

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA INTERUNIDADES DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOINFORMÁTICA

ANGIE LISSETTE ATOCHE PUELLES

**TRIAGEM VIRTUAL MULTI-ALVOS E BUSCA DE ASSINATURAS
FARMACOFÓRICAS DE COMPOSTOS FITOQUÍMICOS PROMISSORES AO
TRATAMENTO DO TRANSTORNO DE ESPECTRO AUTISTA**

Belo Horizonte

2025

Angie Lissette Atoche Puelles

**TRIAGEM VIRTUAL MULTI-ALVOS E BUSCA DE ASSINATURAS
FARMACOFÓRICAS DE COMPOSTOS FITOQUÍMICOS PROMISSORES AO
TRATAMENTO DO TRANSTORNO DE ESPECTRO AUTISTA**

Dissertação apresentada ao Programa Interunidades de Pós-Graduação em Bioinformática da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Bioinformática.

Orientador: Leonardo França Lima

Co-orientadora: Raquel C. de Melo-Minardi

Belo Horizonte

2025

- 043 Puellas, Angie Lissette Atoche.
Triagem virtual multi-alvos e busca de assinaturas farmacofóricas de compostos fitoquímicos promissores ao tratamento do transtorno de espectro autista [manuscrito] / Angie Lissette Atoche Puellas. – 2025.
111 f. : il. ; 29,5 cm.
- Orientador: Leonardo França Lima. Co-orientadora: Raquel C. de Melo-Minardi.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa Interunidades de Pós-Graduação em Bioinformática.
1. Bioinformática. 2. Aprendizado de Máquina. 3. Transtorno do Espectro Autista. 4. Compostos Fitoquímicos. 5. Terapia de Alvo Molecular. I. Lima, Leonardo Henrique França de. II. Minardi, Raquel Cardoso de Melo. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 573:004



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FOLHA DE APROVAÇÃO

Angie Lissette Atoche Puelles

"Triagem Virtual Multi-Alvos e Busca de Assinaturas Farmacofóricas de Compostos Fitoquímicos Promissores ao Tratamento do Transtorno de Espectro Autista"

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Prof. Leonardo Henrique Franca de Lima - Orientador
Universidade Federal de São João Del-Rei

Profa. Raquel Cardoso de Melo Minardi - Coorientadora
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Lucas Bleicher
Universidade Federal de Minas Gerais

Profa. Karina dos Santos Machado
Universidade Federal do Rio Grande

Belo Horizonte, 31 de janeiro de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Karina dos Santos Machado, Usuário Externo**, em 03/02/2025, às 15:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Cardoso de Melo Minardi, Coordenador(a) de curso de pós-graduação**, em 17/02/2025, às 09:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Documento assinado eletronicamente por **Lucas Bleicher, Professor do Magistério**



Superior, em 21/02/2025, às 10:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leonardo Henrique França de Lima, Usuário Externo**, em 28/03/2025, às 16:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3882166** e o código CRC **247EAAB7**.

Agradecimentos

Gostaria de expressar minha mais profunda gratidão àqueles que, de diversas maneiras, tornaram possível a realização desta dissertação.

Primeiramente, agradeço a Deus por me conceder força e perseverança ao longo desta jornada.

Agradeço à minha família, em especial aos meus pais Maria Elizabeth e Vicente, por acreditarem em mim, me apoiarem em todos os momentos e entenderem a minha permanência no Brasil durante esse período de mestrado. Mesmo a distância, o apoio de vocês foram fundamental para que este trabalho se realize. Mesmo na ausência física, o amor e o apoio de vocês nunca deixaram de me alcançar e foram fundamentais para que este trabalho se realizasse. Reafirmo que, por trás de todo trabalho científico, sempre haverá pais que, com amor e apoio, tornaram possível a concretização de cada etapa da caminhada. Meu especial agradecimento ao meu irmão Augusto e a minha irmã Camila, por estarem ao meu lado de forma incondicional, e a todos os familiares que, mesmo à distância, contribuíram com palavras de incentivo, carinho e apoio durante esta jornada. O vínculo que nos une foi essencial para que eu pudesse superar os desafios e concluir este trabalho.

Agradeço também ao Lelis, a quem tive o privilégio de conhecer neste último ano de mestrado. Não sei se foi obra do destino, mas a vida o trouxe até mim no momento certo, quando eu mais precisava de apoio para perseverar nesta jornada que iniciei em 2022. Apesar de achar que já tinha tudo o que precisava, nem imaginava o quanto esse apoio seria fundamental. Sou imensamente grata pelos conselhos, ensinamentos e pela paciência em ouvir meus desabafos. Sua presença foi essencial para mim, pois me permitiu atravessar os desafios do último ano de mestrado com companhia, apoio e encorajamento.

Ao pessoal da pós-graduação que conheci na UFMG, meu mais sincero agradecimento. Vocês foram essenciais para a minha mudança e adaptação para a cidade de Belo Horizonte, tornando o ambiente acadêmico mais leve e acolhedor. Agradeço a Giovana, Juliana, Keldenn, Luana, Maurício, Vinicius e Vivian, cuja amizade fizeram toda a diferença ao longo dessa trajetória.

Ao grupo do Laboratório de Bioinformática e Sistemas, registro minha gratidão a Alessandra Cioleti, Alessandra Lima, Diego, Fred, Rafael, Sheila, Tatiane e a todos os que integram esse incrível time. Obrigada por compartilharem conhecimento, momentos e apoio que enriqueceram minha experiência acadêmica e pessoal. A companhia acadêmica de vocês nas reuniões de laboratório, trabalhos, projetos e congressos tornou esta jornada ainda mais significativa.

Aos meus orientadores Leonardo Lima e Raquel Minardi, agradeço a oportunidade de trabalhar neste projeto, que se mostrou muito desafiador. Sou grata pelo tempo dedicado, pelas explicações, ensinamentos e paciência nas reuniões e pelos esforços para que este trabalho acontecesse. Suas contribuições foram fundamentais para a concretização deste trabalho. Meu especial agradecimento também ao Eduardo Correa, que desenvolveu a metodologia utilizada neste projeto. Sua paciência em ensinar e trabalhar em conjunto foi essencial para que este trabalho alcançasse os resultados esperados. Sou grata por sua colaboração e dedicação.

Aos professores e colegas do Programa de Pós-graduação em Bioinformática da UFMG, por compartilharem conhecimentos, ideias e momentos que enriqueceram minha formação acadêmica e pessoal durante as aulas e seminários.

Agradeço ao pessoal da secretaria do PPG, em especial ao Tiago e à Sheila, que são incríveis. Eles sempre resolvem tudo com prontidão e estão sempre dispostos a ajudar.

Agradeço também à Comissão de Acompanhamento de Alunos do Colegiado do PPG, que me ajudou a seguir em frente, oferecendo suporte e orientações fundamentais durante esta caminhada.

Por último e não menos importante, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES). A ciência resiste, mesmo quando tentam silenciá-la. É na persistência do conhecimento que encontramos força para enfrentar desafios e construir um futuro melhor.

***“Nada na vida deve ser temido, apenas compreendido.
Agora é a hora de compreender mais, para que
possamos temer menos.”***

(Marie Curie, a notável física e química, pioneira na pesquisa da radioatividade e a primeira mulher a ganhar um Prêmio Nobel).

Resumo

O Transtorno do Espectro do Autismo (TEA) é uma condição neurobiológica multifacetada, caracterizada por déficits na comunicação, interação social e comportamentos repetitivos. Atualmente, não há tratamento farmacológico específico para o TEA, e as terapias disponíveis hoje em dia, apresentam limitações devido aos efeitos colaterais associados. Neste contexto, os fitofármacos, particularmente os óleos essenciais, têm se destacado como alternativas promissoras por sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e modular diversos processos neuroquímicos, oferecendo benefícios comportamentais com menor toxicidade. Este trabalho teve como objetivo investigar o potencial terapêutico de óleos essenciais na modulação comportamental de indivíduos com TEA, com foco na obtenção de assinaturas farmacofóricas. Foram utilizados dados de literatura para selecionar alvos moleculares relevantes e construir uma base de dados composta por ligantes de controle positivo, *decoys* e constituintes de óleos essenciais extraídos do banco SISTEMAT-X e de seis espécies vegetais descritas na literatura. Metodologias avançadas de Triagem Virtual, como docagem molecular, clusterização fuzzy e mineração de dados, foram aplicadas para avaliar as interações entre os ligantes e os alvos terapêuticos. Os resultados destacaram a eficácia de compostos presentes nos óleos essenciais na interação com alvos moleculares relacionados ao TEA, incluindo receptores de serotonina, ocitocina, vasopressina, dopamina, endocanabinoide e glutamato. A abordagem *multi-target* utilizada mostrou-se promissora ao explorar a complexidade do transtorno, identificando compostos com relevante potencial terapêutico.

Palavras-chave: Transtorno do Espectro do Autismo (TEA), Fitoquímicos, Potencial Terapêutico, Triagem virtual, Alvos moleculares, Aprendizado de máquina e Bioinformática

Abstract

The Autism Spectrum Disorder (ASD) is a multifaceted neurobiological condition characterized by deficits in communication, social interaction, and repetitive behaviors. Currently, there is no specific pharmacological treatment for ASD, and existing therapies face limitations due to associated side effects. In this context, phytopharmaceuticals, particularly essential oils, have emerged as promising alternatives for their ability to cross the blood-brain barrier and modulate various neurochemical processes, providing behavioral benefits with lower toxicity. This study aimed to investigate the therapeutic potential of essential oils in the behavioral modulation of individuals with ASD, focusing on the identification of pharmacophoric signatures. Literature data were used to select relevant molecular targets and to construct a database comprising positive control ligands, decoys, and essential oil constituents extracted from the SISTEMAT-X database and six plant species described in the literature. Advanced methodologies of virtual screening, including molecular docking, fuzzy clustering, and data mining, were applied to evaluate the interactions between the ligands and therapeutic targets. The results highlighted the efficacy of compounds found in essential oils in interacting with molecular targets related to ASD, including serotonin, oxytocin, vasopressin, dopamine, endocannabinoid, and glutamate receptors. The multi-target approach proved promising in exploring the complexity of the disorder, identifying compounds with significant therapeutic potential.

Keywords: *Autism Spectrum Disorder (ASD), Phytochemicals, Therapeutic Potential, Virtual Screening, Molecular Targets, Machine Learning, and Bioinformatics.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diferentes efeitos biológicos dos óleos essenciais.....	22
Figura 2: Técnicas de extração de óleos essenciais.....	23
Figura 3: Fluxograma metodológico para a identificação in silico de compostos bioativos derivados de óleos essenciais com potencial ação sobre alvos moleculares associados ao TEA.....	37
Figura 4: Etapas progressivas no processo de revisão na literatura.....	38
Figura 5: Fluxograma de seleção e avaliação de referências para revisão na literatura utilizando método Prisma e BiSLR.	41
Figura 6: Diagramação do fluxo do trabalho que foi realizado com base no artigo já publicado (Corrêa et al., 2023).	58
Figura 7: Frequência de citações por espécie de planta.....	59
Figura 8: Distribuição das principais famílias de proteínas na revisão da literatura aplicada.....	60
Figura 9: Comparação das conformações agonista e antagonista de um receptor acoplado à proteína G (GPCR).....	61
Figura 10: Gráfico sobre frequência de citações dentro da família dos receptores GPCR.....	62
Figura 11: Análise comparativa das funções de pontuação através de curvas ROC e EF para o receptor CB1R na configuração agonista.....	63
Figura 12: Agrupamento de ligantes de óleos essenciais baseado em pontuações de docagem por função de <i>scoring</i>	65
Figura 13: Análise de clusterização hierárquica dos ligantes por diferentes valores de cut-off.....	66
Figura 14: Agrupamento final de ligantes com alta pontuação na docagem molecular com óleos essenciais baseado na similaridade estrutural.....	68
Figura 15: Relacionamento dos clusters e seus efeitos.....	69
Figura 16: Avaliação das matrizes de seletividade e afinidade utilizando a métrica BDSTFL.....	71
Figura 17: Avaliação das matrizes de seletividade e afinidade utilizando a métrica EPNMCS.....	74

Figura 18: Predição da ação dos óleos essenciais sobre alvos moleculares relacionados ao TEA utilizando a métrica BDSTFL (Clusterização Fuzzy baseada no Coeficiente de Tanimoto).....	75
Figura 19: Predição da ação dos óleos essenciais sobre alvos moleculares relacionados ao TEA utilizando a métrica EPNMCS (Distância Euclidiana com Descritores Químicos).....	76
Figura 20: Distribuição radial dos constituintes dos óleos essenciais em relação aos alvos.....	78
Figura 21: Gráficos de dispersão na predição de interação de compostos derivados de óleos essenciais com os receptores OXTR (antagonista), DRD3 (agonista) e CBR1 (agonista).....	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Etapas na condução do protocolo aplicado na revisão.	23
Tabela 2: Ligantes positivos com efeitos agonistas ou antagonistas nos receptores 5HT2AR, OXTR, V1AR, DRD3, CBN1 e mGluR5 levantados na literatura.	27
Tabela 3: Identificação dos ligantes constituinte de espécies de óleos essenciais utilizados no quarto banco de ligantes	30
Tabela 4: Configurações de grid para a Triagem Virtual nos alvos selecionados	32
Tabela 5: Comparação de funções de pontuação utilizadas para a Triagem Virtual.	33
Tabela 6 : Avaliação da eficiência das funções de pontuação na recuperação de ligantes positivos para receptores GPCR nas suas diversas conformações.....	45

LISTA DE ABREVIACÕES

- 5-HT1A:** *5-hydroxytryptamine receptor 1A* (Receptor de serotonina 1A)
5-HT2A: *5-hydroxytryptamine receptor 2A* (Receptor de serotonina 2A)
5-HT7: *5-hydroxytryptamine receptor 7* (Receptor de serotonina 7)
ANOVA: *Analysis of Variance* (Análise de Variância)
AUC: Área sob a Curva
BDSTFL: Clusterização Fuzzy baseada no Coeficiente de Tanimoto
BiSLR: *Systematic Literature Reviews in bioinformatics*
CBN1: *Cannabinoid receptor 1* (Receptor endocanabinoide tipo 1)
CDC: *Centers for Disease Control and Prevention*
DRD3: *Dopamine receptor D3* (Receptor de dopamina D3)
DUD-E: *Directory of Useful Decoys: Enhanced*
EF: *Enrichment factor* ou fator de enriquecimento
EPNMCS: Distância Euclidiana com Descritores Químicos
EPM: Labirinto em Cruz Elevado
GABA: *Ácido gama-aminobutírico* (Gamma-Aminobutyric Acid)
GPCR: *G-Protein Coupled Receptors* (Receptores acoplados à proteína G)
IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
mGluR5: *Metabotropic glutamate receptor 5* (Receptor metabotrópico de glutamato 5)
NMDA: *Receptor N-metil-D-aspartato*
OF: Campo Aberto
OXTR: *Oxytocin receptor* (Receptor de ocitocina)
PRISMA: *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*
REM: *Rapid Eyes Movement*
RMN: Ressonância Magnética Nuclear
ROC: *Receiver Operating Characteristic* ou Curva Característica de Operação do Receptor
SMILES: *Simplified Molecular-Input Line-Entry System*
TEA: Transtorno do Espectro Autista
V1AR: *Vasopressin receptor 1A* (Receptor de vasopressina 1A)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Contextualização.....	16
1.2 Justificativa.....	18
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivos específicos	19
2.3 Hipótese	20
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
3.1 Composição e propriedades bioativas dos óleos essenciais	20
3.2 Aplicações terapêuticas dos óleos essenciais	22
3.3 Uso de óleos essenciais na modulação comportamental humano	24
3.4 Bases neurobiológicas do comportamento humano e do TEA.....	26
3.5 Alvos moleculares para ação terapêutico no TEA.....	27
3.6 Abordagens computacionais aplicadas	29
3.6.1 Docagem molecular: princípios e aplicações.....	29
3.6.2 Estratégias de clusterização para agrupamento de ligantes.....	31
3.6.3 Bibliotecas e ferramentas computacionais aplicadas à quimioinformática.....	34
3.7 Cálculo de similaridade com descritores moleculares e distância euclidiana ..	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1 Seleção de alvos moleculares relevantes	38
4.2 Coleta de dados	40
4.3 Desenvolvimento do Banco de Dados de Ligantes.....	41
4.3.1 Primeiro Banco: Ligantes da Literatura.....	41
4.3.2 Segundo Banco: Decoys	42
4.3.3 Terceiro Banco: Óleos Essenciais provenientes do Sistemax	45
4.3.4 Quarto Banco: Óleos essenciais de seis espécies vegetais	46
4.4 Modelagem de proteínas	47
4.5 Setup de Triagem: Fase da Docagem Molecular	49
4.5.1 Configurações e Parâmetros	49
4.5.2 Re-scoring e Avaliação de Poses	50
4.6 Estratégias de Clusterização e Seleção de Hits.....	51
4.6.1 Algoritmo K-means e Seleção de Enantiômero	51

4.6.2 Similaridade Baseada no Coeficiente de Tanimoto e Clusterização por Hierarquia e determinação de cut-off.....	52
4.7 Relacionamento dos agrupamentos e seus efeitos.....	53
4.7.1 Matriz de Afinidade do Cluster ao Alvo	53
4.7.2 Matriz de Seletividade do Alvo aos Clusters.....	53
4.7.3 Matriz de Seletividade do Cluster ao Alvo	54
4.8 Métricas para Determinar a Similaridade Molecular.....	54
4.8.1 Baseada no Coeficiente de Tanimoto e Clusterização Fuzzy (BDSTFL) ...	54
4.8.2 Baseada na Distância Euclidiana e Descritores Químicos (EPNMCS)	55
4.9 Predição da ação dos óleos essenciais nos alvos do TEA	56
4.9.1 Análise Estatística.....	56
4.10 Software e Ferramentas Computacionais	57
5 RESULTADOS.....	58
5.1 Número de citações por espécie de planta	58
5.2 Resultados da Seleção de Alvos.....	59
5.3 Resultados da Triagem Virtual da base de compostos de ligantes de controle positivos e seus decoys nos alvos anti-TEA selecionados	62
5.4 Resultados da Triagem Virtual da base de compostos de óleos essenciais nos alvos anti-TEA selecionados	64
5.5 Exploração de Relações dos clusters com seus efeitos nos alvos	66
5.6 Predição da ação dos óleos essenciais nos alvos relacionados ao TEA	70
6 DISCUSSÃO	79
7 CONCLUSÕES	86
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
Apêndices	102

1 INTRODUÇÃO

1.1 Contextualização

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma condição complexa, multifacetada e de característica neurobiológica, cujas causas derivam da combinação de fatores genéticos e ambientais. Apesar dos avanços na área, a origem específica do autismo ainda é objeto de intensa pesquisa acadêmica (Lacivita *et al.*, 2017). Trata-se de um distúrbio do neurodesenvolvimento caracterizado por dificuldades na comunicação e na interação social, além de padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades. Frequentemente, o TEA também está associado a comorbidades como ansiedade e distúrbios do sono, o que contribui para a complexidade e heterogeneidade do tratamento do indivíduo (Mutluer *et al.*, 2022).

Essa diversidade de manifestações reflete uma fisiopatologia multifatorial e ainda não totalmente compreendida, envolvendo alterações em diferentes sistemas biológicos, o que torna o diagnóstico e o tratamento bastante desafiadores. Diante disso, torna-se necessária a aplicação de abordagens terapêuticas mais amplas e personalizadas (De Andrade *et al.*, 2024; Germino *et al.*, 2024).

As abordagens terapêuticas mais comuns para o TEA ainda se baseiam, em grande parte, em intervenções comportamentais e no uso de medicamentos voltados para sintomas associados, como irritabilidade e hiperatividade, mas não abordam diretamente os principais déficits sociais e de comunicação que caracterizam o transtorno (Aishworiya *et al.*, 2022; Sharma; Gonda; Tarazi, 2018). Embora essas estratégias contribuam para o manejo de alguns aspectos do transtorno, elas frequentemente se deparam com limitações importantes, como efeitos colaterais indesejados e eficácia restrita diante da gama e complexidade dos sintomas do TEA, especialmente nos casos mais complexos ou graves (Germino *et al.*, 2024).

Diante desse cenário, cresce o interesse por alternativas terapêuticas mais seguras e eficazes, capazes de atuar de forma integrada sobre os múltiplos sistemas envolvidos no TEA (Pangrazzi; Balasco; Bozzi, 2020). Entre essas alternativas, destacam-se os compostos naturais, especialmente os fitoquímicos presentes em óleos essenciais, que têm demonstrado potencial terapêutico em diversos distúrbios neurológicos e

comportamentais (Smeriglio *et al.*, 2018). Esses compostos vêm ganhando atenção por seus efeitos neuroprotetores, ansiolíticos, anticonvulsivos e de melhora cognitiva, além de apresentarem, em geral, um risco reduzido de efeitos colaterais quando comparados aos medicamentos convencionais (Qneibi *et al.*, 2024; Smeriglio *et al.*, 2018).

Esses compostos apresentam vantagens relevantes, como a possibilidade de múltiplos mecanismos de ação, em alguns casos, menor toxicidade em comparação a fármacos sintéticos convencionais e a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, modulando sistemas neuroquímicos fundamentais, como os eixos dopaminérgico, serotoninérgico e glutamatérgico (APONSO; PATTI; BENNETT, 2020). Além disso, podem influenciar diretamente os sistemas de neurotransmissores, como o sistema GABAérgico e os canais de sódio, envolvidos na regulação da ansiedade, da dor e das convulsões. Alguns de seus componentes são capazes de inibir os canais de sódio e ativar os receptores GABAA, o que contribui para seus efeitos ansiolíticos e anticonvulsivos (Ayaz *et al.*, 2017; Soares *et al.*, 2021; Wang; Heinbockel, 2018).

Considerando o crescimento no número de diagnósticos e as limitações das terapias tradicionais, torna-se cada vez mais importante investir em abordagens inovadoras que combinem evidência científica, menor toxicidade e aplicabilidade clínica (Aishworiya *et al.*, 2022; Lacivita *et al.*, 2017). É nesse cenário que as áreas de biologia computacional e bioinformática se destacam como aliadas no avanço da pesquisa em terapias mais eficazes e específicas para o TEA (Corona *et al.*, 2021; Loth *et al.*, 2016; Qneibi *et al.*, 2024; Yao *et al.*, 2021).

Nesse contexto, o avanço dessas áreas tem desempenhado um papel fundamental na expansão do conhecimento sobre o potencial terapêutico dos compostos naturais. Entre essas ferramentas, destaca-se a triagem virtual multi-alvos, que utiliza técnicas como a docagem molecular para simular interações entre moléculas bioativas e diferentes alvos relacionados ao TEA (Jończyk *et al.*, 2024; Stanzione; Giangreco; Cole, 2021). A partir dessa abordagem, é possível obter assinaturas farmacofóricas — representações das características químicas mínimas necessárias para a interação com os alvos biológicos — que funcionam como um guia teórico na identificação de compostos com potencial de afinidade. Embora não

confirmem, por si só, a atividade biológica, essas assinaturas auxiliam na seleção inicial de moléculas promissoras, que poderão ser investigadas posteriormente em estudos experimentais mais robustos. Além de otimizar tempo e recursos, essa estratégia contribui para uma seleção mais eficiente e direcionada no processo de descoberta de novos candidatos terapêuticos (Giordano *et al.*, 2022).

1.2 Justificativa

Este trabalho se justifica pela proposta de aplicar uma abordagem computacional integrada à investigação de compostos fitoquímicos com potencial terapêutico para o TEA. Apesar do interesse crescente pelos óleos essenciais em contextos fitofarmacêuticos, ainda há uma lacuna significativa na literatura quanto ao uso combinado de ferramentas de bioinformática e biologia computacional voltadas especificamente ao TEA. O diferencial deste trabalho está na aplicação de uma metodologia já validada pelo grupo de pesquisa (Corrêa *et al.*, 2023), agora adaptada para identificar compostos naturais com possível ação sobre múltiplos alvos moleculares associados ao transtorno. A triagem virtual multi-alvos, a docagem molecular e a análise de similaridade estrutural foram integradas a uma revisão da literatura baseada no protocolo PRISMA, voltada à identificação dos alvos moleculares mais citados em estudos relacionados ao TEA.

Após essa etapa, o estudo buscou obter assinaturas farmacofóricas que representem os padrões estruturais mínimos associados à atividade terapêutica. Essas assinaturas servirão como referência para um novo docagem, agora com compostos provenientes de espécies vegetais mais citadas durante a revisão. Por fim, serão aplicadas métricas de similaridade molecular entre os compostos e as assinaturas farmacofóricas, com suporte de algoritmos de aprendizado de máquina, a fim de ampliar a capacidade preditiva da análise. Ao reunir dados fitoquímicos, triagem virtual, análise farmacofórica e técnicas computacionais em um mesmo fluxo metodológico, este trabalho oferece um modelo racional, reproduzível e inovador para a predição da ação dos óleos essenciais nos alvos do TEA.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Obter assinaturas farmacofóricas de moléculas presentes em óleos essenciais com potencial terapêutico para o Transtorno do Espectro Autista (TEA), a partir de interações com alvos moleculares previamente validados na literatura científica.

2.2 Objetivos específicos

- Selecionar de cinco a dez alvos moleculares validados experimentalmente e relacionados ao TEA, com base em revisão da literatura, priorizando vias neurobiológicas relevantes no tratamento.
- Construir uma base de dados contendo compostos bioativos identificados em óleos essenciais, com potencial para modulação dos alvos moleculares selecionados.
- Realizar triagem virtual dos compostos da base de dados de ligantes nos alvos moleculares previamente selecionados, avaliando suas interações.
- Refinar os valores de afinidade a partir da escolha da função de pontuação mais adequada por alvo/conformação, determinada por meio de uma análise de desempenho entre diferentes funções aplicadas a ligantes positivos e *decoys*. A função selecionada foi utilizada nas etapas subsequentes de docagem com fitoquímicos e compostos vegetais.
- Analisar os ligantes mais promissores e extrair assinaturas farmacofóricas que representem os padrões estruturais associados à interação com os alvos/conformação.
- Identificar e validar, por meio de revisão da literatura, compostos presentes em óleos essenciais com evidências experimentais de ação das manifestações clínicas e neurobiológicas relacionadas ao TEA.

2.3 Hipótese

Considerando as características químicas dos compostos presentes em óleos essenciais, especialmente sua baixa massa molecular, lipofilicidade e capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (Aponso; Patti; Bennett, 2020), e na sugestão de que tais compostos podem oferecer possíveis benefícios na modulação comportamental e cognitiva de pacientes com TEA (Urdaneta *et al.*, 2018), levanta-se a hipótese de que: “Compostos fitoquímicos presentes em óleos essenciais possuem potencial de interação com alvos moleculares associados ao TEA, identificáveis por meio de triagem virtual multi-alvos e análise farmacofórica.”. Essa hipótese direciona este trabalho de dissertação para a identificação computacional de compostos e alvos mais promissores, por meio de análises de quimioinformática e obtenção de assinaturas farmacofóricas, o que auxiliará tanto na prospecção de novos compostos naturais bioativos quanto em futuras abordagens de planejamento racional de novos fármacos.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Composição e propriedades bioativas dos óleos essenciais

Para compreender o potencial terapêutico dos óleos essenciais no contexto de doenças ou transtornos humanos, é necessário, primeiramente, entender sua origem, composição e papel biológico das plantas.

A fitoquímica, um ramo da botânica que estuda os compostos químicos produzidos pelas plantas, dentre eles, o estudo de metabólitos secundários revela um universo de possibilidades para compreender as interações ecológicas e evolutivas no reino vegetal. Estes compostos orgânicos desempenham papéis cruciais na adaptação das plantas aos seus ambientes, e entre as funções ecológicas, destacam-se a defesa contra herbívoros e microrganismos patogênicos, uma característica que ressalta sua importância adaptativa aos seus ambientes (Lincoln Taiz *et al.*, 2024; Vizzotto; Krolow; Weber, 2010).

Nas suas funções biológicas, estes metabólitos secundários possuem implicações fundamentais para seus ecossistemas, no quais são divididos em três

grandes grupos químicos principais: terpenos amplamente reconhecidos pela sua ação na atração polinizadora, na defesa de herbívoros e microrganismos; os compostos fenólicos são conhecidos por suas potentes atividades antimicrobianas, antioxidantes, protetores da luz ultravioleta; e por último, os compostos nitrogenados que participam na adaptação ao ambiente e na defesa da planta, entre outras atividades (Lincoln Taiz et al, 2024).

Além de suas funções ecológicas, esses compostos possuem implicações biológicas relevantes, especialmente no contexto dos óleos essenciais, uma classe de metabólitos secundários composta predominantemente por terpenos e fenilpropanoides, que apresenta uma vasta gama de atividades biológicas. Como ilustrado na Figura 1, os óleos essenciais exibem efeitos antimicrobianos, antioxidantes, anti-inflamatórios, analgésicos e anticancerígenos, atribuídos à presença de compostos bioativos como eugenol, β -cariofileno, α -humuleno e acetato de eugenila. Esses compostos não apenas desempenham papéis adaptativos no reino vegetal, mas também são amplamente investigados por seu potencial terapêutico em humanos, podendo atuar na regulação de processos fisiológicos e no desenvolvimento de fitofármacos. (Lincoln Taiz et al, 2024).

Atualmente os compostos presentes nos óleos essenciais têm sido objeto de vários estudos que exploram seus benefícios potenciais em várias aplicações, incluindo na medicina humana (Osuntokun, 2017). Por exemplo, estudos demonstraram que o óleo essencial das folhas de *Rhaphiodon echinus*, uma planta endêmica do leste do Brasil, popularmente conhecida como beton, potencializa a eficácia de certos antimicrobianos contra diversas bactérias e cepas de fungos (Duarte *et al.*, 2016). Pesquisas similares indicam que a citotoxicidade e a capacidade antioxidante dos óleos essenciais desta espécie e de diferentes espécies podem reforçar os efeitos de antibióticos específicos e potenciais anti kinetoplastida, sugerindo sua eficácia contra protozoários e seu potencial como agente terapêutico para doenças como a leishmaniose mucocutânea (Oliveira *et al.*, 2022).

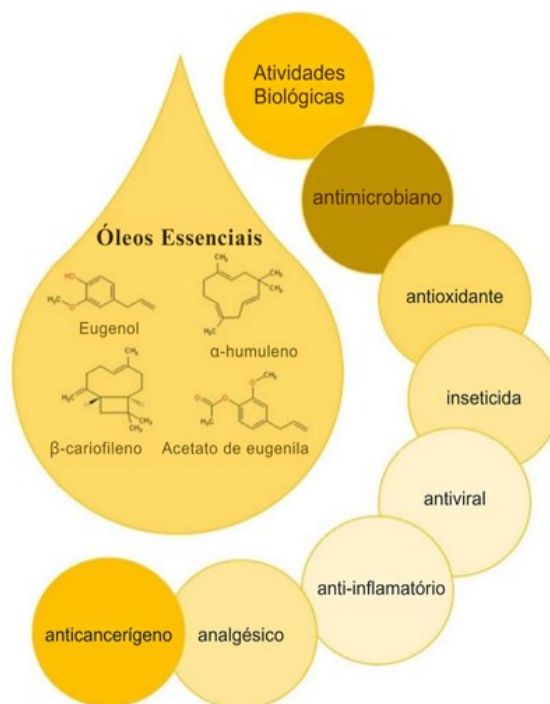


Figura 1: Diferentes efeitos biológicos dos óleos essenciais. Adaptado e traduzido de Mohamed, A.A., Alotaibi, B.M. "Essential oils of some medicinal plants and their biological activities: a mini review." J.Umm Al-Qura Univ. Appl. Sci., vol. 9, pp. 40–49, 2023. Fonte: (Mohamed; Alotaibi, 2023).

3.2 Aplicações terapêuticas dos óleos essenciais

Os óleos essenciais são reconhecidos por suas complexas misturas de compostos voláteis e lipofílicas, com uma diversidade química fundamental para suas variadas atividades biológicas; e constituem um dos mais importantes grupos de matérias-primas para as indústrias de alimentos, fitofarmacêutica e perfumaria; sendo formados por diversas classes de substâncias como fenilpropanóides, mono e sesquiterpenos, que são produtos do metabolismo secundário das plantas (Mohamed; Alotaibi, 2023). A composição específica dos óleos essenciais pode ser influenciada por vários fatores bióticos e abióticos, incluindo a genética, espécie da planta, a parte utilizada para a extração, o método de extração empregado e as condições ambientais, climáticas e sazonais predominantes (Božović *et al.*, 2020; Msaada *et al.*, 2009).

Muitas das espécies utilizadas mantêm uma forte interação com o ambiente, permanecendo próximas ao estado silvestre, o que pode impactar a biossíntese de metabólitos secundários. Compreender como os fatores abióticos afetam a produção e a composição de óleos essenciais pode levar a avanços significativos na

maximização da produção de compostos de interesse, especialmente em espécies medicinais e aromáticas (MOHAMED; ALOTAIBI, 2023; TONGNUANCHAN; BENJAKUL, 2014). Seu processo químico envolvido na extração de óleos essenciais é crucial para definir tanto a composição quanto a qualidade dos óleos resultantes. Diversos métodos de extração, incluindo hidrodestilação, destilação a vapor e extração com solvente, são empregados para isolar esses óleos a partir de materiais vegetais (Figura 2). A escolha do método de extração influencia significativamente o rendimento, o perfil químico e a bioatividade dos óleos extraídos (Figura 2) (Konfo *et al.*, 2023).

Estudos têm destacado que os compostos químicos presentes nos óleos essenciais, como terpenos, terpenoides, carotenoides, cumarinas e curcuminas, desempenham papéis cruciais tanto no setor alimentício quanto em aplicações fitofarmacêuticas (Pandey *et al.*, 2017). Esses compostos são responsáveis por uma série de atividades biológicas que têm sido exploradas para o desenvolvimento de fitofármacos (Bunse *et al.*, 2022).

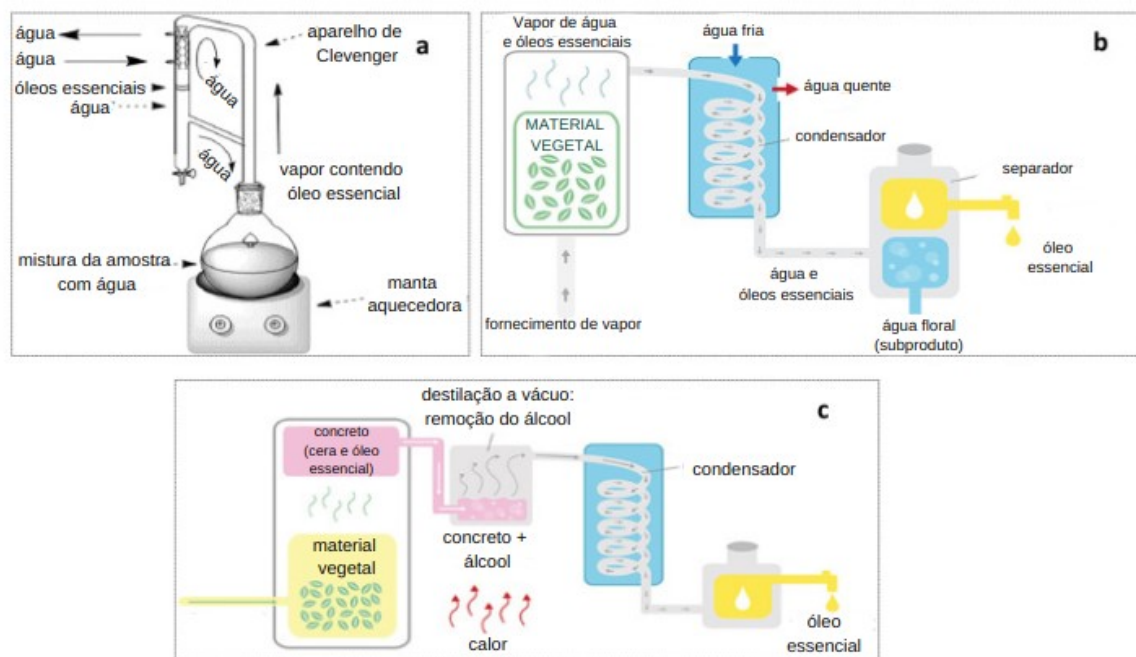


Figura 2: Técnicas de extração de óleos essenciais. Este diagrama ilustra diferentes métodos utilizados na extração de óleos essenciais, destacando: (a) hidrodestilação, (b) destilação a vapor, (c) extração por solventes. Os métodos são adaptados de (Samadi *et al.*, 2017) e (Ataei *et al.*, 2020). O uso de óleos essenciais como antioxidantes naturais na preservação de alimentos é discutido em profundidade por KONFO *et al.*, 2023, destacando o potencial antioxidante destes extratos de plantas aromáticas e sua relevância na melhoria da qualidade e preservação de alimentos sem os efeitos adversos associados a conservantes sintéticos. Fonte: Konfo *et al.* (2023).

3.3 Uso de óleos essenciais na modulação comportamental humano

Além de seus aromas agradáveis, os óleos essenciais vem recebendo maior atenção em relação às suas propriedades fitofarmacológicas e sobre seu impacto no comportamento humano (Kennedy; Scholey, 2006) (SAYORWAN, 2013) (PARCHA; BHANDARI, 2023). Tem sido objeto de diversos estudos, onde seu potencial é avaliado e testado, demonstrando resultados significativos tais como moduladores da dor, propiciação de redução da ansiedade e participação em processos neurológicos através da interação com o sistema nervoso (Edris, 2007).

O óleo essencial de *Citrus bergamia*, por exemplo, originário da Ásia e popularmente conhecido como bergamota no Brasil, foi submetido a estudos pré-clínicos para investigar seus efeitos ansiolíticos e relaxantes. Em testes comportamentais para medir os níveis de ansiedade em camundongos, como o campo aberto (*Open Field*, OF) e o labirinto em cruz elevado (*Elevated Plus Maze*, EPM), o óleo essencial demonstrou modulação de neurotransmissores específicos e exibiu significativos efeitos ansiolíticos-relaxantes, sugerindo a possibilidade uma ação indireta na modulação nos sistemas serotoninérgicos ou glutamatérgicos, uma vez que as vias estão envolvidas na regulação do humor e do comportamento (Rombolà *et al.*, 2020).

Um estudo recente identificou uma concentração significativa do sesquiterpeno natural *e-nerolidol* nos brotos de *Populus balsamifera*, uma espécie do gênero *Populus* da família *Salicaceae*, nativa do norte da América do Norte, e também no extrato de própolis. Este composto demonstrou inibir significativamente a ativação de neutrófilos induzida por agonistas específicos, sugerindo propriedades anti-inflamatórias marcantes. A presença do *e-nerolidol* tanto nos brotos quanto no própolis sugere que este ligante químico pode influenciar a função imunológica, especialmente através da modulação da atividade dos neutrófilos. Tais resultados destacam o potencial terapêutico do *e-nerolidol* como agente imunomodulador, afetando tanto respostas imunes humoral quanto celular (Schepetkin *et al.*, 2022).

Pesquisas também revelam sobre o óleo essencial das cascas de frutas de *Citrus limon*, originária da Ásia é conhecida popularmente como limão-siciliano,

apresentou propriedades ansiolíticas, sedativas e o prolongamento do sono induzido sem prejudicar a mobilidade em camundongos (Viana *et al.*, 2020).

Em paralelo, uma pesquisa com α -pinene, um componente majoritário dos óleos essenciais de plantas do gênero *Pinus*, da família *Pinaceae*, conhecidos popularmente como pinos, mostrou que este composto potencializa a duração do sono não-REM (*Rapid Eyes Movement*) em camundongos através dos receptores GABAA, sem afetar a arquitetura geral do sono. Através de técnicas de docagem molecular, descobriu-se que α -pinene se liga de forma semelhante às benzodiazepinas no sítio deste receptor mas atua como um modulador parcial, o que pode contribuir para um menor risco de desenvolver tolerância e dependência (Yang *et al.*, 2016). Esses achados são significativos, pois indicam que tanto os compostos presentes no óleo essencial de *Citrus limon* quanto o α -pinene presente no pinho, têm potencial como moduladores de processos neuroquímicos associados à ansiedade e podem ser desenvolvidos como alternativas mais seguras aos benzodiazepínicos. Essa é uma classe comum de ansiolíticos, na qual é conhecida por desenvolver tolerância e dependência, o que limita sua eficácia a longo prazo e aumenta o risco de efeitos colaterais adversos (Cabaj; Bargiel; Soroka, 2023; Lynch *et al.*, 2020)

Paralelamente, a pesquisa sobre melhora nas propriedades cognitivas a partir de várias plantas europeias da subfamília *Nepetoideae*, rica em monoterpenos, da família *Lamiaceae*, como sálvia (*Salvia officinalis*), erva-cidreira (*Melissa officinalis*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*), ressaltaram potencial terapêutico no tratamento de déficits cognitivos, especialmente em contextos de envelhecimento e demência. Os óleos e extratos desses gêneros evidenciam efeitos cognitivos e de humor em humanos, potencialmente relacionados aos seus efeitos na neurotransmissão colinérgica e GABAérgica.

Além disso, os compostos presentes nessas plantas podem atuar por meio da inibição de enzimas colinesterase, interação com receptores colinérgicos e através de suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. (Kennedy; Scholey, 2006) (Kennedy *et al.*, 2018). Sendo assim, em uma abordagem complementar, óleos essenciais da *Mentha piperita*, poderiam ser integrados em administrações terapêuticas para melhorar a cognição e o humor. Essa possibilidade é apoiada por dados de estudos randomizados e duplo-cegos em indivíduos saudáveis, que

demonstraram a eficácia desses óleos em modulações sutis das funções cognitivas e estados de humor. Embora esses estudos não tratem diretamente de pacientes com demência, os resultados promissores em participantes saudáveis sugerem um potencial terapêutico que poderia ser explorado em futuras pesquisas clínicas envolvendo populações com declínio cognitivo ou desordens de humor relacionadas à demência, ou outros transtornos (Kennedy *et al.*, 2011).

Recentemente, tem-se observado um aumento do interesse na investigação de abordagens terapêuticas alternativas e complementares destinadas a indivíduos com Transtorno do Espectro Autista (TEA) (Aishworiya *et al.*, 2022; Urdaneta *et al.*, 2018; Ecker; Spooren; Murphy, 2013). Uma dessas áreas de investigação focaliza o emprego da fitoterapia na modulação do comportamento em crianças afetadas pelo TEA. Dentre os compostos citados dos óleos essenciais, são apontados o potencial uso de flavonoides, os canabinoides, os curcuminoides, a piperina, o resveratrol e os bacosídeos, ou seja, uma gama diversificada de ligantes naturais para potenciais benefícios terapêuticos em contextos clínicos relacionados ao TEA (Urdaneta *et al.*, 2018).

3.4 Bases neurobiológicas do comportamento humano e do TEA

A análise epidemiológica do TEA demonstra uma prevalência notavelmente elevada ao longo das décadas, devendo-se principalmente ao aprimoramento significativo no diagnóstico e maior conscientização sobre a condição (Zeidan *et al.*, 2022). Nos Estados Unidos, os dados recentes do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) indicam que a prevalência de TEA em crianças de 8 anos que é de 1 em 36 em 2023, em comparação com 1 em 150 no início dos anos 2000; dados levantados pela mesma instituição (Maenner *et al.*, 2023).

A prevalência é desproporcionalmente maior em meninos, que representam aproximadamente 80% dos casos diagnosticados, destacando a necessidade de investigações focadas nas diferenças de gênero associadas ao TEA (Zeidan *et al.*, 2022). No contexto brasileiro, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a estimativa é incerta, mas denota um início de levantamento de dados nos próximos censos, uma vez que através da Lei 13.861/2019, que prevê a inclusão de dados específicos sobre autismo. Foi reportado no último censo que cerca de dois milhões

de pessoas estão diagnosticadas com TEA no Brasil, uma métrica que reforça a importância e contínua implementação de políticas públicas inclusivas e da ampliação de recursos em todos os aspectos adequados para atender a essa população.

O TEA é caracterizado por uma ampla variedade de sintomas e níveis de gravidade dependendo do grau de dificuldade com interação social e comunicação do indivíduo. Por esse motivo, utiliza-se o termo "espectro" (Sharma; Gonda; Tarazi, 2018). Seus sintomas consistem em dificuldades na comunicação (como atrasos de fala ou repetição de palavras), interação social (como dificuldade de compreensão e de relacionamentos interpessoais) e comportamentos repetitivos (como apego a rotinas fixas e padrões de comportamento estereotipados); apresentando um desenvolvimento ou funcionamento neurológico diferente do padrão esperado pela sociedade em geral (Kleijer *et al.*, 2014).

Indivíduos com autismo frequentemente têm condições adicionais, por isso, o seu tratamento farmacológico é adaptado e direcionado no alívio dos sintomas secundários do TEA e específicos do indivíduo, como por exemplo: a ansiedade, depressão, hiperatividade, agressividade, epilepsia, Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH), problemas de sono, automutilação e entre outros (Kelly An *et al.*, 2023). Diante disso, não existe um medicamento específico para o transtorno, submetendo o paciente a uma variedade de efeitos colaterais (Curpan; Luca; Ciobica, 2021; Ecker; Spooren; Murphy, 2013; Kolevzon; Mathewson; Hollander, 2006)

3.5 Alvos moleculares para ação terapêutico no TEA

A identificação de alvos terapêuticos potenciais para o tratamento do autismo é crucial para o desenvolvimento de intervenções eficazes, considerando a diversidade de sintomas e níveis de gravidade do TEA. Diversos estudos já destacaram múltiplos alvos promissores, fundamentados em variados mecanismos biológicos (Gürkan; Hagerman, 2012).

Apesar de não haver cura, estratégias farmacológicas têm sido aplicadas para amenizar os principais sintomas relacionados ao transtorno, por exemplo, no tratamento da ansiedade e os comportamentos repetitivos, são frequentemente prescritos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS). Por outro lado, a

hiperatividade é abordada com o uso de psicoestimulantes; entre outras intervenções farmacológicas (Lacivita *et al.*, 2017).

Estudos com possíveis alvos terapêuticos ao TEA, indicam uma série de receptores que podem atuar em processos de excitação neuronal e neuroplasticidade. Dependendo de sua conformação, agonistas ou antagonistas desses alvos terapêuticos podem ter importantes implicações clínicas, oferecendo novas perspectivas para o tratamento do TEA.

Como o caso do receptor NMDA (receptor N-metil-D-aspartato) que é um tipo de receptor de glutamato que desempenha um papel crucial na neurotransmissão excitatória do cérebro, e está envolvido, por exemplo, em processos de cognição, aprendizado e memória; e seu sítio de glicina, particularmente, é um alvo terapêutico promissor para amenizar os sintomas do TEA, pois a modulação antagonista deste sítio pode reduzir a hiperatividade do sistema glutamatérgico e, conseqüentemente, melhorar funções cognitivas e comportamentais associadas ao transtorno (Ghanizadeh, 2011).

Diferentes sistemas de neurotransmissores têm sido investigados como alvos para intervenções farmacológicas no contexto do TEA. Entre eles, destaca-se o sistema GABAérgico, cuja modulação tem demonstrado efeitos promissores. Estudos indicam que agonistas dos receptores GABAB podem ser eficazes no tratamento de subgrupos específicos de pacientes com TEA (Jiang *et al.*, 2022). Além disso, o agonismo de receptores GABAérgicos tem sido proposto como abordagem terapêutica para a redução de comportamentos estereotipados associados ao transtorno (Oliveira Ramos *et al.*, 2023).

Além disso, o sistema dopaminérgico também tem sido investigado neste contexto dado o papel complexo que a dopamina desempenha na função cerebral e no comportamento. Pesquisas sugerem que indivíduos com TEA podem ter uma sinalização alterada de dopamina nos circuitos mesocorticolímbicos e nigroestriatais, que estão envolvidos na regulação do comportamento e no processamento de recompensas. Polimorfismos nos receptores de dopamina, especialmente do tipo 2, tipo 3 e tipo 4, foram associados a comportamentos repetitivos e estereotipados no TEA (Kocsis; Lee; Deth, 2014) (Mandic-Maravic *et al.*, 2022).

Além dos sistemas GABAérgico e dopaminérgico, outros sistemas de neurotransmissores, como o serotoninérgico, também estão envolvidos no TEA, sendo este último considerado um alvo potencial para intervenções farmacológicas (Lee *et al.*, 2021). O direcionamento de diferentes receptores de serotonina tem mostrado potencial alívio como o potencial uso dos agonistas do receptor de serotonina, por exemplo, do receptor 5-HT_{1A} (*5-hydroxytryptamine receptor 1A*) podem reduzir comportamentos repetitivos, o antagonista do receptor 5-HT_{2A} (*5-hydroxytryptamine receptor 2A*) podem ajudar com déficits de aprendizagem e comportamentos repetitivos, e o agonismo do receptor 5-HT₇ (*5-hydroxytryptamine receptor 7*) foram associados a um melhor desempenho cognitivo e à redução de comportamentos repetitivos (Lacivita *et al.*, 2021).

Atualmente, a comunidade científica tem ampliado a investigação de diferentes alvos terapêuticos no TEA, incluindo sistemas de neurotransmissores, sinalização sináptica, vias do neurodesenvolvimento, fatores genéticos e mecanismos imunológicos (Lacivita *et al.*, 2021). Nesse cenário complexo, ganha destaque a estratégia farmacológica *multi-target*, que busca modular simultaneamente múltiplos sistemas biológicos. Um exemplo promissor é o composto ST-2223, que atua sobre os receptores de histamina H₃ e dopamina D₂/D₃, e tem demonstrado eficácia na redução de comportamentos repetitivos e do estresse oxidativo em modelos animais de TEA. Estratégias que envolvem a modulação de múltiplos receptores são especialmente relevantes para o transtorno, dada sua natureza multifatorial, oferecendo novas perspectivas terapêuticas mais abrangentes e eficazes (Eissa *et al.*, 2021; Jończyk *et al.*, 2024).

3.6 Abordagens computacionais aplicadas

3.6.1 Docagem molecular: princípios e aplicações

A docagem molecular é uma técnica amplamente utilizada em triagens virtuais baseadas em estrutura, e seu objetivo é prever a orientação mais favorável (pose) e estimar a afinidade de ligação entre pequenas moléculas e macromoléculas, como proteínas-alvo, por meio de funções de energia. Essas estimativas permitem ranquear os ligantes com maior potencial de interação, orientando a seleção de candidatos

bioativos (Stanzione; Giangreco; Cole, 2021; Rudrapal; Chetia, 2020; Trott; Olson, 2010a).

O princípio fundamental dessa técnica baseia-se na suposição de que o ligante ideal se ajusta de forma complementar ao sítio ativo do receptor, otimizando interações como ligações de hidrogênio, forças de *Van der Waals*, interações hidrofóbicas e eletrostáticas. O algoritmo avalia milhares de conformações possíveis, identificando aquelas que minimizam a energia livre de ligação do sistema ligante-receptor. (Meng *et al.*, 2011)

Dentre os programas mais utilizados para docagem molecular, o *AutoDock Vina* destaca-se por combinar código aberto, desempenho computacional eficiente e precisão preditiva amplamente validado na comunidade científica. Desenvolvido como sucessor do AutoDock 4, o Vina introduziu melhorias significativas no algoritmo de busca conformacional e na função de pontuação, reduzindo o tempo de processamento e aumentando a sua acurácia (Eberhardt *et al.*, 2021; Trott; Olson, 2010a).

O *AutoDock Vina* realiza a docagem molecular com base em um algoritmo estocástico que combina busca global e refinamento local. A afinidade entre ligante e receptor é estimada por uma função de pontuação empírica, que considera aspectos como forma, tamanho e complementaridade entre as moléculas. O espaço de busca é definido por uma caixa tridimensional (*grid box*), e os principais parâmetros ajustáveis incluem a exaustividade da busca (*exhaustiveness*), o número de poses geradas (*num_modes*), o intervalo de energia (*energy_range*) e o tamanho da *grid box*. Esses valores devem ser definidos conforme a complexidade do sistema e as características estruturais do ligante e da proteína (Trott; Olson, 2010a).

A escolha pelo *AutoDock Vina* neste estudo se justifica por seu bom desempenho em triagens de larga escala, aliando acurácia preditiva a baixo custo computacional, além de ser compatível com diferentes estratégias de pós-processamento, como o *re-scoring* com múltiplas funções de pontuação. Assim, a docagem molecular representa uma etapa fundamental na triagem e na seleção de compostos bioativos com potencial terapêutico.

Além da função de pontuação do Vina, estudos recentes destacam as vantagens do uso de abordagens complementares para aumentar a robustez das predições (Kadukova; Grudin, 2018). Funções alternativas como AD4, Convex-PL, DKOES e Vinardo têm sido empregadas por utilizarem diferentes critérios de avaliação das interações moleculares, como variações na forma de calcular afinidade de ligação e parâmetros físico-químicos. Sua aplicação combinada permite uma análise multifatorial mais precisa das interações ligante-receptor, reduzindo falsos positivos e melhorando a qualidade preditiva (Kurkinen *et al.*, 2018a). As especificações técnicas dessas funções estão descritas no capítulo de Materiais e Métodos na sessão 4.5.

A docagem molecular pode ser realizada com diferentes níveis de flexibilidade. A abordagem mais comum, adotada neste estudo, é a semi-flexível, em que o ligante é flexível e o receptor é mantido rígido (Ravindranath *et al.*, 2015). Já a docagem totalmente flexível, embora mais realista, é pouco utilizada em triagens de larga escala devido ao alto custo computacional (Ravindranath *et al.*, 2015; Trott; Olson, 2010b).

Apesar de eficaz, a técnica apresenta limitações, pois as funções de pontuação são aproximações da energia de ligação e não consideram com precisão fatores como entropia, solvatação e flexibilidade total do receptor. Por isso, os resultados devem ser interpretados com cautela e, idealmente, complementados com a geração de conformações do mesmo receptor, por *re-scoring*, simulações de dinâmica molecular ou validação experimental (Kurkinen *et al.*, 2018b; Totrov; Abagyan, 2008)

Neste trabalho, o uso da docagem molecular se justifica pela natureza dos compostos de óleos essenciais (pequenas moléculas), bem caracterizadas e com potencial de interação com múltiplos alvos. A técnica permitiu avaliar de forma sistemática as interações ligante-receptor em um conjunto de proteínas associadas ao TEA, auxiliando na priorização de compostos com possível aplicação terapêutica.

3.6.2 Estratégias de clusterização para agrupamento de ligantes

A clusterização é uma abordagem de aprendizado não supervisionado utilizada para identificar padrões de similaridade em grandes conjuntos de dados, organizando os elementos em grupos (ou *clusters*) de acordo com características comuns

(Mukhopadhyay; Maulik; Bandyopadhyay, 2015). As estratégias principais de clusterização incluem:

- Particionais (ex: *K-means*): segmentam os dados em um número fixo de clusters definidos por centróides. São eficientes para grandes volumes de dados numéricos, mas requerem que os dados estejam em um espaço vetorial contínuo (Kodinariya; Makwana, 2013).
- Hierárquicas: organizam os dados em uma estrutura de árvore (dendrograma), baseada em uma matriz de distâncias ou similaridades. Não requerem número prévio de clusters e são úteis para análises exploratórias de similaridade estrutural (Sangaiah *et al.*, 2023).
- Fuzzy (ex: *soft c-means*): permitem que um mesmo elemento pertença a múltiplos clusters com diferentes graus de associação, o que é útil quando há sobreposição ou ambiguidade entre classes (Bataineh; Naji; Saqer, 2011).
- Baseadas em densidade (ex: DBSCAN - *Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise*): identifica grupos como regiões de alta densidade de pontos no espaço de dados. Elementos que não pertencem a nenhuma dessas regiões densas são classificados como ruído. Essa abordagem é eficaz para detectar clusters com formas irregulares e para lidar com outliers, pois não assume previamente o número de grupos (Mukhopadhyay; Maulik; Bandyopadhyay, 2015).
- Clusterização espectral: Esta técnica constrói um grafo de similaridade entre os dados e utiliza a decomposição dos autovalores (espectro) da matriz laplaciana desse grafo para identificar estruturas de agrupamento. Essa técnica é especialmente útil quando os clusters não são facilmente separáveis no espaço original, permitindo capturar relações complexas entre os elementos, mas exigem calibração mais sensível dos parâmetros e podem não ser ideais para dados com alta dimensionalidade binária (como *fingerprints*) (Mukhopadhyay; Maulik; Bandyopadhyay, 2015).

Em estudos de triagem virtual, a aplicação de técnicas de clusterização tem se mostrado eficaz para estruturar bibliotecas químicas de forma racional, facilitando a

identificação de compostos com perfis semelhantes e auxiliando na priorização de ligantes com potencial farmacológico (Carbone *et al.*, 2022; Chaichit *et al.*, 2022).

Além de permitir uma organização mais eficiente dos dados, a clusterização contribui para a promoção da diversidade química, tornando possível a identificação de compostos estruturalmente distintos que apresentam respostas biológicas similares (Yin *et al.*, 2023). Considerando essas vantagens, e alinhando-se às características dos dados utilizados neste estudo, foram empregadas diferentes técnicas de clusterização de maneira complementar, cada uma direcionada à exploração de aspectos específicos dos ligantes analisados, como veremos a seguir:

- O algoritmo *K-means* foi aplicado aos valores de afinidade derivados das simulações de docagem molecular. Como essa técnica exige dados numéricos contínuos em um espaço vetorial, ela foi usada exclusivamente para segmentar os compostos com base em seus perfis de interação com os alvos moleculares (Chen *et al.*, 2023). Esse agrupamento permitiu identificar subconjuntos de ligantes com padrões similares de afinidade, facilitando a seleção dos candidatos mais promissores (Bremer *et al.*, 2020).
- A clusterização hierárquica foi utilizada para agrupar os compostos com base em sua similaridade estrutural, calculada por meio de *fingerprints* moleculares (geradas com o pacote Python - RDKit) e da métrica de coeficiente de Tanimoto. Esse método permitiu representar relações estruturais entre os ligantes por meio de dendrogramas, facilitando a análise da diversidade química da biblioteca (Spyrakis *et al.*, 2015; Böcker *et al.*, 2005).
- Por fim, foi empregada a clusterização *fuzzy* (*soft c-means*) sobre os mesmos dados estruturais, permitindo que um mesmo ligante fosse associado a múltiplos clusters com diferentes graus de pertencimento (Anighoro; Bajorath, 2017; Ahmed; Abdo; Salim, 2011). Essa abordagem é especialmente útil para compostos que apresentam subestruturas híbridas ou que compartilham características com mais de um grupo, refletindo a ambiguidade estrutural observada em alguns constituintes dos óleos essenciais (Jenkins; Glick; Davies, 2004).

As técnicas descritas acima foram implementadas em diferentes etapas do pipeline de triagem virtual, conforme detalhado no capítulo de Materiais e Métodos (Seção 4.6).

3.6.3 Bibliotecas e ferramentas computacionais aplicadas à quimioinformática

A construção do pipeline computacional deste estudo foi baseada em linguagens e bibliotecas amplamente utilizadas nas áreas de ciência de dados, quimioinformática e aprendizado de máquina. A linguagem Python foi escolhida como plataforma principal devido à sua versatilidade e à ampla comunidade científica que mantém bibliotecas voltadas para análises químicas e bioinformáticas.

Para o tratamento e manipulação de dados, foram utilizadas as bibliotecas *Pandas* e *NumPy*, fundamentais para a organização de grandes conjuntos de informações moleculares, como tabelas de afinidade, matrizes de similaridade e scores de funções de pontuação. Já as bibliotecas *Seaborn* e *Matplotlib* foram empregadas para a criação de gráficos de dispersão, mapas de calor, dendrogramas e outras visualizações que facilitaram a interpretação dos agrupamentos moleculares e da triagem virtual.

A biblioteca RDKit teve papel central nas etapas relacionadas à quimioinformática, como a geração de fingerprints moleculares, cálculo de coeficientes de similaridade de Tanimoto, e construção de matrizes estruturais (Suprpto; Lailun Ni'mah, 2024; Willett, 2006). Além disso, o RDKit oferece suporte para conversão de formatos químicos (ex: SMILES), manipulação de estruturas e integração com algoritmos de clusterização hierárquica, sendo essencial para os métodos descritos nas seções anteriores.

O estudo também incorporou o uso do ChemToolKit, uma ferramenta desenvolvida pelo grupo de pesquisa e hospedada no GitHub. Embora ainda esteja em fase de otimização, essa aplicação foi utilizada para automatizar etapas da triagem virtual, incluindo o *re-scoring* de poses com múltiplas funções de pontuação e o agrupamento de ligantes com base em algoritmos de aprendizado não supervisionado. A lógica da ferramenta segue princípios de machine learning, aplicando técnicas como clusterização fuzzy e análise de pertencimento, o que amplia a capacidade de análise estrutural automatizada.

As abordagens computacionais utilizadas neste trabalho como a clusterização fuzzy, a análise de similaridade por coeficiente de Tanimoto e o agrupamento com base em descritores moleculares, enquadram-se no escopo do aprendizado de máquina não supervisionado, sendo amplamente aplicadas em estudos de triagem virtual, priorização de ligantes e inferência de afinidade molecular (Spyrakis *et al.*, 2015). A integração dessas ferramentas e bibliotecas forneceu uma base sólida para análises complexas e permitiu a execução eficiente dos cálculos exigidos por uma triagem virtual em larga escala.

3.7 Cálculo de similaridade com descritores moleculares e distância euclidiana

Uma das estratégias mais eficazes para medir similaridade molecular entre compostos químicos é baseada na distância euclidiana aplicada a vetores de descritores físico-químicos. Essa abordagem permite comparar moléculas considerando múltiplas propriedades simultaneamente, situando-as em um espaço n -dimensional, no qual cada dimensão representa um descritor específico (Sellner; Mahmoud; Lill, 2023).

Os descritores químicos foram obtidos a partir dos SMILES desses ligantes, utilizando o pacote RDKit, uma ferramenta amplamente usada em quimioinformática para gerar informações moleculares precisas e consistentes, tais como: a massa molecular, área superficial polar, logP, número de doadores e receptores de ligações de hidrogênio, entre outros

Esses descritores foram utilizados para gerar vetores que representam cada molécula em um espaço de descritores, e, em seguida, a distância euclidiana foi calculada entre os vetores de cada par de ligantes. Isso nos permitiu quantificar a similaridade entre as moléculas, ou seja, quão próximas podem ser com base em suas propriedades químicas (Sellner; Mahmoud; Lill, 2023). A fórmula para a distância euclidiana entre dois vetores A e B (representando duas moléculas) é:

$$D(A,B) = \sqrt{(A_1 - B_1)^2 + (A_2 - B_2)^2 + \dots + (A_n - B_n)^2}$$

Onde:

- $A_1, A_2, \dots, A_n$ são os valores dos descritores para a molécula A .

- $B_1, B_2, \dots, B_n$ são os valores dos descritores para a molécula B.

Essa distância reflete o grau de dissimilaridade entre os compostos: valores menores indicam maior similaridade química, enquanto distâncias maiores refletem diferenças mais significativas nas propriedades analisadas (Bero *et al.*, 2017; Nikolova; Jaworska, 2003).

Após o cálculo das distâncias para todos os pares de ligantes, os valores podem ser normalizados estatisticamente por z-score, transformando-os em uma escala padronizada entre 0 e 1, em que 0 representa ligantes altamente similares e 1 indica grande dissimilaridade.

Para tornar essa escala mais intuitiva e diretamente proporcional à similaridade, pode-se aplicar o conceito de Proximidade Cartesiana, que inverte os valores: 1 passa a representar ligantes muito similares e 0, completamente distintos. Essa transformação permite a construção de uma Matriz Normalizada de Proximidade Euclidiana, também referida como Matriz Proximidade, que serve como base para análises comparativas e agrupamentos posteriores.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta seção apresenta os materiais e métodos utilizados nos experimentos realizados neste trabalho como mostrado na Figura 3:

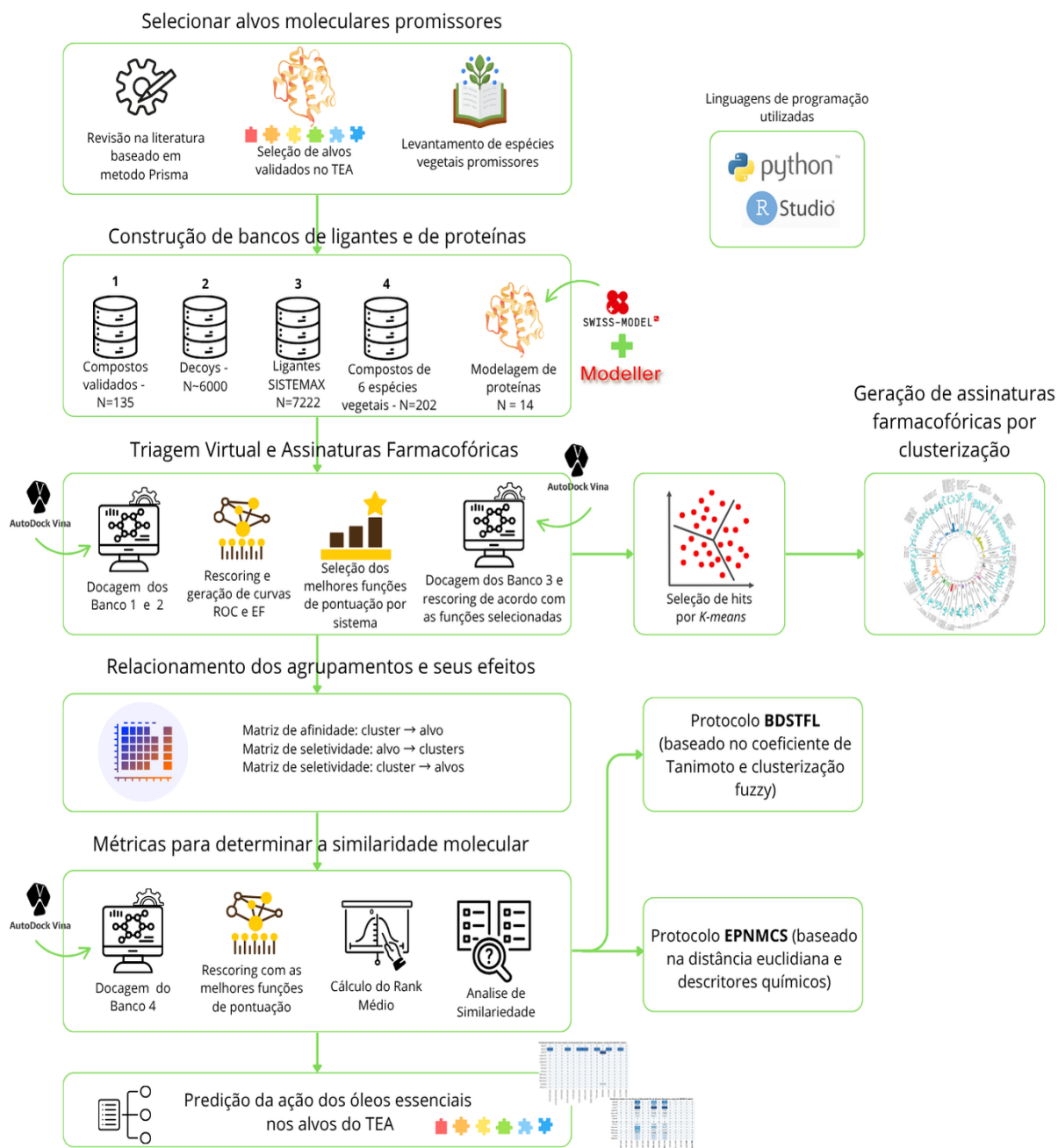


Figura 3: Fluxograma metodológico para a identificação *in silico* de compostos bioativos derivados de óleos essenciais com potencial ação sobre alvos moleculares associados ao TEA. O diagrama apresenta as sete fases principais da metodologia aplicada neste trabalho, integrando revisão sistemática, construção de bancos moleculares, modelagem de proteínas, triagem virtual multi-alvo, geração de assinaturas farmacofóricas, análise de agrupamentos e métricas de similaridade molecular. Ferramentas como AutoDock Vina, MODELLER, Swiss-Model, além de linguagens como Python e R, foram empregadas para identificar compostos fitoquímicos de óleos essenciais com potencial de interação com alvos associados ao TEA, visando aplicações futuras em planejamento racional de fármacos.

4.1 Seleção de alvos moleculares relevantes

A fim de determinar os alvos moleculares representativos no tratamento do TEA, uma revisão na literatura foi realizada seguindo a metodologia “BiSLR - *Systematic Literature Reviews in bioinformatics*” (Mariano *et al.*, 2017). O processo de BiSLR é composto por quatro etapas distintas, conforme ilustrado na Figura 4: (i) Definição do protocolo, define claramente os objetivos da revisão e o plano de ação a ser seguido (Ver Tabela 1); (ii) coleta de referências, pesquisa e identificação de artigos pertinentes ao tópico da revisão;; (iii) avaliação dos dados, determina quais das referências são pertinentes e atendem aos critérios estabelecidos, descartando aquelas que não são relevantes, e, (iv) interpretação dos resultados, síntese e interpretação dos resultados obtidos durante a revisão.

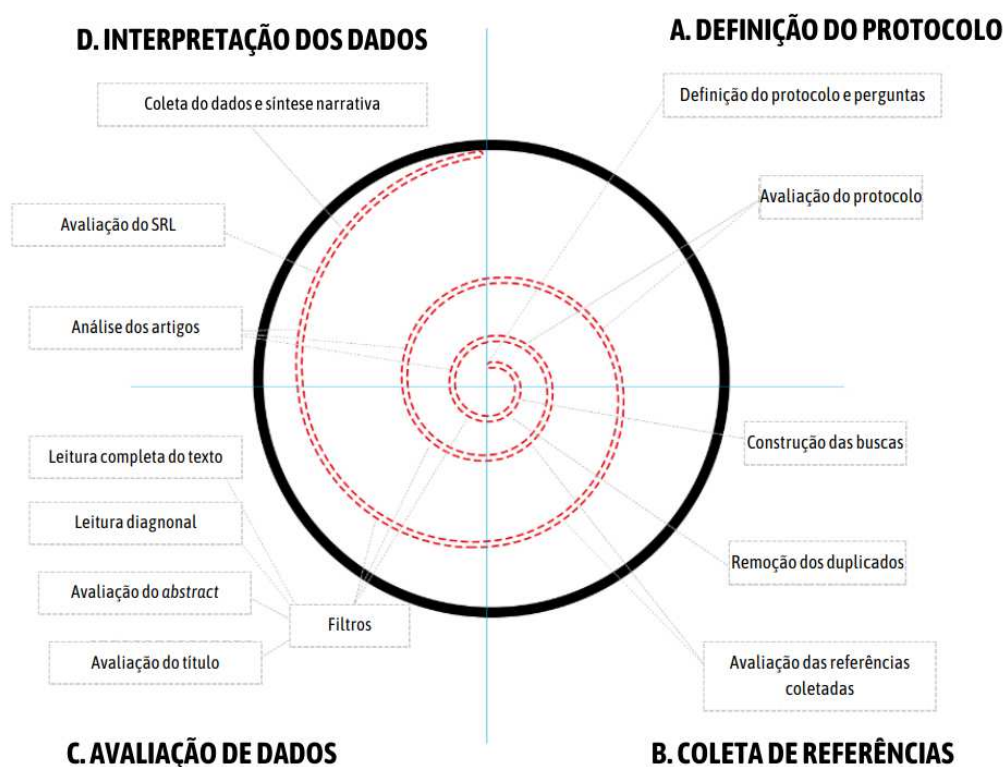


Figura 4: Etapas progressivas no processo de revisão na literatura. Esta figura ilustra o processo metodológico de uma revisão sistemática de literatura, dividido em quatro fases principais: A) Definição do Protocolo, B) Coleta de Referências, C) Avaliação de Dados e D) Interpretação dos Dados. O diagrama em espiral destaca a natureza iterativa e progressiva do processo, começando pela definição do protocolo e avançando sistematicamente através da coleta e avaliação das referências até a interpretação dos dados para síntese narrativa. Cada etapa é essencial para garantir a precisão e a integridade da revisão, culminando na coleta de dados e na síntese das informações extraídas. Fonte: Adaptado e traduzido de MARIANO, Diego C. B. et al. (2017).

Para a realização da revisão na literatura, foram empregadas três bases de dados principais: PUBMED (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), WEB OF SCIENCE (<http://webofscience.com>) e SCOPUS (<https://www.scopus.com>), com os dados sendo coletados em fevereiro de 2023. A metodologia inicial consistiu na busca, filtração, remoção e extração de nomes de proteínas mencionadas nos resumos (*abstracts*) dos artigos selecionados após filtração, conforme detalhado na Tabela 1. Esta tabela resume as etapas de condução do protocolo aplicado na revisão, incluindo a definição da pergunta principal, os objetivos, palavras-chave, critérios de exclusão, e métodos de extração de dados.

Adotou-se a metodologia PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and MetaAnalyses*) para garantir uma abordagem rigorosa e estruturada na revisão, como visto na Figura 4. As perguntas específicas para a análise dos estudos permitiram uma avaliação focada e sistematizada das proteínas mais representativas e promissoras reguladas por genes associados ao TEA. Este processo assegurou a seleção criteriosa e a análise das publicações, facilitando a identificação de proteínas significativas no contexto da pesquisa.

Tabela 1. Etapas na condução do protocolo aplicado na revisão.

Pergunta principal	Quais são os alvos moleculares mais representativos e promissores a serem regulados por pequenas moléculas presentes em óleos essenciais?
Objetivo	Obter as famílias de proteínas mais citadas e quantificar estatisticamente.
Critérios de inclusão I	("autism" or "autism spectrum disorder" OR "autism spectrum" OR "ASD") AND ("protein" OR "receptor" OR "target" OR "enzyme" OR "amino acid substitution" OR "mutation" OR "protein data bank" OR "PBD") AND ("biochemistry" OR "molecular biology" OR "medicinal chemistry" OR "QSAR" OR "screening" OR "bioinformatics" OR "biotechnology") AND ("ligand" OR "molecule" OR "inhibitor" OR "drug" OR "mechanism" OR "pharmacodynamics" OR "toxicology" OR "psychopharmacotherapeutic") AND ("pharmacogenomics" OR "epigenetics" OR "Molecular Markers")
Critérios de inclusão II	((autism OR asd) AND ("G protein coupled receptors" OR gpcr) AND (tratamento OR therapeutic OR target))
Critérios de exclusão	Critério 1 = Apenas inglês Critério 2 = A partir de 2007 Critério 3 = Exclusão: "pré-natal", " <i>post mortem</i> " Critério 4 = Que sejam experimentais Critério 5 = <i>Open Access</i>

Extração de dados	Coleta dos nomes das proteínas que surgiram no <i>abstract</i> .
Perguntas	• O artigo é experimental ? (<i>in silico</i> ou <i>in vivo</i>) • Direcionado para o tratamento para o TEA? • Artigos originais? • Artigos publicados?

Durante a avaliação e filtragem dos artigos (Figura 5), os nomes das proteínas citados tanto nos títulos quanto nos seus resumos foram extraídos. Posteriormente, foi desenvolvida uma base de classificação das proteínas, organizada por nomenclatura, sinônimos, família, subfamília e domínios, com o auxílio do banco de dados UNIPROT (The UniProt Consortium *et al.*, 2023) (ver Anexo 1). Esta etapa proporcionou uma visão abrangente das descobertas iniciais desta revisão, destacando as informações pertinentes e os alvos terapêuticos que estavam sendo mencionados na literatura.

4.2 Coleta de dados

Após a confecção da tabela de classificação das proteínas organizadas por famílias (Anexo 1), foi realizada uma busca específica na seção de materiais e métodos de cada artigo extraído das três bases de artigos citadas anteriormente. Essa busca, se baseou na quantificação de quantas vezes o nome da proteína e seus sinônimos eram citados, garantindo que cada menção em materiais e métodos confirmava a relevância prática do artigo daquela proteína. A contagem de frequência foi ajustada para um por artigo, assegurando que a menção em um único artigo já era suficiente para ser registrada pelo script em Python. Esse procedimento reduziu a redundância de menções múltiplas da mesma proteína dentro de um artigo, fornecendo uma medida mais precisa de seu estudo efetivo.

Esta revisão resultou na identificação de 151 nomes de proteínas, classificadas em 79 famílias distintas, conforme apresentado no Anexo 1. Esta organização contribuiu para a compreensão das conexões e relevância dessas proteínas no contexto da pesquisa sobre TEA.

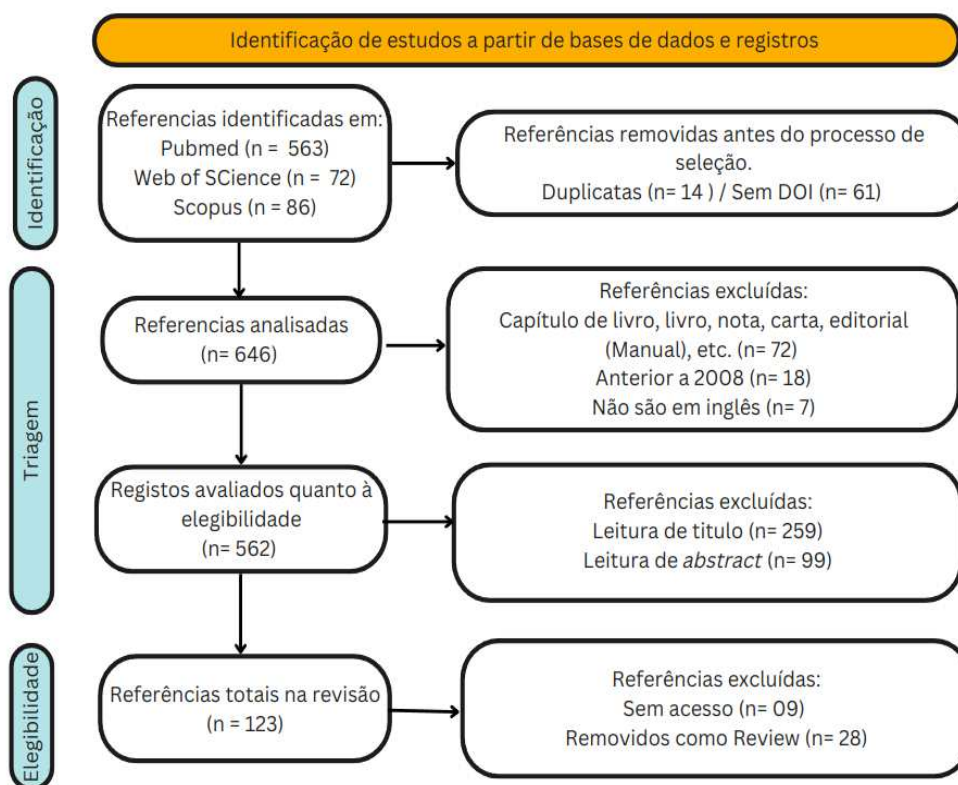


Figura 5: Fluxograma de seleção e avaliação de referências para revisão na literatura utilizando método Prisma e BiSLR.

4.3 Desenvolvimento do Banco de Dados de Ligantes

4.3.1 Primeiro Banco: Ligantes da Literatura

Para a construção de uma biblioteca de ligantes como controle positivo deste trabalho, levantou-se na literatura científica ligantes validados através de ensaios que foram realizados com proteínas-alvo selecionados na etapa anterior e que foram expressas e quantificadas *in vitro* ou *in vitro* a sua atividade biológica com os compostos, considerando sua ação agonista quanto antagonista, para assegurar uma ampla cobertura dos perfis de atividade nos alvos selecionados.

Sendo assim, a identificação e seleção destes ligantes validados, ou seja, compostos biologicamente ativos para cada alvo, baseou-se nos parâmetros fundamentais estabelecidos na farmacologia e bioquímica para caracterizar a eficácia e a afinidade dos ligantes. Sendo estes: valores de IC₅₀ (Concentração Inibitória 50%), EC₅₀ (Concentração Efetiva 50%), K_i (Constante de Inibição) ou K_d (Constante de Dissociação) estabelecidos em ensaios experimentais para melhor levantamento

na precisão de seleção desta biblioteca, como também auxiliou na comparabilidade direta entre diferentes ligantes durante o levantamento, onde ligantes com baixa afinidade ou eficácia foram considerados menos valiosos para este trabalho.

Para garantir a qualidade e a conformidade estrutural dos ligantes agonistas e antagonistas selecionados, foi realizada uma série de otimizações estruturais. Inicialmente, os ligantes disponíveis nas bases de dados de Pubchem e Zinc foram baixados no formato MOL2, ajustados ao pH de referência. Para os ligantes que não estavam disponíveis nessas bases de dados, as estruturas em 2D foram desenhadas utilizando o software Marvin JS.

Em seguida, a melhor conformação espacial de cada ligante foi calculada através do campo de força utilizando o software Avogadro. Por fim, os ligantes curados foram submetidos a uma otimização adicional, que incluiu processos de protonação e tautomerização, utilizando novamente o Marvin JS, assegurando que as formas moleculares mais biologicamente relevantes fossem utilizadas nas etapas subsequentes de triagem virtual. A lista completa dos ligantes biologicamente ativos selecionados para cada alvo está apresentada na Tabela 2.

4.3.2 Segundo Banco: Decoys

A geração de decoys foi realizada utilizando a plataforma DUD-E (*Directory of Useful Decoys: Enhanced*), onde seu uso fornece os *decoys* – compostos que são estruturalmente similares aos ligantes ativos, mas que, idealmente, são biologicamente inativos, a partir de conjuntos de dados com ligantes ativos conhecidos para vários alvos através do seus SMILES (*Simplified Molecular-Input Line-Entry System*).

O DUD-E assegura que os *decoys* sejam semelhantes o suficiente ao ligante em termos de certas propriedades físicas, mas diferem em características que são críticas para a atividade biológica, como a disposição espacial dos grupos funcionais.

A plataforma possibilitou a geração de até 50 *decoys* para cada ligante ativo, com o número exato dependendo da disponibilidade de compostos na sua base de dados que atendessem os próprios critérios de similaridade e dissimilaridade

estabelecidos pelos desenvolvedores. No entanto, para garantir a unicidade e a diversidade química dos *decoys* gerados e que serão empregados neste trabalho como banco de ligantes de controle negativo, foi aplicado o coeficiente de Tanimoto, uma métrica que mede a similaridade entre os compostos.

Este coeficiente ajudou a identificar e remover redundâncias, filtrando compostos que eram excessivamente semelhantes entre si. Ao eliminar esses *decoys* redundantes, assegurou-se que cada composto na biblioteca representasse uma entidade química distinta, o que é essencial para avaliar com precisão a especificidade dos algoritmos de *scoring* empregados na docagem molecular (Seção 4.5).

O coeficiente de Tanimoto é calculado usando a seguinte fórmula, considerando como entrada os bits dos ligantes SMILES como representação binária das características de uma molécula em um *fingerprint* molecular:

$$\text{Coeficiente de Tanimoto} = \frac{A \cap B}{A + B - A \cap B}$$

Onde:

- A é o número de bits iguais a 1 no *fingerprint* da molécula A.
- B é o número de bits iguais a 1 no *fingerprint* da molécula B.
- $A \cap B$ é o número de bits iguais a 1 que são comuns entre as moléculas A e B.

O resultado do coeficiente de Tanimoto varia de 0 a 1:

- 1 indica que as moléculas são idênticas em termos de *fingerprints*.
- 0 indica que as moléculas são completamente diferentes.
- Valores intermediários refletem a proporção de similaridade entre os dois compostos.

Tabela 2: Ligantes Positivos com efeitos agonistas ou antagonistas nos receptores 5HT2AR, OXTR, V1AR, DRD3, CBN1 e mGluR5 levantados na literatura.

5HT2AR		OXTR		V1AR		DRD3		CBN1		mGluR5			
Agonista	Antagonista	Agonista	Antagonista	Agonista	Antagonista	Agonista	Antagonista	Agonista	Antagonista	Agonista	Antagonista	PAM	NAM
apripirazole (RICHTAND <i>et al.</i> , 2007)	agomelatine (Millan <i>et al.</i> , 2003)	compound29 (PITT <i>et al.</i> , 2004)	balovaptan (Schnider <i>et al.</i> , 2020)	LIT001 (Frantz <i>et al.</i> , 2018)	conivaptan (Tahara <i>et al.</i> , 1997)	7-OH-DPAT (Ricci <i>et al.</i> , 1995)	ABT-127 (Gross; Drescher, 2012)	2-AG (Luk <i>et al.</i> , 2004)	AM-251 (Dao; François, 2021)	ABHxD-1 (Acher <i>et al.</i> , 2022)	4C2MPG (Clark <i>et al.</i> , 1997)	CDPPB (Gilmour <i>et al.</i> , 2013)	AZD2066 (Arsova <i>et al.</i> , 2020)
cabergoline (Millan <i>et al.</i> , 2002)	chlorpromazine (RICHTAND <i>et al.</i> , 2007)	compound30 (PITT <i>et al.</i> , 2004)	compound37 (Borthwick <i>et al.</i> , 2005)	OPC-51803 (Nakamura <i>et al.</i> , 2000)	L023103 (QUATTROPA NI <i>et al.</i> , 2005)	Apomorphine (Millan <i>et al.</i> , 2002)	Chlorpromazine (Sokoloff <i>et al.</i> , 1992)	AM-2233 (Luk <i>et al.</i> , 2004)	AM-4113 (Soler-Cedeno; Xi, 2022)	ACPD (Fazal <i>et al.</i> , 2003)	4C3H2MPG (Clark <i>et al.</i> , 1997)	LSN2463359 (Gilmour <i>et al.</i> , 2013)	Basimglurant (Arsova <i>et al.</i> , 2020)
ergotamine (Knight <i>et al.</i> , 2004)	clozapine (Knight <i>et al.</i> , 2004)	compound31 (PITT <i>et al.</i> , 2004)	L023103 (QUATTROPAN I <i>et al.</i> , 2005)	VNA 932 (FAILLI <i>et al.</i> , 2006)	mozavaptan (Thibonnier <i>et al.</i> , 1997)	Bromocriptine (Mierau <i>et al.</i> , 1995)	Eticlopride (VARADY <i>et al.</i> , 2003)	AM-411 (Luk <i>et al.</i> , 2004)	AM-6527 (Soler-Cedeno; Xi, 2022)	DHPG (Chen <i>et al.</i> , 2020)	CPCCOEt (Hintermann <i>et al.</i> , 2007)	LSN2814617 (Gilmour <i>et al.</i> , 2013)	Dipraglurant (Fu <i>et al.</i> , 2018)
hydroxytryptamine (Knight <i>et al.</i> , 2004)	duloxetine (Bymaster, 2001)	compound32 (PITT <i>et al.</i> , 2004)	L-371,257 (Griffante <i>et al.</i> , 2005)	WAY-267464 (Uba <i>et al.</i> , 2020)	nelivaptan (Gal <i>et al.</i> , 2002)	Dopamine (Chen <i>et al.</i> , 2013)	FAUC 365 (Gross; Drescher, 2012)	Anandamide (Luk <i>et al.</i> , 2004)	AM-6538 (Hua <i>et al.</i> , 2016)	L-CCG-I (Pin <i>et al.</i> , 1999)	CPPG (COSTANTI NO, 1999)	VU0285683 (Gregory <i>et al.</i> , 2012)	Fenobam (Porter <i>et al.</i> , 2005)
lisuride (Millan <i>et al.</i> , 2002)	fibanserin (Borsini <i>et al.</i> , 2002)	compound34 (PITT <i>et al.</i> , 2004)	LS-192629 (CIRILLO <i>et al.</i> , 2003)	FE-106483 (Manning <i>et al.</i> , 2008)	Relcovaptan (Griffante <i>et al.</i> , 2005)	Haloperidol (Mierau <i>et al.</i> , 1995)	Fluphenazine (Seeman, 2001)	ACEA (LU <i>et al.</i> , 2019)	AM-6545 (Dao; François, 2021)	L-glutamic acid (Pin <i>et al.</i> , 1999)	LY3020371 (Acher <i>et al.</i> , 2022)	VU0366058 (Gregory <i>et al.</i> , 2012)	Mavoglurant (Fu <i>et al.</i> , 2018)
lorcaserin (Thomsen <i>et al.</i> , 2008)	haloperidol (Kroeze <i>et al.</i> , 2003)	compound35 (PITT <i>et al.</i> , 2004)	nelivaptan (Griffante <i>et al.</i> , 2005)		Ro5028442 (Ratni <i>et al.</i> , 2015)	Piribedil (Millan <i>et al.</i> , 2002)	N-methylspiperone (Chen <i>et al.</i> , 2014)	CP-55940 (Duan <i>et al.</i> , 2008)	Otenabant (Messina <i>et al.</i> , 2015)	L-HCSA (Shi <i>et al.</i> , 2003)	LY341495 (Doherty <i>et al.</i> , 2000)	VU0405386-1 (Gregory <i>et al.</i> , 2012)	methoxy-PEPy (Arsova <i>et al.</i> , 2020)
methoxytryptamine (KNIGHT <i>et al.</i> , 2004)	lumateperone (Snyder <i>et al.</i> , 2015)	compound36 (PITT <i>et al.</i> , 2004)	OPC21268 (Jasper <i>et al.</i> , 1995)		RWJ-351647 (Gunn <i>et al.</i> , 2006)	Pramipexole (Mierau <i>et al.</i> , 1995)	Nafadotride (VARADY <i>et al.</i> , 2003)	Δ^9 -THC (Luk <i>et al.</i> , 2004)	PMSR (Muccioli; Lambert, 2005)	Quisqualate (Chen <i>et al.</i> , 2020)	LY367366 (SCHOEPP, 1999)	VU0405398 (Gregory <i>et al.</i> , 2012)	MFZ 10-7 (Keck <i>et al.</i> , 2014)
pindolol (Sard <i>et al.</i> , 2005)	methysergide (Knight <i>et al.</i> , 2004)	Ferring (Frantz <i>et al.</i> , 2018)	relcovaptan (Åkerlund <i>et al.</i> , 1999)		tolvaptan (Yamamura <i>et al.</i> , 1998)	Quinelorane (Mierau <i>et al.</i> , 1995)	Perphenazine (Seeman, 2001)	Methanandamide (Luk <i>et al.</i> , 2004)	Rimonabant (Dao; François, 2021)	VU0424465 (Chen <i>et al.</i> , 2020)	MPPG (Hintermann <i>et al.</i> , 2007)	VU0415051 (Zhou <i>et al.</i> , 2015)	MPEP (Porter <i>et al.</i> , 2005)
psilocin (Sard <i>et al.</i> , 2005)	risperidone (Kongsamut <i>et al.</i> , 2002)	LIT001 (Frantz <i>et al.</i> , 2018)	Ro5028442 (Ratni <i>et al.</i> , 2015)		ym218 (Tahara <i>et al.</i> , 2005)	Quinpirole (Ricci <i>et al.</i> , 1995)	Pipotiazine (Sokoloff <i>et al.</i> , 1992)	Noladin ether (Luk <i>et al.</i> , 2004)	Surinabant (Dao; François, 2021)		NPS 2390 (SCHOEPP, 1999)	VU29 (Gregory <i>et al.</i> , 2012)	MTEP (Porter <i>et al.</i> , 2005)
quizapine (Knight <i>et al.</i> , 2004)	zotepine (Kongsamut <i>et al.</i> , 2002)	WAY-267464 (Frantz <i>et al.</i> , 2018)	SSR126768A (SERRADEIL-L <i>et al.</i> , 2004)		ym471 (Tsukada <i>et al.</i> , 2001)	Ropinirole (Ricci <i>et al.</i> , 1995)	S33084 (Gross; Drescher, 2012)	WIN55,212-2 (Luk <i>et al.</i> , 2004)	Taranabant (Shao <i>et al.</i> , 2016)		PHCC (SCHOEPP, 1999)		STX107 (Arsova <i>et al.</i> , 2020)
						Talipexole (Ricci <i>et al.</i> , 1995)	Spiperone (VARADY <i>et al.</i> , 2003)						VU0477573 (Nickols <i>et al.</i> , 2015)

4.3.3 Terceiro Banco: Óleos Essenciais provenientes do SistematoX

A construção do terceiro banco de ligantes deste trabalho foi realizada a partir de um banco pré-existente de 170 compostos, desenvolvido pelo grupo de pesquisa do orientador, utilizando compostos extraídos por hidrodestilação por arraste de vapor e previamente caracterizados por cromatografia gasosa.

Esse banco foi complementado com dados extraídos do banco de ligantes naturais SistematoX, um repositório de acesso aberto criado e mantido pelo Prof. Dr. Marcus Tullius Scotti, do Departamento de Química da Universidade Federal da Paraíba. O SistematoX é uma base de dados abrangente que contém mais de 9.514 moléculas de metabólitos secundários de plantas, catalogadas a partir de diferentes famílias botânicas. Este recurso inclui uma série de ferramentas para levantamento e gerenciamento de dados de metabólitos secundários, disponibilizando informações detalhadas sobre espécies, taxonomia, propriedades físico-químicas, espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e atividade biológica. As estruturas moleculares no SistematoX estão acessíveis em formatos 2D e 3D (.mol).

Diante deste contexto, na construção do banco de ligantes deste presente trabalho, foi realizada uma filtragem criteriosa no SistematoX realizada pelo trabalho anterior do grupo, focando nos constituintes de óleos essenciais no qual foi baseada em uma revisão da literatura específica para cada molécula depositada. A seleção foi refinada considerando as médias e desvios padrão das propriedades físico-químicas dos constituintes de óleos essenciais.

A consulta ao SistematoX resultou na identificação de 481 compostos presentes em óleos essenciais vegetais, que foram adicionados aos 170 compostos previamente selecionados. O banco final de ligantes utilizados neste trabalho, contendo os principais constituintes de óleos essenciais, consistiu em um total de 651 sequências SMILES que permitiu a construção das estruturas tridimensionais de cada ligante utilizando o software LigPrep da Schrodinger, com os parâmetros definidos: campo de força OPLS_2005 e pH $6,4 \pm 0,5$. O LigPrep produziu estruturas considerando todos os tautômeros e estereoisômeros possíveis, resultando em um banco de ligantes tridimensionais final, contendo 7.222 estruturas, que foram convertidas para o formato .mol2 utilizando o programa Maestro da Schrodinger.

4.3.4 Quarto Banco: Óleos essenciais de seis espécies vegetais

O quarto banco de ligantes utilizado neste estudo foi construído a partir de óleos essenciais de seis espécies de plantas, selecionadas a partir da revisão da literatura realizada neste trabalho. Sendo assim, estas espécies foram divididas em dois grupos: controles positivos, que foram mencionados em estudos prévios relacionados às interações de modulação comportamental, e controles negativos, que não apresentam registros na literatura associados à modulação comportamental.

Logo em seguida, buscou-se os dados da composição dos óleos essenciais destas espécies, especificamente resultados disponíveis de dados de cromatografia líquida descritos na literatura, como demonstra na tabela 3. Para garantir uma análise robusta, foram utilizadas três amostras diferentes para cada espécie, extraídas de fontes bibliográficas distintas.

Esses dados cromatográficos foram fundamentais para a construção de perfis químicos detalhados dos constituintes presentes nos óleos essenciais, permitindo uma análise comparativa precisa entre os diferentes grupos (controles positivos e negativos) em relação aos ligantes mais promissores previamente identificados na docagem com o terceiro banco de ligantes.

Sendo assim, logo após a identificação destes constituintes, as estruturas moleculares de cada ligante foram obtidas em formato SMILES, e posteriormente convertidas para o formato .mol2 provenientes do banco de dados ZINC. Em seguida, os ligantes foram processados utilizando o software LigPrep, da Schrodinger. Para esse tratamento, foram aplicados os seguintes parâmetros: campo de Força: OPLS_2005, pH: $7 \pm 0,5$ e na geração possíveis tautômeros e estereoisômeros. Ao final do processo, um total de 202 ligantes foram gerados para compor este quarto banco de ligantes; e foram, então, utilizados nas etapas da docagem molecular na análise de similaridade molecular nos hits encontrados.

Tabela 3: Identificação dos ligantes constituinte de espécies de óleos essenciais utilizados no quarto banco de ligantes

	Espécie	Identificador	Referência
Controle positivo	<i>Hypericum perforatum</i>	Hperf1	(Chatzopoulou <i>et al.</i> , 2009)
		Hperf2	(DOGAN <i>et al.</i> , 2024)
		Hperf3	(Schwob; Bessière; Viano, 2002)
	<i>Lavandula angustifolia</i>	Laguns1	(UFSC, 2022)
		Laguns2	(Mijatovic <i>et al.</i> , 2022)
		Laguns3	(Bogdan <i>et al.</i> , 2020)
	<i>Citrus aurantium</i>	Citrus1	(UFSC, 2022)
		Citrus2	(VUKIĆ <i>et al.</i> , 2023)
		Citrus3	(Jiang <i>et al.</i> , 2011)
	<i>Melissa officinalis</i>	Melissa1	(POPOVA <i>et al.</i> , 2016)
		Melissa2	(Adinee; Piri; Karami, 2008)
		Melissa3	(COSGE; BILAL, 2009)
Controle negativo	<i>Callistemon viminalis</i>	Calliste1	(Fall <i>et al.</i> , 2017)
		Calliste2	(Oyedeji <i>et al.</i> , 2009)
		Calliste3	(SILVA, 2021)
	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Myracro1	(Oyedeji <i>et al.</i> , 2009)
		Myracro2	(Carvalho <i>et al.</i> , 2017)
		Myracro3	(Rebouças De Araújo <i>et al.</i> , 2017)

4.4 Modelagem de proteínas

Os receptores de serotonina (5HT2AR), vasopressina (V1AR), ocitocina (OXTR), dopamina (DRD3), glutamato (mGluR5) e endocanabinoide (CBN1) foram selecionados com base na revisão da literatura, e sua modelagem estrutural foi conduzida por meio de uma abordagem sistemática e detalhada. Inicialmente, as sequências canônicas de cada receptor foram obtidas no banco de dados UniProt, assegurando a utilização das sequências mais representativas e biologicamente

relevantes para cada um dos alvos estudados. Em seguida, foi realizado um alinhamento de sequências utilizando a ferramenta *BLAST protein*, com o objetivo de identificar os *templates* iniciais mais adequados com base em critérios de cobertura e identidade.

Após a identificação dos primeiros *templates*, foram isoladas as regiões críticas de cada receptor, especificamente a porção transmembrana, bem como as regiões de interação com agonistas PAM (*Positive Allosteric Modulator*) e antagonistas NAM (*Negative Allosteric Modulator*) como o caso abordado com o receptor do glutamato. Essas porções foram recortadas utilizando o software *PyMOL*, focando nas áreas de maior relevância funcional para a interação com os ligantes.

Para refinar o processo de modelagem, foi realizado um alinhamento múltiplo de sequências utilizando o *ClustalW*, permitindo comparar a conservação das regiões críticas entre os diferentes receptores. Esse alinhamento revelou que o receptor metabotrópico de glutamato 5 (mGluR5) possui a porção mais conservada e também o maior número de estruturas cristalográficas disponíveis no PDB em comparação com o receptor glutamato do tipo 1 e do tipo 2, indicando sua maior adequação como modelo estrutural.

Esses passos permitiram a seleção precisa dos *templates* mais adequados para cada receptor, levando em consideração a conservação das regiões de interesse e a disponibilidade de dados estruturais de alta resolução. A modelagem das proteínas foi então conduzida utilizando duas abordagens complementares: o MODELLER e o SWISS-MODEL. O MODELLER foi utilizado para gerar modelos tridimensionais das proteínas por homologia, construindo diversas conformações possíveis e permitindo a seleção do modelo com melhor energia de conformação e qualidade estrutural.

Para complementar, o SWISS-MODEL, uma plataforma de modelagem comparativa automatizada, foi empregada para gerar modelos adicionais, com foco em obter uma alta resolução estrutural e verificar a consistência dos resultados obtidos pelo MODELLER. Os *templates* foram selecionados com base em uma análise comparativa que considerou a melhor relação entre cobertura, identidade e resolução cristalográfica, assegurando que os modelos finais fossem não apenas específicos para os ligantes em estudo, mas também de alta qualidade estrutural.

Dentro das modelagens finais geradas pelo MODELLER e pelo SWISS-MODEL, foram escolhidas três melhores modelos ou três melhores poses para refletir as diferentes conformações estruturais baseadas nos *templates* dependentes do tipo de ligante (agonista/antagonista). Os modelos selecionados foram posteriormente validados utilizando métricas de qualidade, como o fator de Ramachandran, assegurando sua confiabilidade para as etapas subsequentes do estudo. Posteriormente, esses modelos foram utilizados nas etapas de triagem virtual e estudos de docagem molecular, com o objetivo de caracterizar detalhadamente as interações dos ligantes com os receptores estudados.

4.5 Setup de Triagem: Fase da Docagem Molecular

4.5.1 Configurações e Parâmetros

A triagem virtual dos bancos construídos para este trabalho, foi realizada utilizando o software AutoDock Vina 2.1.1 em todas suas etapas. A partir da estrutura cristalografada do receptor e do ligante cristalográfico disponíveis no PDB, foi determinado as coordenadas e o tamanho do *grid box* exclusivo para cada sistema, que consiste no receptor em sua forma agonista e antagonista.

Este *grid box* foi dimensionado e posicionado (Tabela 4) para incluir de maneira adequada os resíduos de contato entre o receptor e o ligante a 5 Å, assegurando uma docagem mais assertivo das possíveis interações. Como também foram determinados os parâmetros de busca que influenciam a qualidade e a profundidade da análise da docagem, tais como a exaustividade da busca global (*exhaustiveness*) igual a 128 (proporcional ao tempo de busca), número máximo de modos de ligação (*num_modes*) igual a 10 e a diferença máxima de energia (*energy_range*) igual a 4 kcal/mol (a faixa de energia dentro da qual os modos de ligação serão considerados e exibidos).

Tabela 4: Configurações de Grid para a Triagem Virtual nos alvos selecionados

4Alvo	Centro do <i>Grid</i>			Dimensões do <i>Grid</i>		
	x	y	z	x	y	z
5HT2AR	10.18	0.76	58.95	20	20	25

OXTR	-5.08	0.03	124.23	16	22	27
V1AR	141.90	121.86	103.01	27	21	23
DRD3	94.13	120.18	118.54	18	17	18
CB1R	101.96	144.14	132.89	29	20	19
mGluR5 ortostérico	-68.87	22.13	19.63	19	18	20
mGluR5 alostérico	194.83	200.52	252.37	15	17	23

A tabela apresenta as configurações de grid com centros e dimensões únicos, definidos para cada alvo em suas conformações agonista e antagonista, aplicadas em um único *grid*. Esse mesmo princípio foi replicado para os sítios ortostérico e alostérico do receptor mGluR5. O sítio ortostérico, localizado na porção extracelular, é o local de interação de agonistas e antagonistas que interagem diretamente o receptor. Em contraste, o sítio alostérico, situado na região intracelular, é onde os moduladores alostéricos positivos (PAMs) e negativos (NAMs) influenciam a atividade do receptor indiretamente. As unidades de medida para o centro do *grid* e suas dimensões são expressas em Ångströms (Å), onde 1 Å é equivalente a 0,1 nanômetro (nm).

4.5.2 Re-scoring e Avaliação de Poses

Após a construção de uma biblioteca contendo ligantes positivos, *decoys* e receptores, a primeira etapa da triagem virtual foi executada através do processo de docagem molecular. Essa fase inicial foi fundamental para gerar os rankings iniciais dos ligantes baseados em suas interações com os alvos proteicos.

A partir dos resultados dessa docagem, Curvas de Enriquecimento (EF) e Curvas de Características Operacionais (ROC) foram elaboradas utilizando as pontuações obtidas no *ranking* dos ligantes. Estas curvas foram específicas para a pontuação da melhor orientação, que corresponde ao primeiro colocado no *ranking*, e também para a média das três melhores pontuações para cada ligante nos alvos.

O processo de *re-scoring* utilizou-se um conjunto de cinco diferentes métodos, cada um baseado em uma filosofia de parametrização distinta, sendo : VINA (Eberhardt *et al.*, 2021) do AutoDock Vina; a função de pontuação CONVEX PL (Kadukova; Grudin, 2017); a função AD4 do AutoDock 4 (Huey *et al.*, 2007), DKOES (Koes; Baumgartner; Camacho, 2013) e VINARDO (Quiroga; Villarreal, 2016). Suas aplicações são apresentadas na tabela 5 a seguir:

Tabela 5: Comparação de funções de pontuação utilizadas para a Triagem Virtual

Função de Pontuação	Algoritmo Modelo	Características	Aplicação Comum	Referência
AD4 (AutoDock4)	Algoritmo genético Lamarckiano (LGA)	Semiempírico, baseado em forças de Van der Waals, ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas e desidratação. Penalidades aplicadas para ligações rotacionais desfavoráveis.	Amplamente usado em docagem molecular, especialmente para ligantes menores e menos flexíveis.	(Huey <i>et al.</i> , 2007)
Convex-PL	Modelos convexos	Utiliza algoritmos de otimização convexa (como gradiente descendente ou programação quadrática) para encontrar a configuração do ligante com a energia mais baixa.	Usado em métodos rápidos de otimização energética quando a precisão não é o fator principal.	(Kadukova ; Grudin, 2017)
Dkoes	Baseado em funções de pontuação empíricas e otimizado por regressão linear.	Avalia a energia livre de ligação com componentes como interações de van der Waals, forças eletrostáticas, dessolvatação e ligações de hidrogênio. Integra validação cruzada e seleção de características para melhorar a precisão preditiva.	Focado em prever a interação de ligantes com alvos biológicos.	(Koes; Baumgartner; Camacho, 2013)
Vina	AutoDock Vina	Combina mapas de afinidade pré-calculados para a proteína-alvo com um modelo simplificado de energia livre. Inclui termos como interações de van der Waals, eletrostáticas, hidrofobicidade e penalidades por torções do ligante.	Popular para docagem molecular de alta velocidade e precisão.	(Eberhardt <i>et al.</i> , 2021)
Vinardo	Variante do AutoDock Vina	Modificação do Vina, otimizando a função de pontuação com base em novos dados. Mais preciso que o Vina em várias situações de docagem molecular.	Usado em docagem molecular e previsão de afinidade de ligação.	(Quiroga; Villarreal, 2016)

A tabela compara diferentes funções de pontuação utilizadas neste trabalho, destacando seus algoritmos, principais características e aplicações comuns. Entre as funções, temos o AutoDock4 (AD4), Convex, DKOES, Vina e Vinardo. Cada uma oferece abordagens distintas para avaliar a interação entre ligantes e alvos biológicos, variando desde otimizações rápidas com modelos convexos até funções baseadas em conhecimento e simulação de energia, visando maior precisão em predições de afinidade de ligação.

4.6 Estratégias de Clusterização e Seleção de Hits

4.6.1 Algoritmo K-means e Seleção de Enantiômero

A continuação foram selecionadas as funções de pontuação mais eficazes a partir dos resultados da primeira docagem do primeiro banco (ligantes conhecidos

como positivos e seus respectivos *decoys*). Essa seleção foi baseada no desempenho de cada função de pontuação, avaliado por meio da análise do AUC (área sob a curva) ou da curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) e EF (*Enrichment factor*).

As funções selecionadas foram reaplicadas no processo resultante da docagem do segundo banco (óleos essenciais), considerando as melhores médias de poses (pose 1 ou 3) para cada sistema. A partir desses dados, foi construído um *input* único para o cálculo do *ranking* médio da afinidade das funções *scores*. Posteriormente, procedeu-se à etapa de agrupamento utilizando o método *K-means*, um algoritmo de aprendizado não supervisionado.

Este método foi empregado para a seleção dos hits mais promissores para cada receptor estudado. No *K-means*, os dados são agrupados de forma que cada ponto é atribuído ao cluster cujo centroide, a média aritmética de todos os pontos no cluster é o mais próximo em um ambiente n-dimensional onde os eixos correspondem a função score correspondente. Os centroides são recalculados iterativamente até que a estabilidade dos clusters seja alcançada, indicada pela ausência de mudanças significativas entre as iterações. Esse processo visa identificar os enantiômeros mais adequados com valores de afinidade de ligação similares, facilitando a seleção dos candidatos mais promissores para estudos subsequentes.

4.6.2 Similaridade Baseada no Coeficiente de Tanimoto e Clusterização por Hierarquia e determinação de cut-off

Para essa fase da análise, adotou-se o seguinte procedimento: inicialmente, extraiu-se o código SMILES de cada ligante selecionado na etapa anterior de triagem. Utilizando a biblioteca RDKit do Python, especificamente a função *RDKit Fingerprint*, foi possível converter cada SMILES em uma representação digital da estrutura molecular. Esses *fingerprints* foram então comparados entre si através da métrica de Tanimoto, uma abordagem eficaz para quantificar similaridades estruturais.

As similaridades obtidas foram organizadas e armazenadas em uma matriz resultante de tamanho 62 x 62. Logo em seguida, a técnica da Clusterização Hierárquica (CH) foi aplicada para agrupar dados dessa matriz contendo as medidas de similaridades calculadas por coeficiente de Tanimoto.

4.7 Relacionamento dos agrupamentos e seus efeitos

Amplamente utilizada em estudos de Triagem Virtual, as matrizes permitem estruturar os resultados da triagem de forma clara, associando cada ligante (ou grupo de ligantes) aos alvos moleculares estudados, facilitando uma visualização das interações e das afinidades entre os hits e os alvos .

Sendo assim, a fim de relacionar os clusters aos alvos moleculares estudados, com o objetivo de identificar tanto a afinidade quanto a especificidade de certos compostos em relação a esses alvos, foram construídas matrizes que quantificaram a similaridade ou proximidade entre os hits selecionados e agrupados pela clusterização hierárquica na etapa anterior. Essas matrizes permitiram representar, de forma quantitativa, como os diferentes hits podem interagir com os alvos moleculares analisados neste estudo.

4.7.1 Matriz de Afinidade do Cluster ao Alvo

Para a construção desta matriz, utilizou-se o número de ligantes (hits) promissores identificados para determinado alvo dentro de um cluster e o número total de ligantes que foram agrupados naquele cluster. A fórmula aplicada foi:

$$\text{Matriz de Afinidade} = \frac{\text{Número de ligantes promissores para o alvo}}{\text{Número total de ligantes no cluster}}$$

Essa matriz mede a afinidade do cluster para o alvo, ou seja, a fração de ligantes no cluster que se ligam ao alvo.

4.7.2 Matriz de Seletividade do Alvo aos Clusters

Esta matriz mede a seletividade do alvo em relação aos clusters, ou seja, quão específico um alvo é para os ligantes dentro de um cluster, utilizando a fórmula abaixo:

$$\text{Matriz de Seletividade 1} = \frac{\text{Número de ligantes que afetam o alvo e pertencem ao cluster}}{\text{Número total de ligantes que afetam o alvo}}$$

Essa matriz revela quanto o alvo é seletivo ao cluster, ou seja, a fração de ligantes que afetam o alvo e pertencem a um cluster específico.

4.7.3 Matriz de Seletividade do Cluster ao Alvo

Esta matriz mostra a fração de ligantes em cada cluster que são seletivos para um determinado alvo. Cada célula da matriz corresponde a um valor de seletividade calculado para aquele alvo e cluster. A fórmula aplicada foi:

$$\text{Matriz de Seletividade 2} = \frac{\text{Número de ligantes no cluster que afetam ao alvo}}{\text{Número total de ligantes no cluster}}$$

4.8 Métricas para Determinar a Similaridade Molecular

Após a construção do quarto banco de ligantes, contendo 202 compostos provenientes de óleos essenciais de seis espécies de plantas, foi realizado novamente a docagem molecular utilizando este banco contra os alvos moleculares estudados neste trabalho. Após a docagem, foi realizado o *re-scoring* utilizando as melhores funções de pontuação previamente identificadas, recalculando-se os valores de afinidade para cada ligante. Em seguida, a média dos valores de afinidade foi calculada para cada ligante em relação a cada alvo, chamado - o de *rank* médio. Esse *rank* reflete a classificação de cada ligante com base em sua afinidade com os alvos, ou seja, os ligantes com melhor afinidade ocupam os primeiros lugares desse *rank*.

Logo em seguida, foi realizado o levantamento das métricas de similaridade molecular visando uma otimização da análise de interações entre ligantes bem pontuados e agrupados e os alvos moleculares em estudo. A compreensão de como os constituintes presentes nos óleos essenciais de diferentes espécies de plantas (Ver Tabela 3) nos permitiu determinar a sua proximidade desses constituintes com os *hits* encontrados. Portanto, adotou-se as duas estratégias a seguir:

4.8.1 Baseada no Coeficiente de Tanimoto e Clusterização Fuzzy (BDSTFL)

O primeiro protocolo utilizado para determinar a similaridade molecular dos constituintes do quarto banco de ligantes foi baseado no algoritmo de Clusterização Fuzzy, também conhecido como *soft c-Means*, utilizando a similaridade de Tanimoto como métrica de distância. Este algoritmo é uma técnica de agrupamento de dados

que permite que um objeto pertença a mais de um grupo (ou cluster) com diferentes graus de associação, ou seja, baseia-se na atribuição de cada objeto a apenas um cluster, ao contrário da clusterização tradicional (como o *k-means*), que atribui cada objeto a um único cluster., conforme fundamentado na seção 3.6.2.

A lógica por trás da clusterização fuzzy está ligada à ideia de pertencimento parcial, ou seja, um objeto pode estar associado a vários clusters com diferentes pesos (ou graus de pertinência). O algoritmo calcula os centroides dos clusters e ajusta iterativamente os graus de pertencimento de cada ligante com base na distância (similaridade) em relação aos centroides. Ao final do processo iterativo, foi construída a Matriz de Pertencimento, que registra os graus de pertencimento de cada ligante aos diferentes clusters.

Esses valores indicam a probabilidade de um ligante pertencer a um cluster específico, de 0 a 1, levando em consideração sua similaridade molecular e o *rank* médio obtido após a docagem submetidos ao cálculo de coeficiente de Tanimoto, resultando na construção de uma Clusterização hierárquica (BDSTFL) ou simplesmente Matriz de Pertencimento.

4.8.2 Baseada na Distância Euclidiana e Descritores Químicos (EPNMCS)

Como segunda estratégia para determinar a similaridade entre os ligantes do quarto banco de dados, aplicou-se a abordagem baseada em descritores moleculares normalizados e no cálculo da distância euclidiana, conforme descrito na seção 3.7.

Os descritores foram obtidos a partir dos SMILES dos ligantes utilizando o pacote RDKit, incluindo propriedades como massa molecular, logP, área superficial polar e número de doadores e receptores de ligações de hidrogênio, por exemplo.

Cada ligante foi representado como um vetor em um espaço multidimensional, e a distância euclidiana foi calculada entre todos os pares de compostos. Os valores obtidos foram normalizados por *z-score* e posteriormente transformados em Proximidade Cartesiana, de forma que valores mais altos representassem maior similaridade molecular. Essa matriz final de proximidade foi utilizada para análises comparativas e complementares à clusterização, auxiliando na priorização de compostos.

4.9 Predição da ação dos óleos essenciais nos alvos do TEA

As seguintes métricas foram realizadas para prever a afinidade e especificidade dos constituintes do quarto banco de ligantes com os alvos proteicos aqui estudados, a partir das matrizes construídas:

- BDSTFL Matrix x Matriz de Seletividade do Alvo aos Clusters
- BDSTFL Matrix x Matriz de Seletividade do Cluster ao Alvo
- BDSTFL Matrix x Matriz de Afinidade Cluster-Alvo
- EPNMCS Matrix x Matriz de Seletividade do Alvo aos Clusters
- EPNMCS Matrix x Matriz de Seletividade do Cluster ao Alvo
- EPNMCS Matrix x Matriz de Afinidade Cluster-Alvo

4.9.1 Análise Estatística

Para validar a predição da influência dos constituintes do quarto banco de ligantes sobre os alvos moleculares, seguimos um fluxo lógico de análise estatística e visualização de dados.

Primeiramente, foi realizada a correlação de Pearson no qual foi calculada entre os valores de predição, obtidos a partir das seis métricas geradas na seção anterior, e as médias dos ranqueamentos de pontuação dos constituintes deste banco de ligantes para cada alvo, obtidos através da docagem molecular utilizando as funções de pontuação selecionadas; ou seja, cada uma das seis correlações resultaram das diferentes combinações de matrizes, como parte do processo de avaliação das métricas preditivas de interação molecular, com a finalidade de identificar a força e a direção da relação linear entre essas variáveis.

Após a correlação, os valores preditos foram categorizados em intervalos de 0,1 (por exemplo, 0,0 a 0,1, 0,1 a 0,2, etc.). Essa categorização permitiu uma análise comparativa mais detalhada entre as diferentes classes de valores preditos, facilitando a identificação de possíveis padrões ou variações entre elas. Com os dados

categorizados, foi aplicada uma análise de variância (ANOVA), que serviu para verificar se dentro de cada categoria apresentavam diferenças estatisticamente significativas, ou seja, na comparação múltipla de médias sob o nível de significância $\alpha=0.05$.

Após, aplicou-se o teste post-hoc de *Tukey* para realizar essas comparações múltiplas entre as categorias identificadas anteriormente pela ANOVA. Por último, foi realizada uma modelagem de regressão linear para investigar a capacidade preditiva das métricas geradas pela multiplicação das matrizes.

4.10 Software e Ferramentas Computacionais

Para a realização das análises e processamento deste trabalho, utilizamos Python como a principal linguagem de programação, combinada com pacotes especializados, como *Pandas* e *NumPy* para manipulação de dados, e *Seaborn* e *Matplotlib* para a criação dos gráficos. Essas ferramentas foram essenciais na organização dos dados e na geração das visualizações dos resultados obtidos nas análises de similaridade molecular.

Além disso, integramos um software elaborado pelo grupo de pesquisa e em fase de otimização, disponível no GitHub, ChemToolKit. Embora ainda esteja sendo aperfeiçoado, o software mostrou-se bastante útil na execução das análises quimioinformáticas relacionadas no *re-scoring* das funções de pontuações e na clusterização hierárquica aplicada na seleção dos hits.

Todo o processamento foi realizado em uma *workstation* de alta performance, localizada no Departamento de Computação da Universidade Federal de Minas Gerais, que é equipada com uma GPU NVIDIA A100, especificamente projetada para acelerar pesquisas científicas. A máquina também possui um processador Threadripper 5995WX com 64 núcleos, 768 GB de RAM, e 2 TB de SSDs Samsung 990 Pro para armazenamento rápido e robusto.

Esse equipamento foi fundamental para lidar com grandes volumes de dados e garantir que as análises fossem realizadas de maneira eficiente e em menor tempo, especialmente na docagem molecular, onde a demanda por processamento paralelo é elevada. Essa combinação de ferramentas e infraestrutura permitiu que o estudo

fosse conduzido com alta precisão, essencial para a obtenção dos resultados complexos que o projeto exigia.

5 RESULTADOS

O protocolo deste estudo foi elaborado seguindo a metodologia descrita de Corrêa et al. (2023), que propõe um robusto protocolo de quimioinformática, utilizando Triagem Virtual e aprendizado de máquina. O processo abrangeu desde a preparação dos alvos e caracterização dos sítios de ligação até a criação de uma biblioteca personalizada de ligantes. A docagem molecular e o *rescoring* de diversas funções de pontuação, permitiu a classificação dos melhores ligantes (hits), o que, por sua vez, possibilitou a obtenção das assinaturas químicas mais relevantes. O fluxograma da Figura 5 e Figura 6 demonstram as etapas envolvidas.

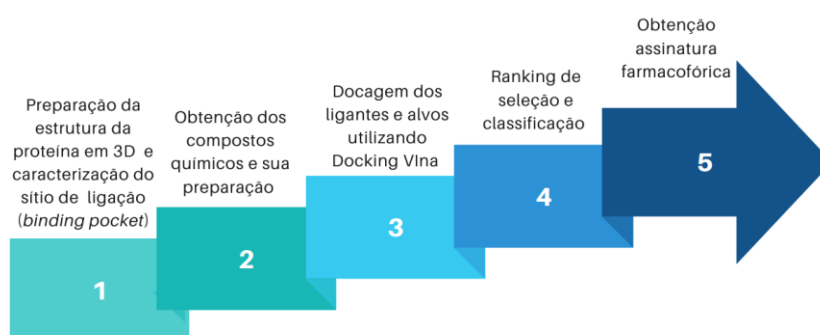


Figura 6: Diagramação do fluxo do trabalho que foi realizado com base no artigo já publicado (Corrêa et al., 2023).

5.1 Número de citações por espécie de planta

A partir do levantamento na identificação de quais espécies de plantas, alinhado ao contexto do uso de seus óleos essenciais e seus potenciais aplicações na modulação comportamental humano, especialmente em contextos relacionados ao TEA, abrangeu um total de 13 artigos.

O gráfico da Figura 7 exhibe a frequência de citações para cada espécie de planta encontrada na revisão na literatura inicialmente. O número de vezes que cada espécie foi citada reflete seu papel e prevalência nos estudos analisados na seção de “Materiais e Métodos” de cada artigo.

Espécies como *Hypericum perforatum*, *Lavandula angustifolia* e *Melissa officinalis* lideram em citações, destacando-se como possíveis espécies de interesse significativo na pesquisa. Essa distribuição de citações oferece uma visão valiosa sobre quais plantas são frequentemente ligadas a tais contextos.

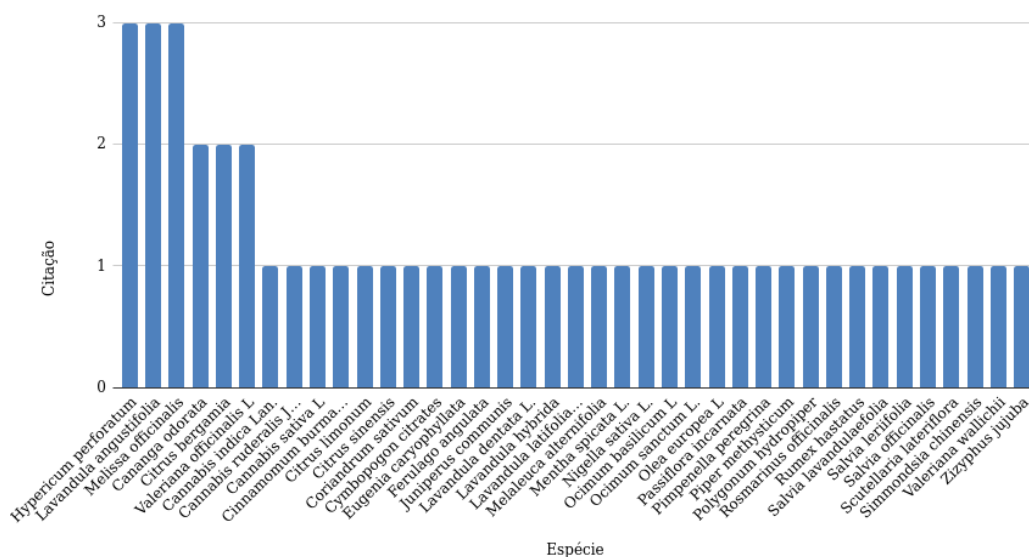


Figura 7: Frequência de citações por espécie de planta. Levantamento da frequência de citações por espécie de planta mencionada nos artigos analisados. Pesquisa feita em abril de 2022.

5.2 Resultados da Seleção de Alvos

A abordagem "BiSLR" aplicada à construção de uma Revisão Sistemática da Literatura (SLR) em bioinformática foi implementada de forma iterativa, repetindo-se os passos até que os dados alcançassem os objetivos da SLR. Esse método, descrito como um ciclo em espiral na Figura 1 do modelo BiSLR, permitiu revisões contínuas e aprimoramentos no processo de pesquisa, melhorando a precisão e a abrangência dos resultados. As análises resultaram na identificação de várias famílias de proteínas potencialmente relevantes, como neurosinalizadores (receptores acoplados à proteína G), imunológicas (citocinas) e relacionadas à ligação sináptica (neurofisina), entre outras.

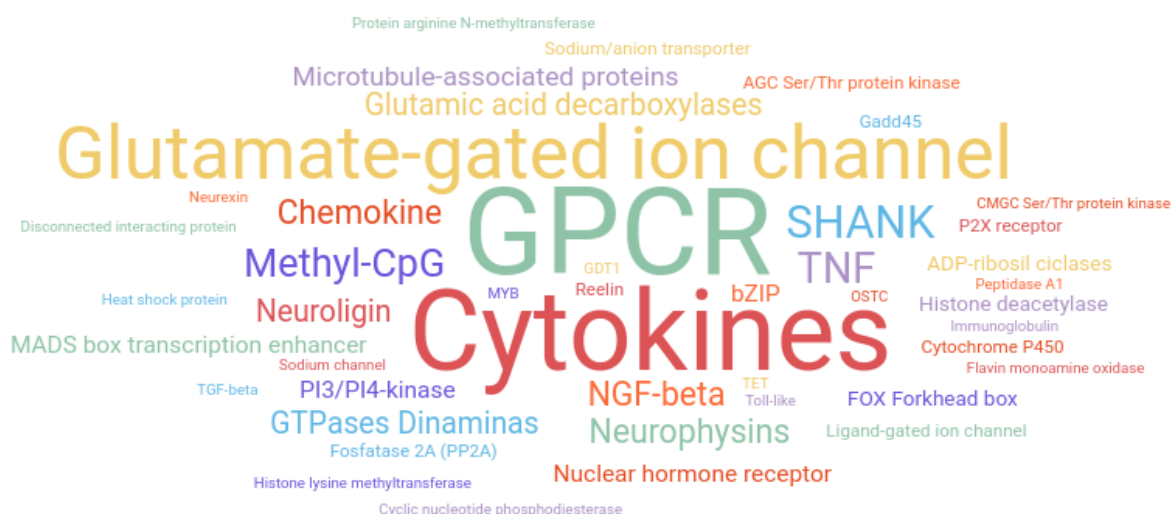


Figura 8: Distribuição das principais famílias de proteínas na revisão da literatura aplicada. Panorama das famílias de proteínas mais citadas em estudos de bioinformática relacionados ao TEA. Destacam-se grupos como Receptores acoplados a proteínas G (GPCR), citocinas e canais iônicos ativados por glutamato, que são cruciais em diversas funções biológicas e patologias. A variação no tamanho das palavras reflete a frequência de citações das respectivas famílias, indicando sua relevância e prevalência nos estudos analisados. A distribuição oferece uma visão clara de possíveis alvos em potencial para futuras investigações na modulação comportamental e respostas imunológicas no contexto do TEA.

No total, 77 famílias de proteínas foram identificadas em 121 artigos, acumulando 217 citações organizadas em grupos representativos conforme a frequência de citações. As 45 famílias mais citadas estão destacadas na Figura 8, onde nos permitiu identificar as três principais famílias de alvos atuantes em aspectos da modulação comportamental associada ao TEA: vertente imunológica (incluindo citocinas, TNF, *Chemokine*, *Immunoglobulin*, TGF-beta, Toll-like) acumulando 47 citações; Receptores Acoplados a Proteínas G (GPCRs) na sinalização celular com 33 citações; e canais iônicos ativados por glutamato na função sináptica com 11 vezes.

A partir do contexto da frequência de citações de família de proteínas podem ser promissoras para o estudo como alvo deste trabalho, foi escolhido a família das GPCRs. Sabe-se que esta família possui um grupo extenso e diversificado de proteínas receptoras que desempenham papéis críticos em muitos processos fisiológicos, incluindo a percepção sensorial, o crescimento celular e o comportamento metabólico, entre outros.

Sendo assim, a partir da revisão na literatura realizada (Figura 10), foram escolhidos pelas citações os seguintes receptores que surgiram nesta revisão: Receptor 5HT2A de Serotonina (5H2ATR), Receptor de Ocitocina (OXTR), Receptor 1A de Vasopressina (V1AR), Receptor D3 de Dopamina (DRD3), Receptor Canabinoide 1 (CB1R), Receptor Metabotrópico de Glutamato 5 (mGluR5).

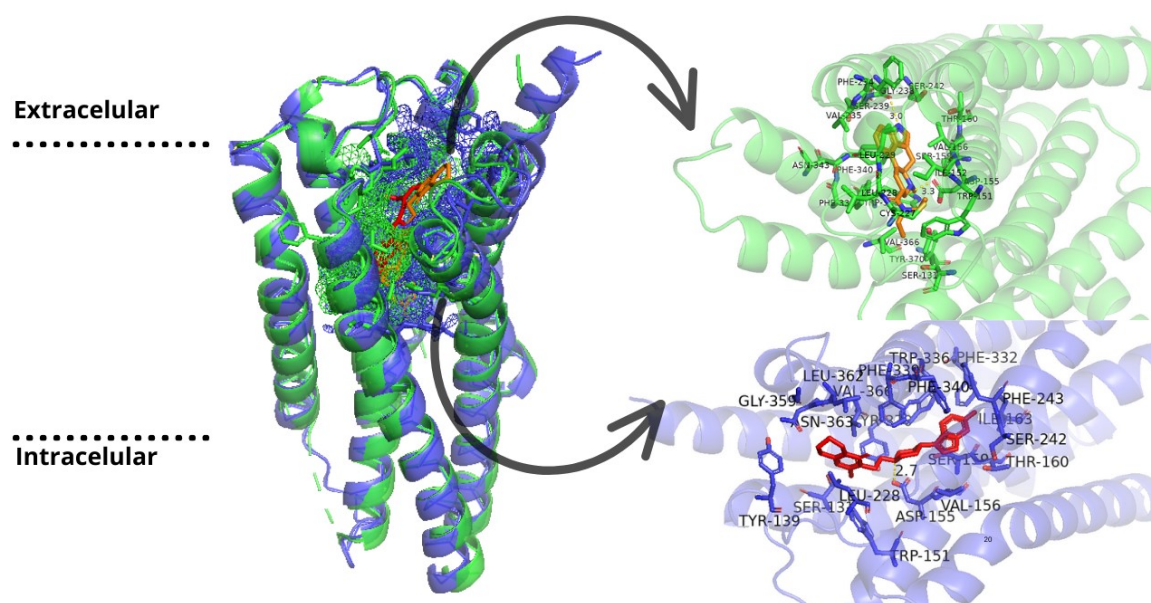


Figura 9: Comparação das Conformações Agonista e Antagonista de um Receptor Acoplado à Proteína G (GPCR). A figura mostra a análise estrutural comparativa de um GPCR nas conformações agonista e antagonista, neste caso, o receptor da serotonina 5HT2AR. A conformação agonista, representada em verde, corresponde ao PDB ID 7WC6 e está associada ao ligante LSD, indicando uma ativação do receptor. Em contraste, a conformação antagonista é mostrada em azul,

correspondente ao PDB ID 6A93, com o ligante risperidona, que inibe a ativação do receptor. Os resíduos envolvidos nas interações com os ligantes são destacados e rotulados em cada conformação.

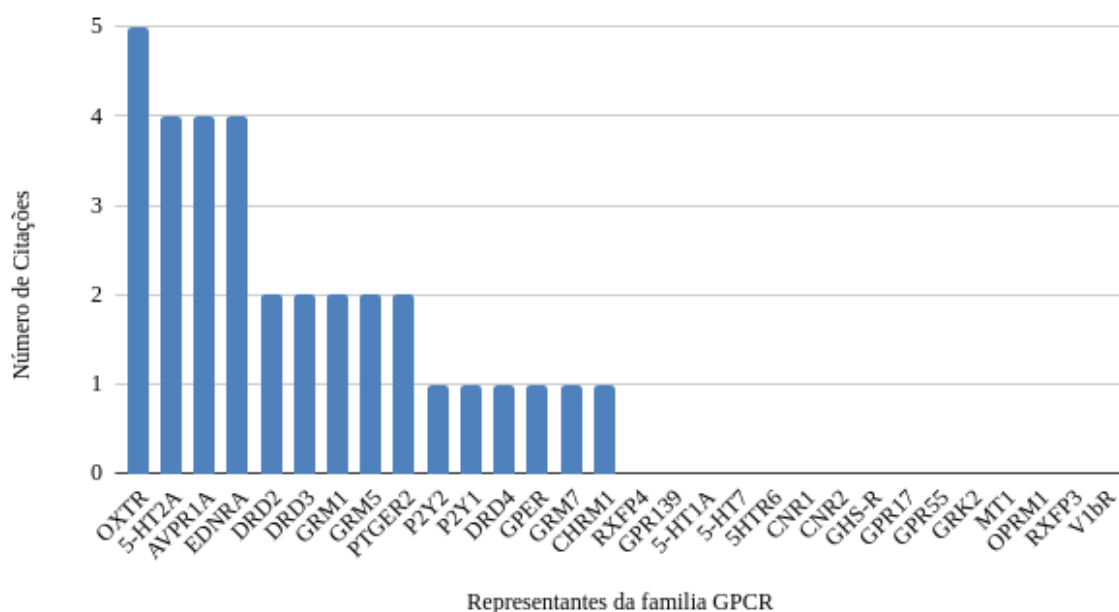


Figura 10: Gráfico sobre frequência de citações dentro da família dos receptores GPCR. O gráfico destaca a frequência de citações para diversos representantes da família GPCR na revisão da literatura. Receptores como o de Ocitocina (OXTR) e 5HT2A de Serotonina (5-HT2AR) lideram como os mais citados, refletindo seu potencial relevância em estudos neurológicos e comportamentais do TEA. Além dos líderes em citações, receptores como o Receptor 1A de Vasopressina (V1AR), Receptor D3 de Dopamina (DRD3), Receptor Canabinoide 1 (CB1R) e o Receptor Metabotrópico de Glutamato 5 (mGluR5) também recebem atenção significativa. Estes receptores estão associados a funções como regulação do humor, resposta ao estresse, processos cognitivos indicando um interesse contínuo em suas funções e mecanismos.

5.3 Resultados da Triagem Virtual da base de compostos de ligantes de controle positivos e seus *decoys* nos alvos anti-TEA selecionados

A seleção da função de pontuação mais eficaz foi fundamentada na análise detalhada das Curvas de Características Operacionais do Receptor (ROC) e das Curvas de Enriquecimento (EF), como podemos ver na Figura 11. Estas curvas foram geradas para cada pose, considerando dois cenários diferentes: a melhor pose isolada de cada ligante (Pose Média 1), e a média das três melhores poses (Pose Média 3).

Ainda na figura 11, podemos visualizar a análise dessas curvas ROC que destacam a pronta capacidade de discriminação dos ligantes ativos logo no início da triagem, enfatizada pela rápida ascensão da taxa de verdadeiros positivos (eixo Y) contra uma pequena fração da base examinada (eixo X). Já para o Fator de

Enriquecimento (EF) é destacado, representando a porcentagem de acertos positivos verdadeiros encontrados dentro de uma porcentagem específica do topo da biblioteca.

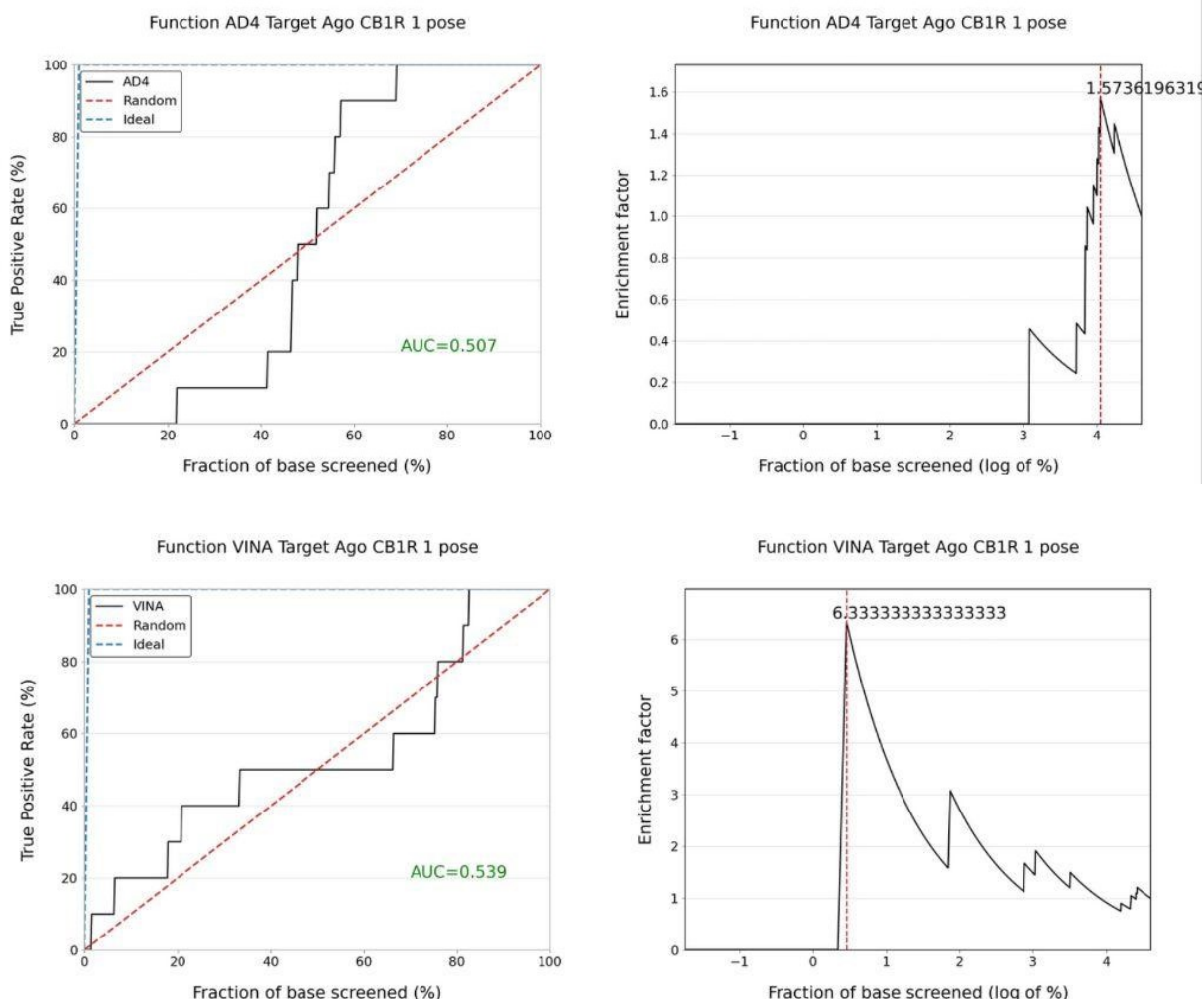


Figura 11: Análise comparativa das funções de pontuação através de curvas ROC e EF para o receptor CB1R na configuração agonista. Foram construídas curvas ROC e EF para cinco funções de pontuação distintas (VINA, CONVEX, AD4, DKOES, VINARDO) a fim de avaliar a capacidade do algoritmo de discriminar os ligantes ativos contra inativos e o enriquecimento relativo de ligantes ativos, respectivamente. Na figura é apresentado apenas a função VINA e AD4 para o receptor CB1R na configuração agonista usando uma única pose para ressaltar a diferença da melhor função *score*, VINA, em comparação do pior, AD4, no que se trata na pronta recuperação de ligantes positivos no início da triagem para esta conformação em específico.

Sendo assim, as estratégias aqui empregadas, nos permite mensurar a capacidade de recuperação após 1% da base ser escaneada. A Tabela 6 apresenta um resumo das melhores funções de pontuação mais eficazes para cada receptor GPCR de acordo com a sua conformação, com base nos resultados desta etapa de triagem virtual. As funções de *scoring* que se destacaram em termos de precisão e

especificidade para cada configuração do receptor são listadas na coluna 'Melhores Funções de Scores'. A 'Melhor Pose' revela se a pose ideal foi identificada através da média da primeira pose (pose 1) ou através da média das três melhores poses (pose 3), fornecendo a eficiência e a confiabilidade de cada função de pontuação será utilizada para a próxima etapa.

Tabela 6: Avaliação da eficiência das funções de pontuação na recuperação de ligantes positivos para receptores GPCR nas suas diversas conformações

Alvo	Conformação	Melhores funções scores	Melhor Pose
5HT2AR	Agonista	AD4, Dkoes, Vinardo	1
5HT2AR	Antagonista	Convex	1
OXTR	Agonista	Vina	1
OXTR	Antagonista	AD4, Convex	1
V1AR	Agonista	Dkoes, Vina, Vinardo	3
V1AR	Antagonista	AD4, Vina	3
DRD3	Agonista	Convex, Vina, Vinardo	3
DRD3	Antagonista	Convex, Vinardo	3
CB1R	Agonista	Convex, Vina	1
CB1R	Antagonista	Dkoes, Vina, Vinardo	1
mGluR5	Agonista	Dkoes, Vinardo	3
mGluR5	Antagonista	Convex, Vina, Vinardo	1
mGluR5	PAM	AD4, Vina, Vinardo	1
mGluR5	NAM	AD4, Vina, Vinardo	3

5.4 Resultados da Triagem Virtual da base de compostos de óleos essenciais nos alvos anti-TEA selecionados

Utilizando os mesmos parâmetros de preparação para a docagem, que foram aplicados tanto aos ligantes positivos quanto aos seus *decoys*, o processo de docagem molecular dos óleos essenciais foi realizado conforme descrito na Seção 3.5.1. Para a análise dos dados, empregou-se o método *K-means* com o objetivo de agrupar os ligantes com base no valor de ligação de afinidade. Esse método facilitou a seleção dos enantiômeros mais promissores, permitindo a identificação preliminar de uma assinatura farmacofórica potencial.

O script utilizado para a utilização do algoritmo *K-means* organizou os dados em clusters baseados em características de ligação de afinidade similares, onde cada cluster foi definido por um centroide, correspondente à média aritmética de todos os pontos dentro do cluster, como descrito na seção 4.6.1. Os ligantes foram atribuídos ao cluster cujo centroide era o mais próximo, e os centroides foram recalculados

iterativamente. Esse processo continuou até que a configuração dos clusters se estabilizasse, indicando uma agrupação consistente e confiável dos dados obtendo entre 8 a 12 ligantes para cada alvo, como mostrado na Figura 12.

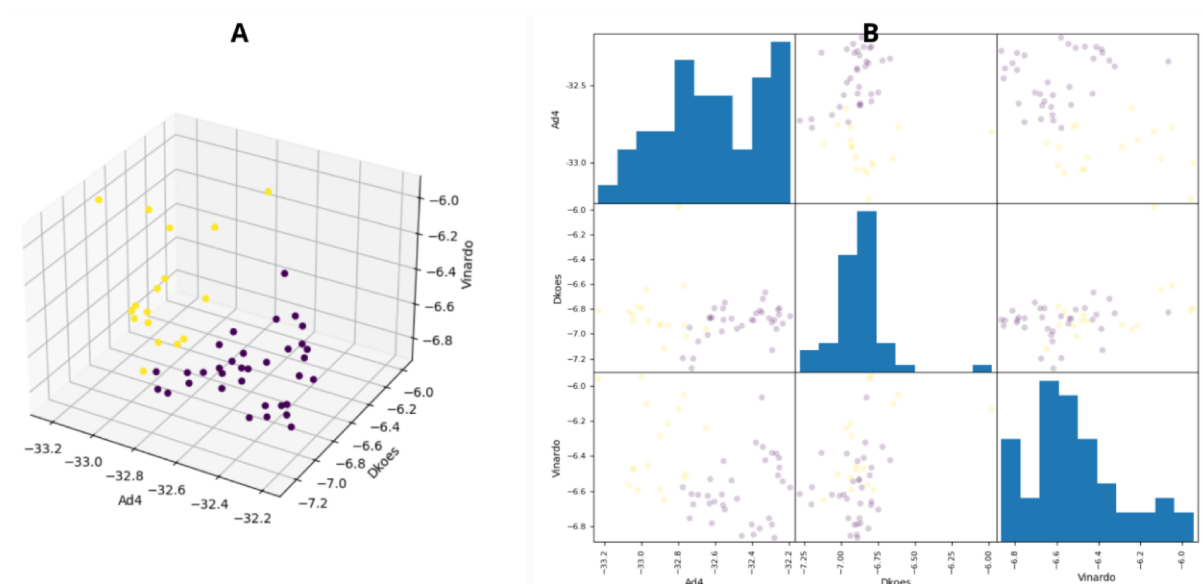


Figura 12: Agrupamento de ligantes de óleos essenciais baseado em pontuações de docagem por função de *scoring*. Representação para o sistema 5HT2AR na conformação agonista. Em A: Visualização tridimensional das pontuações de docagem para ligantes de óleos essenciais, usando as funções de *scoring* AD4, Dkoes e Vinardo. Cada ponto representa a pontuação de energia de um ligante específico. Em B: Análise detalhada do agrupamento em forma de histogramas e diagramas de dispersão. Os histogramas mostram a distribuição das pontuações para cada função de *scoring*, enquanto os diagramas de dispersão abaixo de cada histograma ilustram a correlação das pontuações entre as funções AD4 e Dkoes, e entre Dkoes e Vinardo, respectivamente. Esta representação nos auxilia na comparação direta das tendências e variações nas pontuações da docagem obtidas pelas diferentes funções de *scoring*.

A partir do resultado da etapa anterior, 62 ligantes em total foram selecionados com as melhores pontuações para todos os alvos estudados. Em seguida, aplicou-se a clusterização hierárquica para agrupar os ligantes com base em sua semelhança estrutural química a partir de um número adequado de clusters (Figura 13). Esse processo foi essencial na identificação de padrões e na organização dos ligantes em grupos com propriedades químicas similares.

Como podemos visualizar, a Figura 13, tanto a parte A e parte B, mostram como os clusters variam com diferentes valores de *cut-off*, onde valores menores aumentam o número de *clusters* ao separar ligantes de forma mais detalhada; enquanto valores

maiores reduzem o número de *clusters*, combinando ligantes mais diversos. A primeira clusterização realizada (Figura 13, parte A), foram identificados 11 clusters, nomeados na ordem alfabética de A até K (Figura 14). No entanto, apenas o cluster B apresentou maior diversidade de ligantes, o que levou à sua subdivisão, resultando em 16 subgrupos, nomeados de B1 a B6 (Figura 14), resultando em 26 clusters em total. A escolha do *cut-off* ideal, foi baseada no método *Elbow*, que identifica a mudança significativa na curva e o ponto ideal de equilíbrio entre especificidade e diversidade dos dados apontando a formação ideal dos agrupamentos como mostrado na Figura 13.

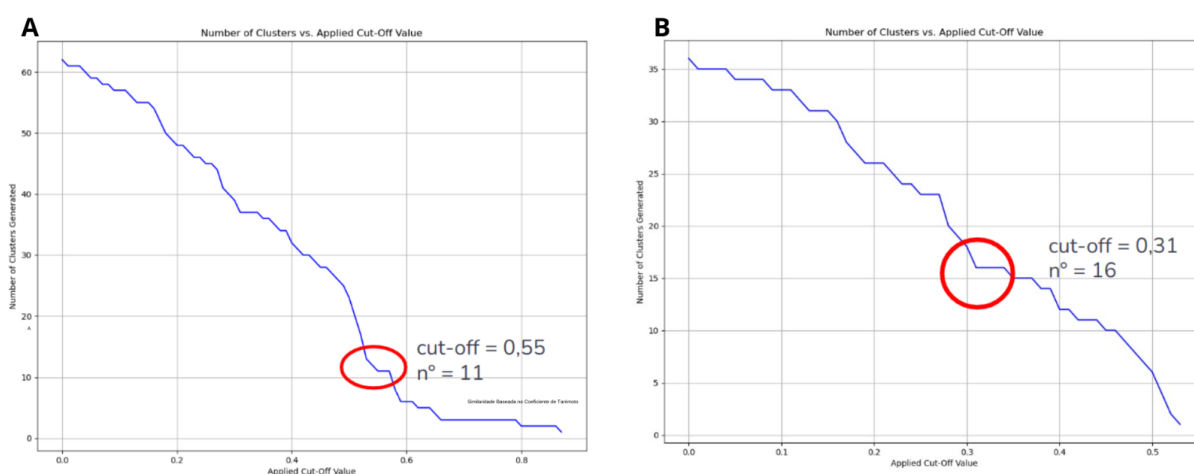


Figura 13: Análise de clusterização hierárquica dos ligantes por diferentes valores de *cut-off*. O gráfico A ilustra a primeira tentativa de clusterização hierárquica, onde um valor de *cut-off* de 0,55 resultou em 11 clusters. Esse ponto foi identificado como um possível equilíbrio inicial entre a separação e a similaridade dos ligantes. Já o gráfico B mostra o refinamento da clusterização, com um *cut-off* de 0,31 gerando 16 clusters, permitindo uma separação mais precisa entre os ligantes, alcançando assim uma divisão mais detalhada dentro do cluster B.

5.5 Exploração de Relações dos clusters com seus efeitos nos alvos

Na Figura 15, ilustram as matrizes construídas para avaliar a probabilidade e especificidade entre os constituintes de óleos essenciais e seus efeitos em diferentes alvos moleculares, a fim de identificar padrões mais notórios de como estes hits interagem com os alvos. Estes foram: Matriz de Direcionamento ou Afinidade (Figura 15 - A), Matriz de Seletividade do alvo aos clusters (Figura 15 - B), e Matriz de Seletividade o cluster ao alvo (Figura 15 - C).

Na Matriz A (Afinidade), a leitura se baseia em valores próximos de 1 (em azul mais escuro), que indicam uma alta afinidade do cluster pelo alvo. Em outras palavras, quanto maior o valor, maior o percentual de ligantes daquele cluster que se mostrou eficaz na interação com o alvo. Por exemplo, no caso do alvo CB1R antagonista, o valor da fração de 0,75 indica que 75% dos ligantes agrupados no cluster A demonstraram afinidade para esse alvo, ou seja, 75% dos ligantes no cluster A interagiram com o CB1R antagonista.

Na Matriz B (Seletividade do Alvo aos Clusters), o foco está na fração de ligantes que afetam o alvo e pertencem a um determinado cluster. Quanto maior o valor indicado na célula da matriz, maior a especificidade do alvo para os ligantes daquele cluster. Tomando o exemplo do CB1R antagonista, 3 hits do cluster A foram identificados como promissores para esse alvo específico.

Considerando que o cluster A afeta 9 alvos no total, como mostrado no Gráfico Polar (Figura 20), podemos afirmar que a seletividade do alvo CB1R antagonista para o cluster A é de fração 0,33 (ou 33%), ou seja, 33% dos ligantes que afetam o cluster A estão relacionados ao CB1R antagonista.

Por último, na Matriz C (Seletividade do Cluster ao Alvo), o conceito é o inverso da Matriz B. Essa matriz reflete quão seletiva um cluster é em relação a um alvo específico. Ela apresenta a proporção de ligantes em cada cluster que se ligam a um determinado alvo, ou seja, quantos ligantes de um cluster estão focados em um alvo específico em relação ao total de ligantes daquele cluster. A seletividade é, portanto, medida pela fração de ligantes do cluster que se ligam ao alvo, comparada ao número total de ligantes no cluster.

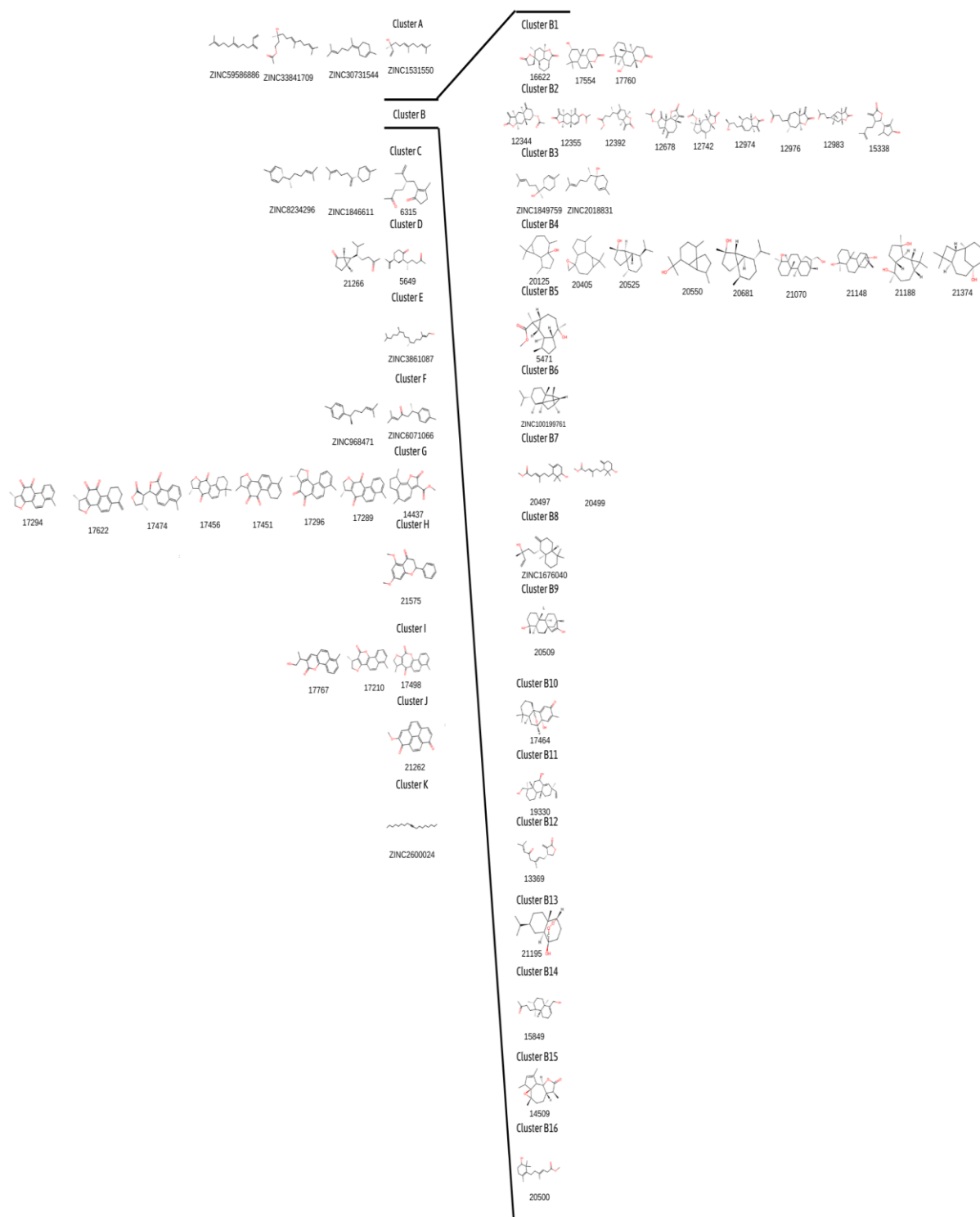


Figura 14: Agrupamento final de ligantes com alta pontuação na docagem molecular com óleos essenciais baseado na similaridade estrutural. A figura apresenta o dendrograma resultante da clusterização hierárquica aplicada aos ligantes com alta pontuação no docagem molecular. Os ligantes foram agrupados com base em suas assinaturas químicas, utilizando a métrica de similaridade de Tanimoto. Cada cluster representa um conjunto de ligantes com estruturas químicas similares, facilitando a identificação de padrões estruturais comuns entre os compostos.

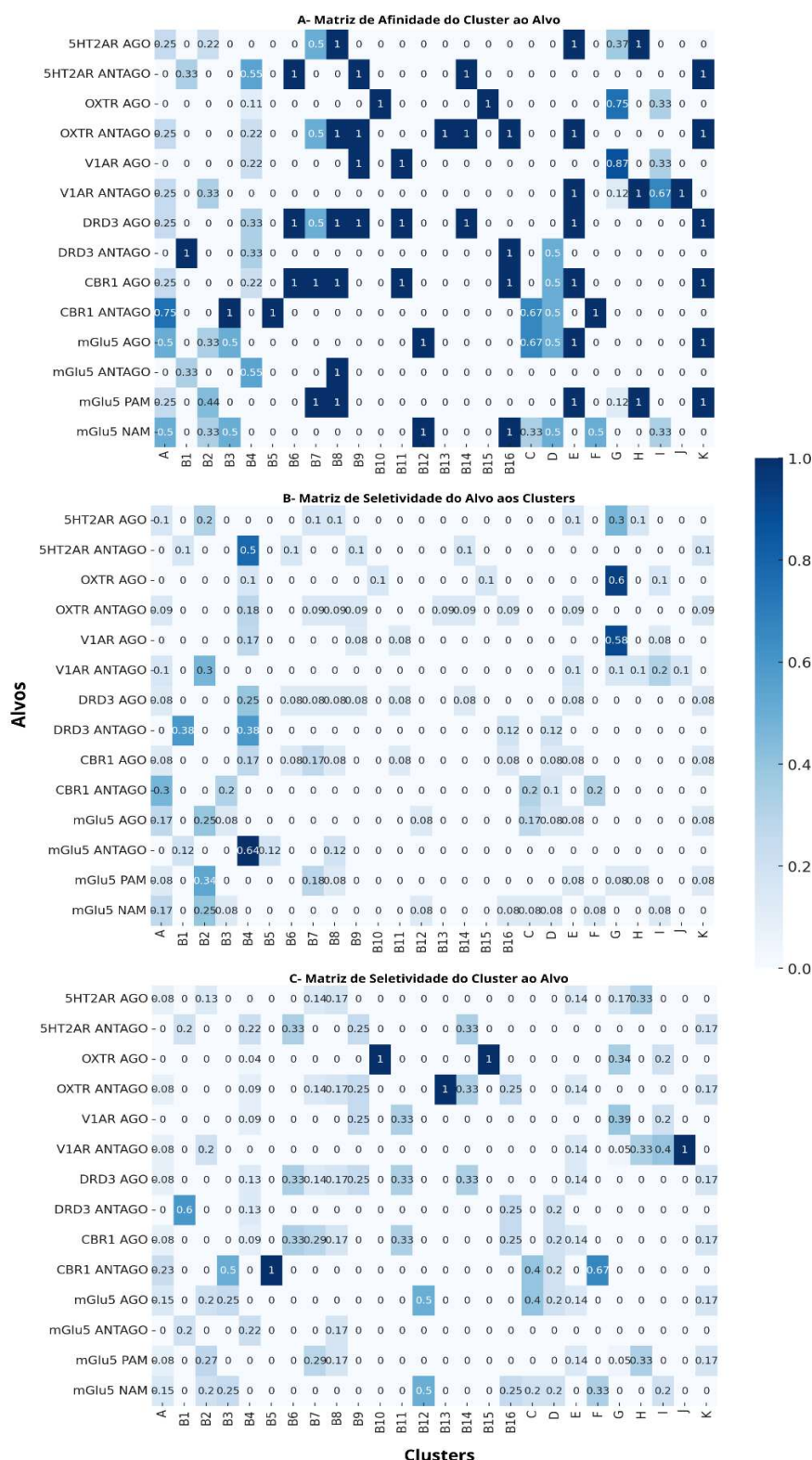


Figura 15: Relacionamento dos clusters e seus efeitos. Utilização de matrizes para ilustrar a probabilidade e especificidade de interação entre diferentes clusters de ligantes e alvos moleculares específicos. O mapa visual facilita a identificação de interações mais fortes (azul escuro) e interações menos significativas (branco ou azul claro), destacando possíveis forças da afinidade ou seletividade entre os ligantes e os alvos.

5.6 Predição da ação dos óleos essenciais nos alvos relacionados ao TEA

Nesta seção, como resultado da Seção 4.9, avaliamos o potencial de interação dos compostos presentes nos óleos essenciais de seis espécies vegetais (descritas na Seção 4.8 de Materiais e Métodos) com alvos moleculares selecionados e associados ao TEA. Para isso, foram aplicadas duas métricas principais aplicadas neste trabalho: BDSTFL (Baseada no Coeficiente de Tanimoto e Clusterização Fuzzy) e EPNMCS (Baseada na Distância Euclidiana e Descritores Químicos). Essas métricas permitiram avaliar, de forma detalhada e complementar, aspectos de afinidade e a seletividade dos compostos frente aos alvos moleculares selecionados.

Nas figuras 16 e 17, podemos visualizar a construção dos gráficos de barras baseados na métricas BDSTFL (*plot* 1 ao 3) e EPNMCS (*plot* 4 ao 6), nas quais foram os resultados das multiplicações de cada métrica com cada uma das três matrizes geradas no Resultado 5.4.: BDSTFL ou EPNMCS x seletividade do alvo em relação ao cluster (letra A), BDSTFL ou EPNMCS x seletividade do cluster em relação ao alvo (letra C) e a BDSTFL ou EPNMCS x afinidade do cluster em relação ao alvo (letra E), respectivamente para cada figura. Esses gráficos possibilitam a comparação das classificações médias (*ranks*) dos compostos de acordo com seu desempenho na docagem molecular.

Após o cálculo das classificações médias, foi realizada uma Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste post-hoc de *Tukey*, que foram fundamentais para identificar diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de compostos. Esses métodos permitiram uma categorização clara dos compostos, destacando as diferenças entre eles. Com base no Teste de *Tukey*, observamos que os compostos marcados exclusivamente com única letra, por exemplo, letra "a"; apresentaram uma classificação significativamente melhor (menor *rank* médio), sugerindo uma maior afinidade e/ou seletividade para os compostos avaliados. Em contraste, compostos que compartilham letras, como "bcd" ou "efgh", indicam que não houve diferenças significativas entre eles ($p < 0,05$), destacando a homogeneidade de suas classificações.

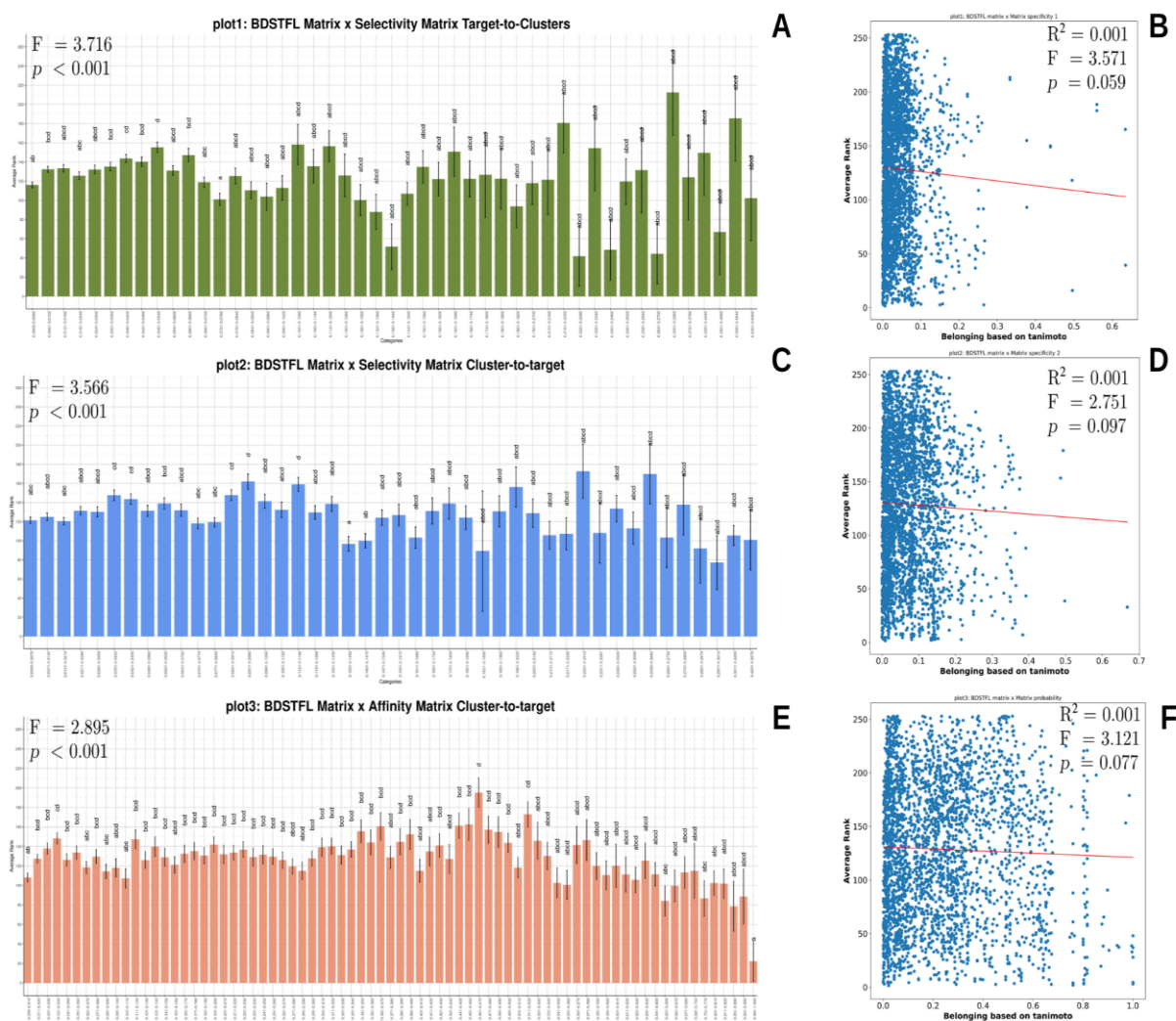


Figura 16: Avaliação das matrizes de seletividade e afinidade utilizando a métrica BDSTFL. A figura apresenta três gráficos de barras (*plot 1* ou *A*, *2* ou *C* e *3* ou *E*) que comparam as classificações do ranqueamento médio da docagem molecular (*Average rank*) baseadas na métrica BDSTFL (baseada no coeficiente de Tanimoto e clusterização fuzzy) e suas matrizes de seletividade e de afinidade. O *plot 1* mostra a relação entre a Matriz de Seletividade (*Target-to-Clusters*), enquanto o *plot 2* se concentra na Matriz de Seletividade (*Cluster-to-Target*), e o *plot 3* analisa a Matriz de Afinidade (*Cluster-to-Target*). As letras sobre as barras indicam os grupos que não apresentaram diferenças significativas de acordo com o teste post-hoc de *Tukey*. Ao lado dos gráficos de barras, os gráficos de correlação (*B*, *D* e *F*) correlacionam o grau de pertencimento dos compostos, baseado no coeficiente de Tanimoto, com o ranqueamento médio. Os valores de R^2 , F e p indicam os resultados das análises de regressão para cada *plot*.

Entre os gráficos apresentados na Figura 16, o *plot 3* (em vermelho), referente à multiplicação da métrica BDSTFL com a matriz de afinidade (*Cluster-to-Target*), destacou-se por apresentar um grupo de compostos classificados exclusivamente com a letra “a”. Essa categorização exclusiva sugere que tais compostos dessa classificação exibem *rank*s médios de afinidade significativamente melhores (ou seja,

menores), indicando uma interação mais favorável com os alvos moleculares. A ausência de sobreposição com outras categorias reforça o caráter distintivo desse grupo. Esses compostos correspondem a aproximadamente 8% do total analisado (resultado do cálculo: número de compostos na barra “a” dividido por 202 compostos avaliados), e podem ser considerados prioritários para análises futuras deste trabalho. É importante ressaltar que, na docagem molecular, menores valores de energia de ligação indicam maior estabilidade do complexo ligante-receptor.

Ainda na Figura 16, os gráficos de dispersão com regressão linear ajustada (B, D e F) correlacionaram o grau de pertencimento dos compostos aos clusters (medido pela similaridade química baseada no coeficiente de Tanimoto) com os *ranks* médios de afinidade obtidos na docagem. Em todos os casos, o coeficiente de determinação ($R^2 = 0.001$) foi extremamente baixo, indicando ausência de correlação prática entre essas variáveis. Os valores de p também foram superiores ao limiar de significância estatística convencional ($\alpha = 0,05$), com $p = 0,059$ no gráfico B, $p = 0,097$ no gráfico D e $p = 0,077$ no gráfico F. Embora o gráfico B apresente um valor limítrofe, nenhum dos casos atingiu significância estatística. Esses resultados reforçam que, sob as condições e métricas utilizadas, o grau de pertencimento químico dos compostos não se correlaciona de forma robusta com a afinidade predita, o que pode refletir a complexidade das interações moleculares além da similaridade estrutural (Maggiora *et al.*, 2014).

Já na figura 17, apresenta os resultados obtidos utilizando a métrica EPNMCS (Distância Euclidiana e Descritores Químicos), e cada gráfico reflete sua combinação com diferentes matrizes de seletividade e afinidade. Entre os três gráficos de barras, o *plot* 6 (em vermelho), referente à multiplicação da métrica EPNMCS com a matriz de afinidade *Cluster-to-Target*, destacou-se por apresentar o maior valor de F (5.773; $p < 0.001$) na ANOVA, indicando diferenças estatísticas significativas entre os grupos de compostos classificados por rank médio.

Ainda nesse gráfico, observa-se uma concentração de compostos com ranks médios mais baixos (indicativos de melhor desempenho predito) reunidos em um grupo específico. Esses compostos correspondem a aproximadamente 40% do total analisado, proporção estimada a partir da razão entre a quantidade de compostos presentes nessa barra e o número total de ligantes avaliados ($n = 202$). Os valores de

rank foram obtidos a partir da distância euclidiana calculada entre vetores de descritores moleculares derivados das representações SMILES, os quais posicionam cada molécula em um espaço n-dimensional após padronização por z-score. Esse procedimento permitiu estimar a similaridade físico-química de forma contínua, integrando múltiplas propriedades estruturais e físico-químicas de maneira simultânea.

A presença de compostos com menor energia de ligação (mais negativa) sugere interações moleculares mais estáveis com os alvos modelados, o que reforça o potencial preditivo do grupo identificado no *plot* 6. Assim, esses compostos podem ser considerados candidatos prioritários para próximas investigações deste trabalho, dadas suas classificações superiores em termos de afinidade.

Ainda na Figura 17, os gráficos de dispersão B, D e F correlacionaram com base na distância euclidiana *z-score* com o *rank* médio de afinidade obtido pela docagem. Em todos os casos, os coeficientes de determinação foram extremamente baixos (R^2 variando entre 0.000 e 0.001) e nenhuma das regressões foi estatisticamente significativa (gráfico B: $p = 0.233$; gráfico D: $p = 0.147$; gráfico F: $p = 0.549$). Esses resultados indicam ausência de correlação significativa entre a similaridade físico-química dos compostos e sua afinidade predita, reforçando que a métrica de distância química sozinha não é suficiente para explicar a variação observada nos resultados de docagem molecular.

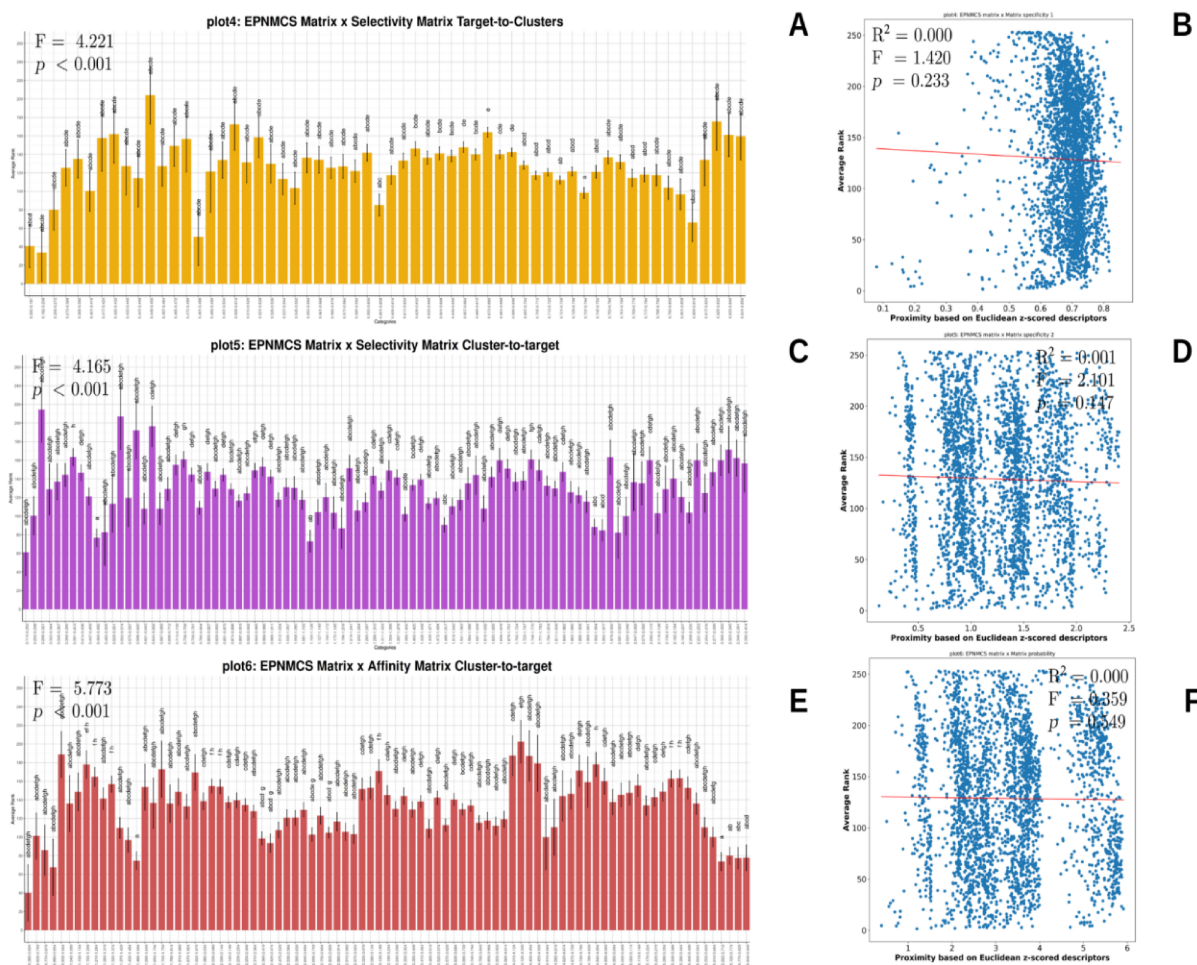


Figura 17: Avaliação das matrizes de seletividade e afinidade utilizando a métrica EPNMCS (Distância Euclidiana com Descritores Químicos). A figura apresenta três gráficos de barras (*plot 4* ou *A*, *5* ou *C*, e *6* ou *E*) que comparam as classificações do ranqueamento médio da docagem molecular (*Average rank*) baseadas na métrica EPNMCS e suas matrizes de seletividade e afinidade. O *plot 4* mostra a relação entre a Matriz de Seletividade do Alvo ao Cluster (*Target-to-Clusters*), o *plot 5* foca na Matriz de Seletividade do Cluster ao Alvo (*Cluster-to-Target*), e o *plot 6* analisa a Matriz de Afinidade ao Cluster ao Alvo (*Cluster-to-Target*). As letras sobre as barras indicam os grupos que não apresentaram diferenças significativas de acordo com o teste *post-hoc* de Tukey. Ao lado dos gráficos de barras, os gráficos de regressão (*B*, *D* e *F*) correlacionam a proximidade baseada nos descritores euclidianos *z-scored* dos compostos com o ranqueamento médio. Os valores de R^2 , F e p indicam os resultados das análises de regressão para cada *plot*.

Embora a correlação entre similaridade físico-química e afinidade predita tenha sido baixa, a multiplicação dos valores da matriz de afinidade *Cluster-to-Target* pela fração composicional de cada composto nos óleos essenciais permitiu estimar uma pontuação preditiva para cada alvo molecular associado ao TEA. Essa abordagem está ilustrada nas Figuras 18 e 19, correspondentes às métricas BDSTFL e EPNMCS, respectivamente. Essa predição nos auxiliou a quantificar o quanto cada composto presente no óleo influencia o pertencimento do alvo, ou seja, o quanto o óleo afeta aquele alvo específico.

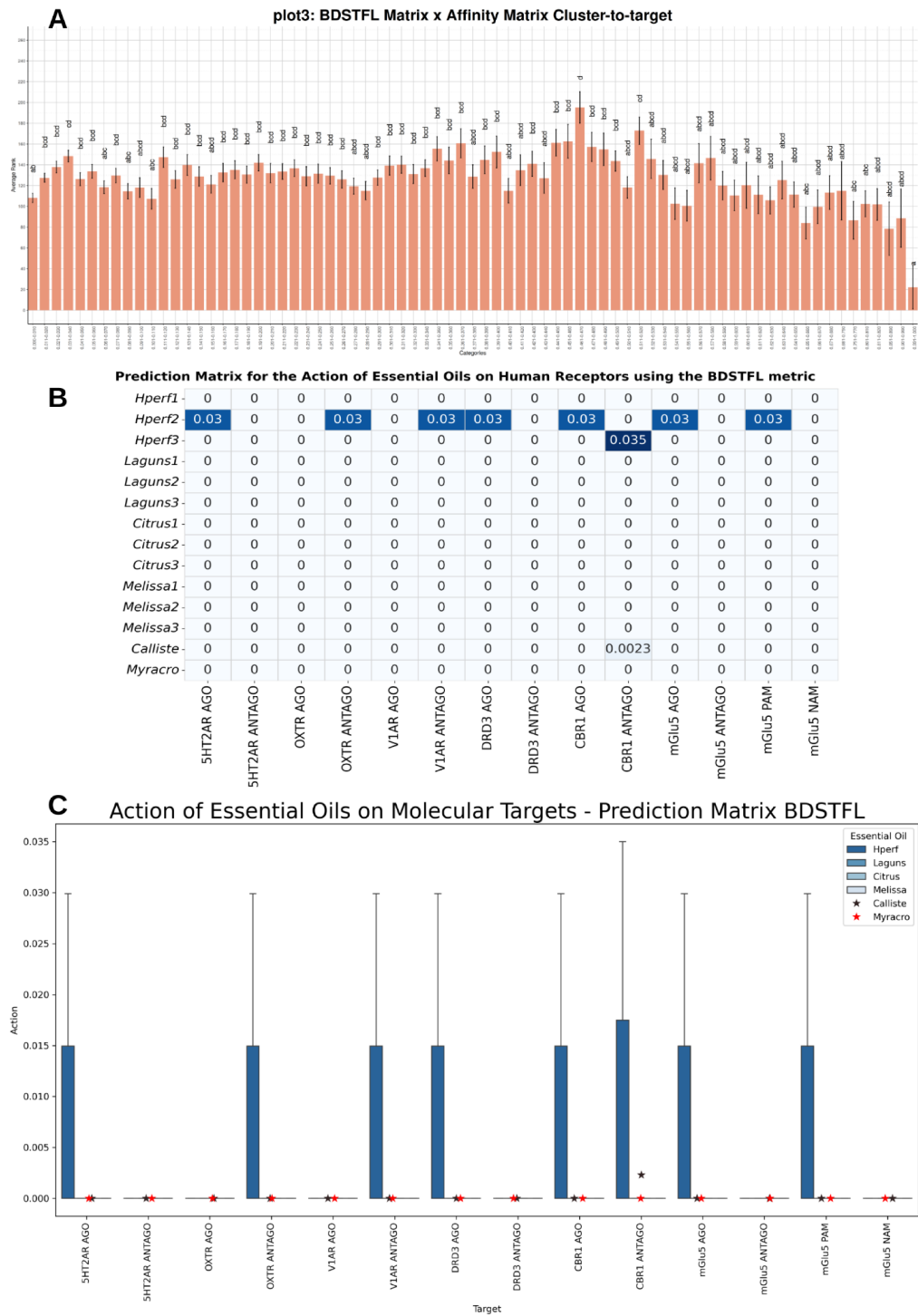


Figura 18: Predição da ação dos óleos essenciais sobre alvos moleculares relacionados ao TEA utilizando a Métrica BDSTFL (Clusterização Fuzzy baseada no Coeficiente de Tanimoto). O gráfico A mostra o ranking médio de afinidade de ligação dos compostos Matriz de Afinidade do Cluster para o Alvo (*Cluster-to-Target*), enquanto gráfico B exibe a predição da ação dos compostos sobre os alvos, destacando o óleo essencial de *Hypericum perforatum* como o mais promissor. O Gráfico C visualiza a ação predita desses óleos, com *H. perforatum* exibindo as maiores pontuações com potencial para influenciar esses alvos moleculares, especialmente para o alvo CBR1 antagonista.

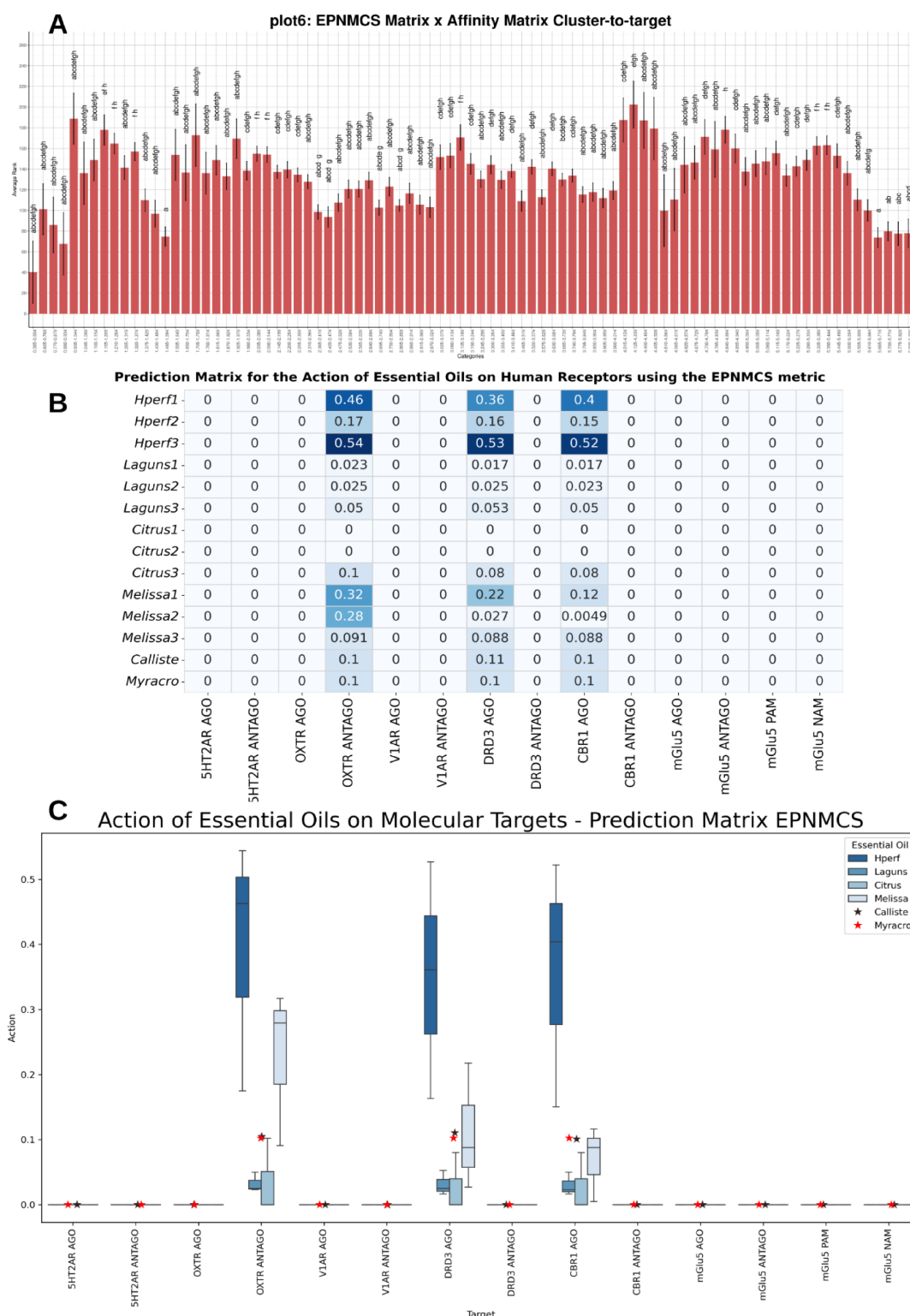


Figura 19: Predição da ação dos óleos essenciais sobre alvos moleculares relacionados ao TEA utilizando a Métrica EPNMCS (Distância Euclidiana com Descritores Químicos). O gráfico A mostra o ranking médio de afinidade de ligação dos compostos Matriz de Afinidade do Cluster para o Alvo (*Cluster-to-Target*). B destaca as predições para cada combinação de óleo essencial e receptor-alvo, com ênfase nos óleos *Hypericum perforatum* (Hperf) e *Melissa officinalis* (Melissa), que apresentaram os valores mais altos de predição, indicando maior probabilidade de interação com os alvos moleculares. Por último, C resalta em *box plot* a ação predita dos óleos, ressaltando os valores de Hperf e Melissa em relação aos receptores OXTR, DRD3, e CBR1, sugerindo a relevância desses óleos para futuros estudos sobre alvos moleculares relacionados ao TEA.

Através do gráfico 18 e 19, visualizamos as predições obtidas reforçam a relevância do óleo essencial de *Hypericum perforatum* (mais promissor), no qual se destacou de forma consistente nas duas métricas. Especificamente, na métrica EPNMCS, os compostos derivados desse óleo apresentaram as maiores pontuações médias de afinidade predita para três dos alvos moleculares considerados mais representativos: OXTR (conformação antagonista), DRD3 (antagonista) e CBR1 (agonista). Essa observação é evidenciada na parte B das Figuras 18 e 19, onde se verifica o desempenho superior de *Hypericum perforatum* em comparação aos demais óleos.

Além do *Hypericum*, o óleo de *Melissa officinalis* também apresentou uma boa predição de interação com os alvos, sendo o segundo mais promissor, conforme apontado também pela métrica EPNMCS (Figura 19). Ambos os óleos demonstraram alta afinidade com os mesmos alvos citados acima, reforçando um potencial terapêutico para os alvos apontados.

Por último, as espécies *Callistemon viminalis* (Calliste) e *Myracrodruon urundeuva* (Myacro), incluídas como controle negativo, exibiram valores de predição drasticamente reduzidos, próximos de zero, o que era esperado. Esse comportamento confirma a adequação do protocolo utilizado, uma vez que os controles negativos seguiram o padrão previsto, enquanto os óleos mais promissores, como *Hypericum* e *Melissa*, se destacaram significativamente. A clara distinção entre os óleos mais promissores e os controles negativos sugere que a metodologia empregada é sensível o suficiente para discriminar compostos bioativos com base em suas propriedades químicas e na modelagem computacional realizada.

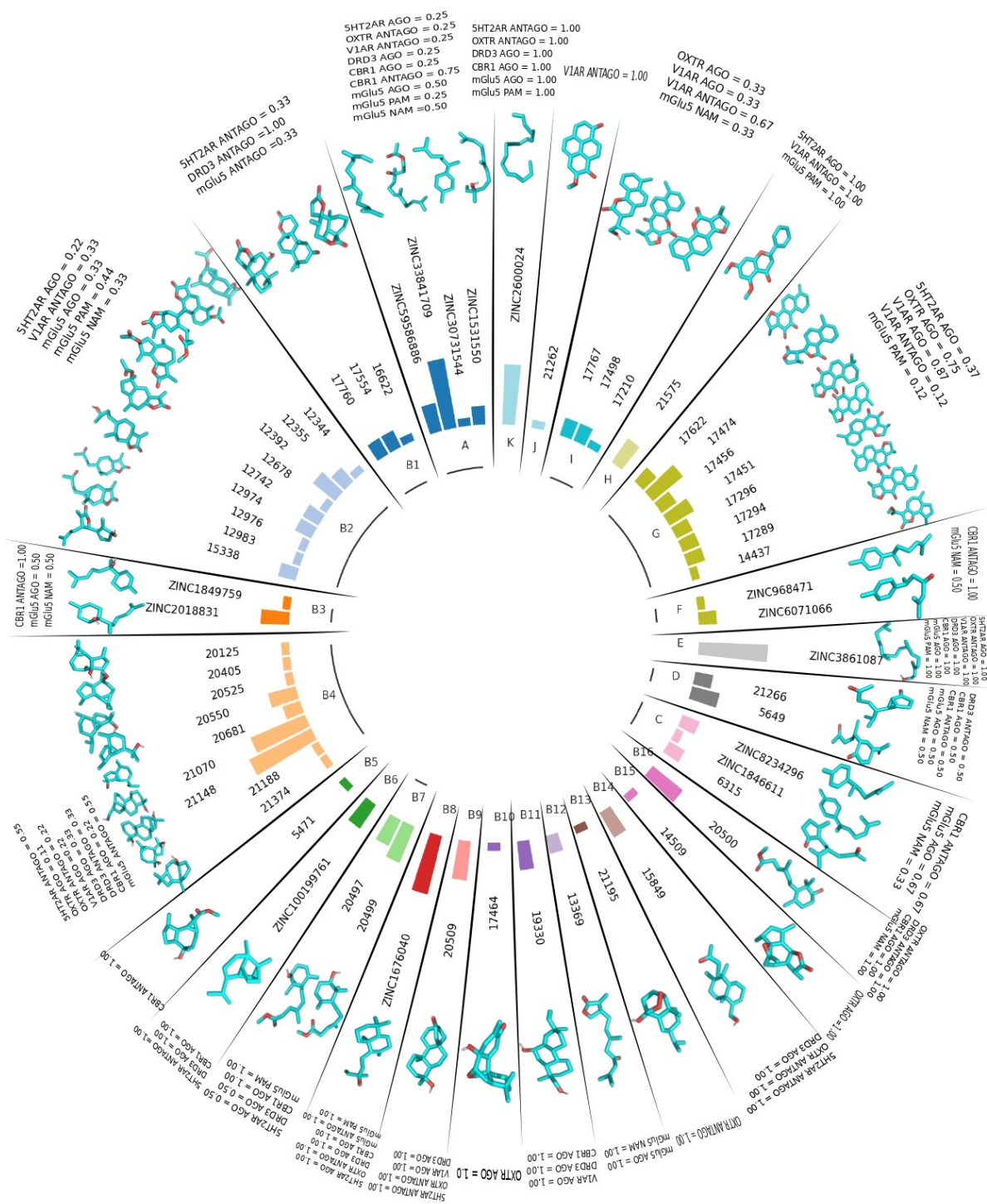


Figura 20: Distribuição radial dos constituintes dos óleos essenciais em relação aos alvos. O gráfico polar representa a interação dos ligantes dos óleos essenciais com alvos moleculares, utilizando a similaridade química baseada no coeficiente de Tanimoto e clusterização por hierarquia. No topo superior de cada segmento do gráfico, estão indicados os valores da Matriz de Afinidade, que refletem a afinidade predita desses ligantes pelos alvos moleculares, enquanto as barras coloridas representam o número de alvos ou conformações em que cada ligante foi identificado como *hit*. Os compostos químicos são distribuídos radialmente ao redor do centro do gráfico, e cada molécula está representada por sua estrutura 3D, facilitando a sua visualização.

6 DISCUSSÃO

Os resultados descritos na métricas para determinar a similaridade molecular, demonstraram a capacidade do protocolo desenvolvido em identificar interações promissoras entre compostos presentes nos óleos essenciais e alvos moleculares associados ao TEA. Apesar das variações nas frações composicionais dos óleos, as métricas utilizadas, BDSTFL e EPNMCS, permitiram a avaliação robusta das afinidades e seletividades dos compostos. Isso é especialmente relevante ao se considerar a complexidade química dos óleos essenciais e as potenciais diferenças entre suas composições. A métrica BDSTFL (grafico 18), o gráfico A destacou-se como o mais relevante para a predição da ação dos compostos nos alvos. Os compostos classificados na categoria "a" apresentaram maior afinidade com os alvos, sugerindo interações mais estáveis, o que destacou aproximadamente 8% dos compostos como os mais promissores. Ainda na Figura 18, parte B, o *Hypericum perforatum* (*Hperf3*) é o único óleo essencial que apresentou valores relevantes de predição no receptor CB1R (antagonista), alcançando até 0.035, o que sugere uma ação mais específica e restrita ao receptor CB1R. Embora os valores absolutos de predição sejam relativamente baixos (0.03–0.035), é importante destacar que, em análises baseadas em métricas de similaridade e predição, mesmo pequenas diferenças podem ter significância biológica quando relacionadas a alvos farmacológicos específicos. Essa predição reforça o potencial de aplicação farmacológica do *Hypericum perforatum*, especialmente considerando que estudos apontam que a redução da atividade do sistema endocanabinoide pode aliviar sintomas relacionados a comportamentos repetitivos e compulsivos, frequentemente observados em indivíduos com TEA. (Fyke *et al.*, 2021).

Já na métrica EPNMCS (grafico 19), por sua vez, proporcionou uma análise mais detalhada da similaridade físico-química, identificando uma assinatura mais clara para os compostos mais relevantes. Essa abordagem foi eficaz na identificação de compostos entre os 40% melhores no ranqueamento médio de afinidade, como mostrado na parte A do grafico 19. No cálculo de predição da ação dos óleos essenciais nos alvos do TEA (gráfico 19, parte B e C) indicaram consistentemente o óleo essencial de *Hypericum perforatum* como o mais promissor. A alta pontuação desse óleo essencial em relação aos alvos OXTR (antagonista), DRD3 (agonista) e CBR1 (agonista) reflete sua capacidade de modular potenciais efeitos terapêuticos

relacionados ao TEA. Este resultado foi significativo, pois destaca que, mesmo com variações composicionais entre frações, o protocolo foi capaz de prever uma forte interação para compostos derivados de *Hypericum*. Esta planta conhecido popularmente como erva-de-são-joão, é uma planta medicinal que tem atraído atenção por potenciais efeitos terapêuticos. Os compostos bioativos da planta, especialmente a hiperforina e hipericina, podem exercer efeitos neuroprotetores e antidepressivos (Mennini; Gobbi, 2004) . Estudos como os de Kalb, Trautmann-Sponsel e Kieser (2001) e Shelton (2009) mostraram, por meio de ensaios clínicos, uma melhora significativa nos sintomas depressivos, sugerindo que esses compostos possuem mecanismos de ação semelhantes aos de antidepressivos. Esses mecanismos incluem a inibição da recaptação de serotonina (ISRS), a inibição de monoaminas, a inibição da captação de dopamina e norepinefrina, e a inibição do fluxo de canais de sódio (mecanismos típicos de antidepressivos tricíclicos). (Kalb; Trautmann-Sponsel; Kieser, 2001) (Shelton, 2009). Essa ação é particularmente relevante para o TEA, pois indivíduos com esse transtorno frequentemente apresentam sintomas depressivos comórbidos e desregulação de neurotransmissores, incluindo a norepinefrina (Niederhofer, 2009).

Embora o resultado indique que o *Hypericum perforatum* apresenta ação predita como antagonista no receptor OXTR (Figura 17-B), estratégias farmacológicas baseadas no agonismo desse receptor têm sido amplamente exploradas no contexto do TEA, especialmente devido ao papel do OXTR na promoção de comportamentos sociais (Frantz *et al.*, 2018), redução da ansiedade (KOSAKA *et al.*, 2016), na memória social (SALA *et al.*, 2011) e cognitivos na regulação de circuitos de recompensa (Gigliucci *et al.*, 2014). No entanto, é interessante observar que medicamentos em fase de desenvolvimento atualmente, como o balovaptan, atuam como antagonistas no receptor V1AR e mostram potencial terapêutico para sintomas relacionados ao TEA (Schnider *et al.*, 2020).

O V1AR e o OXTR pertencem à mesma família de receptores acoplados à proteína G (GPCRs) e compartilham alta similaridade proteica, tanto em nível de sequência quanto estrutural. Essa familiaridade sugere que compostos que atuam em um desses receptores podem apresentar efeitos cruzados no outro, dependendo do grau de afinidade e seletividade. Assim, o antagonismo observado no OXTR pelo *Hypericum perforatum* pode refletir um comportamento farmacológico relacionado à interação com o V1AR, abrindo caminho para novas hipóteses a serem investigadas.

Além disso, enquanto o agonismo do OXTR é mais conhecido por modular positivamente comportamentos sociais, o antagonismo pode apresentar vantagens em contextos extremadamente específicos, como a modulação de respostas exacerbadas ao estresse social (Horiai *et al.*, 2020) ou como moduladores seletivos ou parciais ou na exploração de terapias combinadas (SALA *et al.*, 2011), ou dependentes de gênero (Liu *et al.*, 2024). Essas observações sugerem que estudos futuros deveriam investigar a ação cruzada entre V1AR e OXTR em conjunto com os compostos bioativos do *Hypericum perforatum*, avaliando a possibilidade de efeitos terapêuticos sinérgicos ou complementares.

No entanto, no estudo de Niederhofer (2009) avaliou os efeitos de *Hypericum* no tratamento de sintomas de autismo em um pequeno grupo de pacientes e apresentou dados preliminares promissores. Foram observadas melhorias em fatores como irritabilidade, hiperatividade, falta de contato visual e fala imprópria, de acordo com as escalas de comportamento utilizadas. Apesar disso, o estudo possui limitações, como o pequeno tamanho da amostra e a curta duração do tratamento. Ainda assim, o uso desta planta em pacientes com TEA é justificado como base para futuras pesquisas, considerando as limitações dos tratamentos psicofarmacológicos convencionais disponíveis (Aslam; Barkaat Azam, 2022).

Os resultados preditos para o *Hypericum perforatum* destacam sua interação com alvos como DRD3 (agonista) e CB1 (agonista), reforçando o potencial terapêutico de seus compostos na modulação de sintomas sociais e comportamentais no TEA. A ativação do receptor DRD3 está associada à melhora da sociabilidade e da motivação (Pich; Collo, 2015), enquanto o agonismo do receptor CB1 sugere modulação da plasticidade sináptica (Horton *et al.*, 2019), ambos alvos altamente relevantes para sintomas frequentemente observados no TEA. Além disso, os gráficos da figura 21, mostram a relação entre os compostos identificados e os receptores-alvo (DRD3, OXTR e CBR1) para os quais há predição de interação, e utilizando métricas baseadas em descritores químicos normalizados por *z-score*, onde o eixo y refere-se ao *rank* médio obtido pelos compostos em termos de afinidade com o receptor-alvo (valores mais baixos representam maior afinidade), e os compostos com valores de *rank* destacados em verde como os mais promissores em termos de interação com o receptor-alvo, e por último o traço em vermelho marca uma média que serve como limite para destacar compostos com *ranks* mais favoráveis em relação ao receptor. Sendo assim, nos três gráficos indicam que compostos como *α -cadinol* e *δ -cadinene*

foram os mais promissores na interação com o DRD3 (agonista), enquanto compostos como *β-caryophyllene* e *δ-selinene* se destacaram para o receptor CB1R (agonista). Esses compostos podem ser explorados individualmente ou em combinações para avaliar possíveis interações sinérgicas. Esses achados, quando combinados com os compostos identificados na *Melissa officinalis* (Figura 19-B), indicam um perfil multifacetado, que pode ser explorado em estratégias que modulam vias relacionadas à dopamina, ao sistema endocanabinoide e à ocitocina/vasopresina. A combinação de compostos que ativam o DRD3 e o CB1, em sinergia com antagonistas ou moduladores de OXTR/V1AR, pode oferecer novos caminhos para melhorar sintomas de sociabilidade, memória afetiva e comportamentos repetitivos em indivíduos com TEA.

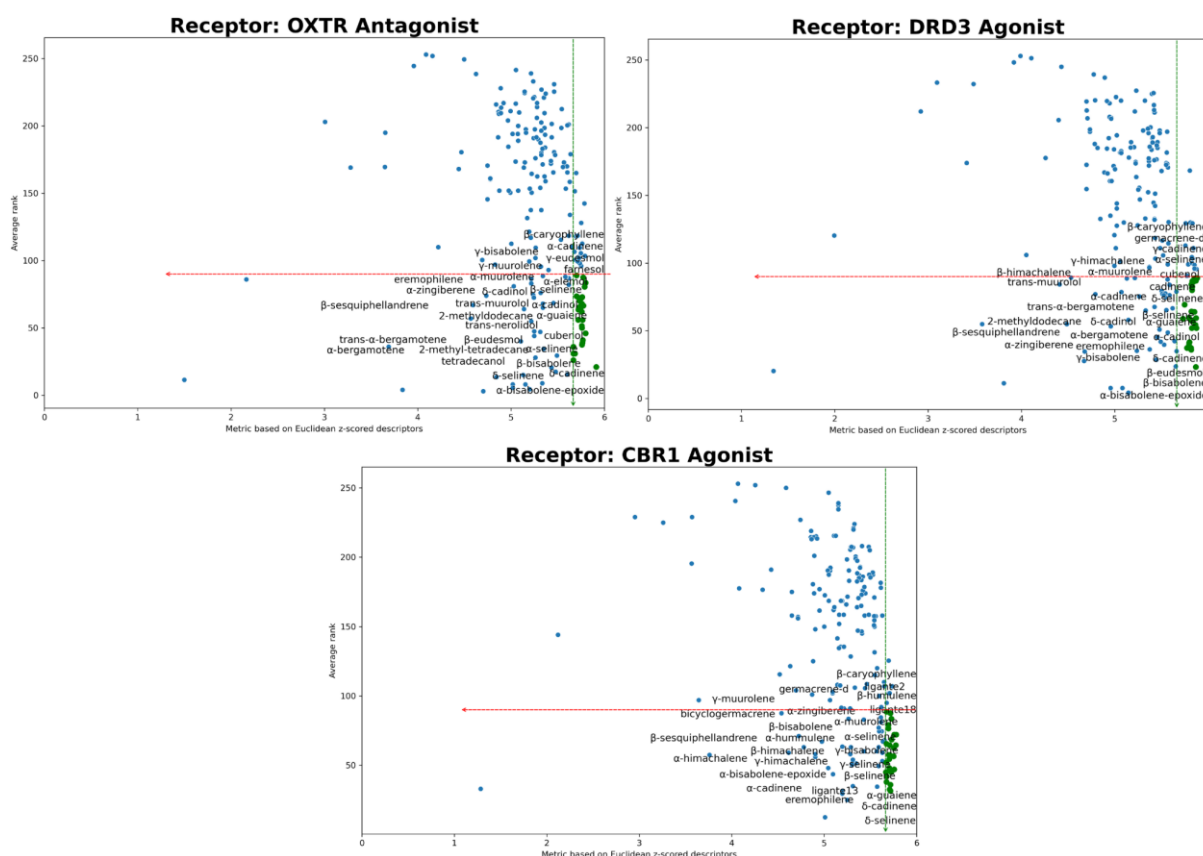


Figura 21: Gráficos de dispersão na predição de interação de compostos derivados de óleos essenciais com os receptores OXTR (antagonista), DRD3 (agonista) e CBR1 (agonista).

O mGluR5 tem sido explorado como um potencial alvo terapêutico para tratar sintomas TEA (Hollestein et al., 2021) (Eshraghi et al., 2022). Estudos destacam seu

papel na plasticidade sináptica (Purgert et al., 2014), excitabilidade neuronal (Youn; Weon, 2019) e comportamentos associados ao autismo (Matrisciano et al., 2022). Apesar que as métricas EPNMCS e BDSTFL não tenham conseguido prever diretamente a ação dos óleos essenciais no mGluR5, o gráfico polar (figura 20) foi capaz de identificar a similaridade química entre os ligantes presentes no banco de óleos essenciais (hits) e detectar interações promissoras com o alvo mGluR5.

Por exemplo, o gráfico polar (figura 20) revelou que os clusters B12 e B16 possuem ligantes com alta seletividade (1,00) para o mGluR5 NAM. Essa alta seletividade demonstra que todos os ligantes pertencentes a esses clusters compartilham características químicas específicas que os tornam altamente promissores para interagir com esse alvo molecular. Além disso, o cluster B12 também apresentou seletividade para o mGluR5 (agonista), reforçando sua relevância terapêutica. A atuação como NAM ou agonista no mGluR5 oferece um amplo espectro de possibilidades terapêuticas: enquanto os moduladores alostéricos negativos podem reduzir comportamentos repetitivos (Silverman et al., 2012), frequentemente associada a sintomas comportamentais no TEA, os agonistas podem potencialmente estimular vias neuroprotetoras e de regulação sináptica (Zantomio et al., 2015).

Sendo assim, a identificação de clusters distintos com seletividade para o mesmo alvo evidencia a convergência funcional de estruturas químicas diferentes, por exemplo, ainda no cluster B16, pois além da sua seletividade para o mGluR5 NAM (1,00), também apresentou seletividade total para outros alvos, como OXTR antagonista (1,00), DRD3 antagonista (1,00) e CBR1 agonista (1,00); e por outro lado, o mGluR5 PAM foi encontrado com seletividade total em clusters distintos, como o Cluster E e o Cluster H, ambos com valores de 1,00; evidenciando que diferentes agrupamentos químicos podem convergir funcionalmente para modular o mesmo alvo, ou como os ligantes desses clusters podem interagir com o mGluR5 em diferentes conformações ou locais de ligação, possibilitando efeitos terapêuticos distintos e ou complementares.

A identificação dessas assinaturas farmacofóricas específicas amplia as possibilidades de desenvolver novas abordagens terapêuticas para o TEA, utilizando compostos com perfis moleculares distintos para modular tanto o receptor mGluR5 quanto outros alvos relevantes. Como perspectiva futura, a inclusão de mais espécies

de plantas pode aprimorar a capacidade dos protocolos EPNMC e BDSTFL de prever ações direcionadas ao mGluR5.

O fitol, um diterpenoide amplamente presente em diversas espécies vegetais, é reconhecido por suas propriedades ansiolíticas (Costa et al., 2014), neuroprotetoras e antioxidantes (Islam et al., 2015), tornando-se um composto promissor na pesquisa de terapias para o TEA (Aslam; Barkaat Azam, 2022).

Analisando novamente o gráfico polar (figura 20), o fitol apresenta uma forte similaridade química com o Cluster E, um agrupamento que inclui ligantes com afinidades multi-target. Essa assinatura farmacofórica demonstraram afinidade significativa pelos alvos moleculares, como 5HT2AR (agonista), OXTR (antagonista), V1AR (antagonista), DRD3 (agonista), CBR1 (agonista), mGluR5 (agonista) e mGluR5 PAM, todos com valores iguais a 1. Este resultado sugere que compostos como o fitol, ao compartilharem características estruturais com o Cluster E, podem modular as vias moleculares associadas a esses alvos. A presença do fitol em plantas ricas em diterpenoides e sua afinidade por esses alvos reforçam seu potencial como um modulador multi-alvo para aplicações terapêuticas. Na farmacologia, a abordagem multi-target tem ganhado destaque no desenvolvimento de medicamentos, especialmente no tratamento de doenças complexas e transtornos multifatoriais (Eissa et al., 2021), pois ao contrário das terapias convencionais que direcionam um único alvo molecular, a abordagem multi-target envolve a modulação simultânea (efeito sinérgico) de múltiplos alvos biológicos, o que pode oferecer vantagens significativas em termos de redução de resistência, e segurança (Lu et al., 2012). A inclusão de compostos como o fitol em estudos futuros pode expandir significativamente a compreensão sobre as assinaturas farmacofóricas relacionadas a diterpenoides e a identificação de novas estratégias terapêuticas para o TEA.

A análise de similaridade química e pertinência dos ligantes foi essencial para identificar compostos promissores nos bancos de óleos essenciais. No entanto, como perspectiva futura, é possível aprimorar ainda mais as previsões e aumentar a precisão do protocolo ao relacionar os descritores químicos dos ligantes com as propriedades específicas dos sítios ativos dos alvos moleculares. Essa abordagem permitiria uma análise mais detalhada das interações proteína-ligante, integrando características estruturais e dinâmicas de maneira mais robusta. Adicionalmente, o

desenvolvimento de mapas farmacofóricos específicos para cada sítio ativo pode ser uma ferramenta valiosa. Esses mapas integrariam os descritores dos ligantes mais bem ranqueados com características-chave dos alvos moleculares, possibilitando não apenas uma análise detalhada das assinaturas farmacofóricas, mas também a identificação de padrões químicos compartilhados entre os ligantes.

Outro aspecto importante para o refinamento do protocolo seria a redução dos desvios entre ranqueamento e métricas computacionais. Para isso, a implementação de algoritmos de aprendizado de máquina poderia ser utilizada, permitindo identificar padrões ocultos e correlacionar os descritores químicos dos ligantes com as métricas preditivas de maneira mais precisa. Esses algoritmos teriam o potencial de ajustar automaticamente os modelos preditivos, aumentando a confiabilidade das previsões e a seleção de compostos mais promissores.

Como perspectiva futura, destaca-se a possibilidade de isolar compostos específicos dos óleos essenciais identificados como promissores e realizar testes *in vivo* para validar suas atividades biológicas no contexto do TEA. Esses testes poderiam ser conduzidos em modelos experimentais amplamente utilizados, como camundongos expostos ao ácido valproico (VPA) durante a gestação, que replicam traços comportamentais associados ao transtorno, incluindo déficits de interação social, comportamentos repetitivos e alterações sensoriais (Roubertoux et al., 2020). Esse modelo seria ideal para avaliar a eficácia dos compostos isolados na modulação de vias neuroquímicas aqui estudados.

O zebrafish (*Danio rerio*) tem se destacado como um modelo emergente na neurociência devido à sua transparência corporal, fácil manipulação genética e rápida reprodução, características que o tornam uma ferramenta versátil e eficiente para estudos comportamentais e moleculares (Dooley, 2000). Esse modelo apresenta comportamentos sociais simples, como a agregação em cardumes, que podem ser analisados de forma objetiva e padronizada. Alterações nesses comportamentos, induzidas pela exposição ao VPA ou outras substâncias, fornecem evidências de possíveis correlações com sintomas do TEA, como déficits sociais e hiperatividade (Kalueff; Stewart; Gerlai, 2014).

Como modelo experimental complementar, o zebrafish oferece um modelo experimental eficiente para triagens iniciais de alta produtividade, permitindo a avaliação rápida da eficácia e toxicidade de compostos. Sua simplicidade, aliada ao baixo custo e à possibilidade de observar alterações comportamentais e no desenvolvimento neuronal em estágios iniciais, faz dele uma ferramenta ideal para identificar compostos promissores antes de avançar para modelos mais complexos, como mamíferos. (Anjaneyulu; Godbole, 2024) Dessa forma, o zebrafish se integra de maneira estratégica ao pipeline de estudos pré-clínicos, acelerando o processo de validação de potenciais terapias para o TEA (Stewart et al., 2014).

7 CONCLUSÕES

Este estudo apresentou uma abordagem integrada de triagem virtual multi-alvos e análise farmacofórica, destacando o potencial terapêutico de compostos fitoquímicos provenientes de óleos essenciais no contexto do TEA. O protocolo quimioinformático aplicado, baseado em metodologias previamente estabelecidas pelo grupo de pesquisa, demonstrou robustez e consistência na identificação de compostos promissores, além de ser replicável e escalonável, facilitando a identificação de assinaturas químicas que podem orientar o desenvolvimento de novos compostos terapêuticos. Essa replicabilidade e escalabilidade tornam o protocolo aplicável não apenas ao TEA, mas também a outros transtornos neuropsiquiátricos, bem como em estratégias biotecnológicas voltadas à exploração de novos compostos bioativos.

Como perspectiva futura, a validação experimental dos compostos mais promissores por meio de modelos *in vivo*, como camundongos induzidos com valproato ou zebrafish, pode consolidar as predições computacionais e aprofundar o entendimento de seus efeitos biológicos. A expansão do banco de compostos para incluir óleos essenciais de novas espécies vegetais e o refinamento do protocolo com descritores mais avançados também são passos fundamentais para aumentar a aplicabilidade e o impacto desta metodologia.

Este trabalho reforça a importância de integrar abordagens computacionais robustas com validações experimentais, oferecendo uma ferramenta poderosa e adaptável para o avanço da pesquisa em TEA. Além disso, a versatilidade do protocolo abre novas possibilidades para descobertas terapêuticas inovadoras,

contribuindo significativamente para descobertas terapêuticas inovadoras e a biotecnologia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHER, Francine C. *et al.* Metabotropic glutamate receptor orthosteric ligands and their binding sites. **Neuropharmacology**, [s. l.], v. 204, p. 108886, 2022.

ADINEE, Jafer; PIRI, Khosro; KARAMI, Omid. Essential Oil Component in Flower of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.). **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 4, n. 3, p. 277–278, 2008.

AISHWORIYA, Ramkumar *et al.* An Update on Psychopharmacological Treatment of Autism Spectrum Disorder. **Neurotherapeutics**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 248–262, 2022.

ÅKERLUND, Mats *et al.* Receptor binding of oxytocin and vasopressin antagonists and inhibitory effects on isolated myometrium from preterm and term pregnant women. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, [s. l.], v. 106, n. 10, p. 1047–1053, 1999.

ANJANEYULU, Jalagam; GODBOLE, Ashwini. Small organism models for mode of action research on anti-ageing and nootropic herbs, foods, and formulations. **Nutritional Neuroscience**, [s. l.], p. 1–19, 2024.

APONSO, Minoli; PATTI, Antonio; BENNETT, Louise E. Dose-related effects of inhaled essential oils on behavioural measures of anxiety and depression and biomarkers of oxidative stress. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 250, p. 112469, 2020.

ARSOVA, Angela *et al.* Detailed In Vitro Pharmacological Characterization of Clinically Tested Negative Allosteric Modulators of the Metabotropic Glutamate Receptor 5. **Molecular Pharmacology**, [s. l.], v. 98, n. 1, p. 49–60, 2020.

ASLAM, Maria; BARKAAT AZAM, Muhammad. Phytochemicals And Nutraceuticals as A Promising Drug Candidate in Autism Spectrum Disorder: Phytochemicals and Nutraceuticals. **DIET FACTOR (Journal of Nutritional & Food Sciences)**, [s. l.], p. 05–09, 2022.

ATAEI, Shahla *et al.* Essential Oils-Loaded Electrospun Biopolymers: A Future Perspective for Active Food Packaging. **Advances in Polymer Technology**, [s. l.], v. 2020, p. 1–21, 2020.

AYAZ, Muhammad *et al.* Neuroprotective and Anti-Aging Potentials of Essential Oils from Aromatic and Medicinal Plants. **Frontiers in Aging Neuroscience**, [s. l.], v. 9, p. 168, 2017.

BOGDAN, Mihaela *et al.* Variations in the Chemical Composition of the Essential Oil of *Lavandula angustifolia* Mill., Moldoveanca 4 Romanian Variety. **Revista de Chimie**, [s. l.], v. 71, n. 7, p. 307–315, 2020.

BORSINI, Franco *et al.* Pharmacology of Flibanserin. **CNS Drug Reviews**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 117–142, 2002.

BORTHWICK, Alan D. *et al.* 2,5-Diketopiperazines as Potent, Selective, and Orally Bioavailable Oxytocin Antagonists. 2. Synthesis, Chirality, and Pharmacokinetics. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 48, n. 22, p. 6956–6969, 2005.

BOŽOVIĆ, Mijat *et al.* Variation in essential oil content and composition of *Ridolfia segetum* Moris based on 30-hour prolonged fractionated extraction procedure. **Natural Product Research**, [s. l.], v. 34, n. 13, p. 1923–1926, 2020.

BUNSE, Marek *et al.* Essential Oils as Multicomponent Mixtures and Their Potential for Human Health and Well-Being. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 13, p. 956541, 2022.

BYMASTER, F. Comparative Affinity of Duloxetine and Venlafaxine for Serotonin and Norepinephrine Transporters in vitro and in vivo, Human Serotonin Receptor Subtypes, and Other Neuronal Receptors. **Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 25, n. 6, p. 871–880, 2001.

CABAJ, Justyna; BARGIEŁ, Julia; SOROKA, Ewelina. Benzodiazepines and z-drugs - between treatment effectiveness and the risk of addiction. **Journal of Education, Health and Sport**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 468–480, 2023.

CARVALHO, C.E.S. *et al.* Anti-Leishmania activity of essential oil of *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All.: Composition, cytotoxicity and possible mechanisms of action. **Experimental Parasitology**, [s. l.], v. 175, p. 59–67, 2017.

CHATZOPOULOU, Paschalina S. *et al.* Essential Oil Composition of Serbian *Hypericum perforatum* Local Population Cultivated in Different Ecological Conditions. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 666–673, 2009.

CHEN, Amy N. Y. *et al.* Identification of monellin as the first naturally derived proteinaceous allosteric agonist of metabotropic glutamate receptor 5. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, [s. l.], v. 126, n. S6, p. 104–115, 2020.

CHEN, Yin *et al.* Synthesis and Biological Investigation of Coumarin Piperazine (Piperidine) Derivatives as Potential Multireceptor Atypical Antipsychotics. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 56, n. 11, p. 4671–4690, 2013.

CHEN, Jianyong *et al.* Tranylcypromine Substituted cis-Hydroxycyclobutyl naphthamides as Potent and Selective Dopamine D3 Receptor Antagonists. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 57, n. 11, p. 4962–4968, 2014.

CLARK, Barry P. *et al.* (+)-2-Methyl-4-carboxyphenylglycine (LY367385) selectively antagonises metabotropic glutamate mGluR1 receptors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s. l.], v. 7, n. 21, p. 2777–2780, 1997.

COSGE, Belgin; BILAL, Ghada. **GC/MS analysis of herbage essential oil from lemon balms (*Melissa officinalis* L.) grown in Turkey**. 2009.

CORONA, Laura L. *et al.* Toward Novel Tools for Autism Identification: Fusing Computational and Clinical Expertise. **Journal of Autism and Developmental Disorders**, [s. l.], v. 51, n. 11, p. 4003–4012, 2021.

CORRÊA, Eduardo José Azevedo *et al.* Elucidating the molecular mechanisms of essential oils' insecticidal action using a novel cheminformatics protocol. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 4598, 2023.

COSTA, Jéssica Pereira *et al.* Anxiolytic-like effects of phytol: Possible involvement of GABAergic transmission. **Brain Research**, [s. l.], v. 1547, p. 34–42, 2014.

COSTANTINO, Gabriele; MACCHIARULO, Antonio; PELLICCIARI, Roberto. Modeling of Amino-Terminal Domains of Group I Metabotropic Glutamate Receptors: Structural Motifs Affecting Ligand Selectivity. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 42, n. 26, p. 5390–5401, 1999.

CURPAN, Alexandrina S.; LUCA, Alina-Costina; CIOBICA, Alin. Potential Novel Therapies for Neurodevelopmental Diseases Targeting Oxidative Stress. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2021, p. 1–13, 2021.

DAO, Myriam; FRANÇOIS, Helene. Cannabinoid Receptor 1 Inhibition in Chronic Kidney Disease: A New Therapeutic Toolbox. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 12, p. 720734, 2021.

DE ANDRADE, Beatriz Nunes Passos *et al.* A importância do abordagem multidisciplinar no tratamento de crianças com espectro autista. **Brazilian Journal of Health Review**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 3568–3580, 2024.

DOGAN, Tunca *et al.* Determination of essential oil and chemical composition of St. John's Wort. **Open Chemistry**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 20240001, 2024.

DOHERTY, A. J. *et al.* A novel, competitive mGlu(5) receptor antagonist (LY344545) blocks DHPG-induced potentiation of NMDA responses but not the induction of LTP in rat hippocampal slices. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 131, n. 2, p. 239–244, 2000.

DOOLEY, K. Zebrafish: a model system for the study of human disease. **Current Opinion in Genetics & Development**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 252–256, 2000.

DUAN, Yin *et al.* The cannabinoid receptor agonist CP-55,940 and ethyl arachidonate interfere with [3H]batrachotoxinin A 20 α -benzoate binding to sodium channels and inhibit sodium channel function. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, [s. l.], v. 148, n. 3, p. 244–249, 2008.

DUARTE, Antonia *et al.* Antimicrobial Activity and Modulatory Effect of Essential Oil from the Leaf of *Rhaphiodon echinus* (Nees & Mart) Schauer on Some Antimicrobial Drugs. **Molecules**, [s. l.], v. 21, n. 6, p. 743, 2016.

EBERHARDT, Jerome *et al.* AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 61, n. 8, p. 3891–3898, 2021.

ECKER, C.; SPOOREN, W.; MURPHY, D. Developing new pharmacotherapies for autism. **Journal of Internal Medicine**, [s. l.], v. 274, n. 4, p. 308–320, 2013.

EDRIS, Amr E. Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 308–323, 2007.

EISSA, Nermin *et al.* The Multi-Targeting Ligand ST-2223 with Histamine H3 Receptor and Dopamine D2/D3 Receptor Antagonist Properties Mitigates Autism-Like Repetitive Behaviors and Brain Oxidative Stress in Mice. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 1947, 2021.

ESHRAGHI, Adrien A. *et al.* Genetic ablation of metabotropic glutamate receptor 5 in rats results in an autism-like behavioral phenotype. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 17, n. 11, p. e0275937, 2022.

FALL, Rokhaya *et al.* Chemical characterization of essential oil from the leaves of *Callistemon viminalis* (D.R.) and *Melaleuca leucadendron* (Linn.). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 347–351, 2017.

FAZAL, Abidali *et al.* Characterisation of the actions of group I metabotropic glutamate receptor subtype selective ligands on excitatory amino acid release and sodium-dependent re-uptake in rat cerebrocortical minislices. **Journal of Neurochemistry**, [s. l.], v. 86, n. 6, p. 1346–1358, 2003.

FRANTZ, Marie-Céline *et al.* LIT-001, the First Nonpeptide Oxytocin Receptor Agonist that Improves Social Interaction in a Mouse Model of Autism. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 61, n. 19, p. 8670–8692, 2018.

FU, Tingting *et al.* Exploring the Binding Mechanism of Metabotropic Glutamate Receptor 5 Negative Allosteric Modulators in Clinical Trials by Molecular Dynamics Simulations. **ACS Chemical Neuroscience**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. 1492–1502, 2018.

FYKE, William *et al.* Pharmacological inhibition of the primary endocannabinoid producing enzyme, DGL- α , induces autism spectrum disorder-like and co-morbid phenotypes in adult C57BL/J mice. **Autism Research**, [s. l.], v. 14, n. 7, p. 1375–1389, 2021.

GAL, Claudine Serradeil-Le *et al.* Characterization of (2*S*,4*R*)-1-[5-Chloro-1-[(2,4-dimethoxyphenyl)sulfonyl]-3-(2-methoxy-phenyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-indol-3-yl]-4-hydroxy-*N,N*-dimethyl-2-pyrrolidine carboxamide (SSR149415), a Selective and Orally Active Vasopressin V_{1b} Receptor Antagonist. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [s. l.], v. 300, n. 3, p. 1122–1130, 2002.

GERMINO, Lucas Leal *et al.* A aplicação da medicina de precisão no diagnóstico e tratamento do Transtorno do Espectro Autista (TEA). **Brazilian Journal of Health Review**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. e72183, 2024.

GHANIZADEH, Ahmad. Targeting of Glycine Site on NMDA Receptor as a Possible New Strategy for Autism Treatment. **Neurochemical Research**, [s. l.], v. 36, n. 5, p. 922–923, 2011.

GIGLIUCCI, Valentina *et al.* Region Specific Up-Regulation of Oxytocin Receptors in the Opioid Oprm1^{+/+} Mouse Model of Autism. **Frontiers in Pediatrics**, [s. l.], v. 2, 2014. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fped.2014.00091/abstract>. Acesso em: 11 jan. 2025.

GILMOUR, Gary *et al.* In vitro characterisation of the novel positive allosteric modulators of the mGlu5 receptor, LSN2463359 and LSN2814617, and their effects on sleep architecture and operant responding in the rat. **Neuropharmacology**, [s. l.], v. 64, p. 224–239, 2013.

GIORDANO, Deborah *et al.* Drug Design by Pharmacophore and Virtual Screening Approach. **Pharmaceuticals**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 646, 2022.

GREGORY, Karen J. *et al.* Investigating Metabotropic Glutamate Receptor 5 Allosteric Modulator Cooperativity, Affinity, and Agonism: Enriching Structure-Function Studies and Structure-Activity Relationships. **Molecular Pharmacology**, [s. l.], v. 82, n. 5, p. 860–875, 2012.

GRIFFANTE, Cristiana *et al.* Selectivity of d[Cha⁴]AVP and SSR149415 at human vasopressin and oxytocin receptors: evidence that SSR149415 is a mixed vasopressin V_{1b}/oxytocin receptor antagonist. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 146, n. 5, p. 744–751, 2005.

GROSS, Gerhard; DRESCHER, Karla. The Role of Dopamine D3 Receptors in Antipsychotic Activity and Cognitive Functions. In: GEYER, Mark A.; GROSS, Gerhard (org.). **Novel Antischizophrenia Treatments**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012. (Handbook of Experimental Pharmacology). v. 213, p. 167–210. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-25758-2_7. Acesso em: 20 set. 2024.

GUNNET, Joseph W *et al.* CHARACTERIZATION OF RWJ-351647, A NOVEL NONPEPTIDE VASOPRESSIN V₂ RECEPTOR ANTAGONIST. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 320–326, 2006.

GÜRKAN, C. Kağan; HAGERMAN, Randi J. Targeted treatments in autism and fragile X syndrome. **Research in Autism Spectrum Disorders**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. 1311–1320, 2012.

HINTERMANN, Samuel *et al.* ABP688, a novel selective and high affinity ligand for the labeling of mGlu5 receptors: Identification, in vitro pharmacology, pharmacokinetic and biodistribution studies. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 903–914, 2007.

HOLLESTEIN, Viola *et al.* **Excitatory/inhibitory imbalance in autism: the role of glutamate and GABA gene-sets in symptoms and cortical brain structure**. [S. l.: s. n.], 2021. Disponível em: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2021.12.20.473501>. Acesso em: 13 jan. 2025.

HORIAI, Machi *et al.* Targeting oxytocin receptor (Oxtr)-expressing neurons in the lateral septum to restore social novelty in autism spectrum disorder mouse models. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 22173, 2020.

HORTON, Kofi-Kermit A. *et al.* Systemic Blockade of the CB1 Receptor Augments Hippocampal Gene Expression Involved in Synaptic Plasticity but Perturbs Hippocampus-Dependent Learning Task. **Cannabis and Cannabinoid Research**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 33–41, 2019.

HUA, Tian *et al.* Crystal Structure of the Human Cannabinoid Receptor CB1. **Cell**, [s. l.], v. 167, n. 3, p. 750-762.e14, 2016.

HUEY, Ruth *et al.* A semiempirical free energy force field with charge-based desolvation. **Journal of Computational Chemistry**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. 1145–1152, 2007.

ISLAM, Md. Torequl *et al.* Phytol in a pharma-medico-stance. **Chemico-Biological Interactions**, [s. l.], v. 240, p. 60–73, 2015.

JASPER, Jeffrey R. *et al.* Characterization of the human oxytocin receptor stably expressed in 293 human embryonic kidney cells. **Life Sciences**, [s. l.], v. 57, n. 24, p. 2253–2261, 1995.

JIANG, Ming-Hua *et al.* Comparative GC/MS Analysis of Essential Oils Extracted by 3 Methods from the Bud of *Citrus aurantium* L. var. *amara* Engl. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 76, n. 9, 2011. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-3841.2011.02421.x>. Acesso em: 21 set. 2024.

JIANG, Shucai *et al.* Prenatal GABAB Receptor Agonist Administration Corrects the Inheritance of Autism-Like Core Behaviors in Offspring of Mice Prenatally Exposed to Valproic Acid. **Frontiers in Psychiatry**, [s. l.], v. 13, p. 835993, 2022.

JOŃCZYK, Jakub *et al.* Virtual Screening Approaches to Identify Promising Multitarget-Directed Ligands for the Treatment of Autism Spectrum Disorder. **Molecules**, [s. l.], v. 29, n. 22, p. 5271, 2024.

KADUKOVA, Maria; GRUDININ, Sergei. Convex-PL: a novel knowledge-based potential for protein-ligand interactions deduced from structural databases using convex optimization. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, [s. l.], v. 31, n. 10, p. 943–958, 2017.

KALB, R.; TRAUTMANN-SPONSEL, R. D.; KIESER, M. Efficacy and Tolerability of Hypericum Extract WS 5572 versus Placebo in Mildly to Moderately Depressed Patients - A randomized double-blind multicenter clinical trial -. **Pharmacopsychiatry**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 96–103, 2001.

KALUEFF, Allan V.; STEWART, Adam Michael; GERLAI, Robert. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. **Trends in Pharmacological Sciences**, [s. l.], v. 35, n. 2, p. 63–75, 2014.

KECK, Thomas M. *et al.* A novel mGluR5 antagonist, MFZ 10-7, inhibits cocaine-taking and cocaine-seeking behavior in rats. **Addiction Biology**, [s. l.], v. 19, n. 2, p. 195–209, 2014.

KELLY AN *et al.* Gene Therapy as a Promising Approach for the Underlying Causes

of Autism Spectrum Disorder. **Berkeley Pharma Tech Journal of Medicine**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 10–25, 2023.

KENNEDY, David O *et al.* Monoterpenoid extract of sage (*Salvia lavandulaefolia*) with cholinesterase inhibiting properties improves cognitive performance and mood in healthy adults. **Journal of Psychopharmacology**, [s. l.], v. 25, n. 8, p. 1088–1100, 2011.

KENNEDY, David *et al.* Volatile Terpenes and Brain Function: Investigation of the Cognitive and Mood Effects of *Mentha × Piperita* L. Essential Oil with In Vitro Properties Relevant to Central Nervous System Function. **Nutrients**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. 1029, 2018.

KENNEDY, David; SCHOLEY, Andrew. The Psychopharmacology of European Herbs with Cognition-Enhancing Properties. **Current Pharmaceutical Design**, [s. l.], v. 12, n. 35, p. 4613–4623, 2006.

KLEIJER, Kristel T. E. *et al.* Neurobiology of autism gene products: towards pathogenesis and drug targets. **Psychopharmacology**, [s. l.], v. 231, n. 6, p. 1037–1062, 2014.

KNIGHT, AntonyR. *et al.* Pharmacological characterisation of the agonist radioligand binding site of 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} and 5-HT_{2C} receptors. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, [s. l.], v. 370, n. 2, 2004. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00210-004-0951-4>. Acesso em: 20 set. 2024.

KOCSIS, Bernat; LEE, Peia; DETH, Richard. Enhancement of gamma activity after selective activation of dopamine D₄ receptors in freely moving rats and in a neurodevelopmental model of schizophrenia. **Brain Structure and Function**, [s. l.], v. 219, n. 6, p. 2173–2180, 2014.

KOES, David Ryan; BAUMGARTNER, Matthew P.; CAMACHO, Carlos J. Lessons Learned in Empirical Scoring with smina from the CSAR 2011 Benchmarking Exercise. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 53, n. 8, p. 1893–1904, 2013.

KOLEVZON, Alexander; MATHEWSON, Karen A.; HOLLANDER, Eric. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors in Autism: A Review of Efficacy and Tolerability. **The Journal of Clinical Psychiatry**, [s. l.], v. 67, n. 03, p. 407–414, 2006.

KONFO, Tétédéd Rodrigue Christian *et al.* Essential oils as natural antioxidants for the control of food preservation. **Food Chemistry Advances**, [s. l.], v. 2, p. 100312, 2023.

KONGSAMUT, Sathapana *et al.* A comparison of the receptor binding and HERG channel affinities for a series of antipsychotic drugs. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 450, n. 1, p. 37–41, 2002.

KOSAKA, H *et al.* Oxytocin efficacy is modulated by dosage and oxytocin receptor genotype in young adults with high-functioning autism: a 24-week randomized clinical trial. **Translational Psychiatry**, [s. l.], v. 6, n. 8, p. e872–e872, 2016.

KROEZE, Wesley K *et al.* H₁-Histamine Receptor Affinity Predicts Short-Term Weight

Gain for Typical and Atypical Antipsychotic Drugs. **Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 519–526, 2003.

LACIVITA, Enza *et al.* Knowledge-Based Design of Long-Chain Arylpiperazine Derivatives Targeting Multiple Serotonin Receptors as Potential Candidates for Treatment of Autism Spectrum Disorder. **ACS Chemical Neuroscience**, [s. l.], v. 12, n. 8, p. 1313–1327, 2021.

LACIVITA, Enza *et al.* Targets for Drug Therapy for Autism Spectrum Disorder: Challenges and Future Directions. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 60, n. 22, p. 9114–9141, 2017.

LEE, Jieon *et al.* Modulation of Serotonin Receptors in Neurodevelopmental Disorders: Focus on 5-HT₇ Receptor. **Molecules**, [s. l.], v. 26, n. 11, p. 3348, 2021.

LINCOLN TAIZ ET AL. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. tradução: Júlio César de Lima; Paulo Luiz de Oliveira. 7. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2024.

LIU, Chunhua *et al.* Administration of Atosiban, an oxytocin receptor antagonist, ameliorates autistic-like behaviors in a female rat model of valproic acid-induced autism. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 469, p. 115052, 2024.

LOTH, Eva *et al.* Identification and validation of biomarkers for autism spectrum disorders. **Nature Reviews Drug Discovery**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 70–70, 2016.

LU, Jin-Jian *et al.* Multi-Target Drugs: The Trend of Drug Research and Development. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. e40262, 2012.

LU, Leanne; WILLIAMS, Gareth; DOHERTY, Patrick. 2-Linoleoylglycerol Is a Partial Agonist of the Human Cannabinoid Type 1 Receptor that Can Suppress 2-Arachidonoylglycerol and Anandamide Activity. **Cannabis and Cannabinoid Research**, [s. l.], v. 4, n. 4, p. 231–239, 2019.

LUK, Terry *et al.* Identification of a potent and highly efficacious, yet slowly desensitizing CB₁ cannabinoid receptor agonist. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 142, n. 3, p. 495–500, 2004.

LYNCH, Tom *et al.* Brief interventions targeting long-term benzodiazepine and Z-drug use in primary care: a systematic review and meta-analysis. **Addiction**, [s. l.], v. 115, n. 9, p. 1618–1639, 2020.

MAENNER, Matthew J. *et al.* Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2020. **MMWR. Surveillance Summaries**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 1–14, 2023.

MANDIC-MARAVIC, Vanja *et al.* Dopamine in Autism Spectrum Disorders—Focus on D₂/D₃ Partial Agonists and Their Possible Use in Treatment. **Frontiers in Psychiatry**, [s. l.], v. 12, p. 787097, 2022.

MANNING, M *et al.* Peptide and non-peptide agonists and antagonists for the vasopressin and oxytocin V_{1a}, V_{1b}, V₂ and OT receptors: research tools and potential

therapeutic agents☆. *In: PROGRESS IN BRAIN RESEARCH*. [S. l.]: Elsevier, 2008. v. 170, p. 473–512. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079612308004378>. Acesso em: 20 set. 2024.

MARIANO, Diego C. B. *et al.* **A guide to performing systematic literature reviews in bioinformatics**. [S. l.]: arXiv, 2017. Disponível em: <https://arxiv.org/abs/1707.05813>. Acesso em: 31 jul. 2024.

MATRISCIANO, Francesco *et al.* Altered Expression and In Vivo Activity of mGlu5 Variant a Receptors in the Striatum of BTBR Mice: Novel Insights Into the Pathophysiology of Adult Idiopathic Forms of Autism Spectrum Disorders. **Current Neuropharmacology**, [s. l.], v. 20, n. 12, p. 2354–2368, 2022.

MENNINI, Tiziana; GOBBI, Marco. The antidepressant mechanism of *Hypericum perforatum*. **Life Sciences**, [s. l.], v. 75, n. 9, p. 1021–1027, 2004.

MESSINA, Federica *et al.* Cannabis and Bioactive Cannabinoids. *In: STUDIES IN NATURAL PRODUCTS CHEMISTRY*. [S. l.]: Elsevier, 2015. v. 45, p. 17–57. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444634733000022>. Acesso em: 20 set. 2024.

MIERAU, Joachim *et al.* Pramipexole binding and activation of cloned and expressed dopamine D2, D3 and D4 receptors. **European Journal of Pharmacology: Molecular Pharmacology**, [s. l.], v. 290, n. 1, p. 29–36, 1995.

MIJATOVIC, Stefan *et al.* Antifungal Activity of *Lavandula angustifolia* Essential Oil against *Candida albicans*: Time-Kill Study on Pediatric Sputum Isolates. **Molecules**, [s. l.], v. 27, n. 19, p. 6300, 2022.

MILLAN, Mark J. *et al.* Differential Actions of Antiparkinson Agents at Multiple Classes of Monoaminergic Receptor. I. A Multivariate Analysis of the Binding Profiles of 14 Drugs at 21 Native and Cloned Human Receptor Subtypes. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [s. l.], v. 303, n. 2, p. 791–804, 2002.

MILLAN, M. J. *et al.* The Novel Melatonin Agonist Agomelatine (S20098) Is an Antagonist at 5-Hydroxytryptamine_{2C} Receptors, Blockade of Which Enhances the Activity of Frontocortical Dopaminergic and Adrenergic Pathways. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [s. l.], v. 306, n. 3, p. 954–964, 2003.

MOHAMED, Amal A.; ALOTAIBI, Bader M. Essential oils of some medicinal plants and their biological activities: a mini review. **Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 40–49, 2023.

MSAADA, Kamel *et al.* VARIATIONS IN ESSENTIAL OIL COMPOSITION DURING MATURATION OF CORIANDER (*CORIANDRUM SATIVUM* L.) FRUITS. **Journal of Food Biochemistry**, [s. l.], v. 33, n. 5, p. 603–612, 2009.

MUCCIOLI, G.; LAMBERT, D. Current Knowledge on the Antagonists and Inverse Agonists of Cannabinoid Receptors. **Current Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 12, n. 12, p. 1361–1394, 2005.

MUTLUER, Tuba *et al.* Population-Based Psychiatric Comorbidity in Children and Adolescents With Autism Spectrum Disorder: A Meta-Analysis. **Frontiers in Psychiatry**, [s. l.], v. 13, p. 856208, 2022.

NAKAMURA, Shigeki *et al.* Characterization of a novel nonpeptide vasopressin V₂ - agonist, OPC-51803, in cells transfected human vasopressin receptor subtypes. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 129, n. 8, p. 1700–1706, 2000.

NICKOLS, H. H. *et al.* VU0477573: Partial Negative Allosteric Modulator of the Subtype 5 Metabotropic Glutamate Receptor with In Vivo Efficacy. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [s. l.], v. 356, n. 1, p. 123–136, 2015.

NIEDERHOFER, Helmut. St John's Wort treating patients with autistic disorder. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 23, n. 11, p. 1521–1523, 2009.

OLIVEIRA, Carlos Vinicius Barros *et al.* A Potential New Source of Therapeutic Agents for the Treatment of Mucocutaneous Leishmaniasis: The Essential Oil of *Rhaphiodon echinus*. **Molecules**, [s. l.], v. 27, n. 7, p. 2169, 2022.

OLIVEIRA RAMOS, Fernanda Ingrid *et al.* Correlations between stereotypies in ASD and neurotransmitters: a systematic review. **Revista Neurociências**, [s. l.], v. 31, p. 1–40, 2023.

OSUNTOKUN, Oludare Temitope. Prospects of Essential Oils in Drug Discovery. **Advances in Cytology & Pathology**, [s. l.], v. 2, n. 1, 2017. Disponível em: <https://medcraveonline.com/ACP/prospects-of-essential-oils-in-drug-discovery.html>. Acesso em: 24 jul. 2024.

OYEDEJI, Opeoluwa O. *et al.* Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oils of *Callistemon citrinus* and *Callistemon viminalis* from South Africa. **Molecules**, [s. l.], v. 14, n. 6, p. 1990–1998, 2009.

PANDEY, Abhay K. *et al.* Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 7, 2017. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.02161/full>. Acesso em: 24 jul. 2024.

PANGRAZZI, Luca; BALASCO, Luigi; BOZZI, Yuri. Natural Antioxidants: A Novel Therapeutic Approach to Autism Spectrum Disorders?. **Antioxidants**, [s. l.], v. 9, n. 12, p. 1186, 2020.

PARCHA, Versha; BHANDARI, Pankaj. *Cyperus scariosus* rhizome essential oil - physio-chemical characteristics and anxiolytic potential. **Universities' Journal of Phytochemistry and Ayurvedic Heights**, [s. l.], v. I, n. 34, p. 1–8, 2023.

PICH, Emilio Merlo; COLLO, Ginetta. Pharmacological targeting of dopamine D3 receptors: Possible clinical applications of selective drugs. **European Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 25, n. 9, p. 1437–1447, 2015.

PIN, Jean-Philippe *et al.* New perspectives for the development of selective metabotropic glutamate receptor ligands. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 375, n. 1–3, p. 277–294, 1999.

POPOVA, Aneta; MIHAYLOVA, Dasha; ALEXIEVA, Iordanka; DESEVA, Ivelina; DALEMSKA. **Melissa officinalis L.: GC profile and antioxidant activity.** *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, v. 8, p. 634–638, 2016.

PORTER, Richard H. P. *et al.* Fenobam: A Clinically Validated Nonbenzodiazepine Anxiolytic Is a Potent, Selective, and Noncompetitive mGlu5 Receptor Antagonist with Inverse Agonist Activity. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [s. l.], v. 315, n. 2, p. 711–721, 2005.

PURGERT, Carolyn A. *et al.* Intracellular mGluR5 Can Mediate Synaptic Plasticity in the Hippocampus. **The Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 34, n. 13, p. 4589–4598, 2014.

QNEIBI, Mohammad *et al.* A Comprehensive Review of Essential Oils and Their Pharmacological Activities in Neurological Disorders: Exploring Neuroprotective Potential. **Neurochemical Research**, [s. l.], v. 49, n. 2, p. 258–289, 2024.

QUIROGA, Rodrigo; VILLARREAL, Marcos A. Vinardo: A Scoring Function Based on Autodock Vina Improves Scoring, Docking, and Virtual Screening. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 11, n. 5, p. e0155183, 2016.

RATNI, Hasane *et al.* Discovery of Highly Selective Brain-Penetrant Vasopressin 1a Antagonists for the Potential Treatment of Autism via a Chemogenomic and Scaffold Hopping Approach. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 58, n. 5, p. 2275–2289, 2015.

REBOUÇAS DE ARAÚJO, Ítalo Diego *et al.* Chemical composition and evaluation of the antibacterial and Cytotoxic activities of the essential oil from the leaves of *Myracrodruon urundeuva*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 419, 2017.

RICCI, Alberto *et al.* Localisation of dopamine D3 receptor in the rat cerebellar cortex: a light microscope autoradiographic study. **Neuroscience Letters**, [s. l.], v. 190, n. 3, p. 163–166, 1995.

ROMBOLÀ, Laura *et al.* Role of 5-HT1A Receptor in the Anxiolytic-Relaxant Effects of Bergamot Essential Oil in Rodent. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 21, n. 7, p. 2597, 2020.

ROUBERTOUX, Pierre L. *et al.* Construct Validity and Cross Validity of a Test Battery Modeling Autism Spectrum Disorder (ASD) in Mice. **Behavior Genetics**, [s. l.], v. 50, n. 1, p. 26–40, 2020.

SALA, Mariaelvina *et al.* Pharmacologic Rescue of Impaired Cognitive Flexibility, Social Deficits, Increased Aggression, and Seizure Susceptibility in Oxytocin Receptor Null Mice: A Neurobehavioral Model of Autism. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 69, n. 9, p. 875–882, 2011.

SAMADI, Mahtab *et al.* Assessing the kinetic model of hydro-distillation and chemical

composition of *Aquilaria malaccensis* leaves essential oil. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 216–222, 2017.

SARD, Howard *et al.* SAR of psilocybin analogs: Discovery of a selective 5-HT_{2C} agonist. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s. l.], v. 15, n. 20, p. 4555–4559, 2005.

SAYORWAN, Winai. Effects of Inhaled Rosemary Oil on Subjective Feelings and Activities of the Nervous System. **Scientia Pharmaceutica**, [s. l.], v. 81, n. 2, p. 531–542, 2013.

SCHEPETKIN, Igor A. *et al.* Neutrophil Immunomodulatory Activity of (–)-Borneol, a Major Component of Essential Oils Extracted from *Grindelia squarrosa*. **Molecules**, [s. l.], v. 27, n. 15, p. 4897, 2022.

SCHNIDER, Patrick *et al.* Discovery of Balovaptan, a Vasopressin 1a Receptor Antagonist for the Treatment of Autism Spectrum Disorder. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 63, n. 4, p. 1511–1525, 2020.

SCHOEPP, Darryle D.; JANE, David E.; MONN, James A. Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors. **Neuropharmacology**, [s. l.], v. 38, n. 10, p. 1431–1476, 1999.

SCHWOB, Isabelle; BESSIÈRE, Jean-Marie; VIANO, Josette. Composition of the essential oils of *Hypericum perforatum* L. from southeastern France. **Comptes Rendus. Biologies**, [s. l.], v. 325, n. 7, p. 781–785, 2002.

SEEMAN, Philip. Antipsychotic drugs, dopamine receptors, and schizophrenia. **Clinical Neuroscience Research**, [s. l.], v. 1, n. 1–2, p. 53–60, 2001.

SERRADEIL-LE GAL, Claudine *et al.* SSR126768A (4-Chloro-3-[(3*R*)-(+)-5-chloro-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-indol-3-yl]-*N*-ethyl-*N*-(3-pyridylmethyl)-benzamide, Hydrochloride): A New Selective and Orally Active Oxytocin Receptor Antagonist for the Prevention of Preterm Labor. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [s. l.], v. 309, n. 1, p. 414–424, 2004.

SHAO, Zhenhua *et al.* High-resolution crystal structure of the human CB1 cannabinoid receptor. **Nature**, [s. l.], v. 540, n. 7634, p. 602–606, 2016.

SHARMA, Samata R.; GONDA, Xenia; TARAZI, Frank I. Autism Spectrum Disorder: Classification, diagnosis and therapy. **Pharmacology & Therapeutics**, [s. l.], v. 190, p. 91–104, 2018.

SHELTON, Richard C. St John's Wort (*Hypericum perforatum*) in Major Depression. **The Journal of Clinical Psychiatry**, [s. l.], v. 70, n. suppl 5, p. 23–27, 2009.

SHI, Qi *et al.* L-Homocysteine Sulfinic Acid and Other Acidic Homocysteine Derivatives Are Potent and Selective Metabotropic Glutamate Receptor Agonists. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [s. l.], v. 305, n. 1, p. 131–142, 2003.

SILVA, C. J. Water stress-induced changes in the physiology of *Callistemon*

viminalis, essential oil composition and predicted biological activity. *Advances in Agricultural and Life Sciences*, Zittau, v. 5, p. 125-149, 2021.

SILVERMAN, Jill L. *et al.* Negative Allosteric Modulation of the mGluR5 Receptor Reduces Repetitive Behaviors and Rescues Social Deficits in Mouse Models of Autism. **Science Translational Medicine**, [s. l.], v. 4, n. 131, 2012. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.3003501>. Acesso em: 13 jan. 2025.

SMERIGLIO, Antonella *et al.* Essential oil of Citrus lumia Risso: Phytochemical profile, antioxidant properties and activity on the central nervous system. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 119, p. 407–416, 2018.

SNYDER, Gretchen L. *et al.* Functional profile of a novel modulator of serotonin, dopamine, and glutamate neurotransmission. **Psychopharmacology**, [s. l.], v. 232, n. 3, p. 605–621, 2015.

SOARES, Giselle A. Borges E *et al.* Exploring Pharmacological Mechanisms of Essential Oils on the Central Nervous System. **Plants**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 21, 2021.

SOKOLOFF, Pierre *et al.* Pharmacology of human dopamine D3 receptor expressed in a mammalian cell line: comparison with D2 receptor. **European Journal of Pharmacology: Molecular Pharmacology**, [s. l.], v. 225, n. 4, p. 331–337, 1992.

SOLER-CEDENO, Omar; XI, Zheng-Xiong. Neutral CB1 Receptor Antagonists as Pharmacotherapies for Substance Use Disorders: Rationale, Evidence, and Challenge. **Cells**, [s. l.], v. 11, n. 20, p. 3262, 2022.

STANZIONE, Francesca; GIANGRECO, Ilenia; COLE, Jason C. Use of molecular docking computational tools in drug discovery. *In*: PROGRESS IN MEDICINAL CHEMISTRY. [S. l.]: Elsevier, 2021. v. 60, p. 273–343. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079646821000047>. Acesso em: 29 abr. 2025.

STEWART, Adam Michael *et al.* Developing zebrafish models of autism spectrum disorder (ASD). **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 50, p. 27–36, 2014.

SUTKEVICIUTE, Ieva; VILARDAGA, Jean-Pierre. Structural insights into emergent signaling modes of G protein–coupled receptors. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 295, n. 33, p. 11626–11642, 2020.

TAHARA, Atsuo *et al.* Effects of YM218, a nonpeptide vasopressin V1A receptor-selective antagonist, on human vasopressin and oxytocin receptors. **Pharmacological Research**, [s. l.], v. 51, n. 3, p. 275–281, 2005.

TAHARA, A. *et al.* Pharmacological characterization of YM087, a potent, nonpeptide human vasopressin V1A and V2 receptor antagonist. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, [s. l.], v. 357, n. 1, p. 63–69, 1997.

THE UNIPROT CONSORTIUM *et al.* UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 51, n. D1, p. D523–D531, 2023.

THIBONNIER, Marc *et al.* The Human V₃ Pituitary Vasopressin Receptor: Ligand Binding Profile and Density-Dependent Signaling Pathways ¹. **Endocrinology**, [s. l.], v. 138, n. 10, p. 4109–4122, 1997.

THOMSEN, William J. *et al.* Lorcaserin, a Novel Selective Human 5-Hydroxytryptamine_{2C} Agonist: in Vitro and in Vivo Pharmacological Characterization. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [s. l.], v. 325, n. 2, p. 577–587, 2008.

TONGNUANCHAN, Phakawat; BENJAKUL, Soottawat. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 79, n. 7, 2014. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1750-3841.12492>. Acesso em: 25 jul. 2024.

TSUKADA, Junko *et al.* Effects of YM471, a nonpeptide AVP V_{1A} and V₂ receptor antagonist, on human AVP receptor subtypes expressed in CHO cells and oxytocin receptors in human uterine smooth muscle cells. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 133, n. 5, p. 746–754, 2001.

UBA, Abdullahi Ibrahim *et al.* Binding of agonist WAY-267,464 and antagonist WAY-methylated to oxytocin receptor probed by all-atom molecular dynamics simulations. **Life Sciences**, [s. l.], v. 252, p. 117643, 2020.

URDANETA, Kendy Eduardo *et al.* Autism Spectrum Disorders: Potential Neuro-Psychopharmacotherapeutic Plant-Based Drugs. **ASSAY and Drug Development Technologies**, [s. l.], v. 16, n. 8, p. 433–444, 2018.

VARADY, Judith *et al.* Molecular Modeling of the Three-Dimensional Structure of Dopamine 3 Subtype Receptor: Discovery of Novel and Potent D3 Ligands through a Hybrid Pharmacophore- and Structure-Based Database Searching Approach. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 46, n. 21, p. 4377–4392, 2003.

VIANA, Max Denisson Mauricio *et al.* Citrus limon (L.) Burm f. Essential Oil Has Anxiolytic and Sedative Properties by Modulating GABAA-Receptors. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [s. l.], v. 63, p. e20200206, 2020.

VIZZOTTO, Marcia; KROLOW, Ana Cristina; WEBER, Gisele Eva Bruch. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Embrapa Clima Temperado, , 2010. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/44093/1/documento-316.pdf>.

VUKIĆ, Milena D.; BRANKOVIĆ, Jovica; RISTIĆ, Marija S. GC, GC/MS analysis, and biological effects of Citrus aurantium amara essential oil. **Acta Horticulturae et Regiotecturae**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 21–27, 2023.

WANG, Ze-Jun; HEINBOCKEL, Thomas. Essential Oils and Their Constituents Targeting the GABAergic System and Sodium Channels as Treatment of Neurological Diseases. **Molecules**, [s. l.], v. 23, n. 5, p. 1061, 2018.

YAMAMURA, Y. *et al.* OPC-41061, a highly potent human vasopressin V₂-receptor antagonist: pharmacological profile and aquaretic effect by single and multiple oral dosing in rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [s. l.],

l.], v. 287, n. 3, p. 860–867, 1998.

YANG, Hyejin *et al.* α -Pinene, a Major Constituent of Pine Tree Oils, Enhances Non-Rapid Eye Movement Sleep in Mice through GABA_A-benzodiazepine Receptors. **Molecular Pharmacology**, [s. *l.*], v. 90, n. 5, p. 530–539, 2016.

YAO, Fang *et al.* Protein Biomarkers of Autism Spectrum Disorder Identified by Computational and Experimental Methods. **Frontiers in Psychiatry**, [s. *l.*], v. 12, p. 554621, 2021.

YOUN, Dong-ho; WEON, Haein. Endogenous TRPC channels mediate Ca²⁺ signals and trigeminal synaptic plasticity induced by mGluR5. **Life Sciences**, [s. *l.*], v. 231, p. 116567, 2019.

ZANTOMIO, Daniela *et al.* Convergent evidence for mGluR5 in synaptic and neuroinflammatory pathways implicated in ASD. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [s. *l.*], v. 52, p. 172–177, 2015.

ZEIDAN, Jinan *et al.* Global prevalence of autism: A systematic review update. **Autism Research**, [s. *l.*], v. 15, n. 5, p. 778–790, 2022.

ZHOU, Ya *et al.* Further optimization of the mGlu5 PAM clinical candidate VU0409551/JNJ-46778212: Progress and challenges towards a back-up compound. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s. *l.*], v. 25, n. 17, p. 3515–3519, 2015.

Apêndice

ID	Sigla	Nome	Sinônimos	Família
1	VPS4B	Vacuolar protein sorting-associated protein 4B	Cell migration-inducing gene 1 protein,Suppressor of K(+) transport growth defect 1, Protein SKD1, SKD1, VPS4B, MIG1	AAA ATPase
2	CFTR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator	ATP-binding cassette sub-family C member 7,Channel conductance-controlling ATPase, cAMP-dependent chloride channel , ABCC7, CFTR	ABCC
3	CD157	Bone marrow stromal cell antigen 1 , ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase 2	BST1, ADP-ribosyl cyclase 2, cADPR hydrolase 2, CD157	ADP-ribosil ciclases
4	AKT1	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	Protein kinase B, Protein kinase B alpha, PKB alpha, Proto-oncogene c-Ak, RAC-PK-alpha, PKB, RAC	AGC Ser/Thr protein kinase
5	PIWIL1	Piwi-like protein 1	HIWI	Argonaute
6	Arrb2	Beta-arrestin-2	Arrestin beta-2, Non-visual arrestin-3, ARB2, ARR2, Arrb2	Arrestin
7	AUTS2	Autism susceptibility gene 2 protein	KIAA0442, AUTS2	AUTS2
8	TCF20	Transcription factor 20	CF-20, Nuclear factor SPBP, Protein ARI1, Stromelysin-1 PDGF-responsive element-binding protein, SPRE-binding protein	Basic helix-loop-helix (bHLH)
9	CREB	Cyclic AMP-responsive element-binding protein 1	CREB-1, cAMP-responsive element-binding protein 1	bZIP
10	CDHR5	Cadherin-related family member 5	Mu-protocadherin, Mucin and cadherin-like protein, Mucin-like protocadherin, MLPCDH, CDHR5, MUCDHL, MUPCDH	Cadherin
11	CAMK1	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type 1	CaM kinase I, CaM-KI,CaM kinase I alpha, CaMKI-alpha	CAMK1 Ser/Thr protein kinase
12	MCP-1	C-C motif chemokine 2	HC11, Monocyte chemoattractant protein 1, Monocyte chemotactic and activating factor, MCAF, Monocyte chemotactic protein 1, MCP-1, Monocyte secretory protein JE Small-inducible cytokine A2, CCL2, MCP1, SCYA2	Chemokines
13	IFNγ	interferon γ-inducible protein, interferon γ-inducible protein	IFN-gamma, Immune interferon, IFN-γ	Chemokines
14	IL-8	Interleukin-8	C-X-C motif chemokine 8, Chemokine ligand 8, Emotakin, Granulocyte chemotactic protein 1, GCP-1, Monocyte-derived neutrophil chemotactic factor, MDNCF , CXCL8, IL8, IL8R	Chemokines
15	COX-2	cyclooxygenase-2		Ciclooxygenases
16	CLDN5	Claudin-5	Transmembrane protein deleted in VCFS, TMDVCF	Claudin
17	HIPK2	homeodomain interacting protein kinase 2	hHIPk2, HIPK2	CMGC Ser/Thr protein kinase

18	PDE1B	Dual specificity calcium/calmodulin-dependent 3 5-cyclic nucleotide phosphodiesterase 1B	Cam-PDE 1B, PDES1B, 63 kDa Cam-PDE	Cyclic nucleotide phosphodiesterase
19	PDE1A	Dual specificity calcium/calmodulin-dependent 3 5-cyclic nucleotide phosphodiesterase 1A	Cam-PDE 1A, 61 kDa Cam-PDE,hCam-1	Cyclic nucleotide phosphodiesterase
20	PDE3A	CGMP-inhibited 3 5 -cyclic phosphodiesterase 3A,5-cyclic phosphodiesterase 3A	Cyclic GMP-inhibited phosphodiesterase A, CGI-PDE A, cGMP-inhibited cAMP phosphodiesterase, cGI-PDE, PDE3	Cyclic nucleotide phosphodiesterase
21	CYP2C19	cytochrome P450 monooxygenase		Cytochrome P450
22	CYP2D6	Cytochrome P450 2D6		Cytochrome P450
23	IL-16	Pro-interleukin-16	IL16, Interleukin-16	Cytokines
24	IL-1B	Interleukin-1 beta	IL1b, IL-1b	Cytokines
25	IL-2	Interleukin-2	T-cell growth factor, TCGF, Aldesleukin, IL2	Cytokines
26	IL-23	Interleukin-23	IL23R, IL-23 receptor, IL-23R, IL23R, IL23, IL-23	Cytokines
27	IL-31	Interleukin-31	IL31, IL31, IL-31	Cytokines
28	IL-33	Interleukin-33	Interleukin-1 family member 11, IL-1F11, Nuclear factor from high endothelial venules, NF-HEV, IL33R, IL33-R , C9orf26, IL1F11, NFHEV	Cytokines
29	IL-9	Interleukin-9	Interleukin-9 receptor, IL9R, IL-9 receptor, IL-9R, Cytokine P40, T-cell growth factor P40	Cytokines
30	IL6	Interleukin-6	B-cell stimulatory factor 2, BSF-2 CTL differentiation factor, CDF Hybridoma growth factor Interferon beta-2, IFN-beta-2, IL-6	Cytokines
31	IL-17	Interleukin-17A	IL17, IL17	Cytokines
32	IL3	Interleukin-3	IL3, IL-3, Hematopoietic growth factor, Mast cell growth factor, MCGF, Multipotential colony-stimulating factor, P-cell-stimulating factor	Cytokines
33	IL-10	Interleukin-10	IL10, Cytokine synthesis inhibitory factor, CSIF	Cytokines
34	SLC1A2	Excitatory amino acid transporter 2	Glutamate aspartate transporter II,Sodium-dependent glutamate/aspartate transporter 2, Solute carrier family 1 member 2, EAAT2, GLT1	Dicarboxylate/amino acid
35	Dip2a	Disco-interacting protein 2 homolog A	DIP2A, DIP2 homolog A, C21orf106, DIP2, KIAA0184	Disconnected interacting protein
36	NECAB2	N-terminal EF-hand calcium-binding protein 2	EF-hand calcium-binding protein 2, Neuronal calcium-binding protein 2, Synaptotagmin-interacting protein 2, Stip-2, EFCBP2	EF-hand Ca ²⁺ -binding protein
37	NECAB1	N-terminal EF-hand calcium-binding protein 1	EF-hand calcium-binding protein 1, Neuronal calcium-binding protein 1, EFCBP1	EF-hand Ca ²⁺ -binding protein
38	HME2	Homeobox protein engrailed-2	Homeobox protein en-2, Hu-En-2, EN2	Engrailed Homeobox

39	MAOA	Amine oxidase flavin-containing A	Monoamine oxidase type A, MAO-A, MAO A,	Flavin monoamine oxidase
40	PPP2R2B	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 55 kDa regulatory subunit B beta isoform	PP2A subunit B isoform B55-beta, PP2A subunit B isoform PR55-beta, PP2A subunit B isoform R2-beta, PP2A subunit B isoform beta, PP2A	Fosfatase 2A (PP2A)
41	FOXO3	Forkhead box protein O3	AF6q21, protein Forkhead in rhabdomyosarcoma-like 1, FKHL1, FOXO3A	FOX Forkhead box
42	FOXP1	Forkhead box protein P1		FOX Forkhead box
43	Gadd45	Growth arrest and DNA damage-inducible protein GADD45 alpha	DNA damage-inducible transcript 1 protein, DDIT-1, DDIT1, GADD45, GADD45A	Gadd45
44	NMDAR	Glutamate receptor ionotropic	NMDA 3A, N-methyl-D-aspartate receptor subtype 3A, NMDAR3A, NR3A, NMDAR-L, NMDA	Glutamate-gated ion channel
45	GRID1	Glutamate receptor ionotropic delta-1	GluD1, GluR delta-1 subunit, KIAA1220	Glutamate-gated ion channel
46	GRID2	Glutamate receptor ionotropic delta-2	GluD2, GluR delta-2 subunit, GLURD2	Glutamate-gated ion channel
47	Gria1	Glutamate receptor 1	GRIA1, AMPA-selective glutamate receptor 1, GluR-A, GluR-K1, Glutamate receptor ionotropic AMPA 1, GluA1, GLUH1, GLUR1, GluR-1	Glutamate-gated ion channel
48	Gria2	Glutamate receptor 2	GluR-2, AMPA-selective glutamate receptor 2, GluR-B, GluR-K2, Glutamate receptor ionotropic AMPA 2, GluA2, GLUR2	Glutamate-gated ion channel
49	GAD1	Glutamate decarboxylase 1	67 kDa glutamic acid decarboxylase, GAD-67, Glutamate decarboxylase 67 kDa isoform, GAD, GAD67	Glutamic acid decarboxylases
50	GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	GAPDH, Peptidyl-cysteine S-nitrosylase GAPDH, CDABP0047, GAPD	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
51	RXFP4	Relaxin-3 receptor 2	G-protein coupled receptor 100, G-protein coupled receptor GPCR142, Insulin-like peptide INSL5 receptor, Relaxin family peptide receptor 4, GPCR142, GPR100, RLN3R2	GPCR
52	GPR139	Probable G-protein coupled receptor 139	GPRG1, PGR3, GPRg1, PGR3	GPCR
53	P2Y2	P2Y purinoceptor 2	ATP receptor, P2U purinoceptor 1, P2U1, P2U receptor 1, Purinergic receptor, P2RY2, P2RU1	GPCR
54	P2Y1	P2Y purinoceptor 1	P2RY1, ADP receptor	GPCR
55	5-HT1A	5-hydroxytryptamine receptor 1A	5HT1A, G-21 Serotonin receptor 1A, 5-HT-1A,	GPCR
56	5-HT2A	5-hydroxytryptamine receptor 2A	HTR2A, 5-HT-2, 5-HT-2A, Serotonin receptor 2A, 5-HT-2, 5-HT-2A, Serotonin receptor 2A, 5HT-2, 5HT-2A	GPCR
57	5-HT7	5-hydroxytryptamine receptor 7	5-HT-7, 5-HT-X Serotonin receptor 7, 5-HT7R	GPCR

58	5HTR6	5-hydroxytryptamine receptor 6	5-HT-6, 5-HT6, Serotonin receptor 6	GPCR
59	AVPR1A	Vasopressin V1a receptor	V1aR, AVPR V1a, Antidiuretic hormone receptor 1a, Vascular/hepatic-type arginine vasopressin receptor, Avpr1a	GPCR
60	CNR1	Cannabinoid receptor 1	CANN6, CB-R, CB1, CNR	GPCR
61	CNR2	Cannabinoid receptor 2	CB-2, CB2, hCB2, CX5, CB2A, CB2B	GPCR
62	DRD2	D(2) dopamine receptor	Dopamine D2 receptor, D2	GPCR
63	DRD3	D(3) dopamine receptor	Dopamine D3 receptor, D3	GPCR
64	DRD4	D(4) dopamine receptor	D(2C) dopamine receptor, D4, Dopamine D4 receptor	GPCR
65	GHS-R	Growth hormone secretagogue receptor type 1	GHSR	GPCR
66	GPED	G-protein coupled estrogen receptor 1	Chemoattractant receptor-like 2, Flow-induced endothelial G-protein coupled receptor 1, FEG-1, G protein-coupled estrogen receptor 1, G-protein coupled receptor 30, GPCR-Br	GPCR
67	GPR17	Uracil nucleotide/cysteinyl leukotriene receptor	UDP/CysLT receptor, G-protein coupled receptor 17, P2Y-like receptor, R12	GPCR
68	GPR55	G-protein coupled receptor 55	GPR55	GPCR
69	GRK2	G protein-coupled receptor kinase 2	Beta-adrenergic receptor kinase 1, Beta-ARK-1, ADRBK1, BARK, BARK1	GPCR
70	GRM1	Metabotropic glutamate receptor 1	mGluR1, GPRC1A, MGLUR1, Grm1	GPCR
71	GRM5	Metabotropic glutamate receptor 5	GPRC1E, MGLUR5, PPP1R86, glutamate metabotropic receptor 5, mGluR5, Grm5	GPCR
72	GRM7	Metabotropic glutamate receptor 7	GRM7, GPRC1G, MGLUR7, GPRC1E, MGLUR5, PPP1R86, glutamate metabotropic receptor 7, mGluR7	GPCR
73	MT1	Melatonin receptor type 1A	MeSe, Mel-1A-R, Mella receptor	GPCR
74	OPRM1	Mu-type opioid receptor	M-OR-1, MOR-1, Mu opiate receptor Mu opioid receptor, MOP, hMOP, MOR1	GPCR
75	OXTTR	Oxytocin receptor		GPCR
76	PTGER2	Prostaglandin E2 receptor EP2 subtype	Prostaglandin E2, PGE2, prostaglandin-EP2	GPCR
77	RXFP3	Relaxin-3 receptor 1	G protein-coupled receptor SALPR, G-protein coupled receptor GPCR135, Relaxin family peptide receptor 3, Somatostatin- and angiotensin-like peptide receptor, RLN3 receptor 1, GPCR135, RLN3R1, SALPR	GPCR
78	V1bR	Vasopressin V1b receptor	AVPR1B, AVPR V1b, AVPR V3, Antidiuretic hormone receptor 1b, Vasopressin V3 receptor, AVPR3, VPR3	GPCR

79	EDNRA	Endothelin-1 receptor	ETA, ETRA, Endothelin receptor type A	GPCR
80	CHRM1	Muscarinic acetylcholine receptor M1	CHRM1	GPCR
81	TMEM165	Transmembrane protein 165	Transmembrane protein PT27, Transmembrane protein TPARG, TMEM165, TPARG	GTD1
82	MFN2	Mitofusin-2	MFF	GTPases Dinaminas
83	OPA1	Dynamin-like 120 kDa protein	Optic atrophy protein 1, Dynamin-like 120 kDa protein, form S1, KIAA0567	GTPases Dinaminas
84	DRP1	Dinamin-Related Protein 1	DENR	GTPases Dinaminas
85	HSP70	Heat shock 70 kDa protein	HSP, Heat shock 70, HspBP1, Heat shock protein-binding protein 1, Hsp70-binding protein 2, HSPBP, PP1845 Hsp70-interacting protein 1, HSPBP1, Hsp70-interacting protein 2,	Heat shock protein
86	HDAC2	Histone deacetylase 2	HD2, Protein deacylase HDAC2	Histone deacetylase
87	G9a-like	Histone-lysine N-methyltransferase EHMT2	KMT1C , EHMT2, Euchromatic histone-lysine N-methyltransferase 2, HLA-B-associated transcript 8, Histone H3-K9 methyltransferase 3 , H3-K9-HMTase 3, Lysine N-methyltransferase 1C, Protein G9a	Histone lysine methyltransferase
88	SETD5	Histone-lysine N-methyltransferase SETD5	KIAA1757	Histone lysine methyltransferase
89	ASH1L	Histone-lysine N-methyltransferase ASH1L	ASH1-like protein, huASH1, Absent small and homeotic disks protein 1 homolog, Lysine N-methyltransferase 2H, KIAA1420, KMT2H, Ash1L	Histone lysine methyltransferase
90	TIM-3	Hepatitis A virus cellular receptor 2	HAVcr-2, T-cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3, TIMD-3, T-cell immunoglobulin mucin receptor 3, T-cell membrane protein 3	Immunoglobulin
91	ITPR3	Inositol 1 4 5-trisphosphate receptor type 3	IP3 receptor isoform 3, IP3R3, InsP3R3, Type 3 inositol 1 4 5-trisphosphate receptor, Type 3 InsP3 receptor	InsP3 receptor
92	CHRNA7	Neuronal acetylcholine receptor subunit alpha-7	NACHRA7	Ligand-gated ion channel
93	GABRG3	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit gamma-3	GABA(A) receptor subunit gamma-3, GABAG3	Ligand-gated ion channel

94	GBRA5	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit alpha-5	GABA(A) receptor subunit alpha-5, GABRA5	Ligand-gated ion channel
95	5-HT3A	5-hydroxytryptamine receptor 3A	5-HT3-A, 5-hydroxytryptamine receptor 3, 5-HT-3, 5-HT3R, Serotonin receptor 3A, HTR3A, Serotonin-gated ion channel receptor	Ligand-gated ion channel
96	LRRF1	Leucine-rich repeat flightless-interacting protein 1	LRR FLII-interacting protein 1, GCF2, TRIP, GC-binding factor 2, TAR RNA-interacting protein	LRRFIP
97	Mef2c	Myocyte-specific enhancer factor 2C	Myocyte enhancer factor 2C, MEF2C	MADS box transcription enhancer
98	MECP2	Methyl-CpG-binding protein 2	Mecp2, MeCp-2 protein, MeCP2	Methyl-CpG
99	COMT	Catechol O-methyltransferase		Metiltransferases
100	MAP2	Microtubule-associated protein 2	MAP-2	Microtubule-associated proteins
101	MYBL1	Myb-related protein A	Myb-like protein 1, A-Myb	MYB
102	NRXN1	Neurexin-1	Neurexin I-alpha, Neurexin-1-alpha, KIAA0578	Neurexin
103	OXT	Oxytocin-neurophysin 1	Neurophysin 1, OT-NPI, OT	Neurofisinas
104	AVP	Vasopressin-neurophysin 2-copeptin	AVP-NPII, ARVP, Arginine-vasopressin, Neurophysin-II, Arg-vasopressin A, Neurophysin 2, VP	Neurofisinas
105	NLGN2	Neuroigin-2	KIAA1366	Neuroigin
106	NLGN3	Neuroigin-3	Glilotactin homolog, KIAA1480, NL3, NL-3	Neuroigin
107	NLGN4	Neuroigin-4, X-linked	Neuroigin X, HNLX	Neuroigin
108	BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor	Abrineurin	NGF-beta
109	NOD2	Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2	Caspase recruitment domain-containing protein 15 Inflammatory bowel disease protein 1, CARD15, IBD1	NOD-like
110	RORA	Nuclear receptor ROR-alpha	Nuclear receptor RZR-alpha Nuclear receptor subfamily 1 group F member 1 RAR-related orphan receptor A Retinoid-related orphan receptor-alpha, NR1F1, RZRA	Nuclear hormone receptor
111	PPARG	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma	NR1C3, PPAR-gamma, Nuclear receptor subfamily 1 group C member 3, PPAR-y, PPAR-g	Nuclear hormone receptor
112	MBD1	Methyl-CpG-binding domain protein 1,	CXXC-type zinc finger protein 3, Methyl-CpG-binding protein MBD1, Protein containing methyl-CpG-binding domain 1, CXXC3, PCMI	Nuclear hormone receptor

113	Nr2B	Nuclear receptor subfamily 0 group B member 2	NR0B2, Orphan nuclear receptor SHP, Small heterodimer partner, SHP	Nuclear hormone receptor
114	OSTC	Oligosaccharyltransferase complex subunit OSTC	OSTC, Hydrophobic protein HSF-28, DC2, HDCMD45P, HSPC307	OSTC
115	P2X7	P2X purinoceptor 7	P2Z receptor , P2RX7	P2X receptor
116	P2X2	P2X purinoceptor 2	ATP receptor Purinergic receptor, P2RX2	P2X receptor
117	P2X3	P2X purinoceptor 3	ATP receptor Purinergic receptor, P2RX3	P2X receptor
118	P2X4	P2X purinoceptor 4	P2RX4	P2X receptor
119	BACE	Beta-secretase 1, B-site amyloid precursor protein cleaving enzyme	BACE, KIAA1149, BACE1, Aspartyl protease 2, ASP2, Beta-site APP cleaving enzyme 1, Membrane-associated aspartic protease 2, Memapsin-2, KIAA149	Peptidase A1
120	MMP-9	Matrix metalloproteinase-9	92 kDa gelatinase, 92 kDa type IV collagenase , Gelatinase B, GELB, MMP9, MMP-9, CLG4B	Peptidase M10A
121	mTOR	Serine/threonine-protein kinase mTOR	FK506-binding protein 12-rapamycin complex-associated protein 1, FKBP12-rapamycin complex-associated protein, Mammalian target of rapamycin, Mechanistic target of rapamycin, Rapamycin and FKBP12 target 1, Rapamycin target protein 1, FRAP, FRAP1, FRAP2, RAFT1, RAP1	PI3/PI4-kinase
122	KCNB1	potassium voltage-gated channel subfamily B member 1	Delayed rectifier potassium channel 1 , DRK1, h-DRK1 Voltage-gated potassium channel subunit Kv2.1	Potassium channel
123	KCNB2	Potassium voltage-gated channel subfamily B member 2	Voltage-gated potassium channel subunit Kv2.2	Potassium channel
124	PRMT7	Protein arginine N-methyltransferase 7	Histone-arginine N-methyltransferase PRMT7, Myelin basic protein-arginine N-methyltransferase PRMT7, KIAA1933	Protein arginine N-methyltransferase
125	HRAS	GTPase HRas	H-Ras-1, Ha-Ras, Transforming protein p21, c-H-ras, p21ras,	Ras
126	RELN	Reelin		Reelin
127	OPHN1	Oligophrenin-1		Rho
128	SHANK2	SH3 and multiple ankyrin repeat domains protein 2	Shank2, Cortactin-binding protein 1, CortBP1, Proline-rich synapse-associated protein 1, CORTBP1, KIAA1022, PROSAP1	SHANK
129	SHANK3	SH3 and multiple ankyrin repeat domains protein 3	Proline-rich synapse-associated protein 2, ProSAP2, Shank3, KIAA1650, PROSAP2, PSAP2	SHANK

130	CHD8	Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 8	ATP-dependent helicase CHD8, Helicase with SNF2 domain 1, CHD-8	SNF2/RAD54 helicase
131	SCN1A	Sodium channel protein type 1 subunit alpha	Sodium channel protein brain I subunit alpha, Sodium channel protein type I subunit alpha, Voltage-gated sodium channel subunit alpha Nav1.1, NAC1, SCN1	Sodium channel
132	SCN2A	Sodium channel protein type 2 subunit alpha	HBSC II, Sodium channel protein brain II subunit alpha, Sodium channel protein type II subunit alpha, Voltage-gated sodium channel subunit alpha Nav1 2, NAC2, SCN2A1, SCN2A2	Sodium channel
133	SLC17A6	Vesicular glutamate transporter 2	Differentiation-associated BNPI, Differentiation-associated Na dependent inorganic phosphate cotransporter, Solute carrier family 17 member 6, DNPI, VGLUT2	Sodium/anion transporter
134	SLC6A4	Sodium-dependent serotonin transporter	5HT transporter , 5HTT Solute carrier family 6 member 4, SERT, HTT	Sodium-Dependent Neurotransmitter Transporters
135	SLC6A3	Sodium-dependent dopamine transporter	Solute carrier family 6 member 3, DA transporter, DAT	Sodium-Dependent Neurotransmitter Transporters
136	SPRY3	Protein sprouty homolog 3	Sprouty RTK signaling antagonist 3, Sprouty3	Sprouty
137	TET3	Ten-Eleven Translocation 3	KIAA0401	TET
138	TET1	Methylcytosine dioxygenase TET1	CXXC-type zinc finger protein 6, Leukemia-associated protein with a CXXC domain, Ten-eleven translocation 1 gene protein, CXXC6, KIAA1676, LCX	TET
139	TGFBR3	Transforming growth factor beta receptor type 3	TGF-beta receptor type 3, TGFR-3, Betaglycan Transforming growth factor beta receptor III, TGF-beta receptor type III	TGF-beta
140	TGFB2	Transforming growth factor beta-2 proprotein	TGF-beta-2, TGFB2, TGF-B2, Cetermin, Glioblastoma-derived T-cell suppressor factor, TGF-B	TGF-beta
141	TNFA	Tumor necrosis factor	Cachectin, TNF-alpha, Tumor necrosis factor ligand superfamily member 2, TNF-a, TNFSF2, TNFa	TNF
142	TLR4	Toll-like receptor 4	hToll, CD284	Toll-like
143	PGC1A	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha	PGC-1a , PPARGC1A, LEM6, PGC1, PPARGC1, PGC-1a	Transcription coactivators

144	<i>TTR</i>	<i>Transthyretin</i>	<i>ATTR, Prealbumin, TBPA, PALB</i>	<i>Transthyretin</i>
145	<i>TSC2</i>	<i>Tuberin</i>	<i>TSC4, Tuberous sclerosis 2 protein</i>	<i>TSC</i>
146	<i>EFNA5</i>	<i>ephrin-A5</i>	<i>EPLG7, LERK7, AL-1, EPH-related receptor tyrosine kinase ligand 7, LERK-7</i>	<i>Tyr protein kinase</i>
147	<i>EPHA7</i>	<i>Ephrin type-A receptor 7</i>	<i>EPH homology kinase 3,EHK-3, EPH-like kinase 11, EK11, hEK11, EHK3, HEK11</i>	<i>Tyr protein kinase</i>
148	<i>NTRK2</i>	<i>BDNF/NT-3 growth factors receptor</i>	<i>GP145-TrkB, Trk-B, Neurotrophic tyrosine kinase receptor type 2, TrkB tyrosine kinase, Tropomyosin-related kinase B, TRKB</i>	<i>Tyr protein kinase</i>
149	<i>UBE3A</i>	<i>Ubiquitin-protein ligase E3A</i>	<i>E6AP, EPVE6AP, HPVE6A, E6AP ubiquitin-protein ligase, HECT-type ubiquitin transferase E3A, Human papillomavirus E6-associated protein, Oncogenic protein-associated protein E6-AP, Renal carcinoma antigen NY-REN-54</i>	<i>Ubiquitin conjugating enzyme</i>
150	<i>SORT1</i>	<i>Sortilin</i>	<i>100 kDa NT receptor, Glycoprotein 95, Gp95, Neurotensin receptor 3, NT3, NTR3</i>	<i>VPS10-related sortilin</i>
151	<i>TBL1XR1</i>	<i>transducin B-like 1 X-linked receptor 1</i>	<i>Nuclear receptor corepressor/HDAC3 complex subunit, TBLR1, TBL1-related protein 1, Transducin beta-like 1X-related protein 1, IRA1, TBLR1, F-box-like/WD repeat-containing protein TBL1XR1</i>	<i>WD repeat EBI</i>