



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

SARAH BÉTHELIM NOBRE MARINHO

**USO DE FERRAMENTAS COMPUTACIONAIS PARA AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIRRETROVIRAL DE COMPOSTOS CANABINÓIDES**

Recife
2023

SARAH BÉTHELIM NOBRE MARINHO

**USO DE FERRAMENTAS COMPUTACIONAIS PARA AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIRRETROVIRAL DE COMPOSTOS CANABINÓIDES**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Coordenação do curso de
Bacharelado em Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial à obtenção do
título de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Dijanah Cota Machado

Recife

2023

Sarah Béthelim Nobre Marinho

**USO DE FERRAMENTAS COMPUTACIONAIS PARA AVALIAÇÃO
DA ATIVIDADE ANTIRRETROVIRAL DE COMPOSTOS CANABINÓIDES**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Coordenação do curso de
Bacharelado em Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial à obtenção do
título de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Aprovada em: ____/____/____

Nota: _____

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Dijanah Cota Machado
Departamento de Biofísica e Radiobiologia - UFPE

Prof. Me. Jonas Sérgio de Oliveira Filho
Departamento de Biofísica e Radiobiologia - UFPE

Prof. Dr. Antonio Gomes de Castro Neto
Centro Universitário Maurício de Nassau

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Marinho, Sarah Bethelim Nobre .

USO DE FERRAMENTAS COMPUTACIONAIS PARA AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIRRETROVIRAL DE COMPOSTOS CANABINÓIDES /
Sarah Bethelim Nobre Marinho. - Recife, 2023.

42 p. : il., tab.

Orientador(a): Dijanah Cota Machado

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2023.

1. HIV. 2. Transcriptase reversa. 3. Canabinóides. 4. Docking molecular. I.
Machado , Dijanah Cota . (Orientação). II. Título.

570 CDD (22.ed.)

Dedico esta obra a minha avó Quitéria Inácia da Silva, mãe solo de quatro filhos, merendeira, que viu na educação uma forma de transformar a realidade dos seus. Foi por sua perseverança na adversidade e sua esperança por tempos melhores que cresci cercada por mulheres extraordinárias que me mostraram que sonhos podem se tornar realidade. Por isso, essa conquista é tão dela quanto minha.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus pelas graças realizadas em minha vida. A minha família por todo o incentivo nessa trajetória, em especial a minha mãe Rosiane Nobre e a quem com orgulho posso chamar de pai Micheel Anderson, por terem me apoiado e acreditado em mim em todos os momentos, principalmente por me ajudarem a não desistir. Agradeço também a minha tia Rosana Nobre por toda torcida e suporte quando precisei.

À professora Dr^a. Dijanah Cota Machado, por ter me acolhido desde o primeiro período, por todos os ensinamentos e correções, esse tempo sob sua orientação pude aprender muito além da pesquisa, mas valores que excedem a academia e que levo como inspiração em minha jornada. Deixo aqui meu agradecimento ao Professor Dr. Cláudio Gabriel e a todos do Laboratório de Biofísica das Membranas e Células-tronco – Dr. Oleg Krasilnikov por terem me recebido e que comigo compartilharam os seus conhecimentos, em especial a minha amiga Maria Isabel Cavalcante que nessa última fase me deu apoio na realização desta pesquisa e ao Dr. Artur.

Quero agradecer os meus melhores amigos, Renato Teixeira e Cibelle Cristina, por todos os conselhos úteis e principalmente os inúteis, pelos puxões de orelha, por toda torcida pelos meus sonhos e nunca me deixarem esquecer que existe uma vida incrível e que vale a pena ser vivida intensamente.

A Jonas Sérgio, por todas as horas que passamos conversando sobre ciência, por todos os conselhos sobre a vida e por me lembrar que um título sozinho não nos torna cientistas, mas sim o que fazemos com ele, obrigada por me inspirar a ser melhor sempre.

Aos meus amigos Jessica Milena e Jhonatan Douglas por toda a parceria vivenciada no LITPEG - Laboratório Integrado de Tecnologia em Petróleo, Gás e Biocombustíveis, colaboração nas pesquisas que desenvolvemos juntos, pelos momentos de paz no final do expediente e pela amizade que levo para além dos muros desta universidade.

As minhas companheiras de curso, com quem pude compartilhar toda vivência acadêmica, obrigada pelo suporte nos dias difíceis e pelas risadas desesperadas nos tempos de provas e as alegrias nos intervalos. Obrigada por estarem presentes e como se dizia “ninguém solta a mão de ninguém”.

Dedico um agradecimento em especial a Juliana Oliveira, grande incentivadora e namorada, por todo carinho, compreensão e estímulo em nossa caminhada. Nunca perdeu

a fé na minha pesquisa e soube me amparar nos momentos mais difíceis, por isso sou imensamente grata.

Por fim, agradeço a todos por serem os meus gigantes, onde em seus ombros pude olhar mais distante.

Abrir a escotilha da armadura
Pra meu sorriso acabar com a guerra
Saiba que não existe mal na terra
Que vença a coragem.

(IVYSON, Bezerra, 2021)

RESUMO

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, também conhecida como AIDS, é uma infecção causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) que atinge células do sistema imunológico do corpo, principalmente as células T CD4+. Ao infectar a célula, o RNA viral é transcrito reversamente, com o auxílio da enzima transcriptase reversa, que sintetiza uma cadeia de DNA a partir de um molde de RNA. A ação dessa enzima tornou-se um alvo importante para o tratamento do HIV, pois algumas classes de medicamentos antirretrovirais, como os NNRTIs e NRTIs, atuam inibindo sua atividade. Embora os tratamentos com os antirretrovirais sejam eficazes, podem apresentar efeitos colaterais, como aumento do risco de doenças cardiovasculares, osteoporose e disfunção renal. Além disso, o HIV pode desenvolver resistência aos antirretrovirais ao longo do tempo, dado ao elevado índice de mutações que o vírus pode passar, aumentando o risco de novas contaminações com cepas altamente resistentes ao tratamento disponível. Por esse motivo o presente estudo avaliou computacionalmente, por meio da ferramenta *docking* molecular, a potencial atividade antirretroviral de compostos canabinóides (canabidiol, Δ 9-tetrahydrocannabinol, ácido canabinólico e ácido canabicitrílico) na inibição da atividade enzimática da transcriptase reversa do HIV. As estruturas tridimensionais das moléculas canabinóides e da enzima transcriptase reversa do HIV foram submetidas ao *docking* usando a plataforma DockThor. Como molécula controle foi utilizada a Etravirina, que é um inibidor NNRTI de terceira geração, recomendado no tratamento do HIV-1 em adultos comprovadamente resistentes. Os resultados obtidos indicam que tanto os valores de afinidade e energia total, como a disposição espacial da molécula Δ 9-tetrahydrocannabinol no sítio da transcriptase se assemelham aos da molécula controle Etravirina. Esses achados indicam o Δ 9-tetrahydrocannabinol como um potencial candidato à fármaco inibidor de transcriptase reversa, contudo se faz necessária a realização de testes *in vitro* e *in vivo* a fim de evidenciar suas potenciais atividades biológicas frente ao vírus HIV.

Palavras-chave: HIV; Transcriptase reversa; Canabinóides; *Docking* molecular.

ABSTRACT

Acquired Immunodeficiency Syndrome, also known as AIDS, is an infection caused by the human immunodeficiency virus (HIV) that affects cells of the body's immune system, mainly CD4⁺ T cells. When infecting the cell, the viral RNA is reverse transcribed, with the help of the reverse transcriptase enzyme, which synthesizes a DNA chain from a RNA template. The action of this enzyme has become an important target for HIV treatment, as some classes of antiretrovirals, such as NNRTIs and NRTIs, act by inhibiting its activity. Although treatments with antiretrovirals are effective, they can have side effects, such as an increased risk of cardiovascular disease, osteoporosis and kidney dysfunction. Furthermore, HIV can develop resistance to antiretrovirals over time, given the high rate of mutations that the virus can undergo, increasing the risk of new contamination with strains that are highly resistant to the available treatment. For this reason, the present study evaluated computationally, using a molecular *docking* tool, the potential antiretroviral activity of cannabinoid compounds (cannabidiol, Δ^9 -tetrahydrocannabinol, cannabinolic acid and cannabicyclic acid) in inhibiting the enzymatic activity of HIV reverse transcriptase. The three-dimensional structures of cannabinoid molecules and the HIV reverse transcriptase enzyme were docked using the DockThor platform. Etravirine was used as a control molecule, which is a third-generation NNRTI inhibitor recommended for the treatment of HIV-1 in proven resistant adults. The results obtained indicate that both the affinity and total energy values, as well as the spatial arrangement of the Δ^9 -tetrahydrocannabinol molecule at the transcriptase site, are similar to those of the Etravirine control molecule. These findings indicate Δ^9 -tetrahydrocannabinol as a potential candidate for reverse transcriptase inhibitor drug, however it is necessary to carry out *in vitro* and *in vivo* tests in order to demonstrate its potential biological activities against the HIV virus.

Keywords: HIV; Reverse transcriptase; Cannabinoids; Molecular *docking*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
2.1 Vírus da imunodeficiência humana	12
2.1.1 Transcriptase reversa	15
2.2 Determinação de Terapias anti-retrovirais	16
2.3 Aplicação do docking molecular na farmacologia	19
2.4 Compostos canabinóides no contexto da farmacologia	19
3. OBJETIVOS	23
3.1 Objetivo geral	23
3.2 Objetivos específicos	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Obtenção e otimização das moléculas ligantes	24
4.2 Obtenção e tratamento da estrutura cristalográfica da transcriptase reversa do HIV-1	25
4.2.1 Definição do grid center	25
4.3 Docking molecular	27
4.4 Análise dos resultados	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 Energias de interação do complexo HIV-rt/composto canabinóide	29
5.2 Interações intermoleculares entre HIV-rt e os derivados canabinóides	29
5.2.1 Canabidiol (CBD)	29
5.2.2 Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC)	30
5.2.3 Ácido canabinólico	31
5.2.4 Ácido canabicitólico	32
5.2.5 Etravirina	33
6. CONCLUSÃO	36
7. REFERÊNCIAS	37

1. INTRODUÇÃO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) causador da síndrome da imunodeficiência adquirida, popularmente como AIDS, já afetou mais de 80 milhões de pessoas desde o início da contaminação massiva em meados da década de 1980. A infecção provoca supressão do sistema imune tornando o indivíduo suscetível a infecções oportunistas, podendo levar à morte pacientes sem o devido tratamento (DE ALENCAR, et al., 2022). É altamente transmissível e mesmo após 40 anos da sua descoberta ainda apresenta desafios à saúde pública para reduzir o risco de novas infecções e da resistência medicamentosa à terapia antirretroviral (UNAIDS, 2022). Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) estima-se que cerca de 38,4 milhões de pessoas convivam com o vírus até o final de 2021. O desenvolvimento de terapias seguras e eficazes vem sendo acompanhado de uma maior compreensão a respeito dos processos envolvidos na biologia do HIV (KLEINPETER et al., 2020).

O HIV é um vírus do gênero *lentivirus* pertencente à família *Retroviridae*, a classificação de retrovírus diz respeito ao genoma constituído por RNA e enzimas capazes de realizar retrotranscrição (ICTV, 2022; GALLO; MONTAGNIER, 1988). O vírus possui um pequeno número de proteínas e *design* eficiente, possibilitando a infecção nas células do sistema imunológico, especificamente nas células CD4+. O RNA é transcrito reversamente, com o auxílio da enzima transcriptase reversa em DNA do HIV, e assim pode ser integrado ao DNA do hospedeiro, o qual utilizando as enzimas do mesmo HIV é transcrito em proteínas e clivadas, assim os vírions maduros são liberados para a corrente sanguínea (DEEKS et al., 2015).

Terapias antirretrovirais (TARVs) estão disponíveis há mais de 20 anos e possibilitam a supressão da viremia plasmática do HIV a níveis indetectáveis, melhorando a função imunológica e reduzindo consideravelmente o risco de desenvolvimento da AIDS. Porém, a TARV não é curativa e a interrupção da terapia resulta em um rebote viral na maioria dos pacientes (SAAG et al., 2001). A maioria dos antirretrovirais atuam inibindo ou alterando a replicação viral, são projetados para evitar que haja a destruição do sistema imune, como os linfócitos CD4+, também antagonistas de receptores CCR5 e inibidores de fusão. As classes atuais de TARVs podem ser divididas em: Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NRTIs), Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcriptase Reversa não nucleosídeos (NNRTIs), Inibidores de Transferência de

Cadeia da Integrase (INSTIs), Inibidores de Protease (IPs) e Inibidores de Entrada (KWONG, 2020).

Apesar da eficácia do protocolo da terapia antirretroviral atual, o tratamento pode contribuir para o surgimento de reações adversas, como doenças cardiovasculares, aumento de colesterol e demais comorbidades relacionadas (BAKER et al., 2017) e diminuição na densidade óssea (CERVERO et al., 2018). Além dos efeitos colaterais, ainda há a possibilidade do paciente desenvolver resistência a medicamentos que compõem a TARV, ou seja, o HIV possui a capacidade de sofrer mutações e se reproduzir na presença da terapia. As consequências dessa resistência envolvem tanto a transmissão de cepa altamente resistente a drogas como o aumento dos custos da saúde do paciente (Pan American Health Organization -PAHO).

Na tentativa de buscar novos compostos que demonstrem efetiva ação na inibição da replicação viral, diversos grupos de pesquisa vêm investigando as ações dos canabinóides e suas possíveis bioatividades contra a infecção do HIV, como, por exemplo, os grupos de Chen (CHEN et al., 2015) e Esmaeili (ESMAEILI et al., 2020) avaliaram a atividade do Δ^9 -tetrahydrocannabinol na modulação da resposta imune do HIV.

Os canabinóides são metabólitos secundários encontrados nos extratos da *Cannabis sativa*. Esta planta possui mais de 60 compostos terpenos fenólicos denominados de fitocannabinóides, estes compostos quando em contato com o meio fisiológico interagem com receptores específicos acoplados a proteína G, CB1 e CB2. O receptor CB2 é altamente expresso em regiões e tecidos periféricos, incluindo células imunes, como monócitos, linfócitos B e T, células dendríticas e mastócitos (ASATI et al., 2017). Dessa maneira, a interação de compostos canabinóides em um contexto de infecção por HIV pode apresentar potenciais aplicações terapêuticas que incluem atividades anti-inflamatórias, como também a modulação do sistema imunológico e do sistema nervoso central (NASRIN et al., 2023).

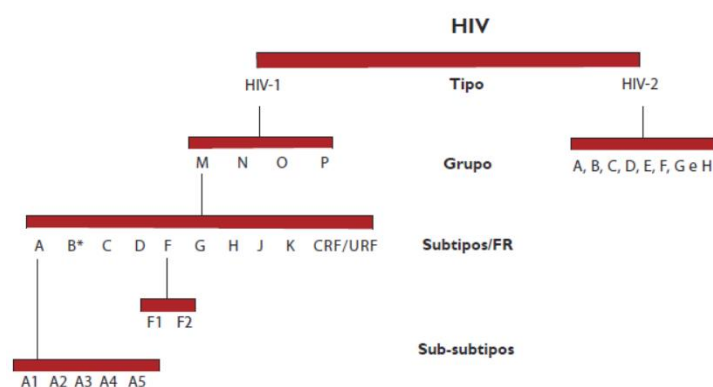
Por tanto, a intuito desse trabalho é investigar, utilizando ferramentas *in silico* de docking molecular, a potencial interação de compostos canabinóides na estrutura do HIV, na região do sítio ativo da transcriptase reversa, e assim determinar as energias de ligação e as interações intermoleculares entre esses compostos e o vírus.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Vírus da imunodeficiência humana

Após quatro décadas da identificação do vírus da imunodeficiência humana (HIV) causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), que já infectou uma média de 84,2 milhões de indivíduos desde o início da pandemia HIV/AIDS, seu controle segue sendo um desafio constante para a saúde pública global. Segundo dados apontados pelo Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/Aids (UNAIDS) Brasil até 2021, cerca de 38,4 milhões de pessoas no mundo convivem com HIV, dessas apenas 28,7 milhões possuíam acesso às TARVs -Terapias Antirretrovirais (UNAIDS, 2022). Essas terapias, quando disponíveis, permitem que os indivíduos infectados pelo HIV, com contagem de CD4 acima de 350 células/mm³, mantenham uma expectativa de vida equivalente à população em geral (RACHID, SCHECHTER; 2017).

A síndrome é causada por dois *Lentivírus* geneticamente diversos (**Figura 1**), HIV-1 e HIV-2, ambos os tipos são resultados de múltiplas transmissões entre espécies de vírus da imunodeficiência símia (SIV) que infectam naturalmente primatas africanos. Porém, a maioria dessas infecções afetam os seres humanos de forma limitada. Entretanto, um evento de transmissão envolvendo uma cepa de SIV_{cpz} foi responsável pela origem do HIV-1. Este por sua vez compreende quatro linhagens distintas, denominadas de grupos M, N, O e P que resultaram em eventos independentes de transmissão entre espécies, o grupo M, principal causador da AIDS, é encontrado praticamente em todos os países (SHARP; HAHN, 2011). Ainda não é bem estabelecido como os humanos adquiriram os precursores símios dos grupos M, N, O, P do HIV-1, mas com base na biologia do vírus pode ter ocorrido por exposição cutânea, de membrana mucosa, sangue e/ou fluidos corporais de símios infectados. Tais infecções poderiam ser vistas em um contexto de caça predatória (PEETERS et al., 2002).

Figura 1. Esquema evolutivo das variantes dos subtipos de HIV.

Fonte: Manual técnico para o diagnóstico da infecção do HIV em adultos e crianças, 2018.

O HIV-2 é menos difundido e as cargas virais tendem a ser menores em indivíduos infectados, desde a sua descoberta permanece restrita à África do Sul Ocidental. A maioria dos indivíduos infectados não progridem para AIDS e quando ocorre demonstram sintomas indistinguíveis aos do HIV-1. Apesar de sintomas similares o HIV-2 possui origem natural diferente, envolvendo uma cepa de *SIVsmm*, dessas ao menos 8 linhagens foram identificadas, denominadas de grupo A-H (embora apenas os grupos A e B tenham se espalhado entre humanos) (SHARP, HAHN, 2011; YANG et al., 2022).

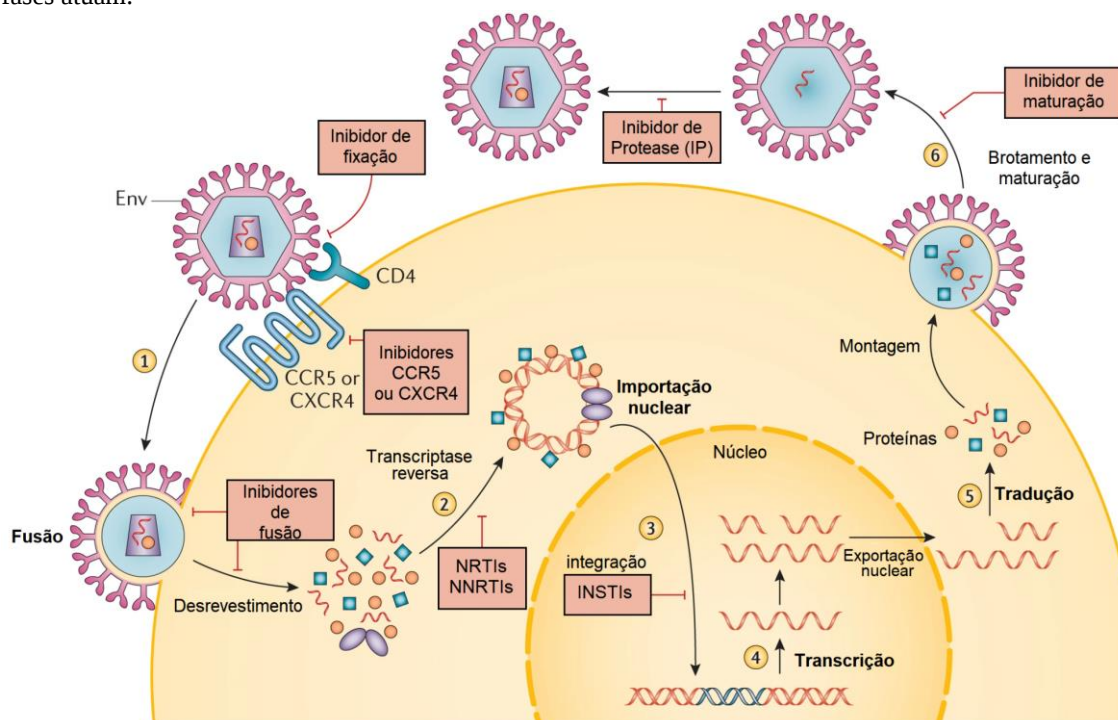
O gênero *Lentivirus* da família *Retroviridae*, dos retrovírus humanos, consiste em uma partícula esférica que mede entre 100 a 120 nm de diâmetro contendo em seu núcleo duas cópias de RNA (ácido ribonucleico), envoltas por uma camada proteica ou nucleocapsídeo, um capsídeo e um envelope (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018; ICTV, 2022). É caracterizado pela presença da enzima transcriptase reversa, esta, possibilita a transcrição do código de RNA viral em DNA (ácido desoxirribonucleico), permitindo se integrar ao genoma do hospedeiro, sendo então denominado Provírus. Dessa forma o DNA viral é transcrito em RNA mensageiro, que passa a ser traduzido em proteínas virais, a partir desse momento passa a ocorrer a montagem do vírus e em sequência sua Gemulação (RACHID; SCHECHTER; 2017).

O vírus afeta principalmente células que possuem moléculas CD4 expressas na superfície de células dendríticas, monócitos, macrófagos e linfócitos T ativados (Figura 2). Esse último é mais permissivo à infecção por razões ainda pouco esclarecidas. Sendo assim, o HIV invade o linfócito T CD4 + onde se liga a seu receptor CD4+ e a um co-receptor de quimiocinas, podendo ser CCR5, CXCR4, CCR2. Após esse evento de ligação, a glicoproteína viral transmembrana gp41 permite que ocorra a fusão entre as

membranas do envelope viral e as do hospedeiro (DEEKS et al., 2015; McLAREN, FELLAY, 2021).

Em sequência, o capsídeo é liberado, contendo o genoma e proteínas do vírus no citosol. Essa liberação leva ao desrevestimento (ou desnudamento) do núcleo do capsídeo e a liberação do RNA e de enzimas virais, dessa forma, a transcriptase reversa do HIV inicia a retrotranscrição do RNA viral em DNA, que é transportado para o núcleo da célula onde será incorporado ao DNA do hospedeiro com o auxílio da enzima integrase (CHAVES, YO; 2021). Entretanto, estudos recentes demonstram que tal processo pode vir a ocorrer dentro do núcleo da célula (BURDICK et al., 2020). Uma vez que o Provírus se integra ao DNA do hospedeiro, passa a realizar transcrição de RNA viral, sintetizando novas cópias de RNA do HIV, parte dessas cópias passa a ser o genoma de um novo vírus enquanto a célula usa as cópias restantes para gerar novas proteínas do HIV.

Figura 2. Ciclo de vida do vírus no hospedeiro e principais classes de fármacos antirretrovirais e em que fases atuam.



Fonte: adaptado de DEEKS et al. (2015) e BRENCHEY et al. (2006).

A transmissão do HIV pode acontecer por exposição sexual através do trato genital ou da mucosa retal. O mecanismo com o qual o HIV-1 atravessa o epitélio da mucosa não é bem definido, sabe-se que a difusão do HIV-1 através da mucosa vaginal é retardada pelo muco cervicovaginal (LAI et al., 2009), mas é possível que o vírus

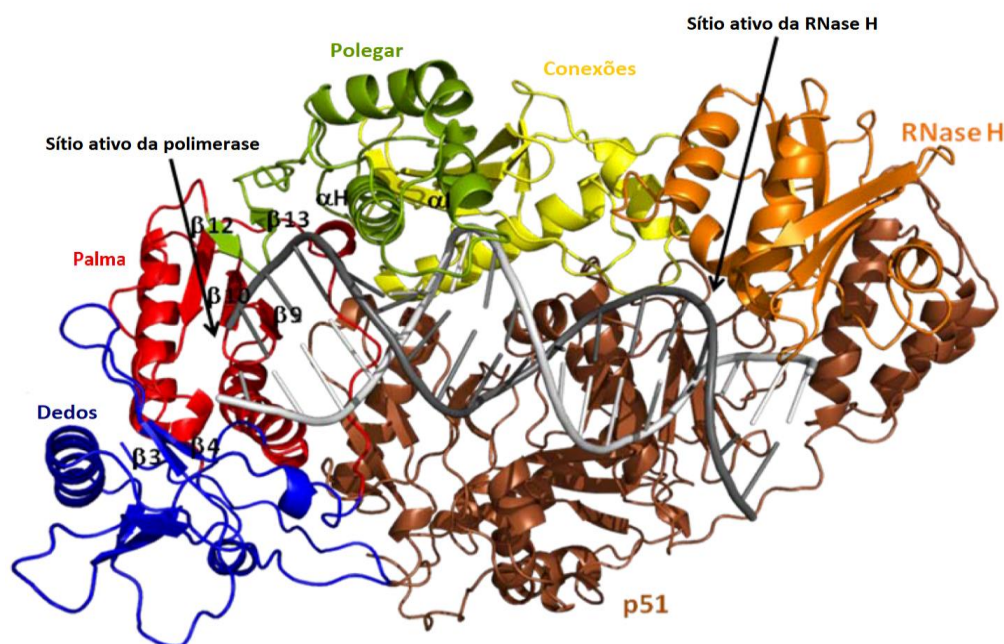
ultrapasse essa barreira por contato direto com células dendríticas (DCs) ou por um processo de transcitose que nada mais é que a transferência de macromoléculas de um pólo a outro da célula por meio de vesículas (McMICHAEL et al., 2010).

Historicamente, a infecção por HIV é caracterizada por imunodeficiência progressiva, infecções por patógenos agressivos (como *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella* spp. e *Mycobacterium tuberculosis*). Outros sintomas não diretamente atribuíveis à imunodeficiência são febre, surgimento de gânglios, crescimento de baço e fígado, doenças cardiovasculares, neoplasias, e em casos graves pode haver inflamação das meninges. Na fase crônica, os sintomas podem estar relacionados a distúrbios cardiovasculares e/ou esofágicos e estomacais. Cerca de 70% dos portadores permanecem até 30 anos na fase assintomática ou indeterminada da infecção (RACHID, SCHECHTER, 2017; FIOCRUZ, 2022).

2.1.1 Transcriptase reversa

A enzima da transcriptase está presente em todos os retrovírus e replica o DNA de fita dupla a partir do RNA de fita simples, que é o oposto do dogma central da biologia celular, onde o DNA codifica a enzima de RNA por transcrição. Possui atividades de polimerase e RNase H, que são necessárias para a replicação do HIV (YOSHIDA et al., 2020). É formada por heterodímero assimétrico com duas subunidades a P66 (66 kDa) e a P51(51 kDa) (WU et al., 1991). A subunidade P66 possui 560 aminoácidos, enquanto a subunidade P51 conta com 440 aminoácidos em seu comprimento, ambas compartilham um terminal amina em comum (SARAFIANOS et al., 2010). A subunidade P66, possui dois domínios, polimerase que é responsável pela interação com o nucleosídeo trifosfato (dNTP) resultando na síntese de DNA em cepa única e domínio ribonuclease H (RNase) que atua na clivagem híbrida de RNA-DNA (ribonuclease). O domínio da polimerase possui 4 subdomínios que apresentam formato da mão direita humana: Dedos (resíduo 1-85 e 118-155), Palma (resíduos 86-117 e 156-236), Polegar (resíduos 237–318) e por final o subdomínio de Conexão (resíduos 319-426) representados na Figura 3 (SARAFIANOS et al., 2010; TARASOVA et al., 2018).

Figura 3. Estrutura cristalográfica da transcriptase reversa em complexo com ácido nucleico.



Fonte: adaptado de SINGH et al. (2010).

A P51 deriva da subunidade P66, sendo a extremidade C-terminal de RNase H, presente na subunidade P66 é clivada pela protease viral. Com a ausência desse domínio e a configuração alternativa de seus subdomínios, torna a P51 enzimaticamente inativa, logo, suas funções tendem a fornecer suporte estrutural e facilitar o carregamento da P66 no ácido nucleico. Apesar da P66 sofrer movimentos de grande escala, há indícios que a P51 é essencialmente rígida. Mutações, como a N348I demonstram resistência a inibidores NRTIs e NNRTIs (CHUNG et al., 2013). A fenda de ligação é configurada para que o ácido nucleico entre em contato com ambos os sítios ativos da polimerase e RNase, é formada principalmente pelos domínios da P66 enquanto os subdomínios da P51, conexão e dedos e polegar forma o chão da fenda. As hélices α -H e α -I do polegar da P66 auxiliam a posicionar o ácido nucleico por meio de interações que envolvem tanto o primer quanto as fitas moldes (SARAFIANOS et al., 2010).

2.2 Determinação de Terapias anti-retrovirais

O acesso a terapias anti-retrovirais (TARVs) eficazes mostra uma redução na taxa de morbidade e mortalidade associada à infecção por HIV. Essa redução só é possível devido à supressão viral eficiente e a consequente depleção de linfócitos T CD4

(BADURA et al., 2020). No entanto, apesar das TARVs suprimirem as cargas virais a níveis quase indetectáveis, a interrupção do tratamento ocasiona o retorno da carga viral níveis de pré-tratamento, sendo assim, os indivíduos infectados devem comprometer-se com o tratamento a fim de manter suprimida a replicação do HIV (DAHABIEH et al., 2015).

O tratamento é formado por uma terapia inicial atrelada a uma terapia alternativa. A primeira linha de tratamento consiste em um esquema terapêutico prescrito assim que é confirmado o diagnóstico ou até 7 dias após. Não havendo a supressão viral e restauração da imunidade do indivíduo deve ser prescrita uma linha alternativa e assim sucessivamente (BROJAN et al., 2020).

Antes de serem prescritos os medicamentos para o paciente, são solicitados exames laboratoriais que incluem contagem dos linfócitos T CD4+, carga viral do HIV, genotipagem do vírus para resistência a medicamentos, avaliação das funções renais e hepáticas, testes sorológicos para hepatites (especialmente hepatites B e C) e avaliação de estado de gravidez. As funções hepáticas e renais devem ser monitoradas e avaliadas de 2 a 8 semanas após o início da terapia medicamentosa. A carga viral deve ser avaliada a cada 4 semanas até que se torne indetectável, então, repetir os testes de 3 a 6 meses. Pacientes que demonstram estabilidades na TARV podem ser acompanhados a cada 6 meses (DHHS, 2021). Os tratamentos atuais não são apenas eficazes na depleção da replicação viral, mas também estão associados a reações adversas mais favoráveis, podendo ser administrados uma vez ao dia e podem estar disponíveis em regimes combinados de comprimido único (KWONG et al., 2020).

Segundo as diretrizes do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT, 2018) o SUS (Sistema Único de Saúde) disponibiliza seis classes de medicamentos distintas que compõem a terapêutica, sendo elas (BROJAN et al, 2020):

- 1) Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NRTIs): atuam na transcriptase reversa tornando a cadeia de DNA viral defeituosa para replicação. Exemplos: Abacavir (ABC), Zidovudina (AZT) e Tenofovir (TDF).
- 2) Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NNRTIs): impedem a replicação do RNA viral dentro dos linfócitos T CD4. Exemplos: Efavirenz (EFZ), Nevirapina (NVP) e Etravirina (ETR).
- 3) Inibidores de Protease (IP): agem bloqueando a protease que fragmenta as proteínas virais sintetizadas na célula hospedeira, restringindo a ação e

multiplicação do vírus. Exemplos: Atazanavir (ATV), Lopinavir (LPV) e Saquinavir (SQV).

- 4) Inibidores de Integrase (INI): inibem a enzima que integra o RNA viral no DNA da célula hospedeira. Exemplos: Dolutegravir (DTG) e Raltegravir (RAL).
- 5) Inibidores de Fusão (IF): impedem a fusão da membrana viral com a membrana celular. Exemplo: Enfuvirtida (T20).
- 6) Inibidor de CCR5: bloqueia o receptor CCR5, proteína de membrana, impedindo a ligação do HIV e consequente infecção da célula hospedeira.

Nos Estados Unidos os protocolos iniciais de TARVs para indivíduos com HIV contendo as INIs Bictegravir ou Dolutegravir são recomendados como tratamento inicial para maioria dos pacientes com diagnóstico positivo, devido a sua alta tolerabilidade, segurança e alta barreira à resistência, também se leva em consideração a baixa carga de comprimidos e pouca interação medicamentosa. Protocolos terapêuticos baseados em INIs resultam em uma repressão mais rápida que tratamentos com IPs ou NNRTIs (GANDHI et al., 2023).

Já no Brasil o protocolo inicial é composto por três medicamentos antirretrovirais, sendo dois NRTIs – geralmente, tenofovir alafenamida, tenofovir disoproxil fumarato, emtricitabina, abacavir ou lamivudina - e outro medicamento de classe distinta podendo ser NNRTI ou IP – como darunavir, atazanavir - ou fármacos da classe INI, sendo os mais aprovados para o tratamento: bictegravir, dolutegravir, elvitegravir e raltegravir. (PCDT, 2018; KWONG et al., 2020). O protocolo terapêutico inicial recomendado pelo PCDT é o uso de Lamivudina, Tenofovir e Dolutegravir, principalmente quando não há comorbidades ou algum tipo de restrição relacionada, como tuberculose ou gravidez (BROJAN, 2022).

Protocolos que associam Dolutegravir a dois NRTIs citados anteriormente (tenofovir e lamivudina) não podem ser prescritos para mulheres grávidas ou tentando engravidar, nem para pessoas com tuberculose, pois ambas as formas de tenofovir possuem reações adversas potenciais, que incluem efeitos na função renal e na densidade mineral óssea (KWONG et al., 2020), além de apresentar reações medicamentosas adversas mais graves quando associado a antibióticos e anti-inflamatórios, ambas as interações medicamentosas são mais acentuadas por aumentar atividade nefrotóxica do tenofovir. Já a Lamivudina apresenta interações graves com antibióticos, antifúngicos, anti-hipertensivos, antilipêmicos, antimaláricos, narcóticos, anticonvulsivantes,

antiespasmódicos, antirretrovirais, antihelmínticos, antirreumáticos, benzodiazepínicos, retinóides e tireostáticos (KWONG et al., 2020).

As classes NRTI e NNRTI atuam de maneira similar, interrompendo a enzima transcriptase reversa (RT). Ao impedir o funcionamento da RT, o vírus do HIV tornou-se incapaz de sintetizar aminoácidos essenciais necessários para a replicação (KWONG et al., 2020). Os inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa (NNRTIs) atualmente mostram-se importantes nas terapias de combinação de drogas, ou seja, na terapia antirretroviral altamente ativa, os NNRTI são usados para o tratamento do HIV-1 dada a sua atividade antirretroviral única, sua alta especificidade e baixa toxicidade. Três fármacos dessa classe são usados clinicamente (efavirenz, nevirapina e delavirdina) podendo inibir a proliferação do HIV do tipo selvagem, embora a Etravirina, demonstra alto potencial contra mutações já resistentes à primeira linha medicamentosa das TARVs (ZHAN, et al, 2011). Entretanto os NNRTI possuem uma barreira genética relativamente baixa à resistência. De modo geral essa classe de fármacos interage com uma bolsa hidrofóbica dentro da enzima transcriptase reversa do HIV-1. Quase todas as mutações referentes à resistência dos NNRTIs se localizam no domínio da RT onde se localiza o bolsão hidrofóbico. Devido a baixa resistência genética, há um alto índice de resistência cruzada dentro dessa classe de drogas (NASTRI, et al 2023). Sendo assim existe uma necessidade de desenvolver NNRTI, altamente potentes, com atividade antiviral de amplo espectro, além de propriedades farmacocinéticas aprimoradas (ZHAN, et al, 2011).

2.3 Aplicação do *docking* molecular na farmacologia

Métodos computacionais permitem aumentar a eficiência da pesquisa em várias etapas do desenvolvimento de novos fármacos. As ferramentas de identificação podem se concentrar na descoberta de novas classes de compostos de ligação, em sistemas de filtragem e mineração de dados para reduzir o número de entidades químicas sob investigação (KIRCHMAIR et al., 2011). O *docking* molecular é uma ferramenta *in silico* que permite prever o comportamento entre um receptor alvo (proteína ou DNA) e um ligante (fármaco) em nível molecular ou delimitando relações estrutura-atividade (PINZI; RASTELLI, 2019).

Ao passo que as estruturas químicas são determinadas experimentalmente por cristalografia de raio-X e/ou por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR)

o *docking* torna-se cada vez mais usado como ferramenta no planejamento e descoberta de novos fármacos (PAGADALA et al, 2017).

A simulação de *docking* (encaixe) se inicia com a conformação e a orientação (referidas em conjunto como *pose*) de moléculas no local do receptor alvo (proteína, RNA, DNA). As estruturas cristalográficas do receptor alvo encontram-se, em sua maioria, no banco de dados de proteínas PDB (*Protein Data Bank*) que fornece acesso às coordenadas atômicas tridimensionais (TORRES et al., 2019). Os programas que realizam *docking* executam um algoritmo de busca no qual a conformação do ligante é avaliada N vezes até que a convergência de energia mínima seja encontrada, e a função de afinidade energia livre de Gibbs (ΔG) é aplicada para classificar as poses possíveis com a soma das energias eletrostáticas, interações de van der Waals e as interações coulômbicas (PAGADALA et al., 2017).

2.4 Compostos canabinóides no contexto da farmacologia

A *Cannabis sativa* L. pertence à família Cannabaceae, classificada inicialmente por Linnaeus em 1753. É uma planta herbácea anual, podendo chegar dependendo da variedade até 4 metros de altura, dióica, com caule ereto e folhas palmadas esticadas, as inferiores opostas e as superiores alternas. Originalmente cultivada na Ásia central, atualmente distribuída nas regiões temperadas, tropicais e subtropicais do mundo (LÓPEZ et al., 2014).

Além de suas propriedades alucinógenas, os derivados da *Cannabis* têm sido amplamente estudados mediante suas aplicações industriais e farmacêuticas. As sementes vêm sendo frequentemente utilizadas, desde os tempos antigos pelas civilizações asiáticas, e comercialmente como fonte de óleo comestível, e potencial suplemento alimentar (IFTIKHAR et al., 2021). Industrialmente, as fibras do floema podem ser usadas na fabricação de fibras longas (fibras celulósicas com alto índice de tração) como alternativa para substituir parcialmente alguns plásticos como *Blend* (FREIRE, 2021).

Na farmacologia, os canabinóides são o grupo principal de metabólitos secundários da *Cannabis*, podem desempenhar importante papel no controle da diabetes (SUTTIHUMSATIDA; PANICHAYUPAKARANANT, 2020) e no combate a células cancerosas, não apenas pelos efeitos citotóxicos como efeitos putativos que inibem a metástase de inúmeras linhagens cancerosas (NAHLER, 2022). Também são evidenciados estudos de preparações farmacêuticas com canabidiol purificado

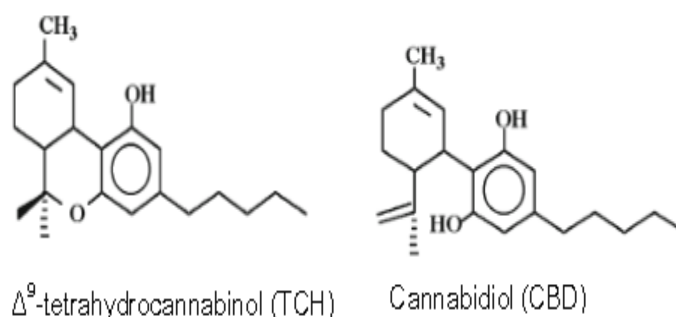
(Epidiolex[®]) como uma opção eficaz no tratamento de pacientes com síndrome de Dravet, Lennox-Gastaut e esclerose tuberosa (ARZIMANOGLU et al., 2020). Blaskovich e colaboradores relatam em estudo que o canabidiol possui excelente atividade contra biofilmes bacterianos, baixa propensão de induzir resistência e eficácia tópica *in vivo* contra as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Clostridioides difficile* (BLASKOVICH et al., 2021).

O termo Canabinóides se refere aos metabólitos secundários encontrados nos extratos da *Cannabis sativa*, consistem em grupos Alquil Resorcinol e Monoterpenos. A planta possui mais de 60 compostos terpenos fenólicos denominados de fitocanabinóides, desses, o mais estudado é Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) (Figura 4) que representa o principal componente ativo capaz de induzir reações psicóticas agudas transitórias em indivíduos previamente saudáveis, ligando-se a receptores específicos acoplados a proteína G, denominados canabinóides (CB1 e CB2) (ASATI et al., 2017).

Tais receptores estão envolvidos em respostas a dor, humor e memória. A alta afinidade do THC com receptores CB1 é a provável causa do efeito psicotrópico, contudo, também é relatado efeito analgésico, relaxante muscular e anti-inflamatório (GHAVANLOO; RUBEN, 2022). Em contrapartida, o CB2 é altamente expresso na periferia, incluindo células imunes, como monócitos, linfócitos B e T, células dendríticas e mastócitos.

O Canabidiol (CBD) (Figura 4) interage com ambos os receptores, CB1 e CB2, porém com menor afinidade, apresentando potenciais aplicações terapêuticas que incluem atividades anti-inflamatórias, efeitos antipsicóticos e antiepiléticos, como também a modulação do sistema imunológico e do sistema nervoso central (NASRIN et al., 2023).

Figura 4. Principais fitocanabinoides com aplicação farmacológica.



Fonte: retirado de ASATI et al. (2017).

Evidências apontam para um possível uso do CBD e do THC no tratamento de infecções virais. Lowe e colaboradores evidenciaram uma bioatividade do CBD contra a hepatite viral tipo C (HCV) (LOWE et al., 2017). Outro estudo demonstrou a eficácia do CBD de reduzir a proliferação e induzir a apoptose em células infectadas pelo herpes vírus associado ao sarcoma de Kaposi (MAOR et al., 2012). Chen e colaboradores demonstraram a modulação de resposta imuno-específica e ativação celular aumentadas na presença de THC (CHEN et al., 2015).

Já em 2022, estudos relacionados ao vírus SARS-CoV 1/2, causador da pandemia do COVID-19, avaliaram as atividades do THC, CBD e derivados como promissores candidatos contra a infecção. O THC e CBD apresentaram dupla ação em relação a dois alvos selecionados, ambos mostraram ação inibidora da principal protease viral, além de inibição de enzimas conversoras de angiotensina humana 2 (PITAKBUT et al., 2022). O estudo conduzido por Altyar e colaboradores evidenciou a possibilidade de CBD e alguns de seus derivados atuarem positivamente como possíveis candidatos a fármacos contra a infecção por COVID-19 (ALTYAR et al., 2022).

Estudos mostram que o uso de *Cannabis* em indivíduos com HIV-1 pode estar associado a menor contagem de carga viral, redução na quantidade de monócitos CD16+ circulantes e CD4+ e aumento na contagem de linfócitos T. O CBD se mostrou eficaz na redução do número de vesículas extracelulares por células infectadas pelo HIV-1, potencialmente através da regulação da transcrição viral e restauração da via de autofagia (DeMARINO et al., 2022).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar, por meio de ferramentas computacionais, a potencial ação de compostos canabinóides na inibição da atividade da transcriptase reversa do vírus do HIV-1.

3.2 Objetivos específicos

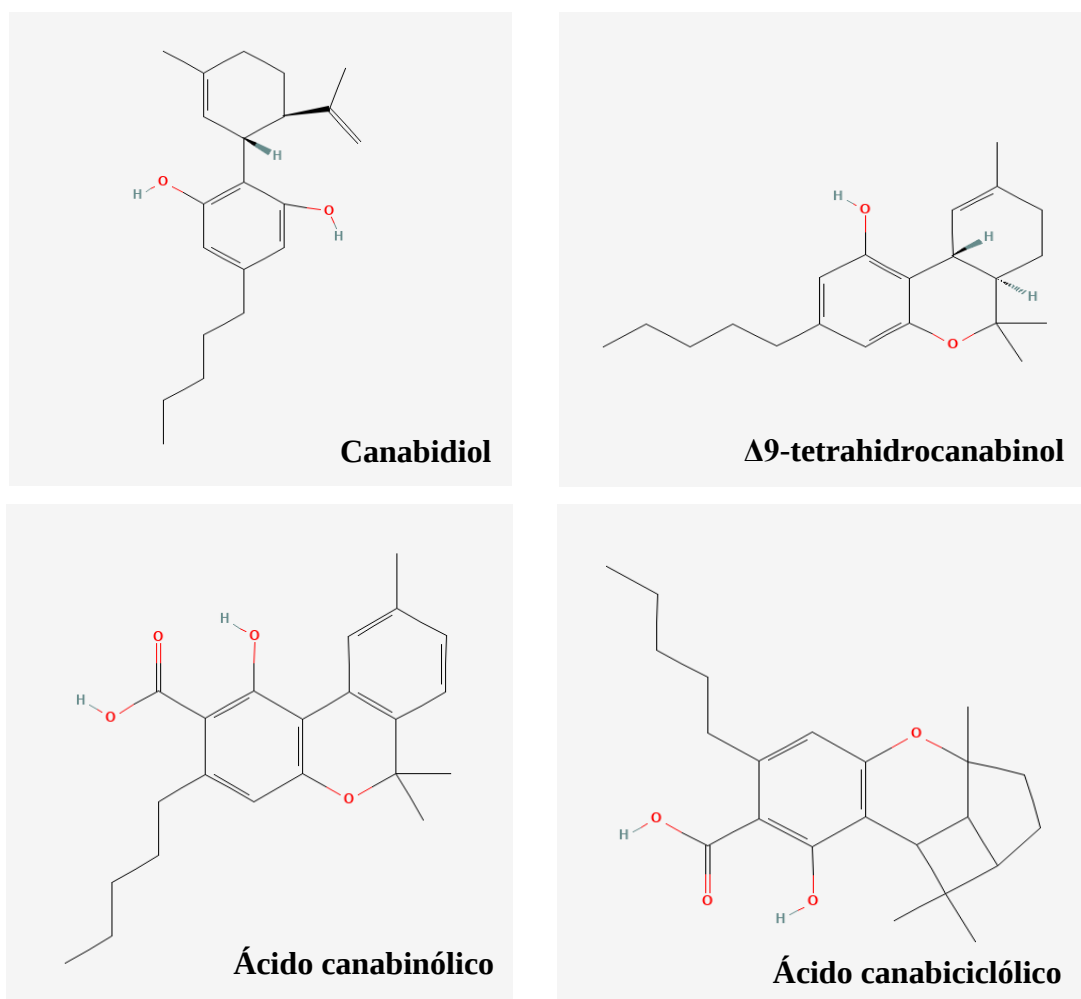
- Realizar simulações de *docking* molecular entre a transcriptase reversa do vírus do HIV-1 e compostos canabinóides.
- Realizar simulações de *docking* molecular entre a transcriptase reversa do vírus do HIV-1 e o fármaco antirretroviral Etravirina.
- Determinar as energias de ligação entre a enzima e cada composto avaliado.
- Estabelecer as interações intermoleculares envolvidas na interação enzima-composto canabinóide.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção e otimização das moléculas ligantes

Para realização deste estudo, foram selecionadas as seguintes moléculas para comparação da afinidade e modos de interações intermoleculares na subunidade P66 da transcriptase reversa: O canabidiol (CBD) foi escolhido por demonstrar modulação da infecção do HIV em Macrófagos reduzindo a propagação viral (TOMER, et al, 2022), delta 9 tetrahydrocannabinol (THC) pode efetivamente inibir a atividade do HIV-1 pela interação de resíduos importantes no sítio ativo, devido à forte interação entre a molécula e a transcriptase reversa (ESMAEILI et al., 2020). Os ácidos canabinólico e ácido canabiciclólico foram selecionados por demonstrarem melhores energias de interação com ligantes do vírus (SARS-CoV-2) (ALTYAR et al., 2022) (**Figura 5**).

Figura 5. Compostos canabinóides (ligantes) selecionados para o ensaio *in silico* no sítio ativo da transcriptase reversa do HIV.



Fonte: retirado do Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

As estruturas químicas dos ligantes foram obtidas no banco de dados PubChem no formato SDF (*structure-data file format*), com os seguintes códigos canabidiol (644019), Δ^9 -tetrahydrocannabinol (16078), ácido canabinólico (3081990), ácido canabíciclólico (71437560) e etravirina (193962). Em sequência, utilizando o programa Avogadro as estruturas foram submetidas ao campo de força MMFF94 (*Merck Molecular Force Field 94*) para otimização e minimização de energia. Esse campo de força foi escolhido por fornecer parâmetros bem definidos para mais de 20 estruturas químicas sendo capaz de tratar um grande número de conformações de grupos funcionais empregando distribuições de carga “aprimoradas” que emulam o efeito da polarizabilidade na amplificação de interações químicas (HALGREN, 1996a).

4.2 Obtenção e tratamento da estrutura cristalográfica da transcriptase reversa do HIV-1

A estrutura cristalográfica da transcriptase reversa do HIV-1 (HIV-rt), foi obtida no PDB (*Protein Data Bank*), sob o código 4G1Q. Este banco de dados tem servido como recurso de dados digitais em acesso aberto em biologia há mais de 50 anos. Atualmente abriga mais de 200.000 estruturas em 3D determinadas experimentalmente de proteínas, ácidos nucleicos e seus complexos entre si, como cofatores enzimáticos, inibidores e outras pequenas moléculas, os métodos de aquisição dessas estruturas podem variar de cristalografia de raio-x, espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR), microscopia eletrônica 3D- 3DEM (BURLEY, et al 2022). Foi utilizado o código 4G1Q (BAUMAN, et al 2012), o cristal da estrutura foi alcançado pelo método de difração de raio-x, com resolução de 1,51 Å considerada ótima para o estudo. O tratamento da estrutura foi realizado utilizando o software PyMol 2.5.4 com a remoção de moléculas de água e íons de sulfato, íons de magnésio, átomos de 1,2- etanodiol, 4-{{[4-{{(E)-2-cianoetil}-2,6-dimetilfenil}amino}pirimidina-2-il]amino benzonitrila C₂₂ H₁₈, pois tais moléculas poderiam influenciar na formação de complexos entre o ligante de interesse e o sítio ativo.

4.2.1 Definição do *grid center*

Para estabelecer as coordenadas do *grid center* (Tabela 1), foi utilizado o programa *Discovery Studio Visualizer* (BIOVIA, 2021) usando como referência a posição do ligante 65B (4-{{6-amino-5-bromo-2-[(4-cyanophenyl)amino]pyrimidin-4-yl}oxy)-

3,5-dimethylbenzonitrile) da estrutura cristalina da transcriptase reversa em complexo com Etravirina (Figura 6).

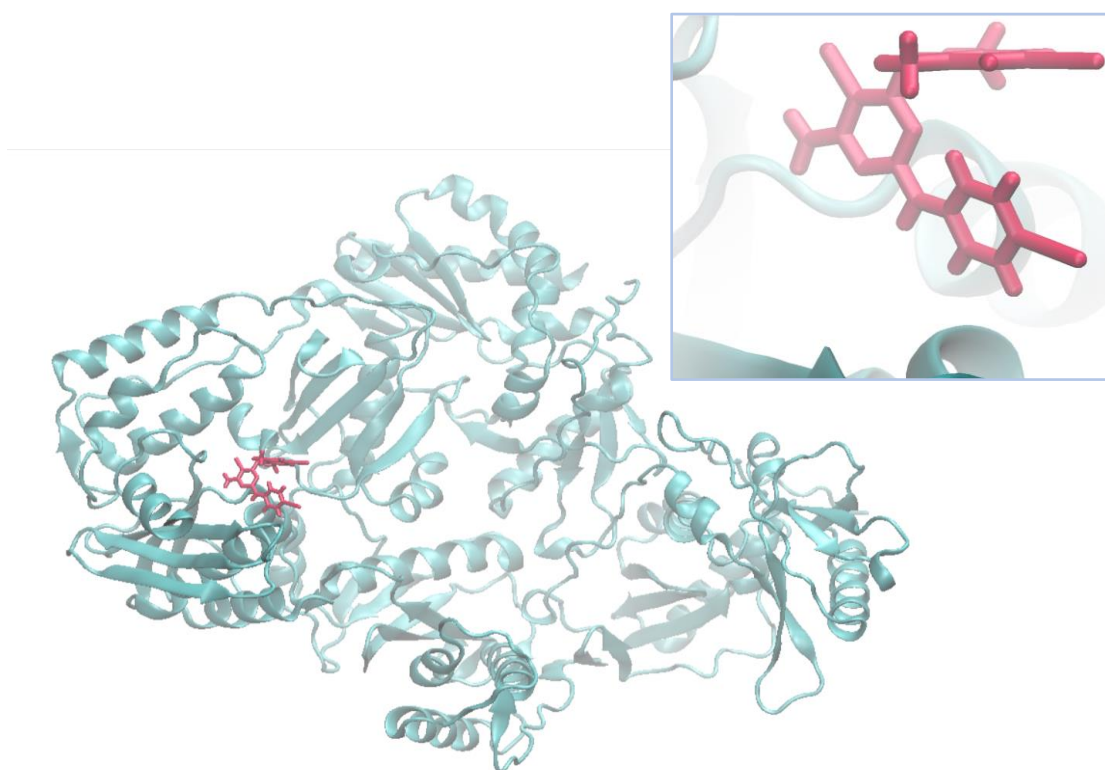
Tabela 1 - Coordenadas adotadas para Grid center utilizado nas simulações de *docking* molecular.

Receptor	Coordenadas		
	Eixo X	Eixo Y	Eixo Z
Transcriptase reversa do HIV-1	9,575	12,623	16,977

Fonte: autoria própria (2023).

A Etravirina trata-se de medicamento usado como agente antirretroviral, especificamente um inibidor NNRTI de terceira geração, recomendado no tratamento do HIV-1 em adultos comprovadamente resistentes a outros NNRTI. Age na inibição direta da enzima transcriptase reversa do vírus, se ligando a uma bolsa adjacente ao sítio catalítico da transcriptase resultando na inibição alostérica da polimerase dependente do DNA e RNA, impedindo que haja a síntese do cDNA (cópia de DNA) (DRUGBANK, 2023; SCHRIJVERS et al., 2013).

Figura 6. Estrutura da transcriptase reversa em complexo com o ligante de referência (65B) em destaque.



Fonte: autoria própria (2023).

O sítio de ligação está localizado na subunidade P66 da transcriptase reversa, que abriga o sítio funcional da polimerase, o domínio RNase H e o sítio de ligação não nucleosídeo. Inibidores da classe NNRTIs se ligam em um bolso ligação NNIBP, que é um bolso hidrofóbico adjacente ao sítio ativo da polimerase reversa (~ 10 Å). O NNIBP não existe em estruturas de HIV-rt que não possuam algum NNRTI ligado, consequentemente esse bolso adjacente ele é criado a partir do rearranjo estrutural do *primer* e dos anéis aromáticos contendo resíduos Y181 e Y188, logo esse rearranjo trava os subdomínios do polegar e dos dedos em uma conformação hiperestendida (SARAFIANOS et al., 2010). Um NNRTI pode se ligar no NNIBP por três entradas possíveis, a mais comum é a entrada da interface da P66/P51 que é cercada por resíduos de Lys101, Lys103 e Val 179. Alguns inibidores podem entrar por uma abertura próxima ao Pro236, inibidores como CP-94,707 conseguem entrar pela própria região do sítio ativo da polimerase (DAS et al., 2007).

4.3 Docking molecular

Para o desenvolvimento dos ensaios *in silico*, a plataforma de *Web Service* de programa computacional independente DockThor foi escolhida para realização dos atracamentos moleculares. A plataforma, de acesso gratuito, foi desenvolvida pelo Grupo de Modelagem Molecular em Sistema Biológicos no Laboratório Nacional de Computação Científica (<https://dockthor.lncc.br/v2/>), é acoplada ao computador de alto desempenho Santos Dumont, suportando experimentos de triagem virtual com até 200 compostos para visitantes e podendo chegar até 5.000 compostos para projetos cadastrados (GUEDES et al., 2021). Neste estudo, os parâmetros utilizados na submissão das moléculas para no DockThor foram: tamanho da caixa, 24 Å; discretização, 0,25 Å; total de pontos da grade, 912673.

O DockThor leva em consideração o ligante na forma flexível e um receptor rígido, fundamentado em um algoritmo genético de múltiplas soluções, usa informações fenotípicas baseada no desvio médio da raiz das conformações de ligantes geradas e um tamanho de torneio dinâmico (MAGALHÃES et al., 2014).

As interações eletrostáticas entre a proteína-ligante e as forças de van der Waals (vdW) são calculadas usando o campo de força MMFF94s (MAGALHÃES et al., 2014). Esse campo de força de Merck adota uma forma especial de "Buffered-14-7" (Buf-14-7) para as interações de vdW e emprega a similaridade de Coulomb usando cargas atômicas

parciais construídas de forma direta relacionando a polaridade das ligações. Isso permite que o campo de força possa ter uma ampla gama de estruturas e interações químicas (HALGREN, 1996b).

As moléculas de interesse foram submetidas ao DockThor, sendo adicionado hidrogênios aos ligantes, que correspondem a correção dos estágios de protonação. Foi avaliado tamanhos diferentes de caixa, até que padronizasse o tamanho de 24 Å que melhor cobria a região do bolsão de ligação NNIBP.

4.4 Análise dos resultados

A visualização do atracamento entre receptor-ligante obtidos no DockThor foi realizada através do programa *Discovery Studio Visualizer* (BIOVIA, 2021), onde foram gerados os diagramas 2D das interações intermoleculares entre receptor-ligante e as comparações de posição entre o fármaco controle e as moléculas investigadas. O programa *Visual Molecular Dynamics* (VMD) foi usado para gerar as imagens de sobreposição dos derivados canabinóides em comparação à posição espacial do fármaco controle no sítio ativo da transcriptase reversa.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Energias de interação do complexo HIV-rt/composto canabinóide

Para análise das interações entre proteína-ligante, foram consideradas as melhores energias de interação assim como as melhores posições de encaixe entre a molécula de interesse e a proteína alvo obtidas no ranqueamento do DockThor, como demonstrado na tabela 2. As previsões de afinidade das classificações de complexos proteínas-ligante são alcançadas com o DockTScore, que é uma função de pontuação empírica linear, onde leva em consideração termos importantes para a ligação, como interações intermoleculares, entropia de ligantes e dessolvatação (GUEDES et al, 2021)

Tabela 2. Valores de energia de afinidade e energia total entre ligantes e a HIV-rt.

Ligantes	Afinidade (kcal/mol)	Energia Total (kcal/mol)
Canabidiol	-6.589	51.977
Δ^9 -tetrahydrocannabinol	-7.071	31.274
Ácido canabinólico	-7.488	57.497
Ácido canabiciclólico	-7.273	40.788
Etravirina	-6.711	12.864

Fonte: autoria própria (2023).

5.2 Interações intermoleculares entre HIV-rt e os derivados canabinóides

5.2.1 Canabidiol (CBD)

Os resultados das interações intermoleculares entre o ligante canabidiol e a transcriptase reversa do vírus do HIV tipo 1 encontram-se detalhados na tabela 3 e o diagrama 2D na figura 7.

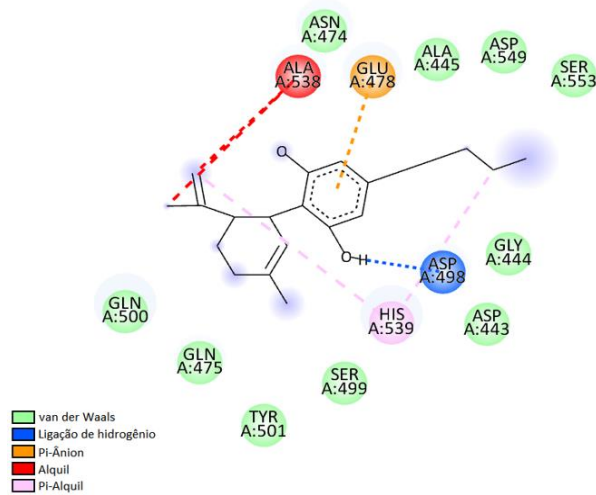
Tabela 3. Resumo das interações intermoleculares entre o canabidiol e a HIV-rt.

Interação intermolecular	nº de interações	Distância de ligação (Å)	Resíduo de ligação
Ligação de Hidrogênio	1	1.56	Asparagina (A:498)
Alqui	2	3.99 4.08	Alanina (A:538) Alanina (A:538)
pi-alquil	2	4.70 5.44	Histidina (A: 539) Histidina (A: 539)

pi-ânion	1	3.11	Glutamina (A:478)
----------	---	------	-------------------

Fonte: autoria própria (2023).

Figura 7. Diagrama 2D de interações intermoleculares entre o canabidiol e a transcriptase reversa do HIV-1.



Fonte: autoria própria (2023).

5.2.2 Δ9-tetrahydrocanabinol (THC)

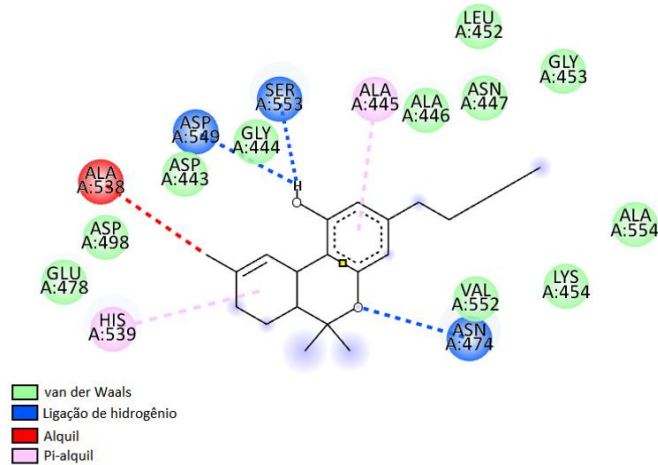
Os resultados das interações intermoleculares entre o ligante Δ9-tetrahydrocanabinol e a transcriptase reversa do vírus do HIV tipo 1 encontram-se detalhados na tabela 4 e figura 8.

Tabela 4. Resumo das interações intermoleculares entre o Δ9-tetrahydrocanabinol e a transcriptase reversa do HIV-1

Interação intermolecular	nº de interações	Distância de ligação (Å)	Resíduo de ligação
Ligação de Hidrogênio	3	2.77	Asparagina (A:549)
		2.72	Asparagina (A:474)
		1.93	Serina (A: 553)
Alqui	1	4.16	Alanina (A: 538)
pi-alqui	1	5.27	Histidina (A: 539)
		4.01	Alanina (A:445)

Fonte: autoria própria (2023).

Figura 8. Diagrama 2D de interações intermoleculares entre o Δ9-tetrahidrocanabinol e a transcriptase reversa do HIV-1.



Fonte: autoria própria (2023).

5.2.3 Ácido canabinólico

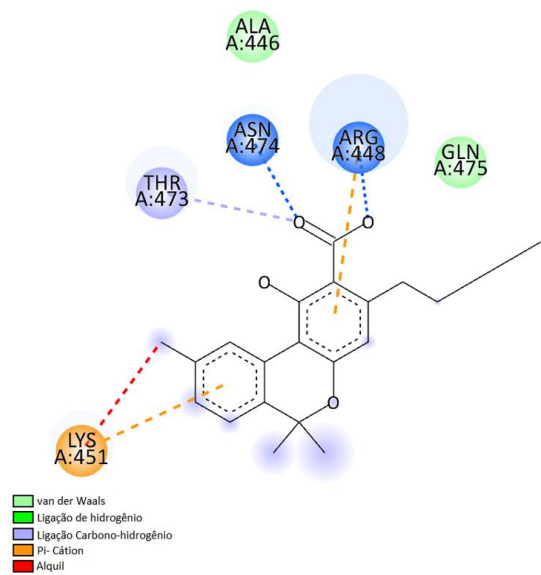
Os resultados das interações intermoleculares entre o ligante ácido canabinólico e a transcriptase reversa do vírus do HIV tipo 1 encontram-se detalhados na tabela 5 e figura 9.

Tabela 5. Resumo das interações intermoleculares entre o ácido canabinólico e a transcriptase reversa do HIV-1

Interação intermolecular	nº de interações	Distância de ligação (Å)	Resíduo de ligação
Ligação de Hidrogênio	2	1.76 2.03	Asparagina (A:474) Arginina (A:448)
Ligação Carbono-hidrogênio	2	2.90 2.91	Arginina (A: 448) Treonina (A:473)
Alqui	1	4.09	Lisina (A:451)
pi-cátion	2	4.81 3.62	Lisina (A: 451) Arginina (A:448)

Fonte: autoria própria (2023).

Figura 9. Diagrama 2D de interações intermoleculares entre o ácido canabinólico e a transcriptase reversa do HIV-1.



Fonte: autoria própria (2023).

5.2.4 Ácido canabicitrónico

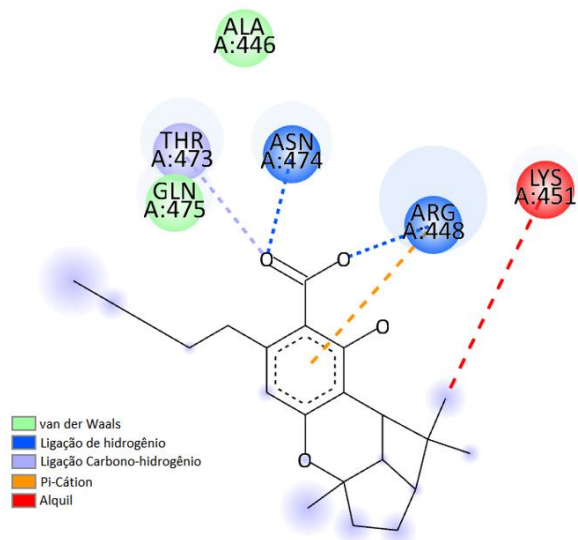
Os resultados das interações intermoleculares entre o ligante ácido canabicitrónico e a transcriptase reversa do vírus do HIV tipo 1 encontram-se detalhados na tabela 6 e figura 10.

Tabela 6. Resumo das interações intermoleculares entre o ácido canabicitrónico com a transcriptase reversa do HIV-1.

Interação intermolecular	nº de interações	Distância de ligação (Å)	Resíduo de ligação
Ligação de Hidrogênio	3	1.76	Asparagina (A: 474)
		1.94	
		2.17	Arginina (A: 448)
Ligação Carbono-hidrogênio	2	2.95	Treonina (A: 473)
		2.62	Treonina (A: 473)
Alqui	1	5.10	Lisina (A: 451)
pi-cátion	1	3.60	Arginina (A: 448)

Fonte: autoria própria (2023).

Figura 10. Diagrama 2D de interações intermoleculares entre o ácido canabíciclólico e a transcriptase reversa do HIV-1.



Fonte: autoria própria (2023).

5.2.5 Etravirina

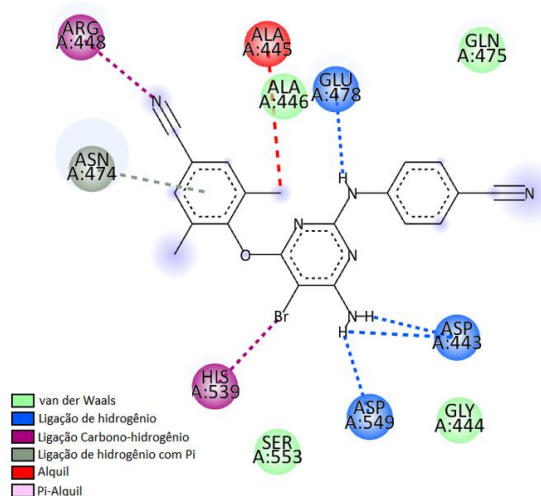
Os resultados das interações intermoleculares entre o ligante de referência (controle) Etravirina e a transcriptase reversa do vírus do HIV tipo 1 encontram-se detalhados na tabela 7 e figura 11.

Tabela 7. Resumo das interações intermoleculares entre o ligante controle (ETRAVIRINA) com a transcriptase reversa do HIV-1.

Interação intermolecular	nº de interações	Distância de ligação (Å)	Resíduo de ligação
Ligação de Hidrogênio	5	1.82	Glutamina (A:478:OE2)
		2.67	Asparagina (A: 443:OD1)
		2.77	Asparagina (A:443:OD2)
		2.99	Asparagina (A:443:OD2)
		2.11	Asparagina (A:549:OD1)
Ligação Carbono-hidrogênio	2	2.70	Arginina (A:448-HD1)
		3.08	Histidina (A: 539-HE1)
Alqui	1	4.43	Alanina (A: 445)
pi-alquil	1	4.55	Histidina (A: 539)
Pi-doador	1	2.95	Asparagina (A: 474-HD22)

Fonte: autoria própria (2023).

Figura 11. Diagrama 2D de interações intermoleculares entre o Etravirina e a transcriptase reversa do HIV-1.



Fonte: autoria própria (2023).

As interações entre proteína-ligante são geralmente de natureza não covalente garantindo assim a reversibilidade da reação. Os tipos de interações mais comuns são contatos hidrofóbicos, ligações de hidrogênio e reação, por exemplo, de pi-cátion que acabam por ser mais raras (SALENTIN et al., 2014).

As ligações de hidrogênio são consideradas as mais importantes de todas as ligações não covalentes, e podem aumentar a afinidade de um ligante em uma ordem de grandeza com cada ligação de hidrogênio adicional (KLEBE; BOHM, 1997). As ligações de hidrogênio são formadas por um grupo doador (DH) que fornece uma extremidade positiva na forma de átomo de hidrogênio e um grupo aceptor (A) de alta densidade eletrônica (SALENTIN et al., 2014). Também apresentam a menor distância, variando entre 1.7 a 2.4 Å, quando comparadas a outras interações, esse fato pode ser um indicativo da força de atração resultante da eletronegatividade (CHEN et al., 2016). Dessa forma, o ligante canabidiol estabeleceu apenas uma ligação de hidrogênio, o Δ^9 -tetrahydrocannabinol três ligações, o ácido canabinólico ligações de hidrogênio convencionais e duas do tipo carbono-hidrogênio, como também o ácido canabiciclólico estabeleceu três ligações de hidrogênio e duas ligações do tipo carbono-hidrogênio.

Interações hidrofóbicas com vista no grupamento alquil, que são hidrocarbonetos não ramificados derivados da saída do átomo de hidrogênio de um grupamento alcano, são individualmente fracas, em solução aquosa podem vir a reduzir a área de superfície acessível a moléculas de água o que resulta no aumento de água no volume acompanhado

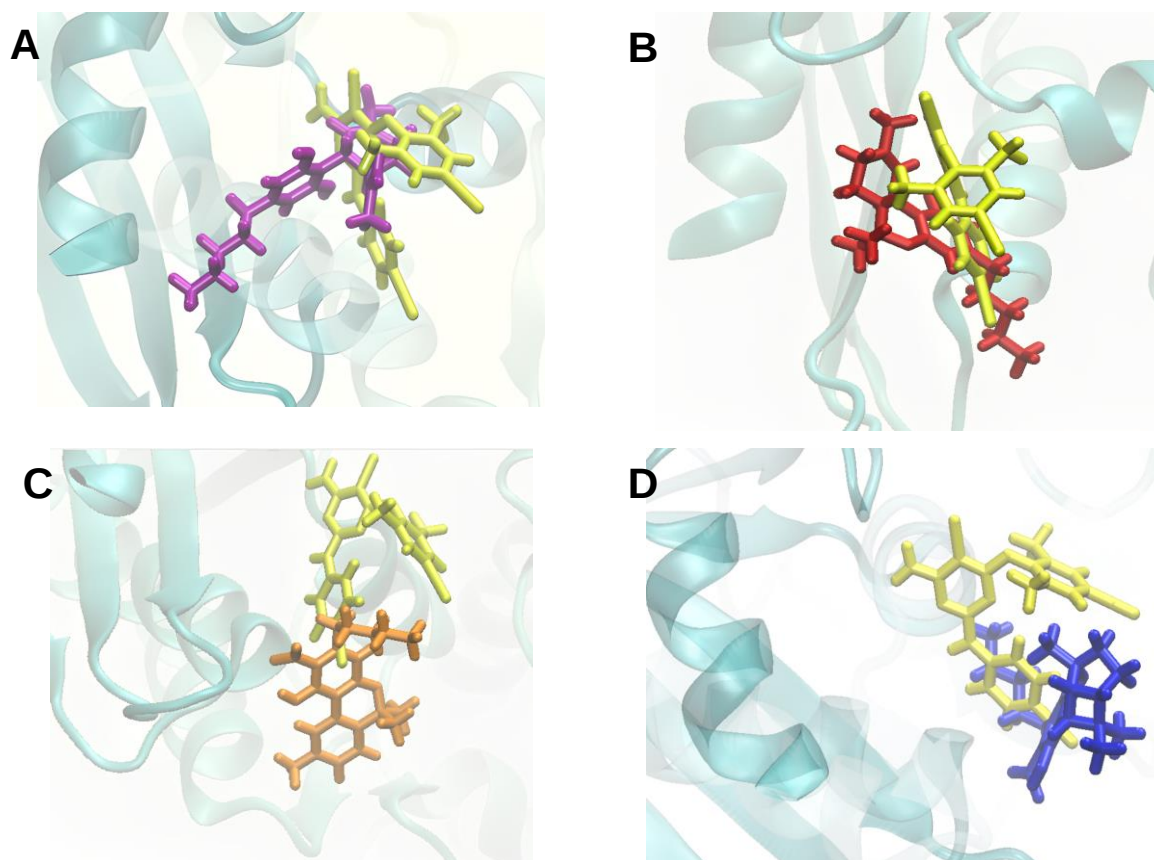
de um ganho da entropia. Como também ocorre em interações do tipo pi-alquil na qual há uma interação na nuvem de elétrons entre um grupo aromático e um grupo de elétrons pertencente ao grupo alquil, formando ligações do tipo hidrofóbicas, dessa forma, em complexo proteína-ligante, pareamentos entre aminoácidos hidrofóbicos e ligantes correspondentes seguem esse mesmo princípio, porém essa interação pode ser considerada importante para o reconhecimento de um ligante na proteína (SALENTIN, et al., 2014; BARREIRO; FRAGA, 2014).

A interação do tipo pi-cátion é essencialmente eletrostática, pois o cátion (carregado positivamente) interage com a nuvem de elétrons (carregados negativamente) de sistemas pi, e pode ou não ser forte dependendo da natureza do cátion se é coordenadamente saturado e da natureza do aceitador pi. São relatadas a formação de interação do tipo pi-cátion com arginina em complexo de ribonucleases de domínios Tudor, exercendo um papel importante no reconhecimento molecular (MAHADEVI; SASTRY, 2012). Sendo assim, pode-se observar que o canabidiol estabelece duas interações com grupo alquila e o Δ^9 -tetrahydrocannabinol apenas uma ligação alquil e uma interação com nuvens de elétrons, formando pi-alquil. De forma similar, pode ser visto que ambos os ácidos canabinólico e canabicitríico estabelecem uma ligação com grupamento alquil e uma interação do pi-cátion.

5.3 Comparação entre a posição do ligante controle com os ligantes avaliados

Foi realizada uma análise comparativa entre a disposição espacial do fármaco Etravirina no bolsão de interação NNIBP da região do sítio ativo da transcriptase reversa e a posição ocupada pelos compostos canabinóides (Figura 12).

Figura 12. Visão espacial da disposição entre os ligantes avaliados e a Etravirina (em amarelo). (A) Canabidiol em rosa; (B) Δ^9 -tetrahydrocannabinol em vermelho; (C) Ácido canabinólico em laranja; (D) Ácido canabicitólico em azul.



Fonte: autoria própria (2023).

A posição dos ligantes quando comparados à posição do fármaco controle Etravirina indica que todos os ligantes ocupam o mesmo espaço no bolsão de ligação do sítio ativo. Tal posicionamento sugere que pode haver uma atividade biológica desses ligantes na região selecionada.

Ao comparar o valor de energia de afinidade (interação) apresentado pelo antirretroviral Etravirina (-6.711 kcal/mol) e o número de ligações de hidrogênio (5) com os valores apresentados pelo Δ^9 -tetrahydrocannabinol (-7.071 kcal/mol, 3 ligações de hidrogênio) e ácido canabicitólico (-7.273 kcal/mol, 3 ligações de hidrogênio), e sabendo que quanto mais negativa for a energia de afinidade, mais favorável é a interação proteína-ligante, observa-se que tais compostos canabinóides podem apresentar uma forte interação, e consequentemente, ação biológica no sítio ativo da transcriptase reversa do HVI tipo 1, similarmente à ação da Etravirina.

6. CONCLUSÃO

Apesar dos avanços no desenvolvimento de terapias antirretrovirais eficazes, o HIV continua sendo um desafio para saúde pública devido aos efeitos colaterais dos medicamentos e ampla capacidade das mutações virais desenvolverem resistência às terapias convencionais, aumentando a chance de transmissão de cepas resistentes aos fármacos em circulação. Por isso, este trabalho desdobrou-se em avaliar potenciais moléculas derivadas de canabinóides que possam vir a inibir a transcrição viral.

Os resultados obtidos por meio do *docking* molecular demonstram que o $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol apresenta similaridades de encaixe com a etravirina, demonstrando grau de afinidade até maior que a molécula controle, sugerindo uma potencial atividade inibitória do $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol. Assim como o ácido canabíciclóico apresentou a melhor energia de afinidade entre todos, contudo um alto valor de energia total, o que pode limitar a formação do complexo proteína- ácido canabíciclóico.

O canabidiol por apresentar apenas uma ligação de hidrogênio com a enzima e energias de afinidade e energia total com valores distantes da molécula controle (etravirina), indica que tal molécula pode não apresentar ação inibitória na transcrição viral.

Sendo assim, os dados apontam para uma possível ação inibitória dos compostos $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol e ácido canabíciclóico. Entretanto, se faz necessária a realização de testes *in vitro* e *in vivo* para determinar a magnitude da ação inibitória e quais possíveis efeitos colaterais o uso desses isolados canabinóides poderiam vir a apresentar.

7. REFERÊNCIAS

ARZIMANOGLU, A. et al. Epilepsy and cannabidiol: a guide to treatment. **Epileptic Disorders**, v. 22, n. 1, p. 1-14, 2020.

ASATI, A. K. A. A. K. et al. Phytochemical and pharmacological profile of Cannabis sativa L. **International Journal of Indigenous Herbs and Drugs**, p. 37-45, 2017.

BADURA, R. et al. Early ART in acute HIV-1 infection: impact on the B-cell compartment. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 347, 2020.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal:- As bases moleculares da ação dos fármacos**. Artmed Editora, 2014.

BIOVIA, Dassault Systèmes, Discovery Studio Visualizer, v21.1.0.20298, **San Diego: Dassault Systèmes**, 2021.

BLASKOVICH, M. A. et al. The antimicrobial potential of cannabidiol. **Communications Biology**, v. 4, n. 1, p. 1-18, 2021.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, HIV/Aids e Hepatites Virais. **MANUAL TÉCNICO PARA O DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO HIV EM ADULTOS E CRIANÇAS**. Brasília, 2018.

BRENCHLEY, J. M.; PRICE, D. A.; DOUEK, D. C. HIV disease: fallout from a mucosal catastrophe?. **Nature Immunology**, v. 7, n. 3, p. 235-239, 2006.

BROJAN, Lucas Eduardo Fedaracz et al. Uso de antirretrovirais por pessoas vivendo com HIV/AIDS e sua conformidade com o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas. **Einstein** (São Paulo), v. 18, 2020.

BURLEY, S. K. et al. Electron microscopy holdings of the Protein Data Bank: the impact of the resolution revolution, new validation tools, and implications for the future. **Biophysical Reviews**, p. 1-21, 2022.

BURDICK, R. C. et al. HIV-1 uncoats in the nucleus near sites of integration. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 10, p. 5486-5493, 2020.

CHAVES, Y. O. et al. **Diversidade genética do HIV-1 e mutações de resistência adquiridas em pessoas vivendo com HIV**. 2021. Tese de Doutorado.

CHEN, D. et al. Regulation of protein-ligand binding affinity by hydrogen bond pairing. **Science Advances**, v. 2, n. 3, p. e1501240, 2016.

CHUNG, S. et al. Examining the role of the HIV-1 reverse transcriptase p51 subunit in positioning and hydrolysis of RNA/DNA hybrids. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 22, p. 16177-16184, 2013.

DAHABIEH, M. S.; BATTIVELLI, E.; VERDIN, E. Understanding HIV latency: the road to an HIV cure. **Annual Review of Medicine**, v. 66, p. 407-421, 2015.

DE ALENCAR, I. T. et al. Principais alterações imunológicas decorrentes da infecção pelo vírus da Imunodeficiência Humana Adquirida-HIV. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 7, p. 50231-50252, 2022.

DEEKS, Steven G. et al. **HIV infection**. Nature reviews Disease primers, v. 1, n. 1, p. 1-22, 2015.

DEMARINO, C. et al. Cannabinoids Reduce Extracellular Vesicle Release from HIV-1 Infected Myeloid Cells and Inhibit Viral Transcription. **Cells**, v. 11, n. 4, p. 723, 2022.

DRUGBANK online, Disponível em: <https://go.drugbank.com/>, acesso 22 de fevereiro de 2023.

FREIRE, H. S. A. et al. Potencial de uso de cânhamo industrial (Cannabis sativa L.), para a produção de celulose fibra longa. **Boletim Técnico SIF**, p. 03, 2021.

FIOCRUZ (Fundação Oswaldo Cruz). **HIV: Sintomas, transmissão e prevenção**. Sem autor. Disponível em: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/sintomas-transmissao-e-prevencao-nat-hiv/> Acesso em 01 de dezembro de 2022.

GALLO, R. C.; MONTAGNIER, L. AIDS in 1988. **Scientific American**, v. 259, n. 4, p. 40-51, 1988.

GANDHI, R. T. et al. Antiretroviral Drugs for Treatment and Prevention of HIV Infection in Adults: 2022 Recommendations of the International Antiviral Society–USA Panel. **JAMA**, v. 329, n. 1, p. 63-84, 2023.

GUEDES, I. A. et al. Drug design and repurposing with DockThor-VS web server focusing on SARS-CoV-2 therapeutic targets and their non-synonym variants. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-20, 2021.

GUEDES IA, Barreto AMS, Marinho D, Krempser E, Kuenemann MA, Sperandio O, Dardenne LE, Miteva MA. New machine learning and physics-based scoring functions for drug discovery. **Scientific Reports**. 2021 Feb 4;11(1):3198. doi: 10.1038/s41598-021-82410-1. PMID: 33542326; PMCID: PMC7862620.

GHOVANLOO, M. R.; RUBEN, P. C. Cannabidiol and sodium channel pharmacology: General overview, mechanism, and clinical implications. **The Neuroscientist**, v. 28, n. 4, p. 318-334, 2022.

GIV- GRUPO DE INCENTIVO A VIDA, acesso em 01 de janeiro de 2023, Sem Autor, Disponível em: <http://giv.org.br/HIV-e-AIDS/Medicamentos/index.html/>

GRECH, S. The effect of cannabinoids in myeloid inflammation in the context of HIV infection, 2022.

HALGREN, T. A. Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. **Journal of Computational Chemistry**, v. 17, n. 5-6, p. 490-519, 1996a.

HALGREN, T. A. Merck molecular force field. II. MMFF94 van der Waals and electrostatic parameters for intermolecular interactions. **Journal of Computational Chemistry**, v. 17, n. 5-6, p. 520-552, 1996b.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD - Visual Molecular Dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, v. 14, n. 1, p. 33-38, 1996.

ICTV (INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES). **Virus Taxonomy: The Classification and Nomenclature of Viruses**. The Online (10th) Report of the ICTV, 2022. Disponível em: <http://https://ictv.global/taxonomy/>. Acesso em: 30 de novembro de 2022.

IFTIKHAR, A. et al. Applications of Cannabis sativa L. in food and its therapeutic potential: From a prohibited drug to a nutritional supplement. **Molecules**, v. 26, n. 24, p. 7699, 2021.

KLEBE, G.; BÖHM, H. J. Energetic and entropic factors determining binding affinity in protein-ligand complexes. **Journal of Receptors and Signal Transduction**, v. 17, n. 1-3, p. 459-473, 1997.

KLEINPETER, A. B.; FREED, E. O. HIV-1 maturation: Lessons learned from inhibitors. **Viruses**, v. 12, n. 9, p. 940, 2020.

KIRCHMAIR, J. et al. Development of anti-viral agents using molecular modeling and virtual screening techniques. **Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)**, v. 11, n. 1, p. 64-93, 2011.

KWONG, J. New drug treatment options for HIV antiretroviral therapy. **The Nurse Practitioner**, v. 45, n. 3, p. 28-38, 2020.

LAI, S. K. et al. Human immunodeficiency virus type 1 is trapped by acidic but not by neutralized human cervicovaginal mucus. **Journal of Virology**, v. 83, n. 21, p. 11196-11200, 2009.

LÓPEZ, A. G. E. et al. Cannabis sativa L., una planta singular. **Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas**, v. 45, n. 4, p. 1-6, 2014.

LOWE, H. I. C.; TOYANG, N. J.; MCLAUGHLIN, W. Potential of cannabidiol for the treatment of viral hepatitis. **Pharmacognosy Research**, v. 9, n. 1, p. 116, 2017.

MAGALHÃES, C. S. et al. A dynamic niching genetic algorithm strategy for docking highly flexible ligands. **Information Sciences**, v. 289, p. 206-224, 2014.

MAHADEVI, A. S.; SASTRY, G. N. Cation- π interaction: Its role and relevance in chemistry, biology, and material science. **Chemical Reviews**, v. 113, n. 3, p. 2100-2138, 2013.

- MATEUS, E. D. et al. Interação medicamentosa de antirretrovirais utilizados no tratamento da infecção por HIV em adultos Drug interaction of antiretrovirals used in the treatment of HIV infection in adults. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 41278-41320, 2022.
- MAOR, Y. et al. Cannabidiol inhibits growth and induces programmed cell death in kaposi sarcoma-associated herpesvirus-infected endothelium. **Genes & Cancer**, v. 3, n. 7-8, p. 512-520, 2012.
- MCLAREN, P. J.; FELLAY, J. HIV-1 and human genetic variation. **Nature Reviews Genetics**, v. 22, n. 10, p. 645-657, 2021.
- MCMICHAEL, A. J. et al. The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development. **Nature Reviews Immunology**, v. 10, n. 1, p. 11-23, 2010.
- NAHLER, G. Cannabidiol and Other Phytocannabinoids as Cancer Therapeutics. **Pharmaceutical Medicine**, v. 36, n. 2, p. 99-129, 2022.
- NASRIN, S. et al. Inhibition of Nicotine Metabolism by Cannabidiol (CBD) and 7-Hydroxycannabidiol (7-OH-CBD). **Chemical Research in Toxicology**, 2023.
- Nastri BM, Pagliano P, Zannella C, Folliero V, Masullo A, Rinaldi L, Galdiero M, Franci G. HIV and Drug-Resistant Subtypes. **Microorganisms**. 2023 Jan 15;11(1):221. doi: 10.3390/microorganisms11010221. PMID: 36677513; PMCID: PMC9861097.
- PAGADALA, N. S.; SYED, K.; TUSZYNSKI, J. Software for molecular docking: a review. **Biophysical Reviews**, v. 9, p. 91-102, 2017.
- PINZI, L.; RASTELLI, G. Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4331, 2019.
- RACHID, M.; SCHECHTER, M. **Manual de HIV/aids**. Thieme Revinter Publicações LTDA, 2017.
- SAAG, M. S. The impact of highly active antiretroviral therapy on HIV-specific immune function. **Aids**, v. 15, p. S4-S10, 2001.
- SALENTIN, S. et al. Polypharmacology rescored: Protein–ligand interaction profiles for remote binding site similarity assessment. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 116, n. 2-3, p. 174-186, 2014.
- SANTOS, K. B. et al. Highly flexible ligand docking: Benchmarking of the DockThor program on the LEADS-PEP protein–peptide data set. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 60, n. 2, p. 667-683, 2020.
- SCHRIJVERS, R. Etravirine for the treatment of HIV/AIDS. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 14, n. 8, p. 1087-1096, 2013.
- SCHRÖDINGER, L.; DELANO, W. PyMOL. 2020.
- SINGH, K. et al. Structural aspects of drug resistance and inhibition of HIV-1 reverse transcriptase. **Viruses**, v. 2, n. 2, p. 606-638, 2010.

SHARP, P. M.; HAHN, B. H. Origins of HIV and the AIDS pandemic. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 1, n. 1, p. a006841, 2011.

SUTTITHUMSATID, W.; PANICHAYUPAKARANANT, P. Narrative Review: Phytocannabinoids and their Potential Use as a Phytochemotherapy. **International Journal of Pharmacognosy & Chinese Medicine**, v. 4, p. 1-14, 2020.

TARASOVA, O.; POROIKOV, V.; VESELOVSKY, A. Molecular docking studies of HIV-1 resistance to reverse transcriptase inhibitors: Mini-review. **Molecules**, v. 23, n. 5, p. 1233, 2018.

TOMER, Shallu et al. Cannabidiol modulates expression of type I IFN response genes and HIV infection in macrophages. **Frontiers in immunology**. 2022.

TORRES, P. H. M et al. Key topics in molecular docking for drug design. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4574, 2019.

UNAIDS, 2022. Disponível em: [http//https://unaids.org.br/estatisticas/](http://https://unaids.org.br/estatisticas/) , Acesso em: 11 de Novembro de 2022, Sem autor, **FACT SHEETS 2022: Estatísticas Globais do HIV**.

WU, J. C. et al. A novel, dipyrroldiazepinone inhibitor of HIV-1 reverse transcriptase acts through a nonsubstrate binding site. **Biochemistry**, v. 30, n. 8, p. 2022-2026, 1991.

ZHAN P, Chen X, Li D, Fang Z, De Clercq E, Liu X. HIV-1 NNRTIs: structural diversity, pharmacophore similarity, and implications for drug design. **Med Res Rev**. 2013 Jun;33 Suppl 1:E1-72. doi: 10.1002/med.20241. Epub 2011 Apr 26. PMID: 21523792.