



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

THAIS AMANDA BOLSON MORETTO COSTA

IDENTIFICAÇÃO *IN SILICO* DE POTENCIAIS ALVOS MOLECULARES PARA  
TRATAMENTO DE TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA: UMA DOCAGEM  
MOLECULAR DO CANABIDIOL (CBD) E DO CANABIGEROL (CBG)

PALOTINA

2023

THAIS AMANDA BOLSON MORETTO COSTA

IDENTIFICAÇÃO *IN SILICO* DE POTENCIAIS ALVOS MOLECULARES PARA  
TRATAMENTO DE TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA: UMA DOCAGEM  
MOLECULAR DO CANABIDIOL E DO CANABIGEROL

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia aplicada à Saúde.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Paula Carneiro Brandalize

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Kádima Nayara Teixeira

PALOTINA

2023

## FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade Federal do Paraná. Sistemas de Bibliotecas.  
Biblioteca UFPR Palotina.

C837 Costa, Thais Amanda Bolson Moretto  
Identificação *in silico* de potenciais alvos moleculares para  
tratamento de transtorno do espectro autista: uma docagem  
molecular do canabidiol e do canabigerol / Thais Amanda  
Bolson Moretto Costa. – Palotina, PR, 2023.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná,  
Setor Palotina, PR, Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia aplicada à Saúde.  
Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Ana Paula Carneiro Brandalize.  
Coorientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Kádima Nayara Teixeira.

1. Bioinformática. 2. Canabidiol. 3 Canabigerol. 4. Tratamento  
autismo. I. Brandalize, Ana Paula Carneiro. II. Teixeira, Kádima  
Nayara. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDU 606

Bibliotecária: Aparecida Pereira dos Santos – CRB 9/1653

# TERMO DE APROVAÇÃO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR PALOTINA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO BIOTECNOLOGIA -  
40001016083P6

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação BIOTECNOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **THAIS AMANDA BOLSON MORETTO** intitulada: **IDENTIFICAÇÃO *IN SILICO* DE POTENCIAIS ALVOS MOLECULARES PARA TRATAMENTO DE TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA: UMA DOCAGEM MOLECULAR DO CANABIDIOL (CBD) E DO CANABIGEROL (CBG)**, sob orientação da Profa. Dra. ANA PAULA CARNEIRO BRANDALIZE, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 24 de Fevereiro de 2023.

Assinatura Eletrônica

24/02/2023 16:48:11.0

ANA PAULA CARNEIRO BRANDALIZE

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

24/02/2023 16:48:11.0

ANA PAULA CARNEIRO BRANDALIZE

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

24/02/2023 16:55:57.0

GABRIELLE CAROLINE PEITER

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

27/02/2023 19:29:56.0

DÂNAE LONGO

Avaliador Externo (INSTITUTO FEDERAL FARROUPILHA)

---

RUA PIONEIRO, 2153 - PALOTINA - Paraná - Brasil

CEP 85950-000 - Tel: (44) 3211-8500 - E-mail: [mestradiotecufpr@gmail.com](mailto:mestradiotecufpr@gmail.com)

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 258621

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 258621

Dedico este trabalho a todos os meus pacientes e seus familiares que lidam com o luto de se ter um diagnóstico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha saúde e de todas as pessoas que eu amo.

Aos meus pais por sempre me incentivarem a correr atrás dos meus sonhos, por me proporcionarem qualidade de vida para isso e serem lar em todos os momentos de angústias e sofrimentos.

A minha irmã e meu sobrinho que sempre estiveram ao meu lado nos momentos difíceis.

Ao meu esposo, que ao longo desses anos foi namorado, noivo e agora marido. Pela escuta, pelo amor e companheirismo em momentos difíceis.

A minha orientadora Dra. Ana Paula, pelo auxílio, tranquilidade, respeito ao meu trabalho e minha escolha na trajetória da pesquisa. Juntas superamos desafios.

A minha co-orientadora Dra. Kádima, pela acolhida, dedicação integral a pesquisa, competência e ensinamento. Sempre pronta a auxiliar.

A minha colega Caroline Eduardo, por me apresentar este projeto de Mestrado e me auxiliar em todas as etapas. Minha gratidão por me ajudar a realizar um sonho.

A todos os meus pacientes por me incentivarem a descobrir e desenvolver este estudo.

A Universidade Federal do Paraná que foi minha casa na graduação e pós-graduação. Meu eterno respeito. Cada ano que passa sinto mais orgulho em ser filha desta Universidade.

A todos os professores das disciplinas cursadas até aqui, pela ajuda, acolhida e dedicação ao que fazem.

## RESUMO

O transtorno do espectro autista (TEA) é um distúrbio neurobiológico que se caracteriza pela presença de interesses restritos, comportamentos estereotipados e alteração nas habilidades sociais e de comunicação. O tratamento farmacológico é rotineiramente utilizado para o tratamento sintomatológico do TEA. Atualmente duas medicações são aprovadas para o tratamento do TEA, a Risperidona e o Aripiprazol, porém estudos apontam efeitos colaterais significativos. Desta maneira, o desenvolvimento de novas interações droga/receptor se faz necessária para melhorar o manejo destes pacientes. O objetivo deste estudo foi avaliar a interação entre o Canabigerol (CBG) e o Canabidiol (CBD) com os principais receptores alvos de fármacos já utilizados no tratamento do TEA. Nesta sondagem, foram selecionados os receptores de proteínas que atuam no sistema nervoso central e que possuem maior interação e afinidade com os grupos medicamentosos Risperidona e Aripiprazol. Para a obtenção dos arquivos correspondentes aos ligantes, foi utilizado o banco de dados ZINC. Foram selecionadas estruturas humanas e nativas dos receptores. A modelagem foi realizada utilizando a plataforma Swiss-Model e validados pela plataforma MolProbity. Foram selecionados os receptores alvos da Risperidona e Aripiprazol e realizada a docagem molecular desses receptores com o CBG e CBD, utilizando o software AutoDock. As análises *in silico* de interações do complexo droga-proteína e dos resíduos de aminoácidos envolvidos nas interações foi realizada utilizando o software PyMol. Os receptores selecionados foram o 5HT1A, 5HT2C, D2, D3, CB1 e CB2. Tais receptores estão envolvidos em funções relacionadas ao sistema serotoninérgico, dopaminérgico e de endocanabinoides. As maiores energias de afinidade de ligação e maior probabilidade de apresentar uma eficácia terapêutica aqui encontradas estão relacionadas aos complexos receptor/ligante: 5HT2C com a Risperidona e o Canabidiol; CB1 com o Canabigerol e o Canabidiol; D2 com o Aripiprazol e o Canabigerol. Tais resultados reforçam o potencial de utilização dos compostos CBG e CBD para o tratamento de comportamentos relacionados ao TEA, incluindo a ansiedade, hiperatividade, irritabilidade e movimentos repetitivos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Transtorno do Espectro Autista, Canabigerol, Canabidiol, Bioinformática, Tratamento autismo.

## ABSTRACT

Autistic Spectrum Disorder (ASD) is a neurobiological disorder that is characterized by the presence of restricted interests, stereotyped behaviors and changes in social and communication skills. Pharmacological treatment is routinely used for the symptomatic treatment of ASD. Currently, two medications are approved for the treatment of ASD, Risperidone and Aripiprazole, but studies show significant side effects. Thus, the development of new drug/receptor interactions is necessary to improve the management of these patients. The objective of this study was to evaluate the interaction between Cannabigerol (CBG) and Cannabidiol (CBD) with the main target receptors of drugs already used in the treatment of ASD. In this survey, the protein receptors that act in the central nervous system and that have greater interaction and affinity with the drug groups Risperidone and Aripiprazole were selected. To obtain the files corresponding to the ligands, the ZINC database was used. Human and native receptor structures were selected. The modeling was performed using the Swiss-Model platform and validated by the MolProbity platform. The target receptors of Risperidone and Aripiprazole were selected and molecular docking of these receptors with CBG and CBD was carried out using the AutoDock software. In silico analyzes of drug-protein complex interactions and amino acid residues involved in the interactions were performed using PyMol software. The selected receptors were 5HT1A, 5HT2C, D2, D3, CB1 and CB2. Such receptors are involved in functions related to the serotonergic, dopaminergic and endocannabinoid systems. The highest binding affinity energies and the highest probability of presenting therapeutic efficacy found here are related to the receptor/ligand complexes: 5HT2C with Risperidone and Cannabidiol; CB1 with Cannabigerol and Cannabidiol; D2 with Aripiprazole and Cannabigerol. Such results reinforce the potential use of CBG and CBD compounds for the treatment of ASD-related behaviors, including anxiety, hyperactivity, irritability and repetitive movements.

**KEYWORDS:** Autistic Spectrum Disorder, Cannabigerol, Cannabidiol, Bioinformatics, Autism Treatment.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - ESTRUTURAS QUÍMICAS DO CANABIDIOL (CBD) E CANABIGEROL (CBG), DOIS FITOCANABINÓIDES NÃO PSICOTRÓPICOS ISOLADOS DE *CANNABIS SATIVA*..... 22
- FIGURA 2 - MODELOS DE ESTRUTURAS TRIDIMENSIONAIS DE RECEPTORES RELACIONADOS AO TEA. ESTRUTURA A: 5HT2C. ESTRUTURA B: 5HT1A. ESTRUTURA C: D3..... 28
- FIGURA 3 - VISTA PANORÂMICA DO RECEPTOR 5HT2C LIGADO AO (A) CANABIDIOL, (B), CANABIGEROL, (C) FLUOXETINA E (D) RISPERIDONA. O RECEPTOR É MOSTRADO EM AZUL EM POSIÇÕES DIFERENTES PARA VISUALIZAÇÃO DO LIGANTE EM VERDE (SETA VERMELHA)..... 31
- FIGURA 4 - VISTA PANORÂMICA DO RECEPTOR 5HT1A LIGADO AO (A) CANABIDIOL E (B) CANABIGEROL. O RECEPTOR É MOSTRADO EM AZUL EM POSIÇÕES DIFERENTES PARA VISUALIZAÇÃO DO LIGANTE EM VERDE (SETA VERMELHA)..... 31
- FIGURA 5 - VISTA PANORÂMICA DO RECEPTOR CB1 LIGADO AO (A) CANABIDIOL E (B) CANABIGEROL. O RECEPTOR É MOSTRADO EM VERDE EM POSIÇÕES DIFERENTES PARA VISUALIZAÇÃO DO LIGANTE EM AZUL (SETA VERMELHA)..... 32
- FIGURA 6 - VISTA PANORÂMICA DO RECEPTOR CB2 LIGADO AO (A) CANABIDIOL E (B) CANABIGEROL. O RECEPTOR É MOSTRADO EM VERDE EM POSIÇÕES DIFERENTES PARA VISUALIZAÇÃO DO LIGANTE EM AZUL (SETA VERMELHA)..... 32
- FIGURA 7 - VISTA PANORÂMICA DO RECEPTOR D2 LIGADO AO

	(A) CANABIDIOL, (B) CANABIGEROL E (C) ARIPIPRAZOL. O RECEPTOR É MOSTRADO EM VERDE EM POSIÇÕES DIFERENTES PARA VISUALIZAÇÃO DO LIGANTE EM AZUL (SETA VERMELHA).....	33
FIGURA 8 -	VISTA PANORÂMICA DO RECEPTOR D3 LIGADO AO (A) CANABIDIOL, (B) CANABIGEROL E (C) RISPERIDONA. O RECEPTOR É MOSTRADO EM AZUL EM POSIÇÕES DIFERENTES PARA VISUALIZAÇÃO DO LIGANTE EM VERDE (SETA VERMELHA).....	33
FIGURA 9 -	DIAGRAMA BIDIMENSIONAL DEMONSTRANDO AS LIGAÇÕES QUÍMICAS E OS AMINOÁCIDOS ENVOLVIDOS NA INTERAÇÃO ENTRE O RECEPTOR D2 E ARIPIPRAZOL (A), CANABIGEROL (B), CANABIDIOL (C). OS RESÍDUOS DE AMINOÁCIDOS SÃO MOSTRADOS COMO ESFERAS COLORIDAS E COM O CÓDIGO DE TRÊS LETRAS. AS LIGAÇÕES SÃO REPRESENTADAS POR LINHAS TRACEJADAS, EXCETO AS INTERAÇÕES DE VAN DER WALLS.....	36
FIGURA 10 -	DIAGRAMA BIDIMENSIONAL DEMONSTRANDO AS LIGAÇÕES QUÍMICAS E OS AMINOÁCIDOS ENVOLVIDOS NA INTERAÇÃO ENTRE O RECEPTOR D3 E RISPERIDONA (A), CANABIDIOL (B), CANABIGEROL (C). OS RESÍDUOS DE AMINOÁCIDOS SÃO MOSTRADOS COMO ESFERAS COLORIDAS E COM O CÓDIGO DE TRÊS LETRAS. AS LIGAÇÕES SÃO REPRESENTADAS POR LINHAS TRACEJADAS, EXCETO AS INTERAÇÕES DE VAN DER WALLS.....	37
FIGURA 11 -	DIAGRAMA BIDIMENSIONAL DEMONSTRANDO AS LIGAÇÕES QUÍMICAS E OS AMINOÁCIDOS ENVOLVIDOS NA INTERAÇÃO ENTRE O RECEPTOR CB2 E CANABIGEROL (A) CANABIDIOL (B). OS RESÍDUOS DE AMINOÁCIDOS SÃO MOSTRADOS COMO ESFERAS COLORIDAS E COM O CÓDIGO DE TRÊS LETRAS. AS LIGAÇÕES SÃO REPRESENTADAS POR LINHAS TRACEJADAS, EXCETO AS INTERAÇÕES DE VAN DER WALLS.....	38

FIGURA 12 - DIAGRAMA BIDIMENSIONAL DEMONSTRANDO AS LIGAÇÕES QUÍMICAS E OS AMINOÁCIDOS ENVOLVIDOS NA INTERAÇÃO ENTRE O RECEPTOR CB1 E CANABIDIOL (A), CANABIGEROL (B). OS RESÍDUOS DE AMINOÁCIDOS SÃO MOSTRADOS COMO ESFERAS COLORIDAS E COM O CÓDIGO DE TRÊS LETRAS. AS LIGAÇÕES SÃO REPRESENTADAS POR LINHAS TRACEJADAS, EXCETO AS INTERAÇÕES DE VAN DER WALLS.....

38

FIGURA 13 - DIAGRAMA BIDIMENSIONAL DEMONSTRANDO AS LIGAÇÕES QUÍMICAS E OS AMINOÁCIDOS ENVOLVIDOS NA INTERAÇÃO ENTRE O RECEPTOR 5TH1A E CANABIGEROL (A), CANABIDIOL (B). OS RESÍDUOS DE AMINOÁCIDOS SÃO MOSTRADOS COMO ESFERAS COLORIDAS E COM O CÓDIGO DE TRÊS LETRAS. AS LIGAÇÕES SÃO REPRESENTADAS POR LINHAS TRACEJADAS, EXCETO AS INTERAÇÕES DE VAN DER WALLS.....

39

FIGURA 14 - DIAGRAMA BIDIMENSIONAL DEMONSTRANDO AS LIGAÇÕES QUÍMICAS E OS AMINOÁCIDOS ENVOLVIDOS NA INTERAÇÃO ENTRE O RECEPTOR 5HT2C E CANABIGEROL (A), CANABIDIOL (B), RISPERIDONA (C), FLUOXETINA (D). OS RESÍDUOS DE AMINOÁCIDOS SÃO MOSTRADOS COMO ESFERAS COLORIDAS E COM O CÓDIGO DE TRÊS LETRAS. AS LIGAÇÕES SÃO REPRESENTADAS POR LINHAS TRACEJADAS, EXCETO AS INTERAÇÕES DE VAN DER WALLS.....

40

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	DROGAS (LIGANTES) RELACIONADAS AO TRATAMENTO DO TEA.....	27
TABELA 2 -	RECEPTORES NÃO MUTADOS RELACIONADOS AO TRATAMENTO DO TEA.....	27
TABELA 3 -	DADOS SOBRE A MODELAGEM MOLECULAR DOS RECEPTORES RELACIONADOS AO TEA.....	28
TABELA 4 -	PARÂMETROS DE QUALIDADE E VALIDADÇÃO DOS RECEPTORES MODELADOS.....	29
TABELA 5 -	ENERGIA DE AFINIDADE DOS COMPLEXOS RECEPTOR/LIGANTE.....	29
TABELA 6 -	COMPLEXOS RECEPTORES/DROGAS E AS LIGAÇÕES QUÍMICAS QUE ESTABILIZAM CADA COMPLEXO.....	34

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
2.1.	Objetivo Geral .....	15
2.2.	Objetivos Específicos .....	15
<b>3.</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEORICA</b> .....	<b>16</b>
3.1.	O Transtorno do Espectro Autista .....	16
3.2.	Etiologia do TEA .....	18
3.3.	Tratamento farmacológico para o tratamento do TEA .....	19
3.4.	Canabidiol e Canabigerol .....	21
3.5.	Estudos in silico e desenvolvimento de novos fármacos para TEA .....	23
<b>4.</b>	<b>MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
4.1.	Obtenção das estruturas tridimensionais de ligantes e receptores .....	25
3.2.	Modelagem molecular dos receptores .....	25
3.3.	Preparo dos receptores e ligantes para a docagem molecular .....	26
3.4.	Docagem molecular .....	26
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>27</b>
5.1.	Receptores e ligantes selecionados nos bancos de dados .....	27
5.2.	Modelos de estrutura dos receptores .....	27
5.3.	Complexos receptor/ligante .....	29
<b>6.</b>	<b>DISCUSSÕES</b> .....	<b>41</b>
<b>7.</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>45</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>46</b>

## INTRODUÇÃO

O transtorno do espectro autista (TEA) é um distúrbio neurobiológico que afeta diretamente as habilidades sociais e de comunicação, apresentando interesses restritos e comportamentos estereotipados (APA, 2013). Apesar de o TEA apresentar uma definição mais formalizada acerca das principais manifestações clínicas, como descreve o DSM-5, a manifestação clínica nos pacientes é altamente heterogênea, sendo comum observar comorbidades associadas ao quadro do TEA (GRIESI-OLIVEIRA, SÉRTIE, 2017).

A prevalência do TEA nos Estados Unidos da América atingiu um marco de 1 a cada 30 crianças/adolescentes entre 3 a 17 anos. Nos meninos o número de casos diagnosticados é maior em comparação às meninas, sendo 3,55 vezes mais prevalente (LI *et al.*, 2022). No Brasil, não existem estudos apontando a prevalência de casos de TEA.

Estudos epidemiológicos demonstraram que gêmeos monozigóticos, que compartilham 100% de sua informação genética, apresentam maior taxa de concordância no diagnóstico de TEA se comparados com gêmeos dizigóticos, que compartilham 50% de sua informação genética (IMAMURA *et al.*, 2020). Sandin *et al.*, 2017, realizaram um estudo com 37.570 pares de gêmeos, 432.281 pares de meio-irmãos maternos, 445.531 pares de meio-irmãos paternos e 2.642.064 pares de irmãos completos. A pesquisa apontou uma taxa de herdabilidade para autismo foi de 83%, demonstrando uma alta influência genética na etiologia dos TEA.

O TEA possui etiologia multifatorial, sendo que 400-1000 genes de risco de TEA já foram identificados e encontrados. Muitos destes genes estão envolvidos em vias que incluem formação sináptica, regulação transcricional e remodelação da cromatina (STYLES *et al.*, 2020). No decorrer dos anos, estudos mais aprofundados com base genética fomentaram o mapeamento genético de fatores associados ao TEA. Os sistemas biológicos envolvidos apontaram alterações em diferentes mecanismos moleculares (EISSA *et al.*, 2018). Nesse contexto, houve aumento das pesquisas farmacológicas, afim de ampliar as possibilidades de intervenção medicamentosa efetiva para o TEA (POLEG *et al.*, 2018), visto que as duas medicações aprovadas pelo FDA (*Food and Drug Administration*) são a Risperidona e o Aripiprazol (HIRSCH, PRINGSHEIM, 2016).

Estudos que avaliam o efeito de compostos presentes na *Cannabis sativa* – entre eles o Canabidiol (CBD) e o Canabigerol (CBG) – apresentam diversas possibilidades de intervenções medicinais efetivas para o TEA e suas comorbidades (POLEG *et al.*, 2018). Tanto o CBD quanto o CBG exercem suas atividades por meio da interação com vários receptores canabinoides acoplados a proteínas G. Estes estão localizados em regiões do cérebro associadas a importantes processos neurológicos (MORALES, HURST, REGGIO, 2017), neurônios pré-sinápticos do sistema nervoso central (cerebelo, hipocampo e córtex cerebral), células do sistema imunológico e hematopoiético (COSTA, 2017).

Nesse contexto, estudos *in silico* são de fundamental importância para auxiliar na compreensão e no avanço de pesquisas acerca do desenvolvimento de novos alvos terapêuticos para o TEA (MUNIZ, 2018), incluindo os receptores do sistema endocanabinoide. Em muitas pesquisas, os métodos computacionais vêm se destacando em estudos biomédicos que interligam doenças específicas a genes. A metodologia *in silico* é adequada por abordar e considerar simultaneamente uma exposição específica ou uma ampla classe em relação a uma doença clinicamente heterogênea, como é o caso da pesquisa medicamentosa para o TEA (TRISTAN *et al.*, 2021).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Analisar *in silico* a interação entre o Canabigerol (CBG), o Canabidiol (CBD) e medicamentos tradicionalmente utilizados para o tratamento do TEA com os principais receptores alvos desses fármacos.

### **2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO**

- Avaliar a interação do CBG e do CBD com os receptores 5HT<sub>2C</sub>, 5HT<sub>1A</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, CB<sub>1</sub> e CB<sub>2</sub> *in silico*;
- Obter o modelo de estrutura tridimensional de receptores de fármacos para tratamento do TEA por modelagem molecular;

- Analisar, *in silico*, a interação dos fármacos Risperidona e Aripiprazol com seus respectivos receptores;
- Comparar a interação dos receptores de fármacos Risperidona e Aripiprazol com o CBG e o CBD.

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 O TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

O TEA foi descrito pela primeira vez pelo psiquiatra Leo Kanner, da Universidade Johns Hopkins, em 1943, que identificou o autismo em um pequeno grupo de crianças com idades entre dois anos e quatro meses a 11 anos. As crianças identificadas apresentavam indiferença total ou extrema na busca por outras crianças. Kanner publicou um relatório detalhado contendo 11 estudos de casos de crianças com TEA, sendo três mulheres e oito homens. Ele observou uma diferença entre o autismo e a esquizofrenia infantil, que eram até então consideradas semelhantes. O autor ainda observou que além da dificuldade de interação social, ocorria um desenvolvimento incomum da linguagem, com tendência a desenvolver ecolalia (repetições vocais), alterações sensoriais e comportamentos repetitivos (estereotipados) (MASI *et al.*, 2017).

Em 1944 o psiquiatra Hans Asperger, descreveu a presença de déficits de interações sociais nas trocas com pares e as habilidades verbais e cognitivas avançadas de crianças com TEA. A contribuição de Asperger veio de encontro aos estudos de Kanner, visto que, os sintomas centrais eram os mesmos, com a diferença que os indivíduos descritos por Asperger apresentavam maior funcionalidade (MASI *et al.*, 2017).

Com o avanço dos estudos, o termo autismo infantil foi sofrendo alterações no decorrer dos anos e em 1980 foi incluso no Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM III) (APA, 1980). Neste manual, o autismo foi inserido em um subgrupo de transtornos invasivos do desenvolvimento. O DSM III apontava os critérios para o autismo infantil, com início antes dos 30 meses de idade, déficits no desenvolvimento da linguagem, falha de responsividade a outras pessoas, respostas bizarras a estímulos ambientais e ausência de sintomas esquizofrênicos (APA, 1980).

Na transição para o DSM III-R, os critérios foram ampliados, não só englobando bebês com sintomas clássicos, mas também indivíduos com altas funcionalidades, incluindo oito dos 16 possíveis critérios necessários para o diagnóstico. A idade foi modificada e aumentada para toda a primeira infância (até os seis anos de idade) (VOLKMAR *et al.*, 1988).

Desde então, alterações a favor da ampliação do termo foram formalizadas. No DSM IV, lançado em 1994, a modificação foi em relação a idade de início do autismo, pois era necessário ocorrer antes dos 36 meses de vida. Também foram acrescentados os critérios diagnósticos para a Síndrome de Asperger, estabelecendo uma condição que acarreta prejuízos na interação social, comunicação e imaginação, sem alteração de linguagem e cognição (APA, 1994).

A mudança para o DSM-V foi marcada pela ampliação da definição do Autismo e a redução da especificidade dos sintomas relacionados a ele. Nos dias atuais, no DSM-V, todas as categorias diagnósticas outrora incluídas sob a denominação de Transtornos Globais do Desenvolvimento foram agrupadas em uma única categoria designada Transtornos do Espectro Autista (TEA) (DSM-V, 2013). O TEA é classificado de acordo com sua gravidade, tendo como base os níveis de suporte um, dois e três, sendo o terceiro o que exige maior suporte (DSM-V, 2013).

A gravidade desses sintomas aumenta quando as demandas em determinados ambientes excedem a capacidade do indivíduo de funcionar em um nível necessário de exigência (MASI *et al.*, 2017). No entanto, apesar de toda a mudança, ainda se discutem os números de diagnósticos diferentes, a falta de clareza sobre a relação entre os níveis de funcionamento do autismo e a função cognitiva prejudicada, tal como, o tratamento para os indivíduos com níveis mais elevados de funções ocupacionais e intelectuais (MASI *et al.*, 2017).

Verifica-se que dentro do TEA é possível observar casos que apresentam comorbidades associadas, como a deficiência intelectual grave, moderada e leve, que está presente em cerca de 60% dos casos (SHELDRICK, CARTER, 2018; XU *et al.*, 2018). Da mesma forma, 80% dos casos podem estar associados ao Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade, bem como, alterações sindrômicas (Síndrome de Down, Angelman, X-Frágil, Esclerose Tuberosa, entre outras) e quadros convulsivos (GRIESI-OLIVEIRA, SÉRTIE, 2017).

A heterogeneidade do TEA se caracteriza também por múltiplos genes envolvidos. A miríade de fatores ambientais que impactam o curso de

desenvolvimento da expressão dos sintomas e a co-ocorrência de disfunções médicas e de saúde mental. Três fatores que contribuem para a heterogeneidade do TEA são a variabilidade genética, a comorbidade e o gênero (MASI *et al.*, 2017).

Estudos relacionados a definição de critérios de diagnóstico e prevalência de TEA tem avançado significativamente nos últimos anos. Pesquisas apontam que uma a cada 30 crianças em todo o mundo estão dentro dos critérios de diagnóstico para TEA (ARVIDSSON *et al.*, 2018). Apesar do aumento significativo de casos diagnosticados, a fisiopatologia do TEA ainda não é completamente compreendida (MASI *et al.*, 2017).

### 3.2 ETIOLOGIA DO TEA

O TEA possui herança multifatorial, tendo fatores genéticos e ambientais envolvidos em sua etiologia (GRIESI-OLIVEIRA, SÉRTIE, 2017). A compreensão dos mecanismos genéticos relacionados ao TEA pode oferecer informações sobre os riscos de recorrência, intervenções terapêuticas e prognósticas da doença (GRIESI-OLIVEIRA, SÉRTIE, 2017).

Atualmente, sabe-se que o TEA pode estar relacionado a alterações no genoma, apresentando variantes comuns e/ou raras. A presença de tais variantes genéticas levanta a hipótese de que parte dos casos seria causada por variantes genéticas comuns de baixa penetrância e que juntas seriam capazes de desencadear o TEA (GRIESI-OLIVEIRA, SÉRTIE, 2017).

Por outro lado, outros casos seriam desencadeados por um número médio de variantes comuns de baixo risco que levariam ao TEA quando associadas a uma variante rara de risco moderado. Outros ainda se desenvolveriam por uma variante de baixo risco combinadas a uma variante de risco moderado (GRIESE-OLIVEIRA, SÉRTIE, 2017). Em alguns casos, o TEA poderia ser causado por uma única alteração genética patogênica com efeito deletério, que geralmente estaria associado a uma variante de alta penetrância (GRIESI-OLIVEIRA, SÉRTIE, 2017).

É nesse contexto que a descrição de genes que conferem maior suscetibilidade ao TEA fornece possíveis dados sobre a etiologia do autismo, tanto individualmente quanto em grupo. Porém, as questões fundamentais sobre as

alterações do neurodesenvolvimento e neurofisiologia do TEA permanecem pouco compreendidas (SATTERSTROM *et al.*, 2020).

Toda a alteração genética relacionada a duplicações, deleções, mutações *de novo*, e outras variantes já descritas estão envolvidas na identificação do TEA. Essas variantes incluem alterações em genes envolvidos nos transtornos neuropsiquiátricos e deficiências intelectuais, genes de vias comuns e de risco para o TEA (SANDERS *et al.*, 2015; TAMMIMIES *et al.*, 2015), bem como em pacientes com deficiência intelectual moderada a grave (BOURGERON, 2015).

A Sfari Gene-Human apresenta um banco de dados de genes de risco para o TEA (<https://gene.sfari.org/database/human-gene/>). Em 2022, contabilizou em sua base de dados mais de 1000 genes humanos que estavam associados a etiologia do TEA. Como são amplamente expressos, os genes estão envolvidos em uma variedade de atividades biológicas, sendo necessária a identificação de processos com maior probabilidade de relevância e risco para o TEA (WEN, ALSHIKHO, HERBERT, 2016). A identificação de tais alterações genéticas auxilia no esclarecimento da fisiopatologia da doença, possibilitando avanços relacionados ao desenvolvimento de novos tratamentos farmacológicos (MORAES, 2014). Apesar de existir vários estudos relacionados a genética do TEA, apenas uma parte do número total de genes foi descoberta (TAMOUZA, 2019).

Devido a sua etiologia multifatorial, condições parentais, exposições ambientais durante a gestação e no período perinatal também podem contribuir para etiologia deste transtorno. Estas exposições ambientais contribuem para alterações do genoma e de mecanismos epigenéticos, incluindo a metilação do DNA, modificação de histonas e alterações na expressão de microRNAs (MASINI *et al.*, 2020).

### 3.3 TRATAMENTO FARMACOLÓGICO PARA O TEA

Até o momento, nenhum medicamento foi totalmente eficaz para tratamento dos sinais e sintomas associados ao TEA. Medicamentos como antidepressivos, antipsicóticos e anticonvulsivantes são frequentemente usados para aliviar sintomas de comorbidades associadas ao TEA, como a ansiedade, déficit de atenção e hiperatividade, compulsões, comportamentos repetitivos, labilidade de humor, irritabilidade, agressividade e distúrbios do sono (JIANG *et al.*, 2022).

Com o avanço das pesquisas relacionadas ao TEA a administração de terapias medicamentosas, combinadas com intervenções multiprofissionais, vêm ganhando corpo no processo terapêutico de crianças, adolescentes e adultos com esse diagnóstico (ASSIS *et al.*, 2021). Como ocorre uma heterogeneidade da sintomatologia do TEA – intensidade, ocorrência, comportamento alvo - a conduta e o manejo terapêutico devem ser individualizados (ASSIS *et al.*, 2021).

Medicações específicas aprovadas pelo FDA (*Food and Drug Administration*), como a Risperidona e o Aripiprazol, são comumente utilizadas para o tratamento sintomatológico do TEA. Eles atuam especificamente na diminuição de estereotípias, regulação do humor, agressividade e ansiedade (HIRSCH, PRINGSHEIM, 2016).

O mecanismo de ação da Risperidona ainda não está totalmente elucidado. Acredita-se que sua função é antagonizar os receptores serotoninérgicos 5HT<sub>2A</sub> e os receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> no cérebro (BISWAS *et al.*, 2022). A Risperidona se liga em maior extensão aos receptores 5HT<sub>2A</sub> (10 a 20 vezes) do que quando comparados aos receptores D<sub>2</sub>. Ao reduzir a neurotransmissão serotoninérgica e dopaminérgica, o fármaco pode aliviar sintomas presentes no autismo como a irritabilidade, por exemplo (GERMANN, KURYLO, HAN, 2012; CORENA-MCLEOD, 2015; PUANGPETCH *et al.*, 2016; FENTON, SCOTT, 2005; CANITANO, SCANDURRA, 2008; CHOPKO, LINDSLEY, 2018; KEMP *et al.*, 2009; LEYSEN *et al.*, 1988). Também existem estudos acerca do antagonismo da Risperidona com os receptores alfa-1, alfa-2 e histaminas (PUANGPETCH *et al.*, 2016; LEYSEN *et al.*, 1988; NUNTAMOOOL *et al.*, 2017).

Um ensaio controlado por placebo avaliou 101 crianças com TEA e seus comportamentos associados. O tratamento foi realizado utilizando a Risperidona (1,8 mg/dia) por oito semanas. Apesar dos comportamentos disruptivos amenizarem em poucas semanas, os resultados observados incluíram aumento de peso, aumento do apetite, fadiga, sonolência, tontura, salivação, tremor e constipação (WEISSMAN, 2020).

Outro fármaco utilizado no tratamento farmacológico de TEA é o Aripiprazol, um agonista parcial dos receptores de serotonina – 5HT, hidroxitriptamina e 5HT<sub>1A</sub> – e D<sub>2</sub> de dopamina. É também um antagonista do receptor 5HT<sub>2A</sub> sem afinidade considerável no receptor muscarínico colinérgico. Ghanizadeh, Tordjman, Jaafari (2015) realizaram uma revisão sistemática que apontou que o Aripiprazol é tão

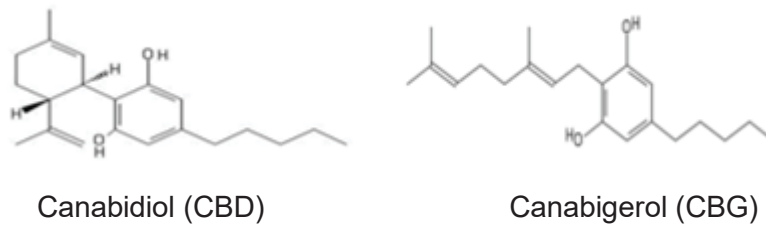
seguro e eficaz quanto a Risperidona no tratamento da irritabilidade no autismo. No entanto, outros medicamentos (por exemplo, estimulantes, inibidores seletivos da recaptação de serotonina e agonistas alfa-adrenérgicos) podem ser mais adequados, dependendo da causa base da alteração comportamental (por exemplo, hiperatividade, ansiedade, impulsividade) (ASSIS *et al.*, 2021).

Outro estudo, observou que o uso do Aripiprazol para TEA durante oito semanas apresentou benefícios na redução da irritabilidade, estereotípias e sintomas de hiperatividade (ASSIS *et al.*, 2021). Porém, seus efeitos adversos foram aumento de peso, fadiga, sonolência, tremor e sintomas extrapiramidais (GHANIZADEH, TORDJAMAN, JAAFARI, 2015).

### 3.4 CANABIDIOL E CANABIGEROL

Nos últimos anos, estudos relacionados ao uso do CBD e seus componentes também tem mostrado ação significativa no tratamento dos sintomas do TEA (POLEG *et al.*, 2018). De maneira natural, a planta *Cannabis sativa* produz diversos compostos, dentre eles os fitocanabinóides, que são moléculas que interagem com o sistema endocanabinóide humano (MORALES, HURST, REGGIO, 2017). As substâncias mais conhecidas são o THC (Tetrahidrocarboneto) e o CBD (MORALES, HURST, REGGIO, 2017). O THC, atua como agonista parcial dos receptores CB1 e CB2, sendo responsável por efeitos psicoativos (MORALES, HURST, REGGIO, 2017).

Os dois canabinoides não psicoativos mais estudados são o CBD e o CBG (GUGLIANDOLO *et al.*, 2020), cujas fórmulas químicas estão apresentadas na Figura 1. Esses compostos exercem suas atividades por meio da interação com vários sítios moleculares. Eles interagem com receptores canabinoides acoplados a proteínas G, localizados em regiões do cérebro que são associadas a importantes processos neurológicos (MORALES, HURST, REGGIO, 2017), atuando principalmente no sistema nervoso central (PEDRAZZI *et al.*, 2022).



**Figura 1.** Estruturas químicas do Canabidiol (CBD) e Canabigerol (CBG), dois fitocanabinóides não psicotrópicos isolados de *Cannabis sativa* (Modificado de GUGLIANDOLO *et al.*, 2020).

Cabe pontuar que o sistema endocanabinóide é composto por três grandes partes: os canabinóides produzidos a base de lipídeos, os receptores dessas moléculas e as enzimas responsáveis pela degradação, produção e transporte desses compostos (LUTZ *et al.*, 2015).

O sistema endocanabinóide tem uma importante função durante a fase inicial do desenvolvimento embrionário, especificamente no desenvolvimento do sistema nervoso central, que é o local onde ocorrem a capacidade de alteração entre as sinapses conforme os estímulos recebidos (LU, MACKIE, 2021; MAGEE, GRIENBERGER, 2020). Essa modulação da resposta nervosa está implícita em situações de regulação emocional e em comportamentos em resposta a diversos contextos e interações sociais (POLEG *et al.*, 2018).

Os principais receptores do sistema endocanabinóide são o CB1 e o CB2 – que se ligam a proteína G, principalmente a  $G_i$ , com função inibitória. Essa ação se dá por algumas vias, como pela inativação da adenilato ciclase, diminuindo os níveis de cAMP, atuando nos canais de cálcio sensíveis a voltagem e ativando MAPK, enzima responsável pela modulação de algumas respostas intracelulares (POLEG *et al.*, 2018).

O receptor CB1 é o mais encontrado no cérebro e altamente expresso nas regiões dos gânglios da base, hipocampo, cerebelo e bulbo olfatório (ZOU, KUMAR, 2018). Já o CB2, é principalmente encontrado em células do sistema imunológico, como no timo e no baço (SU *et al.*, 2021), bem como nas células do sistema nervoso central responsáveis pela ação fagocitária, as micróglia (ARAUJO, TJOA, SAIJO, 2019).

Apesar de semelhantes, o CBD e o CBG apresentam diferentes mecanismos de ação. O CBD mostra uma baixa afinidade pelos receptores canabinóides, atuando como um modulador alostérico negativo dos receptores CB1 e como um

agonista inverso dos receptores CB2 (LAPRAIRIE *et al.*, 2015). Ele é um modulador de glutamato excitatório cerebral, ácido  $\gamma$ -aminobutírico inibitório (GABA), auxiliando na neurotransmissão da dopamina, além de ser um agonista parcial de receptores de dopamina D2 (GUGLIANDOLO *et al.*, 2020). Já o CBG é um agonista parcial dos receptores CB1 e CB2 (GUGLIANDOLO *et al.*, 2020) e é capaz de regular receptores acoplados à proteína G (GUGLIANDOLO *et al.*, 2020).

O sistema endocanabinóide atua como uma rede neuromoduladora envolvida na regulação de respostas emocionais, reatividade comportamental ao contexto e interação social e pode estar afetado em pacientes com autismo com comorbidades associadas, tais como ansiedade, problemas de sono e disfunções cognitivas (POLEG *et al.*, 2018). Desta maneira, vários estudos vêm utilizando canabinóides – como o Canabidiol – para verificar a eficácia no tratamento de sintomas do TEA.

Em 2021, em um estudo controlado com 150 participantes observou a utilização dos extratos BOL-DP-O-01-W e BOL-DP-O-01 da planta *Cannabis Sativa* (que contém CDB e THC) em uma proporção de 20:1. Seus resultados demonstraram que houve melhora nos comportamentos disruptivos a partir de medidas de resultados primários (*Home Situation Questionnaire-ASD* (HSQ-ASD), bem como para a escala *Clinical Global Impression-Improvement* com pontos ancorados de comportamento disruptivo (CGI-I) e secundários (Escala de Responsividade Social (SRS-2). Além disto, o Índice de Estresse Parental com Autismo (APSI), um índice de sintomas centrais do TEA, obteve um desfecho favorável com eventos adversos aceitáveis (ARAN *et al.*, 2019).

### 3.5 ESTUDOS *IN SILICO* E DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FÁRMACOS PARA TEA

A grande variabilidade genética associada ao TEA dificulta a mensuração da importância de cada variante genética, dificultando assim a efetiva escolha terapêutica para o tratamento dos sintomas associados a patologia (CHAHROUR *et al.*, 2017). Nesse contexto, é destacada a importância de estudos para o desenvolvimento de novos fármacos que possam atuar em diferentes vias moleculares associadas ao desenvolvimento do TEA (CHAHROUR *et al.*, 2017). As análises *in silico* entram em cena como uma estratégia atrativa para identificar

potenciais fármacos terapêuticos para diversas doenças/transtornos, entre elas o TEA (GAO *et al.*, 2021).

Nos últimos anos, o avanço de novas técnicas permitiu que esse processo fosse realizado de maneira mais rápida e com maior facilidade de acesso. Dentre elas, é destacada a pesquisa *in silico* com o método de docagem molecular (MUNIZ, 2018). As abordagens *in silico* combinam e analisam várias formas de dados de medicamentos e dados ômicos de doenças para identificar novas funções potenciais de medicamentos novos e também dos já existentes. Uma vez que esta abordagem tem a vantagem de filtrar sistematicamente vários medicamentos candidatos, o tempo de desenvolvimento e os custos associados a este processo são significativamente reduzidos (PUSHPAKOM *et al.*, 2019).

A docagem molecular é um dos métodos mais utilizados para realizar a modelagem molecular de proteínas. Trata-se de uma técnica computacional realizada por meio da análise da interação entre um receptor e um ligante. Seu objetivo é prever qual é a melhor conformação da estrutura tridimensional de determinado complexo formado pelo receptor (macromolécula) e pelo substrato (MUNIZ, 2018). Para a realização da docagem é necessária uma descrição adequada do sistema biológico estudado, das interações entre essas moléculas e não menos importante, um modelo computacional eficiente (MUNIZ, 2018).

Atualmente, existem estudos de testes clínicos cadastrados no banco mundial de testes clínicos ([clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov)) que procuram mensurar o efeito do tratamento de indivíduos com TEA a partir do CBD e seus compostos. O CBD aparece como teste clínico para a hiperatividade, que é uma das comorbidades do TEA e um grande fator limitante e incapacitante na evolução do quadro clínico (CLINICALTRIALS, 2022).

Um estudo *in silico* na China criou um *pipeline* de reposicionamento de medicamentos que integra triagem de genes que possuem variantes genéticas patogênicas. Ele buscou o reposicionamento de medicamentos e a verificação da atuação desses medicamentos. O fluxo do trabalho proposto permitiu a análise de mecanismos moleculares associados ao TEA e a identificação de vários medicamentos candidatos com potenciais efeitos terapêuticos, como o baclofeno, sulpirida, estradiol, zinco, curcumina, entinostat, everolimo, fluvoxamina, calcitriol e metronidazol, fornecendo pistas para novos estudos sobre o tratamento do TEA (GAO *et al.*, 2021).

## 4. MÉTODOS

Nesta sondagem, foram selecionados os receptores que atuam no sistema nervoso central e que fazem interação com os fármacos Risperidona e Aripiprazol. Os receptores selecionados foram o 5HT1A, 5HT2C, D2, D3, CB1 e CB2.

A seleção dos receptores para docagem molecular ocorreu de forma estruturada por grupo de afinidade e maior interação com o fármaco analisado. A Risperidona e a Fluoxetina foram usadas como parâmetro de comparação uma vez que ambas interagem com receptor 5HT2C em esquema terapêutico. Assim como o Aripiprazol interage com o receptor D2, a Risperidona com o D3 e o Canabidiol com o CB1, CB2 e 5HT1A.

### 4.1. OBTENÇÃO DAS ESTRUTURAS TRIDIMENSIONAIS DE LIGANTES E RECEPTORES

O trabalho foi organizado e estruturado por meio de softwares para avaliar as ligações e interações das estruturas selecionadas: receptores relacionados ao TEA e drogas/fármacos (ligantes). Para a obtenção dos arquivos correspondentes aos ligantes foi utilizado o banco de dados ZINC ([zinc.docking.org](http://zinc.docking.org)), cujas estruturas encontram-se no formato SDF (bidimensional). O programa *ViewerLite 4.2 (Accelrys Inc.)* foi utilizado para converter o arquivo SDF em formato PDB (*Protein Data Bank*), um formato tridimensional.

As estruturas dos receptores foram obtidas no banco de dados PDB ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)). Foram selecionadas estruturas humanas, nativas e não mutadas dos receptores CB1, CB2 e D2. Como o banco é redundante, foi realizada uma triagem para selecionar as estruturas com menor interferência de ligantes acoplados e melhor resolução por difração de raios-X.

### 4.2. MODELAGEM MOLECULAR DOS RECEPTORES

Os receptores 5HT2C, 5HT1A e D3, que apresentavam mutações em sua sequência primária, tiveram sua estrutura tridimensional obtida por modelagem molecular pelo método de modelagem comparativa. Para tanto, os moldes foram selecionados do PDB, sendo utilizados como critério de seleção a identidade de sequência primária e a cobertura de sequência.

As sequências primárias dos receptores humanos, sem mutação, foram obtidas nos bancos de dados hospedados no *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). A modelagem foi realizada utilizando a plataforma *Swiss-Model* (GUEX, PEITSCH, SCHWEDE, 2009) e os modelos foram validados utilizando a plataforma *MolProbity* (WILLIAMS *et al.*, 2018).

#### 4.3. PREPARO DOS RECEPTORES E LIGANTES PARA A DOCAGEM MOLECULAR

Receptores e ligantes foram preparados para a docagem molecular utilizando o programa *AutoDock Tools (ADT)* (MORRIS *et al.*, 2009). Nos receptores foram deletadas as moléculas de água e adicionados átomos de hidrogênio. A grade que delimita a área de interação entre o receptor e o ligante (*Grid box*) foi criada e ajustada, e o arquivo do receptor foi salvo no formato *.pdbqt*. Nos ligantes foram detectados e escolhidos os pontos de torções e o arquivo foi salvo no mesmo formato.

#### 4.4. DOCAGEM MOLECULAR

Para as simulações de docagem molecular foi utilizado o método proteína rígida e ligante flexível (FERREIRA *et al.*, 2015). As simulações foram realizadas utilizando o ADT conectado ao software *AutoDock Vina v.1.2.0*. (EBERHARDT *et al.*, 2021).

O software utilizado associa dois componentes: um algoritmo de busca e uma função de pontuação. Primeiramente, o algoritmo foi responsável pela busca de possíveis combinações nas ligações, explorando os graus de liberdade rotacional, translacional e conformacional do ligante e das proteínas. Em seguida, a função de pontuação foi usada para escolher os melhores modos de ligação. Essas funções foram obtidas de acordo com os campos de força da mecânica molecular e parâmetros empíricos de cálculos de energia livre.

A análise *in silico* de interações do complexo droga-proteína, dos resíduos de aminoácidos envolvidos nas interações, assim como, as torções do ligante, átomos envolvidos nas interações, tipo e força das interações foi realizada utilizando os softwares *PyMol* (Schrödinger Inc) e *BIOVIA Discovery Studio* (Dassault Systèmes).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. RECEPTORES E LIGANTES SELECIONADOS NOS BANCOS DE DADOS

As estruturas tridimensionais das drogas (ligantes) relacionados ao tratamento do autismo, selecionadas de bancos de dados públicos, e seus respectivos códigos são apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Drogas (ligantes) relacionados ao tratamento do TEA

	Identificação	Banco de dados	Código
<b>Ligantes</b>	Canabigerol	ZINC	4217650
	Canabidiol	ZINC	4097406
	Risperidona	ZINC	538312
	Aripiprazol	ZINC	95564798

As estruturas tridimensionais dos receptores não mutados, selecionadas dos bancos de dados e algumas de suas características, são apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2.** Receptores não mutados relacionados ao TEA

Receptor	Código	Banco de dados	Organismo
CB1	6N4B	PDB	<i>Homo sapiens</i>
CB2	6KPF	PDB	<i>Homo sapiens</i>
D2	6LUQ	PDB	<i>Homo sapiens</i>

### 5.2. MODELOS DE ESTRUTURA DOS RECEPTORES

Foram modelados os receptores 5HT2C, 5HT1A e D3. Os dados das estruturas-molde (*templates*) selecionadas para a modelagem molecular e as sequências primárias a serem modeladas estão apresentadas na Tabela 3. A tabela apresenta os receptores, o código da sequência de aminoácidos não mutada, o código das estruturas-molde selecionadas no *Protein Data Bank*, a resolução da estrutura-molde, a identidade e cobertura de sequência.

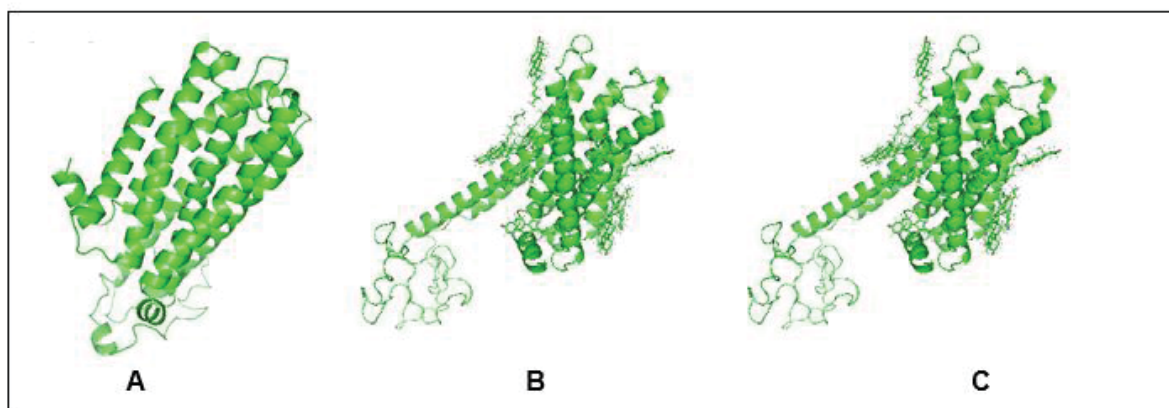
A identidade de sequência primária entre receptor e estrutura-molde, bem como a cobertura de sequência, foram bastante significativas propiciando condições adequadas para a utilização do método de modelagem comparativa.

**Tabela 3.** Dados sobre receptores relacionados ao TEA e suas respectivas estruturas-molde

Receptor	Seq. aa não mutada	Molde (PDB)	Identidade (%)	Cobertura (%)	Resolução do molde (Å)
5HT2C	NM_001256760.3*	8DPF	99,7	100,0%	2,84
5HT1A	NP_000515.2*	7E2X	99,5	99,7%	3,00
D3	AAI28123.1*	7CMU	99,2	100,0%	3,00

\*Código GenBank

A Figura 2 apresenta os modelos tridimensionais validados dos receptores 5HT2C, 5HT1A e D3.



**Figura 2.** Modelos de estruturas tridimensionais de receptores relacionados ao TEA. Estrutura A: 5HT2C. Estrutura B: 5HT1A. Estrutura C: D3.

Na Tabela 4, são apresentados os parâmetros de qualidade e validação das estruturas dos receptores obtidas por modelagem molecular. O gráfico de Ramachandran apresenta todas as combinações possíveis e mais estáveis de ângulos rotacionais dos resíduos de aminoácidos de uma proteína. Resíduos em regiões permitidas e favoráveis indicam a estabilidade da proteína e conseqüentemente um enovelamento correto. A porcentagem de resíduos nessas regiões nos modelos de estrutura dos receptores é considerada satisfatória, sendo o modelo do receptor 5HT2C e D3 considerados de maior qualidade estrutural, o que está de acordo com o fato de os moldes desses receptores apresentarem a maior cobertura de 100%.

No *MolProbity score*<sup>&</sup> os resultados foram favoráveis em relação a resolução cristalográfica do molde nos três receptores estudados. No *Qmean Z score*<sup>\*</sup> todos os

receptores apresentaram resultados favoráveis, com valores acima de -4,0, indicando que os receptores modelados alcançaram bons parâmetros de qualidade.

**Tabela 4.** Parâmetros de qualidade e validação dos receptores modelados

Receptor	Qmean Z score*	MolProbity score <sup>&amp;</sup>	Gráfico de Ramachandran
5HT2C	0,5 < Z score < 1,0	1,10	93,8% <sup>#</sup> e 99,1% <sup>\$</sup>
5HT1A	0,5 < Z score < 1,0	1,69	89,7% <sup>#</sup> e 94,74% <sup>\$</sup>
D3	0,5 < Z score < 0,67	1,43	89,3% <sup>#</sup> e 93,27% <sup>\$</sup>

\* Z score menores que -4,0 indicam modelos com baixa qualidade. <sup>&</sup>MolProbity score deve ser menor que resolução cristalográfica do molde. <sup>#</sup>Resíduos em regiões favoráveis. <sup>\$</sup>Resíduos em regiões permitidas

### 5.3. COMPLEXOS RECEPTOR/LIGANTE

Em todas as simulações de docagem molecular foram observadas interações dos ligantes (drogas/fármacos) com os respectivos receptores formando um complexo. A Tabela 5 apresenta as energias de afinidade dos complexos formados, que foram mensuradas em kcal/mol.

**Tabela 5.** Energia de afinidade dos complexos receptor/ligante

Complexos	Energia de afinidade (kcal/mol)
Risperidona/5HT2C	-9,3
Fluoxetina/5HT2C	-7,6
Canabidiol/5HT2C	-8,1
Canabigerol/5HT2C	-7,1
Canabidiol /5HT1A	-7,3
Canabigerol/5HT1A	-7,4
Canabidiol/CB1	-9,2
Canabigerol /CB1	-8,6
Canabidiol/CB2	-6,9
Canabigerol /CB2	-6,2
Aripiprazol/D2	-8,2
Canabidiol/D2	-7,7
Canabigerol/D2	-8,1
Risperidona/D3	-8,8
Canabidiol/D3	-7,1

Os resultados obtidos demonstraram que o receptor 5HT2C apresentou maior afinidade de interação com a Risperidona, um fármaco já aprovado para o tratamento do TEA e que é um antagonista específico deste receptor. A Fluoxetina apresentou afinidade de interação com o receptor ligeiramente maior que o CBG. O CBD apresentou um alto valor de afinidade pelo receptor, maior que a Fluoxetina e o CBG.

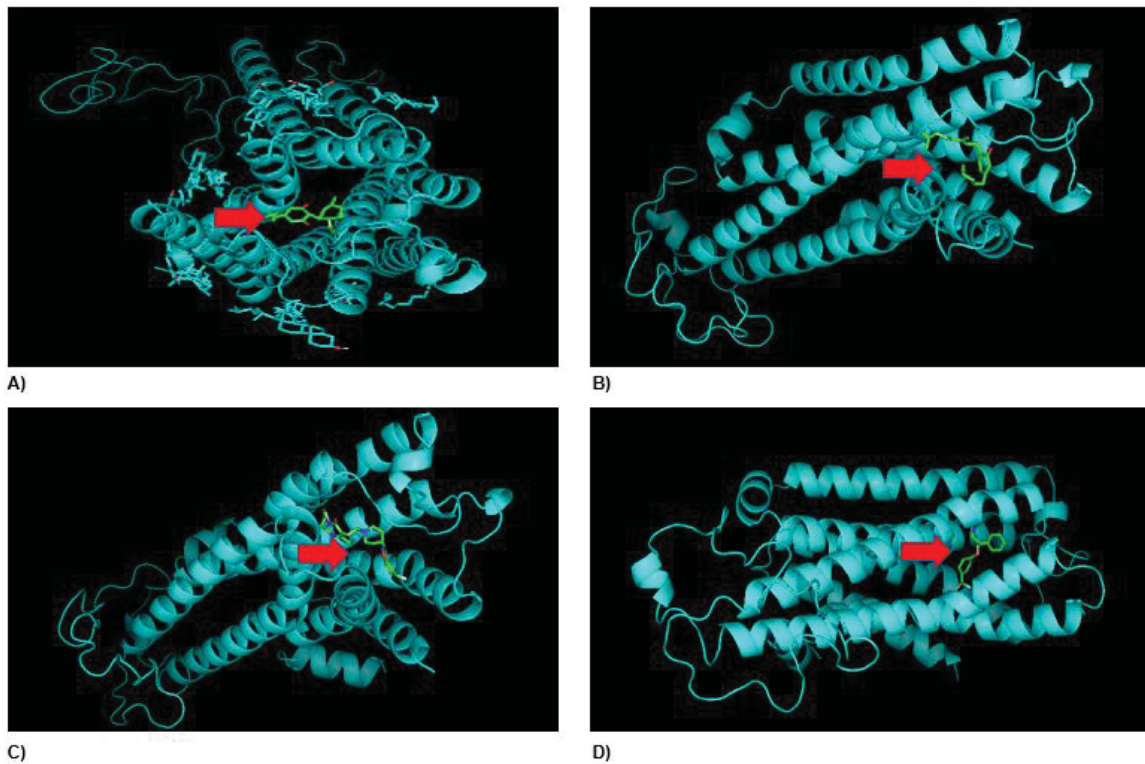
O receptor 5HT1A apresentou maior afinidade com o CBG do que com o CBD. O receptor CB1 apresentou alta afinidade com o CBG e com o CBD. Em relação ao receptor CB2, a energia de afinidade foi baixa, indicando que a interação pode ocorrer em ambiente fisiológico, mas provavelmente com baixa estabilidade.

O receptor D2 apresentou alta afinidade de interação com o Aripiprazol, um fármaco já aprovado para o tratamento do TEA, e uma energia de afinidade bastante similar com o CBG. O CBD, apesar de mais baixa, também apresentou energia de afinidade significativa com receptor D2.

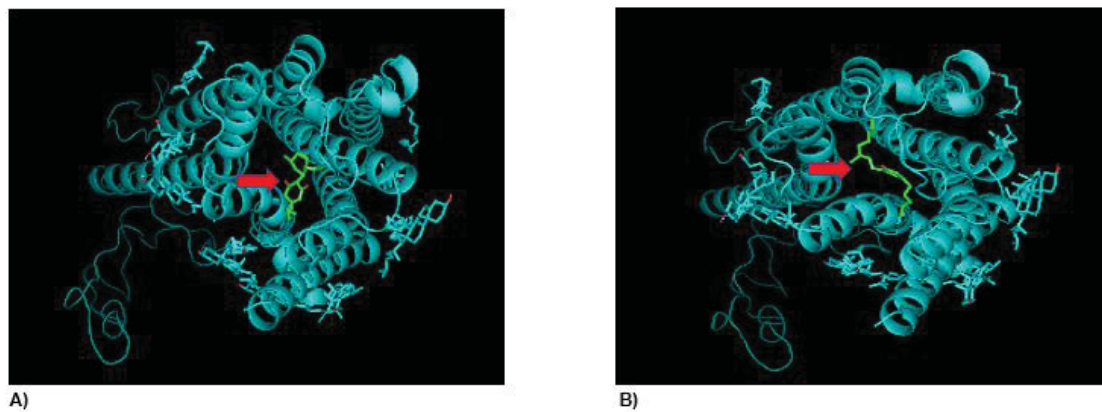
O receptor D3 apresentou um alto valor de energia de afinidade com a Risperidona, seguida pelo CBD. Já o CBG apresentou baixa afinidade, indicando possivelmente interação instável em ambiente fisiológico.

As Figuras 3, 4, 5, 6, 7 e 8 apresentam uma visualização dos complexos receptor/ligante usando a interface do programa *Pymol*. Na Figura 3 são apresentados os complexos 5HT2C/CBD, 5HT2C/CBG, 5HT2C/Fluoxetina e 5HT2C/Risperidona.

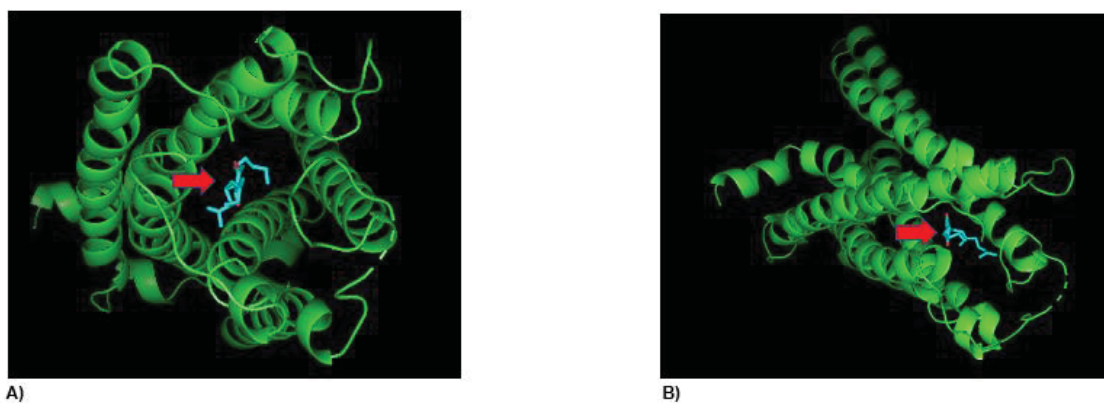
A Figura 4 apresenta os complexos 5HT1A /CBD e 5HT1A /CBG. A Figura 5 mostra os complexos CB1/CBD e CB1/CBG; a Figura 6 apresenta a vista panorâmica dos complexos CB2/CBD e CB2/CBG; a Figura 7 apresenta a vista panorâmica dos complexos D2/CBD, D2/CBG e D2/Aripiprazol e a Figura 8 apresenta a vista panorâmica dos complexos D3/CBD, D3/CBG e D3/Risperidona.



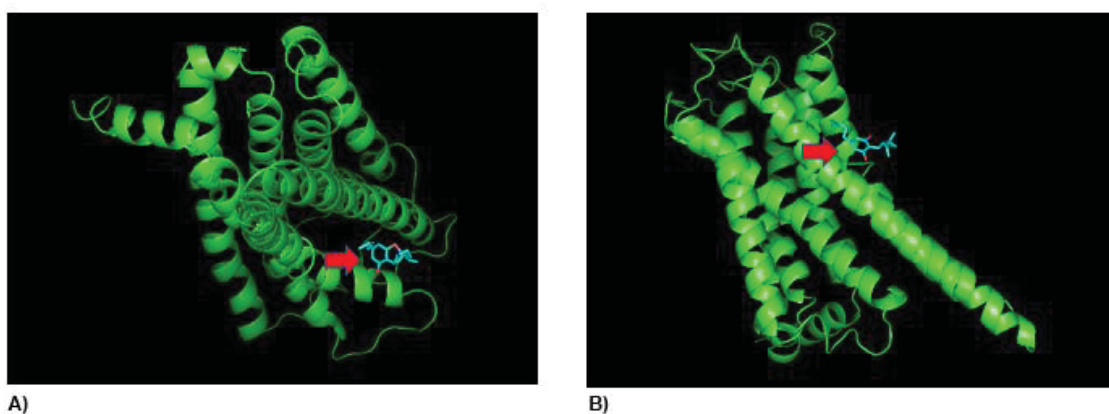
**Figura 3:** Vista panorâmica do receptor 5HT2C ligado ao (A) Canabidiol, (B) Canabigerol, (C) Fluoxetina e (D) Risperidona. O receptor é mostrado em azul em posições diferentes para visualização do ligante em verde (seta vermelha).



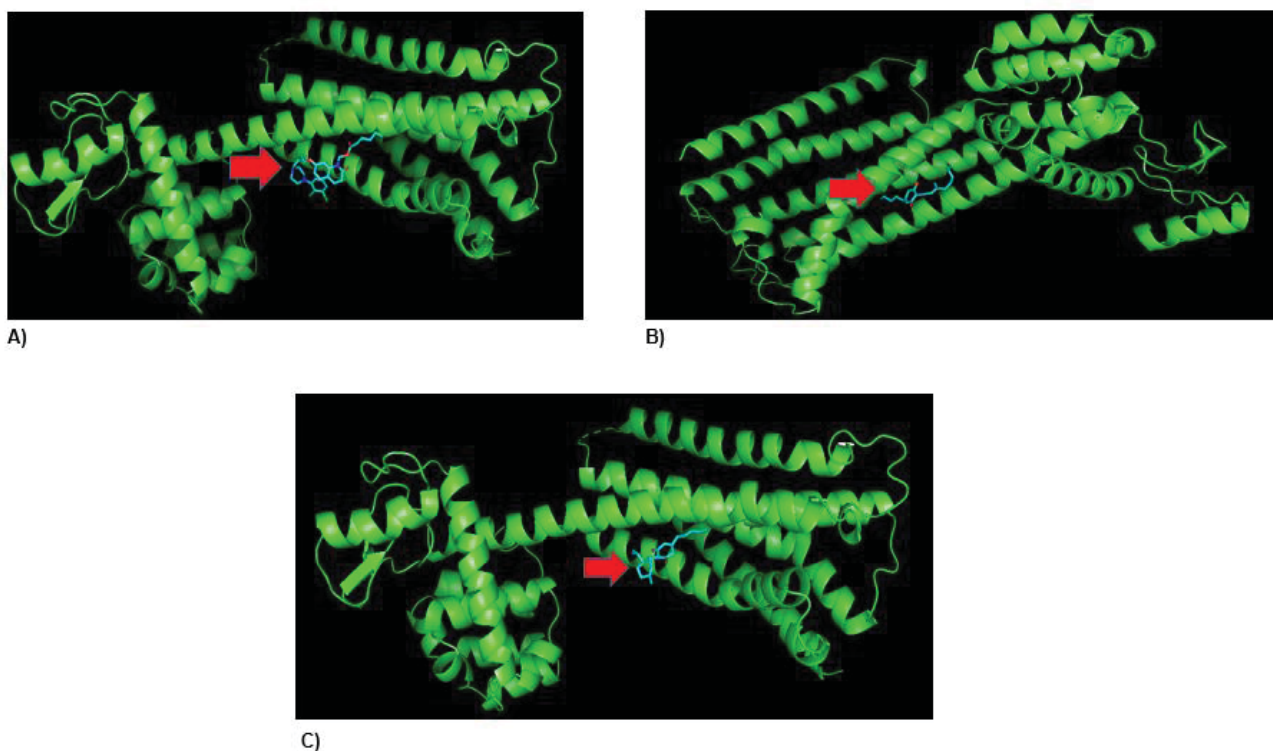
**Figura 4:** Vista panorâmica do receptor 5HT1A ligado ao (A) Canabidiol e (B) Canabigerol. O receptor é mostrado em azul em posições diferentes para visualização do ligante em verde (seta vermelha).



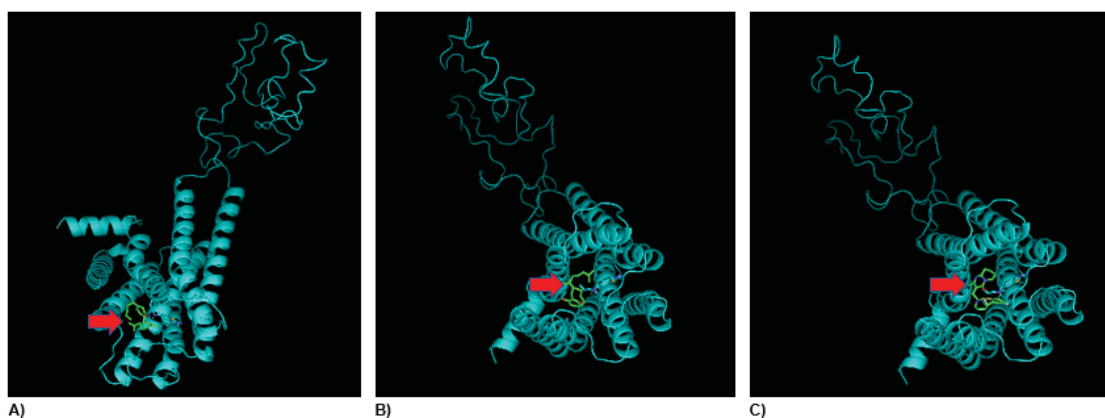
**Figura 5:** Vista panorâmica do receptor CB1 ligado ao (A) Canabidiol e (B) Canabigerol. O receptor é mostrado em verde em posições diferentes para visualização do ligante em azul (seta vermelha).



**Figura 6:** Vista panorâmica do receptor CB2 ligado ao (A) Canabidiol e (B) Canabigerol. O receptor é mostrado em verde em posições diferentes para visualização do ligante em azul (seta vermelha).



**Figura 7:** Vista panorâmica do receptor D2 ligado ao (A) Aripiprazol, (B) Canabigerol e (C) Canabidiol. O receptor é mostrado em verde em posições diferentes para visualização do ligante em azul (seta vermelha).



**Figura 8:** Vista panorâmica do receptor D3 ligado ao (A) Canabidiol, (B) Canabigerol e (C) Risperidona. O receptor é mostrado em azul em posições diferentes para visualização do ligante em amarelo (seta vermelha).

A apresentação dos complexos e ligações, catalogadas por número de resíduos, números de ligações e tipos de ligações são apresentadas na Tabela 6. O complexo formado pelo receptor CB1 e ligante CBG apresentou o maior número de

ligações e resíduos envolvidos, seguido do complexo D2/CBG. A Risperidona e a Fluoxetina tiveram grande semelhança no número de ligações e de resíduos. Entretanto, somente o número de ligações químicas não determina a estabilidade do complexo; o tipo de ligação e os átomos dos ligantes envolvidos nas ligações devem ser considerados.

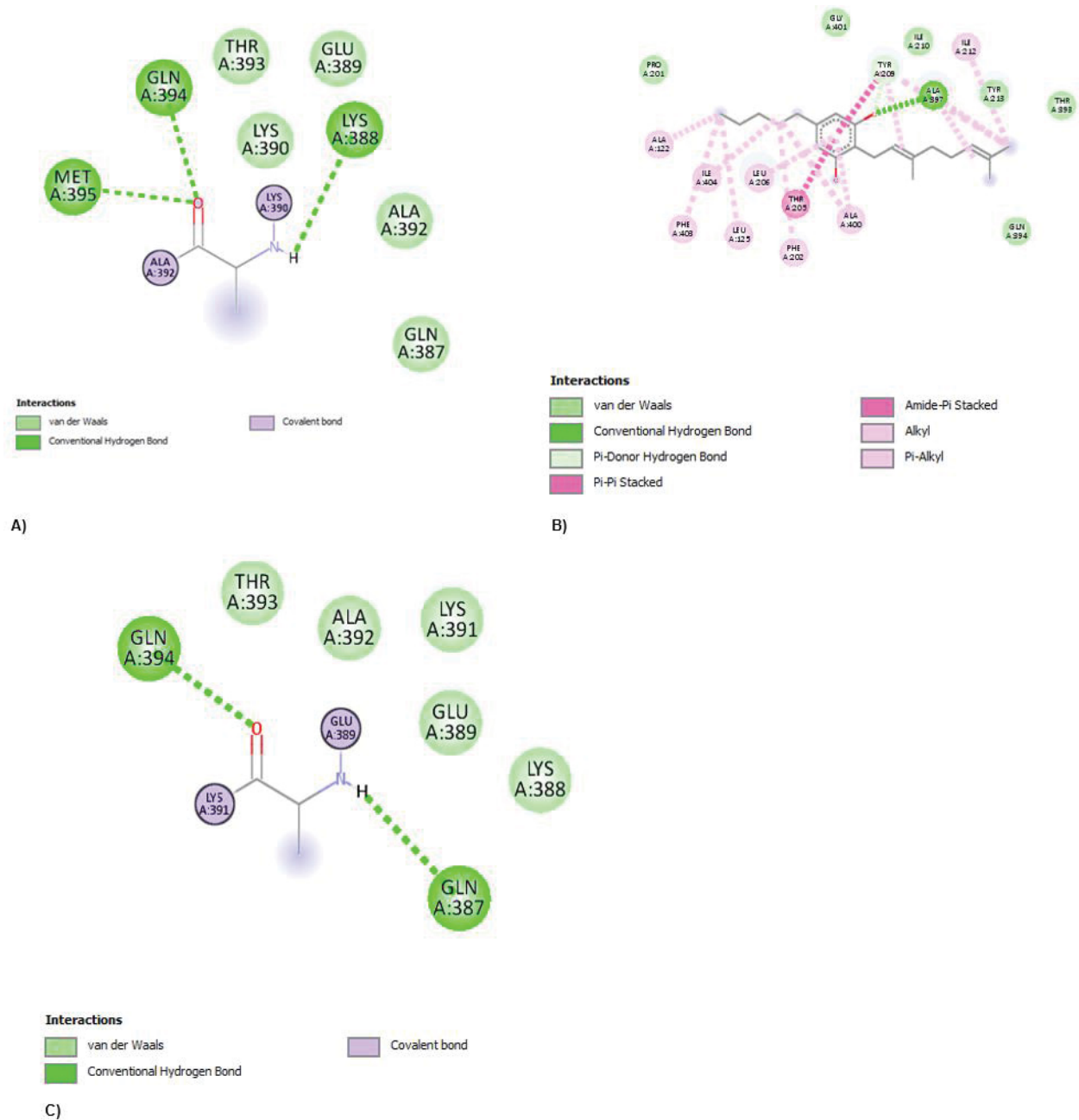
**Tabela 6:** Complexos receptores/drogas e as ligações químicas que estabilizam cada complexo:

Complexo	Nº de ligações	Nº de resíduos*	Tipo de ligação
5HT2C/Risperidona	12	12	Ligação de hidrogênio Van der Waals Ligação covalente
5HT2C/Fluoxetina	13	12	Ligação de hidrogênio Van der Waals Ligação covalente Pi-sigma Ligação Doador-Doador Desfavorável
5HT2C/Canabigerol	15	14	Ligação de hidrogênio Van der Waals Ligação C-H Empilhamento Pi-Pi Alquila Pi-alquila
5HT2C/Canabidiol	18	17	Van der Waals Empilhamento Pi-Pi Alquila Pi-alquila Pi-sigma
D2/Canabidiol	9	9	Ligação de hidrogênio Van der Waals Ligação covalente
D2/Canabigerol	17	21	Ligação de hidrogênio Van der Waals Alquila Pi-alquila Empilhamento amida Empilhamento Pi-Pi Ligação de hidrogênio (doador)
D2/Aripiprazol	10	10	Ligação de hidrogênio Van der Waals Ligação covalente
CB1/Canabidiol	18	17	Van der Waals Alquila Pi-alquila Pi-Pi T-shaped
CB1/Canabigerol	18	21	Van der Waals Alquila Pi-alquila

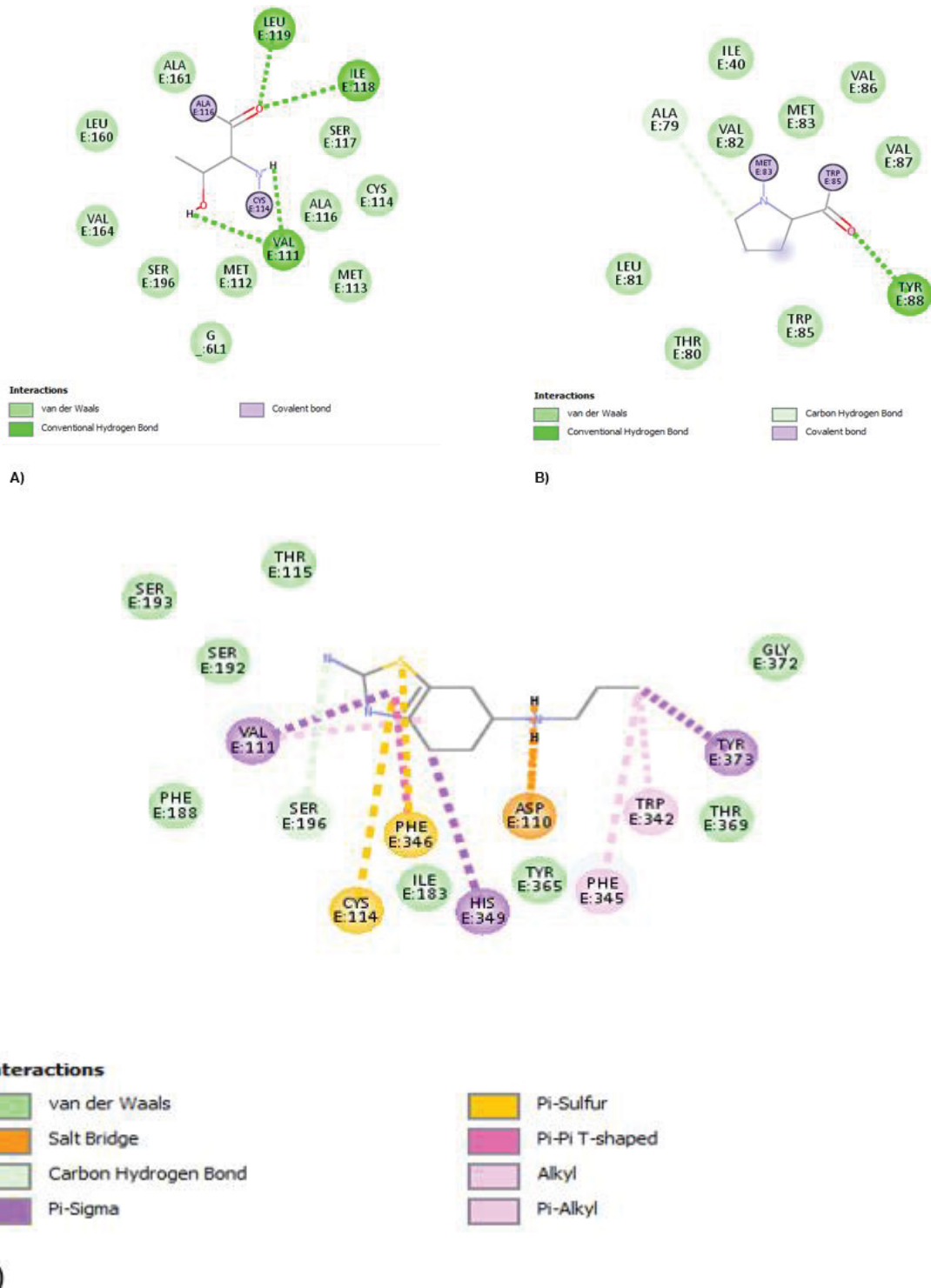
			Pi-Pi T-shaped Pi Sigma
CB2/Canabidiol	15	12	Ligação de hidrogênio Van der Walls Alquila Pi-alquila
CB2/Canabigerol	18	10	Van der Walls Alquila Pi-alquila Pi-Pi T-shaped
D3/Canabidiol	12	12	Ligação de hidrogênio Van der Walls Ligação C-H Ligação covalente
D3/Canabigerol	18	17	Van der Walls Ponte salina Ligação C-H Pi-sigma Enxofre Pi-Pi T-shaped Alquila Pi-Alquila
D3/Risperidona	16	15	Ligação de hidrogênio Ligação Van der Walls Ligação covalente
5HT1A/Canabigerol	17	15	Ligação de hidrogênio Van der Walls Pi-alquila Alquila
5HT1A/Canabidiol	16	16	Ligação de hidrogênio Van der Walls Pi-alquila Ligação covalente Empilhamento Pi-Pi

\*Resíduos de aminoácidos envolvidos nas ligações com o ligante

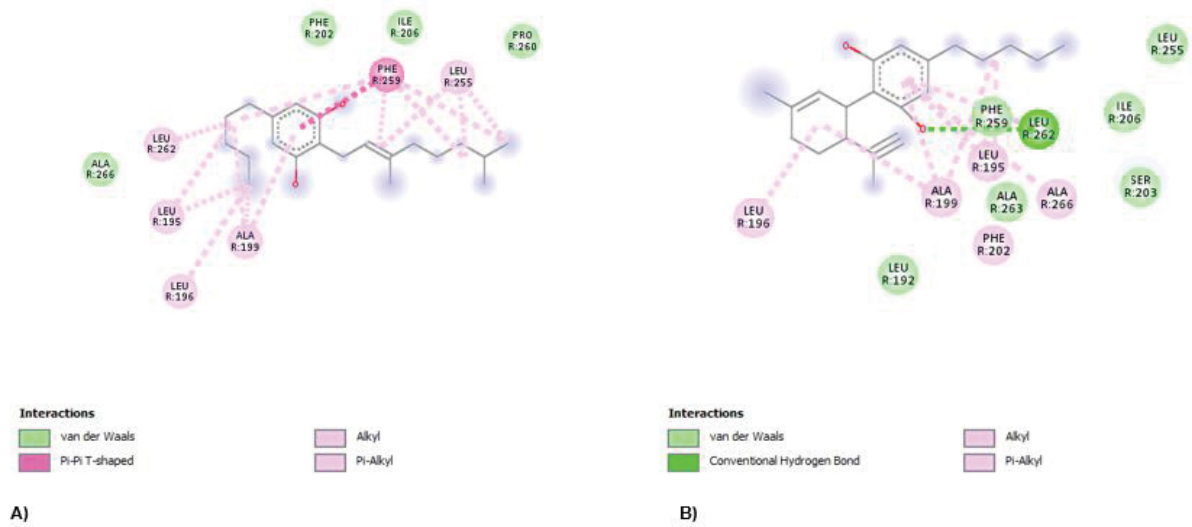
Para permitir uma melhor visualização das ligações químicas formadas entre os ligantes e os receptores, estas foram dispostas em um diagrama bidimensional. O diagrama apresenta os aminoácidos dos receptores, que estão envolvidos nas ligações químicas, os átomos dos ligantes que realizam as ligações, bem como o tipo de ligação química. Nas figuras 9, 10, 11, 12, 13 e 14 é possível observar quantos e quais resíduos do receptor interagem com o ligante e quantas ligações foram formadas. O comprimento das ligações não está em escala, logo, nestes diagramas, este não pode ser considerado como parâmetro para determinação de força de ligação e estabilidade.



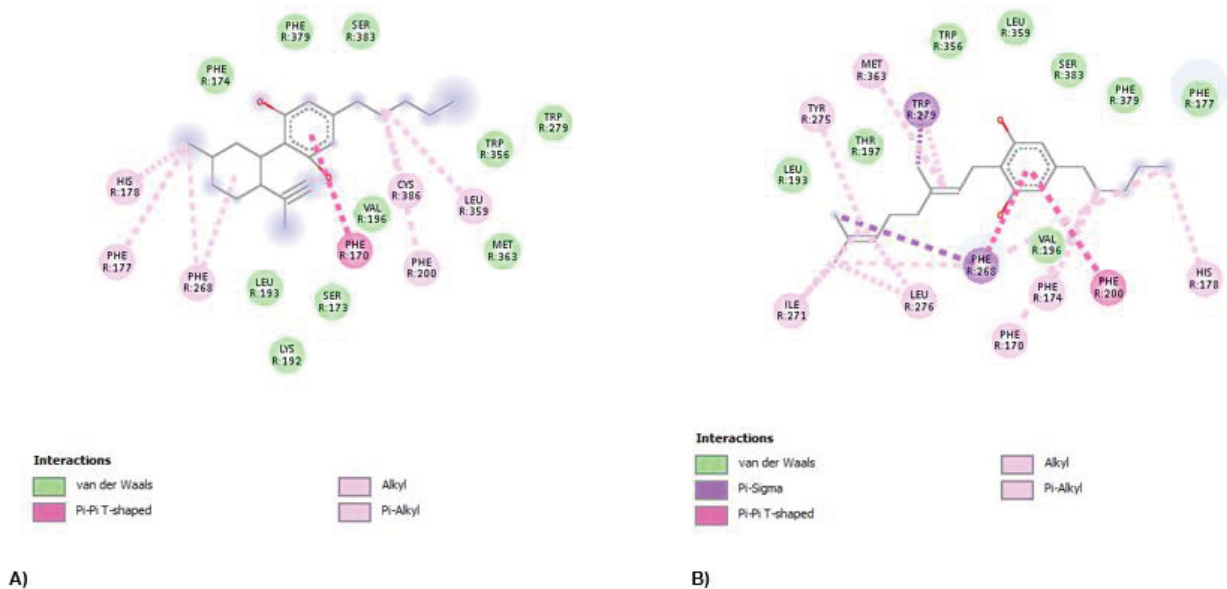
**Figura 9:** Diagrama bidimensional demonstrando as ligações químicas e os aminoácidos envolvidos na interação entre o receptor D2 e Aripiprazol (A), Canabigerol (B), Canabidiol (C). Os resíduos de aminoácidos são mostrados como esferas coloridas e com o código de três letras. As ligações são representadas por linhas tracejadas, exceto as interações de Van der Waals.



**Figura 10:** Diagrama bidimensional demonstrando as ligações químicas e os aminoácidos envolvidos na interação entre o receptor D3 e Risperidona (A), Canabidiol (B), Canabigerol (C). Os resíduos de aminoácidos são mostrados como esferas coloridas e com o código de três letras. As ligações são representadas por linhas tracejadas, exceto as interações de Van der Waals.

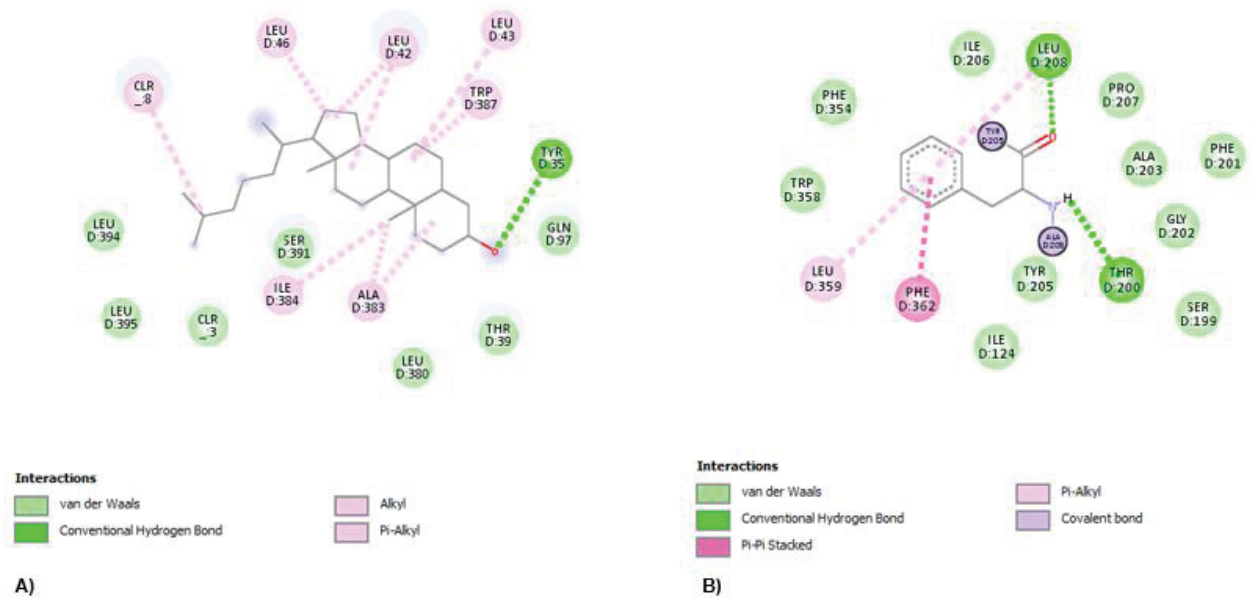


**Figura 11:** Diagrama bidimensional demonstrando as ligações químicas e os aminoácidos envolvidos na interação entre o receptor CB2 e Canabigerol (A), Canabidiol (B). Os resíduos de aminoácidos são mostrados como esferas coloridas e com o código de três letras. As ligações são representadas por linhas tracejadas, exceto as interações de Van der Waals.

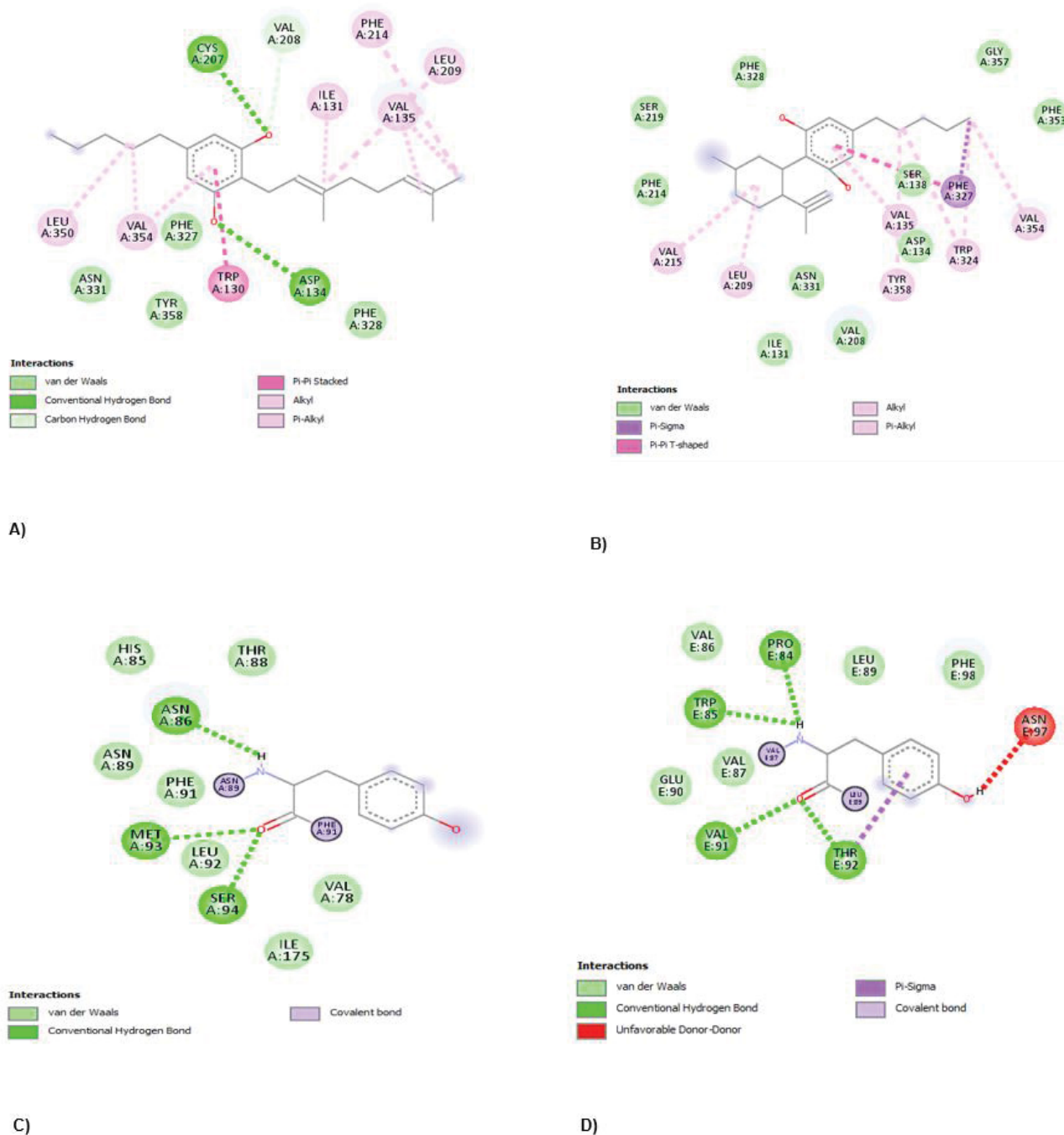


**Figura 12:** Diagrama bidimensional demonstrando as ligações químicas e os aminoácidos envolvidos na interação entre o receptor CB1 e Canabidiol (A), Canabigerol (B). Os resíduos de aminoácidos são mostrados como esferas coloridas

e com o código de três letras. As ligações são representadas por linhas tracejadas, exceto as interações de Van der Waals.



**Figura 13:** Diagrama bidimensional demonstrando as ligações químicas e os aminoácidos envolvidos na interação entre o receptor 5HT1A e Canabigerol (A), Canabidiol (B). Os resíduos de aminoácidos são mostrados como esferas coloridas e com o código de três letras. As ligações são representadas por linhas tracejadas, exceto as interações de Van der Waals.



**Figura 14:** Diagrama bidimensional demonstrando as ligações químicas e os aminoácidos envolvidos na interação entre o receptor 5HT<sub>2C</sub> e Canabigerol (A), Canabidiol (B), Risperidona (C), Fluoxetina (D). Os resíduos de aminoácidos são mostrados como esferas coloridas e com o código de três letras. As ligações são representadas por linhas tracejadas, exceto as interações de Van der Waals.

## 6. DISCUSSÃO

Os estudos relacionados ao tratamento do TEA têm avançado significativamente nos últimos anos. As características clínicas - estereotípias, ecolalias, alterações de humor, desregulações sensoriais, distúrbios do sono, alterações na comunicação funcional e comportamentos disruptivos necessitam de intervenção a curto e longo prazo, uma vez que dificultam a inclusão escolar e limitam a eficácia das terapias de estimulação (ARVIDSSON *et al.*, 2018).

Terapias medicamentosas vêm ganhando corpo na busca por qualidade de vida dos portadores e seus familiares, afim de proporcionar menor impacto diante das adversidades apresentadas pelo TEA. Porém, apesar desse crescimento significativo dos diagnósticos de TEA e impacto gerado na sociedade, estudos acerca de intervenções medicamentosas ainda se fazem necessários (MUNIZ, 2018; TRISTAN *et al.*, 2021).

Nesse contexto, as análises *in silico* podem auxiliar na descoberta de novas moléculas com potencial farmacológico (ANUSUYA *et al.*, 2018). A partir do objetivo geral deste estudo, foram avaliadas utilizando ferramentas de bioinformática a interação entre o Canabigerol (CBG) e o Canabidiol (CBD) com os principais receptores alvos de fármacos utilizados no tratamento do TEA.

Por meio da abordagem *in silico*, foi possível observar os sítios de ligações de medicações já aprovadas para o tratamento do TEA e os alvos deste estudo a esses receptores: CBG e o CBD.

Em nosso estudo observamos que as maiores energias de afinidade de ligação e maior probabilidade de apresentar uma eficácia terapêutica estão relacionadas aos seguintes complexos: 1) 5HT<sub>2C</sub> com a Risperidona e o CBD; 2) CB<sub>1</sub> com o CBG e o CBD; 3) D<sub>2</sub> com o Aripiprazol e o CBG.

O primeiro grupo de resultados aqui obtidos mostrou afinidade do receptor 5HT<sub>2C</sub> com Risperidona e CBD. De todos os estudos já descritos na literatura, os receptores serotoninérgicos estão entre os mais investigados para o TEA (MULLER *et al.*, 2016). A serotonina (5HT) é um neurotransmissor chave e que desempenha um papel crucial no estágio inicial do neurodesenvolvimento. A serotonina é uma indolamina que regula outros processos biológicos, incluindo apetite, humor, sono, cognição e função executiva (BERGER *et al.*, 2009; RAY *et al.*, 2011; MELTZER,

ROTH, 2013). Ela pode ser encontrada em todo o cérebro, principalmente em regiões relacionadas a sintomas apresentados por pacientes com TEA, como a presença de comportamentos restritos e repetitivos (LANGEN *et al.*, 2014).

Entre os processos neuronais que envolvem os receptores 5HT estão a neurogênese, a migração e sobrevivência celular, sinaptogênese e plasticidade sináptica (EISSA *et al.*, 2018). Os receptores 5HT<sub>2C</sub> são uma classe de receptores que estão distribuídos por todo o sistema nervoso central, com alta densidade na região do plexo coroide. Esses receptores também são encontrados em todas as áreas do sistema límbico, concentrados especificamente no hipocampo, hipotálamo e neocórtex. O 5HT<sub>2C</sub> também é expresso em áreas importantes para execução de ações motoras, estando localizados na substância negra (HENSLER, 2012).

Bagdy *et al.*, (2001) observaram, em estudo realizado com indivíduos diagnosticados com TEA, uma redução dose dependente dos movimentos repetitivos com a administração do antagonista seletivo de alta afinidade pelo 5HT<sub>2C</sub> (antidepressivo). Efeitos semelhantes foram encontrados em Graf *et al.*, (2003) que observaram que o pré-tratamento de SB242084 (modelo animal) foi capaz de reverter efetivamente os efeitos da autolimpeza induzida por mCPP (meta-clorofenilpiperazina). Juntos, esses achados sugerem que a regulação negativa do 5HT<sub>2C</sub> reduz a expressão de comportamentos restritos e repetitivos, sendo efetivos para o tratamento de tais sintomas.

A Risperidona, um derivado do benzisoxazol, utilizado nas análises *in silico* deste estudo, é um dos antipsicóticos com propriedades antagonistas seletivas aos receptores 5HT<sub>2C</sub> (HOEKSTRA, TROOST, LAHUIS, 2010). Nas últimas décadas, estudos demonstraram que a Risperidona é eficaz para tratar um amplo espectro de transtornos psiquiátricos, incluindo o TEA (TEIXEIRA *et al.*, 2013).

A interação de receptores 5HT<sub>2C</sub> com o CBD já foi observada em um estudo que demonstrou que o sistema serotoninérgico está envolvido na ação ansiolítica do CBD (SCHIER *et al.*, 2011). Com o aumento de publicações sobre os efeitos terapêuticos do CBD, as principais possibilidades que se destacam são as propriedades ansiolíticas e antipsicóticas (RESSTEL *et al.*, 2006).

Um estudo duplo cego apontou que a administração crônica de CBD não alterou a concentração extracelular de serotonina ou a expressão dos receptores 5HT<sub>1A</sub> e 5HT<sub>2C</sub>. O CBD (300 mg), bem como as drogas ansiolíticas Diazepam (10 mg) e Ipsapirona (5 mg), atenuou significativamente a ansiedade induzida por falar

em público. O efeito ansiolítico do CBD em voluntários saudáveis observado neste estudo levou à hipótese de que esse canabinoide poderia ser eficaz para tratar o transtorno de ansiedade social (SCHIER *et al.*, 2011).

Um outro estudo investigou os efeitos do CBD sobre o fluxo sanguíneo cerebral regional (SFP) em voluntários saudáveis, usando tomografia computadorizada por emissão de fóton único. Os resultados demonstraram que a ansiedade induzida pela SFP foi reduzida nos pacientes que receberam CBD (CRIPPA *et al.*, 2004). No estudo, os pacientes receberam CBD (400 mg) ou placebo, em uma abordagem duplo-cega, em duas sessões experimentais com um intervalo de uma semana. O CBD reduziu significativamente a ansiedade (SCHIER *et al.*, 2011).

A interação do complexo 5HT<sub>2C</sub>/CBD traz uma nova possibilidade de intervenções medicamentosas, afim de diminuir os sintomas acarretados no TEA, tendo em vista a efetividade dos efeitos do CBD e da estimulação do receptor de serotonina 5HT<sub>2C</sub>.

O CBD é um fitocanabinóide não psicoativo abundante em extratos de *Cannabis sativa* que possui alta afinidade com uma série de receptores, incluindo o receptor CB<sub>1</sub>. Este receptor é altamente expresso no sistema nervoso central e é particularmente abundante em áreas cerebrais associadas ao controle motor, respostas emocionais, comportamento motivado e homeostase energética (TSUBOI *et al.*, 2018; PENG *et al.*, 2022).

Saito, Wotijak e Moreira (2010) observaram que dentro do sistema nervoso central, o receptor CB<sub>1</sub> está primariamente localizado nos terminais nervosos pré-sinápticos, sendo responsável pela maioria dos efeitos neurocomportamentais deste canabinóide. O CBD atua como um modulador alostérico negativo em CB<sub>1</sub>. Sua função está relacionada a ativação, internalização e dessensibilização do receptor CB<sub>1</sub> (LAPRAIRIE *et al.*, 2015; MCPARTLAND *et al.*, 2015). Em contrapartida, o CBG parece ligar-se aos receptores canabinóides CB<sub>1</sub> e CB<sub>2</sub>, bloqueando os receptores CB<sub>1</sub> e 5HT<sub>1A</sub> (CASCIO *et al.*, 2010).

A utilização do CBD na prática clínica vem se intensificando nos últimos anos. Este composto apresentou alto potencial terapêutico para várias doenças, incluindo transtornos psicóticos, sono e ansiedade (KESNER e AMANTE, 2020; PENG *et al.*, 2022). Da mesma forma, o CBG se demonstrou eficaz para tratamento de ansiedade. Um experimento observou que a administração de CBG na dose de 10 mg/kg

diminuiu os comportamentos de ansiedade em camundongos. Foi observado também que a administração deste composto na dose de 3 mg/kg também produziu um leve efeito antinociceptivo (ZAGZOOG *et al.*, 2020).

Nosso estudo demonstrou um potencial efeito modulador de receptores CB1 quando em contato com CBD e CBG. Tendo em vista a alta expressão da proteína CB1 no sistema nervoso central, o tratamento utilizando os dois compostos CBD e CBG podem apresentar resultados importantes para o controle de diversos comportamentos disruptivos do TEA, incluindo desregulações de sono, déficits cognitivos, comportamentais e sociais.

Outro resultado importante destacado a partir deste trabalho é a interação do receptor da dopamina D2 com Aripiprazol e CBG. Até o momento, os antagonistas dos receptores de dopamina são os únicos medicamentos com eficácia clínica consistente no TEA, apesar de seus efeitos colaterais evidentes (EISSA *et al.*, 2022).

Alterações no sistema dopaminérgico têm sido implicadas em vários distúrbios neuropsiquiátricos, incluindo TDAH e, recentemente, TEA (DICARLO *et al.*, 2019). Um estudo relatou a redução da sinalização do sistema mesolímbico dopaminérgico em pacientes com TEA. Foram destacados os déficits de processamento de recompensa, que ocorrem tanto para recompensas sociais quanto não sociais (SQUILLACE *et al.*, 2014).

Os receptores de dopamina D2 e D3 desempenham um papel fundamental no funcionamento cerebral (EISSA *et al.*, 2018). Um estudo pré-clínico demonstrou que camundongos com aumento de neurotransmissão dopaminérgica no corpo estriado dorsal, devido à superexpressão do transportador de dopamina em neurônios de camundongos. Estes exibiram déficits significativos na sociabilidade e comportamentos repetitivos relevantes para a patologia do TEA (LEE *et al.*, 2017).

Ainda em relação ao sistema dopaminérgico, Eissa *et al.*, (2022) apresentaram em seu estudo diversos neurotransmissores investigados e os impactos das desregulações dos mesmos no fenótipo comportamental do TEA, em camundongos BTBR (camundongos com fenótipo semelhante ao TEA). A liberação reduzida de dopamina no córtex pré-frontal já foi observada em indivíduos com TEA.

O Aripiprazol é um antipsicótico agonista parcial dos receptores D2 e 5HT1A e antagonista do receptor 5HT2A. Ele estabiliza a dopamina e a serotonina no núcleo accumbens, que constitui uma interface límbico-motora, com função em sistemas de recompensa cerebral. Esse tratamento farmacológico atua no controle de sintomas

positivos, negativos e cognitivos na esquizofrenia. O Aripiprazol demonstra seletividade funcional em vias de sinalização intracelular, como a via mesolímbica e nigroestriatal, exigindo uma taxa de ocupação superior a 90% nos receptores D2 para ser clinicamente ativo (GETTU, SAADABADI, 2022).

Em nosso estudo, foi possível observar que o CBG é capaz de se conectar ao sítio de ligação do receptor de dopamina D2 com afinidade significativa. Da mesma maneira, a interação com os receptores 5HT2C e CB1 foi observada. Estes resultados sugerem que o CBG pode ser um candidato a testes experimentais para avaliação de eficácia no tratamento de condições observadas em pacientes com TEA, como alterações relacionadas a ansiedade, distúrbios de sono, estereotipias e alterações de humor, utilizando CBG.

Uma vez que o comportamento semelhante ao TEA surge da disfunção dopaminérgica, o efeito dos antagonistas da dopamina observados nos traços centrais deste transtorno mostram que os moduladores de dopamina devem levar a uma melhora comportamental social e não social (PAVAL, 2017). Conforme demonstrado por dados anteriores, os sintomas de TEA podem ser devidos ou exacerbados por sinalização anormal do sistema dopaminérgico (LANGEN *et al.*, 2011; RODRIGUIZ *et al.*, 2004). Portanto, o estudo da disfunção dopaminérgica é vital no que se refere a esse distúrbio do neurodesenvolvimento (EISSA *et al.*, 2022).

## 7. CONCLUSÃO

As maiores energias de afinidade de ligação e maior probabilidade de apresentar uma eficácia terapêutica aqui encontradas estão relacionadas aos complexos receptor/ligante: 5HT2C com a Risperidona e o CBD; CB1 com o CBG e o CBD; D2 com o Aripiprazol e o CBG. As interações envolvendo o CBG e o CBD apresentam afinidades com os receptores que vão de encontro com os fármacos já aprovados e utilizados na prática clínica: a Risperidona e o Aripiprazol. Tais resultados reforçam o potencial de utilização dos compostos CBG e CBD para o tratamento de comportamentos relacionados ao TEA, incluindo ansiedade, hiperatividade, irritabilidade e movimentos repetitivos.

## REFERÊNCIA

American Psychiatric Association (APA). Diagnostic and statistical manual of mental disorders. **DSM- 5**. Washington, 2013.

American Psychiatric Association (APA). Diagnostic and statistical manual of mental disorders. **DSM- 3**. Washington, 1980.

American Psychiatric Association (APA). Diagnostic and statistical manual of mental disorders. **DSM- 4**. Washington, 1994.

ANUSUYA, S.; KESHERWANI, M.; PRIYA, K.V.; VIMALA, A.; SHANMUGAM, G.; VELMURUGAN, D.; GROMIHA, M.M. Drug-Target Interactions: Prediction Methods and Applications. **Curr Protein Pept Sci**. n. 19, p. 537-561, 2018.

ARAN, A.; CASSUTO, H.; LUBOTZKY, A.; WATTAD, N. *et al.* Brief Report: Cannabidiol-Rich Cannabis in Children with Autism Spectrum Disorder and Severe Behavioral Problems-A Retrospective Feasibility Study. **J Autism Dev Disord**. v. 49, n. 3, p. 1284-1288, mar, 2019.

ARAUJO, D. J.; TJOA, K.; SAIJO, K. The Endocannabinoid System as a Window Into Microglial Biology and Its Relationship to Autism. **Frontiers in Cellular Neuroscience**. v. 13, set, 2019.

ARVIDSSON, O.; GILLBERG, C.; LICHTENSTEIN, P.; LUNDSTROM, S. Secular changes in the symptom level of clinically diagnosed autism. **Association for Child and Adolescent Mental Health**. v. 59, n. 7, p. 744-751, jul, 2018.

ASSIS, D.O.; SOUZA, C.R.S.; BURITI, L.C.P.; BURITI, L.C.P.; MORAIS, L.M.M.; OLIVEIRA, L.M.L.; FERNANDES, L.M.; SOUZA, M.R.; FROTA, R.E.; FILHO, R.J.G. Specificities of pharmacological treatment and indications in autism spectrum disorder. **Brazilian Journal of Health Review**. jun, 2021.

BAGDY, G.; GRAF, M.; ANHEUER, Z.E.; MODOS, E.A.; KANTOR, S. Anxiety-like effects induced by acute fluoxetine, sertraline or m-CPP treatment are reversed by pretreatment with the 5-HT<sub>2C</sub> receptor antagonist SB-242084 but not the 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist WAY100635. **The International Journal. Neuropsychopharmacol**. v. 4, p. 399-408. 2001.

BERGER, M.; GRAY, J.A.; ROTH, B.L. The expanded biology of serotonin. **Annual Review of Medicine**. v. 60, p. 355-366. 2009.

BISWAS, M.; VANWONG, N.; SUKASEM, C. Pharmacogenomics in clinical practice to prevent risperidone-induced hyperprolactinemia in autism spectrum disorder. **Pharmacogenomics**. v. 23, n. 8, abr, 2022.

BOURGERON, T. From the genetic architecture to synaptic plasticity in autism spectrum disorder. **Nature Reviews Neuroscience**. States United, v. 16, n. 9, p. 551-563, ago, 2015.

CANITANO, R.; SCANDURRA, V. Risperidone in the treatment of behavioral disorders associated with autism in children and adolescents. **Neuropsiquiatra Des. Trat.** v. 4, n. 4, p. 723-730, 2008.

CASCIO, M.G.; GAUSON, L.A.; STEVENSON, L.A.; ROSS, R.A.; PERTWEE, R.G. Evidence that the plant cannabinoid cannabigerol is a highly potent  $\alpha$  2-adrenoceptor agonist and a moderately potent 5HT1A receptor antagonist. **British Journal of Pharmacology**. v. 159, n. 129, 2010.

CHAHROUR, M.; KLEIMAN, R. J.; MANZINI, M. C. Translating genetic and preclinical findings into autism therapies. **Dialogues Clin Neurosci.** v. 19, n. 4, p. 335-343, 2017.

CHOPKO, T.C.; LINDSLEY, C.W. Classics in Chemical Neuroscience: Risperidone. **ACS Quimica Neurociencia**. v. 9, n. 7, p. 1520-1529, 2018.

CLINICALTRIALS. Cannabidiol and autism. Cannabigerol and autism. 2022.

CORENA-MCLEOD, M. Comparative pharmacology of risperidone and paliperidone. **Drogas RD**. v. 2, n. 15, p. 163-174, 2015.

COSTA, R. Análise das evidências científicas do uso do canabidiol em doenças psiquiátricas e neurológicas. 2017.

CRIPPA, J.A.; ZUARDI, A.W.; GARRIDO, G.E.; WICHERT, A.L.; GUARNIERI, R.; FERRARI, L.; AZEVEDO-MARQUES, P.M.; HALLAK, J.E.; MCGUIRE, P.K.; FILHO, G.B. Effects of cannabidiol (CBD) on regional cerebral blood flow. **Neuropsychopharmacol.** v. 29, n. 2, p. 417-146. 2004.

DICARLO, G.E.; AGUILAR, J.I.; MATTHIES, H.J.; HARRISON, F.E.; BUNDSCHUH, K.E.; WEST, A.; HASHEMI, P.; HERBORG, F.; RICKHAD, M.; CHEN, H.; WALLACE, M.T.; GALLI, A. Autism-linked dopamine transporter mutation alters striatal dopamine neurotransmission and dopamine-dependent behaviors. **Journal of Clinical Investigation**. v. 129, n. 8, p. 3407-3419, 2019.

EBERHARDT, J.; SANTOS-MARTINS, D.; TOÇÇACK, A.F.; FORLI, S. AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, expanded force field, and python bindings. **Journal of Chemical Information and Modeling**. 2021.

EISSA, N.; AL-HOUQANI, M.; SADEQ, A.; OJHA, S. K. *et al.* Current Enlightenment About Etiology and Pharmacological Treatment of Autism Spectrum Disorder. **Front Neurosci.** n. 12, p. 304, 2018.

EISSA, N.; VENKATACHALAM, K.; JAYAPRAKASH, P.; YUVARAJU, P.; FALKENSTEIN, M.; STARK, H.; SADEK, B. Experimental Studies Indicate That ST-2223, the Antagonist of Histamine H3 and Dopamine D2/D3 Receptors, Restores Social Deficits and Neurotransmission Dysregulation in Mouse Model of Autism. **Pharmaceuticals (Basel).** v. 15, n. 8, jul, 2022.

FENTON, C.; SCOTT, L.J. Risperidone: a review of its use in the treatment of bipolar mania. **CNS Drugs.** v. 19, n. 5, p. 429-444, 2005.

FERREIRA, L.G.; DOS SANTOS, R.N.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A.D. Molecular docking and structure-based drug design strategies. **Molecules.** n. 20, p. 13384-13421, 2015.

GAO, H.; NI, Y.; MO, X.; LI, D.; TENG, S.; HUANG, O.; HUANG, S.; LIU, G.; ZHANG, S.; TANG, Y.; LU, L.; LIANG, H. Drug repositioning based on network-specific core genes identifies potential drugs for the treatment of autism spectrum disorder in children. **Comput Struct Biotechnol J.** v. 19, n. 1, p. 3908-3921, jul, 2021.

GERMANN, D.; KURYLO, N.; HAN, F. Risperidone. **Perfis Drug Subst. Ex. Rela. Metodologia.** v. 3, n. 37, p. 313-361, mar 2012.

GETTU, N.; SAADABADI, A. Aripiprazole. **National Library of Medicine.** mai, 2022.

GHANIZADEH, A.; TORDJMAN, S.; JAAFARI, N. Aripiprazole for treating irritability in children & adolescents with autism: A systematic review. **Indian Journal of Medical Research.** v. 142, n. 3, p. 269-275, set, 2015.

GRAF, M; KANTOR, S.; ANHEUER, Z.E.; MODOS, E.A. BAGDY, G. mCPP-induced grooming is mediated by 5-HT<sub>2C</sub> receptors. **Behavioural Brain Research.** v. 142, p. 175-179. 2003.

GRIESI-OLIVEIRA, K.; SERTIÉ, A.L. Transtorno do Espectro Autista: um guia atualizado para aconselhamento genético. **Revendo Ciências Básicas.** São Paulo, v.15, n.2, p. 233-238, mai, 2017.

GUEX, N.; PEITSCH, M.C.; SCWEDE, T. Automated comparative protein structure modeling with SWISS-MODEL and Swiss-PdbVIEWER: A historical perspective. **Electrophoresis** 30. p. 162-173, 2009.

GUGLIANDOLO, A.; SILVESTRO, S.; CHIRICOSTA, L.; POLLASTRO, F.; BRAMANTI, P.; MAZZON, E. The Transcriptomic Analysis of NSC-34 Motor Neuron-

Like Cells Reveals That Cannabigerol Influences Synaptic Pathways: A Comparative Study with Cannabidiol. **Journal List**. v. 10, p. 227, out, 2020.

HENSLER, J.G. In basic neurochemistry. 5-HT<sub>2C</sub> Receptor. The 5-HT<sub>2C</sub> receptor is the only presently known 5-HT receptor subtype which predominantly attenuates several core addiction-related behaviors of cocaine at the systemic level. *Basic Neurochemistry*. 2012.

HOEKSTRA, P.J.; TROOST, P.W.; LAHUIS, B.E. Risperidone-induced weight gain in referred children with autism spectrum disorders is associated with a common polymorphism in the 5-hydroxytryptamine 2C receptor gene. **Journal Child. Adolesc. Psychopharmacol.** v. 20, n. 6, p. 473-477. 2010.

HIRSCH, L.E.; PRINGSHEIM, T. Aripiprazole for autism spectrum disorders. *Cochrane Library*. Jun, 2016.

IMAMURA, A.; MORIMOTO, Y.; ONO, S.; KUROTAKI, N.; KANEGAE, S.; YANAMOTO, N.; KINOSHITA, H.; TSUJITA, T.; OKAZAKI, Y.; OZAWA, H. Genetic and environmental factors of schizophrenia and autism spectrum disorder: insights from twin studies. **Journal Neural Transm.** v. 127, n. 11, p. 1501-1515, Abri, 2020.

JIANG, X.; SONG, M.; QIN, W.; XIAO, J.; XU, X.; YUAN, O. Nonpharmaceutical therapy for autism spectrum disorder: A protocol for systematic review and network meta-analysis. **Medicine (Baltimore)**. v. 101, n. 7, fev, 2022.

KEMP, D.E.; CANAN, F.; GOLDSTEIN, B.I.; MCINTYRE, R.S. Long-Acting Risperidone: a Review of its Role in the Treatment of Bipolar Disorder. **Av. Ter.** v. 26, n. 6, p. 588-599, 2009.

KESNER, A.J.; AMANTE, D.M. Cannabinoids, endocannabinoids and sleep. *Front. Mol. Neurosci.* v. 13, 2020.

LANGEN, M.; BOS, D.; NOORDERMEER, S.D.; NEDERVEEN, H.; VAN ENGELAND, H.; DURSTON, S. Changes in the development of striatum are involved in repetitive behavior in autism. *Biol. Psychiatry*. v. 76, p. 405-411, 2014.

LANGEN, M.; DURSTON, S.; KAS, M.J.; VAN ENGELAND, H.; STAAL, W.G. The neurobiology of repetitive behavior: and men. **Neurosci. Biobehav. Rev.** v. 35, p. 356-365, 2011.

LAPRAIRIE, R.; BAGHER, A.; KELLY, M.; DENOVAN-WRIGHT, E. Cannabidiol is a negative allosteric modulator of the cannabinoid cb1 receptor. **Br. Journal Pharmacol.** v. 172, p. 4790-4805, 2015.

LEYSEN, J.E.; GOMMEREN, W.; EENS, A.; DE CHAFFOY DE COURCELLES, D.; STOOF, J.C.; JANSSEN, P.A. Biochemical profile of risperidone, a new antipsychotic. **J. Pharmacol. Exp. Ter.** v. 247, n. 2, p. 661-670, 1988.

LI, Q.; LI, Y.; LIU, B.; QINGSONG, C.; XIAOHUI, X.; GUIFENG, X.; YANG, W. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children and Adolescents in the United States From 2019 to 2020. **Jama Pedriatric**. v. 9, n. 176, p. 943-945, jul. 2022.

LU, H. C.; MACKIE, K. Review of the Endocannabinoid System. **Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging**. v. 6, n. 6, p. 607-615, jun, 2021.

LUTZ, B.; MARSICANO, G.; MALDONADO, R.; HILLARD, C. J. The endocannabinoid system in guarding against fear, anxiety and stress. **Nature Reviews Neuroscience**. v. 16, n.12, p. 705-718, dez, 2015.

MAGEE, J. C.; GRIENBERGER, C. Synaptic Plasticity Forms and Functions. **Annual Review of Neuroscience**. v. 43, p. 95-117, 2020.

MASI, A.; DEMAYO, M.M.; GLOZIER, N.; GUASTELLA, A.J. An Overview of Autism Spectrum Disorder, Heterogeneity and Treatment Options. **Neurosci Bull**. v. 2, n. 33, p. 183-193. Abri, 2017.

MASINI, E.; LOI, E.; VEJA-BENEDETTI, A.F.; CARTA, M.; DONEDDU, G.; FADDA, R.; ZAVATTI, P. An overview of the main genetic, epigenetic, and environmental factors involved in autism spectrum disorder focusing on synaptic activity. **Int. J. Mol**. v. 21, n. 21, p. 8290, nov. 2020.

MCPARTLAND, J.M.; DUNCAN, M.; DI MARZO, V.; PERTWEE, R.G. Are cannabidiol and Delta (9) -tetrahydrocannabivarin negative modulators of the endocannabinoid system? A systematic review. **British Journal of Pharmacology**. v. 172, n.3, p. 737-753. 2015.

MELTZER, H.Y.; ROTH, B.L. Lorcaserin and pimavanserin: emerging selectivity of serotonin receptor subtype-targeted drugs. **Journal of Clinical Investigation**. v. 123, p. 4986-4991. 2013.

MORALES, P.; HURST, D. P.; REGGIO, P. H. Molecular Targets of the Phytocannabinoids: A Complex Picture. **Progress in the chemistry of organic natural products**. v. 103, p. 103-131, jan, 2017.

MORRIS, G.M.; HUEY, R.; LINDSTROM, W.; SANNER, M.F.; BELEW, R.K.; GOODSSELL, D.S.; OLSON, A.J. Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. **Journal Computational Chemistry**. n. 16, p. 2785-2791, 2009.

MULLER, C.L.; ANACKER, A.M.; VEENSTRA-VANDERWEELE, J. The serotonin system in autism spectrum disorder: From biomarker to animal models. **Neuroscience**. v. 321, p. 24-41. 2016.

MUNIZ, H. Métodos híbridos em docagem molecular: implementação, validação e aplicação. Universidade de São Paulo, 2018.

NUNTAMOO, N.; NGAMSAMUT, N.; VANWONG, N.; PUANGPETCH, A.; CHAMNANPHON, M.; HONGKAEW, Y.; LIMSILA, P.; SUTHISISANG, C.; WILFFERT, B.; SUKASEM, C. Pharmacogenomics and Efficacy of Risperidone Long-Term Treatment in Thai Autistic Children and Adolescents. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**. v. 121, n. 4, p. 316-324, jun, 2017.

PAVAL, D. A Dopamine Hypothesis of Autism Spectrum Disorder. **Dev. Neurosci**. v. 39, p. 355-360, 2017.

PEDRAZZI, J.F.C.; FERREIRA, F.R.; AMARAL, D.S.; LIMA, D.A.; HALLAK, J.E.C.; ZUARDI, A.W.; DELOBEL, E.A.; GUIMARÃES, F.S.; COSTA, K.C.M.; CAMPOS, A.C.; CRIPPA, A.C.S.; CRIPPA, J.A.S. Cannabidiol for the treatment of autism spectrum disorder: hope or hype?. **Psychopharmacology**. v. 239, n. 9, p. 2713-2734, jun, 2022.

PENG, J.; FAN, M.; AN, C.; NI, F.; HUANG, W.; LUO, J. A narrative review of molecular mechanism and therapeutic effect of cannabidiol (CBD). **Basic Clin Pharmacol Toxicol**. v. 130, n. 4, p. 439-456, abr, 2022.

POLEG, S.; GOLUBCHIK, P.; OFFEN, D.; WEIZMAN, A. Cannabidiol as a suggested candidate for treatment of autism spectrum disorder. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**. v. 8, n. 89, p. 90-96, ago. 2018.

PRETZSCH, C.M.; VOINESCU, B.; MENDEZ, M.A.; WICHERS, R.; AJRAM, L.; IVIN, G.; HEASMAN, M.; WILLIAMS, S.; MURPHY, D. GM.; DALY, E.; MCALONAN, G.M. The effect of cannabidiol (CBD) on low-frequency activity and functional connectivity in the brain of adults with and without autism spectrum disorder (ASD). **Journal of Psychopharmacology**. jun, 2019.

PUANGPETCH, A.; VANWONG, N.; NUNTAMOO, N.; HONGKAEW, Y.; CHAMNANPHON, M.; SUKASEM, C. Polimorfismos CYP2D6 e sua influência no tratamento com risperidona. **Farmgenômica Pers. Med**. n. 9, p. 131-147, 2016.

PUSHPAKOM, S.; IORIO, F.; EYRS, P.A.; ESCOT, K.J.; HOPPER, S.; WELLS, A. Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. **Nat Rev Drug Discov**. v. 18, n. 1, p. 41-58, 2019.

RAY, R.S.; CORCORAN, A.E.; BRUST, R.D.; KIM, J.C.; RICHERSON, G.B.; NATTIE, E.; DYMECKI. Impaired respiratory and body temperature control upon acute serotonergic neuron inhibition. **Science**. v. 333, n. 29, p. 637-642, jul, 2011.

RESSTEL, L.B.; JOCA, S.R.; MOREIRA, F.A.; CORREA, F.M.; GUIMARÃES, F.S. Effects of cannabidiol and diazepam on behavioral and cardiovascular responses induced by contextual conditioned fear in rats. *Behav. Brain Res.* v. 172, n. 2, p. 294-298. 2006.

RODRIGUIZ, R.M.; CHU, R.; CARON, M.G.; WETSEL, W.C. Aberrant responses in social interaction of dopamine transporter knockout mice. **Behav. Brain Res.** v. 148, p. 185-198, 2004.

ROMENUS, M.; IOSSIFOV, I.; LEVY, D.; WIGLER, M. The role of de novo mutations in the genetics of autism spectrum disorders. **Nat. Rev. Genet.** v. 15, n. 2, p. 133-141, fev. 2014.

TEIXEIRA, E.H.; JACINTHO, A.; CELERI, H.V.; DALGALARRONDO, P. Atypical antipsychotics in the treatment of pathological aggression in children and adolescents: literature review and clinical recommendations. **Trends Psychiatry Psychother.** v. 35, n. 3, p. 151-159. 2013.

SAITO, V.M.; WOTJAK, C.T.; MOREIRA, F.A. Pharmacological exploitation of the endocannabinoid system: new perspectives for the treatment of depression and anxiety disorders? **Brazilian Journal of Psychiatry.** mai, 2010.

SANDERS, S.J.; HE, X.; WILLSEY, A.J.; ERCAN-SENCICEK, A.G.; SAMOCHA, K.E.; CICEK, A.E.; MURTHA, M.T.; BAL, V.H.; BISHOP, S.L.; DONG, S.; GOLDBERG, A.P.; JINLU, C.; KEANEY, J.F.; KLEI, L.; MANDELL, J.D.; MORENO-DELUCA, D.; POULTNEY, C.S.; ROBINSON, E.B.; SMITH, L.; SOLLI-NOWLAN, T.; SU, Y.; TERAN, N.A.; WALKER, M.F.; WELING, D.M.; BEAUDET, A.L.; CANTOR, R.M.; FOMBONNE, E.; GESCHWIND, D.H.; GRICE, D.E.; LORD, C.; LOWE, J.K.; MANE, S.M.; MARTIN, D.M.; MORROW, E.M.; TALKOWSKI, M.E.; SUTCLIFFE, J.S.; WALSH, C.A.; YU, T.W.; LEDBETTER, D.H.; MARTIN, C.L.; COOK, E.H.; BUXBAUM, J.D.; DALY, M.J.; DEVLIN, B.; ROEDER, K. STATE, M.W. Insights into autism spectrum disorder genomic architecture and biology from 71 risk loci. *Neuron*. v. 87, n. 6, p. 1215-1233, set. 2015.

SANDIN, S.; LICHTENSTEIN, P.; KUJA-HALKOLA, R.; HULTMÄN, C.; LARSSON, H.; REICHENBERG, A. The Heritability of Autism Spectrum Disorder. **JAMA**. v. 12, n. 318, p. 1182-1184, 2017.

SATTERSTROM, F.K.; KOSMICKI, J.A.; WANG, J.; ROEDER, K.; DALY, M.J.; BUXBAUM, J.D. Large-Scale Exome Sequencing Study Implicates Both Developmental and Functional Changes in the Neurobiology of Autism. **CellPress**. n. 180, p. 568-584, fev. 2020.

SCHIER, A.R.M.; RIBEIRO, N.P.O.; SILVA, A.C.O.; HALLAK, J.E.C.; CRIPPA, J.A.S.; NARDI, A.E.; ZUARDI, A.W. Canabidiol, um componente da Cannabis sativa, como um ansiolítico. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v. 34, n. 1, p. 104-117. 2012.

SHELDRIK, R.C.; CARTER, A.S. State-Level Trends in the Prevalence of Autism Spectrum Disorder (ASD) from 2000 to 2012: A Reanalysis of Findings from the Autism and Developmental Disabilities Network. **Journal Autismo Dev. Desordem**. v. 48, n. 9, p. 3086-3092, set. 2018.

SQUILLACE, M.; DODERO, L.; FEDERICI, M.; MIGLIARINI, S.; ERRICO, F.; NAPOLITANO, F.; KRASHIA, P.; DI MAIO, A.; GALBUSERA, A.; BIFONE, A.; SCATTONI, M.L.; PASQUALETTI, M.; MERCURI, N.B.; USIELLO, A.; GOZZI, A. Dysfunctional dopaminergic neurotransmission in asocial BTBR mice. **Translational Psychiatry**. v. 4, n.8, ago, 2014.

STYLES, M.; ALSHARSHANI, D.; SAMARA, M.; ALSHARSHANI, M.; KHATTAB, A.; QORONFKEH, M.W.; AL-DEWIK, N.A. Risk factors, diagnosis, prognosis and treatment of autism. **Front Biosci**. v. 25, n. 9, p. 1682-1717. Jun, 2020.

SU, T.; YAN, Y.; LI, Q.; YE, J.; PEI, L. Endocannabinoid System Unlocks the Puzzle of Autism Treatment via Microglia. **Frontiers in Psychiatry**. v. 12, out, 2021.

TAMMIMIES, K.; MARSHALL, C.R.; WALKER, S.; KAUR, G.; THIRUVAHINDRAPURAM, B.; LIONEL, A.C.; YUEN, R.K.C.; UDDIN, M.; ROBERTS, W.; WEKSBERG, R.; WOODBURY-SMITH, M.; GAZZELLONE, M.J.; LAU, L.; SUNG, W.W.L.; WHITTEN, K.; VARDY, C.; CROSBIE, V.; TSANG, B.; D'ABATE, L.; TONG, W.W.L. LUSCOMBE, S.; DOYLE, T.; CARTER, M.T.; SZATMARI, P.; STUCKLESS, S.; MERICO, D.; STAVROPOULOS, D.J.; SCHERER, S.W.; FERNANDEZ, B.A. Molecular diagnostic yield of chromosomal microarray analysis and whole-exome sequencing in children with autism spectrum disorder. **JAMA: Journal of the American Medical Association**. Canadá, v. 314, n. 9, p. 895-903, set, 2015.

TAMOUZA, R.; FERNELL, E.; ERIKSSON, M.A.; ANDERLID, B.; MANIER, C.; MARIASELVAM, C.M.; BOUKOUACI, W.; LEBOYER, M.; GILLBERG, C.; HLA polymorphism in regressive and non-regressive autism: a preliminar study. **Autism Res**. v. 13, p. 182-186, out, 2019.

TRISTAN, F.; GARCIA-MILIAN, R.; LIEW, Z.; WHIRLEDGE, S.; VASILIOU, V. In Silico Exploration of the Potential Role of Acetaminophen and Pesticides in the Etiology of Autism Spectrum Disorder. **Toxics**. v. 97, n. 9, abri, 2021.

TSUBOI, K.; UYAMA, T.; OKAMOTO, Y.; UEDA, N. Endocannabinoids and related N-acylethanolamines: biological activities and metabolism. **Inflamm Regen**. v. 38, n. 1, p. 28, 2018.

VOLKMAR, F.; BREGMAN, J.; COHEN, D.; CICCETTI, D. DSM-III e DSM-III-R diagnoses of autism. **Am J Psychiatry**. n. 145, p. 1404-1408.

WEN, Y.; ALSHIKHO, M.J.; HERBERT, M.R. Pathway Network Analyses for Autism Reveal Multisystem Involvement, Major Overlaps with Other Diseases and Convergence upon MAPK and Calcium Signaling. *Autism Pathway Networks: Diversity and Convergence*. v. 11, n. 4, Abr, 2016.

WEISSMAN, L. Autism spectrum disorder in children and adolescents: **Pharmacologic interventions**. 2020.

WILLIAMS. MolProbity: More and better reference data for improved all-atom structure validation. **Protein Science**. n. 27, p. 293-315, 2018.

XU, G.; STRATHEARN, L.; LIU, B.; BAO, W. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among US Children and Adolescents, 2014-2016. **JAMA**. v. 1, n. 319, p. 81-82, jan, 2018.

ZAGZOOG, A.; MOHAMED, K.A.; KIM, H.J.J.; FRANK, C.; BLACK, T.; JADHAV, P. D.; HOLBROOK, L.A.; LAPRAIRIE, R.B. In vitro and in vivo pharmacological activity of minor cannabinoids isolated from *Cannabis sativa*. **Scientific reports**. v. 10, n. 1, 2020.

ZOU, S.; KUMAR, U. Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: Signaling and function in the central nervous system. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 19, n. 3, mar, 2018.