



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

JADERSON VIEIRA FERREIRA

**PROPOSTAS DE FÁRMACOS ALTERNATIVOS BASEADOS EM LIGANTES
NATURAIS DO RECEPTOR CANABINOIDE CB1 PARA A SÍNDROME DE
ABSTINÊNCIA EM DEPENDENTES QUÍMICOS DE *Cannabis sativa***

Macapá
2016

JADERSON VIEIRA FERREIRA

**PROPOSTAS DE FÁRMACOS ALTERNATIVOS BASEADOS EM LIGANTES
NATURAIS DO RECEPTOR CANABINOIDE CB1 PARA A SÍNDROME DE
ABSTINÊNCIA EM DEPENDENTES QUÍMICOS DE *Cannabis sativa***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, como requisito à obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Lorane Izabel da Silva Hage Melim

Macapá
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

615.7827

F383p Ferreira, Jaderson Vieira.

Propostas de fármacos alternativos baseados em ligantes naturais do receptor canabinoide CB1 para a síndrome de abstinência em dependentes químicos de *Cannabis sativa* / Jaderson Vieira Ferreira; orientador, Lorane Izabel da Silva Hage Melim. -- Macapá, 2016.

107 p.

Dissertação (mestrado) – Fundação Universidade Federal do

JADERSON VIEIRA FERREIRA

**PROPOSTAS DE FÁRMACOS ALTERNATIVOS BASEADOS EM LIGANTES
NATURAIS DO RECEPTOR CANABINOIDE CB1 PARA A SÍNDROME DE
ABSTINÊNCIA EM DEPENDENTES QUÍMICOS DE *Cannabis sativa***

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, como requisito à obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas na área de Concentração em Tecnologia Aplicada a Fármacos.

Aprovado em: ____/____/____

Macapá, 29 de Setembro de 2016.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Lorane Izabel da Silva Hage Melim
(Orientadora)



Prof. Dr. Eliezer Jesus de Lacerda Barreiro
(Avaliador 1)



Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira
(Avaliador 2)

Ao Grande Criador de todas as moléculas existentes no Universo.:

AGRADECIMENTOS

Ao Grande Criador do Universo. Ser na qual a genialidade jamais poderá ser superada ou compreendida. Sem o qual eu nada seria.

À minha família, Nazaré, Juliana, Vinícius, Mariela e Vitória, que é meu farol e o apoio que está presente em todos os momentos da minha vida e que é o motivo para que eu levante todas as manhãs e acredite em um futuro melhor.

À minha orientadora, Profa, Lorane Hage Melim, que aceitou a difícil missão de me guiar pelos caminhos da ciência e do conhecimento, esclarecendo-me nos momentos de dúvida ou aflição e tornando possível a realização deste trabalho.

Ao prof. Cleydson Breno pela orientação aos meus questionamentos.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Modelagem e Química Computacional da UNIFAP, incluindo graduandos, pós-graduando e minha orientanda Gisele que em vários momentos deram uma importante contribuição nessa caminhada.

À UNIFAP que me proporcionou esta possibilidade de crescimento intelectual e a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução desta Dissertação.

Quem faz pode cometer falhas, mas a maior de todas as falhas é não fazer
nada.

(Benjamin Franklin)

RESUMO

A síndrome de abstinência a *Cannabis sativa* resulta da inibição da interação da substância Δ^9 -tetrahydrocannabinol com receptores canabinoides do tipo1 (CB1). Objetivou-se propor candidatos a fármacos para esta síndrome utilizando-se métodos computacionais. Na database BindingDB selecionou-se moléculas agonistas do receptor CB1 das quais no webservidor Pharmagist derivou-se o grupamento farmacofórico utilizado no webservidor ZINCPharmer para a triagem de moléculas baseadas neste farmacóforo. A similaridade estrutural calculada no BindingDB teve o resultado analisado no software Discovery Studio onde as moléculas ZINC975899 (01), ZINC1730183 (02), ZINC2131499 (03), ZINC3850100 (04), ZINC3850106 (05), ZINC4023027 (06) e ZINC4023028 (07) apresentaram maior semelhança estrutural com a molécula Pivô CID104895 (A). As predições das propriedades farmacocinéticas e de toxicidade foram calculadas, respectivamente, nos programas QikProp e DEREK. Todas as moléculas apresentaram valores de 100% de absorção no trato Gastrointestinal; alta predição de permeabilidade aparente tanto para células Caco2, células MDCK e barreira hematoencefálica. Nenhuma apresentou violação a regra dos 5 de Lipinski, além de, não apresentarem alertas de toxicidade. A predição da atividade biológica realizada pelo site PASS indicou que todas as moléculas, com exceção da molécula 06, tiveram predição de atividade sobre estimulação sobre quinases ativadas por mitógenos e/ou inibição da adenilato ciclase. Somente a molécula 02, segundo o website SEA, demonstrou predição positiva ao receptor CB1 humano e camundongo, além de ser a única considerada de fácil acessibilidade química, de acordo com o software SYLVIA. Baseado nas predições apresentadas neste trabalho conclui-se que a molécula 02 demonstra ser uma favorável proposta a ser estudada para o desenvolvimento de um fármaco que pode ser utilizado na síndrome de abstinência de dependentes químicos de *C. sativa*, sendo indicado a continuidade desta pesquisa aplicando-se outros métodos computacionais e experimentais.

Palavras chave: *Cannabis sativa*. Triagem virtual baseado em farmacóforo. Modelagem computacional. Similaridade estrutural. ADME/Tox.

ABSTRACT

Abstinence syndrome *Cannabis sativa* results from the inhibition of the interaction of Δ^9 -tetrahydrocannabinol substance with type 1 cannabinoid receptor (CB1). The objective was to propose drug candidates for this syndrome using computational methods. In database BindingDB was selected molecule agonists of the CB1 receptor, which in the webservidor Pharmagist derived the pharmacophore grouping used in ZINCPharmer webservidor for screening molecules based on this pharmacophore. The structural similarity calculated in BindingDB had analyzed results in Discovery Studio software where ZINC 975 899 (01) ZINC1730183 (02), ZINC2131499 (03), ZINC3850100 (04), ZINC3850106 (05), ZINC4023027 (06) e ZINC4023028 (07) molecules presented greater structural similarity to pivot CID104895 molecule (A). Predictions of pharmacokinetic and toxicity properties were calculated in QikProp and DEREK programs. All molecules presented 100% absorption values in the gastrointestinal tract; high apparent permeability prediction as much as Caco 2 cells, MDCK cells and blood-brain barrier. No present violation of Rule 5 of Lipinski, besides, presents no toxicity alerts. The prediction of biological activity performed by PASS site indicated that all molecules, except the 6 molecule, had activity stimulation on prediction of kinases activated for mitogen and/or inhibition of adenylate cyclase. Only the molecule 02, according to the SEA site, demonstrated positive predictive for human CB1 receptor and mouse, besides being considered the only chemical easy accessibility according SYLVIA software. Based on the predictions presented in this paper was concluded that the molecule 02 proves to be a favorable proposal being considered for the development of a drug which can be used in withdrawal syndrome addicts of *C. sativa*, indicating the continuity of this research by applying other computational and experimental methods.

Keywords: *Cannabis sativa*. Virtual screening based on pharmacophore. Computational modeling. Structural similarity. ADME/Tox.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação das estruturas químicas dos principais fitocanabinoides constituintes da <i>C. sativa</i>	23
Figura 2 -	Representação das estruturas químicas dos principais endocanabinoides.....	24
Figura 3 -	Localização dos receptores canabinoides no Sistema Nervoso Central.....	25
Figura 4 -	Representação da morfologia dos receptores CB1 e CB2.....	26
Figura 5 –	Representação da sequência dos aminoácidos intra e extracelulares dos receptores CB1 e CB2.....	26
Figura 6 -	Mecanismo de ação dos canabinoides sobre os receptores CB1.....	28
Figura 7 -	Representação das estruturas químicas dos agonistas canabinoides.....	33
Figura 8 -	Representação das estruturas químicas dos antagonistas canabinoides.....	35
Figura 9 -	Localização do Sistema de recompensa cerebral e sua relação com regiões de localização dos receptores canabinoides CB1.....	41
Figura 10-	Representação das estruturas químicas dos agonistas do Receptor CB1 selecionados a partir da base de dados BindingDB.....	58
Figura 11-	Modelo farmacofórico gerado pelo alinhamento de 22 ligantes de CB1, score de 20.923, usando o webserver PharmaGist.....	61
Figura 12-	Representação das estruturas químicas das moléculas da base ZINC que com maior similaridade estrutural em relação à molécula pivô CID104895.....	64

LISTA DE FIGURAS

- Figura 13-** Representação das estruturas químicas das moléculas com maior similaridade estrutural reconhecidas através da inspenção visual..... 65
- Figura 14-** Regiões farmacofóricas presentes na molécula Pivô CID104895 e a molécula Stemphol..... 85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Descritores e propriedades calculados pelo Qikprop e seus valores de parâmetro.....	67
Tabela 2 -	Predição de Propriedades Farmacocinéticas das 07 moléculas bioligantes.....	70
Tabela 3 -	Predições de toxicidade calculadas com DEREK para a molécula Pivô CID104895 e as 07 moléculas selecionadas pelo reconhecimento visual.....	72
Tabela 4 -	Predições de atividade biológica calculadas com PASS para a molécula Pivô CID104895 e as 07 moléculas selecionadas pelo reconhecimento visual.....	74
Tabela 5 -	Predições de atividade biológica calculadas com SEA para a molécula Pivô CID104895 e as 07 moléculas selecionadas pelo reconhecimento visual.....	75
Tabela 6 -	Predição da acessibilidade sintética da molécula Pivô CID104895 e das moléculas selecionadas pelo reconhecimento visual.....	77
Tabela 7 –	Propriedades físico-químicas das moléculas Pivô ZINC01730183 (A) e a Stemphol.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS

Δ^9 - THC	Delta-9-tetrahidrocanabinol
2-AG	2-aracdonoilglicerol
5-HT1A	5-hidroxitriptamina ou 5-HT
ADME	Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção
AEA	Araquidonoil etanolamina
AMPc	Adenosina Monofostato Cíclico
AOH	Absorção oral humana
ATP	Adenosina tri-fosfato
BHE	Barreira Hematoencefálica
Caco-2 cells	Células de adenocarcinoma coloretal
CBD	Canabidiol
CCK	Colecistocinina
Células MCF-7	células de câncer de mama
DEREK	Deductive Estimate of Risk from Existing Know-edge
eCBS	Endocanabinopides
EC50	Concentração Efetiva 50
GABA	Ácido gama amino butírico
ELISA	imunoensaio ligado a enzima
FBDD	Descoberta de medicamentos à base de fragmento
GPCRs	Receptores acoplados à proteína G
MAP quinases	Proteínas quinases ativadas por mitógenos
MDCK	Madin-Darby Canine Kidney
NMDA	N-metil D-aspartato
OEA	Oleoil etanolamina
OMS	Organização Mundial de Saúde
PASS	Espectro de Previsão de atividade de substâncias
PBHE	Penetração da barreira Hematoencefálica
PEA	Palmitol etanolamina
PKA	Proteína quinase A

LISTA DE ABREVIATURAS

RIA	radioimunoensaio
RMSD	Root mean squared difference – Desvio da raiz quadrada média
SEA	Abordagem por conjunto abordagem
SECB	Sistema endocanabinoide
SMEDDS	sistemas de distribuição de drogas auto-microemulsificantes
SNC	Sistema Nervoso Central
SSP	Princípio das propriedades semelhantes
SMEDDS	Sistema de entrega de auto-microemulsificação
Tc	Coeficiente de Tanimoto

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	17
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
3.1	PROBLEMAS DE DROGAS NO MUNDO.....	18
3.2	<i>A Cannabis sativa L</i> E SEUS CONSTITUINTES.....	21
3.3	RECEPTORES CANABINOIDES.....	23
3.3.1	Receptores canabinoides tipo 1 (CB1).....	27
3.3.2	Receptores canabinoides tipo 2 (CB2).....	29
3.4	CANABINOIDES ENDÓGENOS.....	30
3.5	AGONISTAS DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE.....	31
3.6	ANTAGONISTAS DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE.....	34
3.7	EFEITOS TÓXICOS DA <i>Cannabis sativa</i>	35
3.8	SISTEMAS DE REFORÇO E DEPENDÊNCIA.....	39
3.9	SÍNDROME DE ABSTINÊNCIA CAUSADA POR <i>Cannabis sativa</i>	43
3.10	TRATAMENTO PARA SÍNDROME DE ABSTINÊNCIA.....	44
3.11	PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS <i>in silico</i>	45
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	47
4.1	COMPOSTOS ESTUDADOS.....	47
4.2	DERIVAÇÃO E VALIDAÇÃO DO FARMACÓFORO.....	47
4.3	TRIAGEM BASEADO EM LIGANTES.....	49
4.3.1	Triagem baseada em farmacóforo.....	49
4.3.2	Busca por similaridade estrutural.....	50
4.4	PREDIÇÃO DE PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS E TOXICOLÓGICAS.....	52
4.4.1	Predição das Propriedades farmacocinéticas.....	52
4.4.2	Predição das Propriedades toxicológicas.....	52
4.5	PREDIÇÃO DE ATIVIDADE: PASS E SEA.....	53

4.6	PREDIÇÃO DE VIABILIDADE SINTÉTICA DOS LIGANTES NATURAIS SELECIONADOS.....	54
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
5.1	COMPOSTOS ESTUDADOS.....	56
5.2	DERIVAÇÃO DO FARMACÓFORO.....	60
5.3	TRIAGEM BASEADA EM LIGANTES.....	62
5.4	PREDIÇÃO DE PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS E TOXICOLÓGICAS.....	66
5.4.1	Predição das Propriedades farmacocinéticas.....	66
5.4.2	Predição das Propriedades toxicológicas.....	70
5.6	PREDIÇÃO DE ATIVIDADE: PASS E SEA.....	73
5.7	PREDIÇÃO DE VIABILIDADE SINTÉTICA PARA AS MODIFICAÇÕES: SYLVIA.....	76
5.8	ESTADO DA ARTE DAS MOLÉCULAS SELECIONADAS.....	77
5.8.1	Molécula ZINC01730183	77
5.8.2	Molécula ZINC975899.....	79
5.8.3	Molécula ZINC2131499.....	80
5.8.4	Molécula ZINC3850100.....	81
5.8.5	Molécula ZINC3850106.....	81
5.8.6	Molécula ZINC4023027.....	82
5.8.7	Molécula ZINC4023028.....	83
5.9	COMPARAÇÃO ENTRE O STEMPHOL E A MOLÉCULA AGONISTA DE MAIOR ATIVIDADE CID104895.....	83
6	CONCLUSÃO.....	86
	REFERÊNCIAS.....	87

1 INTRODUÇÃO

A quimiodependência e o consumo de drogas representam um problema crônico que afeta uma parcela significativa da população mundial. Usuários de drogas ilícitas causam prejuízos, econômicos e sociais, para milhões de pessoas. Segundo a definição da Organização Mundial de Saúde – OMS, o termo droga ilícita refere-se a qualquer substância que tem a propriedade de atuar sobre um ou mais sistemas fisiológicos produzindo alterações em seu funcionamento.

A planta *Cannabis sativa*, vulgarmente chamada de maconha ou marijuana é a droga ilícita mais consumida e comercializada na grande maioria dos países, sendo consumida principalmente na forma de fumo, por cerca de 20% da população jovem mundial. O Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) é a substância capaz de causar os efeitos psicoativos da *C. sativa* através da sua atuação sobre os chamados receptores canabinoides do tipo 1 (CB1), presentes no Sistema Nervoso Central, e assim como as outras drogas, pode desencadear a síndrome de abstinência, isto é, efeitos desagradáveis no caso da interrupção de uso por usuários frequentes da planta, mais especificamente sobre a inibição da atuação do Δ^9 -THC sobre os receptores CB1. Esta síndrome se caracteriza por agressão, anorexia, bruxismo, irritabilidade, hiperreatividade, redução do estímulo à busca de alimentos, tremores e alucinações visuais.

A questão atual é que estes sintomas são tratados com fármacos que tratam exclusivamente os sintomas, não ocorrendo uma especificidade sobre os receptores CB1, cuja alteração está diretamente ligada a estes sintomas. Devido ao exposto pode-se fazer o seguinte questionamento: Fármacos que sejam ligantes seletivos sobre os receptores CB1 não poderiam ser mais eficientes de modo que os sintomas da síndrome de abstinência sejam mais eficientemente atenuados?

A hipótese é que esta busca de fármacos exclusivos para o tratamento do usuário de *C. sativa* seja realizada em grupos de moléculas agonistas do receptor CB1, devido ao fato de que os sintomas que ocorrem durante a síndrome de abstinência são manifestados pela falta/inibição da droga neste receptor, causando sintomas contrários aqueles manifestados quando a droga é utilizada recreativamente. Estes agonistas devem atuar sobre os mesmos locais que o Δ^9 -THC age, mas, sem a manifestação psicoativa desta molécula.

Com isso, este trabalho objetiva-se propor moléculas candidatas a fármacos alternativos para a síndrome de abstinência em dependentes químicos de *C. sativa* L. utilizando-se métodos computacionais, como a triagem virtual de moléculas baseadas no farmacóforo gerado do alinhamento de agonistas do receptor CB1, além de se calcular propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e toxicológicas destes ligantes naturais baseados neste farmacóforo. O conhecimento sobre a atividade biológica das moléculas em estudo, bem como, a acessibilidade sintética da molécula é de suma importância para o prosseguimento da pesquisa.

Estudos de moléculas para o tratamento da síndrome de abstinência em dependentes químicos causada pela ação principalmente de drogas lícitas em usuários frequentes são realizados com ligantes agonistas. Pode-se citar principalmente a utilização do tartarato de vareniclina, um agonista do receptor nicotínico para o alívio dos sintomas de abstinência e a dependência a nicotina. Devido o fato da dependência de *C. sativa* está associada com risco de se desenvolver esquizofrenia e outros transtornos, inclusive, o transtorno bipolar, além de desencadear a síndrome de abstinência com alterações cognitivas, motivacionais, psicóticas e afetivas, causando sérios transtornos para o indivíduo e para a sociedade, justifica-se o estudo de moléculas agonistas a serem utilizadas como fármacos durante a síndrome de abstinência causada pela interrupção do uso da planta. Justifica-se também o estudo destas moléculas agonistas devido o fato de que são justamente estes sintomas os principais responsáveis pela recaída, isto é, a busca novamente pelo uso, conseqüentemente, a continuidade do vício.

Este trabalho busca propor fármacos alternativos baseados em ligantes naturais do receptor canabinoide do tipo 1 (CB1) para a síndrome de abstinência em dependentes químicos de *C. sativa* devido a quimiodependência ser um problema cada vez crescente na sociedade mundial. A metodologia para que se obtenha propostas de fármacos baseia-se nos métodos computacionais utilizando-se webserveres e programas direcionados para o planejamento virtual de fármacos, onde predições do grupamento farmacóforo, de propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e toxicológicas, bem como a acessibilidade química foram calculadas, de modo que, se possa afirmar que as moléculas em estudo possam ser consideradas opções promissoras e uma alternativa farmacoterapêutica na síndrome de abstinência causada pela *C. sativa*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Propor candidatos a fármacos alternativos para a síndrome de abstinência apresentada em dependentes químicos de *Cannabis sativa* L. utilizando métodos computacionais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Derivar o farmacóforo dos ligantes de receptores CB1;
- b) Identificar ligantes naturais com as características farmacofóricas preditas com base em triagem virtual;
- c) Calcular propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e toxicológicas dos ligantes naturais selecionados;
- d) Predizer a atividade biológica dos ligantes naturais selecionados;
- e) Determinar a acessibilidade sintética dos ligantes naturais selecionados.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PROBLEMAS DE DROGAS NO MUNDO

O termo droga, segundo a definição da Organização Mundial de Saúde – OMS, abrange qualquer substância não produzida pelo organismo que tem a propriedade de atuar sobre um ou mais de seus sistemas produzindo alterações em seu funcionamento (UNODC, 2015), podendo ser derivadas de produtos minerais, vegetais e animais e apresentarem efeitos terapêuticos ou recreativos sobre o indivíduo (RATES, 2001).

Consequentemente, é considerada droga a cocaína e suas alterações sobre neurotransmissores como, por exemplo, a dopamina (WILLUHN et al., 2014); os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) que apesar dos reconhecidos efeitos tóxicos para o organismo ou meio-ambiente (CLEUVERS, 2004) são muito utilizados; o socialmente aceito etanol, mesmo com seu registrado efeito sobre acidentes de trânsito (HOLMGREN; HOLMGREN; AHLNER, 2005); a *Cannabis sativa* e suas alterações cognitivas e motoras (VOLKOW et al., 2014); o cigarro que apesar de tratamentos farmacológicos eficazes para a dependência deste (FIORE, 2008) e mesmo com seus reconhecidos componentes prejudiciais (NEWCOMB; CARBONE, 1992) está há décadas entre a principal causa de câncer em inúmeros órgãos (SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2015); a heroína que é uma droga opióide semissintética e está fortemente correlacionada com a propagação do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) (TYAGI, 2016); a cafeína que segundo pesquisas apresenta alterações hepáticas (MOLLOY et al., 2012); o ecstasy (3,4 metilenodioximetanfetamina) cujo uso recreativo está aumentando em todo o mundo, inclusive por mulheres grávidas, cujos bebês adquirem um comprovado retardamento mental e motor (SINGER, 2016). Mesmo as drogas empregadas com finalidade terapêutica, principalmente no caso de opiáceos, a possibilidade do surgimento da dependência química existe (PIPER et al., 2016).

O consumo de substâncias e as farmacodependências representam um importante problema crônico para sociedades em todo o mundo. Segundo o Relatório Mundial sobre Drogas de 2015 do Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNODC), estima-se que um total de 246 milhões de pessoas, ou 1^a

cada 20 pessoas entre as idades de 15 e 64 anos, usou um tipo de drogas ilícitas em 2013. Isso representa um aumento de 3 milhões durante o ano anterior (UNITED NATIONS, 2015). Usuários de drogas problemáticos, por outro lado, somam por volta de 27 milhões, população de um país como a Malásia, cerca de 0,6% da população adulta mundial, ou 1 em cada 200 pessoas (WORLD DRUG REPORT, 2014). Cerca de 12,19 milhões de pessoas usam drogas injetáveis, situação que favorece a contaminação por vírus transmissíveis por este meio, como o HIV por exemplo (DEGENHARDT; HALL, 2012). Dos usuários de drogas injetáveis, estima-se que 1,65 milhões de pessoas contraíram a doença em 2013 (UNITED NATIONS, 2015). A dependência simultânea de duas ou mais drogas, lícitas ou ilícitas como álcool, opioides, heroína apresentam um agravante nesta situação, de modo que alguns usuários permanecem por décadas transitando de uma dependência para outra (DURAND, 2016). Pesquisas indicam que o uso de opiáceos (heroína e ópio) manteve-se estável no nível global, nas Américas e na Europa o consumo de cocaína tem diminuído em geral, enquanto o uso de *C. sativa* e o uso não médico de produtos farmacêuticos opioides têm continuado a subir (UNITED NATIONS, 2015)

Apesar do consumo da *C. sativa* estar diminuindo no mundo por conta do aumento do uso de derivados da cocaína (Crack, Merla), a planta ainda é a droga ilícita mais consumida e comercializada na grande maioria dos países (WORLD DRUG REPORT 2014). O lucro do comércio da *C. sativa* é mais alto comparado a outras drogas ilícitas, sendo que, apenas os produtores de *C. sativa* recebem uma parte substancialmente maior do preço de varejo comparado com outras drogas, como cocaína e heroína. Estudos estimaram um mercado de varejo global de *C. sativa* entre 40 bilhões e 125 bilhões de euros há quase uma década (REUTER; TRAUTMANN, 2007).

Cerca de 20% da população jovem mundial usa *C. sativa*, sendo a adolescência uma etapa do desenvolvimento que suscita grandes preocupações quanto ao consumo de drogas, pois constitui uma época de exposição e vulnerabilidade às mesmas. A curiosidade, a oferta de um amigo e a diversão são apontados como os principais motivos de início de consumo referidos pelos adolescentes usuários de drogas (CHEN; KANDEL; DAVIES, 1997), além do fator agravante que é o uso de drogas socialmente aceitas, principalmente o tabaco, que induzem o jovem a busca ou exposição ao cigarro de *C. sativa* (AMOS et al., 2004).

No Brasil, a Lei nº 11.343/2006 estabelece as normas para repressão à produção não autorizada, tráfico ilícito, atenção e reinserção social de usuários e dependentes de drogas. O Poder Executivo classificou a *C. sativa* como uma planta proscrita constando na Lista “E” da Portaria no 344/98 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Assim como na maioria dos países, a substância ilícita com maior prevalência de uso no Brasil é a *C. sativa*. Do total da população adulta, 5,8%, ou seja, 7,8 milhões de brasileiros adultos declarou já ter usado a substância alguma vez na vida. Entre os adolescentes esse número é de 597 mil indivíduos (4,3%) dentre quase 14 milhões de adolescentes brasileiros (JUNGGERMAN et al., 2010). Apesar de uma parcela da sociedade ser pró-liberação de *C. sativa*, estima-se que a descriminalização desta pode levar a cerca de 260.000 novos usuários (SAFFER; CHALOUPKA, 1999).

As reduções na reatividade dos neurônios de dopamina que modulam regiões de recompensa do cérebro sugerem que o uso de *C. sativa* na adolescência pode influenciar vários comportamentos de dependência na idade adulta, fato comprovados em dados epidemiológicos e pré-clínicos (PISTIS et al., 2004). A referência como “porta-de-entrada” para outras drogas da *C. sativa* se dá por duas explicações a) esta droga é fornecida pelo mesmo mercado negro de outras drogas, b) os efeitos farmacológicos da *C. sativa* aumentam a propensão de usar outras drogas ilícitas (HALL; DEGENHARDT, 2009) esta situação predispõem usuários ao uso de outras drogas, como por exemplo, a cocaína e posteriormente, heroína. (HALL; LYNKEY, 2005; LEVINE et al., 2011).

Toda a sociedade está em risco de vício. Vícios são endêmicos à condição humana e todos tem o potencial para se tornar um viciado. Segundo o Museu Interativo Sobre as Adicções no México, vícios são pandemias globais, considerando "O vício como uma doença não uma escolha", sendo que mesmo as pessoas com nenhum risco genético de base podem se tornar viciados se seu ambiente é estressante (JONES, 2012). Poucas doenças podem competir com o vício em sua capacidade de gerar desinformação, erro de julgamento, ou mal-entendido e a aceitação da dependência como uma doença crônica e dinâmica (HSER, 2001) ao invés de uma escolha é um conceito complexo e relativamente atual (LANCET, 2012).

A adicção é um estado de uso compulsivo de drogas; apesar do tratamento e de outras tentativas de controlar o consumo de drogas a dependência tende a persistir. O uso compulsivo e persistente de drogas envolvem mecanismos moleculares e celulares relacionados a processos normais relacionadas com a recompensa e a entrada da dopamina no mesencéfalo (HYMAN; MALENKA; NESTLER, 2006). No caso do uso em longo prazo da *C. sativa*, estudos apontam uma redução da sensibilidade a alguns neurotransmissores, diminuindo assim as sinapses em regiões do Sistema Nervoso Central (SNC), predispondo a adicção (HOFFMAN et al., 2003).

Atualmente, classifica-se como usuário de drogas ou “adicto” no caso da vida do indivíduo ser orientada para o consumo de uma ou mais substâncias, quando este tem dificuldade para interromper voluntariamente ou modificar o consumo e se sofre sintomas físicos, desencadeando a chamada síndrome de abstinência quando a droga lhe é retirada. (BABOR et al., 1994).

As drogas ilícitas em geral, entre elas a *C. sativa*, têm múltiplos efeitos cognitivos alterando a velocidade de processamento de informação, memória de trabalho, funções executivas e visual-espacial (HONARMAND et al., 2011). Estes efeitos variam segundo o nível de dose ou segundo a sensibilidade genética do usuário (LYNSKEY et al., 2002), exercendo sua influência de acordo com o momento e o ambiente onde são consumidas, tanto que modificações nestes ambientes são necessárias no caso de reabilitação do usuário de *C. sativa* (GODLEY et al., 2005).

3.2 A *Cannabis sativa* L. E SEUS CONSTITUINTES

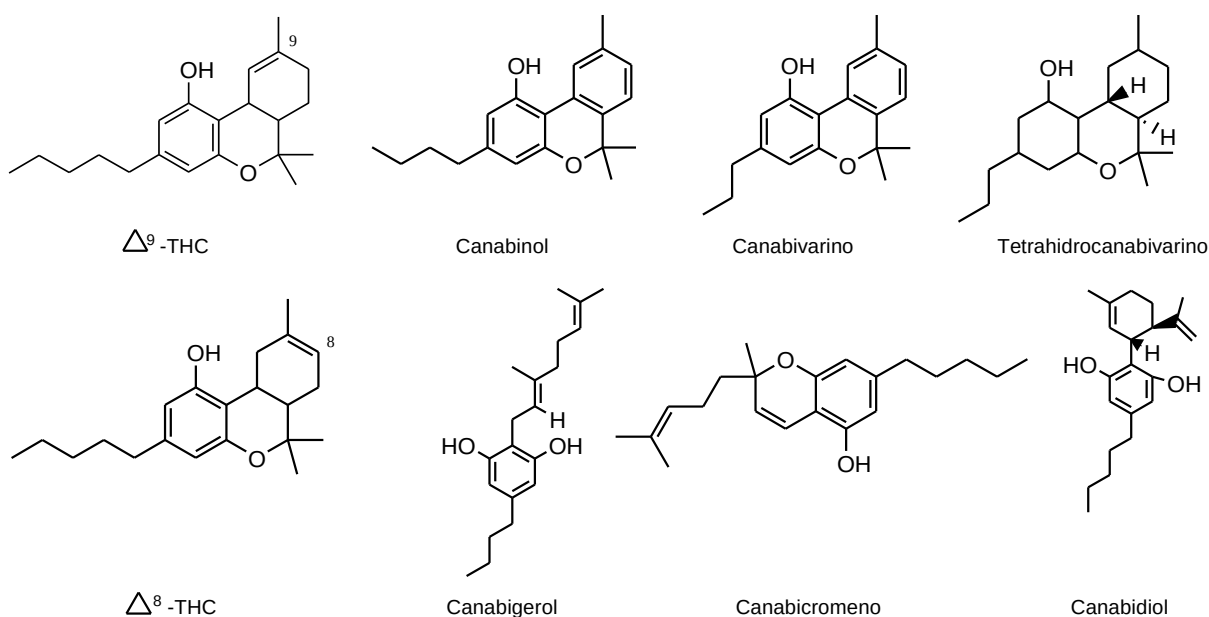
Antes da Era Cristã, a *C. sativa* foi utilizada na Ásia como medicamento, com grande importância na Índia. No Séc. VI a.C. os assírios consumiam *C. sativa* por suas atividades psicoativas, por este motivo chamavam a planta de *ganzi-gun nu* (“a droga que tira a mente”) ou *azzalu* (droga de “depressão de espíritos”), e também por suas propriedades medicinais. Na China e na Índia, a *C. sativa* era conhecida pela dupla natureza dos seus efeitos sendo citada na farmacopeia médica como recomendada para inúmeras doenças, mas quando tomada em excesso pode causar “visões de demônios” (MECHOULAM; PARKER, 2011).

A introdução desta planta na Medicina Ocidental ocorreu em meados do século XIX, atingindo o clímax na última década deste século, com a disponibilidade e o uso de extratos e tinturas da *Cannabis*. Nas primeiras décadas do século XX, o uso médico da *C. sativa* no Ocidente diminuiu significativamente, em grande parte pela dificuldade na obtenção de resultados consistentes de amostras da planta com diferentes potências. Ao contrário da morfina e cocaína, que tinham sido isoladas e disponibilizadas no século XIX, a identificação da estrutura química de componentes da folha de *C. sativa* e a possibilidade de se obter seus constituintes puros foram alcançadas somente a partir de 1965 com o avanço das técnicas de separações cromatográficas modernas, isolamentos e a elucidação de estruturas químicas (GAONI; MECHOULAM, 1964).

A *C. sativa* biosintetiza mais de 600 substâncias químicas, incluindo mais de 60 canabinoides diferentes que são agora reconhecidos tanto para os seus efeitos tóxicos como seus potenciais terapêuticos (BHATTACHARYYA; SCHOELER, 2013). O principal componente e responsável pela atividade psicoativa da planta, identificada na década de 1960, é o Delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), (GAONI; MECHOULAM, 1964). Além do Δ^9 -THC, estão presentes o Canabinol (CBN), carboxilados do THC, Canabivarino, Tetrahydrocannabivarino, Δ^8 -THC, e os mais abundantes canabidióis são o canabigerol (CBG), canabicromeno (CBC) e o Canabidiol (CBD) sendo que este último constitui cerca de 40% das substâncias ativas da planta (Figura 1) (HOWLETT et al., 2004).

A utilização médica de derivados canabinoides tem crescido nas últimas décadas, como é o exemplo do canabidiol. Este composto possui propriedades ansiolíticas e antipsicóticas (HILL; GORZALKA, 2005) comprovadas em seres humanos (TREZZA; CAMPOLONGO, 2013). O mecanismo ansiolítico do canabidiol ainda não é bem compreendido, mas, envolve uma ação com o receptor 1A de serotonina (5-HT_{1A} agonista) (CAMPOS; GUIMARÃES, 2008). A interação do canabidiol com este receptor diminui a captação de serotonina, monoamina neurotransmissora envolvida na inibição da ira, agressão, temperatura corporal, humor e sono (LAUCKNER et al., 2008).

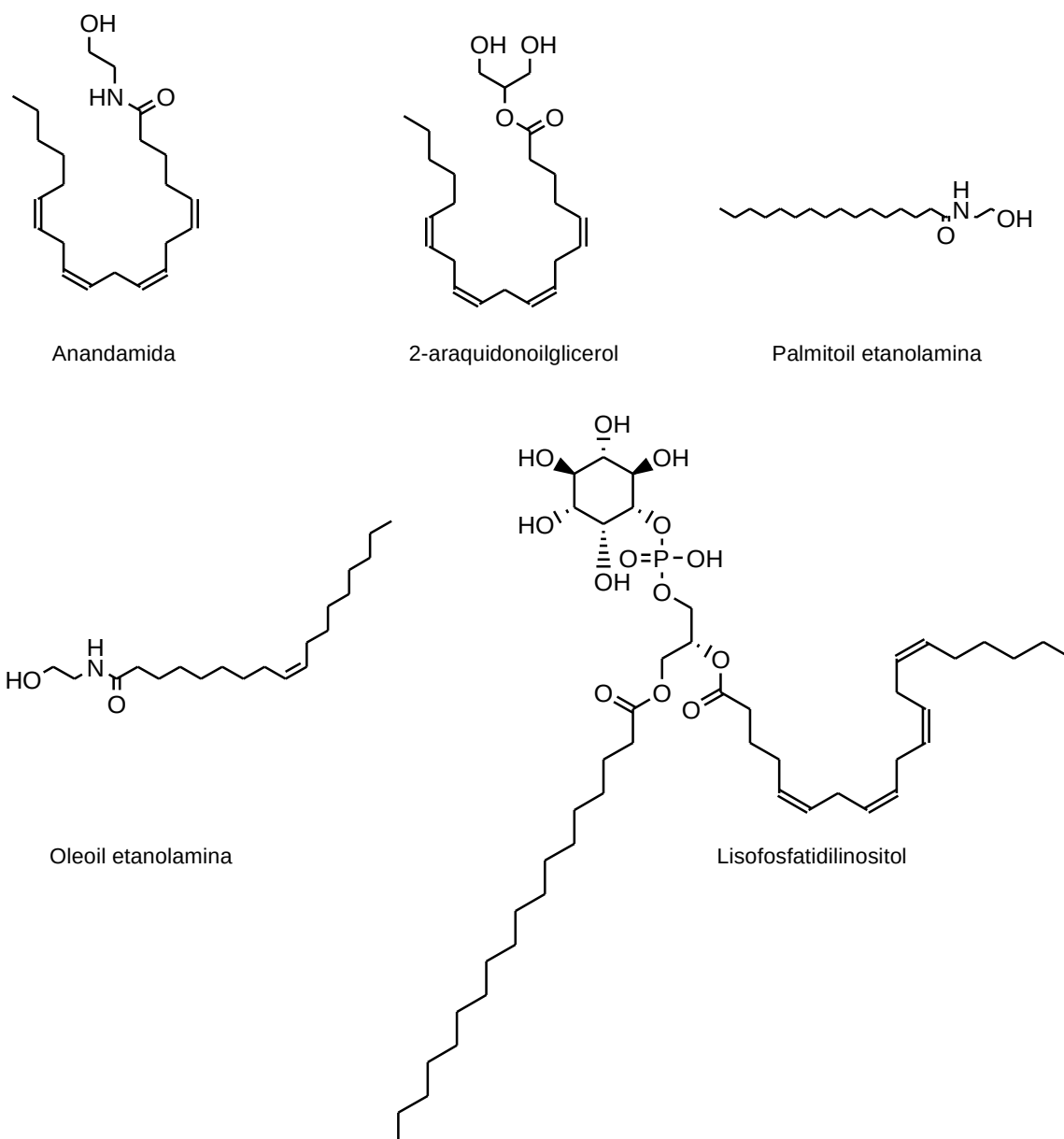
Figura 1 – Representação das estruturas químicas dos principais fitocanabinoides constituintes da *C. sativa*.



3.3 RECEPTORES CANABINOIDES

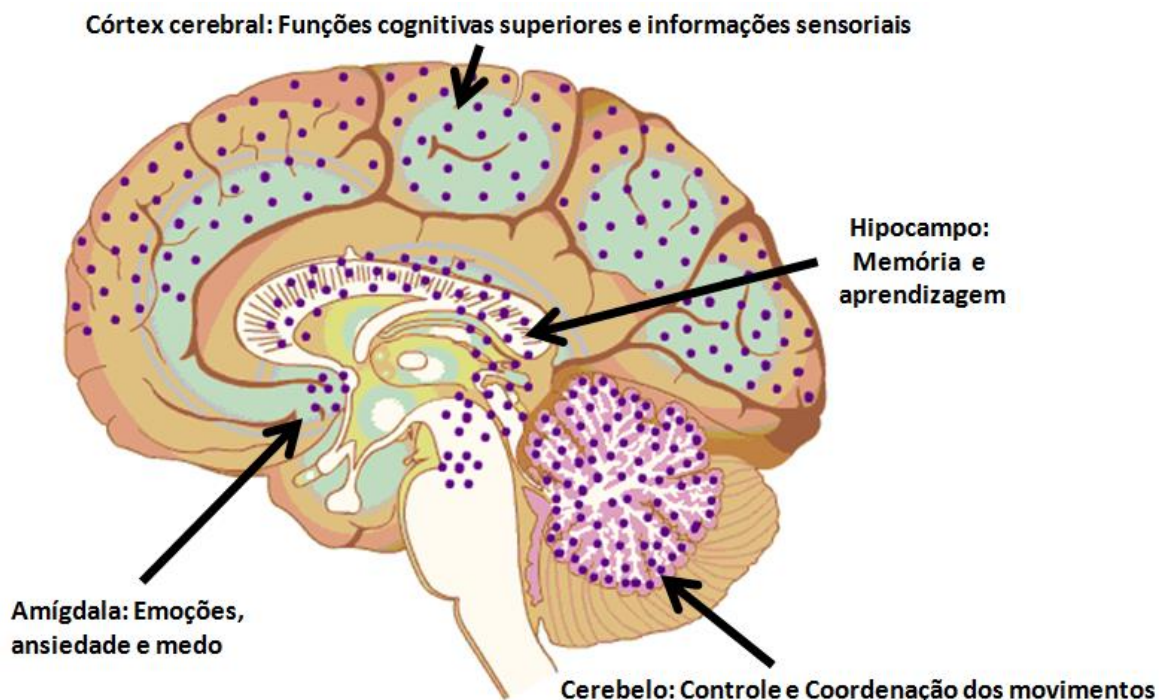
A identificação dos sítios de ligação seletivos de Δ^9 -THC no cérebro (DEVANE; DYSARZ; JOHNSON, 1988), a clonagem de um receptor canabinoide tipo 1 (MATSUDA, 1990) e posteriormente um segundo receptor, tipo 2, periférico (MUNRO; THOMAS; ABU-SHAAR, 1993) representaram um marco na pesquisa canabinoide. Os receptores canabinoides do tipo 1 e do tipo 2 (CB1 e CB2, respectivamente); os ligantes endógenos, tais como o araquidonoil etanolamina (AEA, também chamada de anandamida); 2-araquidonoilglicerol (2-AG); palmitoil etanolamina (PEA) e oleoil etanolamina (OEA), coletivamente chamados de endocanabinoides (eCBs); e as enzimas responsáveis pela síntese e pelo catabolismo dos endocanabinoides são chamados coletivamente de Sistema Endocanabinoide (SECB) e que atua em processos que abrangem tanto o SNC quanto periférico (Figura 2) (PERTWEE et al., 2010).

Figura 2 – Representação das estruturas químicas dos principais endocanabinoides.



O hipocampo, córtex cerebral, amígdala e cerebelo foram identificados como regiões ricas em receptores canabinoides no SNC (LORENZETTI; SOLOWIJ; YÜCEL, 2015) (Figura 3). Os receptores canabinoides, respectivos ligantes endógenos e enzimas de produção, transporte e degradação dos endocanabinoides formam o SECB (ZANETTINI, 2011).

Figura 3 - Localização dos receptores canabinoides no Sistema Nervoso Central



Fonte: <http://reginaldobatistasartes.blogspot.com.br/2011/12/as-drogas-imagens-.html?view=snapshot>

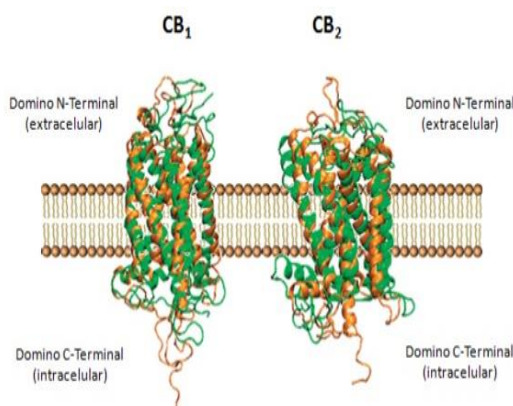
O receptor CB1 foi clonado a partir do receptor de rato e do receptor de humano, pois, ambos apresentam entre 97 e 99% de identidade de sequência de aminoácidos entre as espécies ao passo que o CB2 apresenta 44% de identidade com o receptor canabinoide CB2 (MONTERO, 2005). As figuras 4 e 5 representam a morfologia dos receptores CB1 e CB2, bem como, a representação da sequência dos aminoácidos que compõem ambos os receptores.

Os efeitos biológicos dos compostos canabinoides se devem à sua interação com os dois tipos de receptores proteicos, CB1 e CB2, que são receptores transmembranares acoplados à proteína G (GPCRs) (TUCCINARDI et al., 2006) e atuam por meio da inibição da enzima adenilato ciclase celular, que é uma glicoproteína transmembranar que catalisa ATP para formar AMPc com a ajuda de cofator Mg^{2+} ou Mn^{2+} . O AMPc produzido é um segundo mensageiro no metabolismo celular e um ativador alostérico da proteína quinase A (PKA). A ativação da PKA pelo AMPc leva a fosforilação de resíduos de serina em outras proteínas na cascata de sinalização (DEMUTH; MOLLEMAN, 2006) (Figura 6).

Interações entre o sistema canabinoide com outros sistemas de receptores já foram confirmadas, portanto, alguns dos efeitos comportamentais de canabinoides

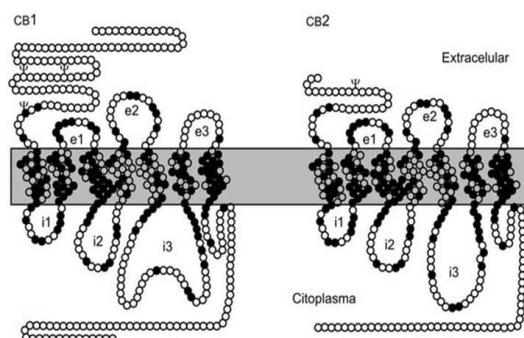
podem ocorrer através de uma ação sinérgica com outros receptores e suas vias de transdução de sinal (AUCLAIR et al., 2000). Os receptores opioides induzem os seus efeitos farmacológicos e compartilham diversas ações com canabinoides, por exemplos, hipotermia, hipotensão, depressão motora e efeitos antinociceptivos (BLOOM et al, 1972; RECHE; FUENTES; RUIZ-GAYO, 1996; MANZANARES et al., 1999) fomentando o fato do desenvolvimento de fármacos baseados nestas interações, além da capacidade dos canabinoides terem efeito direto sobre a síntese e liberação de opióides endógenos tais como encefalinas e dimorfinas (TANDA et al., 1997; MANZANARES et al, 1999).

Figura 4 – Representação da morfologia dos receptores CB1 e CB2.



Fonte: http://www.anales.ranf.com/2014/vol3/07_1517.htm

Figura 5 – Representação da sequência dos aminoácidos intra e extracelulares dos receptores CB1 e CB2.



Fonte: <http://www.monografias.com/trabajos917/cannabinoides-neurobiologia-usos/cannabinoides-neurobiologia-usos2.shtml>

3.3.1 Receptor canabinoide tipo 1 (CB1)

Os receptores canabinoides CB1 estão presentes em áreas associadas ao controle motor, resposta emocional, aprendizagem e memória, comportamentos orientados por objetivos, homeostase energética e funções cognitivas superiores, entre outras. Nos órgãos e tecidos periféricos, os CB1 são expressos em baixa densidade e são responsáveis pela maioria dos efeitos psicotrópicos dos canabinoides. Ao contrário do padrão de outros sistemas neuroreceptores, os níveis de receptores CB1 em ratos são aumentados na transição da adolescência para a vida adulta (VERDURAND et al., 2011), fato que sugere a propensão da busca por compostos canabinoides nesta fase da vida.

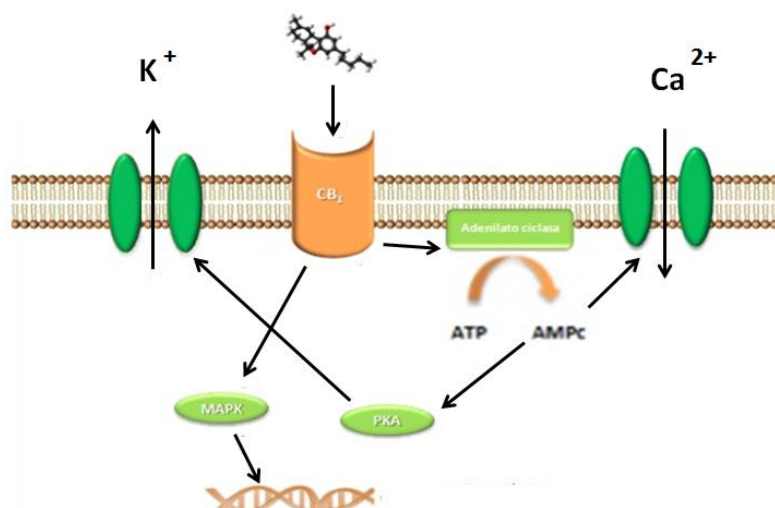
O receptor CB1 é um membro da subfamília de receptores acoplados à proteína G (GPCRs) mais abundante no SNC humano, sendo até mais numerosos que a quantidade de receptores inotrópicos glutamatérgicos e encontram-se predominantemente no terminal pré-sináptico, embora presente em pequena quantidade em nervos periféricos, e sua função parece ser a de modular a liberação de neurotransmissores como dopamina, noradrenalina, glutamato e serotonina na fenda sináptica (HOWLETT, 2002a).

A inibição da adenilato ciclase por canabinoides psicoativos em regiões mais densamente povoadas de receptores CB1 foi identificada inicialmente em células de neuroblastoma N18TG2 e a partir daí, em muitas outras preparações (HOWLETT, 1985). Esta inibição causa a modulação da concentração de AMPc intracelular, regulando assim a fosforilação de proteína quinase A (PKA), fato que pode resultar em grandes alterações na atividade celular, como por exemplo, a regulação de canais de K⁺ submetidos a ação de PKA no hipocampo (MU et al., 2000). Agonistas canabinoides, como o WIN 55,212-2 (Figura 7) interagem com este receptor (MANEUF; BROTHIE, 1997), curiosamente aumentando a acumulação de AMPc dentro do poro formado no interior transmembranar (MUKHOPADHYAY et al., 2002).

Proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAP quinases) são enzimas de transdução de sinal importantes envolvidas na regulação celular em funções fisiológicas de controle da expressão gênica, proliferação e morte celular programada (apoptose) (CHANG; KARIN, 2001). Estudos confirmam uma ligação positiva dos receptores CB1 com MAP quinase, de modo que, *in vivo*, a

administração aguda de Δ^9 -THC e agonistas do receptor canabinoide CB1: CP 55940, WIN 55,212-2, anandamida e 2-AG (Figura 2) estimulam a MAP quinase de cobaias (DERKINDEREN et al., 2001, 2003).

Figura 6 - Mecanismo de ação dos canabinoides sobre os receptores CB1.



Fonte: http://www.anales.ranf.com/2014/vol3/07_1517.htm

A plasticidade sináptica consiste na capacidade de rearranjo por parte das redes neuronais constituindo um importante mecanismo de recuperação ou adaptação em caso de lesão e fornecem a base para a maioria dos modelos de aprendizagem, memória e desenvolvimento em circuitos neurais (ABBOTT; NELSON, 2000). O fator neurotrófico derivado do cérebro (FND) e o gene *Krox-24* têm reconhecida importância para a plasticidade sináptica (KNAPSKA; KACZMAREK, 2004; BRAMHAM; MESSAOUDI, 2005) e são impedidos através da ativação de MAP quinase, inclusive, estudos indicam que receptores canabinoides interferem no processo fisiológico e podem alterar de modo negativo a plasticidade sináptica (AUCLAIR et al., 2000).

A maioria destes efeitos moduladores dos canais iônicos dependentes de voltagem, principalmente K^+ e Ca^{2+} são mediados através do receptor CB1 isto sugere que a liberação do Ácido gama-aminobutírico (GABA), neurotransmissor responsável pela inibição do SNC (SCHALLY, 1977) é mediada por estes receptores, de modo que um aumento na concentração intracelular de Ca^{2+} pode ser

um dos mecanismos de diminuição da capacidade dos neurônios para neutralizar despolarizações, favorecendo o aumento de disparo de potenciais de ação e, assim, induzir a hiperexcitabilidade no hipocampo (SCHWEITZER, 2000). Esta diminuição da liberação de GABA e Glutamato influenciam em funções cognitivas cerebrais como aprendizado e memória (HOWLETT et al., 2004).

Os neurônios do córtex cerebral que expressam o grupo de receptores acoplados à proteína G, chamados de receptores de CCK, e que são responsáveis pela liberação do neuropeptídeo Colescistocinina (CCK) (HUANG, 2016), cuja ação no hipotálamo produz a sensação de saciedade, também expressam os receptores CB1 (DAVIES; PERTWEE; RIEDEL, 2002). De modo que a ativação de receptores CB1 também ativa os receptores de CCK inibindo assim, a liberação de CCK (BEINFELD; CONNOLLY, 2001), e influenciando negativamente na saciedade do indivíduo frente ao alimento (SMITH; JEROME; CUSHIN, 1981), efeito chamado vulgarmente como “larica”.

Polimorfismos do gene CB1 já foram observados e a sua importância ainda é desconhecida, mas sugere-se estarem ligados a susceptibilidade aumentada a dependência a *C. sativa* e a alterações neuropsiquiátricas (ZHANG et al., 2004).

Áreas ricas em receptores CB1 mostram uma elevada expressão de receptores de *N-metil D-aspartato* (NMDA), um aminoácido neurotransmissor agonista envolvido na neurotransmissão do glutamato sendo importantes no controle do movimento e a formação da memória (OSSOWSKA, 2001). As substâncias canabinoides têm mostrado efeitos duais sobre a atividade do receptor de NMDA influenciando em mecanismos de aquisição de memórias e aprendizado (DEMUTH; MOLLEMAN, 2006).

3.3.2 Receptor canabinoide tipo 2 (CB2)

A principal e mais conhecida localização dos receptores CB2 em seres vivos é em tecidos não-neuronais, principalmente no sistema imune e células hematopoiéticas. No entanto, a localização exclusivamente periférica dos receptores CB2 já vinha sendo questionada quando, em 2006, confirmou-se a existência destes receptores no sistema nervoso, ainda que em proporções bem inferiores àquela dos receptores CB1 (DAVIES; PERTWEE; RIEDEL, 2002). Como os receptores CB2

desempenham um papel importante nas respostas neuroinflamatórias, doenças neurodegenerativas, tais como esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica e doença de Alzheimer, atualmente, estão se tornando alvo de pesquisas farmacêuticas neste sentido (UM et al., 2013), inclusive, a concentração destes receptores parece estar aumentada em regiões cerebrais específicas relacionadas a estas patologias (CLARKE, 2008).

Assim como nos receptores CB1, os receptores CB2 também podem modular a adenilil-ciclase e a atividade das MAP quinases, através da sua capacidade para acoplar a proteína G (FELDER, 1995), com a exceção de não modularem canais iônicos (MCALLISTER, 1999). A atuação dos receptores CB2 parece fazer parte de um sistema geral de proteção visto que sua ativação não tem associação com efeitos psicoativos. Moléculas agonistas destes receptores estão sendo testadas em patologias neuropsiquiátricas, cardiovasculares e hepáticas (MECHOULAM; PARKER, 2011).

3.4 CANABINOIDES ENDÓGENOS

A descoberta dos receptores canabinoides sugeriu a existência de que moléculas endógenas poderiam estimular ou inibir estes receptores (DEVANE; DYSARZ; JOHNSON, 1988). Como os compostos presentes na *C. sativa* são compostos lipídicos presume-se que quaisquer possíveis moléculas canabinoides endógenas (endocanabinoides) também seriam lipídios. Os primeiros destes compostos a serem isolados foram a anandamida e o 2-AG a partir tecidos periféricos (DEVANE et al., 1992), e a partir de então, vem sendo bastante estudados (ZANETTINI, 2011).

A anandamida e o 2-AG não são armazenados em vesículas, como a maioria dos neurotransmissores, como por exemplo, a acetilcolina, dopamina e serotonina, mas sim são sintetizadas quando e onde eles são necessários. Com ação principalmente pré-sináptica (HOWLETT et al., 2004), os endocanabinoides são rapidamente removidos por um processo de transporte de membrana ainda não completamente caracterizado (TANIGUCHI et al., 2011). A supressão de enzimas como a hidrolase de amida de ácido graxo, que hidrolisa a anandamida e as

hidrolases mono-acilo, que hidrolisa o 2-AG prolongam a atividade dos endocanabinoides (GAETANI, 2009).

Embora não haja evidência sólida de que a ativação de receptores CB1 pré-sinápticos podem conduzir à inibição da liberação de um número de diferentes neurotransmissores excitatórios ou inibitórios tanto no cérebro e no sistema nervoso periférico, existe a evidência de que os agonistas do receptor CB1 podem estimular a liberação de dopamina no núcleo *accumbens* (GARDNER, 2005). Este efeito aparentemente deriva de uma inibição do receptor de canabinoide mediada da liberação de glutamato (MECHOULAM; PARKER, 2011). Em relação a memória e ansiedade, a participação das moléculas de endocanabinoides ainda permanece escasso de maiores estudos (BUSQUETS-GARCIA et al., 2011), embora, a influência na liberação do glutamato, neurotransmissor que desempenha um papel chave no potencial de longa duração e importante para a memória e aprendizado, sugira que estas moléculas tenham participação em inúmeras desordens relacionadas a neurodegeneração (FALLIS, 2013).

3.5 AGONISTAS DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE

O mundo científico tem grande interesse em estudar os compostos da *C. sativa* devido ao grande potencial terapêutico da planta com promessas esperançosas de produção de novos medicamentos para doenças como obesidade, síndrome metabólica associada, esclerose múltipla, dores crônicas, entre outras (HOWLETT, 1985; PATTON, 2002; JUTRAS-ASWAD et al., 2009; HONARMAND et al., 2011; SHRINIVASAN et al., 2012; FILBEY; YEZHUVATH, 2015).

A identificação e isolamento do Δ^9 -THC a descoberta dos receptores CB1 (ABOOD et al., 1997) e CB2 (BOUABOULA et al., 1999) e de substâncias endocanabinoides (OXFORD, 1995), levou a uma extensa procura de compostos mais potentes com atividade agonistas CB1 seletivos, agonistas mistos CB1/CB2, que atuem tanto sobre o SNC ou apenas na periferia e que podem vir a ter uso terapêutico (HANUS; MECHOULAM, 2010). O receptor acoplado à proteína G GPR55, ganhou notoriedade após sua identificação como um subtipo de receptor canabinoide com seletividade a alguns agonistas canabinoides, como por exemplo, o Lisofosfatidilinositol (LPI) (Figura 3) (HEYNEN-GENEL, 2011). Embora sejam

estudos iniciais o GPR55 desponta como um alvo alternativo para uma maior compreensão da dependência a *C. sativa* e possível utilização terapêutica.

Impulsionados pelo fato de que os receptores CB1 serem abundantes em estruturas cruciais para a formação de memórias, diversos grupos têm se dedicado a estudar os efeitos do Δ^9 -THC e outros canabinoides sintéticos sobre o processamento de informação, visto que, agonistas canabinoides inibiram a potencial de longa duração (FALLIS, 2013), um provável mecanismo celular para a formação de memórias *in vitro*.

O componente psicoativo primário da *C. sativa*, o Δ^9 -THC é um agonista parcial do receptor CB1 e seus efeitos reforçadores resultam da ativação desse receptor em diferentes regiões do SNC (ZHUANG et al., 1998).

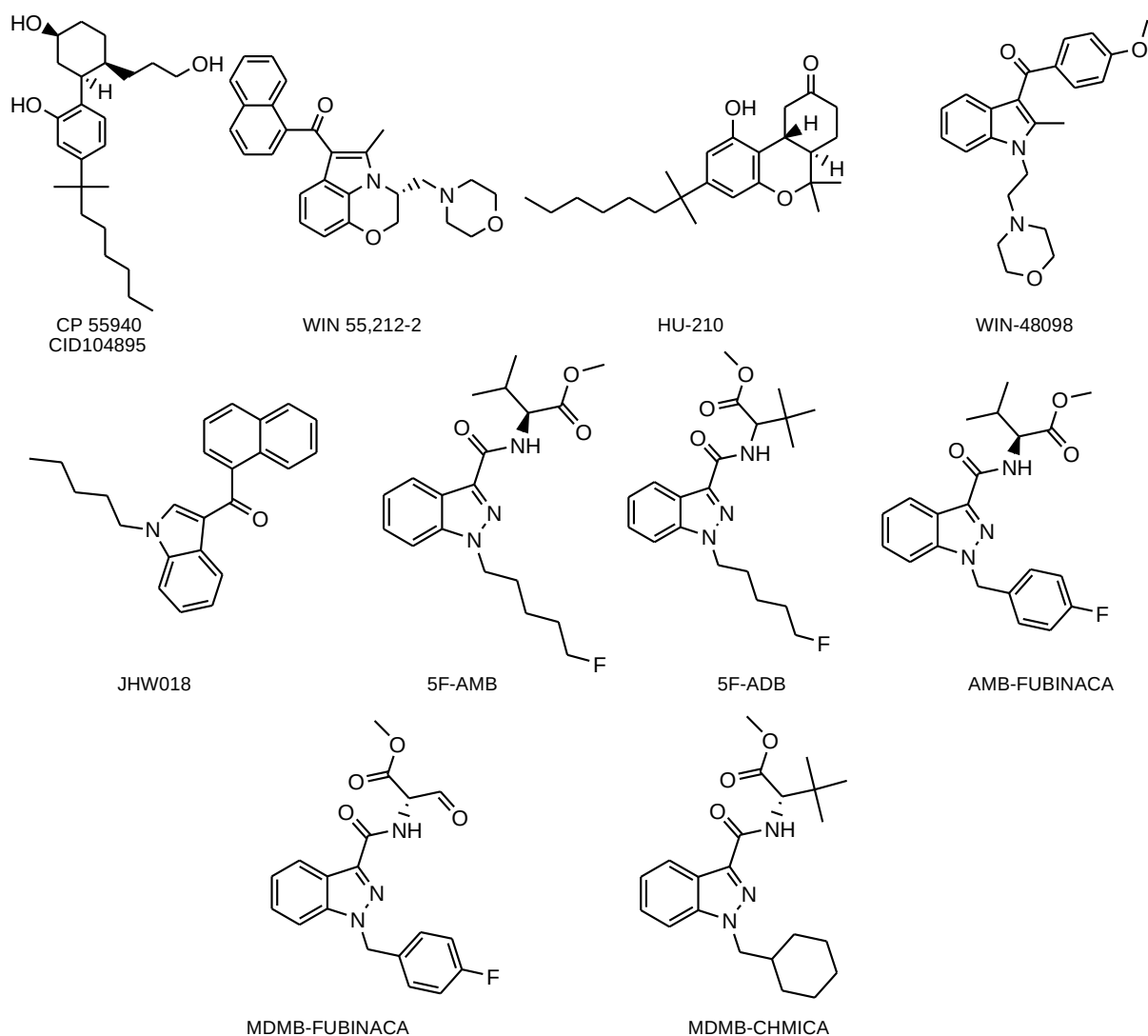
Os primeiros canabinoides sintéticos, como o HU-210 [3- (1,1-dimetil-heptil)-(-)-11-hidroxi-delta 8-tetra-hidrocanabinol] (Figura 7) eram análogos estruturais do Δ^9 -THC (BEILIN et al., 2000), mas após a descoberta do composto WIN-48098 (Figura 7), um derivado do analgésico Pravadolina (BRADFORD et al., 1990) e que não se assemelha com o Δ^9 -THC (COMPTON et al., 1992) novas moléculas, como o potente agonista JWH-018 (1-Pentil-3-(1-naftoil) indol) (Figura 7) (LOVETT; WOOD; DARGAN, 2015) foram descobertos e utilizados ilicitamente em substituição ao Δ^9 -THC, com ocorrências médicas relatadas (LAPOINT; NELSON, 2011; DUNHAM; HOOKER; HYDE, 2012).

Alguns agonistas, como por exemplo, o WIN-55,212-2, chamado usualmente de Nabilona (MARTELOTTA et al., 1998), o CP-55940 (DEAN et al., 2001) ou o HU-210 (Figura 7) (COLLINS; PERTWEE; DAVIES, 1995) apresentam a mesma afinidade pelos receptores CB1 e CB2. Os canabinoides sintéticos 5F-AMB, 5F-ADB, AMB-FUBINACA, MDMB-FUBINACA, MDMB-CHMICA (Figura 7) surgiram recentemente como drogas recreativas e seu uso tem sido associado com sérios efeitos adversos à saúde e os seus análogos. Todas estes compostos agem como agonistas potentes, altamente eficazes e com maior potência do que Δ^9 -THC em CB1 e CB2, mas, com uma preferência geral para a ativação de CB1 (BANISTER et al., 2016a).

As propriedades tóxicas dos dois canabinomiméticos mais predominantes deste grupo, 5F-AMB e MDMB-FUBINACA, foram demonstradas *in vivo*, utilizando ratos em biotelemetria. A bradicardia e hipotermia foram induzidas por doses de 0,1-

1 mg 5F-AMB e MDMB-FUBINACA/kg (e 3 mg / kg para 5F-AMB), com MDMB-FUBINACA mostrando maior resposta hipotérmica (BANISTER et al., 2016b)

Figura 7 – Representação das estruturas químicas dos agonistas canabinoides.



Os agonistas de receptor de canabinoides apesar do uso ilícito estão entre o grupo de substâncias químicas mais investigadas para tratamentos farmacológicos, deste grupo pode-se destacar a Nabilona como uma das principais moléculas utilizadas em pesquisas de inibição de náuseas e/ou vômitos; na inibição da neurodegeneração (SHEN; THAYER, 1998); na inibição de ansiedade (KATHURIA et al., 2003); no tratamento de distúrbios gastrointestinais tais como diarreia (HOUGHTON et al., 1991); no tratamento de inflamação aguda relacionada com, por

exemplo, trauma e inflamação crônica relacionadas com doenças autoimunes, tais como artrite reumatoide, doença de Crohn, colite ulcerosa e pulmonar inflamação (MASSA et al., 2004); no tratamento de glaucoma (LONGO; FRIEDMAN; DEVINSKY, 2015); no tratamento da hipertensão; no tratamento de perturbações do movimento / doenças tais como a doença de Parkinson; e no tratamento ou prevenção de aterosclerose (STEFFENS et al., 2005).

Os medicamentos canabinoides agonistas poderiam 1) atenuar os sintomas de abstinência, visto que a administração de moléculas antagonistas manifestam estes sintomas (KOURI, 2000) 2) diminuir os efeitos reforçadores da *C. sativa*, ou 3) reduzir as fissuras ou urgências por *C. sativa* (i.e., efeito de substituição) (BUDNEY; VANDREY; STANGER, 2010), pois, já está comprovado há décadas que antagonistas exacerbam profundamente estes sintomas em animais tolerantes a Δ^9 -THC (TSOU; PATRICK; WALKER, 1995).

3.6 ANTAGONISTAS DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE

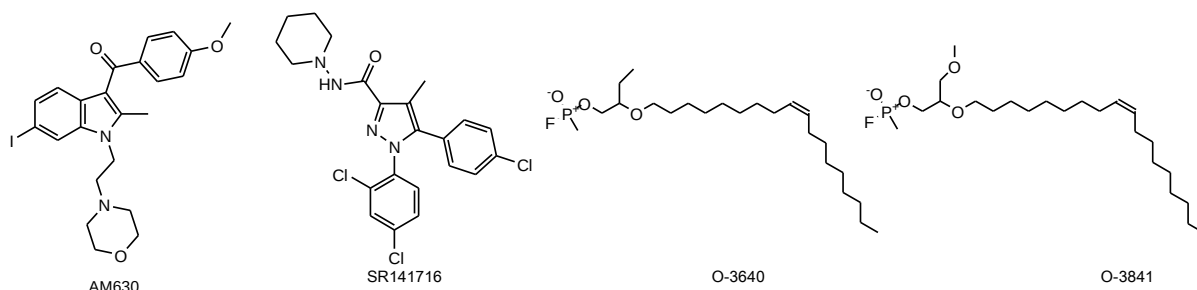
Vários antagonistas com diferentes afinidades por receptores CB1 e CB2 já foram sintetizados. O primeiro composto e protótipo desenvolvido que se acopla ao receptor CB1 e bloqueia os efeitos de seus ligantes endógenos foi o SR141716 (Figura 8), chamado usualmente de Rimonabanto, que foi comercializado como um antagonista, ou mais precisamente um agonista inverso do receptor CB1 (JBILLO et al., 2005). Devido ao fato dos agonistas do receptor CB1 aumentarem o apetite, este fármaco seria uma alternativa no tratamento da obesidade, entretanto, devido à sua natureza lipofílica, o Rimonabanto teria a propriedade de atravessar a Barreira hematoencefálica (BHE) e ingressar no SNC, por este motivo a droga foi retirada do mercado devido relatos de transtornos psiquiátricos, ansiedade e tendências suicidas (GADDE; ALLISON, 2006).

O SR141716 (Figura 8), como já citado, é um antagonista seletivo do receptor CB1, bloqueia os efeitos tóxicos agudos de Δ^9 -THC como, por exemplo, a taquicardia (ARNONE et al., 1997). A administração aguda de SR141716 precipita sinais de abstinência em animais que receberam Δ^9 -THC por longos períodos (LOWE; MARTIN, 1996). A capacidade de SR141716 para antagonizar também os efeitos psicológicos produzidos pela *C. sativa* consumida por usuários apresentou,

inicialmente, a possibilidade da molécula se tornar um fármaco para o tratamento durante a fase aguda da dependência a esta planta (HUESTIS et al., 2001), mas, estudos posteriores comprovaram que os sintomas da síndrome de abstinência são, infelizmente, exacerbados caso o SR141716 seja administrado nesta situação (BICKEL; POPE, 2016).

Os receptores CB2 podem ser bloqueados de forma seletiva pelo antagonista AM630 (Figura 8) (PERTWEE et al., 1995; ROSS et al., 1999). Alternativa para se reduzir a sinalização de endocanabinoides seria a inibição das enzimas anabólicas, apesar desta estratégia não ter sido amplamente explorada, devido à diversidade de mecanismos responsáveis pela síntese de anandamida e de 2-AG, síntese esta que pode ser inibida pelos compostos O-3640 e o O-3841 (Figura 8) (SAITO; WORJAK; MOREIRA, 2010). Estes inibidores possuem potência e especificidade necessárias para que possam ser utilizados como ferramentas farmacológicas para investigar mais detalhes sobre as funções do sistema endocanabinoide (BISOGNO et al., 2006).

Figura 8 – Representação das estruturas químicas dos antagonistas canabinoides.



3.7 EFEITOS TÓXICOS DA *Cannabis sativa*

Os efeitos da *C. sativa* dependem de uma mistura de fatores como a dose recebida, o modo de administração, a experiência anterior do usuário com esta droga, o estado de humor e o ambiente social em que ela é usada (HALL, 2005). Segundo estudos e relatos de usuários, uma das principais razões para o uso ilícito da *C. sativa* é a experiência de uma leve euforia, relaxamento e alterações

perceptivas, incluindo distorção de tempo e intensificação de experiências comuns, como comer, ler, tocar um instrumento, ouvir a música, e se engajar durante o ato sexual (GREEN; KAVANAGH; YOUNG, 2003; HALL; DEGENHARDT, 2009). Quando usado em um contexto social, a euforia poderia ser acompanhada pelo riso incontrolável, tagarelice e aumento da sociabilidade (HALL; DEGENHARDT, 2009).

As alterações sobre as funções motoras e cognitivas decorrentes do uso regular da *C. sativa* já são conhecidas e estudadas há quase meio século (BORG; GERSHON; ALPERT, 1975). Estudos indicam uma propensão dos usuários serem menos conscientes das normas sociais, além de uma diminuição da resposta emocional (GILMAN et al., 2016), sendo que, no caso da utilização de *C. sativa* por indivíduos depressivos estes eram quatro vezes mais propensos a aumentar o estado de depressão e experimentarem ideias suicidas com perda da capacidade de sentir prazer, em relação aos usuários que não tem diagnóstico e sintomas depressivos (BOVASSO, 2001).

A dose humana letal de Δ^9 -THC é entre 15 e 70g (GABLE, 2004) e dificilmente um usuário mesmo que crônico atinge esta dose. Os efeitos adversos agudos mais comuns são a ansiedade, reações de pânico e sintomas psicóticos, mais frequentemente relatados por usuários ingênuos (HALL, 2005).

O cérebro permanece em um estado de desenvolvimento desde o período pré-natal até a idade de aproximadamente 21 anos (GOGTAY et al., 2004), por este motivo, quanto menor a idade do usuário de *C. sativa*, mais vulnerável é o seu cérebro aos efeitos adversos do Δ^9 -THC. Adultos que fumavam *C. sativa* regularmente durante a adolescência têm menor conectividade neural em regiões específicas do cérebro. Regiões que possuem funções relacionadas a estado de alerta e consciência e áreas do hipocampo importantes na aprendizagem e na memória (ZALESKY et al., 2012).

O sistema canabinoide desempenha um papel de destaque na formação de sinapses durante o desenvolvimento cerebral (GAFFURI; LADARRE; LENKEI, 2012) e a redução da conectividade funcional deste sistema se caracteriza como um dos principais efeitos adversos do uso da *C. sativa*, pois, afetam também funções executivas responsáveis pelo processamento de hábitos e controle da inibição de uma resposta sináptica (FILBEY; YEZHUVATH, 2015). Esta redução é particularmente proeminente quando a utilização começa na adolescência ou início

da idade adulta o que pode explicar a associação entre o uso frequente de *C. sativa* da adolescência para a idade adulta e quedas significativas no QI (MEIER et al., 2012).

Como citado anteriormente, o uso de *C. sativa* regular é associado com um risco aumentado de ansiedade e depressão com um aumento de até cinco vezes de mais ocorrência desta patologia entre mulheres usuárias (PATTON, 2002), e no caso de uma vulnerabilidade genética pré-existente, relacionada ao gene da catecol-o-aminotransferase (COMT), psicoses associadas a esquizofrenia também podem se manifestar (CASPI et al., 2005).

Como o uso de *C. sativa* prejudica funções cognitivas de níveis mais básicos até os mais complexos, como a capacidade de planejar, organizar e tomar decisões tanto durante a intoxicação aguda e na crônica (CREAN; CRANE; MASON, 2011) é esperado que muitos estudantes usuários de *C. sativa* apresentem um nível cognitivo abaixo de sua capacidade natural para períodos de tempo consideráveis. Os prejuízos cognitivos são mais mensuráveis e de longa duração principalmente entre aqueles que começaram a usar *C. sativa* no início da adolescência (MEIER et al., 2012). O uso de *C. sativa* em longo prazo causam prejuízos na memória e atenção que persistem e pioram com o aumento do tempo de uso regular (SOLOWIJ; STEPHENS; ROFFMAN, 2002)

Tanto a exposição imediata como a exposição em longo prazo à *C. sativa* atrapalha a capacidade de condução no trânsito (VOLKOW et al., 2014). Estudos experimentais mostram diminuição no desempenho de condução em resposta a situações de emergência de usuários de *C. sativa* (PECK, 1995) indicando que os usuários que dirigem enquanto estão sob efeito da planta estão em maior risco de acidentes, tanto que, esta é a droga ilícita cada vez mais relatada em conexão com a condução e acidentes fatais (BRADY; LI, 2014).

Dados epidemiológicos indicam que os usuários de *C. sativa* apresentaram maiores taxas de internação por lesão em relação a ex-usuários ou não-usuários em um grupo de 64.657 pacientes de uma organização de manutenção da saúde (HARTMAN, 2013). Pesquisas comprovam que o consumo de 300µg/kg de *C. sativa* geram efeitos equivalentes ao efeito incapacitante de uma dose de álcool com uma concentração de ≥ 0.05 mg/l, isto é, atingindo o limite legal na maioria dos países,

inclusive, o Brasil (RAMAEKERS, 2009), podendo aumentar o risco de acidente de trânsito em 2-3 vezes (BRADY; LI, 2014).

Embora estudos epidemiológicos não tenham dados consistentes sobre a possibilidade de uma associação positiva entre o uso da *C. sativa* e câncer do trato respiratório superior (CALLAGHAN; ALLEBECK; SIDORCHUK, 2013), câncer de células escamosas da cabeça e pescoço (ZHANG et al., 2012), evidências sugerem que o risco para o aparecimento desta doença é maior principalmente quando o uso de *C. sativa* é associado com o álcool (HASHIBE, 2006). Outros trabalhos apontam correlação entre o uso da *C. sativa* em associação com o tabaco e o aparecimento de câncer de pulmão (MEHRA, 2006).

O uso de *C. sativa* também está associado a inflamação das vias aéreas superiores e pulmonares, que consistem no fato de que fumantes crônicos de *C. sativa* são mais propensos a relatar sintomas de bronquite crônica, com apresentação de sibilos, produção de muco e tosse pertinente, do que os não-fumantes (TASHKIN, 2013). A competência imunológica do sistema respiratório em fumantes de *C. sativa* também pode ser comprometida, como indicado pelo aumento das taxas de infecções respiratórias e pneumonia (PLETCHER, 2012) acarretando uma maior utilização dos serviços de saúde para infecções respiratórias (OWEN; SUTTER; ALBERTSON, 2014). Um aumento do risco de alterações cardiovasculares com consequente enfarte do miocárdio, acidente vascular cerebral, acidentes isquêmicos transitórios tem sido associados com o uso agudo e crônico da *C. sativa* (THOMAS; KLONER; REZKALLA, 2014). Um aumento do ritmo cardíaco é observado de maneira dose-dependente e pouco afetando jovens saudáveis, a preocupação existe sobre adultos com histórico de doenças cardiovasculares (FROST et al., 2013).

A fumaça da *C. sativa* contém os mesmos agentes cancerígenos, mas, em concentrações diferentes que o tabaco. O amoníaco, por exemplo, é encontrado em níveis até 20 vezes superior na *C. sativa*. Cianeto de hidrogênio, aminas aromáticas estão presentes em concentrações de 3 a 5 vezes maiores que no fumo do tabaco. Em relação a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, substâncias reconhecidamente cancerígenas (BOSTRÖM et al., 2002), estão presente em concentrações mais elevadas no tabaco (MOIR et al., 2008). As evidências carcinogênicas da planta são consideradas relevantes devido a estudos que

associam a *C. sativa* a mutagenicidade e carcinogenicidade no teste da pele do rato, e que o uso crônico de *C. sativa* mostra alterações patológicas nas células pulmonares que precedem o desenvolvimento do câncer de pulmão (BERTHILLER et al., 2008).

A exposição à *C. sativa* durante a gravidez pode alterar os processos normais e trajetórias de desenvolvimento de sistemas neurotransmissores causando maior vulnerabilidade a distúrbios neuropsiquiátricos em certos indivíduos (JUTRAS-ASWAD et al., 2009). Estudos epidemiológicos indicam que este hábito está consistentemente associado com a redução do peso ao nascer, embora, esta diminuição seja menor do que o fumo do tabaco (SOLOWIJ, 2002). Outras anormalidades seriam o atraso no desenvolvimento do sistema visual logo após o nascimento e tremores que normalmente cessam após o primeiro mês de nascimento (TAPER, 2007). Crianças nascidas de usuárias de *C. sativa* apresentaram aumento da delinquência e problemas comportamentais, incluindo abandono escolar precoce, mas, devido a diversos fatores sociais e econômicos estes resultados ainda são inconclusivos (VERWEIJ et al., 2013).

3.8 SISTEMAS DE REFORÇO E DEPENDÊNCIA

O comportamento humano é guiado por dois sistemas semi-independentes de processamento da informação. Um sistema, ascendente (*bottom-up*) é considerado de associação rápida, não-intencional e vinculado ao afeto, em geral impulsivo, envolvendo uma avaliação automática do estímulo em termos de sua relevância motivacional e emocional. O outro sistema, descendente (*top-down*) é racional-analítico, intencional, incluindo processos controlados relacionados à tomada de decisão, regulação da emoção e expectativas de resultados (HEATHERTON; WAGNER, 2011). O uso de substâncias psicoativas promove alterações em substratos neurais relacionados à emoção e à motivação (prazer e recompensa). A sensibilização desses sistemas e dos seus correlatos neurais pode automatizar um conjunto de ações que levam à procura e ao uso impulsivo da droga (SINHA, 2008). Por este motivo, considera-se que os esquemas de ação associados ao uso da substância se tornam progressivamente automáticos, pois, com o uso repetido da

droga, os estímulos relacionados a ela (ex.: imagens, sons, odores) passam a integrar uma rede associativa armazenada na memória (PEUKER et al., 2013).

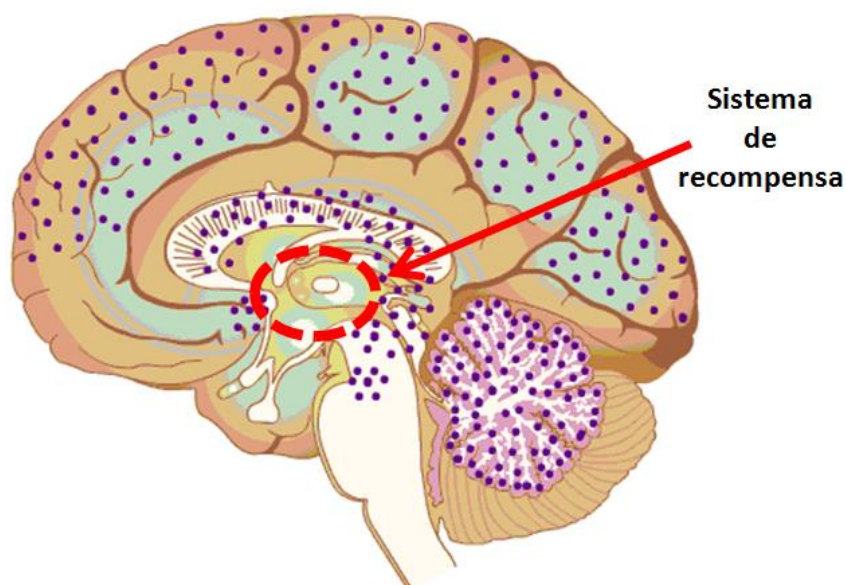
Todas as drogas capazes de causar alterações no SNC (euforia ou aliviar a dor, por exemplo) têm uma característica em comum: estas atuam de uma forma diferenciada nestes circuitos de prazer ou de recompensa, o que resulta na liberação de dopamina (HYMAN; MALENKA, 2001). Muitos outros neurotransmissores e moduladores o influenciam: opioides, noradrenérgicos, serotoninérgico, glutamato, gaba e endocanabinoide. O circuito de recompensa cerebral é um sistema que vem sendo estudado a décadas e tem a função biológica de manter a sobrevivência da espécie, ou seja, a lembrança da localização de alimentos e a possibilidade de reprodução, atribuindo a estas situações, sentimentos e sensações prazerosas (COLE; COLE, 1967).

Com base em extensas evidências comportamentais, bioquímicas e eletrofisiológicas, os canabinoides parecem melhorar e estimular os processos de recompensa do cérebro e comportamentos relacionados com a recompensa de forma semelhante a outras drogas que causam dependência, além de, estimular recaída do uso no modelo de todas as outras drogas viciantes. A localização dos receptores canabinoides CB1 em torno do sistema de recompensa reforça esta possibilidade (Figura 9) (GARDNER, 2005).

Cada vez que é estimulado esse circuito que classifica o estímulo como bom e, por sua vez, manda estímulos para áreas relacionadas à memória. Fica então memorizado onde há alimento (ADAM; EPEL, 2007) e possibilidade de reprodução, com todos os detalhes do ambiente que cerca o estímulo. O conhecimento desse fenômeno é essencial para o tratamento do dependente químico, pois a droga subverteu a função do circuito e o ambiente onde é consumida será gravado (PEUKER; LOPES, 2013).

A dependência é um transtorno da função cerebral ocasionado pelo consumo de substâncias psicoativas e está principalmente relacionado com os efeitos a curto ou a longo prazo das substâncias sobre o cérebro. O risco de dependência está relacionado com a velocidade com que as drogas induzem alterações morfofuncionais no cérebro muito parecido com o processo de aprendizagem (RUIZ et al., 2010).

Figura 9 – Localização do Sistema de recompensa cerebral e sua relação com regiões de localização dos receptores canabinoides CB1.



Fonte: http://apps.einstein.br/alcooledrogas/novosite/atualizacoes/ac_118.htm

A dependência química assim como, as doenças psiquiátricas e mentais, não foi reconhecida como um transtorno do cérebro, contudo, com os progressos recentes em neurociências, é evidente que tal dependência é um transtorno cerebral tanto quanto como qualquer outra doença neurológica ou psiquiátrica (ORGANIZATION, 1992).

O Δ^9 -THC e outros agonistas do receptor CB1 aumentam a liberação de dopamina (DA) na via mesolímbica dopaminérgica de recompensa e seu uso frequente e não médico pode resultar no desenvolvimento de dependência de *C. sativa*, e também está associado com riscos aumentado de desenvolver esquizofrenia, transtorno do pânico e, possivelmente, transtorno bipolar (HALL; DEGENHARDT, 2014).

O consumo regular de *C. sativa* produz sequelas cognitivas, motivacionais, psicóticas e afetivas, além de levar à deterioração o funcionamento psicossocial dos usuários de *Cannabis* (MACLEOD et al., 2004). Estas sequelas podem se tornar crônicas, isto é, persistirem além dos efeitos de intoxicação aguda, ou desaparecem gradualmente durante a abstinência (BONNET et al., 2015), inclusive, recentemente descobriu-se que o uso frequente da *C. sativa* pode desencadear a síndrome de

hiperemese a canabinoides (CHS), que é uma condição médica que se caracteriza por episódios cíclicos de incontroláveis vômitos, bem como a vontade compulsiva de tomar banho em água quente (CONTRERAS et al, 2016).

Mesmo após 2 a 4 semanas de abstinência é possível detectar concentrações residuais de Δ^9 -THC no soro do ex-usuários crônicos de *C. sativa* (BERGAMASCHI, 2013), fato que indica a possibilidade desta substância ser um fator para a chamada "síndrome amotivacional", a qual foi descrita como um estado de apatia e letargia entre estes usuários (JOHNS, 2001)

O Código Internacional de Doenças 10 (CID) descreve os sintomas que servem como critérios para o diagnóstico de dependência química. A presença de três ou mais dos seguintes sintomas caracteriza a quimiodependência, sendo: 1) Um desejo forte ou compulsivo para consumir a substância; 2) Dificuldades para controlar o comportamento de consumo de substância em termos de início, fim ou níveis de consumo; 3) Estado de abstinência fisiológica quando o consumo é suspenso ou reduzido, evidenciado por síndrome de abstinência característica; 4) ou consumo da mesma substância (ou outra muito semelhante) com a intenção de aliviar ou evitar sintomas de abstinência; 5) Evidência de tolerância, segundo a qual há a necessidade de doses crescentes da substância psicoativa para obterem-se os efeitos anteriormente produzidos com doses inferiores; 6) Abandono progressivo de outros prazeres ou interesses devido ao consumo de substâncias psicoativas, aumento do tempo empregado em conseguir ou consumir a substância ou recuperar-se dos seus efeitos; 7) Persistência no consumo de substâncias apesar de provas evidentes de consequências manifestamente prejudiciais (HASIN, SAUNDERS, 2006).

A evidência prospectiva limitada sugere que a remissão da dependência pode ocorrer com relativa frequência, mas as taxas podem diferir entre drogas. Há pouca pesquisa sobre a remissão da toxicodependência; definições utilizadas são muitas vezes imprecisas e inconsistentes entre estudos e ainda existe uma considerável incerteza sobre o curso longitudinal da dependência dessas drogas ilícitas mais utilizadas (CALABRIA et al., 2010).

3.9 SÍNDROME DE ABSTINÊNCIA CAUSADA POR *Cannabis sativa*

O termo "síndrome de abstinência a *Cannabis*" é usado para indicar uma alteração que ocorre após a interrupção, voluntária ou involuntária, do uso de *C. sativa*. A definição clínica típica de um efeito de abstinência requer um padrão transitório, onde os sintomas tem seu início após a cessação do uso da droga e uma diminuição quando se administra um agonista desta droga (BUDNEY et al., 2004), como por exemplo, o WIN-55212-2 (VEMURI; MAKRIYANNIS, 2015)

Uma proporção de 15,6% a 40,9% de usuários frequentes de *C. sativa* relatam ter uma síndrome de abstinência após a interrupção do uso (SWIFT, 2001) sendo que até 95,5% destes usuários não procuram ajuda médica no caso de manifestação dos sintomas decorrentes da síndrome (COPELAND; SWIFT; REES, 2001), embora, em alguns países como os Estados Unidos e nos continentes europeu e australiano a demanda por tratamento para se perpetuar a abstinência tem crescido consideravelmente nos últimos 20 anos (HALL et al., 2014; MCRAE et al., 2003). Importante citar que em países onde o uso da *C. sativa* foi descriminalizado, como a Holanda, também houve escala de aumento no número de usuários (LAAR, 2013).

O reconhecimento formal da síndrome de abstinência de *C. sativa* como uma desordem mental, que aparece após a interrupção abrupta do uso diário ou quase diário da *C. sativa*, só ocorreu no ano de 2013 (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). Estudos sugerem que existem critérios diagnósticos específicos propostos são: A) cessação do uso de *C. sativa* por um tempo prolongado, B) 3 ou mais dos seguintes sintomas se desenvolvem dentro de alguns dias após a cessação do uso, sendo (1) irritabilidade, raiva ou agressão, (2) nervosismo ou ansiedade, (3) insônia, (4) diminuição do apetite ou perda de peso, (5) inquietação, (6) humor deprimido e (7) sintomas físicos que causam desconforto significativo a partir de, pelo menos, um dos seguintes: dor de estômago, tremores / tremores, transpiração, febre, arrepios, dor de cabeça, C) os sintomas desenvolvidos pela cessação do uso causam sofrimento clinicamente significativo ou prejuízo em áreas sociais do usuário, D) os sintomas não se devem a uma condição médica geral nem são mais bem explicados por outro transtorno (GORELICK et al., 2012).

Os usuários em tratamento, principalmente adolescentes e mulheres, manifestam durante a síndrome de abstinência transtorno de conduta em 74% dos casos, Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade (TDAH) (BIEDERMAN, 1991) em 77%, depressão em 37,7%, ansiedade em 28,8%, e angústia traumática em 13,8% dos casos (DIAMOND, 2006).

3.10 TRATAMENTO PARA SÍNDROME DE ABSTINÊNCIA

A dependência de *C. sativa* é somente um dos problemas envolvidos com substâncias químicas. Diversos estudos já foram realizados com o objetivo de se tratar os sintomas que aparecem durante a síndrome de abstinência de inúmeras drogas de abuso. Podem-se citar trabalhos utilizando a pergolida e o SKF-38393, ambos agonistas de receptor dopaminérgico, no tratamento da síndrome de abstinência causada pela cocaína (MALCOLM, 2000), o tartarato de vareniclina, cistisine e dianicline, agonistas do receptor nicotínico, para a neutralização dos sintomas de abstinência em tabagistas consumidores de nicotina (CAHILL; STEAD; LANCASTER, 2011). Outro exemplo é a utilização da Buprenorfina, um agonista opiáceo (MATTICK et al., 2014) utilizado na síndrome de abstinência a opiáceos causadores de dependência como, por exemplo, a morfina (MATTICK et al., 2014). Sintomas decorrentes da perturbação da percepção causada pelo uso do alucinógeno ácido lisérgico (LSD) estão sendo tratados com Clonazepam, benzodiazepínicos de alta potência, que tem propriedades serotoninérgicas (LERNER, 2003). Assim como nestas drogas de abuso, a *C. sativa* também está em processo de estudo em relação ao tratamento da dependência química e a síndrome de abstinência causada pelo uso prolongado da planta.

Estudos comprovam que usuários de *C. sativa* desenvolvem tolerância a muitos dos efeitos do Δ^9 -THC, fazendo-os apresentarem os sintomas de abstinência incluindo, irritabilidade, angústia, ansiedade, insônia, distúrbios do apetite e depressão (BUDNEY, 2006), sendo estes sintomas os principais responsáveis pela dificuldade de aderência ao tratamento por parte de usuários crônicos de *C. sativa* (ZVOLENSKY et al., 2009).

A terapia cognitivo-comportamental reduz o consumo de *C. sativa*, mas, apenas 15% das pessoas não voltam a fazer uso da droga 6-12 meses após o

tratamento (HALL, 2003), fortificando a necessidade de intervenções farmacológicas que, até hoje não apresentaram medicamentos específicos para o tratamento da dependência de *C. sativa*. Basicamente, são utilizados fármacos direcionados aos sintomas como o antidepressivo fluoxetina (CORNELIUS et al., 1999) e o ansiolíticos buspirona (MCRAE; SONNE; BRADY, 2000) e Nefazodona (HANEY et al., 2003) que apesar da inespecificidade, sugerem que medicamentos antidepressivos ou ansiolíticos pode ter um papel no tratamento da dependência de *C. sativa* (MCRAE; BUDNEY; BRADY, 2003).

3.11 PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS *in silico*

A integração de várias áreas estratégicas como inovação, tecnologia, gerenciamento e altos são quesitos importantes para a descoberta e o desenvolvimento de novos fármacos (GUIDO et al., 2008). Além disso, os processos relacionados a farmacocinética como absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) têm sido relacionados com as principais causas do insucesso de candidatos a fármacos em estágios avançados de desenvolvimento clínico (MODA, 2011).

Nesse contexto, as metodologias modernas de modelagem *in silico* vem auxiliando a seleção de novas moléculas candidatas a fármacos. Estes metodologias conferem a vantagem de serem mais rápidas na execução, baixo custo e a capacidade de reduzir o uso de animais em ensaios de toxicidade (GLEESON et al., 2011). Os modelos *in silico* devem ser integrados aos ensaios *in vitro* e *in vivo* com o propósito de diminuir a quantidade de moléculas avaliadas, elevando a chance de novas entidades químicas (MODA, 2007).

Portanto, o uso de métodos baseados em computadores para a compreensão e previsão do comportamento molecular forma o ramo do conhecimento químico denominado química computacional, a qual permite a visualização das possíveis interações do complexo ligante-biomolécula, além da obtenção de parâmetros estero-eletrônicos, desenvolvidos através de cálculos e medidas que servem como subsídio na elucidação das relações entre estrutura atividade biológica (SILVA; SILVA, 2007).

Os estudos *in silico* estão sendo empregados de maneira cada vez mais ampla, com o propósito de selecionar e otimizar moléculas com maior potencial de desenvolvimento, consequentemente limitando as moléculas que são avaliadas em ensaios *in vitro* e *in vivo*, reduzindo custo e tempo (MODA, 2011).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COMPOSTOS ESTUDADOS

O BindingDB caracteriza-se por ser um banco de dados virtual de livre acesso e contém cerca de 1.235.168 modos de interação entre proteínas e seus ligantes determinados experimentalmente. No BindingDB pode-se fazer inúmeros tipos de pesquisa, incluindo pesquisas por estruturas químicas, ligantes e nomes de proteínas, estrutura e sequência da proteína similar e peso molecular (LIU et al., 2007).

No BindingDB realizou-se a pesquisa utilizando-se o descritor “cannabinoid CB1 receptor” onde foi encontrado um número de 7858 ligantes para este alvo e ordenadas pelo valor decrescente de Concentração eficaz média (EC50), que refere-se a concentração eficaz que produz 50% da resposta máxima de atividade, sendo selecionados os primeiros 32 ligantes agonistas deste descritor. Deve-se esta quantidade a limitação numérica de alinhamento realizada na etapa seguinte da metodologia (SCHNEIDMAN-DUHOVNY et al., 2009).

Em seguida, foi feito o download de cada uma das estruturas em formato 3D no PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) através do direcionamento feito pelo próprio BindingDB. O PubChem é um banco de dados que fornece informações sobre as atividades e propriedades biológicas de moléculas a partir de uma variedade de fontes e links para a triagem de resultados biológicos (BOLTON et al., 2008). Após o download, cada molécula teve a sua geometria e energia pré-otimizadas no Discovery Studio (BLEICHER et al., 2003) para que se evite possíveis pontos estacionários inequívocos nos cálculos de predição dos próximos passos da metodologia (BARREIRO et al., 1997) e a conformação de equilíbrio possa ser utilizada (DE ALMEIDA; O'MALLEY, 1992).

4.2 DERIVAÇÃO DO FARMACÓFORO

Um farmacóforo é o arranjo espacial tridimensional das características que permite a interação de uma molécula com um receptor alvo em um modo de ligação específica. Após ser identificado, um farmacóforo pode servir como um modelo em

aplicações como a triagem virtual, estratégia muito utilizada no planejamento de novos fármacos (SCHNEIDMAN-DUHOVNY et al., 2008a).

O PharmaGist é um servidor utilizado para elucidar farmacóforos 3D a partir de um conjunto de moléculas que são conhecidos por se ligarem a um receptor alvo. É um método eficiente de procura por possíveis farmacóforos e relata os de maior pontuação (SCHNEIDMAN-DUHOVNY et al., 2009). O PharmaGist pode identificar um farmacóforo de um conjunto de até 32 ligantes em poucos minutos. Os farmacóforos candidatos são detectados por alinhamentos múltiplos flexíveis dos ligantes de entrada, em que a flexibilidade dos ligantes é explicitamente tratada e é determinante no processo de alinhamento. Outra vantagem importante do método é a capacidade de detectar farmacóforos comuns aos subgrupos de ligantes de entrada, uma característica que faz PharmaGist compatível a vários modos de ligação (SCHNEIDMAN-DUHOVNY et al., 2008a).

Quanto mais moléculas o programa consegue alinhar com alta sobreposição, gerando um maior número de grupos farmacofóricos comuns a todos, mais alto e significativo é o escore obtido. A molécula pivô pode ser definida pelo usuário como o ligante com maior afinidade com o receptor, ou aquela com o menor número de ligações rotacionáveis (RODRIGUES, 2014).

A hipótese de farmacóforo foi gerada a partir do servidor PharmaGist ([Http://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PharmaGist/](http://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PharmaGist/)) usando os 32 ligantes selecionados anteriormente. Estas 32 moléculas foram alinhadas, isto é, o PharmaGist (1) verificou quais eram os mesmos tipos de átomos correspondentes entre cada molécula (por exemplo, Carbono - Carbono) e (2) verificou a distância, em Angstroms, destes átomos correspondentes e a sobreposição. A este alinhamento foi conferido um score, que corresponde a uma pontuação calculada somando-se a sobreposição relativa de todas as distâncias entre os átomos correspondentes e pareados superiores e inferiores das moléculas em estudo (RAYMOND; WILLETT, 2003) segundo a fórmula:

$$Score = \sum_{\text{todos os átomos pares}} \frac{\min(U_1, U_2) - \max(L_1, L_2) + \text{tolerância}}{\min(U_1 - L_1, U_2 - L_2)}$$

onde: U_1 e U_2 são os limites superiores e L_1 e L_2 são os limites inferior, respectivamente, para cada par de átomos correspondentes na molécula 1 e molécula 2 (BINNS; DE VISSER; THEODOROPOULOS, 2012).

O farmacóforo foi selecionado pela melhor pontuação do alinhamento das 32 moléculas submetidas ao PharmaGist.

4.3 TRIAGEM BASEADA EM LIGANTES

4.3.1 Triagem baseada em farmacóforo

Os dois principais desafios da triagem virtual baseado em farmacóforo são a identificação de um farmacóforo representativo para uma interação e, em seguida, detectar os compostos dentro de uma biblioteca química relevante que coincidir com o farmacóforo. O ZINCPharmer (<http://zincpharmer.csb.pitt.edu>) é uma interface online que permite a busca rápida e interativa de compostos baseados em um farmacóforo. Uma pesquisa de 176 milhões de isômeros conformacionais respectivos a cerca de 18,3 milhões de compostos geralmente leva menos de um minuto. Os resultados podem ser visualizados de imediato ou pode-se fazer o download das estruturas alinhadas e análise offline em outros programas (KOES; CAMACHO, 2012).

Os resultados no ZINCPharmer podem ser filtrados através da especificação de limites para 1) o número de orientações diferentes para cada conformação (max hits per Conf), 2) o número de orientações de conformações diferentes para cada molécula (max hits per mol) e 3) ou o número total de alvos (Max total hits). A orientação dos hits é calculado utilizando o Desvio da Raiz Quadrada Média (RMSD, do inglês, root mean squared difference), diferença entre dados computacionais e experimentais, o que restringe os hits para aqueles que têm a melhor correspondência geométrica global para a consulta. A redução no valor dos filtros é particularmente útil quando só é necessário um único representante de cada molécula (KOES; CAMACHO, 2012).

Como o objetivo desta pesquisa não era trabalhar com muitos isômeros, e sim com moléculas de diferentes conformações, foram utilizando-se parâmetros mínimos de configuração para os Hits, de modo que no filtro “Max hits per conf” foi utilizado o

valor de 1, no filtro “Max hits per mol” o valor de 1 e para o RMSD, com o intuito de refinar a triagem, aproximando a configuração virtual da real conformação de cada molécula, também foi escolhido o valor de 1.

O SNC requer um controle preciso do seu microambiente e um elemento importante para este controle é a barreira Hematoencefálica (BHE). Inúmeros métodos estão disponíveis para examinar a permeabilidade *in vivo* e *in vitro* que implicam na descoberta de medicamentos que possam atuar neste ambiente (ABBOTT, 2013). É comprovado que uma molécula com o peso molecular de até 400 g/mol tenha a sua capacidade de atravessar a BHE (LEVIN, 1980) sendo esta propriedade físico-química utilizada há décadas pela indústria farmacêutica como primordial no planejamento de fármacos via oral (BALBACH; KORN, 2004a). No ZINCPharmer estabeleceu-se o limite de 400 g/mol de peso molecular para os hits da pesquisa devido os receptores CB1 estarem localizados no SNC e, portanto, existir a necessidade de absorção através da BHE.

Outro filtro utilizado foi a quantidade de Hits, sendo estabelecido o limite máximo de 5.000 moléculas como output do ZincPhamer utilizando-se a subseção ZINC Natural products: last Update 09/23/14.

4.3.2 Busca por similaridade estrutural

Similaridade molecular é um número que expressa a relação estrutural entre pares ou grupos de moléculas (GASTEIGER; ENGEL, 2003). Estas moléculas consideram as impressões digitais do farmacóforo como cadeias de bits binários. Assim, a semelhança entre duas impressões digitais pode ser avaliada através da contagem do número de bits definidos em coeficientes de similaridade comuns ou de cálculo. Um exemplo é o coeficiente Tanimoto (Tc), que é definido como:

$$Tc = NAB / (Na + NB - NAB)$$

Onde, NA é o número de bits definidos na impressão digital da molécula de A, NB é o número de bits definidos na impressão digital de molécula B e NAB é o número de bits definidos em comum nas impressões digitais de A e B. O Tc calcula o número de bits geral entre a molécula A e B, nos dando um valor numérico da similaridade

estrutural entre estas. O Tc varia de 0 a 1, sendo 1 a mais elevada similaridade (YADAV; SINGH; SWATI, 2014).

O site BindingDB oferece a possibilidade de cálculo da semelhança estrutural utilizando-se o Tc que neste trabalho analisou o grupo de moléculas advindas do ZINCPharmer e as classificou de acordo com sua similaridade. Um arquivo desta classificação foi gerado e analisado no Discovery Studio (BLEICHER et al., 2003) de onde foi retirado um grupo de moléculas com similaridade de atividade acima de 60%.

O princípio das propriedades semelhantes (SSP) afirma que as moléculas que são semelhantes na globalidade estrutural possivelmente têm uma atividade biológica semelhante (ECKERT; BAJORATH, 2007). Embora este conceito seja intuitivo e apoiado por muitas observações, pesquisadores também sabem que pequenas mudanças químicas em uma molécula ativa pode tanto aumentar a sua atividade como também torná-la inativa, fato já comprovado em diversos experimentos (KUBINYI, 1998). Devido a este princípio, as moléculas selecionadas foram inspecionadas visualmente no software Discovery Studio (BLEICHER et al., 2003) onde cada uma destas moléculas teve a estrutura comparada com a estrutura da molécula de maior atividade obtida a partir do BindingDB de onde os ligantes com maiores similaridade estruturais visuais foram selecionados. No processo de inspeção visual a representação da estrutura química da molécula de maior atividade (molécula Pivô) foi mantida imóvel enquanto as representações das moléculas classificadas com maior similaridade tiveram sua estrutura comparadas com a molécula Pivô, considerando-se a posição dos átomos e estruturas em comum entre elas, de modo que, as que apresentaram melhor compatibilidade visual prosseguiram para as próximas etapas do trabalho.

4.4 PREDIÇÃO DE PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS E TOXICOLÓGICAS

4.4.1 Predição das Propriedades farmacocinéticas

Para que se obtenha o efeito de um fármaco é necessário que este possa alcançar a circulação sanguínea do organismo (absorção) e dirigir-se para o sítio específico de ação (distribuição). O princípio ativo pode ser também biotransformado em outras moléculas (metabolismo), mas deve, por fim, abandonar o organismo (excreção), principalmente pela urina e fezes (LOBATO et al., 2015). As propriedades farmacocinéticas referem-se às características físico-químicas que cada molécula possui que influenciam no caminho percorrido por estas dentro do organismo (MODA, 2011).

O QikProp é um software rápido e preciso de predição de propriedades farmacocinéticas como absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME). QikProp fornece os resultados das moléculas analisadas, comparando-os com a média dos valores obtidos para 95% dos fármacos conhecidos, os quais são utilizados como referência. Este parâmetro de referência fornecido pelo Qikprop é o chamado de número de Stars. Quanto maior o número de Stars, maior a sugestão que a molécula é menos semelhante a uma molécula conhecida, portanto, quanto mais próximo de 0, melhor a confiabilidade do parâmetro (JORGENSEN; DU, 2000, 2002).

Utilizando-se o software QikProp, as propriedades farmacocinéticas como absorção oral humana (AOH), permeabilidade celular em células Caco-2 e MDCK e a penetração da barreira Hematoencefálica (PBHE), assim como, as propriedades relacionadas a regra dos cinco das moléculas selecionadas após a inspeção visual foram preditas.

4.4.2 Predição das Propriedades toxicológicas

Ferramentas computacionais para prever o potencial tóxico das mais variadas moléculas podem impactar consideravelmente a descoberta e desenvolvimento de medicamentos, sendo que a toxicidade é um dos parâmetros fundamentais para o prosseguimento da pesquisa (MUSTER et al., 2008). O ensaio de carcinogenicidade

e mutagenicidade tem o objetivo de identificar o potencial tóxico de moléculas em animais e avaliação de risco em humanos (FRIEDRICH; OLEJNICZAK, 2011).

As propriedades toxicológicas das moléculas selecionadas na etapa anterior foram preditas utilizando-se o programa DEREK (Deductive Estimate of Risk from Existing Know-edge)(RIDINGS et al., 1996). O DEREK dispõe de um sistema que realiza predições do ponto de vista qualitativo e na busca de similaridade 2D da molécula em questão ou seus fragmentos com banco de dados de fragmentos com propriedades toxicológicas conhecidas (MOHAN et al., 2007). Dessa forma, alertas são gerados acerca da possível ação tóxica dos compostos químicos analisados, sendo capaz de interpretar subestruturas toxicofóricas presente nos compostos como possíveis indutoras de certos tipos de toxicidade, tais como mutagenicidade, carcinogenicidade, sensibilização da pele, irritação, efeitos reprodutivos, neurotoxicidade, entre outras, através das regras de correlação implementada no programa (RIDINGS et al., 1996; CARIELLO et al., 2002).

4.5 PREDIÇÃO DE ATIVIDADE: PASS E SEA

A predição da atividade dos compostos foi realizada utilizando o programa online PASS (<http://www.akosgmbh.de/pass/index.html>), o qual prediz com alta acurácia (70-80%) até 2000 atividades biológicas para compostos químicos. No software PASS (Espectro de Previsão da Atividade de Substâncias) é possível descobrir efeitos biológicos de um composto baseado inteiramente na fórmula estrutural utilizando descritores MNA (multiníveis vizinhos aos átomos) (POROIKOV et al., 2003), sugerindo que a atividade biológica é em função da sua estrutura química. Apenas as atividades previstas com P_a (Probabilidade de estar ativo) > P_i (probabilidade de ser inativo) para o composto selecionado foram consideradas (PEDERSOLI-MANTOANI et al., 2014).

O servidor online SEA (Similarity Ensemble Approach) (sea.bkslab.org) fornece gratuitamente um espectro de predições de atividades obtido a partir da similaridade química do composto com seus possíveis receptores (KEISER et al., 2007). O webservidor tem uma resposta rápida e permite a identificação da função da proteína com base na informação biológica e na semelhança química dos seus ligantes. O SEA iniciou com 65.000 ligantes anotados em conjuntos por centenas de

alvos de drogas e tem demonstrado computacionalmente ligações inesperadas entre alvos biológicos e ligantes. Baseado na hipótese que duas moléculas semelhantes poderão ter propriedades semelhantes e vão ligar-se ao mesmo grupo de proteínas, no SEA, a molécula de entrada de dados é comparada com aquelas pertencentes a seu banco de dados, aplicando-se o Tc, de modo que, pode-se fazer uma predição sobre a atividade biológica da molécula em estudo. Importante lembrar que este método exclui moléculas muito similares, com $Tc \geq 0.85$, por considera-las muito parecidas e, conseqüentemente, diminuem a diversidade da atividade biológica (MARTIN; KOFRON; TRAPHAGEN, 2002).

O resultado da predição é calculado em valores esperados (E-value) em semelhança a similaridade de Tanimoto (MASON et al., 1999). Um E-value menor que 1×10^{-10} é considerado significativo e sugere que a predição não é susceptível de estar ocorrendo por acaso (LOUNKINE et al., 2012).

A predição de atividade sobre o receptor CB1 é fator primordial nesta pesquisa, afinal, é necessário a ligação a este para que se obtenha a manifestação de um efeito biológico.

4.6 PREDIÇÃO DE VIABILIDADE SINTÉTICA DOS LIGANTES NATURAIS SELECIONADOS

No planejamento de fármacos, a possibilidade da facilidade de síntese de uma molécula é um parâmetro que deverá ser considerado. Em alguns casos, as estruturas em estudo podem ser sintetizadas com grande dificuldade, fato que poderia inviabilizar o prosseguimento da pesquisa. A predição da acessibilidade química das moléculas estudadas foi realizada utilizando o programa SYLVIA (http://www.molecularnetworks.com/online_demos/sylvia/).

O SYLVIA representa a acessibilidade a síntese de uma molécula, apresentando um score de 1 a 10 que em que 1 indica a síntese simples e 10 implica uma estrutura que poderia ser difícil de sintetizar (YUAN; PEI; LAI, 2011). O score é calculado considerando-se cinco componentes, sendo: 1) as características estruturais da molécula em estudo como tamanho, simetria, ramificação, anéis, ligações múltiplas e heteroátomos da molécula-alvo; 2) a complexidade do anel ou anéis aromáticos e, 3) a complexidade estereoquímica, 4) se a parte mais complexa

de molécula é coberta por matérias-primas disponíveis e 5) a molécula em estudo pode ser decomposta em componentes menores e de mais fácil síntese (BODA; SEIDEL; GASTEIGER, 2007).

As moléculas selecionadas após a triagem virtual e os cálculos de farmacocinética, toxicidade e de atividade biológica tiveram a sua acessibilidade química calculada.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COMPOSTOS ESTUDADOS

Diversas linhas de pesquisa utilizam moléculas agonistas no tratamento para cessação do tabagismo, ou seja, na dependência causada pela ação da nicotina nos receptores nicotínicos (REFERÊNCIA). O tartarato de vareniclina representa o primeiro agonista do receptor nicotínico desenvolvido neste sentido aliviando os sintomas de abstinência e a dependência a nicotina, podendo levar à extinção do comportamento de fumar e impedir uma recaída após uma tentativa de parar de fumar (NIDES et al., 2006). A própria molécula de nicotina é utilizada em forma de spray nasal (2mg a 4 mg/ml) (MCEWEN; WEST; GAIGER, 2008) ou na forma de adesivos com concentrações variáveis (a partir de 25mg/ml) no tratamento anti-tabagismo com a redução de até 89,8% dos eventos ocasionados pela interrupção do uso da nicotina (DEVEAUGH-GEISS et al., 2010). Pode-se citar também as moléculas cistisine e dianicline, agonistas do receptor nicotínico, para a neutralização dos sintomas de abstinência e redução da satisfação de fumar, agonistas que causam efeitos adversos leves, como a náusea, que tendem a diminuir com o tempo (CAHILL; STEAD; LANCASTER, 2011).

A dependência de *C. sativa* está associada com o aumento do risco de desenvolver esquizofrenia, transtorno do pânico e, possivelmente, transtorno bipolar (HALL; DEGENHARDT, 2014). A falta do Δ^9 -THC nos receptores canabinoides CB1 desencadeia a chamada síndrome de abstinência e esta ocorre causando alterações cognitivas, motivacionais, psicóticas e afetivas (BONNET et al., 2015) e a utilização de moléculas antagonistas durante a síndrome de abstinência poderia exacerbar os transtornos presentes neste momento (BUDNEY et al., 2004).

Considerando que o objetivo desta pesquisa é propor fármacos alternativos no tratamento de dependentes químicos de *C. sativa* e que moléculas agonistas são utilizadas no tratamento da síndrome de abstinência causada pela interrupção do uso da droga, que é uma síndrome desencadeada por mecanismos de recompensa cerebral muito parecidos com os mecanismos da síndrome desencadeada pela nicotina, decidiu-se utilizar moléculas agonistas sobre os receptores canabinoides como base para a derivação do farmacóforo.

No BindingDB foi utilizado o descritor “Cannabinoid CB1 receptor” onde obteve-se 7.858 bioligantes que foram organizados em ordem crescente de EC50, sendo selecionados os primeiros 32 bioligantes (Figura 9).

A EC50 é um parâmetro de concentração muito utilizado e primordial no processo de descoberta de avaliar o desempenho das mais variadas drogas (SAVLA et al., 2014; GLATTHAAR-SAALMÜLLER et al., 2015; GAN et al., 2016). Existe um pressuposto embutido neste parâmetro que é a relação entre a dose do composto e a resposta deste em um ensaio biológico (SEBAUGH, 2011). A estimativa do efeito de uma molécula é medida entre 0%, sendo considerada uma concentração nula e sem efeito, até 100%, isto é, uma elevada concentração capaz de produzir a resposta máxima do efeito em todas as cobaias, meios de cultura bacteriana, placas contendo enzimas, células ou outro meio de estudo. Sabe-se que em um ensaio a EC50 não corresponde ao controle de 100% das amostras, gerando assim uma parábola na análise de concentração. Portanto, o EC50 é calculado usando-se a fórmula (EWIJK; HOEKSTRA, 1993):

$$Y = \frac{a - d}{1 + (X/C)^b} + d$$

Onde:

Y representa a resposta biológica;

X é a concentração encontrada.

a parte inferior da curva

d o mais alto ponto da curva.

b fator de inclinação, descreve o declive da porção linear da curva

C é a concentração correspondente à resposta a meio caminho entre a e d, no caso, é a “EC50 / IC50 relativa” para definir uma resposta de 50 % representa a média do controle de placa de 0 % e o controle placa de 100 %.

Figura 10 – Representação das estruturas químicas dos agonistas do Receptor CB1 selecionados a partir da base de dados BindingDB.

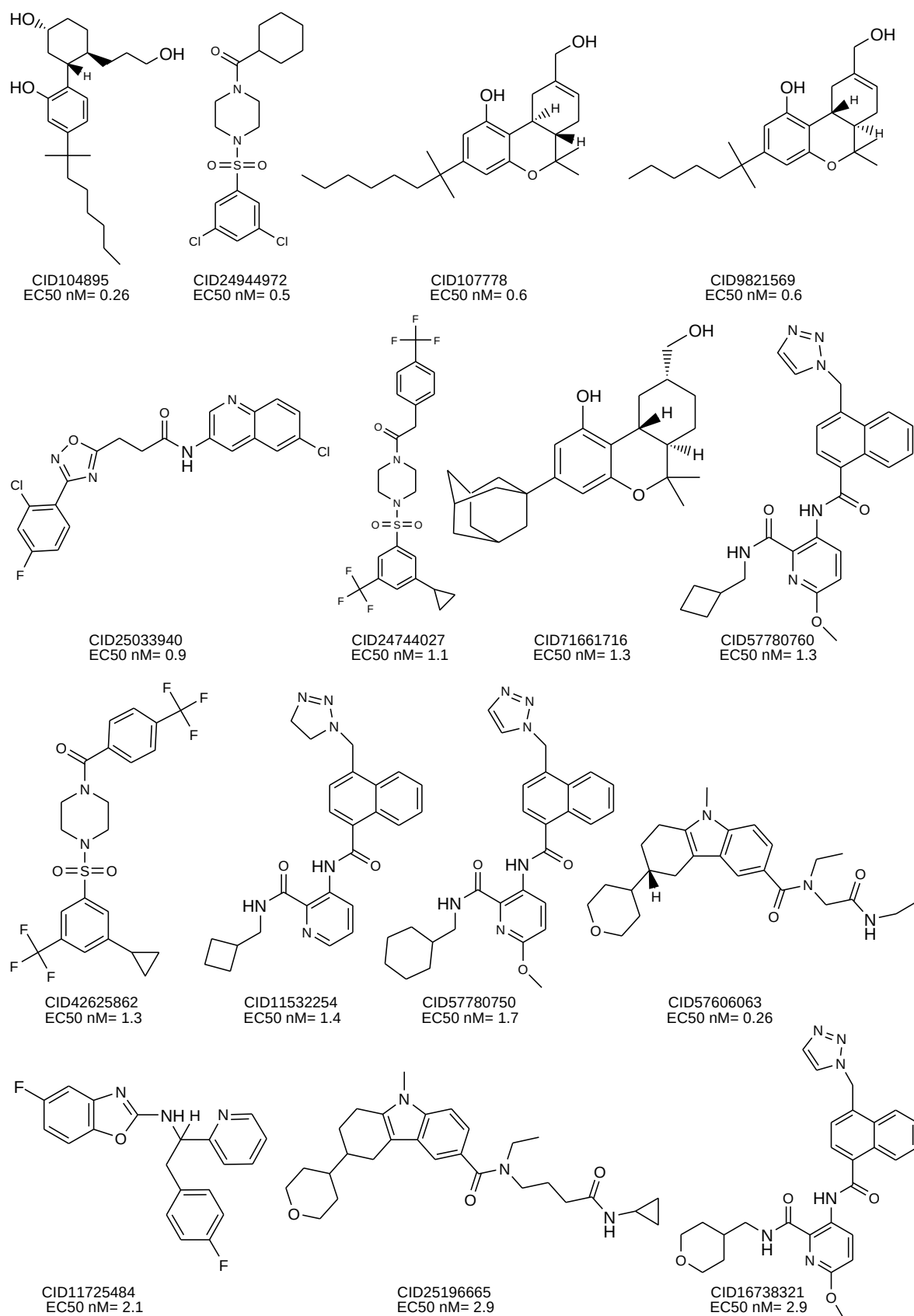
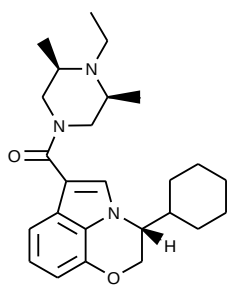
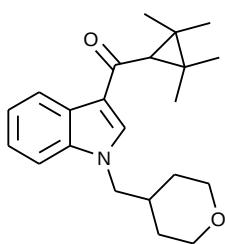


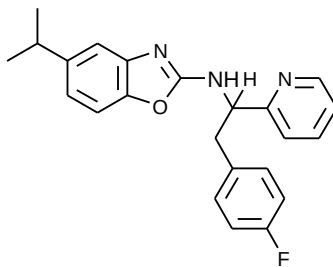
Figura 10 – (Cont.)



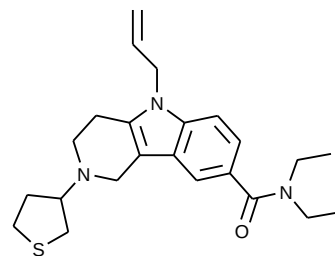
CID49862616
EC50 nM= 3.98



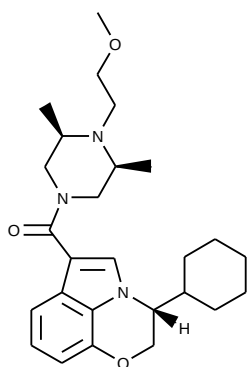
CID11544639
EC50 nM= 4



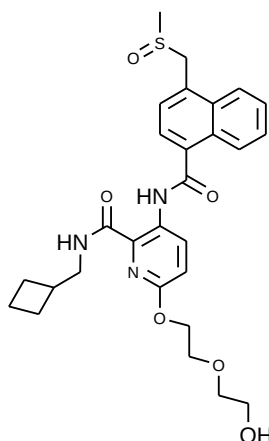
CID10022345
EC50 nM= 4.4



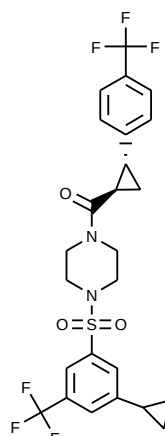
CID11854101
EC50 nM= 5



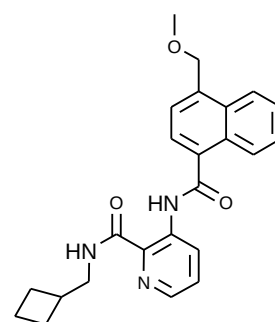
CID49862755
EC50 nM= 5.01



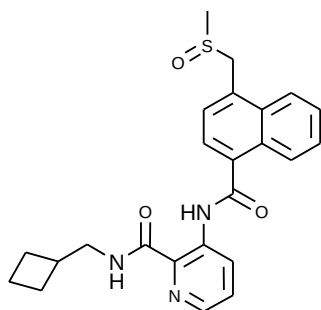
CID71545856
EC50 nM= 5.1



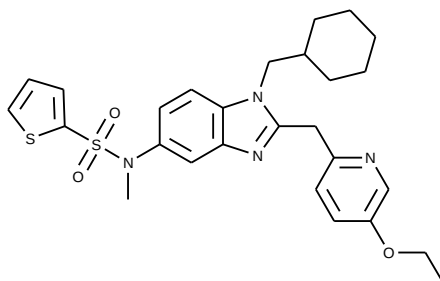
CID42625464
EC50 nM= 5.8



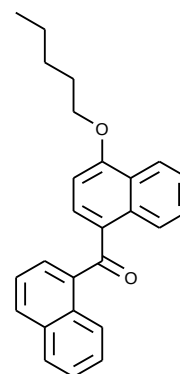
CID58973398
EC50 nM= 5.9



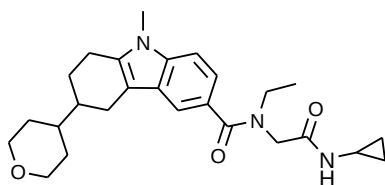
CID71544705
EC50 nM= 5.9



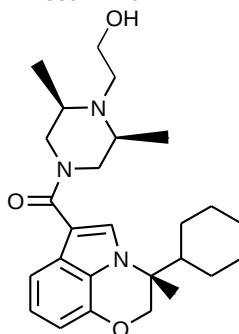
CID57390958
EC50 nM= 6



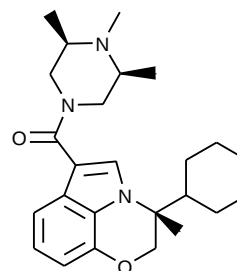
CID9799417
EC50 nM= 6.1



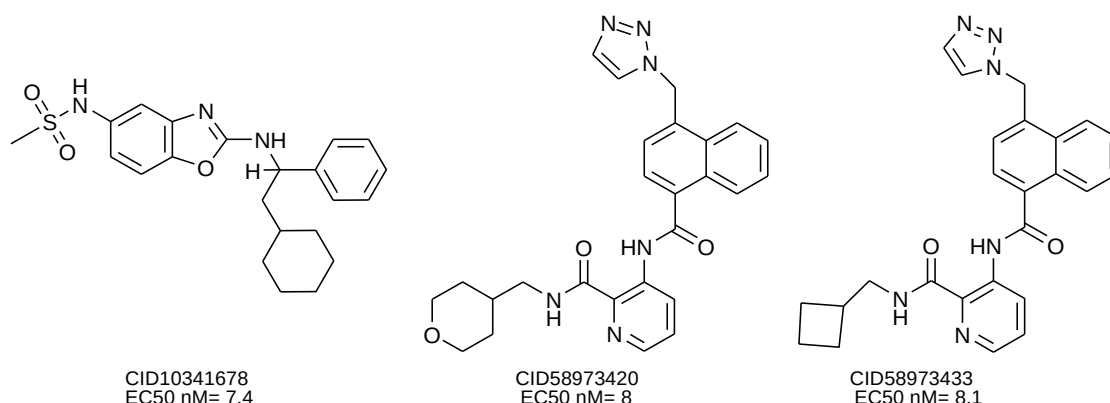
CID25174766
EC50 nM= 6.1



CID49862754
EC50 nM= 6.31



CID11153651
EC50 nM= 6.31

Figura 10 – (Cont.)

5.2 DERIVAÇÃO DO FARMACÓFORO

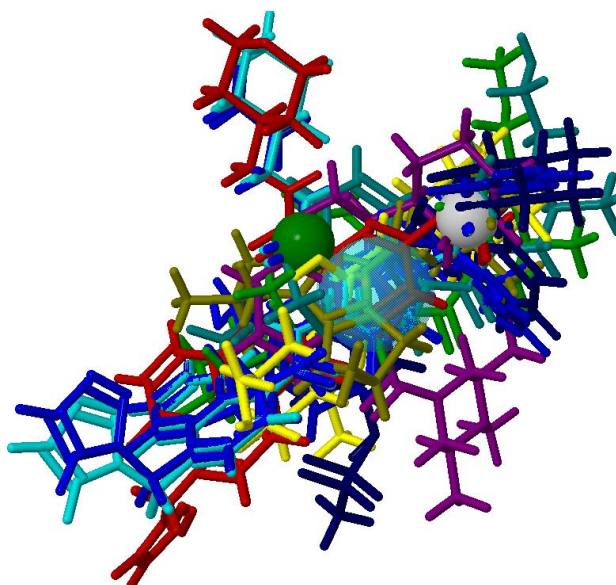
O conjunto composto pelas 32 moléculas selecionadas a partir da base de dados BindingDB foi submetido ao webservidor PharmaGist que analisa os multiflexíveis alinhamentos entre estas moléculas e criou um Score para cada um destes alinhamentos e, conseqüentemente, candidatos a farmacóforo (SCHNEIDMAN-DUHOVNY et al., 2008a). Os cálculos de busca de semelhança foram baseados nas estruturas 2D (ou fragmentos moleculares) das 32 moléculas onde descritores complexos foram projetados para detectar semelhanças na forma molecular e as propriedades relacionadas com a forma ou características topológicas e eletrônicas entre estas moléculas (BAJORATH, 2002) analisando todos os arranjos possíveis de três ou quatro pontos farmacofóricos predefinidos em cada molécula, avaliando estágios de baixa energia e flexibilidade conformacional (SCHÄRFER et al., 2013).

Quanto mais moléculas o programa consegue alinhar com alta sobreposição, gerando um maior número de grupos farmacofóricos comuns a todos, mais alto e significativo é o escore obtido. Geralmente, o algoritmo sugere resolver a tarefa pelo alinhamento flexível múltiplo entre todas as moléculas (RODRIGUES, 2014). A molécula pivô pode ser definida pelo usuário como o ligante com maior afinidade com o receptor, ou aquela com o menor número de ligações rotacionáveis. A molécula de CID104895 foi considerada como a molécula pivô devido ao fato desta apresentar experimentalmente, conforme informações da base de dados BindingDB, a menor concentração de EC50.

Durante a geração da hipótese do farmacóforo um mínimo de 3 características farmacofóricas funcionais, isto é, conjunto de átomos ou grupamentos rígidos com uma propriedade físico-química importante para ligações químicas, deverão estar presentes (SUN, 2008). Entre elas, região receptora de hidrogênio, região doadora de hidrogênio, região ionizáveis positivas, região ionizável negativa, anel aromático e regiões hidrofóbicas (SCHNEIDMAN-DUHOVNY et al., 2008b).

O grupamento farmacóforo foi escolhido com o alinhamento de 22 moléculas e score de 20.923, sendo estas moléculas CID104895, CID118720555, CID107778, CID71661716, CID57780760, CID57780750, CID118720553, CID49862616, CID11544639, CID118720554, CID11854101, CID49862755, CID57390958, CID49862754, CID11153651, CID118720552, CID11725484, CID10341678, CID16738321, CID24744027, CID42625862 e CID42625464. A Figura 10 ilustra o alinhamento das moléculas do farmacóforo selecionado, apresentando as características espaciais farmacofóricas preditas: uma região aromática (esfera azul), uma hidrofóbica (esfera branca) e uma aceptora de ligação de hidrogênio (esfera verde).

Figura 11 - Modelo farmacofórico gerado pelo alinhamento de 22 ligantes de CB1, score de 20.923, usando o webservidor PharmaGist.



5.3 TRIAGEM BASEADO EM LIGANTES

O termo *in silico* é uma palavra utilizada para definir a experimentação realizada por computador e está relacionado com os termos biológicos mais conhecidos *in vivo* e *in vitro* (SIEBURG, 1990) e englobam a triagem virtual de moléculas. O desenvolvimento de técnicas de triagem virtual representa um importante avanço no planejamento de fármacos. A triagem virtual utiliza métodos computacionais para descobrir novos ligantes com base na semelhança estrutural e de atividade biológica entre as moléculas (SHOICHET, 2004).

O desenvolvimento da triagem de alto rendimento possibilitou um aumento no número da síntese de compostos. No entanto, isso ainda é uma pequena percentagem do número total que pode ser sintetizado. As técnicas de triagem virtual permitem que os químicos reduzam de um grande número de moléculas, que podem chegar a milhões, de uma biblioteca virtual para um tamanho mais manejável (WALTERS, 1998).

Estes avanços na química computacional resultaram em um grande aumento no número de potenciais alvos terapêuticos que estão disponíveis para investigação. Este crescimento em alvos potenciais aumentou a demanda para validação alvo confiável, bem como as tecnologias que podem identificar rapidamente vários candidatos a fármacos, e em particular a triagem virtual baseado em receptor, emergiu como um método confiável e com baixo custo para a identificação de moléculas candidatas. Apesar de ainda ser um método de evolução, avanços nas técnicas computacionais têm permitido a triagem virtual para ter um impacto positivo sobre o processo de descoberta (LYNE, 2002).

Como citado anteriormente, os métodos de triagem virtual baseiam-se basicamente em duas grandes estratégias: a triagem baseada na estrutura química dos ligantes, que utiliza compostos com atividade biológica já conhecida como fonte de informação inicial, sem levar em conta a estrutura de um alvo molecular, a triagem baseada na estrutura do receptor biológico que considera a estrutura 3D de um alvo terapêutico (SCHNEIDER, 2002), de modo que, pode-se fazer uma predição de novas moléculas com atividade biológica conhecendo-se um ligante com atividade experimentalmente comprovada ou conhecendo-se um receptor a qual este bioligante tem atividade (GEPPERT, 2010).

A triagem virtual baseado em ligantes foi desenvolvida a partir de descritores 2D derivadas da estrutura de compostos ativos de referência baseando-se na similaridade estrutura-atividade. Posteriormente, buscando aumentar a diversidade estrutural dos compostos protótipos (“hits”) fornecidos, foram desenvolvidos diferentes métodos baseados em descritores 3D mais elaborados e que são dependentes do alinhamento de conformações moleculares e atualmente, o método mais amplamente utilizado é aquele que explora o conceito de similaridade de farmacóforos, isto é, aos grupos da molécula essenciais à atividade (EKINS; MESTRES; TESTA, 2007; KEISER et al., 2007).

O crescimento cada vez maior das bases de dados de pequenas moléculas bioativas, o desenvolvimento de novos algoritmos e melhorias em programas de computacionais têm trazido um melhoramento de métodos de triagem aplicados, e estão cada vez mais sendo utilizados no cotidiano da identificação de compostos candidatos a fármacos (EKINS; MESTRES; TESTA, 2007).

O ZINCPharmer (<http://zincpharmer.csb.pitt.edu>) consiste numa biblioteca virtual de mais de 35 milhões de moléculas, cada uma com estrutura 3D, utilizando catálogos de compostos a partir de fornecedores (o tamanho desta biblioteca continua a crescer) (IRWIN; SHOICHET, 2005). A triagem realizado no ZINCPharmer foi realizado utilizando-se a derivação do farmacóforo (22 moléculas alinhadas, Score 20.923) como arquivo de entrada de dados. Devido os parâmetros utilizados para o refinamento dessa triagem, como “max hits per Conf”, “max hits per mol” e RMSD, todos igual a 1 e peso molecular menor que 400 g/mol, o arquivo de saída do ZINCPharmer conteve 42.357 hits, isto é, moléculas que apresentavam regiões em comum com as regiões presentes no farmacóforo predito, porém foram selecionadas 5.000 moléculas por limitação da etapa seguinte.

O princípio das propriedades semelhantes (PPS) afirma que as moléculas que são semelhantes na globalidade estrutural possivelmente têm uma atividade biológica semelhante (ECKERT; BAJORATH, 2007). O site BindingDB oferece a possibilidade de cálculo da semelhança estrutural utilizando-se o coeficiente de Tanimoto. No momento da utilização do Tc, cada molécula tem a sua subestrutura ajustada para bits sendo ajustado para 1 quando a subestrutura está presente na molécula, e o bit é ajustado para 0 se a subestrutura não está presente. Dadas estas cadeias de bits para cada molécula, é possível calcular a semelhança entre duas

moléculas. O Tc mede a proporção das subestruturas que ambas as moléculas têm em comum (VAN DRIE; LAJINESS, 1998).

O arquivo de resultado de similaridade gerado pela base de dados BindingDB foi analisado no Discovery Studio, onde foram consideradas com restrição farmacofórica as moléculas com similaridade estrutural abaixo de 60% em relação à molécula pivô CID104895, considerando que este valor é o índice mínimo para este parâmetro (PEDERSOLI-MANTOANI et al., 2014). Do conjunto de 5.000 moléculas foram selecionadas 13 moléculas, sendo ZINC04023027, ZINC04023028, ZINC01730183, ZINC02128880, ZINC02131499, ZINC02131497, ZINC02128882, ZINC00975899, ZINC03850106, ZINC03850100, ZINC31168554, ZINC14504295 e ZINC14504294 (Figura 12) por apresentarem um valor calculado de similaridade estrutural acima de 60%.

Figura 12 – Representação das estruturas químicas das moléculas da base ZINC que com maior similaridade estrutural em relação a molécula pivô CID104895.

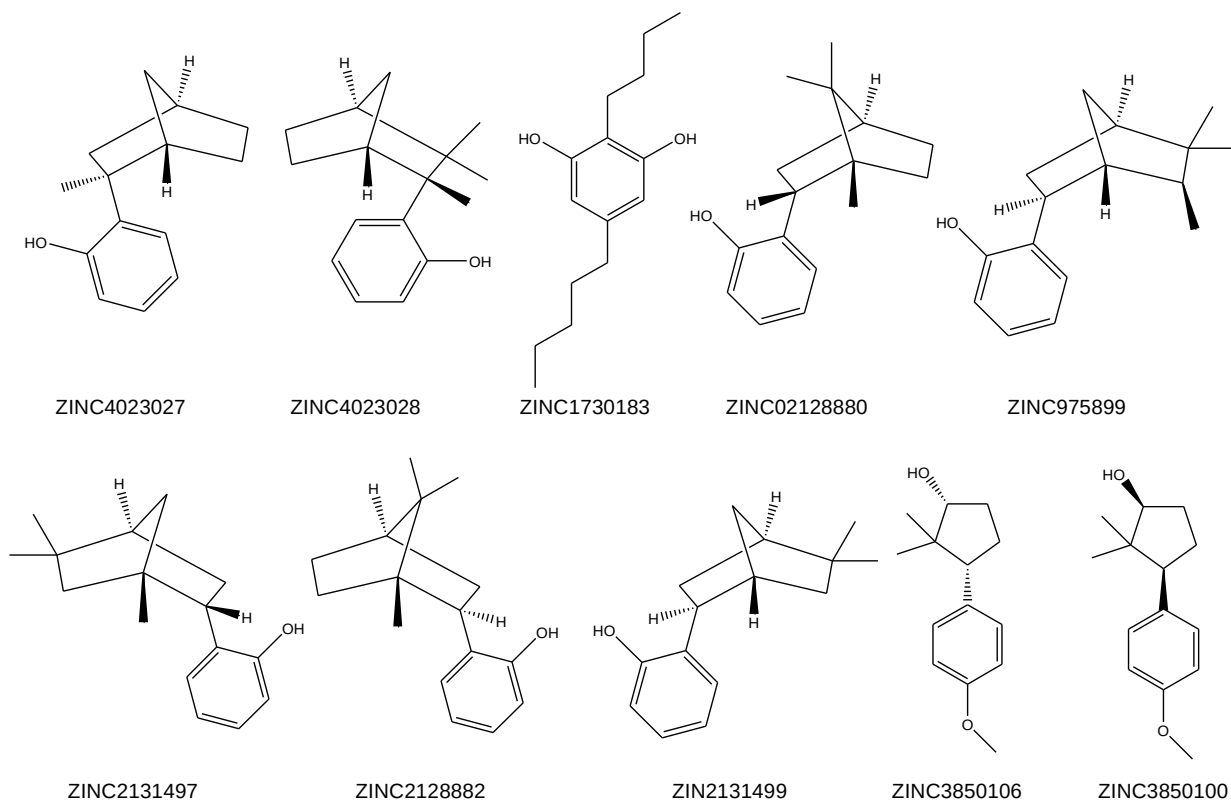
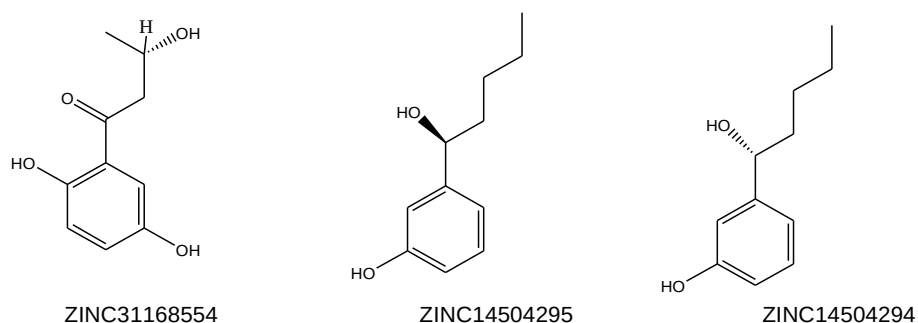
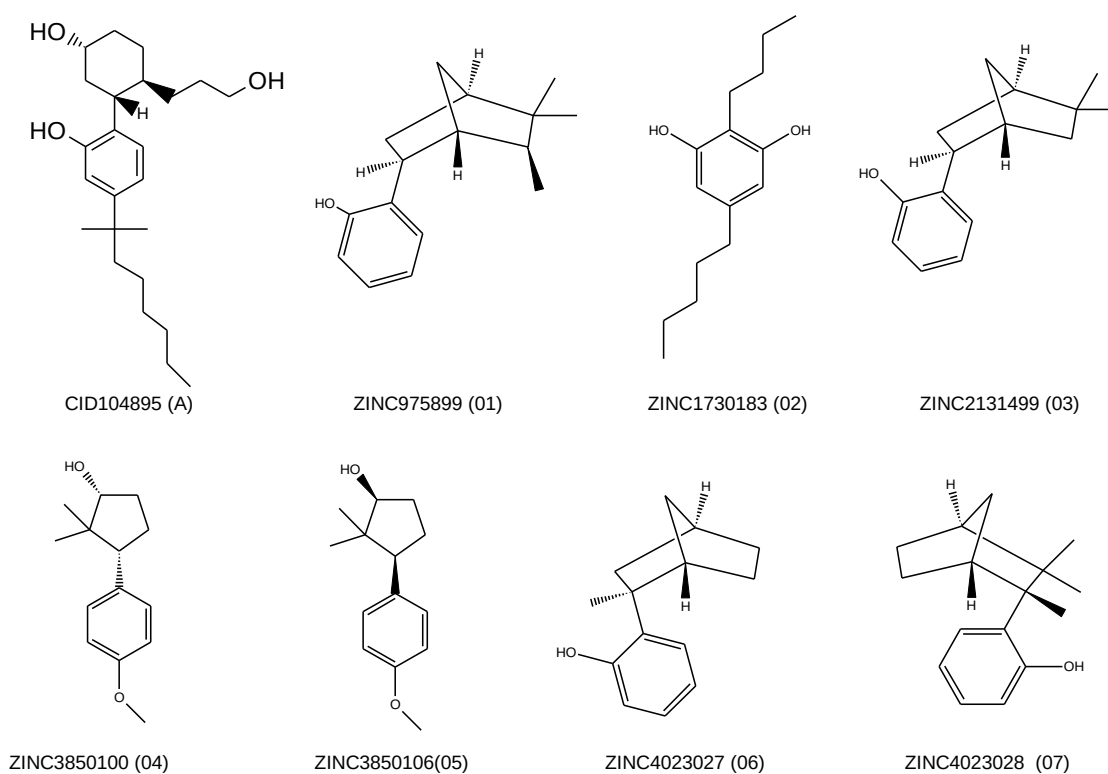


Figura 12 – cont.

Devido o princípio da similaridade, as 13 moléculas selecionadas foram inspecionadas visualmente no software Discovery Studio onde cada uma destas moléculas teve a estrutura comparada com a estrutura da molécula Pivô CID104895. Após a inspeção visual, verificou-se que as 07 moléculas ZINC975899 (01), ZINC1730183 (02), ZINC2131499 (03), ZINC3850100 (04), ZINC3850106 (05), ZINC4023027 (06) e ZINC4023028 (07) apresentaram maior semelhança estrutural em relação a molécula Pivô CID104895 (A) (Figura 13).

Figura 13 – Representação das estruturas químicas das moléculas com maior similaridade estrutural reconhecidas através da inspenção visual.

5.4 PREDIÇÃO DE PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS E TOXICOLÓGICAS

5.4.1 Predição das Propriedades farmacocinéticas

Os candidatos no desenvolvimento de fármacos antes de passarem ao estágio pré-clínico e clínico são selecionados baseados principalmente em dados farmacológicos e toxicológicos, devido a isto, parâmetros físico-químicos como solubilidade, taxa de dissolução, lipofilicidade, pKa, a estabilidade, polimorfismo e partículas características devem ser avaliadas o mais cedo possível. Estas predições tem muita relevância, pois, oferecem informações farmacocinéticas iniciais sobre absorção, distribuição, metabolismo, toxicologia e eliminação (BALBACH; KORN, 2004b) das moléculas a se tornarem propostas de fármacos.

As predições das propriedades farmacocinéticas foram realizadas utilizando-se o software QikProp (MOHAN et al., 2007) que prediz as propriedades ADME: absorção oral humana (HOA), a permeabilidade celular em células Caco-2 e MDCK, e a PBHE. Ele também tem a capacidade de verificar e quantificar violações a “regra dos cinco” de Lipinski (JORGENSEN, 2004). Sabendo-se que a correlação linear entre estas predições e dados experimentais é muito boa, novas drogas estão sendo desenvolvidas utilizando-se este software, de modo que a predição ADME virtual é fator quase obrigatório no ponto inicial de pesquisa (MOHAN et al., 2007). A tabela 1 apresenta os descritores e propriedades calculados pelo Qikprop bem como seus parâmetros.

Um parâmetro fornecido pelo Qikprop é o número de Stars. Este número indica valores da propriedade ou descritor que ficam fora do intervalo de 95% das moléculas conhecidas. Um alto número de Stars sugere que a molécula tem a maior possibilidade de possuir propriedades com predições menos confiáveis, portanto, quanto mais próximo de 0, melhor a confiabilidade do parâmetro (JORGENSEN; DU, 2000, 2002). Das moléculas em estudo as moléculas A, 04 e 05 obtiveram os melhores resultados com 0 (zero) stars. As moléculas 01, 02 e 03 tiveram um resultado de 1 (uma) stars. As moléculas 06 e 07 tiveram o resultado de 2 (duas) stars. Portanto, neste parâmetro todas as moléculas apresentaram resultados dentro do recomendado (Tabela 1).

Tabela 1 - Descritores e propriedades calculados pelo Qikprop e seus valores de parâmetro.

Propriedade ou descritor	Parâmetros
Stars	0
absorção oral humana	1 baixa 2 média 3 alta
% absorção oral humana	<25 baixa >80 alta
Permeabilidade em células MDCK	<25 baixa >500 alta
Permeabilidade em células Caco-2	<25 baixa >500 alta
QLogBB	-3 a 1.2
Regra dos cinco	Máximo de 1

Fonte: Manual Qikprop 4.4

Formas orais continuam sendo a via mais atraente para a administração de fármacos, constituindo cerca de 60% de todos os produtos farmacêuticos no mercado. Problemas inerentes com a via oral, incluindo baixo pH, enzimas gástricas e má absorção de moléculas representam a décadas obstáculos a esta via de administração (DESAI et al., 1996). Uma boa absorção intestinal é um fator farmacocinético preponderante para que a molécula de um fármaco atinja o seu alvo biológico causando, conseqüentemente, o efeito biológico (ARTURSSON; KARLSSON, 1991). No Qikprop esta propriedade farmacocinética é predita através da absorção oral humana (AOH) sendo o valor de referência considerado alto quando apresenta cálculo acima de 80% e a “% de absorção oral no Trato Gastrointestinal” com valor de referência considerado pobre em caso menor que 25%.

Somente a molécula A apresentou baixa AOH. As moléculas 01, 02, 03, 04, 05, 06 e 07 apresentaram alta predição para AOH. Em relação a % AOH todas as

moléculas apresentaram bons resultados com valores de 100% de absorção no trato Gastrointestinal, demonstrando-se ideais para a utilização pela via oral considerando o fato da alta absorção dos canabinoides (Tabela 2). O Δ^9 -THC e seu principal metabólito 1-nor-9-carboxi-delta-9-tetra-hidrocanabinol apresentam uma rápida absorção oral, mas, devido principalmente ao efeito de primeira passagem hepático, possuem uma disponibilidade sistêmica variando de 45% a 53% da dose inicial (10 -15mg) (BRENNEISEN, 1996).

As células Caco-2 são células derivadas do adenocarcinoma de cólon humano e muito utilizadas como parâmetro de permeabilidade celular *in vitro* (YEE, 1997) sendo um teste importante para avaliar a absorção intestinal de drogas, assim como, a permeabilidade celular *in vitro* em células MDCK que são células de rim canino e tem um crescimento mais curto que o de células Caco-2 (ARTURSSON; KARLSSON, 1991). Os valores de referência para a permeabilidade celular em células Caco-2 e MDCK recomendados pelo programa Qikprop para ambas as propriedades situam-se entre 25nm/s e 500 nm/s.

Das 07 moléculas estudadas, apenas a molécula A apresentou baixa permeabilidade aparente tanto para células Caco2 como para células MDCK. As outras moléculas 01, 02, 03, 04, 05, 06 e 07 apresentaram alta predição para estas duas propriedades farmacocinéticas (Tabela 2).

Os resultados obtidos corroboram com os estudos de Alvarez-Figueroa et al. (ALVAREZ-FIGUEROA et al., 2011) que constatou que derivados de benzimidazole com potencial de atividade canabinoide, sendo fitocanabinoides, endocanabinoides e canabimiméticos, devem possuir elevada solubilidade. Inclusive, a utilização de compostos canabinoides, como Δ^9 -THC e CBD, aumentam por si só, a permeabilidade das células Caco-2 (ALHAMORUNI et al., 2010).

Ao contrário de alguns agonistas para receptores canabinoides CB2 que apresentaram baixo coeficiente de permeação em células MDCK (a partir de $1,24 \pm 0,18 \times 10^{-6}$ cm/s) em condições experimentais (MU et al., 2013), estudos comprovaram que agonistas canabinoides CB1, como o CP55940, apresentam boa permeabilidade, inclusive com aumento de excreção de Ca^{2+} (CHOU et al., 2001). Em comparação a isto, os resultados obtidos demonstram a possibilidade da utilização destas moléculas como fármacos orais.

A BHE é uma estrutura complexa composta de elementos celulares e uma matriz extracelular (RUBIN; STADON, 1999; LARSEN et al., 2006) e tem importância fundamental na seletividade de moléculas que atuam no SNC e muitos estudos *in silico* são direcionados para a predição desta propriedade (MA; CHEN; YANG, 2005). Os valores de referência do Qikprop para esta propriedade encontram-se entre -3.0 e 1.2.

Sabe-se que uma variedade de propriedades moleculares como a lipofilicidade, a capacidade de ligação de hidrogênio, carga molecular, tamanho, forma e flexibilidade da molécula afetam a permeabilidade da BHE e devido os receptores CB1 localizarem-se no SNC é desejável que as moléculas em estudo ultrapassem esta barreira. Propriedade comprovada pelo fato de que, tanto agonistas dos receptores canabinoides como antagonistas, por exemplo o Rimonabanto e seu análogo C-JU75528 (HORTI et al, 2006) possuírem lipofilicidade elevada. Em relação a esta propriedade farmacocinética, todas as 7 moléculas em estudo, assim como a molécula A tiveram boa predição de permeabilidade na BHE (Tabela 2).

Após a análise das propriedades físico-químicas de milhares de moléculas Lipinski et al. (1987) chegou a conclusão de que a absorção e consequentemente, a possibilidade de provocar algum efeito biológico de um ligante e seu receptor estaria ligada a presença de alguns critérios como peso molecular inferior a 500; A lipofilicidade dos ligantes (Log P) inferior a 5; O número de grupos doadores de átomos de hidrogênio inferior a 5; O número de grupos aceptadores de átomos de hidrogênio inferior a 10. Convencionou-se assim a chamada “Regra dos 5” (Rule of five) de Lipinski muito utilizada no planejamento de fármacos (FULLER; BURGOYNE; JACKSON, 2009; HAGE-MELIM et al., 2009; BLOCK, 2011; JOHN et al., 2011; LIPINSKI et al., 2012; RODRIGUES, 2014; SHRINIVASAN et al., 2012; PICANÇO et al., 2015; SILVA et al., 2014, 2015) cujas propriedades físico-químicas se encontram dentro dos valores determinados nas pesquisas de Lipinski.

O Qikprop faz a predição em relação ao número de violações da “Regra dos 5” sendo que o valor de referência é ligado ao número de violações a esta regra (MOHAN et al., 2007). Quanto menor o número de violações, maior a possibilidade de a molécula ser utilizada com fins terapêuticos sendo o número de 1 (uma) violação o máximo considerado. Todas as moléculas em estudo, inclusive a Pivô

apresentaram 0 (zero) violações em relação a “Regra dos 5”. Portanto, todas as moléculas apresentaram propriedades físico-químicas necessárias ao planejamento de um fármaco a ser administrado pela via oral (Tabela 2).

Tabela 2. Predição de Propriedades Farmacocinéticas das 07 moléculas bioligantes.

				Permeabilidade	Permeabilidade		Regra dos
	Stars	HOA	%HOA	Caco-2	MDCK	QlogBB	cinco
A	0	Baixa	100	420	194	-1.714	0
01	1	Alta	100	3.840	2.118	0.158	0
02	1	Alta	100	1.693	874	-0.771	0
03	1	Alta	100	4.326	2.409	0.192	0
04	0	Alta	100	4.852	2.727	0.186	0
05	0	Alta	100	4.847	2.724	0.184	0
06	2	Alta	100	6.083	3.482	0.337	0
07	2	Alta	100	5.295	2.997	0.276	0

Considerando-se as predições ADME das moléculas em estudo pode-se perceber que estas apresentam propriedades farmacocinéticas satisfatórias, portanto, até este ponto da pesquisa, todas se apresentam como potenciais candidatos a fármacos.

5.4.2 Predição das Propriedades toxicológicas

Nas últimas décadas devido ao custo econômico e insucessos clínicos o ensaio de carcinogenicidade e mutagenicidade tem sido bastante utilizados no planejamento de novos fármacos (RIDINGS et al., 1996). Estes ensaios tem o objetivo de identificar o potencial tóxico de moléculas em animais e faz a avaliação de risco em humanos impedindo a continuidade da pesquisa ou possibilitando novas análises e metodologias no desenvolvimento de propostas de fármacos (MUSTER et al., 2008).

O programa DEREK (RIDINGS et al., 1996) contém um subconjunto de cerca de 50 regras que descrevem subestruturas toxicofóricas responsáveis pela sensibilização da pele (BARRATT; LANGOWSKI, 1999) e faz esta predição

considerando a presença de Halogenetos de alquila, aldeídos, compostos α , β insaturados, aminas aromáticas, Fenóis, Hidroquinonas, Isotiazolinonas, Alquil sulfonados e grupos nitro aromáticos nas moléculas teste (ESTRADA; PATLEWICZ; GUTIERREZ, 2004). Constantemente estão sendo feitas melhorias para alertas e incluídas predições, como por exemplo, alertas para 1,2-dicetonas e isotiazolinonas melhorando a definição do grupamento toxicofórico (LANGTON et al., 2006).

O DEREK fez a predição de propriedades toxicológicas das 7 moléculas juntamente com a molécula A e nenhuma apresentou alertas acerca da Genotoxicidade, Mutagenicidade e Carcinogenicidade, irritação, efeitos reprodutivos e neurotoxicidade (Tabela 3).

A presença de um alerta estrutural de sensibilização da pele foi indicado em todas as moléculas, fato explicado devido pequenas moléculas lipofílicas, no caso, com peso molecular até 400 nM serem mais facilmente absorvidas pela pele e, portanto, são mais susceptíveis de causar sensibilização (BASKETTER; SCHOLLES, 1992; ESTRADA; PATLEWICZ; GUTIERREZ, 2004).

Considerando que compostos com alertas de carcinogenicidade e mutagenicidade bem mais impeditivos, mas, com a possível modificação molecular, foram considerados moléculas promissoras para o desenvolvimento de fármacos, como, por exemplo, nos compostos da classe de sesquiterpenos presentes na resina de copaíba (SILVA et al., 2015), pode-se considerar os resultados das predições toxicológicas para a molécula A e das 7 moléculas em estudo como dentro da faixa de referência para candidatos a fármacos.

As predições a toxicidade das moléculas estudadas tem resultados mais positivos e satisfatórios se comparadas a resultados experimentais de agonistas potentes dos receptores CB1 como, por exemplo, os recentes canabinoides sintéticos (LANGER, 2016) indazolidínicos 5F-AMBICA (dose tóxica de 0,1 a 1mg/kg), 5F-AMB (dose tóxica de 3mg/kg) e seus análogos, que têm sido associados a numerosos incidentes tóxicos, efeitos adversos, incluindo a morte em seres humanos (BANISTER et al., 2016b).

Tabela 3 - Predições de toxicidade calculadas com **DEREK** para a molécula A e as 07 moléculas selecionadas pelo reconhecimento visual

Moléculas	Sensibilização da pele	Alerta	Carcionogenicidade em mamíferos	Nefropatia em mamíferos	Mutagenicidade	Predição de Toxicidade
A	Plausível	Fenol substituído ou precursor	Ausência de Alertas	Ausência de Alertas	Ausência de alertas	Não há relatos
01	Plausível	Fenol substituído ou precursor	Ausência de Alertas	Ausência de Alertas	Ausência de alertas	Não há relatos
02	Plausível	Resorcinol ou precursor	Ausência de Alertas	Ausência de Alertas	Ausência de alertas	Não há relatos
03	Plausível	Fenol substituído ou precursor	Ausência de Alertas	Ausência de Alertas	Ausência de alertas	Não há relatos
04	Plausível	Fenol substituído ou precursor	Ausência de Alertas	Ausência de Alertas	Ausência de alertas	Não há relatos
05	Plausível	Fenol substituído ou precursor	Ausência de Alertas	Ausência de Alertas	Ausência de alertas	Não há relatos
06	Plausível	Fenol substituído ou precursor	Ausência de Alertas	Ausência de Alertas	Ausência de alertas	Não há relatos
07	Plausível	Fenol substituído ou precursor	Ausência de Alertas	Ausência de Alertas	Ausência de alertas	Não há relatos

5.6 PREDIÇÃO DE ATIVIDADE: PASS E SEA

O conceito do espectro de atividade biológica foi introduzido para descrever as propriedades de substâncias biologicamente ativas. A predição da atividade dos compostos foi realizada utilizando o webserver PASS (<http://www.akosgmbh.de/pass/index.html>) (LAGUNIN et al., 2000), o qual prediz com alta acurácia mais de 3500 efeitos farmacoterapêuticos e mecanismos bioquímicos com base na fórmula estrutural de uma substância, e que podem ser utilizados de forma eficiente para encontrar novos alvos para estas moléculas (POROIKOV et al., 2003).

Os receptores canabinoides CB1 são receptores proteicos acoplados à proteína G (ABOOD et al., 1997) e estão presentes em áreas associadas ao controle motor, resposta emocional, aprendizagem, memória e comportamentos orientados por objetivos, homeostase energética e funções cognitivas superiores, portanto, os CB1 são responsáveis pela maioria dos efeitos psicotrópicos dos agonistas canabinoides (HOWLETT, 2002b).

A ativação do receptor CB1 causa inibição da enzima adenilato ciclase celular, gerando hiperpolarização neuronal e diminuição da liberação de neurotransmissores como o inibitório Ácido gama-amino butírico (GABA) e Glutamato, envolvido em funções cognitivas cerebrais como aprendizado e memória (SVIZENSKA; DUBOVY; SULCOVA, 2008).

A liberação do neuropeptídeo Colescistocinina (CCK) também é inibida, impedindo assim, a sensação de saciedade (MACKIE, 2006). Os CB1 pós-sinápticos parecem regular a excitabilidade e a plasticidade sináptica via modulação de canais de K⁺ e inibição da adenilciclase (BOUABOULA et al., 1995). Devido a esta inibição o catabolismo do ATP para AMPc necessário para a ativação da Proteína Quinase A (PKA) (BOUABOULA et al., 1995) é impedido acarretando a inibição da PKA (LUIS et al., 2011).

Conhecendo-se o mecanismo bioquímico derivado da ativação do receptor CB1, para a predição de atividade biológica das moléculas em estudo no site PASS foram utilizados dois parâmetros de pesquisa sendo 1. Inibição da adenilato Ciclase

(Adenylate cyclase inhibitor) e 2. Estimulação de quinases ativadas por mitógenos (MAP kinase stimulant). As moléculas A, 03 e 07 tiveram predição de atividade de estimulação sobre quinases ativadas por mitógenos; as moléculas 02 e 05 tiveram predição de inibição da adenilato ciclase; as moléculas 01 e 04 tiveram predição sobre os dois locais e a molécula 06 não apresentou nenhuma predição de atividade sobre algum dos parâmetros utilizados (Tabela 4).

É preciso ter em mente que a probabilidade P_a reflete a predição da similaridade da molécula em estudo com as moléculas do conjunto de treino, cujas atividades já são conhecidas experimentalmente. Portanto, não é uma característica direta de atividade, e sim um parâmetro quantitativo sobre as moléculas pertencentes ao conjunto de treino, de modo que, quanto maior o valor de P_a em relação a P_i , maior a probabilidade da molécula em estudo apresentar atividade sobre o alvo biológico em questão (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/irp.php>). Estas características conferem confiabilidade ao PASS, mostrando-o como uma ferramenta de forte potencial na predição da atividade biológica e na descoberta de novas drogas (GOEL, 2011)

Tabela 4 - Predições de atividade biológica calculadas com **PASS** para a molécula A e as 07 moléculas selecionadas pelo reconhecimento visual

Moléculas	PA	PI	Atividade
A	0,301	0,18	Estimulante de MAP quinase
01	0,490	0,046	Estimulante de MAP quinase
	0,122	0,071	Inibidor de adenilato ciclase
02	0,169	0,041	Inibidor de adenilato ciclase
03	0,450	0,065	Estimulante de MAP quinase
04	0,226	0,023	Inibidor de adenilato ciclase
	0,494	0,044	Estimulante de MAP quinase
05	0,226	0,023	Inibidor de adenilato ciclase
06	0,579	0,037	Sem predição
07	0,504	0,041	Estimulante de MAP quinase

O webservidor SEA (Similarity Ensemble Approach) (sea.bkslab.org) fornece gratuitamente um espectro de predições de atividades obtido a partir da similaridade química do composto com seus possíveis receptores (KEISER et al., 2007). O resultado da predição é calculado em valores esperados (E-value) em semelhança a similaridade de Tanimoto (MASON et al., 1999) Quanto mais próximo de zero ou menor que 1×10^{-10} é considerado significativo e sugere que a predição não é susceptível de estar ocorrendo por acaso (LOUNKINE et al., 2012).

A predição de atividade sobre o receptor Canabinoide do tipo CB1 é fator primordial nesta pesquisa, afinal, é necessário a ligação a este para que se obtenha a manifestação de um efeito biológico. De todas as moléculas em estudo, inclusive a A, a molécula 02, mesmo que com E-values com baixa significância foi a única que demonstrou predição positiva ao receptor Canabinoide do tipo CB1 humano e camundongo. A predição SEA da molécula 02 apresentou E-value 1.33×10^{-3} e 0.53 para similaridade de Tanimoto para o receptor humano (Tabela 5).

Tabela 5 - Predições de atividade biológica calculadas pelo webservidor **SEA** para a molécula A e as 07 moléculas selecionadas pelo reconhecimento visual

Moléculas	Receptor canabinoide CB1	E-value	MaxTC
A	Sem predição de atividade	-	-
01	Sem predição de atividade	-	-
02	Receptor Canabinoide CB1 Humano	1.33×10^{-3}	0.53
	Receptor Canabinoide CB1 camundongo	4.45×10^{-1}	0.42
03	Sem predição de atividade	-	-
04	Sem predição de atividade	-	-
05	Sem predição de atividade	-	-
06	Sem predição de atividade	-	-
07	Sem predição de atividade	-	-

5.7 DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE SINTÉTICA PARA AS MOLÉCULAS SELECIONADAS

A tendência atual é que no processo de descoberta de drogas os candidatos sejam classificados, ou mesmo eliminados por métodos que estimam a sua acessibilidade sintética, isto é, a facilidade de síntese de uma molécula, portanto, é desejável incluir este aspecto na priorização de compostos logo no início do processo de planejamento de fármacos (CLARK, 2000). No caso de uma nova molécula a validação experimental da sua atividade requer a sua síntese. Métodos para a estimativa da pontuação de acessibilidade sintética baseiam-se numa combinação dos fragmentos e uma penalidade de complexidade. Os fragmentos são calculados com base na análise de moléculas constantes no PubChem (cerca de 37 milhões) das quais a síntese química estão armazenadas neste banco de dados. A pontuação leva em conta a presença de características estruturais não-padrão, tais como anéis aromáticos, fusão de anéis aromáticos, complexidades estérica e o tamanho da molécula (ERTL; SCHUFFENHAUER, 2009).

A previsão da acessibilidade química das moléculas foi realizada utilizando o programa SYLVIA (http://www.molecularnetworks.com/online_demos/sylvia/), que realiza a predição da acessibilidade a síntese de uma molécula, usando uma escala variando de 1 indicando uma síntese simples e 10 implica uma molécula de difícil de síntese (YUAN; PEI; LAI, 2011) sendo a pontuação (score) estimada pelos químicos, agrupadas em 4 categorias: fácil acessibilidade (score ≤ 3), média-baixa acessibilidade ($3 < \text{score} \leq 5$), média-alta acessibilidade ($5 < \text{score} \leq 7$) e difícil acessibilidade (score > 7) (BONNET, 2012).

As 07 moléculas em estudo tiveram a predição de viabilidade sintética realizada no SYLVIA e de todas, somente a molécula 02 foi a única que apresentou a acessibilidade química predita como fácil obtendo pontuação de 2.91, inclusive, este resultado foi melhor que a predição da molécula A que obteve um resultado de 5.12 indicando acessibilidade mediana para síntese (Tabela 6). As moléculas restantes tiveram a sua viabilidade sintética predita como mediana quantificada entre 4.16 e 5.07.

Tabela 6 - Predição da acessibilidade sintética da molécula A e das moléculas selecionadas pelo reconhecimento visual.

Molécula	Acessibilidade
A	5.12
01	5.07
02	2.91
03	4.87
04	4.16
05	4.16
06	4.84
07	4.84

A molécula 02 apresentou boas predições de propriedades farmacocinéticas, toxicológicas, PASS, além de demonstrar atividade de inibição da adenilato ciclase, característica importante para o efeito agonista em receptores canabinoides CB1. Outra vantagem desta molécula é o seu baixo peso molecular (236,355 g/mol) considerando-se que o Design de Drogas Baseado em fragmentos ou moléculas pequenas (FBDD) tem emergido como uma técnica importante para a descoberta e desenvolvimento de novos fármacos (LAW et al., 2009). Devido a sua síntese química ser classificada como simples esta molécula demonstra ser uma favorável proposta a ser estudada para o desenvolvimento de um fármaco que pode ser utilizado no tratamento da síndrome de abstinência em dependentes químicos de *C. sativa*.

5.8 ESTADO DA ARTE DAS MOLÉCULAS SELECIONADAS

5.8.1 Molécula ZINC01730183 (02)

Do conjunto de 5000 moléculas que apresentaram ter o mesmo farmacóforo daquele predito pelos 32 bioligantes informados pelo BindingDB e após os testes de predição de propriedades farmacocinéticas, toxicológicas e de atividade biológica, a

molécula ZINC01730183 (02) foi a que apresentou melhores predições. Esta molécula tem o nome químico de 2-butil-5-pentilbenzeno-1,3-diol e fórmula $C_{15}H_{24}O_2$ sendo conhecido comumente de Stemphol.

As propriedades físico-químicas desta molécula são Peso molecular de 236.35 g/mol, LogP 5.5, duas Regiões doadoras de hidrogênio e duas Regiões aceptoras de hidrogênio.

A molécula Stemphol é um Alquil-resorcinol e foi isolada pela primeira vez em 1973 por Stodola et al. a partir do *Stemphylium majusculum*. Em 1979, Achenbach e Kohl atribuíram atividades antimicrobianas contra fungos (*Mucor hiemalis*) (MARUMO; HATTORI; KATAYAMA, 1985), leveduras (*Schizosaccharomyces pombe*) e bactérias Gram-positivas (*Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*) a este composto. Em 1994, Solfrizzo et al. detectaram Stemphol em arroz cozido e, em 2004, Andersen e Frisvad, em tomates naturalmente contaminados. Investigações por novos compostos e novos fungos endofitos constataram a presença de Stemphol em *Gaeumannomyces amomi* BCC4066 isolado do pseudocaule saudável de *Alpinia malaccensis*, coletado no Parque Nacional Suthep-Pui, na parte norte da Tailândia.

A partir da descoberta do anticancerígeno paclitaxel em *Pestalotiopsis microspora*, fungo endofito que parasita assintomaticamente o *Himalaia taxus wallichiana*, destacou-se a importância destes fungos e chamou-se a atenção para os metabólitos produzidos por estes organismos (STONE, 2000). Inclusive, várias outras espécies de fungos endofitos são conhecidos como sendo fontes de fármacos antidiabéticos, antifúngicos e compostos imunossupressores (SROBEL, 1999, 2003; VERMA, 2009). Países tropicais, como a Tailândia pode muito bem vir a ser excelentes fontes de fungos endofitos e seus compostos bioativos, entre eles, o Stemphol. Após estas descobertas, cepas de fungos endofitos têm servido de estudos de planejamento de fármacos, como por exemplo, Cepas do fungo endofito *Gaeumannomyces amomi* (BCC4066) obtidas a partir de folhas saudáveis e pseudocaule de *Alpinia malaccensis* que constatou-se apresentar uma fraca atividade contra *Penicillium avellaneum* e *Bacillus subtilis*, mas uma forte atividade contra *Candida albicans* (LUMYONG, 2004).

Stemphol exibiu toxicidade significativa contra camarão de água salgada (*Artemia salina*) com uma concentração aproximada de 10 ug / mL (QIN, 2009).

Metabólitos de Stemphol, por exemplo, o Stemphol 1-O- β -D Galactopiranosídeo foram testados em células cancerígenas, como um agente anti-malária, contra vírus tipo-1 do herpes simples, *Mycobacterium tuberculosis*, e contra uma variedade de fungos patogênicos de plantas. Infelizmente estes compostos foram inativos em alguns testes e inconclusivos em outros. Em microorganismos como *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. cereus* e *C. albicans* demonstraram pouca atividade numa concentração de 50 μ g/ml (JUMPATHONG et al., 2010).

5.8.2 Molécula ZINC975899 (01)

As propriedades físico-químicas da molécula ZINC975899 (01), o Trimetilbicicloheptil-fenol conhecido usualmente como Xibornol são peso molecular de 230.35g/mol, LogP igual a 4.7, uma Região doadora de hidrogênio e uma Região aceptora de hidrogênio.

O Xibornol já demonstrou alta atividade inibidora contra bactérias gram-positivas, como o *Staphylococcus aureus*, sendo a concentração inibitória mínima (CIM) entre 2 a 8 μ g/ml (FABRI, 1988). Em pacientes com bronquite crônica e ressecção de pulmão, amígdalas ou laringe, já foi comprovado que 500mg de Xibornol possui farmacocinética adequada para que se obtenha um efeito antibacteriano (SCAGLIONE, 1987).

Devido a sua lipossolubilidade o Xibornol é usado em alguns países europeus no cuidado dental e para o tratamento local de infecção e inflamação da garganta através da forma de colutório de pulverização. Exatamente pela sua baixa solubilidade em água, o desenvolvimento de preparações aquosas é limitada, de modo que a forma farmacêutica que pode ser utilizada da molécula é apenas como suspensão aquosa de pulverização (CIRRI; MURA; MORA, 2007).

Modernos sistemas de entrega de drogas, como por exemplo, a auto-microemulsificação SMEDDS (self-microemulsifying drug delivery systems) (KANG et al., 2004) estão sendo testados para a melhora da hidrosolubilidade do Xibornol. Os SMEDDS são soluções isotrópicas e termodinamicamente estáveis constituídos por um óleo, tensioativo, co-tensioativo e de drogas que formam espontaneamente óleo-em-água de microemulsões, quando misturado com água sob agitação suave. As vantagens destes sistemas incluem não apenas solubilização melhorada

da droga, mas as propriedades de liberação e de absorção também melhoradas, devido à forma já dissolvida da droga na formulação e o tamanho de gotículas resultante, proporcionando uma grande área de superfície interfacial (GERSHANIK; BENITA, 2000).

O Xibornol foi bem incorporado ao SMEDDS o que torna possível desenvolver uma alternativa válida para as formulações de suspensões aquosas tanto desta molécula, como em outras de igual lipossolubilidade (CIRRI; MURA; MORA, 2007).

5.8.3 Molécula ZINC2131499 (03)

As propriedades físico-químicas da molécula ZINC2131499 (03), o 2-(7,7-dimethylbicyclo[2.2.1]hept-2-yl)cyclohexanol, são peso molecular de 230.35 g/mol, LogP 4.9, uma Região doadora de hidrogênio e uma Região aceptoras de hidrogênio.

A molécula 03, também chamada de substância SP1-7, é um metabólito do neuropeptídeo P. Este neuropeptídeo está ligado a mediação da resposta inflamatória neurogênica que consiste em vasodilatação e extravasamento de plasma (FOLKESSON, 1985). Recentes estudos confirmam que tanto esta molécula como seus análogos sintéticos podem atenuar a hiperalgesia e produzir anti-alodinia em animais utilizando vários modelos experimentais de dor neuropática. Esta propriedade pode estar ligada a interação com o receptor opióide, sendo esta hipótese ainda não comprovada (JONSSON, 2015). Técnicas para a detecção e medição do neuropeptídeo P e do seu metabólito já foram aplicadas, entre elas, o imunoensaio ligado a enzima (ELISA) e o radioimunoensaio (RIA) com bons resultados para a ELISA (HELME, 1987). Atualmente, programas computacionais de química medicinal estão sendo utilizados com o intuito de se desenvolver compostos que mimetizam o efeito de SP1-7, encontrando obstáculo devido ao alvo biológico de SP1-7 não ter sido identificado (JONSSON, 2015).

5.8.4 Molécula ZINC3850100 (04)

As propriedades físico-químicas desta molécula são peso molecular de 220.31 g/mol, LogP 3, uma Região doadora de hidrogênio e duas Regiões aceptoras de hidrogênio.

Os análogos do metoxifenil-dimetilciclopentano-1-ol (CID 2754193) estão sendo estudados a décadas e já foram comprovados com potencial citotóxicos para células cancerígenas de pulmão e mama e tem ação também como agentes antimitóticos, por inibição da polimerização da tubulina, fato que impede a divisão celular destas estruturas (CUSHMAN et al., 1992).

Sabe-se que os hormônios estrogênicos tem ação sobre a apoptose celular e consequente predisposição ao câncer de células mamárias (WANG, 1995). Os medicamentos antagonistas do receptor de estrógeno, como por exemplo, o Tamoxifeno tem sido utilizados no tratamento de câncer de mama, mas, devido os vários efeitos colaterais (problemas ginecológicos e eventos vasculares) principalmente em mulheres na menopausa (CELLA et al., 2006) existem pesquisas buscando-se alternativas para o tratamento. Devido a esta propriedade antiproliferativa de células cancerígenas, os compostos derivados do metoxifenil, por exemplo, análogos fenólicos de trioxifeno, tem tido a sua afinidade ao receptor de estrógenos e os efeitos antiproliferativos em células MCF-7 (células de câncer de mama) sendo estudadas (JONES, 2012), ainda com resultados inconclusivos.

Compostos sintetizados a partir o grupamento metoxifenil exibem atividade anti-inflamatória comprovada comparável com a de ácido acetilsalicílico ou superior ao ibuprofeno e toxicidade aguda (LD₅₀) inferior a toxicidade aguda de ácido acetilsalicílico e significativamente menor do que a de ibuprofeno (LABANAUSKAS et al., 2004), fato que demonstra a possibilidade da utilização destes compostos como alternativa a estes anti-inflamatórios não esteroidais.

5.8.5 Molécula ZINC3850106 (05)

As propriedades físico-químicas desta molécula são peso molecular de 220.31 g/mol, LogP 3, uma Região doadora de hidrogênio e duas Regiões aceptoras de hidrogênio.

Assim como a molécula ZINC3850100 (04), a molécula ZINC3850106 (05) também é um derivado metoxifenil-dimetilciclopentano-1-ol e está realcionada nos estudos citados na molécula anterior.

5.8.6 Molécula ZINC4023027 (06)

A molécula ZINC4023027 (06), de nome IUPAC Trimetil-Bi-cicloheptanil-fenol possui as propriedades físico-químicas de peso molecular de 230.34 g/mol, LogP 5, uma Região doadora de hidrogênio e uma Região aceptora de hidrogênio.

Os neurônios utilizam uma variedade de mecanismos para controlar dinamicamente a sua capacidade de sinalização e excitabilidade. Os canais de K^+ dependentes de voltagem, ou simplesmente Canais de K^+ fazem parte destes mecanismos em mamíferos e não mamíferos (MISONOU; MOHAPATRA; TRIMMER, 2005). A apoptose, processo associado a patologias como câncer, arteriosclerose e doença vascular pulmonar, desempenha um papel crítico no desenvolvimento embrionário e na homeostase de tecido, inclusive, do tecido neuronal (HAUNSTETTER; IZUMO, 1998). O efluxo nos Canais de K^+ ocorre no início do processo de apoptose e é necessário para a execução de eventos posteriores de modo que o bloqueio dos canais de K^+ atenua o processo de apoptose. Derivados do Bi-cicloheptanil-fenol, como por exemplo, o composto chamado 48F10 tem atividade comprovada sobre Canais de K^+ , inibindo-os e consequentemente, evitando a apoptose de neurônios corticais presentes na área mais extrema do cérebro dos vertebrados (SALVADOR-RECATALA et al., 2006).

Além disso, a apoptose desempenha um papel importante na manutenção do equilíbrio entre a proliferação e a perda de células no epitélio intestinal, fato que relaciona taxas de apoptose aumentadas em patologias intestinais, como doença inflamatória do intestino e enterocolite necrotizante, sugerindo a prevenção farmacológica de apoptose, por utilização de bloqueadores de Canais de K^+ como uma terapia para estas condições (GRISHIN et al., 2005). Outro problema relacionado diretamente com a apoptose são as doenças vasculares pulmonares, causadas por apoptose de células musculares lisas (EKHTERAE et al., 2001).

Estes estudos sugerem que os Canais de K^+ são alvos terapêuticos úteis em inúmeras patologias, inclusive, na mitose descontrolada que origina o câncer

(STRZYŻ, 2016) e devido ao fato dos derivados do Bícicloheptanil-fenol atuarem sobre estes alvos, estes compostos são alternativas promissoras e estudos mais conclusivos são necessários (SALVADOR-RECATALA et al., 2006).

5.8.7 Molécula ZINC4023028 (07)

A molécula ZINC4023028 (07) é análoga química a molécula 06 possuindo, portanto, as mesmas propriedades físico-químicas e de atividade que a molécula já citada anteriormente.

5.9 COMPARAÇÃO ENTRE O STEMPHOL (ZINC01730183) E A MOLÉCULA AGONISTA DE MAIOR ATIVIDADE CID104895

A molécula de maior atividade apresentada pelo BindingDB foi a CID104895 , HU-210, que tem as seguintes propriedades físico-químicas: peso molecular de 376,58 g/mol, LogP 6.1, três regiões doadoras de hidrogênio, três regiões aceptoras de hidrogênio. A molécula Stemplol, apresenta as propriedades físico-químicas de peso molecular de 236.35 g/mol, LogP 5.5, duas regiões doadoras de hidrogênio e duas regiões aceptoras de hidrogênio.

Tabela 7 – Propriedades físico-químicas das moléculas Pivô CID104895 (A) e a Stemplol (ZINC01730183)

	A	STEMPHOL (ZINC01730183)
Peso molecular	376.58	236.35 g/mol
LogP	6.1	5.5
Regiões doadoras de H	3	2
Regiões aceptoras de H	3	2

Considerando a “Regra dos 5” de Lipinsk, que verifica a presença de alguns critérios necessários para a atividade biológica, como peso molecular inferior a 500; A lipofilicidade dos ligantes (Log P) inferior a 5; O número de grupos doadores de átomos de hidrogênio inferior a 5; O número de grupos aceitadores de átomos de hidrogênio inferior a 10, as duas moléculas apresentam propriedades dentro dos

parâmetros exigidos, com exceção ao LogP. Embora, numericamente a molécula Stemphol apresenta valores mais próximos do recomendado pela “Regra dos 5”.

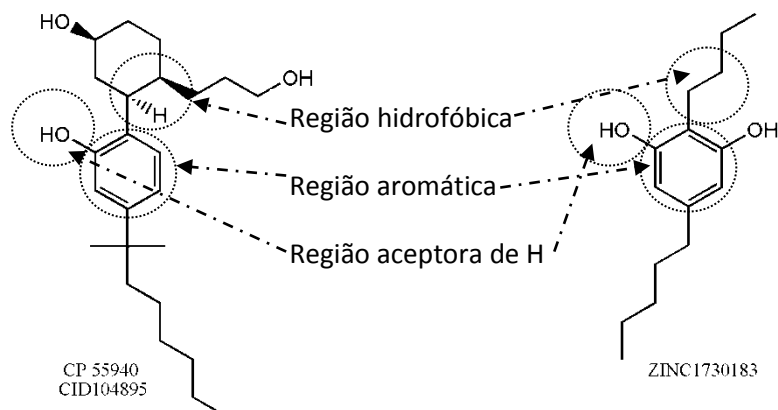
Em relação a propriedade peso molecular, a Stemphol também apresenta vantagem em relação a molécula Pivô CID104895, pois, possui um valor menor, fato que favorece a absorção da Stemphol.

A quiralidade é um quesito estrutural importante no planejamento e síntese de drogas. Os avanços na tecnologia quiral e a capacidade de produzir compostos enantiomericamente puros têm um impacto importante sobre a concepção de medicamentos, pesquisa e desenvolvimento e nas estratégias e políticas da indústria farmacêutica (AGRANAT; CANER, 1999). Muitos fármacos são quirais onde podem estar presentes dois ou mais enantiômeros. Cada enantiômero, devido à sua configuração, interage com os sistemas biológicos de forma única. Isso muitas vezes resulta em absorção, distribuição, vias metabólicas e taxas de excreção (ADME) diferentes. Assim como, potência, toxicidade e até mesmo modos de ação pode diferir entre enantiômeros. O ADME também pode se alterar quando os enantiômeros são usados em combinação, devido a possíveis relações sinérgicas e/ou competitivas entre os dois enantiômeros. (EVANS; KASPRZYK-HORDERN, 2014).

Convém deixar claro que a quiralidade não é condição para que uma substância apresente efeito farmacológico, entretanto se a estrutura tiver um centro quiral é importante saber qual a orientação espacial responsável pela atividade, pois, esse conhecimento determinará como o fármaco deverá ser consumido pelo público (CANER et al., 2004). A molécula Stemphol não apresenta centros quirais, portanto, a possibilidade em relação a possíveis enantiômeros e, conseqüentemente, efeitos biológicos diferentes é bem reduzida nesta molécula.

A derivação do grupamento farmacóforo escolhido apresentou uma região aromática, uma hidrofóbica e uma aceptora de ligação de hidrogênio que podem ser observadas em ambas as moléculas (Figura 14).

Figura 14 – Regiões farmacofóricas presentes na molécula Pivô CID104895 e a molécula Stemphol.



Pode-se notar a presença das três regiões da derivação do farmacóforo que estão presentes na molécula A também estão presentes na molécula Stemphol (02). Se compararmos a presença de estruturas mais complexas, nota-se a presença de um ciclohexano na molécula pivô (A), estrutura de síntese complexa (MARCO-CONTELLES; MOLINA; ANJUM, 2004) e ausência desta estrutura na molécula Stemphol, característica que favorece a síntese e reafirma o potencial desta molécula em ser utilizada como fármaco alternativo para a síndrome de abstinência desencadeada em usuários de *C. sativa*.

A aplicação de métodos computacionais e experimentais se tornam necessários para que o potencial terapêutico da Stemphol a torne uma alternativa real na farmacoterapia desta patologia.

6 CONCLUSÃO

A síndrome de abstinência é uma situação relativamente negligenciada pelas pesquisas de planejamento de fármacos. Atualmente, a maioria dos fármacos utilizados nestes casos é em nível do tratamento de sintomas, não agindo diretamente em alvos biológicos ligados à síndrome. Sendo este um problema mundial, decidiu-se realizar este trabalho com o objetivo de escolha de moléculas agonistas para o tratamento da síndrome de abstinência em dependentes de *C. sativa*.

Após a realização da metodologia proposta neste trabalho, como triagem de ligantes baseados em farmacóforo, classificação de moléculas por similaridade estrutural, calculadas pelo Tc e por inspeção visual, chegou-se a um grupo de 07 moléculas as quais tiveram suas propriedades farmacocinéticas, toxicológicas, de atividade biológica e de acessibilidade química preditas.

Destas as 07 moléculas, conclui-se que a molécula ZINC01730183 (02), conhecida como Stemphol apresenta características estruturais e valores de propriedades farmacocinéticas, toxicológicas dentro do esperado para um fármaco. Maior importância se dá a Stemphol por ela apresentar predições de atividade biológica sobre mecanismos bioquímicos relacionados com a dependência a *C. sativa* e principalmente, atividade biológica sobre o receptor CB1, fato que faz surgir a possibilidade de um fármaco ligante seletivo para o tratamento da síndrome de abstinência a *C. sativa*. A predição de acessibilidade química ser calculada como fácil é mais um indicativo que a Stemphol é uma proposta relevante para continuidade do planejamento virtual e da aplicação de métodos computacionais com o intuito desta molécula se tornar um fármaco a ser utilizado em uma situação que causa prejuízos e mal-estar, não somente ao indivíduo, mas, a toda a sociedade, como é o caso da síndrome de abstinência em dependentes químicos em *C. sativa*.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, L. F.; NELSON, S. B. Synaptic plasticity: taming the beast. **Nature neuroscience**, v. 3, n. november, p. 1178–1183, 2000.

ABBOTT, N. J. Blood–brain barrier structure and function and the challenges for CNS drug delivery. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 36, n. 3, p. 437–449, 23 maio 2013.

ABOOD, M. E.; DITTO, K.N.; SHOWALTER, M. A.; QING, V. M.T. Isolation and expression of a mouse CB1 cannabinoid receptor gene. **Biochemical Pharmacology**, v. 53, n. 2, p. 207–214, 1997.

ADAM, T. C.; EPEL, E. S. Stress, eating and the reward system. **Physiology and Behavior**, v. 91, n. 4, p. 449–458, 2007.

AGRANAT, I.; CANER, H. Intellectual property and chirality of drugs. **Drug Discovery Today**, v. 4, n. 7, p. 313–321, 1999.

ALHAMORUNI, ABDUSSALAM ; LEE ,A. C.; WRIGHT K. L.; LARVIN, M.; O'SULLIVAN, S. E. Pharmacological effects of cannabinoids on the Caco-2 cell culture model of intestinal permeability. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 335, n. 1, p. 92–102, 2010.

AMOS, A.; WILTSHIRE, S.; BOSTOCK, Y.; HAW, S.; MCNEILL, A. “You can’t go without a fag...you need it for your hash’--a qualitative exploration of smoking, cannabis and young people. **Addiction (Abingdon, England)**, v. 99, n. 1, p. 77–81, 2004.

ARNONE, M.; MARUANI, J.; CHAPERON, F.; THIÉBOT, M.; PONCELET, M.; SOUBRIÉ, P. LE FUR, G. Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR 141716, an antagonist of central cannabinoid (CB1) receptors. **Psychopharmacology**, v. 132, n. 1, p. 104–106, 1997.

ARTURSSON, P.; KARLSSON, J. Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 175, n. 3, p. 880–885, mar. 1991.

AUCLAIR, N; OTANI, S; SOUBRIE, P; CREPEL, F. Cannabinoids modulate synaptic strength and plasticity at glutamatergic synapses of rat prefrontal cortex pyramidal neurons. **Journal of neurophysiology**, v. 83, n. 6, p. 3287–3293, 2000.

BAJORATH, J. Integration of virtual and high-throughput screening. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 1, n. 11, p. 882–894, nov. 2002.

BAJORATH, J.; ECKERT, H. Molecular similarity analysis in virtual screening: foundations, limitations and novel approaches. **Drug Discovery Today**, v. 12, n. 5-6, p. 225–233, 2007.

BALBACH, S.; KORN, C. Pharmaceutical evaluation of early development candidates "the 100 mg-approach". **International Journal of Pharmaceutics**, v. 275, n. 1-2, p. 1–12, maio 2004a.

BALBACH, S.; KORN, C. Pharmaceutical evaluation of early development candidates "the 100 mg-approach". **International Journal of Pharmaceutics**, v. 275, n. 1-2, p. 1–12, maio 2004b.

BANISTER, S. D.; LONGWORTH, M.; KEVIN, R.; SACHDEV, S.; SANTIAGO, M.; STUART, J.; MACK, J. B. C.; GLASS, M.; MCGREGOR, I. S.; CONNOR, M.; KASSIOU, M. The pharmacology of valinate and tert-leucinate synthetic cannabinoids 5F-AMBICA, 5F-AMB, 5F-ADB, AMB-FUBINACA, MDMB-FUBINACA, MDMB-CHMICA, and their analogues. **ACS Chemical Neuroscience**, p. acschemneuro.6b00137, 15 jul. 2016b.

BARRATT, M. D.; LANGOWSKI, J. J. Validation and Subsequent Development of the Derek Skin Sensitization Rulebase by Analysis of the BgVV List of Contact Allergens. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 39, n. 2, p. 294–298, mar. 1999.

BARREIRO, E. J.; RODRIGUES, C. R.; ALBUQUERQUE, M. G.; SANT'ANNA, C. M. R.; ALENCASTRO, R. B.. Modelagem Molecular: Uma Ferramenta para o Planejamento Racional de Fármacos em Química Medicinal. **Química Nova**, v. 20, n. 3, p. 300–310, jun. 1997.

BASKETTER, D. A.; SCHOLE, E. W. Comparison of the local lymph node assay with the guinea-pig maximization test for the detection of a range of contact allergens. **Food and Chemical Toxicology**, v. 30, n. 1, p. 65–69, jan. 1992.

BEILIN, M.; NEUMANN, R.; BELKIN, M.; GREEN, K.; BAR-ILAN, A. Pharmacology of the intraocular pressure (IOP) lowering effect of systemic dexamethasone (HU-211), a non-psychotropic cannabinoid. **J Ocul Pharmacol Ther**, v. 16, n. 3, p. 217–230, 2000.

BEINFELD, M. C.; CONNOLLY, K. Activation of CB1 cannabinoid receptors in rat hippocampal slices inhibits potassium-evoked cholecystokinin release, a possible mechanism contributing to the spatial memory defects produced by cannabinoids. **Neuroscience Letters**, v. 301, n. 1, p. 69–71, 2001.

BERTHILLER, J.; STRAIF, K.; BONIOL, M.; VOIRIN, N.; BENHAÏM-LUZON, V.; AYOUB, W. B.; DARI, I.; LAOUAMRI, S.; HAMDI-CHERIF, M.; BARTAL, M.; AYED, F. B.; SASCO, A. J. Cannabis Smoking and Risk of Lung Cancer in Men: A Pooled Analysis of Three Studies in Maghreb. **Journal of Thoracic Oncology**, v. 3, n. 12, p. 1398–1403 10.1097/JTO.0b013e31818ddcde, 2008.

BHATTACHARYYA, S.; SCHOELER, T. The effect of cannabis use on memory function: an update. **Substance Abuse and Rehabilitation**, v. 4, p. 11, jan. 2013.

BICKEL, W. K.; POPE, H. G. *Psicofarmacologia Experimental e Clínica*. p. 1–14, 2016.

BIEDERMAN, J. Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD). **Annals of Clinical Psychiatry**, v. 3, n. 1, p. 9–22, 1 mar. 1991.

BINNS, M.; DE VISSER, S. P.; THEODOROPOULOS, C. Modeling flexible pharmacophores with distance geometry, scoring, and bound stretching. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 52, n. 2, p. 577–588, 2012.

BISOGNO, T.; CASCIO, M.G.; SAHA, B.; MAHADEVAN, A.; URBANI, P.; MINASSI, A.; APPENDINO, B.; SATURNINO, C.; MARTIN, B.; RAZDAN, R.; DI MARZO, V. Development of the first potent and specific inhibitors of endocannabinoid biosynthesis. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1761, n. 2, p. 205–212, 2006.

BLEICHER, K. H.; BÖHM, H-J.; MÜLLER, K.; ALANINE, A. I. A guide to drug discovery: Hit and lead generation: beyond high-throughput screening. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, n. 5, p. 369–378, maio 2003.

BODA, K.; SEIDEL, T.; GASTEIGER, J. Structure and reaction based evaluation of synthetic accessibility. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 21, n. 6, p. 311–325, 2 jul. 2007.

BOLTON, E. E.; WANG, Y.; THIESSEN, P. A.; BRYANT, S. H. **PubChem: Integrated Platform of Small Molecules and Biological Activities**. [s.l.] Elsevier Masson SAS, 2008. v. 4

BONNET, U.; BORDA, T.; SCHERBAUM, N.; SPECKA, M. Abstinence phenomena of chronic cannabis-addicts prospectively monitored during controlled inpatient detoxification (Part II): Psychiatric complaints and their relation to delta-9-tetrahydrocannabinol and its metabolites in serum. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 155, p. 302–306, out. 2015.

BONNET, P. Is chemical synthetic accessibility computationally predictable for drug and lead-like molecules? A comparative assessment between medicinal and computational chemists. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 679–689, ago. 2012.

BORG, J.; GERSHON, S.; ALPERT, M. Dose effects of smoked marijuana on human cognitive and motor functions. **Psychopharmacologia (Berl.)**, v. 42, p. 211–218, 1975.

BOSTRÖM, C.-E.; GERDE, P.; HANBERG, A.; JERNSTRÖM, B.; JOHANSSON, C.; KYRKLUND, T.; RANNUG, A.; TÖRNQVIST, M.; VICTORIN, K.; WESTERHOLM, R. Cancer Risk Assessment, Indicators, and Guidelines for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Ambient Air. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, n. s3, p. 451–489, 15 fev. 2002.

BOUABOULA, M.; POINOT-CHAZEL, C.; BOURRIÉ, B.; CANAT, X.; CALANDRA, B.; RINALDI-CARMONA, M.; LE FUR, G.; CASELLAS, P. Activation of mitogen-activated protein kinases by stimulation of the central cannabinoid receptor CB1. **The Biochemical journal**, v. 312 (Pt 2, p. 637–41, 1995.

BOUABOULA, M.; BIANCHINI, L.; MCKENZIE, F R.; POUYSSEGUR, J.; CASELLAS, P Y.; RECHERCHE, S.; IMMUNOLOGIE, L.; JOSEPH, P. Cannabinoid receptor CB1 activates the Na⁺ / H⁺ exchanger NHE-1 isoform via G_i -mediated mitogen activated protein kinase signaling transduction pathways. v. 449, p. 61–65, 1999.

BOVASSO, G. B. Cannabis Abuse as a Risk Factor for Depressive Symptoms. **American Journal of Psychiatry**, v. 158, n. 12, p. 2033–2037, dez. 2001.

BRADY, J. E.; LI, G. Trends in alcohol and other drugs detected in fatally injured drivers in the United States, 1999-2010. **American Journal of Epidemiology**, v. 179, n. 6, p. 692–699, 2014.

BRAMHAM, C. R.; MESSAOUDI, E. BDNF function in adult synaptic plasticity: The synaptic consolidation hypothesis. **Progress in Neurobiology**, v. 76, n. 2, p. 99–125, 2005.

BUDNEY, A. J.; HUGHES, J. R.; MOORE, B. A; VANDREY, R. I. Review of the validity and significance of cannabis withdrawal syndrome. **American Journal of Psychiatry**, v. 161, n. 11, p. 1967–1977, 2004.

BUDNEY, A. J.; VANDREY, R. G.; STANGER, C. Intervenções farmacológica e psicossocial para os distúrbios por uso da cannabis. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 32, p. 546–555, maio 2010.

BUSQUETS-GARCIA, A.; PUIGHERMANAL, E.; PASTOR, A.; TORRE, R.; MALDONADO, R.; OZAITA, A. Differential Role of Anandamide and 2-Arachidonoylglycerol in Memory and Anxiety-like Responses. **Biological Psychiatry**, v. 70, n. 5, p. 479–486, set. 2011.

CAHILL, K.; STEAD, L. F.; LANCASTER, T. Nicotine receptor partial agonists for smoking cessation. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 130, n. 4, p. CD006103, 2011.

CALABRIA, B.; DEGENHARDT, L.; BRIEGLEB, C.; VOS, T.; HALL, W.; LYNSKEY, M.; CALLAGHAN, BRIDGET.; MCLAREN, J. Systematic review of prospective studies investigating “remission” from amphetamine, cannabis, cocaine or opioid dependence. **Addictive Behaviors**, v. 35, n. 8, p. 741–749, ago. 2010.

CALLAGHAN, R. C.; ALLEBECK, P.; SIDORCHUK, A. Marijuana use and risk of lung cancer: a 40-year cohort study. **Cancer Causes & Control**, v. 24, n. 10, p. 1811–1820, 12 out. 2013.

CAMPOS, A. C.; GUIMARÃES, F. S. Involvement of 5HT_{1A} receptors in the anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the dorsolateral periaqueductal gray of rats. **Psychopharmacology**, v. 199, n. 2, p. 223–230, 2008.

CANER, H.; GRONER, E.; LEVY, L.; AGRANAT, I. Trends in the development of chiral drugs. **Drug discovery today**, 9(3), 105-110. 2004.

CARIELLO, N. F.; WILSON, J. D.; BRITT, B. H.; WEDD, D. J.; BURLINSON, B.; GOMBAR, V. Comparison of the computer programs DEREK and TOPKAT to predict bacterial mutagenicity. Deductive Estimate of Risk from Existing Knowledge. Toxicity Prediction by Komputer Assisted Technology. **Mutagenesis**, v. 17, n. 4, p. 321–329, 2002.

CASPI, A.; MOFFITT, T. E.; CANNON, M.; MCCLAY, J.; MURRAY, R.; HARRINGTON, H.; TAYLOR, A.; ARSENEAULT, L.; WILLIAMS, B.; BRAITHWAITE, A.; POULTON, R.; CRAIG, I. W. Moderation of the Effect of Adolescent-Onset Cannabis Use on Adult Psychosis by a Functional Polymorphism in the Catechol-O-Methyltransferase Gene: Longitudinal Evidence of a Gene X Environment Interaction. **Biological Psychiatry**, v. 57, n. 10, p. 1117–1127, maio 2005.

CELLA, D.; FALLOWFIELD, L.; BARKER, P.; CUZICK, J.; LOCKER, G.; HOWELL, A. L. Quality of life of postmenopausal women in the ATAC (“Arimidex”, tamoxifen, alone or in combination) trial after completion of 5 years’ adjuvant treatment for early breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 100, n. 3, p. 273–284, 2006.

CHANG, L.; KARIN, M. Mammalian MAP Kinase signalling cascades. **Nature**, v. 410, n. 6824, p. 37–40, 1 mar. 2001.

CHEN, K.; KANDEL, D. B.; DAVIES, M. Relationships between frequency and quantity of marijuana use and last year proxy dependence among adolescents and adults in the United States¹Work on this manuscript was partially supported by research grant DA09110 (Denise Kandel, principal investigator). **Drug and Alcohol Dependence**, v. 46, n. 1-2, p. 53–67, 1997.

CHOU, K.J.; TSENG, L.L.; CHENG, J.S.; WANG, J.L.; FANG, H.C.; LEE, K.C.; SU, W.; LAW, Y.P.; Jan, C.R. CP55,940 increases intracellular Ca²⁺ levels in Madin-Darby canine kidney cells. **Life Sci**, v. 69, n. 13, p. 1541–1548, 2001.

CIRRI, M.; MURA, P.; MORA, P. C. Liquid spray formulations of xibornol by using self-microemulsifying drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 340, n. 1-2, p. 84–91, 2007.

CLEUVERS, M. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 59, n. 3, p. 309–315, nov. 2004.

COLE, S.; COLE, J. R. Scientific Output and Recognition: A Study in the Operation of the Reward System in Science. **American Sociological Review**, v. 32, n. 3, p. 377–390, 1967.

COLLINS, D. R.; PERTWEE, R. G.; DAVIES, S. N. Prevention by the cannabinoid

antagonist, SR141716A, of cannabinoid-mediated blockade of long-term potentiation in the rat hippocampal slice. **Br.J.Pharmacol.**, v. 115, p. 869–870, 1995.

COMPTON, D. R.; GOLD, L.H.; WARD, S.J.; BALSTER, R.L.; MARTIN, B.R. Aminoalkylindole analogs: cannabimimetic activity of a class of compounds structurally distinct from delta 9-tetrahydrocannabinol. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 263, n. 3, p. 1118–1126, 1992.

CONTRERAS, N. C.; MOLA, G. M.; BATLLE, S. E.; BIGAS, F. J.; GINE, S. E. Cannabinoid hyperemesis syndrome. A report of six new cases and a summary of previous reports. **Adicciones**, v. v, n. 2, p. 90–98, 2016.

COPELAND, J.; SWIFT, W.; REES, V. Clinical profile of participants in a brief intervention program for cannabis use disorder. **Journal of substance abuse treatment**, v. 20, n. 1, p. 45–52, 2001.

CORNELIUS, J.R.; SALLOUM, H.M.; HASKETT, R.F.; EHLE, J.G.; JARRETT, P.J.; THASE, M.E.; PEREL, J.M. Fluoxetine versus placebo for the marijuana use of depressed alcoholics. **Addictive Behaviors**, v. 24, n. 1, p. 111–114, 1999.

CREAN, R. D.; CRANE, N. A.; MASON, B. J. An evidence based review of acute and long-term effects of cannabis use on executive cognitive functions. **Journal of addiction medicine**, v. 5, n. 1, p. 1–8, 2011.

CUSHMAN, M.; NAGARATHNAM, D.; GOPAL, D.; HE, H.M.; LIN, C.M.; HAME, E. Synthesis and evaluation of analogs of (Z)-1-(4-methoxyphenyl)-2-(3, 4, 5-trimethoxyphenyl) ethene as potential cytotoxic and antimitotic agents. **Journal of medicinal ...**, v. 35, n. 12, p. 2293–2306, 1992.

DAVIES, S. N.; PERTWEE, R. G.; RIEDEL, G. Functions of cannabinoid receptors in the hippocampus. **Neuropharmacology**, v. 42, n. 8, p. 993–1007, 2002.

DE ALMEIDA, W. B.; O'MALLEY, P. J. An AM1 study of conformational preference for the herbicide atrazine. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 253, n. C, p. 349–356, jan. 1992.

DEAN, B.; SUNDRAM, S.; BRADBURY, R.; SCARR, E.; COPOLOV, D. Studies on [3H]CP-55940 binding in the human central nervous system: Regional specific changes in density of cannabinoid-1 receptors associated with schizophrenia and cannabis use. **Neuroscience**, v. 103, n. 1, p. 9–15, 2001.

DEMUTH, D. G.; MOLLEMAN, A. Cannabinoid signalling. **Life Sciences**, v. 78, n. 6, p. 549–563, 2006.

DERKINDEREN, P.; LEDENT, C.; PARMENTIER, M.; GIRAULT, J.A. Cannabinoids activate p38 mitogen-activated protein kinases through CB1 receptors in hippocampus. **Journal of Neurochemistry**, v. 77, n. 3, p. 957–960, 2001.

DERKINDEREN, P.; VALJENT, E.; TOUTANT, M.; CORVOL, J.C.; ENSLEN, H.; LEDENT, C.; TRZASKOS, J.; CABOCHE, J.; GIRAULT, J.A. Regulation of

extracellular signal-regulated kinase by cannabinoids in hippocampus. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 23, n. 6, p. 2371–2382, 2003.

DESAI, M.P.; LABHASETWAR, V.; AMIDON, G.L.; LEVY, R.J. Gastrointestinal Uptake of Biodegradable Microparticles: Effect of Particle Size. **Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 12, p. 1838–1845, 1996.

DEVANE, W.A.; HANUS, L.; BREUER, A.; PERTWEE, R. G.; STEVENSON, L.A.; GRIFFIN, G.; GIBSON, D.; MANDELBAUM, A.; ETINGER, A. Isolation and Structure of a Brain Constituent That Binds to the Cannabinoid Receptor William. **Science**, v. 258, n. 10, p. 1946–1949, 1992.

DEVANE, W. A.; DYSARZ, F. A.; JOHNSON, M. R. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. **Mol. Pharmacol.**, p. 605–613, 1988.

DEVEAUGH-GEISS, A. M.; CHEN, L.H.; KOTLER, M. L.; RAMSAY, L. R.; DURCAN, M. J. Pharmacokinetic comparison of two nicotine transdermal systems, a 21-mg/24-hour patch and a 25-mg/16-hour patch: A randomized, open-label, single-dose, two-way crossover study in adult smokers. **Clinical Therapeutics**, v. 32, n. 6, p. 1140–1148, 2010.

EKHETERAE, D.; PLATOSHYN, O.; KRICK, S.; YU, Y.; MCDANIEL, S. S.; YUAN, J. X. Bcl-2 decreases voltage-gated K⁺ channel activity and enhances survival in vascular smooth muscle cells. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 281, n. 1, p. C157–65, 2001.

GARDNER, Eliot L. Endocannabinoid signaling system and brain reward: emphasis on dopamine. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 81, n. 2, p. 263-284, 2005.

EKINS, S.; MESTRES, J.; TESTA, B. In silico pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and profiling. **British Journal of Pharmacology**, v. 152, n. December 2006, p. 9–20, 2007.

ESTRADA, E.; PATLEWICZ, G.; GUTIERREZ, Y. From Knowledge Generation to Knowledge Archive. A General Strategy Using TOPS-MODE with DEREK To Formulate New Alerts for Skin Sensitization. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 44, p. 688–698, 2004.

EVANS, S.; KASPRZYK-HORDERN, B. Chiral pharmaceuticals and illicit drugs stereoselective degradation in activated sludge: Methodology and results of quantification in microcosm study. In: **SETAC Europe 24th Annual Meeting**. University of Bath, 2014.

EWIJK, V. P. H.; HOEKSTRA, J. A. Calculation of the EC₅₀ and its confidence interval when subtoxic stimulus is present. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 25, p. 25–32, 1993.

FATTORE, Liana (Ed.). **Cannabinoids in Neurologic and Mental Disease**. Academic Press, 2015.

FIGUEROA M. J. A.; MAHANA C. D. P.; GONZÁLEZ M. E. P.; RAIPÁN J. M.; BUSTOS C. E.; MUÑOZ M. E. L. Evaluation of the Membrane Permeability (PAMPA and Skin) of Benzimidazoles with Potential Cannabinoid Activity and their Relation with the Biopharmaceutics Classification System (BCS). **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 2, p. 573–578, 4 jun. 2011.

FILBEY, F.; YEZHUVATH, U. Functional connectivity in inhibitory control networks and severity of cannabis use disorder. **National Institute of Health**, v. 19, n. 2, p. 161–169, 2015.

FRIEDRICH, A.; OLEJNICZAK, K. Evaluation of carcinogenicity studies of medicinal products for human use authorised via the European centralised procedure (1995–2009). **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 60, n. 2, p. 225–248, 2011.

FROST, L.; MOSTOFSKY, E.; ROSENBLOOM, J.I.; MUKAMAL, K. J.; MITTLEMAN, M. A.. Marijuana use and long-term mortality among survivors of acute myocardial infarction. **American Heart Journal**, v. 165, n. 2, p. 170–175, fev. 2013.

GABLE, R. S. Comparison of acute lethal toxicity of commonly abused psychoactive substances. **Addiction**, v. 99, n. 6, p. 686–696, 2004.

GADDE, K. M.; ALLISON, D. B. Cannabinoid-1 receptor antagonist, rimonabant, for management of obesity and related risks. **Circulation**, v. 114, n. 9, p. 974–984, 2006.

GAFFURI, A.-L.; LADARRE, D.; LENKEI, Z. Type-1 Cannabinoid Receptor Signaling in Neuronal Development. **Pharmacology**, v. 90, n. 1-2, p. 19–39, 2012.

GAONI, Y.; MECHOULAM, R. Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. **Journal of the American Chemical Society**, v. 86, p. 1646–1647, 1964.

GARDNER, E. L. Endocannabinoid signaling system and brain reward: Emphasis on dopamine. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 81, n. 2 SPEC. ISS., p. 263–284, 2005.

GERSHANIK, T.; BENITA, S. Self-dispersing lipid formulations for improving oral absorption of lipophilic drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n. 1, p. 179–188, 2000.

GILMAN, J. M.; CURRAN, M.T.; CALDERON, V.; SCHUSTER, R. M, EVINS, A.E. Altered Neural Processing to Social Exclusion in Young Adult Marijuana Users. **Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging**, v. 1, n. 2, p. 152–159, mar. 2016.

GLEESON, M. P.; HERSEY, A.; HANNONGBUA, S. *In-Silico* ADME Models: a General Assessment of their Utility in Drug Discovery Applications. **Current. Topics in Med. Chemistry**, v. 11, p. 358-381, 2011.

GODLEY, M. D.; KAHN, J. H.; DENNIS, M. L.; GODLEY, S. H.; FUNK, R. R. The Stability and Impact of Environmental Factors on Substance Use and Problems After Adolescent Outpatient Treatment for Cannabis Abuse or Dependence. **Psychology of Addictive Behaviors**, v. 19, n. 1, p. 62–70, 2005.

GOGTAY, N.; GIEDD, J. N.; LUSK, L.; HAYASHI, K. M.; GREENSTEIN, D.; VAITUZIS, A. C.; NUGENT III, T. F.; HERMAN, D. H.; CLASEN, L. S.; TOGA, A. W.; RAPOPORT, J. L.; THOMPSON, P. M. Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 21, p. 8174–8179, 25 maio 2004.

GORELICK, D. A.. Diagnostic criteria for cannabis withdrawal syndrome. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 123, n. 1-3, p. 141–147, jun. 2012.

GREEN, B.; KAVANAGH, D.; YOUNG, R. Being stoned: a review of self-reported cannabis effects. **Drug and alcohol review**, v. 22, n. 4, p. 453–460, 2003.

GRISHIN, A.; FORD, H.; WANG, J.; LI, H.; SALVADOR-RECATALA, V.; ZAKS-MAKHINA, L. Attenuation of apoptosis in enterocytes by blockade of potassium channels. **American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology**, v. 289, n. 5, p. G815–21, 2005.

GUIDO, R.V.C.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A.D. Virtual Screening and Its Integration with Modern Drug Design Technologies. **Current. Topics in Med. Chemistry**, v. 15, p. 37-26, 2008.

HALL, W. D.; LYNSKEY, M. Is cannabis a gateway drug? Testing hypotheses about the relationship between cannabis use and the use of other illicit drugs. **Drug and alcohol review**, v. 24, n. 1, p. 39–48, 2005.

HALL, W.; DEGENHARDT, L. Adverse health effects of non-medical cannabis use. **The Lancet**, v. 374, n. 9698, p. 1383–1391, 2009.

HALL, W.; DEGENHARDT, L. The adverse health effects of chronic cannabis use. **Drug Testing and Analysis**, v. 6, n. 1-2, p. 39–45, jan. 2014.

HANEY, M.; HART, C. L.; WARD, A. S.; FOLTIN, R. W. Nefazodone decreases anxiety during marijuana withdrawal in humans. **Psychopharmacology**, v. 165, n. 2, p. 157–165, 2003.

HANUS, L. O.; MECOULAM, R. Novel natural and synthetic ligands of the endocannabinoid system. **Current medicinal chemistry**, v. 17, n. 14, p. 1341–59, 2010.

HAUNSTETTER, A.; IZUMO, S. Apoptosis: basic mechanisms and implications for

cardiovascular disease. **Circulation Research**, v. 82, n. 11, p. 1111–1129, 1998.

HEATHERTON, T. F.; WAGNER, D. D. Cognitive neuroscience of self-regulation failure. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 15, n. 3, p. 132–139, 2011.

HILL, M. N.; GORZALKA, B. B. Pharmacological enhancement of cannabinoid CB1 receptor activity elicits an antidepressant-like response in the rat forced swim test. **European Neuropsychopharmacology**, v. 15, n. 6, p. 593–599, 2005.

HOFFMAN, A. F.; OZ, M.; CAULDER, T.; LUPICA, C. R. Functional tolerance and blockade of long-term depression at synapses in the nucleus accumbens after chronic cannabinoid exposure. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 23, n. 12, p. 4815–4820, 2003.

HOLMGREN, P.; HOLMGREN, A.; AHLNER, J. Alcohol and drugs in drivers fatally injured in traffic accidents in Sweden during the years 2000–2002. **Forensic Science International**, v. 151, n. 1, p. 11–17, jun. 2005.

HONARMAND, K.; TIERNRY, M. C.; O'CONNOR, P.; FEINSTEIN, A. Effects of cannabis on cognitive function in patients with multiple sclerosis. **Neurology**, v. 76, n. 13, p. 1153–1160, 29 mar. 2011.

HOUGHTON, A. D.; LIEPINS, P.; MASON, R. C.; CLARKE, S. M. The effect of minor gastric surgery on gastric emptying in the rat. **Nucl Med Commun**, v. 12, n. 11, p. 965–971, 1991.

HOWLETT, A. C. Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase. Biochemistry of the response in neuroblastoma cell membranes. **Molecular pharmacology**, v. 27, n. 4, p. 429–36, 1985.

HOWLETT, A. C. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of Cannabinoid Receptors. **Pharmacological Reviews**, v. 54, n. 2, p. 161–202, 1 jun. 2002a.

HOWLETT, A. C. The cannabinoid receptors. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 68-69, p. 619–631, ago. 2002b.

HOWLETT, A. C.; BREIVOGEL, C. S.; CHILDERS, R. S. DEADWYLER, S. A.; HAMPSON, R. E.; PORRINO, L. J. Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 Years of progress. **Neuropharmacology**, v. 47, n. SUPPL. 1, p. 345–358, 2004.

HUANG, Bee-Piao.; LIN, Chun-Hsiang.; CHEN, Yi-Ching.; KAO, Shao-Hsuan. Expression of cholecystinin receptors in colon cancer and the clinical correlation in Taiwan. **Tumor Biology**, v. 37, n. 4, p. 4579-4584, 2016.

HUESTIS, M. A.; GORELICK, D. A.; HEISHMAN, S. J.; PRESTON, K. L.; NELSON, R.; MOOLCHAN, E. T.; FRANK, R. A. Blockade of effects of smoked marijuana by the CB1-selective cannabinoid receptor antagonist SR141716. **Archives of general psychiatry**, v. 58, n. 4, p. 322–328, 2001.

HYMAN, S. E.; MALENKA, R. C. Addiction and the brain: The neurobiology of compulsion and its persistence. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, n. 10, p. 695–703, out. 2001.

HYMAN, S. E.; MALENKA, R. C.; NESTLER, E. J. NEURAL MECHANISMS OF ADDICTION: The Role of Reward-Related Learning and Memory. **Annual Review of Neuroscience**, v. 29, n. 1, p. 565–598, 21 jul. 2006.

IRWIN, J. J.; SHOICHET, B. K. ZINC – A Free Database of Commercially Available Compounds for Virtual Screening. **J. Chem. Inf. Model**, v. 45, n. December 2004, p. 177–182, 2005.

JBILLO, O.; RAVINET-TRILLOU, C.; ARNONE, M.; BUISSON, I.; BRIBES, E.; PÉLERAUX, A.; PÉNARIER, G.; SOUBRIÉ, P.; LE FUR, G.; GALIÈGUE, S.; CASELLAS, P. The CB1 receptor antagonist rimonabant reverses the diet-induced obesity phenotype through the regulation of lipolysis and energy balance. **The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 19, n. 11, p. 1567–1569, 2005.

JONES, D. Creatively confronting addiction. **The Lancet**, v. 379, n. 9810, p. 20, jan. 2012.

JORGENSEN, W. L. The Many Roles of Computation in Drug Discovery. **Science**, v. 303, n. 5665, p. 1813–1818, 19 mar. 2004.

JORGENSEN, W. L.; DU, E. M. Prediction of Drug Solubility from Monte Carlo Simulations. v. 10, p. 1155–1158, 2000.

JUMPATHONG, J.; ABDALLA, M. A.; LUMYONG, S.; LAATSCH, H. Stemphol galactoside, a new stemphol derivative isolated from the tropical endophytic fungus *Gaeumannomyces amomi*. **Natural product communications**, v. 5, n. 4, p. 567–570, 2010.

JUNGEMAN, F. S.; MENEZES, P. R.; PINSKY, I.; ZALESKI, M.; CAETANO, R.; LARANJEIRA, R. Prevalence of cannabis use in Brazil: Data from the I Brazilian National Alcohol Survey (BNAS). **Addictive Behaviors**, v. 35, n. 3, p. 190–193, mar. 2010.

JUTRAS-ASWAD, D.; DINIERI, J. A.; HARKANY, T.; HURD, Y. L. Neurobiological consequences of maternal cannabis on human fetal development and its neuropsychiatric outcome. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, v. 259, n. 7, p. 395–412, 2009.

KANG, B. K.; LEE, J. S.; CHON, S. K.; JEONG, S. Y.; YUK, S. H.; KHANG, G.; LEE, H. B.; CHO, S. H. Development of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) for oral bioavailability enhancement of simvastatin in beagle dogs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 274, n. 1-2, p. 65–73, 2004.

KATHURIA, S.; GAETANI, S.; FEGLEY, D.; VALIÑO, F.; DURANTI, A.; TOTINI, A.; MOR, M.; TARZIA, G.; RANA, G. L.; CALIGNANO, A.; GIUSTINO, A.; TATTOLI, M.; PALMERY, M.; CUOMO, V.; PIOMELLI, D. Modulation of anxiety through blockade of anandamide hydrolysis. **Nature medicine**, v. 9, n. 1, p. 76–81, 2003.

KEISER, M. J.; ROTH, B. L.; ARMBRUSTER, B. N.; ERNSBERGER, P.; IRWIN, J. J.; SHOICHET, B. K. Relating protein pharmacology by ligand chemistry. **Nature biotechnology**, v. 25, n. 2, p. 197–206, 2007.

KNAPSKA, E.; KACZMAREK, L. A gene for neuronal plasticity in the mammalian brain: Zif268/Egr-1/NGFI-A/Krox-24/TIS8/ZENK? **Progress in neurobiology**, v. 74, n. 4, p. 183–211, 2004.

KOES, D. R.; CAMACHO, C. J. ZINCPharmer: pharmacophore search of the ZINC database. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. W1, p. W409–W414, 1 jul. 2012.

KUBINYI, H. Similarity and Dissimilarity: A Medicinal Chemist's View. **Perspectives in Drug Discovery and Design**, v. 9/11, p. 225–252, 1998.

LABANAUSKAS, L.; UDREANAITE, E.; GAIDELIS, P.; BRUKSTUS, A. Synthesis of 5-(2-,3- and 4-methoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives exhibiting anti-inflammatory activity. **Farmaco**, v. 59, n. 4, p. 255–259, 2004.

LAGUNIN, A.; STEPANCHIKOVA, A.; FILIMONOV, D.; POROIKOV, V. BIOINFORMATICS APPLICATIONS NOTE PASS: prediction of activity spectra for. **Bioinformatics Applications note**, v. 16, n. 8, p. 747–748, 2000.

LANCET, T. Addiction - A global problem with no global solution. **The Lancet**, v. 379, n. 9810, p. 2, 2012.

LANGTON, K.; PATLEWICZ, G. Y.; LONG, A.; MARCHANT, C. A.; BASKETTER, D. A. Structure-activity relationships for skin sensitization: recent improvements to Derek for Windows. **Contact Dermatitis**, v. 55, n. 6, p. 342–347, dez. 2006.

LAUCKNER, J. E.; JENSEN, J. B.; CHEN, Huei-Ying.; LU, Hui-Chen.; HILLE, B.; MACKE, K. GPR55 is a cannabinoid receptor that increases intracellular calcium and inhibits M current. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 7, p. 2699–704, 2008.

LAW, R.; BARKER, O.; BARKER, J. J.; HESTERKAMP, T.; GODEMANN, R.; ANDERSEN, O.; FRYARR, T.; COURTNEY, S.; HALLETT, D.; WHITTAKER, M. The multiple roles of computational chemistry in fragment-based drug design. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 23, n. 8, p. 459–473, 17 ago. 2009.

LEVIN, V. A. Relationship of octanol/water partition coefficient and molecular weight to rat brain capillary permeability. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 6, p. 682–684, jun. 1980.

LEVINE, A.; HUANG, Y. Y.; DRISALDI, B.; GRIFFIN JR, E. A.; POLLAK, D. D.; XU,

S.; YIN, D.; SCHAFFRAN, C.; KANDEL, D. B.; KANDEL, E. R. Molecular Mechanism for a Gateway Drug: Epigenetic Changes Initiated by Nicotine Prime Gene Expression by Cocaine. **Sci Transl Medical**, v. 3, n. 107, 2011.

LIU, T.; LIN, Y.; WEN, X.; JORISSEN, R. N.; GILSON, M. K. BindingDB: A web-accessible database of experimentally determined protein-ligand binding affinities. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. SUPPL. 1, p. 198–201, 2007.

LONGO, D. L.; FRIEDMAN, D.; DEVINSKY, O. Cannabinoids in the Treatment of Epilepsy. **The New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 11, p. 1048–1058, 2015.

LORENZETTI, V.; SOLOWIJ, N.; YÜCEL, M. The role of cannabinoids on neuroanatomical alterations in cannabis users. **Biological Psychiatry**, v. 79, n. 7, p. e17–e31, 2015.

LOUNKINE, E.; KEISER, M. J.; WHITERBREAD, S.; MIKHAILOV, D.; HAMON, J.; JENKINS, J. L.; LAVAN, P.; WEBER, E.; DOAK, A. K.; CÔTÉ, S.; SHOICHET, B. K.; URBAN, LASZLO. Large Scale Prediction and Testing of Drug Activity on Side-Effect Targets. **Nature**, v. 486, n. 7403, p. 361–367, 2012.

LOVETT, C.; WOOD, D. M.; DARGAN, P. I. Pharmacology and toxicology of the synthetic cannabinoid receptor agonists. **Réanimation**, v. 24, n. 5, p. 527–541, 31 set. 2015.

LOWE, A.; MARTIN, A. Dependence Prec ipitated on 9-Tetrahydrocannabinol : and Abru pt Withdrawal1 Studies on. **Pharmacology**, 1996.

LUIS, J.; MAIA, L. O.; . Neurobiology of Cannabis: from the endocannabinoid system to cannabis-related disorder. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v. 60, n. 11, p. 111–122, 2011.

LYNSKEY, M. T.; HEATH, A. C.; NELSON, E. C.; BUCHOLZ, K. K.; MADDEN, P. A. F.; SLUTSKE, W. S.; STATHAM, D. J.; MARTIN, N. G. Genetic and environmental contributions to cannabis dependence in a national young adult twin sample. **Psychological medicine**, v. 32, n. 2, p. 195–207, 2002.

MA, X. L.; CHEN, C.; YANG, J. Predictive model of blood-brain barrier penetration of organic compounds. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 26, n. 4, p. 500–512, 2005.

MACKIE, K. Mechanisms of CB1 receptor signaling: endocannabinoid modulation of synaptic strength. **International Journal of Obesity**, v. 30, p. S19–S23, abr. 2006.

MACLEOD, J.; OAKES, R.; COPELLO, A.; CROME, I.; EGGER, M.; HICKMAN, M.; OPPENKOWSKI, T.; STOKES-LAMPARD, H.; DAVEY SMITH, G. Psychological and social sequelae of cannabis and other illicit drug use by young people: a systematic review of longitudinal, general population studies. **Lancet**, v. 363, n. 9421, p. 1579–88, 2004.

MANEUF, Y. P.; BROTHIE, J. M. Paradoxical action of the cannabinoid WIN 55,212-2 in stimulated and basal cyclic AMP accumulation in rat globus pallidus slices. **British Journal of Pharmacology**, v. 120, n. 8, p. 1397–1398, abr. 1997.

MARCO-CONTELLES, José; MOLINA, María Teresa; ANJUM, Shazia. Naturally occurring cyclohexane epoxides: sources, biological activities, and synthesis. **Chemical reviews**, v. 104, n. 6, p. 2857-2900, 2004.

MARTELOTTO, M. C.; COSSU, G.; FATTORE, L.; GESSA, G. L.; FRATTA, W. Self-administration of the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 in drug-naive mice. **Neuroscience**, v. 85, n. 2, p. 327–330, 1998.

MARTIN, Y. C.; KOFRON, J. L.; TRAPHAGEN, L. M. Do Structurally Similar Molecules Have Similar Biological Activity? Do Structurally Similar Molecules Have Similar Biological Activity? **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. August, p. 4350–4358, 2002.

MARUMO, S.; HATTORI, H.; KATAYAMA, M. Stemphol from *Pleospora herbarum* as a Self-Inhibitor. v. 49, n. 5, p. 1521–1522, 1985.

MASON, J. S.; MORIZE, I.; MENARD, P. R.; CHENEY, D. L.; HULME, C.; LABAUDINIERE, R. F. New 4-Point Pharmacophore Method for Molecular Similarity and Diversity Applications: Overview of the Method and Applications, Including a Novel Approach to the Design of Combinatorial Libraries Containing Privileged Substructures. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, n. 17, p. 3251–3264, ago. 1999.

MASSA, F.; MARSICANO, G.; HERMANN, H.; CANNICH, A.; MONORY, K.; CRAVATT, B. F.; FERRI, G.; SIBAEV, A.; STORR, M.; LUTZ, B. The endogenous cannabinoid system protects against colonic inflammation. **Journal of Clinical Investigation**, v. 113, n. 8, p. 1202–1209, 2004.

MATTICK, R. P.; BREEN, C.; KIMBER, J.; DAVOLI, M.; BREEN, C.; KIMBER, J.; DAVOLI, M.; MATTICK, R. P.; BREEN, C.; KIMBER, J.; DAVOLI, M. Buprenorphine maintenance versus placebo or methadone maintenance for opioid dependence (Review) Buprenorphine maintenance versus placebo or methadone maintenance for opioid dependence. **The Cochrane database of systematic reviews**, v. 2, n. 2, p. CD002207, 2014.

MCEWEN, A.; WEST, R.; GAIGER, M. Nicotine Absorption From Seven Current Nicotine Replacement Products and a New Wide-Bore Nicotine Delivery Device. **Journal of Smoking Cessation**, v. 3, n. 2, p. 117–123, 2008.

MCRAE, A. L.; BUDNEY, A. J.; BRADY, K. T. Treatment of marijuana dependence: a review of the literature. **Journal of Substance Abuse Treatment**, v. 24, n. 4, p. 369–376, jun. 2003.

MECHOULAM, R.; PARKER, L. A. The Endocannabinoid System and the Brain. **Annual Review of Psychology**, v. 64, n. 1, p. 120717165617008, 2011.

MEIER, M. H.; CASPI, A.; AMBLER, A.; HARRINGTON, H.; HOUTS, R.; KEEFE, R. S. E.; MCDONALD, K.; WARD, A.; POULTON, R.; MOFFITT, T. E. Persistent cannabis users show neuropsychological decline from childhood to midlife. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 40, p. E2657–E2664, 2012.

MISONOU, H.; MOHAPATRA, D. P.; TRIMMER, J. S. Kv2.1: A voltage-gated K⁺ channel critical to dynamic control of neuronal excitability. **NeuroToxicology**, v. 26, n. 5, p. 743–752, 2005.

MODA, T. L. **Desenvolvimento de modelos *in silico* de propriedades de ADME para a triagem de novos candidatos a fármacos**. 2007. 97 f. Dissertação (Programa de pós-graduação do instituto de física de São Carlos) – Universidade de São Paulo, São Paulo. 2007

MODA, T. L. **Modelagem *in silico* de propriedades farmacocinéticas para a avaliação de candidatos a novos fármacos**. 2011. 218 f. Tese (Programa de pós-graduação do instituto de física de São Carlos) – Universidade de São Paulo, São Carlos. 2011.

MOHAN, C. G.; GANDHI, T.; GARG, D.; SHINDE, R. Computer-assisted methods in chemical toxicity prediction. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 7, n. 5, p. 499–507, 2007.

MOIR, D.; RICKERT, W. S.; LEVASSEUR, G.; LAROSE, Y.; MAERTENS, R.; WHITE, P.; DESJARDINS, S. A comparison of mainstream and sidestream marijuana and tobacco cigarette smoke produced under two machine smoking conditions. **Chemical Research in Toxicology**, v. 21, n. 2, p. 494–502, 2008.

MOLLOY, J. W.; CALCAGNO, C. J.; WILLIAMS, C. D.; JONES, F. J.; TORRES, D. M.; HARRISON, S. A. Association of coffee and caffeine consumption with fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis, and degree of hepatic fibrosis. **Hepatology**, v. 55, n. 2, p. 429–436, fev. 2012.

MONTERO, C., CAMPILLO, N. E., GOYA, P., Páez, J. A. Homology models of the cannabinoid CB1 and CB2 receptors. A docking analysis study. **European journal of medicinal chemistry**, v. 40, n. 1, p. 75-83, 2005.

MU, J.; ZHUANG, S. Y.; HAMPSON, R. E.; DEADWYLER, S. A. Protein kinase-dependent phosphorylation and cannabinoid receptor modulation of potassium A current (I_A) in cultured rat hippocampal neurons. **Pflügers Archiv: European journal of physiology**, v. 439, n. 5, p. 541–6, 2000.

MU, L.; BIERI, D.; SLAVIK, R.; DRANDAROV, K.; MÜLLER, A.; ČERMAK, S.; WEBER, M.; SCHIBLI, R.; KRÄMER, S. D.; AMETAMEY, S. M. Radiolabeling and in vitro / in vivo evaluation of N-(1-adamantyl)-8-methoxy-4-oxo-1-phenyl-1,4-dihydroquinoline-3-carboxamide as a PET probe for imaging cannabinoid type 2 receptor. **Journal of Neurochemistry**, v. 126, n. 5, p. 616–624, set. 2013.

MUKHOPADHYAY, S.; SHIM, J. Y.; ASSI, A.; NORFORD, D.; HOWLETT, A. C. CB1 cannabinoid receptor-G protein association: A possible mechanism for differential signaling. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 121, n. 1-2, p. 91–109, 2002.

MUNRO, S.; THOMAS, K. L.; ABU-SHAAR, M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. **Nature**, v. 365, n. 6441, p. 61–65, 2 set. 1993.

MUSTER, W.; BREIDENBACH, A.; FISCHER, H.; KIRCHNER, S.; MÜLLER, L.; PÄHLER, A. Computational toxicology in drug development. **Drug Discovery Today**, v. 13, n. 7-8, p. 303–310, abr. 2008.

NIDES, M.; ONCKEN, C.; GONZALES, D.; RENNARD, S.; WATSKY, E. J.; ANZIANO, R.; REEVES, K. R. Smoking Cessation With Varenicline, a Selective Nicotinic Receptor Partial Agonist. **American Medical Association**, v. 166, p. 1561–1568, 2006.

ORGANIZATION, W. H. The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders: clinical descriptions and diagnostic guidelines. **WHO Library Cataloguing in Publication Data**, p. 75–76, 1992.

OWEN, K. P.; SUTTER, M. E.; ALBERTSON, T. E. Marijuana: Respiratory tract effects. **Clinical Reviews in Allergy and Immunology**, v. 46, n. 1, p. 65–81, 2014.

OXFORD. **Biochemistry and molecular biology**. [s.l.: s.n.]. v. 2nd
PATTON, G. C. Cannabis use and mental health in young people: cohort study. **BMJ**, v. 325, n. 7374, p. 1195–1198, 23 nov. 2002.

PEDERSOLI-MANTOANI, S.; SILVA, V. B.; TAFT, C. A.; SILVA, C. H. T.P. Pharmacophore-based Drug Design of Novel Potential Tau Ligands for Alzheimer's Disease Treatment. **Current Physical Chemistry**, v. 4, p. 35–44, 2014.

PERTWEE, R.; GRIFFIN, G.; FERNANDO, S.; LI, X.; HILL, A.; MAKRIYANNIS, A. AM630, a competitive cannabinoid receptor antagonist. **Life Sciences**, v. 56, n. 23-24, p. 1949–1955, 1995.

PERTWEE, R. G.; HOWLETT, A. C.; ABOOD, M. E.; ALEXANDER, S. P. H.; MARZO, V. D.; ELPHICK, M. R.; GREASLEY, P. J.; HANSEN, H. S.; KUNOS, G. International Union of Basic and Clinical Pharmacology . LXXIX . Cannabinoid Receptors and Their Ligands : Beyond CB 1 and CB 2. **Pharmacological reviews**, v. 62, n. 4, p. 588–631, 2010.

PEUKER, A. C.; LOPES, F. M. Processamento Implícito e Dependência Química: Teoria, Avaliação e Perspectivas. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**, v. 29, n. 1, p. 7–14, 2013.

PISTIS, M.; PERRA, S.; PILLOLLA, G.; MELIS, M.; MUNTONI, A. L.; GESSA, G. L. Adolescent exposure to cannabinoids induces long-Lasting changes in the response

to drugs of abuse of rat midbrain dopamine neurons. **Biological Psychiatry**, v. 56, n. 2, p. 86–94, jul. 2004.

POROIKOV, V. V.; FILIMONOV, D. A.; IHLENFELDT, W.; GLORIOZOVA, T.; AGUNIN, A. A.; BORODINA, Y. V.; STEPANCHIKOVA, A. V.; NICKLAUS, M. C. PASS Biological Activity Spectrum Predictions in the Enhanced Open NCI Database Browser. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 43, n. 1, p. 228–236, jan. 2003.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, n. 5, p. 603–613, 2001.

RAYMOND, J. W.; WILLETT, P. Similarity searching in databases of flexible 3D structures using smoothed bounded distance matrices. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 43, n. 3, p. 908–916, 2003.

RECHE, I.; FUENTES, J. A.; RUIZ-GAYO, M. A role for central cannabinoid and opioid systems in peripheral μ -tetrahydrocannabinol-induced analgesia in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 301, n. 1-3, p. 75–81, 1996.

REUTER, P.; TRAUTMANN, F. **Report on on Global Illicit Drug Markets 1998-2007**. [s.l.: s.n.].

RIDINGS, J.E.; BARRATT, M.D.; CARY, R.; EARNSHAW, C.G.; EGGINGTON, C.E.; ELLIS, M.K.; JUDSON, P.N.; LANGOWSKI, J.J.; MARCHANT, C.A.; PAYNE, M.P.; WATSON, W.P.; YIH, T.D.. Computer prediction of possible toxic action from chemical structure: an update on the DEREK system. **Toxicology**, v. 106, n. 1-3, p. 267–279, jan. 1996.

RODRIGUES, R. P. **Caseína quinase 1 como alvo para o planejamento de fármacos em mal de Alzheimer Caseína quinase 1 como alvo para o planejamento de fármacos em mal de Alzheimer**. Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. 2014.

ROSS, R. A.; BROCKIE, H. C.; STEVENSON, L. A.; MURPHY, V. L.; TEMPLETON, F.; MAKRIYANNIS, A.; PERTWEE, R. G. Agonist-inverse agonist characterization at CB1 and CB2 cannabinoid receptors of L759633, L759656, and AM630. **British journal of pharmacology**, v. 126, n. 3, p. 665–72, 1999.

RUIZ, C.; ALEJANDRA, E.; DÍAZ, M. M.; GÓMEZ, B. P.; ROMANO, A.; CAYNAS, S.; GARCÍA, O. P. El cerebro, las drogas y los genes. **Salud Mental**, v. 33, n. 6, p. 535–542, 2010.

SAFFER, H.; CHALOUPKA, F. THE DEMAND FOR ILLICIT DRUGS. **Economic Inquiry**, v. 37, n. 3, p. 401–411, 1999.

SALVADOR-RECATALA, V.; KIM, Y.; ZAKS-MAKHINA, E.; LEVITAN, E. S. Voltage-gated K^+ channel block by catechol derivatives: defining nonselective and selective pharmacophores. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 319, n. 2, p. 758–64, 2006.

SCHÄRFER, C.; SCHULZ-GASCH, T.; EHRLICH, H. C.; GUBA, W.; RAREY, M.; STAHL, M. Torsion angle preferences in druglike chemical space: A comprehensive guide. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, n. 5, p. 2016–2028, 2013.

SCHNEIDMAN-DUHOVNY, D.; DROR, O.; INBAR, Y.; NUSSINOV, R.; WOLFSON, H. J. PharmaGist: a webserver for ligand-based pharmacophore detection. **Nucleic Acids Research**, v. 36, n. Web Server, p. W223–W228, 19 maio 2008.

SCHNEIDMAN-DUHOVNY, D.; DROR, O.; INBAR, Y.; NUSSINOV, R.; WOLFSON, J. Deterministic Pharmacophore Detection via Multiple Flexible Alignment of Drug-Like Molecules. **J Comput Biol.**, v. 15, n. 7, p. 737–754, 2009.

SCHWEITZER, P. Cannabinoids decrease the K(+) M-current in hippocampal CA1 neurons. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 20, n. 1, p. 51–58, 2000.

SEBAUGH, J. L. Guidelines for accurate EC50/IC50 estimation. **Pharmaceutical Statistics**, v. 10, n. 2, p. 128–134, 2011.

SHEN, M.; THAYER, S. A. Cannabinoid receptor agonists protect cultured rat hippocampal neurons from excitotoxicity. **Molecular pharmacology**, v. 54, n. 3, p. 459–62, 1998.

SIEGEL, R.; MILLER, K.; JEMAL, A. Cancer statistics , 2015. **CA Cancer J Clin**, v. 65, n. 1, p. 29, 2015.

SILVA, V. B.; SILVA, C. H. T. P. Modelagem molecular de proteínas-alvo por homologia estrutural. **Eletrônic. de Farm**, v.6, p.15-26, 2007.

SILVA, N. S. R.; SANTOS, C. F.; GONÇALVES, L. K. S; BRAGA, F. S.; ALMEIDA, J. R.; LIMA, C. S.; BRASIL, D. S. B.; SILVA, C. H. T. P.; HAGE-MELIM, L. I. S. S., CLEYDSON, B. R. Molecular Modeling of the Major Compounds of Sesquiterpenes Class in Copaiba Oil-resin Molecular Modeling of the Major Compounds of Sesquiterpenes Class in Copaiba Oil-resin. **British Journal of Pharmaceutical Research**, n. April 2016, p. 247–263, 2015.

SINHA, R. Chronic stress, drug use, and vulnerability to addiction. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1141, p. 105–130, 2008.

SMITH, G. P.; JEROME, C.; CUSHIN, B. J. Abdominal Vagotomy Blocks the Satiety Effect of Cholecystokinin in the Rat. **Science**, v. 213, n. 13, p. 1036 – 1037, 1981.

STEFFENS, S.; VEILLARD, N. R.; ARNAUD, C.; PELLI, G.; BURGER, F.; STAUB, C.; KARSAK, M.; ZIMMER, A.; FROSSARD, J.; MACH, F. Low dose oral cannabinoid therapy reduces progression of atherosclerosis in mice. **Nature**, v. 434, n. 7034, p. 782–786, 2005.

SUN, H. Pharmacophore-based virtual screening. **Current medicinal chemistry**, v.

15, n. 10, p. 1018–24, 2008.

SVIZENSKA, I.; DUBOVY, P.; SULCOVA, A. Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures — A short review. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 90, n. 4, p. 501–511, out. 2008.

TANIGUCHI, H.; HE, M.; WU, P.; KIM, S.; PAIK, R.; SUGINO, K.; KVITSANI, D.; FU, Y.; LU, J.; LIN, YI.; MIYOSHI, G.; SHIMA, Y.; FISHELL, G.; NELSON, S. B.; HUANG, Z. J. A Resource of Cre Driver Lines for Genetic Targeting of GABAergic Neurons in Cerebral Cortex. **Neuron**, v. 71, n. 6, p. 995–1013, 2011.

TASHKIN, D. P. Effects of marijuana smoking on the lung. **Annals of the American Thoracic Society**, v. 10, n. 3, p. 239–247, 2013.

THOMAS, G.; KLONER, R. A.; REZKALLA, S. Adverse Cardiovascular, Cerebrovascular, and Peripheral Vascular Effects of Marijuana Inhalation: What Cardiologists Need to Know. **The American Journal of Cardiology**, v. 113, n. 1, p. 187–190, jan. 2014.

TREZZA, V.; CAMPOLONGO, P. The endocannabinoid system as a possible target to treat both the cognitive and emotional features of post-traumatic stress disorder (PTSD). **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 7, n. August, p. 100, 2013.

TUCCINARDI, T., FERRARINI, P. L., MANERA, C., ORTORE, G., SACCOMANNI, G., MARTINELLI, A. Cannabinoid CB2/CB1 selectivity. Receptor modeling and automated docking analysis. **Journal of medicinal chemistry**, 49(3), 984–994, 2006.

UNITED NATIONS. **World Drug Report 2015**. [s.l.: s.n.].

VAN DRIE, J. H.; LAJINESS, M. S. Approaches to virtual library design. **Drug Discovery Today**, v. 3, n. 6, p. 274–283, jun. 1998.

VEMURI, V. K.; MAKRIYANNIS, A. Medicinal Chemistry of Cannabinoids. **Clinical pharmacology and therapeutics**, v. 97, n. 6, p. 553–558, 2015.

VERDURAND, M.; NGUYEN, V.; STARK, D.; ZAHRA, D.; GREGOIRE, M. C.; GREGURIC, I.; ZAVITSANOU, K. Comparison of Cannabinoid CB(1) Receptor Binding in Adolescent and Adult Rats: A Positron Emission Tomography Study Using [F]MK-9470. **Int J Mol Imaging**, v. 2011, p. 548123, 2011.

VERWEIJ, K. J. H.; HUIZINK, A.C.; AGRAWAL, A.; MARTIN, N. G.; LYNSKEY, M. T. Is the relationship between early-onset cannabis use and educational attainment causal or due to common liability? **Drug and Alcohol Dependence**, v. 133, n. 2, p. 580–586, 2013.

VOLKOW, N. D.; BALER, R. D.; COMPTON, W. M.; WEISS, S. R.B. Adverse Health Effects of Marijuana Use. **New England Journal of Medicine**, v. 370, n. 23, p. 2219–2227, 5 jun. 2014.

WILLUHN, I.; BURGENO, L. M.; GROBLEWSKI, P. A.; PHILLIPS, P. E. M. Excessive cocaine use results from decreased phasic dopamine signaling in the striatum. **Nature Neuroscience**, v. 17, n. 5, p. 704–709, 6 abr. 2014.

YADAV, M. K.; SINGH, A.; SWATI, D. A knowledge-based approach for identification of drugs against vivapain-2 protein of Plasmodium vivax through pharmacophore-based virtual screening with comparative modelling. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 173, n. 8, p. 2174–2188, 2014.

YEE, S. In Vitro Permeability Across Caco-2 Cells (colonic) Can predict In Vivo (Small Intestinal) Absorption in Man - Fact or Myth. **Pharmaceutical Research**, v. 14, n. 6, p. 763–766, 1997.

YUAN, Y.; PEI, J.; LAI, L. LigBuilder 2: A practical de novo drug design approach. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 51, n. 5, p. 1083–1091, 2011.

ZANETTINI, C. Effects of endocannabinoid system modulation on cognitive and emotional behavior. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 5, n. September, p. 1–21, 2011.

ZHANG, P-W.; ISHIGURO, H.; OHTSUKI, T.; HESS, J.; CARILLO, F.; WALTHER, D.; ONAIVI, E. S.; ARINAMI, T.; UHL, G. R. Human cannabinoid receptor 1: 5' exons, candidate regulatory regions, polymorphisms, haplotypes and association with polysubstance abuse. **Molecular psychiatry**, v. 9, n. 10, p. 916–931, 2004.

ZHANG, P-W.; ISHIGURO, H.; OHTSUKI, T.; HESS, J.; CARILLO, F.; WALTHER, D.; ONAIVI, E. S.; ARINAMI, T.; UHL, G. R. Effect of long-term cannabis use on axonal fibre connectivity. **Brain**, v. 135, n. 7, p. 2245–2255, 1 jul. 2012.

ZHUANG, S.Y.; KITTLER, J.; GRIGORENKO, E.V.; KIRBY, M.T.; SIM, L.J.; HAMPSON, R.E.; HILDERS, S.R.; DEADWYLER, S.A.. Effects of long-term exposure to Delta9-THC on expression of cannabinoid receptor (CB1) mRNA in different rat brain regions. **Molecular Brain Research**, v. 62, n. 2, p. 141–149, 1998.

ZVOLENSKY, M. J.; MARSHALL, E. C.; JOHNSON, K.; HOGAN, J.; BERNSTEIN, A.; BONN-MILLER, M. Relations between anxiety sensitivity, distress tolerance, and fear reactivity to bodily sensations to coping and conformity marijuana use motives among young adult marijuana users. **Experimental and Clinical Psychopharmacology**, v. 17, n. 1, p. 31–42, 2009.