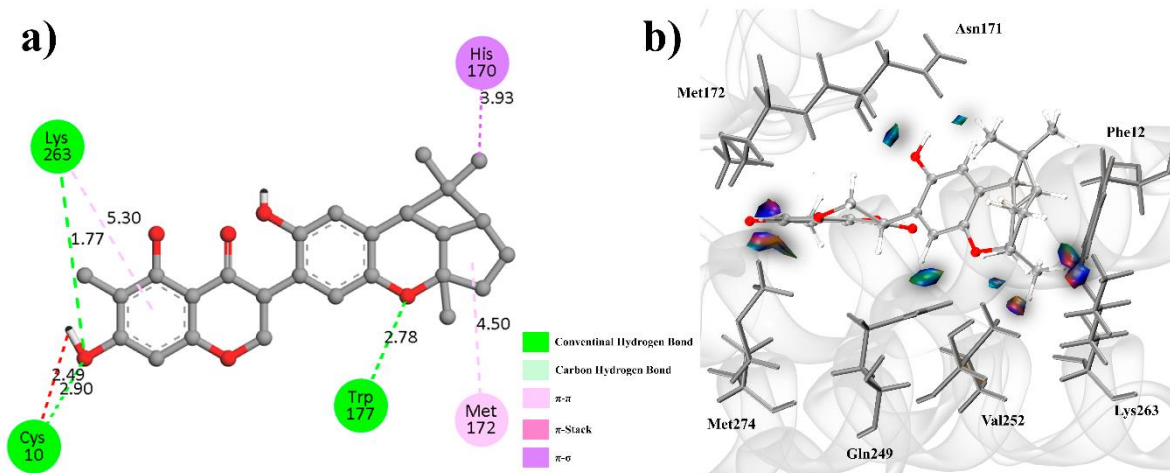


Figura 67. Representação da solução de docking da desmodianona D B com a GPR55 em 2D (a) e o do estudo de IGM (b).

A desmodianona D B (Figura 67) apresentou interação do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos Ly263 (1,77 Å), Cys10 (2,90 Å) e Trp177 (2,78 Å) assim como interações hidrofóbicas com os resíduos de interesse His170 (3,93 Å) e Met172 (4,50 Å). As interações com o resíduo Met172 apresentou alta densidade correspondendo a uma interação de potencial forte. O estudo de IGM ainda demonstrou regiões de alta densidade entre o ligante e os resíduos Met274, Gln249 Val252, Lys263, Phe12 e Asn171.

Os resultados indicam que as maiores tendências de interação com o receptor GPR55 corresponde a moléculas dos grupos dos canabinoides e supostos canabinoides. A energia de interação observada ainda indica que os canabinoides possuem preferência pelos receptores canabinoides. A similaridade de propriedades físico-químicas como lipofilicidade dos canabinoides com os endocanabinoides podem estar correlacionadas com a ativação do receptor GPR55. Ademais, o grupo cromanol presente nos supostos canabinoides aumentam o potencial de interação dos canabinoides com o GPR55. Por fim, os resultados de docking indicam que o aumento da eletronegatividade e regiões com alta densidade eletrônica no ligante favorecem a interação com a GPR55.

5.4.5 Receptor acoplado a proteína G 18 (GPR18)

O estudo de docking com o GPR18 indicou soluções com baixa energia de interação, inferior a -9,00 kcal/mol (Figura 68). Resíduos definidos como tendenciosos a apresentarem interação nos receptores anteriores devido a modelos cristalográficos não foram bem definidos na estrutura da GPR18. Assim, a estrutura utilizada não apresentou a formação dos bolsões hidrofóbicos, presentes nas estruturas GPR119 e GPR55, gerando menores energias de

interação nos complexos receptores-ligantes gerados no estudo de docking.

A ausência do bolsão hidrofóbico definido aumentou o número de resíduos que realizam interações com as moléculas dispersando a região de docagem dos ligantes. A utilização do modelo gerado pelo algoritmo do AlphaFold mostrou menor grau de confiança quando comparado com os modelos derivados de estruturas cristalográficas resolvidas experimentalmente.

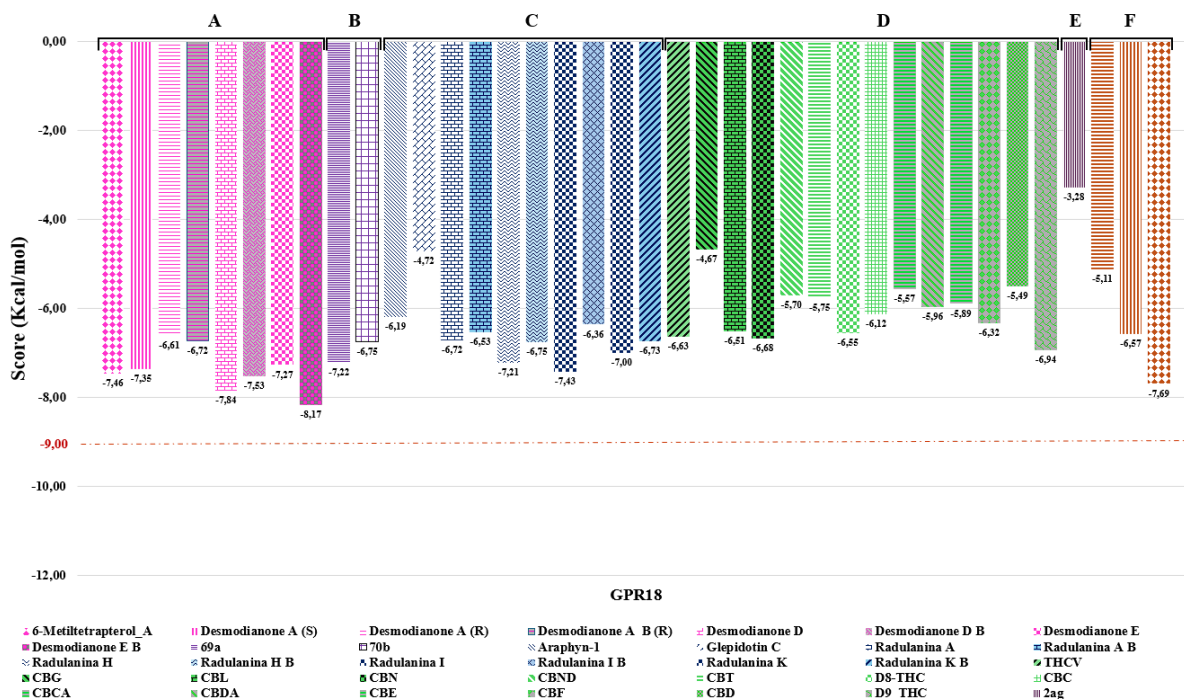


Figura 68. Resultados de docking em kcal/mol com o receptor GPR18, representado pelos grupos supostos canabinoides (A), análogos de CBC (b), análogos de CBG (C), canabinoides (D), endocanabinoides (E) e ligantes de referência (F) com o crivo de seleção em -8,40 kcal/mol.

As moléculas do grupo dos endocanabinoides apresentou a menor tendência de interação com o receptor. A tendência de interação no grupo dos endocanabinoides segue a ordem: 2-AG (-3,28 kcal/mol), anandamida (1,22 kcal/mol) e LPI (8,99 kcal/mol). A molécula 2-AG apresentou interação do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Asp85 (1,90 Å) assim como a interação hidrofóbica com o resíduo Tyr81 (3,97 Å).

As moléculas do grupo dos ligantes de referência apresentaram baixa energia de interação. A ordem de interação no grupo dos ligantes de referência segue a ordem: AR231453 (-7,69 kcal/mol), MBX2982 (-6,57 kcal/mol) e CP55940 (-5,11 kcal/mol). O ligante AR 231453 apresentou interação do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos Asn265 (1,94 Å), Tyr82 (2,12 Å e 2,17 Å) e Arg78 (3,08 Å) e uma interação hidrofóbica com o resíduo Leu255 (4,64 Å). Os demais ligantes apresentaram maior quantidade de interações do tipo hidrofóbicas que do tipo ligação de hidrogênio.

As moléculas do grupo dos análogos de CBC, 70b e 69a, apresentaram energia de interação com score de -6,75 kcal/mol e -7,22 kcal/mol, respectivamente. A molécula 69A apresentou interações do tipo ligação de hidrogênio dos átomos O1 e O16 com os resíduos Arg78 (2,09 Å) e Cys172 (2,39 Å). A localização da solução de docking se sobrepõe com o observado para o grupo dos ligantes de referência, correlacionamos a tendência de interação entre os grupos eletronegativos das moléculas com a carga positiva do resíduo Arg78.

Os análogos de CBG apresentaram, no geral baixo potencial de interação com o receptor GPR18. A molécula radulanina I (-7,43 kcal/mol) apresentou a maior tendência de interação no grupo dos análogos de CBG com interação do tipo ligação de hidrogênio dos átomos O1 e O16 com os resíduos Thr101 (2,26 Å) e Arg78 (2,75 Å) assim como interações hidrofóbicas dos grupos estireno e metila com os resíduos Trp87 (5,23 Å), Leu97 (3,37 Å) e Tyr82 (5,04 Å).

As moléculas do grupo dos canabinoides apresentou baixa tendência de interação com o receptor GPR18. Observamos que o pK_i destes ligantes correspondem a 4,30 e 6,00, menor que o encontrado na literatura indicando subestimção da concentração necessária para a modulação do receptor ²¹⁸.

As interações realizadas pelos canabinoides (Figura 69) são majoritariamente do tipo hidrofóbicas. O CBL apresentou a melhor energia de interação com o receptor realizando interação do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Arg78 (3,98 Å) as demais interações realizadas observadas são hidrofóbicas. O estudo de NCI confirma que a maior densidade, região em azul, está presente na interação com a Arg78 e as demais interações apresentam densidade inferior (verde). O comportamento observado para o CBL é reproduzido nos outros canabinoides, indicando alta tendência de interação com a Arg78.

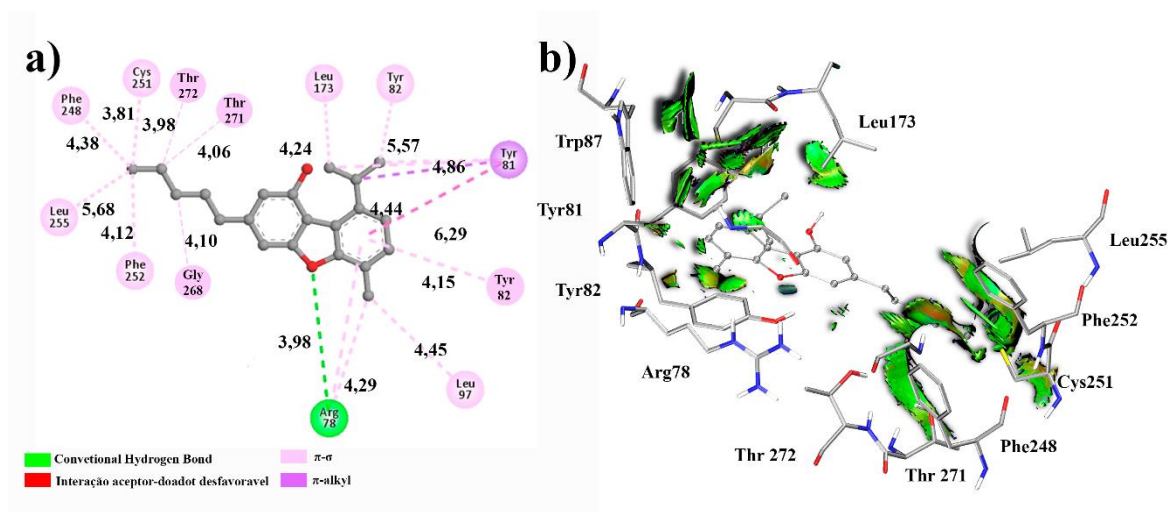


Figura 69. resultado do estudo de docking da molécula CBL com o receptor GPR18 (a) e estudo de NCI (b).

As moléculas do grupo dos supostos canabinoides apresentou as moléculas com maior tendência de interação com a GPR18. A desmodianona E B apresentou interação do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Cys251 (2,68 Å) e interação hidrofóbica com os resíduos Cys172 (2,90 Å), Trp87 (4,44 Å), Leu97 (3,82 Å e 5,35 Å) e Arg78 (3,78 Å, 4,82 Å e 5,22 Å). O resíduo Arg78 apresentou interação por meio de ponte salina, ligação de hidrogênio e interação hidrofóbica com as moléculas do grupo dos supostos canabinoides. Desta forma o resíduo Arg78 permanece como um resíduo de interesse para a modulação do receptor, sendo que os supostos canabinoides seguem a tendência de interação com este resíduo.

O receptor GPR18 apresentou o menor energias de interação com as moléculas estudadas indicando baixo potencial de ativação mediante a presença de canabinoide e miméticos. Observa-se que na literatura que endocannabinoides e canabinoides modulam a atividade do GPR18 ⁵³. Entretanto nossos estudos indicam que essa modulação é fraca com maior tendência dos canabinoides e miméticos apresentarem maior potencial de interação com outras estruturas.

5.5 Correlação por Heatmap

Realizamos a correlação de todos os dados obtidos nos estudos de estrutura eletrônica, ADMET e docking para classificar as moléculas estudadas por meio das propriedades levantadas. A análise de correlação foi realizada com o método de heatmap para análise de agrupamento das moléculas em grupos. Realizamos a correlação dos dados em 3 etapas com a adição seriada dos dados dos estudos para a observação do efeito de cada grupo. Sendo assim, obtivemos a correlação dos dados advindos dos estudos de estrutura eletrônica + ADMET, e estrutura eletrônica + ADMET + docking.

Utilizamos os dados obtidos a partir dos cálculos de estrutura eletrônica para realizar a correlação por heatmap, apresentada na Figura 70. Os dados utilizados para o heatmap estão presentes nas Tabelas 9 e 10 do Apêndice.

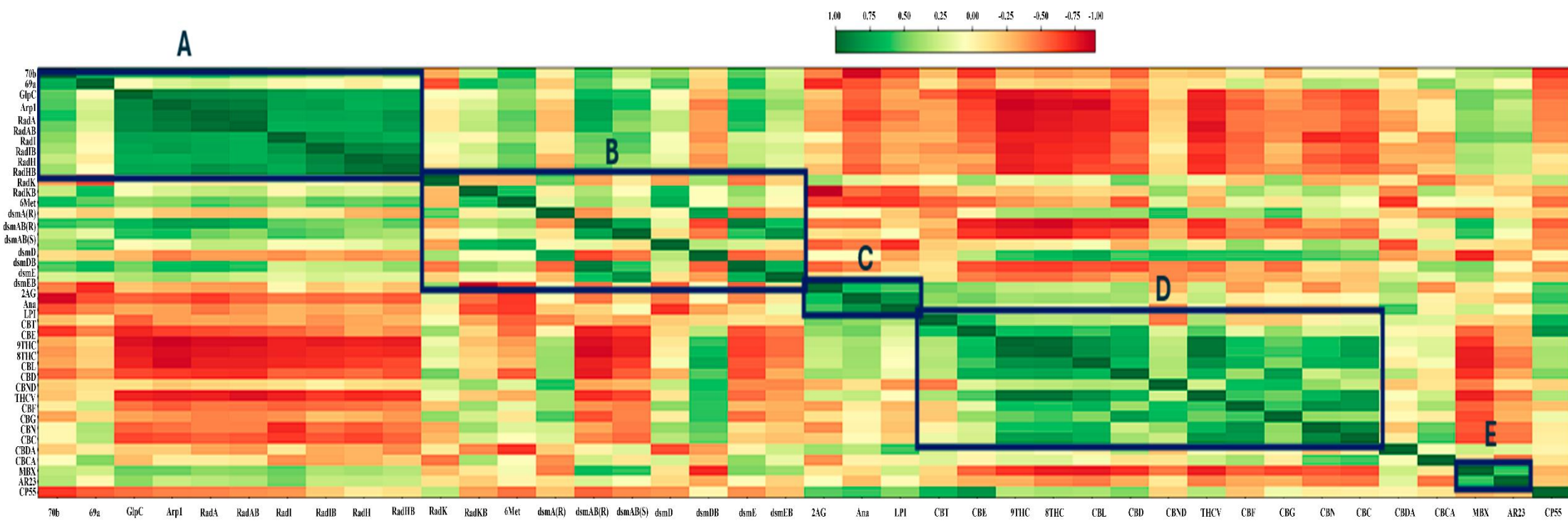


Figura 70. Heatmap com os dados obtidos a partir das estruturas eletrônicas.

Os descritores derivados da estrutura eletrônica indicam o agrupamento em 5 grupos, contrastando o observado pela PCA. O grupo A corresponde aos análogos de CBC e análogos de CBG com exclusão das moléculas radulanina K e radulanina K B. O grupo B corresponde aos grupos dos supostos canabinoides e a radulanina K e radulanina K B. O grupo C corresponde aos endocanabinoides. O grupo D corresponde aos canabinoides. O grupo E corresponde aos ligantes de referência AR 231453 e MBX2982.

O conjunto de dados de descritores eletrônicos apresenta uma divisão inicial das estruturas estudadas, porém ainda não são suficientes para a compreensão e separação correta dos grupos estudados. O grupo B em específico apresentou pouca diferenciação dos outros grupos. Os grupos A e B apresentam diferenças consideráveis que devem ser levadas em consideração para a separação por algoritmo de heatmap.

O estudo de heatmap converge com o estudo de PCA com a identificação da diferença entre as estruturas de referência, assim como a diferenciação dos análogos de canabinoides e canabinoides. Assim como o observado para a PCA, observamos uma alta similaridade da Desmodianona D B e Desmodianona A (R) com os canabinoides e do CP55940 com os canabinoides e endocanabinoides.

A construção do segundo estudo de heatmap foi realizada exclusivamente 37 propriedades para a análise ADMET e as propriedades de estrutura eletrônica. Desta forma aplicamos os descritores farmacocinéticos para a melhor descrição das moléculas e melhor separação dos grupos, tabelas 11, 12, 13 e 14 (ver sessão do apêndice). A Figura 71 apresenta o heatmap obtido.

Observamos a divisão do heatmap com 7 grupos nomeados de A até G. O grupo A é formado pelas moléculas 70b, 69a, glepidotin C, araphin 1, radulanina A, radulanina A B, radulanina I e radulanina I B. O grupo B é formado pelas moléculas radulanina H, radulanina H B, radulanina K e radulanina K B. Estes grupos compartilham as moléculas dos análogos de CBC e análogos de CBG. Os análogos de CBC estão no grupo A e os análogos de CBG estão divididos entre os grupos A e B.

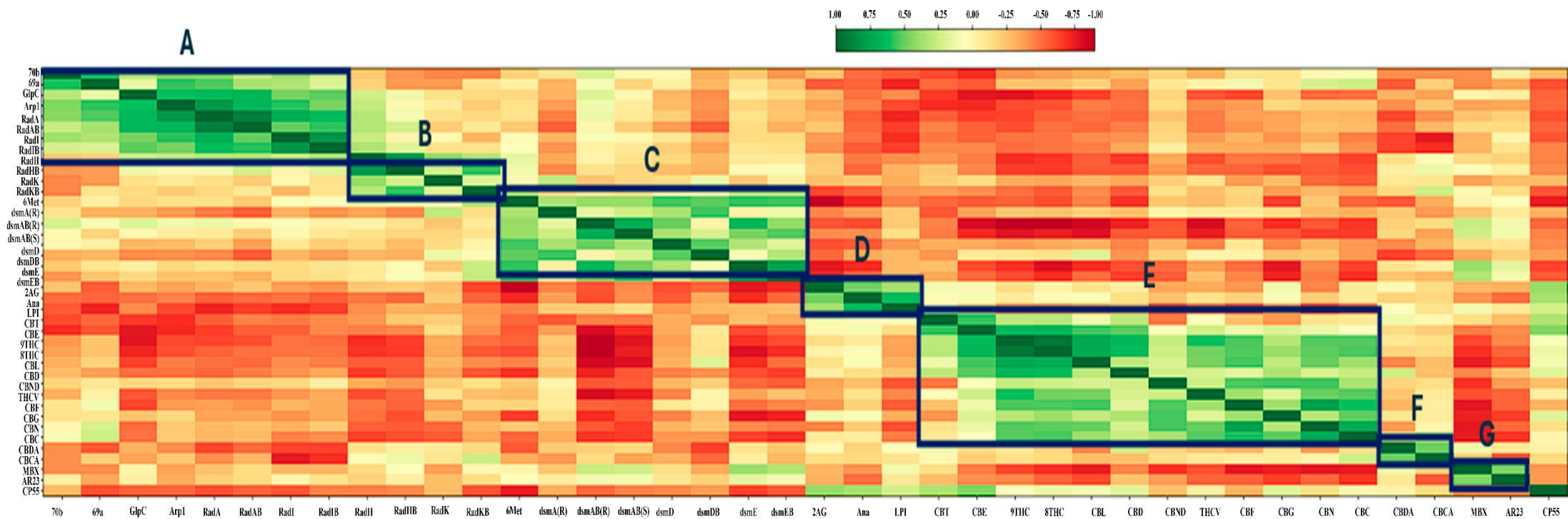


Figura 71. Heatmap das moléculas estudadas com os dados obtidos a partir dos estudos de estrutura eletrônica, ADMET e Docking.

A adição dos dados de ADMET foram cruciais para a classificação e diferenciação dos grupos C, D, E, F e G. Os grupos C (supostos canabinoides) e D (endocannabinoides) são compostos por apenas uma classe de moléculas. Os grupos E e F são compostos pela classe dos canabinoides sendo que as moléculas ácidas CBDA e CBCA compõem o grupo F, as demais compõem o grupo E. Por fim, observamos que os ligantes de referência compõem o grupo G. Em seguida, aplicamos os resultados obtidos pelo estudo de docking, Tabelas 15 e 16, resultados estão mostrados na Figura 122 da sessão do Apêndice.

As propriedades advindas do estudo de docking não apresentou grande alteração na estrutura da classificação por heatmap. Observamos a permanência da divisão do mapa com 7 grupos nomeados de A até G. A composição dos grupos permaneceu a mesma observada para a análise com os dados de estrutura eletrônica e ADMET.

Desta forma, o grupo A é formado pelas moléculas 70b, 69a, glepidotin C, Aaraphin 1, radulanina A, radulanina A B, radulanina I e radulanina I B. O grupo B é formado pelas moléculas radulanina H, radulanina H B, radulanina K e radulanina K B. Os grupos C (supostos canabinoides) e D (endocannabinoides) são compostos por apenas uma classe de moléculas. Os grupos E e F são compostos pela classe dos canabinoides sendo que as moléculas ácidas CBDA e CBCA compõem o grupo F, as demais compõem o grupo E. Por fim, observamos que os ligantes de referência compõem o grupo G.

Sendo assim, o estudo de heatmap indica que as moléculas apresentam características que podem ser agrupadas em 7 grupos. A divisão do grupo E e F corresponde a divisão de canabinoides e suas formas ácidas. O estudo de heatmap indica que é interessante a separação destes grupos e respectiva análise para cada grupo. A análise dos dados indica que os canabinoides e os análogos de canabinoides apresentam distinção apesar das semelhanças de atividade farmacológica e estrutural, respectivamente grupos A, B e E.

Segundo os parâmetros analisados os canabinoides apresentam distinção das formas ácidas assim como uma alta semelhança dos análogos de CBC e análogos de CBG. Os endocannabinoides apresentam maior semelhança com o grupo dos canabinoides. As propriedades estudadas indicam que os supostos canabinoides apresentam divergência com os canabinoides e similaridade com os análogos de canabinoides. Os ligantes de referência MBX2982 e AR231453 apresentam divergência com os outros grupos. Por fim a molécula CP55940 apresenta semelhança com os canabinoides e divergência com os outros grupos.

Desta forma, os descritores eletrônicos assim como a energia dos orbitais de fronteira observados nos estudos de estrutura eletrônica indicam correlacionar os ligantes de forma

satisfatória e enriquecedora para o modelo.

5.6 Estudo ONIOM.

Realizamos o estudo de ONIOM das estruturas dos receptores CB₁, CB₂, GPR55 e GPR119 e seus respectivos complexos com os ligantes cristalizados para analisar a tendência de reatividade dos complexos e localização dos orbitais moleculares. A Figura 72 e Tabela 17 (Apêndice) apresentam o resultado da análise de energia dos orbitais moleculares dos receptores e complexos receptor-ligante calculados com ONIOM B3LYP/6311+G(d,p):AMBER e PM6:AMBER.

5.6.1 Receptor CB₁

A estrutura do receptor CB₁ otimizado em sua forma apo com os métodos PM6:AMBER apresentou energia para o orbital HOMO de -383,43 kcal/mol e -192,73 kcal/mol para o orbital LUMO. Os valores de energia encontrados para o complexo CB₁-CP55940 são menores para os orbitais HOMO e LUMO, respectivamente -232,53 kcal/mol e -102,13 kcal/mol. Observamos que a interação do receptor CB₁ com a molécula CP55940 diminuiu o Δ_{FOM} de 190,70 kcal/mol para 130,41 kcal/mol, uma acentuada redução de 60,30 kcal/mol. A diminuição de 60,30 kcal/mol foi a maior percebida entre os estudos de ONIOM. A diminuição do Δ_{FOM} indica tendência de aumento significativo da reatividade do complexo com forte indução da conformação ativa, pelo receptor, corroborando com os achados experimentais que indicam alta atividade do CB₁ na presença do CP55940^{211,219}.

A estrutura do receptor CB₁ otimizado via B3LYP/6311+G(d,p):AMBER apresentou energia para o orbital HOMO de -319,25 kcal/mol e -239,03 kcal/mol para o orbital LUMO. Os valores de energia encontrados para o complexo CB₁-CP55940 são menores nos orbitais HOMO e LUMO, respectivamente -314,29 kcal/mol e -239,72 kcal/mol. Observamos que a interação do receptor CB₁ com a molécula CP55940 diminuiu o Δ_{FOM} de 80,23 kcal/mol para 74,57 kcal/mol, diminuição de 5,66 kcal/mol. A diminuição do Δ_{FOM} indica tendência de aumento da reatividade do complexo, embora menos significativa que no PM6:AMBER. Observamos que os cálculos de ONIOM B3LYP/6311+G(d,p):AMBER e PM6:AMBER concordam na tendência de aumento da reatividade das estruturas na presença das moléculas CP55940.

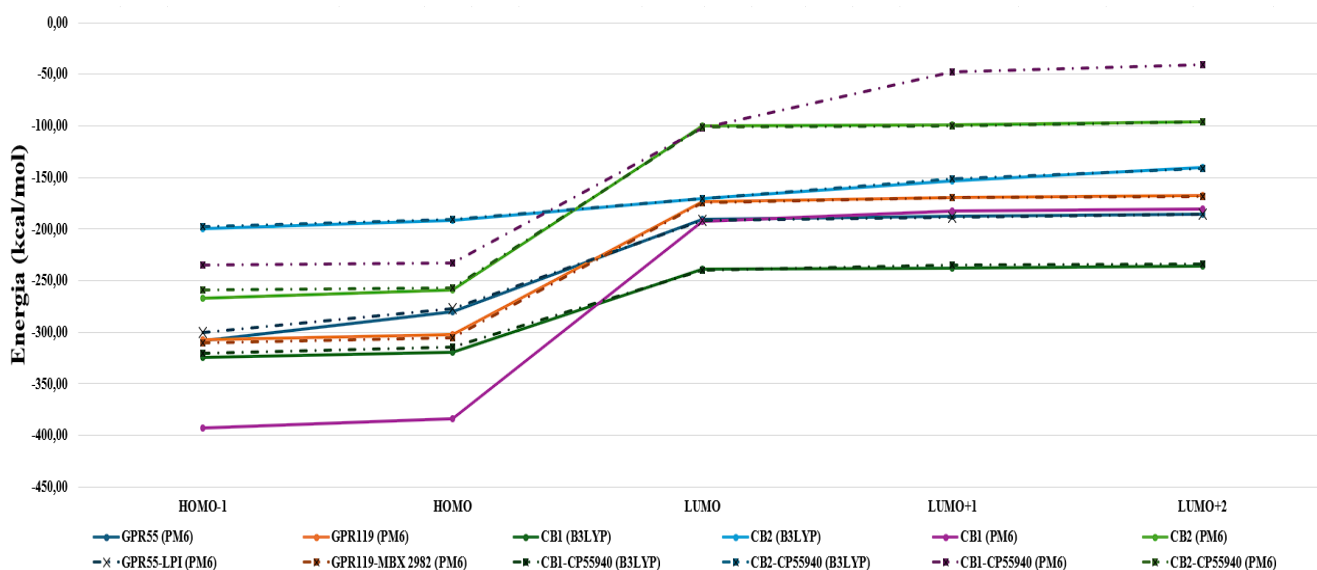


Figura 72. Comparação dos orbitais dos complexos estudados.

5.6.2 Receptor CB₂

A estrutura do receptor CB₂ otimizado com PM6:AMBER apresentou energia para o orbital HOMO de -259,43 kcal/mol e -100,18 kcal/mol para o orbital LUMO. Os valores de energia encontrados para o complexo CB₂-CP55940 são menores nos orbitais HOMO e LUMO, respectivamente -256,60 kcal/mol e -101,27 kcal/mol. Observamos que a interação do receptor CB₂ com a molécula CP55940 diminuiu o Δ_{FOM} de 159,25 kcal/mol para 155,33 kcal/mol, diminuição de 3,92 kcal/mol. A diminuição de Δ_{FOM} indica tendência de aumento da reatividade da estrutura correspondendo com o observado na literatura para a ativação do receptor e subsequente interação com mensageiros secundários.

Para a estrutura otimizada com B3LYP/6311+G(d,p):AMBER. O orbital HOMO apresentou energia de -192,13 kcal/mol e -170,12 kcal/mol para o orbital LUMO. Os valores de energia encontrados para o complexo CB₂-CP55940 são menores nos orbitais HOMO e LUMO, respectivamente -190,99 kcal/mol e -170,47 kcal/mol. Observamos que a interação do receptor CB₂ com a molécula CP55940 diminuiu o Δ_{FOM} de 22,02 kcal/mol para 20,52 kcal/mol, diminuição de em 1,50 kcal/mol. Observamos a mesma tendência na diminuição de Δ_{FOM} no ONIOM PM6:AMBER e B3LYP/6311+G(d,p):AMBER

5.6.3 Receptor GPR119

A estrutura do receptor GPR119 apresentou energia para o orbital HOMO de -302,13 kcal/mol e -173,95 kcal/mol para o orbital LUMO. Os valores de energia encontrados para o complexo GPR119-MBX2982 são maiores nos orbitais HOMO e LUMO, respectivamente -

304,96 kcal/mol e -174,36 kcal/mol. Observamos que a interação do receptor GPR119 com a molécula MBX2982 aumentou o Δ_{FOM} de 128,19 kcal/mol para 130,60 kcal/mol, aumento de 2,42 kcal/mol, assim a estrutura da GPR119 foi a única que apresentou a diminuição da reatividade quando complexada com o ligante.

5.6.4 Receptor GPR55

A estrutura do receptor GPR55 apresentou energia para o orbital HOMO de -279,99 kcal/mol e -191,08 kcal/mol para o orbital LUMO. Os valores de energia encontrados para o complexo GPR55-LPI são menores nos orbitais HOMO e LUMO, respectivamente -277,19 kcal/mol e -191,71 kcal/mol. Observamos que a interação do receptor GPR55 com a molécula LPI diminuiu o Δ_{FOM} de 88,91 kcal/mol para 85,47 kcal/mol, diminuição de 3,44 kcal/mol. A estrutura da GPR55 seguiu a tendência observada para o grupo dos canabinoides com tendência de maior reatividade da estrutura na presença do ligante.

5.6.5 Receptor canabinoide do tipo I (CB₁) e complexo CB₁-CP55940

A Figura 73 apresenta os orbitais para o estudo de ONIOM B3LYP/6311+G(d,p):AMBER do receptor CB₁. A camada alta do CB₁ é formada pelo ligante CP55940 e pelos resíduos Ser173, Lys192, Val196, Ile267, Phe268, Pro269 e Ser383 (Figura 73). A camada baixa é formada pelos outros resíduos do receptor. A estrutura do receptor CB₁ apresenta o orbital HOMO localizado no resíduo Pro269 e LUMO nos resíduos Ser173 e Lys192. Os resíduos onde estão localizados os orbitais LUMO, Ser173 e Lys192, realizam interação do tipo ligação de hidrogênio com o ligante enquanto resíduo Pro269 apresenta uma interação de van der Waals. O complexo CB₁-CP55940 apresenta a localização do orbital HOMO no grupo fenol do CP55940 e o orbital LUMO na cadeia lateral da Lys192.

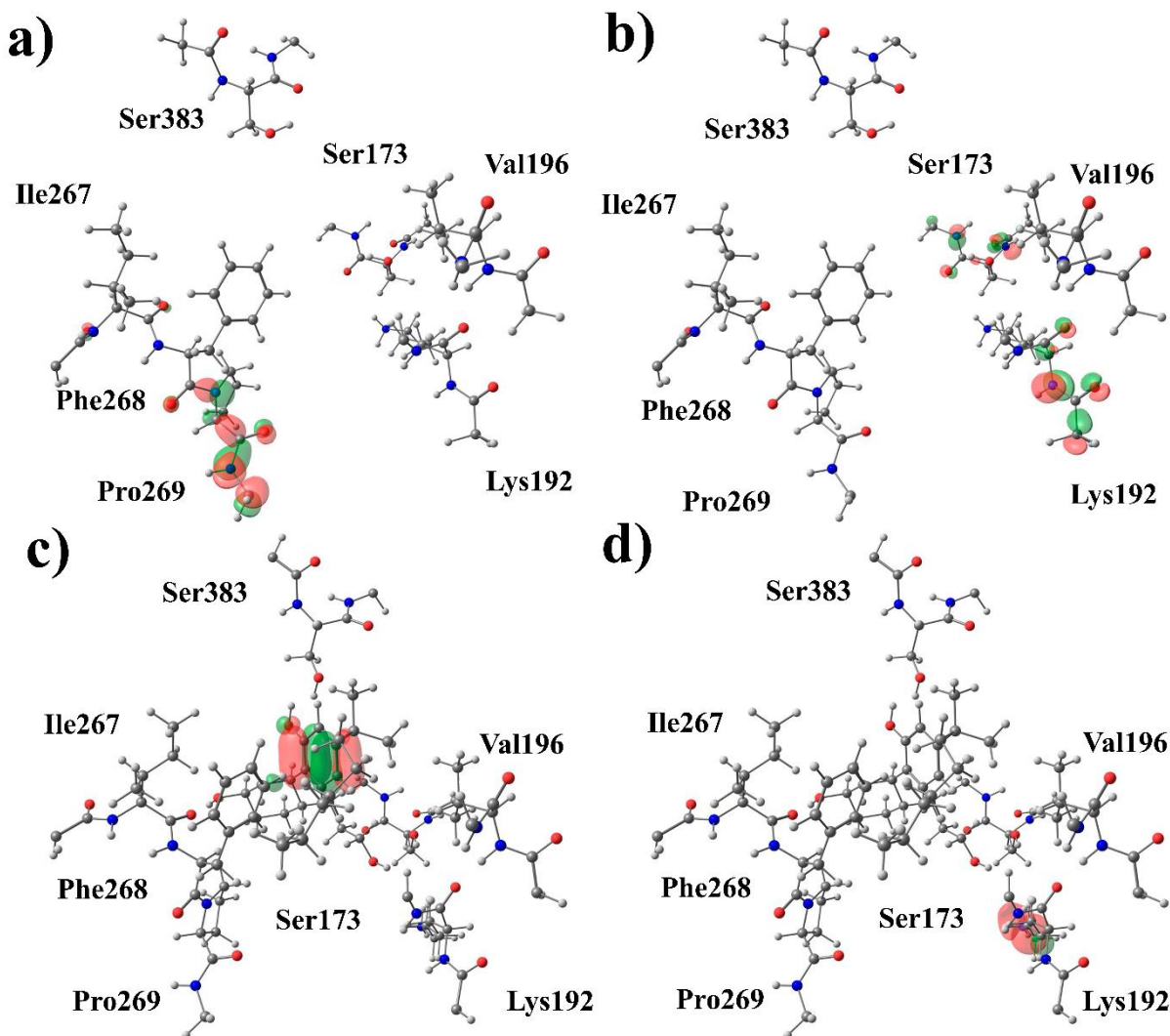


Figura 73. Distribuição dos orbitais moleculares do estudo de ONIOM PM6:AMBER para o receptor CB₁ e complexo CB₁-CP55940: HOMO (a, c) e LUMO (b, d).

A localização dos orbitais indicam que a densidade eletrônica do receptor CB₁ é alterado na presença do CP55940. O CB₁ e o complexo CB₁-CP55940 compartilham da localização do orbital LUMO na Lys192 e divergência de localização do orbital HOMO. As interações realizadas parecem indicar fluxo de elétrons do ligante para o resíduo Ser173. A distribuição dos orbitais indicam que as interações do tipo ligação de hidrogênio realizadas pelo CP55940 modulam o receptor alterando a sua conformação. A localização do orbital LUMO sobre o resíduo Lys192 indica que os elétrons presentes no ligante apresentam a tendência de fluxo para os resíduos do receptor.

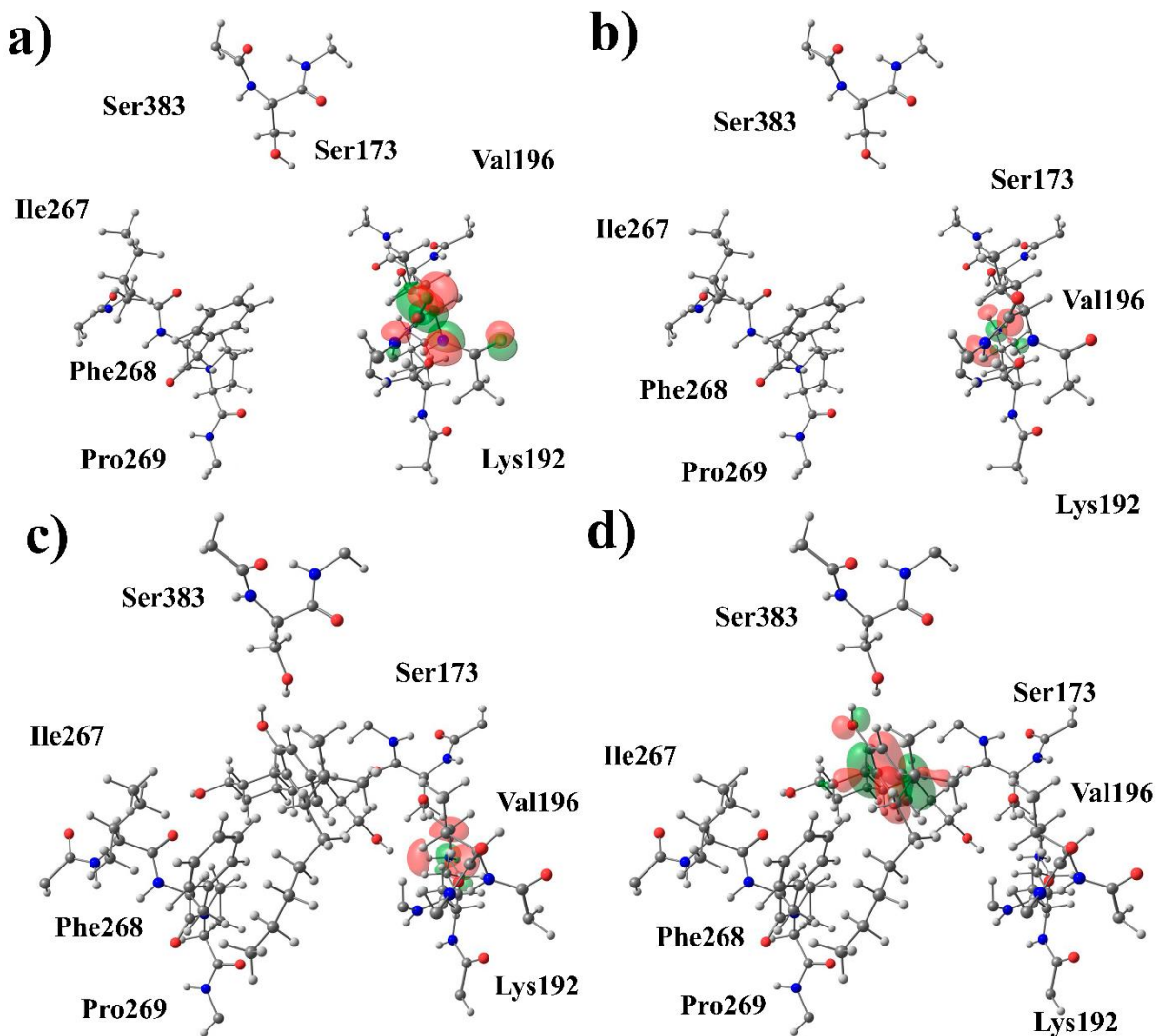


Figura 74. Distribuição dos orbitais moleculares do estudo de ONIOM B3LYP/6311+G(d,p):AMBER para o receptor CB₁ e complexo CB₁-CP55940: HOMO (a, c) e LUMO (b, d).

O CB₁ e o complexo CB₁-CP55940 divergem na localização dos orbitais HOMO e LUMO (Figura 74). A compreensão do sistema indica o compartilhamento de elétrons do ligante CP55940 preenchem orbital LUMO anteriormente localizado no resíduo Lys192. O preenchimento deste orbital altera a localização do orbital LUMO para o ligante CP55940.

A localização do orbital LUMO indica que os elétrons presentes no ligante apresentam a tendência de fluxo para os resíduos do receptor. Observamos a tendência que o preenchimento dos orbitais do receptor pelo ligante ocorre por interações do tipo ligação de hidrogênio realizadas pelo CP55940 com o receptor.

5.6.6 Receptor canabinoide do tipo II (CB₂) e complexo CB₂-CP55940

A camada alta do CB₂ é formada pelo ligante CP55940 e pelos resíduos Phe87, Leu182, Phe183, Leu185 e Ser285. A camada baixa é formada pelos outros resíduos do receptor.

Observamos que a estrutura do receptor CB₂ apresenta os orbitais HOMO e LUMO nas cadeias laterais dos resíduos Phe87 e Phe183 (Figura 75). Estes resíduos estão envolvidos em uma interação do tipo hidrofóbica π - π e π - σ com o ligante, conforme o estudo de docking. O complexo CB₂-CP55940 apresenta a localização do orbital HOMO no resíduo Phe87 e o orbital LUMO no grupo fenol do CP55940, porção central da molécula.

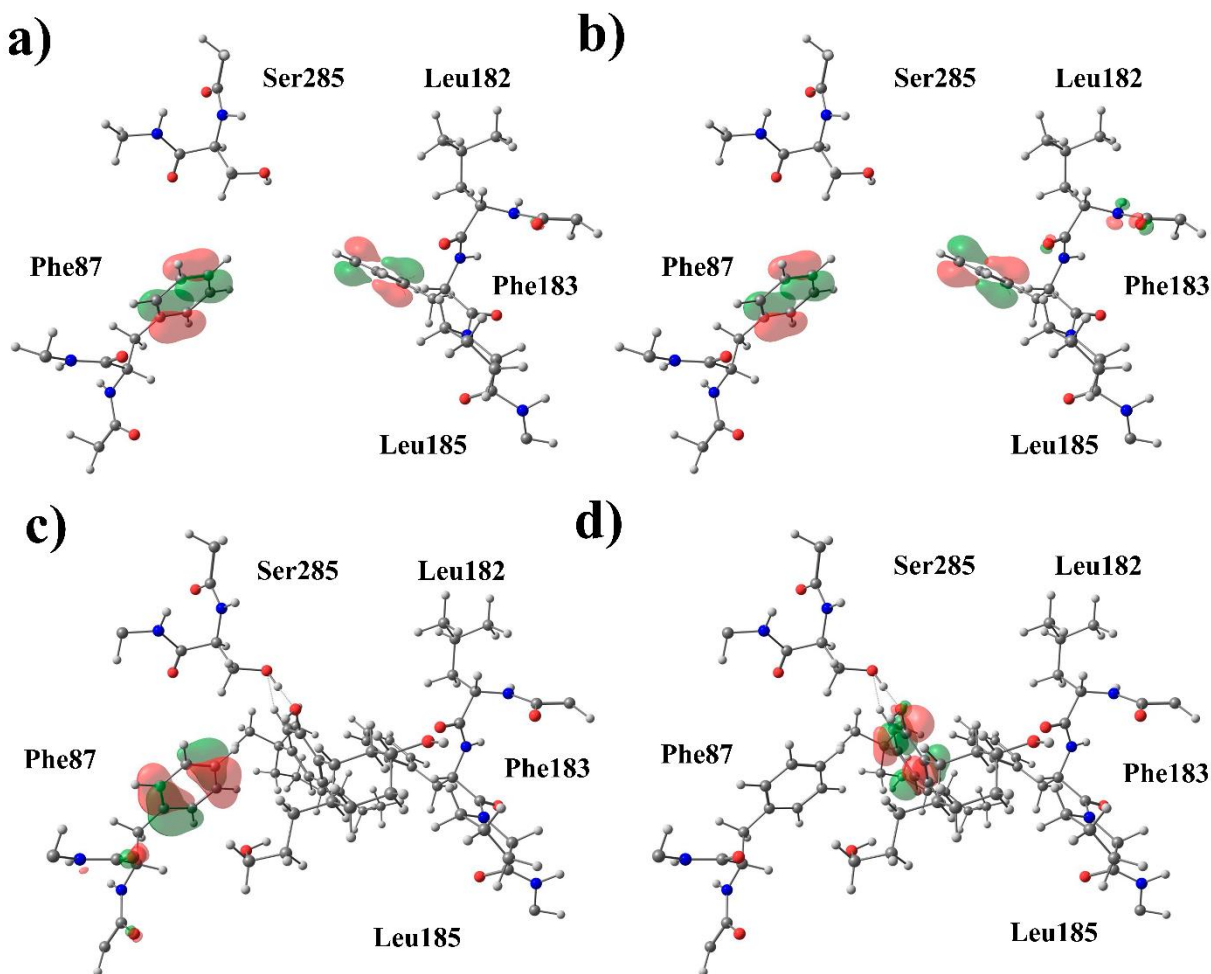


Figura 75. Distribuição dos orbitais moleculares do estudo de ONIOM PM6:AMBER para o receptor CB₂ e complexo CB₂-CP55940: HOMO (a, c) e LUMO (b, d).

A localização do orbital HOMO nos resíduos Phe87 e Phe183 indicam que as interações hidrofóbicas no complexo possuem peso relevante para a obtenção da conformação ativa do receptor. O estudo de ONIOM corroboram com o apresentado pelos índices de reatividade de Fukui indicando reatividade do grupo fenol com tendência de ataque eletrofílico. O Orbital LUMO do complexo CB₂-CP55940 indica que o compartilhamento de elétrons do CP55940

preenche parcialmente o orbital LUMO do CB₂, respectivamente a área dos resíduos Phe87 e Phe183. A localização do orbital LUMO indica que os elétrons presentes nos resíduos do receptor possuem a tendência de fluxo para o ligante.

As estruturas otimizadas com B3LYP/6311+G(d,p):AMBER apresentaram diferentes localizações dos orbitais HOMO e LUMO (Figura 76). A estrutura do receptor CB₂ apresenta o orbital HOMO na cadeia lateral do resíduo Phe87 e LUMO nos átomos do backbone do resíduo Ser285.

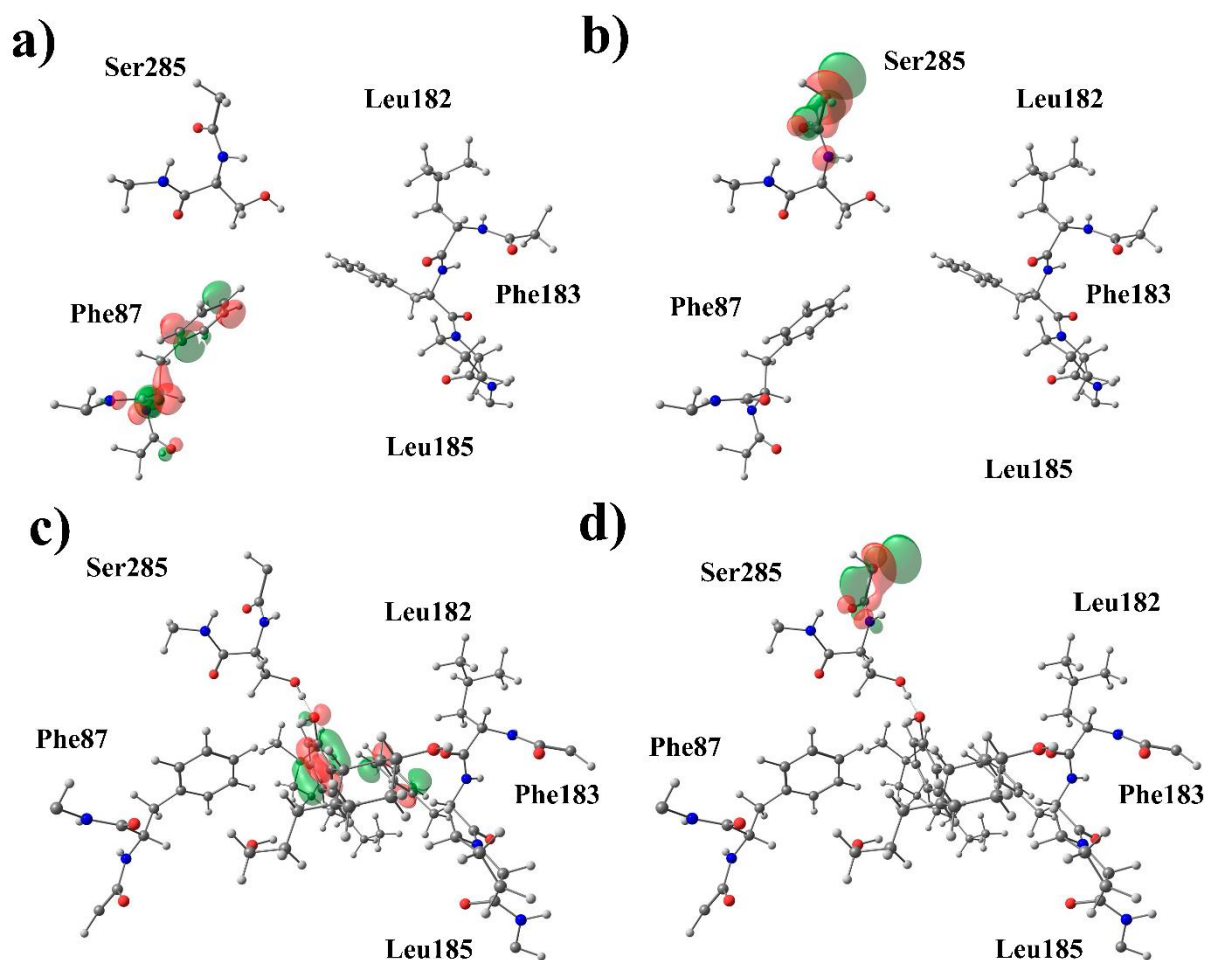


Figura 76. Distribuição dos orbitais moleculares do estudo de ONIOM B3LYP/6311+G(d,p):AMBER para o receptor CB₂ e complexo CB₂-CP55940: HOMO (a, c) e LUMO (b, d).

O orbital HOMO segue a tendência observada para a estrutura otimizada com PM6:AMBER. O complexo CB₂-CP55940 apresenta a localização do orbital HOMO no grupo fenol do CP55940 e na cadeia lateral do resíduo Phe183 e o orbital LUMO no backbone do resíduo Ser285. As estruturas otimizadas com B3LYP/6311+G(d,p):AMBER indicam que o fluxo de elétrons ocorre do ligante CP55940 para o modelo do CB₂. A tendência de fluxo de

elétrons é o inverso do observado para a estrutura otimizada com PM6:AMBER. A localização do orbital HOMO no CP55940 indica que o orbital LUMO presente no receptor permanece incompleto e, portanto, uma interação mais fraca que a percebida pelo CP55940 no receptor CB₂.

5.6.7 Receptor acoplado a proteína G 119 (GPR119) e complexo GPR119-MBX2982

A camada alta do GPR119 é formada pelo ligante MBX2982 e pelos resíduos Val93, Leu94, Leu169, Trp238, Phe241, Glu261 e Trp265 (Figura 77). A camada baixa é formada pelos outros resíduos do receptor. Observamos que a estrutura do receptor GPR119 apresenta o orbital HOMO localizado no resíduo Glu261 e o orbital LUMO localizado no resíduo Trp238. O estudo de docking indica que estes resíduos estão envolvidos em interações do tipo de van der Waals e uma interação π - σ . O complexo GPR119-MBX2982 apresenta a localização do orbital HOMO no resíduo Trp265 e o orbital LUMO no grupo pirimidina do ligante MBX2982. O resíduo Trp265 está envolvido em uma interação de van der Waals assim como duas interações do tipo π - π .

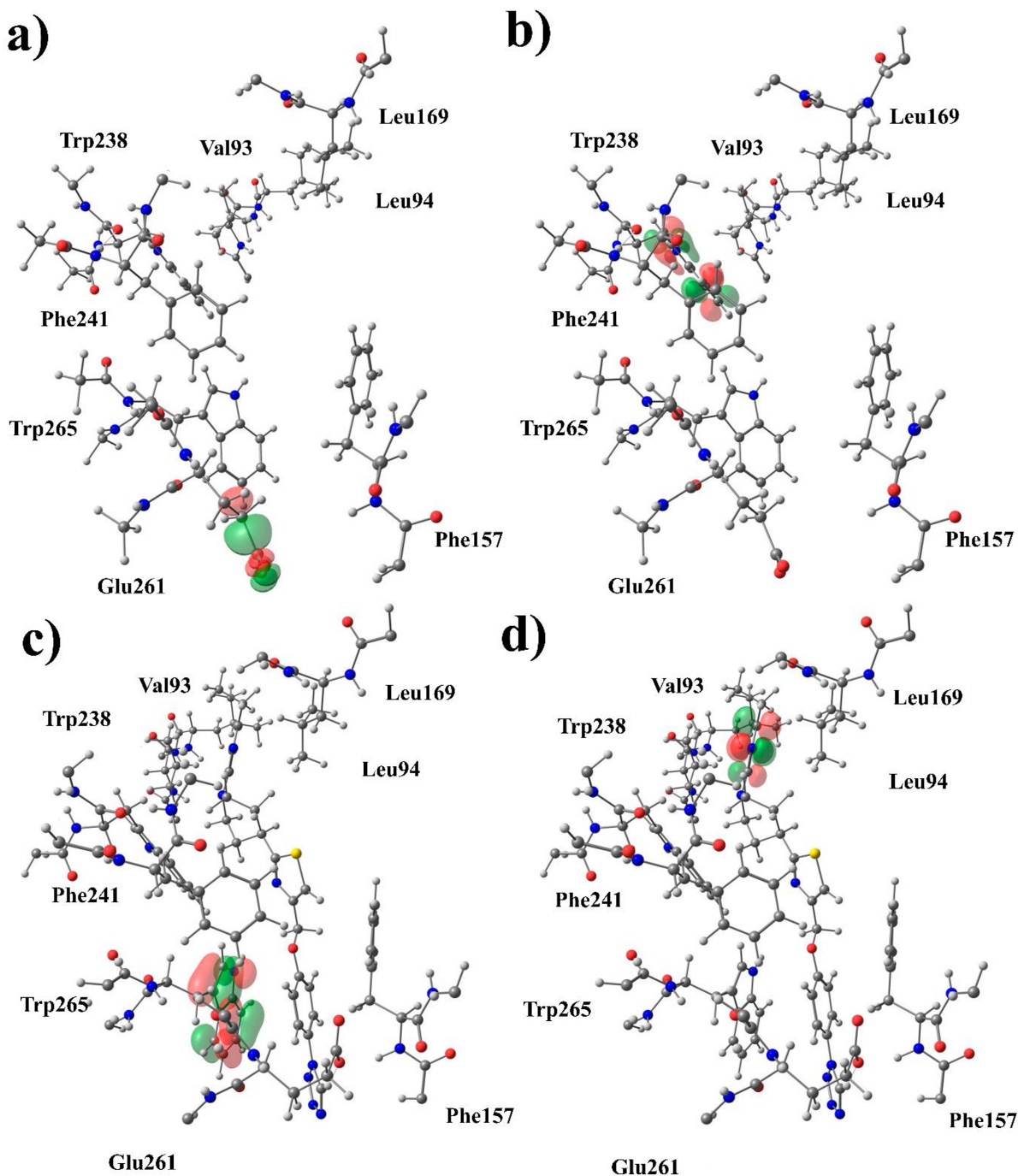


Figura 77. Distribuição dos orbitais moleculares do estudo de ONIOM PM6:AMBER para o receptor GPR119 e complexo GPR119-MBX2982: HOMO (a, c) e LUMO (b, d).

5.6.8 Receptor acoplado a proteína G 55 (GPR55) e complexo GPR55-LPI

A camada alta do GPR55 é formada pelo ligante LPI e pelos resíduos Phe12, Asn16, His170, Asn171, Met172, Trp177 e Arg253 (Figura 78). A camada baixa é formada pelos outros resíduos do receptor. Observamos que a estrutura do receptor GPR55 apresenta o orbital HOMO localizado no resíduo Phe12 e o orbital LUMO localizado no resíduo Arg253. O estudo de docking indica que estes resíduos estão envolvidos em interações do tipo de van der Waals

e uma ligação de hidrogênio.

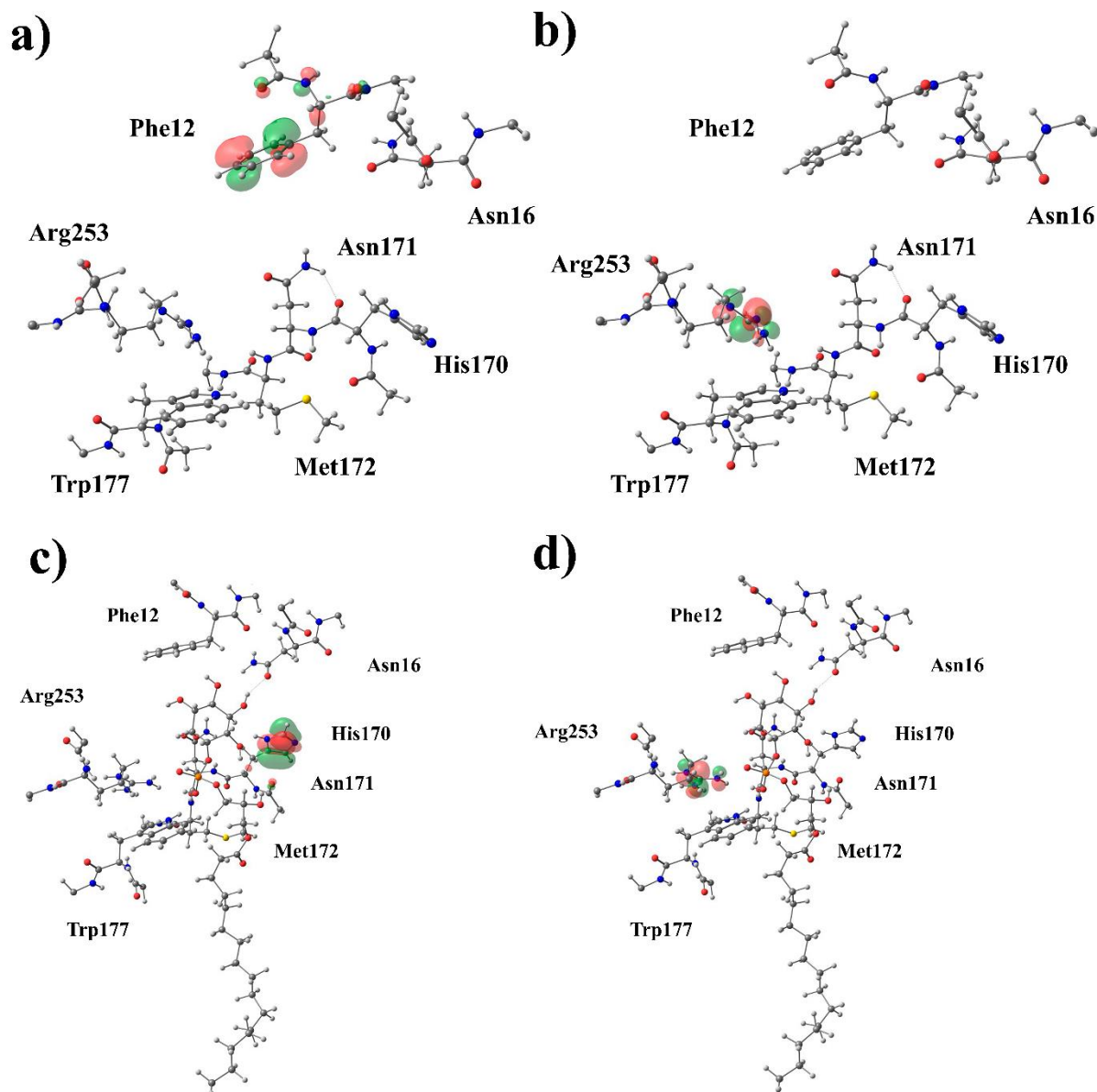


Figura 78. Distribuição dos orbitais moleculares do estudo de ONIOM PM6:AMBER para o receptor GPR55 e complexo GPR55-LPI: HOMO (a, c) e LUMO (b, d).

O complexo GPR55-LPI apresenta a localização do orbital HOMO no resíduo Asn171 e o orbital LUMO no resíduo Arg253. Ambos os resíduos estão envolvidos em interações do tipo ligação de hidrogênio. A GPR55 foi a única estrutura que não apresentou um dos orbitais localizado no ligante. A localização dos orbitais indicam que a característica eletronegativa do ligante transfere elétrons para o resíduo Arg253 e realiza a captação de elétrons do resíduo His170.

O receptor GPR55 e o complexo GPR55-LPI compartilha da localização do orbital

LUMO no resíduo Arg253 e divergência na localização do orbital HOMO. A característica eletronegativa do ligante LPI é maior que o observado para as outras moléculas. A característica de localização do orbital LUMO na Arg253 indica a tendência de fluxo de elétrons do ligante para o receptor. A ausência dos orbitais de fronteira localizados na estrutura do ligante LPI para o complexo GPR55-LPI foi observada. Percebemos que essa característica foi única nas estruturas estudadas.

5.6.9 Energia de formação dos complexos.

Após a análise por FMO, realizamos a análise da energia de formação dos complexos ($\Delta E_{\text{formação}}$), representados na Figura 79. O complexo CB_1 -CP55940, apresenta energias de formação favoráveis para o complexo estudado, observamos maior $\Delta E_{\text{formação}}$ quando avaliado em B3LYP comparando com a avaliação tanto em PM6, com valores de $-218,56$ kcal/mol (B3LYP) e $-164,30$ kcal/mol (PM6). Isso indica estabilidade da energia dos complexos, corroborando com a elevada afinidade como agonista observada na literatura do CP55940 com o receptor CB_1 ^{211,216}.

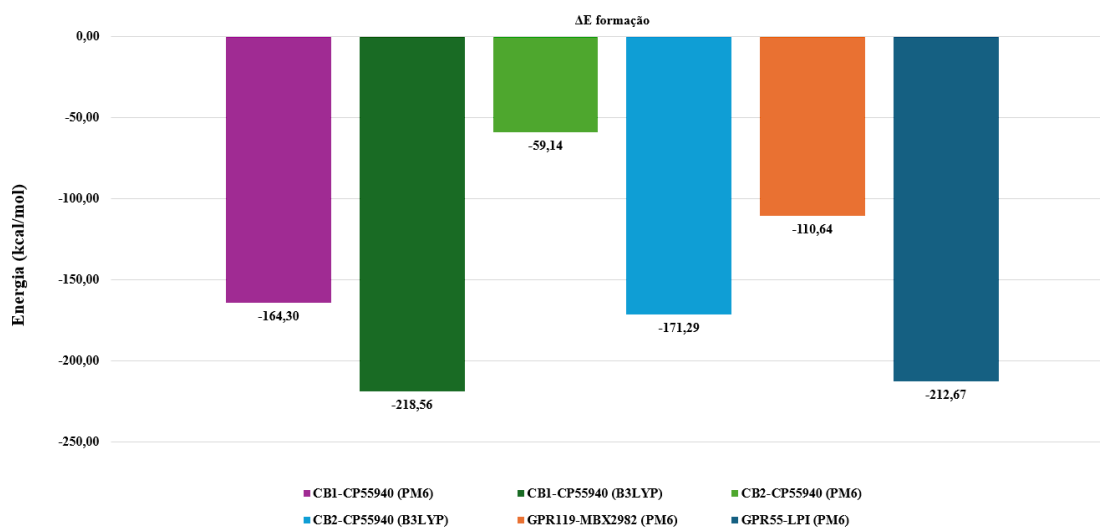


Figura 79. Energia de formação dos complexos estudados pela metodologia de ONIOM.

O complexo CB_2 -CP55940 também mostra coerência com a $\Delta E_{\text{formação}}$ para os métodos B3LYP e PM6 entretanto menor estabilização que a observada para o CB_1 , $-59,14$ kcal/mol e $-171,29$ kcal/mol. Os dados observados pelos sistemas otimizados com B3LYP e PM6 corroboram para a seletividade do CP55940 pelo CB_1 em relação ao CB_2 descrita na literatura²¹⁴. Observamos a característica de aumento crescente de energia com a utilização de metodologias mais avançadas, desta forma a ordem de energia apresentou aumento crescente na estipulação de energia para o estudo de docking (mecânica clássica), ONIOM com PM6 (método semiempírico) e ONIOM com B3LYP (DFT).

Para o complexo GPR119–MBX2982, o valor de $\Delta E_{\text{formação}}$ de -110,64 kcal/mol (PM6) indica estabilização do complexo. Observamos que o ligante MBX2982 apresenta o valor de energia do ligante positivo, 126,16 kcal/mol, quando otimizado com PM6, entretanto apresenta energia negativa, 1.107.249,63 kcal/mol, quando otimizado com B3LYP/6-311+G (d,p). Este fator sugere que o método semiempírico não apresenta uma abordagem tão satisfatória quanto a utilização de DFT para a análise deste sistema. Entretanto, a energia de formação apresentada apresenta coerência com a modulação realizada pelo MBX2982 no GPR119 ²²⁰.

O complexo GPR55–LPI apresentou $\Delta E_{\text{formação}}$ de -212,67 kcal/mol, destacando-se como um dos mais estáveis entre os estudados em PM6. A estabilidade deste complexo está principalmente correlacionada com a energia provinda do ligante LPI, -687,53 kcal/mol. Devida a alta energia presente no LPI espera-se múltiplas interações no complexo receptor-ligante, principalmente do tipo hidrofóbica, corroborando com os resultados de docking, estes que são elucidado na estrutura cristalográfica ²²¹. Por fim, as estruturas dos receptores apresentaram a tendência de energia negativa corroborando para o potencial de ativação das estruturas por ligantes.

6 Conclusão

Concluimos que por meio da análise de PCA que o modelo utilizado foi capaz de identificar os grupos e que os canabinoides, análogos e endocanabinoides e o CP55940 apresentam similaridade nos descritores utilizados propiciando a identificação do perfil eletrônico das moléculas estudadas. Este perfil apresenta características em comum de hidrofobicidade molecular, evidenciada por superfícies de potencial eletrostático (ESP) majoritariamente neutras ao longo de suas cadeias alifáticas. Essa hidrofobicidade é respaldada por valores de maciez global assim como regiões de densidade eletrônica intermediárias, ressaltando a tendência de realização de interações hidrofóbicas com os alvos estabelecidos.

O estudo de MEP das moléculas também sinalizou semelhanças para a formação de duas regiões com alta densidade eletrônica nos átomos dos grupos hidroxila, cromano e carboxila, contrapostas com as regiões de baixa densidade eletrônica dos átomos dos grupos metilas, benzeno e fenol. As regiões de alta densidade eletrônica mostram susceptibilidade para ataques eletrofílicos como pode ser observado nos estudos dos índices de Fukui. Estas regiões são demonstradas no estudo de docking como as regiões com maior número de interações do tipo ligação de hidrogênio nos bolsões dos receptores.

O estudo ADMET, revelou em relação às propriedades farmacocinéticas, que a elevada hidrofobicidade das moléculas está correlacionada à tendência de baixa absorção oral, clearance elevado e perfil de deposição em adipócitos. Entretanto, apesar das desvantagens, o perfil hidrofóbico é interessante para a modulação dos receptores em estudo. Assim, o principal desafio se encontra na adoção de estratégias farmacotécnicas para otimizar biodisponibilidade, evitar o efeito de primeira passagem e diminuir potenciais interações medicamentosas.

Observamos que a análise de heatmap converge com os resultados da PCA, indicando diferenciação dos canabinoides, análogos de canabinoides, endocanabinoides e moléculas de referência apenas com ressalva para o número de grupos encontrados para cada análise, com maior convergência com a literatura pelo método de similaridade do heatmap.

Os estudos de docking e IGM revelaram a convergência no perfil de interações para os receptores CB₁ e CB₂ indicando alta contribuição do perfil hidrofóbico para a modulação dos receptores. Além das interações hidrofóbicas, as moléculas estudadas realizaram interações do tipo ligações de hidrogênio com os resíduos do receptor CB₁ com resíduos Ser383, Lys192, Phe268 e com os resíduos do receptor CB₂ com o resíduo Ser285, resíduos estes críticos para a modulação da conformação ativa das proteínas. Assim, os ligantes THCV, Δ^8 -THC e desmodianona E se destacaram na modulação destes receptores.

Observamos a mudança do perfil da energia de interação dos receptores canabinoides para os receptores da família GPR119, GPR55 e GPR18, indicando baixa tendência de interação com as moléculas de forma geral. Os resultados indicam que a modulação por canabinoides ou moléculas com alto perfil hidrofóbico é pouco provável devido ao baixo perfil de interação com resíduos chave, embora demonstrem-se resultados de modulação in-vitro. Entretanto, observamos favorecimento de interações com as moléculas de ligantes com estruturas com maior suscetibilidade para ataques eletrofilicos, os quais, as moléculas análogas aos canabinoides do grupo supostos canabinoides e as moléculas THCV e Δ^8 -THC apresentaram melhor tendência de interação com os receptores desta família.

O estudo de ONIOM demonstrou que os receptores CB₁, CB₂ e GPR55 mediante interação com ligantes apresentam a tendência de aumento de reatividade em ambos os métodos indicando o possível mecanismo de ativação dos receptores. Os orbitais de fronteira dos receptores canabinoides estão principalmente localizados em resíduos apolares enquanto para os receptores GPR119 e GPR55 apresentaram a localização dos orbitais de fronteira principalmente em resíduos carregados, Glu261 e Arg253. A localização destes orbitais indica que interações hidrofóbicas, nos receptores canabinoides, são relevantes para a transferência eletrônica no sentido ligante-receptor divergindo do observado para os receptores da família GPR119, GPR55 e GPR18. A localização do orbital de fronteira LUMO nas estruturas dos receptores CB₂, GPR119 e GPR55 indicam que os elétrons dos complexos dos sistemas apresentam a tendência de fluxo do ligante para o receptor e o inverso para o caso do receptor CB₁.

Desta forma, os canabinoides raros THCV e Δ^8 -THC apresentaram potencial de interação com os alvos biológicos CB₁, CB₂, GPR55 e GPR18 indicando perfil multi-targeting e possível ação farmacológica como antinociceptivo. A utilização dos canabinoides raros THCV e Δ^8 -THC apresenta indicativos promissores para tratamento de pacientes portadores de dor crônica, sendo necessário a confirmação dos resultados obtidos através de estudos experimentais.

7 Referencias:

1. Goldberg, D. S. & McGee, S. J. Pain as a global public health priority. *BMC Public Health* **11**, 770 (2011).
2. Castroman, P. *et al.* Reimagining How We Treat Acute Pain: A Narrative Review. *Cureus* (2022) doi:10.7759/cureus.23992.
3. Treede, R.-D. *et al.* A classification of chronic pain for ICD-11. *Pain* **156**, 1003–1007 (2015).
4. Carvalho, R. C. de *et al.* Prevalence and characteristics of chronic pain in Brazil: a national internet-based survey study. *Brazilian J. Pain* **1**, (2018).
5. Moore, R. A., Derry, S., Aldington, D. & Wiffen, P. J. Single dose oral analgesics for acute postoperative pain in adults - an overview of Cochrane reviews. *Cochrane Database Syst. Rev.* (2015) doi:10.1002/14651858.CD008659.pub3.
6. Friedman, A. & Nabong, L. Opioids. *Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am.* **31**, 289–303 (2020).
7. Piovezan, M. *et al.* Opioid consumption and prescription in Brazil: integrative review. *Brazilian J. Pain* **5**, (2022).
8. Volkow, N. D. & Blanco, C. The changing opioid crisis: development, challenges and opportunities. *Mol. Psychiatry* **26**, 218–233 (2021).
9. Cicero, T. J., Inciardi, J. A. & Muñoz, A. Trends in Abuse of OxyContin® and Other Opioid Analgesics in the United States: 2002-2004. *J. Pain* **6**, 662–672 (2005).
10. Van Zee, A. The Promotion and Marketing of OxyContin: Commercial Triumph, Public Health Tragedy. *Am. J. Public Health* **99**, 221–227 (2009).
11. United Nations publication. *UNODC, World Drug Report 2022*. (United Nations publication, 2022).
12. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 327, de 09 de dezembro de 2019. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 327, de 09 de dezembro de 2019. *Diário Of. da União* 1–30 (2019).
13. Souza, J. B. de *et al.* Prevalence of Chronic Pain, Treatments, Perception, and Interference on Life Activities: Brazilian Population-Based Survey. *Pain Res. Manag.* **2017**, 1–9 (2017).
14. Gazendam, A. *et al.* Cannabinoids in the Management of Acute Pain: A Systematic Review and Meta-analysis. *Cannabis Cannabinoid Res.* **5**, 290–297 (2020).
15. Khan, S. P., Pickens, T. A. & Berlau, D. J. Perspectives on cannabis as a substitute for opioid analgesics. *Pain Manag.* **9**, 191–203 (2019).
16. Romero-Sandoval, E. A., Fincham, J. E., Kolano, A. L., Sharpe, B. N. & Alvarado-Vázquez, P. A. Cannabis for Chronic Pain: Challenges and Considerations. *Pharmacother. J. Hum. Pharmacol. Drug Ther.* **38**, 651–662 (2018).
17. Valls, P. O. & Esposito, A. Signalling dynamics, cell decisions, and homeostatic control in health and disease. *Curr. Opin. Cell Biol.* **75**, 102066 (2022).
18. Hormoz, S. Cross Talk and Interference Enhance Information Capacity of a Signaling

- Pathway. *Biophys. J.* **104**, 1170–1180 (2013).
19. Venkatakrishnan, A. J. *et al.* Molecular signatures of G-protein-coupled receptors. *Nature* **494**, 185–194 (2013).
 20. Heldin, C.-H., Lu, B., Evans, R. & Gutkind, J. S. Signals and Receptors. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **8**, a005900 (2016).
 21. Yin, H. & Flynn, A. D. Drugging Membrane Protein Interactions. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **18**, 51–76 (2016).
 22. Westerfield, J. M. & Barrera, F. N. Membrane receptor activation mechanisms and transmembrane peptide tools to elucidate them. *J. Biol. Chem.* **295**, 1792–1814 (2020).
 23. Du, Y. *et al.* Assembly of a GPCR-G Protein Complex. *Cell* **177**, 1232–1242.e11 (2019).
 24. Calebiro, D., Nikolaev, V. O., Persani, L. & Lohse, M. J. Signaling by internalized G-protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* **31**, 221–228 (2010).
 25. Sriram, K. & Insel, P. A. G Protein-Coupled Receptors as Targets for Approved Drugs: How Many Targets and How Many Drugs? *Mol. Pharmacol.* **93**, 251–258 (2018).
 26. Pándy-Szekeres, G. *et al.* GPCRdb in 2023: state-specific structure models using AlphaFold2 and new ligand resources. *Nucleic Acids Res.* **51**, D395–D402 (2023).
 27. Yang, D. *et al.* G protein-coupled receptors: structure- and function-based drug discovery. *Signal Transduct. Target. Ther.* **6**, 7 (2021).
 28. Zhang, M. *et al.* G protein-coupled receptors (GPCRs): advances in structures, mechanisms and drug discovery. *Signal Transduct. Target. Ther.* **9**, 88 (2024).
 29. Velazhahan, V. *et al.* Structure of the class D GPCR Ste2 dimer coupled to two G proteins. *Nature* **589**, 148–153 (2021).
 30. Davies, M. N. *et al.* On the hierarchical classification of G protein-coupled receptors. *Bioinformatics* **23**, 3113–3118 (2007).
 31. Zhou, Q. *et al.* Common activation mechanism of class A GPCRs. *Elife* **8**, (2019).
 32. Bortolato, A. *et al.* Structure of class B GPCRs : new horizons for drug discovery. *Br. J. Pharmacol.* **171**, 3132–3145 (2014).
 33. Beliu, G. *et al.* Tethered agonist exposure in intact adhesion/class B2 GPCRs through intrinsic structural flexibility of the GAIN domain. *Mol. Cell* **81**, 905–921.e5 (2021).
 34. Chun, L., Zhang, W. & Liu, J. Structure and ligand recognition of class C GPCRs. *Acta Pharmacol. Sin.* **33**, 312–323 (2012).
 35. Inda, C. *et al.* Different cAMP sources are critically involved in G protein-coupled receptor CRHR1 signaling. *J. Cell Biol.* **214**, 181–195 (2016).
 36. Schulte, G. & Kozielowicz, P. Structural insight into Class F receptors – What have we learnt regarding agonist-induced activation? *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **126**, 17–24 (2020).
 37. Isberg, V. *et al.* GPCRdb: an information system for G protein-coupled receptors. *Nucleic Acids Res.* **44**, D356–D364 (2016).
 38. Kooistra, A. J., Munk, C., Hauser, A. S. & Gloriam, D. E. An online GPCR structure analysis platform. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **28**, 875–878 (2021).

39. Kang, Y. *et al.* Cryo-EM structure of human rhodopsin bound to an inhibitory G protein. *Nature* **558**, 553–558 (2018).
40. De Groof, T. W. M. *et al.* Selective targeting of ligand-dependent and -independent signaling by GPCR conformation-specific anti-US28 intrabodies. *Nat. Commun.* **12**, 4357 (2021).
41. Fan, Y. *et al.* Allosteric coupling between G-protein binding and extracellular ligand binding sites in GPR52 revealed by 19 F-NMR and cryo-electron microscopy. *MedComm* **4**, (2023).
42. Duan, J. *et al.* Hormone- and antibody-mediated activation of the thyrotropin receptor. *Nature* **609**, 854–859 (2022).
43. Qin, J. *et al.* Molecular mechanism of agonism and inverse agonism in ghrelin receptor. *Nat. Commun.* **13**, 300 (2022).
44. Pons, V. *et al.* Inverse agonist efficacy of selatogrel blunts constitutive P2Y12 receptor signaling by inducing the inactive receptor conformation. *Biochem. Pharmacol.* **206**, 115291 (2022).
45. Wang, Q. *et al.* Structural basis of the ligand binding and signaling mechanism of melatonin receptors. *Nat. Commun.* **13**, 454 (2022).
46. Michalik, I., Kuder, K. J., Kieć-Kononowicz, K. & Handzlik, J. Structure Prediction, Evaluation, and Validation of GPR18 Lipid Receptor Using Free Programs. *Int. J. Mol. Sci.* **23**, 7917 (2022).
47. Liu, H. *et al.* Recognition of methamphetamine and other amines by trace amine receptor TAAR1. *Nature* **624**, 663–671 (2023).
48. Park, J.-H. *et al.* Structural basis for ligand recognition and signaling of hydroxy-carboxylic acid receptor 2. *Nat. Commun.* **14**, 7150 (2023).
49. Chen, G. *et al.* Cryo-EM structure of activated bile acids receptor TGR5 in complex with stimulatory G protein. *Signal Transduct. Target. Ther.* **5**, 142 (2020).
50. Fabisiak, A. *et al.* Novel selective agonist of GPR18, PSB-KK-1415 exerts potent anti-inflammatory and anti-nociceptive activities in animal models of intestinal inflammation and inflammatory pain. *Neurogastroenterol. Motil.* **33**, (2021).
51. Deliu, E. *et al.* The Lysophosphatidylinositol Receptor GPR55 Modulates Pain Perception in the Periaqueductal Gray. *Mol. Pharmacol.* **88**, 265–272 (2015).
52. Qian, Y. *et al.* Activation and signaling mechanism revealed by GPR119-Gs complex structures. *Nat. Commun.* **13**, 7033 (2022).
53. Console-Bram, L., Brailoiu, E., Brailoiu, G. C., Sharir, H. & Abood, M. E. Activation of GPR 18 by cannabinoid compounds: a tale of biased agonism. *Br. J. Pharmacol.* **171**, 3908–3917 (2014).
54. Li, X. *et al.* Structural basis of selective cannabinoid CB2 receptor activation. *Nat. Commun.* **14**, 1447 (2023).
55. Kohno, M. *et al.* Identification of N-arachidonylglycine as the endogenous ligand for orphan G-protein-coupled receptor GPR18. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **347**, 827–832 (2006).
56. Henstridge, C. M. *et al.* The GPR55 ligand L- α -lysophosphatidylinositol promotes

- RhoA-dependent Ca²⁺ signaling and NFAT activation. *FASEB J.* **23**, 183–193 (2009).
57. Xia, R. *et al.* Structural insight into GPR55 ligand recognition and G-protein coupling. *Cell Res.* (2024) doi:10.1038/s41422-024-01044-w.
 58. Leuti, A. *et al.* The endocannabinoid anandamide activates pro-resolving pathways in human primary macrophages by engaging both <sc>CB₂</sc> and <sc>GPR18</sc> receptors. *FASEB J.* **38**, (2024).
 59. Ferrer, I. Cannabinoids for treatment of Alzheimer’s disease: moving toward the clinic. *Front. Pharmacol.* **5**, (2014).
 60. Lauckner, J. E. *et al.* GPR55 is a cannabinoid receptor that increases intracellular calcium and inhibits M current. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **105**, 2699–2704 (2008).
 61. Pertwee, R. G. *et al.* International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid Receptors and Their Ligands: Beyond CB₁ and CB₂. *Pharmacol. Rev.* **62**, 588–631 (2010).
 62. Tóth, K. F., Ádám, D., Bíró, T. & Oláh, A. Cannabinoid Signaling in the Skin: Therapeutic Potential of the “C(ut)annabinoid” System. *Molecules* **24**, 918 (2019).
 63. Di Marzo, V. New approaches and challenges to targeting the endocannabinoid system. *Nat. Rev. Drug Discov.* **17**, 623–639 (2018).
 64. Console-Bram, L., Brailoiu, E., Brailoiu, G. C., Sharir, H. & Abood, M. E. Activation of GPR18 by cannabinoid compounds: a tale of biased agonism. *Br. J. Pharmacol.* **171**, 3908–3917 (2014).
 65. Ahren, B. Islet G protein-coupled receptors as potential targets for treatment of type 2 diabetes. *Nat. Rev. Drug Discov.* **8**, 369–385 (2009).
 66. Sawzdargo, M. *et al.* Identification and cloning of three novel human G protein-coupled receptor genes GPR52, ΨGPR53 and GPR55: GPR55 is extensively expressed in human brain. *Mol. Brain Res.* **64**, 193–198 (1999).
 67. Guillamat-Prats, R. *et al.* GPR55 in B cells limits atherosclerosis development and regulates plasma cell maturation. *Nat. Cardiovasc. Res.* **1**, 1056–1071 (2022).
 68. Tudurí, E. *et al.* GPR55: a new promising target for metabolism? *J. Mol. Endocrinol.* **58**, R191–R202 (2017).
 69. Xu, P. *et al.* Structural identification of lysophosphatidylcholines as activating ligands for orphan receptor GPR119. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **29**, 863–870 (2022).
 70. Zhang, L. *et al.* GPR18 expression on PMNs as biomarker for outcome in patient with sepsis. *Life Sci.* **217**, 49–56 (2019).
 71. Ramírez-Orozco, R. E. *et al.* Potential metabolic and behavioural roles of the putative endocannabinoid receptors GPR18, GPR55 and GPR119 in feeding. *Curr. Neuropharmacol.* **17**, 947–960 (2019).
 72. Centonze, D., Finazzi-Agrò, A., Bernardi, G. & Maccarrone, M. The endocannabinoid system in targeting inflammatory neurodegenerative diseases. *Trends Pharmacol. Sci.* **28**, 180–187 (2007).
 73. Lu, H.-C. & Mackie, K. Review of the Endocannabinoid System. *Biol. Psychiatry Cogn. Neurosci. Neuroimaging* **6**, 607–615 (2021).
 74. Walsh, K. B., McKinney, A. E. & Holmes, A. E. Minor Cannabinoids: Biosynthesis,

- Molecular Pharmacology and Potential Therapeutic Uses. *Front. Pharmacol.* **12**, (2021).
75. Abate, G., Uberti, D. & Tambaro, S. Potential and Limits of Cannabinoids in Alzheimer's Disease Therapy. *Biology (Basel)*. **10**, (2021).
 76. Schubert, D. *et al.* Efficacy of Cannabinoids in a Pre-Clinical Drug-Screening Platform for Alzheimer's Disease. *Mol. Neurobiol.* **56**, 7719–7730 (2019).
 77. Pagotto, U., Marsicano, G., Cota, D., Lutz, B. & Pasquali, R. The Emerging Role of the Endocannabinoid System in Endocrine Regulation and Energy Balance. *Endocr. Rev.* **27**, 73–100 (2006).
 78. Zou, S. & Kumar, U. Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 833 (2018).
 79. Taylor, C. L. & Pruyne, S. A. A U.S. Food and Drug Administration perspective on cannabis research and drug development. *Explor. Med.* 813–821 (2023) doi:10.37349/emed.2023.00179.
 80. Pagano Zottola, A. C. *et al.* Expression of Functional Cannabinoid Type-1 (CB1) Receptor in Mitochondria of White Adipocytes. *Cells* **11**, 2582 (2022).
 81. Campbell, V. A. & Gowran, A. Alzheimer's disease; taking the edge off with cannabinoids? *Br. J. Pharmacol.* **152**, 655–662 (2007).
 82. Han, K. H. *et al.* CB1 and CB2 cannabinoid receptors differentially regulate the production of reactive oxygen species by macrophages. *Cardiovasc. Res.* **84**, 378–386 (2009).
 83. Chen, J. *et al.* Peripherally Restricted CB1 Receptor Inverse Agonist JD5037 Treatment Exacerbates Liver Injury in MDR2-Deficient Mice. *Cells* **13**, 1101 (2024).
 84. Battista, N., Di Tommaso, M., Bari, M. & Maccarrone, M. The endocannabinoid system: an overview. *Front. Behav. Neurosci.* **6**, (2012).
 85. Gülck, T. & Møller, B. L. Phytocannabinoids: Origins and Biosynthesis. *Trends Plant Sci.* **25**, 985–1004 (2020).
 86. Pisanti, S. & Bifulco, M. Medical Cannabis : A plurimillennial history of an evergreen. *J. Cell. Physiol.* **234**, 8342–8351 (2019).
 87. Russo, E. B. History of Cannabis and Its Preparations in Saga, Science, and Sobriquet. *Chem. Biodivers.* **4**, 1614–1648 (2007).
 88. Stack, G. M. *et al.* Cannabinoids function in defense against chewing herbivores in *Cannabis sativa* L. *Hortic. Res.* **10**, (2023).
 89. Gaoni, Y. & Mechoulam, R. Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 1646–1647 (1964).
 90. Grotenhermen, F. Cannabinoids. *Curr. Drug Target -CNS Neurol. Disord.* **4**, 507–530 (2005).
 91. Livingston, S. J. *et al.* Cannabis glandular trichomes alter morphology and metabolite content during flower maturation. *Plant J.* **101**, 37–56 (2020).
 92. Radwan, M. M., Chandra, S., Gul, S. & ElSohly, M. A. Cannabinoids, Phenolics, Terpenes and Alkaloids of Cannabis. *Molecules* **26**, 2774 (2021).
 93. Lambert, D. M. & Fowler, C. J. The Endocannabinoid System: Drug Targets, Lead

- Compounds, and Potential Therapeutic Applications. *J. Med. Chem.* **48**, 5059–5087 (2005).
94. Kwiecień, E. & Kowalczyk, D. Therapeutic Potential of Minor Cannabinoids in Dermatological Diseases—A Synthetic Review. *Molecules* **28**, 6149 (2023).
 95. Davis, W. M. & Hatoum, N. S. Neurobehavioral actions of cannabichromene and interactions with Δ^9 -tetrahydrocannabinol. *Gen. Pharmacol. Vasc. Syst.* **14**, 247–252 (1983).
 96. Evans, F. Cannabinoids: The Separation of Central from Peripheral Effects on a Structural Basis. *Planta Med.* **57**, S60–S67 (1991).
 97. Borrelli, F. *et al.* Beneficial effect of the non-psychotropic plant cannabinoid cannabigerol on experimental inflammatory bowel disease. *Biochem. Pharmacol.* **85**, 1306–1316 (2013).
 98. Pertwee, R. G. The diverse CB 1 and CB 2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ^9 -tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabivarin. *Br. J. Pharmacol.* **153**, 199–215 (2008).
 99. Emmett, C. M. *et al.* Interaction between positive allosteric modulators and trapping blockers of the NMDA receptor channel. *Br. J. Pharmacol.* **172**, 1333–1347 (2015).
 100. Dennis, D. G. *et al.* Synthesis of the Cannabimovone and Cannabifuran Class of Minor Phytocannabinoids and Their Anti-inflammatory Activity. *J. Org. Chem.* **87**, 6075–6086 (2022).
 101. Hudson, R., Renard, J., Norris, C., Rushlow, W. J. & Laviolette, S. R. Cannabidiol Counteracts the Psychotropic Side-Effects of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol in the Ventral Hippocampus through Bidirectional Control of ERK1–2 Phosphorylation. *J. Neurosci.* **39**, 8762–8777 (2019).
 102. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira — Português (Brasil). <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/formulario-fitoterapico>.
 103. Phillips, R. S. *et al.* Antiemetic medication for prevention and treatment of chemotherapy induced nausea and vomiting in childhood. in *Cochrane Database of Systematic Reviews* (ed. Phillips, R. S.) (John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2009). doi:10.1002/14651858.CD007786.
 104. Boychuk, D. G., Goddard, G., Mauro, G. & Orellana, M. F. The Effectiveness of Cannabinoids in the Management of Chronic Nonmalignant Neuropathic Pain: A Systematic Review. *J. Oral Facial Pain Headache* **29**, 7–14 (2015).
 105. Rosenberg, E. C., Tsien, R. W., Whalley, B. J. & Devinsky, O. Cannabinoids and Epilepsy. *Neurotherapeutics* **12**, 747–768 (2015).
 106. Crippa, J. A. de S. *et al.* Effects of Cannabidiol (CBD) on Regional Cerebral Blood Flow. *Neuropsychopharmacology* **29**, 417–426 (2004).
 107. Crippa, J. A. S., Zuardi, A. W. & Hallak, J. E. C. Uso terapêutico dos canabinoides em psiquiatria. *Rev. Bras. Psiquiatr.* **32**, 556–566 (2010).
 108. Mechoulam, R., Parker, L. A. & Gallily, R. Cannabidiol: An Overview of Some Pharmacological Aspects. *J. Clin. Pharmacol.* **42**, (2002).
 109. Mechoulam, R., Peters, M., Murillo-Rodriguez, E. & Hanuš, L. O. Cannabidiol –

- Recent Advances. *Chem. Biodivers.* **4**, 1678–1692 (2007).
110. Russo, E. B. The Case for the Entourage Effect and Conventional Breeding of Clinical Cannabis: No “Strain,” No Gain. *Front. Plant Sci.* **9**, (2019).
 111. Ben-Shabat, S. *et al.* An entourage effect: inactive endogenous fatty acid glycerol esters enhance 2-arachidonoyl-glycerol cannabinoid activity. *Eur. J. Pharmacol.* **353**, 23–31 (1998).
 112. Russo, E. B. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br. J. Pharmacol.* **163**, 1344–1364 (2011).
 113. Russo, E. B. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br. J. Pharmacol.* **163**, 1344–1364 (2011).
 114. Raup-Konsavage, W. M. *et al.* Antinociceptive Effects of Cannabichromene (CBC) in Mice: Insights from von Frey, Tail-Flick, Formalin, and Acetone Tests. *Biomedicines* **12**, 83 (2023).
 115. Pertwee, R. G. Pharmacological and therapeutic targets for Δ^9 tetrahydrocannabinol and cannabidiol. *Euphytica* **140**, 73–82 (2004).
 116. Hill, A. *et al.* Cannabidivarin is anticonvulsant in mouse and rat. *Br. J. Pharmacol.* **167**, 1629–1642 (2012).
 117. Yip, K. L. *et al.* Cannabinoid-like compounds found in non-cannabis plants exhibit antiseizure activity in genetic mouse models of drug-resistant epilepsy. *Epilepsia* (2024) doi:10.1111/epi.18177.
 118. Quaghebeur, K., Coosemans, J., Toppet, S. & Compennolle, F. Cannabiorci- and 8-chlorocannabiorcichromenic acid as fungal antagonists from *Cylindrocarpon olidum*. *Phytochemistry* **37**, 159–161 (1994).
 119. Fuhr, L., Rousseau, M., Plauth, A., Schroeder, F. C. & Sauer, S. Amorfrutins Are Natural PPAR γ Agonists with Potent Anti-inflammatory Properties. *J. Nat. Prod.* **78**, 1160–1164 (2015).
 120. Yang, Y. *et al.* New chromane and chromene meroterpenoids from flowers of *Rhododendron rubiginosum* Franch. var. *rubiginosum*. *Fitoterapia* **127**, 396–401 (2018).
 121. Iwata, N. & Kitanaka, S. New Cannabinoid-Like Chromane and Chromene Derivatives from *Rhododendron anthopogonoides*. *Chem. Pharm. Bull.* **59**, 1409–1412 (2011).
 122. Asakawa, Y. *et al.* Prenyl bibenzyls from the liverwort *Radula kojana*. *Phytochemistry* **30**, 219–234 (1991).
 123. Bohlmann, F. & Hoffmann, E. Cannabigerol-ähnliche verbindungen aus *Helichrysum umbraculigerum*. *Phytochemistry* **18**, 1371–1374 (1979).
 124. Toyota, M. *et al.* New Bibenzyl Cannabinoid from the New Zealand Liverwort *Radula marginata*. *Chem. Pharm. Bull.* **50**, 1390–1392 (2002).
 125. Asakawa, Y., Kondo, K. & Tori, M. Cyclopropanochroman derivatives from the liverwort *Radula javanica*. *Phytochemistry* **30**, 325–328 (1991).
 126. Manfredi, K. P., Vallurupalli, V., Demidova, M., Kindscher, K. & Pannell, L. K. Isolation of an anti-HIV diprenylated bibenzyl from *Glycyrrhiza lepidota*. *Phytochemistry* **58**, 153–157 (2001).

127. Hanuš, L. O., Meyer, S. M., Muñoz, E., Tagliatalata-Scafati, O. & Appendino, G. Phytocannabinoids: a unified critical inventory. *Nat. Prod. Rep.* **33**, 1357–1392 (2016).
128. Botta, B., Gacs-Baitz, E., Vinciguerra, V. & Delle Monache, G. Three isoflavanones with cannabinoid-like moieties from *Desmodium canum*. *Phytochemistry* **64**, 599–602 (2003).
129. McDonagh, M. S. *et al.* Cannabis-Based Products for Chronic Pain. *Ann. Intern. Med.* **175**, 1143–1153 (2022).
130. Daoui, O. *et al.* QSAR, molecular docking and ADMET properties in silico studies of novel 4,5,6,7-tetrahydrobenzo[D]-thiazol-2-Yl derivatives derived from dimedone as potent anti-tumor agents through inhibition of C-Met receptor tyrosine kinase. *Heliyon* **7**, (2021).
131. Venkatraman, V. FP-ADMET: a compendium of fingerprint-based ADMET prediction models. *J. Cheminform.* **13**, 75 (2021).
132. Xiong, G. *et al.* ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Res.* **49**, W5–W14 (2021).
133. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W. & Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **46**, 3–26 (2001).
134. Johnson, T. W., Dress, K. R. & Edwards, M. Using the Golden Triangle to optimize clearance and oral absorption. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **19**, 5560–5564 (2009).
135. Yang, J. J. *et al.* Badapple: promiscuity patterns from noisy evidence. *J. Cheminform.* **8**, 29 (2016).
136. Lipinski, C. A. Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discov. Today Technol.* **1**, 337–341 (2004).
137. Cheng, F., Li, W., Liu, G. & Tang, Y. In Silico ADMET Prediction: Recent Advances, Current Challenges and Future Trends. *Curr. Top. Med. Chem.* **13**, 1273–1289 (2013).
138. Schrödinger, E. An Undulatory Theory of the Mechanics of Atoms and Molecules. *Phys. Rev.* **28**, 1049–1070 (1926).
139. Born, M. Zur Quantenmechanik der Stoßvorgänge. *Zeitschrift für Phys.* **37**, 863–867 (1926).
140. Heitler, W. & London, F. Wechselwirkung neutraler Atome und homöopolare Bindung nach der Quantenmechanik. *Zeitschrift für Phys.* **44**, 455–472 (1927).
141. Shaik, S., Danovich, D. & Hiberty, P. C. Valence Bond Theory—Its Birth, Struggles with Molecular Orbital Theory, Its Present State and Future Prospects. *Molecules* **26**, 1624 (2021).
142. BOYS, S. F., COOK, G. B., REEVES, C. M. & SHAVITT, I. Automatic Fundamental Calculations of Molecular Structure. *Nature* **178**, 1207–1209 (1956).
143. *Reviews in Computational Chemistry*. vol. 26 (Wiley, 2008).
144. Allen, L. C. & Karo, A. M. Basis Functions for Ab Initio Calculations. *Rev. Mod. Phys.* **32**, 275–285 (1960).
145. Stewart, J. J. P. MOPAC: A semiempirical molecular orbital program. *J. Comput.*

- Aided. Mol. Des.* **4**, 1–103 (1990).
146. Stewart, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *J. Mol. Model.* **13**, 1173–1213 (2007).
 147. Alparone, A., Librando, V. & Minniti, Z. Validation of semiempirical PM6 method for the prediction of molecular properties of polycyclic aromatic hydrocarbons and fullerenes. *Chem. Phys. Lett.* **460**, 151–154 (2008).
 148. Kohn, W. Nobel Lecture: Electronic structure of matter—wave functions and density functionals. *Rev. Mod. Phys.* **71**, 1253–1266 (1999).
 149. Capelle, K. A bird’s-eye view of density-functional theory. *Brazilian J. Phys.* **36**, 1318–1343 (2006).
 150. van Mourik, T., Bühl, M. & Gageot, M.-P. Density functional theory across chemistry, physics and biology. *Philos. Trans. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* **372**, 20120488 (2014).
 151. Lu, L. Can B3LYP be improved by optimization of the proportions of exchange and correlation functionals? *Int. J. Quantum Chem.* **115**, 502–509 (2015).
 152. Arulaabaranam, K., Mani, G. & Muthu, S. Computational assessment on wave function (ELF, LOL) analysis, molecular confirmation and molecular docking explores on 2-(5-Amino-2- Methylanylino)-4-(3-pyridyl) pyrimidine. *Chem. Data Collect.* **29**, 100525 (2020).
 153. Gray, M., Bowling, P. E. & Herbert, J. M. Comment on “Benchmarking Basis Sets for Density Functional Theory Thermochemistry Calculations: Why Unpolarized Basis Sets and the Polarized 6-311G Family Should Be Avoided”. *J. Phys. Chem. A* **128**, 7739–7745 (2024).
 154. Yoshida, N. Role of Solvation in Drug Design as Revealed by the Statistical Mechanics Integral Equation Theory of Liquids. *J. Chem. Inf. Model.* **57**, 2646–2656 (2017).
 155. Marenich, A. V., Cramer, C. J. & Truhlar, D. G. Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. *J. Phys. Chem. B* **113**, 6378–6396 (2009).
 156. Mennucci, B. Polarizable continuum model. *WIREs Comput. Mol. Sci.* **2**, 386–404 (2012).
 157. Fukui, K., Yonezawa, T. & Shingu, H. A Molecular Orbital Theory of Reactivity in Aromatic Hydrocarbons. *J. Chem. Phys.* **20**, 722–725 (1952).
 158. Duarte, H. A. Índices de reatividade química a partir da teoria do funcional de densidade: formalismo e perspectivas. *Quim. Nova* **24**, 501–508 (2001).
 159. Chakraborty, D. & Chattaraj, P. K. Conceptual density functional theory based electronic structure principles. *Chem. Sci.* **12**, 6264–6279 (2021).
 160. Pucci, R. & Angilella, G. G. N. Density functional theory, chemical reactivity, and the Fukui functions. *Found. Chem.* **24**, 59–71 (2022).
 161. Geerlings, P. From Density Functional Theory to Conceptual Density Functional Theory and Biosystems. *Pharmaceuticals* **15**, 1112 (2022).

162. Zaklika, J., Hładyszowski, J., Ordon, P. & Komorowski, L. From the Electron Density Gradient to the Quantitative Reactivity Indicators: Local Softness and the Fukui Function. *ACS Omega* **7**, 7745–7758 (2022).
163. Beck, M. E. Do Fukui Function Maxima Relate to Sites of Metabolism? A Critical Case Study. *J. Chem. Inf. Model.* **45**, 273–282 (2005).
164. Beck, M. E. & Schindler, M. Life Science Applications of Fukui Functions. in *Pesticide Chemistry* 227–238 (Wiley, 2007). doi:10.1002/9783527611249.ch24.
165. Johnson, E. R. *et al.* Revealing Noncovalent Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 6498–6506 (2010).
166. Lu, T. & Chen, Q. Independent gradient model based on Hirshfeld partition: A new method for visual study of interactions in chemical systems. *J. Comput. Chem.* **43**, 539–555 (2022).
167. Jensen, F. Transition structure modeling by intersecting potential energy surfaces. *J. Comput. Chem.* **15**, 1199–1216 (1994).
168. Goodsell, D. S. *et al.* RCSB Protein Data Bank: Enabling biomedical research and drug discovery. *Protein Sci.* **29**, 52–65 (2020).
169. Jumper, J. *et al.* Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature* **596**, 583–589 (2021).
170. Pandey, A. K. & Verma, S. An in-silico evaluation of dietary components for structural inhibition of SARS-Cov-2 main protease. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **40**, 136–142 (2022).
171. Nascimento, É. C. M. *et al.* Electronic and Structural Insights of BCR-ABL Inhibitors Under LMC Treatment Perspective. in *Research Topics in Bioactivity, Environment and Energy: Experimental and Theoretical Tools* (eds. Taft, C. A. & de Lazaro, S. R.) 389–404 (Springer International Publishing, Cham, 2022). doi:10.1007/978-3-031-07622-0_15.
172. Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R. & Bajorath, J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nat. Rev. Drug Discov.* **3**, 935–949 (2004).
173. Du, X. *et al.* Insights into Protein–Ligand Interactions: Mechanisms, Models, and Methods. *Int. J. Mol. Sci.* **17**, 144 (2016).
174. Morris, G. M. *et al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J. Comput. Chem.* **30**, 2785–2791 (2009).
175. Chung, L. W. *et al.* The ONIOM Method and Its Applications. *Chem. Rev.* **115**, 5678–5796 (2015).
176. Chung, L. W., Hirao, H., Li, X. & Morokuma, K. The ONIOM method: its foundation and applications to metalloenzymes and photobiology. *WIREs Comput. Mol. Sci.* **2**, 327–350 (2012).
177. Kamp, M. W. ONIOM. in *Encyclopedia of Biophysics* 1790–1790 (Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2013). doi:10.1007/978-3-642-16712-6_279.
178. Seeber, P., Seidenath, S., Steinmetzer, J. & Gräfe, S. Growing Spicy <sc>ONIOMs</sc> : Extending and generalizing concepts of <sc>ONIOM</sc> and many body expansions. *WIREs Comput. Mol. Sci.* **13**, (2023).

179. Zhang, Z. & Castelló, A. Principal components analysis in clinical studies. *Ann. Transl. Med.* **5**, 351–351 (2017).
180. Chen, H., Engkvist, O., Wang, Y., Olivecrona, M. & Blaschke, T. The rise of deep learning in drug discovery. *Drug Discov. Today* **23**, 1241–1250 (2018).
181. Jolliffe, I. T. & Cadima, J. Principal component analysis: a review and recent developments. *Philos. Trans. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* **374**, 20150202 (2016).
182. Yao, F., Coquery, J. & Lê Cao, K.-A. Independent Principal Component Analysis for biologically meaningful dimension reduction of large biological data sets. *BMC Bioinformatics* **13**, 24 (2012).
183. Ikotun, A. M., Ezugwu, A. E., Abualigah, L., Abuhaija, B. & Heming, J. K-means clustering algorithms: A comprehensive review, variants analysis, and advances in the era of big data. *Inf. Sci. (Ny)*. **622**, 178–210 (2023).
184. Ezugwu, A. E.-S. *et al.* A Comparative Performance Study of Hybrid Firefly Algorithms for Automatic Data Clustering. *IEEE Access* **8**, 121089–121118 (2020).
185. Pérez-Ortega, J. *et al.* The K -Means Algorithm Evolution. in *Introduction to Data Science and Machine Learning* (IntechOpen, 2020). doi:10.5772/intechopen.85447.
186. Jain, A. K. Data clustering: 50 years beyond K-means. *Pattern Recognit. Lett.* **31**, 651–666 (2010).
187. Rousseeuw, P. J. Silhouettes: A graphical aid to the interpretation and validation of cluster analysis. *J. Comput. Appl. Math.* **20**, 53–65 (1987).
188. Trott, O. & Olson, A. J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comput. Chem.* **31**, 455–461 (2010).
189. Dennington, R.D., Keith, T.A. and Millam, J. . GaussView. at (2008).
190. Zhurko, G. A. Chemcraft - graphical software for visualization of quantum chemistry. at <https://www.chemcraftprog.com> (2005).
191. Jurrus, E. *et al.* Improvements to the <scp>APBS</scp> biomolecular solvation software suite. *Protein Sci.* **27**, 112–128 (2018).
192. Forli, W., Halliday, S., Belew, R. & Olson, A. AutoDock Version 4. *Citeseer* 1–66 (2012).
193. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. at <https://www.r-project.org/> (2024).
194. RStudio Team. RStudio: Integrated Development Environment for R. at <https://posit.co/> (2024).
195. Crocq, M. A. History of cannabis and the endocannabinoid system. *Dialogues Clin. Neurosci.* **22**, 223 (2020).
196. Maayah, Z. H., Takahara, S., Ferdaoussi, M. & Dyck, J. R. B. The anti-inflammatory and analgesic effects of formulated full-spectrum cannabis extract in the treatment of neuropathic pain associated with multiple sclerosis. *Inflamm. Res.* **69**, 549–558 (2020).
197. Hossain, K. R., Alghalayini, A. & Valenzuela, S. M. Current Challenges and Opportunities for Improved Cannabidiol Solubility. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 14514 (2023).
198. Saals, B. A. D. F. *et al.* A high-fat meal significantly impacts the bioavailability and

- biphasic absorption of cannabidiol (CBD) from a CBD-rich extract in men and women. *Sci. Rep.* **15**, 3678 (2025).
199. Widman, M., Agurell, S., Ehrnebo, M. & Jones, G. Binding of (+)- and (-)- Δ^1 -tetrahydrocannabinols and (-)-7-hydroxy- Δ^1 -tetrahydrocannabinol to blood cells and plasma proteins in man. *J. Pharm. Pharmacol.* **26**, 914–916 (1974).
 200. Araújo, M., Almeida, M. B. & Araújo, L. L. N. The cannabinoids mechanism of action: an overview. *Brazilian J. Pain* **6**, (2023).
 201. Gunasekaran, N. *et al.* Reintoxication: the release of fat-stored Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) into blood is enhanced by food deprivation or ACTH exposure. *Br. J. Pharmacol.* **158**, 1330–1337 (2009).
 202. McGilveray, I. J. Pharmacokinetics of Cannabinoids. *Pain Res. Manag.* **10**, (2005).
 203. Hedrich, W. D., Hassan, H. E. & Wang, H. Insights into CYP2B6-mediated drug–drug interactions. *Acta Pharm. Sin. B* **6**, 413–425 (2016).
 204. Zhao, M. *et al.* Cytochrome P450 Enzymes and Drug Metabolism in Humans. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 12808 (2021).
 205. Dariš, B., Tancer Verboten, M., Knez, Ž. & Ferik, P. Cannabinoids in cancer treatment: Therapeutic potential and legislation. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* **19**, 14–23 (2019).
 206. Souza, J. D. S. *et al.* Case Report: Cannabidiol-Induced Skin Rash: A Case Series and Key Recommendations. *Front. Pharmacol.* **13**, (2022).
 207. Lo, L. A. *et al.* Cannabidiol-associated hepatotoxicity: A systematic review and meta-analysis. *J. Intern. Med.* **293**, 724–752 (2023).
 208. Preteroti, M., Wilson, E. T., Eidelman, D. H. & Baglolle, C. J. Modulation of pulmonary immune function by inhaled cannabis products and consequences for lung disease. *Respir. Res.* **24**, 95 (2023).
 209. Martinez Naya, N. *et al.* An Overview of Cannabidiol as a Multifunctional Drug: Pharmacokinetics and Cellular Effects. *Molecules* **29**, 473 (2024).
 210. Shao, Z. *et al.* Structure of an allosteric modulator bound to the CB1 cannabinoid receptor. *Nat. Chem. Biol.* **15**, 1199–1205 (2019).
 211. Hsieh, C., Brown, S., Derleth, C. & Mackie, K. Internalization and Recycling of the CB1 Cannabinoid Receptor. *J. Neurochem.* **73**, 493–501 (1999).
 212. Atwood, B. K., Wager-Miller, J., Haskins, C., Straiker, A. & Mackie, K. Functional Selectivity in CB2 Cannabinoid Receptor Signaling and Regulation: Implications for the Therapeutic Potential of CB2 Ligands. *Mol. Pharmacol.* **81**, 250–263 (2012).
 213. Hansen, H. S., Rosenkilde, M. M., Holst, J. J. & Schwartz, T. W. GPR119 as a fat sensor. *Trends Pharmacol. Sci.* **33**, 374–381 (2012).
 214. Felder, C. C. *et al.* Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol. Pharmacol.* **48**, 443–450 (1995).
 215. Urbani, P. *et al.* New metabolically stable fatty acid amide ligands of cannabinoid receptors: Synthesis and receptor affinity studies. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **16**, 138–141 (2006).
 216. Murphy, J. W. & Kendall, D. A. Integrity of extracellular loop 1 of the human cannabinoid receptor 1 is critical for high-affinity binding of the ligand CP 55,940 but

- not SR 141716A. *Biochem. Pharmacol.* **65**, 1623–1631 (2003).
217. Tummino, T. A. *et al.* Virtual library docking for cannabinoid-1 receptor agonists with reduced side effects. *Nat. Commun.* **16**, 2237 (2025).
 218. McHugh, D., Page, J., Dunn, E. & Bradshaw, H. B. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and N-arachidonyl glycine are full agonists at GPR18 receptors and induce migration in human endometrial HEC-1B cells. *Br. J. Pharmacol.* **165**, 2414–2424 (2012).
 219. Hua, T. *et al.* Activation and Signaling Mechanism Revealed by Cannabinoid Receptor-Gi Complex Structures. *Cell* **180**, 655-665.e18 (2020).
 220. Alper, P. *et al.* Discovery of structurally novel, potent and orally efficacious GPR119 agonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **24**, 2383–2387 (2014).
 221. Harada, N. *et al.* Identification of G protein-coupled receptor 55 (GPR55) as a target of curcumin. *npj Sci. Food* **6**, 4 (2022).

8 Apêndices

8.1.1.1 Ligantes de referência

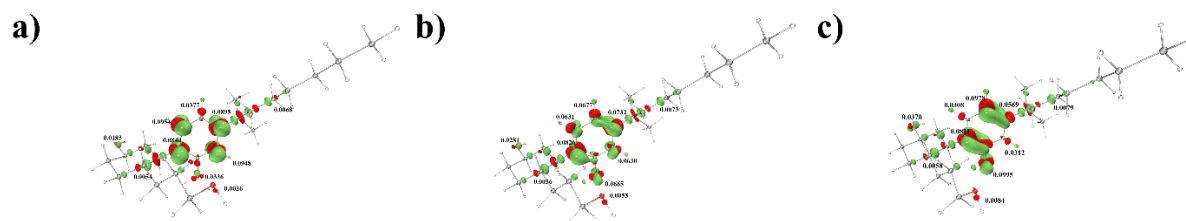


Figura 80. Representação dos índices de Fukui f^- (a), f^0 (b) e f^+ (c) com seus respectivos valores de CDFT em u.a. para a molécula CP55940.

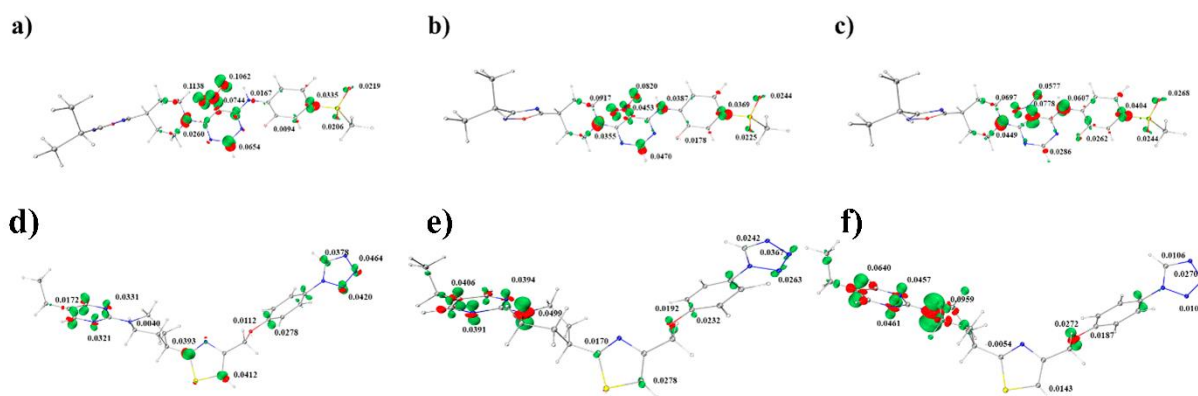


Figura 81. Representação dos índices de Fukui f^- (a, d), f^0 (b, e) e f^+ (c, f) com seus respectivos valores de CDFT em u.a. para as moléculas AR231453 e MBX2982.

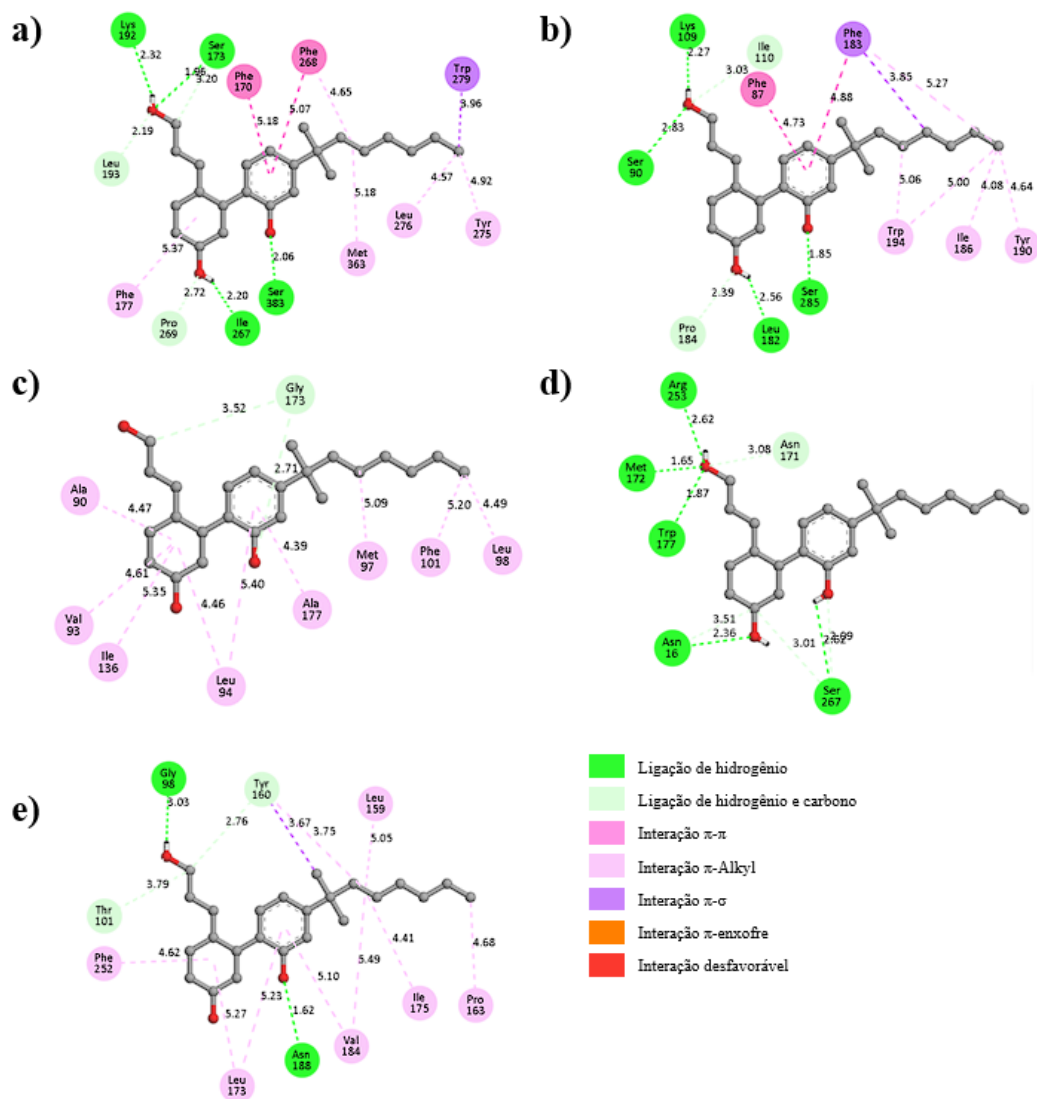


Figura 82. Representação bidimensional das interações entre a molécula CP55940 com conformação retirada do cristal 6KQI com os resíduos dos receptores CB1 (a), CB2 (b), GPR119 (c), GPR55 (d) e GPR18.

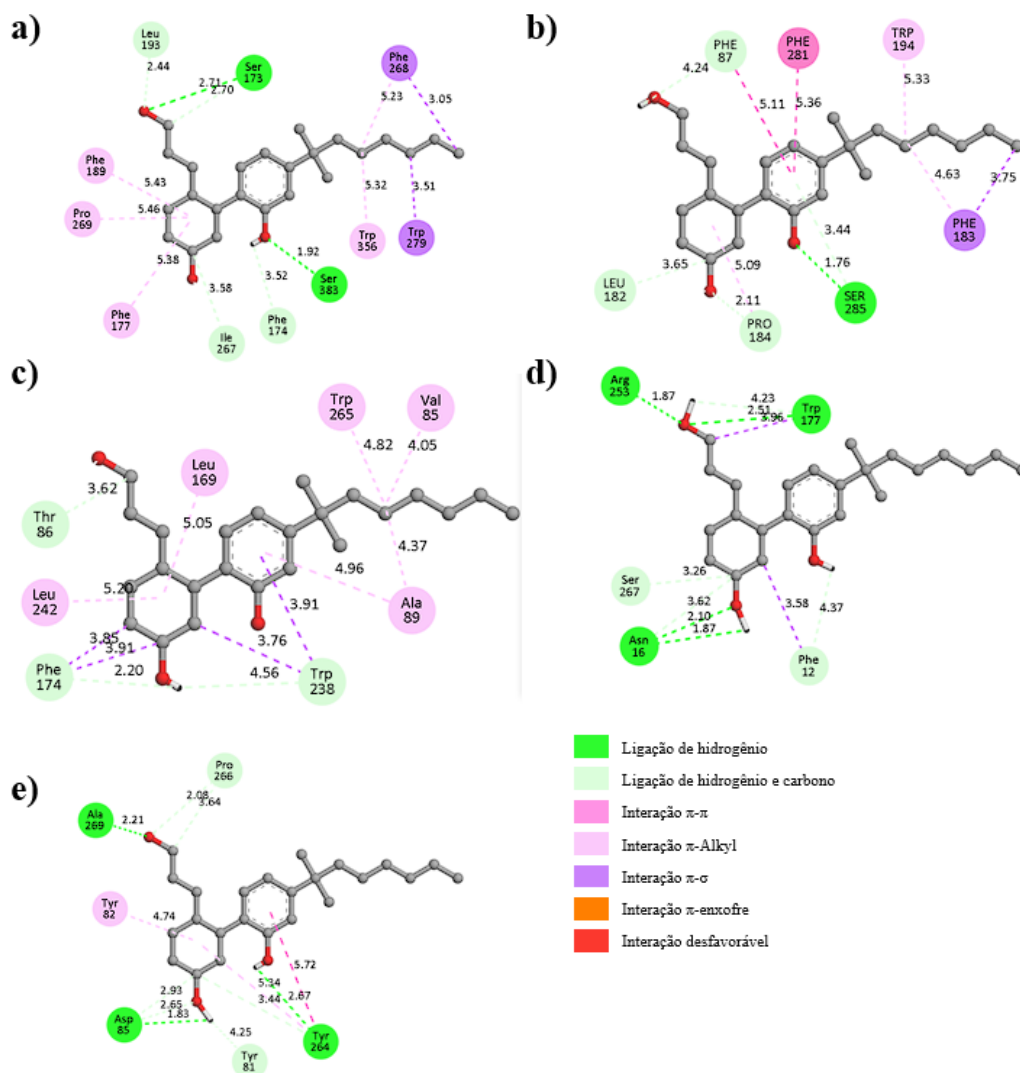


Figura 83. Representação bidimensional das interações entre a molécula CP55940 com conformação retirada do cristal 8GUR com os resíduos dos receptores CB1 (a), CB2 (b), GPR119 (c), GPR55 (d) e GPR18.

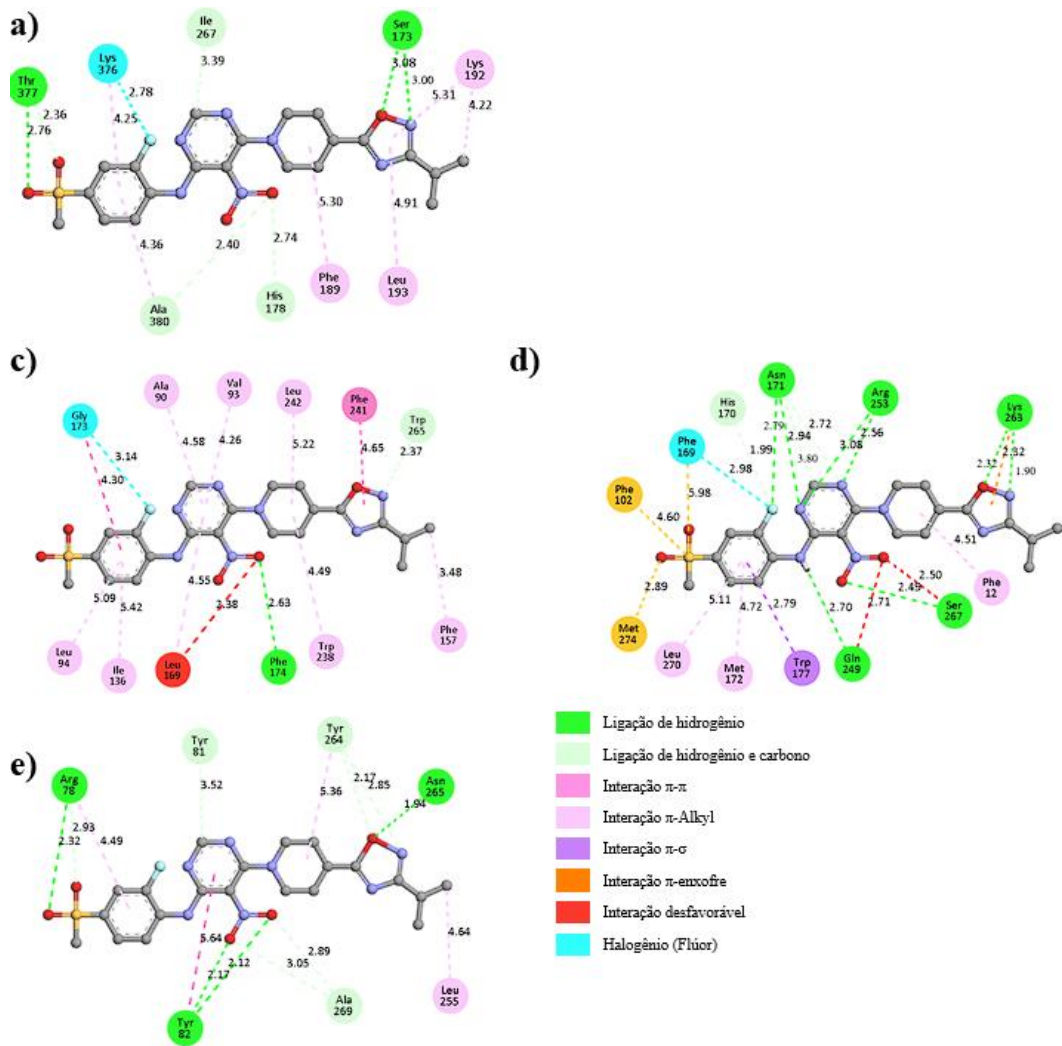


Figura 85. Representação bidimensional das interações entre a molécula AR 231453 com os resíduos dos receptores CB1 (a), CB2 (b), GPR119 (c), GPR55 (d) e GPR18.

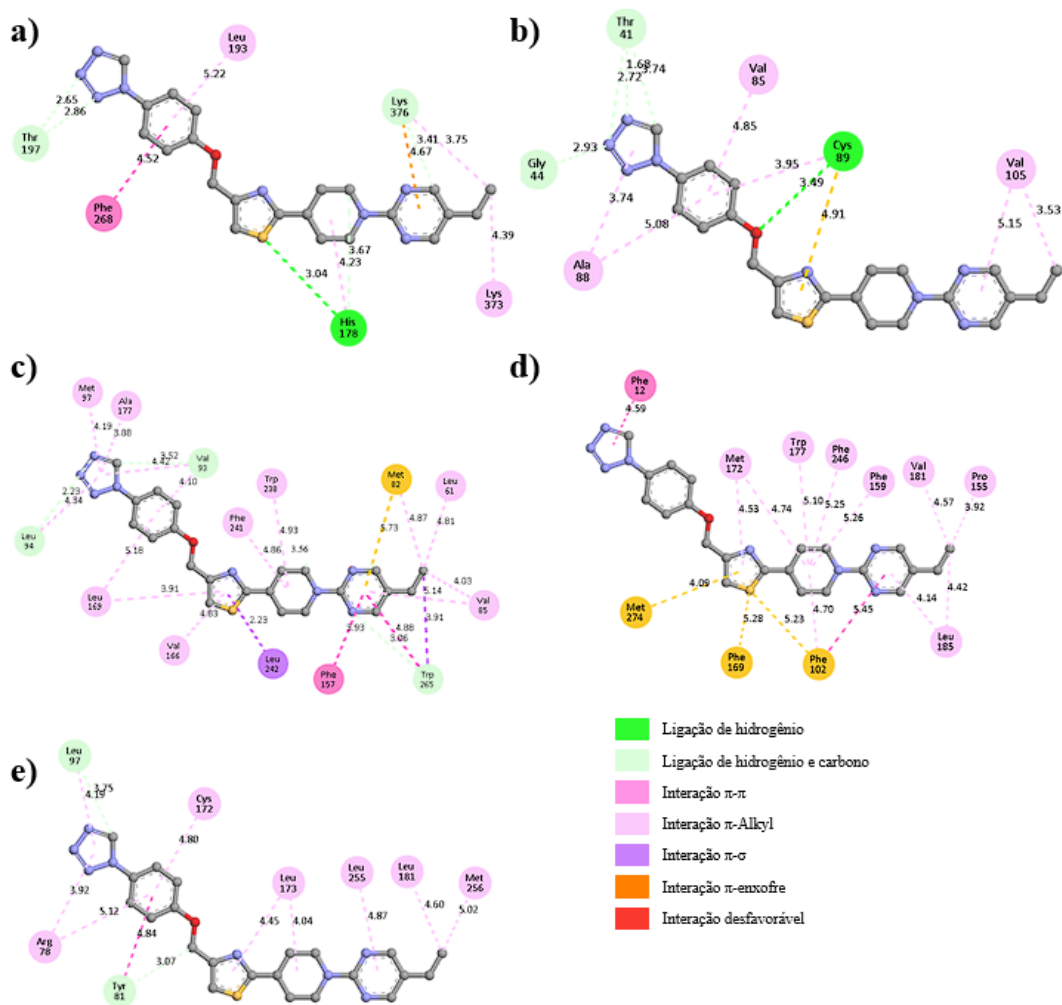


Figura 86. Representação bidimensional das interações entre a molécula MBX2982 otimizada com DFT com os resíduos dos receptores CB1 (a), CB2 (b), GPR119 (c), GPR55 (d) e GPR18.

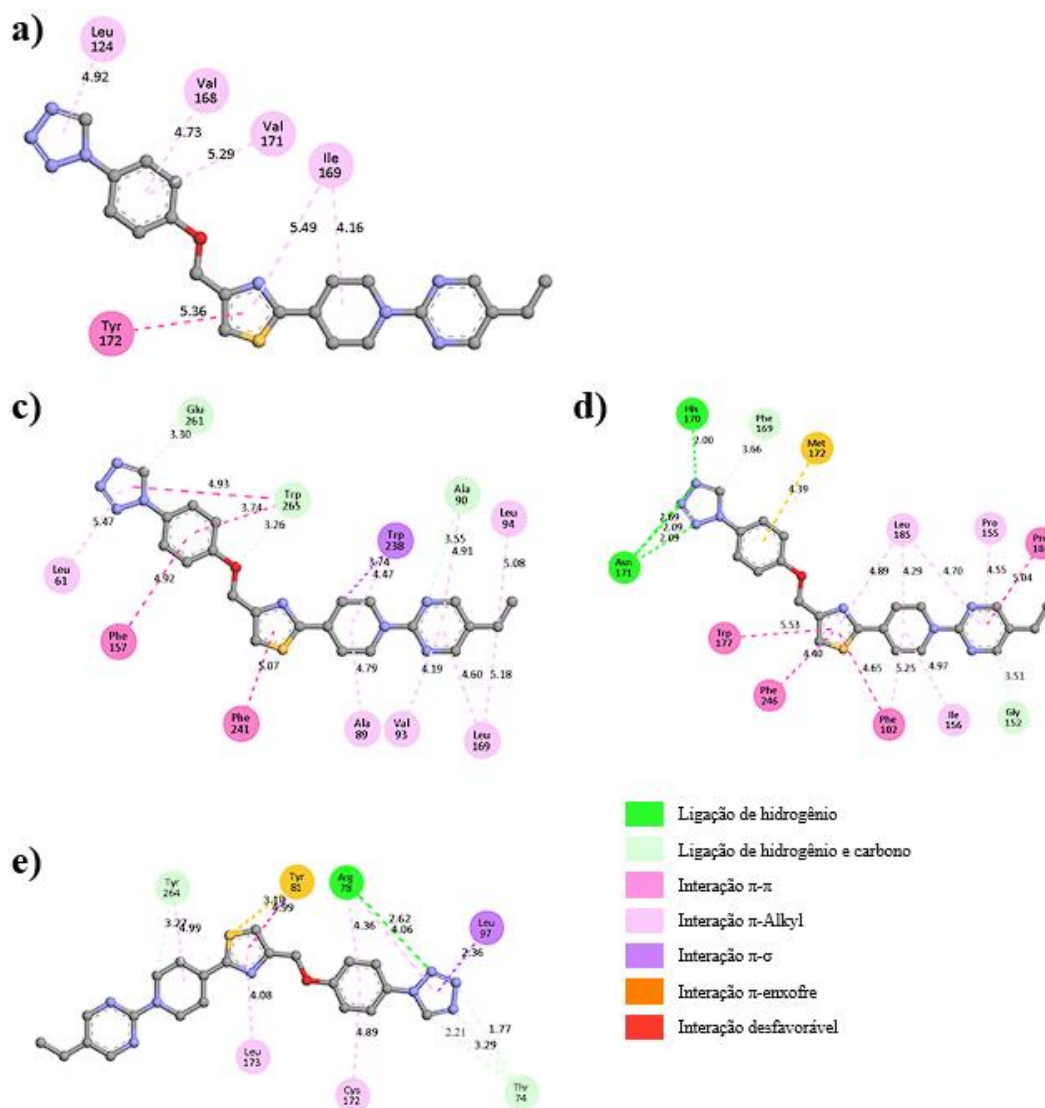


Figura 87. Representação bidimensional das interações entre a molécula MBX2982, conformação cristalizada, com os resíduos dos receptores CB1 (a), GPR119 (c), GPR55 (d) e GPR18.

8.1.1.2 Endocanabinoide

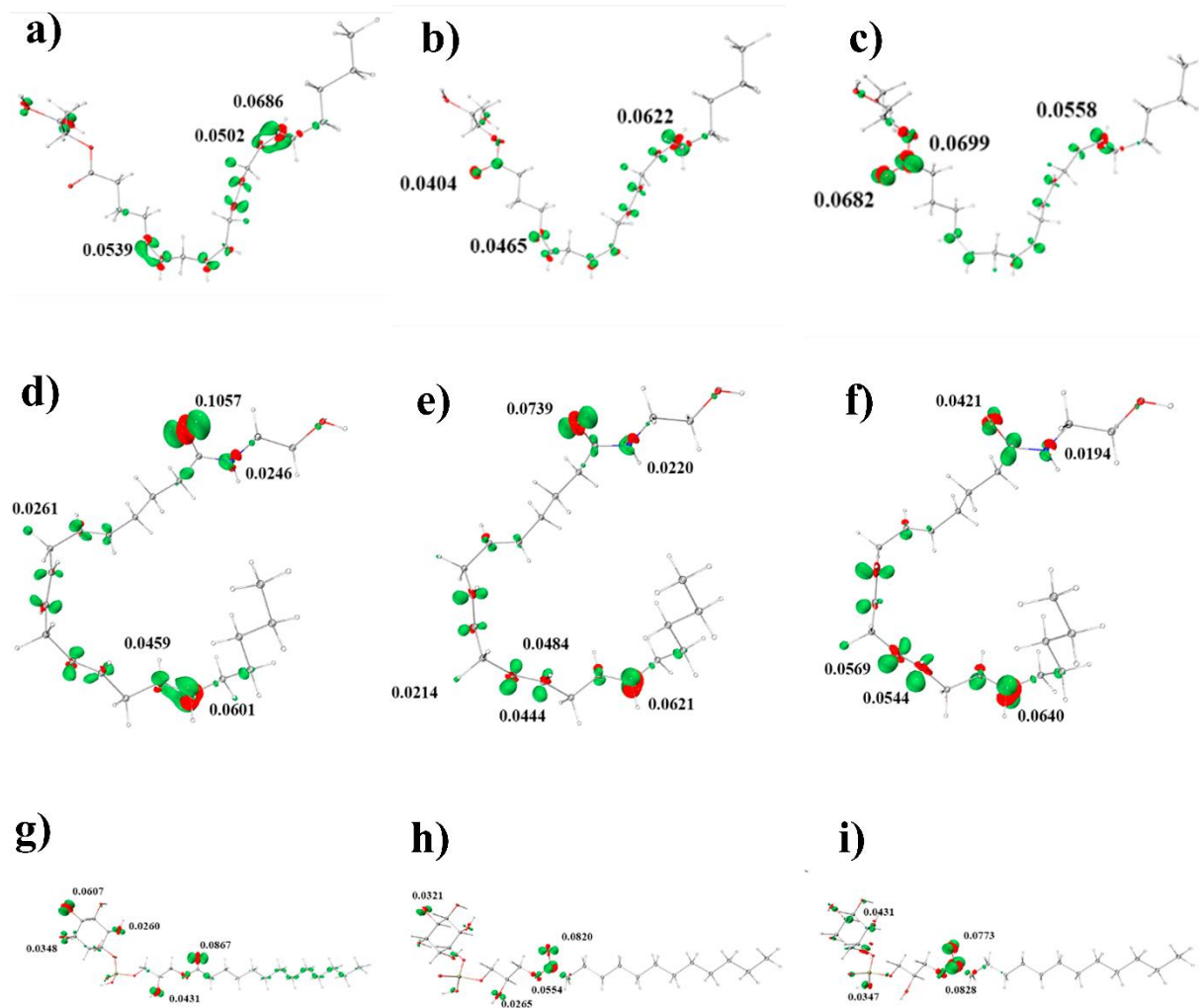


Figura 88. Representação dos índices de Fukui f^- (a, d, g), f^0 (b, e, h) e f^+ (c, f, i) com seus respectivos valores de CDFT em u.a. para as moléculas 2-AG, anandamida e LPI.

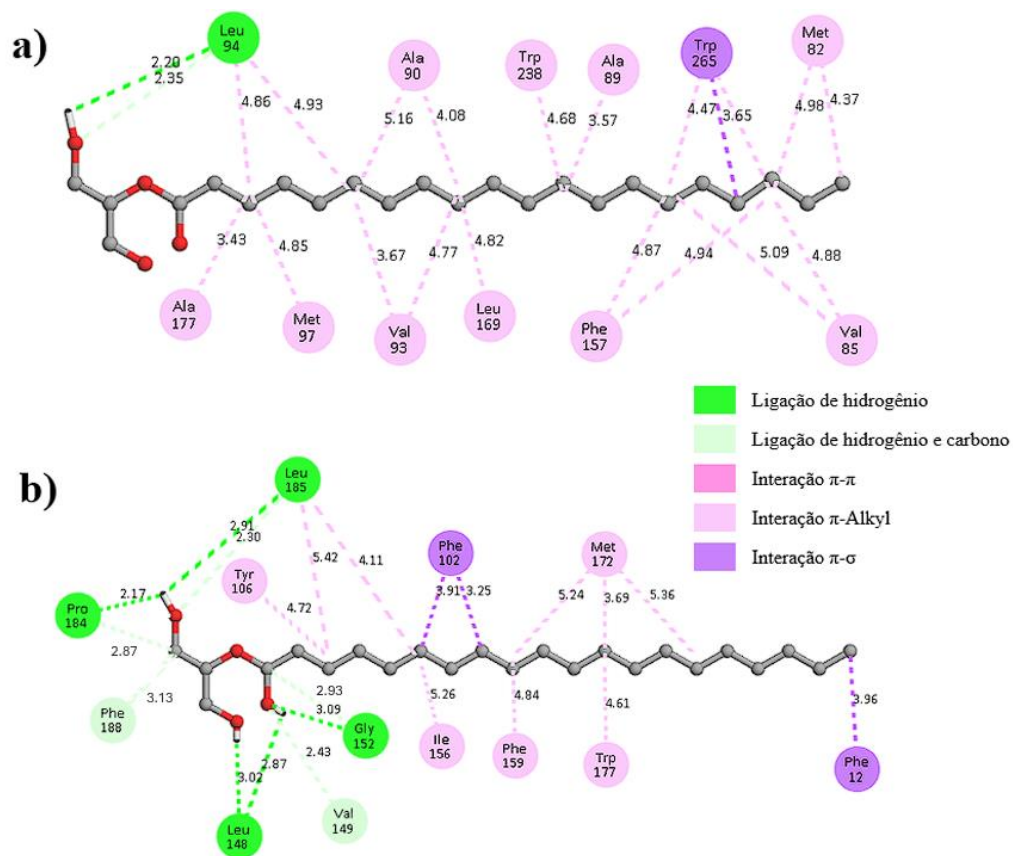


Figura 89. Representação bidimensional das interações entre a molécula 2-araquidonoilglicerol com os resíduos dos receptores GPR119 (a) e GPR55 (b).

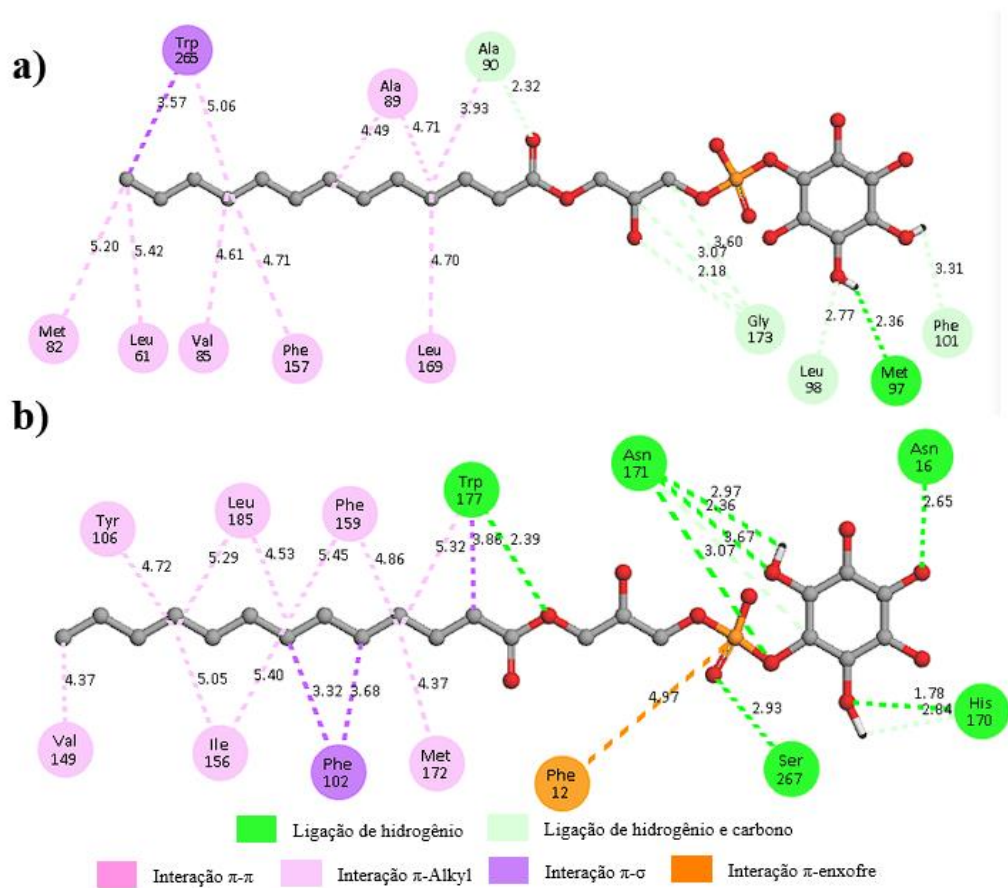


Figura 91. Representação bidimensional das interações entre a molécula LPI com os resíduos dos receptores GPR119 (a) e GPR55 (b).

8.1.1.3 Canabinoides

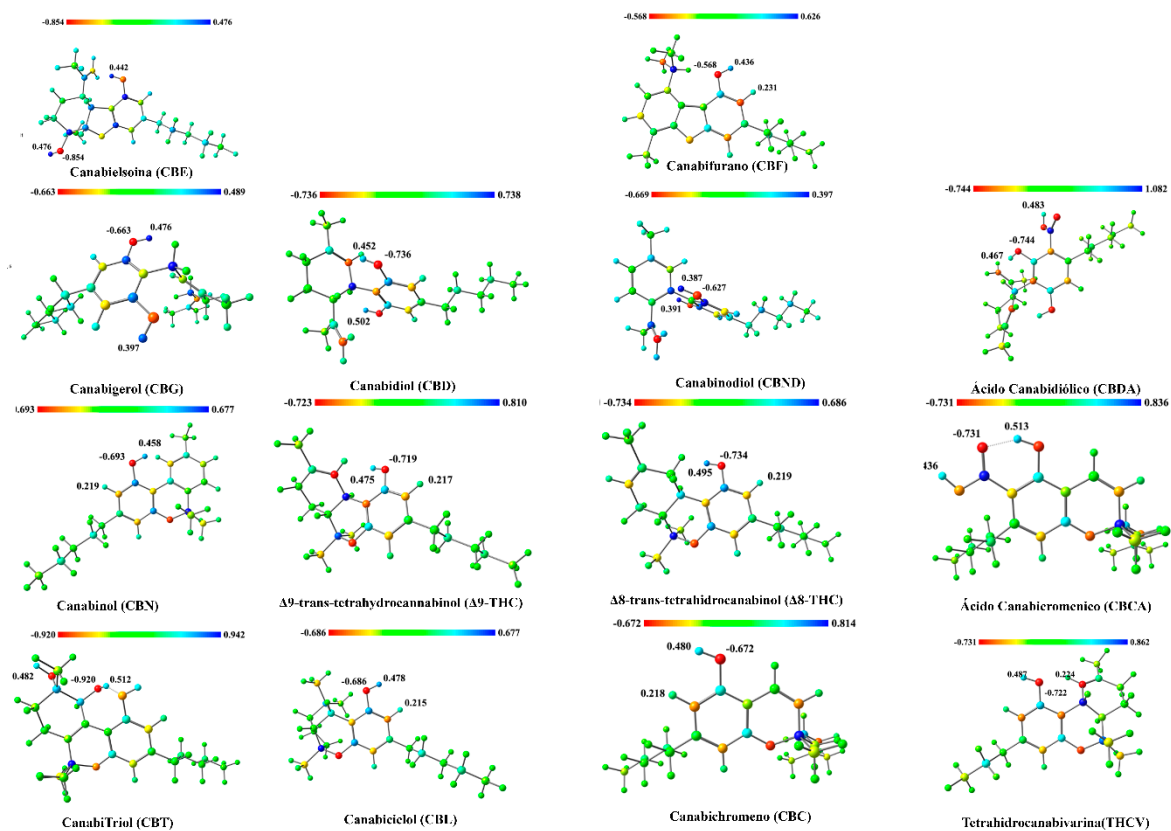


Figura 92. Representação tridimensional das moléculas do grupo dos canabinoides com coloração atômica baseada na carga ESP.

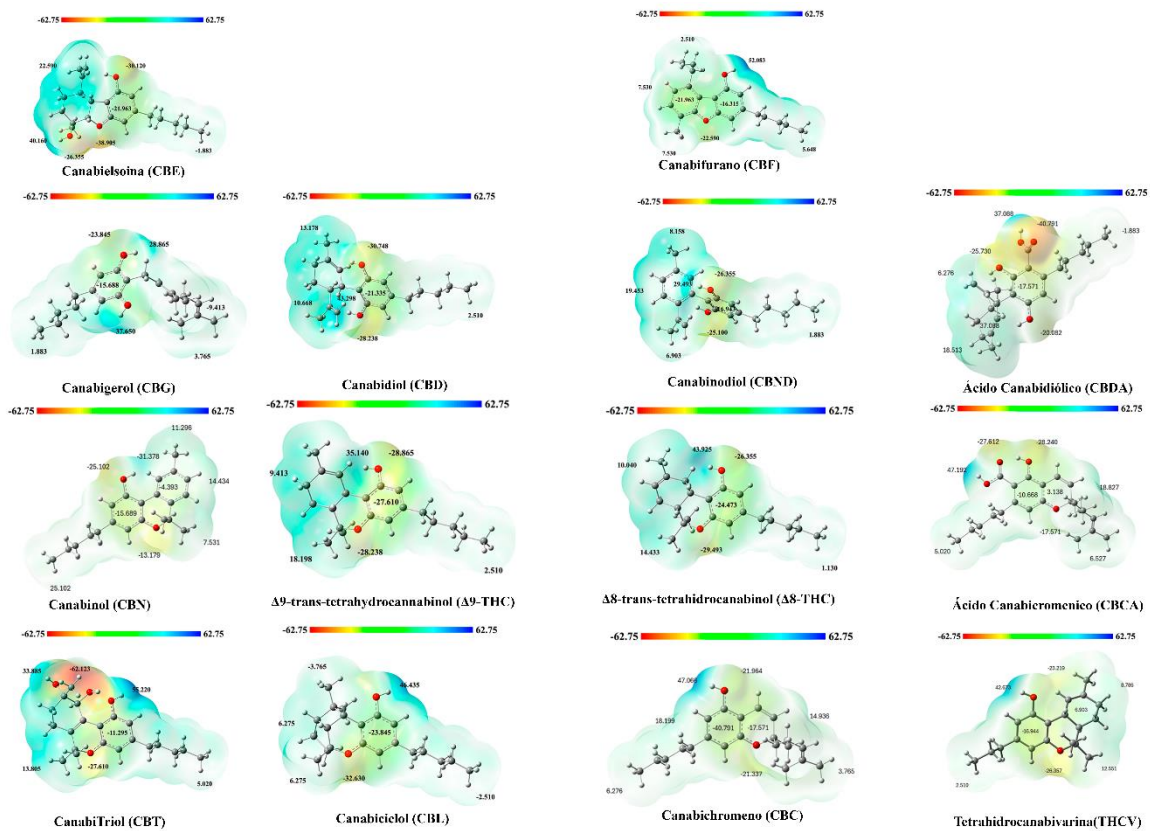


Figura 93. Mapa de potencial eletrostático das moléculas do grupo dos canabinoides variando de -62,75 kcal/mol a 62/75 kcal/mol.

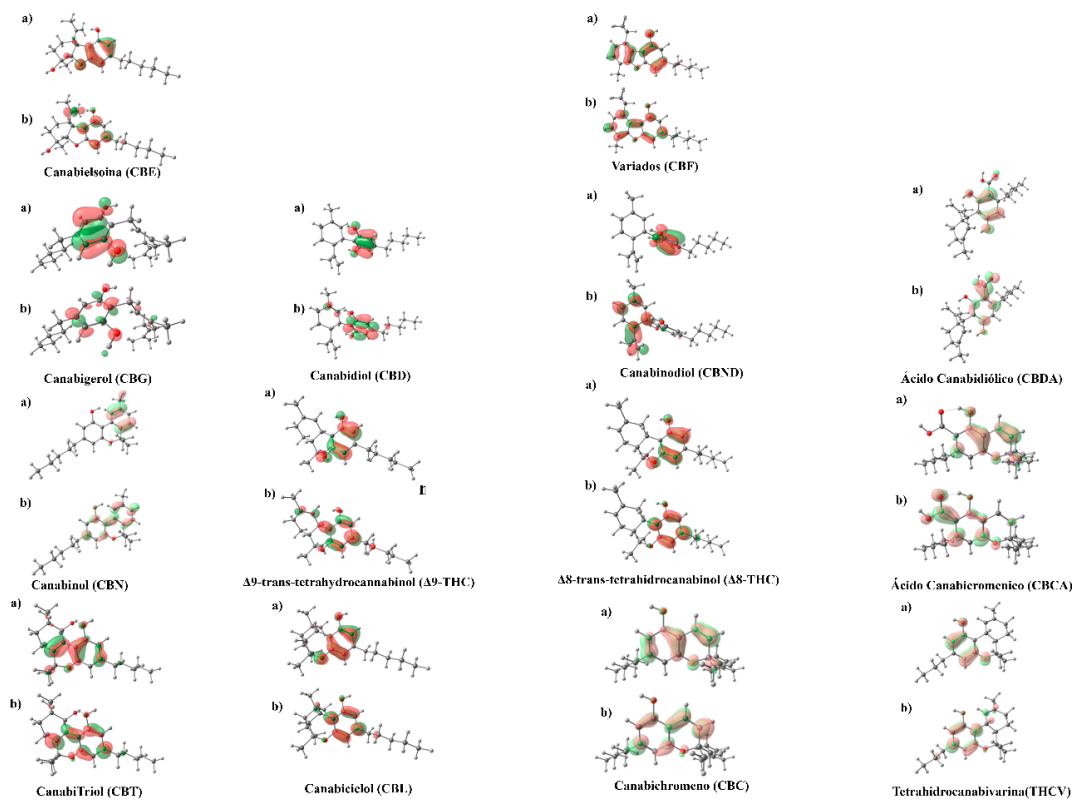


Figura 94. Isosuperfícies dos orbitais moleculares de fronteira HOMO (a) e LUMO (b) das moléculas do grupo dos canabinoides.

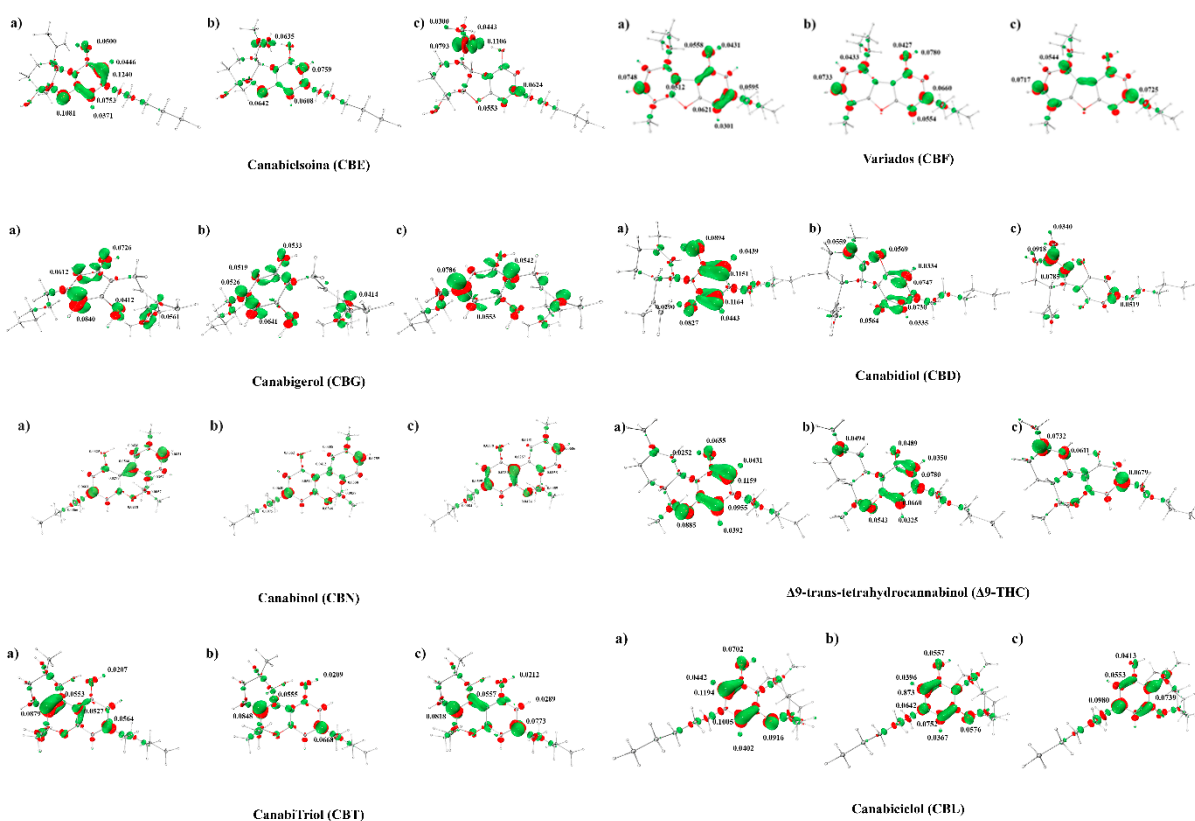


Figura 95. Estudo de Fukui das moléculas CBE, CBG, CBN, CBT, CBF, CBD, Δ^9 -THC e CBL. Isosuperfícies calculadas com as funções f^- (a), f^0 (b) e f^+ (c).

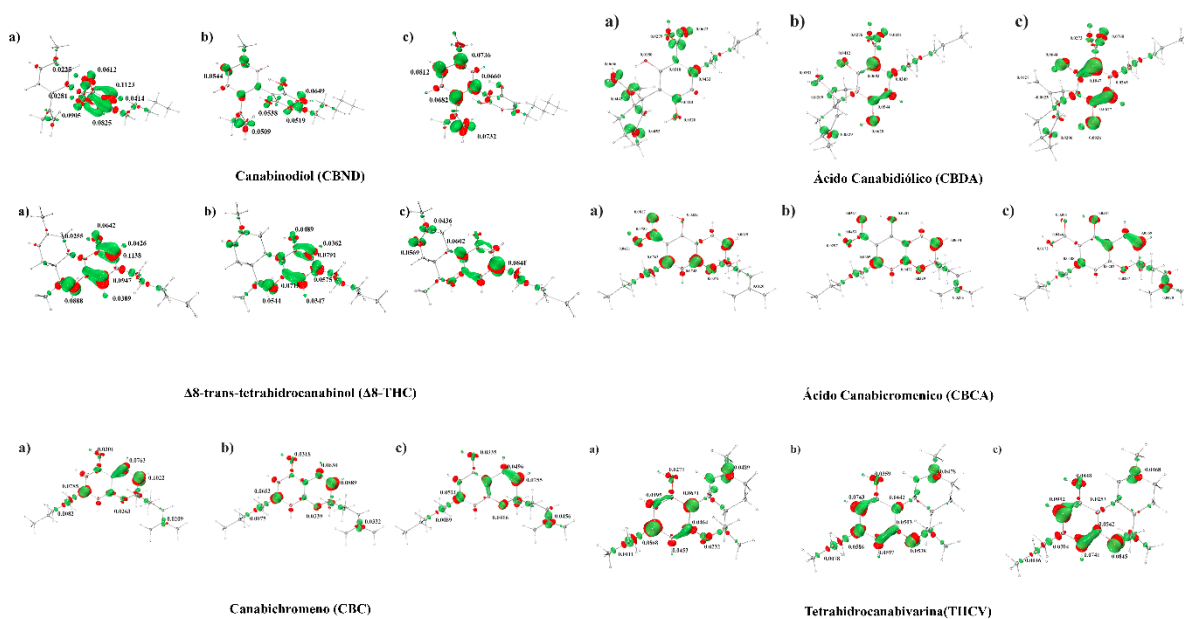


Figura 96. Estudo de Fukui das moléculas CBND, Δ^8 -THC, CBC, CBDA, CBCA e THCV. Isosuperfícies calculadas com as funções f^- (a), f^0 (b) e f^+ (c).

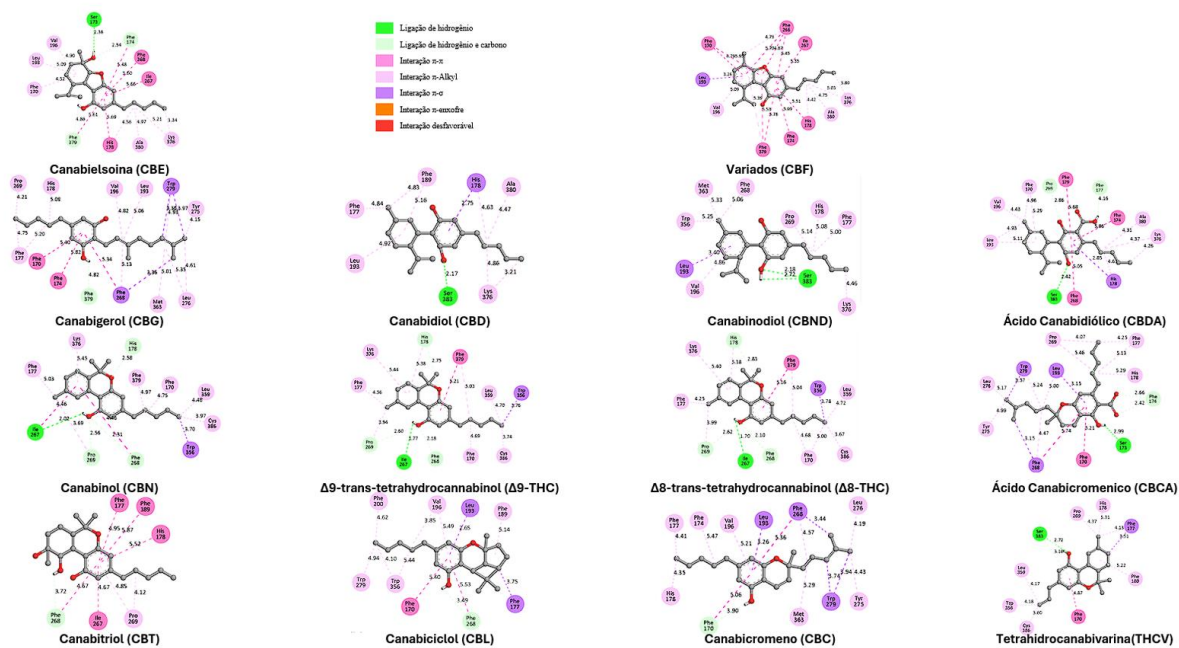


Figura 97. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos canabinoides com os resíduos dos receptores CB₁.

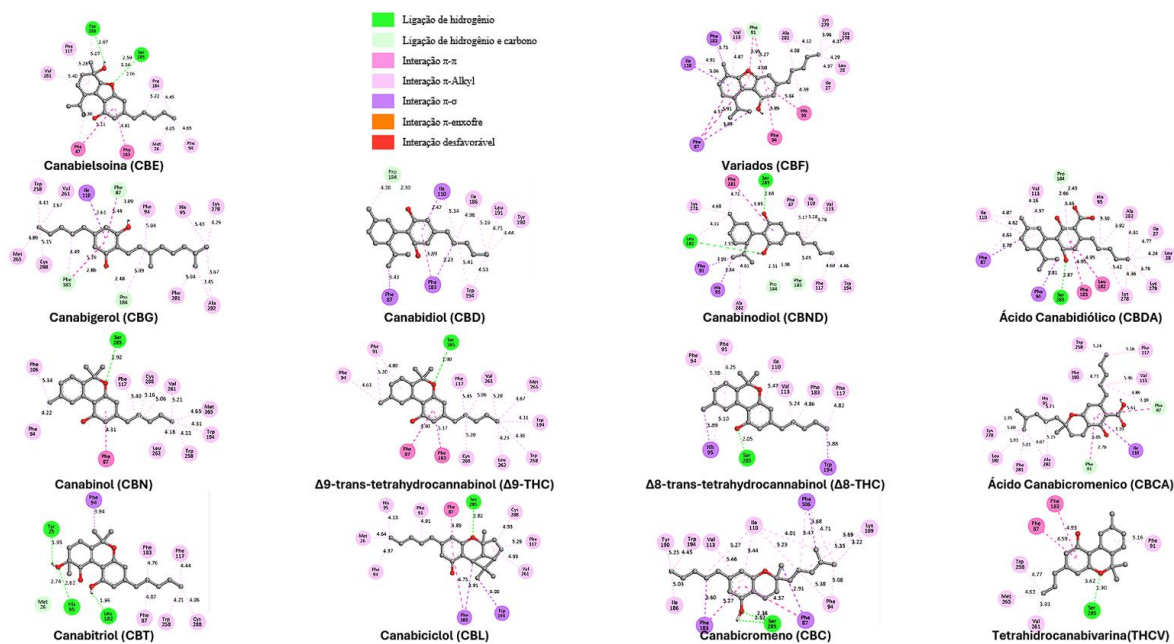


Figura 98. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos canabinoides com os resíduos dos receptores CB₂.

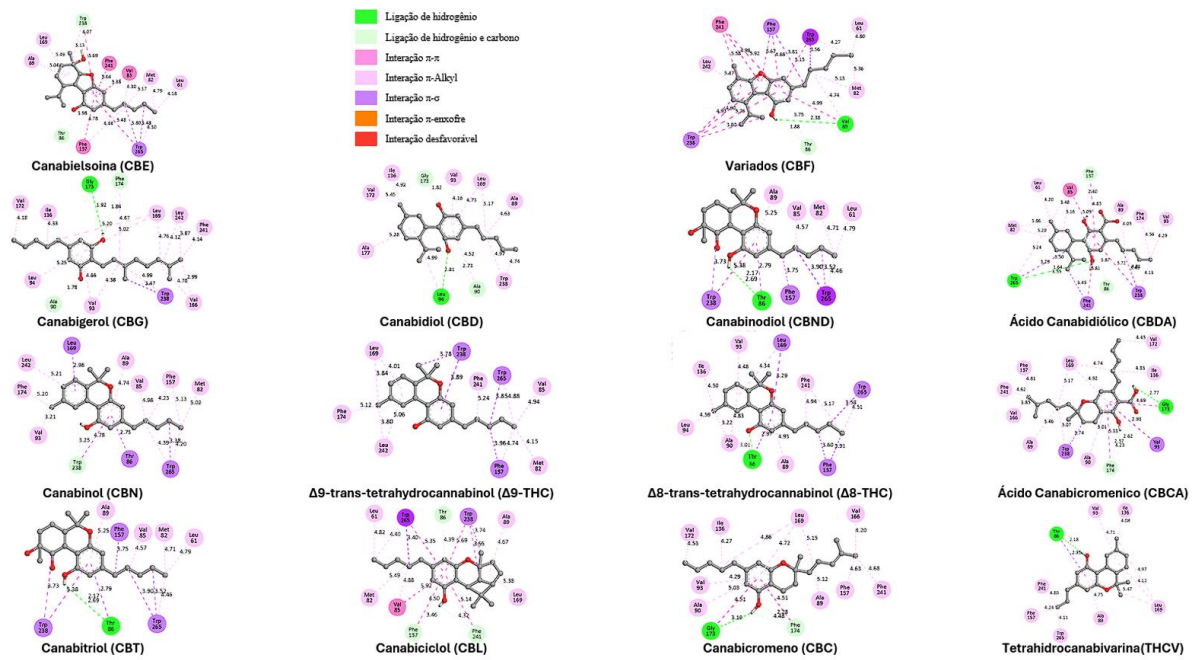


Figura 99. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos canabinoides com os resíduos dos receptores GPR119.

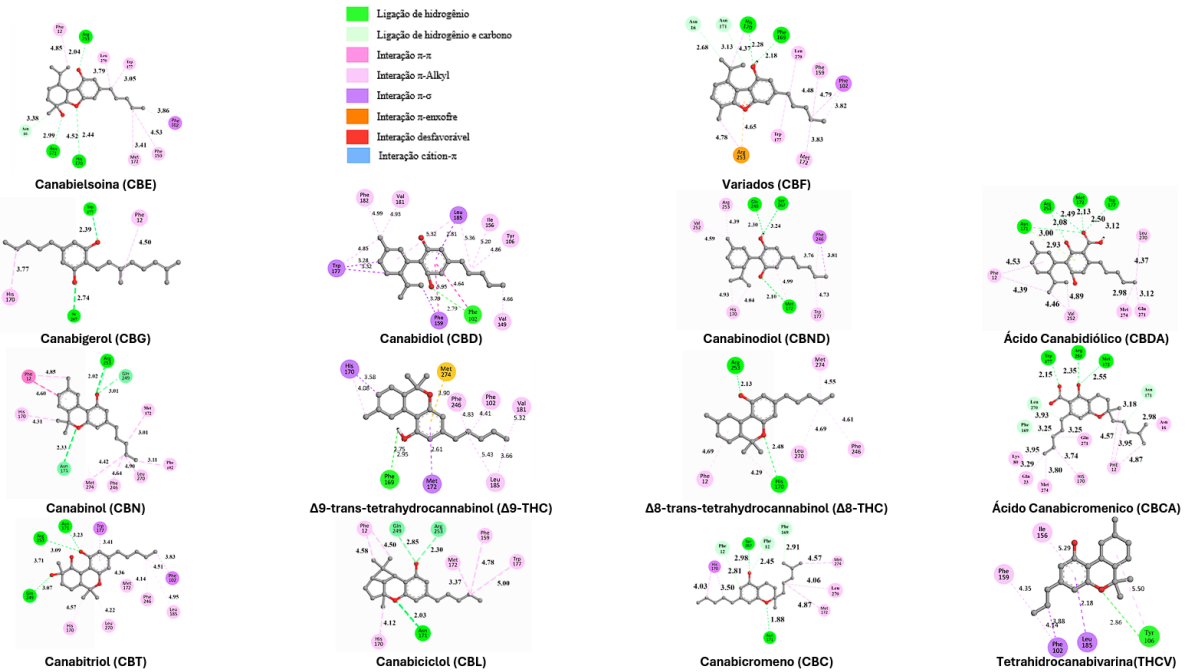


Figura 100. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos canabinoides com os resíduos dos receptores GPR55.

8.1.1.4 Análogos de CBG

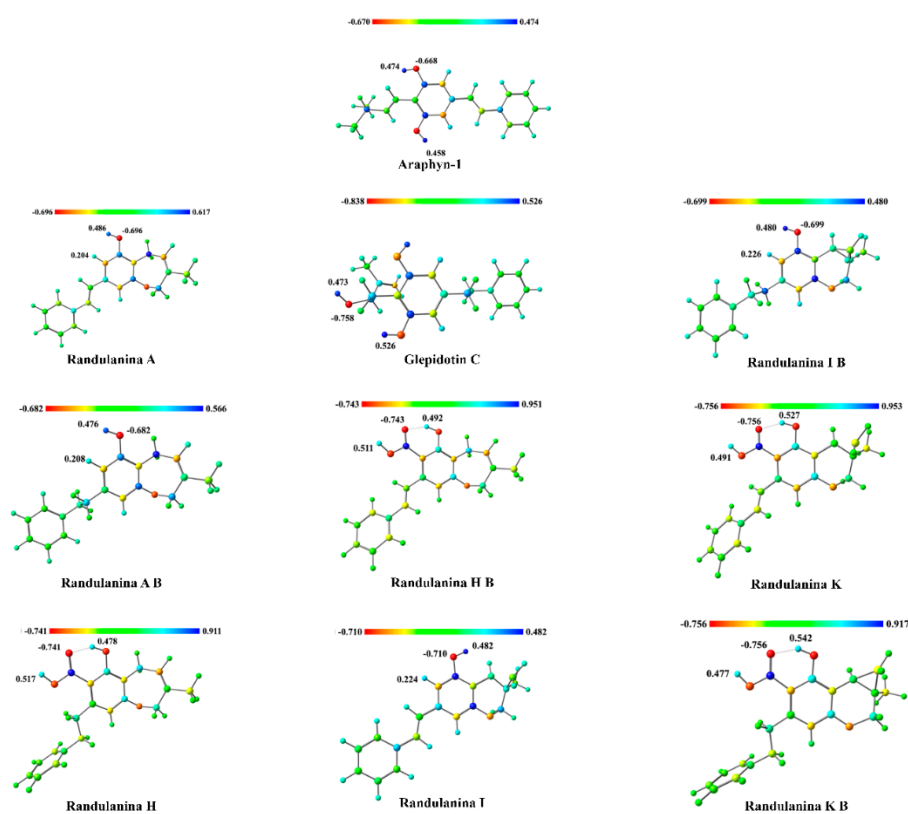


Figura 102. Representação tridimensional das moléculas do grupo dos análogos de CBG com coloração atômica baseada na carga ESP.

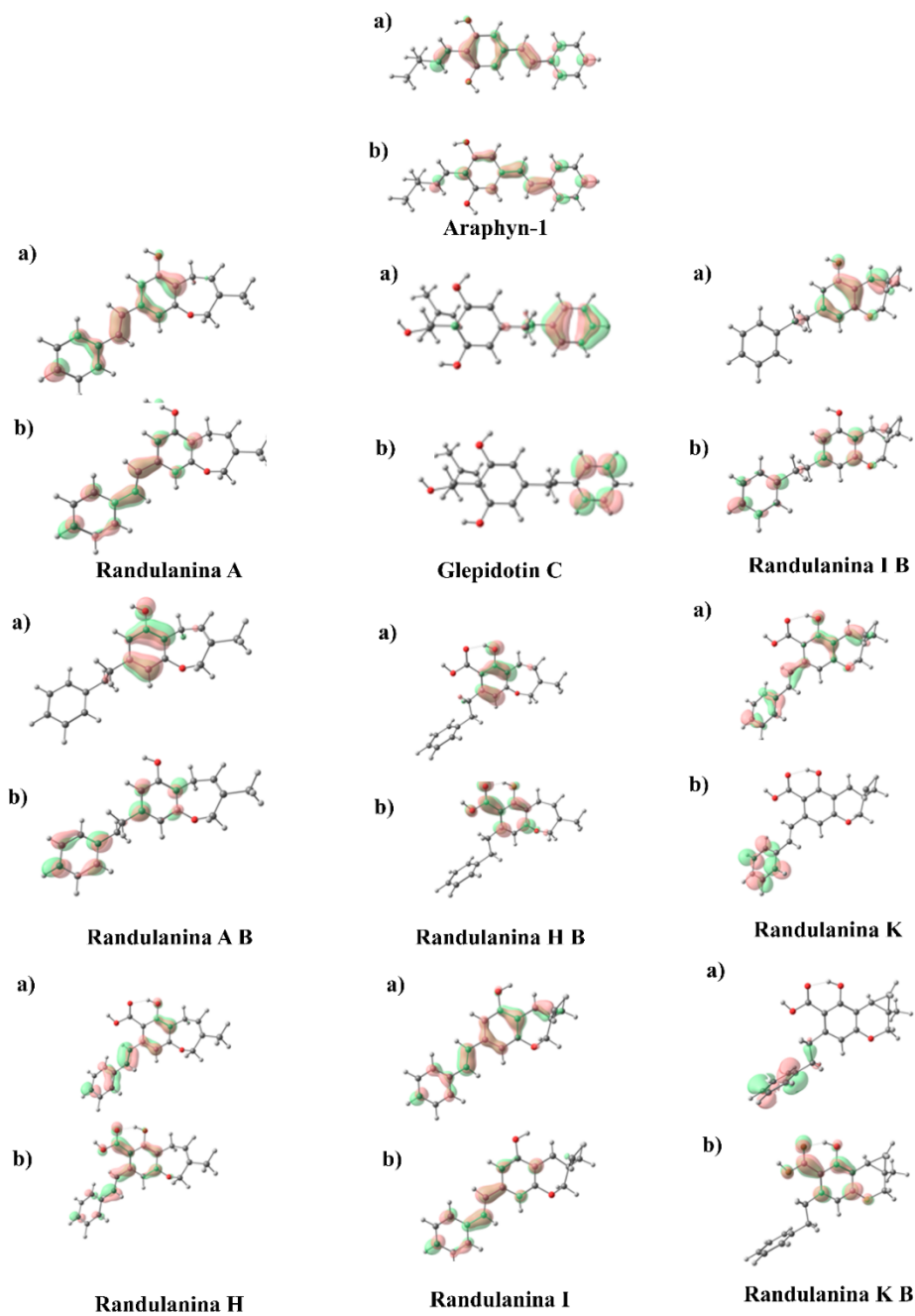


Figura 104. Isosuperfícies dos orbitais moleculares de fronteira HOMO (a) e LUMO (b) das moléculas do grupo dos análogos de CBG.

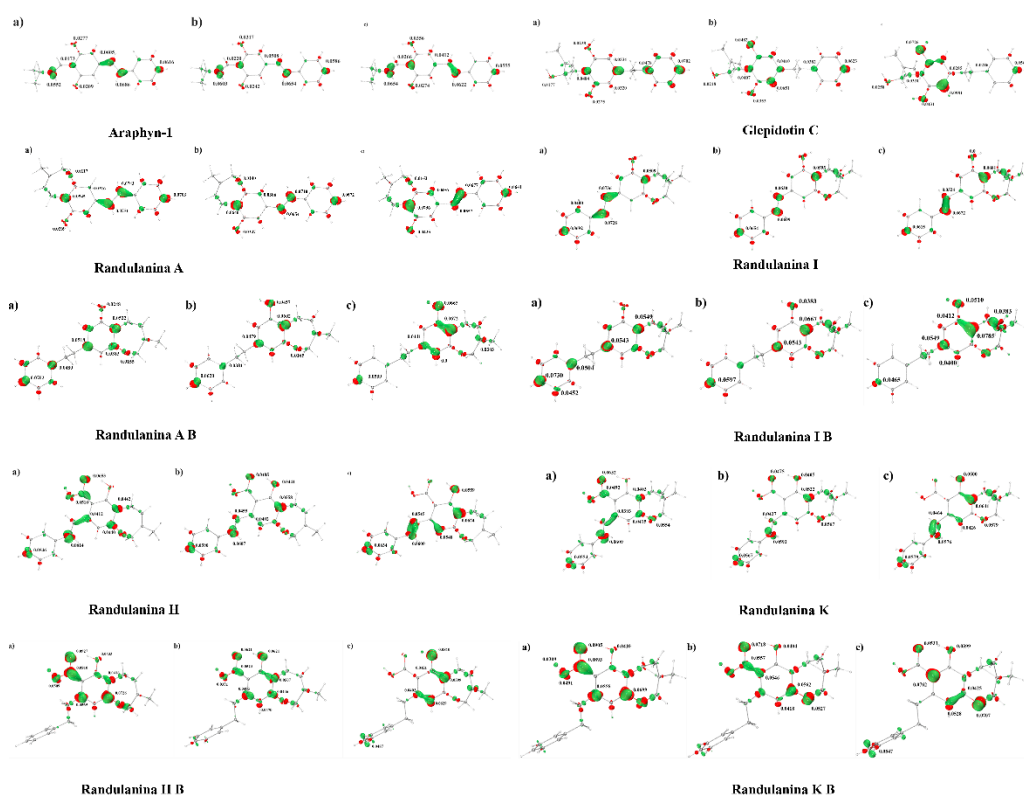


Figura 105. Estudo de Fukui das moléculas do grupo de análogos de CBG. Isosuperfícies calculadas com as funções f^- (a), f^0 (b) e f^+ (c).

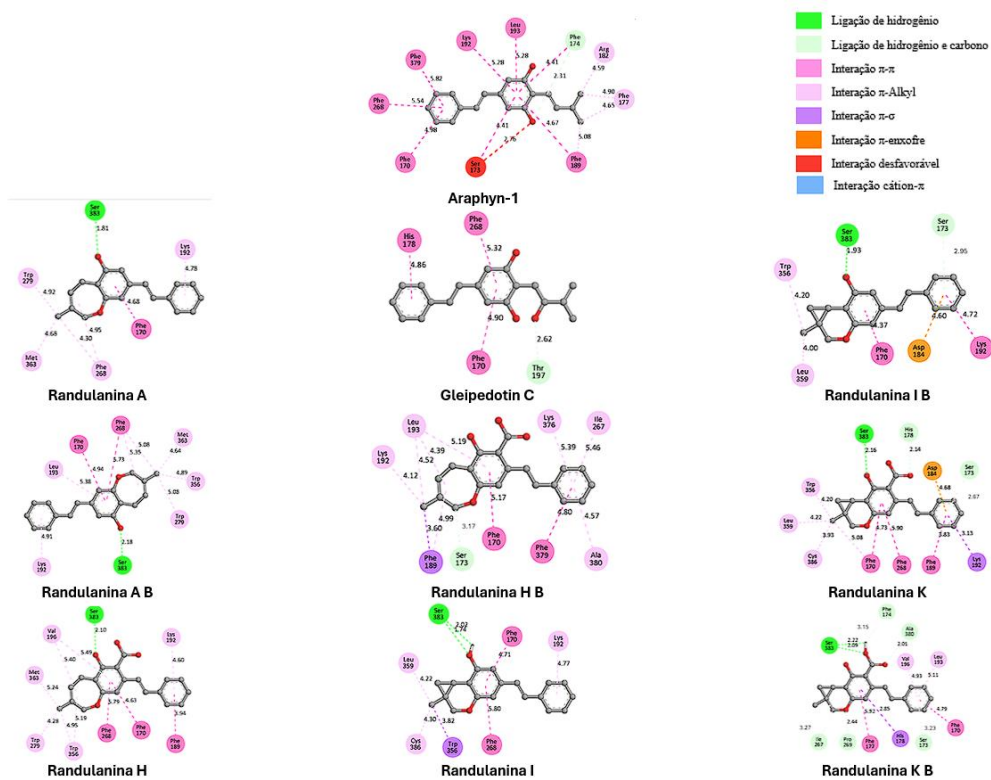


Figura 106. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos análogos de CBG com os resíduos dos receptores CB₁.

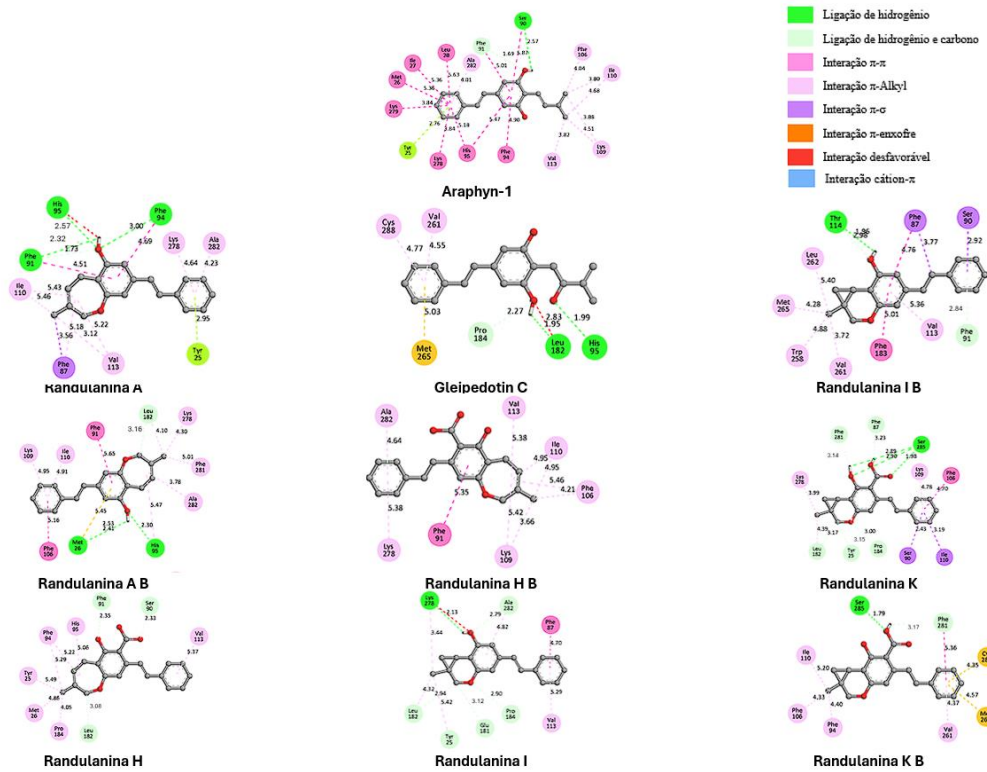


Figura 107. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos análogos de CBG com os resíduos dos receptores CB₂.

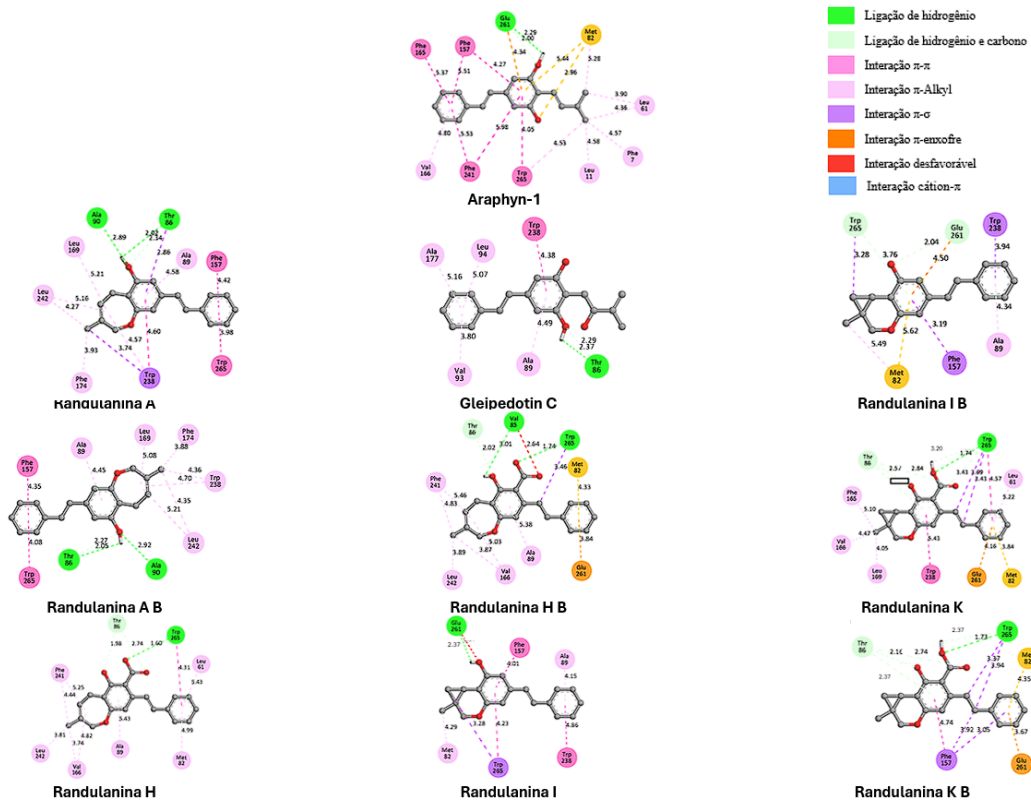


Figura 108. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos análogos de CBG com os resíduos dos receptores GPR119.

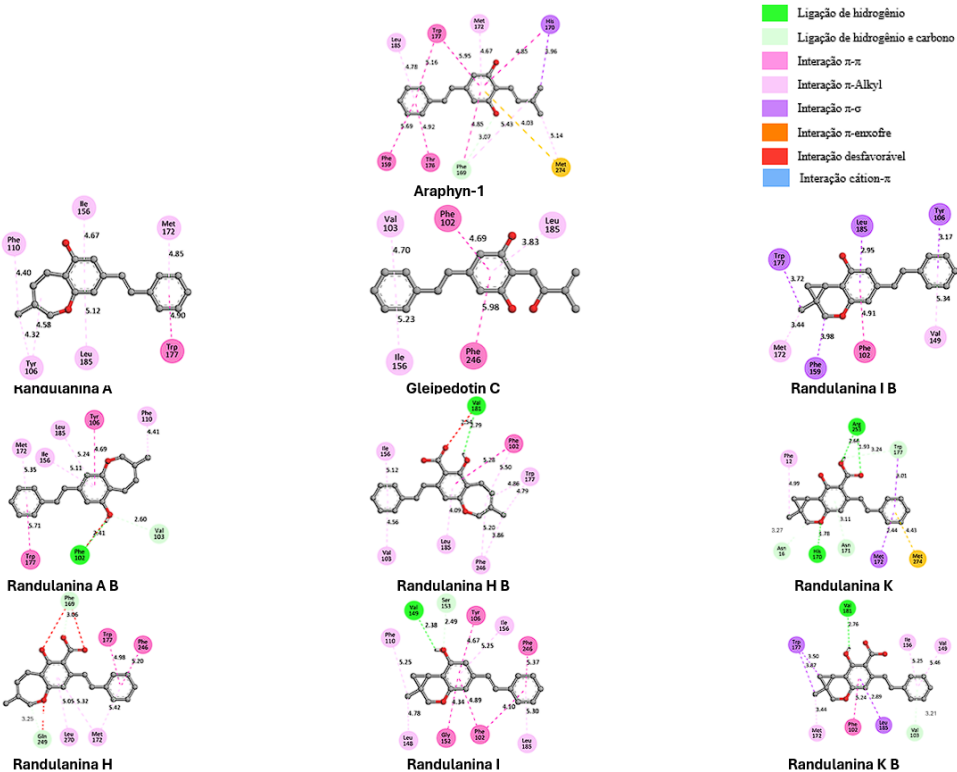


Figura 109. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos análogos de CBG com os resíduos dos receptores GPR55.

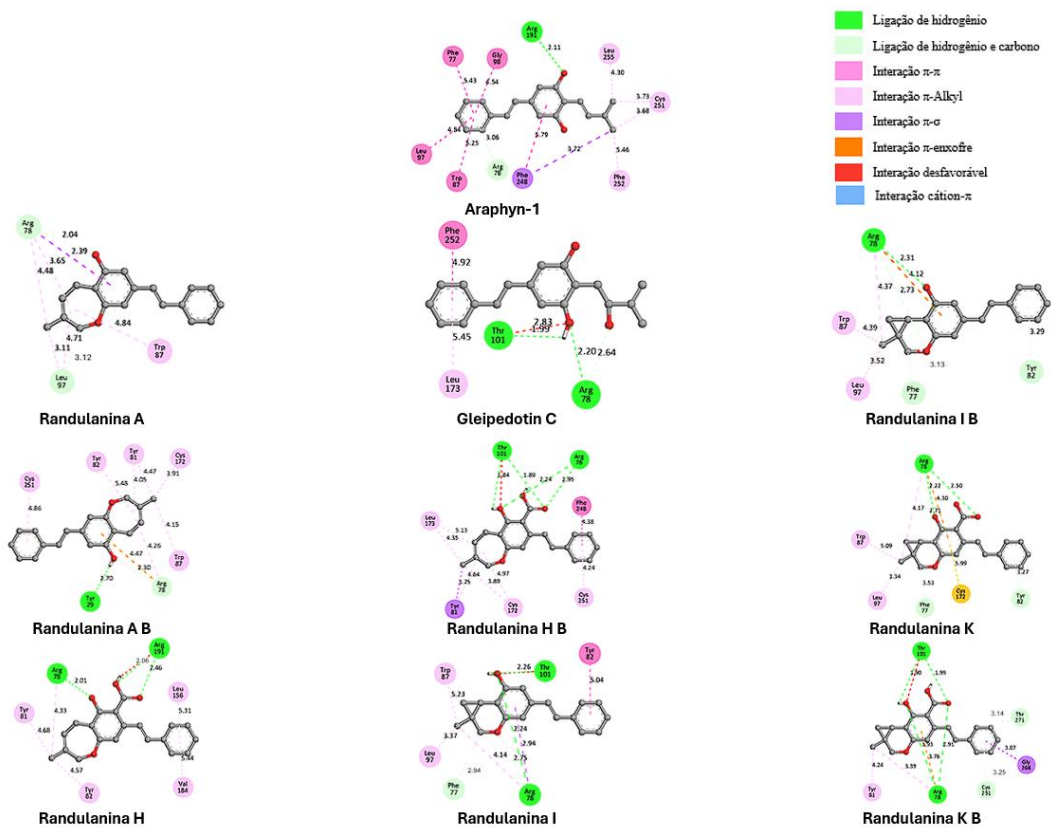


Figura 110. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos análogos de CBG com os resíduos dos receptores GPR18.

8.1.1.5 Análogos de CBC

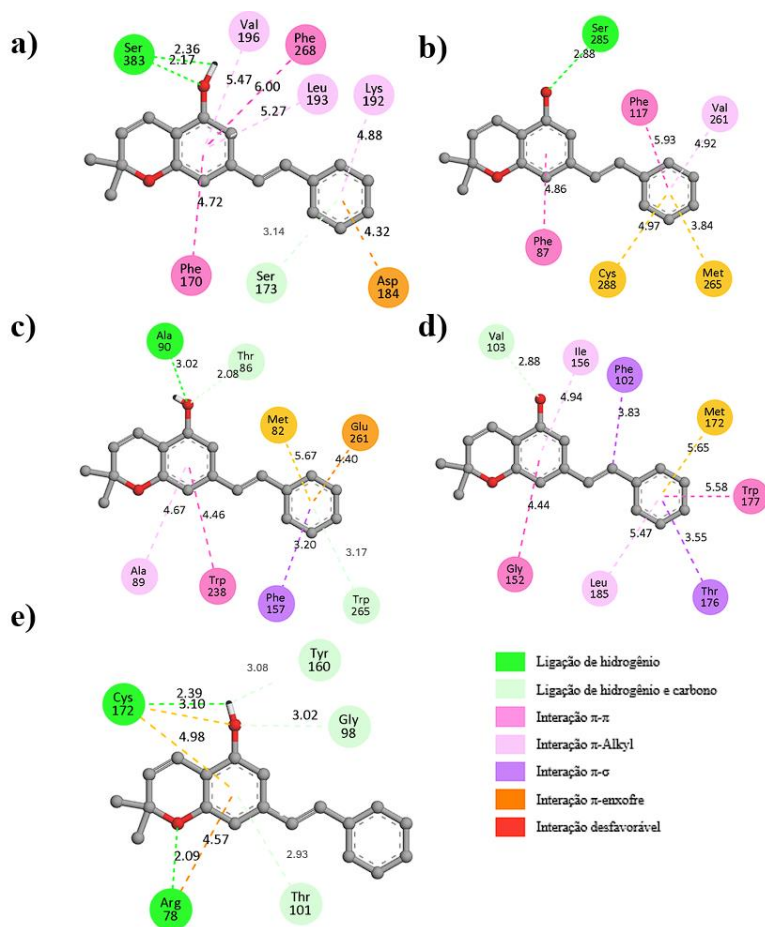


Figura 111. Representação bidimensional das interações entre a molécula 69a com os resíduos dos receptores CBI (a), CB2 (b), GPR119 (c), GPR55 (d) e GPR18.

8.1.1.6 Supostos canabinoides

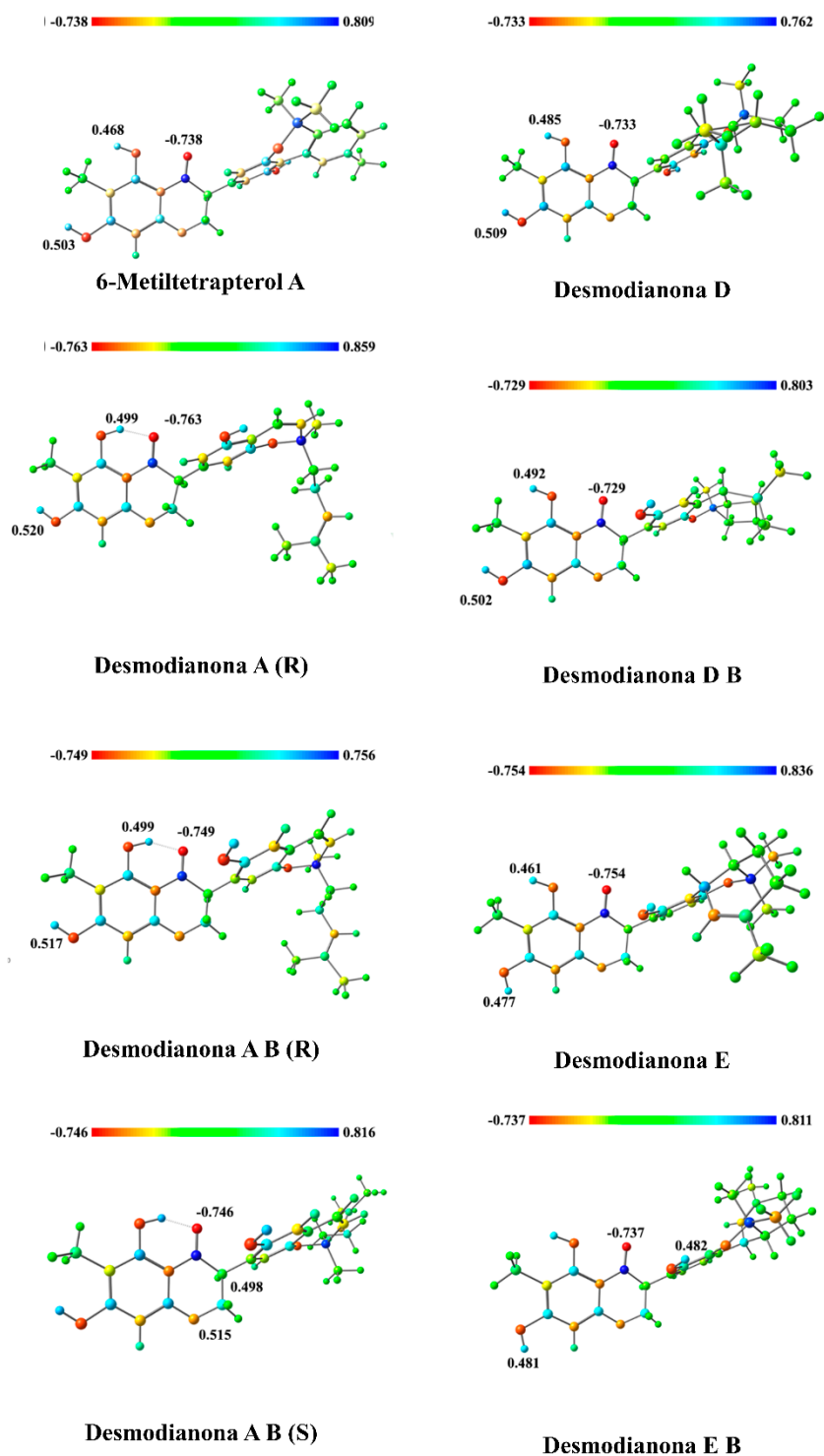


Figura 113. Representação tridimensional das moléculas do grupo dos supostos canabinoides com coloração atômica baseada na carga ESP.

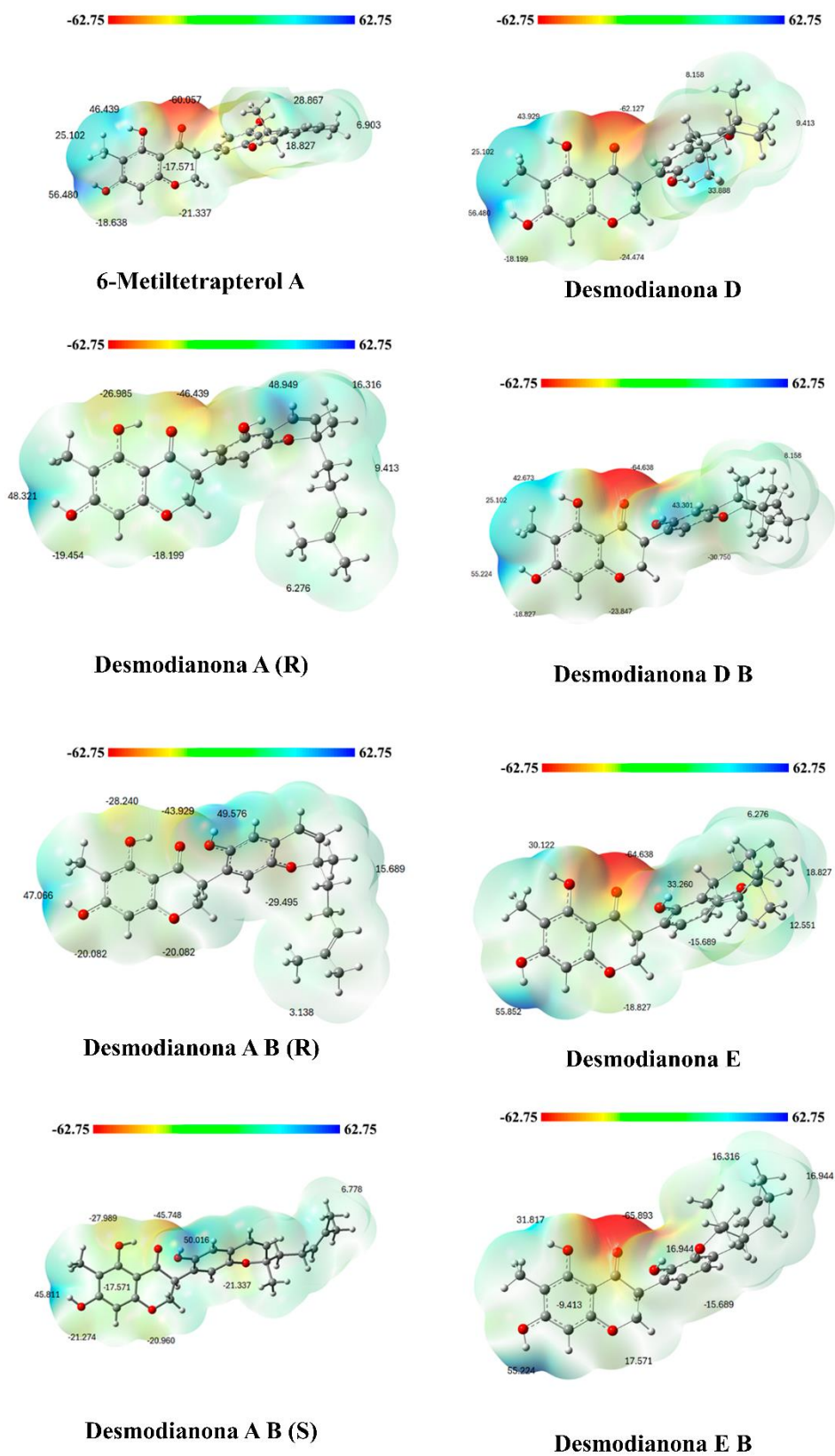


Figura 114. Mapa de potencial eletrostático das moléculas do grupo dos supostos canabinoides variando de -62,75 kcal/mol a 62/75 kcal/mol.

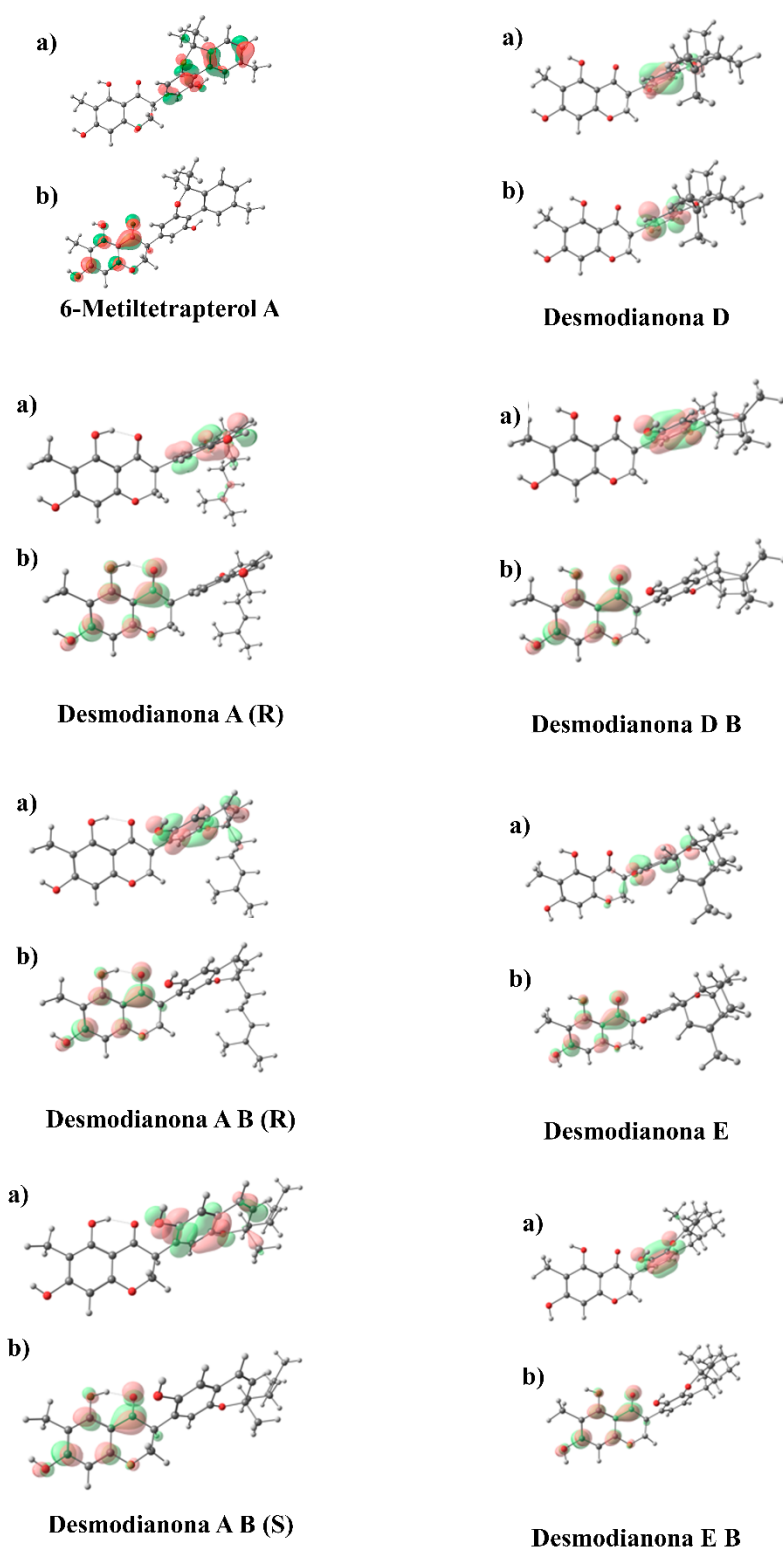


Figura 115. Isosuperfícies dos orbitais moleculares de fronteira HOMO (a) e LUMO (b) das moléculas do grupo dos supostos canabinoides.

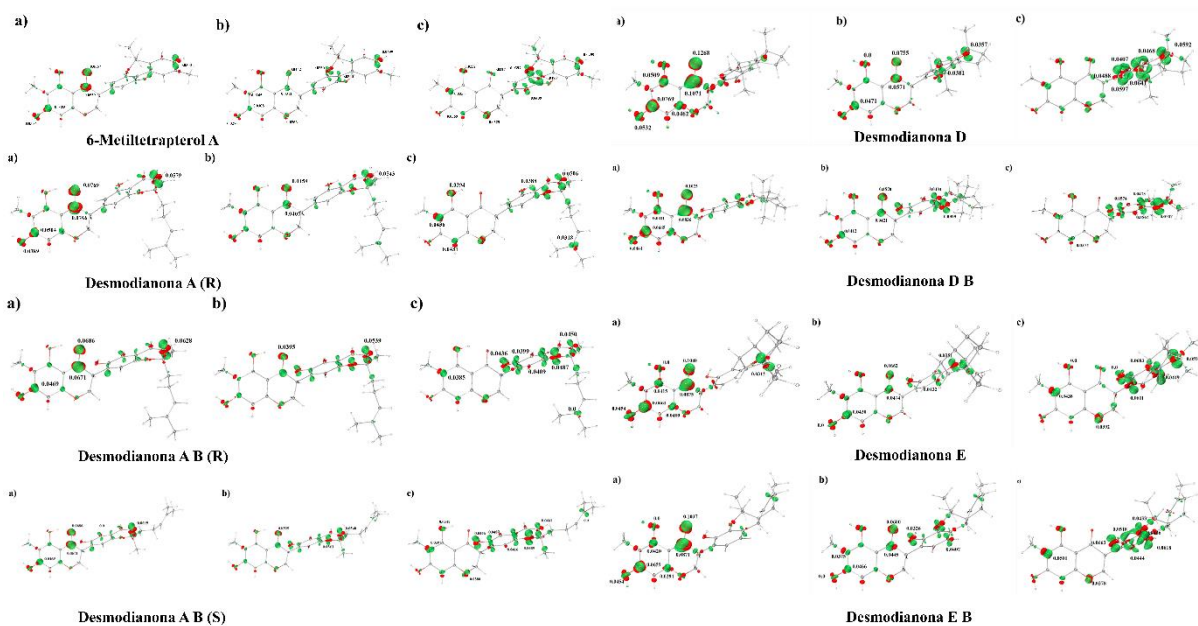


Figura 116. Estudo de Fukui das moléculas do grupo dos supostos canabinoides. Isosuperfícies calculadas com as funções f^- (a), f^0 (b) e f^+ (c).

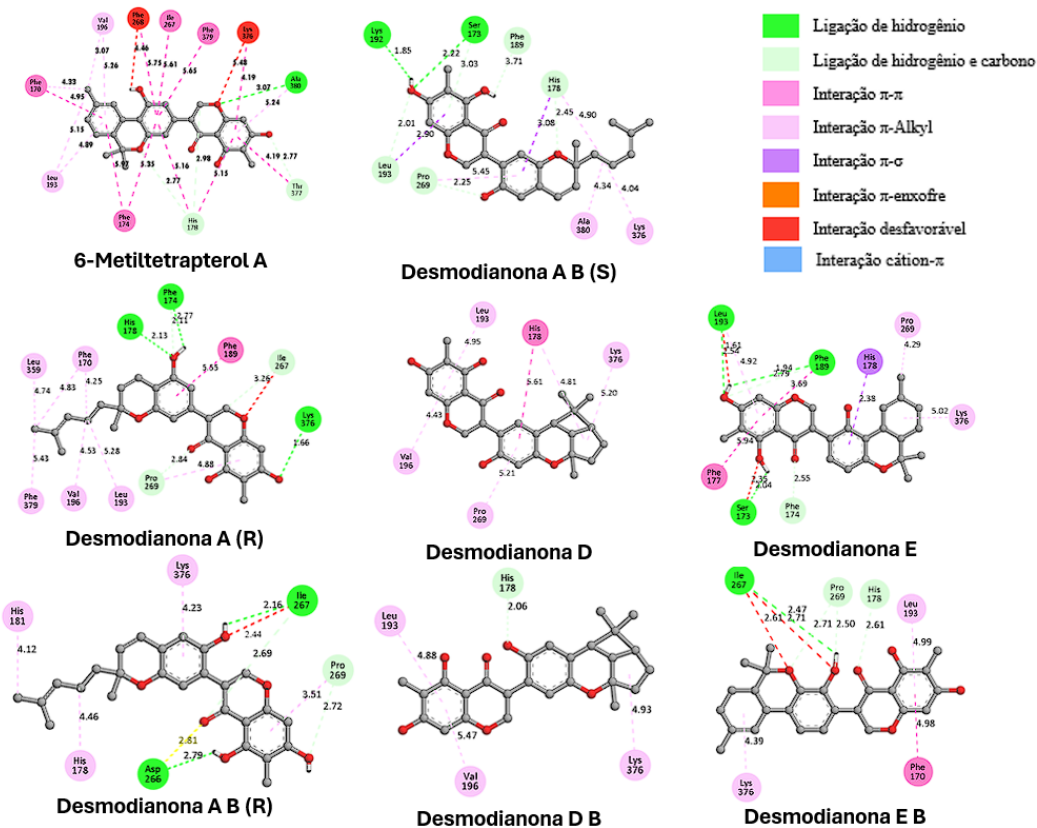


Figura 117. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos supostos canabinoides com os resíduos do receptor CB₁.

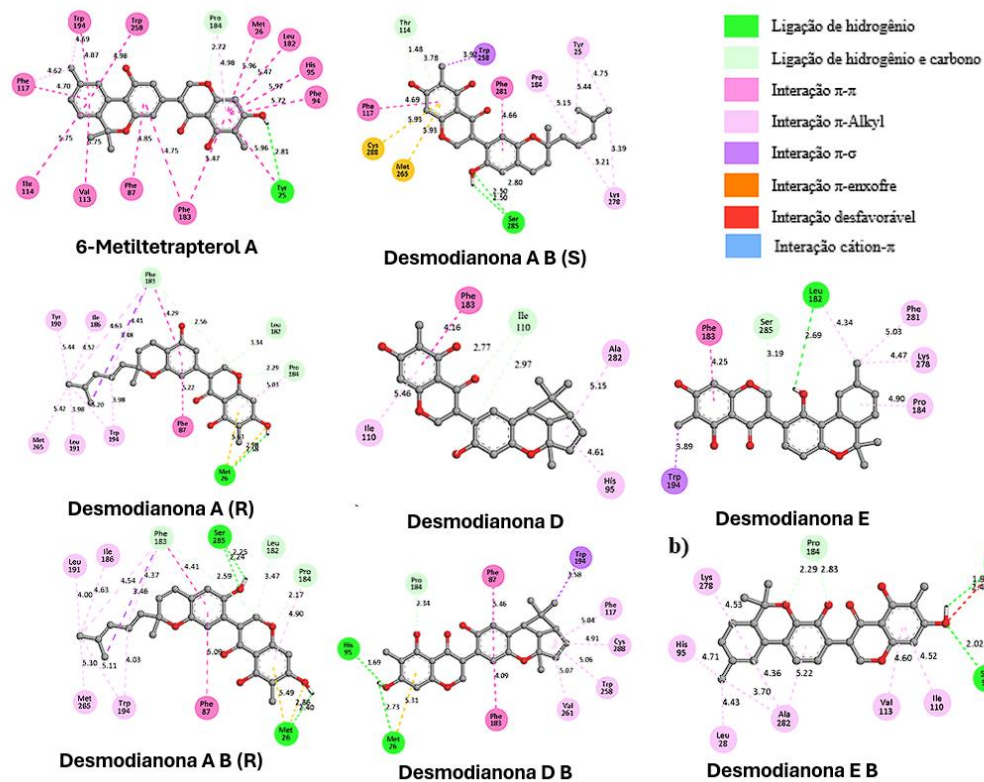


Figura 118. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos supostos canabinoides com os resíduos do receptor CB₂.

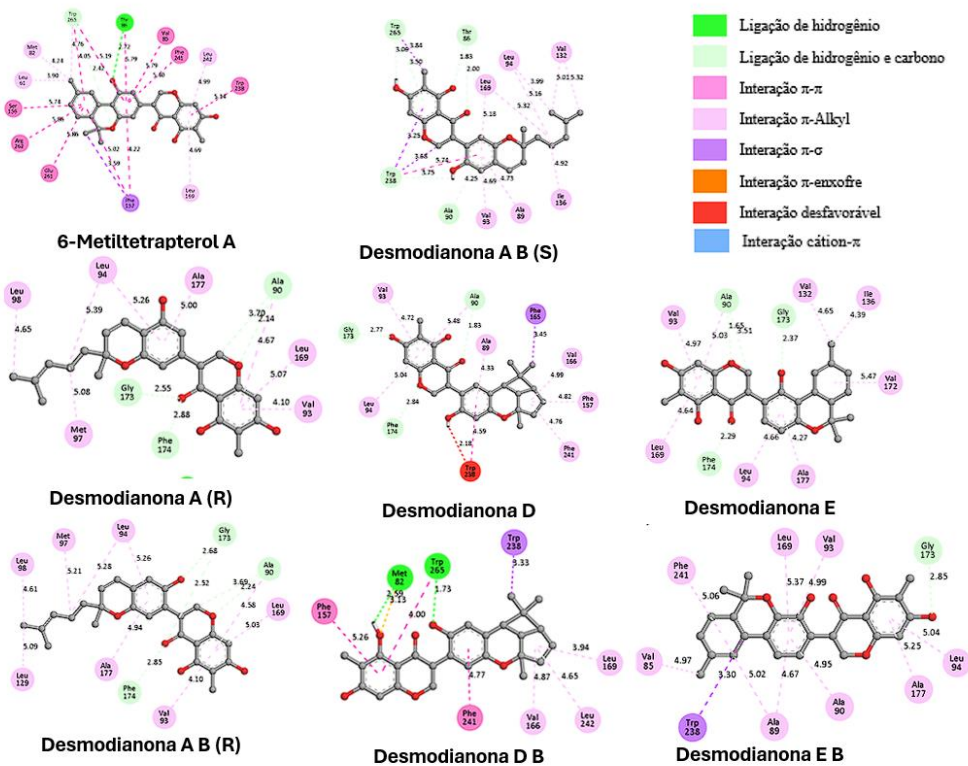


Figura 119. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos supostos canabinoides com os resíduos do receptor GPR119.

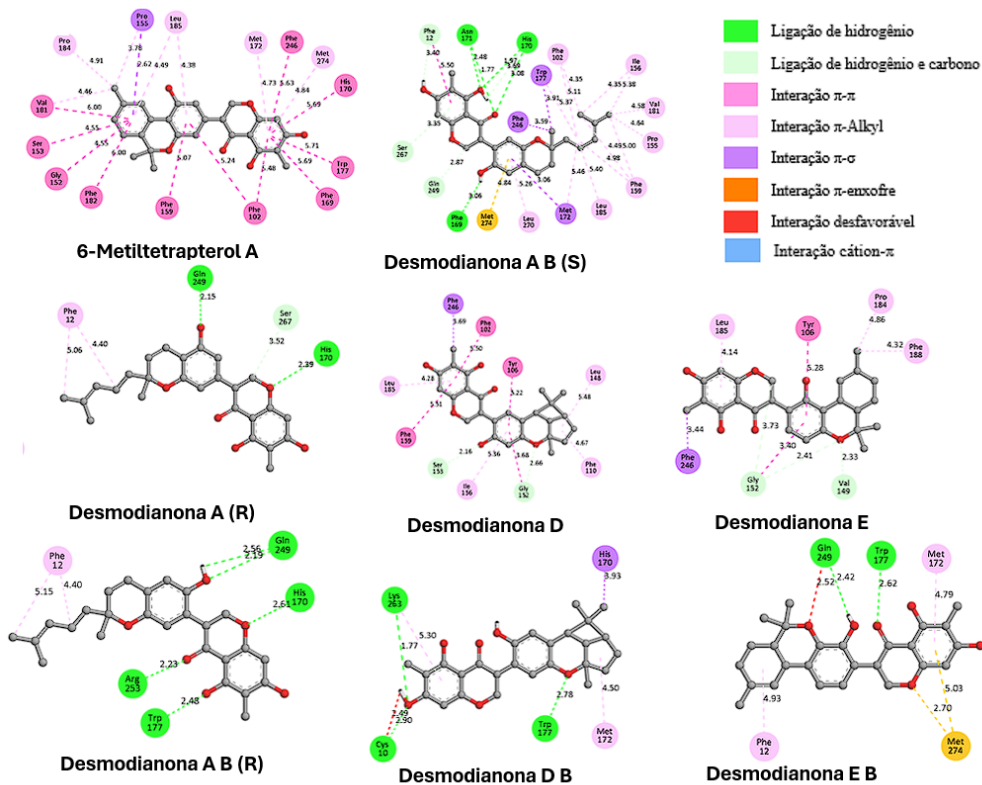


Figura 120. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos supostos canabinoides com os resíduos do receptor GPR55.

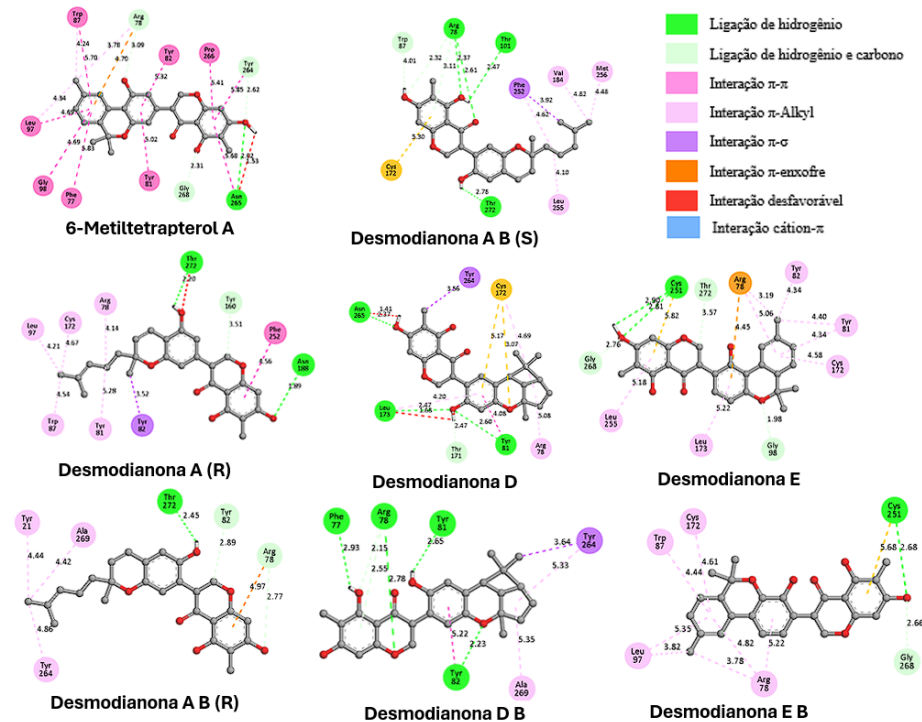


Figura 121. Representação bidimensional das interações entre as moléculas do grupo dos supostos canabinoides com os resíduos do receptor GPR18.

9 Tabelas

Tabela 11. Energia dos orbitais moleculares e gap (Δ_{FOM}) das moléculas estudadas em kcal/mol.

| LIGANTES | HOMO -6 | HOMO -5 | HOMO -4 | HOMO-3 | HOMO-2 | HOMO-1 | HOMO | LUMO | LUMO+1 | LUMO+2 | LUMO+3 | LUMO+4 | LUMO+5 | LUMO+6 | GAP |
|-----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CP55940 | -191,19 | -188,75 | -183,63 | -177,17 | -175,39 | -152,52 | -139,93 | -7,24 | 0,58 | 2,74 | 6,20 | 7,77 | 9,82 | 11,99 | 132,69 |
| AR 231453 | -183,29 | -179,48 | -172,59 | -158,83 | -155,54 | -150,07 | -131,98 | -30,58 | -26,29 | -22,28 | -18,94 | -6,97 | -4,54 | -1,70 | 101,40 |
| MBX2982 | -193,62 | -188,06 | -182,13 | -176,85 | -173,47 | -158,07 | -155,36 | -65,79 | -38,28 | -22,53 | -20,77 | -18,38 | -13,03 | -0,42 | 89,57 |
| 2-AG | -186,07 | -185,29 | -179,62 | -161,12 | -156,28 | -154,12 | -149,42 | -3,29 | -1,65 | 2,05 | 3,35 | 6,12 | 6,77 | 8,98 | 146,13 |
| Anandamida | -181,90 | -171,55 | -169,22 | -159,59 | -158,95 | -153,27 | -150,93 | -5,48 | 0,22 | 3,23 | 5,41 | 7,24 | 9,05 | 10,54 | 145,45 |
| LPI | -194,06 | -188,31 | -187,50 | -185,53 | -181,10 | -178,53 | -174,61 | -5,43 | -4,54 | 2,42 | 5,11 | 8,86 | 10,07 | 11,13 | 169,19 |
| CBE | -198,14 | -196,10 | -185,85 | -176,63 | -164,39 | -144,70 | -138,09 | -8,21 | -2,13 | 1,63 | 1,91 | 9,81 | 10,16 | 12,76 | 129,88 |
| Δ^9 -THC | -198,12 | -196,53 | -185,66 | -182,53 | -150,27 | -143,94 | -137,68 | -5,30 | 0,18 | 2,42 | 4,88 | 9,75 | 11,56 | 13,00 | 132,38 |
| Δ^8 -THC | -198,11 | -195,35 | -186,94 | -180,94 | -147,88 | -144,39 | -138,04 | -4,42 | 0,54 | 2,25 | 7,99 | 9,73 | 11,28 | 12,98 | 133,61 |
| CBL | -194,15 | -190,34 | -185,52 | -177,55 | -171,22 | -140,62 | -138,16 | -4,68 | 0,67 | 2,47 | 9,22 | 11,25 | 13,70 | 14,31 | 133,48 |
| CBD | -198,12 | -193,24 | -189,01 | -157,34 | -154,56 | -144,05 | -139,92 | -5,21 | -0,92 | -0,80 | 2,97 | 6,78 | 9,90 | 10,16 | 134,71 |
| CBND | -198,24 | -191,51 | -170,99 | -165,08 | -152,46 | -143,95 | -141,31 | -20,06 | -15,13 | -4,25 | 0,36 | 1,36 | 6,30 | 10,55 | 121,25 |
| CBT | -196,04 | -187,47 | -179,65 | -175,67 | -169,86 | -143,28 | -132,02 | -22,18 | -1,73 | 0,99 | 8,11 | 9,71 | 12,26 | 13,91 | 109,84 |
| CBF | -198,87 | -198,37 | -196,31 | -176,79 | -155,88 | -140,62 | -136,11 | -23,43 | -4,55 | 1,37 | 1,91 | 9,24 | 10,01 | 11,53 | 112,68 |
| CBG | -204,12 | -202,81 | -191,64 | -152,83 | -148,28 | -142,64 | -139,07 | -8,15 | -3,98 | 0,26 | 2,30 | 3,07 | 4,96 | 6,14 | 130,92 |
| CBN | -198,42 | -197,84 | -185,62 | -176,42 | -156,75 | -142,30 | -137,01 | -27,40 | -11,96 | -1,39 | 2,43 | 8,74 | 10,16 | 12,05 | 109,61 |
| CBC | -198,31 | -197,39 | -190,77 | -183,02 | -147,77 | -141,47 | -133,17 | -24,06 | 0,26 | 2,12 | 7,35 | 9,09 | 10,26 | 13,85 | 109,11 |
| CBDA | -195,07 | -191,20 | -187,00 | -162,25 | -154,70 | -147,71 | -146,81 | -23,96 | -9,57 | -4,72 | 1,29 | 4,65 | 6,83 | 8,33 | 122,84 |
| CBCA | -197,90 | -195,43 | -190,36 | -187,11 | -149,11 | -147,77 | -136,58 | -37,98 | -21,54 | 1,82 | 6,50 | 7,17 | 10,17 | 10,79 | 98,60 |
| THCV | -199,07 | -195,41 | -184,05 | -182,79 | -148,70 | -142,59 | -137,61 | -4,91 | 0,88 | 2,10 | 8,31 | 9,51 | 11,43 | 14,27 | 132,70 |

Tabela 12. Energia dos orbitais moleculares e gap (Δ_{FOM}) das moléculas estudadas em kcal/mol (continuação).

| LIGANTES | HOMO -6 | HOMO -5 | HOMO -4 | HOMO- 3 | HOMO- 2 | HOMO- 1 | HOMO | LUMO | LUMO+ 1 | LUMO+ 2 | LUMO +3 | LUMO+ 4 | LUMO +5 | LUMO+ 6 | GAP |
|----------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|---------|--------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|--------|
| Glepidotin C | -196,28 | -183,00 | -161,76 | -161,51 | -156,89 | -145,49 | -141,41 | -12,11 | -9,63 | -3,72 | -1,81 | 1,15 | 1,76 | 6,28 | 129,31 |
| Araphyn-1 | -202,42 | -192,05 | -181,79 | -164,22 | -153,48 | -144,17 | -129,25 | -42,78 | -12,76 | -9,32 | -1,40 | 2,42 | 7,60 | 10,87 | 86,47 |
| Radulanina A | -191,80 | -180,30 | -165,00 | -164,02 | -152,45 | -148,81 | -132,51 | -40,29 | -11,45 | -5,98 | -0,84 | 1,07 | 6,43 | 8,03 | 92,22 |
| Radulanina A B | -200,60 | -179,33 | -161,79 | -157,73 | -152,53 | -149,77 | -143,88 | -12,61 | -9,66 | -5,89 | -1,88 | 0,74 | 6,25 | 7,89 | 131,27 |
| Radulanina H | -192,23 | -183,31 | -165,04 | -164,40 | -155,89 | -153,13 | -136,88 | -47,63 | -28,04 | -11,47 | -3,97 | -0,09 | 4,79 | 7,86 | 89,25 |
| Radulanina H B | -191,22 | -182,49 | -162,10 | -159,63 | -156,27 | -152,84 | -148,20 | -39,58 | -10,39 | -8,92 | -4,83 | -0,41 | 4,59 | 7,77 | 108,62 |
| Radulanina I | -189,47 | -187,01 | -177,51 | -163,95 | -156,51 | -143,96 | -129,81 | -39,75 | -11,14 | -3,34 | -0,70 | 3,18 | 7,60 | 13,49 | 90,07 |
| Radulanina I B | -192,04 | -186,46 | -174,94 | -161,76 | -156,49 | -142,19 | -138,64 | -12,17 | -9,66 | -4,31 | -0,18 | 3,44 | 7,40 | 12,95 | 126,47 |
| Radulanina K | -190,65 | -190,04 | -178,01 | -164,36 | -155,40 | -151,62 | -134,25 | -45,83 | -26,72 | -11,31 | -3,69 | 2,21 | 7,74 | 9,65 | 88,42 |
| Radulanina K B | -190,40 | -189,02 | -176,76 | -161,82 | -156,23 | -150,02 | -146,04 | -36,56 | -10,55 | -8,89 | -5,78 | 1,44 | 7,76 | 9,85 | 109,49 |
| 70b | -191,14 | -178,55 | -164,28 | -160,38 | -147,12 | -136,57 | -129,33 | -39,74 | -17,46 | -11,19 | -2,76 | 1,51 | 7,35 | 7,72 | 89,59 |
| 69a | -203,21 | -192,88 | -185,17 | -164,23 | -153,21 | -143,56 | -128,82 | -44,74 | -15,05 | -10,35 | -2,26 | 2,33 | 7,71 | 11,49 | 84,07 |
| 6-Metiltetrapterol A | -178,65 | -165,45 | -157,25 | -153,06 | -145,57 | -143,60 | -139,16 | -39,84 | -29,43 | -12,31 | -5,16 | -3,02 | -0,49 | 2,71 | 99,32 |
| Desmodianona A (R) | -185,88 | -174,79 | -154,20 | -148,02 | -145,07 | -143,31 | -137,00 | -43,22 | -28,13 | -3,71 | -2,91 | 0,42 | 2,57 | 6,55 | 93,78 |
| Desmodianona A B (R) | -180,41 | -174,39 | -154,10 | -152,85 | -146,97 | -144,15 | -130,50 | -42,77 | -28,29 | -6,07 | -3,44 | 0,55 | 3,51 | 8,02 | 87,73 |
| Desmodianona A B (S) | -180,50 | -174,41 | -154,05 | -152,51 | -147,69 | -144,17 | -130,88 | -42,78 | -28,50 | -5,79 | -3,37 | 0,87 | 4,02 | 7,53 | 88,10 |
| Desmodianona D | -177,44 | -164,76 | -163,33 | -152,76 | -150,55 | -145,27 | -135,81 | -39,12 | -10,42 | -5,05 | -1,40 | 0,23 | 3,46 | 7,33 | 96,68 |
| Desmodianona D B | -178,20 | -165,34 | -163,92 | -156,13 | -152,45 | -144,81 | -131,64 | -39,02 | -13,91 | -4,03 | -0,97 | 0,43 | 4,21 | 9,26 | 92,61 |
| Desmodianona E | -185,39 | -164,57 | -152,50 | -149,52 | -148,35 | -144,78 | -137,95 | -38,68 | -7,65 | -4,63 | -1,01 | -0,30 | 1,69 | 6,05 | 99,27 |
| Desmodianona E B | -187,03 | -165,01 | -152,84 | -149,31 | -146,93 | -143,67 | -137,89 | -38,89 | -8,34 | -4,62 | -0,83 | -0,33 | 2,05 | 9,10 | 98,99 |

Tabela 13. Propriedades físico-químicas básicas, absorção, distribuição e metabolismo das moléculas estudadas.

| Molécula | MW | Vol | nHA | TPSA | nHet | nRig | Flex | Fsp ³ | LogS | LogD | LogP | pKa ácido | pKa básico | Hia | BBB | PPB | logVDss | Fu | CYP2C9 sub | CYP2B6 inib | CYP2C8 inib |
|-----------------|--------|--------|-----|--------|------|------|------|------------------|-------|------|------|--------------|---------------|------|-------|-------|---------|-------|---------------|----------------|----------------|
| CP55940 | 376,3 | 425,01 | 3 | 60,69 | 3 | 12 | 0,83 | 0,75 | -4,75 | 4,31 | 5,62 | 9,27 | 5,15 | 0,06 | 6,5% | 96,49 | 0,49 | 4,80 | 0,23 | 1 | 0,86 |
| AR 231453 | 454,23 | 443,1 | 9 | 90,8 | 10 | 28 | 0,25 | 0,55 | -4,45 | 3,34 | 3,54 | 8,92 | 5,73 | 0,00 | 67,8% | 98,82 | 0,25 | 0,90 | 0,91 | 0,09 | 0,55 |
| MBX2982 | 515,23 | 472,51 | 12 | 156,42 | 14 | 25 | 0,28 | 0,76 | -2,34 | 1,09 | 0,51 | 7,05 | 5,79 | 0,00 | 9,8% | 61,76 | 0,05 | 36,08 | 1 | 0 | 0 |
| 2-AG | 378,28 | 428,34 | 4 | 66,76 | 4 | 5 | 3,60 | 0,61 | -4,07 | 3,45 | 4,76 | 6,3 | 6,33 | 0,36 | 17,4% | 96,23 | -0,08 | 4,87 | 1 | 1 | 1 |
| Anandamida | 347,28 | 404,46 | 3 | 49,33 | 3 | 5 | 3,40 | 0,59 | -4,63 | 3,71 | 4,30 | 7,52 | 6,75 | 0,03 | 58,6% | 97,48 | -0,33 | 2,76 | 1 | 1 | 1 |
| LPI | 600,33 | 589,67 | 12 | 203,44 | 13 | 8 | 3,00 | 0,96 | -3,68 | 2,55 | 3,27 | 6,2 | 7,15 | 0,93 | 0,0% | 95,02 | -0,16 | 5,28 | 0,11 | 0,99 | 1 |
| CBE | 330,22 | 361,93 | 3 | 49,69 | 3 | 16 | 0,31 | 0,62 | -4,17 | 4,11 | 5,53 | 9,02 | 5,30 | 0,01 | 88,3% | 97,82 | 0,54 | 2,58 | 1 | 1 | 1 |
| Δ^9 -THC | 314,22 | 353,14 | 2 | 29,46 | 2 | 16 | 0,25 | 0,62 | -4,13 | 4,5 | 6,85 | 9,46 | 5,25 | 0,00 | 99,5% | 96,98 | 0,86 | 3,94 | 1 | 1 | 1 |
| Δ^8 -THC | 314,22 | 353,14 | 2 | 29,46 | 2 | 16 | 0,25 | 0,62 | -4,07 | 4,49 | 6,78 | 9,37 | 5,07 | 0,00 | 99,3% | 97,94 | 0,93 | 2,62 | 1 | 1 | 1 |
| CBL | 314,22 | 347,22 | 2 | 29,46 | 2 | 17 | 0,24 | 0,71 | -4,38 | 4,66 | 6,95 | 9,8 | 5,35 | 0,00 | 97,7% | 97,95 | 0,89 | 3,27 | 1 | 1 | 1 |
| CBD | 314,22 | 359,06 | 2 | 40,46 | 2 | 13 | 0,46 | 0,52 | -4,59 | 4,19 | 6,11 | 10,16 | 5,76 | 0,00 | 93,5% | 98,01 | 0,90 | 2,34 | 1 | 1 | 1 |
| CBND | 310,19 | 353,78 | 2 | 40,46 | 2 | 13 | 0,46 | 0,33 | -4,77 | 4,06 | 5,84 | 9,79 | 4,66 | 0,00 | 99,0% | 99,18 | 0,89 | 0,85 | 1 | 1 | 1 |
| CBT | 346,21 | 370,72 | 4 | 69,92 | 4 | 16 | 0,25 | 0,62 | -4,00 | 3,44 | 4,02 | 6,62 | 5,09 | 0,08 | 37,4% | 97,71 | 0,71 | 2,98 | 1 | 1 | 1 |
| CBF | 310,19 | 347,86 | 2 | 33,37 | 2 | 15 | 0,33 | 0,43 | -5,06 | 4,65 | 7,18 | 8,87 | 4,26 | 0,01 | 60,6% | 99,44 | 0,99 | 0,55 | 1 | 1 | 1 |
| CBG | 316,24 | 367,61 | 2 | 40,46 | 2 | 8 | 1,13 | 0,52 | -4,53 | 4,61 | 7,25 | 10,25 | 5,43 | 0,00 | 90,6% | 97,84 | 0,58 | 2,53 | 1 | 1 | 1 |
| CBN | 310,19 | 347,86 | 2 | 29,46 | 2 | 16 | 0,25 | 0,43 | -5,03 | 4,58 | 6,54 | 10,03 | 4,83 | 0,01 | 94,6% | 99,76 | 1,25 | 0,45 | 1 | 1 | 1 |
| CBC | 314,22 | 359,06 | 2 | 29,46 | 2 | 12 | 0,58 | 0,52 | -4,74 | 4,25 | 6,70 | 9,71 | 5,63 | 0,01 | 90,0% | 98,60 | 0,77 | 1,42 | 1 | 1 | 1 |
| CBDA | 358,21 | 391,3 | 4 | 77,76 | 4 | 14 | 0,50 | 0,5 | -4,29 | 3,5 | 5,33 | 6,17 | 1,51 | 0,01 | 3,9% | 97,47 | 0,08 | 3,19 | 1 | 1 | 1 |
| CBCA | 358,21 | 391,3 | 4 | 66,76 | 4 | 13 | 0,62 | 0,5 | -3,93 | 3,6 | 5,8 | 4,57 | 1,09 | 0,04 | 22,5% | 98,58 | -0,1 | 0,98 | 0,98 | 1 | 1 |
| THCV | 286,19 | 318,55 | 2 | 29,46 | 2 | 16 | 0,13 | 0,58 | -4,49 | 3,9 | 4,82 | 10,09 | 5,93 | 0,00 | 96,9% | 94,39 | 0,58 | 6,63 | 1 | 1 | 1 |

Tabela 14. Propriedades físico-químicas básicas, absorção, distribuição e metabolismo das moléculas estudadas (continuação).

| Molécula | MW | Vol | nHA | TPSA | nHet | nRig | Flex | Fsp ³ | LogS | LogD | LogP | pKa ácido | pKa básico | Hia | BBB | PPB | logVDss | Fu | CYP2C9 sub | CYP2B6 inib | CYP2C8 inib |
|----------------------|--------|--------|-----|-------|------|------|------|------------------|-------|------|------|--------------|---------------|------|-------|-------|---------|------|---------------|----------------|----------------|
| Glepidotin C | 322,12 | 334,32 | 4 | 66,76 | 4 | 21 | 0,14 | 0,25 | -4,28 | 3,03 | 4,32 | 4,94 | 1,44 | 0 | 43,3% | 98,71 | -0,68 | 0,77 | 0,69 | 0,97 | 0,98 |
| Araphyn-1 | 324,14 | 336,96 | 4 | 66,76 | 4 | 20 | 0,2 | 0,35 | -3,63 | 2,69 | 3,8 | 4,18 | 2,76 | 0,04 | 23,3% | 98,49 | -0,59 | 0,78 | 0,91 | 0,02 | 0,48 |
| Radulanina A | 432,16 | 441,85 | 6 | 96,22 | 6 | 28 | 0,04 | 0,27 | -5,56 | 2,52 | 4,06 | 9,72 | 3,87 | 0 | 15,0% | 98,58 | 0,22 | 1,02 | 0,61 | 0,3 | 1 |
| Radulanina A B | 436,19 | 453,04 | 6 | 96,22 | 6 | 24 | 0,17 | 0,35 | -4,88 | 3,46 | 4,63 | 9,15 | 4,37 | 0 | 19,9% | 97,76 | 0,08 | 2,09 | 0,01 | 1 | 1 |
| Radulanina H | 436,19 | 453,04 | 6 | 96,22 | 6 | 24 | 0,17 | 0,35 | -5,07 | 3,42 | 4,54 | 9,43 | 4,33 | 0 | 27,3% | 97,23 | 0,31 | 2,88 | 0,15 | 0,99 | 1 |
| Radulanina H B | 436,19 | 453,04 | 6 | 96,22 | 6 | 24 | 0,17 | 0,35 | -5,15 | 3,48 | 4,76 | 9,58 | 4,49 | 0 | 7,4% | 97,17 | 0,28 | 3,02 | 0,18 | 0,07 | 1 |
| Radulanina I | 436,19 | 441,2 | 6 | 96,22 | 6 | 29 | 0,03 | 0,5 | -5,83 | 3,23 | 3,95 | 9,69 | 3,67 | 0 | 7,6% | 97,91 | 0,12 | 2,08 | 0,01 | 0,98 | 1 |
| Radulanina I B | 436,19 | 441,2 | 6 | 96,22 | 6 | 29 | 0,03 | 0,5 | -5,63 | 3,1 | 3,82 | 9,26 | 4,5 | 0 | 0,6% | 97,82 | 0,17 | 2,2 | 0,01 | 0,04 | 0,99 |
| Radulanina K | 436,19 | 447,12 | 6 | 96,22 | 6 | 28 | 0,04 | 0,42 | -5 | 3,07 | 3,7 | 9,48 | 5,3 | 0 | 6,3% | 94,56 | 0,24 | 5,36 | 0,98 | 0,54 | 0,98 |
| Radulanina K B | 436,19 | 447,12 | 6 | 96,22 | 6 | 28 | 0,04 | 0,42 | -4,92 | 3,11 | 3,73 | 9,09 | 4,79 | 0 | 31,2% | 96,36 | 0,23 | 3,29 | 0,93 | 0,25 | 0,63 |
| 70b | 346,19 | 391,84 | 2 | 29,46 | 2 | 19 | 0,26 | 0,25 | -5,89 | 4,79 | 6,45 | 10,66 | 5,12 | 0 | 72,2% | 98,20 | 0,48 | 1,59 | 0,05 | 1 | 1 |
| 69a | 278,13 | 308,00 | 2 | 29,46 | 2 | 18 | 0,11 | 0,16 | -5,39 | 4,49 | 5,62 | 10,09 | 5,63 | 0 | 60,9% | 98,12 | 0,33 | 1,47 | 0,55 | 1 | 1 |
| 6-Metiltetrapterol A | 298,16 | 327,98 | 3 | 60,69 | 3 | 13 | 0,46 | 0,26 | -4,36 | 3,28 | 4,02 | 8,58 | 5,03 | 0 | 0,9% | 97,19 | 0,63 | 2,3 | 0,82 | 1 | 1 |
| Desmodianona A (R) | 280,15 | 316,56 | 2 | 40,46 | 2 | 14 | 0,29 | 0,16 | -6 | 4,47 | 6,16 | 9,67 | 4,09 | 0,01 | 0,2% | 98,11 | 0,19 | 1,76 | 0,85 | 1 | 1 |
| Desmodianona A B (R) | 278,13 | 308,00 | 2 | 29,46 | 2 | 19 | 0,11 | 0,16 | -4,74 | 3,98 | 4,84 | 9,32 | 5,62 | 0 | 49,9% | 96,57 | 0,51 | 2,69 | 0,99 | 1 | 1 |
| Desmodianona A B (S) | 280,15 | 310,64 | 2 | 29,46 | 2 | 18 | 0,17 | 0,26 | -3,94 | 3,86 | 4,72 | 9,54 | 5,53 | 0,01 | 80,7% | 97,80 | 0,72 | 2,01 | 1 | 1 | 1 |
| Desmodianona D | 322,12 | 340,24 | 4 | 66,76 | 4 | 20 | 0,15 | 0,15 | -4,2 | 3,01 | 4,74 | 4,58 | 0,49 | 0,01 | 16,6% | 98,45 | -0,36 | 1,14 | 0,97 | 1 | 0,98 |
| Desmodianona D B | 324,14 | 342,88 | 4 | 66,76 | 4 | 19 | 0,21 | 0,25 | -3,78 | 2,72 | 4,2 | 4,49 | 1,27 | 0,15 | 7,6% | 98,38 | -0,41 | 1,08 | 0,99 | 0,55 | 0,43 |
| Desmodianona E | 278,13 | 302,08 | 2 | 29,46 | 2 | 20 | 0,1 | 0,26 | -5,41 | 4,02 | 5,1 | 9,52 | 6,11 | 0 | 83,4% | 96,20 | 0,46 | 3,64 | 0,98 | 1 | 1 |
| Desmodianona E B | 280,15 | 304,72 | 2 | 29,46 | 2 | 19 | 0,16 | 0,37 | -5,02 | 3,71 | 4,67 | 9,87 | 6,63 | 0,02 | 92,5% | 97,70 | 0,59 | 2,09 | 1 | 1 | 1 |

Tabela 15. Propriedades calculadas para Excreção e indicadores toxicológicos.

| Molécula | Cl- Plasma | T _{0,5} | FDA MDD | Skinsen | Genotoxicidade | Respiratório | H-HT | Neurotoxicidade DI | Ototoxicidade | Hematotoxicidade | Nefrotoxicidade DII | Reatividade | Promiscuidade |
|---------------------|---------------|------------------|------------|---------|----------------|--------------|------|-----------------------|---------------|------------------|------------------------|-------------|---------------|
| CP55940 | 7,62 | 0,71 | 0,46 | 0,98 | 0,19 | 0,88 | 0,44 | 0,07 | 0,64 | 0,11 | 0,62 | 0,38 | 0,06 |
| AR-231453 | 4,85 | 0,85 | 0,89 | 0,68 | 0,82 | 0,80 | 0,95 | 0,91 | 0,90 | 0,36 | 0,66 | 0,00 | 0,00 |
| MBX2982 | 3,90 | 1,63 | 0,81 | 0,41 | 0,13 | 0,88 | 0,94 | 0,09 | 0,98 | 0,69 | 0,85 | 0,01 | 0,43 |
| 2-AG | 5,78 | 0,60 | 0,01 | 1,00 | 0,15 | 0,07 | 0,04 | 0,02 | 0,54 | 0,00 | 0,22 | 0,69 | 0,10 |
| Anandamida | 6,24 | 0,23 | 0,03 | 1,00 | 0,18 | 0,84 | 0,04 | 0,03 | 0,12 | 0,01 | 0,15 | 0,37 | 0,02 |
| LPI | 2,11 | 1,37 | 0,88 | 0,89 | 0,30 | 0,59 | 0,26 | 0,01 | 0,90 | 0,01 | 0,84 | 0,13 | 0,04 |
| CBE | 4,30 | 1,04 | 0,44 | 0,35 | 0,27 | 0,89 | 0,64 | 0,09 | 0,82 | 0,17 | 0,36 | 0,24 | 0,02 |
| Δ ⁹ -THC | 2,96 | 0,90 | 0,67 | 0,53 | 0,16 | 0,94 | 0,71 | 0,22 | 0,74 | 0,21 | 0,40 | 0,38 | 0,02 |
| Δ ⁸ -THC | 4,02 | 0,79 | 0,51 | 0,49 | 0,16 | 0,93 | 0,50 | 0,18 | 0,66 | 0,13 | 0,25 | 0,39 | 0,05 |
| CBL | 5,55 | 0,59 | 0,65 | 0,17 | 0,18 | 0,94 | 0,55 | 0,19 | 0,70 | 0,11 | 0,18 | 0,38 | 0,02 |
| CBD | 2,83 | 1,07 | 0,82 | 0,40 | 0,06 | 0,93 | 0,80 | 0,35 | 0,74 | 0,23 | 0,66 | 0,51 | 0,05 |
| CBND | 3,26 | 0,90 | 0,48 | 0,94 | 0,11 | 0,94 | 0,65 | 0,33 | 0,56 | 0,33 | 0,52 | 0,45 | 0,06 |
| CBT | 4,36 | 1,08 | 0,52 | 0,62 | 0,23 | 0,90 | 0,56 | 0,11 | 0,77 | 0,20 | 0,61 | 0,13 | 0,03 |
| CBF | 5,36 | 0,46 | 0,49 | 0,77 | 0,48 | 0,90 | 0,59 | 0,04 | 0,48 | 0,33 | 0,42 | 0,21 | 0,03 |
| CBG | 4,87 | 0,90 | 0,22 | 0,98 | 0,04 | 1,00 | 0,61 | 0,08 | 0,40 | 0,12 | 0,28 | 0,90 | 0,07 |
| CBN | 4,05 | 0,58 | 0,44 | 0,82 | 0,18 | 0,92 | 0,53 | 0,40 | 0,53 | 0,26 | 0,63 | 0,36 | 0,03 |
| CBC | 5,53 | 0,65 | 0,25 | 0,95 | 0,16 | 0,86 | 0,71 | 0,27 | 0,48 | 0,19 | 0,67 | 0,81 | 0,15 |
| CBDA | 2,02 | 1,16 | 0,61 | 0,87 | 0,02 | 0,97 | 0,87 | 0,08 | 0,74 | 0,41 | 0,81 | 0,35 | 0,25 |
| CBCA | 2,04 | 1,08 | 0,23 | 0,89 | 0,11 | 0,94 | 0,66 | 0,12 | 0,65 | 0,29 | 0,84 | 0,51 | 0,31 |
| THCV | 4,82 | 0,97 | 0,63 | 0,96 | 0,41 | 0,96 | 0,73 | 0,53 | 0,65 | 0,55 | 0,69 | 0,52 | 0,11 |

Tabela 16. Propriedades calculadas para Excreção e indicadores toxicológicos (continuação).

| Molécula | Cl-plasma | t0,5 | FDAMDD | SkinSen | Genotoxicidade | Respiratório | H-HT | Neurotoxicidade DI | Ototoxicidade | Hematotoxicidade | Nefrotoxicidade DII | Reatividade e | Promiscuidade |
|-----------------------------|-----------|------|--------|---------|----------------|--------------|------|-----------------------|---------------|------------------|------------------------|------------------|---------------|
| Glepidotin C | 4,33 | 0,95 | 0,66 | 0,90 | 0,52 | 0,78 | 0,80 | 0,31 | 0,40 | 0,22 | 0,59 | 0,14 | 0,12 |
| Araphyn-1 | 3,68 | 1,13 | 0,60 | 0,89 | 0,35 | 0,78 | 0,79 | 0,25 | 0,65 | 0,31 | 0,73 | 0,11 | 0,12 |
| Radulanina A | 2,88 | 1,18 | 0,80 | 0,88 | 0,75 | 0,96 | 0,81 | 0,24 | 0,58 | 0,37 | 0,62 | 0,22 | 0,07 |
| Radulanina A B | 5,30 | 1,00 | 0,75 | 0,94 | 0,71 | 0,96 | 0,87 | 0,14 | 0,55 | 0,31 | 0,65 | 0,21 | 0,21 |
| Radulanina H | 5,40 | 1,15 | 0,72 | 0,95 | 0,69 | 0,96 | 0,83 | 0,11 | 0,48 | 0,23 | 0,45 | 0,24 | 0,19 |
| Radulanina H B | 5,15 | 1,28 | 0,54 | 0,98 | 0,67 | 0,93 | 0,87 | 0,12 | 0,45 | 0,20 | 0,45 | 0,23 | 0,20 |
| Radulanina I | 3,31 | 1,52 | 0,80 | 0,87 | 0,79 | 0,96 | 0,79 | 0,05 | 0,40 | 0,14 | 0,24 | 0,14 | 0,10 |
| Radulanina I B | 4,89 | 1,30 | 0,74 | 0,57 | 0,78 | 0,91 | 0,83 | 0,04 | 0,54 | 0,16 | 0,25 | 0,14 | 0,10 |
| Radulanina K | 2,40 | 1,50 | 0,82 | 0,96 | 0,72 | 0,99 | 0,87 | 0,28 | 0,71 | 0,50 | 0,65 | 0,15 | 0,16 |
| Radulanina K B | 5,03 | 1,22 | 0,82 | 0,92 | 0,70 | 0,99 | 0,85 | 0,21 | 0,71 | 0,50 | 0,53 | 0,17 | 0,14 |
| 70b | 10,57 | 0,75 | 0,71 | 0,94 | 0,43 | 0,74 | 0,79 | 0,66 | 0,31 | 0,14 | 0,42 | 0,59 | 0,15 |
| 69a | 8,11 | 0,81 | 0,74 | 0,95 | 0,42 | 0,74 | 0,73 | 0,57 | 0,31 | 0,11 | 0,40 | 0,88 | 0,30 |
| 6-Metiltetrapterol A | 10,26 | 1,45 | 0,75 | 0,98 | 0,04 | 0,88 | 0,87 | 0,51 | 0,50 | 0,16 | 0,35 | 0,60 | 0,25 |
| Desmodianona A (R) | 7,71 | 0,84 | 0,82 | 0,99 | 0,10 | 0,70 | 0,91 | 0,55 | 0,30 | 0,06 | 0,40 | 0,90 | 0,45 |
| Desmodianona A B (R) | 9,93 | 0,90 | 0,68 | 0,92 | 0,47 | 0,51 | 0,76 | 0,51 | 0,32 | 0,12 | 0,32 | 0,64 | 0,39 |
| Desmodianona A B (S) | 9,67 | 1,03 | 0,50 | 0,88 | 0,28 | 0,43 | 0,69 | 0,46 | 0,55 | 0,24 | 0,49 | 0,64 | 0,36 |
| Desmodianona D | 3,92 | 0,95 | 0,43 | 0,77 | 0,31 | 0,60 | 0,71 | 0,30 | 0,47 | 0,24 | 0,55 | 0,27 | 0,14 |
| Desmodianona D B | 3,31 | 1,07 | 0,37 | 0,71 | 0,21 | 0,61 | 0,71 | 0,25 | 0,72 | 0,34 | 0,73 | 0,26 | 0,08 |
| Desmodianona E | 8,00 | 0,97 | 0,86 | 0,95 | 0,68 | 0,74 | 0,85 | 0,54 | 0,31 | 0,12 | 0,35 | 0,37 | 0,07 |
| Desmodianona E B | 8,17 | 1,18 | 0,74 | 0,94 | 0,47 | 0,70 | 0,80 | 0,45 | 0,51 | 0,24 | 0,50 | 0,34 | 0,03 |

Tabela 17. Resultados em score (kcal/mol) do estudo de docking utilizando o algoritmo AutoDock4 e pK_i teórico.

| Ligantes | Score CB ₁ | pK _i CB ₁ | Score CB ₂ | pK _i CB ₂ | Score GPR119 | pK _i GPR119 | Score GPR55 | pK _i GPR55 | Score GPR18 | pK _i GPR18 |
|-----------------------------|--------------------------|------------------------------------|--------------------------|------------------------------------|-----------------|---------------------------|----------------|--------------------------|----------------|--------------------------|
| Araphyn-1 | -8,07 | 5,92 | -7,42 | 5,44 | -8,79 | 6,44 | -7,41 | 5,43 | -8,74 | 4,54 |
| Glepidotin C | -6,03 | 4,42 | -6,81 | 4,99 | -6,03 | 4,42 | -6,28 | 4,60 | -7,85 | 3,46 |
| Radulanina A | -8,53 | 6,25 | -8,57 | 6,28 | -9,06 | 6,64 | -8,74 | 6,40 | -7,22 | 4,92 |
| Radulanina A B | -7,87 | 5,77 | -8,03 | 5,88 | -8,70 | 6,38 | -7,85 | 5,75 | -7,08 | 4,78 |
| Radulanina H | -8,32 | 6,10 | -7,78 | 5,70 | -8,51 | 6,24 | -7,22 | 5,29 | -8,83 | 5,28 |
| Radulanina H B | -7,80 | 5,72 | -7,88 | 5,78 | -7,93 | 5,81 | -7,08 | 5,19 | -8,23 | 4,95 |
| Radulanina I | -8,80 | 6,45 | -8,73 | 6,40 | -9,27 | 6,79 | -8,83 | 6,47 | -7,37 | 5,44 |
| Radulanina I B | -8,32 | 6,10 | -8,45 | 6,19 | -9,01 | 6,60 | -8,23 | 6,03 | -7,26 | 4,66 |
| Radulanina K | -8,31 | 6,09 | -8,07 | 5,91 | -8,59 | 6,30 | -7,37 | 5,40 | -8,40 | 5,13 |
| Radulanina K B | -6,75 | 4,95 | -7,61 | 5,58 | -7,92 | 5,81 | -7,26 | 5,32 | -9,12 | 4,93 |
| 70b | -2,26 | 1,66 | -6,37 | 4,67 | -3,68 | 2,70 | -5,96 | 4,37 | -6,28 | 4,95 |
| 69a | -8,35 | 6,12 | -8,31 | 6,09 | -9,38 | 6,87 | -9,12 | 6,68 | -7,72 | 5,29 |
| 6-Metiltetrapterol A | -6,93 | 5,08 | -6,55 | 4,80 | -11,03 | 8,08 | -8,61 | 6,31 | -8,61 | 5,47 |
| Desmodianona A (S) | -5,33 | 3,91 | -2,83 | 2,08 | -7,42 | 5,44 | -8,47 | 6,21 | -5,96 | 5,39 |
| Desmodianona A (R) | -8,83 | 6,47 | -7,07 | 5,18 | -7,13 | 5,23 | -6,79 | 4,98 | -7,41 | 4,85 |
| Desmodianona A B (R) | -6,43 | 4,72 | -7,85 | 5,76 | -6,79 | 4,98 | -6,41 | 4,70 | -6,79 | 4,93 |
| Desmodianona D | -7,15 | 5,24 | -9,90 | 7,26 | -7,74 | 5,67 | -10,01 | 7,34 | -6,41 | 5,75 |
| Desmodianona D B | -7,58 | 5,55 | -8,88 | 6,51 | -9,68 | 7,09 | -7,78 | 5,70 | -10,01 | 5,52 |
| Desmodianona E | -10,40 | 7,62 | -10,58 | 7,75 | -7,64 | 5,60 | -8,66 | 6,35 | -7,78 | 5,33 |
| Desmodianona E B | -8,05 | 5,90 | -9,98 | 7,31 | -9,15 | 6,71 | -7,72 | 5,66 | -8,66 | 5,99 |

Tabela 18. Resultados em score (kcal/mol) do estudo de docking utilizando o algoritmo AutoDock4 e pK_i teórico (continuação).

| Ligantes | Score CB ₁ | pK _i CB ₁ | Score CB ₂ | pK _i CB ₂ | Score GPR119 | pK _i GPR119 | Score GPR55 | pK _i GPR55 | Score GPR18 | pK _i GPR18 |
|-------------------------|--------------------------|------------------------------------|--------------------------|------------------------------------|-----------------|---------------------------|----------------|--------------------------|----------------|--------------------------|
| CP55940 | -4,15 | 3,04 | -3,11 | 2,28 | -2,07 | 1,52 | -7,22 | 5,29 | -6,22 | 3,75 |
| MBX2982 | -1,03 | 0,76 | -1,35 | 0,99 | -7,02 | 5,15 | -9,20 | 6,74 | -3,57 | 4,82 |
| AR-231453 | -6,39 | 4,69 | 2,86 | -2,10 | -5,70 | 4,18 | -7,18 | 5,26 | -4,11 | 5,64 |
| CP55940 CB ₁ | -10,60 | 7,77 | -9,07 | 6,65 | -3,08 | 2,26 | -3,57 | 2,62 | -9,06 | 4,20 |
| CP55940 CB ₂ | -8,54 | 6,26 | -8,42 | 6,17 | -2,60 | 1,91 | -4,11 | 3,01 | -1,49 | 3,39 |
| MBX2982 GPR119 | -0,79 | 0,58 | 5,28 | -3,87 | -11,79 | 8,64 | -9,05 | 6,64 | -3,52 | 5,24 |
| LPI GPR55 | 100,46 | -73,65 | 135,56 | -99,38 | 1,05 | -0,77 | -9,06 | 6,64 | -2,11 | -6,44 |
| 2-AG | -3,47 | 2,54 | 1,25 | -0,92 | -0,43 | 0,31 | -1,49 | 1,09 | -5,25 | 2,40 |
| Anandamida | 59,81 | -43,84 | 91,27 | -66,91 | -4,17 | 3,06 | -3,52 | 2,58 | -8,33 | -0,89 |
| LPI | 75,52 | -55,36 | 124,67 | -91,39 | -1,05 | 0,77 | -2,11 | 1,55 | -7,49 | -6,59 |
| CBE | -7,38 | 5,41 | -7,89 | 5,79 | -8,09 | 5,93 | -8,03 | 5,89 | -6,33 | 4,32 |
| Δ ⁹ -THC | -8,34 | 6,11 | -8,91 | 6,53 | -8,73 | 6,40 | -8,21 | 6,02 | -5,87 | 5,09 |
| Δ ⁸ -THC | -8,61 | 6,31 | -8,69 | 6,37 | -8,90 | 6,52 | -8,38 | 6,14 | -4,93 | 4,80 |
| CBL | -7,94 | 5,82 | -7,98 | 5,85 | -8,08 | 5,92 | -8,18 | 6,00 | -9,20 | 4,77 |
| CBD | -6,71 | 4,92 | -6,94 | 5,09 | -6,04 | 4,43 | -7,49 | 5,49 | -2,80 | 4,03 |
| CBND | -7,00 | 5,13 | -7,58 | 5,56 | -7,01 | 5,14 | -7,41 | 5,43 | -7,13 | 4,18 |
| CBT | -6,92 | 5,07 | -8,34 | 6,12 | -8,47 | 6,21 | -7,86 | 5,76 | -4,92 | 4,22 |
| CBF | -7,55 | 5,53 | -7,61 | 5,58 | -8,85 | 6,49 | -8,33 | 6,11 | -6,99 | 4,63 |
| CBG | -6,77 | 4,96 | -5,94 | 4,35 | -4,14 | 3,03 | -4,92 | 3,61 | -7,22 | 3,42 |
| CBN | -8,50 | 6,23 | -7,89 | 5,78 | -8,42 | 6,17 | -8,37 | 6,13 | -7,18 | 4,90 |
| CBC | -7,14 | 5,24 | -7,99 | 5,86 | -6,40 | 4,69 | -6,99 | 5,13 | -6,25 | 4,49 |
| CBDA | -6,79 | 4,98 | -7,61 | 5,58 | -3,19 | 2,34 | -5,87 | 4,30 | -4,98 | 4,37 |
| CBCA | -7,01 | 5,14 | -6,03 | 4,42 | -5,17 | 3,79 | -5,93 | 4,34 | -7,41 | 4,08 |
| THCV | -8,47 | 6,21 | -8,92 | 6,54 | -8,84 | 6,48 | -8,40 | 6,15 | -8,47 | 4,86 |

Tabela 19. Energia dos orbitais moleculares HOMO-6 ao LUMO+6 dos Complexos estudados por ONIOM.

| COMPLEXO | HOMO-6 | HOMO-5 | HOMO-4 | HOMO-3 | HOMO-2 | HOMO-1 | HOMO | LUMO | LUMO+1 | LUMO+2 | LUMO+3 | LUMO+4 | LUMO+5 | LUMO+6 | GAP |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|
| CB₁ (B3LYP) | -335,57 | -334,89 | -331,72 | -330,6 | -329,12 | -324,1 | -319,25 | -239,03 | -237,49 | -235,8 | -217,58 | -216,44 | -214,27 | -213,91 | 80,23 |
| CB₁-CP55940 (B3LYP) | -333,41 | -331,33 | -328,55 | -326,76 | -326,38 | -320,03 | -314,29 | -239,72 | -234,96 | -233,88 | -218,88 | -217,78 | -216,24 | -213,03 | 74,57 |
| CB₂ (B3LYP) | -241,07 | -239,91 | -234,35 | -231,38 | -219,2 | -199,33 | -192,13 | -170,12 | -153,62 | -140,13 | -132,32 | -131,91 | -126,6 | -126,33 | 22,02 |
| CB₂-CP55940 (B3LYP) | -239,75 | -239,21 | -230,8 | -227,3 | -218,23 | -197,56 | -190,99 | -170,47 | -151,18 | -141,22 | -133,48 | -129,45 | -127,75 | -125,57 | 20,52 |
| GPR55-LPI (PM6) | -320,81 | -319,06 | -317,32 | -314,7 | -312,58 | -300,69 | -277,19 | -191,71 | -188,42 | -185,74 | -171,48 | -170,1 | -160,19 | -156,45 | 85,47 |
| CB₁ (PM6) | -406,7 | -406,31 | -402,27 | -400,13 | -399,24 | -392,87 | -383,43 | -192,73 | -182,89 | -180,11 | -178,51 | -171,02 | -168,4 | -168,18 | 190,7 |
| CB₁-CP55940 (PM6) | -242,56 | -242,4 | -239,4 | -236,76 | -236,03 | -235,01 | -232,53 | -102,13 | -48,17 | -40,52 | -34,31 | -34,15 | -27,71 | -23,19 | 130,41 |
| CB₂ (PM6) | -310,27 | -305,12 | -303,74 | -301,33 | -299,59 | -267 | -259,43 | -100,18 | -99,06 | -95,72 | -94,64 | -89,16 | -84,25 | -84,2 | 159,25 |
| CB₂-CP55940 (PM6) | -302,72 | -300,6 | -296,85 | -294,87 | -277,09 | -258,93 | -256,6 | -101,27 | -100,36 | -95,65 | -92,53 | -91,4 | -91,03 | -88,11 | 155,33 |
| GPR119 (PM6) | -329,37 | -329,02 | -328,5 | -328,28 | -320,62 | -307,85 | -302,13 | -173,95 | -169,37 | -167,87 | -167,37 | -164,58 | -164,17 | -163,1 | 128,19 |
| GPR119-MBX 2982 (PM6) | -333,28 | -333,27 | -332,12 | -331,48 | -330,98 | -310,84 | -304,96 | -174,36 | -169,31 | -168,35 | -167,15 | -165,11 | -164,58 | -162,67 | 130,6 |
| GPR55 (PM6) | -326,34 | -325,52 | -324,5 | -318,92 | -317,05 | -308,3 | -279,99 | -191,08 | -187,94 | -185,69 | -171,82 | -160,84 | -157,89 | -156,9 | 88,91 |
| GPR55-LPI (PM6) | -320,81 | -319,06 | -317,32 | -314,7 | -312,58 | -300,69 | -277,19 | -191,71 | -188,42 | -185,74 | -171,48 | -170,1 | -160,19 | -156,45 | 85,47 |

Tabela 20. Energias dos componentes individuais e do sistema completo utilizados para calcular a energia de formação dos complexos estudados por ONIOM

| | E complexo | E receptor | E ligante | ΔE formação |
|---------------------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|---|
| CB₁-CP55940 (PM6) | -544,34 | -179,15 | -200,89 | -164,30 |
| CB₁-CP55940 (B3LYP) | -3.117.717,80 | -2.386.660,03 | -730.839,22 | -218,56 |
| CB₂-CP55940 (PM6) | -464,57 | -204,53 | -200,89 | -59,14 |
| CB₂-CP55940 (B3LYP) | -2.434.784,59 | -1.703.774,08 | -730.839,22 | -171,29 |
| GPR119-MBX2982 (PM6) | -601,58 | -617,10 | 126,16 | -110,64 |
| GPR55-LPI (PM6) | -951,81 | -51,61 | -687,53 | -212,67 |