**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS**

**ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉCAS, FARMACÊUTICAS E BIOMÉDICAS**

**CURSO DE MEDICINA**

INVESTIGAÇÃO DE MECANISMOS MOLECULARES DE CANABINOIDES COM ATIVIDADE DE NEUROMODULADORA USANDO FERRAMENTAS IN SILICO

ALINE LINS DA SILVA & THAIS LINHARES SILVA

**GOIÂNIA – GO**

**2021**

***INVESTIGAÇÃO DE MECANISMOS MOLECULARES DE CANABINÓIDES COM ATIVIDADE DE NEUROMODULADOR USANDO FERRAMENTAS IN SILICO***

**Aline Lins da Silva, Thais Linhares Silva & Leonardo Luiz Borges**

*Escola de Ciências Médicas, Farmacêuticas e Biomédicas, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.*

**Resumo:**

**Objetivo**: Este trabalho visa complementar as investigações dos mecanismos moleculares dos canabinóides e seus receptores, elucidando alvos moleculares que explicam o efeito dos compostos químicos presentes na *Cannabis sativa* na neuromodulação central, através de métodos *in silico*. **Métodos**: Os metabólitos da *Cannabis sativa* foram coletados bibliográficamente e a codificação das moléculas para realizar as predições foi obtida no site Pubchem. A triagem de bioatividade foi então realizada com os programas SwissADME, ProToxII, PASS e Molinspiration e a busca de alvos com servidores SuperPred Webserver. Após a identificação do alvo, a estrutura selecionada foi obtida do site Protein Data Bank (PDB) para docking molecular com o programa GOLD**. Resultados**: Os metabólitos da *Cannabis sativa* tiveram suas propriedades físico-químicas e biológicas analisadas. Os alvos de docking molecular foram identificados e verificados para cada composto, com suas respectivas estruturas cristalizadas no Protein Data Bank (PDB). A molécula de tetrahidrocanabivarina (THCV) foi selecionada porque previu interação com o receptor de N-araquidonilglicina (PDB ID: 4UUQ). Docking revela uma potencial interação do THCV com o receptor N-araquidonilglicina. Além disso, a estrutura de ligação deste estudo mostrou alinhamento farmacofórico com as 5 moléculas mais potentes capazes de antagonizar o receptor de monoglicerato lipase. **Conclusão**: O docking do TCHV mostrou ancoragem desta molécula no sítio ativo do receptor N-araquidonilglicina devido às atividades desta espécie, portanto, este marcador poderia atuar como um antagonista desse receptor, comportando-se como um metabólito ativo com atividade neuromodulatória através de uma possível alteração da atividade microglial no sistema nervoso central, que pode atuar como agente terapêutico em patologias neurodegenerativas.

**Palavras-chave**: *Cannabis sativa*; sistema nervoso central; Tetrahydrocannabivarin.

**Summary:**

**Objective**: This work aims to complement the investigations of the molecular mechanisms of cannabinoids and their receptors, elucidating molecular targets that explain the effect of chemical compounds present in *Cannabis sativa* on central neuromodulation, through in silico methods. **Methods**: *Cannabis sativa* metabolites were collected bibliographically and the coding of molecules to perform the predictions was obtained from the Pubchem website. Bioactivity screening was then performed with SwissADME, ProToxII, PASS and Molinspiration programs and target search with SuperPred Webserver servers. After target identification, the selected structure was obtained from the Protein Data Bank (PDB) site for molecular docking with the GOLD program. **Results:** *Cannabis sativa* metabolites had their physicochemical and biological properties analyzed. The targets for molecular docking were identified and verified for each compound, with their respective structures crystallized in the Protein Data Bank (PDB). The tetrahydrocannabivarin (THCV) molecule was selected because it predicted interaction with the N-arachidonylglycine receptor (PDB ID: 4UUQ). Docking reveals a potential interaction of THCV with the N-arachidonylglycine receptor. Furthermore, the binding structure of this study showed pharmacophoric alignment with the 5 most potent molecules capable of antagonizing the monoglycerate lipase receptor. **Conclusion**: TCHV docking showed anchoring of this molecule in the active site of the N-arachidonylglycine receptor due to the activities of this species, thus, this marker could act as an antagonist of this receptor, behaving as an active metabolite with neuromodulatory activity through a possible alteration of microglial activity in the central nervous system, which may act as a therapeutic agent in neurodegenerative pathologies.

**Keywords:** *Cannabis sativa*; central nervous system; Tetrahydrocannabivarin.

**Introdução**

A espécie conhecida como "maconha", "ganja" ou "cânhamo", está entre as plantas mais antigas que vêm sendo cultivadas e exploradas pelo homem por suas inúmeras propriedades e utilizações como obtenção de fibras, alimentos e medicamentos, também graças à sua adaptabilidade em uma ampla gama de habitats (1).

Os medicamentos à base de extratos de cannabis são produzidos para diferentes indicações terapêuticas, como Alzheimer (2), dores neuropáticas na esclerose múltipla (3) e na artrite reumatóide (4), esquizofrenia (5), Parkinson (6) e epilepsia (7), às vezes constituindo a única alternativa terapêutica no controle de doenças graves e incuráveis.

Quanto aos aspectos botânicos, a espécie *C. sativa* é uma planta anual dióica, raramente monóica, rica em tricomas, protuberâncias glandulares epidérmicas que recobrem as folhas, brácteas e caules da planta (8). Esses tricomas glandulares envolvem metabólitos como os fitocanabinóides, responsáveis ​​pela defesa e interação com herbívoros e pragas, juntamente com os terpenóides, que geram o aroma típico de *C. sativa* (9). É importante ressaltar que a dioicia facilita a variabilidade genética e, consequentemente, a adaptabilidade da planta a diferentes habitats, uma vez que requer que a reprodução seja feita em diferentes plantas.

*C. sativa* é caracterizada por um complexo químico, incluindo terpenos, carboidratos, ácidos graxos e seus ésteres, amidas, aminas, fitoesteróis, compostos fenólicos e os compostos específicos dessa planta, a saber, os canabinóides (9). Os canabinóides são meroterpenóides, obtidos a partir da alquilação de um alquilresorcinol com um monoterpeno (10). São sintetizados principalmente em tricomas glandulares, que são mais abundantes nas inflorescências femininas (9).

Mais de 100 canabinóides foram isolados, caracterizados e divididos em 11 classes químicas. Normalmente, os canabinoides mais abundantes presentes em plantas de tipo de droga são ácido Δ-tetrahidrocanabinólico (Δ9-THCA) e Δ9-tetrahidrocanibinol (Δ9-THC), enquanto plantas de tipo de fibra são conhecidas por conterem principalmente ácidos canabinoides, como o ácido canabidiólico ( CBDA) e ácido canabigerólico (CBGA), seguido de canabidiol (CBD) e cannabigerol (CBG) (11) (12). Outros canabinóides menores incluem ácido canabicromênico (CBCA), canabicromeno (CBC), ácido canabinólico (CBNA) e canabinol (CBN), com os dois últimos sendo os produtos de degradação oxidativa de Δ9-THCA e Δ9-THC, respectivamente, presentes na cannabis envelhecida.

Os efeitos farmacológicos são atribuídos à interação dos canabinóides com seus receptores distribuídos no sistema nervoso central (CB1) e periférico (CB2) (13). O Δ9 -THC liga-se aos receptores CB1 e CB2, agindo como agonista parcial, exercendo uma atividade neural mista, excitatória e inibitória, em diferentes áreas do cérebro, mostrando que não atua apenas em receptores canabinoides específicos (14).

Nesse sentido, os endocanabinoides (ECS) aparecem como uma sinalização cerebral complexa e difundida no sistema nervoso que desempenha um papel nas funções afetivas e cognitivas e nos transtornos psicóticos, podendo ser alvo de atuação de diversos compostos terapêuticos. A elucidação da ECS também lança luz sobre o fascínio humano pela cannabis, que parece ser a única planta que produz um potente ativador canabinoide de CB119.

O desenvolvimento atual de fármacos que alteram a sinalização dos endocanabinoides e como esse sistema complexo pode ser farmacologicamente manipulado no futuro deve ser foco de estudos futuros. Nesse sentido, a descoberta de novas entidades químicas (NEQ), candidatas a novas drogas na Cannabis sativa, compreende uma cadeia complexa que, para ser eficaz, precisa ser bem articulada.

Assim, um novo candidato a fármaco pode surgir por meio da seleção de moléculas bioativas, do emprego de alvos moleculares e da definição das vias bioquímicas nas quais esses compostos podem interferir (9). Por conseguinte, por meio desse planejamento, é possível predizer e verificar atividades biológicas, de interesse da farmacologia, de moléculas presentes em um potencial fármaco (15).

Os fitocanabinóides são compostos altamente únicos, de ação promíscua, modulando uma gama de alvos farmacológicos, além de apresentarem alta capacidade antioxidante devido às suas estruturas fenólicas e à presença de grupos hidroxila (16-18). Essas características, juntamente com sua lipofilicidade e capacidade de atuar como agentes antiinflamatórios, tornam-nos candidatos terapêuticos desejáveis ​​para o tratamento de distúrbios do SNC, pois podem atravessar efetivamente a barreira hematoencefálica (BBB), modular a resposta imune e abordar muitos aspectos da neurodegeneração (19) 24.

Essas características foram bem estabelecidas para Δ9-THC e CBD, mas são menos conhecidas para alguns dos constituintes secundários da planta. Assim, para compreender todo o potencial terapêutico da Cannabis sativa, a farmacologia dos componentes menos conhecidos da planta deve ser elucidada (17).

Portanto, dentro do cenário atual de autorizações recentes, este trabalho visa complementar as investigações dos mecanismos moleculares de cannabinoides e seus receptores, elucidando alvos moleculares que explicam o efeito dos metabólitos canabinoides presentes nesta espécie na neuromodulação central, por meio de métodos *in silico*.

Portanto, este estudo dos canabinóides presentes na *Cannabis sativa* pode fornecer novas informações sobre suas altas margens de eficácia e segurança, e pode continuar a inspirar uma fonte rica de compostos refinados farmacologicamente associados a novas terapias. Portanto, tais resultados podem facilitar o caminho regulatório e burocrático para que médicos e cientistas realizem estudos bem delineados, buscando amenizar os sintomas de doenças neurológicas e psiquiátricas.

**Métodos**

Os compostos ativos presentes nas espécies de *Cannabis sativa* foram identificados por meio de pesquisas em artigos científicos nas bases de dados Pubmed (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/), Scielo (https://www.scielo.org/)) , Sciencedirect (https://www.sciencedirect.com/) e Periódicos Capes (https://www-periodicos-capes-gov-br.ezl.periodicos.capes.gov.br/index.php?). Após a identificação desses compostos, a codificação das moléculas (através dos sorrisos canônicos) foi obtida no Pubchem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/) (20) para posterior análise. Além disso, para rastrear propriedades farmacocinéticas, biológicas e toxicológicas, foram usados ​​os programas SwissADME (21) (http://www.swissadme.ch/). PASS PREDICTION (22), (23) (http://way2drug.com/PassOnline/), Molinspiration (24) (http://way2drug.com/PassOnline/) e ProToxII (25) (26) (https: / /tox-new.charite.de/protox\_II/).

A partir das substâncias selecionadas, foi realizada uma busca por possíveis alvos usando o programa SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/)(27), um servidor que permite prever os alvos macromoleculares mais prováveis ​​de uma potencial molécula de ligante. Os alvos que demonstraram relação com a atividade biológica investigada foram então obtidos no banco de dados Protein Data Bank (28) (PDB) (https://www.rcsb.org/). Os compostos com os maiores escores de atividade neuromodulatória nos servidores empregados foram selecionados para simulações de docking molecular.

Após a seleção dos alvos mais prováveis, o programa GOLD Suite 5.8.0 foi usado para realizar o docking molecular (29). Após a preparação dos alvos moleculares, a região de interesse utilizada (sítio de ligação) para o docking foi definida como todos os resíduos de proteína em um raio de 10A em relação ao ligante cocristalizado. Condições padrão de todos os outros parâmetros foram utilizadas e o complexo PDB ID: 4UUQ foi submetido à análise do algoritmo genético e para este acoplamento foi utilizada a função de pontuação CHEMPLP38 associada à função de recorte ASP. Para validar os parâmetros do modelo, o redocking foi realizado utilizando o complexo ligante co-cristalizado com a proteína cristalografada e essas condições foram utilizadas para realizar o docking com os melhores ligantes da espécie*Cannabis sativa.*

**Resultados**

A espécie *Cannabis sativa* contêm centenas de metabólitos diferentes, divididos em compostos canabinoides e compostos não canabinoides. Entre esses compostos, os principais canabinóides são: canabigerol, Δ9 -tetrahidrocanabinol, canabicromene, canabidiol, canabielsoína, canabiciclol, cannabinol, canabitriol, ácido canabinólico, ácido canabigerólico, tetrahidrocanabinóide, canabidiol, canabielsoína, canabiciclol, cannabinol, canabitriol, ácido canabinólico, ácido canabigerólico, tetrahidrocanabinóide , 3,6,7-tetrametoxi-9,10-di-hidrofenantreno-4-ol.39   



    
**Figura 1**.Estruturas presentes na *espécie Cannabis sativa.*

Após a obtenção dos sorrisos canônicos desses compostos no Pubchem (20), todos foram submetidos à análise de predição farmacocinética e relação com a atividade biológica por meio dos programas SwissADME (21) e PassPrediction (22) (23), respectivamente. Os compostos analisados ​​foram classificados como medicamentosos, segundo os critérios de Lipinski, que prevêem a capacidade de seu comportamento ser semelhante aos medicamentos de uso oral e a atividade metabólica desses elementos (30). Todos os 15 compostos estudados eram semelhantes a drogas, com no máximo 1 violação das regras de Lipinski.

Em SwissADME (21), também foi possível predizer a capacidade de absorção pelo trato gastrointestinal (TGI) e a permeabilidade na barreira hematoencefálica (BBB) ​​com base nas estruturas dos compostos. Dos compostos estudados, todos, exceto a cannflavina C, mostraram ter alta absorção por TGI. Além disso, os compostos canabigerol, canabicromeno, ácido canabinólico, ácido canabigerólico, cannflavina C, crioeriol e 6-prenilapigenina não cruzam a BBB, os outros compostos sim. Além disso, a classe de toxicidade e a dose letal média (DL50) foram obtidas por meio do ProToxII (25) (26), que demonstrou toxicidade classe 4 para a maioria dos compostos, com exceção do canabinol, classe 6, e aqueles que apresentaram classe 5, cannflavina C, crioseriol e 6-prenilapigenina. A ação desses metabólitos nos receptores do sistema nervoso central foi prevista por SwissTargetPrediction (27). Todos esses resultados estão resumidos na Tabela 1.

**Tabela 1**. Resumo das propriedades dos metabólitos presentes nas espécies de *Cannabis sativa*

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Compostos | MW | nOHNH | nON | TPSA | miLogP | Druglike | Viol | TGI | BBB | DL50 | CT | Alvo no sistema nervoso |
| Canabigerol | 23 | 2 | 2 | 40.46 | 7.84 | SIM | 1 | ALTA | NÃO | 500mg/kg | 4 | Receptor de canabinóide 1 e 2; Receptor acoplado à proteína G55 |
| Δ9-tetrahidrocanabinol | 314.47 | 1 | 2 | 29.46 | 6.69 | SIM | 1 | ALTA | SIM | 482mg/kg | 4 | Receptor de canabinóide 1 e 2; Receptor N-araquidonilglicina |
| Canabicromo | 314.47 | 1 | 2 | 29.46 | 7.50 | SIM | 1 | ALTA | NÃO | 750mg/kg | 4 | Receptor de canabinoide 1 e 2 |
| Canabidiol | 314.47 | 2 | 2 | 40.46 | 7.14 | SIM | 1 | ALTA | SIM | 500mg/kg | 4 | Receptor de canabinóide 1 e 2; Receptor acoplado à proteína G55 |
| Canabielsoína | 330.47 | 2 | 3 | 49.69 | 5.79 | SIM | 0 | ALTA | SIM | 500mg/kg | 4 | Receptor de canabinoide 1 e 2 |
| Canabiciclol | 314.47 | 1 | 2 | 29.46 | 6.64 | SIM | 1 | ALTA | SIM | 860mg/kg | 4 | Receptor de canabinoide 1 e 2 |
| Canabinol | 310.44 | 1 | 2 | 29.46 | 6.81 | SIM | 1 | ALTA | SIM | 13500mg/kg | 6 | Receptor de canabinoide 1 e 2 |
| Canabitriol | 346.47 | 3 | 4 | 69.92 | 4.61 | SIM | 0 | ALTA | SIM | 750mg/kg | 4 | Receptor de canabinoide 1 e 2 |
| Ácido canabinólico | 354.45 | 2 | 4 | 66.76 | 6.31 | SIM | 0 | ALTA | NÃO | 400mg/kg | 4 | Receptor de canabinoide 1 e 2 |
| Ácido canabigerólico | 360.49 | 3 | 4 | 77.75 | 7.13 | SIM | 1 | ALTA | NÃO | 1000mg/kg | 4 | Receptor de canabinoide 1 e 2 |
| Tetrahidrocanabivarina | 286.42 | 1 | 2 | 29.46 | 5.62 | SIM | 0 | ALTA | SIM | 482mg/kg | 4 | Receptor de canabinóide 1 e 2; Receptor de N-araquidonilglicina e subunidade alfa-1 do receptor de glicina |
| Cannflavin C | 436.50 | 3 | 6 | 100.13 | 6.38 | SIM | 0 | BAIXA | NÃO | 3919mg/kg | 5 | ----- |
| Crioserol | 30.27 | 3 | 6 | 100.13 | 2.28 | SIM | 0 | ALTA | NÃO | 4000mg/kg | 5 | ----- |
| 6-prenilapigenina | 338.36 | 3 | 5 | 90.89 | 4.71 | SIM | 0 | ALTA | NÃO | 3919mg/kg | 5 | ----- |
| 2,3,6,7-Tetrametoxi-9,10-dihidrofenantreno-4-ol | 316.35 | 1 | 5 | 57.16 | 3.01 | SIM | 0 | ALTA | SIM | 1000mg/kg | 4 | ----- |

Legenda: Viol: violations; TGI: trato gastrointestinal; BBB: barreira hematoencefálica; CT: classe de toxicidade; SN: sistema nervoso.

Na busca por alvos para realizar docking molecular utilizando os programas SuperPredWebserver (31) (https://prediction.charite.de/) e SwissTargetPrediction (27), os alvos de cada composto e suas respectivas estruturas cristalográficas no PDB (28) (Protein Data Bank) foram verificados. Dos compostos mostrados na Tabela 1, a molécula de tetrahidrocanabivarina (THCV) foi selecionada por ter interações com receptores no sistema nervoso central, como receptor de canabinoide 1, receptor de canabinoide 2 e N-araquidonilglina.

Assim, o THCV foi escolhido por suas características, sendo druglikness, segundo os critérios de Lipinski, sem violações, apresentando alta absorção pelo TGI, cruzando a barreira hematoencefálica e possuindo dose letal média segura (DL50). Dessa forma, a estrutura ID: 4UUQ para o receptor N-araquidonilglicina foi usada para realizar o estudo de ancoragem molecular.

Inicialmente, o redocking (Figura 2) foi realizado para validar os parâmetros do modelo, usando o ligante cristalografado 4 - ({[(4-clorofenil) sulfonil] amino} metil) ácido piperidina-1-carboxílico (64D) e como local de ligação a a estrutura 4UUQ a fim de demonstrar a ocorrência da ligação do ácido 4 - ({[(4-clorofenil) sulfonil] amino} metil) piperidina-1-carboxílico na estrutura do receptor de N-araquidonilglicina, na mesma posição da estrutura depositado no APO (28). Após a definição dos parâmetros do modelo a ser utilizado para docking, foram realizadas simulações com tetrahidrocanabivarina no sítio ativo do alvo 4UUQ.

Tela de computador

Descrição gerada automaticamente

**Figura 2**. Redocking de ácido 4 - ({[(4-clorofenil) sulfonil] amino} metil) piperidina-1-carboxílico no receptor de N-araquidonilglicina

O docking revela uma potencial interação do THCV com o receptor do receptor N-araquidonilglicina. A Figura 3 revela o mapa bidimensional das interações que podem ocorrer entre a tetrahidrocanabivarina e o receptor de N-araquidonilglicina. As principais interações que a análise sugere serem capazes de suportar a estrutura no sítio ativo são: uma ligação de hidrogênio com SER165, π-alquil e alquil-alquil interações com resíduos de ALA174, VAL217, LEU215, ALA166, LEU186, LEU224, ALA161, LEU223, LEU158, VAL227, LEU25, GLY220, LYS216 e ASN162. A representação tridimensional da possível interação entre a tetrahidrocanabivarina e o sítio ativo do receptor N-araquidonilglicina pode ser vista na Figura 4. E o mapeamento farmacofórico da substância tetrahidrocanabivarina com os 5 ligantes antagonistas mais potentes para o alvo da monoglicerato lipase é mostrado na Figura 5.

Interface gráfica do usuário, Aplicativo

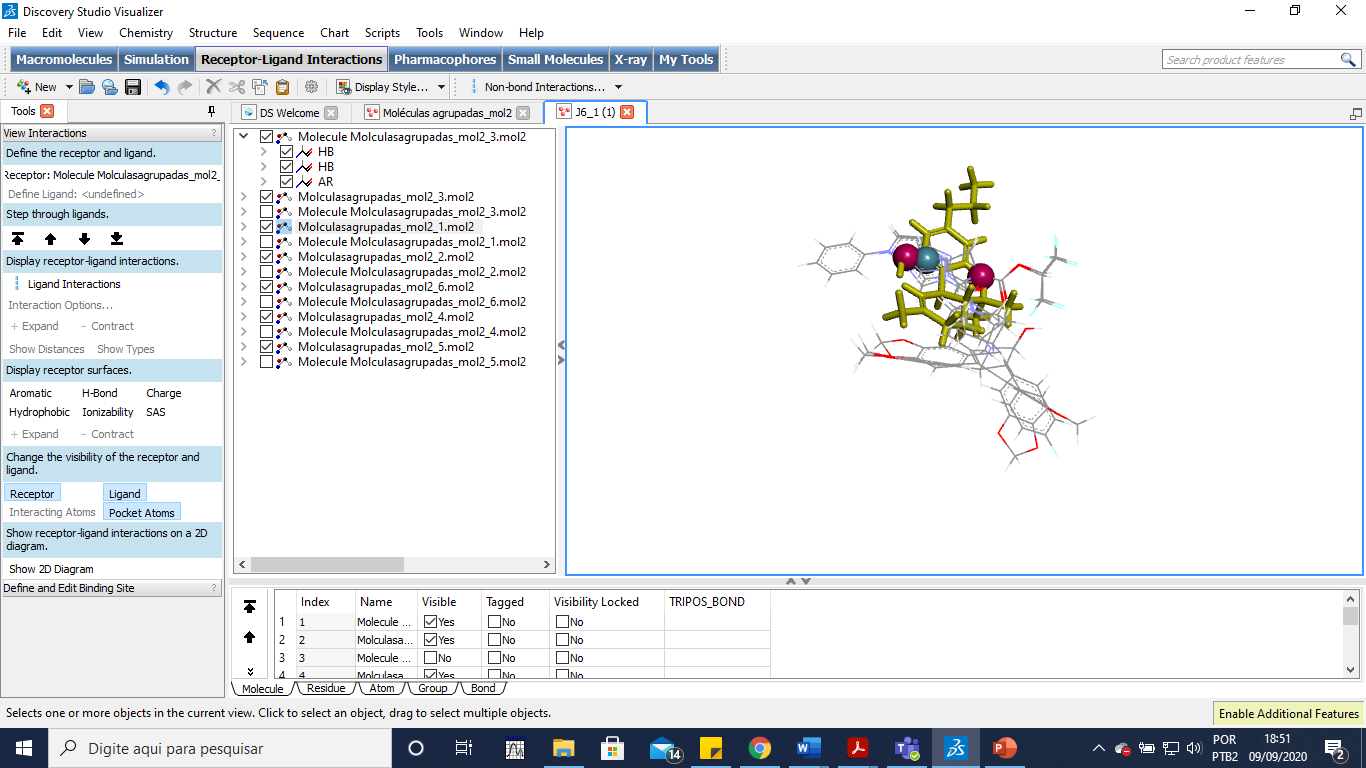
Descrição gerada automaticamente

**Figura 3**. Pose 1 de ancoragem de tetrahidrocanabivarina no local do receptor de N-araquidonilglicina Figura gerada com o software Pymol 1.1r1.

Diagrama

Descrição gerada automaticamente

**Figura 4**. Diagrama de interação 2D de tetrahidrocanabivarina na posição 1 no receptor de N-araquidonilglicina. Esta imagem foi gerada com o Discovery Studio 3.5 Visualizer.



**Figura 5** . Mapeamento farmacofórico da substância tetrahidrocanabivarina com os 5 ligantes antagonistas mais potentes para o alvo da monoglicerato lipase. As características farmacofóricas são coloridas em vermelho para aceitadores de ligações de hidrogênio e azul para anéis aromáticos (B).

**Discussão**

Vale enfatizar uma breve consideração sobre o contexto recente das políticas de regulamentação da cannabis sativa no Brasil. Diante do clamor e pressão dos movimentos sociais (32), o Conselho Federal de Medicina (CFM) regulamentou a prescrição de extratos de cannabis no final de 2014 e, a partir desse fato, a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 156 , publicado no Diário Oficial da União de 8 de maio de 2017, incluiu a erva na Farmacopeia Brasileira, código farmacêutico oficial do Brasil, reconhecendo-a como planta medicinal.

Além disso, recentemente, a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 327, publicada no Diário Oficial da União de 09 de dezembro de 2019, dispôs sobre as condições e procedimentos para concessão da Autorização Sanitária de fabricação e importação, bem como estabelece requisitos para a comercialização, prescrição, dispensação, monitoramento e fiscalização de produtos industrializados contendo derivados vegetais ou fitofármacos da *Cannabis sativa*, denominados produtos Cannabis.

Em relação aos aspectos farmacológicos da espécie, é importante conhecer o sistema endocanabinoide (BCE), que, por sua vez, se expressa amplamente no sistema nervoso central, desempenhando papéis na regulação da plasticidade sináptica por meio de sinalização retrógrada. Em sentido estrito, é composto de receptores canabinóides do tipo 1 (CB1, amplamente expresso no sistema nervoso) e do tipo 2 (CB2, expresso principalmente em células imunes), suas moléculas sinalizadoras de endocanabinóides (por exemplo, anandamida (AEA); e 2-araquidonoilglicerol (2-AG), e suas enzimas metabólicas (NAPE-PLD, DAGL, FAAH e MAGL) (33).

Alterações no sistema de ECB foram observadas em uma variedade de doenças em áreas terapêuticas. Por exemplo, mudanças nas concentrações de AEA e 2-AG nos tecidos foram observadas em dor e inflamação (34), distúrbios imunológicos (35), condições neurológicas e psiquiátricas (36), obesidade e síndromes metabólicas (37) (38) e câncer (39). Essas observações alimentaram um interesse significativo no desenvolvimento de medicamentos que manipulam a ECB para tratar essas condições (40) (41).

Dada a ampla gama de efeitos neuroprotetores do Δ9-THC e do CBD já estabelecidos, é necessário sugerir que outros fitocanabinóides podem exibir propriedades neuroprotetoras semelhantes ou mais potentes (42). Neste contexto, a partir do levantamento dos metabólitos ativos da *Cannabis sativa*, suas análises preditivas farmacocinéticas, biológicas e toxicológicas, classificação de similaridade a drogas, o composto tetrahidrocanabivarina (THCV) surge como um potencial tratamento para condições neurológicas e psiquiátricas.

Todos os compostos listados na triagem realizada neste estudo apresentaram características promissoras de solubilidade e permeabilidade, de acordo com Lipinski 1997. Essa classificação é amplamente utilizada para determinar propriedades moleculares importantes para a predição farmacocinética de substâncias in vivo. De acordo com a regra de cinco de Lipinski na qual esta classificação se baseia, uma molécula candidata tem mais probabilidade de ter propriedades favoráveis ​​se o peso molecular for inferior a 500 daltons, o coeficiente de partição octanol / água (log P) for inferior a 5, se não houver mais de 5 doadores de ligação de hidrogênio (grupos OH e NH) e se não houver 10 aceitadores de ligação de hidrogênio (nomeadamente N e O) (43). O THCV, por sua vez, apresentou os parâmetros citados dentro desses limites favoráveis.

∆9-THCV é um homólogo de ∆9-THC diferindo apenas por uma cadeia lateral de propil, e estudos sugeriram que ∆9-THCV atua como um agonista do receptor CB1, compartilhando propriedades com ∆9-THC, embora com menos potência (14 ), (44). Eles mostram semelhanças em seus efeitos in vivo, como induzir catalepsia em camundongos e efeitos semelhantes ao to9 -THC em humanos.

Dois estudos foram encontrados onde o ∆9-THCV mostrou-se promissor como um agente antiepiléptico e neurônios protegidos em dois modelos de doença de Parkinson, a teoria é que o ∆9-THCV promove alguns de seus efeitos protetores agindo nos receptores CB1 e CB2, mas, em de qualquer forma, os possíveis mecanismos de ação do ∆9-THCV eram amplamente inexplorados (45). Assim, embora haja evidências para sugerir que o ∆9-THCV medeia alguns de seus efeitos protetores por meio dos receptores CB1 e CB2, os dados permanecem em grande parte obscuros e há uma falta de investigação sobre o potencial do ∆9-THCV para atuar em outros alvos canabinoides conhecidos.

A N-araquidonoilglicina (NAGly) é um produto do metabolismo oxidativo da anandamida e compartilha uma semelhança estrutural com este endocanabinóide (46-48). Acredita-se que o NAGly ative o receptor canabinoide GPR18, mas não tem afinidade para o receptor canabinoide (CB) e o potencial receptor vanilóide transitório 1 (TRPV1) (46-48).

O receptor GPR18 ou N-araquidonilglicina, usado neste estudo, é um receptor acoplado à proteína G de sete transmembrana consistindo de 331 aminoácidos. O GPR18 foi encontrado em células do sangue periférico, tecidos linfoides, macrófagos com diferentes níveis de expressão para células citotóxicas e reparativas (49). Também está presente no cérebro (50), (51) e em algumas células de glioblastoma multiforme (52).

A sinalização de N-araquidonoil glicina (NAGly) -GPR18 foi introduzida como uma via importante na comunicação neuronal microglial, fornecendo um novo mecanismo (receptor e ligante) para migração direcionada e alterações fenotípicas na microglia (53). Os dados publicados apoiam fortemente um papel significativo para NAGly e GPR18 na regulação da microglia no Sistema Nervoso Central e, juntamente com o trabalho subsequente, têm implicações mais amplas para a nossa compreensão do sistema de ECB (54).

É importante notar que a migração dirigida, fagocitose seletiva e produção de radicais livres são funções críticas da microglia que têm um impacto significativo na estabilidade geral do Sistema Nervoso Central, tanto de uma perspectiva aguda como de longo prazo (55), (56 )

Neste estudo, o THCV se comportou como um ligante antagonista na estrutura do Receptor N-araquidonilglicina, permitindo a inferência da possível ação neuromoduladora desta molécula, à semelhança do que foi demonstrado no redocking, no qual o complexo do ligante co-cristalizou 4- Ácido ({[(4-clorofenil) sulfonil] amino} metil) piperidina-1-carboxílico ligado à estrutura do receptor N-araquidonilglicina no local da proteína cristalografada (4UUQ).

Até o momento, não há terapias medicamentosas aprovadas pela Food and Drug Administration que visem as interações receptor-ligante neuronal microglial. Em linha com isso, elucidar o sistema de comunicação neuronal-microglial NAGly-GPR18 tem o potencial de levar a novas farmacoterapias focadas no aumento (ligantes GPR18 otimizados) ou supressão (antagonistas GPR18 otimizados) da ativação microglial no Sistema Nervoso Central.

A molécula do THCV foi selecionada para docking molecular por apresentar maior predição de interação com o receptor N-araquidonilglicina ancorando-se no sítio ativo desse receptor e foi considerada, pelas análises farmacológicas computacionais descritas neste artigo, como um antagonista e, portanto, uma possível alteração da atividade microglial no SNC, um achado que merece uma investigação mais aprofundada.

A ativação microglial e a presença de fatores neuroinflamatórios são características bem conhecidas da doença de Parkinson e bem documentadas entre os pacientes68. Além disso, estudos têm demonstrado que a superativação da microglia leva a efeitos deletérios e exacerbação da resposta imune, especialmente a liberação de mediadores pró-inflamatórios. Conforme observado com o derivado CBG VC -003.2, a ativação microglial foi diminuída em ∆9-THCV, induzindo um efeito protetor ao amortecer a resposta imune (52)

Assim, este artigo, utilizando técnicas in silico com *Cannabis sativa*, levantou dados importantes para o planejamento futuro de um medicamento que tenha como base essa espécie vegetal. Portanto, é imprescindível a continuação dos trabalhos desenvolvidos in vitro e in vivo para aprofundar o estudo do THCV da *Cannabis sativa* como possível fármaco neuroprotetor.

**Conclusão**

Há evidências crescentes de que as disfunções astrocíticas podem ser as principais causas da patogênese de várias doenças neurodegenerativas, como doença de Parkinson (DP), doença de Alzheimer (DA), tumor, acidente vascular cerebral, neurotoxicidade associada ao HIV e esclerose lateral amiotrófica (ELA). A geração de abordagens de terapia celular para a substituição de células gliais (e não neuronais) em tecidos lesados, bem como o desenvolvimento de drogas direcionadas às células gliais, podem abrir novas perspectivas para a restauração do cérebro humano.

Nesse contexto, o estudo *in silico* da *Cannabis sativa*, abordado neste trabalho, elegeu o THCV como um metabólito ativo com atividade neuromoduladora por meio de uma possível alteração da atividade microglial no SNC. O docking do TCHV mostrou ancoragem dessa molécula no sítio ativo do receptor N-araquidonilglicina devido às atividades dessa espécie, portanto, esse marcador poderia atuar como um antagonista desse receptor, atuando como agente terapêutico nessas patologias neurodegenerativas**.**

**Referências:**

1. Hillig KW. Genetic evidence for speciation in Cannabis (Cannabaceae). Genet Resour Crop Evol. 2005;52(2):161–80.

2. Iuvone T, Esposito G, Esposito R, Santamaria R, Di Rosa M, Izzo AA. Neuroprotective effect of cannabidiol, a non-psychoactive component from Cannabis sativa, on β-amyloid-induced toxicity in PC12 cells. J Neurochem. 2004;89(1):134–41.

3. Brucki SMD, Frota NA, Schestatsky P, Souza AH, Carvalho VN, Manreza MLG, et al. Cannabinoids in neurology - Brazilian academy of neurology. Arq Neuropsiquiatr. 2015;73(4):371–4.

4. Blake DR, Robson P, Ho M, Jubb RW, McCabe CS. Preliminary assessment of the efficacy, tolerability and safety of a cannabis-based medicine (Sativex) in the treatment of pain caused by rheumatoid arthritis. Rheumatology. 2006;45(1):50–2.

5. Zuardi AW, Crippa JAS, Hallak JEC, Moreira FA, Guimarães FS. Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, as an antipsychotic drug. Brazilian J Med Biol Res. 2006;39(4):421–9.

6. Zuardi AW, Crippa JAS, Hallak JEC, Pinto JP, Chagas MHN, Rodrigues GGR, et al. Cannabidiol for the treatment of psychosis in Parkinsons disease. J Psychopharmacol. 2009;23(8):979–83.

7. Hussain SA, Zhou R, Jacobson C, Weng J, Cheng E, Lay J, et al. Perceived efficacy of cannabidiol-enriched cannabis extracts for treatment of pediatric epilepsy: A potential role for infantile spasms and Lennox-Gastaut syndrome. Epilepsy Behav [Internet]. 2015;47:138–41. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.04.009

8. Huchelmann A, Boutry M, Hachez C. Plant Glandular Trichomes : Natural Cell Factories of High Biotechnological Interest 1 [ OPEN ]. 2017;175(September):6–22.

9. Andre CM, Hausman JF, Guerriero G. Cannabis sativa: The plant of the thousand and one molecules. Front Plant Sci. 2016;7(FEB2016):1–17.

10. Appendino G, Chianese G, Taglialatela-Scafati O. Cannabinoids: Occurrence and Medicinal Chemistry. Curr Med Chem. 2011;18(7):1085–99.

11. Brighenti V, Pellati F, Steinbach M, Maran D, Benvenuti S. Development of a new extraction technique and HPLC method for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type Cannabis sativa L. (hemp). J Pharm Biomed Anal [Internet]. 2017;143:228–36. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.049

12. Pellati F, Brighenti V, Sperlea J, Marchetti L, Bertelli D, Benvenuti S. New methods for the comprehensive analysis of bioactive compounds in Cannabis sativa L. (hemp). Molecules. 2018;23(10).

13. Leweke FM, Koethe D. Cannabis and psychiatric disorders: It is not only addiction. Addict Biol. 2008;13(2):264–75.

14. Pertwee RG. The diverse CB 1 and CB 2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ 9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ 9-tetrahydrocannabivarin. Br J Pharmacol. 2008;153(2):199–215.

15. Lima LM. Biologia Molecular Década De 80.Pdf. 2007;30(6):1456–68.

16. Borges RS, Batista J, Viana RB, Baetas AC, Orestes E, Andrade MA, et al. Understanding the molecular aspects of tetrahydrocannabinol and cannabidiol as antioxidants. Molecules. 2013;18(10):12663–74.

17. Hampson AJ, Grimaldi M, Axelrod J, Wink D. Cannabidiol and (-)Δ9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998;95(14):8268–73.

18. Jiang R, Yamaori S, Takeda S, Yamamoto I, Watanabe K. Identification of cytochrome P450 enzymes responsible for metabolism of cannabidiol by human liver microsomes. Life Sci [Internet]. 2011;89(5–6):165–70. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2011.05.018

19. Grotenhermen F. Phytocannabinoide. Handbuch Psychoaktive Substanzen. 2018. 659–667 p.

20. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem 2019 update: Improved access to chemical data. Nucleic Acids Res. 2019;47(D1):D1102–9.

21. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. Sci Rep. 2017;7(January):1–13.

22. Sadym A, Lagunin A, Filimonov D, Poroikov V. Prediction of biological activity spectra via the Internet. SAR QSAR Environ Res. 2003;14(5–6):339–47.

23. Poroikov V V., Filimonov DA. How to acquire new biological activities in old compounds by computer prediction. J Comput Aided Mol Des. 2002;16(11):819–24.

24. Jarrahpour A, Fathi J, Mimouni M, Hadda T Ben, Sheikh J, Chohan Z, et al. Petra, Osiris and Molinspiration (POM) together as a successful support in drug design: Antibacterial activity and biopharmaceutical characterization of some azo Schiff bases. Med Chem Res. 2012;21(8):1984–90.

25. Banerjee P, Eckert AO, Schrey AK, Preissner R. ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. Nucleic Acids Res. 2018;46(W1):W257–63.

26. Drwal MN, Banerjee P, Dunkel M, Wettig MR, Preissner R. ProTox: A web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. Nucleic Acids Res. 2014;42(W1):3–8.

27. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. Nucleic Acids Res. 2019;47(W1):W357–3664.

28. Berman HM, Battistuz T, Bhat TN, Bluhm WF, Bourne PE, Burkhardt K, et al. The protein data bank. Acta Crystallogr Sect D Biol Crystallogr. 2002;58(6 I):899–907.

29. Korb O, Stützle T, Exner TE. Empirical scoring functions for advanced Protein-Ligand docking with PLANTS. J Chem Inf Model. 2009;49(1):84–96.

30. Lipinski CA. Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. Drug Discov Today Technol. 2004;1(4):337–41.

31. Dunkel M, Günther S, Ahmed J, Wittig B, Preissner R. SuperPred: drug classification and target prediction. Nucleic Acids Res. 2008;36(Web Server issue):55–9.

32. Carvalho VM. Farmacannabis-UFRJ: The first laboratory in Brazil to analyze therapeutic products derived from Cannabis. Brazilian J Anal Chem. 2017;4(16):44–9.

33. Hohmann AG, Suplita RL. Endocannabinoid mechanisms of pain modulation. AAPS J. 2006;8(4):693–708.

34. Jhaveri MD, Richardson D, Chapman V. Endocannabinoid metabolism and uptake: Novel targets for neuropathic and inflammatory pain. Br J Pharmacol. 2007;152(5):624–32.

35. Lambert DM. Allergic contact dermatitis and the endocannabinoid system: From mechanisms to skin care. ChemMedChem. 2007;2(12):1701–2.

36. Bisogno T, Di Marzo V. Short- and long-term plasticity of the endocannabinoid system in neuropsychiatric and neurological disorders. Pharmacol Res. 2007;56(5):428–42.

37. Matias I, Di Marzo V. Endocannabinoids and the control of energy balance. Trends Endocrinol Metab. 2007;18(1):27–37.

38. Pagotto U, Marsicano G, Cota D, Lutz B, Pasquali R. The emerging role of the endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance. Endocr Rev. 2006;27(1):73–100.

39. Bifulco M, Laezza C, Gazzerro P, Pentimalli F. Endocannabinoids as emerging suppressors of angiogenesis and tumor invasion (Review). Oncol Rep. 2007;17(4):813–6.

40. Di Marzo V. Targeting the endocannabinoid system: To enhance or reduce? Nat Rev Drug Discov. 2008;7(5):438–55.

41. Di Marzo V, Bifulco M, De Petrocellis L. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. Nat Rev Drug Discov. 2004;3(9):771–84.

42. D. P. The endocannabinoid system: a drug discovery perspective. :672–9.

43. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Adv Drug Deliv Rev. 2012;64(SUPPL.):4–17.

44. Pak, , William L.; Grossfield, Joseph; Arnold KS. © 1970 Nature Publishing Group. Nat Publ Gr [Internet]. 1970;228:726–34. Available from: http://www.mendeley.com/research/discreteness-conductance-chnge-n-bimolecular-lipid-membrane-presence-certin-antibiotics/

45. García C, Palomo-Garo C, García-Arencibia M, Ramos JA, Pertwee RG, Fernández-Ruiz J. Symptom-relieving and neuroprotective effects of the phytocannabinoid Δ 9-THCV in animal models of Parkinson’s disease. Br J Pharmacol. 2011;163(7):1495–506.

46. Huang SM, Bisogno T, Petros TJ, Chang SY, Zavitsanos PA, Zipkin RE, et al. Identification of a New Class of Molecules, the Arachidonyl Amino Acids, and Characterization of One Member That Inhibits Pain. J Biol Chem. 2001;276(46):42639–44.

47. Parmar N, Ho WSV. N-arachidonoyl glycine, an endogenous lipid that acts as a vasorelaxant via nitric oxide and large conductance calcium-activated potassium channels. Br J Pharmacol. 2010;160(3):594–603.

48. Sheskin T, Hanuš L, Slager J, Vogel Z, Mechoulam R. Structural requirements for binding of anandamide-type compounds to the brain cannabinoid receptor. J Med Chem. 1997;40(5):659–67.

49. Takenouchi R, Inoue K, Kambe Y, Miyata A. N-arachidonoyl glycine induces macrophage apoptosis via GPR18. Biochem Biophys Res Commun [Internet]. 2012;418(2):366–71. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.01.027

50. Gantz I, Muraoka A, Yang YK, Samuelson LC, Zimmerman EM, Cook H, et al. Cloning and chromosomal localization of a gene (GPR18) encoding a novel seven transmembrane receptor highly expressed in spleen and testis. Genomics. 1997;42(3):462–6.

51. Kohno M, Hasegawa H, Inoue A, Muraoka M, Miyazaki T, Oka K, et al. Identification of N-arachidonylglycine as the endogenous ligand for orphan G-protein-coupled receptor GPR18. Biochem Biophys Res Commun. 2006;347(3):827–32.

52. Finlay DB, Joseph WR, Grimsey NL, Glass M. GPR18 undergoes a high degree of constitutive trafficking but is unresponsive to N-Arachidonoyl Glycine. PeerJ. 2016;2016(3):1–29.

53. McHugh D, Hu SSJ, Rimmerman N, Juknat A, Vogel Z, Walker JM, et al. N-arachidonoyl glycine, an abundant endogenous lipid, potently drives directed cellular migration through GPR18, the putative abnormal cannabidiol receptor. BMC Neurosci. 2010;11.

54. McHugh D. GPR18 in microglia: Implications for the CNS and endocannabinoid system signalling. Br J Pharmacol. 2012;167(8):1575–82.

55. Ferrer I, Bernet E, Soriano E, Del Rio T, Fonseca M. Naturally occurring cell death in the cerebral cortex of the rat and removal of dead cells by transitory phagocytes. Neuroscience. 1990;39(2):451–8.

56. Wake H, Moorhouse AJ, Jinno S, Kohsaka S, Nabekura J. Resting microglia directly monitor the functional state of synapses in vivo and determine the fate of ischemic terminals. J Neurosci. 2009;29(13):3974–80.