UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Sofia Alves Rodrigues

ANÁLISE BIOINFORMÁTICA DOS ALVOS FARMACOLÓGICOS DA AGMATINA NO TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR, ANSIEDADE E SUICÍDIO: PAPEL POTENCIAL DOS RECEPTORES MELATONINÉRGICOS MT1 E MT2

Florianópolis
2026

Sofia Alves Rodrigues

ANÁLISE BIOINFORMÁTICA DOS ALVOS FARMACOLÓGICOS DA AGMATINA NO TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR, ANSIEDADE E SUICÍDIO: PAPEL POTENCIAL DOS RECEPTORES MELATONINÉRGICOS MT1 E MT2

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Graduação em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profª Drª Ana Lúcia Severo Rodrigues
Coorientadora: Me. Glorister Alves Altê

Florianópolis
2026

Ficha catalográfica

Rodrigues, Sofia Alves
Análise bioinformática dos alvos farmacológicos da agmatina no transtorno depressivo maior, ansiedade e suicídio: papel potencial dos receptores melatoninérgicos MT1 e MT2 / Sofia Alves Rodrigues ; orientadora, Ana Lúcia Severo Rodrigues, coorientadora, Glorister Alves Altê, 2026.
108 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2026.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Agmatina. 3. Depressão. 4. Receptores Melatoninérgicos. 5. Bioinformática. I. Rodrigues, Ana Lúcia Severo. II. Altê, Glorister Alves. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Dedico este trabalho especialmente à dona Dolores, minha avó. Seu sonho sempre foi terminar os estudos e se tornar professora. Apesar de não ter ido à universidade, ela sempre torceu por mim. Logo, esse documento não representa uma conquista só minha, mas de uma geração de mulheres antes de mim. Obrigada.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho de conclusão de curso é uma conquista gratificante e pessoalmente muito significativa para mim. Chegar até esse momento da graduação em Biologia e ter certeza que tracei um caminho que não me arrependo me traz alegria, ainda mais quando penso que não percorri essa jornada sozinha. Por essa razão, gostaria de agradecer meus pais, Andreia e Odair, por me apoiarem e prestarem o suporte necessário para que eu esteja concluindo essa etapa de formação. Também quero agradecer minha madrinha, Valkiria e minha tia Jussara, por me auxiliarem nas viagens acadêmicas e me permitirem experienciar momentos incríveis em lugares que eu jamais conseguiria chegar sozinha. Meu irmão Miguel, pelo carinho e companhia que sempre deixou minha vida mais feliz. Minhas melhores amigas de Guararapes (São Paulo), que são os meus pilares na vida. Quando volto para casa lembro que tudo isso só faz sentido com vocês: Camilla, Maria Clara, Maria Heloá, Flora, Beatriz, Gabrielle, Letícia Giroto, Letícia Corassi, Maria Eduarda e Amanda. Aos amigos que fiz em Florianópolis, principalmente Maria Eduarda, um dos motivos por eu estar estudando na UFSC. Aos meus amigos da Biologia, responsáveis por todo suporte emocional e vivências maravilhosas que tive ao longo da graduação em Biologia e na minha vida pessoal. Agradeço imensamente à Sabrina, Maria Clara, Sofia Vidal, Felipe, Natália, Laura e João. Um agradecimento especial aos meus colegas de trabalho do Laboratório de Neurobiologia da Depressão (LANED), pelos quais tenho um imenso carinho por todos esses anos de aprendizado científico e parceria. Agradeço minha orientadora Ana Lúcia Severo Rodrigues, já que escolha de seguir uma carreira científica se concretizou a partir do momento que tive contato com a professora Ana, a qual me inspirou e apoiou durante toda etapa de iniciação científica no LANED, transformando minha visão de mundo na ciência e na vida. Também quero agradecer a professora Manuella Kaster, pela confiança no meu trabalho como monitora na disciplina de Bioquímica Básica. Por fim, gostaria de agradecer meu companheiro Lucas, por acreditar no meu potencial e estar ao meu lado em diversas situações, nas quais crescemos e amadurecemos juntos. E, à minha avó, Dolores, que talvez não esteja mais aqui daqui alguns anos, mas espero que consiga presenciar minha formatura, afinal, esse trabalho é dedicado a ela.

RESUMO

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) é um transtorno de humor debilitante e prevalente na população global e frequentemente coexiste com a ansiedade. Em casos mais graves da doença, o TDM pode evoluir para ideação suicida e suicídio. Diante da elevada carga clínica e social desses transtornos, torna-se essencial o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas mais eficazes e de ação rápida. Nesse contexto, a agmatina, uma poliamina endógena neuromoduladora que apresenta efeitos antidepressivos e ansiolíticos rápidos em modelos animais, semelhantes à cetamina, pode ser uma estratégia terapêutica promissora. Assim, torna-se fundamental compreender seus mecanismos de ação. Este trabalho explorou potenciais alvos farmacológicos da agmatina que medeiam seus efeitos terapêuticos através de abordagens bioinformáticas. Utilizou-se os bancos de dados GeneCards e PubChem e a ferramenta SwissTargetPrediction nas buscas de genes-alvo envolvidos nas fisiopatologias do TDM, ansiedade e suicídio em humanos, e em comportamentos tipo depressivo e tipo ansioso em roedores (ratos e camundongos). O cruzamento de dados no programa Venny retornou 62 genes-alvo em comum para humanos e 45 para roedores. A partir desses alvos, construiu-se redes proteicas espécie-específicas (relativas à humanos e ratos) no GeneMANIA e STRING a fim de avaliar a relação biológica entre esses alvos mediante parâmetros estatísticos no Cytoscape. Os receptores serotoninérgicos, adrenérgicos, muscarínicos, dopaminérgicos e as enzimas óxido nítrico sintase e monoamina oxidase destacaram-se. As análises de enriquecimento funcional e de vias bioquímicas realizadas no ShinyGO, baseadas no banco de dados KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) e no Reactome identificaram como significativamente enriquecidos processos e componentes relacionados a vias de sinalização mediada pelos receptores acoplados à proteína G, atividade de receptores de neurotransmissores e membrana pós-sináptica, também de componentes celulares relacionados à neurotransmissão como dendritos e árvores dendríticas. Aprimorando a seleção dos alvos mais relevantes das redes, a base de dados DGIdb encontrou possíveis interações gene-fármaco. O software RStudio filtrou as interações, mantendo apenas aquelas entre genes e fármacos antidepressivos e ansiolíticos aprovados pelo Food and Drug Adminstration (FDA). Elaborou-se um gráfico de calor (*heatmap*) e um gráfico de barras destacando os maiores valores de interações gene-fármaco e o número de fármacos relacionados a cada gene. Os genes *MTRN1A* e *MTNR1B*, codificadores dos receptores melatoninérgicos 1A (MT1) e 1B (MT2) foram os mais acentuados no *heatmap*, juntos dos receptores serotoninérgicos 1A (*HTR1A*) e 2B (*HTR2B*) e as monoaminas oxidases A (*MAOA*) e B (*MAOB*). O antidepressivo agomelatina associou-se com os receptores MT1 e MT2. Escolheu-se apenas receptores para os ensaios de docking molecular no DockThor. As estruturas das proteínas foram adquiridas no PDB, transferidas ao UCSF Chimera e submetidas a preparação e ajuste da protonação junto dos ligantes. A agmatina apresentou melhor valor de afinidade com os receptores MT1 e MT2, que foram comparados com seu ligante endógeno melatonina e a agomelatina, que exibiram valores de afinidade próximos e compartilharam alguns dos principais resíduos de aminoácidos envolvidos nas interações moleculares dos complexos. Os resultados sugerem que os receptores MT1 e MT2 participam nos efeitos antidepressivos da agmatina, direcionando futuros protocolos experimentais para validação dessa hipótese.

Palavras-chave: agmatina; receptores melatoninérgicos; bioinformática.

ABSTRACT

Major Depressive Disorder (MDD) is a debilitating and prevalent mood disorder worldwide, frequently associated with anxiety. In severe cases of the disease, MDD can trigger suicidal ideation and suicide. Given the substantial clinical and social burden associated with these disorders, the development of novel therapeutic approaches with greater efficacy and rapid onset of action is essential. In this context, agmatine, an endogenous neuromodulatory polyamine that exhibits rapid antidepressant and anxiolytic effects in animal models, similar to ketamine, may represent a promising therapeutic strategy. This study investigated the potential pharmacological targets of agmatine underlying its therapeutic effects using bioinformatics-based approaches. The GeneCards and PubChem databases, as well as the SwissTargetPrediction tool, were used to identify target genes involved in the pathophysiology of major depressive disorder (MDD), anxiety, and suicide through cross-referencing data from humans and rodents (rats and mice). The datasets were then cross-referenced using the Venny platform, which identified 62 common target genes in humans and 45 in rodents. Based on these targets, species-specific gene and protein networks (for humans and mice) were constructed in GeneMANIA and STRING to evaluate the biological relationships among these targets using statistical parameters in Cytoscape. Serotonergic, adrenergic, muscarinic, and dopaminergic receptors, as well as the enzymes nitric oxide synthase and monoamine oxidase emerged as prominent targets. Functional enrichment and pathway analyses conducted using ShinyGO, based on the KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) and Reactome databases, revealed significant enrichment of biological processes and molecular components associated with G protein-coupled receptor-mediated signaling pathways, neurotransmitter receptor activity, and postsynaptic membrane function. Furthermore, cellular components involved in neurotransmission, including dendrites and dendritic arbors, were significantly enriched. To refine the selection of the most relevant targets from the networks, the DGIdb database identified gene-drug interactions. These interactions were subsequently filtered using RStudio, retaining only those involving genes and antidepressant and anxiolytic drugs approved by the U.S Food and Drug Administration (FDA). A heatmap and a barplot highlighted the highest values of gene-drug interactions and the number of drugs associated with each gene. The MTRN1A and MTNR1B genes, which encode the melatoninergic receptors 1A (MT1) and 1B (MT2), were the most prominent on the heatmap, along with the serotonergic receptors 1A (HTR1A) and 2B (HTR2B) and monoamine oxidases A (MAOA) and B (MAOB). The antidepressant agomelatine was associated with the MT1 and MT2 receptors. Only receptors were selected for molecular docking simulations in DockThor. The protein structures were obtained from the PDB, imported into UCSF Chimera, and subjected to protonation preparation and adjustment alongside the ligands. Agmatine demonstrated higher affinity for the MT1 and MT2 receptors, which were compared with their endogenous ligand melatonin and agomelatine; these ligands exhibited similar affinity values and shared some of the key amino acid residues involved in the complexes' molecular interactions. These results suggest the involvement of MT1 and MT2 receptors in the antidepressant effects of agmatine, guiding future experimental protocols to validate this hypothesis.

Keywords: agmatine; melatonin receptors; bioinformatics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Via de sinalização da agmatina e possíveis alvos farmacológicos envolvidos na plasticidade neuronal, sobrevivência celular e neuroproteção……..19
Figura 2 –Fluxograma de trabalho……..33
Figura 3 –Gráfico de proporcionalidade relativo às classes de alvos farmacológicos da agmatina em humanos e roedores…… 35
Figura 4 – Diagramas de Venn resultantes dos cruzamentos entre os conjuntos de dados referentes a agmatina, depressão, ansiedade e suicídio para humanos e roedores (ratos e camundongos)..... 36
Figura 5 – Redes de interações proteína-proteína construídas no GeneMANIA e STRING para humanos…….42
Figura 6 – Redes de interações proteína-proteína construídas no GeneMANIA e STRING para ratos……...…….47
Figura 7 – Análises de enriquecimento funcional (ontologia genética) e vias bioquímicas dos alvos moleculares obtidos do GeneMANIA em humanos…….57
Figura 8 – Análises de enriquecimento funcional (ontologia genética) e vias bioquímicas dos alvos moleculares obtidos do STRING em humanos……58
Figura 9 – Análises de enriquecimento funcional (ontologia genética) e vias bioquímicas dos alvos moleculares obtidos do GeneMANIA em ratos……..…….60
Figura 10 – Análises de enriquecimento funcional (ontologia genética) e vias bioquímicas dos alvos moleculares obtidos do STRING em ratos…….…….…….61
Figura 11 – *Heatmap* representando interações entre o genes-alvo com fármacos aprovados pelo FDA conforme a base de dados DGIdb……...63
Figura 12 – Gráfico de barras representando o número de fármacos aprovados pelo FDA identificados no DGIdb que interagem com cada gene-alvo……...67
Figura 13 – Interações moleculares presentes nos complexos proteína-ligante formados pelos receptores melatoninérgicos 1A e 1B com a molécula de agmatina……...75
Figura 14 – Interações moleculares presentes nos complexos proteína-ligante formados pelos receptores melatoninérgicos 1A e 1B com a molécula de melatonina……77
Figura 15 – Interações moleculares presentes nos complexos proteína-ligante formados pelos receptores melatoninérgicos 1A e 1B com os compostos sintéticos ramelteona (JEV) e 2-fenilmelatonina (JEY).....78
Figura 16 – Interações moleculares presentes nos complexos proteína-ligante formados pelos receptores melatoninérgicos 1A e 1B com o fármaco agomelatina……..79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Genes-alvo comuns e exclusivos entre a agmatina, depressão, ansiedade e suicídio nos cruzamentos em humanos e em roedores (ratos e camundongos).....37
Tabela 2 – 10 alvos mais relevantes na rede de interações proteína-proteína construída no GeneMANIA para humanos…….…..44
Tabela 3 – 10 alvos mais relevantes na rede de interações proteína-proteína construída no STRING para humanos..……..……...45
Tabela 4 – 10 alvos mais relevantes na rede de interações proteína-proteína construída no GeneMANIA para ratos…….48
Tabela 5 – 10 alvos mais relevantes na rede de interações proteína-proteína construída no STRING para ratos..……..……..49
Tabela 6 – Valores de escore de interação gene-fármaco mais acentuados dentre os fármacos aprovados pelo FDA……64
Tabela 7 – Predição de afinidade por docking molecular dos complexos proteína-ligante selecionados……...69
Tabela 8 – Predição de afinidade por docking molecular dos receptores melatoninérgicos 1A e 1B com a melatonina e agomelatina, comparadas à agmatina, ramelteona e 2-fenilmelatonina……72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α2AR – Receptor adrenérgico α2A
5-HT – Receptor de serotonina
5-HT1A – Receptor de serotonina 1A
5-HT1B – Receptor de serotonina 1B
5-HT2A – Receptor de serotonina 2A
5-HT2C – Receptor de serotonina 2C
5-HT3 – Receptor de serotonina 3
AGLT – Agomelatina
AGM – Agmatina
Ala – Alanina
Asn – Asparagina
ATP – Trifosfato de adenosina
BDNF – Fator neurotrófico derivado do encéfalo
BP – Processos biológicos
CC – Composição/localização celular
D1 – Receptor de dopamina 1
D2 – Receptor de dopamina 2
D3 – Receptor de dopamina 3
D4 – Receptor de dopamina 4
D5 – Receptor de dopamina 5
DA – Doença de Alzheimer
DM – Diabetes Mellitus
DSM-5 – 5ª Edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
FDA – Food and Drug Adminstration
FDR – False Discovery Rate
GO – Ontologia genética
Gln – Glutamina
Gly – Glicina
GPCR – Receptor acoplado à proteína G
GRIN1 – Subunidade do tipo 1 do receptor ionotrópico de glutamato NMDA
His – Histidina
I1R – Receptor imidazolínico I1
IMAOs – Inibidores de monoamina oxidases
Ile – Isoleucina
JEY – 2-fenilmelatonina
JEV – Ramelteona
KEGG – Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
LPS – Lipopolissacarídeo
M1 – Receptores colinérgicos muscarínico 1
M2 – Receptores colinérgicos muscarínico 2
M3 – Receptores colinérgicos muscarínico 3
M4 – Receptores colinérgicos muscarínico 4

MAO – Monoamina oxidase
Met – Metionina
MF – Função molecular
MLT – Melatonina
MT1 – Receptor melatoninérgico 1A
MT2 – Receptor melatoninérgico 1B
NET – Transportador de norepinefrina/noradrenalina
NISCH – Nischarin
NMDA – N-metil-D-aspartato
NMDAr – Receptor de NMDA
NLRP3 – Receptor da família tipo NOD contendo domínio de pirina
NO – Óxido nítrico
NOS – Óxido nítrico sintase
NOS-1/nNOS – Óxido nítrico sintase neuronal
NOS-2/iNOS – Óxido Nítrico Sintase induzida
NOS-3/eNOS – Óxido Nítrico sintase endotelial
Phe – Fenilalanina
PDB – Protein Data Bank
REM –Movimento rápido dos olhos
ROS – Espécies reativas de oxigênio
Ser – Serina
SERT – Transportador de serotonina
SMILES – Simplified Molecular Input Line Entry System
TDM – Transtorno Depressivo Maior
Thr – Treonina
Tyr – Tirosina
Val – Valina

SUMÁRIO

1 . INTRODUÇÃO.....16
2 . OBJETIVOS.....21
2.1 Objetivo Geral.....21
2.2 Objetivos específicos.....21
3 . MATERIAIS E MÉTODOS.....22
3.1 Predição de alvos farmacológicos da agmatina em humanos e roedores..... 22
3.2 Busca de genes-alvo relacionados à depressão, ansiedade e suicídio em bancos de dados públicos.....23
3.3 Cruzamento dos genes-alvo da depressão, ansiedade e suicídio com os alvos farmacológicos da agmatina.....23
3.4 Construção e análise de redes espécie-específicas dos alvos compartilhados entre agmatina, depressão, ansiedade e suicídio.....24
3.5 Análises de enriquecimento de ontologia genética e vias bioquímicas pela KEGG.... 25
3.6 Identificação de interações gene-fármaco entre os alvos das redes biológicas e fármacos presentes na base de dados Drug-Gene Interaction (DGIdb)..... 26
3.7 Preparação estrutural dos ligantes e proteínas selecionadas para os ensaios de docking molecular.....27
3.8 Docking molecular e caracterização das interações nos complexos proteína-ligante.31
4 . RESULTADOS E DISCUSSÃO.....33
4.1 Busca em bancos de dados e cruzamento de alvos compartilhados.....33
4.2 Construção e análise de redes de interações proteicas do GeneMANIA e STRING.... 39
4.2.1 Homo sapiens (humanos).....39
4.2.2 Rattus norvegicus (ratos)..... 44
4.2.3 Principais alvos presentes nas redes em humanos e ratos..... 47
4.2.3.1 Receptores serotoninérgicos..... 47
4.2.3.2 Receptores adrenérgicos/noradrenérgicos.....48
4.2.3.3 Receptores muscarínicos.....49
4.2.3.4 Receptores dopaminérgicos..... 50
4.2.3.5 Demais alvos farmacológicos..... 51
4.3 Análises de enriquecimento de ontologia genética e vias bioquímicas..... 53
4.3.1 Humanos (Homo sapiens).....53
4.3.2 Ratos (Rattus norvegicus)..... 57
4.4 Identificação de interações gene-fármaco.....60
4.5 Docking molecular..... 66
4.5.1 Receptores melatoninérgicos..... 71
4.5.2 Agmatina, agomelatina e melatonina..... 78
5 . CONCLUSÃO.....81
REFERÊNCIAS.....83

1 . INTRODUÇÃO

O transtorno depressivo maior (TDM), também conhecido como depressão, é um transtorno psiquiátrico comum que acomete cerca de 5,7% dos adultos no mundo. Este transtorno caracteriza-se por sintomas como humor deprimido e/ou perda de prazer ou interesse em atividades por períodos superiores a duas semanas, podendo, em casos mais graves da doença, levar ao suicídio (Organização Mundial da Saúde, 2025). No cenário do Brasil, a prevalência de depressão ao longo da vida está em torno de 15,5% segundo a página oficial do Ministério da Saúde, sendo o país com maior prevalência deste transtorno na América Latina e segundo maior dentre as Américas (Ministério da Saúde, 2022). A etiologia do TDM é complexa e multifatorial, envolvendo a combinação de fatores genéticos, ambientais e psicológicos (Marx *et al*, 2023), os quais abrangem diversos sistemas de neurotransmissão (monoaminérgica, glutamatérgica, GABAérgica, purinérgica, opióide, melatonérgica), a produção de espécies reativas de oxigênio, a neuroinflamação e a modulação da neuroplasticidade cerebral relacionada à sinalização do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) (Kaster *et al*., 2016; Villas Boas *et al*., 2019).

Eventos que causam estresse crônico, como a pandemia de COVID-19, também podem estar associados ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos e sintomas depressivos (de Mello *et al*., 2022). Além disso, o TDM está diretamente relacionado à mortalidade prematura (Adorjan & Falkai, 2019), em grande parte devido às altas taxas de comorbidades nessa população em comparação com a população em geral (GBD Mental Disorders Collaborators, 2022), além do suicídio, que é um importante fator contribuinte para o aumento dessa mortalidade. O TDM possui uma influência significativa sobre o aumento nos riscos de ideação, planejamento e tentativa de suicídio (Cai *et al*, 2021), bem como a ocorrência de morte por suicídio (Ferrari *et al*, 2014), este último apresentando um risco cerca de 20 vezes superior quando comparado a indivíduos sem diagnóstico de TDM (Chesney *et al*, 2014). Apesar disso, é importante ressaltar que comportamentos suicidas podem manifestar-se independentemente da presença de sintomas depressivos, destacando a complexidade e a gravidade dessa condição clínica.

A ansiedade (termo abrangente usado para designar os transtornos de ansiedade) compartilha diversas vias e mecanismos com o TDM, já que ambos envolvem tanto fatores de predisposição endógenos quanto uma resposta desregulada ao estresse (McEwen, 2000), os quais podem muitas vezes causar a sobreposição de seus sintomas (Wingo *et al*, 2022). O TDM e a ansiedade estão entre os principais transtornos mentais identificados na métrica de

saúde pública “anos de vida ajustados por incapacidade” (GBD 2023 Mental Disorder Collaborators, 2026) e estima-se que 4,4% da população mundial sofra atualmente de transtornos de ansiedade (Institute for Health Metrics and Evaluation, 2024), os quais podem aumentar o risco de depressão, bem como o risco de pensamentos e comportamentos suicidas (Organização Mundial da Saúde, 2025).

A “hipótese monoaminérgica” é mais difundida a respeito do desenvolvimento do TDM, sugerindo que as concentrações das monoaminas serotonina, noradrenalina e dopamina encontram-se reduzidas na fenda sináptica. Antidepressivos tricíclicos, inibidores da recaptação de monoaminas e inibidores da monoamina oxidase que inibem a degradação destes neurotransmissores e proporcionam melhora dos sintomas de depressão fundamentam esta hipótese (Otte *et al*., 2016). Entretanto, um grande número de estudos clínicos tem relatado a participação da “hipótese glutamatérgica” na fisiopatologia da depressão e da ansiedade, a qual estaria associada à disfunção do sistema glutamatérgico, mau funcionamento dos mecanismos de regulação do metabolismo do glutamato e alterações em várias áreas encefálicas que medeiam comportamentos cognitivo-emocionais (Sanacora *et al*., 2012; Miller *et al*., 2013; Moriguchi *et al*., 2018).

No contexto das novas abordagens terapêuticas para o tratamento do TDM, a agmatina, uma poliamina endógena sintetizada pela enzima arginina descarboxilase a partir da L-arginina, tem sido objeto de estudo devido aos seus efeitos antidepressivos e neuroprotetores (Wang *et al*., 2006; Uzbay, 2012; Neis *et al*, 2014; Freitas *et al.*, 2016; Meylan *et al*., 2016). Trata-se de uma molécula intermediária na biossíntese de poliaminas, as quais são moléculas essenciais para a proliferação, diferenciação e migração das células em mamíferos (Benítez *et al*., 2018). Essa via biossintética também é associada à produção de neurotransmissores importantes, como o glutamato e GABA (Petroff, 2002). A agmatina é produzida em vários tecidos, incluindo o encéfalo, exercendo uma proeminente função modulatória sobre o sistema glutamatérgico e limitando a ativação excessiva de receptores NMDA (Piletz *et al*., 2013). Além disso, ela pode ser obtida na dieta, pois é encontrada particularmente em alimentos fermentados e, também, é produzida por certos microrganismos da microbiota intestinal (Valverde *et al*., 2021).

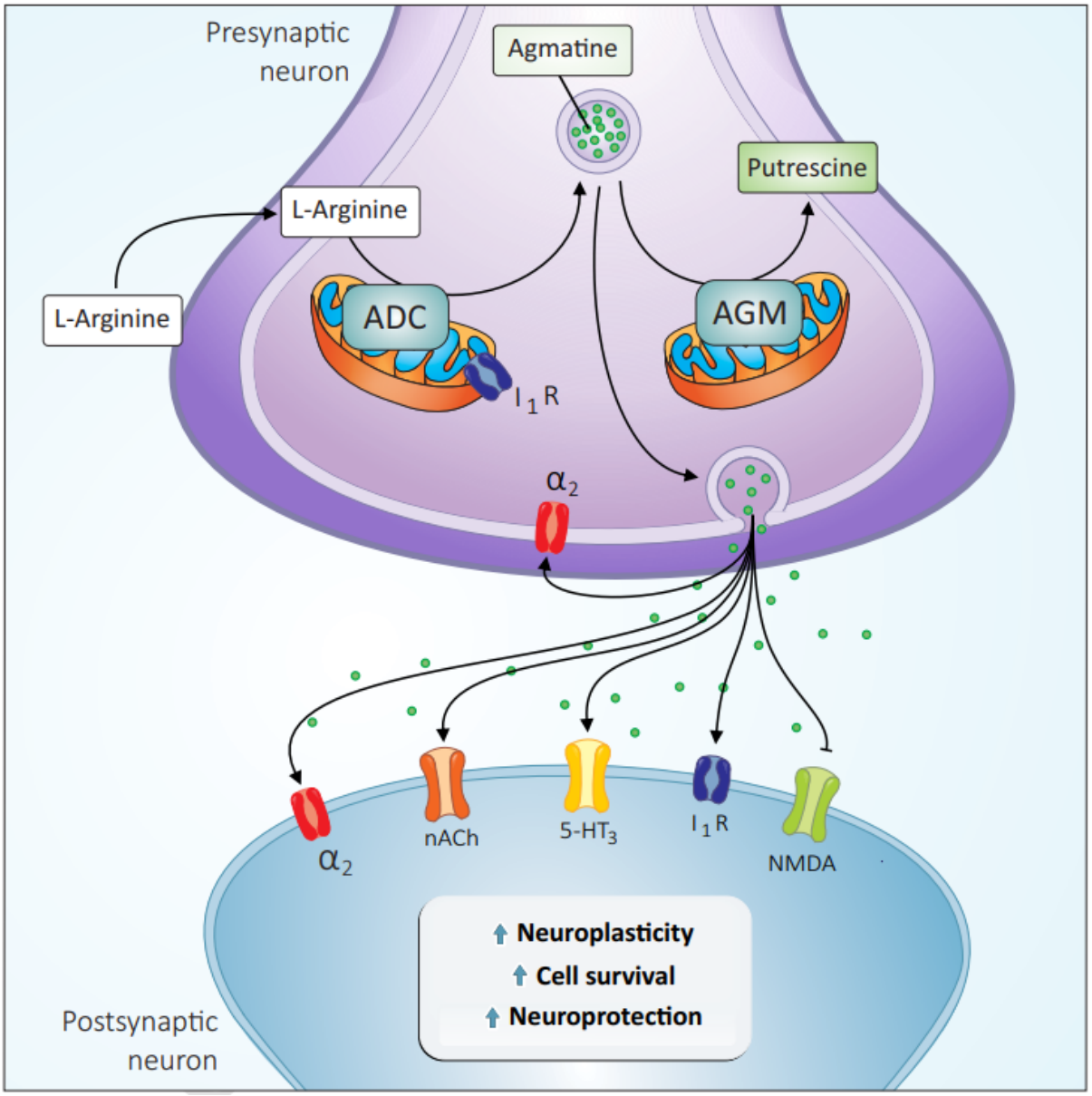
O grupo de pesquisa do Laboratório de Neurobiologia da Depressão (LANED) foi o primeiro a mostrar que a administração da agmatina causa efeito do tipo antidepressivo em camundongos (Zomkowski *et al*., 2002). A partir desse estudo, foi publicada uma série de estudos que caracterizaram os mecanismos subjacentes a este efeito. Neis *et al*. (2016b) demonstraram que o efeito tipo antidepressivo da agmatina é dependente da ativação dos

receptores AMPA e TrkB, da sinalização mediada por fosfatidilinositol 3-cinase (PI3K)/mTOR e da síntese de proteínas sinápticas. Estudos em modelos animais apontaram que uma única administração de agmatina, mas não do antidepressivo fluoxetina, foi capaz de reverter as alterações comportamentais induzidas por estresse crônico imprevisível (Neis *et al.*, 2016a) e pela administração crônica de corticosterona em camundongos (Neis *et al.*, 2018), de forma similar ao fármaco cetamina.

A (R,S)-cetamina é uma mistura racêmica composta por dois enantiômeros, R-cetamina (arketamina) e S-cetamina (esketamina). Seu potencial no tratamento da depressão foi descoberto após a observação de que a administração de doses subanestésicas produzia efeitos antidepressivos rápidos, em poucas horas, em pacientes com depressão severa (Berman *et al*., 2000) resistentes aos fármacos antidepressivos convencionais (Zarate *et al*., 2006). A cetamina bloqueia os receptores NMDA assim como a agmatina, porém, seu uso crônico pode desencadear efeitos adversos dissociativos, psicomiméticos e cardiovasculares, além de causar dependência devido seu potencial de abuso (Short *et al*., 2018; Medeiros *et al*., 2024).

Segundo Camargo e Rodrigues (2019), a agmatina apresenta mecanismos de ação semelhantes à cetamina, sugerindo que ela pode se constituir em uma nova alternativa terapêutica para o manejo da depressão devido seus efeitos antidepressivos de ação rápida, sem acarretar os mesmos efeitos adversos da cetamina. A capacidade da agmatina de estimular a expressão de BDNF e a neurogênese adulta, contribuindo para a indução de mecanismos endógenos de reparo, constitui um dos principais benefícios associados às suas propriedades protetoras e regenerativas no sistema nervoso central (Neis *et al*., 2017). Além disso, foi demonstrado que a agmatina potencializou o efeito neuroprotetor de concentrações sub-efetivas de cetamina contra a morte celular induzida por corticosterona na linhagem de células hipocampais HT22 (Tavares *et al.*, 2018). O efeito tipo antidepressivo da combinação de agmatina e cetamina envolve remodelação sináptica no córtex pré-frontal de camundongos, um processo associado à estimulação da via de sinalização intracelular mediada por mTOR (Freitas *et al*., 2020). A representação esquemática da via de sinalização da agmatina desde sua síntese, liberação na fenda sináptica e degradação está representada na Figura 1.

Figura 1 – Via de sinalização da agmatina e possíveis alvos farmacológicos envolvidos na plasticidade neuronal, sobrevivência celular e neuroproteção



Legenda: Representação esquemática da transmissão agmatinérgica. Transformação da L-arginina em agmatina pela enzima arginina descarboxilase (ADC) na mitocôndria do neurônio pré-sináptico, seguida do armazenamento em vesículas e liberação na fenda sináptica para interação com potenciais alvos farmacológicos. Ativação de vias de sinalização associadas à plasticidade neuronal, sobrevivência celular e neuroproteção. Enzima agmatinase (AGM) degradando a agmatina em putrescina, um importante precursor de poliaminas, moléculas essenciais para a proliferação, diferenciação e migração das células em mamíferos, atuando também como moduladores positivos dos receptores NMDA.

Fonte: Adaptado de Neis *et al*., 2017.

As evidências dos potenciais efeitos ansiolíticos da agmatina em comportamento tipo-ansioso indicam uma participação dessa molécula modulando vias relacionadas ao óxido nítrico (NO), especialmente em condição de estresse crônico, atenuando o comprometimento cognitivo (Gawali *et al*., 2017). Ostovan *et al*. (2022) observaram um

efeito bifásico da administração subcrônica de agmatina na memória de aversão passiva e em parâmetros semelhantes à ansiedade camundongos, assim como um aumento na via de sinalização Akt/GSK-3β no hipocampo. Ademais, comorbidades como Diabetes Mellitus (DM) tipo 2 podem induzir o aparecimento de transtornos de ansiedade e a depressão, nos quais a agmatina pode atuar inibindo marcadores neuroinflamatórios, sendo um potencial mecanismo terapêutico no tratamento dessas condições (Kale *et al*., 2020). Já no comportamento suicida, foi reportado por Chen e colaboradores (2018) um aumento na degradação de agmatina no córtex cerebral *post mortem* de suicidas, ao passo que no estudo de Halaris *et al*. (1999) foi verificada concentrações elevadas de agmatina no soro de pacientes depressivos, sugerindo uma participação da agmatina na fisiopatologia do TDM.

Considerando que mecanismos de ação relacionados aos efeitos tipo-antidepressivos da agmatina não estão completamente esclarecidos, a bioinformática e a biologia computacional emergem como áreas de grande potencial de aplicação para o estudo de doenças e para o desenvolvimento de novos fármacos e estratégias terapêuticas (Sadybekov & Katritch, 2023). Por serem campos essenciais para o progresso das pesquisas em biologia molecular e modelagem de estruturas biológicas desde os anos 1960 (Hagen, 2000), a bioinformática e a biologia computacional têm se destacado no contexto contemporâneo, em razão da presença recorrente de tecnologias de inteligência artificial e aprendizado de máquina (do inglês, "*machine learning*") na pesquisa científica e na indústria farmacêutica, aprimorando metodologias ao reduzir tempo e custos de produção.

Não há nenhum estudo publicado até o momento que investigou o potencial perfil polifarmacológico da agmatina e a correlação do seus alvos potenciais com a promoção do efeito antidepressivo e ansiolítico. Alguns estudos já usaram essa abordagem integrada de bioinformática para investigar os mecanismos moleculares da cetamina na isquemia (Xiong *et al*., 2022) e na depressão (Altê & Rodrigues, 2023). Nesse sentido, a análise de redes de alvos farmacológicos, o docking (atracamento) molecular e as análises de enriquecimento de ontologia genética permitem o entendimento da ação polifarmacológica das moléculas, e a predição de alvos terapêuticos prioritários, permitindo o uso mais racional de animais na pesquisa de acordo com o princípio dos 3Rs: substituição, derivado do inglês "*replacement*"; redução e refinamento (He *et al*., 2021; Qi *et al*., 2021; Shen *et al*., 2022; Zhang *et al*., 2022). Considerando as semelhanças entre os mecanismos de ação da agmatina e da cetamina, abordagens *in silico* baseadas em bioinformática e biologia

computacional constituem ferramentas promissoras para a identificação e priorização de alvos farmacológicos associados aos efeitos antidepressivos da agmatina, sob a perspectiva da depressão, da ansiedade e do suicídio, contribuindo para o direcionamento de futuros estudos *in vitro* e *in vivo*. Logo, parte-se da hipótese de que ao empregar metodologias de bioinformática para a triagem das informações contidas nos bancos de dados para agmatina, depressão, ansiedade e suicído, bem como realizar o cruzamento desses alvos para espécie humana e para roedores (ratos e camundongos) e, finalmente, analisar essas informações através de softwares e programas estatísticos, serão selecionados potenciais alvos farmacológicos associados aos efeitos antidepressivos da agmatina em humanos e em modelos animais.

2 . OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

a) Investigar os potenciais alvos farmacológicos da agmatina, e seus múltiplos mecanismos de ação que podem estar associados aos seus efeitos antidepressivos, com implicação na depressão, ansiedade e suicídio em humanos e em modelos animais, através de metodologias de bioinformática e biologia computacional.

2.2 Objetivos específicos

a) Predizer os principais alvos moleculares da agmatina, tanto em humanos quanto em roedores (ratos e camundongos), através da sua estrutura química.
b) Buscar genes-alvo relacionados à depressão, ansiedade e suicídio em bancos de dados públicos.
c) Efetuar o cruzamento dos dados e identificar quais são os genes-alvo compartilhados entre a agmatina, depressão, ansiedade e suicídio para humanos e roedores, separadamente.
d) Construir e analisar redes de interações proteicas espécie-específicas no GeneMANIA e no STRING a partir da intersecção dos quatro grupos de dados.
e) Realizar análises de enriquecimento de ontologia genética (do inglês, *"genetic ontology"* ou GO) e análises de enriquecimento de vias bioquímicas dos alvos encontrados nas redes de interação biológica espécie-específicas.

f) Agrupar os alvos das redes proteicas de ambas as espécies e associá-los a interações com fármacos, a fim de explorar alvos terapêuticos passíveis de tratamento farmacológico.
g) Analisar as principais interações gene-fármaco dos alvos obtidos nas redes biológicas e selecionar as proteínas codificadas por esses genes para ensaios computacionais de docking molecular.
h) Verificar a afinidade de ligação entre as proteínas selecionadas e a agmatina, comparando os valores de afinidade dessas mesmas proteínas com outros ligantes conhecidos.
i) Caracterizar os tipos de interações presentes no complexo proteína-ligante dos alvos com melhor valor de afinidade com a agmatina.

3 . MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Predição de alvos farmacológicos da agmatina em humanos e roedores

Para realizar a predição dos possíveis alvos farmacológicos da agmatina em humanos e roedores (ratos e camundongos), realizou-se a busca da estrutura química da molécula de agmatina no banco de dados PubChem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov), na qual a notação linear SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System) foi obtida e, em seguida, inserida no programa SwissTargetPrediction (https://www.swisstargetprediction.ch/). As predições foram realizadas para três espécies diferentes: "*Homo sapiens*", "*Mus musculus*" e "*Rattus norvegicus*". Após cada busca, foi disponibilizado pela ferramenta uma tabela contendo, principalmente, o nome de cada alvo, o identificador (ID) desses alvos nas bases de dados UniProt (https://www.uniprot.org/) e ChEMBL (https://www.ebi.ac.uk/chembl/) e suas classes funcionais.

O PubChem é um banco de dados químico público altamente integrado ao National Institutes of Health (NIH), que fornece mais de 1000 fontes de dados, 119 milhões de compostos, 322 milhões de substâncias e 295 milhões de informações sobre atividades biológicas (Kim *et al*., 2025). A partir do PubChem, pode-se obter vários tipos de formatos de uma mesma molécula, desde suas estruturas 2D (bidimensional) e 3D (tridimensional) até o formato SMILES, linguagem de notação química flexível projetada especificamente para interface com computadores e bancos de dados químicos, pois apresenta uma descrição única e precisa das estruturas moleculares (Weininger, 1988).

O SwissTargetPrediction é um servidor online projetado pelo SIB (Swiss Institute of Bioinformatics) para previsão de alvos proteicos de pequenas moléculas através do princípio da similaridade estrutural, empregando uma abordagem de triagem reversa em bibliotecas químicas com dados previamente curados para correlacionar compostos a prováveis proteínas-alvo (Daina *et al*., 2019; Byrne e Schneider, 2019). Alguns dos bancos de dados vinculados ao SwissTargetPrediction são o UniProt e o ChEMBL. O Uniprot constitui um dos principais recursos globais de dados sobre sequências de proteínas e informações funcionais. Ele é composto por conjuntos revisados de entradas de proteínas em que cada registro contém um resumo das informações funcionais verificadas experimentalmente ou previstas computacionalmente, as quais são adicionadas e avaliadas por um biocurador especialista, bem como conjuntos não revisados (The UniProt Consortium, 2025). O ChEMBL é um recurso global de dados biológicos de alta qualidade e com curadoria manual, dedicado à moléculas bioativas com propriedades farmacológicas. Seus dados são provenientes de cerca de 230 revistas científicas diferentes, as quais abrangem uma ampla variedade de áreas biomédicas (Zdrazil *et al*., 2024)

3.2 Busca de genes-alvo relacionados à depressão, ansiedade e suicídio em bancos de dados públicos

A pesquisa dos genes-alvo foi feita no banco de dados GeneCards: The Human Gene Database (https://www.genecards.org/). As palavras-chave utilizadas na busca foram os termos em inglês "*depression*" (depressão), "*anxiety*" (ansiedade) e "*suicide*" (suicídio). Cada busca retornou uma lista de genes-alvo relativa às palavras-chave.

O GeneCards é um banco de dados reconhecido como uma das principais fontes de referência devido à sua acessibilidade, fornecendo informações genômicas, transcriptômicas, proteômicas, genéticas, clínicas e funcionais (Stelzer *et al*., 2016). Devido a sua interface de fácil utilização pelos usuários e à grande amplitude de dados, o GeneCards passou a ser um ponto de referência na compreensão de genes desconhecidos, podendo exercer um papel importante na resolução de problemas (Safran *et al*., 2021).

3.3 Cruzamento dos genes-alvo da depressão, ansiedade e suicídio com os alvos farmacológicos da agmatina

Com base na tabela de alvos farmacológicos da agmatina e as listas de genes-alvo para depressão, ansiedade e sucidio, dois cruzamentos de dados foram efetuados no software Venny 2.1 (https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/). Um deles entre depressão, ansiedade,

suicídio e os alvos farmacológicos da agmatina preditos em humanos, e outro entre depressão, ansiedade, suicídio e os alvos farmacológicos da agmatina preditos em roedores (ratos e camundongos). Em ambos os cruzamentos, o Venny disponibilizou listas com os alvos compartilhados obtidos da intersecção entre os quatro grupos de dados, assim como para as demais interseções e alvos exclusivos de cada categoria.

O Venny 2.1 é uma plataforma online interativa capaz de comparar listas de dados através de diagramas de Venn (Oliveros, 2007-2015). Tais diagramas destacam interseções entre conjuntos de dados, sendo bastante úteis para revelar quais elementos são compartilhados entre os grupos ou exclusivos em cada grupo, auxiliando na visualização e interpretação dos dados.

3.4 Construção e análise de redes espécie-específicas dos alvos compartilhados entre agmatina, depressão, ansiedade e suicídio

As listas contendo os alvos compartilhados entre agmatina, depressão, ansiedade e suicídio tanto em humanos quanto em roedores foram anexadas nos programas GeneMANIA (https://www.genemania.org) e STRING 12.0 (https://string-db.org/), no qual foram construídas redes de interações proteína-proteína. As espécies selecionadas no momento da elaboração das redes foram "*Homo sapiens*" (humanos) e "*Rattus norvegicus*" (rato) devido à maior disponibilidade de dados do gene *GRIN1* (subunidade do tipo 1 do receptor ionotrópico de glutamato NMDA, do inglês "*Glutamate receptor ionotropic NMDA type subunit 1*") em ratos em relação a camundongos nos bancos de dados. Além disso, esse gene não foi encontrado na busca em camundongos, o que justifica a escolha da espécie "*Rattus norvegicus"* no SwissTargetPrediction, considerando ainda as evidências descritas na literatura sobre a interação entre a agmatina e o receptor NMDA. Após a construção das redes, estas foram importadas para o software Cytoscape 3.10.4 (https://cytoscape.org/), onde foram realizados o refinamento do layout e análises estatísticas de topologia para identificar os nós (proteínas) mais importantes por meio de critérios como grau (do inglês, "*degree*") e centralidade de intermediação (do inglês, "*betweenness centrality*") e coeficiente de clusterização (do inglês, "*clustering coefficient*") (Koschützki & Schreiber, 2008; Hao *et al*., 2012; Masuda *et al*., 2018; Xiong *et al*., 2022; Xiao *et al*., 2022).

O GeneMANIA é uma interface online flexível, versátil e acessível com foco na formulação de hipóteses acerca de funções genéticas, que permite analisar e priorizar genes para ensaios funcionais (Montojo *et al*., 2014). Além disso, o GeneMANIA expande as listas de consulta iniciais ao incluir genes funcionalmente similares, identificados através de dados

genômicos e proteômicos disponíveis, tal qual exibe uma escala de pesos indicando a confiabilidade dos dados analisados (Warde-Farley *et al*., 2010).

O STRING é um banco de dados que compila, avalia e integra informações sobre associações proteína-proteína extraídas de ensaios experimentais, previsões computacionais e fontes previamente selecionadas. Baseando-se nessa ferramenta, é possível criar redes de interação que englobam tanto interações físicas quanto funcionais entre proteínas, como também atribuir escores que variam de 0 a 1 e refletem a confiabilidade das interações observadas (Szklarczyk *et al*., 2025).

O Cytoscape é um software de código aberto projetado para integrar redes de interações biomoleculares com dados de expressão de alto rendimento, revelando-se muito eficaz quando unido a grandes bancos de dados de interações proteicas, genéticas e de proteína-DNA (Shannon *et al*., 2003). A possibilidade de analisar a topologia das redes construídas no GeneMANIA e no STRING, junto às amplas funções de edição do Cytoscape que permitem atrelar parâmetros visuais aos dados estatísticos, facilitam a interpretação biológica dos seus componentes.

3.5 Análises de enriquecimento de ontologia genética e vias bioquímicas pela KEGG

Após a importação das redes construídas no GeneMANIA e STRING para o software Cytoscape, os alvos foram organizados em quatro tabelas diferentes considerando as espécies, sendo duas tabelas referentes a humanos e duas a ratos. Esses alvos foram anexados no ShinyGO 0.85 (https://bioinformatics.sdstate.edu/go/) para a realização de análises de enriquecimento de ontologia genética (GO) e de enriquecimento de vias bioquímicas baseadas na KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) PATHWAY Database (https://www.kegg.jp/) e no Reactome (https://reactome.org). As espécies "*Homo sapiens*" e "*Rattus norvegicus*" foram mantidas nos parâmetros do ShinyGO de acordo com as redes.

Na análise de GO, foram utilizados os termos: processo biológico (do inglês, "*biological process*" ou BP), função molecular (do inglês, "*molecular function*" ou MF) e composição/localização celular (do inglês, "*cellular composition*" ou CC) (Gene Ontology Consortium, 2015). Os resultados são exibidos de forma gráfica junto de representações estatísticas como *fold enrichment* (enriquecimento relativo), definido pela plataforma como a porcentagem de genes da lista de entrada que pertencem a uma via metabólica, dividida pela porcentagem correspondente em um grupo de controle, isto é, mede a magnitude da participação dos genes em vias metabólicas bem documentadas na literatura. Além do -log10(FDR), indicando que quanto menor o valor de FDR (do inglês, "*false discovery rate*")

maior a significância do resultado. O FDR é uma correção estatística que controla a taxa esperada de falsos positivos entre os todos os termos considerados significativos (Riffenburgh, 2012). Os filtros estatísticos aplicados foram FDR<0,05 e as 20 vias/processos mais importantes.

O ShinyGO é uma aplicação online desenvolvida com propósito de facilitar análises de enriquecimento, permitindo a obtenção de insights práticos sobre conjuntos de genes através da verificação da presença de genes pertencentes a vias específicas ou categorias funcionais, conforme definidas pela ontologia genética (Ashburner *et al*., 2000). O ShinyGO é uma aplicação Shiny desenvolvida com base em vários pacotes R/Bioconductor e possui características exclusivas tais quais o acesso aos bancos de dados KEGG, Reactome e STRING, a visualização das sobreposições entre as vias metabólicas enriquecidas utilizando agrupamento hierárquico e redes interativas e identificação de diferenças estatisticamente significativas no tipo de gene, comprimento, conteúdo de GC e distribuição cromossômica entre os genes de consulta e o conjunto de referência (Ge *et al*., 2020).

A base de dados KEGG, integrada ao ShinyGO, é um recurso compilado manualmente que consiste na interação de 18 bancos de dados categorizados em informações sobre sistemas, genômica, química e saúde, possibilitando o mapeamento de funções em nível celular e do organismo a partir de sequências genômicas e outros conjuntos de dados moleculares (Kanehisa *et al*., 2021).

O Reactome é um banco de dados de acesso livre e código aberto que abrange informações tanto em relação à fisiologia normal quanto aos mecanismos de doenças, impactos das variações genéticas e da ação dos medicamentos, possuindo um conteúdo continuamente ampliado e revisado, com fluxos de trabalho automatizados que monitoram publicações para manter a integridade dos dados (Ragueneau *et al*., 2026).

3.6 Identificação de interações gene-fármaco entre os alvos das redes biológicas e fármacos presentes na base de dados Drug-Gene Interaction (DGIdb)

Os alvos encontrados nas redes proteicas de ambas as espécies foram anexados no banco de dados Drug-Gene Interaction (https://dgidb.org) (do inglês, "*Drug-Gene Interaction database*" ou DGIdb), no qual cada alvo foi associado a um fármaco, seja ele aprovado ou não aprovado pela Food and Drug Administration (FDA), agência Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos da América responsável pela aprovação de novos fármacos. O DGIdb retornou uma tabela com o nome de cada gene, o fármaco associado a ele, status de regulamentação (fármaco aprovado ou não pelo FDA), indicação do

fármaco (se disponível) e o escore de interação gene-fármaco. Essa tabela foi salva em formato .tsv e processada através do programa RStudio (https://posit.co/), no qual foram excluídos os dados que não incluíam a indicação do fármaco. Logo depois, os dados foram filtrados pelas palavras-chave "*Antidepressive Agents*" "*antidepressant*", "*Anxiolytics*", "*anxiolytic*" e "*Anti-anxiety agents*" para selecionar os fármacos com efeitos antidepressivos e ansiolíticos. Por fim, os dados foram divididos em duas tabelas diferentes, uma contendo apenas os fármacos com status de regulamentação aprovado pela FDA e outra com os não-aprovados. Partindo da tabela de interação entre genes e fármacos aprovados pelo FDA, foram elaborados um gráfico de barras indicando a quantidade de fármacos aprovados por gene e um mapa de calor (do inglês, "*heatmap*") destacando o valor do escore de interação entre os genes e os fármacos aprovados.

O DGIdb é um recurso de acesso público que reúne genes ou produtos gênicos, medicamentos e registros de interações gene-fármaco de diversas fontes bibliográficas e bancos de dados, impulsionando a geração de hipóteses quanto ao potencial de um gene ou conjunto de genes no desenvolvimento de novos tratamentos (Cannon *et al*., 2024). A inclusão do banco de dados Drugs@FDA ao DGIdb torna o status de regulamentação acessível junto às demais informações disponibilizadas pela plataforma, garantindo maior translacionalidade nos estudos de descoberta de fármacos.

O RStudio é um ambiente de desenvolvimento integrado (IDE) projetado para oferecer suporte a várias linguagens, incluindo R e Python, sendo uma ferramenta completa e versátil para a análise estatística e visualização de dados (Posit team, 2026). A execução de scripts em linguagem de programação R facilita as etapas desde a filtragem de informações até a representação visual, agilizando o processamento e manuseio dos dados, já que podem ser manipulados em um único programa.

3.7 Preparação estrutural dos ligantes e proteínas selecionadas para os ensaios de docking molecular

Dentre os genes evidenciados no *heatmap* de interação oriundos da tabela de fármacos aprovados pelo FDA, foram selecionados aqueles que codificam proteínas da classe de receptores para seguir com as análises de docking molecular. A sigla do gene ou nome da proteína foi buscada no banco de dados RSCB: Protein Data Bank (PDB) (https://www.rcsb.org/), no qual obteve-se as estruturas cristalográficas dos receptores de interesse. Na escolha das estruturas tridimensionais, foram priorizadas proteínas da espécie "*Homo sapiens*", com um maior valor de resolução em angstrom (Å) e métricas de validação

favoráveis (*clashscore*, *ramachandran outliers* e *sidechain outliers*) fornecidas pela própria plataforma do PDB. A seguir, as estruturas dessas proteínas foram salvas no formato .pdb e encaminhadas ao servidor PDB2PQR (https://server.poissonboltzmann.org/) para preparação das estruturas. Nessa plataforma, foi adicionado o arquivo .pdb de cada proteína, definido o valor de pH 7 para atribuição dos estados de protonação das moléculas através do PROPKA (recurso associado ao PDB2PQR) e PARSE como opção de campo de força. Acrescentou-se, ainda, condições tais quais a remoção de águas do arquivo de saída, adição de hidrogênios faltantes, otimização da rede de ligações de hidrogênio e certificação de que os novos átomos não fossem recriados muito próximos dos átomos existentes. A seguir, o arquivo de saída da estrutura das proteínas em formato .pqr e a descrição da análise em formato .txt foram baixados.

A referência de pH 7 foi atribuída para a ionização dos receptores devido o pH intracelular (pHi) das células neuronais do hipocampo de mamíferos variar de aproximadamente 7.03 - 7.46 em seu estado de repouso, sendo que durante a atividade neuronal ele pode decair e tornar-se mais ácido devido ao acúmulo de íons H+ gerados metabolicamente (Ruffin *et al*., 2014). Para a ionização da estrutura tridimensional complexa do receptor NMDA em pH 7, foi utilizado o software PDBfixer no servidor online Neurosnap (https://neurosnap.ai/), pois o PDB2PQR exibiu dificuldades no processamento da proteína, mesmo após tentativas de analisar separadamente as cadeias que incluíam os sítios de ligação de interesse.

Para a ionização dos ligantes, os SMILES da agmatina e dos compostos utilizados como controle positivo nas análises de docking molecular (provenientes das estruturas 3D do PDB) foram adquiridos do PubChem. A plataforma Chemicalize (https://chemicalize.com) foi empregada para selecionar a estrutura química mais predominante no pH 7 (definido como padrão) com base no pKa (constante de dissociação ácido-base) dos ligantes e distribuição de suas micro-espécies conforme a variação do pH. As informações sobre o pKa da agmatina e dos ligantes utilizados como controle positivo nas análises de docking molecular foram obtidas do DrugBank (https://go.drugbank.com/), tal qual os valores de carga fisiológica. Para os ligantes com estruturas químicas mais complexas, as ferramentas MolGpKa (https://xundrug.cn/molgpka) e Dimorphite-DL (http://durrantlab.com/dimorphite-dl) foram usadas para a identificação dos sítios de ionização baseados no pKa e caracterização de todos os estados de protonação possíveis a partir do pH de interesse, respectivamente.

Posteriormente, os SMILES ajustados ao estado de protonação de cada ligante no pH 7 foram anexados no software de visualização e edição de moléculas Avogadro 2

(http://avogadro.openmolecules.net), onde foram geradas as estruturas 3D dos ligantes e, em seguida, realizada a otimização de suas geometrias e cálculos de energia através do campo de força MMFF94 (*Merck Molecular Force Field*). Por fim, as estruturas dos ligantes foram salvas em formato .mol2 para serem aplicadas nas análises de docking molecular. Os ligantes cujas estruturas químicas já se encontravam no estado de protonação ajustado de acordo com o pH 7 foram baixados diretamente do PubChem no formato .sdf.

O PDB é uma base de dados que compreende estruturas tridimensionais (3D) de proteínas obtidas por cristalografia de raio X, ressonância magnética nuclear ou criomicroscopia eletrônica, cuja disponibilidade é fundamental para a condução de pesquisas e, também, o ensino em áreas como biologia básica, saúde e biotecnologia (Berman *et al*., 2000). A plataforma possui mais de 227.000 bioestruturas tridimensionais (3D) em nível atômico determinadas experimentalmente, armazenadas no arquivo global PDB (formato .pdb), junto a mais de um milhão de Modelos de Estrutura Computacional (CSMs) de proteínas, incluindo modelos para seres humanos, organismos modelo, patógenos humanos selecionados, plantas cultivadas e muitos outros (Burley *et al*., 2025).

O PDB2PQR, parte do pacote APBS (*Adaptive Poisson-Boltzmann Solver*), é um software capaz de converter arquivos PDB para o formato PQR, substituindo as colunas de ocupação e temperatura (parâmetros relativos à posição e flexibilidade atômica) por informações como carga (Q) e raio (R) por átomo, constituindo uma excelente tecnologia na preparação de estruturas biomoleculares (Jurrus *et al*., 2018). Esse software foi empregado, principalmente, na adequação do estado de protonação das proteínas ao pH 7 através do modelo empírico PROPKA e adição dos hidrogênios faltantes dos arquivos originários do PDB. Já o PDBfixer, uma ferramenta de software utilizada para preparar e corrigir arquivos de estruturas proteicas para simulações moleculares, também atuou na resolução de problemas comuns em documentos do PDB, tais como átomos ausentes, resíduos ausentes e formatação incorreta. Essa ferramenta identifica esses problemas e os corrige automaticamente, tornando as estruturas adequadas para análises computacionais, como docking molecular e simulações de dinâmica molecular. Ressalta-se que o PDBfixer funciona com base no pacote de ferramentas OpenMM, uma biblioteca de alto desempenho habilitada para resolução de uma ampla gama de cálculos utilizados em modelagem e simulação molecular em diversas plataformas de hardware avançadas (tanto CPUs quanto GPUs) (Eastman *et al*., 2017).

O Chemicalize, desenvolvido pela ChemAxon, é um recurso web gratuito bastante útil na previsão de características associadas à geometria, polarizabilidade, logP (coeficiente de partição que descreve a hidrofobicidade de uma molécula, considerando somente a forma

neutra), logD (coeficiente de distribuição que descreve a hidrofobicidade das formas ionizadas e não-ionizadas de uma molécula) e pKa de estruturas químicas de moléculas (Swain, 2012).

O DrugBank é a fonte de referência padrão-ouro para informações sobre medicamentos, alvos farmacológicos e assuntos farmacêuticos relacionados, além de ser amplamente utilizado em diversas aplicações de pesquisa biomédica e clínica, registrando uma média de mais de 30 milhões de visualizações por ano (Knox *et al*., 2024). Esse banco de dados foi consultado a fim de verificar informações sobre as propriedades de pKa, carga fisiológica e quantidade de aceptores e doadores de hidrogênio, auxiliando nas etapas seguintes para a escolha do estado de protonação mais próximo daquele em meio fisiológico e, dessa maneira, simulando as condições das moléculas com maior robustez nos ensaios de docking molecular.

O MolGpKa caracteriza-se como um servidor web para a previsão de pKa de moléculas através de um modelo de rede neural que funciona com base em aprendizado de máquina, sendo utilizados dados de pKa de 1.6 milhão de compostos da base de dados ChEMBL para o treinamento do modelo (Pan *et al*., 2021). Os SMILES dos ligantes de estrutura química mais complexa foram óbitos do PubChem e anexados na plataforma. Após a análise, foram disponibilizadas imagens contendo os sítios de ionização possíveis para cada estado de protonação da molécula, o valor do pKa para cada estado e a classificação em ácido ou base. A definição de um ou mais sítios de ionização da molécula se deu a partir do valor de pKa e carga fisiológica disponibilizados no DrugBank.

O Dimorphite-DL é um programa de código aberto rápido, preciso e acessível para modular e numerar os estados de ionização de pequenas moléculas mediante um algoritmo empírico simples que se baseia na pesquisa de subestruturas, recorrendo a bancos de dados de moléculas ionizáveis caracterizadas experimentalmente (Ropp *et al*., 2019). Dentre essas fontes, estão o PubChem, iBonD 2.0 (banco de dados químico fornecido pela Biblioteca Nacional de Medicina do *National Institutes of Health*), o banco de dados de energia de ligação fornecido pelas Universidades de Tsinghua e Nankai, o Reaxys (banco de dados químico fornecido pela *Elsevier Life Sciences IP Limited*), entre outros.

O Avogadro é um programa que possibilita a construção e visualização tridimensional de estruturas moleculares com uma vasta capacidade de edição, diversas opções de formatação de arquivos, configurando um ambiente integrado de simulação para bioinformática (Hanwell *et al*., 2012). Os recursos de inserção de SMILES para geração da estrutura 3D dos ligantes com seus estados de protonação ajustados e a otimização geométrica

através do campo de força MMFF94, particularmente eficiente para moléculas orgânicas, favoreceram o fluxo de trabalho pois permitiram a realização de ambas as tarefas por meio de uma só ferramenta.

3.8 Docking molecular e caracterização das interações nos complexos proteína-ligante

As estruturas proteicas dos receptores obtidas do PDB foram transferidas para o software UCSF Chimera (http://www.cgl.ucsf.edu/chimera) para identificar as coordenadas da posição das moléculas utilizadas como controle positivo em seus sítios de interação. Uma *grid-box* (caixa de malha) foi criada por meio das funções "*Structure Binding*" e "*AutoDock Vina*", localizando quais os números referentes aos eixos x, y e z dos ligantes no espaço. Elaborou-se uma tabela contendo o nome do gene codificador da proteína, identificador (ID) do PDB associado a proteína, coordenadas e tamanho da *grid-box* (região 3D delimitada no espaço), nome/sigla do ligante controle, valor de afinidade com os controles positivos e valor de afinidade com a agmatina, a fim de registrar os locais dos sítios de interação, sendo esses valores necessários para os ensaios de docking molecular no servidor online DockThor 2.0 (https://www.dockthor.lncc.br/v2). As proteínas usadas nas análises de docking molecular foram aquelas cujos estados de protonação para o pH 7 foram ajustados no PDB2PQR. No UCSF Chimera houve a remoção de todos os ligantes, mantendo apenas a cadeia principal (*backbone*) com o sítio de interação no qual foram posicionadas as moléculas de interesse. Na sequência, o arquivo estrutural foi salvo novamente em formato .pdb devido a compatibilidade com o DockThor.

No servidor do Dockthor, os arquivos .pdb dos receptores foram anexados na aba "*Upload your protein file*" e as moléculas controle e agmatina foram anexadas em formato .mol2 ou .sdf na aba "*Upload your ligand file*", não sendo utilizados nenhum cofator. Por último, na aba "*Docking*", as coordenadas da *grid-box* para cada sítio de interação foram adicionadas, junto do tamanho 20 definido por padrão pelo próprio programa. Todas as estruturas foram conferidas nos visualizadores da plataforma. Finalmente, inseriu-se um nome para cada ensaio de docking molecular e o e-mail do pesquisador, onde foram enviados os resultados das análises. Os resultados prontos foram acessados pelo e-mail, seguido do encaminhamento para o site do DockThor, onde a função "Analyze" foi executada. As pastas com os resultados foram baixadas em formato .zip e posteriormente extraídas, nas quais dividiram-se em "RESULT", "PROTEIN", "LIGAND" e um documento em formato .txt contendo os parâmetros da análise e informações como data de realização, nome do ensaio e e-mail do pesquisador. Na pasta "RESULT", os escores de afinidade foram acessados e

colocados na tabela de registro dos ensaios de atracamento. As poses do ligante em formato .mol2 foram baixadas e abertas no UCSF Chimera, no qual foi selecionada posição do ligante com melhor energia de ligação dentro do sítio de interação do receptor (no geral, a posição #1) e salva em formato .pdb.

Mais adiante, esses arquivos foram abertos em leitores de texto, nas quais as informações da posição do ligante foram copiadas e coladas nos arquivos .pdb das estruturas dos receptores, sendo aquelas com os estados de protonação pré-ajustados e utilizadas nas análises de docking molecular. O arquivo final dos complexos proteína-ligante foram salvos em formato .pdb e abertos no UCSF Chimera para a visualização de suas estruturas tridimensionais. Por fim, a caracterização das interações nos complexos proteína-ligante foi desempenhada pelo software LigPlot+ v.2.3 (https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/software/LigPlus), onde foram estruturados diagramas bidimensionais representando os padrões de interação por ligações de hidrogênio e suas distâncias em *angstrom* (Å), assim como os contatos hidrofóbicos entre os ligantes e os resíduos de aminoácidos da cadeia principal ou das cadeias laterais das proteínas. Os arquivos .pdb das estruturas dos receptores foram baixados do PDB e abertos em formato de texto, nos quais foram editadas as posições dos ligantes controle e adicionadas as informações de posição relativas ao arquivo .pdb da molécula de agmatina, resultantes das análises de docking molecular para cada proteína. Logo, esse novo arquivo foi baixado e transferido para o LigPlot+, no qual foram geradas imagens representativas após a realização das análises.

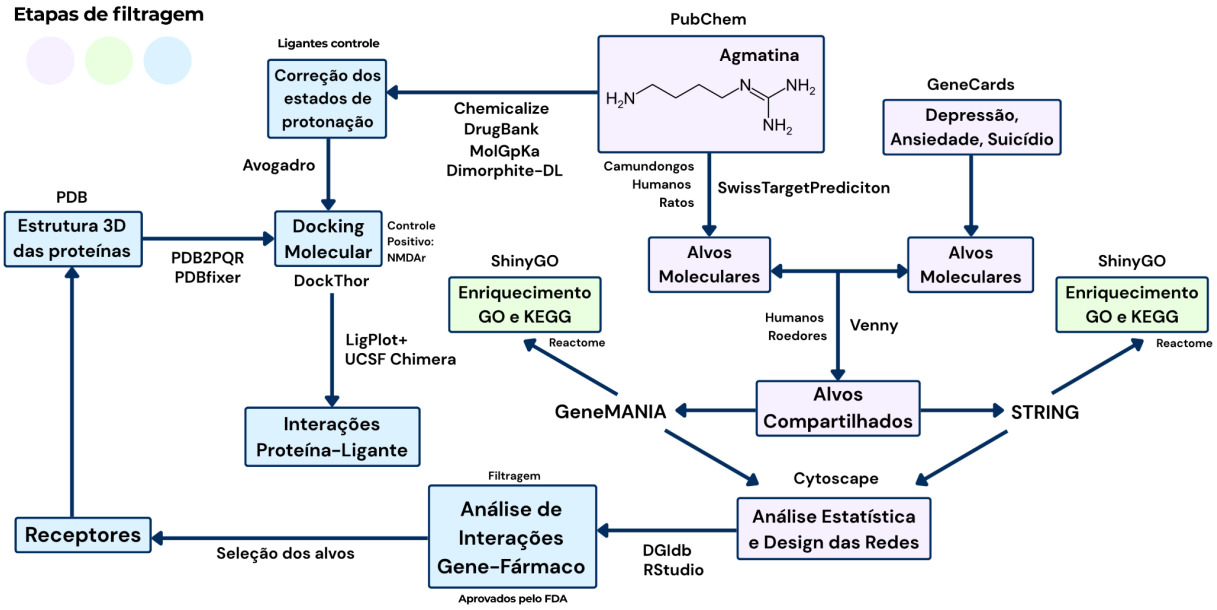
O UCSF Chimera é um software especializado em visualização de estruturas moleculares que contempla variadas extensões e formatos de arquivos, oferecendo tanto uma interface gráfica quanto opções de linha de comando para todo tipo de usuário. Principalmente eficiente na manipulação de estruturas em formato .pdb, o programa permite selecionar e modificar partes das estruturas através de suas funcionalidades, tornando mais simples o processo de representação gráfica (Pettersen *et al*., 2004).

O DockThor é um servidor gratuito de acoplamento de proteínas e ligantes, concebido para auxiliar projetos de descoberta de fármacos e realização de experimentos de triagem virtual baseados em docking molecular através de computação de alta performance, nos quais objetiva-se prever quais os mecanismos de ligação presentes em um complexo receptor-ligante, bem como identificar possíveis compostos promissores dentro de um conjunto de candidatos através de simulações computacionais com estrutura tridimensional de um ou mais receptores de interesse (Guedes *et al*., 2024).

O LigPlot+ trata-se de um programa com enfoque na representação de interações específicas de um complexo proteína-ligante por meio da inserção das coordenadas 3D desse complexo no programa, que realiza o cálculo das ligações de hidrogênio e forças de aproximação hidrofóbicas entre o ligante e resíduos de aminoácidos específicos da proteína de interesse, seguidos da planificação gráfica da imagem produzindo um diagrama 2D claro, com o mínimo de colisões entre átomos e sobreposições de linhas de ligação (Laskowski & Swindells, 2011).

As ferramentas de bioinformática empregadas na metodologia deste trabalho, junto da ordem de execução de cada etapa, estão representadas na Figura 2 em forma de fluxograma para melhor visualização do processo.

Figura 2 – Fluxograma de trabalho



Fonte: elaborado pela autora

4 . RESULTADOS E DISCUSSÃO

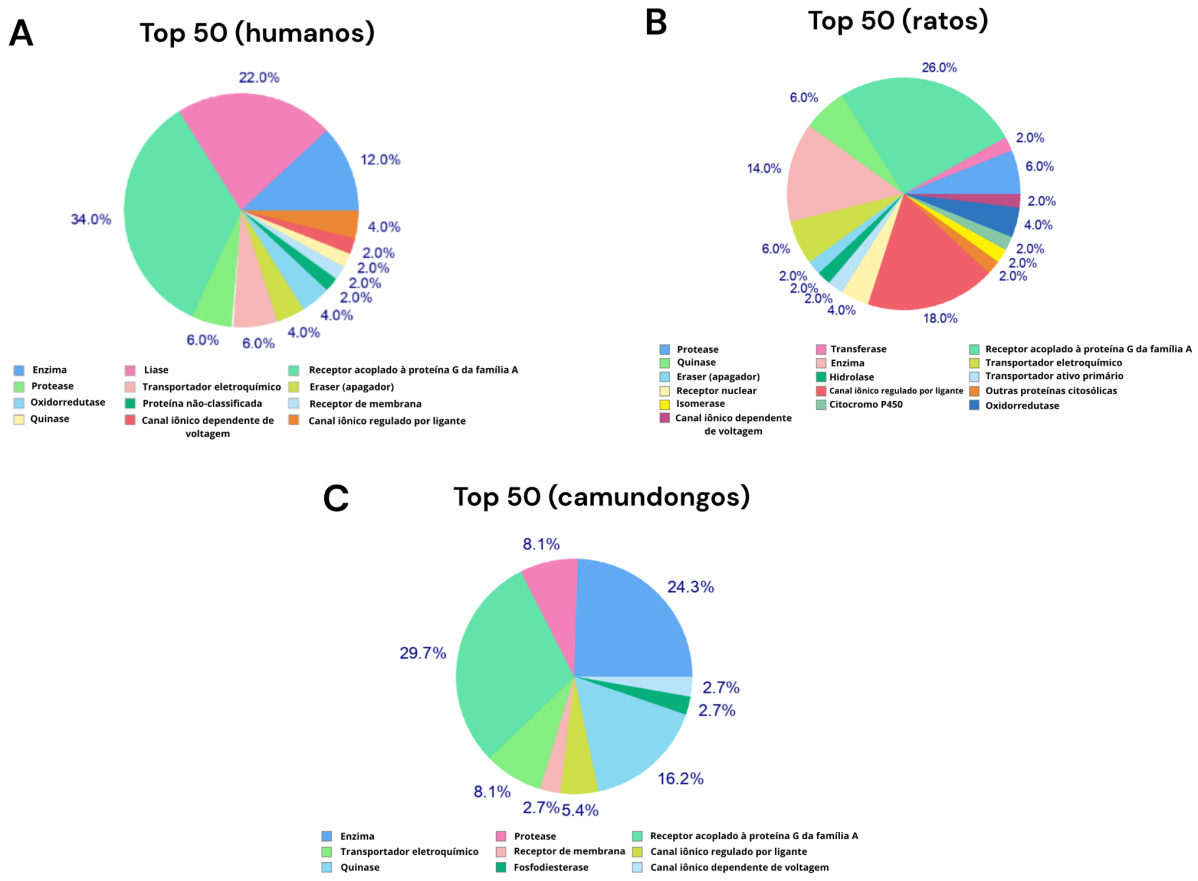
4.1 Busca em bancos de dados e cruzamento de alvos compartilhados

A partir da base de dados GeneCards, foram obtidos 15392 genes-alvo relacionados ao transtorno depressivo maior (depressão), 7398 alvos relacionados à ansiedade e 3387 relacionados ao suicídio. De acordo com SwissTargetPredition, foram encontrados 100 alvos

farmacológicos da agmatina para humanos (*Homo sapiens*), 53 alvos para ratos (*Rattus norvegicus*) e 37 alvos para camundongos (*Mus musculus*). As classes desses alvos farmacológicos estão distribuídas nos gráficos da Figura 3, sendo os receptores acoplados à proteína G da família A (coloridos em verde-água) a classe mais predominante nas três espécies, representando 34% das classes em humanos (A), 26% em ratos (B) e 29.7% em camundongos (C).

Os receptores acoplados à proteína G (do inglês, "*G protein–coupled receptors* ou *GPCRs*") são receptores de sete domínios funcionais que constituem a maior família de receptores transmembranares (Pierce *et al*., 2002). Os GPCRs atuam na transdução de diversos sinais fisiológicos fundamentais e são a maior família de receptores de membrana alvo de medicamentos aprovados pelo FDA (Allen & Roth, 2011; Rask-Andersen *et al*., 2014; Santos *et al*., 2017) devido a fatores tais quais sua *druggability*, ou seja, a capacidade de ser modulado por um fármaco, além de interações com diversos tipos de entidades químicas e a expressão na membrana plasmática, facilitando interações moleculares no meio extracelular (Sriram & Insel, 2018). Já as demais classes predominantes diferem entre as espécies. Em humanos (A), 22% dos alvos são liases e 12% outros tipos de enzimas. Em ratos (B), 18% são canais iônicos regulados por ligantes e 14% são enzimas. Em camundongos (C), 24.3% são outros tipos de enzimas e 16.2% são cinases. O restante das classes pode ser visualizado na Figura 3.

Figura 3 – Gráfico de proporcionalidade relativo às classes de alvos farmacológicos da agmatina em humanos e roedores



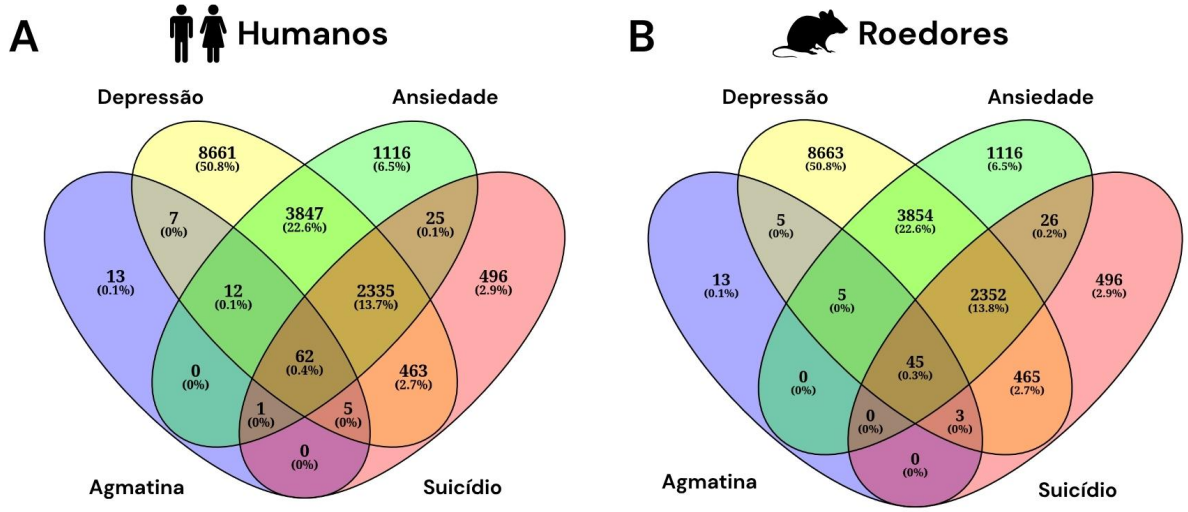
Legenda: Classes dos 50 principais alvos farmacológicos da agmatina preditos no SwissTargetPrediction. A) Humanos (*Homo sapiens*); B) ratos (*Rattus norvegicus*) e C) camundongos (*Mus musculus*).
Fonte: elaborado pela autora

Os diagramas de Venn decorrentes do cruzamento em humanos (A) e roedores (B) dos alvos farmacológicos da agmatina com os genes obtidos nos bancos de dados estão ilustrados na Figura 4. Verificaram-se 62 genes-alvo compartilhados entre a agmatina, depressão, ansiedade e suicídio, em humanos, e 45 genes-alvo compartilhados entre os mesmos grupos em roedores, nos quais realizou-se a união dos alvos da agmatina em ratos e camundongos oriundos do SwissTargetPrediction e remoção das duplicatas, resultando em 71 alvos participantes do cruzamento.

Comparando as intersecções entre os quatro grupos (agmatina, depressão, ansiedade e suicídio) no cruzamento em humanos, com 62 genes-alvo, e roedores, com 45 genes-alvo, foram identificados 39 genes-alvo comuns entre ambos os cruzamentos, 23 genes-alvo encontrados exclusivamente no cruzamento em humanos e 6 genes-alvo encontrados

exclusivamente no cruzamento em roedores, conforme mostra a Tabela 1. A nomenclatura oficial completa dos genes exibidos em todas as tabelas deste trabalho está descrita segundo o banco de dados HGNC (*HUGO Gene Nomenclature Committee*) e encontra-se disposta em ordem alfabética no Apêndice A.

Figura 4 – Diagramas de Venn resultantes dos cruzamentos entre os conjuntos de dados referentes a agmatina, depressão, ansiedade e suicídio para humanos e roedores (ratos e camundongos)



Fonte: elaborado pela autora

Tabela 1 – Genes-alvo comuns e exclusivos entre a agmatina, depressão, ansiedade e suicídio nos cruzamentos em humanos e em roedores (ratos e camundongos)

(continua)

Genes-alvo comuns do cruzamento em humanos e roedores	Genes-alvo exclusivos do cruzamento em humanos	Genes-alvo exclusivos do cruzamento em roedores
AADAT	*CA1*	*Chrna2*
ADRA1A	*CA3*	*Chrna3*
ADRA2C	*CA4*	*Chrnb4*
AKT1	*CA5A*	*Drd1*
CA2	*CA5B*	*Grin1*
CA7	*CA6*	*Mapk10*
CHRM1	*CA9*	
CHRM2	*CA14*	
CHRM5	*CCL2*	
CHRNA4	*CHEK1*	
CHRNA7	*CHRM4*	
DRD2	*CYP2A6*	
DRD3	*HRH2*	
HRH1	*HTR6*	
HRH3	*HTT*	
HTR1A	*KAT2B*	
HTR1B	*KCNH2*	
HTR1D	*MPO*	
HTR2A	*PNMT*	
HTR2B	*PRKCA*	
HTR2C	*PRKCB*	
HTR5A	*PRKCE*	
HTR7	*XIAP*	
MAOA		
MAOB		

Tabela 1 – Genes-alvo comuns e exclusivos entre a agmatina, depressão, ansiedade e suicídio nos cruzamentos em humanos e em roedores (ratos e camundongos)

(conclusão)

Genes-alvo comuns do cruzamento em humanos e roedores	Genes-alvo exclusivos do cruzamento em humanos	Genes-alvo exclusivos do cruzamento em roedores
NISCH		
NOS1		
NOS2		
NOS3		
ODC1		
OPRL1		
PDE10A		
PRKCD		
SIGMAR1		
SLC6A2		
SLC6A3		
SLC6A4		
TRPA1		

Fonte: elaborado pela autora

As diferenças verificadas para as espécies indicam a quantidade de informações anotadas sobre os genes nos bancos de dados de busca, o que não caracteriza necessariamente uma divergência real entre os organismos, pois muitos estudos são realizados somente em ratos ou camundongos, não havendo, dessa forma, dados provenientes de humanos a respeito de determinados genes. No DrugBank, banco de dados padrão-ouro relativo a informações sobre fármacos, a referência principal da associação da agmatina com o gene *GRIN1* é o trabalho de Yang e Reis (1999), no qual se aborda o papel da agmatina como antagonista ao bloquear seletivamente os receptores NMDA em células de neurônios hipocampais de ratos. Logo, isso pode indicar que as evidências dessa interação se encontram majoritariamente em modelos murinos, o que explica o fato do gene *GRIN1* aparecer como gene-alvo comum entre agmatina, depressão, ansiedade e suicídio somente na intersecção do cruzamento em roedores.

O gene GRIN1 é responsável por codificar a subunidade do tipo 1 (NR1) dos receptores NMDA, que constituem um dos alvos moleculares com maior número de

evidências experimentais associadas aos efeitos antidepressivos da agmatina. Essa subunidade também participa da estrutura heteromérica do receptor NMDA junto de outros tipos de subunidades (NR2 e NR3). Destaca-se que o processos de *splicing* alternativo do gene *GRIN1* podem produzir oito isoformas diferentes para subunidade do tipo 1 (Dingledine *et al*., 1999) e que a presença da subunidade do tipo 1 na formação do complexo proteico dos receptores de NMDA é obrigatória para o seu funcionamento, devendo ser associada com uma ou mais subunidades do tipo 2 ou tipo 3 para atuar como um receptor funcional (Moriyoshi *et al*., 1991; Kutsuwada *et al*., 1992; Monyer *et al*., 1992; Dingledine *et al*., 1999; Paoletti & Neyton, 2007).

O *GRIN1* está presente em humanos e possui ortólogos tanto em ratos quanto camundongos, porém, sua relação com a agmatina em humanos ainda é pouco documentada na literatura, havendo mais informações de estudos pré-clínicos em modelos animais disponíveis nos bancos de dados. Um dos estudos mais recentes relacionando o *GRIN1* e a depressão observou uma redução na expressão do RNA mensageiro (mRNA) relacionado ao gene *GRIN1* no hipotálamo de ratos machos da linhagem Wistar submetidos a um modelo de depressão induzida pela administração crônica de corticosterona (Gusmão *et al*., 2025).

Apesar da baixa frequência de variação nos genes *GRIN* em populações saudáveis, existem doenças associadas ao gene *GRIN* em humanos que, recentemente, têm sido identificadas por meio de tecnologias como sequenciamento de alto rendimento em pacientes com sintomas neurológicos e neuropsiquiátricos (Platzer *et al*., 2017; Benke *et al*., 2021; Korinek *et al*., 2024). Dentre as mais de 700 variantes conhecidas para o gene *GRIN*, menos da metade possui avaliações funcionais publicadas e, tratando-se do *GRIN1*, as variantes estão presentes em pacientes com um conjunto de distúrbios neurológicos e neuropsiquiátricos abrangentes, além de muitos desses pacientes apresentarem comorbidades (Hansen *et al*., 2021).

Um estudo de Lee e colaboradores (2016) avaliou a relação entre as variações de polimorfismos de nucleotídeo único (do inglês, "*Single Nucleotide Polymorphism*" ou SNP) nos genes que codificam o receptor NMDA (especificamente *GRIN1*, *GRIN2A*, *GRIN2B*, *GRIN2C* e *GRIN2D*) com as emoções e o comportamento social em adolescentes. Este estudo mostrou uma associação significativa entre a variante *GRIN1* rs4880213 à depressão e comportamento disruptivo. Em estudos pré-clínicos, camundongos portadores de um alelo congênito com perda de função do gene *GRIN1* mostraram que a restauração da expressão do gene ao estado selvagem (do inglês, "*wild-type"*), por meio de edição genética com a enzima recombinase Cre derivada do vírus bacteriófago P1, promoveu melhora significativa da

função cognitiva. Esse efeito foi observado inclusive em déficits cognitivos refratários aos tratamentos farmacológicos atuais (Mielnik *et al*., 2020).

É importante salientar que tanto uma função excessiva quanto insuficiente do receptor de NMDA estão associadas a distúrbios neurológicos ou neuropsiquiátricos, o que sugere uma janela fisiológica estreita para a atividade desse receptor (Hanson *et al*., 2024). Assim, à medida que as variantes do gene *GRIN1* ligadas a comprometimentos neurológicos e psiquiátricos têm sido relatadas em humanos na literatura científica, muitos estudos pré-clínicos vêm propondo novas abordagens farmacológicas e genéticas clinicamente úteis para atenuar alguns aspectos dessas condições.

4.2 Construção e análise de redes de interações proteicas do GeneMANIA e STRING

4.2.1 Homo sapiens (humanos)

Com base nos 62 genes-alvo presentes na intersecção do cruzamento em humanos entre agmatina, depressão, ansiedade e suicídio, o GeneMANIA retornou uma rede completa de interação proteína-proteína contendo 81 nós e 1654 arestas, em que cada nó representa uma proteína (alvo) e cada aresta (ou conexão) representa um tipo de interação diferenciada por cor. O programa adicionou 19 alvos relacionados ao conjunto inicial através de sua própria base de dados como descrito na seção 4.4 da Metodologia. Essa rede foi inserida no software Cytoscape, onde os parâmetros estatísticos descritivos foram fornecidos pela função "*Analyze Network*" e, baseado neles, estabeleceu-se o design topológico da rede. Como o alvo *NISCH* (Nischarin) não estabeleceu nenhuma conexão com os demais alvos da rede, ele foi excluído por ser um nó isolado, restando 80 nós na topologia da rede final. A rede de interações proteicas completa (A) e a rede filtrada pelas métricas estatísticas "*degree*" e "*betweenness centrality*" (B) estão ilustradas na Figura 5.

Das interações representadas pelas arestas, 42.43% são domínios proteicos compartilhados entre as proteínas codificadas pelos genes da rede (coloridas em rosa), 20.54% interações físicas entre produtos gênicos (verde), 14.47% co-localização de genes expressos no mesmo tecido ou produtos gênicos identificados na mesma localização celular (azul), 14.16% co-expressão de genes, isto é, níveis de expressão semelhantes em todas as condições de um estudo de expressão gênica (amarelo), 5.51% interações preditas pelo próprio GeneMANIA através de mapeamento funcional com base em ortologia (cinza), 2.76% interações genéticas de genes cuja alteração em um deles modifica os efeitos causados pela alteração no outro (roxo) e 0.12% participação em vias metabólicas compartilhadas (preto). A

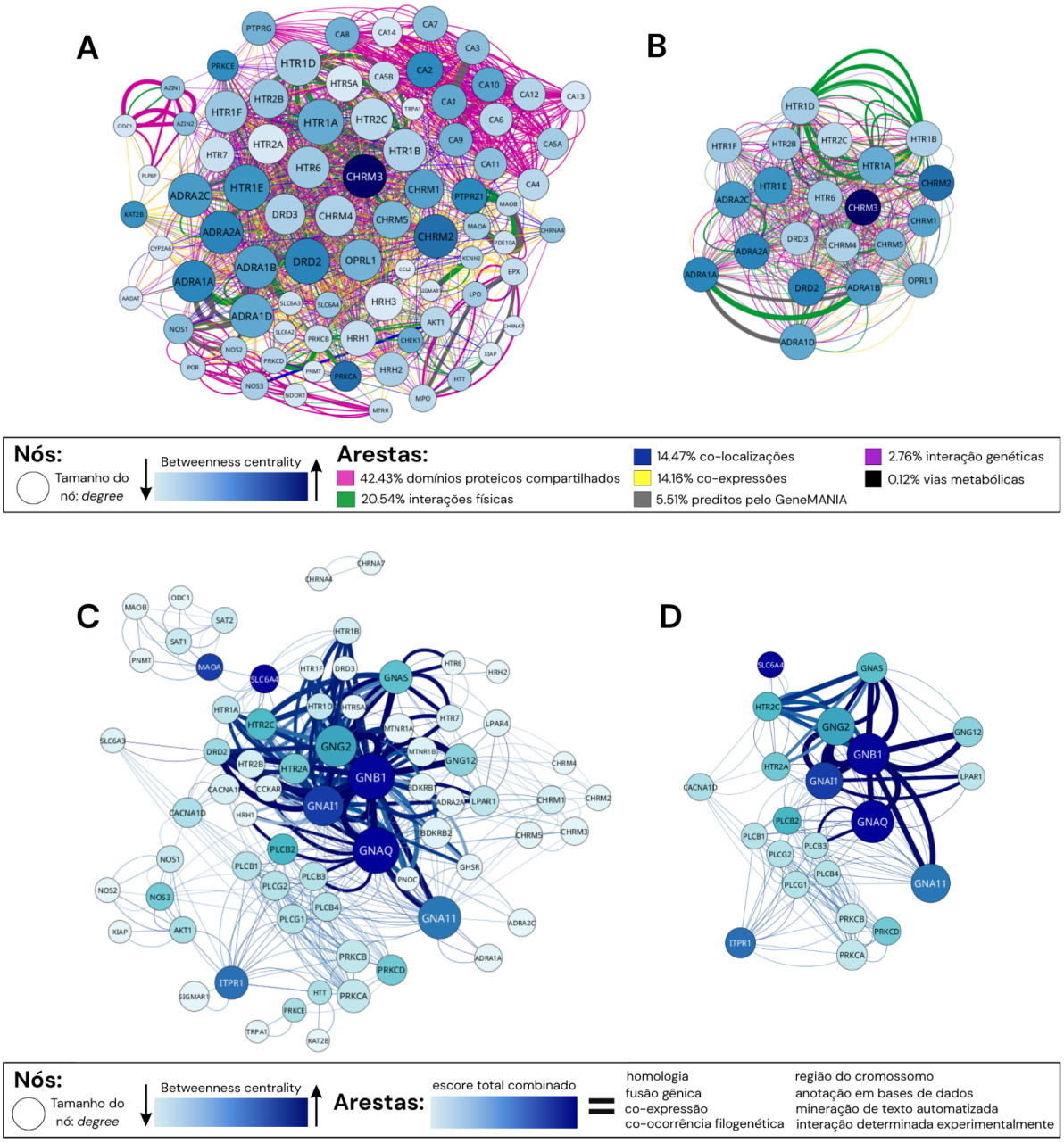
espessura das arestas está ligada ao peso (confiança) das categorias funcionais atribuídas a elas.

A plataforma STRING, também utilizada para montagem de redes de interação proteína-proteína, revelou um perfil de 70 nós e 446 arestas na rede completa, no qual STRING acrescentou 8 alvos em relação ao conjunto inicial. Cada nó representa uma proteína e cada aresta representa o valor total de um escore combinado de várias categorias atribuídas pelo próprio STRING: homologia, fusão gênica, co-expressão, co-ocorrência filogenética, região cromossômica, anotação em bases de dados, mineração de texto automatizada e interação determinada experimentalmente. Em seguida, a rede elaborada no STRING foi transferida para o Cytoscape para a execução das demais análises estatísticas já mencionadas anteriormente. O gradiente de cor das arestas do azul mais claro para o mais escuro refere-se, respectivamente, aos menores e aos maiores valores de escore combinado. Ainda, a espessura das arestas indica a determinação experimental das interações, ou seja, a presença de mais evidências na literatura científica comprovando a interação. As redes de interações proteicas completa (C) e rede filtrada pelas métricas estatísticas "*degree*" e "*betweenness centrality*" (D) estão exibidas na Figura 5.

Nas redes de interações proteicas obtidas do GeneMANIA e do STRING, a métrica *degree* possui uma escala livre e descreve quantas arestas estão conectadas a um nó, sendo os alvos de maior grau representados por um círculo maior. Já a métrica *betweenness centrality* avalia a importância de um nó em uma rede baseando-se em quantos caminhos mais curtos passam por ele, ou seja, o papel de um nó como intermediário na comunicação ou no fluxo de informações entre outros pares de nós na rede. Essa métrica pode variar de 0 a 1, conforme o gradiente de cores dos nós, sendo os mais claros indicando menores valores de *betweenness centrality* e os mais escuros indicando valores maiores. A última métrica utilizada foi o *clustering coefficient*, que varia de 0 a 1 e quantifica a abundância de triângulos conectados em uma rede, isto é, identifica nós que se organizam em módulos (agrupamentos) podendo estar intimamente relacionados com características estruturais e/ou funcionais da entidade representada pelo nó, bem como indicar a participação em vias metabólicas compartilhadas.

Nota-se que abaixo de cada dupla de redes há um quadro representativo com o intuito de facilitar a identificação visual das cores relacionadas às categorias *degree* e *betweenness centrality*, para os nós, e os tipos de interação e valores de escore combinado para as arestas obtidas do GeneMANIA e STRING, respectivamente.

Figura 5 – Redes de interações proteína-proteína construídas no GeneMANIA e STRING para humanos



Legenda: Redes de interações biológicas dos alvos compartilhados entre agmatina, depressão, ansiedade e suicídio em humanos. (A) Rede completa de interações proteicas construída no GeneMANIA. (B) Rede de interações proteicas do GeneMANIA filtrada pelas métricas estatísticas *degree* e *betweenness centrality*. (C) Rede completa de interações proteicas construída no STRING. (D) Rede de interações proteicas do STRING filtrada pelas métricas estatísticas *degree* e *betweenness centrality*.
Fonte: elaborado pela autora

Na rede de interações proteicas construída no GeneMANIA, os 10 alvos mais relevantes para as respectivas métricas de grau, centralidade de intermediação e coeficiente de clusterização, acompanhados de seus valores para cada parâmetro, estão mostrados na Tabela

2. A rede filtrada representa 21 proteínas obtidas com base nos valores de grau variando de 57 a 84 (valor máximo da rede), e centralidade de intermediação variando de 0.005 a 0.043 (valor máximo da rede), para destacar as proteínas centrais que realizam mais conexões com outras proteínas. Entretanto, não necessariamente essas proteínas são os alvos mais relevantes da agmatina no contexto da depressão, ansiedade e suicídio, pois as métricas não podem ser avaliadas isoladamente. A modulação tanto de vias biológicas centrais quanto adjacentes podem ser significativas para a promoção dos efeitos antidepressivos da agmatina.

Da mesma forma, a falta de conexões entre o alvo *NISCH* com outros alvos da rede pode estar relacionada à delimitação de espécie, já que o gene *NISCH* mesmo presente em humanos e roedores (ratos e camundongos), possui a proteína Nischarin codificada por ele referenciada como homóloga em camundongos à outra proteína funcionalmente semelhante, o receptor de imidazolina antissoro-seletivo (do inglês, "*imidazoline receptor antisera-selective*" ou *IRAS*), pertencente a classe 1 de receptores de imidazolina (I1R ou "*imidazoline-1 receptor*") (Piletz *et al*., 2003a; Piletz *et al*., 2003b; Dontenwill *et al*., 2003; Lim & Hong, 2004; Zhang & Abdel-Rahman, 2006; Wang *et al*., 2013; Li *et al*., 2016). O *IRAS* está bastante associado à espécie humana e a ratos na maioria desses estudos, implicando em variações de nomenclatura as quais podem subestimar a participação do gene *NISCH* na arquitetura da rede. Logo, a interpretação dos resultados obtidos nas redes necessita ser sustentada pelas análises seguintes empregadas na metodologia deste trabalho, a fim de inferir com maior confiabilidade as possíveis vias e alvos farmacológicos que estão envolvidos no efeito da agmatina.

Tabela 2 – 10 alvos mais relevantes na rede de interações proteína-proteína construída no GeneMANIA para humanos

Grau (*Degree*)	Centralidade de intermediação (*Betweenness centrality*)	Coeficiente de clusterização (*Clustering coefficient*)
HTR1A – 84	*CHRM3* – 0.0428	*HTR5A* – 0.9373
HTR1E – 83	*PRKCA* – 0.0285	*HTR2A* – 0.8994
HTR1D – 83	*CHRM2* – 0.0280	*CA13* – 0.8970
DRD2 – 82	*DRD2* – 0.0253	*HRH3* – 0.8968
ADRA2C – 77	*ADRA2A* – 0.0253	*HRH1* – 0.8374
ADRA1D – 77	*ADRA1A* – 0.0249	*HTR7* – 0.8325
CHRM3 – 76	*PTPRZ1* – 0.0244	*CA14* – 0.8300
CHRM2 – 76	*CA2* – 0.0243	*CHRM4* – 0.7839
ADRA1B – 76	*PRKCE* – 0.0238	*DRD3* – 0.7793
ADRA2A – 75	*KAT2B* – 0.0226	*HTR2C* – 0.7634

Fonte: elaborado pela autora

Na rede de interações proteicas construída no STRING, as 10 proteínas mais destacadas em relação ao grau, centralidade de intermediação e coeficiente de clusterização estão exibidos na Tabela 3, também acompanhados de seus valores para cada parâmetro. A rede filtrada representa 22 proteínas obtidas com base nos valores de grau variando de 14 a 52 (valor máximo da rede) e centralidade de intermediação variando de 0.015 a 0.0170 (valor máximo da rede). A construção das redes tanto no GeneMANIA quanto no STRING permite comparar os resultados obtidos em cada ferramenta oriundos do mesmo arquivo de entrada, além de ampliar a busca para diferentes bancos de dados e diversificar os parâmetros de análise, já que cada ferramenta possui suas particularidades.

Tabela 3 – 10 alvos mais relevantes na rede de interações proteína-proteína construída no STRING para humanos

Grau (*Degree*)	Centralidade de intermediação (*Betweenness centrality*)	Coeficiente de clusterização (*Clustering coefficient*)
GNAQ – 52	*SLC6A4* – 0.1696	*ADRA1A* – 1
GNB1 – 52	*GNAQ* – 0.1690	*ADRA2A* – 1
GNA11 – 44	*GNB1* – 0.1676	*ADRA2C* – 1
GNG2 – 42	*GNAI1* – 0.1411	*DRD3* – 1
GNAI1 – 40	*MAOA* – 0.1408	*HRH1* – 1
ITPR1 – 24	*ITPR1* – 0.1174	*HTR1F* – 1
PRKCA – 24	*GNA11* – 0.1142	*HTR5A* – 1
PRKCB – 24	*GNG2* – 0.0927	*HTR6* – 1
GNAS – 24	*PLCB2* – 0.0817	*MTNR1A* – 1
GNG12 – 22	*HTR2C* – 0.0787	*NOS2* – 1

Fonte: elaborado pela autora

4.2.2 Rattus norvegicus (ratos)

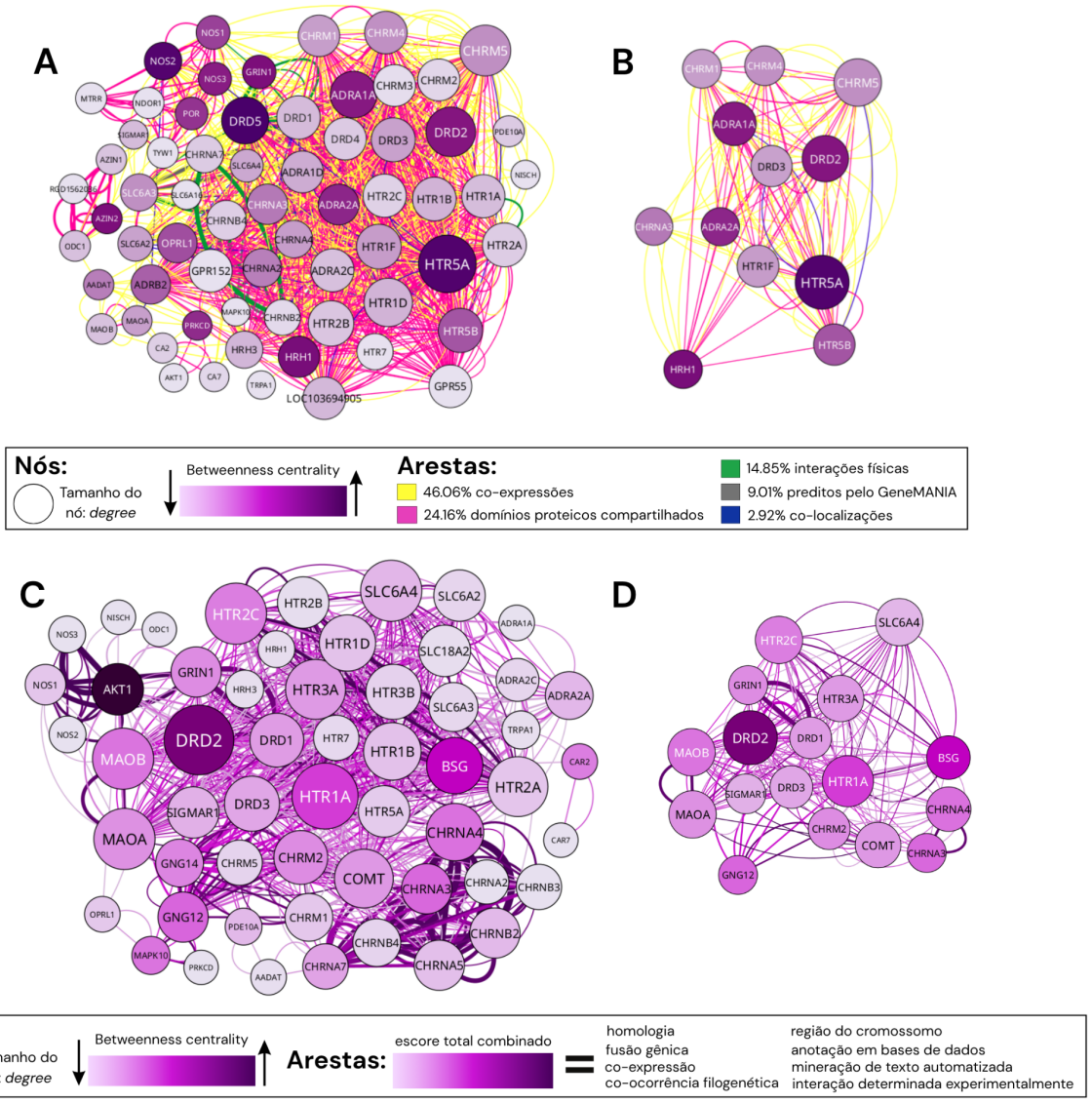
Dos 45 genes-alvo presentes na intersecção do cruzamento em roedores (ratos e camundongos) entre agmatina, depressão, ansiedade e suicídio, a espécie de referência escolhida para elaboração da rede no GeneMANIA foi "*Rattus norvegicus"* (rato), devido a anotação do gene *GRIN1* ter aparecido somente na lista do SwissTargetPrediction para essa espécie, como mencionado no tópico Metodologia. O GeneMANIA retornou uma rede completa de interação proteína-proteína contendo 65 nós e 1286 arestas, em que cada nó representa uma proteína e cada aresta (ou conexão) representa um tipo de interação. Foi acrescentado pela plataforma 20 alvos relacionados ao conjunto inicial. Logo depois, essa rede também foi submetida a função "*Analyze Network*" no software Cytoscape, onde calculou-se os parâmetros estatísticos de topologia. A rede de interações proteicas completa (A) e a rede filtrada pelas métricas estatísticas *degree* e *betweenness centrality* (B) estão ilustradas na Figura 6.

A respeito das interações representadas pelas arestas, 46.06% são co-expressão de genes (coloridas em amarelo), 24.16% domínios proteicos compartilhados (rosa), 14.85% interações físicas entre produtos gênicos (verde), 9.01% interações preditas pelo próprio

GeneMANIA e 2.92% co-localização de genes ou produtos gênicos. Assim como na rede proteica obtida do GeneMANIA para humanos, a espessura das arestas está ligada ao peso (confiança) das categorias funcionais atribuídas a elas. Para ambas as redes em ratos, a Figura 6 exibe os quadros representativos das categorias *degree* e *betweenness centrality* dos nós e dos tipos de interação (GeneMANIA) e valores de pontuação das arestas (STRING).

A plataforma STRING revelou um perfil de 55 nós e 682 arestas na rede completa, no qual STRING adicionou 10 alvos em relação ao conjunto inicial. O gradiente de cor e a espessura das arestas descrevem os mesmos parâmetros mostrados na rede oriunda do STRING para humanos. As redes de interações proteicas completa (C) e rede filtrada pelas métricas estatísticas *degree* e *betweenness centrality* (D) estão exibidas na Figura 6.

Figura 6 – Redes de interações proteína-proteína construídas no GeneMANIA e STRING para ratos



Legenda: Redes de interações biológicas dos alvos compartilhados entre agmatina, depressão, ansiedade e suicídio em ratos. (A) Rede completa de interações proteicas construída no GeneMANIA. (B) Rede de interações proteicas do GeneMANIA filtrada pelas métricas estatísticas *degree* e *betweenness centrality*. (C) Rede completa de interações proteicas construída no STRING. (D) Rede de interações proteicas do STRING filtrada pelas métricas estatísticas *degree* e *betweenness centrality*.
Fonte: elaborado pela autora

As métricas “grau”, “centralidade de intermédio” e “coeficiente de clusterização" também foram aplicadas nas redes em ratos para a avaliação estatística de topologia. Referente a essas métricas, estão expostos na Tabela 4 os 10 alvos mais relevantes na rede de interações proteicas obtidas do GeneMANIA para ratos, seguidos de respectivos valores para cada parâmetro. A rede filtrada representa 12 alvos obtidos com base nos valores de grau

variando de 48 a 121 (valor máximo da rede), e centralidade de intermediação variando de 0.01 a 0.074 (valor máximo da rede).

Tabela 4 – 10 alvos mais relevantes na rede de interações proteína-proteína construída no GeneMANIA para ratos

Grau (*Degree*)	**Centralidade de intermediação (*Betweenness centrality*)**	**Coeficiente de clusterização (*Clustering coefficient*)**
Htr5a – 121	*Drd5* – 0.0741	*Gpr152* – 1
Chrm5 – 93	*Htr5a* – 0.0681	*Gpr55* – 1
Drd2 – 88	*Nos2* – 0.0667	*Htr7* – 1
Htr1d – 83	*Hrh1* – 0.0426	*Ndor1* – 1
Drd5– 77	*Azin2* – 0.0405	*Mtrr* – 1
Adra1a – 76	*Grin1* – 0.0405	*Tyw1* – 1
Htr2b – 71	*Drd2* – 0.0360	RGD1562036 – 1
Htr1f – 68	*Adra1a* – 0.0353	*Slc6a16* – 1
Htr5b – 66	*Nos3* – 0.0346	*Nisch* – 1
Htr2a – 65	*Adra2a* – 0.0329	*Chrm3* – 0.9591

Fonte: elaborado pela autora

A Tabela 5 evidencia os 10 alvos mais relevantes na rede de interações proteicas construída no GeneMANIA para ratos. A rede filtrada representa 17 proteínas obtidas com base nos valores de grau variando de 26 a 60 (valor máximo da rede) e centralidade de intermediação variando de 0.016 a 0.169 (valor máximo da rede).

Tabela 5 – 10 alvos mais relevantes na rede de interações proteína-proteína em ratos construída no STRING

Grau (*Degree*)	Centralidade de intermediação (*Betweenness centrality*)	Coeficiente de clusterização (*Clustering coefficient*)
Drd2 – 60	*Akt1* – 0.169	Nos3 – 1
Htr1a – 54	*Drd2 – 0.1313*	*Nos2 – 1*
Maob – 46	*Bsg – 0.0912*	*Adra1a – 1*
Htr2c – 46	*Htr1a – 0.0622*	*Chrna2 – 0.9444*
Maoa – 46	*Gng12 – 0.0464*	*Chrnb3 – 0.9111*
Slc6a4 – 46	*ChrnaA3 – 0.0456*	*Htr2b – 0.8285*
Htr3a – 44	*Chrna4 – 0.0419*	*Slc18a2 – 0.8285*
Htr2a – 44	*Maob – 0.0411*	*Htr7 – 0.7333*
Comt – 42	*Mapk10 – 0.0410*	*Chrnb4 – 0.7272*
Chrna4 – 40	*Htr2c – 0.0373*	*Htr3b – 0.7254*

Fonte: elaborado pela autora.

4.2.3 Principais alvos presentes nas redes em humanos e ratos

4.2.3.1 Receptores serotoninérgicos

O perfil topológico das redes proteicas referente a humanos e ratos apresentam semelhanças e certa complementaridade, pois muitas proteínas estão em destaque para ambas as espécies. Os alvos mais frequentes nas Tabelas 2, 3, 4 e 5 são os receptores de serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT), sendo eles: *HTR1A*, *HTR1D*, *HTR1E*, *HTR1F*, *HTR2A*, *HTR2B*, *HTR2C*, *HTR5A*, *HTR5B*, *HTR6* e *HTR7*. Todos os receptores 5-HT pertencem à família dos receptores acoplados à proteína G, com exceção do 5-HT3, que trata-se de um canal iônico ativado por ligante, cuja subunidade A é codificada pelo gene *HTR3A* (Thompson & Lummis, 2007).

Os receptores de serotonina possuem vários subtipos que atuam no sistema serotoninérgico com papéis fisiológicos bastante relevantes na depressão e na ansiedade, condições cujos sintomas geralmente ocorrem conjuntamente, resultando em respostas mais lentas ao tratamento, necessidade de doses mais elevadas de medicamentos e aumento da probabilidade de suicídio e a frequência de recidivas (Galyamina *et al*., 2017). Embora a serotonina e a agmatina sejam ambas aminas biogênicas com função neuromoduladora, seus

efeitos parecem ocorrer de forma indireta entre si. A participação do sistema serotoninérgico no efeito tipo antidepressivo da agmatina não está bem estabelecida. Existem estudos que indicam que os efeitos do tipo antidepressivo da agmatina são mediados, ao menos em parte, pela modulação do sistema serotoninérgico. Nesta linha, destaca-se o estudo de Zomkowski e colaboradores (2004), revelando que a agmatina exerce uma função semelhante à dos antidepressivos, envolvendo os receptores 5-HT1A/1B e 5-HT2A/2C em camundongos, avaliados no teste de nado forçado. Outro estudo observou que os receptores ionotrópicos 5-HT3 podem ser inibidos pela agmatina, contudo, com uma taxa de cerca de 4 ± 3%, a mais baixa entre todos os medicamentos da classe das imidazolinonas (Molderings *et al*., 1996). Ademais, foi relatado que a agmatina exerce efeitos neuroprotetores em resposta a lesões mediadas pela corticosterona, por meio da indução do fator de transcrição Nrf2 regulada pelos receptores α2-adrenérgicos e 5-HT2A (Freitas *et al*., 2015). Mais recentemente, Özbaşak *et al*. (2025) investigaram a capacidade da agmatina modular a atividade dos neurônios serotoninérgicos do núcleo dorsal da rafe (do inglês, "*dorsal raphe nucleus*" ou DRN) usando eletrofisiologia em ratos Wistar machos, após tratamentos agudo e crônico com agmatina, resultando em uma regulação positiva e seletiva na expressão do mRNA dos receptores de serotonina 1B (5-HT1B) e serotonina 2A (5-HT2A) no DRN. Em contrapartida, a depleção de serotonina induzida pelo inibidor da triptofano hidroxilase PCPA não foi capaz de bloquear o efeito do tipo antidepressivo da agmatina no estudo de Krauss *et al*. (2008), sugerindo que a neurotransmissão serotoninérgica não é indispensável para a sua ação antidepressiva.

Experimentos realizados em células PC12 demonstraram que a agmatina não exerceu nenhum efeito direto sobre a serotonina (Li *et al*., 2003). No entanto, a modulação de receptores de imidazolina induzida pela agmatina, um dos ligantes endógenos desses receptores, pode estar associada ao efeito antidepressivo de inibidores seletivos da recaptação da serotonina (do inglês, "*selective serotonin reuptake inhibitors*" ou SSRIs) (Taksande *et al*., 2009). Os antidepressivos classificados como SSRIs atuam, não apenas aumentando os níveis de serotonina na fenda sináptica mas também promovem mudanças na plasticidade neuronal a níveis funcionais e estruturais, porém, eles apresentam um início lento do efeito terapêutico e eficácia relativamente baixa, além de efeitos adversos, sendo a síndrome de abstinência incapacitante recentemente reconhecida como uma condição potencialmente incapacitante (Sharp & Collins, 2024).

Conforme evidenciado pelos estudos disponíveis, os receptores serotoninérgicos 5-HT1A (*HTR1A*), 5-HT1B (*HTR1B*), 5-HT2A (*HTR2A*) e 5-HT2C (*HTR2C*) concentram as principais evidências de envolvimento nas vias moduladas pela agmatina relacionadas aos

seus efeitos antidepressivos. Dessa forma, a participação de outros subtipos de receptores serotoninérgicos permanece pouco compreendida e requer investigação adicional em estudos futuros.

4.2.3.2 Receptores adrenérgicos/noradrenérgicos

Outros alvos bastante recorrentes nas Tabelas 2, 3, 4 e 5 são os genes *ADRA1A*, *ADRA1B*, *ADRA1D*, *ADRA2A* e *ADRA2C*, codificantes de receptores adrenérgicos dos tipos alfa-1 (α1) e alfa-2 (α2). Eles são receptores dos ligantes endógenos adrenalina e noradrenalina e pertencem à grande família multigênica de receptores acoplados à proteína G. Há evidências que apontam que a desregulação complexa da função noradrenérgica nos sistemas neurotransmissores da noradrenalina e a sub-ativação da função serotonérgica estão presentes na depressão e nos transtornos de ansiedade (Ressler & Nemeroff, 2000). O potencial envolvimento da agmatina nos sistemas adrenérgicos e noradrenérgicos foi abordado por Li e colaboradores (1994) em um trabalho pioneiro, em cérebro bovino, ao revelar que a agmatina atua como ligante endógeno para os receptores α2-adrenérgicos e imidazolínicos, estimulando a liberação de catecolaminas pelas glândulas supra-renais.

Em relação aos mecanismos envolvidos nos efeitos antidepressivos da agmatina em receptores adrenérgicos, estudos pré-clínicos em camundongos demonstraram que o efeito antidepressivo da agmatina nos testes de suspensão pela cauda e nado forçado foi revertido pelos antagonistas α2-adrenérgicos ioimbina e idazoxan, indicando a participação da neurotransmissão α2-adrenérgica na sua ação farmacológica (Jiang *et al*., 2008). Tal qual, Chen *et al*. (2018) analisaram os papéis do receptor imidazolínico I1 (I1R) e do receptor adrenérgico α2A (α2AR), em modelos agudos e subagudos de depressão em camundongos, nos efeitos antidepressivos da agmatina. Os autores observaram que nos testes de suspensão pela cauda e nado forçado esses efeitos foram mediados pela ativação do I1R, enquanto que no teste subagudo de desamparo aprendido (do inglês, "*learned helplessness test*"), eles dependem da ativação conjunta do I1R e do α2AR.

Logo, no contexto da ação antidepressiva da agmatina, os receptores adrenérgicos α2, especialmente o subtipo α2A (*ADRA2A*), destacaram-se como os mais associados a esse efeito. Entretanto, ainda há escassez de informações acerca da participação dos demais receptores adrenérgicos identificados nas Tabelas 2, 3, 4 e 5 nesse contexto.

5.2.3.3 Receptores muscarínicos

Os genes *CHRM2*, *CHRM4*, *CHRM4* e *CHRM5* são codificantes dos receptores colinérgicos muscarínicos dos subtipos 2 a 5, responsáveis por mediar uma variedade de

efeitos fisiológicos e modulam diferentes vias de sinalização, além de apresentarem distribuição diferenciada entre os tecidos e tipos de células (Felder, 1995). Esses receptores também fazem parte da família de receptores acoplados à proteína G e possuem com ligante endógeno a acetilcolina. Os receptores muscarínicos possuem um papel fundamental no sistema nervoso autônomo, bem como na regulação de funções essenciais do sistema nervoso central, incluindo aquelas envolvidas na cognição, funções motoras e sensoriais (Halpert *et al*., 2020). Muitos distúrbios nas funções dos receptores muscarínicos têm sido associados a doenças neuropsiquiátricas como doença de Alzheimer, esquizofrenia e depressão (Johnson *et al*., 2022).

Não há indícios na literatura da interação da agmatina com os receptores muscarínicos na perspectiva de transtornos psiquiátricos, todavia, existem diversas evidências pautando a influência desses receptores no sistema nervoso central. O estudo de Auerbach e Segal (1996) demonstrou que diferentes subtipos de receptores muscarínicos, principalmente M2 e M3, exerceram efeitos distintos e dependentes da concentração do agonista muscarínico carbacol sobre a plasticidade sináptica hipocampal. Já Gibbons e colaboradores (2004), utilizando radioligantes seletivos para os receptores muscarínicos M1, M2, M3 e M4 em cérebros post-mortem de indivíduos com transtorno bipolar, TDM e controles, sugeriram o envolvimento do receptor M2 na fisiopatologia do transtorno bipolar e do TDM.

É importante mencionar que as variações no gene *CHRM2*, que codifica o receptor muscarínico M2, podem estar relacionadas a uma maior frequência e gravidade da depressão. Devido a associação dos neurônios colinérgicos à depressão e aos distúrbios de sono REM (do inglês, "*Rapid Eye Movement*") na depressão, o trabalho de Comings *et al*. (2002) explorou polimorfismos no gene *CHRM2* e verificou uma influência sexo-específica desse gene na depressão maior em mulheres. Já Wang *et al*. (2004) avaliaram se variações genéticas no gene *CHRM2* também seriam um fator de risco para as características clínicas correlacionadas ao alcoolismo e a depressão, apontando que variantes dentro ou próximas ao locus *CHRM2* podem contribuir simultaneamente para a vulnerabilidade à esses dois tipos de transtornos.

Em vista disso, a ampla distribuição dos receptores colinérgicos muscarínicos, particularmente aqueles alocados no sistema nervoso central, projetam possibilidades para futuras abordagens farmacológicas no tratamento da depressão, especialmente por meio da modulação desses receptores, com ênfase no gene *CHRM2*.

4.2.3.4 Receptores dopaminérgicos

Alguns dos genes que codificam receptores do sistema de neurotransmissão dopaminérgica, *DRD2*, *DRD3* e *DRD5* aparecem destacados tanto para humanos quanto ratos. O ligante endógeno desses receptores é a dopamina e eles se dividem em duas subfamílias: os subtipos de receptores do tipo D1 (D1 e D5) são acoplados à proteína Gs, que ativam a adenilato ciclase, enquanto que os tipos D2 (D2, D3 e D4) são acoplados às proteínas Gi, inibindo a adenilato ciclase (Dailly *et al*., 2004). Os subtipos mais abundantes no sistema nervoso central são os receptores de dopamina D1 e D2, sendo o D1 o mais difundido.

O sistema dopaminérgico é único entre os sistemas moduladores do cérebro em razão de suas projeções específicas para regiões cerebrais envolvidas no comportamento motor, na cognição e nas emoções (Grace, 2016). Uma vasta gama de estudos sugerem que distúrbios nesses sistemas reguladores podem estar na origem da fisiopatologia de vários transtornos psiquiátricos como depressão e transtornos de ansiedade, sendo parte desses agentes perturbadores o estresse (Valenti *et al*., 2011; Valenti *et al*., 2012; Belujon & Grace, 2015). Ainda, vale ressaltar que polimorfismos no gene *DRD2* têm sido identificados como fatores de predisposição para o TDM (He *et al*., 2019).

Muitos dos sintomas observados na depressão, tal qual a anedonia e a desmotivação, têm sido associados de forma mais consistente a disfunções no sistema da dopamina (Wise, 2004; Wise, 2008; Eshel *et al*., 2016; Pandit *et al*., 2016). A associação da agmatina com a dopamina no panorama de transtornos psiquiátricos foi relatada no trabalho de Freitas e colaboradores (2016), os quais evidenciaram que a administração de agmatina por 21 dias foi capaz de elevar os níveis de serotonina e dopamina no hipocampo de camundongos, sugerindo que a agmatina possa modular o sistema serotoninérgico assim como o sistema dopaminérgico. Isso demonstra o forte potencial da agmatina para servir como adjuvante ou monoterapia no tratamento da depressão.

Em conjunto, as evidências sugerem que a agmatina pode modular receptores dopaminérgicos, contribuindo para seus efeitos antidepressivos e para a regulação de disfunções relacionadas ao sistema dopaminérgico. Entretanto, os mecanismos envolvidos nessa modulação permanecem pouco compreendidos, exigindo investigações futuras para esclarecer outras possíveis interações.

4.2.3.5 Demais alvos farmacológicos

Alguns alvos dos alvos acentuados nas redes são menos recorrentes nas Tabelas 2, 3, 4 e 5, repetem-se menos entre as tabelas e restringem-se a uma ou duas delas. Mesmo assim, eles também podem ser relevantes dentro do contexto das vias e mecanismos de ação da agmatina na depressão, ansiedade e suicídio. Um exemplo disso é a relação da agmatina com as enzimas óxido nítrico sintase (do inglês, "*nitric oxide synthase*" ou NOS) NOS-1 (*neuronal* NOS ou nNOS), NOS-2 (*inducible* NOS ou iNOS) e NOS-3 (*endothelial* NOS ou eNOS), cujas isoformas são codificadas pelos genes *NOS1, NOS2* e *NOS3*. O óxido nítrico (NO) é gerado por ação dessas enzimas a partir da L-arginina, e a agmatina (arginina descarboxilada) regula a produção desse NO e de outros metabólitos da L-arginina, além de modular funções comportamentais e possuir efeitos anti-inflamatórios e neuroprotetores (Rushaidhi *et al*., 2012).

Existem evidências moleculares de que a agmatina é capaz de inibir a enzima iNOS, a isoforma inflamatória da NOS (Blantz *et al*., 2000), assim como inibir a produção de óxido nítrico ao diminuir a atividade enzimática da iNOS em macrófagos e células astrogliais, reduzindo os níveis de expressão dessa enzima (Regunathan & Piletz, 2003). Estudos pré-clínicos de Ostadhadi e colaboradores (2018) demonstraram que um pré-tratamento com uma sub-dose de agmatina aumentou o efeito antidepressivo da sub-dose de lítio em camundongos, sugerindo que agmatina potencializa os efeitos tipo antidepressivo do lítio e que a via do NO pode mediar esse fenômeno. Adicionalmente, Ozkartal *et al*. (2019) investigaram os efeitos da administração crônica de medicamentos moduladores da via do óxido nítrico (NO) sobre as respostas neuroinflamatórias mediadas por NLRP1/3 (do inglês "*NLR Family Pyrin Domain Containing 3*") e comportamentos de tipo depressivo, utilizando um modelo de estresse crônico leve imprevisível. Os autores mostraram que os comportamentos tipo-depressivo nos animais foram atenuados pelos tratamentos crônicos com agmatina e inibidores da NOS. Logo, estratégias farmacológicas que modulam a via do NO podem oferecer novas estratégias terapêuticas para a depressão.

Outros alvos enzimáticos são as enzimas monoamina oxidase A e B (codificadas pelos genes *MAOA* e *MAOB*, respectivamente), cuja ação em processos epigenéticos, como a metilação do DNA nos transtornos mentais, tem sido bastante investigado em razão do seu papel central no metabolismo das monoaminas e como alvos farmacológicos de potentes medicamentos antidepressivos (Ziegler & Domschke, 2018). Ademais, considerando o papel central das monoamina oxidases (MAOs) na regulação de monoaminas associadas à

depressão e à doença de Parkinson, estudos recentes têm investigado novos inibidores dessa enzima como potenciais agentes terapêuticos (Hitge *et al*., 2022).

Em suma, tanto receptores, especialmente receptores acoplados à proteína G (GPCRs), quanto alvos enzimáticos e outras categorias de alvos farmacológicos foram destacados nas Tabelas 2, 3, 4 e 5 referentes às redes de interações proteicas para humanos e ratos. Na Tabela 3, há uma concentração de alvos que codificam as subunidades do tipo alfa, beta e gama dos GPCRs, exibindo a quantidade de receptores dentro dessa família participando da arquitetura da rede proteica em humanos. Já na Tabela 4, alguns dos alvos mais relevantes codificam as subunidades alfa (2, 3 e 4) e beta (3 e 4) de receptores nicotínicos colinérgicos (*CHRNA2, CHRNA3,CHRNA4, CHRNB3* e *CHRNB4*), classificados como ionotrópicos por serem canais iônicos controlados por ligantes.

Desse modo, a partir das redes biológicas e das métricas apresentadas nas tabelas, é possível obter uma visão geral dos potenciais alvos mais relevantes da agmatina associados à depressão, ansiedade e ao suicídio em diferentes organismos (humanos e ratos). Contudo, para tornar a metodologia bioinformática deste trabalho mais robusta e translacional, esses achados ainda demandam maior refinamento e abordagens analíticas complementares. Nesse sentido, os próximos passos incluem análises de enriquecimento funcional para identificar as vias bioquímicas e os mecanismos biológicos nos quais os alvos dessas redes estão envolvidos, bem como a correlação desses alvos com fármacos por meio de bancos de dados especializados em interações gene-fármaco.

4.3 Análises de enriquecimento de ontologia genética e vias bioquímicas

Após a obtenção dos alvos proteicos nas redes de interações biológicas construídas no GeneMANIA e no STRING, foram realizadas análises de enriquecimento de ontologia genética (GO) no ShinyGO para verificação de parâmetros funcionais como processos biológicos (BP), composição/localização celular (CC), funções moleculares (MF) e vias bioquímicas (de acordo com a KEGG ou Reactome) os quais esses alvos fazem parte no organismo, seja em humanos ou em ratos.

Enfatizou-se as quatro principais categorias mais enriquecidas para cada parâmetro funcional, com base nos valores de -log10(FDR) e *fold enrichment*, em consonância com o item 4.5 da Metodologia. Os gráficos relativos às análises dos alvos em humanos estão representados nas Figura 7 e 8, enquanto que as análises dos alvos em ratos estão representados nas Figuras 9 e 10. Essas análises permitiram avaliar se os resultados obtidos

nas redes possuem relevância biológica compatível com a literatura científica e com as anotações funcionais disponíveis em diferentes bancos de dados biológicos.

4.3.1 Humanos (Homo sapiens)

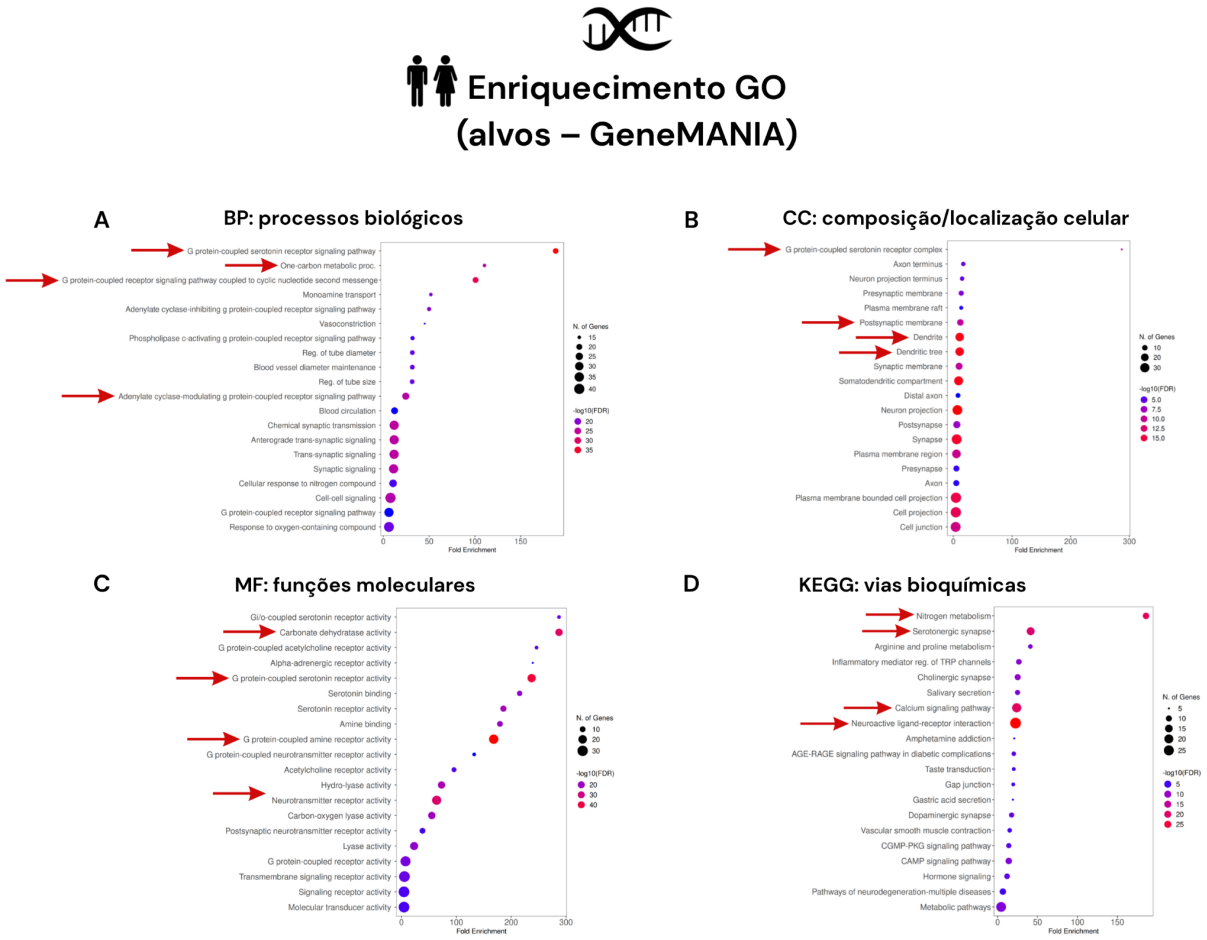
Na rede de interações proteicas obtidas no GeneMANIA para humanos, os quatro principais processos biológicos enriquecidos (Figura 7A) são: vias de sinalização dos receptores de serotonina acoplados à proteína G, metabolismo de um carbono, vias de sinalização dos receptores acoplados à proteína G associadas ao segundo mensageiro nucleotídeo cíclico e vias de sinalização dos receptores acoplados à proteína G que modulam adenilato ciclase.

Referente a composição/localização celular (Figura 7B) desses alvos, estão: complexo do receptor de serotonina acoplado à proteína G, membrana pós-sináptica, dendritos e árvore dendrítica.

A respeito das funções moleculares enriquecidas (Figura 7C), destacam-se: atividade da carbonato desidratase, atividade dos receptores de serotonina acoplados à proteína G, atividade dos receptores de aminas acoplados à proteína G e atividade dos receptores de neurotransmissores.

Em último lugar, as vias bioquímicas mais enriquecidas de acordo com a KEGG (Figura 7D) foram: metabolismo do nitrogênio, sinapses serotoninérgicas, vias de sinalização do cálcio e interações ligante-receptor neuroativo.

Figura 7 – Análises de enriquecimento funcional (ontologia genética) e vias bioquímicas dos alvos moleculares obtidos do GeneMANIA em humanos



Legenda: Gráficos de enriquecimento funcional gerados no ShinyGO a partir dos alvos da rede de interação proteica construída no GeneMANIA para humanos. (A) Processos biológicos associados aos alvos; (B) Composição/localização celular dos alvos; (C) Funções moleculares desempenhadas pelos alvos; e (D) Vias bioquímicas enriquecidas segundo a base de dados KEGG.
Fonte: elaborado pela autora

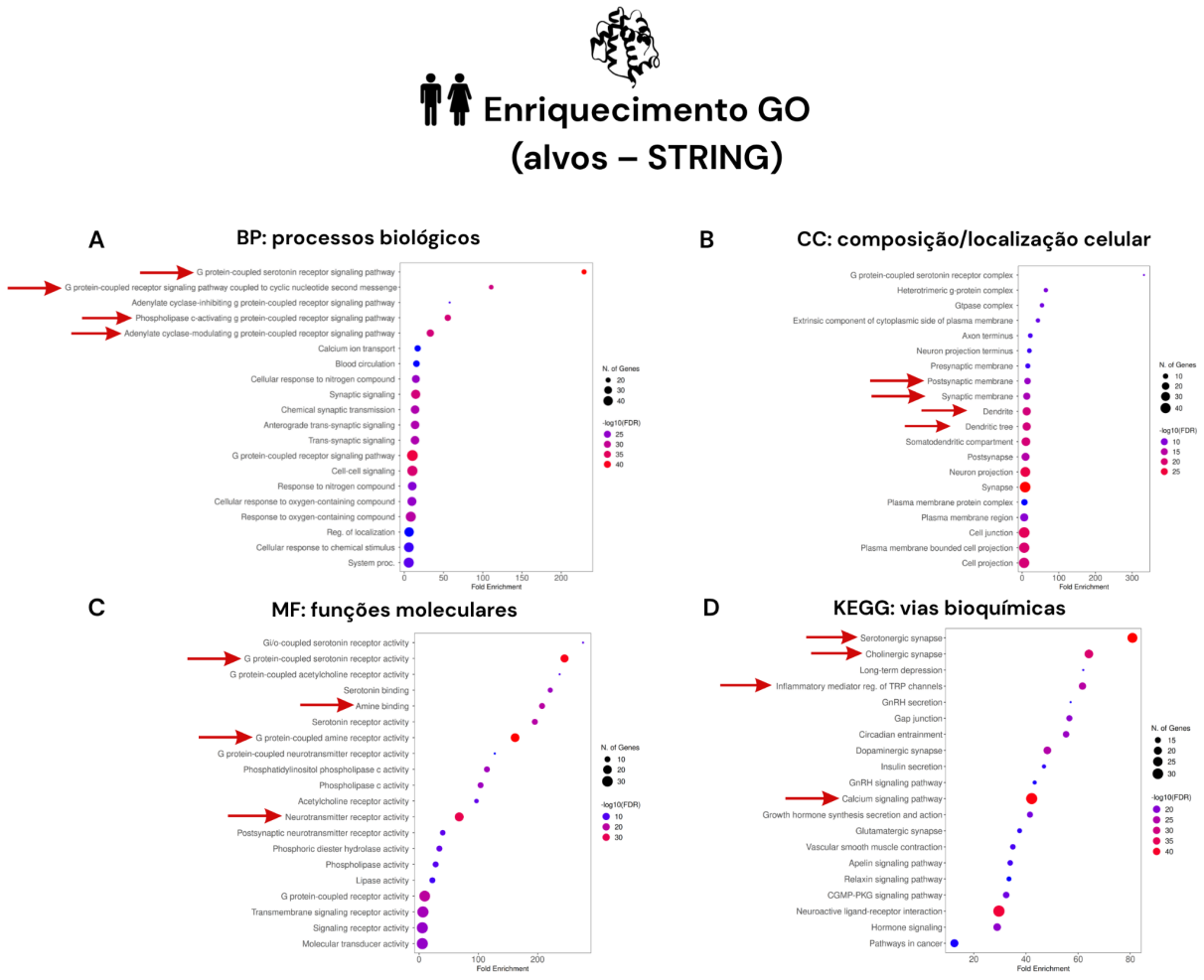
Na rede de interações proteína-proteína em humanos, dentre os quatro principais processos biológicos enriquecidos (Figura 8A), estão: vias de sinalização dos receptores de serotonina acoplados à proteína G, vias de sinalização dos receptores acoplados à proteína G associadas ao segundo mensageiro nucleotídeo cíclico, vias de sinalização dos receptores acoplados à proteína G ativados pela fosfolipase C e vias de sinalização dos receptores acoplados à proteína G que modulam adenilato ciclase.

Em composição/localização celular (Figura 8B), configuram-se: membrana pós-sináptica, membrana sináptica, dendritos e árvore dendrítica.

Para as funções moleculares (Figura 8C), as mais enriquecidas são: atividade dos receptores de serotonina acoplados à proteína G, ligação de aminas, atividade dos receptores de aminas acoplados à proteína G e atividade dos receptores de neurotransmissores.

Finalmente, as vias bioquímicas mais enriquecidas de acordo com a KEGG (Figura 8D) foram: sinapses serotoninérgicas, sinapses colinérgicas, regulação dos canais TRP por mediadores inflamatórios e vias de sinalização do cálcio.

Figura 8 – Análises de enriquecimento funcional (ontologia genética) e vias bioquímicas dos alvos moleculares obtidos do STRING em humanos



Legenda: Gráficos de enriquecimento funcional gerados no ShinyGO a partir dos alvos da rede de interação proteica construída no STRING para humanos. (A) Processos biológicos associados aos alvos; (B) Composição/localização celular dos alvos; (C) Funções moleculares desempenhadas pelos alvos; e (D) Vias bioquímicas enriquecidas segundo a base de dados KEGG.
Fonte: elaborado pela autora

Em conjunto, as vias e funções biológicas encontradas para os alvos das redes proteicas em humanos reforçam a importância de determinados alvos na rede, como os receptores acoplados à proteína G, as subunidades associadas aos complexos da proteína G (alfa, beta e gama) e as cascatas de sinalização mediadas por elas. Os aspectos relacionados as células neuronais, como a membrana sináptica, dendritos e árvores dendríticas indicam os locais em que grande parte desses alvos está exercendo seu papel biológico, facilitando o entendimento dos alvos relacionados aos efeitos antidepressivos da agmatina nas condições da depressão, ansiedade e suicídio.

4.3.2 Ratos (Rattus norvegicus)

A título de comparação entre espécies, as análises de enriquecimento funcional das redes de interações biológicas em ratos foram realizadas separadamente das em humanos, a fim de verificar as semelhanças e divergências que podem estar correlacionadas com particularidades espécie-específicas.

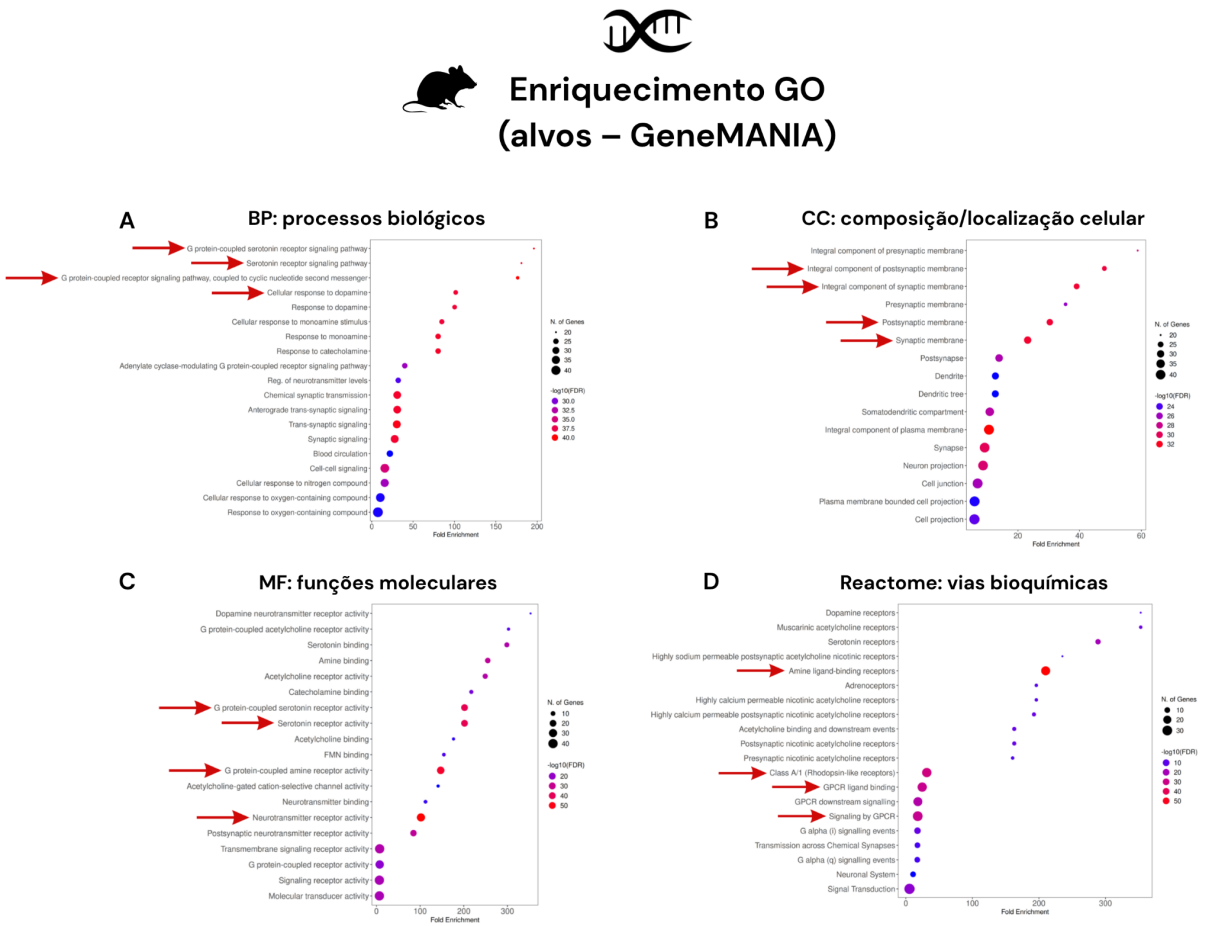
Na rede de interações proteicas obtidas no GeneMANIA para ratos, os quatro processos biológicos (Figura 9A) mais proeminentes foram: vias de sinalização dos receptores de serotonina acoplados à proteína G, vias de sinalização dos receptores de serotonina, vias de sinalização dos receptores acoplados à proteína G acopladas ao segundo mensageiro nucleotídeo cíclico e respostas celulares à dopamina.

No tocante a composição/localização celular (Figura 9B) em destaque, estão: componente integral da membrana pós-sináptica, componente integral da membrana sináptica, membrana pós-sináptica e membrana sináptica.

Dentre as funções moleculares mais enriquecidas (Figura 9C), estão: atividade dos receptores de serotonina acoplados à proteína G, atividade dos receptores de serotonina, atividade dos receptores de aminas acoplados à proteína G e atividade dos receptores de neurotransmissores.

Já as quatro vias bioquímicas mais enriquecidas de acordo com o Reactome (Figura 9D) foram: receptores de ligação a ligantes de amina, classe A/1 (receptores do tipo rodopsina), ligação GPCR-ligante e transdução de sinais por GPCRs.

Figura 9 – Análises de enriquecimento funcional (ontologia genética) e vias bioquímicas dos alvos moleculares obtidos do GeneMANIA em ratos



Legenda: Gráficos de enriquecimento funcional gerados no ShinyGO a partir dos alvos da rede de interação proteica construída no GeneMANIA para ratos. (A) Processos biológicos associados aos alvos; (B) Composição/localização celular dos alvos; (C) Funções moleculares desempenhadas pelos alvos; e (D) Vias bioquímicas enriquecidas segundo o banco de dados Reactome.
Fonte: elaborado pela autora

Na rede de interações proteína-proteína obtida no STRING para ratos, os quatro processos biológicos mais enriquecidos (Figura 10A) são: vias de sinalização dos receptores de serotonina, regulação de níveis de neurotransmissores, transmissão sináptica química e sinalização transsináptica anterógrada.

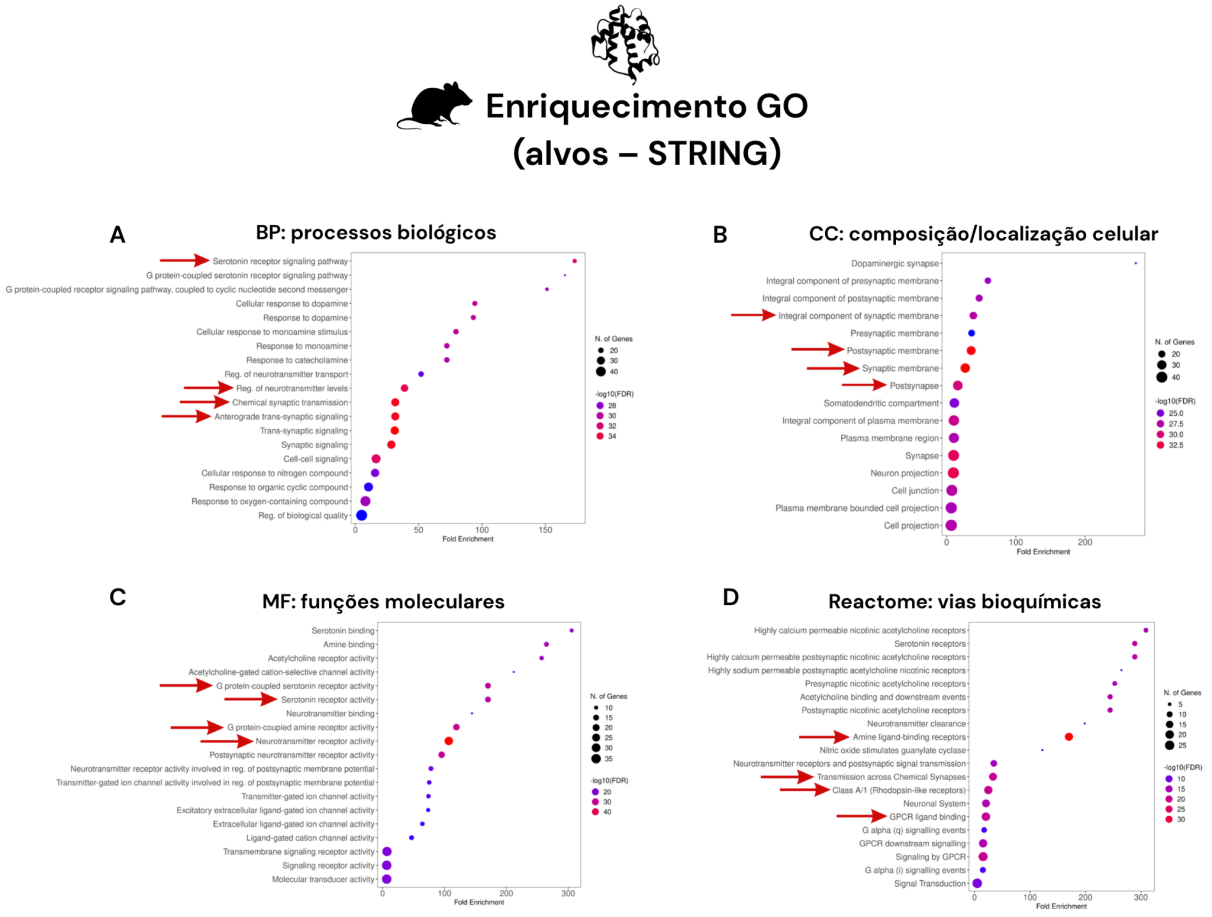
Para composição/localização celular (Figura 10B), estão: componente integral da membrana sináptica, membrana pós-sináptica, membrana sináptica e pós-sinapse.

Em funções moleculares (Figura 10C), as quatro mais enriquecidas são: atividade dos receptores de serotonina acoplados à proteína G, atividades dos receptores de serotonina, atividade dos receptores de aminas acoplados à proteína G e atividade dos receptores de neurotransmissores.

Por fim, as quatro vias bioquímicas mais enriquecidas de acordo com o Reactome (Figura 10D) foram: receptores de ligação a ligantes de amina, transmissão através das sinapses químicas, classe A/1 (receptores do tipo rodopsina) e transdução de sinais por GPCRs.

Os resultados das análises de enriquecimento GO e vias bioquímicas em ratos é bem similar àqueles encontrados para humanos, apontando que os alvos provenientes das redes de ambas as espécies participam das mesmas vias e mecanismos biológicos. Esses padrões são justificados pelas similaridades genéticas e metabólicas desses organismos, cujos diversos estudos pré-clínicos têm explorado há muito tempo.

Figura 10 – Análises de enriquecimento funcional (ontologia genética) e vias bioquímicas dos alvos moleculares obtidos do STRING em ratos



Legenda: Gráficos de enriquecimento funcional gerados no ShinyGO a partir dos alvos da rede de interação proteica construída no STRING para ratos. (A) Processos biológicos associados aos alvos; (B) Composição/localização celular dos alvos; (C) Funções moleculares desempenhadas pelos alvos; e (D) Vias bioquímicas enriquecidas segundo o banco de dados Reactome.
Fonte: elaborado pela autora

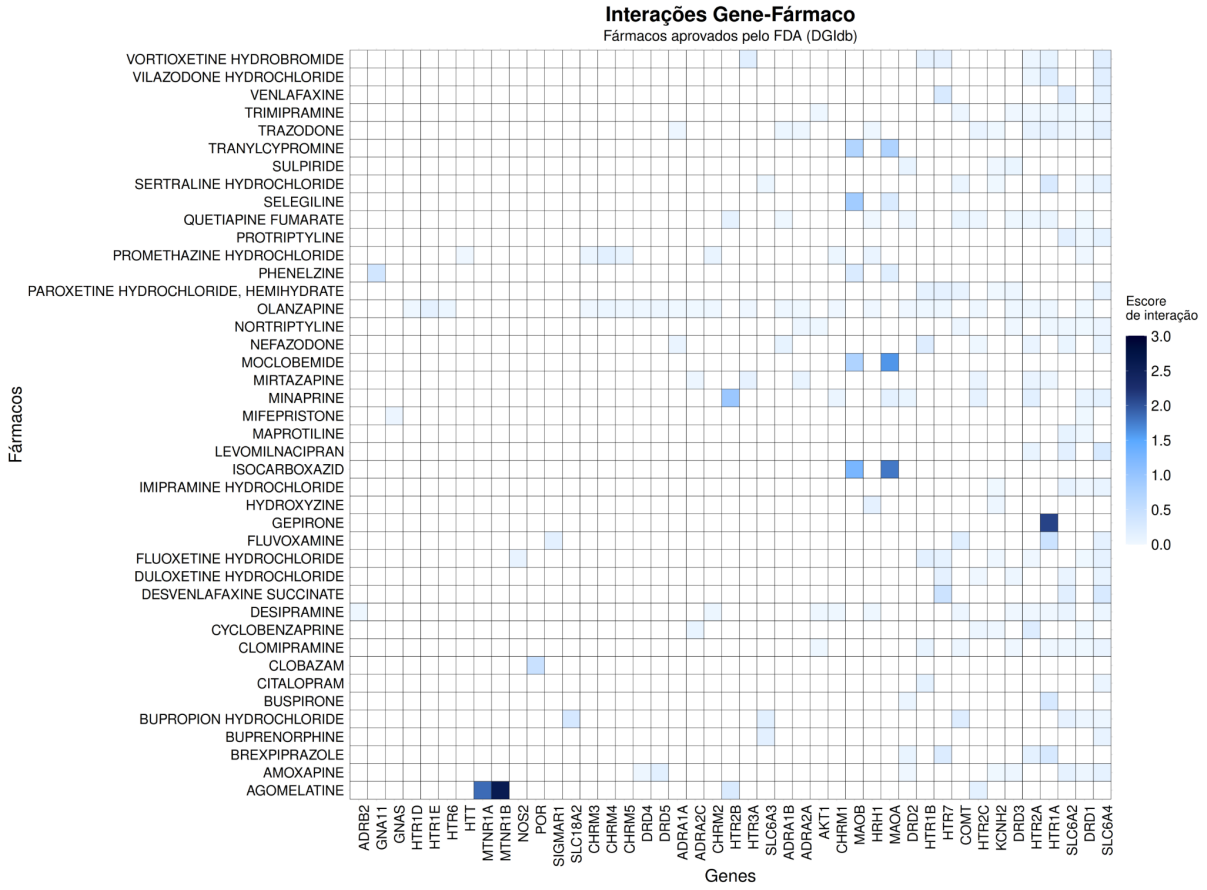
4.4 Identificação de interações gene-fármaco

Com intuito de selecionar de forma mais aprimorada os alvos mais significativos das redes de interações biológicas, após a identificação de suas anotações funcionais e vias bioquímicas, eles foram submetidos a mais um procedimento de filtragem de dados pelo software RStudio, baseados nas informações do DGIdb, segundo a descrição no tópico 4.6 da Metodologia. Nessa etapa, todos os alvos das 4 redes biológicas foram analisados de forma conjunta, sem discriminação de espécie.

O DGIdb retornou uma tabela com 4360 interações gene-fármaco a partir dos alvos da lista de entrada e, em seguida, executou-se a filtragem das linhas "*NA*" (não aplicável ou não disponível) em relação às indicações de prescrição do fármaco e dos termos associados à antidepressivos ("antidepressive agents" e "antidepressant") e ansiolíticos ("anxiolytics", "anxiolytic" e "anti-anxiety agents"). A tabela filtrada, englobando 249 interações gene-fármaco, passou por mais uma filtragem com objetivo de selecionar somente as drogas aprovadas pelo FDA para dar continuidade às análises. Das 249 interações gene-fármaco, 217 foram entre genes e fármacos aprovados pelo FDA e 32 foram interações entre genes e fármacos não-aprovados. Logo, as 217 interações gene-fármaco foram usadas na construção do *heatmap* (Figura 11) e do gráfico de barras (Figura 12) para a interpretação visual dos resultados.

É importante salientar que as interações gene-fármaco, observadas na malha do gráfico da Figura 11, referem-se a evidências científicas e experimentais contidas na literatura científica e em bases de dados que sustentem a veracidade dessas interações. O escore varia de 0 a 3 e interpreta-se que quanto mais escura a cor do quadrado na malha, maior o escore de interação gene-fármaco. Assim, elas não devem ser interpretadas como interações que medem afinidade molecular/química.

Figura 11 – *Heatmap* representando interações entre o genes-alvo com fármacos aprovados pelo FDA conforme a base de dados DGIdb



Legenda: Interações entre os genes-alvo presentes nas redes biológicas de humanos e ratos (eixo x) com fármacos aprovados pelo FDA (*Food and Drug Administration*) presentes no banco de dados DGIdb (eixo y). À esquerda, a barra vertical indicando os valores dos escores de interação.
Fonte: elaborado pela autora

Na Figura 11 é possível perceber que à medida que o eixo x (relativo aos genes) desloca-se para a direita, a quantidade de quadrados coloridos em azul presentes na malha aumenta no eixo y (relativo aos fármacos), indicando que mais fármacos têm interações documentadas com um mesmo gene. Isso sugere que esses genes codificam alvos farmacológicos que podem ser mais frequentemente estudados e/ou mais amplamente explorados na clínica no contexto da depressão e da ansiedade (evitando complicações mais graves que desencadeiem no suicídio), embora todos estejam inclusos na categoria de antidepressivos ou ansiolíticos aprovados pelo FDA. Interações *off-target*, isto é, entre fármacos e alvos biológicos secundários ou não planejados, também podem explicar a grande quantidade de fármacos interagindo com um determinado gene.

Outra maneira de visualização é observar com quantos genes diferentes cada fármaco está interagindo, já que muitos deles agem sobre genes específicos com maior seletividade em comparação com outros, que abarcam mais genes de uma maneira polifarmacológica. Um fármaco que interage com um gene específico, além da maior seletividade, pode estar associado a poucos indícios de investigação farmacológica ou protocolos experimentais que sustentem as evidências de interação desse fármaco com outros alvos. Vale ressaltar que fatores estruturais e químicos como drogabilidade e especificidade do sítio de ligação não podem ser considerados nesse gráfico, pois são atributos intrínsecos à estrutura e natureza química dos alvos.

Observando o *heatmap*, as interações gene-fármaco com maior escore compreendem: os genes *MTNR1A* e *MTNR1B*, que codificam os receptores melatoninérgicos do tipo 1A (MT1) e 1B (MT2), respectivamente, e o fármaco agomelatina; o gene *HTR2B*, codificante do receptor de serotonina 2B, e o fármaco minaprina; o gene *MAOB*, codificador da enzima monoamina oxidase B, e os fármacos isocarboxazida, moclobemida, selegilina e tranilcipromina; o gene *MAOA*, que codifica a enzima monoamina oxidase A, e os fármacos isocarboxazida, moclobemida e tranilcipromina; por fim, o gene *HTR1A*, codificante do receptor de serotonina 1A, e o fármaco gepirona. Esses genes, fármacos associados e seus respectivos valores do escore de interação estão mostrados na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores de escore de interação gene-fármaco mais acentuados dentre os fármacos aprovados pelo FDA

(continua)

Genes	Fármacos	Escore de interação
MTNR1B	agomelatina	2.6101
HTR1A	gepirona	2.1163
MTNR1A	agomelatina	1.8644
MAOA	isocarboxazida	1.7847
MAOA	moclobemida	1.6062
MAOB	isocarboxazida	1.2732
HTR2B	minaprina	0.9667
MAOB	selegilina	0.8912

Tabela 6 – Valores de escore de interação gene-fármaco mais acentuados dentre os fármacos aprovados pelo FDA

(conclusão)

Genes	Fármacos	Escore de interação
MAOA	tranilcipromina	0.7648
MAOB	moclobemida	0.7639
MAOB	tranilcipromina	0.7275

Fonte: elaborado pela autora

A agomelatina é um fármaco sintético que atua como agonista potente dos receptores de melatonina MT1 e MT2 (Yous *et al*., 1992; Ying *et al*., 1996; Conway *et al*., 2000), que fazem parte da família dos receptores acoplados à proteína G. A agomelatina também age como antagonista de receptores de serotonina 2C (5-HT2C) (Millan *et al*, 2003), sendo sua afinidade com os receptores melatoninérgicos comparável a da melatonina, ligante endógeno dos receptores MT1 e MT2 (Comai & Gobbi, 2024). A estimulação dos receptores MT1 e MT2, principalmente expressos no sistema nervoso central, promovem um efeito regulador sobre ritmos circadianos alterados e ciclos de sono-vigília perturbados (Liu *et al*., 2016), ao passo que o antagonismo da agomelatina ao receptor 5-HT2C está associado à uma ação antidepressiva e ansiolítica, também capaz de aumentar o sono de ondas lentas (anormalmente reduzido na depressão) (Landolt & Wehrle, 2009).

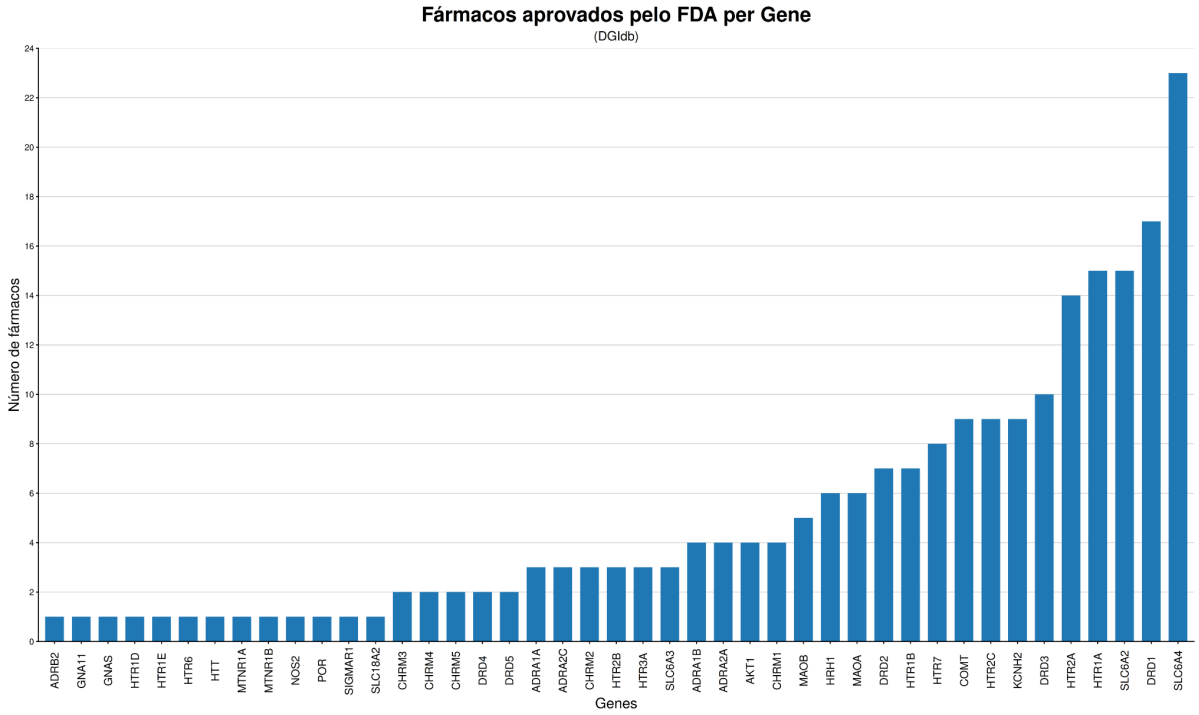
A gepirona é um fármaco agonista de receptores serotoninérgicos 1 A (5-HT1A) que produz um aumento gradual na atividade de serotonina nos neurônios do núcleo dorsal da rafe e tem sido estudada no tratamento da ansiedade e transtornos depressivos (Blier & de Montigny, 1987; Robinson *et al*., 2003). Silva & Brandão (2000) investigaram comportamento de ratos no teste labirinto em cruz elevado (com paredes transparentes) após tratamentos agudos e crônicos com gepirona e fluoxetina. Neste estudo a gepirona exibiu efeitos ansiolíticos após tratamento crônico, corroborando seu potencial uso clínico em transtornos de ansiedade. Outros estudos apontam que a gepirona, comparada com inibidores seletivos de recaptação de serotonina, mostra-se mais eficaz devido ao período de latência na promoção dos efeitos antidepressivos e outros efeitos colaterais, como náuseas e disfunção sexual (Kaur *et al*, 2019; Gałka *et al*., 2025).

A minaprina é um fármaco psicotrópico cujo efeito terapêutico está relacionado a redução dos sintomas da "síndrome inibitória", caracterizada por manifestações como redução de impulsos básicos, sensação de cansaço e isolamento social. Além disso, seu potencial efeito antidepressivo, evidenciado em ensaios pré-clínicos, despertou interesse, levando a ampla investigação da minaprina em modelos animais de depressão (Bizière *et al*., 1982). Segundo Bohacek e colaboradores (1987), a eficácia da minaprina na maioria dos modelos animais de depressão envolve a ação de potencializar a transmissão serotoninérgica e dopaminérgica. Em estudos com pacientes acometidos por depressão moderada a severa, a atividade antidepressiva e efeitos adversos da minaprina e da imipramina foram comparadas, sendo que a minaprina apresentou eficácia clínica semelhante à da imipramina no tratamento da depressão e um perfil de tolerabilidade favorável (Montgomery *et al*., 1991). Apesar disso, a minaprina é um fármaco pouco estudado recentemente, com a maioria dos trabalhos com foco nesse fármaco concentrada antes dos anos 2000.

Referente a classe dos antidepressivos que agem como inibidores de monoamina oxidase (IMAOs), estão a isocarboxazida, moclobemida, selegilina e tranilcipromina. A isocarboxazida e tranilciclopromina inibem as monoamina oxidases (*MAOA* e *MAOB*) de forma não seletiva e irreversível, resultando na redução da degradação dos neurotransmissores serotonina, norepinefrina e dopamina (Van den Eynde *et al*., 2023). Sobre os efeitos antidepressivos desses fármacos, Thase e colaboradores (1995) revisaram estudos relativos à eficácia dos IMAOs aprovados pelo FDA no tratamento da depressão, incluindo isocarboxazida e tranilcipromina, em comparação com placebo e antidepressivos tricíclicos. Os resultados demonstraram que ambos os fármacos tiveram eficácia antidepressiva em pacientes ambulatoriais, com destaque para a tranilcipromina em quadros depressivos com características atípicas e em pacientes não responsivos aos antidepressivos tricíclicos.

No tocante a selegilina, ela também é caracterizada como inibidor irreversível de monoamina oxidase (tipo B), mas em doses mais altas ela atua como inibidor não-seletivo da atividade tanto da monoamina oxidase A quanto B, sendo amplamente prescrita para a depressão grave e atípica (Ishikawa *et al*., 2019). Já a moclobemida, o primeiro medicamento de uma nova geração de inibidores reversíveis da enzima monoamina-oxidase A, apresentou maior tolerabilidade de uso em comparação com a tranilcipromina em estudos realizados em pacientes depressivos (Heinze *et al*., 1993). O trabalho de Lonnqvist e colaboradores (1994) também sugeriu que pacientes que sofrem de depressão atípica podem responder mais favoravelmente ao tratamento com moclobemida do que ao tratamento com fluoxetina.

Figura 12 – Gráfico de barras representando o número de fármacos aprovados pelo FDA identificados no DGIdb que interagem com cada gene-alvo



Legenda: Número de fármacos aprovados pelo FDA identificados no banco de dados DGIdb que interagem com cada gene-alvo. No eixo x, estão representados nos genes; e no eixo y, a quantidade de fármacos associados a cada gene.
Fonte: elaborado pela autora

Na Figura 12, está explicitada a relação do número de fármacos aprovados pelo FDA por cada gene-alvo, facilitando a visualização da quantidade de fármacos que interagem com cada gene. Verifica-se que, conforme o eixo x do gráfico de barras (representando os genes) desloca-se para direita, o número de fármacos que interagem com esses genes aumenta (eixo y). Logo, a mesma proporção pode ser identificada tanto no *heatmap* quanto no gráfico de barras, porém, o *heatmap* enfatiza os escores de interação gene-fármaco e o gráfico de barras a quantidade de fármacos interagindo com cada gene.

Alguns dos genes mais relevantes no gráfico de barras em relação ao número de fármacos associados são os receptores serotoninérgicos 1A (*HTR1A*) e 2A (*HTR2A*); os receptores dopaminérgicos D3 (*DRD3*) e D1 (*DRD1*) e os transportadores de norepinefrina/noradrenalina (NET) e serotonina (SERT) codificados pelos genes *SLC6A2* e *SLC6A4*, respectivamente. Os receptores serotoninérgicos, dopaminérgicos e transportadores de serotonina são alvos clássicos de antidepressivos e de alguns ansiolíticos, como por exemplo a buspirona, agonista parcial dos receptores de serotonina 1A (Kim *et al*., 2021). Os

transportadores de noradrenalina também são alvos de antidepressivos (Shelton, 2019) e estão associados ao transtorno de ansiedade generalizada (Chang *et al*., 2020).

No geral, as análises do *heatmap* e do gráfico de barras permitem entender quais fármacos possuem evidências de interação bem documentadas na literatura com os genes-alvo encontrados nas redes biológicas construídas através do GeneMANIA e STRING. Além disso, é possível identificar correspondências entre os efeitos antidepressivos da agmatina com os mecanismos de ação desses fármacos, traçando um paralelo a respeito de quais vias de sinalização estão sendo moduladas em ambos contextos farmacológicos. Com base nisso, dentre os genes-alvo que interagem com fármacos aprovados pelo FDA, os genes que codificam proteínas da classe de receptores foram selecionados para seguir com os ensaios de *docking* molecular a fim de investigar afinidade química e interações moleculares entre esses alvos e a agmatina. A seleção desses alvos se dá pela maioria das proteínas identificadas nas redes pertencerem à essa classificação, sobretudo participarem da família de receptores acoplados à proteína G, cujas vias bioquímicas, processos biológicos e funções moleculares foram significativamente enriquecidas nas análises de enriquecimento de ontologia genética para humanos e ratos.

4.5 Docking molecular

Os 29 genes-alvo pertencentes a classe de receptores escolhidos para a etapa de docking molecular foram buscados na base de dados PDB, para obtenção de suas estruturas cristalográficas. Os receptores de NMDA também participaram dos ensaios de *docking* molecular devido ao gene *GRIN1*, que codifica a subunidade NR1 desses receptores, ser um dos alvos presentes nas redes de interações biológicas. Apesar do *GRIN1* não estar presente na tabela de interações entre genes e fármacos aprovados pelo FDA, ele codifica parte da estrutura de um alvo da agmatina bem consolidado na literatura científica. Logo, o receptor de NMDA (NMDAr) foi empregado como um dos controles positivos nas análises de afinidade proteína-ligante, já que a agmatina, como descrito anteriormente, age bloqueando esse receptor.

Os genes, os IDs do PDB das estruturas proteicas usadas nos ensaios de docking molecular, os IDs dos ligantes utilizados como controle positivo e os escores de afinidade, tanto dos controles positivos quanto da agmatina (molécula de interesse), estão apresentados na Tabela 7. Os nomes referentes aos IDs de cada ligante estão descritos no Apêndice B. Os valores de referência (*cut-off*) para a classificação de um escore de afinidade favorável dependem da metodologia bioinformática escolhida e de fatores externos como a escolha

das moléculas, suas condições (meio em que essas estruturas estariam inseridas e desempenhando suas funções), tal qual a fase de preparação dessas moléculas, que inclui desde os softwares empregados nas análises até estados de protonação, carga elétrica e campos de força de otimização molecular (Kitchen *et al*., 2004).

Geralmente, considera-se valores de afinidade (ou *docking scores*) relevantes aqueles mais negativos, estimando em kcal/mol a energia livre de ligação (ΔG) necessária para formação do complexo ligante-receptor. Desta forma, quanto mais negativo o valor de afinidade, maior a probabilidade da reação acontecer de forma espontânea. Entretanto, esses valores são relativos e não absolutos, pois não representam os valores de energia livre experimentais, sendo apenas aproximações computacionais que sugerem interações proteína-ligante potencialmente mais favoráveis e com maior estabilidade no organismo (Leach *et al*., 2006).

Tabela 7 – Predição de afinidade por *docking* molecular dos complexos proteína-ligante selecionados

(continua)

Genes	**ID PDB**	**Controles Positivos (ID ligante – sítio de ligação)**	**Controles Positivos (*docking score* – kcal/mol)**	**Agmatina (*docking score* – kcal/mol)**
NMDAR (*GRIN1*)	7EU7	JC9 (S-KET)	protonada = -8.325 neutra = -8.231	-8.074
NMDAR (*GRIN1*)	7EU7 (cadeia B)	GLU	-5.403	-7.666
NMDAR (*GRIN1*)	7EU7 (cadeia A)	GLY	-6.071	-7.394
ADRA1A	8THK (cadeia R)	CGZ	-8.582	-7.562
ADRA1B	7B6W (cadeia A)	T0B	-9.557	-7.716
ADRA2A	6K42 (cadeia R)	CZX	-8.768	-8.202
ADRA2C	6KUW (cadeia A)	E33	-9.429	-8.072
ADRB2	3NYA (cadeia A)	JTZ	-9.889	-8.209

Tabela 7 – Predição de afinidade por *docking* molecular dos complexos proteína-ligante selecionados

(continua)

Genes	ID PDB	Controles Positivos (ID ligante – sítio de ligação)	Controles Positivos (*docking score* – kcal/mol)	Agmatina (*docking score* – kcal/mol)
CHRM1	5CXV (cadeia A)	0HK	-9.120	-7.583
CHRM2	3UON (cadeia A)	QNB	-9.632	-8.175
CHRM3	8E9Z (cadeia A)	IXO	-9.248	-7.974
CHRM4	5DSG (cadeia A)	0HK	-8.475	-7.936
CHRM5	6OL9 (cadeia A)	0HK	-9.619	-7.945
DRD1	8JXR (cadeia A)	7LD	-9.508	-7.258
DRD2	6CM4 (cadeia A)	8NU	-10.853	-8.103
DRD3	7CMV (cadeia R)	G6O	-8.642	-7.766
DRD4	5WIV (cadeia A)	AQD	-10.438	-7.758
DRD5	8IRV (cadeia R)	R5F	-9.462	-7.972
HRH1	7DFL (cadeia R)	HSM	-7.821	-8.021
HTR1A	7E2Y (cadeia R)	SRO	-8.146	-7.759
HTR1B	4IAR (cadeia A)	ERM	-10.966	-7.868
HTR1D	7E32 (cadeia R)	SRO	-8.300	-7.651
HTR1E	8UGY (cadeia R)	WRU	-9.416	-7.372
HTR2A	6A94 (cadeia A)	ZOT	-9.480	-7.819

Tabela 7 – Predição de afinidade por *docking* molecular dos complexos proteína-ligante selecionados

(conclusão)

Genes	ID PDB	Controles Positivos (ID ligante – sítio de ligação)	Controles Positivos (*docking score* – kcal/mol)	Agmatina (*docking score* – kcal/mol)
HTR2B	4IB4 (cadeia A)	ERM	-9.905	-7.685
HTR2C	6BQH (cadeia A)	E2J	-10.340	-7.442
HTR3A	8BLA (cadeia A)	VTX	-10.529	-8.128
HTR6	7XTB (cadeia R)	SRO	-8.430	-7.736
HTR7	7XTC (cadeia R)	8K3	-8.247	-7.737
MTNR1A	6ME2 (cadeia A)	JEV	-9.908	-8.498
MTNR1B	6ME6 (cadeia A)	JEY	-10.232	-8.326
SIGMAR1	5HK1 (cadeia A)	61W	-10.121	-7.717

Fonte: elaborado pela autora

Na Tabela 7, nota-se que três diferentes sítios de ligação no NMDAr foram explorados nas análises de docking molecular, sendo o sítio JC9 referente ao da molécula de S(+) cetamina (enantiômero ativo da cetamina). Para fins de comparação foram utilizadas as formas protonada e neutra das moléculas de S(+) cetamina pois seu pKa é em torno de 7.5, tornando a razão entre a solubilidade lipídica e a solubilidade em água favorável à sua lipossolubilidade e rápida capacidade de atravessar a barreira hemato-encefálica (Mion & Villevieille, 2013; Xu & Lei, 2014; Potter & Choudhury, 2014). Em contrapartida, a molécula de agmatina se trata de um cátion bivalente em pH fisiológico, dificultando sua passagem por difusão pelas membranas celulares fosfolipídicas e exigindo um transporte por meio de canais ou proteínas transportadoras para alcançar a barreira hemato-encefálica (Gründemann *et al*., 2003; Winter *et al*., 2011).

Em relação aos escores de afinidade molecular, a agmatina apresentou valores acima de -7 kcal/mol para todos os 30 receptores, indicando interações potencialmente instáveis na

maioria dos complexos receptor-ligante. Os receptores que apresentaram os escores mais negativos de interação foram os receptores melatoninérgicos 1A (*MTNR1A* ou MT1) e 1B (*MTNR1B* ou MT2), com valores respectivos de -8.498 kcal/mol e -8.326 kcal/mol. O ligante JEV utilizado no controle positivo para o receptor de melatonina 1A configura a ramelteona, um agonista altamente seletivo dos receptores melatoninérgicos MT1 e MT2 (McGechan & Wellington, 2005), tal qual o ligante JEY, a 2-fenilmelatonina, um análogo sintético da melatonina que pode atuar tanto como agonista potente dos receptores MT1 e MT2 em altas concentrações, mas também como antagonista em concentrações subnanomolares (Santagostino-Barbone *et al*., 2000; Mari *et al*., 2022).

Ambos os ligantes ramelteona e 2-fenilmelatonina possuem afinidades bem maiores pelos receptores MT1 e MT2 que seu ligante endógeno, a melatonina. Visto que os genes que codificam os receptores melatoninérgicos (*MTNR1A* e *MTNR1B*) também tiveram destaque na tabela de interações gene-fármaco devido ao alto escore de interação com a agomelatina, esses receptores foram usados em mais um ensaio adicional de atracamento molecular a fim de comparar os valores de afinidade da melatonina e agomelatina com os valores observados para agmatina e os controles positivos ramelteona (JEV) e 2-fenilmelatonina (JEY). As moléculas de melatonina e agomelatina foram alocadas nos mesmos sítios de ligação utilizados nos ensaios de docking com a agmatina e os controles positivos para os receptores melatoninérgicos. Os resultados dessas análises estão exibidos na Tabela 8.

Tabela 8 – Predição de afinidade por *docking* molecular dos receptores melatoninérgicos 1A e 1B com a melatonina e agomelatina, comparadas à agmatina, ramelteona e 2-fenilmelatonina

(continua)

Genes	**ID PDB**	**Ligante (sítio de ligação)**	***Docking score* – kcal/mol**
MTNR1A	6ME2 (cadeia A)	agmatina (JEV)	-8.498
MTNR1B	6ME6 (cadeia A)	agmatina (JEY)	-8.326
MTNR1A	6ME2 (cadeia A)	melatonina (JEV)	-9.661
MTNR1B	6ME6 (cadeia A)	melatonina (JEY)	-9.621

Tabela 8 – Predição de afinidade por *docking* molecular dos receptores melatoninérgicos 1A e 1B com a melatonina e agomelatina, comparadas à agmatina, ramelteona e 2-fenilmelatonina

(conclusão)

Genes	ID PDB	Ligante (sítio de ligação)	*Docking score* – kcal/mol
MTNR1A	6ME2 (cadeia A)	ramelteona (JEV)	-9.908
MTNR1B	6ME6 (cadeia A)	2-fenilmelatonina (JEY)	-10.232
MTNR1A	6ME2 (cadeia A)	agomelatina (JEV)	-9.589
MTNR1B	6ME6 (cadeia A)	agomelatina (JEY)	-9.659

Fonte: elaborado pela autora

Os ligantes ramelteona, 2-fenilmelatonina, melatonina e agomelatina não necessitaram de uma prévia adequação de carga antes dos ensaios de atracamentos pois suas moléculas são neutras em pH fisiológico. Percebe-se que os valores de afinidade da agmatina, melatonina e agomelatina são mais próximos quando comparados à ramelteona e 2-fenilmelatonina. A agmatina e a melatonina são moléculas produzidas de forma endógena no organismo ao passo que a agomelatina, ramelteona e 2-fenilmelatonina são compostos sintéticos, o que justifica a alta afinidade dessas moléculas pelos receptores MT1 e MT2. Olhando apenas para os escores de docking molecular, a agmatina chega a ser ainda mais próxima da agomelatina do que da melatonina, um resultado interessante considerando as evidências clínicas do papel antidepressivo da agomelatina em transtornos depressivos que estão frequentemente associados a disrupção dos ritmos circadianos internos e distúrbios do sono REM (Boivin, 2000; Wirz-Justice; 2006). Logo, isso reforça a ideia de que o restabelecimento dos ritmos circadianos normais possa ter um potencial antidepressivo, auxiliando na regulação do relógio biológico (marcapasso circadiano), o qual prepara o organismo para antecipar as mudanças diárias no ambiente (San & Arranz, 2008).

4.5.1 Receptores melatoninérgicos

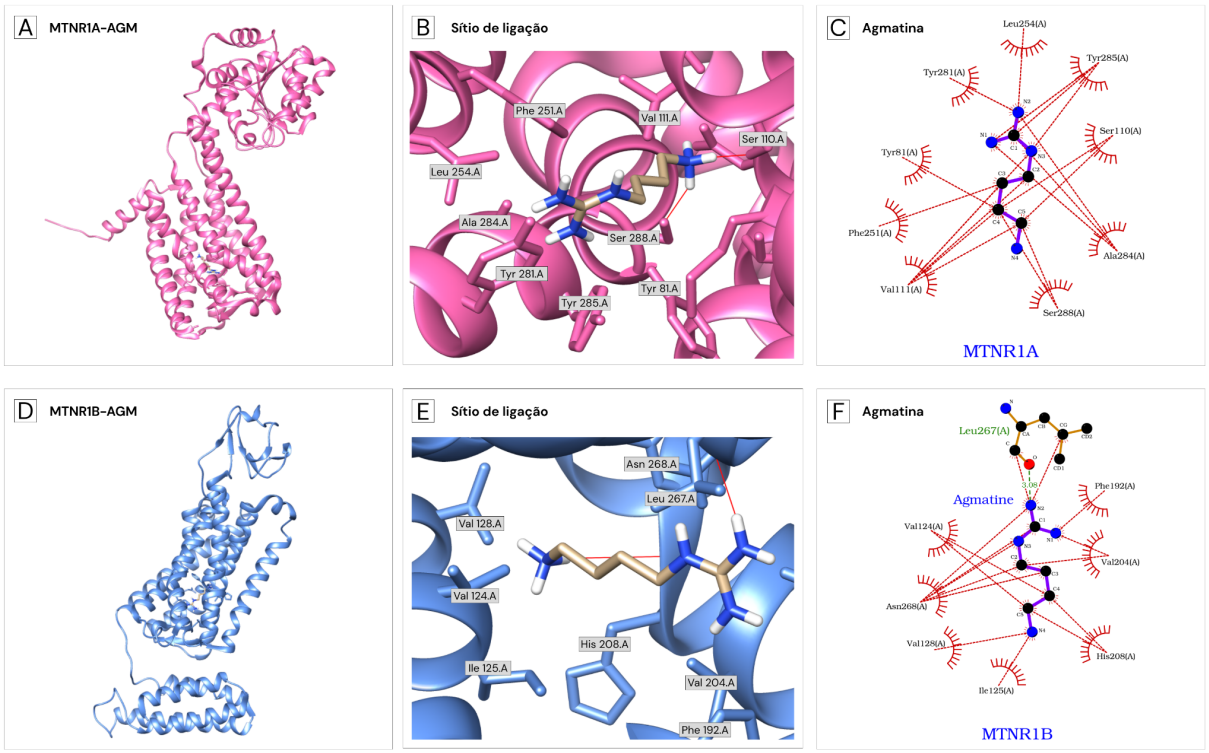
A fim de compreender o comportamento químico dos complexos receptor-ligante, as análise das interações moleculares dos receptores melatoninérgicos MT1 (*MTNR1A*) e MT2 (*MTNR1B*) com os ligantes agmatina, melatonina, ramelteona (JEV), 2-fenilmelatonina (JEY) e agomelatina foi a maneira escolhida de explorar detalhadamente as ligações não-covalentes estabelecidas entre os resíduos de aminoácidos das proteínas e a estrutura dos ligantes. A partir disso, é possível interpretar a variação dos escores de afinidade entre os diferentes ligantes através de fatores como quantidade de ligações de hidrogênio e de interações hidrofóbicas entre os complexos, resíduos de aminoácidos que participam das interações e interferência de características como polaridade do ligante.

O LigPlot+ foi capaz de identificar predominantemente interações hidrofóbicas nos complexos proteína-ligante analisados, já que o software apresentou dificuldades em preservar o estado de protonação completo da agmatina durante a renderização 2D, o que pode ter afetado a detecção automática de ligações de hidrogênio na geração da imagem das interações envolvendo essa molécula. A estratégia empregada para complementar essas análises consistiu na utilização da ferramenta "FindHBond" do UCSF Chimera para predizer computacionalmente as possíveis ligações de hidrogênio entre a agmatina e os receptores MT1 e MT2, com base nos tipos de átomos e em critérios de geometria molecular. Nesse contexto, os hidrogênios dos grupamentos amina e guanidina da agmatina foram explicitamente adicionados e corretamente posicionados na estrutura tridimensional da molécula durante a etapa de protonação dos ligantes. Dessa forma, a ferramenta "FindHBond" identificou apenas ligações de hidrogênio compatíveis com a disposição espacial desses hidrogênios. Todos os complexos foram sujeitos à essa análise com o intuito de padronizar a metodologia empregada, embora os demais ligantes apresentassem caráter neutro e tivessem sido adequadamente avaliados nas análises realizadas pelo LigPlot+.

Os parâmetros aplicados para a função "FindHBond" foram 0.2 Å (*angstroms*) de tolerância adicional e 10 graus de flexibilização de restrições em relação aos critérios geométricos padrões do UCSF Chimera, garantindo um pequeno relaxamento e evitando ligações de hidrogênio muito longas ou com angulações grandes, distantes da realidade (Mills *et al*., 1996). As ligações de hidrogênio que atendiam esses critérios foram coloridas em azul na estrutura tridimensional do complexo, já aquelas que não seguiram precisamente esses critérios restritos foram coloridas em vermelho, pois apesar de estarem fora das métricas de corte selecionadas, podem revelar interações consideráveis para a interpretação química das interações entre proteína e ligante.

As representações visuais dos complexos dos receptores melatoninérgicos 1A e 1B com a agmatina, os resíduos de aminoácidos destacados no sítio de ligação e as interações moleculares estão ilustrados na Figura 13. Na cadeia A do receptor de melatonina 1A (colorido em rosa) encontra-se a agmatina (AGM), com sua pose de melhor energia, disposta em um modelo tridimensional (Figura 13A). A vista aproximada do sítio de ligação (Figura 13B) acentuou os resíduos de aminoácidos que medeiam a interação proteína-ligante no sítio de ligação, sendo eles: Leu 254.A (Leucina), Phe 251.A (Fenilalanina), Val 111.A (Valina), Ser 110.A (Serina), Ser 288.A, Tyr 81.A (Tirosina), Tyr 285.A, Tyr 281.A e Ala 284.A (Alanina). Foram encontradas duas ligações de hidrogênio pela ferramenta "FindHBond" entre dois hidrogênios da extremidade do grupo amina e os resíduos de aminoácidos Ser 110.A e Ser 288.A. Essas ligações não foram identificadas pela análise do LigPlot+, que apenas destacou as interações hidrofóbicas entre os resíduos de aminoácidos observados na Figura 13B e a molécula de agmatina (Figura 13C).

Figura 13 – Interações moleculares presentes nos complexos proteína-ligante formados pelos receptores melatoninérgicos 1A e 1B com a molécula de agmatina



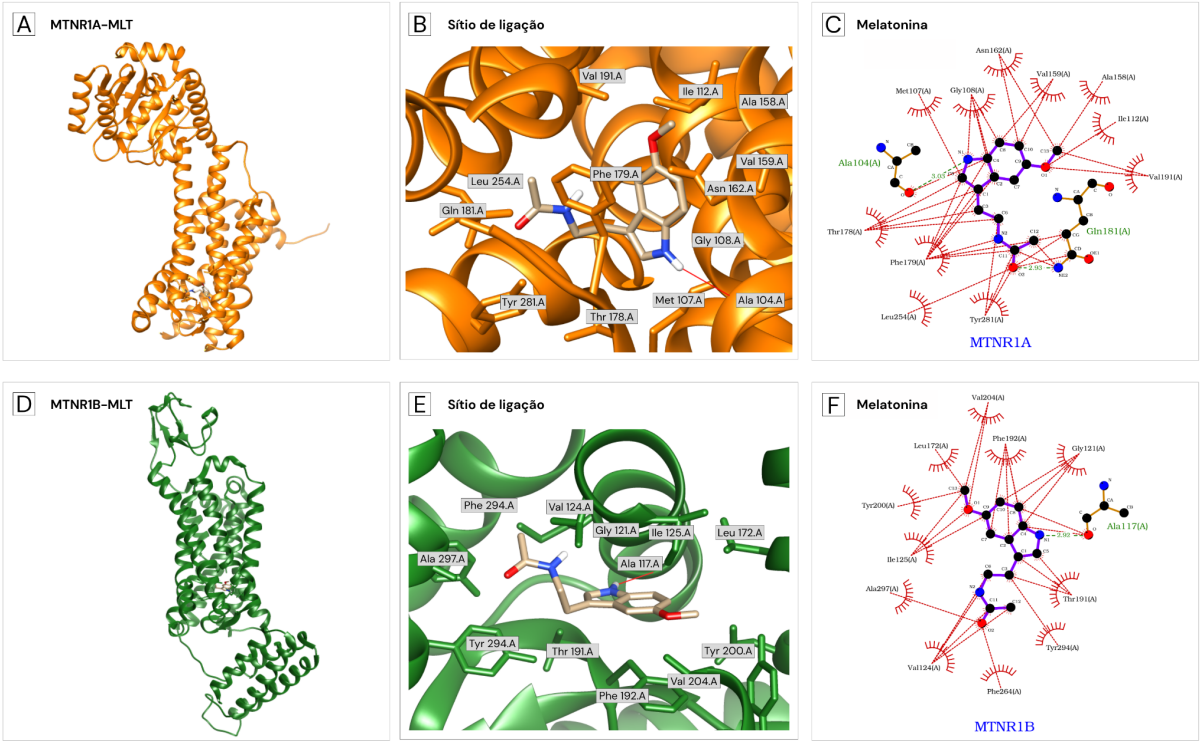
Legenda: Complexos proteína-ligante representando as interações moleculares entre os receptores melatoninérgicos 1A (*MTNR1A*) e 1B (*MTNR1B*) com a molécula de agmatina. (A) Modelo 3D do complexo MTNR1A-agmatina; (B) Sítio de ligação da agmatina no MTNR1A; (C) Representação bidimensional das interações moleculares do complexo MTNR1A-agmatina; (D) Modelo 3D do complexo MTNR1B-agmatina; (E)

Sítio de ligação da agmatina no MTNR1B e (E) Representação bidimensional das interações moleculares do complexo MTNR1B-agmatina.
Fonte: elaborado pela autora

O complexo tridimensional proteína-ligante entre a cadeia A do receptor de melatonina 1B (colorida em azul) e a agmatina está ilustrado na Figura 13D. Os resíduos de aminoácidos que interagem com a agmatina no sítio de ligação do receptor são: Val 128.A. Asn 268.A (Asparagina), Leu 267.A, Val 204.A, Phe 192.A, His 208.A (Histidina), Ile 125.A (Isoleucina) e Val 124.A (Figura 13E). A função "FindHBond" encontrou duas ligações de hidrogênio, uma entre um hidrogênio da extremidade do grupo amina e o resíduo His 208.A e outra entre um hidrogênio terminal do grupo guanidina e o resíduo Leu 267.A. A análise pelo LigPlot+ identificou tanto as interações hidrofóbicas com os resíduos de aminoácidos exibidos na Figura 13E quanto a ligação de hidrogênio envolvendo o resíduo Leu 267.A (linha verde tracejada), com uma distância calculada de 3.08 Å (Figura 13F).

O complexo proteína-ligante da cadeia A do receptor melatoninérgico 1A (colorida em laranja) com a molécula de melatonina (MLT) está ilustrado na Figura 14A. No sítio de ligação do receptor melatoninenérgico 1A, os resíduos de aminoácidos que interagem com a melatonina são: Val 191.A, Ile 112.A, Ala 158.A, Val 159.A, Asn 162.A, Gly 108.A (Glicina), Ala 104.A, Met 107.A (Metionina), Thr 178.A (Treonina), Tyr 281.A, Gln 181.A (Glutamina), Leu 254.A e Phe 179.A (Figura 14B). Foi localizada apenas uma ligação de hidrogênio pela ferramenta "FindHBond", sendo ela entre o hidrogênio da extremidade da amina secundária presente no anel pirrólico e o resíduo de aminoácido Ala 104.A. Além das interações hidrofóbicas como os resíduos de aminoácidos indicados na Figura 14B, o LigPlot+ identificou duas ligações de hidrogênio, uma com o resíduo Ala 104.A (3.03 Å), também encontrada pela função "FindHBond" e outra com o resíduo Gln 181.A (2.93 Å) (Figura 14C).

Figura 14 – Interações moleculares presentes nos complexos proteína-ligante formados pelos receptores melatoninérgicos 1A e 1B com a molécula de melatonina



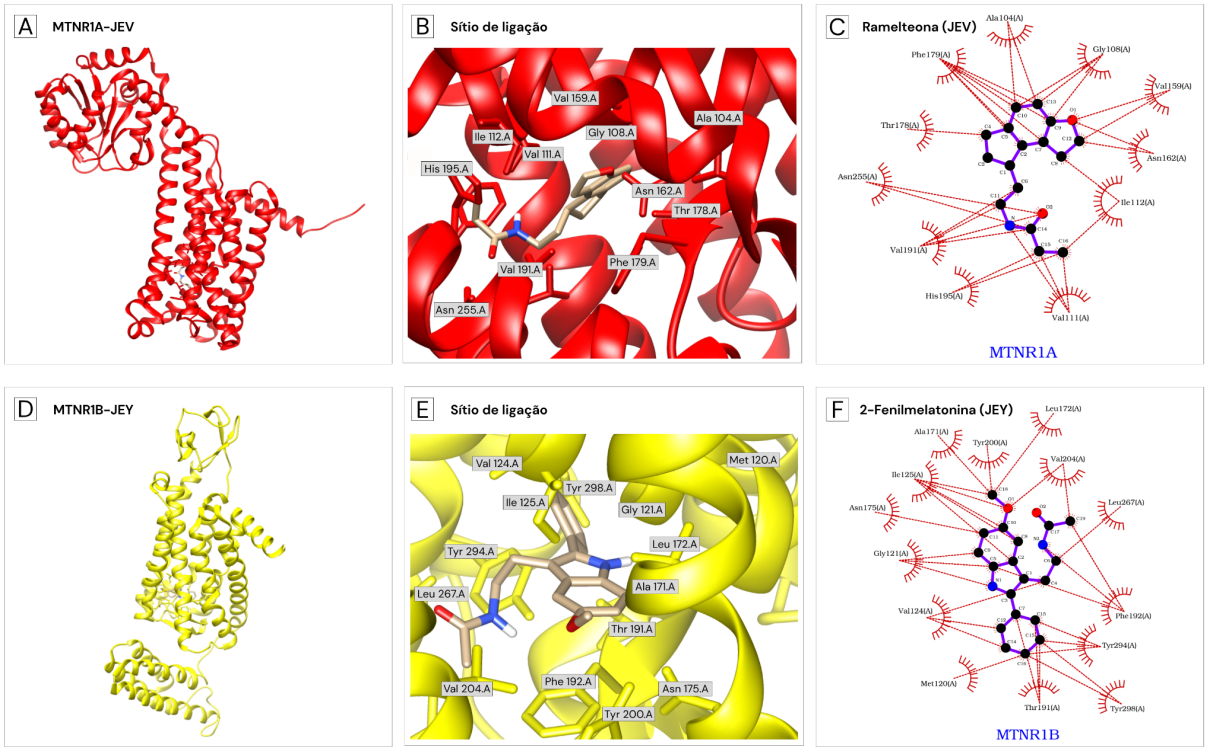
Legenda: Complexos proteína-ligante representando as interações moleculares entre os receptores melatoninérgicos 1A (*MTNR1A*) e 1B (*MTNR1B*) com a molécula de melatonina. (A) Modelo 3D do complexo MTNR1A-melatonina; (B) Sítio de ligação da melatonina no MTNR1A; (C) Representação bidimensional das interações moleculares do complexo MTNR1A-melatonina; (D) Modelo 3D do complexo MTNR1B-melatonina; (E) Sítio de ligação da melatonina no MTNR1B e (E) Representação bidimensional das interações moleculares do complexo MTNR1B-melatonina.
Fonte: elaborado pela autora

O complexo proteína-ligante da cadeia A do receptor melatoninérgico 1B (colorida em verde escuro) com a molécula de melatonina está exibido na Figura 14D. Os resíduos de aminoácidos destacados no sítio de ligação são: Phe 294.A, Val 124.A, Gly 121.A, Ala 117.A, Ile 125.A, Leu 172.A, Tyr 200.A, Val 204.A, Phe 192.A, Thr 191.A, Tyr 294.A e Ala 297.A (Figura 14E). Identificou-se pela ferramenta "FindHBond" uma ligação de hidrogênio entre o hidrogênio da extremidade da amina secundária presente no anel pirrólico e o resíduo de aminoácido Ala 117.A. Referente às análises do LigPlot+, interações hidrofóbicas entre a melatonina e os resíduos de aminoácidos na Figura 14E foram acentuados, além da ligação de hidrogênio com o resíduo Ala 117.A (2.92 Å) que também foi calculado pela função "FindHBond" (Figura 14F).

Na Figura 15A, está ilustrado o complexo tridimensional entre o receptor melatoninérgico 1A e o fármaco ramelteona (JEV). A visualização próxima ao sítio de ligação

(Figura 15B) mostra os resíduos de aminoácidos responsáveis pelas interações moleculares, os quais são: His 195.A, Ile 112.A, Val 111.A, Val 159.A, Gly 108.A, Ala 104.A, Asn 162.A, Thr 178.A, Phe 179.A, Val 191.A e Asn 255.A. Não foi identificada nenhuma ligação de hidrogênio pela ferramenta "FindHBond" e pelo LigPlot+. As interações hidrofóbicas entre os resíduos de aminoácidos presentes na Figura 15B e a molécula de ramelteona podem ser visualizadas na Figura 15C.

Figura 15 – Interações moleculares presentes nos complexos proteína-ligante formados pelos receptores melatoninérgicos 1A e 1B com os compostos sintéticos ramelteona (JEV) e 2-fenilmelatonina (JEY)

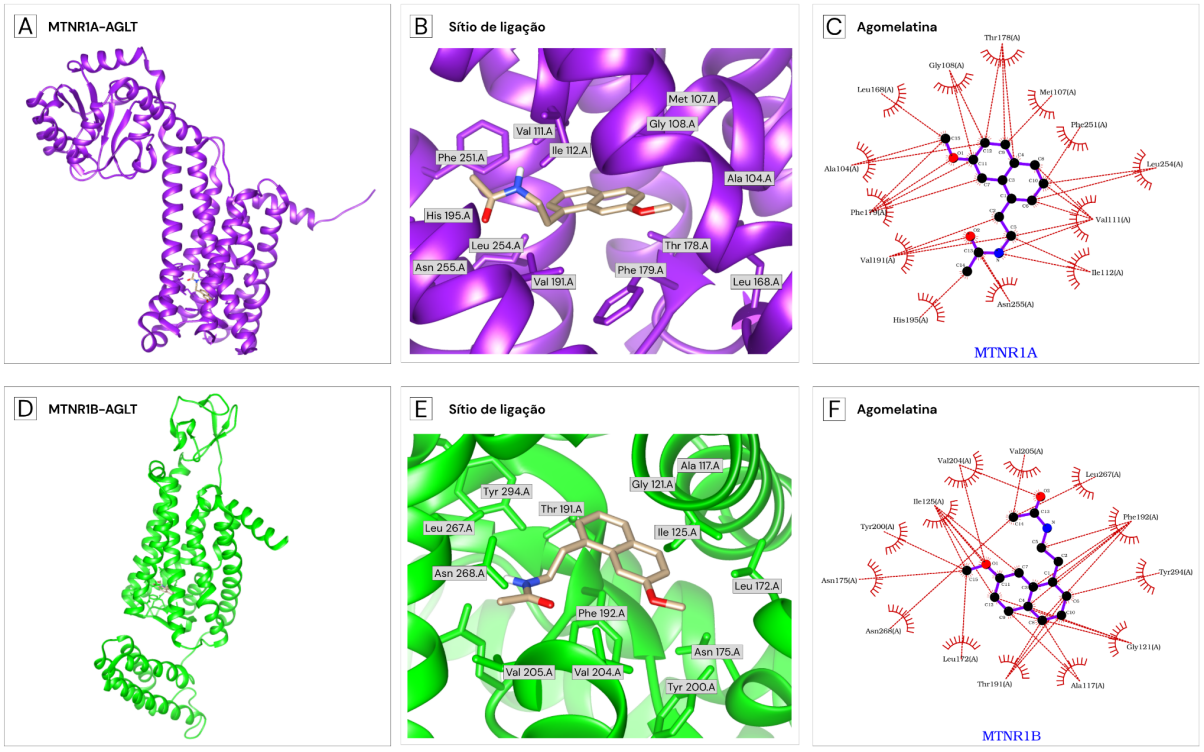


Legenda: Complexos proteína-ligante representando as interações moleculares entre os receptores melatoninérgicos 1A (*MTNR1A*) e 1B (*MTNR1B*) com os compostos ramelteona (JEV) e 2-fenilmelatonina (JEY). (A) Modelo 3D do complexo MTNR1A-JEV; (B) Sítio de ligação da ramelteona no MTNR1A; (C) Representação bidimensional das interações moleculares do complexo MTNR1A-JEV; (D) Modelo 3D do complexo MTNR1B-JEY; (E) Sítio de ligação da 2-fenilmelatonina no MTNR1B e (E) Representação bidimensional das interações moleculares do complexo MTNR1B-JEY.
Fonte: elaborado pela autora

O complexo proteína-ligante da cadeia A do receptor melatoninérgico 1B (colorida em amarelo) com o composto 2-fenilmelatonina (JEY) está exibido na Figura 15D.Os resíduos de aminoácidos que interagem com a 2-fenilmelatonina no sítio de ligação do receptor são: Leu 267.A, Tyr 294.A, Val 124.A, Ile 125.A, Tyr 298.A, Gly 121.A, Met 120.A,

Leu 172.A, Ala 171.A, Thr 191.A, Asn 175.A, Tyr 200.A, Phe 192.A e Val 204.A (Figura 15E). Nesse complexo também não foi identificada nenhuma ligação de hidrogênio pela ferramenta "FindHBond" e pelo LigPlot+. As interações hidrofóbicas encontradas pelas análises do LigPlot+ com os resíduos de aminoácidos da Figura 15E estão ilustradas na Figura 15F.

Figura 16 – Interações moleculares presentes nos complexos proteína-ligante formados pelos receptores melatoninérgicos 1A e 1B com o fármaco agomelatina



Legenda: Complexos proteína-ligante representando as interações moleculares entre os receptores melatoninérgicos 1A (*MTNR1A*) e 1B (*MTNR1B*) com o fármaco agomelatina. (A) Modelo 3D do complexo MTNR1A-agomelatina (AGLT); (B) Sítio de ligação da ramelteona no MTNR1A; (C) Representação bidimensional das interações moleculares do complexo MTNR1A-JEV; (D) Modelo 3D do complexo MTNR1B-JEY; (E) Sítio de ligação da 2-fenilmelatonina no MTNR1B e (E) Representação bidimensional das interações moleculares do complexo MTNR1B-JEY.
Fonte: elaborado pela autora

Por fim, o complexo proteína-ligante da cadeia A do receptor melatoninérgico 1A (colorida em roxo) com a molécula de agomelatina (AGLT) está ilustrado na Figura 16A. Os resíduos de aminoácidos em destaque no sítio de ligação são: Phe 251.A, Val 111., Ile 112.A, Gly 108.A, Met 107.A, Ala 104.A, Leu 168.A, Thr 178.A, Phe 179.A, Val 191.A, Leu 254.A, Asn 255.A e His 195.A (Figura 16B). Não foi identificada nenhuma ligação de hidrogênio

pelas ferramentas “FindHBond” e LigPlot+. As interações hidrofóbicas entre a agomelatina e os resíduos de aminoácidos da Figura 16B estão dispostas na Figura 16C.

A Figura 16D mostra o complexo proteína-ligante da cadeia A do receptor melatoninérgico 1B (colorida em verde claro) com a molécula de agomelatina. Os resíduos de aminoácidos responsáveis pelas interações moleculares da agomelatina no sítio de ligação do receptor são: Asn 268.A, Leu 267.A, Tyr 294.A, Thr 191.A, Gly 121.A, Ala 117.A, Ile 125.A, Leu 172.A, Asn 175.A, Tyr 200.A, Val 204.A, Val 205.A e Phe 192.A (Figura 16E). Nesse complexo, também não se identificou nenhuma ligação de hidrogênio pelas ferramentas “FindHBond” e LigPlot+. As interações hidrofóbicas entre a agomelatina e os resíduos de aminoácidos da Figura 16E podem ser observadas na Figura 16F.

Em suma, os resultados do docking molecular e das interações receptor-ligante corroboram os achados de de Lima Menezes *et al*. (2024), que observaram, por meio de docking e dinâmica molecular, maior afinidade da melatonina pelo receptor MT1 em comparação ao MT2. Além disso, a melatonina, ramelteona e 2-fenilmelatonina apresentaram estado neutro em pH 7.0 e 7.4 nas análises realizadas no Marvin Sketch, em concordância com a protonação adotada neste estudo. Também foram identificados resíduos-chave semelhantes nas interações, tais quais: Gln 181, Phe 179/192, Asn162/175, Gly108/121, Val111/124 e Val191/204. Alguns desses resíduos de aminoácidos estão destacados nas interações moleculares presentes nos sítios de ligação da agmatina e da agomelatina, avaliadas apenas nesta pesquisa, fortalecendo a ideia da agmatina compartilhar possíveis mecanismos de ação com essas moléculas já bem estabelecidas para exercer seus efeitos antidepressivos.

4.5.2 Agmatina, agomelatina e melatonina

Em vista das similaridades nos valores de afinidade de docking molecular entre a agmatina, melatonina e a agomelatina, necessita-se explorar com mais detalhes os perfis farmacológicos dessas moléculas na perspectiva do transtorno depressivo maior, ansiedade e suicídio, correlacionando suas principais características com as vias e alvos modulados pela agmatina no sistema nervoso central.

A melatonina é um neuro-hormônio modulador sintetizado na glândula pineal a partir da serotonina (Thambyrajah *et al*., 2023), cujo processo de síntese é iniciada pela noradrenalina por meio da ativação dos receptores adrenérgicos β1 e α1b, os quais, por sua vez, ativam a adenilato ciclase e desencadeiam uma cascata de reações que estimulam a produção de melatonina (Foster, 2021). Devido a identificação de locais de ligação para a melatonina no hipocampo de vários mamíferos, tem sido sugerido que a melatonina seja

capaz de modular as funções neuronais das células do hipocampo (Musshoff *et al*., 2002). Ademais, seu papel na sintomatologia psiquiátrica está intimamente associado à regulação dos ritmos circadianos, incluindo o sono fisiológico, e outras comorbidades (Laudon & Frydman-Marom, 2014). A 5ª Edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5) reconhece que as condições médicas, os transtornos mentais e os distúrbios do sono coexistentes (insônia comórbida) interagem de forma bidirecional nos pacientes acometidos por essas condições (Reynolds & O'Hara, 2013). Ainda, sabe-se que tanto perturbações no ritmo circadiano podem resultar em disfunções neurológicas, sintomas depressivos e ansiosos quanto o comprometimento do humor é capaz de afetar o sistema circadiano e causar insônia, além de outros distúrbios do sono (Ohayon & Roth, 2003; Riemann, 2007; Jansson-Fröjmark & Lindblom, 2008; Paudel *et al*., 2008; Sivertsen *et al*., 2012).

Evidências experimentais sugerem que o efeito tipo antidepressivo da melatonina no teste da suspensão pela cauda (TST) é mediado, pelo menos em parte, pela modulação da neurotransmissão glutamatérgica envolvendo receptores NMDA. A administração de melatonina reduziu significativamente o tempo de imobilidade dos animais neste teste, indicando um efeito antidepressivo. Além disso, a participação dos receptores NMDA foi demonstrada pelo fato de que o pré-tratamento com uma dose elevada de melatonina impediu o efeito anti-imobilidade de antagonistas desses receptores, como MK-801 e cetamina, sugerindo uma interação entre esses mecanismos. Corroborando essa hipótese, uma dose subefetiva de melatonina potencializou o efeito antidepressivo produzido por MK-801, cetamina e cloreto de zinco, resultando em uma resposta sinérgica no TST. Em conjunto, esses achados indicam que a melatonina pode exercer seus efeitos tipo antidepressivos por meio da modulação da atividade dos receptores NMDA, além de envolver interações com a via L-arginina–óxido nítrico (Mantovani *et al*., 2003).

Além destas evidências, o trabalho de Arioz e colaboradores (2019) avaliou efeitos da melatonina nas alterações comportamentais e na expressão de citocinas inflamatórias no hipocampo de camundongos com comportamento tipo-depressivo induzido por lipopolissacarídeo (LPS). Este trabalho mostrou que a melatonina preveniu a ativação do inflamassoma NLRP3 induzida por LPS e trifosfato de adenosina (ATP) em microglia murina *in vitro*, bem como inibiu a piroptose e a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) mitocondriais e citosólicas. Em um estudo recente, Mehrzadi *et al*. (2026) investigaram os efeitos da combinação de agmatina e melatonina em um modelo de depressão induzida por estresse de contenção em camundongos, no qual os resultados demonstraram que a

administração conjunta foi mais eficaz na redução dos comportamentos depressivos do que cada composto isoladamente, possivelmente em decorrência da supressão do estresse oxidativo. Evidências obtidas no modelo de convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ) sugerem que a agmatina pode interagir com o sistema melatoninérgico, especialmente com receptores do subtipo ML1/ML2 (Moezi *et al*., 2011). Nesse estudo, tanto a melatonina quanto a agmatina apresentaram efeitos anticonvulsivantes, e a administração conjunta produziu um efeito aditivo na elevação do limiar convulsivo. Importante destacar que o antagonista de receptores de melatonina luzindole foi capaz de bloquear o efeito anticonvulsivante da agmatina e da melatonina. Esses resultados indicam que a ação anticonvulsivante da agmatina pode depender, ao menos em parte, da ativação de receptores melatoninérgicos ML1/ML2, sugerindo uma interação funcional entre a agmatina e o sistema melatoninérgico.

A respeito do fármaco agomelatina, existem evidências clínicas crescentes na literatura do seu papel na depressão por se tratar de uma potencial alternativa para pacientes que não respondem ou demonstram baixa tolerância à outros antidepressivos (Howland, 2011), porém, boa parte dos estudos ainda encontra-se na fase pré-clínica a fim de elucidar com mais clareza os mecanismos de ação desse antidepressivo melatonérgico. Além disso, a agomelatina possui um mecanismo de ação não monoaminérgico único, enquanto todos os outros antidepressivos atuam por meio de mecanismos monoaminérgicos (de Bodinat *et al*., 2010), fator que pode ser equiparado a agmatina e sua ação no sistema glutamatérgico, distanciando essas moléculas dos fármacos antidepressivos convencionais. Embora não esteja documentado na literatura uma associação direta com a agmatina, agomelatina destaca-se entre os antidepressivos utilizados no tratamento do TDM por sua capacidade de melhorar simultaneamente os distúrbios do sono e os sintomas depressivos, como também apresentar início de ação relativamente precoce, mesmo em pacientes com depressão grave (Srinivasan *et al*., 2011).

Em um modelo de estresse crônico leve, tanto a melatonina quanto a agomelatina reverteram a redução do consumo de sacarose induzida pelo estresse, indicando atividade antidepressiva. No entanto, a agomelatina apresentou maior eficácia e manteve seus efeitos independentemente do horário de administração, enquanto a melatonina foi eficaz apenas quando administrada no período noturno. Além disso, o antagonismo dos receptores melatoninérgicos MT1/MT2 aboliu os efeitos noturnos de ambas as substâncias, sugerindo a participação desses receptores na resposta antidepressiva. Os autores concluíram que a atividade antidepressiva da agomelatina resulta da combinação de suas propriedades agonistas

dos receptores de melatonina e antagonistas dos receptores serotoninérgicos 5-HT2C (Papp et al., 2003). Resultados semelhantes foram observados por Bourin et al. (2004) no teste do nado forçado, no qual a administração repetida de agomelatina produziu efeitos do tipo antidepressivo. Os autores demonstraram que a interação da agomelatina com diferentes ligantes serotoninérgicos resultou em respostas mais pronunciadas do que aquelas observadas com a melatonina, evidenciando uma importante contribuição dos receptores serotoninérgicos para sua atividade farmacológica. Com base nos perfis de ligação do composto, os autores sugeriram que os receptores 5-HT2C desempenham papel central nesse efeito, concluindo que a atividade antidepressiva da agomelatina provavelmente resulta da ação combinada de suas propriedades agonistas dos receptores melatoninérgicos e antagonistas dos receptores 5-HT2C.

Alguns trabalhos abordam a relação da agomelatina com a anedonia (Serretti, 2025), um dos sintomas chave para o diagnóstico do TDM segundo o DSM-5, condição na qual a capacidade de sentir prazer é total ou parcialmente perdida, podendo levar a ideação e comportamento suicida em casos depressivos graves (Bonanni *et al*., 2019). Di Giannantonio & Martinotti (2012) abordam dois diferentes estudos descrevendo a eficácia da agomelatina no tratamento da anedonia, um estudo *open-label* (aberto) e um ensaio comparativo com o antidepressivo venlafaxina XR. Em ambos trabalhos, a agomelatina reduziu significativamente a anedonia após a primeira semana de tratamento, conforme a Escala de Prazer de Snaith-Hamilton, sendo que no estudo comparativo também foram notadas diferenças significativas associadas ao tempo de tratamento.

Já em relação à ansiedade, Ochoa-Sanchez *et al*. (2012) demonstraram o envolvimento dos receptores MT2 na modulação de comportamentos relacionados à ansiedade ao avaliarem os efeitos do agonista parcial UCM765 em comparação com a melatonina e o diazepam em testes comportamentais realizados em ratos adultos. No estudo de Lan e colaboradores (2022), a agomelatina exerceu não somente efeitos antidepressivos e ansiolíticos mas também efeitos neuroprotetores associados à redução da neuroinflamação, da autofagia disfuncional e da apoptose neuronal em um modelo de depressão induzida por lipopolissacarídeo (LPS) em ratos, além de estimular à neurogênese no giro denteado do hipocampo.

Por fim, a ansiedade e a depressão também podem se manifestar em conjunto com outras comorbidades, como por exemplo, Diabetes Mellitus (DM) tipo 2 e Doença de Alzheimer (DA). No caso de pacientes depressivos com DM tipo 2 sem controle ideal da doença, agomelatina revelou eficácia no tratamento da depressão e da ansiedade, além da

melhoria dos comportamentos relacionados à saúde (Karaiskos *et al*., 2013). Para o modelo experimental de DA em ratos, verificou-se que a agomelatina atenuou a ansiedade e as respostas de tipo depressivo na fase inicial da DA, revelando exercer efeitos benéficos sobre os distúrbios comportamentais associados (Ilieva *et al*., 2021).

Desse modo, conforme os resultados expostos neste trabalho, é possível que a agmatina compartilhe efeitos neurobiológicos semelhantes aos do neuro-hormônio melatonina e o antidepressivo agomelatina, no tocante à modulação da depressão, ansiedade e sintomas correlacionados, que podem envolver tanto os receptores melatoninérgicos 1A e 1B, e demais vias serotoninérgicas. Portanto, embora não haja evidências na literatura científica sobre um agonismo ou antagonismos da agmatina sobre os receptores de melatonina, a convergência funcional entre essas moléculas pode sugerir uma sobreposição em seus efeitos antidepressivos e ansiolíticos ainda pouco documentada experimentalmente.

5 . CONCLUSÃO

As análises de bioinformática e biologia computacional mediadas por vários softwares e bancos de dados distintos possibilitou a realização de uma triagem virtual detalhada a respeito dos possíveis alvos farmacológicos da agmatina nos contextos psiquiátricos estabelecidos, buscando esclarecer importantes vias de sinalização e mecanismos relacionados aos efeitos antidepressivos dessa poliamina endógena em comparação com outras moléculas como a cetamina, a melatonina e a agomelatina. As etapas de busca e cruzamento de dados revelaram 62 e 45 genes-alvo compartilhados entre a depressão, ansiedade e suicídio em humanos e roedores (ratos e camundongos), respectivamente. Boa parte desses alvos codificam proteínas da classe de receptores acoplados à proteína G, como os alvos mais destacados nas redes de interações biológicas do GeneMANIA e STRING para espécie humana e para ratos, além de outros alvos enzimáticos.

Os receptores de serotonina 1A (*HTR1A*), 1B (*HTR1B*), 2A (*HTR2A*) e 2C (*HTR2C*); o receptor adrenérgico/noradrenérgico dos tipo α2A (*ADRA2A*), o receptor colinérgico muscarínico M2 (*CHRM2*), o receptor dopaminérgico D2 (*DRD2*), as isoformas da enzima óxido nítrico sintase (*NOS1*, *NOS2* e *NOS3*) e as enzimas monoamina oxidase A e B (*MAOA* e *MAOB*) figuraram entre os principais alvos das redes proteicas, apresentando as correlações mais recorrentes com a agmatina, os transtornos depressivos e de ansiedade e o comportamento suicida descritas na literatura científica O enriquecimento funcional de mecanismos biológicos e vias bioquímicas tanto em humanos quanto em ratos mostrou que a

maioria dos alvos das redes estão envolvidos na sinalização dos receptores acoplados à G e atividade de receptores de neurotransmissores, cujas localizações celulares podem abranger a membrana-pós sináptica, dendritos e árvores dendríticas.

As interações gene-fármaco utilizadas na filtragem dos principais alvos associados aos efeitos antidepressivos e ansiolíticos de fármacos utilizados na clínica e aprovados pelo FDA manteve os perfis farmacológicos dos alvos de destaque encontrados nas listas de genes e redes biológicas. Contudo, o *heatmap* deu enfoque aos receptores de melatonina 1A (MT1) e 1B (MT2), os quais obtiveram um elevado escore de interação com o antidepressivo melatoninérgico agomelatina. O receptor codificado pelo gene *MTNR1A* também apareceu na Tabela 3 como um dos 10 alvos relevantes nas redes proteína-proteína do STRING para a espécie humana, indicando que mesmo não estando situado dentre os alvos mais centrais nas tabelas, os receptores melatoninérgicos podem participar de vias de sinalização relevantes para os efeitos antidepressivos da agmatina. A fim de validar a provável ocorrência dessas interações, os alvos receptores selecionados e a molécula de agmatina foram submetidos aos ensaios de docking molecular, nos quais os valores de afinidade de ligação foram comparados com ligantes controle e com a cetamina.

A partir dos escores de docking, verificou-se que os receptores adrenérgicos α2A, α2C e β2, o receptor colinérgico muscarínico M2, o receptor ionotrópico 5-HT3A e o receptor histamínico H1 exibiram valores em torno de -8.kcal/mol, mais negativos que valores dos outros complexos proteína-ligante, sendo que os receptores de melatonina MT1 (-8.498 kcal/mol) e MT2 (-8.326 kcal/mol) tiveram os valores de afinidade mais negativos com a agmatina de todos os complexos analisados. Por esse motivo, esses receptores foram comparados com mais duas moléculas diferentes dos ligantes controle ramelteona (JEV) e 2-fenilmelatonina (JEY) em análises de docking adicionais, a melatonina e a agomelatina. Os valores de afinidade dos receptores MT1 e MT2 com a melatonina e agomelatina foram bastante próximos àqueles obtidos com a agmatina, do mesmo modo que os resíduos de aminoácidos responsáveis pelas interações moleculares nos sítios de ligação desses complexos se mostraram similares. Isso pode sugerir que a agmatina possa compartilhar mecanismos de ação com a melatonina e agomelatina, principalmente na modulação de funções e processos biológicos no sistema nervoso central que promovem seus efeitos antidepressivos, agindo sobre os mesmos alvos farmacológicos.

Assim, o papel da agmatina no sistema melatonérgico necessita ser explorado com mais aprofundamento para verificar experimentalmente a hipótese de interação molecular com os receptores MT1 e MT2, em paralelo com a melatonina e agomelatina, já que são

escassos os estudos que abarcam uma possível interação dessas moléculas no contexto de doenças psiquiátricas. Compete a trabalhos futuros investigar essas questões *in vitro* ou *in vivo*, avaliando os efeitos da agmatina sozinha ou em sinergismo com a melatonina e/ou agomelatina em diversos modelos experimentais de prevenção ou tratamento dos prejuízos moleculares e comportamentais ocasionados pela depressão e ansiedade.

REFERÊNCIAS

ADORJAN, K.; FALKAI, P. Premature mortality, causes of death, and mental disorders. **The Lancet**, v. 394, n. 10211, p. 1784–1786, 2019. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32521-8.

ALLEN, J. A.; ROTH, B. L. Strategies to Discover Unexpected Targets for Drugs Active at G Protein–Coupled Receptors. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 51, n. 1, p. 117–144, 2011. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010510-100553.

ALTÊ, G. A.; RODRIGUES, A. L. S. Exploring the Molecular Targets for the Antidepressant and Antisuicidal Effects of Ketamine Enantiomers by Using Network Pharmacology and Molecular Docking. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 7, p. 1013, 2023. DOI: 10.3390/ph16071013.

ARIOZ, B. I. *et al*. Melatonin Attenuates LPS-Induced Acute Depressive-Like Behaviors and Microglial NLRP3 Inflammasome Activation Through the SIRT1/Nrf2 Pathway. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 2019. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01511.

ASHBURNER, M. *et al*. Gene Ontology: tool for the unification of biology. **Nature Genetics**, v. 25, n. 1, p. 25–29, 2000. DOI: 10.1038/75556.

AUERBACH, J. M.; SEGAL, M. Muscarinic receptors mediating depression and long‐term potentiation in rat hippocampus. **The Journal of Physiology**, v. 492, n. 2, p. 479–493, 1996. DOI: 10.1113/jphysiol.1996.sp021323.

BATEMAN, A. *et al*. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2025. **Nucleic Acids Research**, v. 53, n. D1, p. D609–D617, 2025. DOI: 10.1093/nar/gkae1010.

BELUJON, P.; GRACE, A. A. Regulation of dopamine system responsivity and its adaptive and pathological response to stress. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 282, n. 1805, p. 20142516, 2015. DOI: 10.1098/rspb.2014.2516.

BENÍTEZ, J. *et al*. Metabolic strategies for the degradation of the neuromodulator agmatine in mammals. **Metabolism**, v. 81, p. 35–44, 2018. DOI: 10.1016/j.metabol.2017.11.005.

BENKE, T. A. *et al*. Clinical and therapeutic significance of genetic variation in the GRIN gene family encoding NMDARs. **Neuropharmacology**, v. 199, p. 108805, 2021. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2021.108805.

BERMAN, R. M. *et al*. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. **Biological Psychiatry**, v. 47, n. 4, p. 351–354, 2000. DOI: 10.1016/s0006-3223(99)00230-9.

BERMAN, H. M. *et al*. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n. 1, p. 235–242, 2000. DOI: 10.1093/nar/28.1.235.

BIZIÈRE, K. *et al.* Pharmacological evaluation of minaprine dihydrochloride, a new psychotropic drug. **Arzneimittel-Forschung**, v. 32, n. 8, p. 824–831, 1982. PMID: 6890359.

BLANTZ, R. C. *et al*. Biological effects of arginine metabolites. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 168, n. 1, p. 21–25, 2000. DOI: 10.1046/j.1365-201x.2000.00646.x.

BLIER, P.; DE MONTIGNY, C. Modification of 5‐HT neuron properties by sustained administration of the 5‐HT $_{1A}$ agonist gepirone: Electrophysiological studies in the rat brain. **Synapse**, v. 1, n. 5, p. 470–480, 1987. DOI: 10.1002/syn.890010511.

BOHACEK, N.; RAVIC, M.; BIZIÈRE, K. Minaprine and imipramine in the treatment of major depressive disorders: a comparative double-blind study. **Drugs under Experimental and Clinical Research**, v. 13, n. 7, p. 435–442, 1987. PMID: 3308390.

BOIVIN, D. B. Influence of sleep-wake and circadian rhythm disturbances in psychiatric disorders. **Journal of Psychiatry & Neuroscience**, v. 25, n. 5, p. 446–458, 2000. PMID: 11109296.

BONANNI, L. *et al*. Can Anhedonia Be Considered a Suicide Risk Factor? A Review of the Literature. **Medicina**, v. 55, n. 8, p. 458, 2019. DOI: 10.3390/medicina55080458.

BOURIN, M.; MOCAËR, E.; PORSOLT, R. Antidepressant-like activity of S 20098 (agomelatine) in the forced swimming test in rodents: involvement of melatonin and serotonin receptors. **Journal of Psychiatry & Neuroscience**, v. 29, n. 2, p. 126–33, 2004. PMID: 15069466.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Depressão [s.d.]**. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/depressao. Acesso em: 20 maio. 2026.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Na América Latina, Brasil é o país com maior prevalência de depressão**. 4 nov. 2022. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/setembro/na-america-latina-brasil-e-o-pais-com-maior-prevalencia-de-depressao. Acesso em: 20 maio. 2026.

BURLEY, S. K. *et al*. Updated resources for exploring experimentally-determined PDB structures and Computed Structure Models at the RCSB Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, v. 53, n. D1, p. D564–D574, 2025. DOI: 10.1093/nar/gkae1091.

BYRNE, R.; SCHNEIDER, G. In Silico Target Prediction for Small Molecules. **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**. p.273–309, 2019. DOI: 10.1007/978-1-4939-8891-4_16.

CAI, H. *et al*. Prevalence of Suicidality in Major Depressive Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis of Comparative Studies. **Frontiers in Psychiatry**, v. 12, 2021. DOI: 10.3389/fpsyt.2021.690130.

CANNON, M. *et al*. DGIdb 5.0: rebuilding the drug–gene interaction database for precision medicine and drug discovery platforms. **Nucleic Acids Research**, v. 52, n. D1, p. D1227–D1235, 2024. DOI: 10.1093/nar/gkad1040.

CHANG, H.-A. *et al*. Age-dependent association of polymorphisms in the promoter and 5′-untranslated region of the norepinephrine transporter gene with generalized anxiety disorder. **Journal of Affective Disorders**, v. 270, p. 124–130, 2020. DOI: 10.1016/j.jad.2020.03.059.

CHEMAXON. **Chemicalize**. Disponível em: https://chemicalize.com/. Acesso em 21 mar. 2026.

CHEN, G. G. *et al*. Evidence of Reduced Agmatine Concentrations in the Cerebral Cortex of Suicides. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 21, n. 10, p. 895–900, 2018. DOI: 10.1093/ijnp/pyy058.

CHEN, Z.-D. *et al*. Antidepressant-like action of agmatine in the acute and sub-acute mouse models of depression: a receptor mechanism study. **Metabolic Brain Disease**, v. 33, n. 5, p. 1721–1731, 2018. DOI: 10.1007/s11011-018-0280-9.

CHESNEY, E.; GOODWIN, G. M.; FAZEL, S. Risks of all-cause and suicide mortality in mental disorders: a meta-review. **World Psychiatry**, v. 13, n. 2, p. 153–160, 2014. DOI: 10.1002/wps.20128.

COMAI, S.; GOBBI, G. Melatonin, Melatonin Receptors and Sleep: Moving Beyond Traditional Views. **Journal of Pineal Research**, v. 76, n. 7, 2024. DOI: 10.1111/jpi.13011.

COMINGS, D. E. *et al*. Association of the muscarinic cholinergic 2 receptor *(CHRM2)* gene with major depression in women. **American Journal of Medical Genetics**, v. 114, n. 5, p. 527–529, 2002. DOI: 10.1002/ajmg.10406.

CONWAY, S. *et al*. Characterisation of human melatonin mt1 and MT2 receptors by CRE-luciferase reporter assay. **European Journal of Pharmacology**, v. 390, n. 1–2, p. 15–24, 2000. DOI: 10.1016/s0014-2999(99)00914-0.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. W1, p. W357–W364, 2019. DOI: 10.1093/nar/gkz382.

DE BODINAT, C. *et al*. Agomelatine, the first melatonergic antidepressant: discovery, characterization and development. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 9, n. 8, p. 628–642, 2010. DOI: 10.1038/nrd3140.

DE LIMA MENEZES, G. *et al*. Quantum mechanics insights into melatonin and analogs binding to melatonin MT1 and MT2 receptors. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 10922, 2024. DOI: 10.1038/s41598-024-59786-x.

DE MELLO, A. J.; MORETTI, M.; RODRIGUES, A. L. S. SARS-CoV-2 consequences for mental health: Neuroinflammatory pathways linking COVID-19 to anxiety and depression. **World Journal of Psychiatry**, v. 12, n. 7, p. 874–883, 2022. DOI: 10.5498/wjp.v12.i7.874.

DIAS ELPO ZOMKOWSKI, A. *et al*. Evidence for serotonin receptor subtypes involvement in agmatine antidepressant like-effect in the mouse forced swimming test. **Brain Research**, v. 1023, n. 2, p. 253–263, 2004. DOI: 10.1016/j.brainres.2004.07.041.

DI GIANNANTONIO, M.; MARTINOTTI, G. Anhedonia and major depression: The role of agomelatine. **European Neuropsychopharmacology**, v. 22, p. S505–S510, 2012. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2012.07.004.

DAILLY, E. *et al*. Dopamine, depression and antidepressants. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 18, n. 6, p. 601–607, 2004. DOI: 10.1111/j.1472-8206.2004.00287.x.

DINGLEDINE, R. *et al.* The glutamate receptor ion channels. **Pharmacological Reviews**, v. 51, n. 1, p. 7–61, 1999.

DONTENWILL, M. *et al*. IRAS Is an Anti‐Apoptotic Protein. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1009, n. 1, p. 400–412, 2003. DOI: 10.1196/annals.1304.054.

EASTMAN, P. *et al*. OpenMM 7: Rapid development of high performance algorithms for molecular dynamics. **PLOS Computational Biology**, v. 13, n. 7, p. e1005659, 2017. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005659.

ESHEL, N. *et al*. Dopamine neurons share common response function for reward prediction error. **Nature Neuroscience**, v. 19, n. 3, p. 479–486, 2016. DOI: 10.1038/nn.4239.

FERRARI, A. J. *et al*. The Burden Attributable to Mental and Substance Use Disorders as Risk Factors for Suicide: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, p. e91936, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0091936.

FELDER, C. C. Muscarinic acetylcholine receptors: signal transduction through multiple effectors. **FASEB Journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 9, n. 8, p. 619–625, 1995. PMID: 7768353.

FOSTER, R. G. Melatonin. **Current Biology**, v. 31, n. 22, p. R1456–R1458, 2021. DOI: 10.1016/j.cub.2021.10.029.

FREITAS, A. E.; NEIS, V. B.; RODRIGUES, A. L. S. Agmatine, a potential novel therapeutic strategy for depression. **European Neuropsychopharmacology**, v. 26, n. 12, p. 1885–1899, 2016. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2016.10.013.

FREITAS, A. E. *et al*. Agmatine, by Improving Neuroplasticity Markers and Inducing Nrf2, Prevents Corticosterone-Induced Depressive-Like Behavior in Mice. **Molecular Neurobiology**, v. 53, n. 5, p. 3030–3045, 2016. DOI: 10.1007/s12035-015-9182-6.

FREITAS, A. E. *et al*. Agmatine Induces Nrf2 and Protects Against Corticosterone Effects in Hippocampal Neuronal Cell Line. **Molecular Neurobiology**, v. 51, n. 3, p. 1504–1519, 2015. DOI: 10.1007/s12035-014-8827-1.

FREITAS, A. E. *et al*. Agmatine potentiates antidepressant and synaptic actions of ketamine: Effects on dendritic arbors and spines architecture and Akt/S6 kinase signaling. **Experimental Neurology**, v. 333, p. 113398, 2020. DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113398.

GAŁKA, N. *et al*. Gepirone for Major Depressive Disorder: From Pharmacokinetics to Clinical Evidence: A Narrative Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 19, p. 9805, 2025. DOI: 10.3390/ijms26199805.

GALYAMINA, A. G. *et al*. Interaction of Depression and Anxiety in the Development of Mixed Anxiety/Depression Disorder. Experimental Studies of the Mechanisms of Comorbidity (review). **Neuroscience and Behavioral Physiology**, v. 47, n. 6, p. 699–713, 2017. DOI: 10.1007/s11055-017-0458-3.

GAWALI, N. B. *et al*. Agmatine attenuates chronic unpredictable mild stress-induced anxiety, depression-like behaviours and cognitive impairment by modulating nitrergic signalling pathway. **Brain Research**, v. 1663, p. 66–77, 2017. DOI: 10.1016/j.brainres.2017.03.004.

GBD 2023 MENTAL DISORDER COLLABORATORS. Updated trends in the global prevalence and burden of mental disorders, 1990-2023: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2023. **Lancet (London, England)**, v. 407, n. 10543, p. 2040–2064, 2026. DOI: 10.1016/S0140-6736(26)00519-2.

GBD MENTAL DISORDERS COLLABORATORS. Global, regional, and national burden of 12 mental disorders in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. .**The Lancet Psychiatry**, v. 9, n. 2, p. 137–150, 2022. DOI: 10.1016/S2215-0366(21)00395-3.

GE, S. X.; JUNG, D.; YAO, R. ShinyGO: a graphical gene-set enrichment tool for animals and plants. **Bioinformatics**, v. 36, n. 8, p. 2628–2629, 2020. DOI: 10.1093/bioinformatics/btz931.

GENE ONTOLOGY CONSORTIUM. Gene Ontology Consortium: going forward. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. D1, p. D1049–D1056, 2015. DOI: 10.1093/nar/gku1179.

GIBBONS, A. S. *et al*. Decreased muscarinic receptor binding in the frontal cortex of bipolar disorder and major depressive disorder subjects. **Journal of Affective Disorders**, v. 116, n. 3, p. 184–191, 2009. DOI: 10.1016/j.jad.2008.11.015.

GRACE, A. A. Dysregulation of the dopamine system in the pathophysiology of schizophrenia and depression. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 17, n. 8, p. 524–532, 2016. DOI: 10.1038/nrn.2016.57.

GRÜNDEMANN, D. *et al*. Agmatine Is Efficiently Transported by Non-Neuronal Monoamine Transporters Extraneuronal Monoamine Transporter (EMT) and Organic Cation Transporter 2 (OCT2). **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 304, n. 2, p. 810–817, 2003. DOI: 10.1124/jpet.102.044404.

GUEDES, I. A. *et al*. DockThor-VS: A Free Platform for Receptor-Ligand Virtual Screening. **Journal of Molecular Biology**, v. 436, n. 17, p. 168548, 2024. DOI: 10.1016/j.jmb.2024.168548.

GUSMÃO, C. T. P. *et al*. Corticosterone-Induced Depression in Rats: Region-Specific and Time-Dependent Dysregulation of Glutamatergic Signaling, Synaptic Markers, and MMP-2 Expression. **Molecular Neurobiology**, v. 63, n. 1, p. 143, 2026. DOI: 10.1007/s12035-025-05286-6.

HALARIS, A. *et al*. Plasma Agmatine and Platelet Imidazoline Receptors in Depression [a]. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 881, n. 1, p. 445–451, 1999. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb09392.x.

HALPERT, G.; AMITAL, H.; SHOENFELD, Y. Dysregulation of G protein-coupled receptors of the autonomic nervous system, adrenergic and muscarinic acetylcholine receptors, in patients with autoimmune dysautonomic-related disorders. **Brain, Behavior, & Immunity - Health**, v. 4, p. 100056, 2020. DOI: 10.1016/j.bbih.2020.100056.

HANWELL, M. *et al*. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. **Journal of Cheminformatics**, v. 4, n. 1, p. 17, 2012. DOI: 10.1186/1758-2946-4-17.

HANSEN, K. B. *et al*. Structure, Function, and Pharmacology of Glutamate Receptor Ion Channels. **Pharmacological Reviews**, v. 73, n. 4, p. 1469–1658, 2021. DOI: 10.1124/pharmrev.120.000131.

HANSON, J. E. *et al*. Therapeutic potential of N-methyl-D-aspartate receptor modulators in psychiatry. **Neuropsychopharmacology**, v. 49, n. 1, p. 51–66, 2024. DOI: 10.1038/s41386-023-01614-3.

HAO, D.; REN, C.; LI, C. Revisiting the variation of clustering coefficient of biological networks suggests new modular structure. **BMC Systems Biology**, v. 6, n. 1, p. 34, 2012. DOI: 10.1186/1752-0509-6-34.

HE, M. *et al*. Functional tag SNPs inside the DRD2 gene as a genetic risk factor for major depressive disorder in the Chinese Han population. **International journal of clinical and experimental pathology**, v. 12, n. 2, p. 628–639, 2019. PMID: 31933869.

HE, P. K. *et al*. Idebenone-Activating Autophagic Degradation of α-Synuclein via Inhibition of AKT-mTOR Pathway in a SH-SY5Y-A53T Model of Parkinson's Disease: A Network Pharmacological Approach. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, p. 1–14, 2021. DOI: 10.1155/2021/8548380.

HEINZE, G. *et al*. Double-Blind Comparison of Moclobemide and Tranylcypromine in Depression. **Pharmacopsychiatry**, v. 26, n. 06, p. 240–245, 1993. DOI: 10.1055/s-2007-1014361.

HITGE, R.; PETZER, J. P.; PETZER, A. The inhibition of monoamine oxidase by 2H-1,4-benzothiazin-3(4H)-ones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 77, p. 129038, 2022. DOI: 10.1016/j.bmcl.2022.129038.

HOWLAND, R. H. A Benefit-Risk Assessment of Agomelatine in the Treatment of Major Depression. **Drug Safety**, v. 34, n. 9, p. 709–731, 2011. DOI: 10.2165/11593960-000000000-00000.

ILIEVA, K. *et al*. Chronic agomelatine treatment alleviates icvAβ-induced anxiety and depressive-like behavior through affecting Aβ metabolism in the hippocampus in a rat model of Alzheimer's disease. **Physiology & Behavior**, v. 239, p. 113525, 2021. DOI: 10.1016/j.physbeh.2021.113525.

INSTITUTE FOR HEALTH METRICS AND EVALUATION. **2021 Global Burden of Disease (GBD)** [base de dados on-line]. Seattle: Institute for Health Metrics and Evaluation, 2024. Disponível em: https://vizhub.healthdata.org/gbd-results/. Acesso em: 20 maio. 2026.

ISHIKAWA, T. *et al*. Selegiline ameliorates depression-like behaviors in rodents and modulates hippocampal dopaminergic transmission and synaptic plasticity. **Behavioural Brain Research**, v. 359, p. 353–361, 2019. DOI: 10.1016/j.bbr.2018.10.032.

JANSSON-FRÖJMARK, M.; LINDBLOM, K. A bidirectional relationship between anxiety and depression, and insomnia? A prospective study in the general population. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 64, n. 4, p. 443–449, 2008. DOI: 10.1016/j.jpsychores.2007.10.016.

JIANG, X.-Z. *et al*. 5-HT1A/1B receptors, alpha2-adrenoceptors and the post-receptor adenylate cyclase activation in the mice brain are involved in the antidepressant-like action of agmatine. **Yao xue xue bao = Acta pharmaceutica Sinica**, v. 43, n. 5, p. 467–73, 2008. PMID: 18717332.

JOHNSON, C. R. *et al*. Drug Design Targeting the Muscarinic Receptors and the Implications in Central Nervous System Disorders. **Biomedicines**, v. 10, n. 2, p. 398, 2022. DOI: 10.3390/biomedicines10020398.

JURRUS, E. *et al*. Improvements to the <scp>APBS</scp> biomolecular solvation software suite. **Protein Science**, v. 27, n. 1, p. 112–128, 2018. DOI: 10.1002/pro.3280.

KALE, M. *et al*. Agmatine modulates anxiety and depression-like behaviour in diabetic insulin-resistant rats. **Brain Research**, v. 1747, p. 147045, 2020. DOI: 10.1016/j.brainres.2020.147045.

KANEHISA, M. *et al*. KEGG: integrating viruses and cellular organisms. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. D545–D551, 2021. DOI: 10.1093/nar/gkaa970.

KARAISKOS, D. *et al*. Agomelatine and sertraline for the treatment of depression in type 2 diabetes mellitus. **International Journal of Clinical Practice**, v. 67, n. 3, p. 257–260, 2013. DOI: 10.1111/ijcp.12112.

KASTER, M. P. *et al*. Novel approaches for the management of depressive disorders. **European Journal of Pharmacology**, v. 771, p. 236–240, 2016. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.12.029.

KAUR GILL, A. *et al*. Gepirone hydrochloride: a novel antidepressant with 5-HT1A agonistic properties. **Drugs of Today**, v. 55, n. 7, p. 423, 2019. DOI: 10.1358/dot.2019.55.7.2958474.

KIM, J.-K. *et al*. Buspirone alleviates anxiety, depression, and colitis; and modulates gut microbiota in mice. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 6094, 2021. DOI: 10.1038/s41598-021-85681-w.

KIM, S. *et al*. PubChem 2025 update. **Nucleic Acids Research**, v. 53, n. D1, p. D1516–D1525, 2025. DOI: 10.1093/nar/gkae1059.

KITCHEN, D. B. *et al*. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 11, p. 935–949, 2004. DOI: 10.1038/nrd1549.

KNOX, C. *et al*. DrugBank 6.0: the DrugBank Knowledgebase for 2024. **Nucleic Acids Research**, v. 52, n. D1, p. D1265–D1275, 2024. DOI: 10.1093/nar/gkad976.

KORINEK, M. *et al*. Disease-Associated Variants in GRIN1, GRIN2A and GRIN2B genes: Insights into NMDA Receptor Structure, Function, and Pathophysiology. **Physiological Research**, , n. Suppl 1, p. S413–S434, 2024. DOI: 10.33549/physiolres.935346.

KOSCHÜTZKI, D.; SCHREIBER, F. Centrality Analysis Methods for Biological Networks and Their Application to Gene Regulatory Networks. **Gene Regulation and Systems Biology**, v. 2, 2008. DOI: 10.4137/grsb.s702.

KRASS, M. *et al*. Antidepressant-like effect of agmatine is not mediated by serotonin. **Behavioural Brain Research**, v. 188, n. 2, p. 324–328, 2008. DOI: 10.1016/j.bbr.2007.11.013.

KUTSUWADA, T. *et al*. Molecular diversity of the NMDA receptor channel. **Nature**, v. 358, n. 6381, p. 36–41, 1992. DOI: 10.1038/358036a0.

LAN, T. *et al*. Agomelatine rescues lipopolysaccharide-induced neural injury and depression-like behaviors via suppression of the Gαi-2-PKA-ASK1 signaling pathway. **Journal of Neuroinflammation**, v. 19, n. 1, p. 117, 2022. DOI: 10.1186/s12974-022-02479-x.

LANDOLT, H.‐P.; WEHRLE, R. Antagonism of serotonergic 5‐HT $_{2A/2C}$ receptors: mutual improvement of sleep, cognition and mood? **European Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 9, p. 1795–1809, 2009. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2009.06718.x.

LASKOWSKI, R. A.; SWINDELLS, M. B. LigPlot+: Multiple Ligand–Protein Interaction Diagrams for Drug Discovery. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 51, n. 10, p. 2778–2786, 2011. DOI: 10.1021/ci200227u.

LEACH, A. R.; SHOICHET, B. K.; PEISHOFF, C. E. Prediction of Protein−Ligand Interactions. Docking and Scoring: Successes and Gaps. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 20, p. 5851–5855, 2006. DOI: 10.1021/jm060999m.

LEE, L.-C. *et al*. Influence of Genetic Variants of the N-Methyl-D-Aspartate Receptor on Emotion and Social Behavior in Adolescents. **Neural Plasticity**, v. 2016, p. 1–8, 2016. DOI: 10.1155/2016/6851592.

LI, F. *et al*. IRAS Modulates Opioid Tolerance and Dependence by Regulating μ Opioid Receptor Trafficking. **Molecular Neurobiology**, v. 53, n. 7, p. 4918–4930, 2016. DOI: 10.1007/s12035-015-9417-6.

LI, G. *et al*. Agmatine: an Endogenous Clonidine-Displacing Substance in the Brain. **Science**, v. 263, n. 5149, p. 966–969, 1994. DOI: 10.1126/science.7906055.

LI, Y. F. *et al*. Antidepressant-like effect of agmatine and its possible mechanism. **European Journal of Pharmacology**, v. 469, n. 1–3, p. 81–88, 2003. DOI: 10.1016/s0014-2999(03)01735-7.

LIM, K.-P.; HONG, W. Human Nischarin/Imidazoline Receptor Antisera-selected Protein Is Targeted to the Endosomes by a Combined Action of a PX Domain and a Coiled-coil Region. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 52, p. 54770–54782, 2004. DOI: 10.1074/jbc.M411315200.

LIU, J. *et al*. MT1 and MT2 Melatonin Receptors: A Therapeutic Perspective. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 56, n. 1, p. 361–383, 2016. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010814-124742.

LONNQVIST, J. *et al*. Moclobemide and fluoxetine in atypical depression: a double-blind trial. **Journal of Affective Disorders**, v. 32, n. 3, p. 169–177, 1994. DOI: 10.1016/0165-0327(94)90015-9.

MANTOVANI, M. *et al*. Melatonin exerts an antidepressant-like effect in the tail suspension test in mice: evidence for involvement of N-methyl-d-aspartate receptors and the l-arginine-nitric oxide pathway. **Neuroscience Letters**, v. 343, n. 1, p. 1–4, 2003. DOI: 10.1016/s0304-3940(03)00306-9.

MARI, M. *et al*. 2-Arylmelatonin analogues: Probing the 2-phenyl binding pocket of melatonin MT1 and MT2 receptors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 243, p. 114762, 2022. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.114762.

MARX, W. *et al*. Major depressive disorder. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 9, n. 1, p. 44, 2023. DOI: 10.1038/s41572-023-00454-1.

MASUDA, N. *et al*. Clustering Coefficients for Correlation Networks. **Frontiers in Neuroinformatics**, v. 12, 2018. DOI: 10.3389/fninf.2018.00007.

MCEWEN, B. Allostasis and Allostatic Load Implications for Neuropsychopharmacology. **Neuropsychopharmacology**, v. 22, n. 2, p. 108–124, 2000. DOI: 10.1016/s0893-133x(99)00129-3.

MEDEIROS, G. C. *et al*. Personalized use of ketamine and esketamine for treatment-resistant depression. **Translational Psychiatry**, v. 14, n. 1, p. 481, 2024. DOI: 10.1038/s41398-024-03180-8.

MEHRZADI, S. *et al*. Study of the Antidepressant Effects of the Combination of Agmatine and Melatonin Following Restraint Stress in Mice: the Role of Oxidative Factors. **Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 1, p. 95–102, 2026. DOI: 10.2174/0118715249347833250307041355.

MEYLAN, E. M. *et al*. Involvement of the agmatinergic system in the depressive-like phenotype of the Crtc1 knockout mouse model of depression. **Translational Psychiatry**, v. 6, n. 7, p. e852–e852, 2016. DOI: 10.1038/tp.2016.116.

MIELNIK, C. A. *et al*. Consequences of NMDA receptor deficiency can be rescued in the adult brain. **Molecular Psychiatry**, v. 26, n. 7, p. 2929–2942, 2021. DOI: 10.1038/s41380-020-00859-4.

MILLAN, M. J. *et al*. The Novel Melatonin Agonist Agomelatine (S20098) Is an Antagonist at 5-Hydroxytryptamine2C Receptors, Blockade of Which Enhances the Activity of Frontocortical Dopaminergic and Adrenergic Pathways. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 306, n. 3, p. 954–964, 2003. DOI: 10.1124/jpet.103.051797.

MILLER, A. H. Conceptual Confluence: The Kynurenine Pathway as a Common Target for Ketamine and the Convergence of the Inflammation and Glutamate Hypotheses of Depression. **Neuropsychopharmacology**, v. 38, n. 9, p. 1607–1608, 2013. DOI: 10.1038/npp.2013.140.

MION, G.; VILLEVIEILLE, T. Ketamine Pharmacology: An Update (*Pharmacodynamics and Molecular Aspects, Recent Findings*). **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 19, n. 6, p. 370–380, 2013. DOI: 10.1111/cns.12099.

MOEZI, L. *et al*. The interaction of melatonin and agmatine on pentylenetetrazole-induced seizure threshold in mice. **Epilepsy & Behavior**, v. 22, n. 2, p. 200–206, 2011. DOI: 10.1016/j.yebeh.2011.07.002.

MOLDERINGS, G. J. *et al*. Inhibition of 5-HT3 receptor function by imidazolines in mouse neuroblastoma cells: potential involvement of ?2 binding sites. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 354, n. 3, 1996. DOI: 10.1007/BF00171054.

MONTGOMERY, S. *et al*. Minaprine and Dose Response in Depression. An Investigation of Two Fixed Doses of Minaprine Compared with Imipramine. **Pharmacopsychiatry**, v. 24, n. 05, p. 168–174, 1991. DOI: 10.1055/s-2007-1014463.

MONTOJO, J. *et al*. GeneMANIA: Fast gene network construction and function prediction for Cytoscape. **F1000Research**, v. 3, p. 153, 2014. DOI: 10.12688/f1000research.4572.1.

MONYER, H. *et al*. Heteromeric NMDA Receptors: Molecular and Functional Distinction of Subtypes. **Science**, v. 256, n. 5060, p. 1217–1221, 1992. DOI: 10.1126/science.256.5060.1217.

MORIGUCHI, S. *et al*. Glutamatergic neurometabolite levels in major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis of proton magnetic resonance spectroscopy studies. **Molecular Psychiatry**, v. 24, n. 7, p. 952–964, 2019. DOI: 10.1038/s41380-018-0252-9.

MORIYOSHI, K. *et al*. Molecular cloning and characterization of the rat NMDA receptor. **Nature**, v. 354, n. 6348, p. 31–37, 1991. DOI: 10.1038/354031a0.

MUSSHOFF, U. *et al*. Melatonin receptors in rat hippocampus: molecular and functional investigations. **Hippocampus**, v. 12, n. 2, p. 165–173, 2002. DOI: 10.1002/hipo.1105.

NEIS, V. B. *et al*. Depressive-like behavior induced by tumor necrosis factor-α is abolished by agmatine administration. **Behavioural Brain Research**, v. 261, p. 336–344, 2014. DOI: 10.1016/j.bbr.2013.12.038.

NEIS, V. B. *et al*. Acute agmatine administration, similar to ketamine, reverses depressive-like behavior induced by chronic unpredictable stress in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 150–151, p. 108–114, 2016a. DOI: 10.1016/j.pbb.2016.10.004.

NEIS, V. B. *et al*. Agmatine produces antidepressant-like effects by activating AMPA receptors and mTOR signaling. **European Neuropsychopharmacology**, v. 26, n. 6, p. 959–971, 2016b. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2016.03.009.

NEIS, V. B. *et al*. Single administration of agmatine reverses the depressive-like behavior induced by corticosterone in mice: Comparison with ketamine and fluoxetine. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 173, p. 44–50, 2018. DOI: 10.1016/j.pbb.2018.08.005.

NEIS, V. B. *et al*. Therapeutic potential of agmatine for CNS disorders. **Neurochemistry International**, v. 108, p. 318–331, 2017. DOI: 10.1016/j.neuint.2017.05.006.

OCHOA-SANCHEZ, R. *et al*. Anxiolytic effects of the melatonin MT2 receptor partial agonist UCM765: Comparison with melatonin and diazepam. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 39, n. 2, p. 318–325, 2012. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2012.07.003.

OHAYON, M. M.; ROTH, T. Place of chronic insomnia in the course of depressive and anxiety disorders. **Journal of Psychiatric Research**, v. 37, n. 1, p. 9–15, 2003. DOI: 10.1016/S0022-3956(02)00052-3.

OLIVEROS, J. C. **Venny: an interactive tool for comparing lists with Venn's diagrams**. 2007-2015. Disponível em: https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html. Acesso em: 10 fev. 2026.

OSTADHADI, S. *et al*. Nitric oxide involvement in additive antidepressant-like effect of agmatine and lithium in mice forced swim test. **Psychiatry Research**, v. 266, p. 262–268, 2018. DOI: 10.1016/j.psychres.2018.03.010.

OSTOVAN, V. R. *et al*. The effects of subchronic agmatine on passive avoidance memory, anxiety-like behavior and hippocampal Akt/GSK-3β in mice. **Behavioural Pharmacology**, v. 33, n. 1, p. 42–50, 2022. DOI: 10.1097/FBP.0000000000000666.

OTTE, C. *et al*. Major depressive disorder. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, n. 1, p. 16065, 2016. DOI: 10.1038/nrdp.2016.65.

ÖZBAŞAK, H. *et al*. Agmatine Enhances Dorsal Raphe Serotonergic Neuronal Activity via Dual Regulation of 5-HT1B and 5-HT2A Receptors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 7, p. 3087, 2025. DOI: 10.3390/ijms26073087.

PAN, X. *et al*. MolGpka: A Web Server for Small Molecule p K_a Prediction Using a Graph-Convolutional Neural Network. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 61, n. 7, p. 3159–3165, 2021. DOI: 10.1021/acs.jcim.1c00075.

PANDIT, R. *et al*. Melanocortin 3 Receptor Signaling in Midbrain Dopamine Neurons Increases the Motivation for Food Reward. **Neuropsychopharmacology**, v. 41, n. 9, p. 2241–2251, 2016. DOI: 10.1038/npp.2016.19.

PAOLETTI, P.; NEYTON, J. NMDA receptor subunits: function and pharmacology. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 39–47, 2007. DOI: 10.1016/j.coph.2006.08.011.

PAPP, M. *et al*. Effect of Agomelatine in the Chronic Mild Stress Model of Depression in the Rat. **Neuropsychopharmacology**, v. 28, n. 4, p. 694–703, 2003. DOI: 10.1038/sj.npp.1300091.

PAUDEL, M. L. *et al*. Association Between Depressive Symptoms and Sleep Disturbances in Community‐Dwelling Older Men. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 56, n. 7, p. 1228–1235, 2008. DOI: 10.1111/j.1532-5415.2008.01753.x.

PETROFF, O. A. C. Book Review: GABA and Glutamate in the Human Brain. **The Neuroscientist**, v. 8, n. 6, p. 562–573, 2002. DOI: 10.1177/1073858402238515.

PETTERSEN, E. F. *et al*. UCSF Chimera—A visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1605–1612, 2004. DOI: 10.1002/jcc.20084.

PIERCE, K. L.; PREMONT, R. T.; LEFKOWITZ, R. J. Seven-transmembrane receptors. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 3, n. 9, p. 639–650, 2002. DOI: 10.1038/nrm908.

PILETZ, J. E. *et al*. Agmatine: clinical applications after 100 years in translation. **Drug Discovery Today**, v. 18, n. 17–18, p. 880–893, 2013. DOI: 10.1016/j.drudis.2013.05.017.

PILETZ, J.; WANG, G.; ZHU, H. Cell Signaling by Imidazoline‐1 Receptor Candidate, IRAS, and the Nischarin Homologue. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1009, n. 1, p. 392–399, 2003a. DOI: 10.1196/annals.1304.053.

PILETZ, J. *et al*. IRAS Splice Variants. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1009, n. 1, p. 419–426, 2003b. DOI: 10.1196/annals.1304.056.

PLATZER, K. *et al*. *GRIN2B* encephalopathy: novel findings on phenotype, variant clustering, functional consequences and treatment aspects. **Journal of Medical Genetics**, v. 54, n. 7, p. 460–470, 2017. DOI: 10.1136/jmedgenet-2016-104509.

POSIT TEAM. **RStudio: Integrated Development Environment for R**. Boston, MA: Posit Software, PBC, 2026. Disponível em: http://www.posit.co/. Acesso em: 15 abr. 2026.

POTTER, D. E.; CHOUDHURY, M. Ketamine: repurposing and redefining a multifaceted drug. **Drug Discovery Today**, v. 19, n. 12, p. 1848–1854, 2014. DOI: 10.1016/j.drudis.2014.08.017.

QI, D.; CHEN, K. Bioinformatics Analysis of Potential Biomarkers and Pathway Identification for Major Depressive Disorder. **Computational and Mathematical Methods in Medicine**, v. 2021, p. 1–11, 2021. DOI: 10.1155/2021/3036741.

RAGUENEAU, E. *et al*. The Reactome Knowledgebase 2026. **Nucleic Acids Research**, v. 54, n. D1, p. D673–D681, 2026. DOI: 10.1093/nar/gkaf1223.

RASK-ANDERSEN, M.; MASURAM, S.; SCHIÖTH, H. B. The Druggable Genome: Evaluation of Drug Targets in Clinical Trials Suggests Major Shifts in Molecular Class and Indication. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 54, n. 1, p. 9–26, 2014. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-011613-135943.

REGUNATHAN, S.; PILETZ, J. E. Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase and Agmatine Synthesis in Macrophages and Astrocytes. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1009, n. 1, p. 20–29, 2003. DOI: 10.1196/annals.1304.002.

RESSLER, K. J.; NEMEROFF, C. B. Role of serotonergic and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders. **Depression and Anxiety**, v. 12, Suppl. 1, p. 2–19, 2000. DOI: 10.1002/1520-6394(2000)12:1+<2::AID-DA2>3.0.CO;2-4.

REYNOLDS, C. F.; O'HARA, R. DSM-5 Sleep-Wake Disorders Classification: Overview for Use in Clinical Practice. **American Journal of Psychiatry**, v. 170, n. 10, p. 1099–1101, 2013. DOI: 10.1176/appi.ajp.2013.13010058.

RIEMANN, D. Insomnia and comorbid psychiatric disorders. **Sleep Medicine**, v. 8, p. S15–S20, 2007. DOI: 10.1016/S1389-9457(08)70004-2.

RIFFENBURGH, R. H. Managing Results of Analysis. In: RIFFENBURGH, R. H. **Statistics in Medicine**. 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 2012. p. 325–343.

ROBINSON, D. S.; SITSEN, J. M. A.; GIBERTINI, M. A review of the efficacy and tolerability of immediate-release and extended-release formulations of gepirone. **Clinical Therapeutics**, v. 25, n. 6, p. 1618–1633, 2003. DOI: 10.1016/s0149-2918(03)80159-5.

ROPP, P. J. *et al*. Dimorphite-DL: an open-source program for enumerating the ionization states of drug-like small molecules. **Journal of Cheminformatics**, v. 11, n. 1, p. 14, 2019. DOI: 10.1186/s13321-019-0336-9.

RUFFIN, V. A. *et al*. Intracellular pH regulation by acid-base transporters in mammalian neurons. **Frontiers in Physiology**, v. 5, 2014. DOI: 10.3389/fphys.2014.00043.

RUSHAIDHI, M. *et al*. Agmatine selectively improves behavioural function in aged male Sprague–Dawley rats. **Neuroscience**, v. 218, p. 206–215, 2012. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.05.015.

SADYBEKOV, A. V.; KATRITCH, V. Computational approaches streamlining drug discovery. **Nature**, v. 616, n. 7958, p. 673–685, 2023. DOI: 10.1038/s41586-023-05905-z.

SAFRAN, M. *et al*. The GeneCards Suite. **Practical Guide to Life Science Databases**. p.27–56, 2021. Singapore: Springer Nature Singapore. DOI: 10.1007/978-981-16-5812-9_2.

SAHIN OZKARTAL, C. *et al*. Antidepressant-like effects of agmatine and NOS inhibitors in chronic unpredictable mild stress model of depression in rats: The involvement of NLRP inflammasomes. **Brain Research**, v. 1725, p. 146438, 2019. DOI: 10.1016/j.brainres.2019.146438.

SAN, L.; ARRANZ, B. Agomelatine: A novel mechanism of antidepressant action involving the melatonergic and the serotonergic system. **European Psychiatry**, v. 23, n. 6, p. 396–402, 2008. DOI: 10.1016/j.eurpsy.2008.04.002.

SANACORA, G.; TRECCANI, G.; POPOLI, M. Towards a glutamate hypothesis of depression. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 1, p. 63–77, 2012. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2011.07.036.

SANTAGOSTINO-BARBONE, M. G. *et al*. 2-Phenylmelatonin: A Partial Agonist at Enteric Melatonin Receptors. **Pharmacology and Toxicology**, v. 87, n. 4, p. 156–160, 2000. DOI: 10.1034/j.1600-0773.2000.d01-66.x.

SANTOS, R. *et al*. A comprehensive map of molecular drug targets. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 16, n. 1, p. 19–34, 2017. DOI: 10.1038/nrd.2016.230.

SERRETTI, A. Anhedonia: Current and future treatments. **Psychiatry and Clinical Neurosciences Reports**, v. 4, n. 1, 2025. DOI: 10.1002/pcn5.70088.

SHANNON, P. *et al*. Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks. **Genome Research**, v. 13, n. 11, p. 2498–2504, 2003. DOI: 10.1101/gr.1239303.

SHARP, T.; COLLINS, H. Mechanisms of SSRI Therapy and Discontinuation. **Current Topics in Behavioral Neurosciences**, v. 66, p. 21–47, 2024. DOI: 10.1007/7854_2023_452.

SHEN, Z.; YU, M.; ZHANG, S. Network Pharmacology and Molecular Docking Analyses Unveil the Mechanisms of Yiguanjian Decoction against Parkinson's Disease from Inner/Outer Brain Perspective. **BioMed Research International**, v. 2022, n. 1, 2022. DOI: 10.1155/2022/4758189.

SHORT, B. *et al*. Side-effects associated with ketamine use in depression: a systematic review. **The Lancet Psychiatry**, v. 5, n. 1, p. 65–78, 2018. DOI: 10.1016/S2215-0366(17)30272-9.

SILVA, R. C. B.; BRANDÃO, M. L. Acute and Chronic Effects of Gepirone and Fluoxetine in Rats Tested in the Elevated Plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 65, n. 2, p. 209–216, 2000. DOI: 10.1016/s0091-3057(99)00193-8.

SRINIVASAN, V. *et al*. Melatonin agonists for treatment of sleep and depressive disorders. **Journal of Experimental and Integrative Medicine**, v. 1, n. 3, p. 149, 2011. DOI: 10.5455/jeim.100511.ir.005.

SRIRAM, K.; INSEL, P. A. G Protein-Coupled Receptors as Targets for Approved Drugs: How Many Targets and How Many Drugs? **Molecular Pharmacology**, v. 93, n. 4, p. 251–258, 2018. DOI: 10.1124/mol.117.111062.

STELZER, G. *et al*. The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses. **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 54, n. 1, 2016. DOI: 10.1002/cpbi.5.

SWAIN, M. chemicalize.org. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 52, n. 2, p. 613–615, 2012. DOI: 10.1021/ci300046g.

SZKLARCZYK, D. *et al*. The STRING database in 2025: protein networks with directionality of regulation. **Nucleic Acids Research**, v. 53, n. D1, p. D730–D737, 2025. DOI: 10.1093/nar/gkae1113.

TAVARES, M. K. *et al*. Agmatine potentiates neuroprotective effects of subthreshold concentrations of ketamine via mTOR/S6 kinase signaling pathway. **Neurochemistry International**, v. 118, p. 275–285, 2018. DOI: 10.1016/j.neuint.2018.05.006.

THAMBYRAJAH, J. *et al*. Serum melatonin and serotonin levels in long-term skilled meditators. **EXPLORE**, v. 19, n. 5, p. 695–701, 2023. DOI: 10.1016/j.explore.2023.03.006.

THASE, M.; TRIVEDI, M.H.; RUSH, A. J. MAOIs in the Contemporary Treatment of Depression. **Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 12, n. 3, p. 185–219, 1995. DOI: 10.1016/0893-133X(94)00058-8.

THOMPSON, A. J.; LUMMIS, S. C. The 5-HT $_3$ receptor as a therapeutic target. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 11, n. 4, p. 527–540, 2007. DOI: 10.1517/14728222.11.4.527.

THOMPSON, S. M. *et al*. An excitatory synapse hypothesis of depression. **Trends in Neurosciences**, v. 38, n. 5, p. 279–294, 2015. DOI: 10.1016/j.tins.2015.03.003.

UZBAY, T. I. The pharmacological importance of agmatine in the brain. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 36, n. 1, p. 502–519, 2012. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2011.08.006.

VALENTI, O.; LODGE, D. J.; GRACE, A. A. Aversive Stimuli Alter Ventral Tegmental Area Dopamine Neuron Activity via a Common Action in the Ventral Hippocampus. **The Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 11, p. 4280–4289, 2011. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5310-10.2011.

VALENTI, O.; GILL, K. M.; GRACE, A. A. Different stressors produce excitation or inhibition of mesolimbic dopamine neuron activity: response alteration by stress pre‐exposure. **European Journal of Neuroscience**, v. 35, n. 8, p. 1312–1321, 2012. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2012.08038.x.

VALVERDE, A. P.; CAMARGO, A.; RODRIGUES, A. L. S. Agmatine as a novel candidate for rapid-onset antidepressant response. **World Journal of Psychiatry**, v. 11, n. 11, p. 981–996, 2021. DOI: 10.5498/wjp.v11.i11.981.

VAN DEN EYNDE, V. *et al*. The prescriber's guide to classic MAO inhibitors (phenelzine, tranylcypromine, isocarboxazid) for treatment-resistant depression. **CNS Spectrums**, v. 28, n. 4, p. 427–440, 2023. DOI: 10.1017/S1092852922000906.

VILLAS BOAS, G. R. *et al*. Molecular aspects of depression: A review from neurobiology to treatment. **European Journal of Pharmacology**, v. 851, p. 99–121, 2019. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.02.024.

WARDE-FARLEY, D. *et al*. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. **Nucleic Acids Research**, v. 38, n. suppl_2, p. W214–W220, 2010. DOI: 10.1093/nar/gkq537.

WANG, J. C. *et al*. Evidence of common and specific genetic effects: association of the muscarinic acetylcholine receptor M2 (CHRM2) gene with alcohol dependence and major depressive syndrome. **Human Molecular Genetics**, v. 13, n. 17, p. 1903–1911, 2004. DOI: 10.1093/hmg/ddh194.

WANG, L.-Y. *et al*. Characterization of the Specificity of Imidazoline I-1 Receptor Antibody for Subtype of Imidazoline Receptors In Vitro. **Hormone and Metabolic Research**, v. 45, n. 07, p. 485–489, 2013. DOI: 10.1055/s-0033-1333765.

WANG, W.-P. *et al*. Agmatine protects against cell damage induced by NMDA and glutamate in cultured hippocampal neurons. **Brain Research**, v. 1084, n. 1, p. 210–216, 2006. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.02.024.

WEININGER, D. SMILES, a chemical language and information system. 1. Introduction to methodology and encoding rules. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 28, n. 1, p. 31–36, 1988. DOI: 10.1021/ci00057a005.

WINGO, T. S. *et al*. Shared mechanisms across the major psychiatric and neurodegenerative diseases. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, p. 4314, 2022. DOI: 10.1038/s41467-022-31873-5.

WINTER, T. N.; ELMQUIST, W. F.; FAIRBANKS, C. A. OCT2 and MATE1 Provide Bidirectional Agmatine Transport. **Molecular Pharmaceutics**, v. 8, n. 1, p. 133–142, 2011. DOI: 10.1021/mp100180a.

WIRZ-JUSTICE, A. Biological rhythm disturbances in mood disorders. **International Clinical Psychopharmacology**, v. 21, n. Supplement 1, p. S11–S15, 2006. DOI: 10.1097/01.yic.0000195660.37267.cf.

WISE, R. A. Dopamine and reward: The anhedonia hypothesis 30 years on. **Neurotoxicity Research**, v. 14, n. 2–3, p. 169–183, 2008. DOI: 10.1007/BF03033808.

WISE, R. A. Dopamine, learning and motivation. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 5, n. 6, p. 483–494, 2004. DOI: 10.1038/nrn1406.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Anxiety disorders**. 2025. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/anxiety-disorders. Acesso em: 20 maio. 2026.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Depressive Disorder (depression)**. 2025. Disponível em: https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/depression. Acesso em: 20 maio. 2026.

XIAO, Y.-G. *et al*. Exploring the Potential Antidepressant Mechanisms of Pinellia by Using the Network Pharmacology and Molecular Docking. **Metabolic Brain Disease**, v. 37, n. 4, p. 1071–1094, 2022. DOI: 10.1007/s11011-022-00930-9.

XIONG, L. *et al*. Exploration in the Therapeutic and Multi-Target Mechanism of Ketamine on Cerebral Ischemia Based on Network Pharmacology and Molecular Docking. **International Journal of General Medicine**, v. Volume 15, p. 4195–4208, 2022. DOI: 10.2147/IJGM.S345884.

XU, J.; LEI, H. Ketamine‐An Update on Its Clinical Uses and Abuses. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 20, n. 12, p. 1015–1020, 2014. DOI: 10.1111/cns.12363.

YANG, X.-C.; REIS, D. J. Agmatine Selectively Blocks the N-Methyl-d-Aspartate Subclass of Glutamate Receptor Channels in Rat Hippocampal Neurons. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 288, n. 2, p. 544–549, 1999. DOI: 10.1016/S0022-3565(24)37988-1.

YING, S.-W. *et al*. Melatonin analogues as agonists and antagonists in the circadian system and other brain areas. **European Journal of Pharmacology**, v. 296, n. 1, p. 33–42, 1996. DOI: 10.1016/0014-2999(95)00684-2.

YOUS, S. *et al.* Novel naphthalenic ligands with high affinity for the melatonin receptor. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 35, p. 1484–1486, 1992. DOI: 10.1021/jm00086a018.

ZARATE, C. A. *et al*. A Randomized Trial of an N-methyl-D-aspartate Antagonist in Treatment-Resistant Major Depression. **Archives of General Psychiatry**, v. 63, n. 8, p. 856, 2006. DOI: 10.1001/archpsyc.63.8.856.

ZDRAZIL, B. *et al*. The ChEMBL Database in 2023: a drug discovery platform spanning multiple bioactivity data types and time periods. **Nucleic Acids Research**, v. 52, n. D1, p. D1180–D1192, 2024. DOI: 10.1093/nar/gkad1004.

ZHANG, J.; ABDEL-RAHMAN, A. A. Nischarin as a functional imidazoline (I_1) receptor. **FEBS Letters**, v. 580, n. 13, p. 3070–3074, 2006. DOI: 10.1016/j.febslet.2006.04.058.

ZHANG, Z. *et al*. Integration of Network Pharmacology and Molecular Docking Technology Reveals the Mechanism of the Therapeutic Effect of Xixin Decoction on Alzheimer's Disease. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 25, n. 10, p. 1785–1804, 2022. DOI: 10.2174/1386207325666220523151119.

ZIEGLER, C.; DOMSCHKE, K. Epigenetic signature of MAOA and MAOB genes in mental disorders. **Journal of Neural Transmission**, v. 125, n. 11, p. 1581–1588, 2018. DOI: 10.1007/s00702-018-1929-6.

APÊNDICE A – NOMENCLATURA OFICIAL DOS GENES PRESENTES NAS TABELAS 1 A 5 EM ORDEM ALFABÉTICA SEGUNDO O BANCO DE DADOS HGNC

Símbolo dos genes	Nomenclatura oficial dos genes
AADAT	aminoadipate aminotransferase
ADRA1A	adrenoceptor alpha 1A
ADRA1B	adrenoceptor alpha 1B
ADRA1D	adrenoceptor alpha 1D
ADRA2A	adrenoceptor alpha 2A
ADRA2C	adrenoceptor alpha 2C
AKT1	AKT serine/threonine kinase 1
AZIN2	antizyme inhibitor 2
BSG	basigin
CA1	carbonic anhydrase 1
CA2	carbonic anhydrase 2
CA3	carbonic anhydrase 3
CA4	carbonic anhydrase 4
CA5A	carbonic anhydrase 5A
CA5B	carbonic anhydrase 5B
CA6	carbonic anhydrase 6
CA7	carbonic anhydrase 7
CA13	carbonic anhydrase 13
CA14	carbonic anhydrase 14
CCL2	c-c motif chemokine ligand 2
CHEK1	checkpoint kinase 1
CHRM1	cholinergic receptor muscarinic 1
CHRM2	cholinergic receptor muscarinic 2
CHRM3	cholinergic receptor muscarinic 3
CHRM4	cholinergic receptor muscarinic 4
CHRM5	cholinergic receptor muscarinic 5
CHRNA2	cholinergic receptor nicotinic alpha 2 subunit
CHRNA3	cholinergic receptor nicotinic alpha 3 subunit
CHRNA4	cholinergic receptor nicotinic alpha 4 subunit

Símbolo dos genes	Nomenclatura oficial dos genes
CHRNA7	cholinergic receptor nicotinic alpha 7 subunit
CHRNB3	cholinergic receptor nicotinic beta 3 subunit
CHRNB4	cholinergic receptor nicotinic beta 4 subunit
COMT	catechol-O-methyltransferase
CYP2A6	cytochrome p450 family 2 subfamily A member 6
DRD1	dopamine receptor D1
DRD2	dopamine receptor D2
DRD3	dopamine receptor D3
GNA11	G protein subunit alpha 11
GNAI1	G protein subunit alpha i1
GNAQ	G protein subunit alpha q
GNB1	G protein subunit beta 1
GNG2	G protein subunit gamma 2
GNG12	G protein subunit gamma 12
GNAS	Guanine nucleotide-binding protein G(s) subunit alpha isoforms XLas
GPR55	G protein-coupled receptor 55
GPR152	G protein-coupled receptor 152
GRIN1	glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 1
HRH1	histamine receptor H1
HRH2	histamine receptor H2
HRH3	histamine receptor H3
HTR1A	5-hydroxytryptamine receptor 1A
HTR1B	5-hydroxytryptamine receptor 1B
HTR1D	5-hydroxytryptamine receptor 1D
HTR1E	5-hydroxytryptamine receptor 1E
HTR1F	5-hydroxytryptamine receptor 1F
HTR2A	5-hydroxytryptamine receptor 2A
HTR2B	5-hydroxytryptamine receptor 2B
HTR2C	5-hydroxytryptamine receptor 2C
HTR5A	5-hydroxytryptamine receptor 5A
HTR6	5-hydroxytryptamine receptor 6

Símbolo dos genes	Nomenclatura oficial dos genes
HTR7	5-hydroxytryptamine receptor 7
HTT	huntingtin
ITPR1	inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1
KAT2B	lysine acetyltransferase 2B
KCNH2	potassium voltage-gated channel subfamily H member 2
MAOA	monoamine oxidase A
MAOB	monoamine oxidase B
MAPK10	mitogen-activated protein kinase 10
MPO	myeloperoxidase
MTNR1A	melatonin receptor 1A
MTRR	5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase reductase
NDOR1	NADPH dependent diflavin oxidoreductase 1
NISCH	nischarin
NOS1	nitric oxide synthase 1
NOS2	nitric oxide synthase 2
NOS3	nitric oxide synthase 3
ODC1	ornithine decarboxylase 1
OPRL1	opioid related nociceptin receptor 1
PDE10A	phosphodiesterase 10A
PLCB2	phospholipase C beta 2
PNMT	phenylethanolamine N-methyltransferase
PRKCA	protein kinase C alpha
PRKCB	protein kinase C beta
PRKCE	protein kinase C epsilon
PRKCD	protein kinase C delta
PTPRZ1	protein tyrosine phosphatase receptor type Z1
RGD1562036	similar to ornithine decarboxylase
SIGMAR1	sigma non-opioid intracellular receptor 1
SLC6A2	solute carrier family 6 member 2
SLC6A3	solute carrier family 6 member 3
SLC6A4	solute carrier family 6 member 4

Símbolo dos genes	Nomenclatura oficial dos genes
SLC6A16	solute carrier family 6 member 16
SLC18A2	solute carrier family 18 member A2
TRPA1	transient receptor potential cation channel subfamily A member 1
TYW1	tRNA-yW synthesizing protein 1 homolog

APÊNDICE B – NOME E ID DO PDB DOS LIGANTES PRESENTES NA TABELA 7

ID dos ligantes no PDB	Nome dos ligantes (PubChem)
JC9 (S-KET)	esketamine
GLU	glutamate
GLY	glycine
CGZ	A 61603
T0B	ciclazosin
CZX	dexmedetomidine
E33	(8aR,12aS,13aR)-12-ethylsulfonyl-3-methoxy-5,6,8,8a,9,10,11,12a,13,13a-decahydroisoquinolino[2,1-g][1,6]naphthyridine
JTZ	(S)-alprenolol
0HK	(3H)tiotropium
QNB	quinuclidinyl benzilate
IXO	iperoxo
7LD	lysergic acid diethylamide “LSD”
8NU	risperidone
G6O	(4aR,10bR)-3,4,4a,10b-tetrahydro-4-propyl-2H,5H-(1)benzopyrano(4,3-b)-1,4-oxazin-9-ol
AQD	nemonapride
R5F	rotigotine
HSM	histamine
SRO	serotonin

ID dos ligantes no PDB	Nome dos ligantes (PubChem)
ERM	ergotamine
WRU	mianserin
ZOT	zotepine
E2J	ritanserin
VTX	vortioxetine
8K3	5-carboxamidotryptamine
JEV	ramelteon
JEY	2-phenylmelatonin
61W	1-propyl-5-(3-p-tolylisoxazol-5-yl) -1,2,3,6-tetrahydropyridine