

UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA  
CENTRO MULTIDISCIPLINAR DE LUÍS EDUARDO MAGALHÃES  
ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA

BEATRIZ PAIVA DOS SANTOS

***DOCKING MOLECULAR NA IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS RECEPTORES PARA  
O Δ9-TETRAHIDROCANABINOL (THC)***

Luís Eduardo Magalhães - BA

2025

BEATRIZ PAIVA DOS SANTOS

***DOCKING* MOLECULAR NA IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS RECEPTORES PARA  
O  $\Delta^9$ -TETRAHIDROCANABINOL (THC)**

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado à Universidade Federal do Oeste da Bahia, como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia.

Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup> Aurizangela Oliveira de Sousa

Luís Eduardo Magalhães - BA

2025

## FICHA CATALOGRÁFICA

---

S237 Santos, Beatriz Paiva dos.

*Docking* molecular na identificação de novos receptores para o  $\Delta^9$  Tetrahydrocannabinol (THC). / Beatriz Paiva dos Santos. – 2025.

66 f.; il. color.

Orientador: Profa. Dra. Aurizangela Oliveira de Sousa.

Trabalho de Conclusão de Curso: (graduação em Engenharia de Biotecnologia) – Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães, Luís Eduardo Magalhães, BA, 2025.

1. Cannabis sativa – Estudos biotecnológicos. 2. Receptores canabinoides – Ancoragem molecular. 3. Fitocanabinoides - Delta-9-tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC).

I. Sousa, Aurizangela Oliveira de. II. Universidade Federal do Oeste da Bahia – Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães. III. Título.

CDD: 660.6

---

BIBLIOTECAS UFOB - Biblioteca Universitária de Luís Eduardo Magalhães

BEATRIZ PAIVA DOS SANTOS

***DOCKING MOLECULAR NA IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS RECEPTORES PARA  
O Δ9-TETRAHIDROCANABINOL (THC)***

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado à Universidade Federal do Oeste da Bahia, como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia.

Luís Eduardo Magalhães - BA, 18 de março de 2025.

**Banca Examinadora:**

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Aurizangela Oliveira de Sousa  
Universidade Federal do Oeste da Bahia

---

Prof. Dr. Samuel Mazzinghy Alvarenga  
Universidade Federal do Oeste da Bahia

---

Prof. Dr. Taidés Tavares dos Santos  
Universidade Federal do Norte do Tocantins

(A versão assinada deste documento encontra-se com a coordenação de curso)

Este trabalho é dedicado a Deus e a minha querida família.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, quero agradecer a Deus, que me manteve firme em toda a minha jornada acadêmica, fortalecendo-me diante das dificuldades e desafios da universidade. Somente ele conhece meu coração e sabe dos percalços que enfrentei até aqui.

Minha gratidão eterna à minha família, meu alicerce, que nunca me deixou desamparada e sempre esteve ao meu lado, oferecendo apoio incondicional.

As amigas que fiz ao longo do curso, meu muito obrigada. Essas amizades foram e continuam sendo muito importantes para mim. A troca de experiências e a parceria ao longo dessa trajetória foram verdadeiras bênçãos.

Sou imensamente grata à minha orientadora, que me orientou tanto na graduação quanto na construção deste trabalho, e a todos os professores de Engenharia de Biotecnologia da Universidade, que compartilharam seus conhecimentos e contribuíram para minha formação.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, fizeram parte dessa caminhada e tornaram este trabalho possível.

## RESUMO

Os fitocanabinoides presentes na maconha (*Cannabis sativa*) têm sido alvo de estudos, especialmente o THC, conhecido por seus efeitos psicotrópicos e terapêuticos. Embora os receptores CB1 e CB2 sejam os principais receptores do THC, outras moléculas podem atuar para o desenvolvimento das condições fisiológicas associadas ao uso da planta. Este trabalho investigou, por meio do estudo de *docking* molecular, potenciais proteínas receptoras para o THC, visando ampliar o entendimento das interações moleculares possíveis e os efeitos biológicos decorrentes. Para isso, foram realizadas buscas no *Protein Data Bank* (PDB) para seleção de estruturas proteicas de origem humana com resolução  $\leq 3$  Å. A validação do protocolo foi feita via *redocking* com ligantes originais, utilizando o AutoDock Vina. Os modelos gerados foram analisados no Discovery Studio, considerando a afinidade de ligação e as interações presentes no sítio ativo. Os resultados confirmaram a interação esperada do THC com os receptores canabinoides CB1 e CB2, mas também revelaram dois outros prováveis receptores com afinidade ao fitocanabinoide, foram eles: TRPV4 e DRD3. A interação do THC com esses receptores pode estar associada aos processos fisiológicos de osmorregulação, mecanossensibilização e recompensa emocional. Dessa maneira, esse estudo contribui para a maior compreensão dos efeitos biológicos e reações adversas decorrentes do uso terapêutico do composto.

**Palavras-chave:** Ancoragem molecular. Fitocanabinoide. Maconha. Efeitos biológicos.

## ABSTRACT

The phytocannabinoids found in marijuana (*Cannabis sativa*) have garnered significant attention in research, particularly THC, known for its pronounced psychoactive and therapeutic effects. While THC primarily targets CB1 and CB2 receptors, other molecules also play crucial roles in shaping the physiological impacts associated with this plant. This study decisively investigates potential receptor proteins for THC through comprehensive molecular docking analysis, thereby enhancing our understanding of the molecular interactions and their biological implications. We conducted thorough searches in the Protein Data Bank (PDB), selecting human protein structures with a resolution of  $\leq 3$  Å. The robustness of our protocol was confirmed through redocking with original ligands using AutoDock Vina. The resulting models were meticulously analyzed in Discovery Studio, focusing on binding affinity and interactions at the active site. Our findings reaffirm the expected interactions of THC with cannabinoid receptors CB1 and CB2. Moreover, we have identified two additional receptors that demonstrate significant affinity for THC: TRPV4 and DRD3. THC's interaction with these receptors is likely linked to critical physiological processes, including osmoregulation, mechanosensitization, and emotional reward. This study provides valuable insights into the biological effects and potential adverse reactions that may arise from the therapeutic use of THC.

**Keywords:** Molecular anchorage. Phytocannabinoid. Marijuana. Biological effects.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Pré-docking e redocking do receptor TRPV4 e seu ligante original (ATP). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se o ATP e suas interações com o receptor TRPV4. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking. ....32
- Figura 2 - Pré-docking e redocking do receptor CB1 e seu ligante original (A1H66). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do A1H66 com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking e as ligações estabelecidas. .... 33
- Figura 3 - Pré-docking e redocking do receptor CB1 e seu ligante original (ZDG). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do ZDG com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking e as ligações estabelecidas. ....34
- Figura 4 - Pré-docking e redocking do receptor CB1 e seu ligante original (7DY). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do 7DY com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking e as ligações estabelecidas. ....35
- Figura 5 - Pré-docking e redocking do receptor CB1 e seu ligante original (8D3). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do 8D3 com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking e as ligações estabelecidas. ....36
- Figura 6 - Pré-docking e redocking do receptor CB1 e seu ligante original (8D0). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do 8D0 com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking e as ligações estabelecidas. ....37

Figura 7 - Pré-docking e redocking do receptor CB1 e seu ligante original (9GF). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do 9GF com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking e as ligações estabelecidas.....	38
Figura 8 - Pré-docking e redocking do receptor CB1 e seu ligante original (J30). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do J30 com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking e as ligações estabelecidas.....	39
Figura 9 - Pré-docking e redocking do receptor CB2 e seu ligante original (E3R). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do E3R com o receptor CB2. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking e as ligações estabelecidas.....	40
Figura 10 - Pré-docking e redocking do receptor DRD3 e seu ligante original (G60). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do G60 com o receptor DRD3. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking e as ligações estabelecidas.....	41
Figura 11 - Docking molecular do THC e o receptor TRPV4. A ligação do THC (em cinza) e do ligante original (ATP em laranja) no sítio do receptor TRPV4 são apresentadas em (a). Em (b) está o destaque para as ligações que o THC estabelece no sítio ativo da proteína TRPV4 (PDB ID: 4DX2).....	42
Figura 12 - Receptores CB1 selecionados com o THC e o ligante original acoplados. Códigos do receptor CB1 selecionados (em cinza) acoplado ao seu ligante original (em rosa) e ao THC (em azul) (a-g); (a) código (PDB ID: 5TGZ) ligado ao ZDG e THC; (b) código (PDB ID: 5U09) ligado ao 7DY e THC; (c) código (PDB ID: 5XRA) ligado ao 8D3 e THC; (d) código (PDB ID: 6KPG) ligado ao 8D0 e THC; (e) código (PDB ID: 7FEE) ligado ao 9GF e THC; (f) código (PDB ID: 8K8J) ligado ao J30 e THC; (g) código (PDB ID: 9ERX) ligado ao A1H66 e THC. ....	44
Figura 13 - Interações do CB1 com ligantes agonista e antagonista (a-e). Os ligantes originais são representados em rosa, enquanto o THC é representado de azul. Em (a-d) estão representados ligantes agonistas do CB1, enquanto que em (e) está o ligante antagonista. ....	46

Figura 14 - Estruturas moleculares do THC e ligantes endocanabinoides originais análogos. Estrutura molecular do THC (a); do 8D0 (b); do 9GF(c); do A1H66 (d); e do 8D3 (e). .....	47
Figura 15 - Interações do CB2 com o ligante original (E3R) e o THC. Interações do THC com o CB2 (a-b). Sobreposição do E3R (em rosa) e do THC (em azul) na interação com o CB2 (em verde) (c).....	49
Figura 16 - Interações do DRD3 com o THC e o ligante original (G60). Destaque da interação do THC com o DRD3 (a-b); Sobreposição do G60 (em rosa) e do THC (em azul) no sítio de ativação do DRD3 (cinza). .....	51
Figura 17 - Efeitos biológicos sugeridos na literatura para a interação do THC com os receptores selecionados – CB1, CB2, DRD3 e TRPV4. A molécula de THC é representada no centro; as setas indicam as interações estabelecidas com os receptores-alvos, que estão ilustrados em modelos moleculares. Os possíveis efeitos biológicos das interações receptor/THC são descritos nos quadros.....	53

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1- Receptores-alvos selecionados para o estudo de docking molecular em interação com o THC. ....	27
Tabela 2 - Receptores preditos associados ao THC selecionados para o estudo de docking molecular. ....	29
Tabela 3 - Códigos selecionados para o redocking. ....	30

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**RMSD** Root Mean Square Deviation

**ARD** Domínio de repetição de Anquirina

**ATP** Adenosina Trifosfato

**THC**  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol

**PDB** *Protein Data Bank*

**eCB** Sistema Endocanabinoide

**CBD** Canabidiol

**GPCRs** Receptores Acoplados à Proteína G

Å Angström

**GDP** Difosfato de Guanosina

**SNC** Sistema Nervoso Central

**CB1** Receptor Canabinoide 1

**CB2** Receptor Canabinoide 2

**DRD3** Receptor de Dopamina D3

**GLRA1** Receptor de Glicina Alfa 1

**GLRA2** Receptor de Glicina Alfa 2

**GLRA3** Receptor de Glicina Alfa 3

**GPR3** Receptor 3 Acoplado à Proteína G

**GPR6** Receptor 6 Acoplado à Proteína G

**GPR12** Receptor 12 Acoplado à Proteína G

**GPR18** Receptor 18 Acoplado à Proteína G

**GPR19** Receptor 19 Acoplado à Proteína G

**GPR55** Receptor 55 Acoplado à Proteína G

**TRPA1** Canal de Cátion de Potencial Receptor Transitório, Subfamília A, Membro 1

**TRPM8** Canal de Cátion de Potencial Receptor Transitório Subfamília M, Membro 8

**TRPV1** Canal Catiônico de Potencial Receptor Transitório Subfamília V, Membro 1

**TRPV2** Canal de Cátion de Potencial Receptor Transitório Subfamília V, Membro 2

**TRPV3** Canal de Cátion de Potencial Receptor Transitório Subfamília V, Membro 3

**TRPV4** Canal de Cátion de Potencial Receptor Transitório Subfamília V, Membro 4

## Sumário

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>17</b>
3.1	O THC E AS DEMAIS MOLÉCULAS DA <i>CANNABIS SATIVA</i> .....	17
3.2	APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS DO THC .....	17
3.3	OS RECEPTORES CANABINOIDES .....	18
3.4	O EFEITO LIGANTE/RECEPTOR.....	19
3.5	OUTROS POSSÍVEIS RECEPTORES AO THC .....	19
3.6	<i>DOCKING</i> COMO FERRAMENTA DE ESTUDO DE INTERAÇÃO MOLECULAR .....	20
3.6.1	<i>Protein Data Bank (PDB)</i> .....	21
3.6.2	<i>AutoDock Vina</i> .....	21
3.6.3	<i>AutoGrid</i> .....	22
3.6.4	<i>AutoDockTools4 (ADT)</i> .....	22
3.6.5	<i>BIOVIA Discovery Studio</i> .....	22
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>23</b>
4.1	BUSCA, IDENTIFICAÇÃO E SELEÇÃO DE POTENCIAIS RECEPTORES PARA O THC.....	23
4.2	<i>PRÉ-DOCKING</i> E <i>REDOCKING</i> .....	24
4.2.1	Preparação dos arquivos.....	24
4.2.2	Configuração da grade e parâmetros de ancoragem .....	24
4.2.3	Avaliação dos resultados das simulações de ancoragem.....	25
4.3	<i>DOCKING</i> MOLECULAR .....	25
4.3.1	Preparo dos arquivos .....	25
4.3.2	Configuração da grade e parâmetros de ancoragem .....	25
4.3.3	Avaliação dos resultados das simulações de ancoragem.....	26
4.4	AValiação DOS MODELOS DE INTERAÇÃO PREDITOS E EFEITOS BIOLÓGICOS ASSOCIADOS .....	26
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>27</b>
5.1	POTENCIAIS RECEPTORES DO THC .....	27
5.2	VALIDAÇÃO DE PROTOCOLO .....	30
5.3	ESTUDO DE <i>DOCKING</i> MOLECULAR PARA POTENCIAIS RECEPTORES DO THC E EFEITOS BIOLÓGICOS ASSOCIADOS.....	41
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>54</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A maconha (*Cannabis sativa*) tem sido usada para fins recreativos, terapêuticos e outras aplicações há anos. Essa planta contém centenas de compostos, denominados fitocanabinoides, sendo o  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) um dos mais reconhecidos representantes por estar associado às crises psicóticas dos usuários da planta (Araújo; Almeida; Araújo, 2023). Uma desordem mental foi observada em pessoas a partir do uso diário de variedades de maconha com concentração de THC igual ou superior a 10% (Di Forti *et al.*, 2019). Segundo os autores, essa concentração aumenta em até cinco vezes o risco de crise psicótica nos usuários em comparação com não usuários. Por outro lado, o THC em doses inferiores a 10% tem sido usado de forma terapêutica, com reduzido efeito sobre a saúde mental, em pacientes que sofrem de anorexia decorrente do quadro clínico da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) e também do câncer (Badowski; Yanful, 2018).

O THC interage com receptores canabinoides, integrantes do sistema endocanabinoide (eCB). Esse sistema é o principal responsável pela homeostase energética do sistema intercelular, como também, do metabolismo e gasto de energia corpórea para manutenção do peso e apetência (Rezende *et al.*, 2023). Além disso, o eCB também pode auxiliar processos cognitivos relacionados à memória, humor e dor, por meio dos receptores canabinoides clássicos (CB1 e CB2) ou pela interação com outros receptores presentes nos sistemas imunológico e cardiovascular e em órgãos como fígado, pulmões e trato gastrointestinal (Godoy *et al.*, 2006; Rezende *et al.*, 2023; Ye *et al.*, 2019).

O entendimento das ligações estabelecidas entre um composto e seu alvo, como as que ocorrem entre o THC e seus receptores, pode ser alcançado por meio de estudos de acoplamento, também conhecidos como *docking* molecular, ancoragem ou docagem (Batista *et al.*, 2022; Butt *et al.*, 2020; Morris *et al.*, 2009). Em linhas gerais, esses estudos permitem simular interações moleculares, ampliando a compreensão do mecanismo de ação do composto no organismo, além de permitir identificar novos receptores. O conhecimento oriundo dos estudos de docagem tem implicações diretas no desenvolvimento de tratamentos mais precisos, com a identificação de alvos específicos associados aos efeitos terapêuticos desejados, e pesquisa mais econômica, pelo melhor direcionamento a partir da triagem inicial (Russo, 2020).

Assim, a realização de um estudo de *docking* molecular para explorar as interações entre o  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol (THC) e receptores-alvo selecionados visa aprofundar a compreensão sobre os efeitos biológicos potenciais desse composto.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar um estudo de *docking* molecular para investigar as interações entre o  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol (THC) e receptores-alvo selecionados, com o intuito de ampliar a compreensão dos efeitos biológicos potenciais desse composto.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

(i) Identificar, por meio de levantamento bibliográfico e busca em bancos de dados de proteínas, possíveis receptores com potencial interação com o THC;

(ii) Simular, por meio de *docking* molecular, as interações entre o THC e os receptores selecionados;

(iii) Avaliar os modelos de interação preditos com base em suas qualidades estereoquímicas e nas informações experimentais disponíveis;

(iv) Propor os possíveis efeitos biológicos associados aos modelos de interação preditos.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 O THC E AS DEMAIS MOLÉCULAS DA *CANNABIS SATIVA*

A planta *Cannabis sativa* é amplamente conhecida por sua composição química diversificada, abrigando uma variedade de compostos, sendo os canabinoides os mais notáveis e estudados. Entre esses canabinoides, o  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol (THC) se destaca como um dos principais responsáveis pelos efeitos psicoativos associados ao consumo de *Cannabis* (Honório; Arroio; Silva, 2006).

O THC tem o potencial de interagir com os receptores canabinoides no sistema nervoso, especialmente com o CB1, desencadeando efeitos psicoativos como sensação de euforia, relaxamento e alterações na percepção sensorial. Outro composto proeminente encontrado na *Cannabis* é o Canabidiol (CBD), que difere do THC por não apresentar efeitos psicoativos significativos. O CBD tem ganhado atenção devido às suas propriedades anti-inflamatórias, ansiolíticas e neuroprotetoras (Crippa; Zuardi; Hallak, 2010).

Além dos canabinoides, a planta também contém terpenos, compostos responsáveis pelo aroma característico da *Cannabis*. Alguns terpenos têm demonstrado propriedades terapêuticas interessantes, como o mirceno, que possui potencial sedativo, ou o limoneno, que está associado a efeitos antidepressivos (Passos *et al.*, 2009). Embora não sejam canabinoides, esses terpenos podem interagir com os compostos da planta e potencializar seus efeitos terapêuticos.

Além do THC e do CBD mencionados, a planta contém outros canabinoides em menores quantidades, como o CBN (canabinol), formado pela degradação do THC, e o THCV (tetrahydrocannabinavarina), que apresenta características distintas, incluindo potencial para modular os efeitos do THC (Wiley *et al.*, 2024).

#### 3.2 APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS DO THC

O THC é o principal componente psicoativo da *C. sativa* e tem sido estudado pelas suas promissoras aplicações terapêuticas, embora ainda haja muito a ser explorado. Esta substância tem o potencial de aliviar a dor crônica, modulando a percepção da dor ao interagir com os receptores canabinoides (principalmente CB1) (Cecilio; Oliveira Júnior, 2023).

Em certos quadros de saúde, como aqueles com HIV/AIDS, o THC pode funcionar combatendo a perda de peso e estimulando o apetite, o que pode ser crítico dadas as exigências

físicas destas condições (Brucki *et al.*, 2021). Na área neurológica, a combinação de THC e CBD pode atuar como coadjuvante no tratamento de doenças como a esclerose múltipla (Tanganelli *et al.*, 2023), apresentando propriedades anti-inflamatórias e neuroprotetoras que podem ajudar a reduzir os sintomas e melhorar a qualidade de vida (Marinho; Silva, 2023).

Outra área importante de pesquisa é o potencial antitumoral do THC, que sugere sua capacidade de inibir o crescimento de células cancerígenas (Guzmán; Sánchez; Velasco, 2017). Embora sejam necessárias mais pesquisas para obter uma compreensão mais completa, estes resultados preliminares sugerem possíveis aplicações no desenvolvimento de terapias complementares contra o câncer. Além disso, o THC demonstrou ser eficaz no controle de náuseas e vômitos em pacientes submetidos a tratamentos como quimioterapia, proporcionando assim melhor qualidade de vida durante o tratamento (Honório; Arroio; Silva, 2006;).

Diante das aplicações terapêuticas promissoras do THC faz-se necessária a investigação contínua para compreender completamente o seu mecanismo de ação, dosagem ideal e potenciais efeitos secundários. Esta procura por tratamentos mais precisos e personalizados à base de THC representa uma área dinâmica e em evolução no setor de terapêuticas inovadoras alternativas.

### 3.3 OS RECEPTORES CANABINOIDES

Os receptores canabinoides são um componente fundamental do sistema endocanabinoide e desempenham um papel vital na regulação de várias funções fisiológicas no corpo humano (Godoy *et al.*, 2006). Esses receptores, chamados CB1 e CB2, são encontrados principalmente no sistema nervoso central e no sistema imunológico, respectivamente. Eles são os receptores canabinoides mais conhecidos e estudados (Francischetti; Abreu, 2006; Godoy *et al.*, 2006).

O CB1 está amplamente distribuído no cérebro, está associado a efeitos psicoativos (Cecilio; Oliveira Júnior, 2023). Ele é o alvo principal dos efeitos do THC. Por outro lado, o CB2 está mais concentrado nas células do sistema imunológico e nos tecidos periféricos, desempenhando um papel importante na regulação das respostas imunes (Francischetti; Abreu, 2006). Estes receptores agem como importantes mediadores de comunicação entre as células, respondendo aos endocanabinoides produzidos pelo próprio corpo e aos fitocanabinoides presentes na *Cannabis*. As interações entre os canabinoides e estes receptores desencadeiam

uma sucessão de eventos intracelulares que modulam processos como a neurotransmissão, respostas inflamatórias e regulação do equilíbrio energético (Costa *et al.*, 2011).

### 3.4 O EFEITO LIGANTE/RECEPTOR

A comunicação entre o ligante (como o THC) e o receptor canabinoide pode ser compreendida através do conceito de agonismo e antagonismo, uma vez que o THC atua como um agonista parcial nos receptores canabinoides CB1 e CB2, tendo uma maior afinidade pelo receptor CB1, desencadeando respostas celulares específicas de acordo com informações levantadas por Cecilio e Oliveira Júnior (2023). A interação molecular ligante ocorre em receptores específicos, como os GPCRs (receptores acoplados à proteína G), uma família diversificada de receptores de membrana que convertem sinais externos, como luz, peptídeos, lipídeos, açúcares e proteínas, em respostas celulares específicas (Guido; Oliveira; Andricopulo, 2012).

Geralmente, quando um agonista se liga a um receptor, ocorre a ativação de uma proteína G específica, resultando na dissociação da GDP (Tuteja, 2009). Os ligantes GPCR são divididos em quatro categorias com base na natureza de sua interação: agonistas, antagonistas, agonistas parciais e agonistas inversos. Os agonistas ligam-se aos receptores e desencadeiam respostas celulares, causando alterações conformacionais. Os antagonistas se ligam, impedem a ligação dos agonistas e não causam resposta. Os agonistas parciais são uma classe intermediária que não causam uma mudança conformacional no agonista completo após a ligação, mas ainda permitem atividade parcial; ao mesmo tempo, eles “impedem” que o receptor se ligue totalmente ao agonista. Quando um agonista completo e um agonista parcial estão presentes, o agonista parcial atua como um antagonista competitivo, resultando numa redução líquida na ativação do receptor. Os agonistas inversos ligam-se aos receptores, mas induzem respostas fisiológicas opostas às esperadas do agonista (Shahbazi *et al.*, 2020).

### 3.5 OUTROS POSSÍVEIS RECEPTORES AO THC

A busca por receptores além dos tradicionalmente conhecidos é essencial para uma compreensão abrangente dos efeitos do THC. Apesar de o CB1 e o CB2 serem os principais receptores canabinoides identificados, pesquisas recentes indicam a existência de outros possíveis alvos para o THC (Cherry *et al.*, 2024).

Estudos farmacológicos indicam que moléculas canabinoides podem interagir com uma variedade de receptores além dos tradicionais CB1 e CB2. Dentre esses receptores, incluem-se os vaniloides TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPA1, TRPM8, assim como receptores metabotrópicos, tais como GPR55, GPR3, GPR6, GPR12 e GPR19, além de outros receptores, enzimas e proteínas (Rezende *et al.*, 2023; Ye *et al.*, 2019).

GPR3, GPR6 e GPR12 pertencem à família de receptores acoplados à proteína G, sendo constitutivamente ativos. Estudos anteriores associaram o GPR3 à doença de Alzheimer, enquanto o GPR6 tem sido relacionado ao desenvolvimento da doença de Parkinson (Laun *et al.*, 2019; Laun; Song, 2017). O GPR12, distribuído amplamente no cérebro em desenvolvimento, exibe um padrão temporal durante o desenvolvimento, indicando seu possível envolvimento no crescimento neuronal, diferenciação e formação de contatos sinápticos. Pesquisas anteriores também sugeriram que variantes intergênicas do GPR12 têm correlação com o desempenho cognitivo e a resposta ao tratamento na esquizofrenia (Li *et al.*, 2023). Apesar de serem considerados receptores órfãos, uma vez que não foram confirmados agonistas endógenos para eles, GPR3, GPR6 e GPR12 apresentam relação filogenética com os receptores canabinoides (Laun *et al.*, 2019; Laun; Song, 2017).

### 3.6 DOCKING COMO FERRAMENTA DE ESTUDO DE INTERAÇÃO MOLECULAR

O *docking* molecular é uma técnica de simulação computacional que prevê como uma molécula, chamada ligante, se posiciona em relação à estrutura de uma proteína. Nesse tipo de simulação, o ligante é uma pequena molécula orgânica. É importante destacar que essa abordagem não se limita apenas ao estudo das interações entre uma proteína e um ligante, mas também envolve várias combinações moleculares, como proteína-proteína, proteína-DNA, RNA-proteína, DNA-ligante e RNA-ligante (Russo, 2020).

As técnicas de *docking* molecular proporcionam estimativas da energia livre de ligação entre o ligante e a proteína, antecipando-se à síntese experimental dessas substâncias. Os custos computacionais associados a esses estudos são consideravelmente inferiores em comparação com as despesas laboratoriais necessárias para a síntese e avaliação farmacológica de diversas substâncias (Lin; Li; Lin, 2020). Essa ferramenta fundamental é empregada para a triagem de compostos, eliminando aqueles que não são adequados como alvos, e identificando candidatos potenciais com interações promissoras no sítio ativo do receptor (Rodrigues *et al.*, 2012).

Através do *docking* molecular, são geradas diversas conformações espaciais do ligante, permitindo ao analista determinar qual delas é a mais provável na interação com o alvo. A partir de cada conformação espacial, são calculadas as energias livres de ligação entre o ligante e o alvo, sendo que a menor energia é considerada a mais provável para explicar a conformação da interação (Sousa, 2015).

No geral, a execução do *docking* pode variar dependendo do método utilizado, em que podem ser utilizados ligantes e receptores rígidos (Agarwal; Mehrotra, 2016). No entanto, esse método fica limitado pela menor capacidade conformacional produzida, sendo mais utilizado para a docagem entre duas macromoléculas. Outra forma de abordagem utilizada é lidar com ligantes flexíveis e receptores rígidos, o que torna o processo mais caro, visto que, o número de conformações possíveis do ligante é determinado pelos seus graus de liberdade, exigindo custos operacionais. Contudo, apesar do custo operacional, esse método é mais eficiente, aproximando-se de condições biológicas, quando comparado ao primeiro método (Lin, Li e Lin, 2020).

A proposta de *docking* molecular integra diversas etapas estratégicas, desde a pesquisa inicial em base de dados como *Protein Data Bank* (PDB) até a análise detalhada dos resultados por meio de ferramentas especializadas como Autodock.

### **3.6.1 Protein Data Bank (PDB)**

O Banco de Dados de Proteínas (PDB – [www.rcsb.org/](http://www.rcsb.org/)) é uma plataforma online que guarda dados tridimensionais sobre proteínas, receptores e estruturas de ácidos nucleicos. Ele disponibiliza informações detalhadas sobre a estrutura, incluindo as coordenadas precisas dos átomos para inúmeras biomoléculas (Burley *et al.*, 2017; Burley *et al.*, 2023).

### **3.6.2 AutoDock Vina**

O AutoDock e o AutoDock Vina, desenvolvidos pelo *The Scripps Research Institute*, estão entre as ferramentas gratuitas e de código aberto mais utilizadas para simulações de *docking* molecular. O AutoDock Vina integra o conjunto de ferramentas AutoDock, composto por programas de linha de comando capazes de prever as conformações de ligação de um ligante flexível a um alvo macromolecular de estrutura conhecida (Butt *et al.*, 2020).

### **3.6.3 AutoGrid**

O AutoGrid é uma ferramenta que faz parte do conjunto de programas do AutoDock. O AutoGrid é responsável por gerar uma grade tridimensional no espaço ao redor da molécula-alvo. Essa grade serve como um mapa para avaliar as interações potenciais entre o ligante e o receptor. A posição e a extensão dessa grade são definidas com base na estrutura do receptor e na localização do sítio de ligação (Zhang *et al.*, 2019).

### **3.6.4 AutoDockTools4 (ADT)**

O AutoDockTools4 (ADT) é uma ferramenta gráfica e interativa que faz parte do conjunto de programas AutoDock. Essa ferramenta fornece uma interface de usuário amigável para a preparação de estruturas moleculares, configuração de parâmetros de simulação e análise dos resultados obtidos (Morris, 2009).

### **3.6.5 BIOVIA *Discovery Studio***

O Biovia Discovery Studio é uma ferramenta amplamente utilizada na análise e visualização de estruturas tridimensionais de proteínas e pequenas moléculas químicas em estudos de *docking* molecular, permitindo a inspeção de resíduos, átomos e interações inter e intramoleculares. Além disso, é frequentemente empregado na preparação e conversão de proteínas para o formato *protein data bank* (pdb) (Ayodele *et al.*, 2023).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 BUSCA, IDENTIFICAÇÃO E SELEÇÃO DE POTENCIAIS RECEPTORES PARA O THC

O *Protein Data Bank* – PDB (<https://www.rcsb.org/>) foi utilizado como banco de dados para a busca, identificação e seleção de receptores-alvos. As buscas foram realizadas utilizando as palavras-chave “CB1”; “CB2”; “CANNABINOID RECEPTOR 1” e “CANNABINOID RECEPTOR 2”. Todas as informações obtidas foram registradas, considerando o código disponível no PDB; a resolução atribuída à estrutura; além do *Digital Object Identifier* – DOI da publicação associada (ANEXO 1-4). Os registros foram realizados no período de agosto a setembro de 2024.

A partir das informações obtidas foram selecionados aqueles receptores-alvos de origem humana (*Homo sapiens*), com resolução de até 3 angströms (Å) e que apresentavam ligantes acoplados na sua estrutura. Esses receptores são apresentados na tabela 1.

A palavra-chave “THC” também foi utilizada para uma busca no PDB a fim de obter informações específicas associadas ao ligante. Para esse registro foram utilizados os dados do Pharos (<https://pharos.nih.gov/>), que relaciona receptores associados e preditos para o termo de busca. Os dados obtidos foram confrontados com as informações oriundas do levantamento bibliográfico previamente realizado. Os receptores preditos selecionados foram submetidos a buscas no PDB, no período de setembro a dezembro de 2024. As palavras-chave utilizadas nessa etapa do estudo foram: “DRD3”, “GLRA1”, “GLRA2”, “GLRA3”, “GPR3”, “GPR6”, “GPR12”, “GPR18”, “GPR19”, “GPR55”, “TRPA1”, “TRPM8”, “TRPV1”, “TRPV2”, “TRPV3” e “TRPV4”. As informações de cada busca realizada foram registradas em tabelas que incluem os códigos PDB, a resolução da estrutura e o DOI da publicação de referência (ANEXOS 5-16). Essas informações foram avaliadas e os receptores de origem humana (*Homo sapiens*), com até 3 angströms (Å) de resolução e cuja estrutura apresentava ligantes acoplados foram organizados e apresentados conforme a tabela 2.

## 4.2 PRÉ-DOCKING E REDOCKING

As estruturas dos receptores selecionados na etapa anterior foram avaliadas quanto à homologia apresentada pelos seus possíveis ligantes ao THC e também quanto ao número de ligantes associados. Apenas aqueles receptores que apresentavam ligantes estruturalmente semelhantes ao THC ou que possuíam um único ligante associado, mesmo que diferente do THC, seguiram para a etapa do *redocking*. Nessa etapa os receptores selecionados e seus ligantes originais foram ancorados e a interação estabelecida foi avaliada visando a validação do protocolo de ancoragem. O protocolo aplicado nesse estudo obedeceu aos seguintes passos:

### 4.2.1 Preparação dos arquivos

- O arquivo referente a cada receptor selecionado foi preparado utilizando o programa AutoDockTools 1.5.6 (Morris, 2009). As estruturas foram submetidas a um procedimento de correção, em que as moléculas de água e o ligante original acoplado foram removidos. Átomos de hidrogênio também foram adicionados. Os arquivos no formato “\*.pdbqt” foram salvos;
- O preparo dos ligantes foi realizado com o programa Discovery Studio 2024 (Systemes, 2016), seguindo o mesmo procedimento relatado para os receptores. O arquivo resultante foi salvo no formato “\*.pdb” e convertido para o formato “\*.pdbqt” usando o programa AutoDockTools.

### 4.2.2 Configuração da grade e parâmetros de ancoragem

A configuração da grade foi definida com base nos atributos do ligante original no receptor, segundo dados do programa Discovery Studio. A exibição da grade usou o programa AutoDockTools. Todas as informações foram registradas, gerando um arquivo com o nome do ligante preparado, o nome do receptor preparado, o tamanho da caixa (X, Y, Z), o arquivo de saída e o número de tentativas de ancoragem a ser executada.

Para o *redocking*, uma pasta para cada receptor foi criada. Cada pasta apresentava os dados relevantes para a ancoragem. A saber: o arquivo do receptor preparado em formato “\*.pdbqt”; o arquivo do ligante preparado; os arquivos dos programas AutoDock Vina 1.1.2

(Trott; Olson, 2010) e suas extensões – Vina, Vina Split e Vina license; além das informações da grade necessárias para o procedimento de ancoragem.

### 4.2.3 Avaliação dos resultados das simulações de ancoragem

Os resultados obtidos com o procedimento anterior foram avaliados a partir das poses geradas. Cada pose foi salva no formato “\*.pdb”, usando o programa AutoDockTools. Esses arquivos individuais, juntamente com o arquivo do ligante original, inicialmente retirado do receptor, foram visualizados com o programa Discovery Studio para comparação das poses. Nessa avaliação foi verificado o alinhamento da pose gerada em relação à pose original e o valor do RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Além disso, foi utilizada uma exaustividade igual a 100 para a maioria dos procedimentos, salvo as exceções relatadas. A ancoragem foi considerada validada para aqueles ligantes que apresentavam o melhor alinhamento de poses e RMSD inferior a 2 Å.

## 4.3 DOCKING MOLECULAR

O programa Autodock Vina 1.1.2 (Trott; Olson, 2010) foi utilizado para os estudos de *docking* molecular de acordo com o protocolo a seguir:

### 4.3.1 Preparo dos arquivos

- Os receptores selecionados foram preparados seguindo os mesmos critérios estabelecidos no *redocking*. Os arquivos .pdb foram convertidos para o formato “\*.pdbqt”. não sendo necessário novas preparações desses receptores;
- O arquivo do THC foi obtido do Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/16078>). A molécula foi simplificada, os hidrogênios foram adicionados e a geometria foi otimizada utilizando o programa Avogadro (Hanwell, 2012). O arquivo foi convertido para o formato “\*.pdbqt” usando o programa AutoDockTools.

### 4.3.2 Configuração da grade e parâmetros de ancoragem

A configuração da grade e os parâmetros de ancoragem foram os mesmos validados durante o *redocking*, utilizando dados da pose que melhor se alinhou com o ligante original e o valor de RMSD inferior a 2 Å.

### **4.3.3 Avaliação dos resultados das simulações de ancoragem**

As informações da etapa anterior foram usadas no programa Autodock Vina e os resultados gerados foram convertidos em formato “\*.pdb” no programa AutoDockTools. O arquivo final dos resultados foi analisado no programa Discovery Studio, que permitiu visualizar todas características da interação simulada, incluindo as forças de ligação estabelecidas entre o ligante e o receptor e os resíduos envolvidos nessa interação.

## **4.4 AVALIAÇÃO DOS MODELOS DE INTERAÇÃO PREDITOS E EFEITOS BIOLÓGICOS ASSOCIADOS**

As configurações resultantes do *docking* molecular foram examinadas com base na afinidade energética calculada pelo Autodock Vina. O Discovery Studio também foi empregado para analisar as conformações de ligação de cada ligante nas proteínas, incluindo as interações existentes no sítio de ligação entre o composto e o alvo, como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e ligações  $\pi$ . Além disso, os modelos foram confrontados com dados experimentais disponíveis na literatura. Com base nas interações observadas, foram sugeridos possíveis efeitos biológicos, considerando tanto o grau de afinidade de ligação quanto o padrão das interações com os receptores biológicos.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 POTENCIAIS RECEPTORES DO THC

Estruturas com resolução  $\leq 3 \text{ \AA}$  foram priorizadas neste estudo devido à alta precisão na localização atômica, essencial para análises de *docking* e modelagem molecular. Isso se deve ao fato de que, quanto menor o valor da resolução em  $\text{\AA}$ , mais detalhadas e nítidas são as informações estruturais, permitindo maior confiabilidade nas análises (Harris *et al.*, 2024; Souza, 2015). Além disso, foram consideradas apenas proteínas humanas (*Homo Sapiens*), considerando o objetivo de compreender como o THC interage com receptores humanos, particularmente no contexto da descoberta de alvos terapêuticos em diversas doenças. Por fim, foram selecionadas estruturas receptoras que apresentavam ligantes acoplados, uma premissa para obter informações detalhadas sobre o sítio ativo dos receptores e suas interações, permitindo a aplicação do protocolo e a validação dos estudos de simulação com ligante de interesse ancorado.

A busca pela palavra-chave “CB1” no PDB gerou 32 resultados iniciais, dos quais 12 foram selecionados considerando os critérios de registro. Já para a palavra-chave “CB2” foram encontrados inicialmente 8 resultados, sendo 4 resultados selecionados para a registro. A palavra-chave “CANNABINOID RECEPTOR 1” pesquisada retornou 28 resultados, desses 9 atenderam aos critérios de registro; enquanto que “CANNABINOID RECEPTOR 2” gerou 10 resultados, dos quais 5 foram registrados. Dessa maneira, dos 30 resultados obtidos no PDB, após a aplicação dos critérios finais de registro, que incluíram o organismo de origem (*Homo sapiens*), resolução de até  $3 \text{ \AA}$  e a presença de ligantes acoplados nas estruturas, foi consolidada uma tabela final contendo 18 resultados (tabela 1). Cabe destacar que alguns dos resultados obtidos no PDB se repetiram entre as palavras-chave 'CB1' e 'CANNABINOID RECEPTOR 1', bem como entre 'CB2' e 'CANNABINOID RECEPTOR 2', o que contribuiu para a redução no número total de resultados selecionados.

Tabela 1- Receptores-alvos selecionados para o estudo de *docking* molecular em interação com o THC.

CÓDIGO PDB	RESOLUÇÃO	DOI
<b>5TGZ</b>	2,80 $\text{\AA}$	<a href="https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.004">https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.004</a>
<b>5U09</b>	2.60 $\text{\AA}$	<a href="https://doi.org/10.1038/nature20613">https://doi.org/10.1038/nature20613</a>
<b>5XR8</b>	2.95 $\text{\AA}$	<a href="https://doi.org/10.1038/nature23272">https://doi.org/10.1038/nature23272</a>

<b>5XRA</b>	2.80 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/nature23272">https://doi.org/10.1038/nature23272</a>
<b>6KPG</b>	3.00 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.008">https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.008</a>
<b>7FEE</b>	2.70 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41589-022-01038-y">https://doi.org/10.1038/s41589-022-01038-y</a>
<b>8GHV</b>	2.80 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41467-023-37864-4">https://doi.org/10.1038/s41467-023-37864-4</a>
<b>8K8J</b>	2.88 Å	<a href="https://doi.org/10.1002/advs.202306311">https://doi.org/10.1002/advs.202306311</a>
<b>9ERX</b>	2.90 Å	<a href="https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4277209/v1">https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4277209/v1</a>
<b>1XI2</b>	1,50 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.08.081">https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.08.081</a>
<b>1ZX1</b>	2,16 Å	Não publicado
<b>2BZS</b>	2,00 Å	<a href="https://doi.org/10.1021/jm050730n">https://doi.org/10.1021/jm050730n</a>
<b>7OPR</b>	2,32 Å	<a href="https://doi.org/10.1039/d1md00225b">https://doi.org/10.1039/d1md00225b</a>
<b>5ZTY</b>	2.80 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.011">https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.011</a>
<b>6KPF</b>	2.90 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.008">https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.008</a>
<b>8GUR</b>	2.84 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41467-023-37112-9">https://doi.org/10.1038/s41467-023-37112-9</a>
<b>8GUS</b>	2,97 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41467-023-37112-9">https://doi.org/10.1038/s41467-023-37112-9</a>
<b>8GUT</b>	2.98 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41467-023-37112-9">https://doi.org/10.1038/s41467-023-37112-9</a>

Legenda: \* DOI não disponível no período da busca e seleção dos dados.

Além dos receptores CB1 e CB2, Araújo *et al.* (2023), Rezende *et al.* (2023) e Ye *et al.* (2019) também citam outros receptores potencialmente associados ao THC, incluindo GPR3, GPR6, GPR12, GPR19, TRPM8, TRPV1, TRPV3 e TRPV4. Essa literatura também faz registro dos receptores: GLRA1, GLRA2, GLRA3, GPR18, GPR55, TRPA1, TRPV2 e DRD3. Para essas palavras-chave foram encontrados os seguintes resultados: GPR3 - 9 resultados iniciais, dos quais 2 foram registrados; GPR12 - 1 resultado encontrado, mas esse não possuía ligante acoplado à sua estrutura, sendo descartado; TRPV1 - 73 resultados foram gerados, sendo 3 registrados; TRPV2 - 44 resultados, contudo todos foram descartados; TRPV3 - 45 resultados, desses 8 foram registrados; TRPV4 - 31 resultados foram encontrados, 4 foram mantidos no registro; TRPA1 - 21 resultados gerados, sendo 8 selecionados para registro; e TRPM8 - 33 resultados, com 2 registros ao final; GLRA1 - 49 resultados, sendo todos descartados; GLRA2 - 4 resultados, todos também descartados; GLRA3 - 15 resultados, dos quais 11 foram mantidos; DRD3 - 7 resultados, sendo 4 selecionados para seguir no estudo; GPR55, GPR18, GPR6 e GPR19 não apresentaram estruturas disponíveis no PDB. Após a aplicação dos critérios de seleção já descritos, os dados foram refinados e, para esse estudo, 42 resultados foram consolidados como potenciais receptores do THC (Tabela 2).

Tabela 2 - Receptores preditos associados ao THC selecionados para o estudo de *docking* molecular.

CÓDIGO PDB	RESOLUÇÃO	DOI
3PBL	2.89 Å	<a href="https://doi.org/10.1126/science.1197410">https://doi.org/10.1126/science.1197410</a>
7CMU	3.00 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.01.003">https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.01.003</a>
7CMV	2.70 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.01.003">https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.01.003</a>
8IRT	2.70 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41422-023-00808-0">https://doi.org/10.1038/s41422-023-00808-0</a>
9BWJ	2.21 Å	*
9BVH	2.58 Å	*
9BWC	2.19 Å	*
9BU2	2.87 Å	*
9BU3	2.80 Å	*
9BVJ	2.80 Å	*
9BWB	2.21 Å	*
9BWG	2.59 Å	*
9BZP	2.88 Å	*
5TIN	2.61 Å	*
5VDH	2,85 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.str.2017.04.007">https://doi.org/10.1016/j.str.2017.04.007</a>
8WW2	2.79 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41422-024-00932-5">https://doi.org/10.1038/s41422-024-00932-5</a>
7D77	2.90 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41586-020-03083-w">https://doi.org/10.1038/s41586-020-03083-w</a>
6PQO	2.88 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.11.023">https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.11.023</a>
6PQQ	2.81 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.11.023">https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.11.023</a>
6V9V	2,60 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41586-020-2480-9">https://doi.org/10.1038/s41586-020-2480-9</a>
6X2J	3.00 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.10.014">https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.10.014</a>
7OR0	2.64 Å	*
7OR1	2.64 Å	*
6HC8	1.90 Å	*
7C7C	3.00 Å	<a href="https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.1c00213">https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.1c00213</a>
8BDC	2.65 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s42003-023-05425-6">https://doi.org/10.1038/s42003-023-05425-6</a>
9BGH	1.65 Å	*
8GF8	2,90 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41467-023-38162-9">https://doi.org/10.1038/s41467-023-38162-9</a>
8GF9	2,58 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41467-023-38162-9">https://doi.org/10.1038/s41467-023-38162-9</a>
8GFA	2,29Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41467-023-38162-9">https://doi.org/10.1038/s41467-023-38162-9</a>
8GKA	2.55 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41586-023-06470-1">https://doi.org/10.1038/s41586-023-06470-1</a>
7XJ0	2.53 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41589-022-01166-5">https://doi.org/10.1038/s41589-022-01166-5</a>
7XJ1	2.93 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41589-022-01166-5">https://doi.org/10.1038/s41589-022-01166-5</a>
8V6K	2.46 Å	<a href="https://doi.org/10.1126/sciadv.adn2453">https://doi.org/10.1126/sciadv.adn2453</a>
8V6O	2.83 Å	<a href="https://doi.org/10.1126/sciadv.adn2453">https://doi.org/10.1126/sciadv.adn2453</a>
8V6N	2.59 Å	<a href="https://doi.org/10.1126/sciadv.adn2453">https://doi.org/10.1126/sciadv.adn2453</a>
6H9J	1.83 Å	*
6HA6	1.98 Å	*
8T1B	3.00 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41467-023-39346-z">https://doi.org/10.1038/s41467-023-39346-z</a>
8T1E	2.77 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41467-023-39346-z">https://doi.org/10.1038/s41467-023-39346-z</a>

<b>4DX1</b>	2.85 Å	<a href="https://doi.org/10.1021/bi300279b">https://doi.org/10.1021/bi300279b</a>
<b>4DX2</b>	2.95 Å	<a href="https://doi.org/10.1021/bi300279b">https://doi.org/10.1021/bi300279b</a>

Legenda: \* DOI não disponível no período da busca e seleção dos dados.

## 5.2 VALIDAÇÃO DE PROTOCOLO

A análise dos 60 resultados finais obtidos com base nos critérios de seleção para o registro, juntamente com os critérios para seleção dos códigos para *redocking*, como a presença de ligantes estruturalmente semelhantes ao THC e ausência de ligantes repetidos várias vezes, mesmo que diferente do THC, permitiu filtrar 10 arquivos de registro, aqui denominados de códigos (PDB ID), para *redocking*. Esses códigos estão apresentados na tabela 3, sendo: 1 código para o receptor TRPV4; 7 códigos para o CANNABINOID RECEPTOR 1 (CB1); 1 código para o CANNABINOID RECEPTOR 2 (CB2); e 1 código para o DRD3.

Tabela 3 - Códigos selecionados para o *redocking*.

CÓDIGO PDB	RECEPTOR	RESOLUÇÃO	DOI
<b>4DX2</b>	<b>TRPV4</b>	2.95 Å	<a href="https://doi.org/10.1021/bi300279b">https://doi.org/10.1021/bi300279b</a>
<b>5TGZ</b>	<b>CB1</b>	2.80 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.004">https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.004</a>
<b>5U09</b>		2.60 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/nature20613">https://doi.org/10.1038/nature20613</a>
<b>5XRA</b>		2.80 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/nature23272">https://doi.org/10.1038/nature23272</a>
<b>6KPG</b>		3.00 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.008">https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.008</a>
<b>7FEE</b>		2.70 Å	<a href="https://doi.org/10.1038/s41589-022-01038-y">https://doi.org/10.1038/s41589-022-01038-y</a>
<b>8K8J</b>		2.88 Å	<a href="https://doi.org/10.1002/advs.202306311">https://doi.org/10.1002/advs.202306311</a>
<b>9ERX</b>		2.90 Å	<a href="https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4277209/v1">https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4277209/v1</a>
<b>6KPF</b>	<b>CB2</b>	2.90 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.008">https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.008</a>
<b>7CMV</b>	<b>DRD3</b>	2.70 Å	<a href="https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.01.003">https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.01.003</a>

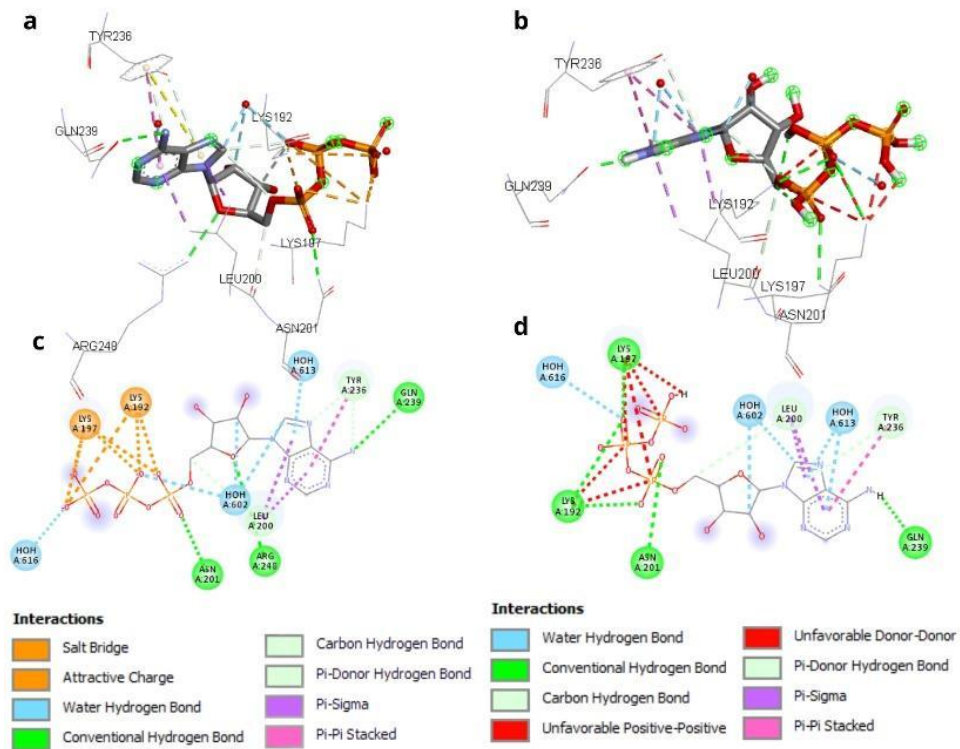
Como parte do procedimento para o estudo do *docking* molecular com o ligante de interesse, o THC, foi necessário obter a validação do método. Para tanto se determinou o valor do RMSD do ligante original de cada receptor selecionado. O RMSD é uma medida utilizada para avaliar a diferença entre a posição dos átomos em uma estrutura molecular em relação a uma referência; um RMSD menor que 2 indica que a pose do ligante é semelhante à pose de referência, validando assim a eficácia do método de *docking* (Russo, 2020).

A pose obtida com RMSD inferior a 2 Å foi usada para se comparar à pose obtida na simulação de ancoragem com o THC. A exaustividade igual a 100 foi utilizada para a maioria

dos procedimentos, considerando que esse é um parâmetro que se refere ao esforço computacional para a busca de combinações possíveis, mas não significa necessariamente o número de poses resultantes (Agarwal; Smith, 2023). Normalmente, a exaustividade não é alterada, mas durante a validação, pode ser ajustada para tentar alcançar a pose original e obter um encaixe mais consistente. Nesse contexto, os resultados obtidos para os potenciais receptores são apresentados por meio de figuras que agrupam as informações das ancoragens realizadas em análise comparativa. Desse modo, têm-se:

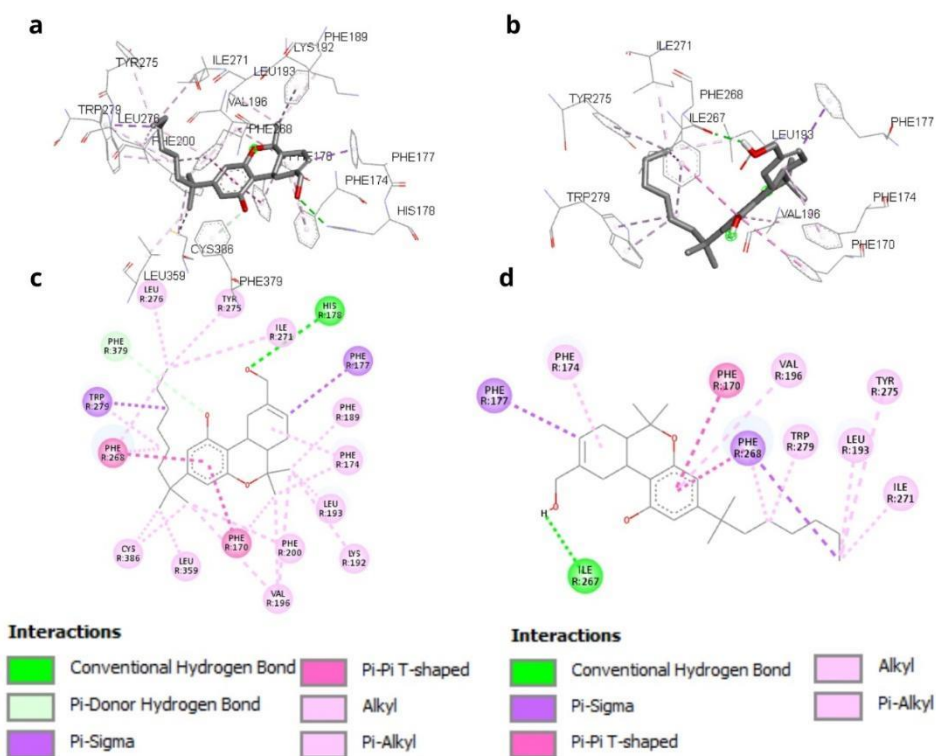
TRPV4 (PDB ID: 4DX2) - com resolução de 2.95Å, dimensões da grade de ancoragem de 36Å x 30Å x 26Å (X, Y, Z) e as coordenadas do centro -56.387355 x 52.408484 x 21.936645 foi gerado o resultado apresentado na figura 1. O método de ancoragem foi validado com o *redocking*, pois apresentou a pose que melhor se encaixava com o ligante original, ancorando-se no sítio ativo da proteína (sítio de ligação) e encontrando regiões de interação semelhantes. Além disso, essa ancoragem apresentou afinidade de ligação - 6.2 kcal/mol e um RMSD inferior a 2 Å.

Figura 1 - Pré-docking e redocking do receptor TRPV4 e seu ligante original (ATP). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se o ATP e suas interações com o receptor TRPV4. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking.



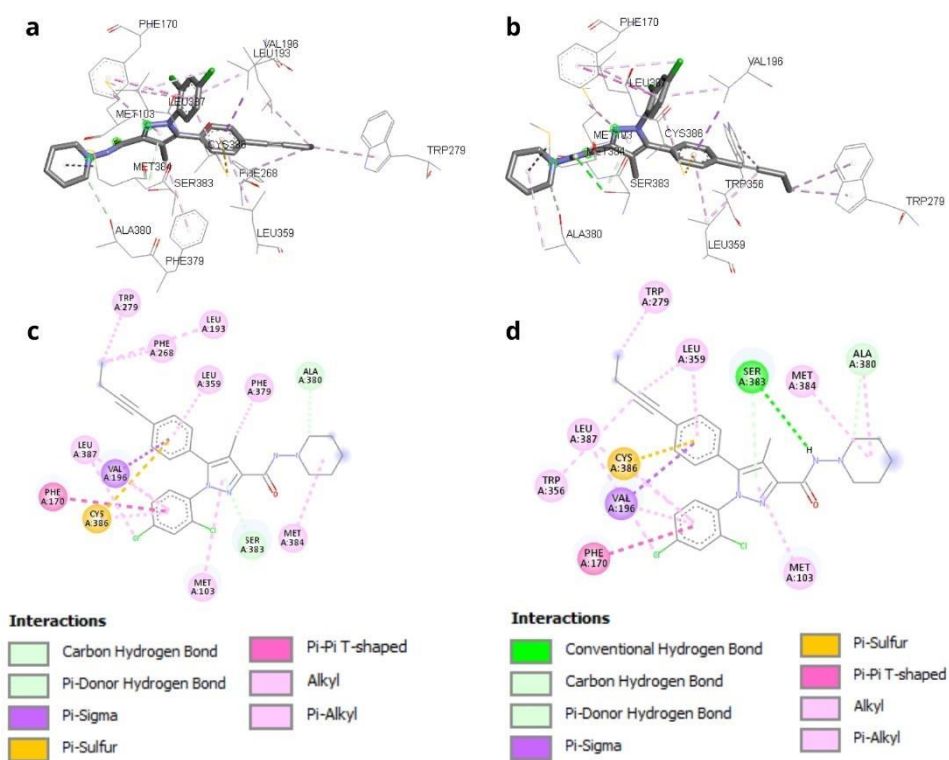
CB1 (PDB ID: 9ERX) - com resolução de 2.90 Å, dimensões da grade de ancoragem 40 Å x 40 Å x 40 Å (X, Y, Z) e coordenadas do centro 132.162107 x 132.711714 x 161.952750. A pose que melhor ancorou na pose original obteve uma afinidade de ligação - 12.7 kcal/mol e um RMSD inferior a 2 Å, encontrando também regiões de interação semelhantes.

Figura 2 - Pré-docking e redocking do receptor CB1 e seu ligante original (A1H66). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do A1H66 com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking e as ligações estabelecidas.



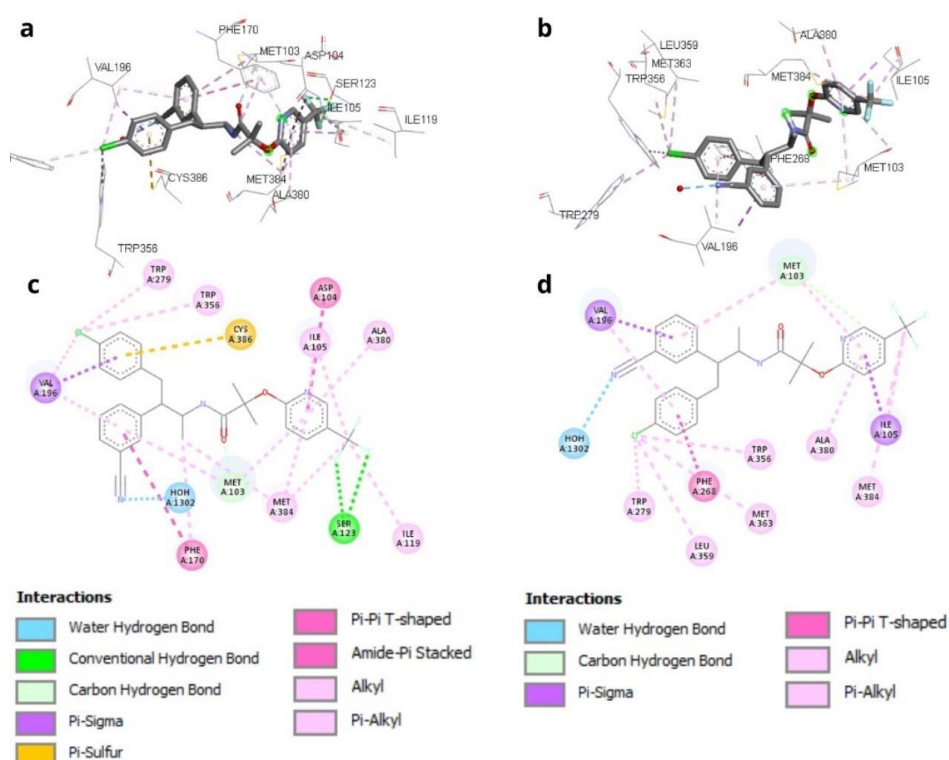
**CB1 (PDB ID: 5TGZ)** - com resolução de 2.80 Å, dimensões da grade de ancoragem 40 Å x 40 Å x 40 Å (X, Y, Z) e as coordenadas do centro 43.637848 x 27.469758 x 318.530667. A pose que melhor ancorou na pose original obteve uma afinidade de ligação – 12.3 kcal/mol e um RMSD inferior a 2 Å, encontrando regiões de interação semelhantes.

Figura 3 - Pré-*docking* e *redocking* do receptor CB1 e seu ligante original (ZDG). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do ZDG com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do *redocking* e as ligações estabelecidas.



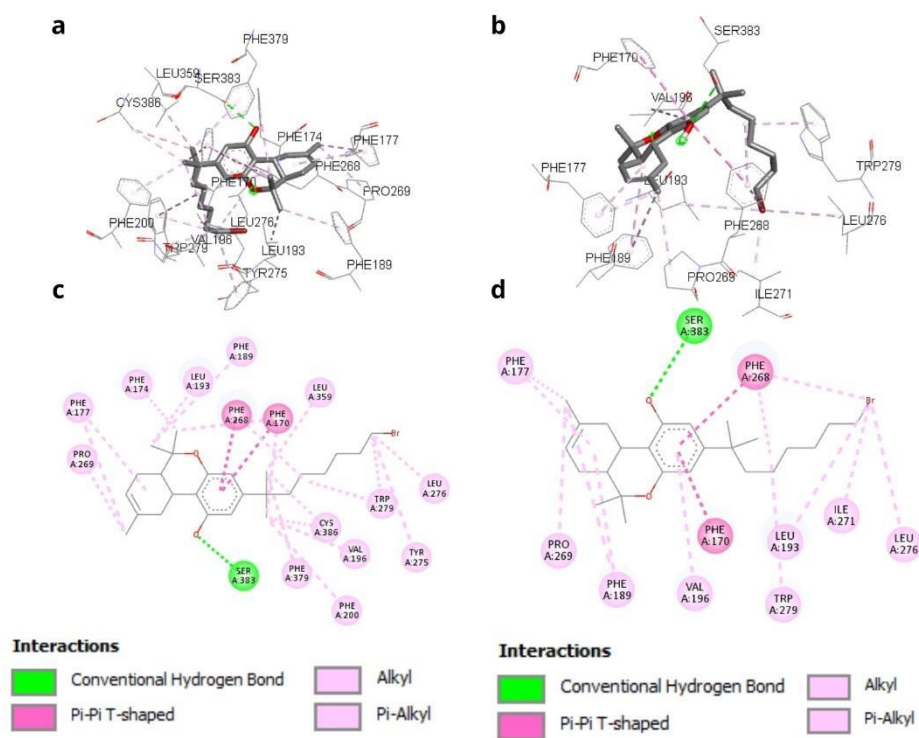
CB1 (PDB ID: 5U09) - com resolução de 2.60 Å, dimensões da grade de ancoragem 40 Å x 40 Å x 40 Å (X, Y, Z) e coordenadas do centro 21.502139 x 3.587222 x -9.804250. A afinidade de ligação -11.6 kcal/mol e um RMSD inferior a 2 Å acompanharam a pose que melhor ancorou na pose original, apresentando também regiões de interação similares.

Figura 4 - Pré-docking e redocking do receptor CB1 e seu ligante original (7DY). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do 7DY com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking e as ligações estabelecidas.



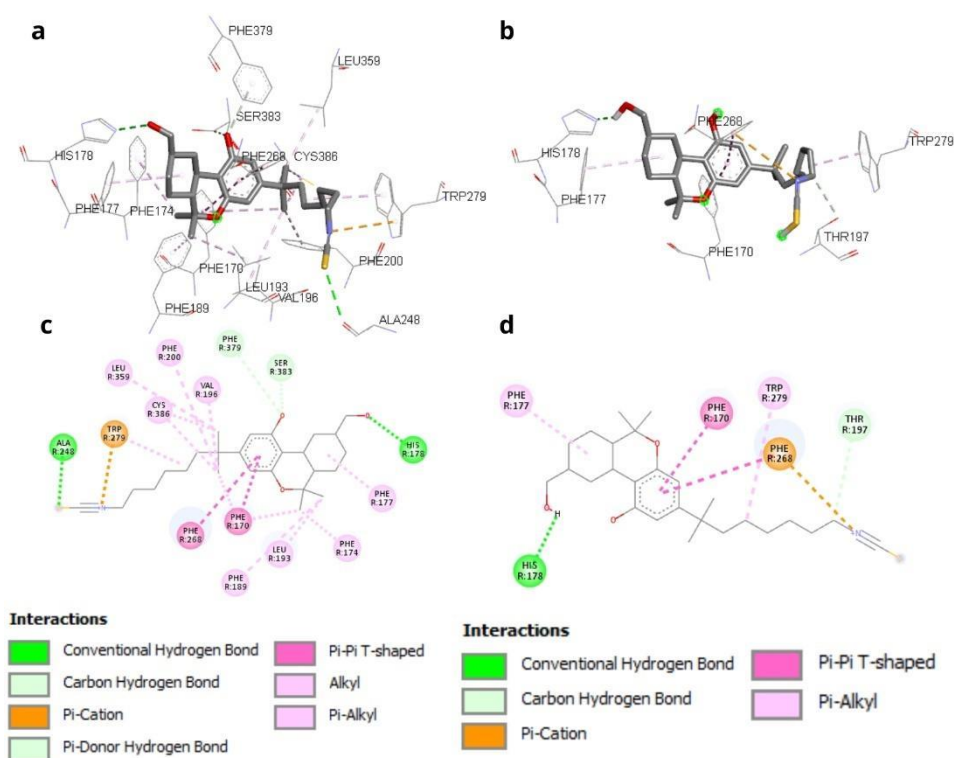
CB1 (PDB ID: 5XRA) - com resolução de 2.80 Å, dimensões da grade de ancoragem 40 Å x 40 Å x 40 Å (X, Y, Z) e coordenadas do centro -42.051750 x -164.338000 x 306.631036. O melhor alinhamento de ancoragem com regiões de interação semelhantes apresentou uma afinidade de ligação -12.4 kcal/mol e um RMSD inferior a 2 Å.

Figura 5 - Pré-docking e redocking do receptor CB1 e seu ligante original (8D3). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do 8D3 com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking e as ligações estabelecidas.



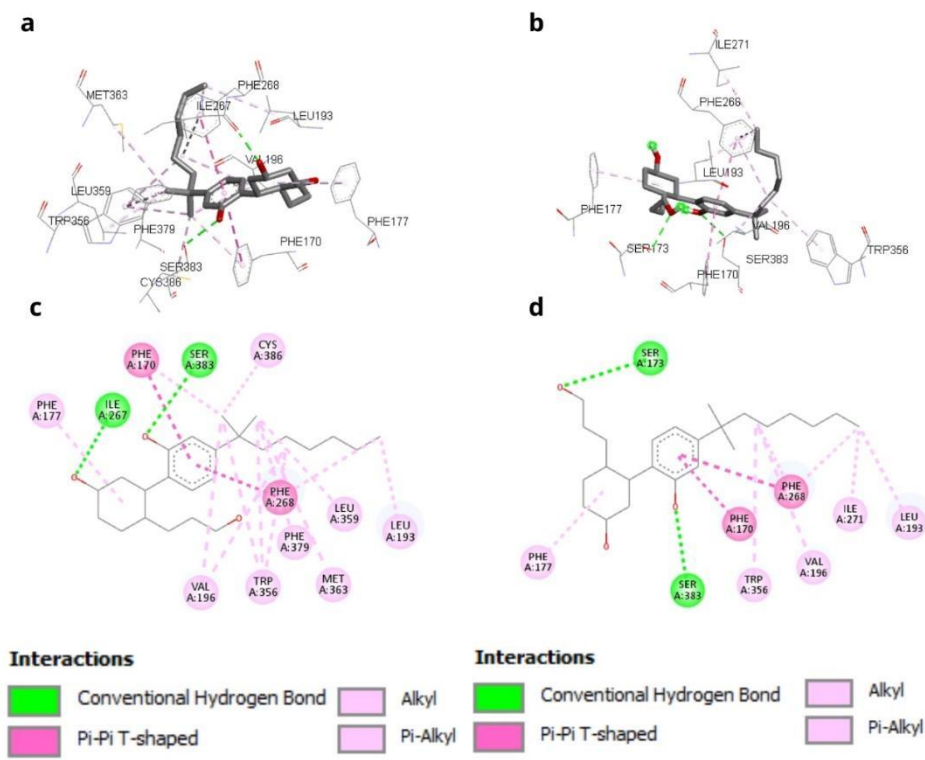
CB1 (PDB ID: 6KPG) - com resolução de 3.00 Å, as dimensões da grade de ancoragem 40 Å x 40 Å x 40 Å (X, Y, Z) e coordenadas do centro 104.336161 x 145.072645 x 134.006032. Para essa ancoragem foi usada uma exaustividade de 24. A pose que melhor ancorou na pose original obteve uma afinidade de ligação -10.1 kcal/mol e um RMSD inferior a 2 Å, encontrando regiões de interação pouco semelhantes, pois poucas interações se repetiram.

Figura 6 - Pré-docking e redocking do receptor CB1 e seu ligante original (8D0). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do 8D0 com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do redocking e as ligações estabelecidas.



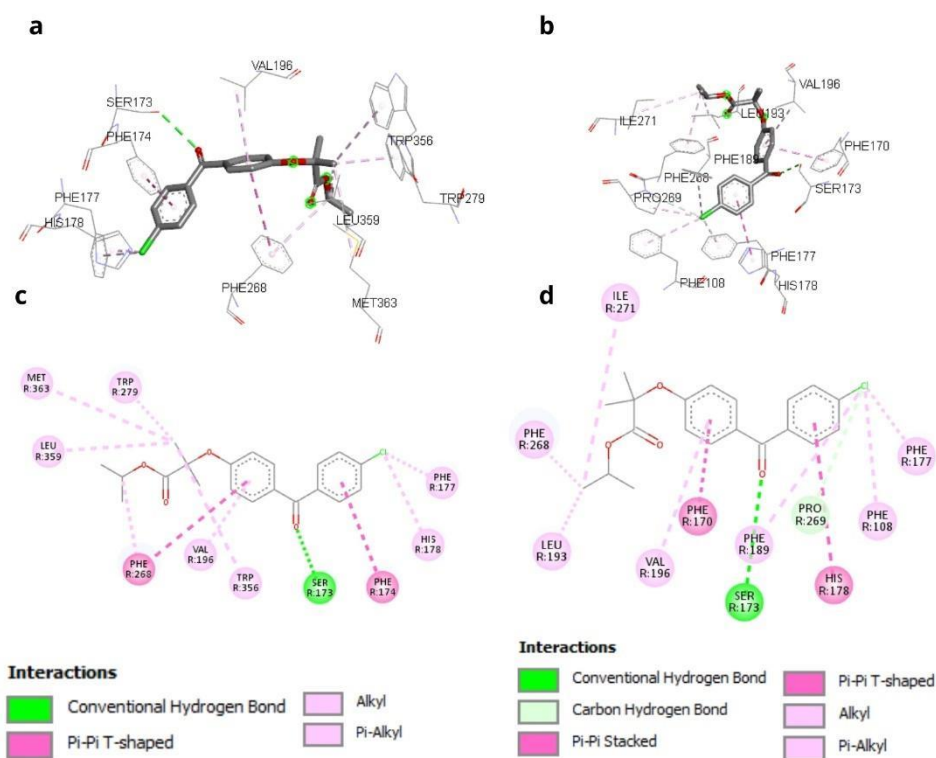
CB1 (PDB ID: 7FEE) - com resolução de 2.70 Å, dimensões da grade de ancoragem foram 40 Å x 40 Å x 40 Å (X, Y, Z) e coordenadas do centro -3.745074 x 17.629074 x -10.530000. Muitas regiões de interação semelhantes foram identificadas para a pose que melhor ancorou na pose original com uma afinidade de ligação -10.7 kcal/mol e um RMSD inferior a 2 Å.

Figura 7 - Pré-*docking* e *redocking* do receptor CB1 e seu ligante original (9GF). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do 9GF com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do *redocking* e as ligações estabelecidas.



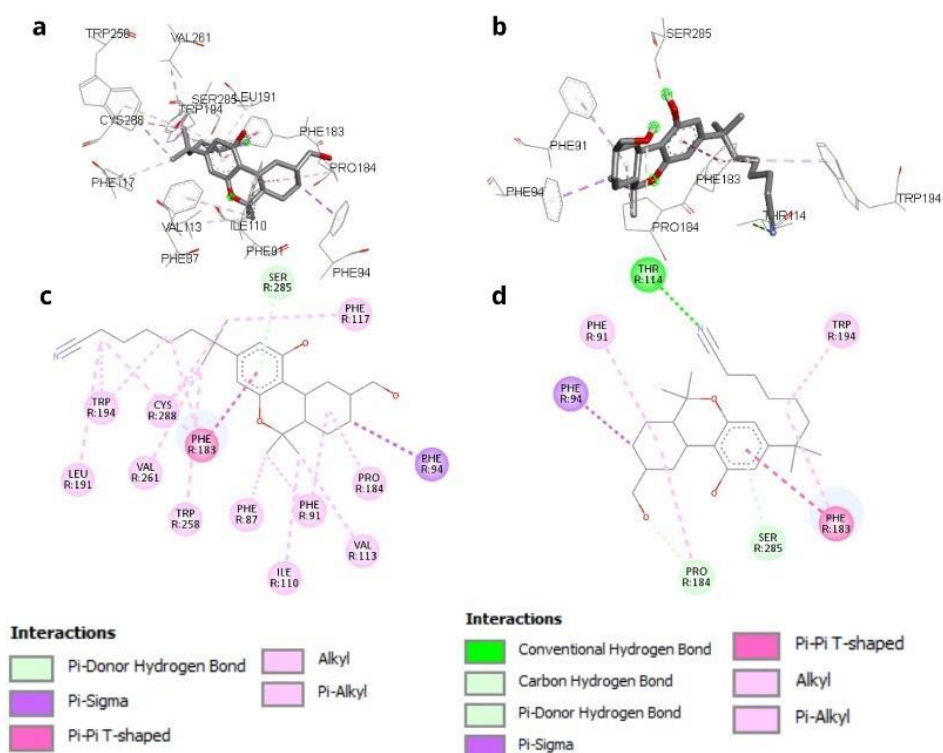
CB1 (PDB ID: 8K8J) - com resolução de 2.88 Å, dimensões da grade de ancoragem 28 Å x 32 Å x 36 Å (X, Y, Z) e coordenadas do centro 136.982520 x 134.288600 x 168.265520. A pose que melhor ancorou na pose original obteve uma afinidade de ligação -11.5 kcal/mol e um RMSD inferior a 2 Å, mas as regiões de interação semelhantes foram limitadas.

Figura 8 - Pré-*docking* e *redocking* do receptor CB1 e seu ligante original (J30). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do J30 com o receptor CB1. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do *redocking* e as ligações estabelecidas.



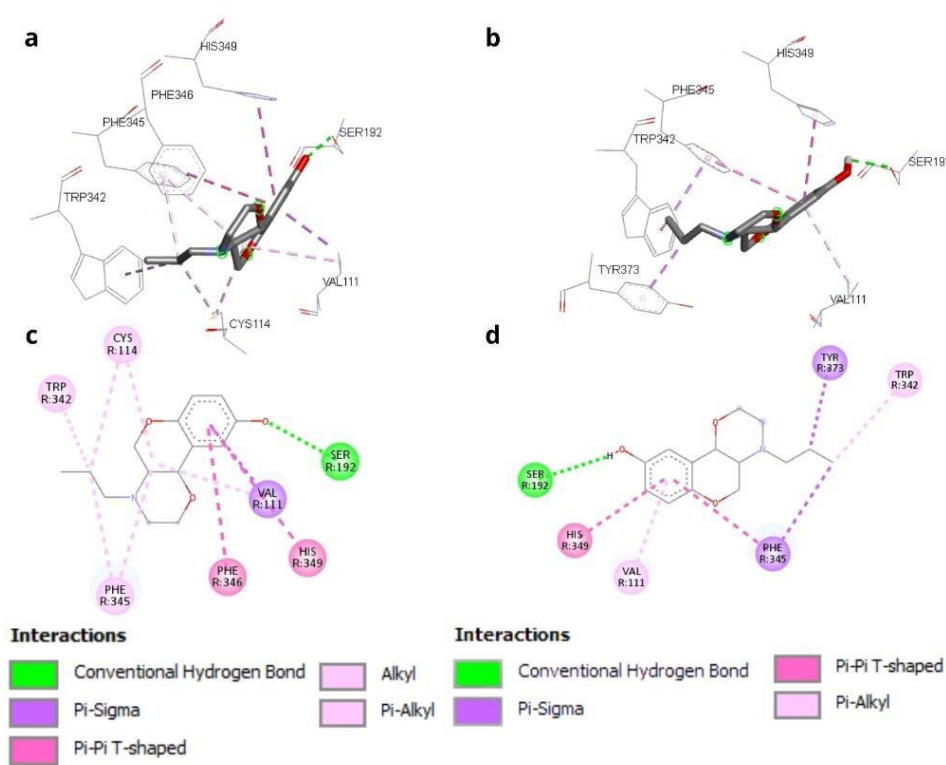
**CB2 (PDB ID: 6KPF)** - com resolução de 2.90 Å, dimensões da grade de ancoragem 40 Å x 40 Å x 40 Å (X, Y, Z) e coordenadas do centro 109.825655 x 109.602897 x 126.326552. A exaustividade de 24 foi utilizada para identificar a pose que melhor ancorou na pose original. A afinidade de ligação de - 11.6 kcal/mol e o RMSD inferior a 2 Å foi identificado para essa pose, a qual apresentou metade das regiões de interação repetidas (Figura 9).

Figura 9 - Pré-*docking* e *redocking* do receptor CB2 e seu ligante original (E3R). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do E3R com o receptor CB2. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do *redocking* e as ligações estabelecidas.



DRD3 (PDB ID: 7CMV) - com resolução de 2.70 Å, dimensões da grade de ancoragem 26 Å x 24 Å x 30 Å (X, Y, Z) e coordenadas do centro 95.176556 x 121.988278 x 116.773778. A pose que melhor ancorou na pose original obteve uma afinidade de ligação - 7.4 kcal/mol e um RMSD inferior a 2 Å, encontrando regiões de interação semelhantes.

Figura 10 - Pré-*docking* e *redocking* do receptor DRD3 e seu ligante original (G60). O ligante está representado por linhas grossas, enquanto o receptor está representado por linhas finas e as interações entre eles são indicadas por linhas pontilhadas. Nas letras (a) e (c) observa-se interações do G60 com o receptor DRD3. Nas letras (b) e (d) é apresentado o resultado do *redocking* e as ligações estabelecidas.



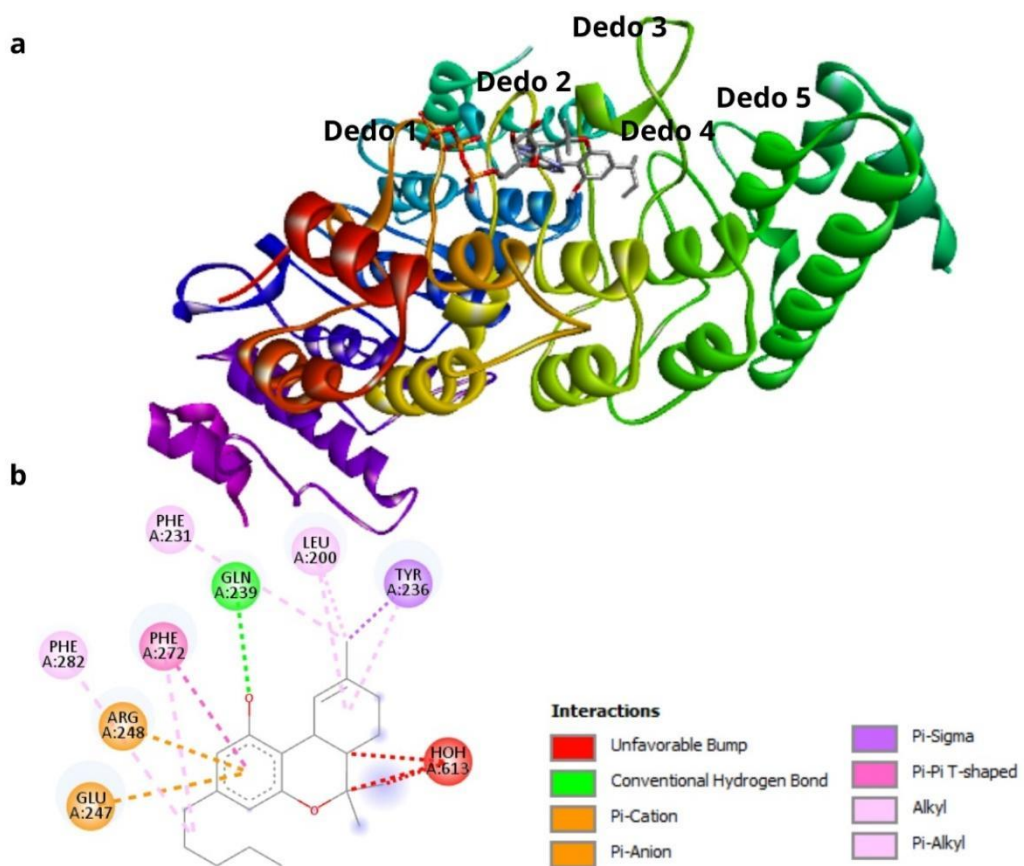
### 5.3 ESTUDO DE *DOCKING* MOLECULAR PARA POTENCIAIS RECEPTORES DO THC E EFEITOS BIOLÓGICOS ASSOCIADOS

As interações geradas com o *docking* molecular para os potenciais receptores selecionados e o THC foram avaliadas a partir da afinidade de ligação demonstrada e a aspectos tridimensionais das moléculas no modelo. Quanto menor o valor da energia de ligação, maior a afinidade do ligante pelo receptor e, conseqüentemente, mais estável o complexo ligante-

receptor. As análises permitiram selecionar poses que são apresentadas em figuras com os seus respectivos destaques (Figura 1 – 10). Desses estudos também foi possível compreender, a partir dos modelos de simulação, os prováveis efeitos biológicos associados às interações propostas.

A ancoragem do receptor TRPV4 (*potencial transitório vanilóide 4*) com o ligante THC demonstrou uma afinidade de ligação com o receptor de -8.4 kcal/mol, valor superior ao obtido no *redocking*. O ligante foi ancorado no sítio de ligação da proteína, próximo à pose original, chegando a se sobrepor na região do dedo 2 do TRPV4 (Figura 11).

Figura 11 - *Docking* molecular do THC e o receptor TRPV4. A ligação do THC (em cinza) e do ligante original (ATP em laranja) no sítio do receptor TRPV4 são apresentadas em (a). Em (b) está o destaque para as ligações que o THC estabelece no sítio ativo da proteína TRPV4 (PDB ID: 4DX2).



O TRPV4 é um canal catiônico, permeável ao cálcio, fundamental para funções como formação de barreira celular, osmossensação, mecanossensação e homeostase óssea (Zhang *et al.*, 2024). Doenças hereditárias humanas, como neuropatias e displasias esqueléticas estão associadas à mutações no gene do TRPV4, especialmente na região que codifica o domínio de repetição de anquirina (ARD), que leva à atividade aumentada do canal (Lugo *et al.*, 2023). A calmodulina e pequenas moléculas como ATP se ligam ao ARD para a regulação da atividade do TRPV4. Além disso, a região flexível do loop do dedo 3 pode agir como um interruptor para regular a atividade do canal (Zhang *et al.*, 2024).

O acoplamento do THC no sítio do TRPV4 pode não exercer o mesmo papel estabilizador de resposta observado para o ATP no domínio de repetição ARD. Isso devido que, embora o THC seja capaz de ancorar na região próxima ao sítio de acoplamento do ATP, ele não seria eficaz em mimetizar os efeitos regulatórios ou estabilizadores proporcionados pela ligação do ATP. De acordo com Inada *et al.* (2012), o sítio de ligação do ATP no TRPV4 está localizado nos dedos de 1 a 5 da proteína, como pode ser observado na figura 11a e na figura 1a e c, realizando interações importantes, como a base adenina se encaixando em um domínio conservado, amontoando-se contra TRY236 e formando ligações de hidrogênio com GLN239. Adicionalmente, LYS192 e LYS197, localizadas na superfície da hélice interna 2, interagem com os grupos fosfato do ATP, sugerindo que o ATP pode estar associado à estabilidade da proteína.

Nesse estudo, o *docking* do THC com o TRPV4 demonstrou que, embora ele esteja ancorado próximo ao sítio de ligação do ATP, apenas duas ligações significativas, TYR236 e GLN239, estão envolvidas na interação do THC com o TRPV4, conforme destacado na figura 11b. Assim, o THC pode ter um impacto limitado ou distinto sobre a atividade funcional do canal, o que merece investigações adicionais para compreender possíveis implicações fisiológicas ou terapêuticas dessa interação.

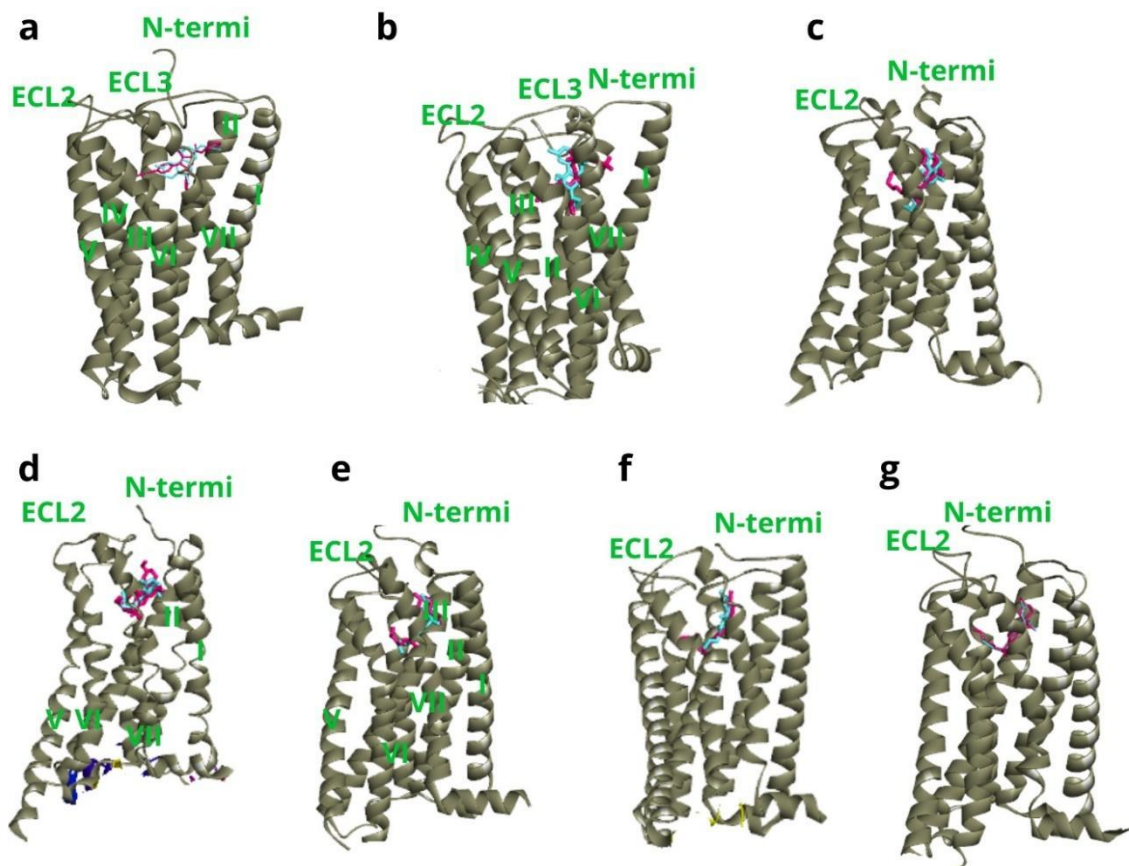
O receptor CB1 (*canabinoide tipo 1*) é um componente primordial do sistema endocanabinoide, predominantemente encontrado em células do sistema nervoso central e periférico (Godoy *et al.*, 2006). Ele desempenha um papel regulador em vários processos biológicos, como apetite, humor, função motora, aprendizado, memória e percepção da dor (Katherine; Vanderah, 2024). A ativação do CB1 ocorre pela ligação com endocanabinoides ou com compostos presentes na *Cannabis*, como o THC (Araújo; Almeida; Araújo, 2023).

Todos os 7 ligantes originais testados para os receptores CB1 selecionados nesse estudo apresentaram conformações semelhantes e se ligaram no mesmo sítio ativo do receptor. Os

ligantes originais denominados 8D3, 8D0, 9GF e A1H66, possuem estruturas moleculares análogas ao THC e atuam como agonistas completos do CB1; enquanto o ligante ZDG é um antagonista. Há ainda o 7DY que é um agonista inverso do CB1 e o J30 que é um agonista parcial do receptor em estudo (Thorsen *et al.*, 2025).

Os acoplamentos do THC nos códigos dos receptores CB1 selecionados são apresentados na figura abaixo em avaliação comparativa com o ligante original do receptor (Figura 12).

Figura 12 - Receptores CB1 selecionados com o THC e o ligante original acoplados. Códigos do receptor CB1 selecionados (em cinza) acoplado ao seu ligante original (em rosa) e ao THC (em azul) (a-g); (a) código (PDB ID: 5TGZ) ligado ao ZDG e THC; (b) código (PDB ID: 5U09) ligado ao 7DY e THC; (c) código (PDB ID: 5XRA) ligado ao 8D3 e THC; (d) código (PDB ID: 6KPG) ligado ao 8D0 e THC; (e) código (PDB ID: 7FEE) ligado ao 9GF e THC; (f) código (PDB ID: 8K8J) ligado ao J30 e THC; (g) código (PDB ID: 9ERX) ligado ao A1H66 e THC.



Particular destaque pode ser feito, a partir dos aspectos tridimensionais das moléculas nos modelos, para a conformação do THC em relação ao 9GF (Figura 12e), onde os anéis residem entre a alça N-terminal e alça extracelular 2 (ECL2), formando interações  $\pi$ - $\pi$  com PHE268, enquanto suas cadeias de carbono se estendem para o canal longo, interagindo com resíduos das hélices III, VI e VII (Hua *et al.*, 2016). Isso evidencia a importância do CB1 tanto em funções fisiológicas normais quanto em respostas moduladas por substâncias externas, como o THC. A compreensão dessas interações pode contribuir para o desenvolvimento de terapias mais direcionadas, como medicamentos que modulam o CB1 de forma mais seletiva, minimizando efeitos adversos e maximizando os efeitos terapêuticos.

A dinâmica de ligação e as alterações conformacionais que modulam a atividade funcional do CB1 podem ser avaliadas nos modelos de ancoragem a partir da interação da proteína com ligantes agonistas e antagonistas. A figura apresentada abaixo visa destacar as interações estabelecidas entre o CB1 e o seu ligante original, agonista ou antagonista, em sobreposição ao acoplamento do THC nessa estrutura (Figura 13).

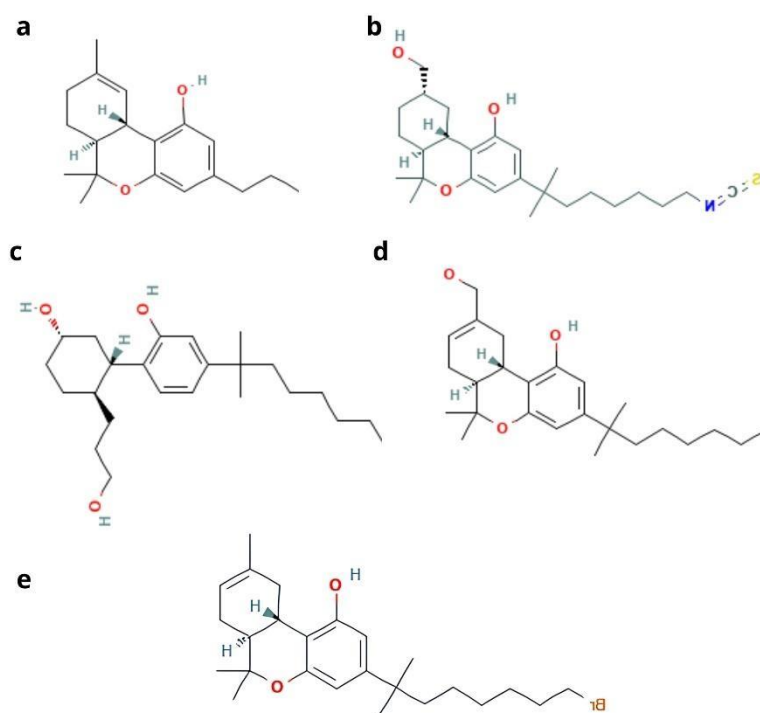
O THC é um agonista parcial do receptor CB1, capaz de ativá-lo, mas com menor eficácia em comparação a agonistas completos, como o 8D3. A ligação do THC ocorre principalmente por interações hidrofóbicas, refletindo sua natureza lipofílica, mas com poucas interações específicas no sítio ativo, o que resulta em menor afinidade e capacidade reduzida de estabilizar o estado ativo do receptor (Shahbazi *et al.*, 2024). Em contrapartida, o ligante 8D3 parece projetado para ativar o CB1 com alta afinidade e eficácia (Figura 12c). Ele interage com o sítio ativo através de interações  $\pi$ - $\pi$  com PHE268 e PHE379, além de uma ligação de hidrogênio com SER383, e interações hidrofóbicas adicionais em regiões extracelulares (Figura 13d). Essas interações promovem alterações conformacionais que reduzem o volume do sítio de ligação e ativam a região de acoplamento à proteína G, tornando-o altamente eficaz (Hua *et al.*, 2017).

Os análogos do THC, como 8D0, 9GF e A1H66, (Figura 12d-e;g), apresentam modificações estruturais que aumentam sua eficácia e eficiência em relação ao THC (Figura 13a-c). Entre as principais diferenças observadas está o comprimento da cadeia lateral na posição C3, onde cadeias com sete carbonos maximizam as interações hidrofóbicas com resíduos críticos do CB1 (Figura 14). Ademais, substituintes na posição C9, como grupos hidroxila ou hidroximetila, permitem formação de ligações de hidrogênio adicionais, aumentando a estabilidade das interações (Figura 14b). Em contraste, o THC, com cadeia lateral mais curta e grupo metil no C9, forma interações menos estáveis (Gloriam *et al.*, 2024).



sítio ativo com maior volume, estabilizando uma conformação que impede o colapso necessário à ativação. Suas interações incluem amplas regiões hidrofóbicas, interações  $\pi$ - $\pi$  e algumas ligações de hidrogênio, que reforçam a inatividade do receptor (Hua *et al.*, 2016).

Figura 14 - Estruturas moleculares do THC e ligantes endocanabinoides originais análogos. Estrutura molecular do THC (a); do 8D0 (b); do 9GF(c); do A1H66 (d); e do 8D3 (e).



O núcleo tricíclico do THC está preservado nas estruturas dos análogos de alta eficácia (Figura 14). Interações hidrofóbicas compensatórias estabilizam a flexibilidade adicional do 9GF sem comprometer sua função (Figuras 12e; 14c), enquanto o 8D3 combina alta afinidade com modificações que maximizam suas interações estruturais (Figuras 12c; 14e) e o A1H66 (Figuras 12g; 14d) se destaca por ser centenas de vezes mais potente que o THC (Thorsen *et al.*, 2024).

Uma outra categoria de ligantes do CB1 é o agonista inverso. Nela o 7DY (*taranabant*) foi identificado como um agonista inverso seletivo de alta afinidade de ligação. Esse ligante interage com o sítio ortostérico do receptor, um local predominantemente hidrofóbico, localizado entre as hélices transmembranares TM1 e TM7 (Figura 12b). Essa interação

preenche o canal de acesso, atuando como um *plug* que impede a entrada de ligantes endocanabinoides (Kumari *et al.*, 2024). A ligação do 7DY estabiliza o receptor CB1 em uma conformação inativa, reforçada pela formação de um bloqueio iônico entre aminoácidos específicos. Resíduos conservados, como PHE170, TRP356 e CYS3386, desempenham um papel importante na ligação, contribuindo para a estabilização estrutural e influenciando o equilíbrio conformacional do receptor (Shao *et al.*, 2016). O THC se liga ao mesmo sítio ocupado pelo 7DY (Figura 12b), no entanto, sua interação promove alterações conformacionais distintas. Essa observação sugere que o THC pode não atuar como o *taranabant*.

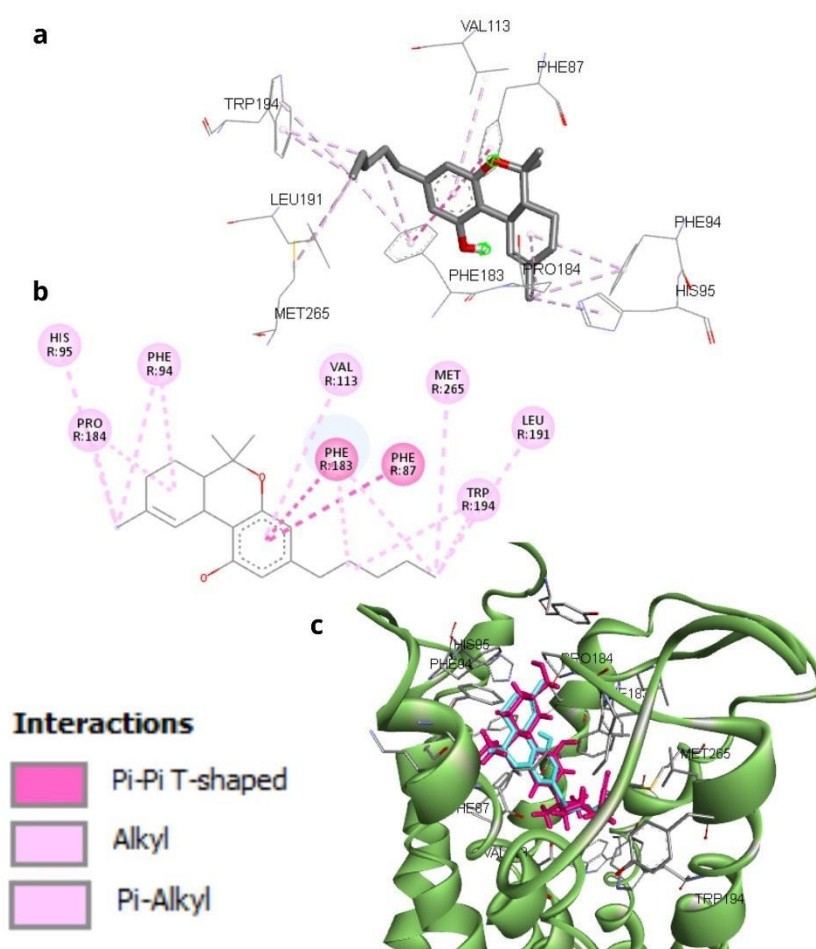
O J30 (*fenofibrato*) é um ligante agonista parcial do receptor CB1, exibindo uma conformação em "L" que permite sua ligação ao sítio ortostérico do receptor (Priestley *et al.*, 2015). A interação ocorre predominantemente por meio de forças hidrofóbicas e aromáticas com resíduos específicos localizados nas hélices transmembranares TM2, TM3, TM5, TM6 e na alça extracelular 2 (Figura 12f). Além disso, foi observada uma ligação de hidrogênio entre o resíduo SER173 e o grupo carbonila do *fenofibrato*, contribuindo para a estabilização do composto na estrutura do receptor. Essas informações são corroboradas por simulações de dinâmica molecular, que indicam que o J30 mantém uma conformação relativamente estável, com certa flexibilidade no modo de ligação (Wang *et al.*, 2024).

O receptor CB2 (*canabinoide tipo 2*), diferente do CB1, é encontrado especialmente em células do sistema imunológico e órgãos periféricos, sendo regulado positivamente sob condições fisiopatológicas (Lian *et al.*, 2023). Sua ativação está geralmente associada a respostas anti-inflamatórias, modulando a inflamação e regulando a resposta imunológica em lesões teciduais de órgãos como fígado, coração, rim, cólon e cérebro, conforme demonstrado em modelos pré-clínicos (Hussain; Greaves; Iqbal, 2019). O ligante E3R é um agonista altamente seletivo para o CB2, caracterizado por adotar uma conformação em "L" dentro do sítio de ligação ortostérico do receptor. Esta conformação é fundamental para otimizar as interações específicas com os resíduos do receptor (Hua *et al.*, 2020).

A ligação do E3R é mediada por interações hidrofóbicas e aromáticas, que envolvem principalmente os resíduos da ECL2 e das regiões transmembranares - TM3, TM5, TM6 e TM7 (Figura 15). Entre os principais resíduos envolvidos, destacam-se as PHE183, PHE 281 e PHE 94, que formam interações  $\pi$ - $\pi$  com o núcleo tricíclico do E3R (Figura 15c). Além disso, o grupo hidroxila fenólica no C1 do E3R forma uma ligação de hidrogênio com a SER285. A

cadeia alquila do E3R estende-se por um canal longo, interagindo hidrofobicamente com resíduos das regiões transmembranares (Li *et al.*, 2023).

Figura 15 - Interações do CB2 com o ligante original (E3R) e o THC. Interações do THC com o CB2 (a-b). Sobreposição do E3R (em rosa) e do THC (em azul) na interação com o CB2 (em verde) (c).



A ligação do E3R ao CB2 induz mudanças conformacionais significativas no receptor, incluindo o deslocamento para fora da hélice TM6, o que permite o acoplamento com a subunidade  $\alpha 5$  da proteína G (Figura 15c). Além disso, a extensão e o movimento da TM5 reforçam as interações com a proteína G, características de sua transição para o estado ativo, facilitando, assim, a sinalização (Hua *et al.*, 2020).

O THC apresenta uma afinidade menor pelo CB2 (Figura 15), sua interação com o receptor sobrepõe-se à do E3R, também adotando uma conformação em "L" (Figura 15c). O THC interage principalmente com regiões hidrofóbicas da proteína, como PHE87, PHE94 e PHE 183, VAL113, LEU191 e MET265 (Figura 15a-b). As interações observadas incluem  $\pi$ - $\pi$  em forma de T, alquil e  $\pi$ -alquil, sugerindo que, apesar da afinidade reduzida, o THC compartilha um padrão estrutural similar ao do E3R no receptor CB2 (Figura 15c).

É importante notar que as estruturas revelaram que os receptores CB1 e CB2 possuem um domínio de ligação ortostérico lipofílico altamente semelhante, o que torna difícil explicar a existência de uma ativação seletiva para o CB2. No entanto, o estudo pré-clínico apresentado por Brennecke e colaboradores (2021) indicou que agonistas seletivos do CB2 têm o potencial de preservar e até mesmo superar as propriedades terapêuticas do THC, sem causar os efeitos colaterais psicotrópicos (Brennecke *et al.*, 2021).

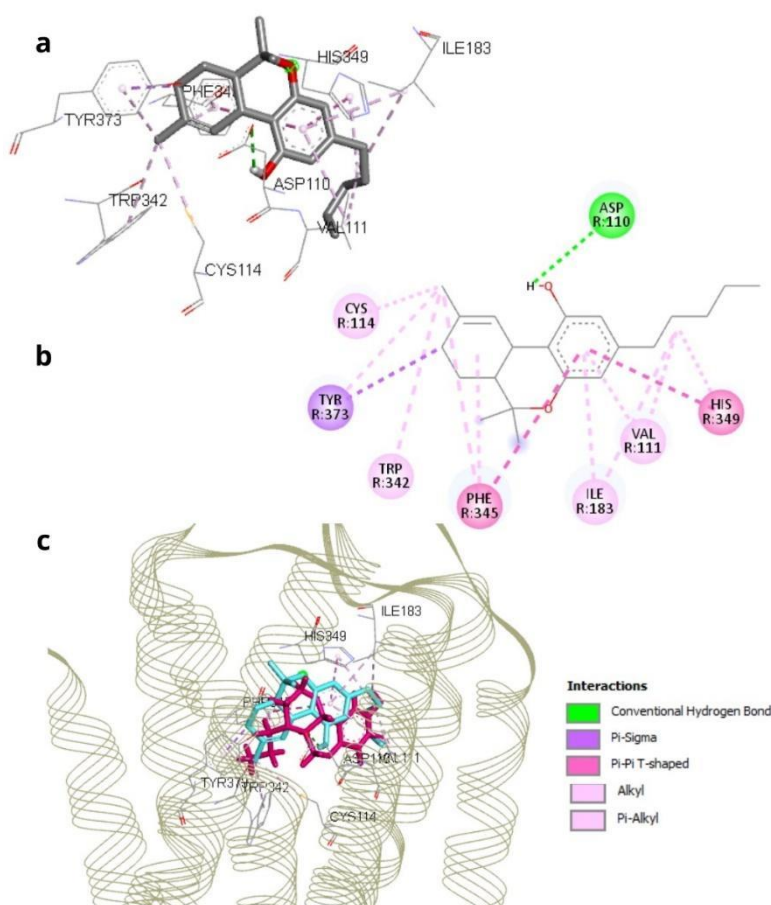
O DRD3 (*receptor de dopamina D3*), um dos cinco tipos de receptores de dopamina, desempenha papel fundamental em diversas funções do sistema nervoso central, incluindo o controle do movimento, comportamento social, aprendizado, cognição, recompensa e regulação emocional (Gross; Drescher, 2012). Pela grande atuação, esses receptores emergiram como alvos promissores para o desenvolvimento de fármacos, motivando esforços significativos na obtenção de ligantes de alta afinidade, como agonistas seletivos, agonistas parciais e antagonistas, visando elucidar suas funções e explorar seu potencial terapêutico (Kiss *et al.*, 2021).

O ligante original G60 é um agonista seletivo do DRD3. Ele apresenta uma interação altamente específica com o sítio de ligação ortostérico do receptor (Figura 16c). O acoplamento descrito ocupa aproximadamente 34% do volume do sítio de ligação e estabelece interações hidrofóbicas e polares com os resíduos do DRD3. Entre essas interações, destaca-se a formação de uma ligação de hidrogênio entre o grupo hidroxila (O3) do G60 e o resíduo SER192 na hélice transmembrana TM5, contribuindo para a estabilidade do complexo e para a alta seletividade do composto pelo D3R (Figura 16c). A ligação do G60 também induz alterações conformacionais importantes no receptor, incluindo o movimento do resíduo TRP342 na hélice TM6, o qual atua como um "interruptor de alternância" (Xu *et al.*, 2021). Essas mudanças estruturais propagam uma cascata de eventos que culminam na ativação do receptor e em seu acoplamento às proteínas G. Modificações no tamanho e no formato do sítio de ligação,

associadas às características químicas do ligante, foram observadas, mostrando similaridades com os mecanismos de ativação induzidos por agonistas em receptores CB1 (Zhou *et al.*, 2019).

A interação do THC com o receptor DRD3 é estabelecida por meio de ligações em regiões hidrofóbicas envolvendo os resíduos ISO183, CYS114, VAL111 e PHE345 (Figura 16a-b). Adicionalmente, uma ligação de hidrogênio com o resíduo ASP10 é formada por meio da hidroxila presente no grupo C1 da TM3 (Figura 16c). Embora alguns estudos apontem para uma relação entre o THC e o DRD3 (Gardner, 1999; Peters; Oleson; Cheer, 2021), o mecanismo de ação dessa interação ainda não está completamente elucidado. As bases estruturais e funcionais dessa interação carecem de mais estudos, os quais poderão contribuir para uma melhor compreensão do impacto do THC no sistema dopaminérgico.

Figura 16 - Interações do DRD3 com o THC e o ligante original (G60). Destaque da interação do THC com o DRD3 (a-b); Sobreposição do G60 (em rosa) e do THC (em azul) no sítio de ativação do DRD3 (cinza).

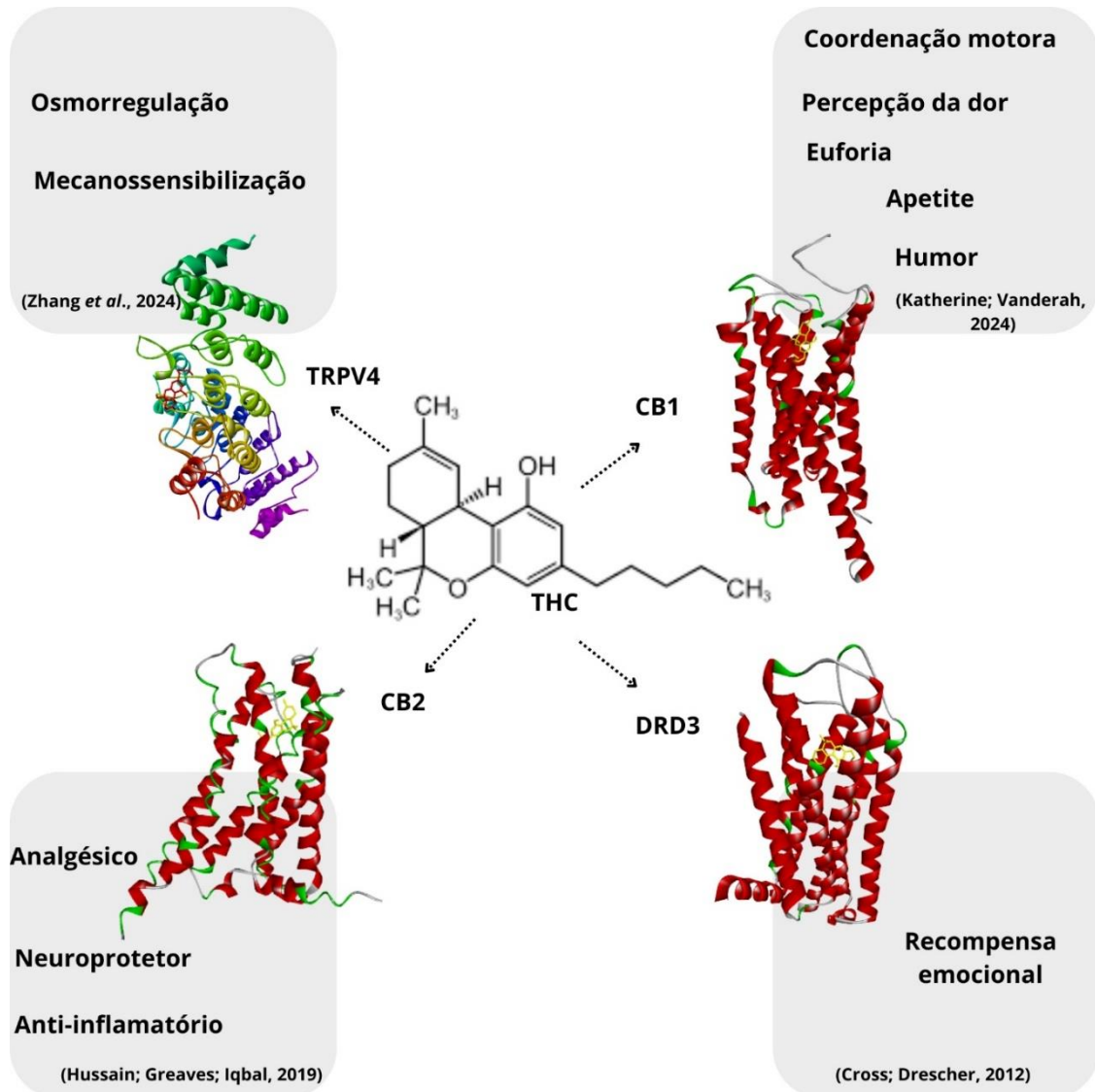


É relevante destacar que o THC interage com os receptores-alvo deste trabalho - CB1, CB2, DRD3 e TRPV4, apresentando diferentes níveis de afinidade. As simulações realizadas demonstraram que o THC apresentou afinidade variável para os diferentes receptores, com energia de ligação -8.4 kcal/mol no TRPV4, -8.5 kcal/mol no DRD3, -10.5 kcal/mol no CB2 e -11.7 kcal/mol em um dos códigos testados para o CB1. Esses valores sugerem maior afinidade do THC por CB1 e CB2, reforçando seu papel como principal modulador desses receptores (Kulkarni *et al.*, 2024). Além disso, a interação do THC com TRPV4 e DRD3 ocorreu com afinidade superior à dos ligantes originais, sugerindo um potencial efeito modulador nesses alvos (Rao *et al.*, 2022).

A relação entre afinidade e constante de dissociação (Kd) encontrada indicam que o THC pode permanecer ligado a CB1 e CB2 por períodos mais longos, potencializando uma resposta biológica (Noel, 2017). No caso de TRPV4 e DRD3, embora a interação seja ligeiramente menos estável, a maior afinidade em relação aos ligantes originais pode indicar um efeito competitivo relevante.

Para o CB1 e CB2, o THC pode competir com ligantes endógenos, enquanto que no TRPV4 e DRD3, a ação pode ser moduladora, dependendo do contexto bioquímico (Thorsen *et al.*, 2025). Dessa forma, acredita-se que a concentração do THC influencia sua seletividade farmacológica, sendo necessárias doses menores para ativar o CB1 e CB2, enquanto que a ativação/inibição de TRPV4 e DRD3 pode depender de uma dose maior (Noel, 2017). Assim, os efeitos neuromoduladores do THC são predominantemente mediados por CB1, enquanto CB2 pode estar envolvido em respostas imunomodulatórias, e TRPV4 e DRD3 podem contribuir para a regulação da dor, percepção sensorial e atividade dopaminérgica. Assim, a interação do THC com esses alvos pode modular diferentes vias biológicas, de maneira dependente da concentração e do ambiente bioquímico, gerando respostas biológicas distintas daquelas descritas na literatura (Figura 17).

Figura 17 - Efeitos biológicos sugeridos na literatura para a interação do THC com os receptores selecionados – CB1, CB2, DRD3 e TRPV4. A molécula de THC é representada no centro; as setas indicam as interações estabelecidas com os receptores-alvos, que estão ilustrados em modelos moleculares. Os possíveis efeitos biológicos das interações receptor/THC são descritos nos quadros.



A análise comparativa com ligantes análogos evidenciou diferenças na eficácia e estabilidade das interações nos modelos simulados, sugerindo que ajustes estruturais na molécula do THC poderiam ser desenvolvidos para aprimorar sua afinidade e seletividade pelos receptores, com o objetivo de otimizar suas aplicações terapêuticas.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Este trabalho apresenta uma abordagem efetiva e de baixo custo para a triagem inicial e a identificação de receptores moleculares para ligantes específicos. A associação de pesquisa bibliográfica e estudos computacionais se mostrou bem sucedida para identificação de prováveis receptores para o THC, bem como a compreensão da importância da modulação da sinalização celular desempenhada por esse fitocanabinoide, para além dos receptores canabinoides. Dessa forma, amplia-se o entendimento dos processos moleculares subjacentes à ligação do THC e suas implicações fisiológicas pelo uso terapêutico.

## REFERÊNCIAS

AGARWAL, Márcia; MEHROTRA, R. J. J. C. Uma visão geral da docagem molecular. *JSM Chem*, v. 4, n. 2, p. 1024-1028, 2016.

AGARWAL, Rupesh; SMITH, Jeremy C. Speed vs accuracy: effect on ligand pose accuracy of varying box size and exhaustiveness in AutoDock vina. *Molecular Informatics*, v. 42, n. 2, p. 2200188, 2023.

ARAÚJO, M.; ALMEIDA, M. B.; ARAÚJO, L. L. N.. The cannabinoids mechanism of action: an overview. *BrJP*, v. 6, p. 109–113, 2023.

AYODELE, Peter Folorunsho et al. Illustrated Procedure to Perform Molecular Docking Using PyRx and Biovia Discovery Studio Visualizer: A Case Study of 10kt With Atropine. *Progress in Drug Discovery & Biomedical Science*, v. 6, n. 1, 2023.

BADOWSKI, Adriana E.; YANFUL, Paa Kwesi. Dronabinol solução oral no manejo da anorexia e perda de peso na AIDS e câncer. *Terapêutica e gestão de riscos clínicos*, p. 643-651, 2018.

BATISTA, V. S. et al.. Construção, otimização e ancoragem molecular de substâncias bioativas em biomacromoléculas: um tutorial prático. *Química Nova*, v. 45, n. 2, p. 223–234, 2022.

BRENNECKE, Benjamin et al. Cannabinoid receptor type 2 ligands: an analysis of granted patents since 2010. *Pharmaceutical Patent Analyst*, v. 10, n. 3, p. 111-163, 2021.

BRUCKI, Sonia Maria Dozzi et al. Cannabinoids in Neurology-Position paper from Scientific Departments from Brazilian Academy of Neurology. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, v. 79, p. 354-369, 2021.

BURLEY, Stephen K. et al. Protein Data Bank (PDB): the single global macromolecular structure archive. *Protein crystallography: methods and protocols*, p. 627-641, 2017.

BURLEY, Stephen K. et al. RCSB Protein Data Bank (RCSB. org): delivery of experimentally-determined PDB structures alongside one million computed structure models of proteins from artificial intelligence/machine learning. *Nucleic acids research*, v. 51, n. D1, p. D488-D508, 2023.

BUTT, Sania Safdar et al. Molecular docking using chimera and autodock vina software for nonbioinformaticians. *JMIR Bioinformatics and Biotechnology*, v. 1, n. 1, p. e14232, 2020.

CECILIO, Soraya AJ; OLIVEIRA JÚNIOR, José Oswaldo de. Cannabis versus neuromoduladores na dor crônica. *BrJP*, v. 6, p. 146-152, 2023.

CHERRY, Amy L. et al. In silico analyses of the involvement of GPR55, CB1R and TRPV1: response to THC, contribution to temporal lobe epilepsy, structural modeling and updated evolution. *Frontiers in Neuroinformatics*, v. 18, p. 1294939, 2024.

COSTA, J. L. G. P. et al.. Neurobiologia da Cannabis: do sistema endocanabinoide aos transtornos por uso de Cannabis. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*, v. 60, n. 2, p. 111–122, 2011.

CRIPPA, J. A. S.; ZUARDI, A. W.; HALLAK, J. E. C.. Uso terapêutico dos canabinoides em psiquiatria. *Brazilian Journal of Psychiatry*, v. 32, p. 556–566, maio 2010.

DI FORTI, Marta et al. The contribution of cannabis use to variation in the incidence of psychotic disorder across Europe (EU-GEI): a multicentre case-control study. *The Lancet Psychiatry*, v. 6, n. 5, p. 427-436, 2019.

FRANCISCHETTI, Emilio Antonio; ABREU, Virginia Genelhu de. O sistema endocanabinóide: nova perspectiva no controle de fatores de risco cardiometabólico. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 87, p. 548-558, 2006.

GARDNER, Eliot L. Cannabinoid interaction with brain reward systems. *Marihuana and medicine*, p. 187-205, 1999.

GLORIAM, David et al. Structural basis of  $\Delta^9$ -THC analog activity at the Cannabinoid 1 receptor. 2024.

GODOY-MATOS, A. F. DE . et al.. O sistema endocanabinóide: novo paradigma no tratamento da síndrome metabólica. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 50, n. 2, p. 390–399, abr. 2006.

GROSS, Gerhard; DRESCHER, Karla. The role of dopamine D 3 receptors in antipsychotic activity and cognitive functions. *Novel antischizophrenia treatments*, p. 167-210, 2012.

GUIDO, Rafael VC; OLIVEIRA, Glaucius; ANDRICOPULO, Adriano D. Prêmio Nobel de Química de 2012: A Transdução Celular de Sinais por Estímulos Externos. *Química Nova na Escola*, São Paulo–SP, v. 34, n. 4, p. 278-282, 2012.

GUZMÁN, M.; SÁNCHEZ, C.; VELASCO, G. Potencial antitumoral de los cannabinoides. *EFFECTOS TERAPÉUTICOS DE LOS CANNABINOIDES*, p. 129, 2017.

HANWELL, Marcus D. et al. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of cheminformatics*, v. 4, p. 1-17, 2012.

HARRIS, Brandon J. et al. Toward high-resolution modeling of small molecule–ion channel interactions. *Frontiers in Pharmacology*, v. 15, p. 1411428, 2024.

HONÓRIO, K. M.; ARROIO, A.; SILVA, A. B. F. DA .. Aspectos terapêuticos de compostos da planta Cannabis sativa. *Química Nova*, v. 29, n. 2, p. 318–325, mar. 2006.

HUA, Tian et al. Activation and signaling mechanism revealed by cannabinoid receptor-Gi complex structures. *Cell*, v. 180, n. 4, p. 655-665. e18, 2020.

HUA, Tian et al. Crystal structures of agonist-bound human cannabinoid receptor CB1. *Nature*, v. 547, n. 7664, p. 468-471, 2017.

HUA, Tian et al. Estrutura cristalina do receptor canabinoide humano CB1. *Cell*, v. 167, n. 3, p. 750-762. e14, 2016.

HUSSAIN, Mohammed Tayab; GREAVES, David R.; IQBAL, Asif Jilani. The impact of cannabinoid receptor 2 deficiency on neutrophil recruitment and inflammation. *DNA and Cell Biology*, v. 38, n. 10, p. 1025-1029, 2019.

INADA, Hitoshi et al. Structural and biochemical consequences of disease-causing mutations in the ankyrin repeat domain of the human TRPV4 channel. *Biochemistry*, v. 51, n. 31, p. 6195-6206, 2012.

KATHERINE, E. Hanlon; VANDERAH, T. W. Chapter One—Constitutive Activity at the Cannabinoid CB1 Receptor and Behavioral Responses, Editor (s): P. Michael Conn. *Methods in Enzymology*, v. 484, p. 3-30, 2010.

KISS, B. et al. Receptores D3 de dopamina neuronal: implicações translacionais para pesquisa pré-clínica e distúrbios do SNC. v. 11, n. 1, p. 104, 14 jan. 2021.

KULKARNI, Vedangi Arvind et al. Cannabinoid pharmacology: Research on medicinal cannabins and its therapeutic application. *Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, v. 12, n. 2, p. 135-143, 2024.

KUMARI, Punita et al. Mecanismo estrutural da ligação de CB1R a agonistas inversos periféricos e tendenciosos. *Nature communications*, v. 15, n. 1, p. 10694, 2024.

LAUN, Alyssa S. et al. GPR3, GPR6, and GPR12 as novel molecular targets: their biological functions and interaction with cannabidiol. *Acta Pharmacologica Sinica*, v. 40, n. 3, p. 300-308, 2019.

LAUN, Alyssa S.; SONG, Zhao-Hui. GPR3 and GPR6, novel molecular targets for cannabidiol. *Biochemical and biophysical research communications*, v. 490, n. 1, p. 17-21, 2017.

LI, Hao et al. Structural insight into the constitutive activity of human orphan receptor GPR12. *Science Bulletin*, v. 68, n. 1, p. 95-104, 2023.

LI, Xiaoting et al. Base estrutural da ativação seletiva do receptor canabinoide CB2. *Nature Communications*, v. 14, n. 1, p. 1447, 2023.

LIAN, Chen-Xia et al. Research progress on anti-inflammatory effects of plant-derived cannabinoid type 2 receptor modulators. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= China Journal of Chinese Materia Medica*, v. 48, n. 23, p. 6294-6306, 2023.

LIN, Xiaoqian; LI, Xiu; LIN, Xubo. A review on applications of computational methods in drug screening and design. *Molecules*, v. 25, n. 6, p. 1375, 2020.

- LUGO, Elyette et al. Homozygous TRPV4 mutation broadens the phenotypic spectrum of congenital spinal muscular atrophy and arthrogyriposis: a case report. *Cureus*, v. 15, n. 8, 2023.
- MARINHO, A. M. DA N.; SILVA NETO, R. W. G. DA. Anti-inflammatory effects of cannabinoids. *BrJP*, v. 6, p. 31–37, 2023.
- MORRIS, Garrett M. et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry*, v. 30, n. 16, p. 2785-2791, 2009.
- NOËL, François Germain. François Noël. 2017.
- PASSOS, C. S. et al.. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 1a, p. 140–149, jan. 2009.
- PETERS, Kate Z.; OLESON, Erik B.; CHEER, Joseph F. A brain on cannabinoids: the role of dopamine release in reward seeking and addiction. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, v. 11, n. 1, p. a039305, 2021.
- PRIESTLEY, Richard S. et al. Um papel potencial para receptores canabinoides na ação terapêutica do fenofibrato. *The FASEB Journal*, v. 29, n. 4, p. 1446-1455, 2015.
- RAO, Qianru et al. Comparative metabolomic profiling of the metabolic differences of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and cannabidiol. *Molecules*, v. 27, n. 21, p. 7573, 2022.
- REZENDE, Bismarck; ALENCAR, Alan Kardec Nogueira; DE BEM, Grazielle Freitas; FONTES-DANTAS, Fabrícia Lima; MONTES, Guilherme Carneiro. Endocannabinoid System: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Pharmaceutical*, Rio de Janeiro, v. 16, n. 2, p. 1-20, jan. 2023.
- RODRIGUES, Ricardo P. et al. Estratégias de triagem virtual no planejamento de fármacos. *Revista Virtual de Química*, v. 4, n. 6, p. 739-776, 2012.
- RUSSO, Silvana da Cunha et al. O receptor Canabinoide 1: desafios no desenho de fármacos com enfoque nas ferramentas da bioinformática. 2020.
- SHAHBAZI, Fred et al. A mechanistic model explaining ligand affinity for, and partial agonism of, cannabinoid receptor 1. 2024.
- SHAHBAZI, Fred et al. Cannabinoids and cannabinoid receptors: The story so far. *Iscience*, v. 23, n. 7, 2020.
- SHAO, Zhenhua et al. High-resolution crystal structure of the human CB1 cannabinoid receptor. *Nature*, v. 540, n. 7634, p. 602-606, 2016.

SOUSA, R. L. Aplicação da técnica de ancoragem molecular na otimização do fármaco hipoglicemiante metformina. 2015. 41p. Monografia em Ciências Farmacêuticas - Centro Universitário Luterano de Palmas.

SYSTEMES, D. Biovia, Discovery Studio modeling environment. San Diego: Dassault Systèmes Biovia, 2016.

TANGANELI, J. P. C. et al.. The endocannabinoid system and orofacial pains: updates and perspectives. *BrJP*, v. 6, p. 131–138, 2023.

THORSEN, Thor et al. Structural basis of  $\Delta^9$ -THC analog activity at the Cannabinoid 1 receptor. 21 maio 2024. PREPRINT (Versão 1).

THORSEN, Thor S. et al. Structural basis of THC analog activity at the Cannabinoid 1 receptor. *Nature Communications*, v. 16, n. 1, p. 486, 2025.

TROTT, O., OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461, 2010.

TUTEJA, Narendra. Signaling through G protein coupled receptors. *Plant signaling & behavior*, v. 4, n. 10, p. 942-947, 2009.

WANG, Tianxin et al. Fenofibrate Recognition and Gq Protein Coupling Mechanisms of the Human Cannabinoid Receptor CB1. *Advanced Science*, v. 11, n. 14, p. 2306311, 2024.

WILEY, Jenny L. et al. Evaluation of cannabimimetic effects of selected minor cannabinoids and Terpenoids in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, v. 132, p. 110984, 2024.

XU, Peiyu et al. Structures of the human dopamine D3 receptor-Gi complexes. *Molecular Cell*, v. 81, n. 6, p. 1147-1159. e4, 2021.

YE, Lingyan et al. New insights in cannabinoid receptor structure and signaling. *Current molecular pharmacology*, v. 12, n. 3, p. 239-248, 2019.

ZHANG, Feng et al. TRPV4 Channel in Neurological Disease: from Molecular Mechanisms to Therapeutic Potential. *Molecular Neurobiology*, p. 1-15, 2024.

ZHANG, Yuqi et al. AutoGridFR: melhorias em mapas de afinidade AutoDock e ferramentas de software associadas. *Journal of computational chemistry*, v. 40, n. 32, p. 2882-2886, 2019.

ZHOU, Qingtong et al. Common activation mechanism of class A GPCRs. *Elife*, v. 8, p. e50279, 2019.

## APÊNDICE

<b>Código PDB</b>	<b>Composto</b>	<b>Energia de ligação (Kcal/mol)</b>	<b>Resíduos funcionais</b>	<b>Interações de ligação</b>
<b>4DX2</b>	ATP	-6,2	ARG248, ASN201, GLN239, HOH602, HOH613, HOH616, LEU200, LYS192, LYS197, TYR236	Ponte de sal, Carga atrativa, Ligação de água e hidrogênio, Ligação de hidrogênio convencional, Ligação de hidrogênio de carbono, Ligação de hidrogênio doador pi, pi-sigma, pi-pi empilhado
<b>VALIDAÇÃO</b>	ATP	-6,2	ASN201, GLN239, HOH602, HOH613, HOH616, LEU200, LYS192, LYS197, TYR236	Ligação de água e hidrogênio, Ligação de hidrogênio convencional, Ligação de hidrogênio de carbono, Positivo-positivo desfavorável, doador-doador desfavorável, Ligação de hidrogênio doador pi, pi-sigma, pi-pi empilhado

Legenda: Tabela complementar a figura 1.

<b>Código PDB</b>	<b>Composto</b>	<b>Energia de ligação (Kcal/mol)</b>	<b>Resíduos funcionais</b>	<b>Interações de ligação</b>
<b>9ERX</b>	A1H66	-12,7	CYS386, LEU359, PHE170, PHE200, VAL196, LEU193, LYS192, PHE174, PHE189, PHE177, HIS178, ILE271, TYR275, LEU276, PHE379, TRP279, PHE268	Ligação de hidrogênio convencional, Ligação de hidrogênio doador pi, Pi-sigma, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi-alquil
<b>VALIDAÇÃO</b>	A1H66	-12,7	ILE267, PHE174, PHE177, PHE170, PHE268, VAL196, TRP279, LEU193, TYR25, ILE271	Ligação de hidrogênio convencional, Pi-sigma, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi-alquil

Legenda: Tabela complementar a figura 2.

<b>Código PDB</b>	<b>Composto</b>	<b>Energia de ligação (Kcal/mol)</b>	<b>Resíduos funcionais</b>	<b>Interações de ligação</b>
-------------------	-----------------	--------------------------------------	----------------------------	------------------------------

<b>5TGZ</b>	ZDG	-12,3	TRP279, PHE268, LEU193, LEU359, PHE379, ALA380, LEU387, VAL196, PHE170, CYS386, MET103, SER383, MET384	Ligação de hidrogênio de carbono, Ligação de hidrogênio doador pi, Pi-sigma, Pi-enxofre, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi-alquil
<b>VALIDAÇÃO</b>	ZDG	-12,3	TRP279, LEU359, SER383, MET384, ALA380, LEU387, CYS386, TRP356, VAL196, PHE170, MET103	Ligação de hidrogênio convencional, Ligação de hidrogênio de carbono, Ligação de hidrogênio doador pi, Pi-sigma, Pi-enxofre, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi-alquil

Legenda: Tabela complementar a figura 3.

<b>Código PDB</b>	<b>Composto</b>	<b>Energia de ligação (Kcal/mol)</b>	<b>Resíduos funcionais</b>	<b>Interações de ligação</b>
<b>5U09</b>	7DY	-11,6	VAL196, TRP279, TRP356, CYS386, HOH1302, PHE170, MET103, MET384, SER123, ILE119, ALA380, ASP104, ILE105	Ligação de água e hidrogênio, Ligação de hidrogênio convencional, Ligação de hidrogênio de carbono, Pi-sigma, Pi-enxofre, Pi-pi em forma de T, Empilhamento amida-pi, Alquil, Pi-alquil
<b>VALIDAÇÃO</b>	7DY	-11,6	VAL196, HOH1302, TRP279, PHE268, LEU359, MET363, TRP356, ALA380, MET384, ILE105, MET103	Ligação de água e hidrogênio, Ligação de hidrogênio de carbono, Pi-sigma, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi-alquil

Legenda: Tabela complementar a figura 4.

<b>Código PDB</b>	<b>Composto</b>	<b>Energia de ligação (Kcal/mol)</b>	<b>Resíduos funcionais</b>	<b>Interações de ligação</b>
<b>5XRA</b>	8D3	-12,4	PRO269, PHE177, PHE174, LEU193, PHE189, PHE268, PHE170, SER383, LEU359, CYS386, PHE379, VAL196, PHE200, TRP279, TYR275, LEU276	Ligação de água e hidrogênio, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi-alquil
<b>VALIDAÇÃO</b>	8D3	-12,4	PRO269, PHE177, PHE189, VAL196, PHE170, SER383, PHE268, LEU193, TRP279, ILE271, LEU276	Ligação de hidrogênio convencional, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi-alquil

Legenda: Tabela complementar a figura 5.

<b>Código PDB</b>	<b>Composto</b>	<b>Energia de ligação (Kcal/mol)</b>	<b>Resíduos funcionais</b>	<b>Interações de ligação</b>
<b>6KPG</b>	8D0	-10,1	ALA248, TRP279, LEU359, PHE200, CYS386, VAL196, PHE379, SER383, PHE268, PHE170, PHE189, LEU193, PHE174, PHE177, HIS178	Ligação de hidrogênio convencional, Ligação de hidrogênio de carbono, Pi-cation, Ligação de hidrogênio doador pi, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi-alquil
<b>VALIDAÇÃO</b>	8D0	-10,1	HIS178, PHE177, PHE170, TRP279, PHE268, THR197	Ligação de hidrogênio convencional, Ligação de hidrogênio de carbono, Pi-cation, Pi-pi em forma de T, Pi-alquil

Legenda: Tabela complementar a figura 6.

<b>Código PDB</b>	<b>Composto</b>	<b>Energia de ligação (Kcal/mol)</b>	<b>Resíduos funcionais</b>	<b>Interações de ligação</b>
<b>7FEE</b>	9GF	-10,7	PHE177, ILE267, PHE170, SER383, CYS386, PHE268, VAL196, TRP356, PHE379, MET363, LEU359, LEU193	Ligação de hidrogênio convencional, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi-alquil
<b>VALIDAÇÃO</b>	9GF	-10,7	PHE177, SER173, SER383, PHE170, PHE268, TRP356, VAL196, ILE271, LEU193	Ligação de hidrogênio convencional, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi-alquil

Legenda: Tabela complementar a figura 7.

<b>Código PDB</b>	<b>Composto</b>	<b>Energia de ligação (Kcal/mol)</b>	<b>Resíduos funcionais</b>	<b>Interações de ligação</b>
<b>8K8J</b>	J30	-11,5	MET363, LEU359, TRP279, PHE268, VAL196, TRP356, SER173, PHE174, HIS178, PHE177	Ligação de hidrogênio convencional, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi-alquil

<b>VALIDAÇÃO</b>	J30	-11,5	ILE271, PHE268, LEU193, VAL196, PHE170, PHE189, SER173, PRO269, HIS178, PHE108, PHE177	Ligação de hidrogênio convencional, Ligação de hidrogênio de carbono, Pi-pi empilhado, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi- alquil
------------------	-----	-------	---	--

Legenda: Tabela complementar a figura 8.

<b>Código PDB</b>	<b>Composto</b>	<b>Energia de ligação (Kcal/mol)</b>	<b>Resíduos funcionais</b>	<b>Interações de ligação</b>
<b>6KPF</b>	E3R	-11,6	TRP194, LEU191, CYS288, VAL261, PHE183, TRP258, PHE87, ILE110, PHE91, VAL113, PRO184, SER285, PHE177, PHE94	Ligação de hidrogênio doador pi, Pi-sigma, Pi- pi em forma de T, Alquil, Pi-alquil
<b>VALIDAÇÃO</b>	E3R	-11,6	PHE94, PHE91, THR114, PRO184, SER285, PHE183, TRP194	Ligação de hidrogênio convencional, Ligação de hidrogênio de carbono, Ligação de hidrogênio doador pi, Pi-sigma, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi- alquil

Legenda: Tabela complementar a figura 9.

<b>Código PDB</b>	<b>Composto</b>	<b>Energia de ligação (Kcal/mol)</b>	<b>Resíduos funcionais</b>	<b>Interações de ligação</b>
<b>7CMV</b>	G60	-7,4	TRP342, CYS114, PHE345, PHE346, VAL111, HIS349, SER192	Ligação de hidrogênio convencional, Pi- sigma, Pi-pi em forma de T, Alquil, Pi-alquil
<b>VALIDAÇÃO</b>	G60	-7,4	SER192, HIS349, VAL111, PHE345, TYR373, TRP342	Ligação de hidrogênio convencional, Pi- sigma, Pi-pi em forma de T, Pi-alquil

Legenda: Tabela complementar a figura 10.

<b>Descritores</b>	<b>THC</b>	<b>ZDG</b>	<b>7DY</b>	<b>8D3</b>	<b>8D0</b>	<b>9GF</b>	<b>J30</b>	<b>A1H66</b>
--------------------	------------	------------	------------	------------	------------	------------	------------	--------------

<b>Fórmula</b>	<b>C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>Cl 2 N<sub>5</sub>O<sub>4</sub></b>	<b>C<sub>27</sub>H<sub>2</sub> 5 Cl F<sub>3</sub>N<sub>3</sub> O<sub>2</sub></b>	<b>C<sub>25</sub>H<sub>3</sub> 7 Br O<sub>2</sub></b>	<b>C<sub>26</sub>H<sub>3</sub> 9 N O<sub>3</sub>S</b>	<b>C<sub>24</sub>H<sub>4</sub> 0 O<sub>3</sub></b>	<b>C<sub>20</sub>H<sub>2</sub> 1 Cl O<sub>4</sub></b>	<b>C<sub>25</sub>H<sub>3</sub> 8 O<sub>3</sub></b>
<b>Peso molecular (MW)</b>	<b>314,5 g/mol</b>	<b>542,41 g/mol</b>	<b>515,95 g/mol</b>	<b>449,46 g/mol</b>	<b>445,66 g/mol</b>	<b>376,57 g/mol</b>	<b>360,83 g/mol</b>	<b>386,57 g/mol</b>
<b>Número de ligações rotativas (RB)</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>10</b>	<b>7</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>7</b>	<b>7</b>
<b>Número de aceitadores de ligações de hidrogênio (HBA)</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>3</b>
<b>Número de doadores de ligações de hidrogênio (HBD)</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>2</b>
<b>Refratividade molar (RM)</b>	<b>97,91</b>	<b>147,65</b>	<b>131,12</b>	<b>124,89</b>	<b>132,62</b>	<b>115,4</b>	<b>97,98</b>	<b>118,18</b>
<b>Área total da superfície polar (TPSA)</b>	<b>29,46 Å<sup>2</sup></b>	<b>105,21 Å<sup>2</sup></b>	<b>75,01 Å<sup>2</sup></b>	<b>29,46 Å<sup>2</sup></b>	<b>94,14 Å<sup>2</sup></b>	<b>60,69 Å<sup>2</sup></b>	<b>52,60 Å<sup>2</sup></b>	<b>49,69 Å<sup>2</sup></b>
<b>Lipofilicidade (Log P)</b>	<b>5,41</b>	<b>3,08</b>	<b>6,92</b>	<b>7,24</b>	<b>7,71</b>	<b>5,76</b>	<b>4,95</b>	<b>6,09</b>
<b>Solubilidade em água (log S)</b>	<b>-5,93</b>	<b>-7,57</b>	<b>-9,9</b>	<b>-7,92</b>	<b>-6,73</b>	<b>-6,04</b>	<b>-6,51</b>	<b>-6,55</b>

Classe de solubilidade	Moderadamente solúvel	Pouco solúvel	Pouco solúvel	Pouco solúvel	Pouco solúvel	Pouco solúvel	Pouco solúvel	Pouco solúvel
Farmacocinética								
Absorção de medicamentos gastrointestinais	Alto	Alto	Baixo	Baixo	Baixo	Alto	Alto	Alto
Substrato da glicoproteína P (P-gp)	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não
Inibidor do CYP1A2	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não
CYP2C19 inibidor	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não
Inibidor do CYP2C9	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Não
Inibidor do CYP2D6	Sim	Não	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Sim
Inibidor do CYP3A4	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Não	Não
Log Kp (permeação cutânea)	-3,27 cm/s	-4,79 cm/s	-4,86 cm/s	-2,08 cm/s	-3,69 cm/s	-4,24 cm/s	-4,83 cm/s	-3,38 cm/s
Semelhança com drogas								
Regra de Lipinski (MW ≤ 500, logP >4.15)	Sim; 1 violação: MLOGP >4.15	Não; 2 violações: MW>500,	Sim; 1 violação:	Sim; 1 violação:	Sim; 1 violação:	Sim; 0 violação	Sim; 0 violação	Sim; 1 violação:

≤5, HBD ≤5, HBA ≤10)		MLOGP>4 .15	MW>50 0	MLOG P>4.15	MLOG P>4.15			MLOG P>4.15
Regra de Veber (RB ≤ 10, TPSA ≤140)	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Pontuação de biodisponi- bilidade	0,55	0,17	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
Química medicinal								
Alerta de DORES	0 alerta	0 alerta	0 alerta	0 alerta	0 alerta	0 alerta	0 alerta	0 alerta
Alerta Brenk	1 alerta: alceno_is- olado	3 alertas: grupo nitro, ligação simples de oxigênio- nitrogênio, ligação tripla	0 alerta	2 alertas: haletos de alquila, alceno isolado	2 alertas: imina_1 , grupo tiocarbo- nila	0 alerta	0 alerta	1 alerta: alceno_i- solado
Regra de semelhança de chumbo (250 ≤ MW ≤ 350, Log P ≤ 3,5, RB ≤ 7)	Não; 1 violação: XLOGP3 >3.5	Não; 3 violações: MW>350, Rotores>7, XLOGP3> 3.5	Não; 3 violações: MW>350, Rotores >7, XLOG P3>3.5	Não; 2 violações: MW>350, XLOGP 3>3.5	Não; 3 violações: MW>350, Rotores >7, XLOGP 3>3.5	Não; 3 violações: MW>350, Rotores >7, XLOG P3>3.5	Não; 2 violações: MW>350, XLOG P3>3.5	Não; 2 violações: MW>350, XLOGP 3>3.5
Acessibilidade sintética	4,27	4,08	4,1	4,82	4,84	4,04	2,64	4,74

Legenda: Tabela complementar a figura 12.