



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**ELPÍDIO VICENTE DOS SANTOS JÚNIOR**

**MODELAGEM MOLECULAR DO RECEPTOR CANABINOIDE TIPO-1 DO  
PAPAGAIO-VERDADEIRO (*Amazona aestiva*): ANÁLISE DOS MODOS DE  
ACOPLAMENTO DE FITOCANABINOIDES**

SÃO CRISTÓVÃO – SE

2025

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Santos Júnior, Elpídio Vicente dos

S237m      Modelagem molecular do receptor canabinoide tipo-1 do papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) : análise dos modos de acoplamento de fitocanabinoides / Elpídio Vicente dos Santos Júnior ; orientador Tiago Branquinho Oliveira. – São Cristóvão, SE, 2025.

92 f.

Dissertação (mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Sergipe, 2025.

1. Biotecnologia. 2. Farmacologia. 3. Canabinoides – Uso terapêutico – Pesquisa. 4. Fitoquímicos. 5. Vertebrados. I. Oliveira, Tiago Branquinho, orient. II. Título.

CDU 606:62:615

**ELPÍDIO VICENTE DOS SANTOS JÚNIOR**

**MODELAGEM MOLECULAR DO RECEPTOR CANABINOIDE TIPO-1 DO  
PAPAGAIO-VERDADEIRO (*Amazona aestiva*): ANÁLISE DOS MODOS DE  
ACOPLAMENTO DE FITOCANABINOIDES**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Biotecnologia da  
Universidade Federal de Sergipe como  
requisito à obtenção do grau de Mestre em  
Biotecnologia.



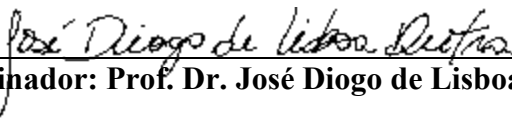
---

**Orientador: Prof. Dr. Tiago Branquinho Oliveira**



---

**1º Examinador: Prof. Dr. Marcus Vinícius de Aragão Batista**



---

**2º Examinador: Prof. Dr. José Diogo de Lisboa Dutra**

*Dedico este trabalho à minha irmã caçula, Joyce Kelly Correia Santos, que mesmo passando por tantos desafios, foi meu maior símbolo de superação durante esse período no mestrado. Essa é pra você maninha.*

Dedico este momento à minha família, meu alicerce. Agradeço, com amor, a cada um de vocês (presentes ou em memória) por estarem para sempre no meu coração.

Sou profundamente grato, desde a energia acolhedora do segurança na entrada da universidade até o Divino e à Mãe Terra, pelo dom da vida, pelas oportunidades preciosas e pelos aprendizados que me trouxeram até aqui. À espiritualidade, agradeço pelo acalanto, pela direção e pela força que me sustentaram ao longo da caminhada.

Sigo a metáfora de Bernardo de Chartres, que fala sobre os anões estarem “sobre os ombros de gigantes”. Por isso, agradeço imensamente ao meu orientador, Dr. Tiago Branquinho Oliveira. Sou profundamente grato por ter sido guiado por alguém tão acolhedor, gentil e comprometido com a ciência. Foi uma honra imensa ser seu orientado e ver o mundo a partir de sua perspectiva.

Serei sempre grato a outros grandes nomes que contribuíram com esta jornada: professores Dr. Marcus Vinícius de Aragão Batista e Dr. Auderlan Mendonça de Gois, pelas valiosas inspirações acadêmicas; a Lucas Alexandre, pelo suporte técnico e intelectual; e aos veteranos do grupo *Computer Aided Science*: Eduardo Borba, Yria, Joyce e Valéria Paixão, pelo apoio generoso e constante ao longo desta trajetória.

À minha teia de afeto, em especial a minha linda companheira, Tainara; e aos grandes amigos: Gabriel, Carleani, Ranniver, Helon, Agnes, Laís, Belgrano, Vitor, Ketlen, ‘Jeu’, ‘Bel’, Iracema, ‘Duda’, Elvis, Nzulu, Rafaela, Anne, Lucas, ‘Grazi’, André, Elenir, ‘Jeff’, Marcelo e Neto.

Agradeço imensamente a energia incrível transmitida por meus irmãos e irmãs da Capoeira: Himalaia, Atena, Panamá, Caramelo, Raiteki, Roque, Tucano, Iracema, Salomé, Xogum, Bravo e Olímpia. Vocês inspiram a parte mais brilhante da luz que há em mim.

Além das contribuições individuais, este trabalho contou com apoios institucionais essenciais, como o financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código 001. Registro ainda, imensa gratidão ao Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho em São Paulo (CENAPAD-SP), pela concessão de acesso ao supercomputador *Lovelace*. Obrigado CENAPAD, por todo o suporte técnico e computacional!

Por fim, agradeço aos animais e às plantas, fontes de inspiração e aprendizado. Sinto-me honrado como médico veterinário por contribuir e ser voz no resgate de saberes ancestrais e na valorização do potencial da natureza.

“Plantas não são medicina alternativa, elas são a original!” – Citação popular

Em 1915, o brasileiro Dr. José Rodrigues dá uma palestra nos Estados Unidos sobre a mxcxnhx e seus efeitos.



Muitos mitos que duram até hoje foram plantados nesse dia.



**Tirinha do livro “DIAMBA Histórias do Proibicionismo no Brasil”. PAIVA, 2023.**

Em contraste com visões ainda marcadas por estigmas, a perspectiva de um médico e neurocientista verdadeiramente comprometido com a ciência e a saúde pública, revela uma mudança de paradigma:

*“A maconha está para a medicina do século XXI, assim como os antibióticos foram para a medicina do século XX”. – Dr. Sidarta Ribeiro*

## RESUMO

O receptor canabinoide tipo-1 (CB1) tem recebido crescente atenção da comunidade científica devido ao seu papel central na manutenção da homeostase, sobretudo pelas funções farmacológicas nos sistemas nervoso e imunológico. Presente em todos os vertebrados, o CB1 também desperta interesse pelo potencial terapêutico dos metabólitos secundários de *Cannabis sativa* (Linnaeus, 1753), cujos ligantes exibem alta afinidade pelo sítio de ligação canônico, estimulando o desenvolvimento de fármacos voltados à modulação do sistema endocanabinoide, inclusive com aplicações potenciais na medicina de aves silvestres. Neste estudo, construiu-se um modelo tridimensional do receptor CB1 de *Amazona aestiva* (Linnaeus, 1758), espécie de papagaio sul-americano cuja estrutura experimental ainda não foi elucidada. Dessa forma, o receptor-alvo foi obtido por homologia, refinado em membrana por simulações de dinâmica molecular de 500-ns com GROMACS, e empregado na triagem virtual de diversos metabólitos secundários de *C. sativa* compilados da literatura (567 compostos da planta, acrescidos do agonista de referência). O *docking* molecular foi conduzido no sítio ativo do receptor com o algoritmo genético GOLD, utilizando o agonista total CP55,940 como controle. Os resultados mostraram que as canabisinas, sobretudo as dez variantes testadas, apresentaram alta tendência de interação com o receptor CB1, superando até mesmo o ligante de referência CP55,940. O modelo também previu elevada afinidade para o canabisol, um fitocanabinoide dimérico derivado do  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol, reconhecido por sua potente atividade agonista em CB1. Outro achado relevante foi o canabitwinol, dímero do canabidiol associado a receptores termorregulatórios, cuja alta afinidade sugere possível atividade bivalente, ampliando hipóteses teóricas sobre seus mecanismos de ação. Por fim, o presente estudo evidencia a aplicabilidade de abordagens *in silico* na triagem e priorização de candidatos promissores a fármacos seletivos para o CB1 de *A. aestiva*, oferecendo subsídios para investigações experimentais sobre a relevância farmacológica dos metabólitos de *C. sativa* em aves silvestres.

**Palavras-chave:** CB1; modelagem por homologia; dinâmica molecular; triagem virtual; metabólitos secundários.

## ABSTRACT

The cannabinoid type-1 receptor (CB1) has received increasing attention from the scientific community due to its central role in maintaining homeostasis, particularly for its pharmacological functions in the nervous and immune systems. Present in all vertebrates, CB1 is also attracting interest due to the therapeutic potential of secondary metabolites from *Cannabis sativa* (Linnaeus, 1753), whose ligands exhibit high affinity for the canonical binding site, stimulating the development of drugs aimed at modulating the endocannabinoid system, including potential applications in wild bird medicine. In this study, a three-dimensional model of the CB1 receptor from *Amazona aestiva* (Linnaeus, 1758), a South American parrot species whose experimental structure has not yet been elucidated, was constructed. Thus, the target receptor was obtained by homology, refined in membranes using 500-ns molecular dynamics simulations with GROMACS, and used in the virtual screening of several *C. sativa* secondary metabolites compiled from the literature (567 compounds from the plant, plus the reference agonist). Molecular *docking* was performed in the receptor active site using the GOLD genetic algorithm, using the full agonist CP55,940 as a control. The results showed that cannabinoids, especially the ten variants tested, exhibited a high tendency to interact with the CB1 receptor, surpassing even the reference ligand CP55,940. The model also predicted high affinity for cannabisol, a dimeric phytocannabinoid derived from  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol, recognized for its potent CB1 agonist activity. Another relevant finding was cannabitwinol, a cannabidiol dimer associated with thermoregulatory receptors, whose high affinity suggests possible bivalent activity, expanding theoretical hypotheses about its mechanisms of action. Finally, this study highlights the applicability of *in silico* approaches in the screening and prioritization of promising drug candidates selective for CB1 from *A. aestiva*, providing support for experimental investigations into the pharmacological relevance of *C. sativa* metabolites in wild birds.

**Key-words:** CB1; homology modeling; molecular dynamics; virtual screening; secondary metabolites.

## SUMÁRIO

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                               | 12 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO .....                                                      | 13 |
| 2.1 A Espécie em Estudo.....                                                      | 13 |
| 2.2 Interações entre Fitocanabinoides e Sistemas Biológicos.....                  | 17 |
| 2.3 Aspectos Históricos, Taxonomia & Biossíntese de Fitocanabinoides .....        | 20 |
| 2.4 Ferramentas Computacionais na Elucidação de Interações Proteína-Ligante ..... | 23 |
| 3. JUSTIFICATIVA.....                                                             | 24 |
| 4. OBJETIVOS.....                                                                 | 25 |
| 4.1 Geral.....                                                                    | 25 |
| 4.2 Específicos .....                                                             | 25 |
| 5. MATERIAIS E MÉTODOS .....                                                      | 26 |
| 5.1 MATERIAIS .....                                                               | 26 |
| 5.1.1 Processamento de Dados e Ferramentas Computacionais.....                    | 26 |
| 5.2 MÉTODOS.....                                                                  | 28 |
| 5.2.1 Sequência Primária do Receptor CB1 .....                                    | 28 |
| 5.2.2 Alinhamento Múltiplo de Sequências .....                                    | 29 |
| 5.2.3 Modelagem por Homologia e Validação do Modelo .....                         | 29 |
| 5.2.4 Construção e Equilíbrio do Sistema de Simulação.....                        | 30 |
| 5.2.5 Dinâmica Molecular .....                                                    | 31 |
| 5.2.6 Otimização de Pequenas Moléculas .....                                      | 32 |
| 5.2.7 Etapas de Preparação Estrutural Pré-Triagem Virtual.....                    | 33 |
| 5.2.8 Redocking e Triagem Virtual Baseada na Estrutura (SBVS) .....               | 34 |
| 6. RESULTADOS & DISCUSSÃO .....                                                   | 35 |
| 6.1 Análise do Alinhamento Múltiplo .....                                         | 35 |
| 6.2 Ajuste na Estrutura Primária e Resultados da Modelagem Comparativa .....      | 35 |
| 6.3 Preparação e Caracterização do Ambiente de Simulação .....                    | 38 |
| 6.4 Comportamento Conformacional em Dinâmica Molecular .....                      | 41 |
| 6.5 Análise de redocking: Interações-chave e Perfis de Ligação .....              | 43 |
| 6.6 Docking molecular .....                                                       | 44 |
| 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....                                                     | 50 |
| 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                               | 51 |
| 9. APÊNDICE A .....                                                               | 68 |
| 10. APÊNDICE B .....                                                              | 81 |
| 11. APÊNDICE C .....                                                              | 90 |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. O papagaio-verdadeiro .....                                                        | 14 |
| Figura 2. Modelo hipotético da região cranial e encefálica do papagaio-verdadeiro.....       | 15 |
| Figura 3. Árvore filogenética de agrupamentos dos genes endocanabinoides .....               | 16 |
| Figura 4. Representação esquemática da sinalização endocanabinoide .....                     | 18 |
| Figura 5. Representação esquemática da localização do receptor CB1 .....                     | 20 |
| Figura 6. Diferenças morfológicas entre os cultivares de <i>Cannabis</i> .....               | 21 |
| Figura 7. Esquema das vias biossintéticas de diversos fitocanabinoides .....                 | 23 |
| Figura 8. Resultados do alinhamento múltiplo de sequências com ClustalW.....                 | 36 |
| Figura 9. Validação estrutural do modelo computacional de CB1 .....                          | 38 |
| Figura 10. Resultados do construtor de membranas.....                                        | 39 |
| Figura 11. Modelo do complexo proteína-bicamada.....                                         | 40 |
| Figura 12. Convergência energética (a) e equilíbrio térmico (b) na fase inicial da simulação | 41 |
| Figura 13. Variação da flutuação residual ao longo da simulação de dinâmica.....             | 43 |
| Figura 14. Resultados de <i>redocking</i> molecular das referências (PDB: 7WV9 & CP55,940).. | 44 |
| Figura 15. Melhores poses de ligação do THCD e CBDD no sítio ortostérico de CB1 .....        | 47 |

## LISTA DE QUADROS

|                                                                                                                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Quadro 1. <i>Ranking</i> dos 10 fitocanabinoides com maior afinidade espontânea ao CB1 de <i>Amazona aestiva</i> .....                                                          | 45 |
| Quadro 2. Ranqueamento da espontaneidade putativa de ligação dos fitocanabinoides $\Delta^9$ -THCP, CBDP, $\Delta^9$ -THC e CBD ao receptor CB1 de <i>Amazona aestiva</i> ..... | 49 |

## LISTA DE GRÁFICOS

|                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Gráfico 1.</b> Desvio médio do <i>backbone</i> da proteína ao longo de 500 ns de simulação..... | 42 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

$\Delta^9$ -THC –  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol

$\Delta^9$ -THCP –  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol

BLAST – *Basic Local Alignment Search Tool*

CBD – Canabidiol

CBDP – Canabidiforol

CBDD – Canabitwinol

CPU – *Central Processing Unit*

DM – Dinâmica Molecular

GPCR – *G Protein-Coupled Receptor*

IA – Inteligência Artificial

MUFA – *Mono-Unsaturated Fatty Acid*

NCBI – *National Center of Biotechnology Information*

PDB – *Protein Data Bank*

PUFA – *Poly-Unsaturated Fatty Acid*

RAM – *Random Access Memory*

RMSD – *Root Mean Square Deviation*

RMSF – *Root Mean Square Fluctuation*

SBVS – *Structure-Based Virtual Screening*

TFLOP – *Tera Floating Point Operations Per Second*

THCD – Canabisol

TRP – Receptor de Potencial Transiente

## 1. INTRODUÇÃO

A espécie *Amazona aestiva* (Linnaeus, 1758) é amplamente reconhecida por sua inteligência, sendo uma das aves mais populares no Brasil. Suas notáveis habilidades incluem a capacidade de resolver problemas complexos, aprender rapidamente e imitar vozes e músicas, características que a colocam em destaque entre os psitacídeos (Mendonça-Furtado & Ottoni, 2008; Godinho *et al.*, 2020; Kaplan, 2021). Além de suas aptidões cognitivas, *A. aestiva* se distingue por possuir genes associados à alta resistência a danos no DNA e à atividade antioxidante, fatores essenciais para sua longevidade (Wirthlin *et al.*, 2018).

Estudos indicam que a longevidade dos psitacídeos está relacionada não apenas a características próprias das aves, como a presença de ácido úrico com função antioxidante (Koivula & Eeva, 2010), mas também a uma maior proporção de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) em relação aos mono-insaturados (MUFA) nas membranas celulares (Turner *et al.*, 2005; Hulbert *et al.*, 2010; Montgomery *et al.*, 2012). Além disso, o cérebro relativamente grande em proporção ao corpo também é observado em seres humanos, o que tem motivado investigações sobre possíveis convergências evolutivas entre papagaios e primatas nos mecanismos relacionados à longevidade e às capacidades cognitivas (Gutiérrez-Ibáñez *et al.*, 2018; Wirthlin *et al.*, 2018).

Nesse mesmo contexto, o estudo das características evolutivas complexas evidencia que as aves também se destacam pela alta densidade neuronal e pela presença de circuitos neurais sofisticados, frequentemente associados a padrões de convergência com mamíferos (Olkowicz *et al.*, 2016; Gutiérrez-Ibáñez *et al.*, 2018). Entre os *Psittaciformes*, um achado particularmente relevante é a perda do receptor canabinoide tipo-2 (CB2), o que pode ter implicações na regulação fisiológica dessas aves (Dívin *et al.*, 2022). Esse fato ressalta a importância de investigar mais profundamente o receptor canabinoide tipo-1 (CB1), especialmente em razão de seu papel central na homeostasia (Mechoulam & Parker, 2013).

A terapia fitocanabinoide tem se destacado na medicina veterinária por seus efeitos em diferentes patologias, com efeitos já descritos na convulsão, ansiedade e no manejo de sequelas de cinomose (Hartsel *et al.*, 2019; Hazzah *et al.*, 2020). Em humanos, seus efeitos têm sido explorados em doenças neurodegenerativas, condições associadas ao HIV e diversos tipos de câncer (Verma *et al.*, 2021). Esse crescente interesse decorre da ação multifuncional dos fitocanabinoides sobre diferentes receptores, entre eles o CB1. Contudo, as interações desse receptor com outros componentes do sistema endocanabinoide permanecem pouco

compreendidas, sobretudo em espécies não mamíferas, como os papagaios, configurando um campo promissor para investigações futuras.

Para tanto, as abordagens *in silico* têm se consolidado como fundamentais na investigação de substâncias com potencial bioativo, permitindo a modelagem de estruturas receptoras, a caracterização detalhada da interação proteína-ligante e a análise do impacto dos solventes na estabilidade conformacional de biopolímeros (Montero *et al.*, 2005; Sarkar *et al.*, 2017). Essas metodologias são essenciais para a otimização do desenvolvimento racional de medicamentos canabinoides, possibilitando a predição de afinidades de ligação, ajustes estruturais e potenciais efeitos adversos antes da validação experimental (Bow & Rimoldi, 2016; Almeida *et al.*, 2024). Além disso, a aplicação dessas técnicas é particularmente relevante para investigar como os canabinoides modulam a estrutura e a função do receptor canabinoide remanescente nos psitacídeos, uma vez que essas aves apresentam maior suscetibilidade à neuroinflamação induzida (Dívin *et al.*, 2022).

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 A Espécie em Estudo**

Entre as 398 espécies conhecidas da Ordem *Psittaciformes*, que incluem as famílias *Psittacidae*, *Psittaculidae*, *Cacatuidae* e *Strigopidae* (Burgio *et al.*, 2019), destaca-se o papagaio-verdadeiro (*A. aestiva*) como uma das aves mais inteligentes entre elas (Mendonça-Furtado & Ottoni, 2008; Godinho *et al.*, 2020; Kaplan, 2021). Essa espécie é típica de florestas tropicais e é nativa da América do Sul, incluindo áreas da Argentina, Bolívia, Brasil e Paraguai (Collar *et al.*, 2020; Seixas & Mourão, 2022). Um indivíduo adulto saudável pode pesar aproximadamente 400/ 500 gramas, medir de 36 a 38 centímetros de comprimento e ultrapassar os 60 anos de vida em condições adequadas (Grespan & Raso, 2014; Nascimento *et al.*, 2017; Burgio *et al.*, 2019).

A espécie apresenta temperatura corporal elevada, entre 41 e 44 °C, reflexo de um metabolismo acelerado mesmo sob leve estresse (Greenacre & Lusby, 2004; Paula *et al.*, 2008). Esse padrão é comum em aves, especialmente naquelas fisiologicamente adaptadas ao ambiente, com regulação térmica eficiente e alta demanda energética (Grespan & Raso, 2014; Paula *et al.*, 2013). Além dos aspectos metabólicos, *A. aestiva* apresenta uma plumagem vibrante, cuja coloração desempenha um papel crucial tanto na camuflagem contra predadores quanto na comunicação intraespecífica, sendo um fator determinante em interações sociais e

comportamentais (Lopes *et al.*, 2018). A **Figura 1** ilustra essa coloração, destacando sua relevância ecológica e adaptativa.

**Figura 1. O papagaio-verdadeiro.** A espécie *Amazona aestiva*, comumente conhecida como “papagaio-verdadeiro”, é ilustrada pousada em um galho de pequi ( *Caryocar brasiliense* Prance & Silva, 1973), uma espécie arbórea endêmica amplamente distribuída pelo Cerrado brasileiro (Carvalho, 2008).



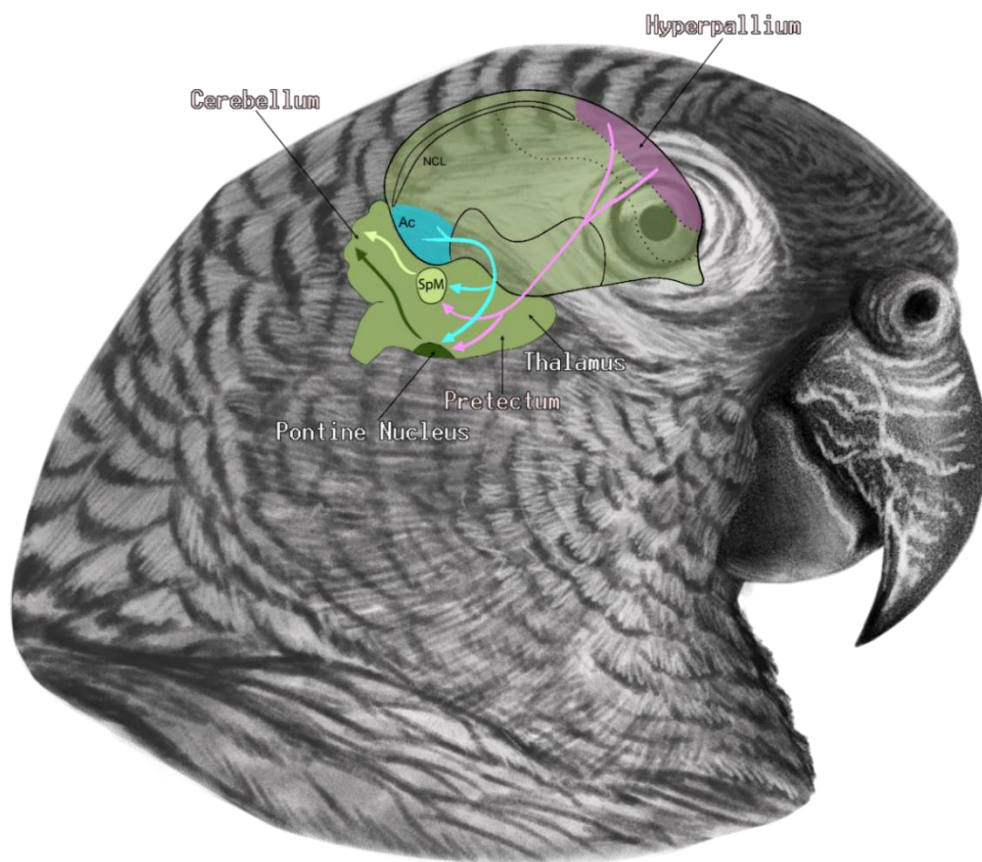
**Fonte:** Ilustração de Fernando Igor de Godoy. Seu trabalho está disponível em: [/www.ornitologiaearte.com/](http://www.ornitologiaearte.com/).

*Amazona aestiva* é uma das aves mais comercializadas do mundo, impulsionada tanto por sua sociabilidade e notáveis capacidades cognitivas quanto pela intensa demanda no comércio de animais silvestres (Toft & Wright, 2015; Kuhnen & Kanaan, 2017; Zhang *et al.*, 2023). Em cativeiro, condições ambientais inadequadas favorecem o surgimento de distúrbios neuropsiquiátricos, como comportamentos compulsivos, agressividade, estresse e automutilação (Grespan & Raso, 2014; Marietto-Gonçalves, 2016). Além disso, esses fatores aumentam a vulnerabilidade das aves a doenças parasitárias e intoxicações por diversos metais, como o zinco, cuja exposição excessiva está associada à intensificação do estresse oxidativo (Nascimento *et al.*, 2017; Koivula & Eeva, 2010; Savarese *et al.*, 2020). Diante desse contexto, a adoção de estratégias de manejo adequadas e a preservação dos habitats naturais são medidas essenciais para assegurar a saúde e o bem-estar da espécie (Grespan & Raso, 2014; Lopes *et al.*, 2018).

A relevância cognitiva dos psitacídeos, incluindo *A. aestiva*, está diretamente relacionada à sua neuroanatomia altamente especializada. Essas aves possuem um Núcleo Espiriforme Medial (SpM: **Figura 2**) altamente desenvolvido, fundamental para a

conectividade entre o telencéfalo (destacado na **Figura 2**), o *hyperpallium* (rosa), o *arcopallium* e o núcleo pontino (verde escuro), este último projetando-se em direção ao cerebelo, assim como o SpM (verde claro). Segundo Gutiérrez-Ibañez *et al.* (2018), essas redes neurais avançadas desempenham um papel crucial na coordenação motora e no processamento cognitivo de alto nível. Além disso, os pesquisadores destacam que o tamanho do SpM varia entre os psitacídeos, podendo ser de duas a cinco vezes maior do que em outras aves, refletindo a expansão dessas vias de comunicação neural.

**Figura 2. Modelo hipotético da região cranial e encefálica do papagaio-verdadeiro.** Legenda: NCL= *Nidopallium* caudolateral, Ac, azul= *Arcopallium*, SpM= Núcleo Espiriforme Medial.

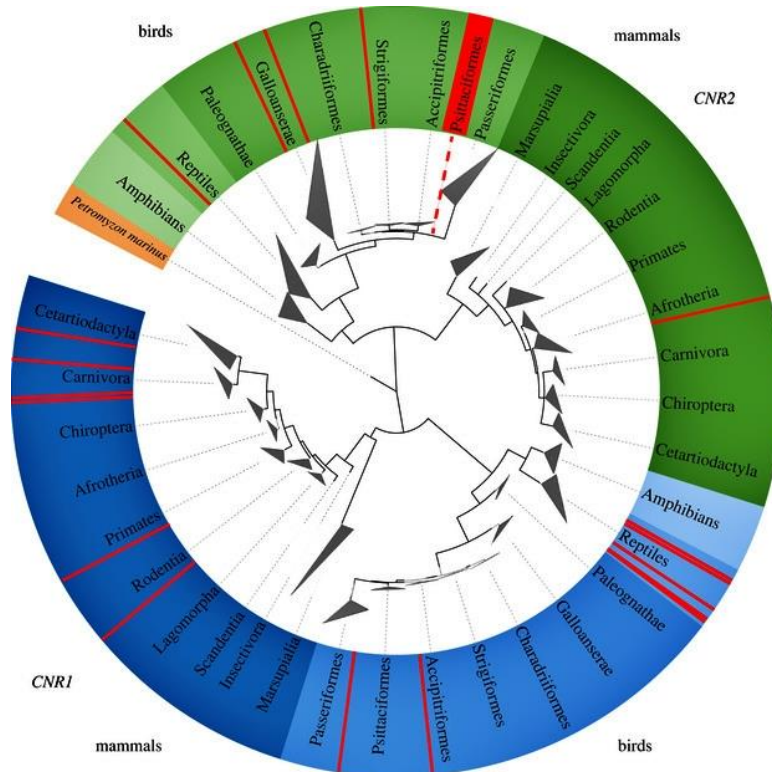


**Fonte:** Ilustração de Whendel Silva Rodrigues, com base em Carril *et al.* (2015), Gutiérrez-Ibañez *et al.* (2018) e Faillace *et al.* (2020).

As adaptações neurológicas mencionadas não apenas sugerem um potencial para habilidades cognitivas avançadas, como aprendizado sofisticado e resolução de problemas complexos, observados em *A. aestiva* (Mendonça-Furtado & Ottoni, 2008; Godinho *et al.*, 2020; Kaplan, 2021), mas também refletem processos evolutivos distintos nos psitacídeos. Um exemplo marcante foi identificado por Dívin *et al.* (2022), que demonstraram uma maior vulnerabilidade ao estresse neuroinflamatório nas espécies da ordem *Psittaciformes* devido à perda do receptor CB2, o qual está intimamente ligado ao sistema nervoso periférico (SNP). A

pesquisa revelou a ausência do gene *CNR2* nos bancos de dados genéticos, conforme ilustrado na **Figura 3**. Essa adaptação evolutiva decorreu da pseudogenização de *CNR2*, resultando em rearranjos cromossômicos sem indícios de regulação compensatória (Dívin *et al.*, 2022).

**Figura 3. Árvore filogenética de agrupamentos dos genes endocanabinoides.** Legenda: Os receptores CNR1 são representados em azul, e os CNR2 em verde. *Petromyzon marinus* (Linnaeus, 1758) é indicado como a raiz, representando o ancestral comum dos genes. Os triângulos multiformes nas extremidades representam ramos específicos de táxons simplificados ou colapsados. A cor vermelha destaca a ausência de receptores, indicando casos em que estes não foram identificados nos bancos de dados.



Fonte: Dívin *et al.*, 2022.

A perda do receptor CB2 nos psitacídeos pode ter representado uma adaptação evolutiva vantajosa, especialmente em ambientes nos quais a redução da resposta imunológica contribui para a supressão de reações oxidativas e inflamatórias excessivas (Guan, 2007; Koivula & Eeva, 2010; Larcombe *et al.*, 2015). Contudo, estudos clínicos, epidemiológicos e moleculares indicam que os psitacídeos apresentam alta suscetibilidade a infecções por bornavírus, que afetam predominantemente o SNP (Encinas-Nagel *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2023; Schmitt *et al.*, 2024). Além disso, considerando que o CB2 exerce um papel crucial na modulação da imunidade, sua ausência pode estar relacionada a uma maior predisposição ao desenvolvimento de doenças infecciosas, reforçando a necessidade de pesquisas adicionais sobre este tema (Mechoulam & Parker, 2013; Dívin *et al.*, 2022).

A relação entre o sistema endocanabinoide (SECB) e a resposta imune torna ainda mais relevante a distinção funcional entre os receptores CB1 e CB2. Embora intimamente relacionados, com 44% de similaridade na sequência de aminoácidos e 68% de homologia nas regiões transmembrana (Munro *et al.*, 1993; Montero *et al.*, 2005), esses receptores desempenham papéis distintos. O CB1 está predominantemente associado ao sistema nervoso central (SNC), enquanto o CB2 atua principalmente no sistema imunológico (Elphick, 2012; Bow & Rimoldi, 2016). Assim, embora a perda do CB2 nos psitacídeos possa ter conferido certas vantagens adaptativas, ela também trouxe desafios fisiológicos que podem comprometer funções essenciais à saúde desses animais (Dívin *et al.*, 2022).

## **2.2 Interações entre Fitocanabinoides e Sistemas Biológicos**

Os receptores CB1 integram a família dos receptores acoplados à proteína G (GPCRs), mais especificamente do tipo Gi/o, cuja ativação leva à inibição da enzima adenilato ciclase (Mechoulam & Parker, 2013). Classificados na subfamília "A" dos GPCRs, apresentam estrutura semelhante à da rodopsina. Estão amplamente distribuídos no SNC dos cordados, incluindo mamíferos, aves, répteis e anfíbios, onde desempenham papéis regulatórios fundamentais (Lutz, 2002; Elphick & Egertová, 2009; Elphick, 2012).

Em mamíferos e aves, os receptores CB1 se concentram em regiões cerebrais associadas à cognição, memória, aprendizado e controle motor, como o hipocampo, os gânglios da base, o bulbo olfatório e o cerebelo (Herkenham *et al.*, 1990; Alonso-Ferrero *et al.*, 2006; Hu & Mackie, 2015). Especificamente em psitacídeos, estudos com *Melopsittacus undulatus* (Gould, 1805) revelaram alta densidade desses receptores em áreas como o cerebelo, o núcleo taenia da amígdala, o núcleo preóptico medial, o núcleo pretectal (possivelmente o SpM), o núcleo paramediano interno do tálamo, bem como no arcopálcio dorsal e intermediário (Alonso-Ferrero *et al.*, 2006).

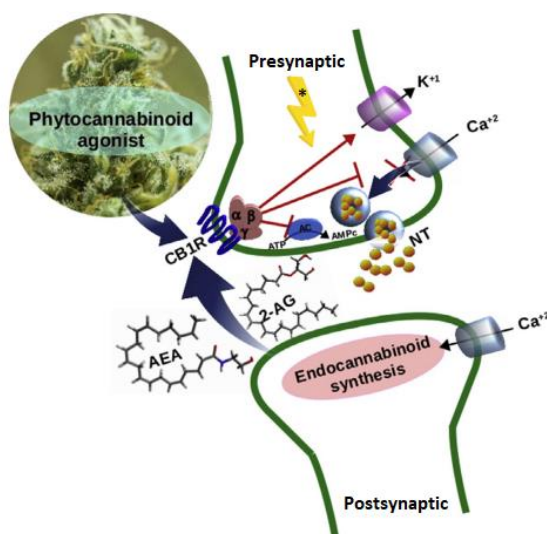
Embora a expressão do CB1 seja majoritariamente neuronal, variantes geradas por *splicing* alternativo do gene *CNRI*, como a isoforma CB1-b, podem ser encontradas em tecidos periféricos, incluindo fígado, células imunes e outros tipos celulares não neuronais (Lutz, 2002; Howlett *et al.*, 2010; Laprairie *et al.*, 2012). Além disso, estudos recentes identificaram a presença de receptores CB1 em organelas intracelulares, como endossomas e mitocôndrias, ampliando a complexidade funcional do sistema endocanabinoide (Kendall & Yudowski, 2017; Busquets-García *et al.*, 2018).

Através do SECB, CB1 atua como um modulador fino da comunicação neuronal, promovendo a homeostase por meio da regulação da sinalização sináptica. Seus principais ligantes endógenos – a anandamida (AEA) e o 2-araquidonoilglicerol (2-AG) – são sintetizados sob demanda na membrana do neurônio pós-sináptico e ativam os receptores CB1 presentes na membrana pré-sináptica. Essa ativação desencadeia cascatas intracelulares que envolvem a inibição da adenilato ciclase e dos canais de cálcio voltagem-dependentes, além da ativação de canais de potássio, resultando em menor liberação de neurotransmissores como glutamato e GABA (Fanovich *et al.*, 2020; Liao *et al.*, 2023).

A terminação da sinalização é mediada pelas enzimas FAAH (amida hidrolase de ácidos graxos), que degrada a AEA, e MGL (monoacilglicerol lipase), responsável pela hidrólise do 2-AG. Entre os canabinoides exógenos, o  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) atua como agonista parcial do CB1, enquanto o canabidiol (CBD) age como modulador alostérico negativo, influenciando a eficácia da sinalização endocanabinoide (Di Marzo & Piscitelli, 2015; Wu & Mackie, 2015; Shahbazi *et al.*, 2020).

Essa modulação é particularmente relevante no contexto terapêutico, pois interfere diretamente na excitabilidade sináptica e no equilíbrio neuroquímico. A ativação controlada do SECB tem sido associada a potenciais benefícios em distúrbios como esquizofrenia, depressão, epilepsia e doença de Alzheimer, ao favorecer a redução da hiperexcitabilidade neuronal e a restauração da homeostase cerebral (Cooray *et al.*, 2020; Verma *et al.*, 2021).

**Figura 4. Representação esquemática da sinalização canabinoide.** Legenda: \*= neurônio pré-sináptico; CB1R= receptor CB1;  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ = subunidades alfa, beta e gama da proteína Gi; AEA= anandamida; 2-AG= 2-araquidonoilglicerol;  $\text{Ca}^{+2}$ = cálcio;  $\text{K}^{+1}$ = potássio; AC= enzima adenilato ciclase; ATP= adenosina trifosfato; AMPc= adenosina monofosfato cíclico.



**Fonte:** Adaptado de Fanovich *et al.* (2020).

É importante ressaltar que, além das interações com receptores isolados, os receptores clássicos do SECB, CB1 e CB2, possuem a capacidade de formar heterômeros com outros receptores acoplados à proteína G, ampliando consideravelmente a complexidade da sinalização celular (Di Marzo, 2020). A formação desses heterômeros, por exemplo com proteínas como a  $\beta$ -arrestina, pode resultar em respostas celulares mais específicas e moduladas (Morales *et al.*, 2020; Liao *et al.*, 2023). Esse mecanismo contribui para a diversidade funcional do SECB e influencia uma ampla gama de processos fisiológicos, incluindo a percepção sensorial, o controle emocional e a regulação da resposta inflamatória (Berman *et al.*, 2020; Silver, 2021).

Nesse contexto de complexidade e plasticidade funcional, os fitocanabinoides desempenham um papel central ao modularem amplamente o SECB. Sua atuação não se limita aos receptores canabinoides clássicos (CB1 e CB2), mas estende-se também a canais iônicos e a outros GPCRs, como GPR55 e GPR18 (Yang *et al.*, 2015; Di Marzo, 2020). Compostos como o *cannabitol*, derivado do CBD, exercem efeitos moduladores sobre Receptores de Potencial Transiente (TRP), como TRPA1 e TRPM8 (De Petrocelis *et al.*, 2011; Chianese *et al.*, 2020), enquanto o  $\Delta^9$ -THC pode influenciar receptores de glicina (Alvarez & Alves, 2023). Esse conjunto expandido de receptores e vias de sinalização constitui o chamado endocanabinoidoma<sup>1</sup>, conceito que evidencia a importância do SECB na regulação adaptativa frente a diferentes estados fisiológicos e patológicos (Silver, 2019; Berman *et al.*, 2020; Di Marzo, 2020).

A ativação do receptor CB1, assim como de outros receptores do tipo GPCR, depende de um conjunto de aminoácidos conservados no sítio ortostérico, conhecidos como resíduos "chave-seletores" e "interruptores de alternância dupla". Esses resíduos atuam como biomarcadores estruturais, essenciais para a estabilização dos ligantes (Liao *et al.*, 2023; Docampo-Palcios *et al.*, 2024). No CB1, destacam-se interações com a fenilalanina 200 (F200<sup>3.36</sup>)<sup>2</sup> e o triptofano 356 (W356<sup>6.48</sup>), localizados abaixo do sítio de atividade ortostérica, nas hélices transmembrana TM3 e TM6, respectivamente (Wu *et al.*, 2022). Tais interações foram identificadas em complexos com ligantes como o agonista CP55,940 (Shao *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2019) e o composto sintético MDMB-FUBINACA (Liao *et al.*, 2023), conforme

---

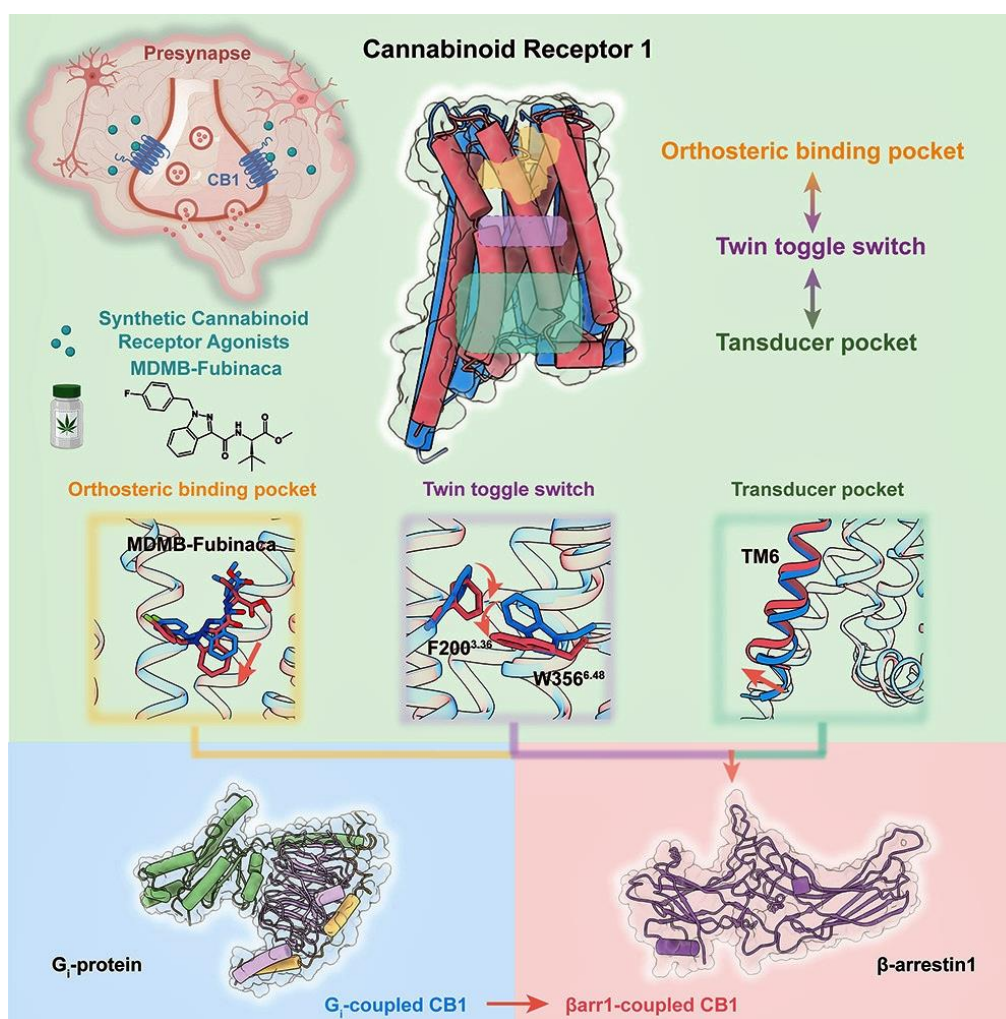
<sup>1</sup> O termo 'Endocanabinoidoma' foi cunhado para refletir a complexidade do sistema de interconexões do SECB, adotando o sufixo 'oma', assim como outros termos relacionados, como 'genoma', 'proteoma' e 'metaboloma' (DI MARZO & WANG, 2014; BERMAN *et al.*, 2020).

<sup>2</sup> A numeração dos resíduos (ex.: F200<sup>3.36</sup>) segue a convenção de Ballesteros-Weinstein, amplamente utilizada para identificar posições conservadas em receptores do tipo GPCR (BALLESTEROS & WEINSTEIN, 1995).

representado esquematicamente na **Figura 5**. Esses elementos estruturais são determinantes para a eficácia da transdução do sinal e modulam diretamente a sensibilidade do receptor a compostos bioativos, incluindo derivados de origem vegetal (Wu *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2022; Docampo-Palcios *et al.*, 2024).

**Figura 5. Representação esquemática das interações moleculares do receptor CB1.**

Legenda: Em destaque, o agonista sintético MDMB-FUBINACA no sítio ortostérico, os principais domínios de ativação do receptor, os resíduos de acomodação ("chave-seletores") localizados na base do bolso ortostérico, além da formação de um heterômero funcional com a  $\beta$ -arrestina.



Fonte: Liao *et al.*, 2023.

### 2.3 Aspectos Históricos, Taxonomia & Biossíntese de Fitocanabinoides

Historicamente marginalizada no Brasil por preconceitos, racismo e políticas proibicionistas, a maconha é uma planta de uso milenar na medicina tradicional, empregada no tratamento de diversas doenças (Brown, 2019; Paiva, 2023; Fordjour *et al.*, 2023). Pertencente

ao gênero *Cannabis* e à família *Cannabaceae*, trata-se de uma espécie dióica: com indivíduos femininos, que produzem inflorescências, e masculinos, comumente chamados de cânhamo. Sua classificação taxonômica tem sido alvo de revisões, e atualmente há consenso de que *Cannabis indica* (Lamarck, 1785) e *Cannabis ruderalis* (Janischewsky, 1924) são, na verdade, variedades de *Cannabis sativa* L. (Linnaeus, 1753), conforme discutido por McPartland (2018).

Essas variedades se diferenciam morfológicamente: *C. sativa* pode atingir até cinco metros de altura, com folhas longas e estreitas; *C. indica* é mais compacta, com altura entre 1 e 2 metros e folhas mais largas; já *C. ruderalis*, com apenas 30 a 100 centímetros de altura, destaca-se por seu ciclo de vida curto, resistência ao frio e capacidade de florescer independentemente do fotoperíodo (Anderson, 1980; Mcpartland, 2017). As distinções entre essas variedades incluem altura e formato foliar, conforme ilustrado na **Figura 6**.

**Figura 6. Diferenças morfológicas entre os cultivares de *Cannabis*.** Legenda: S= *C. sativa*; I= *C. indica*; R= *C. ruderalis*.



**Fonte:** Adaptado de Anderson, 1980.

Assim, conforme a classificação taxonômica apresentada em diversas publicações (Anderson, 1980; Elsohly *et al.*, 2014; Mcpartland, 2018), discutem-se os seguintes padrões:

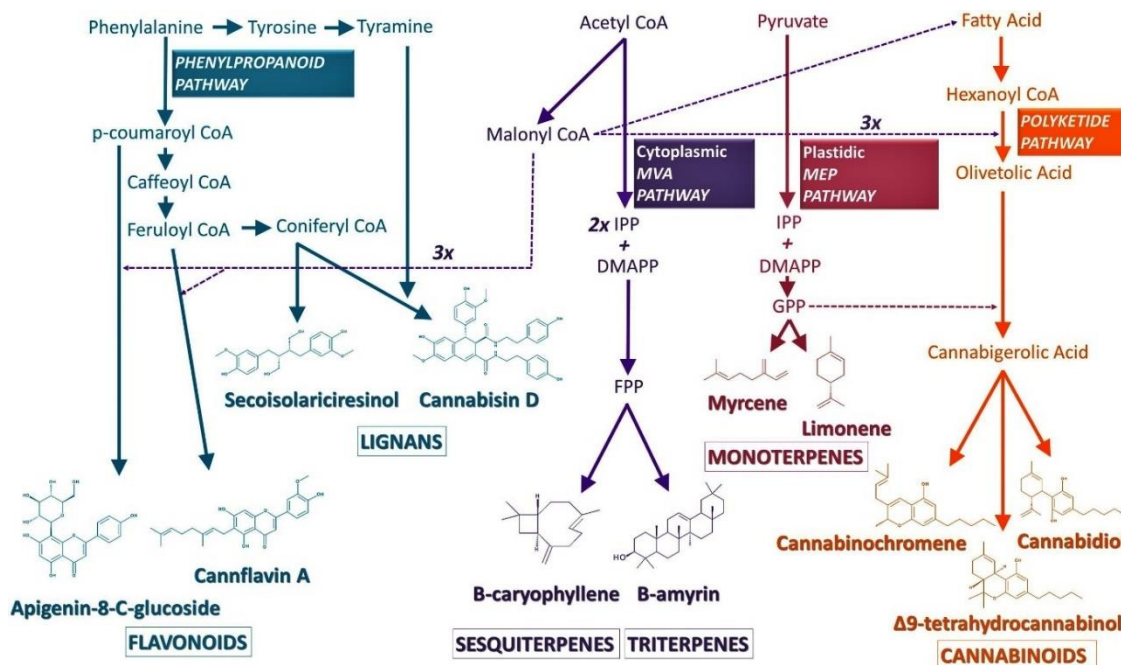
- Reino: *Plantae*
- Divisão: *Magnoliophyta* (Angiospermas)
- Classe: *Magnoliopsida* (Eudicotiledôneas)
- Ordem: *Urticales*
- Família: *Cannabaceae*
- Gênero: *Cannabis*
- Espécie: *Cannabis sativa* L.
- Subespécies: *C. indica* e *C. ruderalis*.

Sobre a quimiotaxonomia da *Cannabis*, refere-se a substâncias (fitocanabinoides) presentes nos diferentes cultivares acima discutidos, os quais variam em localização e concentração na planta (Jin *et al.*, 2020; Radwan *et al.*, 2021). Por exemplo, a espécie *C. sativa* é conhecida por seus altos níveis de  $\Delta^9$ -THC, o principal composto psicoativo, que é um dos responsáveis pelos efeitos estimulantes e propriedades medicinais da planta. Diferentemente, a variedade *C. indica* é associada a níveis mais elevados de CBD, um composto também com diversas propriedades terapêuticas e relaxantes. Já a *C. ruderalis* apresenta baixo teor de  $\Delta^9$ -THC (Elsohly *et al.*, 2014; Elsohly *et al.*, 2017). Nas flores feminizadas, os tricomas glandulares apresentam a maior concentração de  $\Delta^9$ -THC e CBD, sendo estes os constituintes majoritários produzidos pela *Cannabis* (Jin *et al.*, 2020).

Para além do  $\Delta^9$ -THC e do CBD – dois entre os cerca de 160 canabinoides canônicos já identificados (Elsohly & Gul, 2014; Elsohly *et al.*, 2017; Saumell-Esnaola *et al.*, 2020), as plantas do gênero *Cannabis* produzem mais de 400 compostos adicionais não classificados como canabinoides, abrangendo uma ampla diversidade estrutural (Radwan *et al.*, 2021; Fordjour *et al.*, 2023; Oswald *et al.*, 2023). Entre essas substâncias, destacam-se ligantes fenólicos como lignanas e flavonoides, que vêm despertando crescente interesse científico devido às suas propriedades antioxidantes, com ênfase no potencial terapêutico para doenças neurodegenerativas (Pollastro *et al.*, 2018; Cooray *et al.*, 2023; Erridge *et al.*, 2020).

Esses fitocanabinoides, são sintetizados por diversas vias biossintéticas, incluindo descarboxilação, oxidação e ação enzimática (Di Marzo & Piscitelli, 2015). Por exemplo, os flavonoides e lignanas derivam da via da Fenilalanina, que envolve a conversão de várias coenzimas, incluindo a *Coniferyl CoA* e *Malonyl CoA*. Outras vias relevantes incluem a do piruvato e a *Acetyl CoA*, que resultam na formação de uma série de terpenos (Andre *et al.*, 2016). A via da *Hexanoyl CoA* leva à produção do ácido olivetólico e do ácido canabigerólico (CBGA), conforme especificado na **Figura 7**. O CBGA é um precursor essencial na síntese de outros canabinoides canônicos, como o canabicromeno (CBC), o  $\Delta^9$ -THC e o CBD, desempenhando um papel crucial na biologia da planta de *Cannabis* (Lutz, 2002; Dawidowicz *et al.*, 2021). Ademais, a interação entre canabinoides, flavonoides, terpenos e outras substâncias, frequentemente referida como "efeito *entourage*", sugere que a combinação total desses elementos pode potencializar os efeitos terapêuticos da planta, tornando-a ainda mais valiosa para aplicações medicinais (Almeida *et al.*, 2024; Simeï *et al.*, 2024).

**Figura 7. Esquema das vias biossintéticas de diversos fitocanabinoides.** O deslocamento de precursores é indicado por setas pontilhadas, enquanto as reações catalíticas diretas são mostradas por setas em negrito. Legenda: IPP= isopentenil pirofosfato; DMAPP= dimetilalil pirofosfato; FPP= farnesil pirofosfato; GPP= geranil pirofosfato.



Fonte: Andre *et al.*, 2016.

## 2.4 Ferramentas Computacionais na Elucidação de Interações Proteína-Ligante

A compreensão estrutural de proteínas é essencial para a elucidação dos mecanismos de interação molecular, estabilidade conformacional e especificidade funcional. Esses conhecimentos têm impulsionado avanços significativos em áreas como biomedicina e engenharia de biomoléculas (Alberts *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2022). Entre as abordagens mais utilizadas para obtenção de estruturas proteicas está a modelagem por homologia, uma técnica baseada na similaridade de sequência entre a proteína-alvo e proteínas homólogas com estruturas tridimensionais já determinadas experimentalmente (Waterhouse *et al.*, 2024). Essa estratégia é particularmente relevante em contextos onde não há estruturas disponíveis por métodos experimentais, sendo amplamente aplicada no desenvolvimento racional de fármacos e terapias direcionadas (Duran-Frigola *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2015).

No campo da Bioinformática Estrutural, técnicas como o *Structure-Based Virtual Screening* (SBVS), também conhecidas como *docking* molecular, permitem simular a interação entre ligantes – como pequenas moléculas bioativas – e alvos biomoleculares, como proteínas. Essa abordagem busca prever as poses de ligação mais favoráveis energeticamente e estimar a afinidade entre os componentes. O SBVS é amplamente utilizado na triagem de compostos com

potencial terapêutico e na otimização racional de ligantes (Rodrigues *et al.*, 2012; Cavasotto, 2017; Mizera *et al.*, 2020).

Além das interações entre proteínas e ligantes, fatores relacionados à membrana também exercem um papel crucial na atividade funcional dos receptores acoplados à G, como o CB1 (Sarkar *et al.*, 2017). Dentre esses fatores, fosfolipídios e o colesterol destacam-se como moduladores-chave da dinâmica e da função desses receptores, influenciando seu comportamento em diferentes microambientes da membrana plasmática (Sejdiu & Tieleman, 2020; Laurella *et al.*, 2023; Deganutti *et al.*, 2025). Nesse contexto, simulações de dinâmica molecular (DM) tornam-se ferramentas indispensáveis para a investigação de interações mecanicistas relevantes, especialmente aquelas que envolvem a alta dinâmica dos GPCRs e sua interação com lipídios-chave. Tais abordagens fornecem *insights* fundamentais que contribuem para a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na atividade de receptores como o CB1, auxiliando diretamente na identificação de novos alvos e no desenvolvimento de fármacos mais específicos e eficazes (Hurst *et al.*, 2019; Zou *et al.*, 2019; Lee *et al.*, 2020).

### 3. JUSTIFICATIVA

Com o aumento do interesse na criação de papagaios do gênero *Amazona*, especialmente da espécie *A. aestiva*, como animais de estimação, tem-se observado um crescimento expressivo na incidência de distúrbios neuropsiquiátricos nessas aves. Tais condições estão frequentemente associadas à carência de estímulos cognitivos adequados, que são essenciais para a manutenção da saúde mental (Herrera & Hennessey, 2007; Lopes *et al.*, 2018). A ausência de enriquecimento ambiental adequado pode levar ao desenvolvimento de estresse e comportamentos anormais, como a automutilação, comprometendo seriamente o bem-estar dos animais (Grespan & Raso, 2014; Marietto-Gonçalves, 2016). Além disso, estudos recentes apontam que *A. aestiva* apresenta uma vulnerabilidade aumentada ao estresse inflamatório, atribuída, em grande parte, à perda funcional do receptor canabinoide CB2, um elemento-chave na modulação de processos inflamatórios e infecciosos (Dívin *et al.*, 2022).

Dessa forma, a investigação da modulação do receptor CB1, funcional em psitacídeos, configura-se como uma abordagem promissora para o desenvolvimento de terapias adjuvantes voltadas à restauração do equilíbrio orgânico e à mitigação dos efeitos do estresse, especialmente em aves de cativeiro. Tal estratégia visa promover uma melhor qualidade de vida para esses animais (Grespan & Raso, 2014; Di Salvo *et al.*, 2024). Em espécies como *Amazona*

*amazonica* (Linnaeus, 1766) e *Amazona ventralis* (Müller, 1776), já foram descritos perfis farmacocinéticos favoráveis para o uso de fitocanabinoides, especialmente com o emprego de extratos isolados de canabidiol (CBD) (Carpenter *et al.*, 2022) e de extratos de espectro completo, ricos em CBD e ácido canabidiólico (CBDA), contendo menores concentrações de  $\Delta^9$ -tetrahidrocanabinol ( $\Delta^9$ -THC) e outros fitocanabinoides (Sosa-Higareda *et al.*, 2023). Esses achados reforçam a necessidade de aprofundar as pesquisas sobre o uso terapêutico da *Cannabis* em psitacídeos, com ênfase na identificação de compostos bioativos seletivos para o receptor CB1 no papagaio-verdadeiro, além de contribuir para a consolidação de sua aplicabilidade na medicina veterinária (Ritter *et al.*, 2020; Hazzah *et al.*, 2020).

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Geral**

- Realizar modelagem molecular do receptor canabinoide tipo-1 (CB1) do papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*), investigando as acessibilidades transmembrana e interações proteína-ligante, com foco em 567 metabólitos secundários e um canabinoide sintético de referência.

### **4.2 Específicos**

- Determinar a estrutura tridimensional (3D) do receptor canabinoide do papagaio-verdadeiro, com base em sua sequência de aminoácidos;
- Validar a estrutura 3D obtida, realizando uma comparação com uma proteína homóloga cuja estrutura foi resolvida experimentalmente;
- Simular a membrana plasmática com o receptor inserido em um modelo lipídico enriquecido, visando alcançar sua conformação mais estável;
- Reunir, filtrar e organizar um banco de dados de metabólitos secundários conhecidos da planta *Cannabis sativa* L.;
- Avaliar a afinidade de fitocanabinoides pelo sítio ortostérico do receptor CB1 de *A. aestiva*, com ênfase na espontaneidade do reconhecimento molecular, na acessibilidade estérica ao sítio de ligação e na estabilidade das interações proteína-ligante.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 MATERIAIS

#### 5.1.1 Processamento de Dados e Ferramentas

A construção e parametrização dos modelos da proteína receptora, dos componentes de membrana e dos ligantes fitocanabinoides, foram realizadas com o auxílio de diversas ferramentas, bancos de dados e pacotes de *software*, detalhados a seguir. As etapas que demandaram menor capacidade computacional foram conduzidas em um notebook Lenovo® Ideapad S145, equipado com processador Intel® Core i5-8265U, 8 GB de memória RAM, placa de vídeo NVIDIA GeForce MX110 e sistema operacional *Windows* 10. Para os cálculos mais intensivos, especialmente as simulações de dinâmica molecular, utilizou-se o ambiente de processamento *Lovelace* – um sistema de alto desempenho composto por CPUs AMD EPYC 7662 e GPUs NVIDIA Tesla A100 – acessado por meio do *Windows Subsystem for Linux* (WSL) e do protocolo *Secure Shell* (SSH). O *Lovelace* possui capacidade teórica de processamento de 268 TFLOPs nas CPUs e 97 TFLOPs nas GPUs, sendo disponibilizado pelo Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho (CENAPAD) de São Paulo (cenapad.unicamp.br/30anos/).

- **BIOVIA *Discovery Studio Visualizer* – versão 24.1.0.23298**, desenvolvido pela *Dassault Systèmes* (EUA), o *Discovery Studio Visualizer* é um *software* avançado para visualização e análise de estruturas biomoleculares, permitindo a criação de diagramas 2D, a investigação das interações entre proteínas e ligantes, e a interpretação detalhada de dados estruturais (Dassault Systèmes, 2023).
- ***Cannabis Compound Database* – versão 1.0** (cannabisdatabase.ca), um banco de dados eletrônico disponível gratuitamente, lançado em 24 de junho de 2020 pelo Grupo de Pesquisa Wishart da *University of Alberta*, com apoio do *Canadian Institutes of Health Research*, *Canada Foundation for Innovation* e *The Metabolomics Innovation Centre*. Neste banco, contém informações detalhadas sobre pequenas moléculas encontradas em *C. sativa*, *C. indica* e híbridos de *Cannabis* (Wishart *et al.*, dados não publicados).
- **CHARMM-GUI *Membrane Builder*** (*Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics – Graphical User Interface*, *Lehigh University*, EUA), plataforma gráfica amplamente empregada na construção de modelos de membranas plasmáticas e na preparação de entradas para simulações de dinâmica molecular, sendo essencial para a modelagem e análise de sistemas complexos (Kern *et al.*, 2023).

- **UCSF ChimeraX – versão 1.8**, desenvolvido pela *Resource for Biocomputing, Visualization, and Informatics* (EUA), pacote de *software* amplamente utilizado para visualização, análise e manipulação de estruturas biomoleculares, incluindo modelos de membranas plasmáticas e outras macromoléculas (Goddard *et al.*, 2018).
- **SWISS-MODEL e Structure Assessment** (*University of Basel, Switzerland*): Desenvolvidos pelo *Swiss Institute of Bioinformatics* (SIB), o SWISS-MODEL é uma plataforma para modelagem molecular disponível em: <https://swissmodel.expasy.org/>. Por outro lado, o *Structure Assessment*, disponível em: <https://swissmodel.expasy.org/assess>; oferece ferramentas para avaliar a qualidade estrutural de modelos proteicos, utilizando métricas como a análise do Diagrama de Ramachandran, essenciais na criação e validação de modelos tridimensionais de proteínas (Ramachandran *et al.*, 1963; Waterhouse *et al.*, 2018; Waterhouse *et al.*, 2024).
- **GOLD – versão 2024.1.0** (*Genetic Optimisation for Ligand Docking, Cambridge Crystallographic Data Centre*, EUA): O GOLD é um algoritmo genético utilizado na triagem virtual de ligantes flexíveis. Desenvolvido pelo Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC), ele permite a realização de estudos de *docking* molecular com precisão, sendo uma ferramenta essencial em projetos de descoberta de fármacos e na análise de interações proteína-ligante (Jones *et al.*, 1997);
- **GROMACS – versão 2024.3** (*GROningen MACHine for Chemical Simulations, GROMACS Development Team, University of Groningen, Netherlands*): ferramenta amplamente utilizada para cálculos de dinâmica molecular, especialmente em simulações envolvendo interações entre macromoléculas e pequenos ligantes (Abraham *et al.*, 2015);
- **KNIME – versão 5.2.3**: plataforma de análise de dados *open-source*, especialmente utilizada para mineração de dados e otimização de substâncias fitoquímicas. Desenvolvido pela *Konstanz University*, é uma ferramenta importante para análises de grandes volumes de dados químicos e biológicos, possibilitando a integração de diversos algoritmos e metodologias para análise e previsão de propriedades de compostos bioativos (Berthold *et al.*, 2009);
- **MEGA X – versão 11** (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis, MEGA Development Team, Arizona State University, USA*): *Software* amplamente utilizado para análise filogenética e evolução molecular, incluindo ferramentas avançadas para

alinhamento múltiplo de sequências. O MEGA X integra o ClustalW, um dos algoritmos mais confiáveis e utilizados para alinhamento de sequências (Kumar *et al.*, 2018);

- **Marvin JS – versão 25.3.0**, desenvolvido pela *ChemAxon Ltd.* (EUA), plataforma *web* amplamente utilizada para ler entradas no formato SMILES e gerar estruturas 2D de substâncias (Chemaxon, 2024).
- **PyMOL – versão 3.1**: Desenvolvido originalmente por Warren Delano e atualmente mantido pela Schrödinger, o PyMOL é uma ferramenta amplamente utilizada para visualização e manipulação de estruturas moleculares tridimensionais. Disponível em: <https://pymol.org>, o *software* permite a geração de imagens de alta qualidade, análises estruturais e a preparação de figuras científicas, sendo essencial em estudos de biologia estrutural, modelagem molecular e *docking* (Delano, 2002).
- **UCLA-DOE LAB/ SAVES – versão 6.1**: servidor amplamente usado para validar modelos estruturais, integrando ferramentas como o *PROCHECK*, que avalia a qualidade de proteínas derivadas de modelagem computacional ou métodos experimentais (Laskowski *et al.*, 1993).
- **XMGrace – versão 5.1.25**: Desenvolvido pela *Grace Development Team* (EUA), o *Grace* é um *software* de código aberto amplamente utilizado para a análise visual detalhada de dados quantitativos obtidos em simulações e experimentos computacionais. Ele é essencial para a interpretação e comunicação dos resultados em estudos biofísicos (Turner, 2005).

## 5.2 MÉTODOS

### 5.2.1 Sequência Primária do Receptor CB1

A estrutura primária de uma proteína é o nível estrutural mais básico e fundamental para entender sua função biológica, uma vez que é a sequência de aminoácidos que determina o arranjo espacial dos átomos e, por conseguinte, a forma tridimensional da proteína (Alberts *et al.*, 2013; Docampo-Palcios *et al.*, 2024). Sendo assim, análise teve como foco principal investigar os aspectos funcionais do receptor CB1 de *A. aestiva*. A pesquisa da sequência foi realizada no GenBank, utilizando os termos “cannabinoid receptor amazona aestiva”, com a opção “all databases”. A estrutura selecionada (cannabinoid receptor 1 isoform X1 [Amazona aestiva]), composta por 563 aminoácidos, está disponível no GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/944214137](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/944214137)) sob código KQK80706.1. Essa sequência, foi

publicada em 30 de outubro de 2015 por Wirthlin e colaboradores, como parte do sequenciamento do genoma de um macho adulto da espécie *A. aestiva* (Wirthlin *et al.*, 2018).

### 5.2.2 Alinhamento Múltiplo de Sequências

A busca por sequências homólogas do receptor CB1 do papagaio-verdadeiro foi realizada no banco de dados GenBank, utilizando a ferramenta BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) integrada ao NCBI. Para identificar estruturas mais próximas à isoforma de CB1 em estudo, foi adotado um critério de exclusão, restringindo a busca a organismos da Ordem *Psittaciformes* (taxid: 9223) e utilizando a opção "blastp" para pesquisar exclusivamente proteínas. Assim, foram recuperadas as nove sequências mais bem pontuadas, com base em demais critérios como cobertura, identidade, similaridade e significância estatística (*e-value*).

Além das nove sequências separadas no BLAST, foram incluídas: (i) a sequência-alvo GenBank: KQK80706.1 e (ii) duas sequências-chave para o modelo estudado: a) “CNR1 protein, partial (*Crypturellus soui*)”, GenBank: NWI18239.1, por apresentar a melhor pontuação de similaridade com a proteína-alvo; e b) “cannabinoid receptor 1 (*Homo sapiens*)”, GenBank: KAI4019111.1, cuja sequência tem como origem o CB1 humano, proteína resolvida experimentalmente utilizada para validação do modelo e análise subsequente de SBVS. Por fim, as 12 sequências em formato FASTA foram depositadas no *software* MEGA 11, onde foram submetidas a alinhamento múltiplo e comparação, visando identificar possíveis correspondências de aminoácidos na estrutura original.

### 5.2.3 Modelagem por Homologia e Validação do Modelo

Para a determinação da estrutura tridimensional, a sequência primária foi submetida à plataforma *web* de modelagem comparativa SWISS-MODEL 2.2.3 (swissmodel.expasy.org). A modelagem foi realizada por homologia, utilizando o alinhamento da sequência alvo com *templates* de referência, disponibilizados pelo SWISS-MODEL. A busca pelos *templates* considerou as maiores taxas de cobertura, identidade e similaridade de sequência, parâmetros essenciais para assegurar a confiabilidade do modelo computacional da proteína (Waterhouse *et al.*, 2018).

Para a validação global do modelo, foram empregadas métricas estatísticas e geométricas utilizando ferramentas reconhecidas na área de biologia estrutural. Dentre elas,

destaca-se o *PROCHECK*, disponibilizado pelo UCLA-DOE LAB – SAVES v6.1 (<https://saves.mbi.ucla.edu/>); além do módulo *Structure Assessment* do SWISS-MODEL ([swissmodel.expasy.org/assess](https://swissmodel.expasy.org/assess)). Uma das análises mais relevantes realizadas foi a dos Diagramas de Ramachandran (Ramachandran *et al.*, 1963), que avaliam a conformação dos ângulos diedros  $\phi$  (phi) e  $\psi$  (psi) das cadeias polipeptídicas. Para modelos de alta qualidade, espera-se que mais de 90% dos resíduos estejam localizados nas regiões mais favoráveis do diagrama, o que indica conformação geométrica consistente com padrões observados em proteínas de alta resolução (Shao *et al.*, 2019; Zou *et al.*, 2019).

Além disso, foram analisados o GMQE (*Global Model Quality Estimation*) e o IDDT (*Local Distance Difference Test*), métricas amplamente reconhecidas para avaliação quantitativa de modelos proteicos. O GMQE combina parâmetros estruturais e energéticos para estimar a confiabilidade do modelo, sendo esperado que valores acima de 0,6 indiquem alta precisão estrutural (Waterhouse *et al.*, 2024). Já o IDDT avalia a consistência das distâncias locais entre átomos do modelo em comparação com padrões observados ou previstos em estruturas de referência. Valores superiores a 80% para o IDDT são considerados satisfatórios, refletindo a precisão das interações de curto alcance e a conformação local da proteína. A análise do IDDT é frequentemente realizada em conjunto com o QMEANDisCo Global, que oferece uma métrica integrada para a qualidade do modelo em uma escala de 0 a 1. Valores mais altos de IDDT e QMEANDisCo indicam maior conformidade estrutural e confiança na precisão geral do modelo (Waterhouse *et al.*, 2018; Studer *et al.*, 2020).

#### 5.2.4 Construção e Equilíbrio do Sistema de Simulação

Estudos anteriores demonstraram que a assimetria da bicamada lipídica desempenha um papel importante na regulação e atividade dos receptores canabinoides, destacando-se a contribuição de fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilcolina (PC) e colesterol nesse processo (Sarkar *et al.*, 2017; Sejdiu & Tieleman, 2020; Laurella *et al.*, 2023). Com base nessas evidências, foi adotado neste estudo um modelo de bicamada lipídica assimétrica, composto por 1,2-didocosahexaenoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DDoPC), um tipo de fosfatidilcolina poli-insaturada com ácido docosa-hexaenoico (22:6), no folheto superior, e por 1,2-didocosahexaenoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DDoPE), também contendo ácido graxo 22:6, no folheto inferior, ambos associados ao colesterol (Alberts *et al.*, 2013; Sejdiu & Tieleman, 2020). Esses lipídios são análogos aos ácidos graxos das famílias n-3 e n-6,

reconhecidamente abundantes no tecido neural de psitacídeos (Turner *et al.*, 2005; Hulbert *et al.*, 2010; Montgomery *et al.*, 2012), conferindo maior representatividade biológica ao modelo de membrana utilizado.

O modelo foi construído na plataforma CHARMM-GUI, utilizando o campo de força CHARMM36m, amplamente empregado em estudos de dobramento proteico e modelagem de sistemas multicomponentes e complexos CB1-lipídio (Huang *et al.*, 2016; Isu *et al.*, 2024). O pH do sistema foi ajustado para 7,4, valor aproximado descrito para *A. aestiva* (Paula *et al.*, 2008), assegurando condições compatíveis com o ambiente biológico do receptor. Além disso, para refletir a funcionalidade nativa de receptores acoplados à proteína G, foram incorporadas modificações pós-traducionais discutidas por Jakubik e El-Fakahany (2021), incluindo a N-glicosilação da asparagina 1, com um oligossacarídeo composto por N-acetil-D-glicosamina, nove resíduos de D-manose e três de D-glicose, e a S-palmitoilação da cisteína 315, mediante adição de ácido palmítico. Essas modificações visaram reforçar a ancoragem do receptor à membrana, promovendo sua estabilização estrutural ao longo das simulações. Detalhes adicionais sobre a construção do sistema encontram-se no **Apêndice B**.

### 5.2.5 Dinâmica Molecular

As simulações moleculares foram conduzidas seguindo um protocolo multietapas, com o objetivo de assegurar a estabilização do sistema e a obtenção de parâmetros termodinâmicos robustos. Inicialmente, o sistema foi submetido à minimização de energia (método da descida mais íngreme) e, posteriormente, a fases de equilíbrio sob os conjuntos NVT (número de partículas  $N$ , volume  $V$  e temperatura  $T$ ) e NPT (número de partículas  $N$ , volume  $V$  e temperatura  $T$ ), cada um com duração de cinco nanossegundos (ns). O controle de temperatura foi conduzido com o termostato V-rescale no *ensemble* NVT e com o termostato de Nosé-Hoover no *ensemble* NPT, assegurando estabilidade térmica durante a equilibração (Bussi *et al.*, 2007; Nosé, 1984; Hoover, 1985). A temperatura foi mantida constante em 315 K, com tempo de acoplamento de 0,5 ps nas fases de equilíbrio e 2,0 ps na produção, refletindo a fisiologia de *A. aestiva* (Greenacre & Lusby, 2004; Paula *et al.*, 2008).

O controle de pressão foi realizado com o barostato de Parrinello-Rahman, um método determinístico que permite variações anisotrópicas de volume com base no formalismo hamiltoniano estendido, sendo aplicado durante o *ensemble* NPT e na simulação de produção (Parrinello & Rahman, 1981; Kim *et al.*, 2023). A pressão foi mantida em 1 bar, com constante

de acoplamento de 5,0 ps na fase de equilibração e 2,0 ps na fase de produção, utilizando acoplamento semi-isotrópico para permitir flutuações independentes nos planos da membrana e no eixo perpendicular. A compressibilidade foi fixada em  $4,5 \times 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$ , valor amplamente utilizado em simulações de sistemas heterogêneos compostos por fases aquosas e lipídicas (Sarkar *et al.*, 2017; Dutagaci *et al.*, 2018).

Nesta etapa da DM, a simulação foi conduzida por 500 ns sob condições de contorno periódicas (PBC – Periodic Boundary Conditions), que permitem reproduzir um ambiente contínuo e homogêneo, minimizando os efeitos de borda ao longo da trajetória simulada (Jung *et al.*, 2018). Após a simulação, as PBC foram removidas das trajetórias a fim de corrigir eventuais quebras de moléculas entre as caixas periódicas, prevenindo a ocorrência de artefatos nas análises estruturais subsequentes. Em seguida, as métricas de desvio quadrático médio (RMSD – *Root Mean Square Deviation*) e desvio quadrático médio por flutuação (RMSF – *Root Mean Square Fluctuation*) foram aplicadas para avaliar, respectivamente, a estabilidade conformacional e a flexibilidade estrutural da proteína ao longo do tempo simulado (Isu *et al.*, 2024).

Todas as etapas foram realizadas utilizando o pacote GROMACS 2024.3 (Abraham *et al.*, 2015), um pacote de software amplamente utilizado para simular sistemas de membrana acoplada à pressão, com processamento paralelo distribuído no supercomputador *Lovelace*. Durante as fases de equilíbrio e produção, foram utilizados 16 e 128 núcleos de CPU, respectivamente, com ajustes automáticos de desempenho (nstenergy = 100, nstlist = 80, rlist = 1,3, nstcomm = 100), visando à otimização do custo computacional e ao controle eficiente dos parâmetros de vizinhança, fundamentais para a estabilidade da simulação (Kim *et al.*, 2023).

#### 5.2.6 Otimização de Pequenas Moléculas

O banco de dados principal utilizado para os metabólitos secundários avaliados no *docking* foi o *Cannabis Compound Database* (cannabisdatabase.ca, acesso em 24 jun. 2024), uma plataforma que integra informações estruturais, funcionais e espectrais de compostos isolados a partir de 115 cultivares de *C. sativa*. Além de informações químicas detalhadas, o *Cannabis Compound Database* também contempla dados relacionados a vias de sinalização e possíveis alvos moleculares (Wishart *et al.*, dados não publicados). As substâncias estão organizadas em classes químicas, incluindo canabinoides, terpenos, polifenóis, ésteres, além de metabólitos primários e secundários. A caracterização dos compostos foi realizada por técnicas

analíticas consagradas, como espectrometria de massas em tandem (MS/MS), cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) e ressonância magnética nuclear (RMN), com os respectivos espectros disponíveis para consulta e *download*.

Com o objetivo de excluir compostos endógenos primários ou irrelevantes ao escopo do estudo, foram selecionados apenas metabólitos secundários pertencentes às classes de canabinoides, terpenos e polifenóis no banco de dados. A curadoria e o processamento dessas substâncias foram realizados na plataforma KNIME 5.2.3, amplamente utilizada na análise de bibliotecas químicas, o que permitiu a execução automatizada de etapas como remoção de duplicatas, exclusão de sais, adição de hidrogênios, padronização de cargas e conversão dos ligantes para o formato tridimensional (Berthold *et al.*, 2019).

Por fim, com o intuito de ampliar a representatividade dos fitocannabinoides descritos na literatura, foram incorporados 48 substâncias suplementares à base inicial já otimizada. Dentre elas, quatro: “(-)-7R-cannabichromane”, “(-)-7-hydroxycannabichromane”, “(±)-4-acetoxycannabichromene” e “(±)-3"-hydroxy-Δ(4",5")-cannabichromene”, foram desenhadas manualmente utilizando a ferramenta MarvinJS (marvinjs-demo.chemaxon.com/latest/demo.html, acesso em 13 dez. 2024), com base em Radwan *et al.* (2009) e Lewis *et al.* (2017). Os demais compostos foram obtidos a partir de outros bancos de dados públicos, sendo 35 provenientes do *PubChem* (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov, acesso em 28 set. 2024) e 9 do *CHEMBL* (ebi.ac.uk/chembl/, acesso em 29 set. 2024) tendo como referência a literatura vigente (ElSohly *et al.*, 2017; Radwan *et al.*, 2021; Stryker *et al.*, 2025).

### 5.2.7 Etapas de Preparação Estrutural Pré-Triagem Virtual

Para a definição precisa do sítio de acoplamento e validação do protocolo de docking molecular, foi empregado o modelo estrutural do receptor canabinoide tipo 1 humano, descrito por Shao e colaboradores (2019). A estrutura tridimensional, obtida por criomicroscopia eletrônica (Cryo-EM) com resolução de 3,36 Å, foi acessada no *Protein Data Bank* (PDB ID: 7WV9). A estrutura analisada compreende as três subunidades da proteína G (i. e. Gα, Gβ e Gγ) associadas à cadeia ‘D [auth R]’, correspondente ao receptor-alvo, em complexo com os ligantes ZCZ011 e CP55,940. O ligante ZCZ011 encontra-se acomodado em um sítio alostérico localizado entre as hélices transmembrana TM2 e TM4, enquanto o CP55,940 ocupa o sítio ortostérico (ou canônico) no interior do domínio transmembrana do receptor (Shao *et al.*, 2019). O posicionamento do CP55,940 (**Apêndice C**) foi utilizado como referência estrutural para

delimitar o sítio ativo e orientar a análise das poses de ligação dos compostos testados. Além disso, o ligante foi incluído no *ranking* de triagem, servindo como controle positivo e parâmetro comparativo para a avaliação da afinidade e orientação dos fármacos candidatos.

A preparação da estrutura incluiu a remoção dos ligantes, adição de átomos de hidrogênio e ajuste das cargas parciais. O algoritmo genético GOLD 2024.1.0, amplamente reconhecido por sua acurácia na predição de interações receptor-ligante com base em funções de energia e flexibilidade conformacional (Jones *et al.*, 1997), foi selecionado para a triagem virtual.

### 5.2.8 *Redocking* e Triagem Virtual Baseada na Estrutura (SBVS)

Para a definição dos parâmetros ideais de *docking* molecular, foi conduzida uma etapa de *redocking* utilizando o receptor CB1 humano e o ligante CP55,940 como referência (Shao *et al.*, 2019). Diferentes combinações de funções de pontuação e reavaliação (rescore) foram testadas no algoritmo genético GOLD, incluindo ChemScore, GoldScore, CHEMPLP e ASP (Astex Statistical Potential). Cada função foi aplicada utilizando raios de busca entre 6 Å e 16 Å, com o objetivo de reproduzir com precisão a pose cristalográfica do ligante no sítio ativo, visando à validação do modelo de *docking*.

Com base na combinação de função de escore e raio de busca que melhor reproduziu a orientação experimental do ligante controle CP55,940, foi realizada a triagem virtual de 567 fitocanabinoides, incluindo o próprio CP55,940 como controle positivo. As interações moleculares foram avaliadas no sítio ativo (ortostérico), delimitado por um raio de 10 Å, e visualizadas por meio de diagramas bidimensionais gerados no BIOVIA Discovery Studio (versão 24.1.0.23298). A triagem utilizou as funções de escore ChemScore e ASP, previamente validadas durante o *redocking*. A função ChemScore também foi empregada para estimar as variações da energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ), parâmetro indicativo de afinidade e espontaneidade de ligação (Bissantz *et al.*, 2010; Christ *et al.*, 2010). As interações correspondentes à melhor pose redocada do CP55,940 foram analisadas em detalhe no BIOVIA Discovery Studio e visualizadas em PyMOL (versão 3.1).

## 6.1 Análise do Alinhamento Múltiplo

As nove sequências recuperadas em formato FASTA foram analisadas junto às sequências do receptor CB1 do papagaio-verdadeiro (GenBank: KQK80706.1), humano (GenBank: KAI4019111.1) e do tururim (GenBank: NWI18239.1), totalizando 12 sequências. O alinhamento múltiplo (**Figura 8**) revelou uma lacuna na estrutura-alvo (X), sugerindo o aminoácido histidina (His-H) como possível correspondente.

| Species/Abbrev                                         | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--------------------------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. KQK80706.1 CNR1 protein Amazona aestiva             | I | I | Y | A | L | R | S | K | D | L | R | X | A | F | R | S | M | F | P | T | C | E | G | T | A | Q | P | L | D | N | S |
| 2. XP_061225753.1 CNR1 protein Neopsephotus bourkii    | I | I | Y | A | L | R | S | K | D | L | R | H | A | F | R | S | M | F | P | T | C | E | G | T | A | Q | P | L | D | N | S |
| 3. XP_065537334.1 CNR1 protein Lathamus discolor       | I | I | Y | A | L | R | S | K | D | L | R | H | A | F | R | S | M | F | P | T | C | E | G | T | A | Q | P | L | D | N | S |
| 4. XP_057275960.1 CNR1 protein Pezoporos wallicus      | I | I | Y | A | L | R | S | K | D | L | R | H | A | F | R | S | M | F | P | T | C | E | G | T | A | Q | P | L | D | N | S |
| 5. XP_030346217.1 CNR1 protein Strigops habroptilus    | I | I | Y | A | L | R | S | K | D | L | R | H | A | F | R | S | M | F | P | T | C | E | G | T | A | Q | P | L | D | N | S |
| 6. NXK80074.1 CNR1 protein Amazona guildingii          | I | I | Y | A | L | R | S | K | D | L | R | H | A | F | R | S | M | F | P | T | C | E | G | T | A | Q | P | L | D | N | S |
| 7. NWS38692.1 CNR1 protein Probosciger aterrimus       | I | I | Y | A | L | R | S | K | D | L | R | H | A | F | R | S | M | F | P | T | C | E | G | T | A | Q | P | L | D | N | S |
| 8. XP_030908548.1 CNR1 protein Melopsittacus undulatus | I | I | Y | A | L | R | S | K | D | L | R | H | A | F | R | S | M | F | P | T | C | E | G | T | A | Q | P | L | D | N | S |
| 9. XP_010011031.1 CNR1 protein Nestor notabilis        | I | I | Y | A | L | R | S | K | D | L | R | H | A | F | R | S | M | F | P | T | C | E | G | T | A | Q | P | L | D | N | S |
| 10. NXD67602.1 CNR1 protein Eolophus roseicapilla      | I | I | Y | A | L | R | S | K | D | L | R | H | A | F | R | S | M | F | P | T | C | E | G | T | A | Q | P | L | D | N | S |
| 11. KA14019111.1 CNR1 protein Homo sapiens             | I | I | Y | A | L | R | S | K | D | L | R | H | A | F | R | S | M | F | P | S | C | E | G | T | A | Q | P | L | D | N | S |
| 12. NW118239.1 CNR1 protein Crypturellus soui          | I | I | Y | A | L | R | S | K | D | L | R | H | A | F | R | S | M | F | P | S | C | E | G | A | A | Q | P | L | D | N | S |

## 6.2 Ajuste na Estrutura Primária e Resultados da Modelagem Comparativa

A construção do modelo 3D considerou dois fatores principais: (i) minimizar a variabilidade estrutural para reduzir os custos computacionais e (ii) resolver a lacuna (X) da sequência-alvo. A ênfase foi dada à região central do receptor, com foco nos domínios transmembrana (de TM1 a H8) e nos motivos de atividade molecular bem documentados nessas regiões do receptor CB1 (Shao *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2019). Como resultado, a estrutura original foi ajustada, com a remoção de 164 resíduos da região N-terminal e 84 da região C-terminal. Essa edição foi essencial para melhorar a qualidade do modelo, concentrando-se nas áreas mais relevantes para a função do receptor (Wu *et al.*, 2022). O arranjo de aminoácidos do receptor CB1 do papagaio-verdadeiro, foi colorido conforme suas características estruturais: básicos em vermelho, ácidos em laranja, hidrofóbicos em azul e polares em rosa.

> Sequência primária: receptor canabinoide tipo-1 (315 aminoácidos) [*Amazona aestiva*]

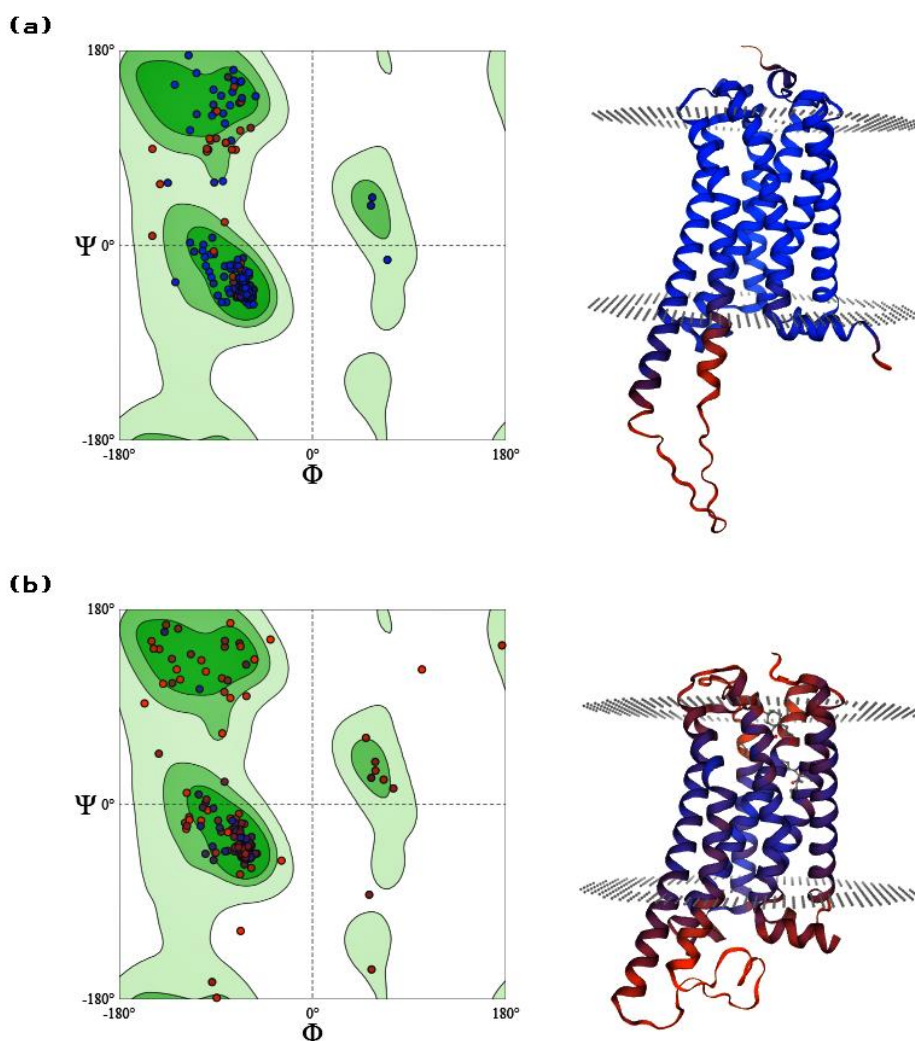
NFMDMECFMILNPSQQLAIAVLSLTLTGFTVLENLLVLCVILHSRSLRCRPSYHFIGSL  
AVADLLGSVIFVYSFVDFHVFHRKDSPNVFLFKLGGVTASFTASVGSFLTAIDRYISI  
HRPLAYKRIVTRPKAVVAFCVMWTIAIVIAVLPLLGNCKKLNSVCSDFPLIDETYL  
MFWIGVTSVLLLFIVYAYMYILWKAHSHAVRMIQRGTQKSIIHSTEDGKVQITRPDQ  
TRMDIRLAKTLVLILVLIICWGPLLAMVYDVFGKMNKLIKTVFAFCSMCLLNSTV  
NPIIYALRSKDLRHAFRSMFPTC

A sequência primária foi carregada no SWISS-MODEL, plataforma que gera modelos 3D a partir de sequências proteicas (Waterhouse *et al.*, 2018). Foram disponibilizados 50 *templates*: 49 com base em dados experimentais (29 por cristalografia de raios-X e 20 por criomicroscopia eletrônica) e um do AlphaFoldDB, que utiliza o algoritmo AlphaFold2, conhecido por sua alta precisão (Bertoline *et al.*, 2023). Esse tipo de modelagem tem sido essencial para explorar grandes volumes de dados proteicos e impulsionar o desenvolvimento racional de fármacos (Duran-Frigola *et al.*, 2013; Jumper *et al.*, 2021; Dorn *et al.*, 2014). O modelo do AlphaFoldDB (código A0A7K4KPW6\_9AVES, gene: CNR1, organismo: *Crypturellus soui*, ou tururim) foi selecionado como *template* principal por apresentar 99,05% de identidade com a sequência-alvo e um valor GMQE de 0,87, indicando alta confiabilidade para a modelagem estrutural.

Para fins de comparação e validação, utilizou-se a proteína de referência (PDB: 7WV9) como *template* adicional, permitindo modelar uma estrutura complementar e aprofundar a análise do modelo predito. A avaliação estereoquímica pelo PROCHECK (Laskowski *et al.*, 1993) indicou melhor desempenho do modelo baseado em aprendizado de máquina: 93,1% dos

resíduos estavam em regiões mais favoráveis, 6,6% em regiões favoráveis, 0,3% em regiões permitidas e nenhum em regiões desfavoráveis. Em contraste, o modelo baseado no CB1 humano experimental apresentou 92,9%, 6,0%, 0,4% e 0,7%, respectivamente. Além disso, o modelo experimental omitiu sete resíduos da sequência de 315 aminoácidos, enquanto o modelo predito incluiu todos. A análise QMEANDisCo Global reforçou a superioridade do modelo gerado por IA, com  $\text{IDDT} = 0,70 \pm 0,05$ , frente ao valor de  $0,66 \pm 0,05$  do modelo experimental. A **Figura 9** ilustra a comparação entre as estruturas, destacando os resíduos nos gráficos de Ramachandran e a coloração por IDDT. Esses resultados evidenciam a alta precisão do AlphaFold2 na modelagem estrutural, comparável a métodos experimentais, como discutido na literatura (Dorn *et al.*, 2014; Jumper *et al.*, 2021; Bertoline *et al.*, 2023).

**Figura 9. Validação estrutural do modelo computacional de CB1.** Legenda: (a) Modelo gerado por inteligência artificial; (b) modelo baseado em estrutura experimental (Cryo-EM), ambos coloridos conforme os valores preditos de IDDT. No modelo baseado de Cryo-EM (b), observa-se o ligante CP55,940 no sítio ortostérico e o ZCZ011 em um dos sítios alostéricos (mais detalhes no **Apêndice C**). As malhas de membrana foram adicionadas via banco OPM (*Orientations of Protein in Membranes*), integrado ao SWISS-MODEL.

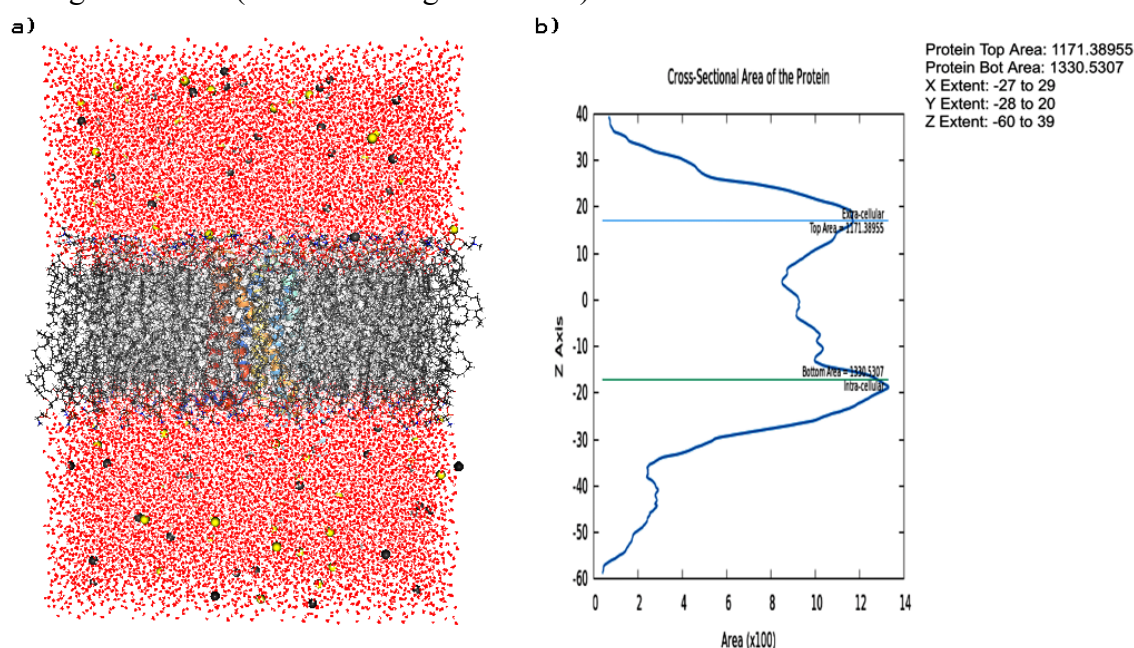


Fonte: Elaborada no *Structure Assessment*.

### 6.3 Preparação e Caracterização do Ambiente de Simulação

O número de lipídios necessário para preencher a célula de simulação foi determinado dividindo-se a área disponível pela área média ocupada por cada molécula, resultando em 128 fosfolipídios DDoPC na camada superior e 140 fosfolipídios de DDoPE na inferior. A **Figura 10** apresenta a montagem da bicamada lipídica obtida por meio do CHARMM-GUI, cuja eficiência e precisão dos algoritmos foram fundamentais para a construção do sistema (Kern *et al.*, 2023). Na direção z (perpendicular ao plano da membrana), a caixa de simulação foi expandida para além das posições extremas dos átomos da proteína, assegurando aproximadamente 22 Å de espaço no folheto superior e 42 Å no inferior (b, Figura 10), este último devido à presença da alça de ligação à proteína G entre as hélices TM5 e TM6 (Isu *et al.*, 2024). Além da proteína e dos lipídios, o sistema foi solvatado com 100.242 moléculas de água do tipo TIP3P, compatível com o campo de força CHARMM36m (Huang *et al.*, 2016). Também foram adicionados 92 íons sódio (Na<sup>+</sup>) e 106 íons cloreto (Cl<sup>-</sup>) para garantir a neutralidade elétrica e uma força iônica próxima das condições fisiológicas.

**Figura 10. Resultados do construtor de membranas.** Legenda: a) Visualização da célula de simulação no “NGL Viewer” do CHARMM-GUI. b) Gráfico da área transversal do sistema, representando a dimensão do receptor CB1 em relação à espessura da bicamada lipídica ao longo do eixo z (valores em angströms – Å).

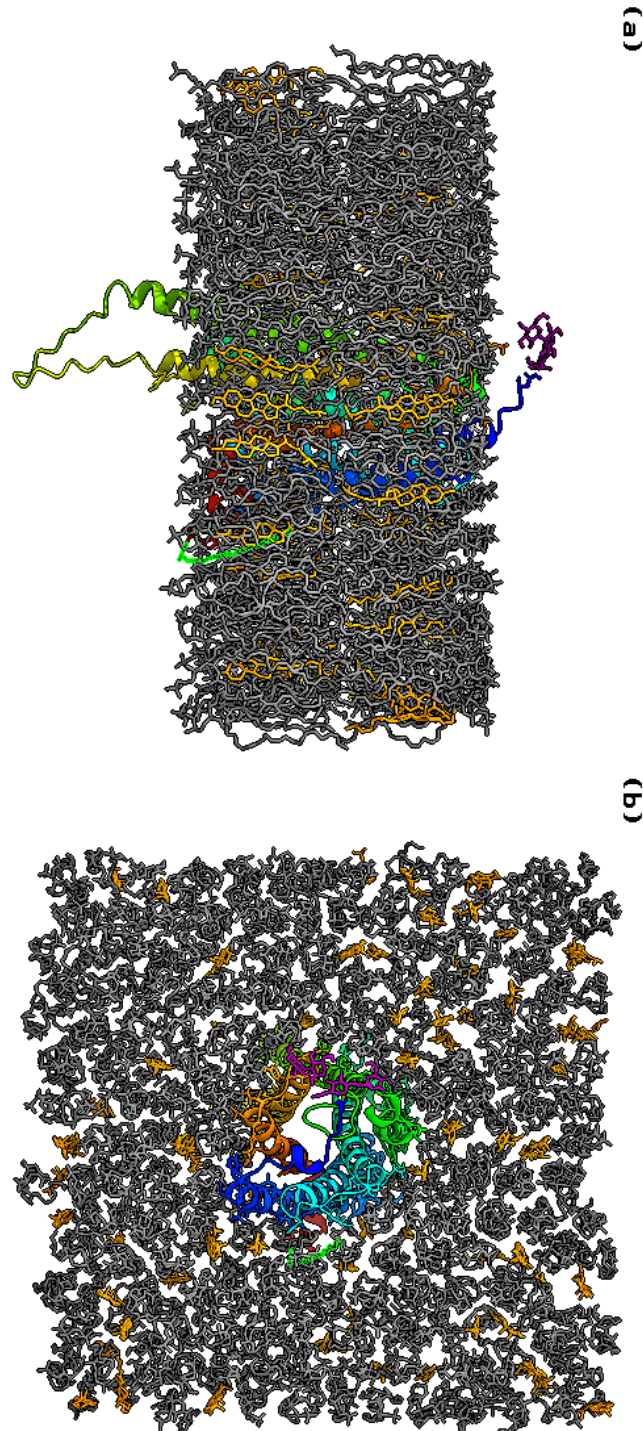


Fonte: Elaborada no CHARMM-GUI.

A membrana foi complementada com 39,03% de colesterol, distribuído de forma quase simétrica entre os folhetos superior (19,49%) e inferior (19,54%), em conformidade com a fração molar máxima na dinâmica de membranas celulares (Takamori *et al.*, 2006; Sarkar *et al.*, 2017; Doktorova *et al.*, 2020). Essa proporção foi adotada para reproduzir parâmetros biofísicos fundamentais, como fluidez, espessura e compactação da membrana, nos quais o colesterol atua como modulador estrutural relevante, especialmente na ativação de GPCRs (Sejdiu & Tieleman, 2020). A **Figura 11** também apresenta as modificações pós-traducionais previstas para o receptor CB1, incluindo a N-glicosilação na região N-terminal e a ancoragem de ácido palmítico (S-palmitoilação) na extremidade C-terminal (Jakubik & El-Fakahany, 2021).

**Figura 11. Modelo do complexo proteína-bicamada.**

Legenda: O receptor CB1 é representado em uma escala de cores do azul ao vermelho (arco-íris), com o oligossacarídeo ligado à asparagina-1 (N-glicosilação) em magenta. As moléculas de PC/PE (fosfolipídios da bicamada) são mostradas em cinza, o colesterol em laranja e a cauda lipídica na cisteína 315 (S-palmitoilação) em verde-limão. (a) Vista lateral do complexo. (b) Vista superior, mostrando a organização das moléculas na bicamada.

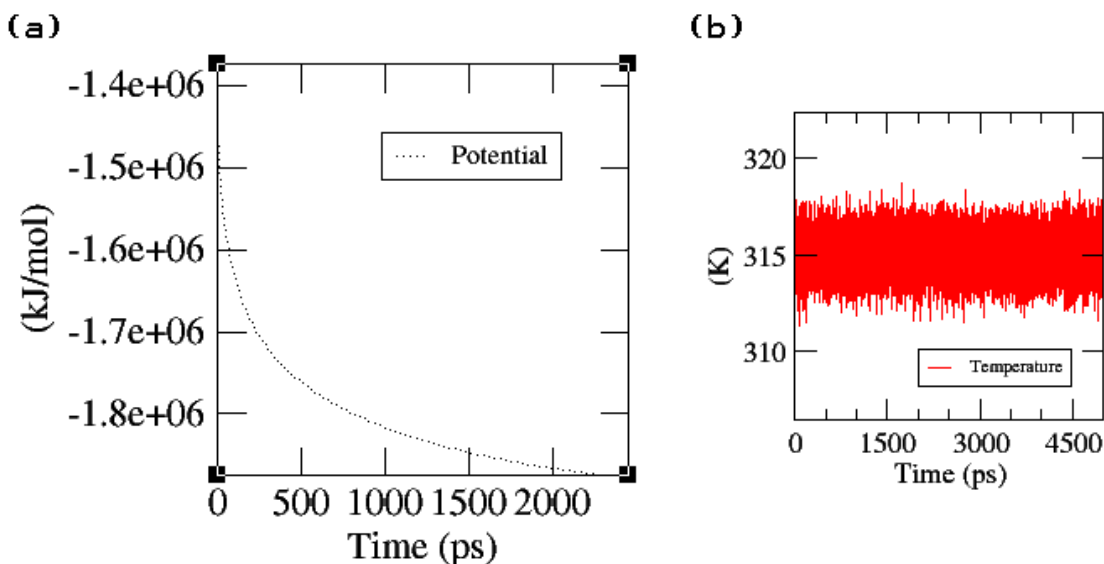


**Fonte:** Elaborada no ChimeraX.

## 6.4 Comportamento Conformacional em Dinâmica Molecular

A minimização de energia do sistema foi realizada com o algoritmo de *steepest descent*, amplamente utilizado para alcançar mínimos globais em simulações de dinâmica molecular (Sarkar *et al.*, 2017, Seo *et al.*, 2020). A convergência foi obtida após 2.000 picossegundos (ps), com base no potencial de energia (kJ/mol), resultando em uma configuração estável da membrana modelo para as etapas subsequentes. Em seguida, o sistema foi submetido à equilibração térmica visando simular a temperatura corporal média de *A. aestiva*, estimada em 41,8 °C ( $\approx 315$  K) (Paula *et al.*, 2008; Paula *et al.*, 2013). A **Figura 12** compila os gráficos de minimização e equilibração, evidenciando que o sistema atingiu rapidamente a temperatura-alvo e a manteve de forma estável ao longo de 5 ns. Essa estabilidade térmica é essencial para garantir que as flutuações observadas estejam dentro de parâmetros fisiológicos realistas, assegurando a confiabilidade das análises dinâmicas subsequentes (Lynch & Reggio, 2006; Sarkar *et al.*, 2017).

**Figura 12. Convergência energética (a) e equilíbrio térmico (b) na fase inicial da simulação.** Legenda: K= Kelvin.

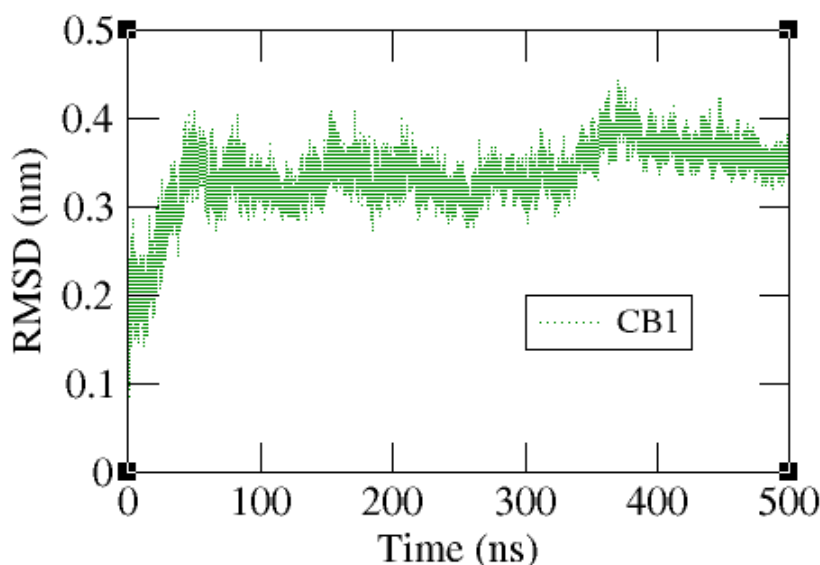


**Fonte:** Elaborada no XMGrace.

Após as etapas de minimização de energia e equilíbrio sob condições de temperatura e pressão constantes, foi conduzida uma simulação de DM com duração de 500 ns. A estabilidade estrutural do receptor CB1, em sua conformação inativa, foi avaliada por meio da análise do desvio quadrático médio (RMSD) do *backbone* (**Gráfico 1**). Ao final da trajetória, as flutuações de RMSD permaneceram abaixo de 0,4 nm, indicando a ausência de rearranjos estruturais

significativos ou perturbações conformacionais durante a simulação (Isu *et al.*, 2024; Deganutti *et al.*, 2025). Valores nessa faixa são considerados indicativos de estabilidade conformacional em estudos com GPCRs incorporados em bicamadas lipídicas, sendo que variações entre 0,6 e 0,8 nm ainda são compatíveis com o estado de enovelamento nativo desses receptores (Shim *et al.*, 2013; Sarkar *et al.*, 2017; Jung *et al.*, 2018).

**Gráfico 1. Desvio médio do *backbone* da proteína ao longo de 500 ns de simulação.**



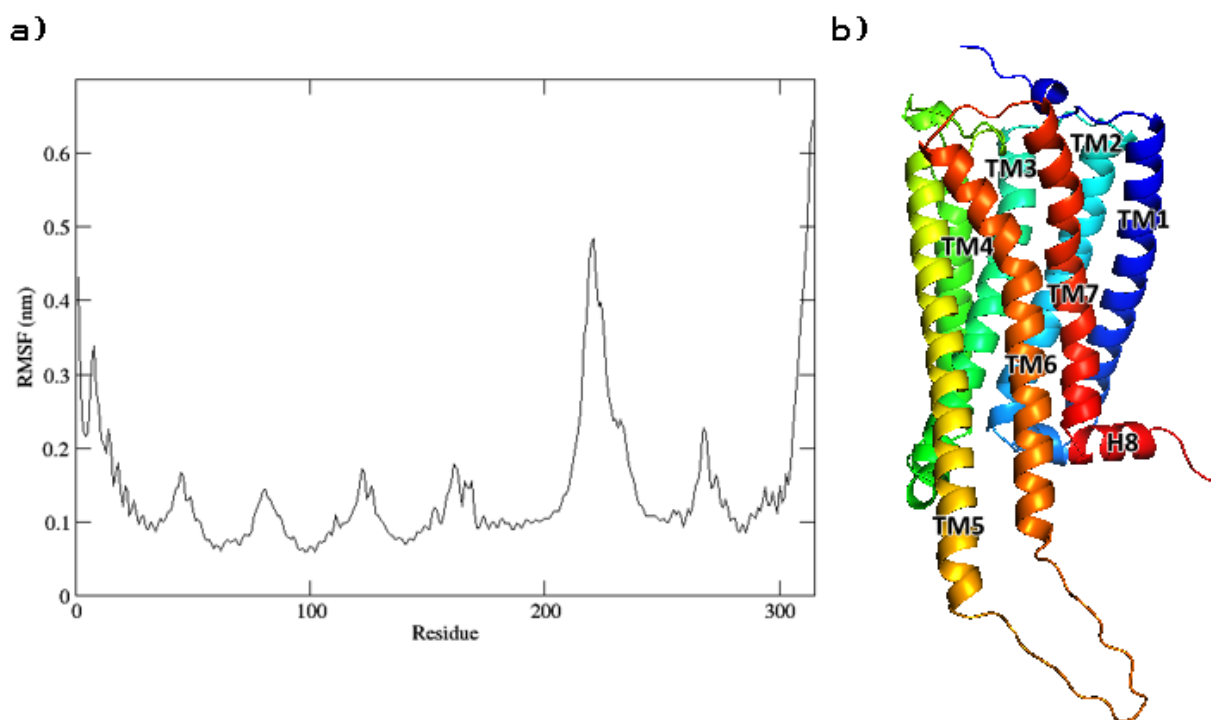
**Fonte:** Elaborado no XMGrace.

A análise da trajetória de 500 ns também incluiu a avaliação da flutuação dos 315 resíduos de aminoácidos do receptor CB1 de *A. aestiva*, por meio do cálculo do desvio quadrático médio por flutuação (RMSF). Os resultados indicaram maior estabilidade nos resíduos mais conservados do receptor, especialmente entre as hélices TM2 e TM5, com flutuações abaixo de 0,2 nm, evidenciando baixa mobilidade nessas regiões, como ilustrado no gráfico “a)” da **Figura 13**. Em contraste com as regiões mais estáveis, algumas porções do receptor apresentaram maior flexibilidade, evidenciando a influência das modificações pós-traducionais incluídas neste estudo. A alça N-terminal, por exemplo, exibiu flutuações superiores a 0,4 nm nos resíduos iniciais, coincidindo com o sítio de N-glicosilação na asparagina 1. Já a hélice extracitoplasmática H8, que neste modelo apresenta um ácido palmítico ligado à cisteína 315, mostrou flutuações superiores a 0,6 nm, indicando alta mobilidade ao longo da simulação. Outra região de destaque foi a alça de interação com proteínas G, voltada para o lado citoplasmático e situada entre as hélices TM5 e TM6 (Shim *et al.*, 2013). Essa alça também apresentou flutuações elevadas, especialmente nas regiões da simulação com maior presença de moléculas de água, refletindo sua flexibilidade estrutural

característica. Estudo recente de Isu *et al.* (2024) também relatou alta mobilidade das alças entre TM5 e TM6 e na alça N-terminal do receptor CB1, embora tenha observado menor flutuação na H8 ( $\text{RMSF} < 4 \text{ \AA} = 0,4 \text{ nm}$ ), contrastando com os valores mais altos aqui obtidos.

**Figura 13. Variação da flutuação residual ao longo da simulação de dinâmica.**

Legenda: a) Gráfico de RMSF (em nanômetros) indicando a mobilidade dos 315 resíduos da proteína; b) Modelo 3D inicial (tempo= 0) do receptor CB1 do papagaio-verdadeiro, destacando as hélices transmembrana (TM1–TM7) e a hélice H8.



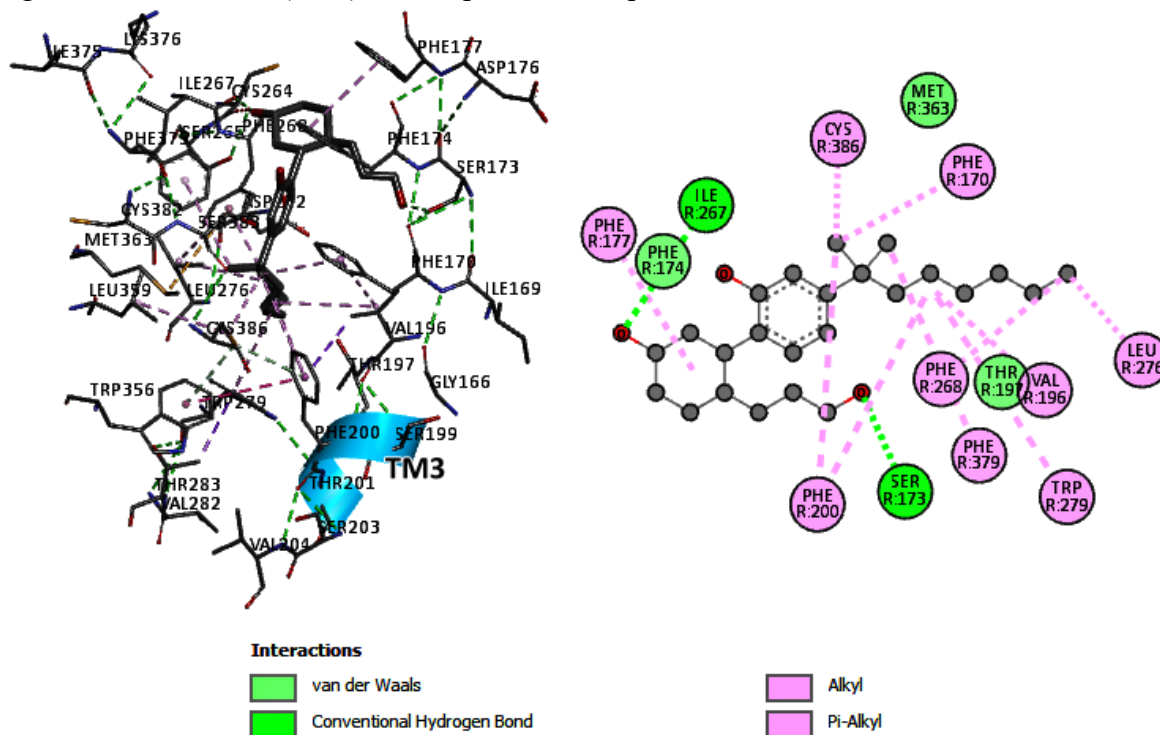
**Fonte:** Elaborada no XMGrace & PyMOL.

### 6.5 Análise de *redocking*: Interações-chave e Perfis de Ligação

O *redocking* molecular do ligante sintético CP55,940, localizado no sítio ativo da estrutura de referência (Shao *et al.*, 2019), revelou interações-chave entre o ligante e os resíduos da proteína. A **Figura 14** apresenta os modelos de farmacóforos em 2D e 3D, desenvolvidos a partir da estrutura do receptor CB1 humano (PDB: 7WV9), considerando um raio de 10 Å ao redor do sítio de ligação. São apresentadas as principais contribuições de ligação, com destaque para as múltiplas interações hidrofóbicas (alquil e pi-alquil), forças de van der Waals e pontes convencionais de hidrogênio. As interações observadas envolveram o canabinoide sintético CP55,940 e aminoácidos fundamentais para a estabilização de ligantes no sítio ativo, como no

caso da mutação com PHE200 (isto é, F200<sup>3,36</sup>) – denominado F100<sup>3,36</sup> no modelo gerado para *A. aestiva* (Shao *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2022).

**Figura 14. Resultados de *redocking* molecular das referências (PDB: 7WV9 & CP55,940).**  
Legenda: R= cadeia R (CB1) do complexo com a proteína G.



**Fonte:** Elaborada no BIOVIA *Discovery Studio*.

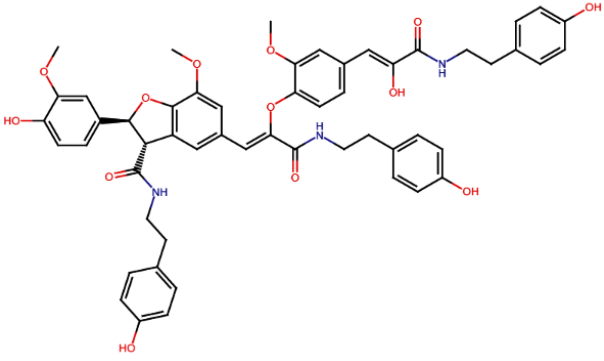
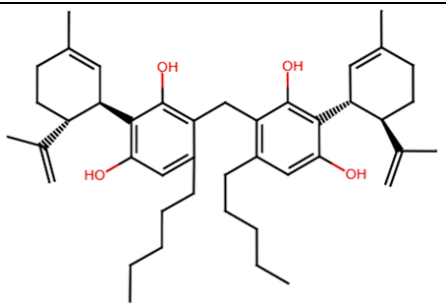
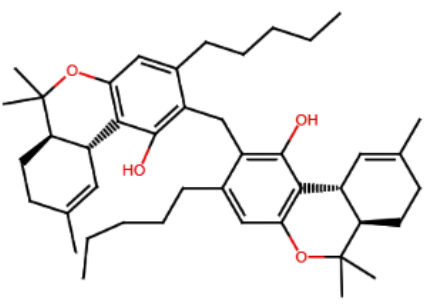
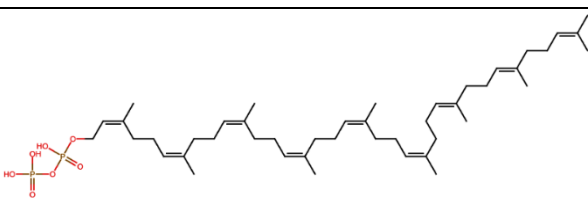
Após o *redocking* e a escolha da melhor pose de ligação, os fitocanabinoides passaram por uma filtragem criteriosa usando ferramentas de mineração no *software* KNIME (Berthold *et al.*, 2019). Essa etapa foi fundamental para eliminar estruturas químicas incompatíveis com os metabólitos secundários identificados nas análises cromatográficas, aumentando a qualidade e a relevância do conjunto final. O banco inicial continha 6.220 compostos, incluindo ácidos orgânicos, carboidratos, subprodutos da combustão, aminoácidos e sais, muitos deles fora do escopo do estudo. Após a etapa de filtragem, foram avaliados 567 metabólitos secundários, número bastante próximo aos 565 fitocanabinoides já descritos na literatura (ElSohly *et al.*, 2017; Lewis *et al.*, 2017), o que conferiu à análise maior representatividade e abrangência do espaço químico.

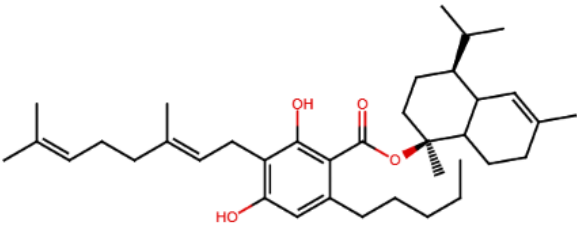
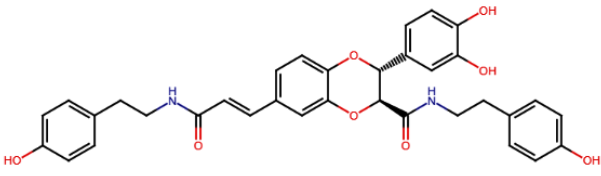
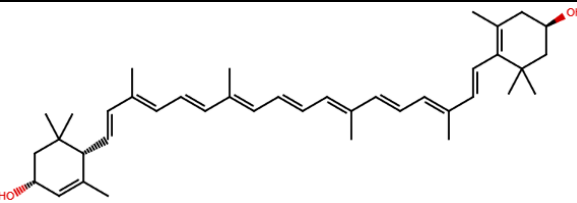
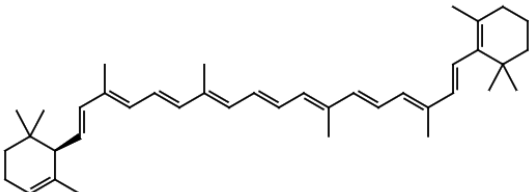
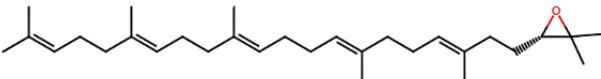
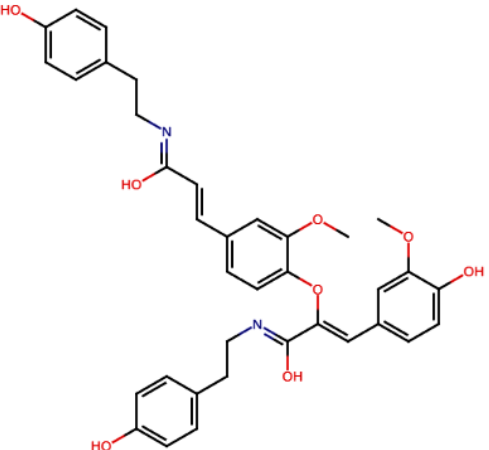
## 6.6 Docking Molecular

A triagem virtual, realizada por meio do algoritmo genético do *software* GOLD, configurado com a função de pontuação ChemScore, fundamentada nos valores da energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ) permitiu selecionar, dentre 567 fitocanabinoides mais o ligante CP55,940, os dez

ligantes com maior afinidade teórica pelo receptor CB1 de *A. aestiva* (**Quadro 1**). Bioativos com valores negativos de  $\Delta G$  são considerados promissores, por indicarem maior espontaneidade na ligação (Bissantz *et al.*, 2010; Christ *et al.*, 2010).

**Quadro 1. *Ranking* dos 10 fitocanabinoides com maior afinidade espontânea ao CB1 de *Amazona aestiva*.**

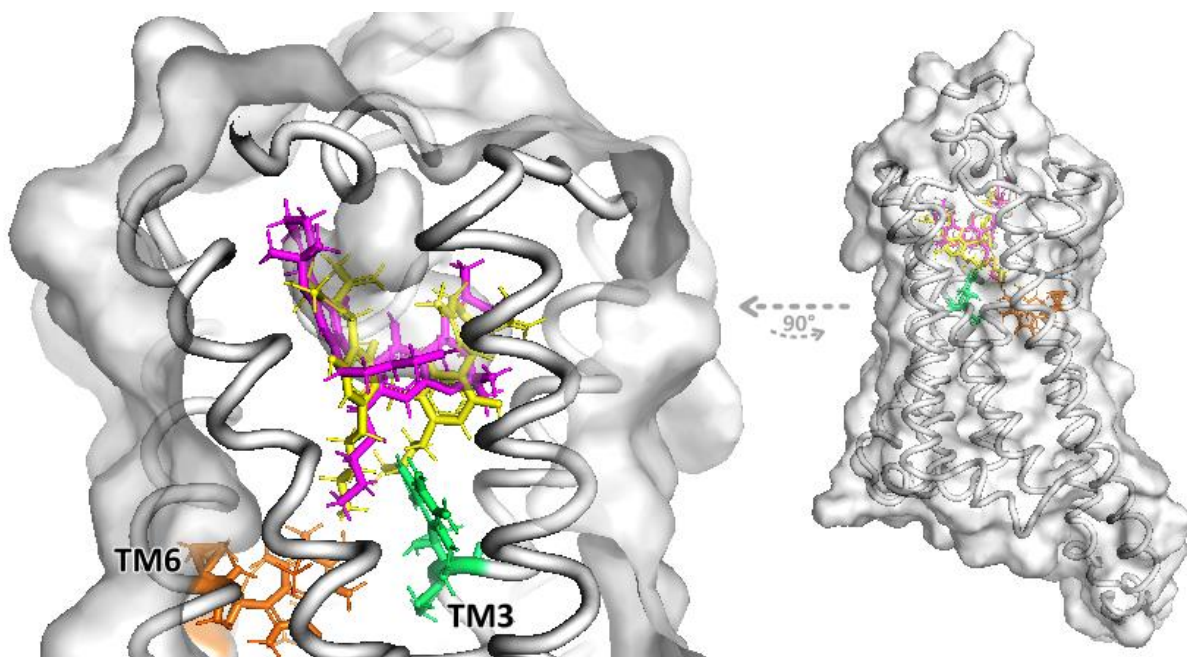
| Posição#<br>Código | Nome comum<br>(inglês)       | Estrutura 2D                                                                         | $\Delta G$ |
|--------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 1#<br>CDB000774    | <i>Cannabisin O</i>          |   | -108.83    |
| 2#<br>CDB056       | <i>Cannabitwinol</i>         |  | -99.16     |
| 3#<br>CDB01        | <i>Cannabisol</i>            |  | -91.80     |
| 4#<br>CDB005226    | <i>Solanesyl diphosphate</i> |  | -85.43     |

|                  |                                                    |                                                                                      |        |
|------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 5#<br>CDB19      | <i><math>\alpha</math>-cadinyl cannabigerolate</i> |    | -81.27 |
| 6#<br>CDB000772  | <i>Cannabisin M</i>                                |    | -78.88 |
| 7#<br>CDB000346  | <i>Xanthophyll</i>                                 |    | -74.66 |
| 8#<br>CDB000345  | <i>Carotene</i>                                    |   | -74.66 |
| 9#<br>CDB004889  | <i>(S)-2,3-epoxysqualene</i>                       |  | -72.47 |
| 10#<br>CDB000771 | <i>Cannabisin F</i>                                |  | -72.16 |

Os resultados de *docking* confirmaram a eficácia do algoritmo genético na predição da afinidade de compostos pelo sítio ortostérico do receptor CB1, incluindo moléculas com atividade previamente descrita. Dentre estes fitocanabinoides, duas substâncias se destacaram. O

canabisol (THCD)<sup>3</sup>, conhecido por sua elevada potência sobre o CB1, ocupou a terceira posição no *ranking* de afinidade (Zulfiqar *et al.*, 2012). Já o canabitwinol (CBDD), embora menos investigado e anteriormente associado à seletividade por receptores TRP envolvidos na termorregulação (Chianese *et al.*, 2020), apresentou a segunda maior afinidade com o CB1. A seleção de substâncias já descritas na literatura evidenciou a eficiência do algoritmo na predição de ligantes, reforçando seu potencial para validação experimental. Além disso, a semelhança estrutural entre CBDD e THCD, aliada ao desempenho de ligação comparável (**Figura 15**), sugerem uma possível analogia farmacofórica e um perfil de atividade bivalente para o CBDD, ampliando as hipóteses sobre seus mecanismos de ação (Shete *et al.*, 2024; Stryker *et al.*, 2025).

**Figura 15. Melhores poses de ligação do THCD e CBDD no sítio ortostérico de CB1.** Legenda: canabisol (magenta), cannabitwinol (amarelo), F100<sup>3,36</sup> (verde ciano, TM3) W256<sup>6,48</sup> (laranja, TM6).



Fonte: Elaborada no PyMOL.

Outros compostos naturais também apresentaram destaque nas simulações de *docking* com o receptor CB1. Entre eles, ressaltase o canabinoide miscelâneo ‘ $\alpha$ -cadinil canabigerolato’, isolado de uma variedade de *C. sativa* de alta potência, cujas propriedades farmacológicas ainda não foram completamente elucidadas (Ahmed *et al.*, 2008). A substância ‘solanesil difosfato’, derivado do solanesol, ocupou a quarta posição no *ranking* de afinidade de ligação. Já

<sup>3</sup> Descrito por Zulfiqar *et al.* (2012), o canabisol é um dímero composto por duas moléculas de  $\Delta^9$ -THC, unidas por uma ponte metileno. De modo análogo, o canabitwinol corresponde a um dímero constituído por duas moléculas de CBD, conforme relatado por Chianese *et al.* (2020).

o triterpeno ‘(S)-2,3-epoxiesqualeno’, assim como outros precursores terpenoides, tem sido associado à atividade contra o câncer, além de potencial uso em doenças neurodegenerativas (Lewis *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2024). Além disso, os carotenoides ‘caroteno’ e ‘xantofila’, conhecidos por seu papel antioxidante (Miller *et al.*, 1996), também mostraram interações relevantes com o sítio ortostérico do CB1.

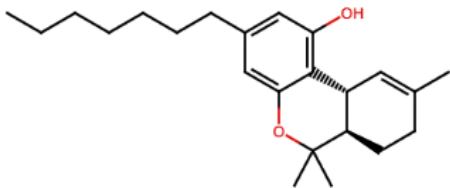
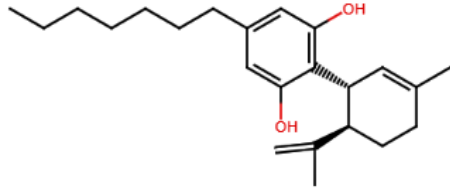
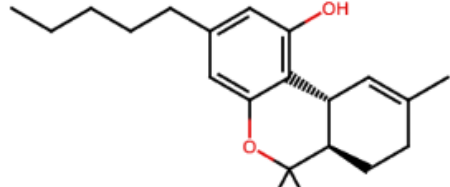
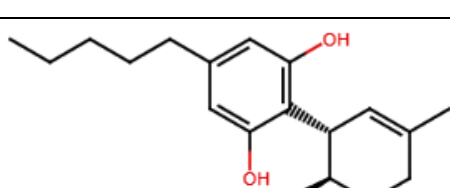
Além dos ligantes supracitados, diversas canabisinas se destacaram, especialmente as dez variantes avaliadas (O, M, F, E, D, G, N, C, B e A, respectivamente), que apresentaram elevada propensão de acoplamento ao receptor CB1, superando até mesmo o desempenho do ligante de referência CP55,940 (vide **Apêndice A**). Muitas dessas canabisinas são majoritariamente encontradas nas sementes de *C. sativa* (Smeds *et al.*, 2012; Pollastro *et al.*, 2018). De forma notável, outro estudo de *docking* molecular apontou a canabisina M como potente inibidor da glicoproteína-P, com elevada energia de ligação e possíveis implicações na modulação da resistência a fármacos (Kazemi *et al.*, 2021). Apesar da baixa solubilidade em água, decorrente de seu caráter neutro e lipofílico, as canabisinas e outras lignanamidas apresentam importantes atividades biológicas, incluindo efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e inibição da acetilcolinesterase (Ahmed *et al.*, 2015; Yan *et al.*, 2015; Kamle *et al.*, 2024).

Além do interesse farmacológico, as sementes de *Cannabis* têm sido estudadas como ingrediente funcional na alimentação animal, devido à sua composição rica em proteínas digestíveis, vitaminas, minerais e ácidos graxos PUFA (Kamle *et al.*, 2024). Formulações de rações para aves contendo derivados das sementes, particularmente ricas em canabisinas e outras lignanamidas, demonstraram efeitos promissores em galinhas poedeiras e frangos de corte. Essas formulações representam uma alternativa nutricional e ambientalmente sustentável, com potencial para contribuir diretamente para a saúde aviária (Neijat *et al.*, 2016; Tignani *et al.*, 2024; Ritter *et al.*, 2020).

Em síntese, assim como observado nas estruturas complexas do THCD e do CBDD, as características estruturais e a acessibilidade estérica dos fitocanabinoides influenciam diretamente sua afinidade pelo receptor CB1, afetando tanto a viabilidade de acomodação no sítio ortostérico quanto a estabilidade da interação (Bow & Rimoldi, 2016; Zulfikar *et al.*, 2012). Compostos com cadeias laterais mais longas, como o  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THCP) e o canabidiforol (CBDP), ambos com cadeia heptílica, apresentaram maior afinidade de ligação em comparação ao  $\Delta^9$ -THC, que possui uma cadeia pentílica (Citti *et al.*, 2019; Lee *et al.*, 2020).

No modelo computacional de *A. aestiva*, essa superioridade foi refletida nos valores de  $\Delta G$  e no desempenho nas simulações de *docking*, conforme demonstrado no **Quadro 2**. Esses resultados reforçam a importância das modificações estruturais na seletividade e potência dos ligantes para o CB1.

**Quadro 2. Ranqueamento da espontaneidade putativa de ligação dos fitocanabinoides  $\Delta^9$ -THCP, CBDP,  $\Delta^9$ -THC e CBD ao receptor CB1 de *Amazona aestiva*.**

| Posição# Código   | Nome comum                        | Estrutura 2D                                                                         | $\Delta G$ |
|-------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 69#<br>CDB03      | $\Delta^9$ -tetrahidrocanabiforol |    | -53.35     |
| 106#<br>CDB04     | Canabidiforol                     |   | -49.16     |
| 116#<br>CDB000001 | $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol  |  | -47.79     |
| 156#<br>CDB000002 | Canabidiol                        |  | -44.33     |

A listagem completa dos ligantes testados, que inclui o canabinoide sintético de referência (CP55,940) e os fitocanabinoides (n = 567), encontra-se disponível no **Apêndice A**, com os respectivos valores de  $\Delta G$  ordenados de forma decrescente.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo reforça a importância das abordagens *in silico* na investigação das interações moleculares e da estabilidade do receptor canabinoide CB1, considerado um alvo promissor para o desenvolvimento de novas estratégias farmacológicas. Nesse contexto, os metabólitos secundários de *C. sativa*, notáveis por sua complexidade estrutural, revelaram destaque para dez variantes de canabisinas (O, M, F, E, D, G, N, C, B e A), que apresentaram desempenho superior ao do agonista de referência CP55,940. De modo semelhante, o canabisol (composto já reconhecido por sua seletividade ao CB1) também se destacou nas análises, reforçando a robustez preditiva do algoritmo genético. Notavelmente, o canabitwinol, dímero do CBD previamente associado à modulação de receptores TRP envolvidos na termorregulação, apresentou elevada espontaneidade de ligação ao CB1, abrindo perspectivas para hipóteses quanto a um possível perfil de atividade bivalente nesse receptor.

Em síntese, a combinação entre elevada afinidade e espontaneidade de ligação reforça o potencial farmacológico seletivo desses compostos frente ao receptor CB1 de *A. aestiva*. À luz dos resultados apresentados, este trabalho oferece subsídios para futuros ensaios experimentais em aves silvestres, com vistas à validação das previsões teóricas. De forma mais abrangente, o estudo contribui para ampliar o conhecimento sobre fitocanabinoides com potencial de atuação como ligantes ainda pouco explorados, evidenciando o papel estratégico da biotecnologia no avanço da medicina personalizada.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abraham, M, J.; Murtola, T.; Schulz, R.; Páll, S.; Smith, J, C.; Hess, B.; Lindahl, L. **GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers.** SoftwareX, 2015.
- Ahmed, S, A.; Ross, S, A.; Slade, D.; Radwan, M, M.; Zulfiqar, F.; Matsumoto, R, R.; Xu, Y-T.; Viard, E.; Speth, R, C.; Karamyan, V, T.; Ehsohly, L, A. **Cannabinoid ester constituents from high-potency *Cannabis sativa*.** Journal of Natural Products, 2008.
- Ahmed, S, A.; Ross, S, A.; Slade, D.; Radwan, M, M.; Zulfiqar, F.; Matsumoto, R, R.; Xu, Y-T.; Viard, E.; Speth, R, C.; Karamyan, V, T.; Ahmed, S, A.; Ross, S, A.; Slade, D.; Radwan, M, M.; Khan, I, A.; Elsohly, M, A. **Minor oxygenated cannabinoids from high potency *Cannabis sativa* L.** Phytochemistry, 2015.
- Alberts, B.; Hopkin, K.; Johnson, A.; Morgan, D.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. **Essential Cell Biology – 4<sup>TH</sup> Edition.** WW Norton & Company, 2013.
- Almeida, C, F.; Palmeira, A.; Valente, M, J.; Correia-Da-Silva, G.; Vinggaard, A, M.; Sousa, M, E.; Teixeira, N.; Amaral, C. **Molecular Targets of Minor Cannabinoids in Breast Cancer: *In Silico* and *In Vitro* Studies.** Pharmaceuticals, 2024.
- Alonso-Ferrero, M, E.; Paniagua, M, A.; Mostany, R.; Pilar-Cuéllar, F.; Díez-Alarcia, R.; Pazos, A.; Fernández-López, A. **Cannabinoid system in the budgerigar brain.** Brain Research, 2006.
- Alvarez, L, D.; Alves, N, R, C. **Molecular determinants of tetrahydrocannabinol binding to the glycine receptor.** Proteins: Structure-Function-Bioinformatics, 2023.
- Anderson, L. **Leaf variation among *Cannabis* species from a controlled garden.** Harvard University Botanical Museum Leaflets, 1980.
- Andre, M, C.; Hausman, J-F.; Guerriero, G. ***Cannabis sativa*: The Plant of the Thousand and One Molecules.** Frontiers in Plant Science, 2016.
- Ballesteros, J, A.; Weinstein, H. **Integrated methods for the construction of three-dimensional models and computational probing of structure-function relations in G protein-coupled receptors.** In: Receptor Molecular Biology, Methods in Neurosciences. Sealfon, S, C. (editor), Academic Press, 1995.

- Berman, P.; Sulimani, L.; Gelfand, A.; Amsalem, K.; Lewitus, G, M.; Meiri, D. **Cannabinoidomics – An analytical approach to understand the effect of medical Cannabis treatment on the endocannabinoid metabolome.** Talanta, 2020.
- Berendsen, H, J, C.; Postma, J, P, M.; Van Gunsteren, W, F.; Dinola, A.; Haak, J, R. **Molecular dynamics with coupling to an external bath.** The Journal of Chemical Physics, 1984.
- Bernetti, M.; Bussi, G. **Pressure control using stochastic cell rescaling.** The Journal of Chemical Physics, 2020.
- Berthold, M, R.; Cebron, N.; Dill, F.; Gabriel, T, R.; Kötter, T.; Meinl, T.; Ohl, P.; Thiel, K.; Wiswedel, B. **KNIME - the Konstanz Information Miner: Version 2.0 and Beyond.** ACM SIGKDD Explorations Newsletter, 2009.
- Bertoline, L, M, F.; Lima, A, N.; Krieger, J, E.; Teixeira, S, K. **Before and after AlphaFold2: An overview of protein structure prediction.** Frontiers in Bioinformatics, 2023.
- Bissantz, C.; Kuhn, B.; Stahl, M. **A Medicinal Chemist’s Guide to Molecular Interactions.** Journal of Medicinal Chemistry Perspective, 2010.
- Bhattacharjee, A.; Hossain, M, U.; Chowdhury, Z, M.; Rahman, S, M, A.; Bhuyan, Z, A.; Salimullah, M.; Keya, C, A. **Insight of druggable cannabinoids against estrogen receptor  $\beta$  in breast cancer.** Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2021.
- Bow, E, W.; Rimoldi, J, M. **The Structure-Function Relationships of Classical Cannabinoids: CB1/CB2 Modulation.** Perspectives in Medicinal Chemistry, 2016.
- Brown, B. **Cannabis: A ilegalização da maconha nos Estados Unidos.** Editora Mino, 2019.
- Burgio, K, R.; Davis, K, E.; Dreiss, L, M.; Cisneros, L, M.; Klingbeil, B, T.; Presley, S, J.; Willig, M, R. **Phylogenetic supertree and functional trait database for all extant parrots.** Data in Brief, 2019.
- Bussi, G.; Donadio, D.; Parrinello, M. **Canonical sampling through velocity rescaling.** Journal of Chemical Physics, 2007.
- Busquets-Garcia, A.; Bains, J.; Marsicano, G. **CB1 Receptor Signaling in the Brain: Extracting Specificity from Ubiquity.** Neuropsychopharmacology, 2018.

- Calhoon, E, A.; Jimenez, A, G.; Harper, J, M.; Jurkowitz, M, S.; Williams, J, B. **Linkages between Mitochondrial Lipids and Life History in Temperate and Tropical Birds.** Physiological and Biochemical Zoology, 2014.
- Carpenter, J, W.; Tully, T, N.; Rockwell, K.; Kukanich, B. **Pharmacokinetics of Cannabidiol in the Hispaniolan Amazon Parrot (*Amazona ventralis*).** BioOne, 2022.
- Carril, J.; Tambussi, C, P.; Degrange, F, J.; Saldivar, M, J, B.; Picasso, M, B, J. **Comparative brain morphology of Neotropical parrots (Aves, Psittaciformes) inferred from virtual 3D endocasts.** Journal of Anatomy, 2015.
- Cavasotto, C, N (editor). **In silico Drug Discovery and Design: Theory, Methods, Challenges, and Applications.** CRC Press, Boca Raton - Florida, 2017.
- Carvalho, P, E, R. **Espécies arbóreas brasileiras.** 1ª edição – Colombo (PR). Embrapa Florestas, 2008.
- Citti, C.; Linciano, P.; Russo, F.; Luongo, L.; Iannotta, M.; Maione, S.; Laganà, A.; Capriotti, A, L.; Forni, F.; Vandelli, M, A.; Gigli, G.; Cannazza, G. **A novel phytocannabinoid isolated from *Cannabis sativa* L. with an *in vivo* cannabimimetic activity higher than  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol:  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabiphorol.** Scientific Reports, 2019.
- Chemaxon. **MarvinJS.** Versão 24.3.0. EUA: ChemAxon Ltd., 2023. Disponível em: <https://marvinjs-demo.chemaxon.com/latest/demo.html>. Acesso em: 13 dez. 2024.
- Chianese, G.; Lopatriello, A.; Schiano-Moriello, A.; Caprioglio, D.; Mattoteia, D.; Benetti, E.; Ciceri, D.; Arnoldi, L.; De Combarieu, E.; Vitale, R, M.; Amodeo, P.; Appendino, G.; De Petrocellis, L.; Tagliatela-Scafati, O. **Cannabitwinol, a Dimeric Phytocannabinoid from Hemp, *Cannabis sativa* L., Is a Selective Thermo-TRP Modulator.** Journal of Natural Products, 2020.
- Christ, C, D.; Mark, A, E.; Van Gunsteren, W, F. **Basic ingredients of free energy calculations: a review.** Journal of Computational Chemistry, 2010.
- Collar, N.; Kirwan, G, M.; Boesman, P. **Turquoise-fronted Amazon (*Amazona aestiva*),** versão 1.0, 2020. Em: “Birds of the World” (J. DEL HOYO, A.; ELLIOTT, J.; SARGATAL, D. CHRISTIE, A. e DE JUANA, E. (editores). Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA. Disponível em: <https://www.hbw.com/node/54749>. Acesso em: 12 nov. 2024.

Cooray, R.; Gupta, V.; Suphioglu, C. **Current Aspects of the Endocannabinoid System and Targeted THC and CBD Phytocannabinoids as Potential Therapeutics for Parkinson's and Alzheimer's Diseases: a Review**. Molecular Neurobiology, 2020.

Croqg, M-A. **History of Cannabis and the endocannabinoid system**. Dialogues in Clinical Neuroscience, 2020.

Deganutti, G.; Pipitò, L.; Rujan, R, M.; Weizmann, T.; Griffin, P.; Ciancetta, A.; Moro, S.; Reynolds, C, A. **Hidden GPCR structural transitions addressed by multiple walker supervised molecular dynamics (mwSuMD)**. Structural Biology and Molecular Biophysics, 2025.

Grespan, A.; Raso, T, F. **Capítulo 28 – Psittaciformes (Araras, Papagaios, Periquitos, Calopsitas e Cacatuas)**. Em: Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária, 2ª edição. CUBAS, Z, S.; SILVA, J, C, R.; CATÃO-DIAS, J, L. (editores). Editora Roca, 2014.

Dawidowicz, A, L.; Olszowy-Tomczyk, M.; Typek, R. **CBG, CBD, Δ9-THC, CBN, CBGA, CBDA and Δ9-THCA as antioxidant agents and their intervention abilities in antioxidant action**. Fitoterapia, 2021.

Dassault Systèmes. **BIOVIA Discovery Studio**. Versão v.24.1.0.23298. San Diego, 2023. Disponível em: <https://www.3ds.com/products-services/discovery-studio/>. Acesso em: 6 jan. 2025.

Delano, W, L. **The PyMOL Molecular Graphics System**. Delano Scientific, San Carlos, 2002.

De Petrocelis, L.; Vellani, V.; Schiano-Moriello, A.; Marini, P.; Magherini, P, C.; Orlando, P.; Di Marzo, V. **Plant-derived cannabinoids modulate the activity of transient receptor potential channels of ankyrin type-1 and melastatin type-8**. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2008.

De Petrocelis, L.; Orlando, A.; Schiano Moriello, G.; Aviello, C.; Stott, A, A.; Di Marzo, V. **Cannabinoid actions at TRPV channels: effects on TRPV3 and TRPV4 and their potential relevance to gastrointestinal inflammation**. Acta Physiologica, 2011.

- Di Marzo, V. **The endocannabinoidome as a substrate for noneuphoric phytocannabinoid action and gut microbiome dysfunction in neuropsychiatric disorders.** Dialogues in Clinical Neuroscience, 2020.
- Di Marzo, V.; Piscitelli, F. **The Endocannabinoid System and its Modulation by Phytocannabinoids.** Neurotherapeutics, 2015.
- Di Marzo, V. Wang, J. **The Endocannabinoidome: The World of Endocannabinoids and Related Mediators.** Academic Press, 2014.
- Di Salvo, A.; Chiaradia, E.; Sforza, M.; Della Roca, G. **Endocannabinoid system and phytocannabinoids in the main species of veterinary interest: a comparative review.** Veterinary Research Communications, 2024.
- Dívin, D.; Samblas, M. G.; Veetil, N. K.; Voukali, E.; Świdarská, Z.; Krajzingrová, T.; Těšický, M.; Beneš, V.; Elleder, D.; Bartoš, O.; Vinkler, M. **Cannabinoid receptor 2 evolutionary gene loss makes parrots more susceptible to neuroinflammation.** Proceedings of the Royal Society B, 2022.
- Docampo-Palcios, M.; Ramirez, G.; Tesfatsion, T.; Pittiglio, M.; Ray, K.; Cruces, W. **Decoding the Molecular Dance: *In Silico* Exploration of Cannabinoid Interactions with Key Protein Targets for Therapeutic Insights.** ChemRxiv, 2024.
- Doktorova, M.; Simons, J. L.; Levental, I. **Structural and functional consequences of reversible lipid asymmetry in living membranes.** Nature Chemical Biology, 2020.
- Dorn, M.; Silva, M. B.; Buriol, L. S.; Lamb, L. C. **Three-dimensional protein structure prediction: Methods and computational strategies.** Computational Biology and Chemistry, 2014.
- Duran-Frigola, M.; Mosca, E.; Aloy, P. **Structural Systems Pharmacology: The Role of 3D Structures in Next-Generation Drug Development.** Chemistry & Biology, 2013.
- Dutagaci, B.; Heo, L.; Feig, M. **Structure refinement of membrane proteins via molecular dynamics simulations.** Proteins: Structure-Function-Bioinformatics, 2018.
- Ehsohly, L. A. **Cannabinoid ester constituents from high-potency *Cannabis sativa*.** Journal of Natural Products, 2008.

Elsohly, M.; Gul, W. **Chapter 1: Constituents of *Cannabis sativa*. In PERTWEE, R, G. (editor). Handbook of Cannabis.** Oxford University Press, 2014.

Elsohly, M.; Radwan, M, M.; Gul, W.; Chandra, S.; Galal, A. **Phytochemistry of *Cannabis sativa* L..** In: Kinghorn, A, D.; Falk, H.; Gibbons, S.; Kobayashi, J. (editors). *Phytocannabinoids: Unraveling the Complex Chemistry and Pharmacology of Cannabis sativa*. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, volume 103. Springer, 2017.

Elphick, M, R.; Egertová, M. **Cannabinoid Receptor Genetics and Evolution.** In: The Cannabinoid Receptors. REGGIO, P, H. (editor). Humana Press, 2009.

Elphick, M, R. **The evolution and comparative neurobiology of endocannabinoid signalling.** Philosophical Transactions of the Royal Society B, 2012.

Encinas-Nagel, N.; Enderlein, D.; Piepenbring, A.; Herden, C.; Heffels-Redmann, U.; Felipe, P, A.; Arns, C.; Hafez, H, M.; Lierz, M. **Avian bornavirus in free-ranging psittacine birds, Brazil.** Emerging Infectious Disease, 2014.

Erridge, S.; Mangal, N.; Salazar, O.; Pacchetti, B.; Sodergren, M, H. **Cannflavins – From plant to patient: A scoping review.** Fitoterapia, 2020

Faillace, A, C, L.; Vieira, K, R, A.; Santana, M, I, S. **Computed tomographic and gross anatomy of the head of the blue-fronted Amazon parrot (*Amazona aestiva*).** Anatomia, Histologia, Embryologia, 2020.

Fanovich, M, A.; Churio, M, S.; Ramirez, C, L. **Chapter Two - Medicinal Cannabis: Pharmaceutical forms and recent analytical methodologies.** In: Analysis of *Cannabis* - Comprehensive Analytical Chemistry. FERRER, E.; THURMAN, E, M. (editors): Volume 90, Elsevier, 2020.

Fordjour, E.; Manful, C, F.; Sey, A, A.; Javed, R.; Pham, T, H.; Thomas, R.; Cheema, M. **Cannabis: a multifaceted plant with endless potentials.** Frontiers in Pharmacology, 2023.

Goddard, T, D.; Huang, C, C.; Meng, E, C.; Pettersen, E, F.; Couch, G, S.; Morris, J, H.; Ferrin, T, E. **UCSF ChimeraX: Meeting modern challenges in visualization and analysis.** Protein Science, 2018.

Godinho, L.; Marinho, Y.; Bezerra, B. **Performance of blue-fronted amazon parrots (*Amazona aestiva*) when solving the pebbles-and-seeds and multi-access-box paradigms: *ex situ* and *in situ* experiments.** Animal Cognition, 2020.

- Greenacre, C, B.; Lusby, A, L. **Physiologic Responses of Amazon Parrots (Amazona species) to Manual Restraint**. Journal of Avian Medicine and Surgery, 2004.
- Guan, X. **Genomic and biochemical analysis of oxidative stress in birds with diverse longevities**. Dissertation – Polytechnic Institute and State University of Virginia, 2007.
- Gutiérrez-Ibáñez, C.; Iwaniuk, A, N.; Wylie, D, R. **Parrots have evolved a primate-like telencephalic-midbrain-cerebellar circuit**. Scientific Reports, 2018.
- Hartsel, J, A.; Boyar, K.; Pham, A.; Silver, R, J.; Makriyannis, A. **Cannabis in Veterinary Medicine: Cannabinoid Therapies for Animals**. In: Nutraceuticals in Veterinary Medicine. Gupta, R.; Srivastava, A.; Lall, R. (editors). Springer International Publishing, 2019.
- Hazzah, T.; Andre, C.; Richter, G.; Mcgrath, S. **Cannabis in Veterinary Medicine: A Critical Review**. Journal of the American Holistic Veterinary Medical Association, 2020.
- Herkenham, M.; Lynn, A, B.; Johnson, M, R.; Melvin, L, S.; De Costa, B, R.; Rice, K, C. **Cannabinoid receptor localization in brain**. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1990.
- Herrera, M.; Hennessey, B. **Quantifying the illegal parrot trade in Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, with emphasis on threatened species**. Bird Conservation International, 2007.
- Hoover, W, G. **Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions**. Physical Review Journals, 1985.
- Howlett, A, C.; Blume, L, C.; Dalton, G, D. **CB(1) Cannabinoid Receptors and Their Associated Proteins**. Current Medicinal Chemistry, 2010.
- Hu, S, S, J., Mackie, K. **Distribution of the Endocannabinoid System in the Central Nervous System**. In: Endocannabinoids, Handbook of Experimental Pharmacology. Pertwee, R. (editor), Springer, 2015.
- Huang, J.; Rauscher, S.; Nawrocki, G.; Ran, T.; Feig, M.; de Groot, B, L.; Grubmüller, H.; MacKerell-Jr, A, D. **CHARMM36m: an improved force field for folded and intrinsically disordered proteins**. Nature Methods, 2016.
- Hulbert, A, J.; Trzcionka, M.; Buttemer, W, A. In: Pamplona, R.; Barja, G. (editor). Longevity, Mitochondria and Oxygen free radicals. **Membrane fatty acid composition and longevity of mammals and birds**. Research Signpost, 2010.

Hurst, D, P.; Garai, S.; Kulkarni, P, M.; Schaffer, P, C.; Reggio, P, H.; Thakur, G, A. **Identification of CB1 Receptor Allosteric Sites Using Force-Biased MMC Simulated Annealing and Validation by Structure-Activity Relationship Studies.** ACS Medicinal Chemistry Letters Journal, 2019.

Isu, U, H.; Polasa, A.; Moradi, M. **Differential Behavior of Conformational Dynamics in Active and Inactive States of Cannabinoid Receptor 1.** The Journal of Physical Chemistry B, 2024.

Jakubik, J.; El-Fakahany, E. **Allosteric Modulation of GPCRs of Class A by Cholesterol.** International Journal of Molecular Sciences, 2021.

Jin, D.; Dai, K.; Xie, Z.; Chen, J. **Secondary Metabolites Profiled in *Cannabis* Inflorescences, Leaves, Stem Barks, and Roots for Medicinal Purposes.** Scientific Reports, 2020.

Jones, G.; Willett, P.; Glen, R, C.; Leach, A, R.; Taylor, R. **Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking.** Journal of Molecular Biology, 1997.

Jumper, J.; Evans, R.; Pritzel, A.; Green, T.; Figurnov, M.; Ronneberger, O.; Tunyasuvunakool, K.; Bates, R.; Židek, A.; Potapenko, A.; Bridgland, A.; Meyer, C.; Kohl, S, A, A.; Ballard, A, J.; Cowie, A.; Romera-Paredes, B.; Nikolov, S.; Jain, R.; Adler, J.; Back, T.; Petersen, S.; Reiman, D.; Clancy, E.; Zielinski, M.; Steinegger, M.; Pacholska, M.; Berghammer, T.; Bodenstein, S.; Silver, D.; Vinyals, O.; Senior, A, W.; Kavukcuoglu, K.; Kohli, P.; Hassabis; D. **Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold.** Nature, 2021.

Jung, S, W.; Cho, A, E.; Yu, W. **Exploring the Ligand Efficacy of Cannabinoid Receptor 1 (CB1) using Molecular Dynamics Simulations.** Scientific Reports, 2018.

Kamle, M.; Mahato, D, K.; Sharma, B.; Gupta, A.; Shah, A, K.; Mahmud, M, M, C.; Agrawal, S.; Singh, J.; Rasane, P.; Shukla, A, C.; Kumar, P. **Nutraceutical potential, phytochemistry of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) and its application in food and feed: A review.** Food Chemistry Advances, 2024.

Kaplan, G. **Psittacine Cognition.** In: Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior. Vonk, J.; Shackelford, T. (editors). Springer, 2021.

Kazemi, F.; Karimi, I.; Yousofvan, N. **Molecular docking study of lignanamides from *Cannabis sativa* against P-glycoprotein.** In silico Pharmacology, 2021.

- Kendall, D, A.; Yudowski, G, A. **Cannabinoid Receptors in the Central Nervous System: Their Signaling and Roles in Disease**. Frontiers in Cellular Neuroscience, 2017.
- Kern, N, R.; Lee, J.; Choi, Y, K.; Im, W. **CHARMM-GUI Multicomponent Assembler for Modeling and Simulation of Complex Multicomponent Systems**. bioRxiv, 2023.
- Kim, H.; Fábíán, B.; Hummer, G. **Neighbor List Artifacts in Molecular Dynamics Simulations**. Journal of Chemical Theory and Computation, 2023.
- Koivula, M, J.; Eeva, T. **Metal-related oxidative stress in birds**. Environmental Pollution, 2010.
- Kuhnen, V, V.; Kanaan, V, T. **Wildlife trade in Brazil: A closer look at wild pets welfare issues**. Brazilian Journal of Biology, 2014.
- Kumar, K, K.; Shalev-Benami, M.; Robertson, M, J.; Hu, H.; Banister, S, D.; Hollingsworth, S, A.; Latorraca, N, R.; Kato, H, E.; Hilger, D.; Maeda, S.; Weis, W, I.; Farrens, D, L.; Dror, R, O.; Malhotra, S, V.; Kobilka, B, K.; Skiniotis, G. **Structure of a Signaling Cannabinoid Receptor 1-G Protein Complex**. Cell, 2019.
- Kumar, S.; Stecher, G.; Li, M.; Knyaz, C.; Tamura, K. **MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms**. Molecular Biology and Evolution, 2018.
- Laprairie, R, B.; Kelly, M, E, M.; Denovan-Wright, E, M. **The dynamic nature of type 1 cannabinoid receptor (CB<sub>1</sub>) gene transcription**. British Journal of Pharmacology, 2012.
- Larcombe, S, D.; Tregaskes, C, A.; Coffey, J.; Stevenson, A, E.; Alexander, L, G.; Arnold, K, E. **Oxidative stress, activity behaviour and body mass in captive parrots**. Conservation Physiology, 2015.
- Laskowski, R, A.; Macarthur, M, W.; Moss, D, S.; Thornton, J, M. **PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures**. Journal of Applied Crystallography, 1993.
- Laurella, L, C.; Moglioni, A, G.; Martini, M, F. **Molecular study of endo and phytocannabinoids on lipid membranes of different composition**. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2023.

- Lee, W.; Park, S. J.; Hwang, J.Y.; Hur, K. H.; Lee, Y. S.; Kim, J.; Zhao, X.; Park, A.; Min, K. H.; Jang, C. G.; Park, H. J. **QSAR Model for Predicting the Cannabinoid Receptor 1 Binding Affinity and Dependence Potential of Synthetic Cannabinoids**. *Molecules*, 2020.
- Lewis, M. M.; Yang, Y.; Wasilewski, E.; Clarke, H. A.; Kotra, L. P. **Chemical Profiling of Medical Cannabis Extracts**. *ACS Omega Journal*, 2017.
- Li, H.; Sun, X.; Cui, W.; Xu, M.; Dong, J.; Ekundayo, B. E.; Ni, D.; Rao, Z.; Guo, L.; Stahlberg, H.; Yuan, S.; Vogel, H. **Computational drug development for membrane protein targets**. *Nature Biotechnology*, 2024.
- Liao, Y-Y.; Zhang, H.; Shen, Q.; Cai, C.; Ding, Y.; Shen, D-D.; Guo, J.; Qin, J.; Dong, Y.; Zhang, Y.; Li, X-M. **Snapshot of the cannabinoid receptor 1-arrestin complex unravels the biased signaling mechanism**. *Cell*, 2023.
- Liu, Q.; Zhang, Y.; Li, H.; Gao, H.; Zhou, Y.; Luo, D.; Shan, Z.; Yang, Y.; Weng, J.; Li, Q.; Yang, W.; Li, X. **Squalene epoxidase promotes the chemoresistance of colorectal cancer via (S)-2,3-epoxysqualene-activated NF-Kb**. *Cell Communication and Signaling*, 2024.
- Lopes, A. R. S.; Rocha, M. S.; Mesquita, W. U.; Drumond, T.; Ferreira, N. F.; Camargos, R. A. L.; Vilela, D. A. R.; Azevedo, C. S. **Translocation and Post-Release Monitoring of Captive-Raised Blue-fronted Amazons *Amazona aestiva***. *Acta Ornithologica*, 2018.
- Lutz, B. **Molecular biology of cannabinoid receptors**. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2002.
- Lynch, D. L.; Reggio, P. H. **Cannabinoid CB1 receptor recognition of endocannabinoids via the lipid bilayer: molecular dynamics simulations of CB1 transmembrane helix 6 and anandamide in a phospholipid bilayer**. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 2006.
- Marietto-Gonçalves, G. A. **Manual de Emergências Aviárias: Segunda Edição**. Editora MedVet, 2016.
- Mcpartland, J. M. ***Cannabis sativa* and *Cannabis indica* versus “Sativa” and “Indica”**. In: *Cannabis sativa* L. - Botany and Biotechnology. Chandra, S.; Lata, H.; Elsohly, M. A. Springer, 2017.
- Mcpartland, J. M. ***Cannabis* Systematics at the Levels of Family, Genus, and Species**. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 2018.

- Mechoulam, R.; Parker, L, A. **The endocannabinoid system and the brain.** Annual Review of Psychology, 2013.
- Mendonça-Furtado, O.; Ottoni, E, B. **Learning generalization in problem solving by a blue-fronted parrot (*Amazona aestiva*).** Animal Cognition, 2008.
- Miller, N, J.; Sampson, J.; Candeias, L, P.; Bramley, P, M.; Rice-Evans, C, A. **Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls.** FEBS Letters, 1996.
- Mizera, M.; Latek, D.; Cielecka-Piontek, J. **Virtual Screening of *C. Sativa* Constituents for the Identification of Selective Ligands for Cannabinoid Receptor 2.** International Journal of Molecular Sciences, 2020.
- 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, 2005.
- Montgomery, M, K.; Hulbert, A, J.; Buttemer, W, A. **Metabolic rate and membrane fatty acid composition in birds: a comparison between long-living parrots and short-living fowl.** Journal of Comparative Physiology B, 2012.
- Morales, P.; Bruix, M.; Jiménez, M, A. **Structural Insights into  $\beta$ -arrestin/CB1 Receptor Interaction: NMR and CD Studies on Model Peptides.** International Journal of Molecular Sciences, 2020.
- Munro, S.; Thomas, K, L.; Abu-Shaar, N. **Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids.** Nature, 1993.
- Nascimento, D, C.; Paula, C, R.; Ruiz, L, S.; Domaneschi, C.; Navarro, B, S.; Baroni, Orsi, R, B.; Melhem, M, S, C.; Jr-Leite, D, P. ***Cryptococcus albidus* var. *albidus* Isolated from Turquoise Fronted Parrots (*Amazona aestiva*: *Psittacidae*) Kept in Captivity: A Probable Reservoir Ecological of Fungal Specimen.** Journal of Veterinary Science & Technology, 2017.
- Neijat, M.; Suh, M.; Neufeld, J.; House, J, D. **Increasing Levels of Dietary Hempseed Products Leads to Differential Responses in the Fatty Acid Profiles of Egg Yolk, Liver and Plasma of Laying Hens.** Lipids, 2016.
- Nosé, S. **A molecular dynamics method for simulations in the canonical ensemble.** Molecular Physics, 1984.

- Olkowicz, S.; Kocourek, M.; Lučan, R, K.; Porteš, M.; Fitch, W, T.; Herculano-Houzel, S.; Němec, P. **Birds have primate-like numbers of neurons in the forebrain.** Proceedings of the National Academy of Sciences, 2016.
- Oswald, I, W, H.; Paryani, T, R.; Sosa, M, E.; Ojeda, M, A.; Altenbernd, M, R.; Grandy, J, A.; Shafer, N, S.; Ngo, K.; Peat Iii, J, R.; Melshenker, B, G.; Skelly, I.; Koby, K, A.; Page, M, F, Z.; Martin, T, J. **Minor, Non-Terpenoid Volatile Compounds Drive the Aroma Differences of Exotic *Cannabis*.** ACS Omega, 2023.
- Paiva, D. **DIAMBA: Histórias do Proibicionismo no Brasil.** Editora Brasa, 2023.
- Parrinello, M.; Rahman, A. **Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method.** Journal of Applied Physics, 1981.
- Paula, V, V.; Fantoni, D, T.; Otsuki, D, A.; Auler Júnior, J, O, C. **Blood-gas and electrolyte values for Amazon parrots (*Amazona aestiva*).** Pesquisa Veterinária Brasileira, 2008.
- Paula, V, V.; Otsuki, D, A.; Auler Júnior, J, O, C.; Nunes, T, L.; Ambrósio, A, M.; Fantoni, D, T. **The effect of premedication with ketamine, alone or with diazepam, on anaesthesia with sevoflurane in parrots (*Amazona aestiva*).** BMC Veterinary Research, 2013.
- Pertwee, R, G. **Cannabinoid pharmacology: the first 66 years.** British Journal Pharmacology, 2006.
- Pertwee, R, G. **Cannabinoid receptor ligands: clinical and neuropharmacological considerations, relevant to future drug discovery and development.** Expert Opinion on Investigational Drugs, 2000.
- Pollastro, F.; Minassi, A.; Fresu, L, G. **Cannabis Phenolics and their Bioactivities.** Current Medicinal Chemistry, 2018.
- Radwan, M, M.; Chandra, S.; Gul, S.; Elsohly, M, A. **Cannabinoids, Phenolics, Terpenes and Alkaloids of Cannabis.** Molecules, 2021.
- Radwan, M, M.; Elsohly, M, A.; Slade, D.; Ahmed, S, A.; Khan, I, A.; Ross, S, A. **Biologically Active Cannabinoids from High-Potency *Cannabis sativa*.** ACS Publications, 2009.
- Ramachandran, G, N.; Ramakrishnan, C.; Sasisekharan, V. **Stereochemistry of polypeptide chain configurations.** Journal of Molecular Biology, 1963.

Renne, M, F.; Ernst, R. **Membrane homeostasis beyond fluidity: control of membrane compressibility.** Trends in Biochemical Sciences, 2023.

Ritter, D, V, M.; Zadik-Weiss, L.; Almogi-Hazan, O.; Or, R. **Cannabis, One Health, and Veterinary Medicine: Cannabinoids' Role in Public Health, Food Safety, and Translational Medicine.** Rambam Maimonides Medical Journal, 2020.

Rodrigues, R, P.; Mantoani, S, P.; De Almeida, J, R.; Pinsetta, F, R.; Semighini, E, P.; Da Silva, V, B.; Da Silva, C, H, P. **Estratégias de Triagem Virtual no Planejamento de Fármacos.** Revista Virtual de Química, 2012.

Sabbadin, D.; Moro, S. **Supervised Molecular Dynamics (SuMD) as a Helpful Tool To Depict GPCR–Ligand Recognition Pathway in a Nanosecond Time Scale.** Journal of Chemical Information and Modeling, 2014.

Sarkar, A.; Mitra, A.; Borics, A. **All-Atom Molecular Dynamics Simulations Indicated the Involvement of a Conserved Polar Signaling Channel in the Activation Mechanism of the Type I Cannabinoid Receptor.** International Journal of Molecular Sciences.

Saumell-Esnaola, M.; Elejaga-Jimeno, A.; Echeazarra, L.; Borrega-Román, L.; Barrondo, S.; De Jesús, M, L.; González-Burguera, I.; Gómez-Sampson, P, B. **Phytocannabinoid Pharmacology: Medicinal Properties of *Cannabis sativa* Constituents Aside from the “Big Two”.** Journal of Natural Products, 2020.

Savarese, A, N.; Berg, K, J.; Paulsen, D, B.; Sasaki, E.; Stewart, M.; Gaschen, L, E.; Jowett, P, L.; Tully Jr., T, N. **Unusual Pathologic Brain Changes Associated with Zinc Toxicosis in a Blue-Fronted Amazon Parrot (*Amazona aestiva*).** Avian Diseases Journal, 2020.

Seixas, G, H, F.; Mourão, G. **A long-term study indicates that tree clearance negatively affects fledgling recruitment to the Blue-fronted Amazon (*Amazona aestiva*) population.** PLoS One, 2022.

Sejdiu, B, I.; Tieleman, D, P. **Lipid-Protein Interactions Are a Unique Property and Defining Feature of G Protein-Coupled Receptors.** Biophysical Journal, 2020.

Sengupta, D.; Prasanna, X.; Mohole, M.; Chattopadhyay, A. **Exploring GPCR–Lipid Interactions by Molecular Dynamics Simulations: Excitements, Challenges, and the Way Forward.** The Journal of Physical Chemistry B, 2018.

- Seo, S.; Murata, M.; Shinoda, W. **Pivotal Role of Interdigitation in Interleaflet Interactions: Implications from Molecular Dynamics Simulations.** The Journal of Physical Chemistry Letters, 2020.
- Shahbazi, F.; Grandi, V.; Banerjee, A.; Trant, J, F. **Cannabinoids and Cannabinoid Receptors: The Story so Far.** iScience, 2020.
- Shao, Z.; Yan, W.; Chapman, K.; Ramesh, K.; Ferrell, A, J.; Yin, J.; Wang, X.; Xu, Q.; Rosenbaum, D, M. **Structure of an allosteric modulator bound to the CB1 cannabinoid receptor.** Nature Chemical Biology, 2019.
- Sharma, C.; Sadek, B.; Goyal, S, N.; Sinha, S.; Kamal, M, A.; Ojha, S. **Small Molecules from Nature Targeting G-Protein Coupled Cannabinoid Receptors: Potential Leads for Drug Discovery and Development.** Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015.
- Shete, S, S.; Mondal, A, K.; Reddy, D, S. **Total Synthesis of the Dimeric Phytocannabinoid Cannabitwinol (CBD Dimer) and Its Analogues.** Journal of Natural Products, 2024.
- Shim, J-Y.; Ahn, K, H.; Kendall, D, A. **Molecular Basis of Cannabinoid CB1 Receptor Coupling to the G Protein Heterotrimer  $G\alpha\beta\gamma$ .** Journal of Biological Chemistry, 2013.
- Silver, R, J. **The Endocannabinoid System of Animals.** Animals, 2019.
- Silver, R, J. **The Endocannabinoid System and Endocannabinoidome.** Em: Cannabis Therapy in Veterinary Medicine: A Complete Guide. CITAL, S.; KRAMER, K.; HUGHSTON, L.; GAYNOR, J, S. (editors). Springer Cham, 2021.
- Simeï, J, L, Q.; Souza, J, D, R.; Lisboa, J, R.; Campos, A, C.; Guimarães, F, S.; Zuardi, A.; Crippa, J, A, S. **Does the “Entourage Effect” in Cannabinoids Exist? A Narrative Scoping Review.** Cannabis and Cannabinoid Research, 2024.
- Smeds, A, I.; Eklund, P, C.; Willför, S, M. **Content, composition, and stereochemical characterisation of lignans in berries and seeds.** Food Chemistry, 2012.
- Schmitt, S, E.; Neves, G, B.; Withoeft, J, A.; Costa, L, S.; Biezus, G.; Pagani, R, S.; Miletto, L, C.; Costa, U, M.; Casagrande, R, A. **Parrot bornaviruses in psittacines kept in captivity in the state of Santa Catarina, Brazil.** Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 2024.

Sosa-Higareda, M.; Guzman, D, S-M.; Knych, H.; Lyubimov, A.; Zakharov, A.; Gomez, B.; Beaufrère, H. **Twice-daily oral administration of a cannabidiol and cannabidiolic acid-rich hemp extract was well tolerated in orange-winged Amazon parrots (*Amazona amazonica*) and has a favorable pharmacokinetic profile.** American Journal of Veterinary Research, 2023.

Studer, G.; Rempfer, C.; Waterhouse, A, M.; Gumienny, R.; Haas, J.; Schwede, T. **QMEANDisCo-distance constraints applied on model quality estimation.** Bioinformatics, 2020.

Stryker, Z.; Castillo-Arellano, J, I.; Cutler, S, J.; Wyatt, M, D.; León, F. **Semi-Synthesis of Dimeric Cannabidiol Derivatives and Evaluation of their Affinity at Neurological Targets.** Journal of Natural Products, 2025.

Takamori, S.; Holt, M.; Stenius, K.; Lemke, E, A.; Grønborg, M.; Riedel, D.; Urlaub, H.; Schenck, S.; Brügger, B.; Ringler, F.; Müller, S, A.; Rammner, B.; Gräter, F.; Hub, J, S.; De Groot, B, L.; Mieskes, G.; Moriyama, Y.; Klingauf, J.; Grubmüller, H.; Heuser, J.; Wieland, F.; Jahn, R. **Molecular Anatomy of a Trafficking Organelle.** Cell, 2006.

Tiburu, E, K.; Gulla, S, V.; Tiburu, M.; Janero, D, R.; Budil, D, E.; Makriyannis, A. **Dynamic Conformational Responses of a Human Cannabinoid Receptor-1 Helix Domain to Its Membrane Environment.** Biochemistry, 2009.

Tignani, M, V.; Secci, G.; Angelucci, E.; Medeiros, A, C, L.; Rodriguez, L, F, P.; Mancinelli, A, C.; Mattioli, S.; Parisi, G.; Castellini, C.; Dal Bosco, A. **Dietary Inclusion of Hemp Seeds (*Cannabis Sativa* Var. Carmagnola) Affected Live Weight, Quality, and Oxidative Status of Breast, Thigh and Liver of Naked-Neck Kabir Chickens.** Italian Journal of Animal Science, 2024.

Toft, C, A.; Wright, T, F. **Parrots of the Wild: A Natural History of the World's Most Captivating Birds.** University of California Press, Berkeley, CA, USA, 2015.

Turner, N.; Else, P, L.; Hulbert, A, J. **An allometric comparison of microsomal membrane lipid composition and sodium pump molecular activity in the brain of mammals and birds.** Journal of Experimental Biology, 2005.

Turner, P, J. **XMGRACE: An Open Source 2D Plotting Tool.** XMGRACE, 2005. Disponível em: <http://plasma-gate.weizmann.ac.il/Grace/>. Acesso em: 17 dez. 2024.

Verma, R.; Hoda, F.; Arshad, M.; Iqbal, A.; Siddiqui, A. N.; Khan, M. A.; Haque, S. E.; Akhtar, M.; Najmi, A. K. **Cannabis, a Miracle Drug with Polyvalent Therapeutic Utility: Preclinical and Clinical-Based Evidence.** Medical Cannabis and Cannabinoids, 2021.

Waterhouse, A. M.; Bertoni, M.; Bienert, S.; Studer, G.; Tauriello, G.; Gumienny, R.; Heer, F. T.; De Beer, T. A. P.; Rempfer, C.; Bordoli, L.; Lepore, R.; Schwede, T. **SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes.** Nucleic Acids Research, 2018.

Waterhouse, A. M.; Studer, G.; Robin, X.; Bienert, S.; Tauriello, G.; Schwede, T. **The Structure Assessment web server: for proteins, complexes and more.** Nucleic Acids Research, 2024.

Wirthlin, M.; Lima, N. C. B.; Guedes, R. L. M.; Soares, A. E. R.; Almeida, L. G. P.; Cavaleiro, N. P.; Morais, G. L.; Chaves, A. V.; Howard, J. T.; Teixeira, M. M.; Schneider, P. N.; Santos, F. R.; Schatz, M. C.; Felipe, M. S.; Miyaki, C. Y.; Aleixo, A.; Schneider, M. P. C.; Jarvis, E. D.; Vasconcelos, A. T. R.; Prosdocimi, F.; Mello, C. V. **Parrot Genomes and the Evolution of Heightened Longevity and Cognition.** Current Biology, 2018.

Wishart, D. S.; Inchehborouni, G.; Cao, X.; Guo, A. C.; Hiebert, G. M.; Levatte, M.; Liigand, J.; Wang, F.; Bhumireddy, S.; Wang, Y.; Zhang, J.; Mandal, R.; Dyck, J. **Chemical composition of *Cannabis*.** (Manuscript in Preparation).

Wu, Y.; Li, X.; Hua, T.; Liu, Z.-J.; Liu, H.; Zhao, S. **MD Simulations Revealing Special Activation Mechanism of Cannabinoid Receptor 1.** Frontiers in Molecular Biosciences, 2022.

Yan, N.; Liu, Y.; Gong, D.; Du, Y.; Zhang, H.; Zhang, Z. **Solanesol: a review of its resources, derivatives, bioactivities, medicinal applications, and biosynthesis.** Phytochemistry Reviews, 2015.

Yan, X.; Tang, J.; Passos, C. S.; Nurisso, A.; Simões-Pires, C. A.; Ji, M.; Lou, H.; Fan, P. **Characterization of Lignanamides from Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed and Their Antioxidant and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015.

Yang, H.; Zhou, J.; Lehmann, C. **GPR55 – a putative “type 3” cannabinoid receptor in inflammation.** Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology, 2015.

Yang, X.; Wang, X.; Xu, Z.; Wu, C.; Zhou, Y.; Wang, Y.; Lin, G.; Li, K.; Wu, M.; X, A.; Liu, J.; Cheng, L.; Zou, J.; Yan, W.; Shao, Z.; Yang, S. **Molecular mechanism of allosteric modulation for the cannabinoid receptor CB1**. Nature Chemical Biology, 2022.

Zhang, L-N.; Huang, Y-H.; Liu, H.; Li, L-X.; Bai, X.; Yang, G-D. **Molecular detection of bornavirus in parrots imported to China in 2022**. BMC Veterinary Research, 2023.

Zhou, Y.; Wang, S.; Ji, J.; Lou, H.; Fan, P. **Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed Phenylpropionamides Composition and Effects on Memory Dysfunction and Biomarkers of Neuroinflammation Induced by Lipopolysaccharide in Mice**. ACS Omega, 2018.

Zou, Y.; Ewalt, J.; Ng H-L. **Recent Insights from Molecular Dynamics Simulations for G Protein-Coupled Receptor Drug Discovery**. International Journal of Molecular Sciences, 2019.

Zulficar, F.; Ross, S, A.; Slade, D.; Ahmed, S, A.; Radwan, M, M.; Ali, Z.; Khan, I, A.; Elsohly, M, A. **Cannabisol, a novel  $\Delta^9$ -THC dimer possessing a unique methylene bridge, isolated from *Cannabis sativa***. Tetrahedron Letters, 2012.

## 9. APÊNDICE A

**Resultados da triagem virtual (SBVS) realizada para o receptor CB1 de *Amazona aestiva*, utilizando um conjunto de 567 fitocanabinoides mais o canabinoide sintético CP55,940 (destacado em vermelho).**

| Nº | ID        | Nome comum (inglês)                                                                                                                                                             | ΔG      |
|----|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1  | CDB000774 | <b>Cannabisin O</b>                                                                                                                                                             | -108.83 |
| 2  | CDB56     | <b>Cannabitwinol (THCD)</b>                                                                                                                                                     | -99.16  |
| 3  | CDB01     | <b>Cannabisol (CBDD)</b>                                                                                                                                                        | -91.80  |
| 4  | CDB005226 | <b>Solanesyl-diphosphate</b>                                                                                                                                                    | -85.43  |
| 5  | CDB19     | <b>α-cadinyl cannabigerolate</b>                                                                                                                                                | -81.27  |
| 6  | CDB000772 | <b>Cannabisin M</b>                                                                                                                                                             | -78.88  |
| 7  | CDB000346 | <b>Xanthophyll</b>                                                                                                                                                              | -74.66  |
| 8  | CDB000345 | <b>Carotene</b>                                                                                                                                                                 | -73.93  |
| 9  | CDB004889 | <b>(S)-2,3-Epoxy-squalene</b>                                                                                                                                                   | -72.47  |
| 10 | CDB000771 | <b>Cannabisin F</b>                                                                                                                                                             | -72.16  |
| 11 | CDB000775 | <b>Grossamide</b>                                                                                                                                                               | -72.04  |
| 12 | CDB005225 | <b>Squalene</b>                                                                                                                                                                 | -71.35  |
| 13 | CDB000778 | <b>3,3'-Demethyl-heliotropamide</b>                                                                                                                                             | -71.22  |
| 14 | CDB000770 | <b>Cannabisin E</b>                                                                                                                                                             | -71.05  |
| 15 | CDB000224 | <b>Phylloquinone</b>                                                                                                                                                            | -70.29  |
| 16 | CDB000221 | <b>Friedelanol</b>                                                                                                                                                              | -70.21  |
| 17 | CDB005048 | <b>Soyasapogenol B</b>                                                                                                                                                          | -70.11  |
| 18 | CDB50     | <b>4-terpenyl-Δ9-tetrahydrocannabinolate</b>                                                                                                                                    | -69.38  |
| 19 | CDB000100 | <b>Friedelin</b>                                                                                                                                                                | -69.31  |
| 20 | CDB000347 | <b>Cannabisin D</b>                                                                                                                                                             | -69.13  |
| 21 | CDB000768 | <b>Cannabisin G</b>                                                                                                                                                             | -68.99  |
| 22 | CDB005049 | <b>Rebaudioside A</b>                                                                                                                                                           | -68.94  |
| 23 | CDB005316 | <b>Camelliol C</b>                                                                                                                                                              | -68.87  |
| 24 | CDB005331 | <b>4,4-Dimethyl-5α-cholesta-8-en-3β-ol</b>                                                                                                                                      | -68.78  |
| 25 | CDB004977 | <b>α-Tocotrienol</b>                                                                                                                                                            | -68.77  |
| 26 | CDB05     | <b>β-amyrin</b>                                                                                                                                                                 | -67.61  |
| 27 | CDB16     | <b>α-fenchyl-Δ9-tetrahydrocannabinolate</b>                                                                                                                                     | -67.49  |
| 28 | CDB005328 | <b>24,25-Dihydrolanosterol</b>                                                                                                                                                  | -66.88  |
| 29 | CDB005038 | <b>γ-Tocotrienol</b>                                                                                                                                                            | -66.76  |
| 30 | CDB006176 | <b>Stigmasterol</b>                                                                                                                                                             | -66.73  |
| 31 | CDB004899 | <b>Lanosterol</b>                                                                                                                                                               | -66.27  |
| 32 | CDB000773 | <b>Cannabisin N</b>                                                                                                                                                             | -65.88  |
| 33 | CDB000289 | <b>7-keto-β-Sitosterol</b>                                                                                                                                                      | -65.67  |
| 34 | CDB000777 | <b>(2,3-trans)-3-(3-hydroxy-5-methoxyphenyl)-N-(4-hydroxyphenethyl)-7-[(E)-3-[(4-hydroxyphenethyl)amino]-3-oxoprop-1-enyl]-2,3-dihydro-benzo [b] [1,4]dioxine-2-carboxamide</b> | -65.59  |
| 35 | CDB005004 | <b>all-trans-Hexaprenyl diphosphate</b>                                                                                                                                         | -65.54  |
| 36 | CDB000111 | <b>Stigmasta-4,22-dien-3-one</b>                                                                                                                                                | -65.39  |

|    |                  |                                                      |               |
|----|------------------|------------------------------------------------------|---------------|
| 37 | CDB004979        | <b>β-Tocopherol</b>                                  | -65.38        |
| 38 | CDB000391        | <b>Vitamin K</b>                                     | -65.21        |
| 39 | CDB000769        | <b>Cannabisin C</b>                                  | -65.16        |
| 40 | CDB000767        | <b>Cannabisin B</b>                                  | -65.15        |
| 41 | CDB004944        | <b>Δ-Tocopherol</b>                                  | -65.01        |
| 42 | CDB005338        | <b>Avenasterol</b>                                   | -64.88        |
| 43 | CDB000183        | <b>Sitosterol</b>                                    | -64.69        |
| 44 | CDB005003        | <b>all-trans-Heptaprenyl diphosphate</b>             | -64.42        |
| 45 | CDB000766        | <b>Cannabisin A</b>                                  | -64.21        |
| 46 | CDB000288        | <b>Stigmasta-5,22-dien-3β-ol-7-one</b>               | -64.10        |
| 47 | CDB004919        | <b>γ-Tocopherol</b>                                  | -63.67        |
| 48 | CDB000286        | <b>campest-5-en-3β-ol-7-one</b>                      | -63.54        |
| 49 | CDB005220        | <b>Phylloquinol</b>                                  | -63.53        |
| 50 | CDB005333        | <b>Obtusifoliol</b>                                  | -63.49        |
| 51 | CDB004988        | <b>5-Dehydroavenasterol</b>                          | -63.42        |
| 52 | CDB000062        | <b>Campesterol</b>                                   | -63.33        |
| 53 | CDB005330        | <b>4,4-Dimethyl-5α-cholesta-8,24-dien-3-b-ol</b>     | -62.76        |
| 54 | CDB005332        | <b>Cycloartenol</b>                                  | -62.57        |
| 55 | CDB000287        | <b>5α-Stigmasta-7,24(28)-dien-3β-ol</b>              | -62.37        |
| 56 | CDB005219        | <b>Demethylphylloquinone</b>                         | -62.37        |
| 57 | CDB005340        | <b>4α-Methylzymosterol-4-carboxylic acid</b>         | -62.13        |
| 58 | CDB005053        | <b>2-Methyl-6-phytylhydroquinone</b>                 | -62.12        |
| 59 | CDB005314        | <b>Presqualene diphosphate</b>                       | -62.12        |
| 60 | CDB000776        | <b>3,3'-Demethyl-grossamide</b>                      | -61.46        |
| 61 | CDB000290        | <b>Stigmast-4-en-3-one</b>                           | -60.59        |
| 62 | CDB23            | <b>Sesquicannabigerol</b>                            | -58.91        |
| 63 | CDB000342        | <b>Orientin-7-o-rhamnoglucoside</b>                  | -58.75        |
| 64 | CDB005050        | <b>Steviobioside</b>                                 | -58.54        |
| 65 | CDB000742        | <b>Cannflavin A</b>                                  | -58.20        |
| 66 | CDB000744        | <b>Cannflavin C</b>                                  | -57.16        |
| 67 | <b>PDB: 7WV9</b> | <b>CP55,940</b>                                      | <b>-56.62</b> |
| 68 | CDB000334        | <b>Apigenin-7-o-p-coumarylglucoside</b>              | -55.63        |
| 69 | CDB03            | <b>Δ9-tetrahydrocannabiphorol (Δ9-THCP)</b>          | -53.67        |
| 70 | CDB41            | <b>Δ8-tetrahydrocannabinol (Δ8-THC)</b>              | -53.21        |
| 71 | CDB000337        | <b>Isovitexin 7-O-glucoside 2''-O-arabinoside</b>    | -51.59        |
| 72 | CDB06            | <b>Cannabidihexol (CBDH)</b>                         | -51.52        |
| 73 | CDB000791        | <b>2''-o-Glucopyranosylvitexin</b>                   | -51.49        |
| 74 | CDB07            | <b>Δ9-tetrahydrocannabidihexol (Δ9-THCH)</b>         | -51.46        |
| 75 | CDB32            | <b>(±)-4-acetoxycannabichromene</b>                  | -51.15        |
| 76 | CDB000424        | <b>Cannabielsoic acid B</b>                          | -50.97        |
| 77 | CDB13            | <b>(-)-7R-cannabicourmarone</b>                      | -50.89        |
| 78 | CDB000011        | <b>Cannabigerolic acid monomethylether</b>           | -50.75        |
| 79 | CDB27            | <b>10α-hydroxy-Δ9'11-hexahydrocannabinol</b>         | -50.56        |
| 80 | CDB000042        | <b>Cannabichromene monomethylether</b>               | -50.48        |
| 81 | CDB000341        | <b>Orientin-7-o-glucoside</b>                        | -50.38        |
| 82 | CDB000034        | <b>10-Ethoxy-9-hydroxy-Δ-6a-tetrahydrocannabinol</b> | -50.29        |

|     |           |                                                                     |        |
|-----|-----------|---------------------------------------------------------------------|--------|
| 83  | CDB000751 | 3,4'-Dihydroxy-5,3'-dimethoxy-5' isoprenyl bibenzyl                 | -50.28 |
| 84  | CDB000017 | $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinolic acid B                           | -50.23 |
| 85  | CDB35     | Cannabioxepane                                                      | -50.07 |
| 86  | CDB000007 | Cannabichromene (CBC)                                               | -50.07 |
| 87  | CDB000328 | 3-[2-(3-Isoprenyl-4-hydroxy-5-methoxy-phenyl)ethyl]-5-methoxyphenol | -50.01 |
| 88  | CDB000025 | Cannabicyclolic acid (CBLA)                                         | -49.93 |
| 89  | CDB47     | 3-hydroxy- $\Delta^4,5$ -cannabichromene                            | -49.72 |
| 90  | CDB000027 | Cannabielsoin (CBE)                                                 | -49.60 |
| 91  | CDB000004 | Cannabigerol monomethylether                                        | -49.54 |
| 92  | CDB000344 | Vitexin-4'-o-rhamnoglucoside                                        | -49.53 |
| 93  | CDB000339 | Isovitexin-7-o-rhamnoglucoside                                      | -49.49 |
| 94  | CDB46     | (9S)-hexahydrocannabinol                                            | -49.39 |
| 95  | CDB000041 | $\Delta^1(2)$ -Tetrahydrocannabinol methylether                     | -49.28 |
| 96  | CDB000335 | Apigenin-7-o-glucoside                                              | -49.13 |
| 97  | CDB000039 | 6a,7,10a-Trihydroxy- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol               | -48.99 |
| 98  | CDB31     | (-)-7-hydroxycannabichromane                                        | -48.81 |
| 99  | CDB000048 | Phytol                                                              | -48.69 |
| 100 | CDB000398 | Cannabichromenic acid (CBCA)                                        | -48.57 |
| 101 | CDB15     | $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinolate                                 | -48.46 |
| 102 | CDB000029 | Cannabinol (CBN)                                                    | -48.45 |
| 103 | CDB000003 | Cannabigerol (CBG)                                                  | -48.44 |
| 104 | CDB48     | 6',7'-epoxycannabigerol                                             | -48.41 |
| 105 | CDB000030 | Cannabinol methylether                                              | -48.41 |
| 106 | CDB04     | Cannabidiphorol (CBDP)                                              | -48.33 |
| 107 | CDB000440 | Dehydrocannabifuran                                                 | -48.24 |
| 108 | CDB29     | 5-acetyl-4-hydroxycannabigerol                                      | -48.23 |
| 109 | CDB44     | Tetrahydrocannabinol acetate                                        | -48.22 |
| 110 | CDB000441 | Cannabifuran (CBF)                                                  | -48.22 |
| 111 | CDB000023 | $\Delta^8$ -tetrahydrocannabinolic acid                             | -48.16 |
| 112 | CDB33     | ( $\pm$ )-3''-hydroxy- $\Delta^4(4'',5'')$ cannabichromene          | -48.06 |
| 113 | CDB20     | Cannabigerolate                                                     | -48.04 |
| 114 | CDB000012 | Cannabidiol monomethylether                                         | -47.98 |
| 115 | CDB25     | 4-acetoxy-2-geranyl-5-hydroxy-3-n-pentylphenol                      | -47.96 |
| 116 | CDB000001 | $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC)                 | -47.87 |
| 117 | CDB000024 | $\Delta^8$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^8$ -THC)                 | -47.87 |
| 118 | CDB005237 | ent-16-Kauren-19-ol                                                 | -47.53 |
| 119 | CDB17     | 11-hydroxy- $\Delta^8$ -tetrahydrocannabinol                        | -47.38 |
| 120 | CDB000752 | Canniprene                                                          | -47.28 |
| 121 | CDB000036 | Cannabicitran (CBTC)                                                | -46.79 |
| 122 | CDB55     | Cannabichromanone-D                                                 | -46.73 |
| 123 | CDB000035 | 8,9-Dihydroxy- $\Delta^6$ a-tetrahydrocannabinol                    | -46.61 |
| 124 | CDB000433 | Cannabinodiol (CBND)                                                | -46.56 |
| 125 | CDB02     | Cannabiglendol                                                      | -46.24 |
| 126 | CDB000338 | Isovitexin- 4'-o-glucoside                                          | -46.00 |
| 127 | CDB14     | 11-hydroxycannabinol                                                | -45.93 |

|     |           |                                                       |        |
|-----|-----------|-------------------------------------------------------|--------|
| 128 | CDB30     | 5-acetoxy-6-geranyl-3-n-pentyl-1,4-benzoquinone       | -45.90 |
| 129 | CDB000028 | Cannabinolic acid                                     | -45.90 |
| 130 | CDB000037 | 10-Oxo- $\Delta$ -6a-tetrahydrocannabinol             | -45.81 |
| 131 | CDB18     | 11-hydroxy- $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol           | -45.80 |
| 132 | CDB000439 | Ethoxy-cannabitriolvarin                              | -45.79 |
| 133 | CDB000745 | Isocannflavin B                                       | -45.76 |
| 134 | CDB39     | 8-hydroxycannabinolic acid A                          | -45.75 |
| 135 | CDB10     | Cytiside                                              | -45.71 |
| 136 | CDB000040 | 2-Oxo- $\Delta$ 3(4)-tetrahydrocannabinol             | -45.70 |
| 137 | CDB000016 | $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinolic acid A              | -45.69 |
| 138 | CDB000026 | Cannabicyclol                                         | -45.52 |
| 139 | CDB51     | 7-hydroxycannabidiol                                  | -45.26 |
| 140 | CDB000010 | Cannabidiolic acid                                    | -45.16 |
| 141 | CDB000477 | Cannabistilbene I                                     | -45.03 |
| 142 | CDB000790 | 2''-o-Glucopyranosylorientin                          | -44.92 |
| 143 | CDB000038 | $\Delta$ 9-cis-tetrahydrocannabinol                   | -44.86 |
| 144 | CDB005834 | Isotetrahydrocannabinol                               | -44.82 |
| 145 | CDB000020 | $\Delta$ 9-tetrahydrocannabivarinic acid              | -44.76 |
| 146 | CDB000447 | Cannabiripsol                                         | -44.75 |
| 147 | CDB45     | (9R)-hexahydrocannabinol                              | -44.70 |
| 148 | CDB000435 | Cannabitriol (CBT)                                    | -44.64 |
| 149 | CDB28     | 10 $\alpha$ -hydroxy- $\Delta$ 8-tetrahydrocannabinol | -44.59 |
| 150 | CDB000343 | Vitexin-7-o-(6'-glucoside)                            | -44.53 |
| 151 | CDB52     | $\Delta$ 6-cannabidiol                                | -44.52 |
| 152 | CDB000738 | Vitexin                                               | -44.52 |
| 153 | CDB000743 | Cannflavin B                                          | -44.40 |
| 154 | CDB000018 | Cannabigerolic acid                                   | -44.32 |
| 155 | CDB000226 | (+)-Pinoresinol                                       | -44.30 |
| 156 | CDB000002 | Cannabidiol (CBD)                                     | -44.26 |
| 157 | CDB000422 | Cannabicyclovarin (CBLV)                              | -44.05 |
| 158 | CDB12     | nor-cannabichromene                                   | -43.96 |
| 159 | CDB53     | 4'-fluorocannabidiol                                  | -43.92 |
| 160 | CDB08     | Cannabimovone (CBM)                                   | -43.89 |
| 161 | CDB21     | Carmagerol                                            | -43.61 |
| 162 | CDB40     | 8-hydroxycannabinol                                   | -43.61 |
| 163 | CDB24     | 2-geranyl-5-hydroxy-3-n-pentyl-1,4-benzoquinone       | -43.41 |
| 164 | CDB005238 | ent-16-Kauren-19-al                                   | -43.38 |
| 165 | CDB005071 | Salvigenin                                            | -43.23 |
| 166 | CDB000019 | $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol-C4                    | -43.14 |
| 167 | CDB000225 | (+)-lariciresinol                                     | -43.13 |
| 168 | CDB22     | Cannabicoumaronone                                    | -43.11 |
| 169 | CDB000031 | Cannabinol-C4                                         | -42.98 |
| 170 | CDB000009 | Cannabichromevarin (CBCV)                             | -42.95 |
| 171 | CDB000022 | $\Delta$ 7-cis-iso-tetrahydrocannabivarin             | -42.95 |
| 172 | CDB000234 | Anhydrocannabisativine                                | -42.89 |
| 173 | CDB11     | Flavosativaside (Vitexin 2''-O- $\beta$ -D-glucoside) | -42.86 |

|     |           |                                                                                |        |
|-----|-----------|--------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 174 | CDB000043 | <b>8,9-Dihydrocannabidiol</b>                                                  | -42.84 |
| 175 | CDB26     | <b>Tetrahydrocannabivarol</b>                                                  | -42.76 |
| 176 | CDB000008 | <b>Cannabichromevarinic acid</b>                                               | -42.69 |
| 177 | CDB000340 | <b>Cynaroside</b>                                                              | -42.54 |
| 178 | CDB43     | <b>6-prenylapigenin</b>                                                        | -42.52 |
| 179 | CDB000312 | <b>Farnesyl acetone</b>                                                        | -42.51 |
| 180 | CDB000434 | <b>Cannabinodivarin</b>                                                        | -42.51 |
| 181 | CDB005212 | <b>Cyanidin 3-sambubioside</b>                                                 | -42.50 |
| 182 | CDB000423 | <b>Cannabielsoic acid A</b>                                                    | -42.47 |
| 183 | CDB005213 | <b>Cyanidin 3-sambubioside 5-glucoside</b>                                     | -42.43 |
| 184 | CDB006353 | <b>11-Nor-9-carboxy-THC</b>                                                    | -42.24 |
| 185 | CDB000361 | <b>Moupinamide</b>                                                             | -42.04 |
| 186 | CDB000013 | <b>Cannabidiol-C4</b>                                                          | -42.03 |
| 187 | CDB000750 | <b>4-Hydroxy-2,3,6,7-tetramethoxy-9,10-dihydrophenanthrene</b>                 | -41.95 |
| 188 | CDB000005 | <b>Cannabigerovarinic acid</b>                                                 | -41.94 |
| 189 | CDB000442 | <b>Cannabichromanon</b>                                                        | -41.87 |
| 190 | CDB34     | <b>Cannabichromanone-C5</b>                                                    | -41.84 |
| 191 | CDB005076 | <b>Pelargonidin 3-glucoside</b>                                                | -41.84 |
| 192 | CDB000615 | <b>Hexestrol</b>                                                               | -41.79 |
| 193 | CDB004949 | <b>Rutin</b>                                                                   | -41.73 |
| 194 | CDB000014 | <b>Cannabidivarinic acid</b>                                                   | -41.62 |
| 195 | CDB000739 | <b>Isovitexin</b>                                                              | -41.46 |
| 196 | CDB000278 | <b>6,10,14-Trimethyl-pentadecan-2-one</b>                                      | -41.33 |
| 197 | CDB000021 | <b><math>\Delta</math>-9-tetrahydrocannabivarin</b>                            | -41.26 |
| 198 | CDB004969 | <b>Geranylgeranyl-PP</b>                                                       | -41.21 |
| 199 | CDB000006 | <b>Cannabigerovarin</b>                                                        | -41.10 |
| 200 | CDB000032 | <b>Cannabivarin (CBV)</b>                                                      | -40.86 |
| 201 | CDB000233 | <b>Cannabisativine</b>                                                         | -40.82 |
| 202 | CDB005239 | <b>Gibberellin A12 7-aldehyde</b>                                              | -40.77 |
| 203 | CDB000754 | <b>Cannabistilbene IIb</b>                                                     | -40.76 |
| 204 | CDB54     | <b>Cannabichromanone-B</b>                                                     | -40.65 |
| 205 | CDB000229 | <b>n-(p-hydroxy-<math>\beta</math>-phenylethyl)-p-hydroxy-(trans)-cinamide</b> | -40.60 |
| 206 | CDB000015 | <b>Cannabidivarin (CBDV)</b>                                                   | -40.52 |
| 207 | CDB005072 | <b>Apigenin 7,4'-dimethyl ether</b>                                            | -40.35 |
| 208 | CDB000077 | <b>Methyl linoleate</b>                                                        | -40.32 |
| 209 | CDB000478 | <b>Cannabistilbene II</b>                                                      | -39.63 |
| 210 | CDB000650 | <b>o-Methylacetophenone</b>                                                    | -39.44 |
| 211 | CDB004993 | <b>Farnesylcysteine</b>                                                        | -39.41 |
| 212 | CDB000033 | <b>Cannabinol-C2</b>                                                           | -39.16 |
| 213 | CDB000094 | <b>Secoisolariciresinol</b>                                                    | -39.13 |
| 214 | CDB000415 | <b><math>\Delta</math>9-tetrahydrocannabiorcolic acid</b>                      | -39.06 |
| 215 | CDB000112 | <b>3-[2-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl]-5-methoxyphenol</b>                  | -38.96 |
| 216 | CDB005210 | <b>Delphinidin 3-sambubioside</b>                                              | -38.92 |
| 217 | CDB000793 | <b>Astragalin</b>                                                              | -38.83 |

|     |           |                                                                                                                |        |
|-----|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 218 | CDB000438 | Cannabitriolvarin                                                                                              | -38.72 |
| 219 | CDB000063 | $\alpha$ -Copaene                                                                                              | -38.48 |
| 220 | CDB000553 | $\alpha$ -Cedrene                                                                                              | -38.40 |
| 221 | CDB000480 | (-)-Globulol                                                                                                   | -38.32 |
| 222 | CDB42     | Chrysoeriol                                                                                                    | -38.31 |
| 223 | CDB09     | Flavocannabiside                                                                                               | -38.09 |
| 224 | CDB000197 | (3R,6E)-Nerolidol                                                                                              | -38.08 |
| 225 | CDB000330 | cannabidihydrophenanthrene                                                                                     | -38.06 |
| 226 | CDB000313 | $\alpha$ -Gurjunene                                                                                            | -37.96 |
| 227 | CDB000336 | Apigenin 7-o-glucoside                                                                                         | -37.95 |
| 228 | CDB000446 | 3,4,5,6-Tetrahydro-7-hydroxy- $\alpha$ - $\alpha$ -2-trimethyl-9-propyl-2,6-methano-2H-1-benzoxocin-5-methanol | -37.87 |
| 229 | CDB000102 | Humulene                                                                                                       | -37.86 |
| 230 | CDB000114 | $\beta$ -Humulene                                                                                              | -37.80 |
| 231 | CDB000211 | Syringin                                                                                                       | -37.77 |
| 232 | CDB000581 | Cedryl acetate                                                                                                 | -37.77 |
| 233 | CDB000711 | $\gamma$ -Caryophyllene                                                                                        | -37.73 |
| 234 | CDB006348 | Bulnesol                                                                                                       | -37.68 |
| 235 | CDB000119 | $\alpha$ -Bisabolol                                                                                            | -37.67 |
| 236 | CDB000720 | Humulene oxide                                                                                                 | -37.65 |
| 237 | CDB000078 | $\beta$ -Caryophyllene                                                                                         | -37.62 |
| 238 | CDB000314 | $\alpha$ -Humulene epoxide I                                                                                   | -37.61 |
| 239 | CDB000079 | Guaiol                                                                                                         | -37.60 |
| 240 | CDB000712 | trans- $\beta$ -Caryophyllene                                                                                  | -37.59 |
| 241 | CDB000561 | Aromadendrene                                                                                                  | -37.55 |
| 242 | CDB000349 | Viridiflorene                                                                                                  | -37.52 |
| 243 | CDB000466 | Epi- $\alpha$ -Bisabolol                                                                                       | -37.49 |
| 244 | CDB000474 | Caryophyllene oxide                                                                                            | -37.49 |
| 245 | CDB000213 | $\beta$ -Caryophyllene alcohol                                                                                 | -37.48 |
| 246 | CDB000458 | $\beta$ -Eudesmol                                                                                              | -37.44 |
| 247 | CDB000432 | Cannabiorcol                                                                                                   | -37.38 |
| 248 | CDB000416 | $\Delta^9$ -tetrahydrocannabiorcol                                                                             | -37.37 |
| 249 | CDB000316 | Ledol                                                                                                          | -37.30 |
| 250 | CDB000219 | 3,7(11)-Eudesmadiene                                                                                           | -37.26 |
| 251 | CDB000370 | Apigenin<br>(1R,4R,6R,10S)-4,12,12-Trimethyl-9-methylidene-5-oxatricyclo[8.2.0.0 <sup>4,6</sup> ]dodecane      | -37.21 |
| 252 | CDB000214 | $\alpha$ -Humulene epoxide II                                                                                  | -37.20 |
| 253 | CDB000315 | $\alpha$ -Eudesmol                                                                                             | -37.17 |
| 254 | CDB000454 | $\alpha$ -Eudesmol                                                                                             | -37.12 |
| 255 | CDB004964 | Resveratrol                                                                                                    | -37.07 |
| 256 | CDB49     | 5'-methyl-4-pentylbiphenyl-2,2',6-triol                                                                        | -37.06 |
| 257 | CDB000215 | Cedarwood oil terpenes                                                                                         | -37.06 |
| 258 | CDB000572 | $\beta$ -maaliene                                                                                              | -36.97 |
| 259 | CDB006149 | Farnesol                                                                                                       | -36.96 |
| 260 | CDB000305 | allo-Aromadendrene                                                                                             | -36.90 |
| 261 | CDB000098 | Longifolene                                                                                                    | -36.88 |

|     |           |                                                                   |        |
|-----|-----------|-------------------------------------------------------------------|--------|
| 262 | CDB000322 | Cannabispiradienone                                               | -36.88 |
| 263 | CDB000575 | $\beta$ -Chamigrene                                               | -36.88 |
| 264 | CDB000762 | 5,7-Dihydroxyindan-1-spiro-cyclohexane                            | -36.74 |
| 265 | CDB000479 | (-)-Aristolene                                                    | -36.69 |
| 266 | CDB000245 | 3,6-Dimethyl-tridecane                                            | -36.64 |
| 267 | CDB000482 | (+)-calarene                                                      | -36.64 |
| 268 | CDB000571 | $\beta$ -Irone                                                    | -36.63 |
| 269 | CDB005195 | Isoquercitrin                                                     | -36.60 |
| 270 | CDB000763 | 7-Hydroxy-5-methoxyindan-1-spiro-cyclohexane                      | -36.60 |
| 271 | CDB000220 | 4a-Methyl-1-methylidene-7-(propan-2-ylidene)-decahydronaphthalene | -36.56 |
| 272 | CDB005186 | Isoliquiritigenin                                                 | -36.55 |
| 273 | CDB000753 | Cannabistilbene IIa                                               | -36.53 |
| 274 | CDB000363 | N-trans-Caffeoyltyramine                                          | -36.51 |
| 275 | CDB000470 | $\alpha$ -cis-Bergamotene                                         | -36.38 |
| 276 | CDB000326 | cannabispirone                                                    | -36.36 |
| 277 | CDB000764 | 5-Hydroxy-7-methoxyindan-1-spiro-cyclohexane                      | -36.36 |
| 278 | CDB000461 | $\gamma$ -Eudesmol                                                | -36.33 |
| 279 | CDB000749 | 4,5-Dihydroxy-2,3,6-trimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene           | -36.33 |
| 280 | CDB000761 | $\alpha$ -Cannabispiranol                                         | -36.33 |
| 281 | CDB000473 | $\alpha$ -Longipinene                                             | -36.28 |
| 282 | CDB000352 | trans- $\beta$ -Farnesene                                         | -36.25 |
| 283 | CDB000311 | trans-trans- $\alpha$ -Farnesene                                  | -36.23 |
| 284 | CDB000408 | Cannabidiorcol                                                    | -36.08 |
| 285 | CDB000310 | (z)- $\beta$ -Farnesen                                            | -35.91 |
| 286 | CDB000309 | $\gamma$ -elemene                                                 | -35.89 |
| 287 | CDB000453 | $\alpha$ -Guaiene                                                 | -35.86 |
| 288 | CDB005065 | 2-trans,6-trans-Farnesal                                          | -35.85 |
| 289 | CDB000118 | $\beta$ -Curcumene                                                | -35.74 |
| 290 | CDB000321 | Acetylcannabispirrol                                              | -35.71 |
| 291 | CDB000758 | Iso-cannabispiradienone                                           | -35.66 |
| 292 | CDB000373 | Kaempferol                                                        | -35.64 |
| 293 | CDB000611 | $\gamma$ -Gurjunene                                               | -35.57 |
| 294 | CDB000760 | $\beta$ -cannabispiranol                                          | -35.51 |
| 295 | CDB38     | 9,10-dihydro-2,3,5,6-tetramethoxyphenanthrene-1,4-dione           | -35.50 |
| 296 | CDB000748 | 4,7-Dimethoxy-1,2,5-trihydroxyphenanthrene                        | -35.50 |
| 297 | CDB000464 | $\gamma$ -Curcumene                                               | -35.49 |
| 298 | CDB000306 | $\alpha$ -trans-bergamotene                                       | -35.48 |
| 299 | CDB000476 | Isocannabispiran                                                  | -35.45 |
| 300 | CDB000472 | $\alpha$ -Cadinene                                                | -35.43 |
| 301 | CDB000088 | $\beta$ -Bisabolene                                               | -35.41 |
| 302 | CDB000108 | $\alpha$ -Curcumene                                               | -35.38 |
| 303 | CDB005194 | Quercitrin                                                        | -35.32 |
| 304 | CDB005829 | Bisabolene                                                        | -35.30 |
| 305 | CDB000449 | trans- $\gamma$ -Bisabolene                                       | -35.21 |

|     |           |                                              |        |
|-----|-----------|----------------------------------------------|--------|
| 306 | CDB000064 | Dihydroresveratrol                           | -35.17 |
| 307 | CDB000216 | (-)- $\gamma$ -Cadinene                      | -35.16 |
| 308 | CDB000318 | $\alpha$ -selinene                           | -35.15 |
| 309 | CDB000351 | ( $\pm$ )-trans-Nerolidol                    | -35.14 |
| 310 | CDB000759 | Cannabispirenone-B                           | -35.12 |
| 311 | CDB004938 | Isorhamnetin                                 | -35.09 |
| 312 | CDB005191 | (-)-Epiarznelechin                           | -34.99 |
| 313 | CDB005209 | Delphinidin 3-glucoside                      | -34.98 |
| 314 | CDB000218 | (+)- $\beta$ -Selinene                       | -34.97 |
| 315 | CDB000610 | Furfurylmethylamphetamine                    | -34.91 |
| 316 | CDB000324 | Dehydrocannabispiran                         | -34.90 |
| 317 | CDB005187 | Liquiritigenin                               | -34.86 |
| 318 | CDB000465 | Cis- $\gamma$ -Bisabolene                    | -34.83 |
| 319 | CDB000317 | epi- $\beta$ -santalene                      | -34.81 |
| 320 | CDB000212 | (E)-Calamene                                 | -34.71 |
| 321 | CDB000674 | Valencene                                    | -34.71 |
| 322 | CDB000469 | $\beta$ -Elemene                             | -34.68 |
| 323 | CDB000468 | $\alpha$ -Ylangene                           | -34.58 |
| 324 | CDB000308 | $\alpha$ -Caryophyllene alcohol              | -34.55 |
| 325 | CDB000103 | Sativic acid                                 | -34.49 |
| 326 | CDB000484 | (+)-Sativene                                 | -34.49 |
| 327 | CDB000068 | $\beta$ -Ionone                              | -34.48 |
| 328 | CDB000327 | 3-[2-(4-Hydroxyphenyl)ethyl]-5-methoxyphenol | -34.39 |
| 329 | CDB000082 | $\Delta$ -Cadinene                           | -34.37 |
| 330 | CDB000371 | Luteolin                                     | -34.33 |
| 331 | CDB000273 | pentadecanone-2                              | -34.28 |
| 332 | CDB000350 | $\beta$ -Bisabolol                           | -34.28 |
| 333 | CDB000792 | Quercetin-o-glucoside                        | -34.26 |
| 334 | CDB000716 | $\Delta$ -Guaiene                            | -34.23 |
| 335 | CDB000552 | $\alpha$ -Bulnescene                         | -34.15 |
| 336 | CDB006352 | Juniper camphor                              | -34.13 |
| 337 | CDB000591 | Dibutyl phthalate                            | -33.97 |
| 338 | CDB004950 | Pelargonidin                                 | -33.97 |
| 339 | CDB006351 | Selina-5,11-diene                            | -33.88 |
| 340 | CDB36     | Bisnor-cannabichromanone-C3                  | -33.81 |
| 341 | CDB000483 | (+)-nerolidol                                | -33.73 |
| 342 | CDB000109 | $\alpha$ -Cubebene                           | -33.72 |
| 343 | CDB005070 | Laricitrin                                   | -33.56 |
| 344 | CDB000104 | Orientin                                     | -33.51 |
| 345 | CDB005188 | Garbanzol                                    | -33.51 |
| 346 | CDB005190 | Leucopelargonidin                            | -33.46 |
| 347 | CDB000747 | Cannithrene-2                                | -33.42 |
| 348 | CDB005183 | Luteoforol                                   | -33.13 |
| 349 | CDB005180 | Chalconaringenin                             | -33.08 |
| 350 | CDB000471 | $\gamma$ -Muurolene                          | -32.78 |
| 351 | CDB000555 | $\alpha$ -Ionol                              | -32.57 |

|     |           |                                                              |        |
|-----|-----------|--------------------------------------------------------------|--------|
| 352 | CDB000737 | Denbinobin (5-hydroxy-3,7-dimethoxy-1,4-phenanthrenequinone) | -32.50 |
| 353 | CDB000617 | Isobornyl thiocynoacetate                                    | -32.37 |
| 354 | CDB005211 | Cyanidin 3-glucoside                                         | -32.37 |
| 355 | CDB004963 | Rosmarinic acid                                              | -32.28 |
| 356 | CDB005041 | Coniferin                                                    | -32.04 |
| 357 | CDB004928 | Epicatchin                                                   | -31.96 |
| 358 | CDB005181 | Eriodictyol                                                  | -31.61 |
| 359 | CDB005218 | Phytyl diphosphate                                           | -31.48 |
| 360 | CDB005189 | Aromadendrin                                                 | -31.36 |
| 361 | CDB000285 | Octyl caproate                                               | -31.22 |
| 362 | CDB000372 | Quercetin                                                    | -30.94 |
| 363 | CDB37     | Roughanic acid                                               | -30.93 |
| 364 | CDB004939 | Naringenin                                                   | -30.66 |
| 365 | CDB005192 | Dattelic acid                                                | -30.58 |
| 366 | CDB000320 | dihydroactinidiolide                                         | -30.24 |
| 367 | CDB005224 | Farnesyl pyrophosphate                                       | -30.22 |
| 368 | CDB005193 | Quercetin 3'-sulfate                                         | -30.10 |
| 369 | CDB000179 | (Z)-3-Hexenyl hexanoate                                      | -29.92 |
| 370 | CDB004948 | Chlorogenic acid                                             | -29.88 |
| 371 | CDB000671 | Tetrahydrozoline                                             | -29.71 |
| 372 | CDB000658 | Pentamethylbenzene                                           | -29.69 |
| 373 | CDB000180 | Hexyl hexanoate                                              | -29.67 |
| 374 | CDB000222 | Blumenol a                                                   | -29.40 |
| 375 | CDB000623 | Isobornyl acetate                                            | -29.19 |
| 376 | CDB000067 | Pinocarvone                                                  | -29.13 |
| 377 | CDB000675 | Verbenone                                                    | -28.90 |
| 378 | CDB000319 | Dihydrovomifoliol                                            | -28.79 |
| 379 | CDB005057 | cis-Melilotoside                                             | -28.63 |
| 380 | CDB000192 | 2-Methyl-5-(prop-1-en-2-yl)cyclohexyl acetate                | -28.57 |
| 381 | CDB000593 | Dimethylbenzylcarbinyl acetate                               | -28.53 |
| 382 | CDB000110 | Bornyl acetate                                               | -28.50 |
| 383 | CDB000709 | Linalool oxide                                               | -28.41 |
| 384 | CDB000727 | 1,4-Diisopropylbenzene                                       | -28.33 |
| 385 | CDB000201 | $\beta$ -Pinene                                              | -28.32 |
| 386 | CDB000189 | Eucalyptol                                                   | -28.29 |
| 387 | CDB005272 | (-)- $\alpha$ -Pinene                                        | -28.26 |
| 388 | CDB000185 | (R)-Camphor                                                  | -28.24 |
| 389 | CDB000300 | $\alpha$ -pinene                                             | -28.18 |
| 390 | CDB000714 | trans-Pinocarveol                                            | -28.16 |
| 391 | CDB000296 | Dehydro-p-cymene                                             | -28.14 |
| 392 | CDB000209 | Terpinolene                                                  | -28.13 |
| 393 | CDB000099 | Camphene                                                     | -27.99 |
| 394 | CDB004941 | Myricetin                                                    | -27.97 |
| 395 | CDB005273 | (-)- $\beta$ -Pinene                                         | -27.91 |
| 396 | CDB000084 | Safranal                                                     | -27.90 |

|     |           |                                         |        |
|-----|-----------|-----------------------------------------|--------|
| 397 | CDB005267 | 2-pinen-10-ol                           | -27.90 |
| 398 | CDB000589 | $\Delta^3$ -carene                      | -27.87 |
| 399 | CDB000277 | 6,10-Dimethyl-2-undecanone              | -27.85 |
| 400 | CDB000598 | Durene                                  | -27.84 |
| 401 | CDB000202 | $\alpha$ -Pinene oxide                  | -27.83 |
| 402 | CDB000195 | (5Z)-6,10-Dimethylundeca-5,9-dien-2-one | -27.80 |
| 403 | CDB000556 | $\alpha$ -Methylcinnamaldehyde          | -27.79 |
| 404 | CDB000730 | 1,3,5-Trimethylenecycloheptane          | -27.79 |
| 405 | CDB000186 | Car-3-ene                               | -27.78 |
| 406 | CDB000718 | Myrtenol                                | -27.78 |
| 407 | CDB000606 | Eugenyl acetate                         | -27.76 |
| 408 | CDB000333 | trans-Anethol                           | -27.74 |
| 409 | CDB000292 | $\Delta^4$ -carene                      | -27.69 |
| 410 | CDB000708 | 4,8-Epoxy-p-menth-1-ene                 | -27.65 |
| 411 | CDB000640 | Methyl isoeugenol                       | -27.62 |
| 412 | CDB000462 | Borneol                                 | -27.57 |
| 413 | CDB000495 | Prehnitene                              | -27.46 |
| 414 | CDB000223 | O-Methyleugenol                         | -27.43 |
| 415 | CDB000621 | Linalyl acetate                         | -27.43 |
| 416 | CDB000607 | Fenchyl alcohol                         | -27.42 |
| 417 | CDB000066 | Pinocarveol                             | -27.41 |
| 418 | CDB000719 | Cuminol                                 | -27.39 |
| 419 | CDB006350 | Camphene hydrate                        | -27.39 |
| 420 | CDB000732 | 1-Methoxy-4(1-propenyl)-benzene         | -27.38 |
| 421 | CDB000715 | 1,8-Menthadien-4-ol                     | -27.32 |
| 422 | CDB000184 | (-)-Isoborneol                          | -27.16 |
| 423 | CDB000582 | cis-2-pinanol                           | -27.14 |
| 424 | CDB006347 | Sabinene hydrate                        | -27.12 |
| 425 | CDB000655 | 4-Methylacetophenone                    | -27.06 |
| 426 | CDB000187 | $\beta$ -Cyclocitral                    | -27.04 |
| 427 | CDB000203 | Rotundifolone                           | -26.94 |
| 428 | CDB000303 | $\alpha$ -Terpinene-4-ol                | -26.93 |
| 429 | CDB000205 | (+)-cis-Sabinol                         | -26.92 |
| 430 | CDB000451 | $\beta$ -Fenchol                        | -26.92 |
| 431 | CDB000600 | Estragole                               | -26.91 |
| 432 | CDB006349 | trans-2-Pinanol                         | -26.89 |
| 433 | CDB000302 | trans-Sabinene hydrate                  | -26.88 |
| 434 | CDB000558 | $\alpha$ -Terpineol                     | -26.87 |
| 435 | CDB000298 | perillene                               | -26.86 |
| 436 | CDB000304 | Thujyl alcohol                          | -26.83 |
| 437 | CDB000177 | (E)-p-Coumaric acid                     | -26.80 |
| 438 | CDB000194 | 2E-Geraniol                             | -26.80 |
| 439 | CDB000628 | Isoeugenol                              | -26.75 |
| 440 | CDB000092 | Carvacrol                               | -26.73 |
| 441 | CDB005270 | (S)- $\alpha$ -Terpineol                | -26.64 |
| 442 | CDB000620 | Limonene dioxide                        | -26.59 |

|     |           |                                                    |        |
|-----|-----------|----------------------------------------------------|--------|
| 443 | CDB000191 | 2-(4-Methylphenyl)-2-propanol                      | -26.57 |
| 444 | CDB000779 | 1-(3-methylphenyl)- ethanone                       | -26.57 |
| 445 | CDB000580 | Carbofuran                                         | -26.56 |
| 446 | CDB000272 | Dodecanone-2                                       | -26.55 |
| 447 | CDB000786 | 3-(3-Hydroxyphenyl)-2-propenoic acid, methyl       | -26.49 |
| 448 | CDB000656 | 4-tert-Butylphenol                                 | -26.48 |
| 449 | CDB000283 | p-Ethyl benzyl acetate                             | -26.38 |
| 450 | CDB000193 | 1,3,3-Trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol           | -26.36 |
| 451 | CDB000467 | (S)-Ipsdienol                                      | -26.36 |
| 452 | CDB005269 | Perillic acid                                      | -26.31 |
| 453 | CDB000293 | (±)-cis-Linalyl oxide                              | -26.30 |
| 454 | CDB000294 | (±)-trans-Linalyl oxide                            | -26.26 |
| 455 | CDB000523 | 3-(1-Methylethyl)-phenol methylcarbamate           | -26.22 |
| 456 | CDB000295 | m-Mentha-1,8(9)-dien-5-ol                          | -26.16 |
| 457 | CDB000056 | Nerol                                              | -26.11 |
| 458 | CDB000070 | Fenchone                                           | -26.09 |
| 459 | CDB005074 | Coniferaldehyde                                    | -26.08 |
| 460 | CDB005275 | (+)-Neomenthol                                     | -26.02 |
| 461 | CDB000081 | Citronellol                                        | -25.99 |
| 462 | CDB000055 | Eugenol                                            | -25.97 |
| 463 | CDB000524 | 3-(3-Hydroxyphenyl)-2-propenoic acid, methyl ester | -25.96 |
| 464 | CDB006346 | (+)-Fenchone                                       | -25.91 |
| 465 | CDB005268 | Perillyl aldehyde                                  | -25.89 |
| 466 | CDB000199 | α-Phellandrene                                     | -25.82 |
| 467 | CDB000672 | Thymol                                             | -25.79 |
| 468 | CDB000089 | Linalool                                           | -25.78 |
| 469 | CDB005271 | (-)-Limonene                                       | -25.76 |
| 470 | CDB000630 | m-Cymene                                           | -25.75 |
| 471 | CDB000206 | α-Thujene                                          | -25.69 |
| 472 | CDB000276 | 3-Decen-5-one                                      | -25.64 |
| 473 | CDB000087 | Sabinene                                           | -25.63 |
| 474 | CDB000207 | α-Terpinene                                        | -25.60 |
| 475 | CDB000705 | 2,4(10)-Thujadien                                  | -25.58 |
| 476 | CDB000724 | 1,2,3-Trimethyl-benzen                             | -25.58 |
| 477 | CDB000587 | Cuminaldehyde                                      | -25.55 |
| 478 | CDB000647 | o-Cymene                                           | -25.51 |
| 479 | CDB000271 | 2-Undecanone                                       | -25.49 |
| 480 | CDB000659 | Perillaldehyde                                     | -25.48 |
| 481 | CDB000208 | γ-Terpinene                                        | -25.47 |
| 482 | CDB000456 | Cis-Sabinene hydrate                               | -25.43 |
| 483 | CDB000291 | Camphenehydrate                                    | -25.42 |
| 484 | CDB000198 | (E)-β-Ocimene                                      | -25.41 |
| 485 | CDB000053 | Hordenine                                          | -25.37 |
| 486 | CDB000054 | p-Cymene                                           | -25.37 |
| 487 | CDB000699 | 1-(1,3-Dimethyl-3-cyclohexen-1-yl)-ethanone        | -25.34 |
| 488 | CDB000093 | Piperitenone                                       | -25.32 |

|     |           |                                        |        |
|-----|-----------|----------------------------------------|--------|
| 489 | CDB000485 | (1R)-(+)-trans-isolimonene             | -25.32 |
| 490 | CDB005039 | Sinapyl alcohol                        | -25.30 |
| 491 | CDB000545 | 7-Methoxycoumarin                      | -25.29 |
| 492 | CDB000585 | Citronellyl acetate                    | -25.27 |
| 493 | CDB000297 | cis- $\beta$ -ocimene                  | -25.26 |
| 494 | CDB000573 | $\beta$ -Myrcene                       | -25.24 |
| 495 | CDB000190 | Neral                                  | -25.21 |
| 496 | CDB000299 | Methallylbenzene                       | -25.21 |
| 497 | CDB000086 | Carvone                                | -25.20 |
| 498 | CDB000525 | 3-Ethyl-o-xylene                       | -25.20 |
| 499 | CDB000069 | Limonene                               | -25.15 |
| 500 | CDB000592 | Diethyl Phthalate                      | -25.11 |
| 501 | CDB000728 | 2,6-Dimethyl-2,6-octadiene             | -25.11 |
| 502 | CDB000200 | $\beta$ -Phellandrene                  | -25.05 |
| 503 | CDB000723 | 2-Pentylfuran                          | -25.04 |
| 504 | CDB000188 | 1,4-Cineole                            | -25.02 |
| 505 | CDB000653 | p-Aminotoluene                         | -24.98 |
| 506 | CDB000348 | Pulegone                               | -24.95 |
| 507 | CDB000270 | Decanone-2                             | -24.94 |
| 508 | CDB000721 | 3,3,6-Trimethyl-1,5-heptadiene         | -24.94 |
| 509 | CDB000494 | 1,2-Diethyl-benzene                    | -24.84 |
| 510 | CDB000637 | 6-Methyl-3,5-heptadiene-2-one          | -24.78 |
| 511 | CDB000126 | Phenylethylamine                       | -24.33 |
| 512 | CDB000584 | Citronellolformate                     | -24.28 |
| 513 | CDB005277 | 3-O-p-Coumaroylquinic acid             | -24.15 |
| 514 | CDB000652 | p-Acetanisole                          | -23.64 |
| 515 | CDB000275 | ( $\pm$ )-2,2,6-Trimethylcyclohexanone | -23.61 |
| 516 | CDB000586 | Cumene                                 | -23.49 |
| 517 | CDB000661 | Phenylethyl alcohol                    | -23.45 |
| 518 | CDB005223 | Geranyl-PP                             | -23.14 |
| 519 | CDB005274 | (-)-Menthone                           | -22.85 |
| 520 | CDB000204 | p-Menth-8-en-3-one                     | -22.73 |
| 521 | CDB000181 | Hexyl 2-methylpropanoate               | -22.68 |
| 522 | CDB000058 | Benzyl acetate                         | -22.60 |
| 523 | CDB000096 | Dihydrocarvone                         | -22.55 |
| 524 | CDB000517 | 2,2,5-Trimethylhexane                  | -22.52 |
| 525 | CDB000076 | Nonanal                                | -22.36 |
| 526 | CDB000265 | (S)-3-Octanol                          | -22.35 |
| 527 | CDB000704 | 3,5-Octadien-2-one                     | -22.24 |
| 528 | CDB000662 | Piperonal                              | -22.16 |
| 529 | CDB005152 | 4-Hydroxyphenylacetaldehyde            | -22.09 |
| 530 | CDB000080 | Hexyl butyrate                         | -22.06 |
| 531 | CDB000121 | N-Methylnicotinate                     | -22.02 |
| 532 | CDB000301 | Piperitone oxide                       | -21.93 |
| 533 | CDB000263 | (R)-1-Octen-3-ol                       | -21.83 |
| 534 | CDB000667 | Salicylaldehyde                        | -21.63 |

|     |           |                                 |        |
|-----|-----------|---------------------------------|--------|
| 535 | CDB000388 | 2-Methyl-2-hepten-6-one         | -21.52 |
| 536 | CDB000701 | 6-Octen-2-one                   | -21.45 |
| 537 | CDB000703 | 3-Octen-2-one                   | -21.37 |
| 538 | CDB005279 | 3,4-Dihydroxyphenylacetaldehyde | -21.31 |
| 539 | CDB000269 | 2-Methyl-2-heptene-6-one        | -21.28 |
| 540 | CDB000634 | Methyl acetylsalicylate         | -21.04 |
| 541 | CDB000274 | Octanone-3                      | -20.99 |
| 542 | CDB000508 | 2-Hydroxyacetophenon            | -20.90 |
| 543 | CDB000544 | 5-Octanolide                    | -20.79 |
| 544 | CDB005073 | 3,5-Dihydroxyanisole            | -20.62 |
| 545 | CDB000452 | Guajol                          | -20.43 |
| 546 | CDB000065 | Hexyl acetate                   | -20.41 |
| 547 | CDB000690 | (E,E)-2,4-Heptadienal           | -20.40 |
| 548 | CDB000527 | 3-Hexen-1-ol-acetate            | -20.39 |
| 549 | CDB000074 | Methyl salicylate               | -20.12 |
| 550 | CDB000638 | Methyl heptanoate               | -19.69 |
| 551 | CDB004930 | Salicylic acid                  | -19.57 |
| 552 | CDB000507 | 2-Heptanone                     | -19.03 |
| 553 | CDB000227 | l-(+)-Isoleucine ßine           | -18.98 |
| 554 | CDB000688 | trans-2-Heptenal                | -18.79 |
| 555 | CDB000176 | 4-Hydroxybenzoic acid           | -18.42 |
| 556 | CDB004810 | Gentisic acid                   | -18.02 |
| 557 | CDB004972 | Gallic acid                     | -17.94 |
| 558 | CDB000072 | Heptanal                        | -17.88 |
| 559 | CDB000368 | Quebrachitol                    | -17.50 |
| 560 | CDB000612 | γ-Hexalactone                   | -17.42 |
| 561 | CDB000243 | d -bornesitol                   | -17.35 |
| 562 | CDB000590 | Diacetone alcohol               | -17.24 |
| 563 | CDB000244 | L-Quebrachitol                  | -15.22 |
| 564 | CDB005179 | Coumaroyl-CoA                   | -15.21 |
| 565 | CDB000144 | Myoinositol                     | -13.95 |
| 566 | CDB000389 | Azealic acid                    | -13.80 |
| 567 | CDB000143 | Levoinositol                    | -13.23 |
| 568 | CDB000107 | Quinic acid                     | -13.01 |

## 10. APÊNDICE B

### Etapas fundamentais da construção de membranas utilizando o “Membrane Builder” do CHARMM-GUI.

CHARMM-GUI

<https://charmm-gui.org/?doc=input/pdbreader&step=1>

# CHARMM-GUI

Effective Simulation Input Generator and More

CHARMM is a versatile program for atomic-level simulation of many-particle systems, particularly macromolecules of biological interest. - M. Karplus

Some [lectures](#), [job postings](#), and [FAQ](#) are now available. See [update log](#) for update history and [giving](#) for donation. [Contact](#) info is given below.

Logout

## Bilayer Builder

[User Profile](#)

|                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                  |        |        |        |        |        |                    |       |                                                                                                  |        |          |      |         |                     |                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------------------|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|----------|------|---------|---------------------|-------------------|
| PDB Info                                                                                                                                                                                                                                                                                    | STEP 1                                                                                           | STEP 2 | STEP 3 | STEP 4 | STEP 5 | STEP 6 | JOB ID: 3677195131 |       |                                                                                                  |        |          |      |         |                     |                   |
| <table><tr><td>Title</td><td>SWISS-MODEL SERVER (<a href="https://swissmodel.expasy.org">https://swissmodel.expasy.org</a>)</td></tr><tr><td>PDB ID</td><td>CB1315Aa</td></tr><tr><td>Type</td><td>Protein</td></tr><tr><td>Experimental Method</td><td>THEORITICAL MODEL</td></tr></table> |                                                                                                  |        |        |        |        |        |                    | Title | SWISS-MODEL SERVER ( <a href="https://swissmodel.expasy.org">https://swissmodel.expasy.org</a> ) | PDB ID | CB1315Aa | Type | Protein | Experimental Method | THEORITICAL MODEL |
| Title                                                                                                                                                                                                                                                                                       | SWISS-MODEL SERVER ( <a href="https://swissmodel.expasy.org">https://swissmodel.expasy.org</a> ) |        |        |        |        |        |                    |       |                                                                                                  |        |          |      |         |                     |                   |
| PDB ID                                                                                                                                                                                                                                                                                      | CB1315Aa                                                                                         |        |        |        |        |        |                    |       |                                                                                                  |        |          |      |         |                     |                   |
| Type                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Protein                                                                                          |        |        |        |        |        |                    |       |                                                                                                  |        |          |      |         |                     |                   |
| Experimental Method                                                                                                                                                                                                                                                                         | THEORITICAL MODEL                                                                                |        |        |        |        |        |                    |       |                                                                                                  |        |          |      |         |                     |                   |

### Model/Chain Selection Option:

Click on the chains you want to select.

| Type                                        | SEGID | PDB ID | Residue ID |      | Engineered Residues |
|---------------------------------------------|-------|--------|------------|------|---------------------|
|                                             |       |        | First      | Last |                     |
| <input checked="" type="checkbox"/> Protein | PROA  | A      | 1          | 315  | None                |

CHARMM-GUI uses internal segid format PRO[A-Z] (protein), DNA[A-Z] (DNA), RNA[A-Z] (RNA), and HET[A-Z] (ligands), instead of PDB chain id.

Next Step:   
Manipulate PDB



[Lehigh University](#) / [Department of Biological Sciences](#) / [Department of Chemistry](#) / [Department of Bioengineering](#) / [Im Lab](#)  
Problems, Questions, & Comments? / [Contact](#) / [Forum](#) / Copyright(c) 2006-2025 by the Im Lab

# CHARMM-GUI

Effective Simulation Input Generator and More

CHARMM is a versatile program for atomic-level simulation of many-particle systems, particularly macromolecules of biological interest. - M. Karplus

Some [lectures](#), [job postings](#), and [FAQ](#) are now available. See [update log](#) for update history and [giving](#) for donation. [Contact](#) info is given below.

[Logout](#)

## Bilayer Builder

[User Profile](#)

Bookmark this [link](#), if you want to comeback to this page

PDB Info STEP 1 STEP 2 STEP 3 STEP 4 STEP 5 STEP 6 JOB ID: 3677195131

|                     |                                                                                                  |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | SWISS-MODEL SERVER ( <a href="https://swissmodel.expasy.org">https://swissmodel.expasy.org</a> ) |
|                     | CB1315Aa                                                                                         |
| PDB ID              | CBIA                                                                                             |
| Type                | Protein                                                                                          |
| Experimental Method | THEORITICAL MODEL                                                                                |

### PDB Manipulation Options:

☒ System pH: 7.4 [Apply](#)

☒ Terminal group patching: [?](#)

First Last  
PROA [NTER](#) [CTER](#) ☐ Cyclic peptide?

☐ Preserve hydrogen coordinates:

☐ Mutation:

☐ Protonation state:

☐ Disulfide bonds:

☐ Phosphorylation:

☐ Ubiquitylation / SUMOylation:

☐ GPI anchor:

☒ Glycosylation / Glycan Ligand(s): [Add Glycosylation](#) ☐ Use CHARMM MC? It is faster than the regular run, but carefully check the output "test\_distortion.txt" file.

[-](#) CARA n-linked [edit](#) bDGlc(1→3)bDMan(1→3)[bDMan(1→6)]bDGlcNAc(1→)PROA-1

☐ Heme coordination

☒ Add Lipid-tail [?](#)

Lipid-tail   SEGID   RESID   Amino acid  
CYP   PROA   315   CYS   -   Add Lipid-tail

☒ Is this a membrane protein?

☐ Peptide Stapling 

☐ Add FRET/LRET fluorophore labels 

☐ Model LBT-loop(s) 

☐ Add MTS reagents: nitroxide spin labels 

☐ Add MTS reagents: chemical modifier 

☐ Non-standard amino acid / RNA substitution:

☐ Lys / Arg PTMs: 

#### Symmetry Operation Options:

☐ Generation of Crystal Packing: Space Group  
(this is required for asymmetric unit solvation)

☐ Generation of Full Unit Cell: Space Group

Next Step:   
Generate PDB and Orient Molecule



[Lehigh University](#) / [Department of Biological Sciences](#) / [Department of Chemistry](#) / [Department of Bioengineering](#) / [Im Lab](#)  
Problems, Questions, & Comments? / [Contact](#) / [Forum](#) / Copyright(c) 2006-2025 by the Im Lab

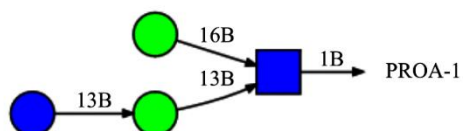
Glycosylation / Glycan Ligand(s)

Upload GRS 

bDGlc(1→3)bDMan(1→3)[bDMan(1→6)]bDGlcNAc(1→)PROA-1

**Glycan Sequence:**

| Protein | PROA           | ASN                               | 1                    | Add Reducing-end |
|---------|----------------|-----------------------------------|----------------------|------------------|
| 1       | <div>β</div>   | <div>N-acetyl-D-glucosamine</div> | <div>-</div>         | <div>+</div>     |
| 2       | <div>6 ←</div> | <div>β</div>                      | <div>D-mannose</div> | <div>-</div>     |
| 3       | <div>3 ←</div> | <div>β</div>                      | <div>D-mannose</div> | <div>-</div>     |
| 4       | <div>3 ←</div> | <div>β</div>                      | <div>D-glucose</div> | <div>-</div>     |

☐ Chemical modification:☐ Cyclic carbohydrate:**Sequence Graph:**Next Step:   
Update Sequence

CHARMM-GUI

Effective Simulation Input Generator and More

CHARMM is a versatile program for atomic-level simulation of many-particle systems, particularly macromolecules of biological interest. - M. Karplus

Some lectures, job postings, and FAQ are now available. See update log for update history and giving for donation. Contact info is given below.

Logout

Membrane Builder

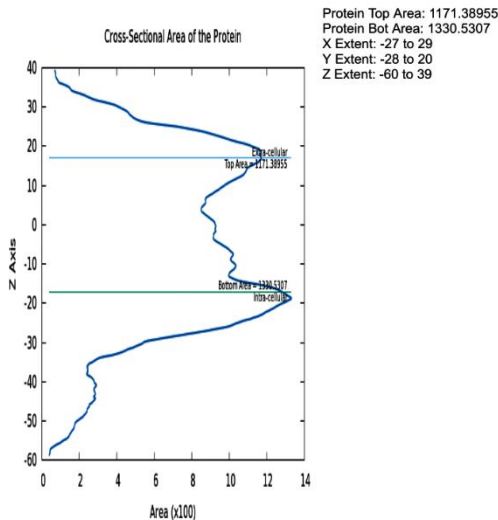
User Profile

Bookmark this link, if you want to comeback to this page

PDB Info STEP 1 STEP 2 STEP 3 STEP 4 STEP 5 STEP 6 JOB ID: 3677195131

CHARMM PDB: step1\_pdbreader.pdb (view structure) download.tgz  
Orientation Input: step2\_orient.inp  
Orientation Output: step2\_orient.out  
Oriented PDB: step2\_orient.pdb (view structure) (please view this structure before you move to the next step)  
Area Calculation: step2\_area.str Calculate cross sectional area of the protein  
step2\_area.plo Computed cross sectional area along Z axis  
step2\_protein\_area.str Top/Bottom area of the protein

Calculated Cross Sectional Area:



Protein Projection onto XY:

Projection of protein portions above and below the membrane surface onto the membrane surface can be performed only to exclude pseudo lipid spheres underneath the protein portion during the lipid sphere packing.

- ☐ Turn on protein projection onto XY of upper leaflet  
☐ Turn on protein projection onto XY of lower leaflet  
This option is not recommended to use unless it is absolutely necessary

System Size Determination Options:

- ☐ Homogeneous Lipid "Homogeneous Lipid" option is no longer supported. You can use "Heterogeneous Lipid" option even for homogeneous lipid bilayer building.

**Heterogeneous Lipid**1. Box Type: **Rectangular** (Currently, only CHARMM, NAMD, and GROMACS support the hexagonal box)

2. Length of Z based on:

☒ Water thickness **22.5** (Minimum water height on top and bottom of the system)☐ Hydration number **50** (Number of water molecules per one lipid molecule)

3. Length of XY based on:

☐ Ratios of lipid components☒ Numbers of lipid componentsXY Dimension Ratio: **1**

(The system size along the X and Y must be the same)

**Show the system info** click this once you fill the following table:

| Lipid Type                                                                                               | Charge [e] | Tail Info. [sn1/sn2] | Images | # of Lipid on Upperleaflet      | # of Lipid on Lowerleaflet      | Surface Area                      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------------|--------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| <b>▼ Sterols</b>                                                                                         |            |                      |        |                                 |                                 |                                   |
| Cholesterol                                                                                              | 0          |                      |        | <input type="text" value="31"/> | <input type="text" value="34"/> | <input type="text" value="40.0"/> |
| Ergosterol                                                                                               | 0          |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="40.0"/> |
| DPOP                                                                                                     | 0          |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="40"/>   |
| β-Sitosterol                                                                                             | 0          |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="40.0"/> |
| Stigmasterol                                                                                             | 0          |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="40.0"/> |
| Cholesteryl HemiSuccinate (deprotonated)                                                                 | -1         |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="40.0"/> |
| Cholesteryl HemiSuccinate (protonated)                                                                   | 0          |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="40.0"/> |
| Campesterol                                                                                              | 0          |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="40.0"/> |
| Campesteroyl Glucoside                                                                                   | 0          |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="40.0"/> |
| Sitosteroyl Glucoside                                                                                    | 0          |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="40.0"/> |
| Stigmasteryl Glucoside                                                                                   | 0          |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="40.0"/> |
| Lanosterol                                                                                               | 0          |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="40.0"/> |
| Palmitoyl Campesteroyl Glucoside                                                                         | 0          |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="60.0"/> |
| Palmitoyl Sitosteroyl Glucoside                                                                          | 0          |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="60.0"/> |
| Palmitoyl Stigmasteryl Glucoside                                                                         | 0          |                      |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="60.0"/> |
| <b>► PA (phosphatidic acid) Lipids</b>                                                                   |            |                      |        |                                 |                                 |                                   |
| <b>► PC (phosphatidylcholine) Lipids</b>                                                                 |            |                      |        |                                 |                                 |                                   |
| <b>► PE (phosphatidylethanolamine) Lipids</b>                                                            |            |                      |        |                                 |                                 |                                   |
| <b>► PG (phosphatidylglycerol) Lipids</b>                                                                |            |                      |        |                                 |                                 |                                   |
| <b>► PS (phosphatidylserine) Lipids</b>                                                                  |            |                      |        |                                 |                                 |                                   |
| <b>► PP (pyrophosphate) Lipids</b>                                                                       |            |                      |        |                                 |                                 |                                   |
| <b>► PI (phosphatidylinositol) Lipids</b>                                                                |            |                      |        |                                 |                                 |                                   |
| <b>► CL (cardiolipin) Lipids</b>                                                                         |            |                      |        |                                 |                                 |                                   |
| <b>► DAG (diacylglycerol) Lipids</b> <input type="checkbox"/> <a href="#">Optimized charges for DAG</a>  |            |                      |        |                                 |                                 |                                   |
| <b>► TAG (triacylglycerol) Lipids</b> <input type="checkbox"/> <a href="#">Optimized charges for TAG</a> |            |                      |        |                                 |                                 |                                   |
| <b>► TAP (trimethylammonium propane) &amp; DAP/DMA (dimethylamino) Lipids</b>                            |            |                      |        |                                 |                                 |                                   |
| <b>▼ PUFA (polyunsaturated fatty acid) Esterified Lipids</b>                                             |            |                      |        |                                 |                                 |                                   |
| PLePA                                                                                                    | -1         | 16:0 / 18:3          |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="60.0"/> |
| PLePC                                                                                                    | 0          | 16:0 / 18:3          |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="60.0"/> |
| PLePE                                                                                                    | 0          | 16:0 / 18:3          |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="60.0"/> |
| PLePG                                                                                                    | -1         | 16:0 / 18:3          |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="60.0"/> |
| PLePS                                                                                                    | -1         | 16:0 / 18:3          |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="60.0"/> |
| PAPA                                                                                                     | -1         | 16:0 / 20:4          |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="60.0"/> |
| PAPC                                                                                                     | 0          | 16:0 / 20:4          |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="71.1"/> |
| PAPE                                                                                                     | 0          | 16:0 / 20:4          |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="60.0"/> |
| PAPG                                                                                                     | -1         | 16:0 / 20:4          |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="60.0"/> |
| PAPS                                                                                                     | -1         | 16:0 / 20:4          |        | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="0"/>  | <input type="text" value="60.0"/> |

**Calculated XY System Size:**

|                  | Upperleaflet | Lowerleaflet |
|------------------|--------------|--------------|
| Protein Area     | 1171.38955   | 1330.5307    |
| Lipid Area       | 9752         | 9620         |
| # of Lipids      | 159          | 174          |
| Total Area       | 10923.38955  | 10950.5307   |
| Protein X Extent | 28.24        |              |
| Protein Y Extent | 27.97        |              |
| Average Area     | 10936.96     |              |
| A                | 104.58       |              |
| B                | 104.58       |              |

|       |    |             |         |                                  |                                  |                                   |
|-------|----|-------------|---------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| PDOPC | 0  | 16:0 / 22:6 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="66.2"/> |
| PDOPe | 0  | 16:0 / 22:6 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="60.4"/> |
| YLPG  | -1 | 16:1 / 18:3 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="60.0"/> |
| DTPA  | -1 | 16:3 / 16:3 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="67.4"/> |
| SLePC | 0  | 18:0 / 18:3 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="60.0"/> |
| SAPA  | -1 | 18:0 / 20:4 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="66.2"/> |
| SAPC  | 0  | 18:0 / 20:4 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="71.1"/> |
| SAPE  | 0  | 18:0 / 20:4 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="64.7"/> |
| SAPG  | -1 | 18:0 / 20:4 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="75.4"/> |
| SAPS  | -1 | 18:0 / 20:4 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="65.9"/> |
| SODPC | 0  | 18:0 / 22:5 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="60.0"/> |
| SDPA  | -1 | 18:0 / 22:6 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="66.2"/> |
| SDPC  | 0  | 18:0 / 22:6 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="67.2"/> |
| SDPE  | 0  | 18:0 / 22:6 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="63.3"/> |
| SDPG  | -1 | 18:0 / 22:6 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="67.4"/> |
| SDPS  | -1 | 18:0 / 22:6 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="65.3"/> |
| LLPA  | -1 | 18:2 / 18:3 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="67.4"/> |
| LLPC  | 0  | 18:2 / 18:3 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="65.2"/> |
| LLPE  | 0  | 18:2 / 18:3 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="58.6"/> |
| LLPG  | -1 | 18:2 / 18:3 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="60.0"/> |
| LLPS  | -1 | 18:2 / 18:3 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="60.7"/> |
| LYPG  | -1 | 18:3 / 16:1 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="60.0"/> |
| TIPA  | -1 | 18:3 / 16:3 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="67.4"/> |
| DIPA  | -1 | 18:3 / 18:3 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="67.4"/> |
| SEpPC | 0  | 19:0 / 20:5 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="60.0"/> |
| DAPA  | -1 | 20:4 / 20:4 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="72.8"/> |
| DAPC  | 0  | 20:4 / 20:4 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="76.1"/> |
| DAPE  | 0  | 20:4 / 20:4 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="70.0"/> |
| DAPG  | -1 | 20:4 / 20:4 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="79.9"/> |
| DAPS  | -1 | 20:4 / 20:4 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="71.7"/> |
| DDoPC | 0  | 22:6 / 22:6 | [Image] | <input type="text" value="128"/> | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="66.5"/> |
| DDoPe | 0  | 22:6 / 22:6 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="140"/> | <input type="text" value="59.0"/> |
| DDoPS | -1 | 22:6 / 22:6 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="67.4"/> |
| TSPC  | 0  | 32:6 / 18:0 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="67.2"/> |
| ODoPC | 0  | 18:1 / 22:6 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="67"/>   |
| MEpPC | 0  | 14:0 / 20:5 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="67"/>   |
| OAPS  | -1 | 18:1 / 20:4 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="67"/>   |
| OAPE  | 0  | 18:1 / 20:4 | [Image] | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="0"/>   | <input type="text" value="67"/>   |

**► SM (sphingo) and Ceramide Lipids****► Ether/Plasmalogen Lipids****► Bacterial Lipids****► Endosomal Lipids****► Ubiquinone/Ubiquinol & Archaeal Lipids****► Oxidized Lipids ****► Fatty Acids****► Detergents****► N-acylated Amino Acids****► PEG (polyethylene glycol) Lipids****► Glycolipids****► LPS (lipopolysaccharides)**

Note: The surface areas listed above are only suggested values. In the case of high cholesterol concentration, 10~20% smaller surface areas will be adopted as default values, which might be more reasonable and close to equilibrium lipid areas. Please refer the manuscript or the following link to list of default surface area we are using.



Next Step:  
Determine the System Size 



Lehigh University / Department of Biological Sciences / Department of Chemistry / Department of Bioengineering / Im Lab  
Problems, Questions, & Comments? / [Contact](#) / [Forum](#) / Copyright(c) 2006-2025 by the Im Lab

# CHARMM-GUI

Effective Simulation Input Generator and More

CHARMM is a versatile program for atomic-level simulation of many-particle systems, particularly macromolecules of biological interest. - M. Karplus

Some [lectures](#), [job postings](#), and [FAQ](#) are now available. See [update log](#) for update history and [giving](#) for donation. [Contact](#) info is given below.

[Logout](#)

## Membrane Builder

[User Profile](#)

Bookmark this [link](#), if you want to comeback to this page

| PDB Info                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | STEP 1 | STEP 2 | STEP 3 | STEP 4 | STEP 5 | STEP 6 | JOB ID: 3677195131 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------------------|
| <div>Oriented PDB: <a href="#">step2_orient.pdb (view structure)</a> <span>download.tgz</span></div> <div>System Size <a href="#">step3_size.inp</a></div> <div>Input: <a href="#">step3_size.inp</a></div> <div>System Size <a href="#">step3_size.out</a></div> <div>Output: <a href="#">step3_size.out</a></div> <div>System Size: <a href="#">step3_size.str</a></div> <div>Packing <a href="#">step3_packing.inp</a> Packing Simulation Input</div> <div>Simulation: <a href="#">step3_packing.out</a> Packing Simulation Output</div> <div><a href="#">crystal_image.str</a> Crystal Image</div> <div><a href="#">step3_packing_pol.str</a> Topology File of Pseudo Lipid Spheres</div> <div><a href="#">step3_packing.pdb (view structure)</a> Generated Packed System</div> <div>(please view this structure before you move to the next step)</div> |        |        |        |        |        |        |                    |

### Determined System Size:

|               |             |            |                                       |
|---------------|-------------|------------|---------------------------------------|
| Box Type      | Rectangle   |            |                                       |
| Crystal Type  | TETRAGONAL  |            |                                       |
| System Size   | A           | 104.579902 | Dimension along the A (X) axis        |
|               | B           | 104.579902 | Dimension along the B (Y) axis        |
|               | C           | 143.631139 | Dimension along the C (Z) axis        |
| Crystal Angle | Alpha       | 90.0       | Angle between the axis B and C        |
|               | Beta        | 90.0       | Angle between the axis A and C        |
|               | Gamma       | 90.0       | Angle between the axis A and B        |
| # of Lipids   | on Top      | 159        |                                       |
|               | on Bottom   | 174        |                                       |
| Z Center      | -10.5023718 |            | Center of the system along the Z axis |

### System Building Options:

- ☐ Insertion method Build system using insertion method
- ☒ Replacement method Build system using replacement method
- ☒ Check lipid ring (and protein surface) penetration

**For this system, insertion method can not be used. Replacement method will be used**

instead.

### Component Building Options:

☒ Include Ions

Ion Placing Method: Distance ▾

☒ Basic Ion Types

NaCl ▾ Add Simple Ion Type ▾

☐ More Ion Types

| Formula | Cation                      | Anion                       | Concentration     | Neutralizing                  |
|---------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------|-------------------------------|
| NaCl    | <span>Na<sup>+</sup></span> | <span>Cl<sup>-</sup></span> | <span>0.15</span> | <span>⊙</span> <span>-</span> |

Calculate Solvent Composition

| Ion             | Count |
|-----------------|-------|
| Na <sup>+</sup> | 92    |
| Cl <sup>-</sup> | 106   |

Please note that the ion count is an approximation based on geometry. The real number will be calculated in the next step.

Next Step:  
Build Components 



[Lehigh University](#) / [Department of Biological Sciences](#) / [Department of Chemistry](#) / [Department of Bioengineering](#) / [Im Lab](#)  
Problems, Questions, & Comments? / [Contact](#) / [Forum](#) / Copyright(c) 2006-2025 by the Im Lab

## 11. APÊNDICE C

Conformação do receptor CB1 de *Amazona aestiva* (verde), obtida após 500 ns de simulação em membrana, sobreposta ao CB1 humano experimental (PDB: 7WV9, amarelo), que está complexado com CP55,940 (vermelho) e ZCZ011 (azul).

