

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

JULIA PERES ANDREOTTI

EFEITOS DO CANABIGEROL NA MEMÓRIA CONTEXTUAL AVERSIVA

BELO HORIZONTE
2024

JULIA PERES ANDREOTTI

EFEITOS DO CANABIGEROL NA MEMÓRIA CONTEXTUAL AVERSIVA

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestra em Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício de Araújo
Moreira

BELO HORIZONTE

2024

043

Andreotti, Julia Peres.

Efeitos do canabigerol na memória contextual aversiva [manuscrito] / Julia Peres Andreotti. – 2024.

67 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício de Araújo Moreira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

1. Neurociências. 2. Canabinoides. 3. Memória. 4. Medo. I. Moreira, Fabrício de Araújo. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 612.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

Efeitos do canabigerol na memória contextual aversivas

JÚLIA PERES ANDREOTTI

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em NEUROCIÊNCIAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em NEUROCIÊNCIAS, área de concentração NEUROCIÊNCIAS BÁSICAS.

Aprovada em 30 de agosto de 2024, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Fabiola Mara Ribeiro

UFMG

Prof(a). Grace Schennato Pereira Moraes

UFMG

Prof(a). Fabricio de Araujo Moreira - Orientador

UFMG

Belo Horizonte, 30 de agosto de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Fabricio de Araujo Moreira, Professor do Magistério Superior**, em 04/09/2024, às 08:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Grace Schenatto Pereira Moraes, Professora do Magistério Superior**, em 04/09/2024, às 08:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabiola Mara Ribeiro, Professora do Magistério Superior**, em 09/09/2024, às 15:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3477635** e o código CRC **A57EACF1**.

Referência: Processo nº 23072.246752/2024-52

SEI nº 3477635

RESUMO

O medo é uma resposta fisiológica a estímulos nocivos, e a formação de memórias relacionadas a eventos aversivos tem como objetivo nos proteger de futuras ameaças. Quando há prejuízo dos mecanismos envolvidos nesse processo, ocorrem comportamentos disfuncionais e mal-adaptativos. Há uma grande demanda pelo desenvolvimento de novos fármacos que possam atuar nas bases neurais desse fenômeno. Para esse objetivo, alguns compostos da planta *Cannabis sativa* têm sido extensivamente estudados, a exemplo do canabidiol (CBD). Os efeitos de outros fitocanabinoides, no entanto, permanecem pouco investigados. O canabigerol (CBG) é um fitocanabinoide que, assim como o CBD, não induz efeito psicotomimético e atua em múltiplos receptores, incluindo aqueles envolvidos em vias relacionadas ao medo. Portanto, o objetivo deste estudo foi testar a hipótese de que o CBG inibe a aquisição, consolidação e evocação de memórias contextuais aversivas. Para isso, camundongos machos e fêmeas C57BL/6J foram testados no modelo de medo condicionado ao contexto (MCC). O CBG (3, 10 ou 30 mg/kg) foi administrado de forma sistêmica em diferentes momentos para avaliação em cada fase da memória. Os resultados obtidos demonstram que o CBG não causa prejuízo na aquisição, consolidação ou evocação de memórias aversivas contextuais. Como o MCC é um modelo que depende de um estímulo nociceptivo (choques), nós também avaliamos o efeito do CBG no teste de retirada de cauda (tail-flick). Foi visto majoritariamente um efeito após 30 min de administração somente em fêmeas. A dose de 3 mg/kg aumentou a latência para retirada da cauda, enquanto a dose de 30 mg/kg diminuiu. Por fim, foi realizado o teste de rota-rod para avaliação da coordenação motora dos animais. Não foi vista qualquer alteração causada pelo CBG. Em síntese, não foi observado efeito do CBG no modelo de MCC com o protocolo utilizado e doses escolhidas. Futuros experimentos podem investigar o papel dessa substância em outros protocolos, fases da memória ou modelos de memória aversiva.

Palavras-chave: canabigerol, canabinoides, memória, medo, contexto.

ABSTRACT

Fear is a physiological response to noxious stimuli, and the formation of memories related to such aversive events protects us from future threats. Disruption of mechanisms involved in this process results in dysfunctional and maladaptive behaviors. There is a high demand for the development of new drugs that can act on the neural basis of this phenomenon. Substances from the herb *Cannabis sativa*, such as cannabidiol (CBD), have been extensively investigated. However, the effects of other phytocannabinoids, have remained under-investigated. Cannabigerol (CBG) is a phytocannabinoid that, similarly to CBD, does not induce psychotomimetic effects and targets multiple receptors, including those involved in fear-related pathways. The aim of this study was to test the hypothesis that CBG inhibits the acquisition, consolidation and expression of contextual fear memories. Male and female C57BL/6J mice were submitted to contextual fear conditioning (CFC), and CBG (3, 10 or 30 mg/kg) was administered at different timepoints to assess its effect in each memory process. Our results demonstrate that CBG does not impair the acquisition, consolidation or expression of contextual fear memories. Because CFC relies on nociceptive stimuli (shocks), we also evaluated the effects of CBG on the tail-flick test. There was a major effect seen 30 min after injection only in females. CBG at 3 mg/kg increased the latency for withdrawal response, while the 30 mg/kg dose decreased it. Finally, the rota-rod test was performed to assess motor coordination, and no changes caused by CBG were observed. In summary, we did not observe any effects of CBG on CFC under this protocol and at the doses administered. Future experiments could investigate the role of this substance in different protocols, memory phases or aversive memory models.

Keywords: cannabigerol, cannabinoids, memory, fear, context.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sinalização endocanabinoide.....	13
Figura 2. Síntese dos canabinoides.....	15
Figura 3. Atuação do CBG em diferentes receptores.....	17
Figura 4. Potenciação de longa duração.....	19
Figura 5. Delineamento experimental da validação do protocolo utilizado.....	27
Figura 6. O protocolo utilizado durante o pré-teste foi suficiente para condicionar os animais.....	28
Figura 7. Sessões de evocação de 5 ou 20 minutos foram capazes de reduzir os níveis de freezing em machos e fêmeas.....	29
Figura 8. Efeito do CBG na aquisição da memória.....	30
Figura 9. Análise minuto-a-minuto dos grupos tratados com CBG antes do pré-teste.....	31
Figura 10. Efeito do CBG na consolidação da memória.....	33
Figura 11. Análise minuto-a-minuto dos grupos tratados com CBG imediatamente após o pré-teste.....	34
Figura 12. Efeito do CBG na evocação da memória.....	35
Figura 13. Análise minuto-a-minuto dos grupos tratados com CBG antes do teste 1.....	37
Figura 14. Latência para retirada da cauda durante o teste de tail-flick.....	38
Figura 15. Análise do freezing durante o condicionamento de animais tratados com CBG 2h antes do pré-teste.....	39
Figura 16. Latência para queda durante o teste de rota-rod.....	40

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

2-AG	2-araquidonoilglicerol
5-HT _{1A}	Receptores serotoninérgicos subtipo 1A
AC	Adenilato ciclase
AEA	N-araquidonoil-etanolamina
AEC	Antes da era comum
alfa-2	Receptor alfa-2-adrenérgico
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
ANOVA	Análise de variância
BLA	Amígdala basolateral
BNST	Núcleo intersticial da estria terminal
CB ₁	Receptores canabinoides tipo 1
CB ₂	Receptores canabinoides tipo 2
CBC	Canabicromeno
CBD	Canabidiol
CBDA	Ácido canabidiólico
CBG	Canabigerol
CBGA	Ácido canabigerólico
CBN	Canabinol
CEA	Amígdala central
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
DEC	Depois da era comum
EC	Estímulo condicionado
EI	Estímulo incondicionado
EN	Estímulo neutro
FAAH	Hidrolase amida de ácido graxo
Gi	Proteína G inibitória
Glu	Glutamato
HPC	Hipocampo
i.p.	Intraperitoniais
IL	Córtex infa-límbico

LTP	Potenciação de longa duração (<i>long term potentiation</i>)
MAGL	Monoacilglicerol lipase
MCC	Medo condicionado ao contexto
P1	Protocolo 1
P2	Protocolo 2
PAG	Substância cinzenta periaquedutal
PFC	Córtex pré-frontal
PKA	Proteína quinase A
PL	Córtex pré-límbico
PPAR	Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma
RC	Resposta condicionada
RI	Resposta incondicionada
SC	Sem choques
SE	Sistema endocanabinoide
SNC	Sistema nervoso central
TEPT	Transtorno de estresse pós-traumático
THC	delta-9-tetrahydrocannabinol
THCA	Ácido tetrahydrocannabinólico
T _{max}	Tempo no qual sua concentração máxima é atingida
TRP	Receptor de potencial transitório
TRPA1	Receptor de potencial transitório anquirina tipo 1
TRPV1	Receptor de potencial transitório vanilóide tipo 1
TRPV2	Receptor de potencial transitório vanilóide tipo 2
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1 Canabinoides e Sistema Endocanabinoide	11
1.2 Canabigerol.....	14
1.3 Memória associativa	18
1.4 Medo condicionado ao contexto.....	20
1.5 Canabinoides na modulação de memórias aversivas.....	21
2. OBJETIVOS	23
2.1 Objetivo geral	23
2.2 Objetivos específicos	23
3. MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1 Animais.....	24
3.2 Ensaios comportamentais	24
3.2.1 Medo condicionado ao contexto	24
3.2.2 Teste de retirada de cauda (tail-flick).....	25
3.2.3 Teste de rotarod	26
3.3 Administração de canabigerol	26
3.4 Análise estatística	26
4. RESULTADOS	27
4.1 Definição do protocolo	27
4.2 O canabigerol não é capaz de inibir a aquisição da memória contextual aversiva.....	29
4.3 A consolidação da memória de medo não é prejudicada pela administração de CBG	32
4.4 A administração de canabigerol não teve efeito na evocação da memória de medo	35
4.5 O canabigerol não altera a percepção dos choques pelos animais	37
4.6 Não houve alteração de coordenação motora causada pelo canabigerol.....	40
5. DISCUSSÃO	41
6. REFERÊNCIAS.....	47

1. INTRODUÇÃO

1.1 Canabinoides e Sistema Endocanabinoide

A história da planta *Cannabis sativa* se entrelaça de forma íntima com a história do desenvolvimento da humanidade. Seu uso remonta a milhares de anos e se deu de forma simultânea por diferentes povos e culturas ao longo do tempo – seja de modo terapêutico, em rituais religiosos ou, mesmo, de maneira puramente recreativa (Mechoulam et al., 2014a). Os primeiros relatos de seu uso vêm da China, onde achados arqueológicos indicam o cultivo dessa planta desde o ano 4000 antes da era comum (AEC). Naquela região, a variedade de *Cannabis* mais utilizada era o cânhamo, cujas fibras obtidas eram empregadas na manufatura de tecidos, roupas e cordas. Foi na Índia, por sua vez, que o uso medicinal e religioso da maconha se fez proeminente. Já por volta do ano 1000 AEC, a planta era conhecida por suas propriedades anti-inflamatórias, anticonvulsivantes, analgésicas e estimulantes de apetite (Zuardi, 2006).

Na Europa, a chegada da maconha parece ter se dado por diferentes maneiras ao longo do tempo. Ainda AEC, a planta teria sido levada através de invasões de povos que habitavam a Ásia central e o Mediterrâneo. No entanto, até o século XVI da era comum (EC), seu cultivo era restrito à obtenção de fibras. Foi especialmente durante o século XIX que seu potencial terapêutico começou a ser explorado, quando médicos britânicos retornavam da Índia com esse conhecimento (Mechoulam & Parker, 2013). Nas Américas, seu emprego parece ter começado nos países do sul, trazida, em especial, por escravos africanos. Os diferentes nomes que a *Cannabis* recebe no Brasil são, de fato, derivados da língua portuguesa angolana (Zuardi, 2006). Após a colonização europeia, a maconha continuou a ser cultivada, embora sua percepção social e seu status legal tenham passado por muitas mudanças ao longo dos séculos.

As diferentes aplicações da maconha no decorrer do tempo e sua disseminação ao redor do mundo demonstram sua importância para a história das civilizações. Apesar disso, foi apenas no ano de 1964 EC que o grupo liderado pelo pesquisador israelense Raphael Mechoulam foi capaz de isolar e identificar pela primeira vez o princípio psicotomimético da *Cannabis* (Gaoni & Mechoulam, 1964). O delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) foi, então, revelado como o fitocanabinoide responsável pelos efeitos mais conhecidos dessa planta, como aumento do apetite, analgesia, catalepsia, hipotermia e redução do controle motor (Howlett, 1995, 2002).

Essa descoberta despertou interesse na elucidação dos mecanismos através dos quais o THC atua em nosso organismo. Assim, em meados dos anos 80, os esforços se concentraram na identificação de alvos biológicos para esse composto, o que culminou na descoberta, em 1990, dos receptores canabinoides tipo 1 (CB₁) – receptores metabotrópicos acoplados à proteína G inibitória (Gi) e distribuídos amplamente através do sistema nervoso central (SNC) (Matsuda

et al., 1990). Em 1993, foram descobertos também receptores canabinoides periféricos, chamados, então, de receptores canabinoides tipo 2 (CB₂) (Munro et al., 1993), localizados majoritariamente em células do sistema imune (Galiègue et al., 1995).

Esses achados não apenas esclareceram algumas das formas pelas quais aconteceria a interação entre canabinoides e o corpo humano, como também iniciaram uma busca por moléculas endógenas que também interagissem com esses receptores. O primeiro composto a ser identificado foi a N-araquidonoil-etanolamina (AEA), que recebeu também o nome de anandamida, palavra em sânscrito que significa “felicidade”, “prazer” ou “alegria suprema” (Devane et al., 1992). Além de apresentar afinidade por receptores CB₁, seus efeitos em animais experimentais eram similares aos efeitos do THC, o que levou ao seu reconhecimento como um “canabimimético endógeno”, ou seja, um endocanabinoide (Fride & Mechoulam, 1993). Sua descoberta precedeu a do 2-araquidonoilglicerol (2-AG), outro ligante endógeno dos receptores canabinoides (Mechoulam et al., 1995; Sugiura et al., 1995).

A AEA é um agonista parcial de receptores CB₁ e CB₂, enquanto o 2-AG atua como agonista de ambos os receptores (Sugiura et al., 1995). No entanto, sua afinidade não é limitada aos receptores canabinoides – ambas as substâncias interagem com outros receptores e canais iônicos (Mechoulam et al., 2014a). Além disso, a AEA e o 2-AG têm sua disponibilidade limitada pela metabolização por enzimas específicas, a hidrolase amida de ácido graxo (FAAH) e a monoacilglicerol lipase (MAGL), respectivamente (Piomelli, 2003). Foi dessa forma, portanto, que se estabeleceu a descoberta do sistema endocanabinoide (SE), composto hoje predominantemente pelos receptores CB₁ e CB₂, pelos endocanabinoides AEA e 2-AG, e por suas enzimas de síntese e degradação.

Curiosamente, a neurotransmissão endocanabinoide é classificada como atípica. Isso porque os neurotransmissores AEA e 2-AG não são armazenados em vesículas, mas produzidos sob demanda a partir da membrana celular em resposta a um aumento na concentração de cálcio intracelular (Howlett, 2002; Mechoulam et al., 2014a; Piomelli, 2003). Além disso, sua principal forma de sinalização é retrógrada, ou seja, os neurotransmissores são liberados do terminal pós-sináptico para o terminal pré-sináptico, onde vão agir preferencialmente (Figura 1) (Elphick & Egertova, 2001; Kreitzer, 2005; Vaughan & Christie, 2005). Como os receptores canabinoides são receptores acoplados à proteína Gi, sua atividade resulta em uma inibição da enzima adenilato ciclase (AC) e na consequente redução de monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) na célula (Howlett, 1984, 1987; Zagzoog et al., 2020). Isso acarreta em uma menor atividade da proteína quinase A (PKA), o que diminui, portanto, a atividade do neurônio pré-sináptico e a liberação de neurotransmissores (Elphick & Egertova, 2001; Howlett, 2005;

Pertwee, 2006). Além disso, os endocanabinoides atuam através da abertura de canais para K^+ , o que também leva a uma redução de AMPc e PKA na célula (Kaminski, 1998). As evidências sobre a forma de sinalização desse sistema sugerem que os endocanabinoides regulem a sua própria liberação e, também, a liberação de outros neurotransmissores, de forma a conter atividade neuronal excessiva e evitar uma excitotoxicidade (Alger & Kim, 2011; Castillo et al., 2012). Portanto, agem como verdadeiros modulares da transmissão sináptica e garantem, assim, a homeostase (Diana & Marty, 2004; Kreitzer, 2005; Mechoulam et al., 2014a; Moreira & Lutz, 2008; Pertwee, 2008).

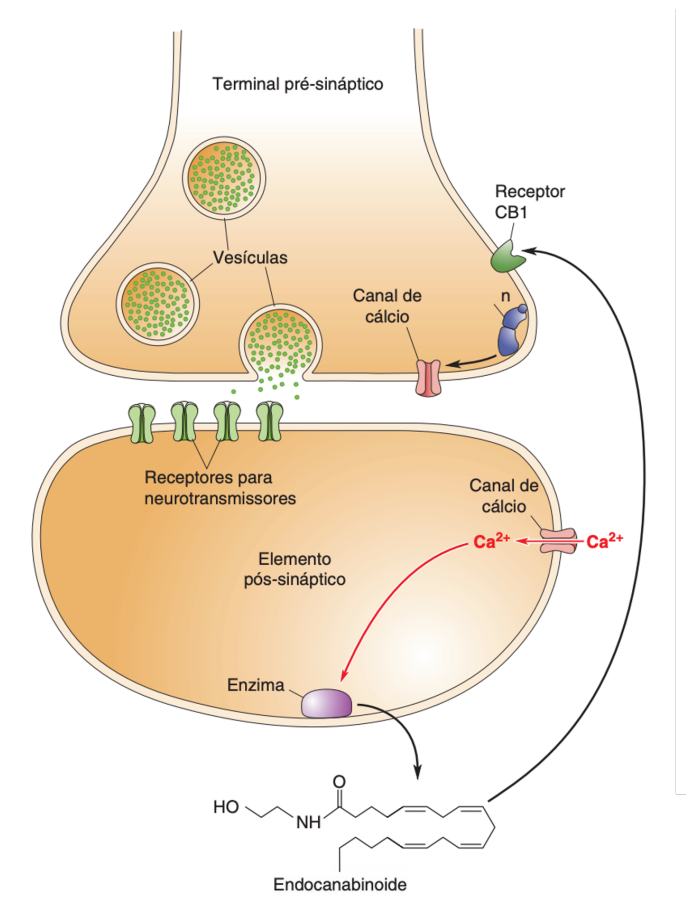


Figura 1. Sinalização endocanabinoide. Figura retirada de Bear, Connors e Paradiso (2016). Vesículas liberam neurotransmissores na fenda sináptica que agem em receptores pós-sinápticos e causam uma entrada de grande quantidade de cálcio na célula. Em resposta a esse influxo, os endocanabinoides são produzidos por enzimas a partir da membrana do neurônio pós-sináptico e agem retrogradamente em receptores CB_1 localizados no sítio pré-sináptico.

Embora a maconha seja classificada como uma droga de abuso (Hall & Solowij, 1998), seu valor terapêutico e, ainda, a importância de seus compostos de forma isolada já são amplamente reconhecidos no mundo científico. Atualmente, sabe-se que, além do THC,

existem outras centenas de canabinoides que são encontrados na planta da maconha e que, recentemente, têm se tornado importantes objetos de estudo (ElSohly & Slade, 2005). O canabidiol (CBD) é hoje um dos canabinoides mais conhecidos por sua atuação na clínica (Guimarães, 2024). Apesar de relatos mais antigos já terem retratado seu uso informal como substância anticonvulsivante (O’Shaughnessy, 1843; Reynolds, 1890), o CBD foi isolado pela primeira vez apenas em 1940 (Adams et al., 1940), e teve sua estrutura química descrita ainda anos depois, em 1963 (Mechoulam & Shvo, 1963).

Os primeiros resultados de testes para tratamento de epilepsia utilizando animais experimentais foram divulgados algum tempo depois (Carlini et al., 1973; Izquierdo et al., 1973), seguidos de avaliações de toxicidade que demonstram que o CBD é seguro mesmo quando administrado em altas doses (Carlini & Cunha, 1981; Cunha et al., 1980). Tudo isso favoreceu a elaboração do primeiro ensaio clínico formal utilizando o CBD para o tratamento de crises epilépticas refratárias. Realizado no Brasil, o estudo demonstrou um efeito significativo na diminuição de crises convulsivas em pacientes que não respondiam bem aos tratamentos farmacológicos convencionais (Cunha et al., 1980).

A identificação do CBD antecedeu a caracterização de muitos outros fitocannabinoides. Hoje, os indícios sugerem que o CBD possa contrabalancear alguns dos efeitos prejudiciais do THC, como o efeito ansiogênico (Karniol et al., 1974; Zuardi et al., 1982), enquanto potencializa alguns efeitos terapêuticos, como a antinocicepção (Guimarães, 2024; Varvel et al., 2006). Com a expansão do uso da *Cannabis* medicinal, torna-se cada vez mais importante identificar e conhecer o funcionamento individual de todos os outros compostos que estão presentes na planta. Atualmente, além do THC e do CBD, algumas substâncias que têm recebido grande destaque são o canabinol (CBN), canabigerol (CBG), e canabicromeno (CBC), por exemplo.

1.2 Canabigerol

O CBG é um dos fitocannabinoides encontrados em menor quantidade na planta da maconha (ElSohly & Slade, 2005) e, assim como o CBD, não apresenta propriedades psicotomiméticas (Grünfeld & Edery, 1969; Mechoulam et al., 1970). Além disso, foi um dos primeiros compostos a ser isolado da *Cannabis* (Gaoni & Mechoulam, 1964b) e é, por vezes, considerado a “mãe dos canabinoides”. Isso porque sua forma ácida, o ácido canabigerólico (CBGA), é um precursor do ácido tetrahydrocannabinólico (THCA) e do ácido canabidiólico (CBDA), que dão origem, respectivamente, ao THC e ao CBD (Figura 2) (Nachnani et al., 2021).

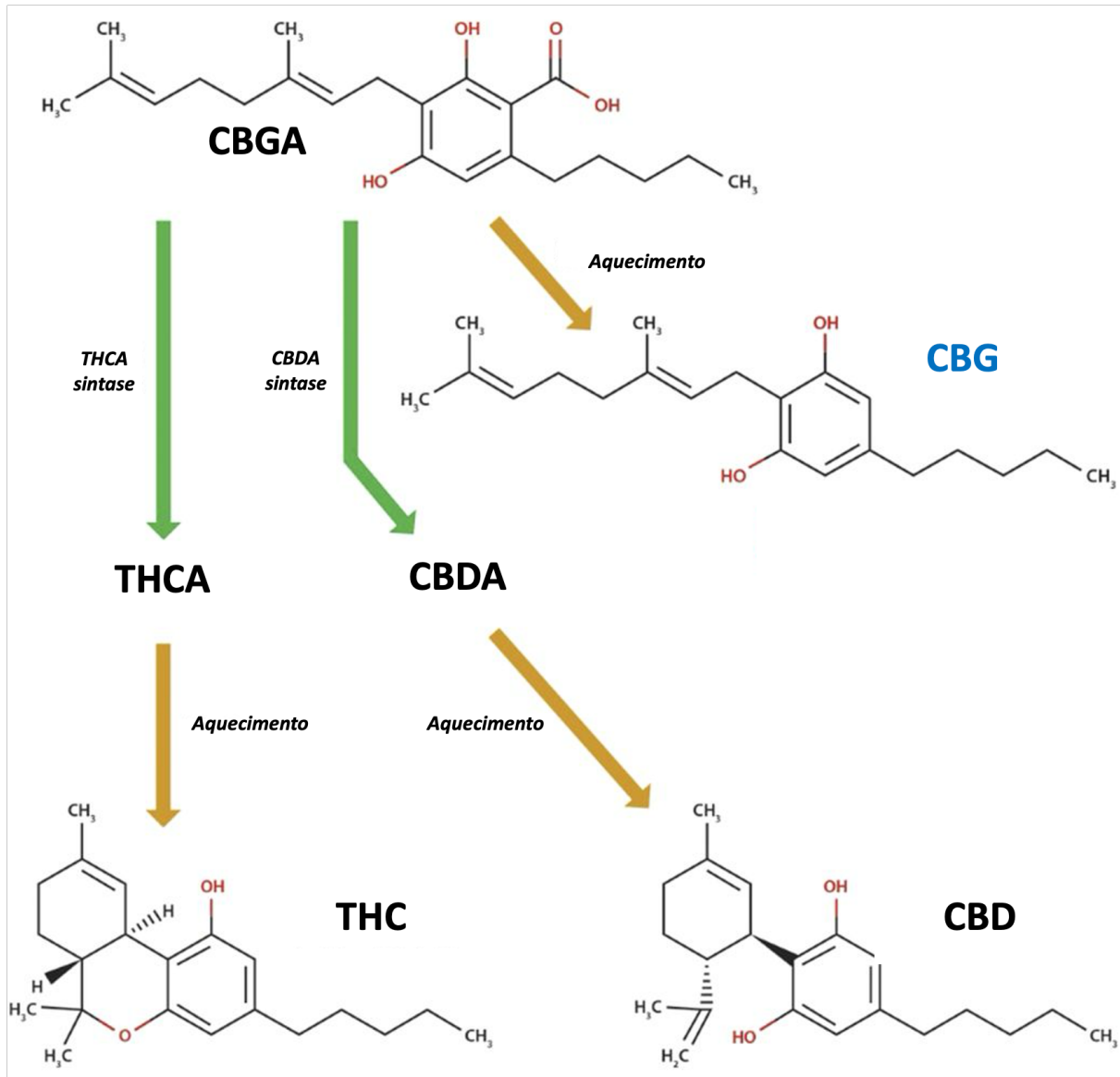


Figura 2. Síntese dos canabinoides. Imagem adaptada de Nachnani et al., 2021. O canabigerol (CBG) é produzido na *Cannabis sativa* através de uma reação de aquecimento a partir do ácido canabigerólico (CBGA). Quando convertido pela enzima THCA sintase, o CBGA dá também origem ao ácido tetrahydrocannabinólico (THCA), que, após reação de aquecimento, gera o delta-9-tetrahydrocannabinol (THC). Da mesma forma, o CBGA pode ser convertido pela enzima CBDA sintase em ácido canabidiólico (CBDA), que gera o canabidiol (CBD) quando passa por reação de calor.

Apesar de apresentarem uma origem comum, os compostos THC, CBD e CBG diferem muito em relação à sua atividade. No que diz respeito à sua interação com receptores canabinoides, ensaios de farmacodinâmica demonstraram que o CBG é um agonista fraco de receptores CB₁ e um agonista parcial de receptores CB₂ (Cascio et al., 2010; Nachnani et al., 2021; Navarro et al., 2018; Zagzoog et al., 2020). Isso se assemelha às propriedades do THC,

que é também um agonista de ambos os receptores, apesar de revelar uma maior afinidade que o CBG (Childers, 2006; Pertwee, 2008; Rosenthaler et al., 2014). O CBD, por outro lado, parece atuar como um antagonista/agonista inverso de receptores CB₁ e CB₂ (Figura 3) (Pertwee, 2008; Thomas et al., 2007).

De fato, a atuação do CBG no organismo parece se dar através da sua interação com outras classes de receptores não-canabinoides (Figura 3). Em relação a receptores de potencial transitório (TRPs), por exemplo, o CBG apresenta uma interação parecida com o CBD, por ser um agonista de receptores da família vaniloide, como TRPV1 e TRPV2, e da família anquirina, como o TRPA1 (Calapai et al., 2022; De Petrocellis et al., 2011). Esses receptores estão, em especial, envolvidos na transmissão de estímulos nociceptivos (Anand & Rajagopal, 2023), mas os canais TRPV1 também constituem parte do SE (Zygmunt et al., 1999), uma vez que mediam parte das ações da AEA no organismo (Iglesias et al., 2023). Além disso, assim como outros agonistas TRPV1, o CBG também atua inibindo a recaptação de AEA (De Petrocellis et al., 2011; Di Marzo & Piscitelli, 2015). Quanto aos receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, o CBG se comporta como antagonista (Cascio et al., 2010; Nachnani et al., 2021; E. M. Rock et al., 2011), enquanto o CBD é um agonista (Campos & Guimarães, 2008; E. Rock et al., 2012; Russo et al., 2005). No sistema nervoso central, esses receptores são um alvo para medicamentos antidepressivos e ansiolíticos (Powell et al., 2022), o que sugere que o CBG possa ter sucesso em testes que avaliem essas propriedades.

Surpreendentemente, o CBG demonstrou, ainda, ser um agonista eficaz de receptores alfa-2-adrenérgicos (Cascio et al., 2010; Nachnani et al., 2021; Vernail et al., 2022), o que tem feito esse composto atrair um crescente interesse terapêutico. Isso é de tamanha importância porque fármacos que agem nesses receptores têm ganhado espaço no tratamento de transtornos neuropsiquiátricos. Em geral, estudos sobre o papel dos receptores alfa-2 inicialmente giravam em torno de suas propriedades anti-hipertensivas, analgésicas e sedativas (Lakhlani et al., 1997; MacMillan et al., 1996). A clonidina e a guanfacina, por exemplo, são dois fármacos agonistas alfa-2-adrenérgicos que foram inicialmente comercializados para serem utilizados no tratamento de quadros hipertensivos. Apesar de sua prescrição para esses tipos de casos ter diminuído, seu potencial como candidatos na clínica psiquiátrica têm sido cada vez mais explorado. Ademais, a clonidina já se mostrou eficaz em estudos que investigam seus efeitos no transtorno por uso de substâncias (Denny & Unterwald, 2019; Erb, 2000; Jobes et al., 2011), em modelos de comportamentos ansiosos (Schweimer et al., 2005) e também no transtorno de

estresse pós-traumático (TEPT) (Gamache et al., 2012; Harmon & Riggs, 1996; Kinzie & Leung, 1989).

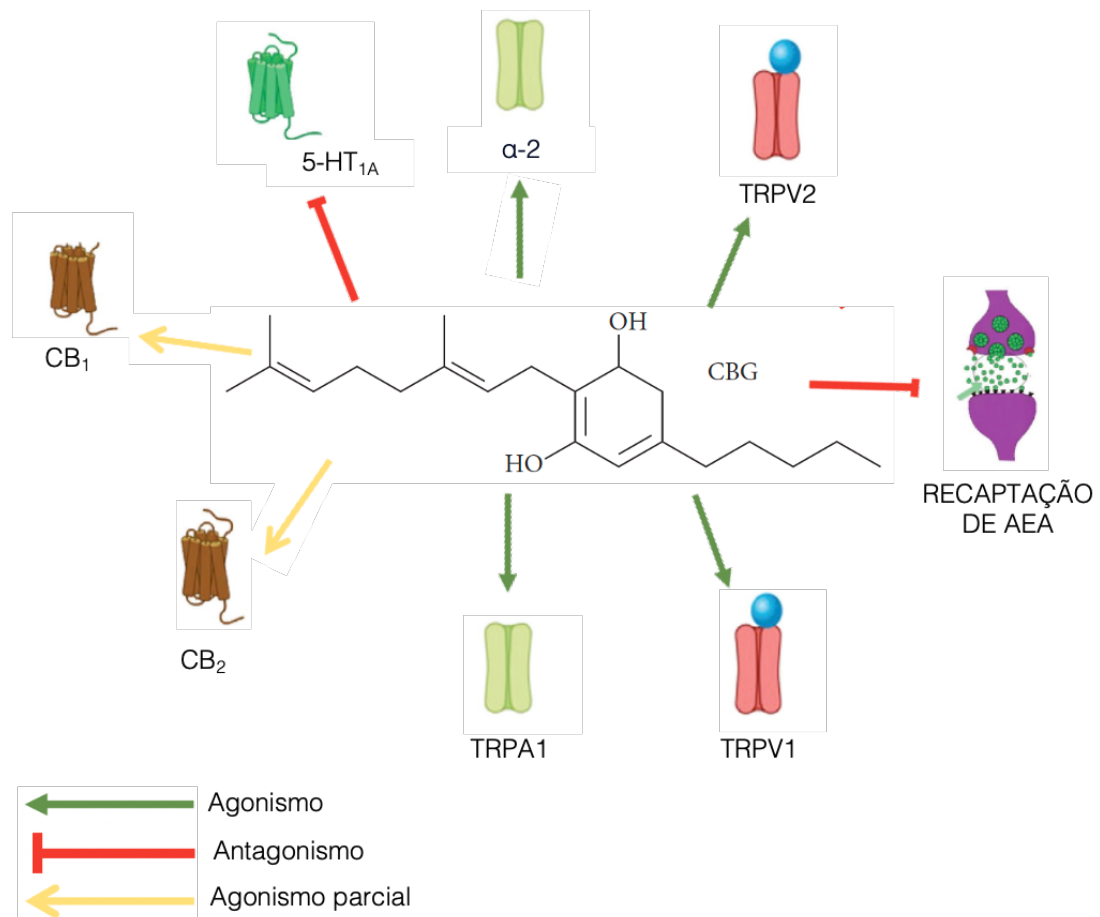


Figura 3. Atuação do CBG em diferentes receptores. Imagem adaptada de Calapai et al., 2022. Interação do CBG com diferentes classes de receptores.

Os estudos acerca das propriedades do CBG têm crescido muito nos últimos anos (Calapai et al., 2022; Nachnani et al., 2021). Um dos focos de investigação atual é seu efeito neuroprotetor e anti-inflamatório (Gugliandolo et al., 2018) em diferentes modelos de neurodegeneração, como esclerose múltipla (Granja et al., 2012) e doença de Huntington (Díaz-Alonso et al., 2016), por exemplo. Além disso, o CBG apresentou efeito antibacteriano, em especial a cepas de bactérias resistentes a alguns antibióticos (Appendino et al., 2008), e efeito antitumoral contra diferentes linhagens celulares (Baek et al., 1996, 1998). Por fim, outra linha de investigação promissora é a de avaliação das propriedades antinociceptivas do CBG. Já foi visto, por exemplo, que o CBG teve sucesso em reduzir a hipersensibilidade mecânica em modelo animal de dor neuropática, mas se mostrou ineficiente em testes de nocicepção a estímulos térmicos (Sepulveda et al., 2022).

1.3 Memória associativa

De acordo com Rudy (2014), “aprendizado e memória são conceitos teóricos utilizados para explicar o fato de que a experiência influencia o comportamento”. De fato, a capacidade individual de associar eventos e experiências ao longo da vida é fundamental para nossa sobrevivência, bem-estar e, principalmente, adaptação ao ambiente; tudo com o objetivo de nos garantir uma vantagem evolutiva. Essa noção de adaptabilidade já era vista nos textos de René Descartes sob o nome de “reflexos”. O conceito foi formulado pelo filósofo precisamente para descrever a existência de uma relação fundamentada entre certos estímulos ambientais e mudanças observadas no comportamento dos indivíduos (Clarac, 2005). Essa mesma terminologia pode, também, ser encontrada nos estudos do fisiologista russo Ivan Pavlov, que estudava memórias associativas.

Trabalhando com cachorros, Pavlov observou que os animais, assim como os humanos, precisam responder a estímulos internos ou externos de forma a preservar a sua existência. Ainda, dizia que essas respostas fisiológicas eram bem definidas e também inevitáveis – a isso deu o nome de “respostas reflexas” (Pavlov, 1927). Através de seus estudos, Pavlov constatou que a apresentação de um estímulo incondicionado (EI), como o cheiro de comida, evoca naturalmente uma resposta reflexa nos cães, chamada de resposta incondicionada (RI) – nesse caso, a salivação. Portanto, quando um estímulo neutro (EN), como o som de um sino, é repetidamente associado em contiguidade temporal com o EI, é estabelecida uma relação entre ambos os estímulos que antes era inexistente. A isso, se dá o nome de condicionamento. Assim, o som, que era um estímulo anteriormente neutro, passa a ser denominado um estímulo condicionado (EC), e a resposta de salivação se torna uma resposta condicionada (RC) a esse estímulo (Pavlov, 1927). Dessa forma, o animal passará a salivar todas as vezes em que o som do sino for apresentado, mesmo na ausência do alimento. Esse processo, denominado condicionamento clássico ou pavloviano, é um exemplo de como, através do aprendizado, um estímulo neutro pode adquirir uma valência após a formação de uma associação. O trabalho de Pavlov serviu como base para os estudos da psicologia comportamental, além de influenciar subsequentes teorias desenvolvidas sobre aprendizado e memória.

Apesar de ser comumente sintetizada em um único termo, a memória é composta por diferentes fenômenos que são regidos por distintos mecanismos celulares e moleculares (Bourne & Harris, 2007; Dudai, 1996; Engert & Bonhoeffer, 1999; Johansen et al., 2011). O momento em que se inicia a aprendizagem é chamado de fase de aquisição da memória, e é o momento em que as informações sobre um acontecimento são codificadas e armazenadas no cérebro. Nesse instante, neurônios que representam diferentes componentes sensoriais,

espaciais ou mesmo emocionais relacionados ao evento estão em atividade de forma síncrona e fortalecem suas sinapses, formando um engrama – a representação física de uma memória (Carrillo-Reid, 2022; Frankland et al., 2024). Nesse ponto, a memória ainda é lábil e susceptível a modificações.

Imediatamente após o momento de aquisição de uma nova memória, inicia-se um processo chamado de consolidação (Asok et al., 2019; De Oliveira Alvares & Do-Monte, 2021; McGaugh, 1999), que é responsável por tornar o traço de memória estável. Isso se dá, a princípio, através da potenciação de longa duração, do inglês *long term potentiation* (LTP) (Bliss & Gardner-Medwin, 1973; Bliss & Lømo, 1973). Esse processo se inicia com a liberação persistente de glutamato do neurônio pré-sináptico para o neurônio pós-sináptico. Esse neurotransmissor estimula, então, receptores AMPA, que são canais permeáveis a Na^+ . Com a entrada do íon, a célula pós-sináptica é despolarizada. O aumento de cargas positivas dentro do neurônio é, nesse caso, capaz de remover o íon de Mg^{2+} que, em situações de repouso, bloqueia os receptores NMDA. Assim, se a liberação de neurotransmissor for sustentada durante tempo suficiente, o glutamato poderá exercer seus efeitos também através desses receptores. Isso resulta em um aumento da concentração intracelular de Ca^{2+} , que desencadeia a atividade de inúmeras vias de sinalização (Figura 4) (Asok et al., 2019; Johansen et al., 2011; Ortega-de San Luis & Ryan, 2022).

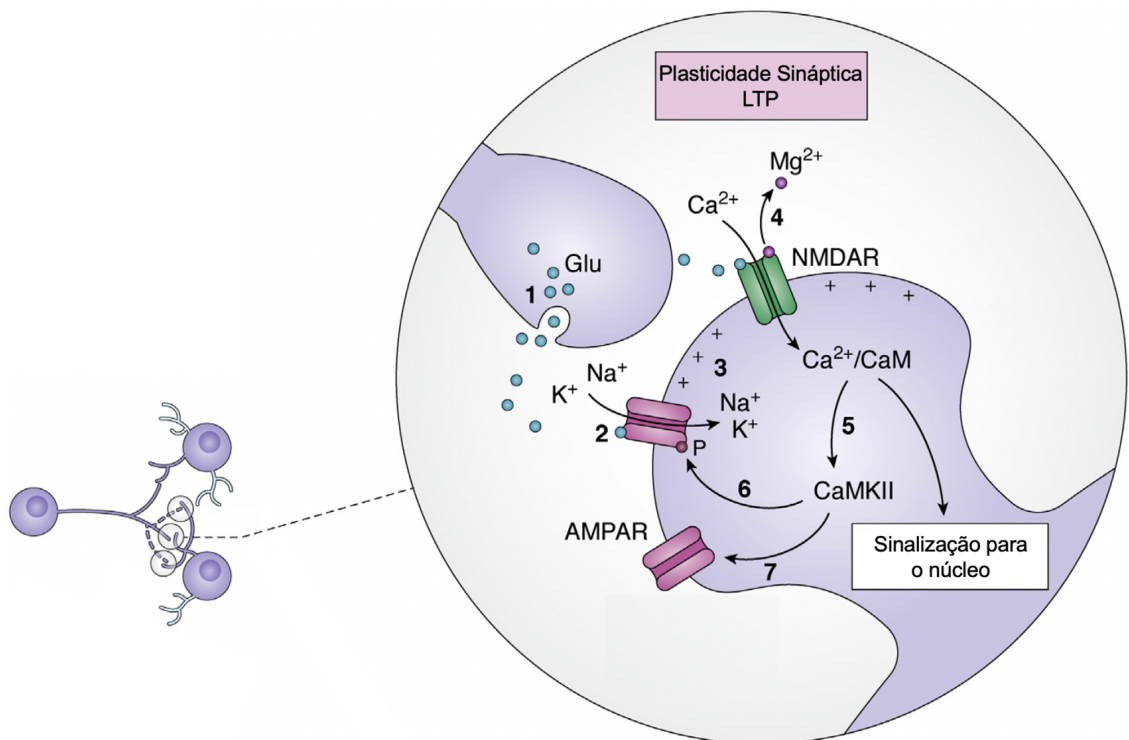


Figura 4. Potenciação de longa duração. Imagem adaptada de Ortega-de San Luis e Ryan, 2022. Glu: glutamato.

Toda essa atividade induz mudanças plásticas que ocasionam o aumento da atividade sináptica, síntese proteica, redistribuição de canais iônicos e alterações epigenéticas, por exemplo, que têm como objetivo o fortalecimento das sinapses entre os neurônios do engrama (Bourne & Harris, 2007; Engert & Bonhoeffer, 1999; Johansen et al., 2011; Ortega-de San Luis & Ryan, 2022). A partir disso, todas as vezes em que uma memória for evocada, ela é reativada e se torna novamente passível de sofrer interferências, processo que é denominado de reconsolidação. Já uma reexposição prolongada na ausência do EI durante a evocação da memória pode, ainda, ocasionar em um novo tipo de aprendizado, onde há a formação de um traço de memória inibitório que compete com o traço de memória original – a esse processo se dá o nome de extinção da memória. Comportamentalmente, essa extinção é acompanhada de uma diminuição gradual da resposta incondicionada.

1.4 Medo condicionado ao contexto

O medo é causado por estímulos que predizem um perigo iminente e tem como objetivo a eliciação de comportamentos defensivos (luta ou fuga) que nos protegerão de ameaças (Perusini & Fanselow, 2015). Enquanto um sentimento que atravessa a consciência, é algo que parece estar exclusivamente atrelado à experiência humana (LeDoux & Pine, 2016). Apesar disso, sua caracterização enquanto uma resposta comportamental e fisiológica a estímulos ameaçadores pode ser extrapolada e avaliada em modelos animais (Fanselow & Pennington, 2018). Um dos testes mais utilizados até hoje para o estudo de memórias aversivas em animais experimentais é o modelo de medo condicionado ao contexto (MCC). Esse paradigma tem como fundamento a associação entre choques inescapáveis nas patas (EI) e um contexto (EN). Dessa forma, quando os animais são reexpostos ao contexto, o tipo de comportamento avaliado é a resposta de congelamento (“freezing”) dos animais, que é interpretada como a evocação da memória de medo (Blanchard & Blanchard, 1969; Bolles & Collier, 1976; Fanselow, 1980).

Esse modelo apresenta um enfoque especial para a região do hipocampo (HPC), que está envolvida não apenas na formação de memórias explícitas, mas, ainda, na codificação de informações e representações contextuais (Maren et al., 2013; Marks et al., 2022). Durante o condicionamento, projeções bilaterais entre o componente lateral da amígdala basolateral (BLA) e o HPC estabelecem uma associação emocional entre o EC e o EI, processo dependente de plasticidade sináptica no núcleo amigdalóide (Barot et al., 2008, 2009; Chung et al., 2011; Kim & Jung, 2006; Pessoa, 2023). A BLA, então, engaja o núcleo central da amígdala (CEA) (Paré et al., 2004), que se projeta para a substância cinzenta periaquedutal (PAG), desencadeando a resposta de congelamento (Fanselow, 1991). Além disso, a BLA envia

projeções para o núcleo intersticial da estria terminal (BNST), que também ativa a PAG, contribuindo para a exibição de um comportamento defensivo (Poulos et al., 2010; Waddell et al., 2006; Walker et al., 2003). Projeções que descendem do córtex pré-frontal (PFC) também têm envolvimento nesse circuito. O córtex pré-límbico (PL) se projeta para a BLA e aumenta a resposta de medo, enquanto o córtex infra-límbico (IL) parece estar envolvido na extinção do medo (Kim & Jung, 2006).

A modulação farmacológica é uma importante ferramenta de estudo para se obter uma melhor compreensão de todas as regiões anatômicas e vias moleculares que estão envolvidas na formação de memórias aversivas. Ainda, o momento de administração, de acordo com o protocolo utilizado, pode nos permitir prever em qual dos processos mnemônicos a droga está atuando. Se administrada logo antes do momento de condicionamento, por exemplo, pode-se inferir que o fármaco esteja interferindo na aquisição da memória e, possivelmente, no início da consolidação. Já se a aplicação for feita imediatamente após o condicionamento, a droga estará atuando na fase de consolidação. Ainda, se o uso do fármaco for feito antes do teste de expressão da memória, pode-se inferir que ele esteja atuando na evocação (De Oliveira Alvares & Do-Monte, 2021; Figueiredo & Cheer, 2023; Gazarini et al., 2023; Johansen et al., 2011).

1.5 Canabinoides na modulação de memórias aversivas

O SE, ao exercer sua função como modulador da homeostase sináptica, também apresenta participação em processos relacionados à regulação de memórias aversivas. Receptores canabinoides são abundantemente expressos em regiões que estão envolvidas com os processos relacionados a esse fenômeno, como o HPC e a BLA (Herkenham et al., 1990, 1991; Tsou et al., 1998). Além disso, alguns estudos já demonstraram que pacientes diagnosticados com TEPT apresentam níveis plasmáticos de AEA (Neumeister et al., 2013) e 2-AG (Hill et al., 2013) significativamente reduzidos. Em vista disso, cada vez mais pesquisas têm investigado os efeitos que a manipulação do SE tem sobre processos mnemônicos.

Um estudo clássico com camundongos knockout para receptores CB₁ mostrou que esses animais apresentam um prejuízo na extinção de memórias aversivas condicionadas a pistas auditivas quando comparados com animais wild-type (Marsicano et al., 2002). Esse efeito foi reproduzido em animais tratados com o antagonista CB₁ SR141716A antes da primeira sessão de extinção, o que salienta a relevância comportamental e neurobiológica desses receptores. Além disso, é importante ressaltar a influência que a dinâmica da AEA tem sobre os resultados obtidos em protocolos de MCC. Esse aspecto tem sido colocado em foco porque, além de ser considerada primariamente um endocanabinoide, a AEA é também comumente classificada

como uma substância endovaniloide devido à sua forte afinidade por receptores dessa família, como os canais TRPV1 (Di Marzo et al., 2001). Isso é de extrema importância para uma melhor compreensão de seus efeitos. Em suma, a liberação de AEA parece depender da intensidade do condicionamento (Iglesias et al., 2023). Assim, em menores concentrações, a AEA parece se ligar preferencialmente a receptores CB₁, que estão localizados no sítio pré-sináptico (Alger & Kim, 2011). No entanto, quando sua disponibilidade aumenta, a AEA exerce seu efeito majoritariamente se ligando ao domínio intracelular de canais TRPV1, localizados no neurônio pós-sináptico (Aguiar et al., 2014; De Petrocellis et al., 2001; Jung et al., 1999; Marsch et al., 2007).

Esse efeito dual é especialmente importante porque explica os resultados comportamentais opostos que são vistos por vezes em modelos de MCC, parecendo depender de quais receptores estão exercendo seus efeitos. Inúmeras evidências sustentam essa suposição. A administração intra-hipocampal de um bloqueador seletivo de canais TRPV1 (SB366791), por exemplo, foi capaz de inibir a evocação da memória de medo em animais submetidos a protocolos considerados de média (3x 0,5 mA; 2s) ou alta intensidade (3x 0,8mA; 1s), mas não de baixa intensidade (3x 0,5 mA; 1s) (Iglesias et al., 2023). Isso é justificado pela atuação preferencial da AEA através de receptores CB₁ no protocolo de baixa intensidade. Levando, então, em consideração modulações farmacológicas durante a fase de aquisição da memória, foi visto que o WIN-55,212-2, agonista de receptores CB₁ e CB₂, foi capaz de reduzir a expressão de medo quando administrado antes do condicionamento (Mikics et al., 2006; Pamplona & Takahashi, 2006). Esse efeito é revertido quando o WIN é administrado juntamente com antagonistas CB₁ (SR141716A ou SR147778), o que evidencia a importância desses receptores no momento de aprendizagem (Pamplona & Takahashi, 2006).

Em relação ao processo de consolidação da memória, a administração do canabinoide sintético HU-210 (agonista CB₁ e CB₂) imediatamente após o condicionamento reduziu a taxa de freezing, e isso também parece depender de receptores CB₁, visto que esse efeito foi revertido com o AM251 (Maćkowiak et al., 2009). Surpreendentemente, a administração de JZL195 demonstrou um aumento expressivo na taxa de freezing de animais submetidos ao MCC (Zhang et al., 2024). Esse composto é um inibidor simultâneo das enzimas FAAH e MAGL, ou seja, seu uso resulta em uma maior disponibilidade de AEA e 2-AG. No entanto, o resultado visto não parece depender de receptores CB₁, uma vez que o efeito obtido foi o mesmo apesar de pré-tratamento com AM281 (antagonista/agonista inverso CB₁), NESS0327 (antagonista CB₁) ou SR144528 (agonista inverso CB₂). O protocolo utilizado se assemelha ao protocolo de alta intensidade utilizado por Iglesias et al., 2023, o que sugere que a AEA possa ter exercido seus

efeitos via receptores TRPV1. Por outro lado, o aumento de disponibilidade de AEA pela inibição de seu transporte e recaptação intra-hipocampal (AM404) (Scienza-Martin et al., 2022) ou pela inibição sistêmica de sua degradação (URB597) (Raymundi et al., 2020) após condicionamento inibe a expressão do medo.

Por fim, durante a evocação da memória, as evidências sustentam que a ação da AEA via CB₁ inibe a expressão de medo. Isso pôde ser visto tanto pela inibição dupla da FAAH e de canais TRPV1 com o fármaco AA-5-HT (Gobira et al., 2017), quanto pela injeção intra-hipocampal de AM404 (Scienza-Martin et al., 2022). Da mesma forma, a expressão do medo é exacerbada pelo antagonismo de receptores CB₁ (NIDA41020) ou pelo agonismo de receptores TRPV1 (E-capsaicina) (Uliana et al., 2023). Em conclusão, os resultados de cada estudo variam muito a depender de fatores como a intensidade do protocolo utilizado, dose da droga, forma e momento de administração (Briânis et al., 2023). Apesar disso, já tem sido demonstrado, de forma geral, que uma maior sinalização da AEA via CB₁ inibe comportamentos relacionados ao medo (Lisboa et al., 2019; Patel et al., 2017). Estes dados sugerem um efeito do CBG na modulação do medo condicionado, uma vez que este fitocanabinoide pode interagir com diversos componentes do SE, incluindo receptores canabinoides, canais TRPV1 ou inibição da FAAH.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente projeto tem como objetivo testar a hipótese de que o canabigerol inibe memórias contextuais aversivas em camundongos machos e fêmeas.

2.2 Objetivos específicos

- a. Validar o protocolo de MCC que será utilizado durante os experimentos subsequentes;
- b. Avaliar os efeitos do CBG na fase de aquisição da memória contextual de medo;
- c. Avaliar os efeitos do CBG na fase de consolidação da memória contextual de medo;
- d. Avaliar os efeitos do CBG na fase de evocação da memória contextual de medo;
- e. Verificar se o CBG causa alterações na nocicepção;
- f. Verificar se o CBG causa alterações na coordenação motora dos animais.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Os animais experimentais utilizados foram camundongos machos e fêmeas da linhagem C57BL/6J com 8 a 12 semanas de idade provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Os animais foram mantidos na sala de camundongos do Departamento de Farmacologia pertencente ao Biotério do Instituto de Ciências Biológicas-2 (BICBIO-2), onde ficaram alojados em gaiolas plásticas e mantidos em temperatura ambiente controlada de 24 ± 2 °C, com ciclo claro-escuro de 12 horas e livre acesso a água e comida.

Após a alocação dos animais no biotério de experimentação, foi mantido um período mínimo de sete dias para o início dos experimentos para os animais se habituarem ao novo alojamento. Todos os procedimentos comportamentais foram realizados em uma sala isolada, havendo um período de uma hora para habituação dos animais ao novo ambiente e mantendo uma temperatura de aproximadamente 24 °C, com iluminação de baixa intensidade e equipada com um exaustor. Ao final dos experimentos, os animais foram eutanasiados por inalação de CO₂. Todos os protocolos experimentais utilizados foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMG sob os números de protocolo 308/2022, 57/2017 e 185/2007.

3.2 Ensaio comportamentais

3.2.1 Medo condicionado ao contexto

Os testes de MCC foram realizados em uma câmara com dimensões de 20 cm x 20 cm x 22 cm. A base da caixa é formada por 23 hastes de aço inoxidável de 2mm de diâmetro, separadas por 0,7 cm e ligadas a um gerador de choques (Insight Equipamentos®). Todas as paredes da câmara são metálicas, impedindo a visibilidade da sala, com exceção da parede anterior e do teto, feitos de material acrílico. Na frente, foi posicionada uma câmera para que seja feita a gravação do comportamento.

Os protocolos foram realizados como descrito previamente (Gobira et al., 2017). No primeiro dia (pré-teste), os animais foram gentilmente colocados no centro da câmara de condicionamento. Após 210 segundos de habituação, os animais foram expostos a cinco choques elétricos nas patas (0,8 mA com 1s de duração). Os choques foram espaçados entre si por intervalos de 60, 40, 60 e 90 segundos. Um minuto após o último choque, o animal foi retirado da câmara.

Após 24h do protocolo de condicionamento, foi realizado o primeiro teste, quando os animais foram posicionados novamente na câmara sem intervenções e tiveram seu

comportamento gravado durante 5 min. Após outras 24h, foi realizado o segundo teste, que também consistiu em 5 min sem intervenções. O parâmetro avaliado foi o tempo de congelamento (“freezing”) dos animais, definido como a completa ausência de movimento, com exceção àqueles relacionados com a respiração. Este tempo de congelamento é interpretado como uma medida da evocação da memória em resposta à apresentação do elemento condicionado - neste caso, o contexto (Blanchard & Blanchard, 1969; Fanselow, 1980). A avaliação foi realizada manualmente com cronômetro digital, sem conhecimento prévio do grupo experimental ao qual o animal corresponde.

3.2.2 Teste de retirada de cauda (tail-flick)

O teste de retirada de cauda modificado de D’amour & Smith (1941) consiste na determinação do tempo de latência para que o animal retire a cauda após estímulo térmico nociceptivo. Para isso, a cauda de cada animal é posicionada junto a uma resistência helicoidal de níquel-cromo, de modo que um ponto da superfície dorsal da cauda, marcado previamente e distante 2,0 cm da extremidade da mesma, entre em contato com o fio. Ao ser ligado, o aparelho faz passar uma corrente pela resistência, de forma a aquecê-la. Simultaneamente, um cronômetro acoplado ao sistema é acionado. Quando o calor se torna suficiente para produzir nocicepção, o animal apresenta movimento reflexo brusco de retirada de cauda. Nesse momento, o aparelho é desligado manualmente, interrompendo seu aquecimento e o funcionamento do cronômetro. Esse procedimento tem o objetivo de determinar o tempo decorrido desde o início da estimulação até o aparecimento da resposta de retirada de cauda ao contato com a resistência (latência de resposta, medida em segundos). Se em nove segundos (tempo de corte), o animal não retirar a cauda, o aparelho é desligado automaticamente para minimizar lesões teciduais que possam afetar as leituras subsequentes.

Um dia antes da realização dos experimentos, os animais passaram por uma habituação no equipamento. Para isso, cada animal foi contido e teve sua cauda posicionada junto à resistência, porém com o aparelho desligado. No dia do teste, foram realizadas quatro medidas em tempos diferentes:

- a. Medida basal, realizada 10 min antes da administração de CBG ou veículo;
- b. Medida 30 min após administração;
- c. Medida 60 min após administração;
- d. Medida 120 min após administração.

3.2.3 Teste de rotarod

O teste de rotarod é utilizado para avaliar coordenação motora e equilíbrio. O aparelho utilizado (Ugo Basile mod. 7600) consiste em uma haste giratória horizontal (Dunham & Miya, 1957), revestida de plástico antideslizante, suspensa a uma altura de 15 cm e com rotação constante (16 rpm). Durante os dois dias que antecedem o teste, os animais foram submetidos a sessões de treinamento, sendo posicionados no equipamento durante 2 minutos. No dia do teste, os animais foram novamente colocados no aparelho e foi avaliado o tempo pelo qual cada animal foi capaz de caminhar sobre a haste giratória, considerando-se um tempo de corte de 2 minutos.

3.3 Administração de canabigerol

Todos os testes foram realizados utilizando canabigerol (CBG; PurMed Global) nas doses de 3, 10 e 30 mg/kg. A droga foi diluída em Tween80, DMSO e salina estéril (NaCl 0,9%) na razão de 1:1:18. As doses escolhidas foram baseadas em estudos prévios (Zhou et al., 2022). O CBG foi administrado a 10 mL/kg via intraperitoneal (i.p.), levando em consideração que o tempo no qual sua concentração cerebral máxima é atingida (T_{max}) é de 2 horas (Deiana et al., 2012). Para o teste de rotarod, a xilazina foi utilizada como controle positivo na dose de 16 mg/kg e administrada 10 min antes do teste. Foi diluída em salina estéril (NaCl 0,9%) e administrada a 10 mL/kg via i.p.

3.4 Análise estatística

Todas as análises estatísticas e elaborações gráficas foram realizadas com o software GraphPad Prism 10.1.1. Os dados foram analisados por teste t de Student, análise de variância (ANOVA) de uma via, ANOVA de duas vias ou ANOVA de medidas repetidas, seguido de teste posthoc de Bonferroni ou teste de Mann-Whitney, como apropriado. O nível de significância foi considerado como $p < 0,05$. Os dados estão apresentados em gráficos com os valores individuais sobrepostos às médias e erro padrão da média ou sobrepostos à mediana e intervalo interquartil.

4. RESULTADOS

4.1 Definição do protocolo

Inicialmente, nós realizamos a validação do protocolo a ser utilizado nos testes de MCC. Para isso, no primeiro dia (pré-teste), os animais foram submetidos ao condicionamento, quando receberam o pareamento do estímulo aversivo (choques) com o estímulo neutro (contexto). Após 24h, foi realizado o teste 1, onde os animais foram novamente posicionados na câmara apenas com a apresentação do estímulo neutro. O comportamento de cada animal foi gravado durante 5 minutos (protocolo 1) ou 20 minutos (protocolo 2) a fim de se avaliar o tempo de congelamento – interpretado, nesse modelo, como uma evocação da memória de medo. No terceiro dia, 48h após o pré-teste, foi realizado um segundo teste, onde os animais foram reexpostos à câmara por 5 min sem intervenções (Figura 5).

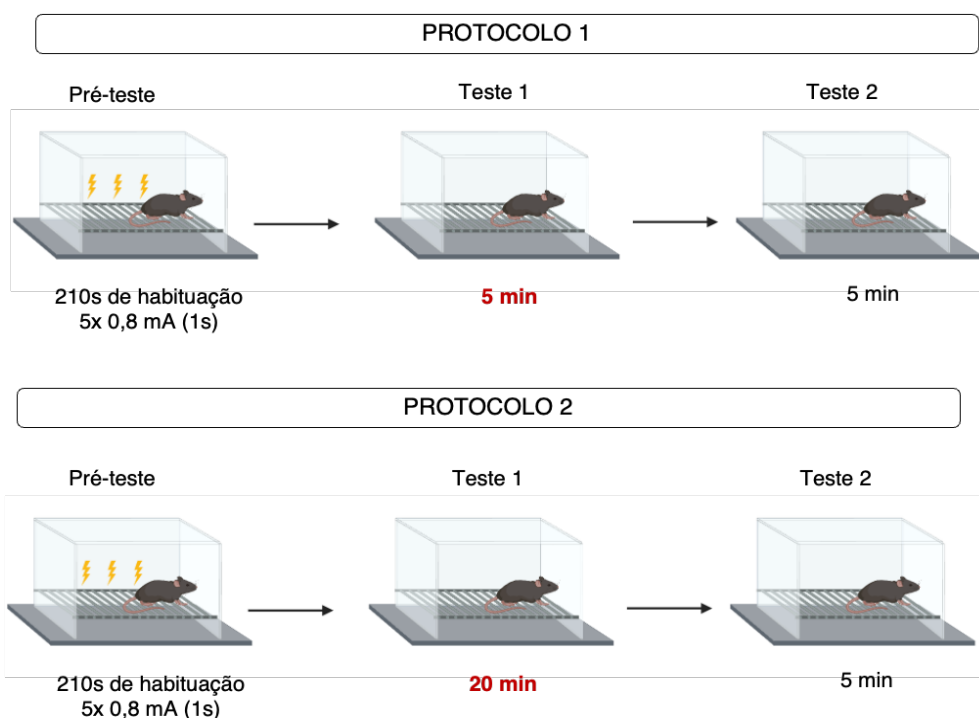


Figura 5. Delineamento experimental da validação do protocolo utilizado. Imagem elaborada pela autora utilizando o Biorender.

Os resultados obtidos demonstram que o protocolo de choques estabelecido e utilizado durante o pré-teste foi capaz de condicionar os animais em ambos os protocolos (P1 e P2), o que significa que a intensidade foi suficiente para que se estabeleça uma relação entre o contexto (EC) e os choques (EI). Isso pode ser visto através da comparação da taxa de freezing durante o teste 1 com animais que não receberam choques durante o pré-teste (sem choques, SC) (Figura

6). O efeito do protocolo foi obtido para fêmeas [$F(2, 12)=60,42$; $p<0,0001$] (Figura 6A) e machos [$F(2, 13)=39,54$; $p<0,0001$] (Figura 6B).

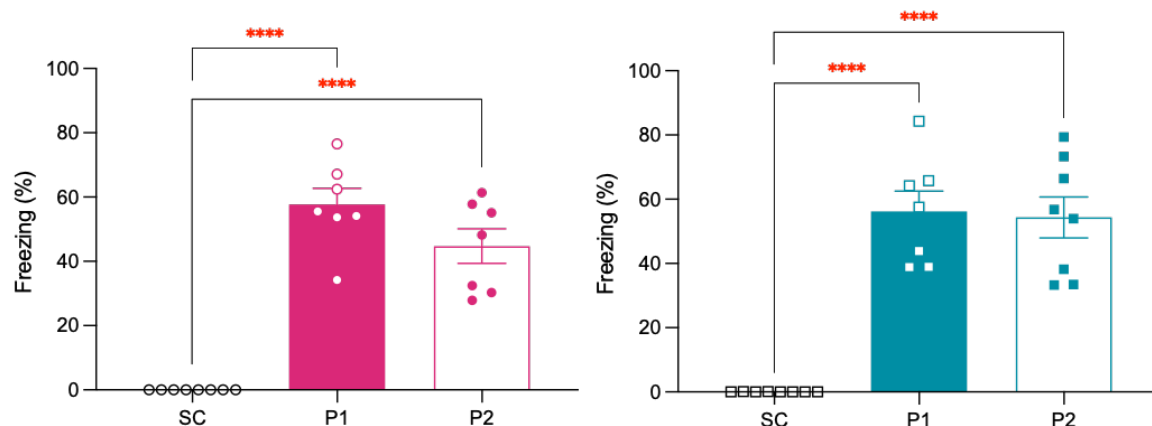


Figura 6. O protocolo utilizado durante o pré-teste foi suficiente para condicionar os animais. Os gráficos mostram a porcentagem de freezing durante o teste 1 de animais que não receberam choques (SC) ou que passaram pelos protocolos 1 ou 2. **A)** Comparação entre protocolos para fêmeas ($n=8,7,7$). **B)** Comparação entre protocolos para machos ($n=8,7,8$). Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (ANOVA de uma via seguido de teste posthoc de Bonferroni). **** $p<0,0001$. P1: protocolo 1; P2: protocolo 2; SC: sem choques.

Com isso definido, nosso próximo passo foi partir para a comparação entre os dois protocolos elaborados. As análises revelam que as fêmeas submetidas ao P1 apresentaram uma redução significativa do freezing durante o teste 2 [$t(6)=4,778$; $p=0,0031$] (Figura 7A), o que também foi visto com o P2 [$t(6)=4,193$; $p=0,0057$] (Figura 7B). Em machos, o resultado obtido foi semelhante, ou seja, o P1 foi eficaz em reduzir o freezing [$t(6)=2,899$; $p=0,0274$] (Figura 7C) da mesma forma que o P2 [$t(7)=4,841$; $p=0,0019$] (Figura 7D). Sendo assim, concluímos que uma primeira sessão de evocação de 5 minutos foi tão eficaz quanto uma sessão de 20 minutos na redução de freezing que foi vista durante o teste 2. Dessa forma, estabelecemos que o protocolo a ser utilizado para os próximos experimentos seria o P1, com sessão de evocação durante o primeiro teste de apenas 5 minutos.

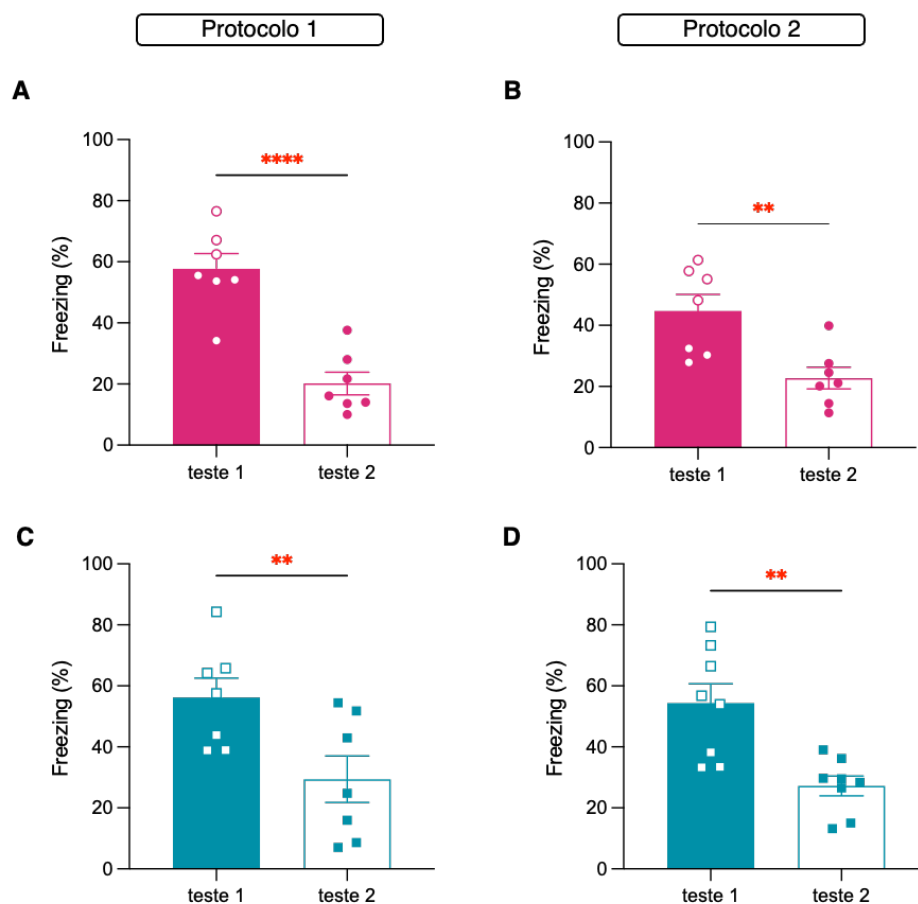


Figura 7. Sessões de evocação de 5 ou 20 minutos foram capazes de reduzir os níveis de freezing em machos e fêmeas. **(A)** Fêmeas expostas ao P1, com uma sessão evocação de 5 min durante o teste 1 (n=7). **(B)** Fêmeas expostas ao P2, com uma sessão evocação de 20 min durante o teste 1 (n=7). **(C)** Machos expostos ao P1, com uma sessão evocação de 5 min durante o teste 1 (n=7). **(D)** Machos expostos ao P2, com uma sessão evocação de 20 min durante o teste 1 (n=8). Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (teste t pareado). **p<0,01; ****p<0,0001.

4.2 O canabigerol não é capaz de inibir a aquisição da memória contextual aversiva

Uma vez que o protocolo de MCC a ser utilizado foi determinado, nós realizamos os experimentos de forma a avaliar os efeitos do CBG na fase de aquisição da memória contextual de medo. Para isso, o CBG foi administrado (3, 10 ou 30 mg/kg i.p.) 2h antes do momento do pré-teste, de acordo com o delineamento apresentado na Figura 8A. Esse período de tempo foi determinado de acordo com estudos prévios de farmacocinética da droga, que demonstram que o T_{max} cerebral e plasmático (tempo em que a concentração máxima da droga é atingida) é de 120 min (Deiana et al., 2012).

Os resultados obtidos em nossos experimentos mostram que, durante o teste 1, não houve efeito do CBG na taxa de freezing de camundongos fêmeas [$F(3, 31)=0,1167$; $p=0,9497$]

(Figura 8B) ou machos [$F(3, 34)=0,8497$; $p=0,4765$] (Figura 8D). No teste 2, apesar de a taxa de freezing ter sido menor, o que era esperado, não houve diferença significativa relativa ao tratamento. Esse resultado foi visto para ambos os sexos (fêmeas: $F(3, 31)=1,616$; $p=0,2056$, machos: $F(3, 34)=2,481$; $p=0,0776$) (Figura 8C,E). Isso indica que o CBG não exerceu qualquer efeito sobre a aquisição da memória de medo.

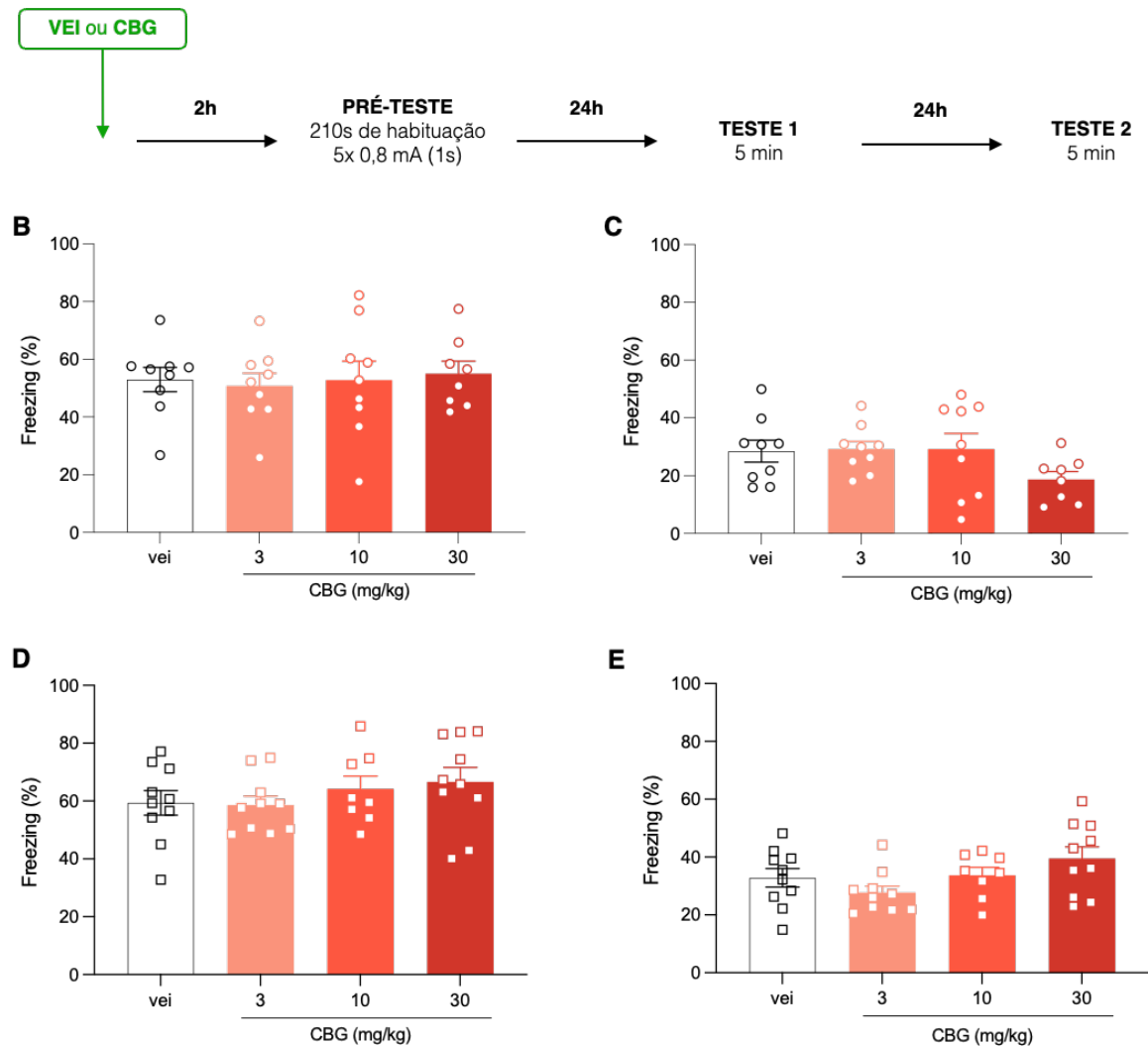


Figura 8. Efeito do CBG na aquisição da memória. A administração de CBG (3, 10 e 30 mg/kg i.p.) 2h antes do pré-teste não foi capaz de inibir a aquisição da memória de medo em camundongos machos ou fêmeas. (A) Delineamento experimental, sendo que a flecha verde indica o momento de administração. (B) Porcentagem de freezing de fêmeas durante o teste 1 (n=9,9,9,8). (C) Porcentagem de freezing de fêmeas durante o teste 2 (n=9,9,9,8). (D) Porcentagem de freezing de machos durante o teste 1 (n=10,10,8,10). (E) Porcentagem de freezing de machos durante o teste 2 (n=10,10,8,10). Os resultados são apresentados como média ± erro padrão da média (ANOVA de uma via).

Quando o teste 1 é analisado minuto-a-minuto, percebe-se que houve diferença pelo fator tempo, sendo que o primeiro minuto de exposição apresenta uma taxa de freezing menor em relação ao minuto subsequente (Figura 9B,D). Isso foi observado em todas as doses administradas para fêmeas [F(4, 124)=30,90; $p<0,0001$] e também para machos [F(4, 136)=30,59; $p<0,0001$]. Nós hipotetizamos que isso aconteça devido ao tempo que o animal levaria para identificar o contexto onde foi colocado. No entanto, não houve qualquer efeito do tratamento nos resultados obtidos (fêmeas: [F(3, 31)=0,1167; $p=0,9497$], machos: [F(3, 34)=0,8497; $p=0,4765$]).

Durante o segundo teste, houve efeito da interação entre tempo e tratamento apenas para fêmeas [tempo x tratamento: F(12, 124)=1,875; $p=0,0437$] (Figura 9C). Além disso, foi visto um resultado significativo somente em relação ao tempo para machos e fêmeas (Figura 9C,E) (machos: [F(4, 136)=3,541; $p=0,0088$], fêmeas: [F(4, 124)=9,937; $p<0,0001$]). No entanto, essas diferenças não são relevantes para os objetivos propostos nesse trabalho.

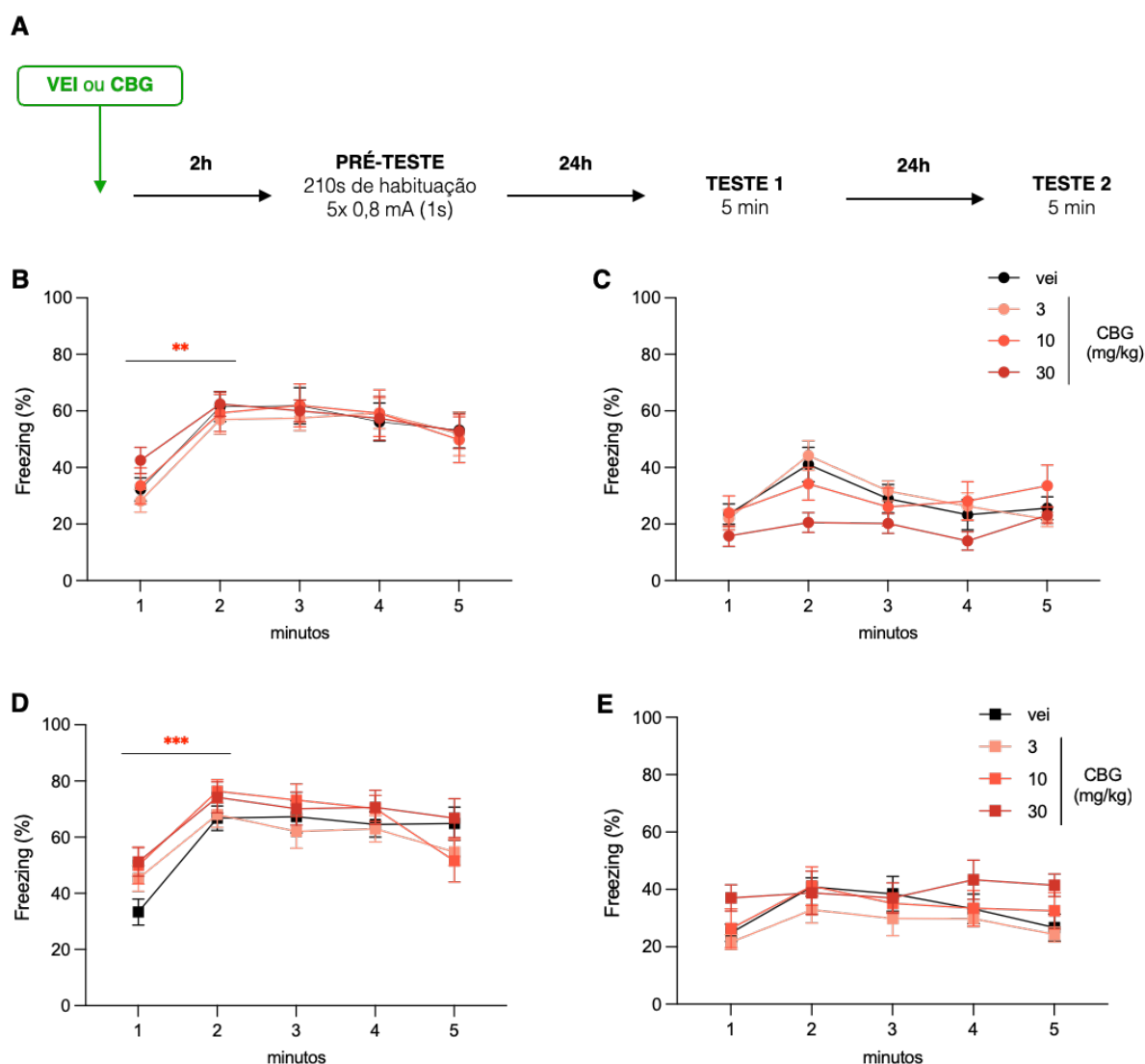


Figura 9. Análise minuto-a-minuto dos grupos tratados com CBG antes do pré-teste. (A) Delineamento experimental, sendo que a flecha verde indica o momento de administração. (B) Análise min-a-min do freezing de fêmeas durante o teste 1 (n=9,9,9,8). (C) Análise min-a-min do freezing de fêmeas durante o teste 2 (n=9,9,9,8). (D) Análise min-a-min do freezing de machos durante o teste 1 (n=10,10,8,10). (E) Análise min-a-min do freezing de machos durante o teste 2 (n=10,10,8,10). Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (ANOVA de medidas repetidas). **p<0,01; ***p<0,001.

4.3 A consolidação da memória de medo não é prejudicada pela administração de CBG

Nosso próximo passo foi, então, partir para a investigação dos efeitos do CBG na fase de consolidação da memória. Para isso, foi feita a administração de CBG (3, 10 ou 30 mg/kg i.p.) imediatamente após o pré-teste, como mostra o delineamento da Figura 10A. Em seguida, foi feita a avaliação da taxa de freezing dos animais durante o teste 1 e o teste 2. Os resultados demonstram que, nas doses administradas, o CBG não foi capaz de inibir a consolidação da memória de medo. Isso pode ser observado pelos resultados do teste 1 tanto para fêmeas [F(3, 36)=2,146; p=0,1115] (Figura 10B) quanto para machos [F(3, 35)=0,1936; p=0,9000] (Figura 10D). Durante o teste 2, também não foi vista diferença significativa nos valores para ambos os sexos (fêmeas: [F(3, 36)=1,391; p=0,2613], machos: [F(3, 35)=2,419; p=0,0826]) (Figura 10C,E).

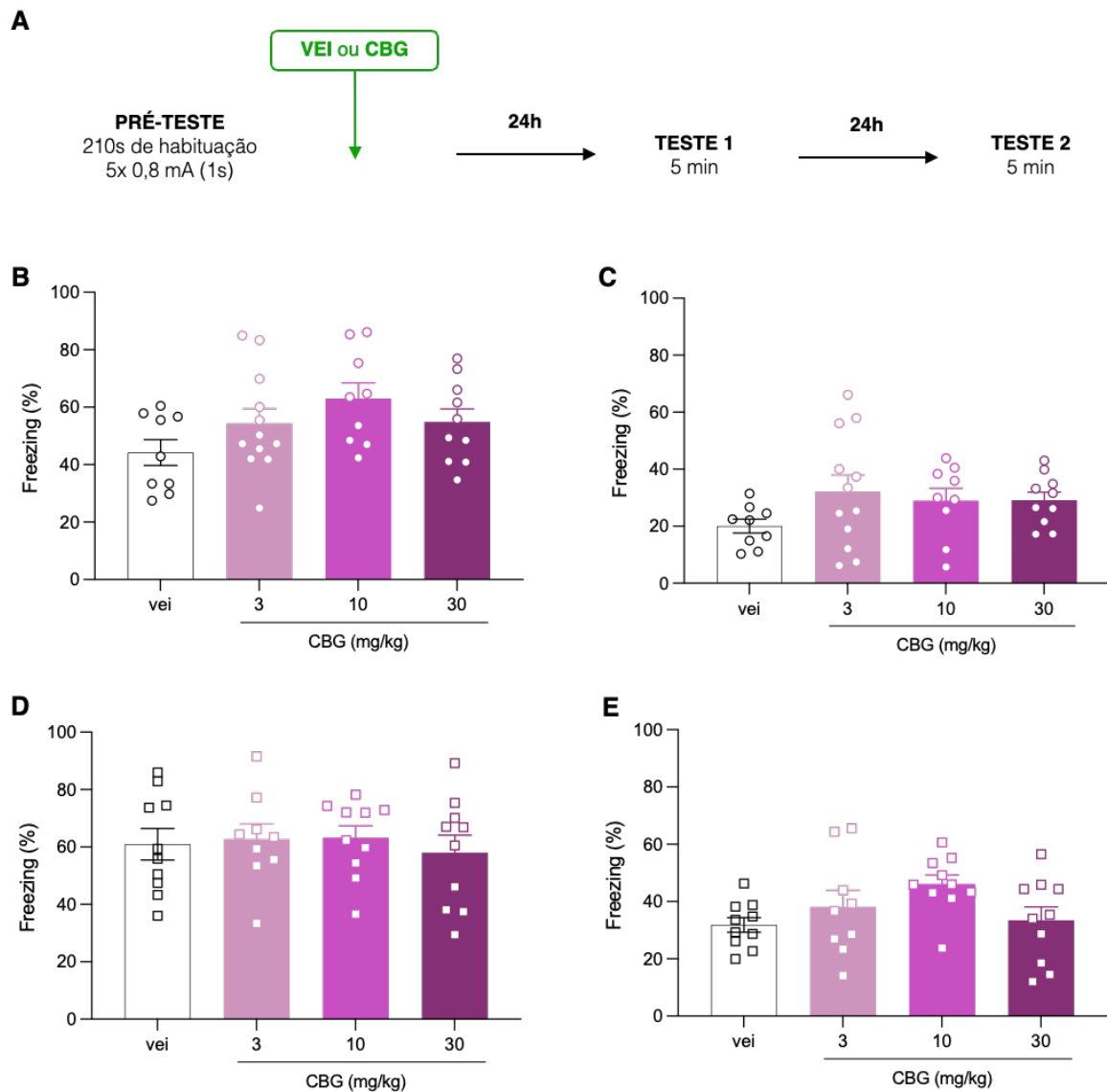


Figura 10. Efeito do CBG na consolidação da memória. A administração de CBG (3, 10 e 30 mg/kg i.p.) imediatamente após o pré-teste não foi capaz de prejudicar a consolidação da memória de medo em camundongos machos ou fêmeas. **(A)** Delineamento experimental, sendo que a flecha verde indica o momento de administração. **(B)** Porcentagem de freezing de fêmeas durante o teste 1 (n=9,12,9,10). **(C)** Porcentagem de freezing de fêmeas durante o teste 2 (n=9,12,9,10). **(D)** Porcentagem de freezing de machos durante o teste 1 (n=10,9,10,10). **(E)** Porcentagem de freezing de machos durante o teste 2 (n=10,9,10,10). Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (ANOVA de uma via).

As análises minuto-a-minuto durante o teste 1 revelaram efeito do fator tempo para ambos os sexos. Para as fêmeas, houve diferença entre os minutos 1 e 2 em todos os grupos tratados [$F(4, 144)=33,01$; $p<0,0001$] (Figura 11B). Já para os machos, esse efeito foi visto em todas as doses, exceto no grupo de animais tratados com a maior dose de CBG (30 mg/kg) [$F(4, 140)=18,38$; $p<0,0001$] (Figura 11D). No entanto, não houve qualquer diferença significativa

do tratamento (fêmeas: $[F(3, 36)=2,146; p=0,1115]$, machos: $[F(3, 35)=0,1936; p=0,9000]$). Da mesma forma vista nos experimentos anteriores, houve efeito do tempo durante o teste 2 (fêmeas: $[F(4, 144)=3,743; p=0,0063]$, machos: $[F(4, 140)=9,275; p<0,0001]$), mas não da dose administrada (fêmeas: $[F(3, 36)=1,391; p=0,2613]$, machos: $[F(3, 35)=2,419; p=0,0826]$) (Figura 11C,E), o que não é de importância para nossas análises.

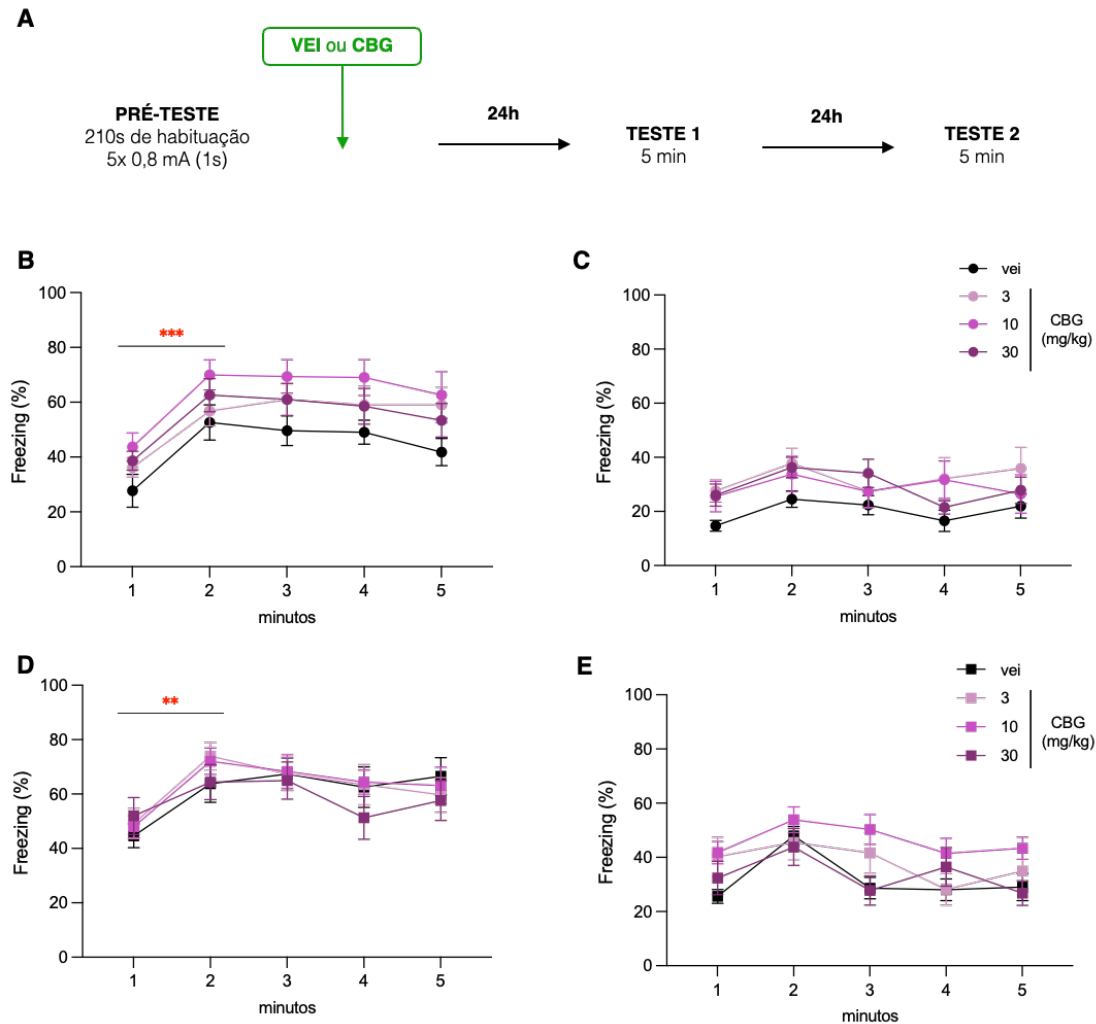


Figura 11. Análise minuto-a-minuto dos grupos tratados com CBG imediatamente após o pré-teste. (A) Delineamento experimental, sendo que a flecha verde indica o momento de administração. (B) Análise min-a-min do freezing de fêmeas durante o teste 1 ($n=9,12,9,10$). (C) Análise min-a-min do freezing de fêmeas durante o teste 2 ($n=9,12,9,10$). (D) Análise min-a-min do freezing de machos durante o teste 1 ($n=10,9,10,10$). (E) Análise min-a-min do freezing de machos durante o teste 2 ($n=10,9,10,10$). Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (ANOVA de medidas repetidas). ** $p<0,01$; *** $p<0,001$.

4.4 A administração de canabigerol não teve efeito na evocação da memória de medo

Em sequência, nós investigamos se o CBG inibe a evocação de memórias aversivas quando administrado 2h antes da sessão de teste 1, de acordo com o protocolo ilustrado na Figura 12A. No entanto, assim como foi visto para as outras fases da memória, não houve qualquer efeito do CBG na expressão de medo. O mesmo resultado foi obtido durante o teste 1 para ambos o sexos (fêmeas: $[F(3, 35)=0,3586; p=0,7831]$, machos: $[F(3, 36)=0,3244; p=0,8077]$) (Figura 12B,D). Da mesma forma, no teste 2, não houve diferença estatística entre os grupos (fêmeas: $[F(3, 35)=1,059; p=0,3788]$, machos: $[F(3, 36)=2,037; p=0,1261]$) (Figura 12C,E).

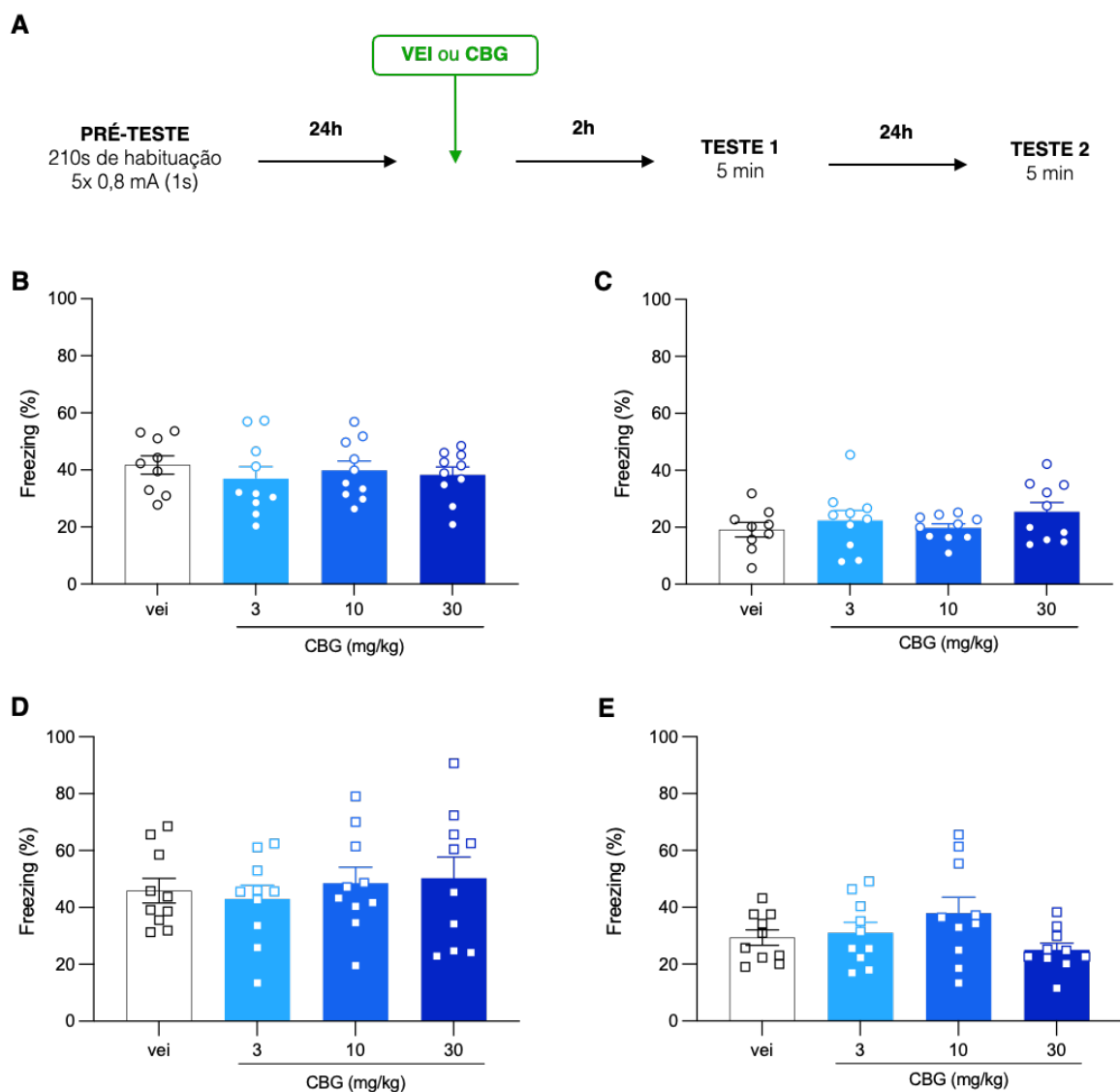


Figura 12. Efeito do CBG na evocação da memória. A administração de CBG (3, 10 e 30 mg/kg i.p.) antes do teste 1 não foi capaz de prejudicar a evocação da memória de medo em camundongos machos ou fêmeas. **(A)** Delineamento experimental, sendo que a flecha verde indica o momento de administração. **(B)** Porcentagem de freezing de fêmeas durante o teste 1 (n=9,10,10,10). **(C)**

Porcentagem de freezing de fêmeas durante o teste 2 (n=9,10,10,10). **(D)** Porcentagem de freezing de machos durante o teste 1 (n=10,10,10,10). **(E)** Porcentagem de freezing de machos durante o teste 2 (n=10,10,10,10). Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (ANOVA de uma via).

Quando feita a análise temporal, o resultado foi semelhante ao que foi visto anteriormente. Durante o teste 1, houve aumento do freezing após o primeiro minuto para as fêmeas de todos os grupos [F(4, 140)=14,71; $p<0,0001$] (Figura 13B), enquanto para machos isso foi visto apenas para os grupos veículo e animais tratados com CBG a 10 e 30 mg/kg [F(4, 144)=22,38; $p<0,0001$] (Figura 13D). Não houve qualquer diferença causada pelo tratamento (fêmeas: [F(3, 35)=0,3586; $p=0,7832$], machos: [F(3, 36)=0,3244; $p=0,807$]). Já durante o teste 2, foi visto efeito do tempo (fêmeas: [F(4, 140)=7,335; $p<0,0001$], machos: [F(4, 144)=7,353; $p<0,0001$]) e não do tratamento (fêmeas: [F(3,35)=1,059; $p=0,3788$], machos: [F(3, 36)=2,037; $p=0,1261$]) (Figura 13C,E), o que não foi relevante.

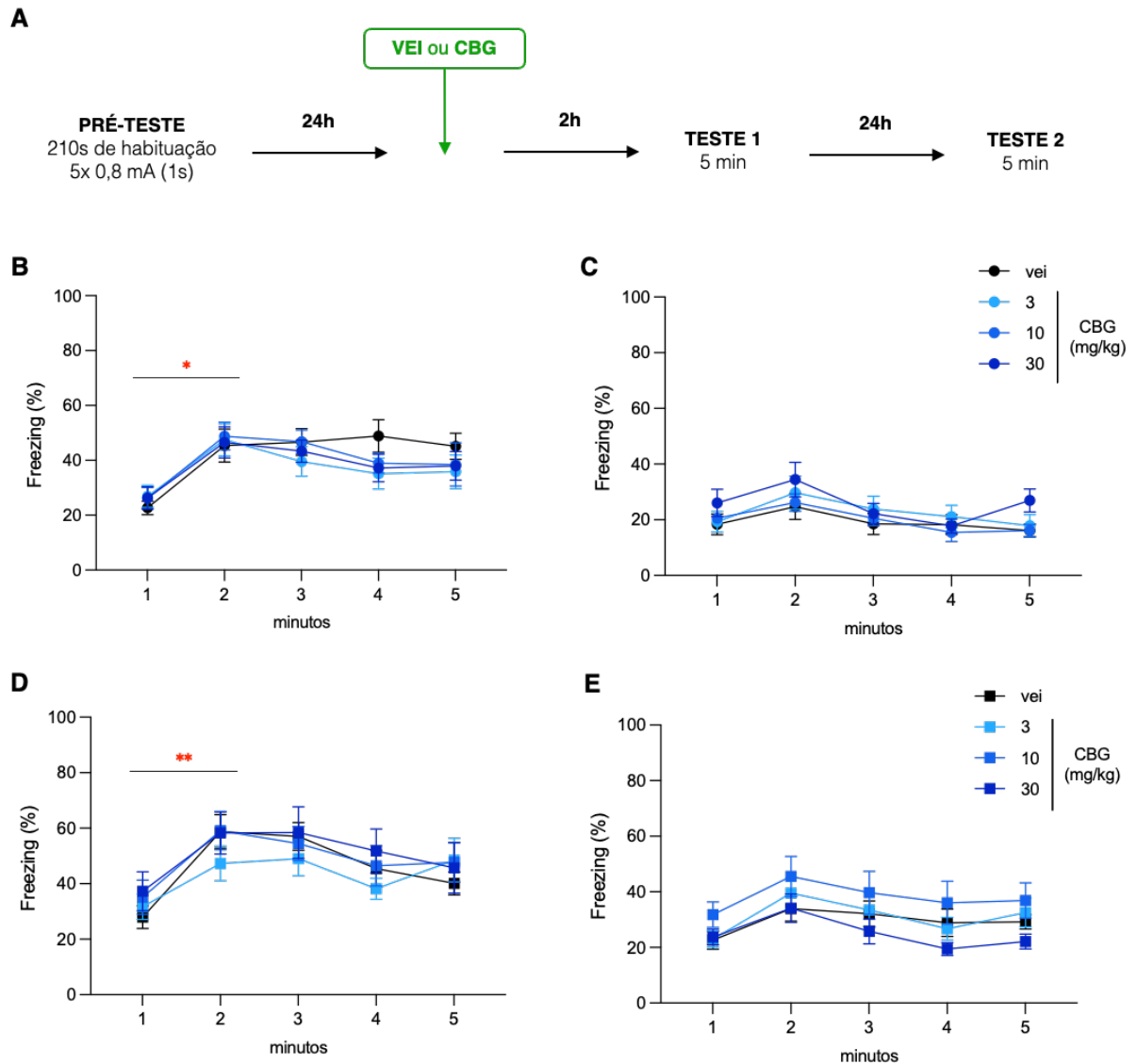


Figura 13. Análise minuto-a-minuto dos grupos tratados com CBG antes do teste 1. (A) Delineamento experimental, sendo que a flecha verde indica o momento de administração. **(B)** Análise min-a-min do freezing de fêmeas durante o teste 1 (n=9,10,10,10). **(C)** Análise min-a-min do freezing de fêmeas durante o teste 2 (n=9,10,10,10). **(D)** Análise min-a-min do freezing de machos durante o teste 1 (n=10,10,10,10). **(E)** Análise min-a-min do freezing de machos durante o teste 2 (n=10,10,10,10). Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (ANOVA de medidas repetidas). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

4.5 O canabigerol não altera a percepção dos choques pelos animais

Em relação ao seu potencial antinociceptivo, o CBG na dose de 3 mg/kg demonstrou uma pequena atividade analgésica no tail-flick quando o teste é realizado 15 min após a injeção (Zagzoog et al., 2020). Contudo, quando administrado 1h antes do teste na dose de 10 mg/kg, se mostrou ineficiente (Sepulveda et al., 2022), o que sugere que possa haver tanto papel da

dose quanto do tempo de análise. Nosso interesse em relação a isso era investigar se alterações na nocicepção dos animais poderiam modificar a percepção dos choques quando o CBG é administrado antes do condicionamento. Com base nisso, nós elaboramos o protocolo apresentado na Figura 14A, com medidas de latência para retirada da cauda feitas até 2h após a injeção.

No grupo de machos, a ANOVA de medidas repetidas não mostrou qualquer efeito do tempo [$F(3, 48)=1,865$; $p=0,1481$] ou do tratamento [$F(3, 16)=0,3222$; $p=0,8093$] (Figura 14C). Já nas fêmeas, os testes estatísticos demonstraram efeito significativo do tempo [$F(3, 60)=3,305$; $p=0,0261$], do tratamento [$F(3, 20)=0,2699$; $p=0,8463$], e também da interação entre esses dois fatores [$F(9, 60)=2,587$; $p=0,0137$]. No teste de post-hoc, é possível ver que o grupo de animais que recebeu a menor dose (3 mg/kg) apresentou um aumento da latência de retirada 30 min após a administração. No entanto, no tempo de 120 min, os valores retornaram ao que foi visto na medida basal (Figura 14B). Já os animais tratados com a maior dose de 30 mg/kg de CBG apresentaram uma diminuição significativa nas medidas de 30 min e 120 min quando comparadas com o limiar da medida basal (Figura 14B). Não houve diferença estatística entre os grupos em cada um dos tempos quando analisados individualmente.

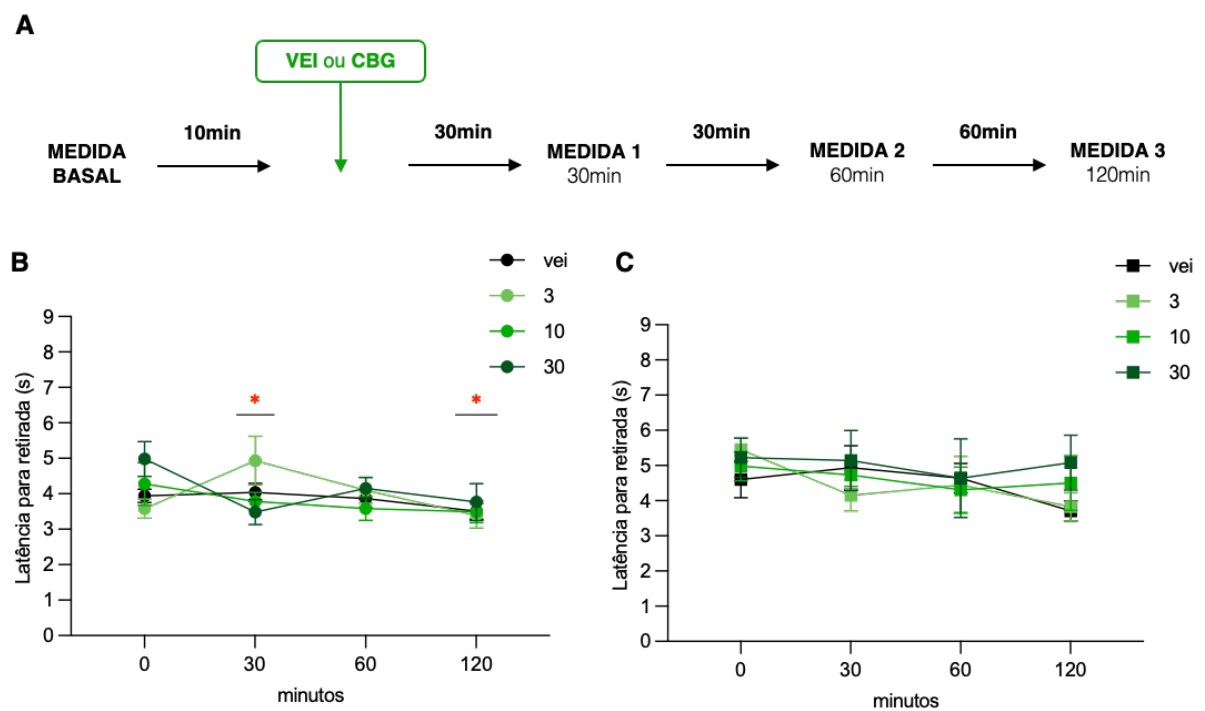


Figura 14. Latência para retirada da cauda durante o teste de tail-flick. (A) Delineamento experimental, sendo que a flecha verde indica o momento de administração. **(B)** Análise da medida basal e da medida feita 30, 60 e 120 min após administração de CBG ou veículo em fêmeas ($n=6,6,6,6$). **(C)** Análise da medida basal e da medida feita 30, 60 e 120 min após administração de CBG ou veículo em

machos (n=5,5,5,5). Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (ANOVA de medidas repetidas). * $p < 0,05$ em comparação com o minuto 0 (medida basal).

Nós também optamos por analisar a taxa de freezing durante o período de condicionamento dos animais que receberam o CBG 2h antes do pré-teste com o objetivo de avaliar se haveria alguma diferença na percepção dos choques. A ANOVA de medidas repetidas demonstrou, tanto para fêmeas quanto para machos (Figura 15B,C), um efeito estatisticamente significativo do tempo (fêmeas: [F(5, 160)=317,7; $p < 0,0001$, machos: [F(5, 170)=342,1; $p < 0,0001$]), mas não do tratamento (fêmeas: [F(3, 32)=1,345; $p = 0,2773$], machos: [F(3, 34)=1,347; $p = 0,2753$]) quando comparado o tempo de habituação e o último intervalo entre os choques. Esse resultado, conforme o esperado, demonstra que não houve efeito significativo do CBG que tivesse algum impacto no condicionamento dos animais.

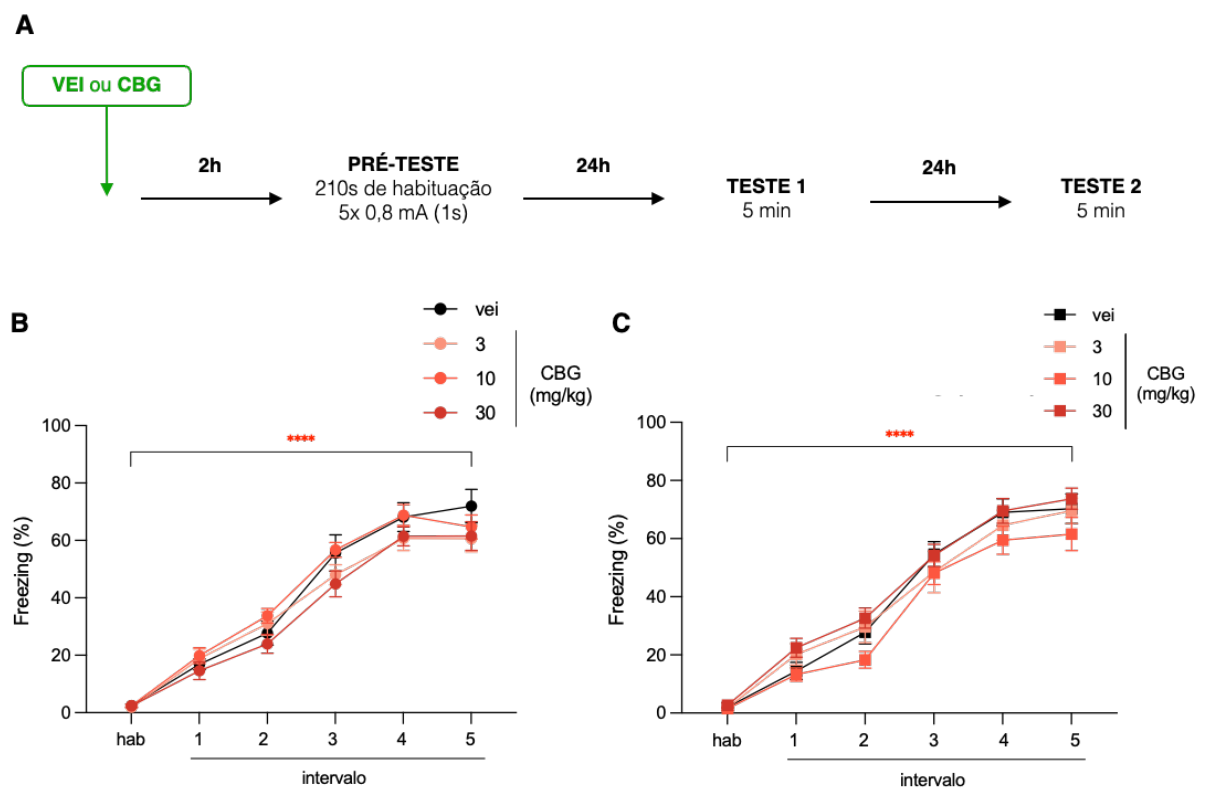


Figura 15. Análise do freezing durante o condicionamento de animais tratados com CBG 2h antes do pré-teste. (A) Delineamento experimental, sendo que a flecha verde indica o momento de administração. (B) Análise da taxa de freezing de fêmeas durante o tempo de habituação (hab) e durante os intervalos entre os choques do pré-teste (n=9,9,9,8). (C) Análise da taxa de freezing de machos durante o tempo de habituação (hab) e durante os intervalos entre os choques do pré-teste (n=10,10,8,10). Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (ANOVA de medidas repetidas). **** $p < 0,0001$.

4.6 Não houve alteração de coordenação motora causada pelo canabigerol

Por fim, nós realizamos o teste do rota-rod para avaliar alterações de equilíbrio ou coordenação motora nos animais 2 horas após administração da droga (Figura 16A), utilizando a xilazina como controle positivo. O teste de Kruskal-Wallis apontou uma diferença significativa entre os grupos tratados tanto entre as fêmeas [H=13,23; p=0,0102] (Figura 16B) quanto entre os machos [H=18,99; p=0,0008] (Figura 16C). Em seguida, realizamos o teste de Mann-Whitney e detectamos uma diferença significativa apenas quando comparados os grupos xilazina (controle positivo) e veículo (controle negativo), o que demonstra que o CBG não causou alterações de coordenação motora nos animais.

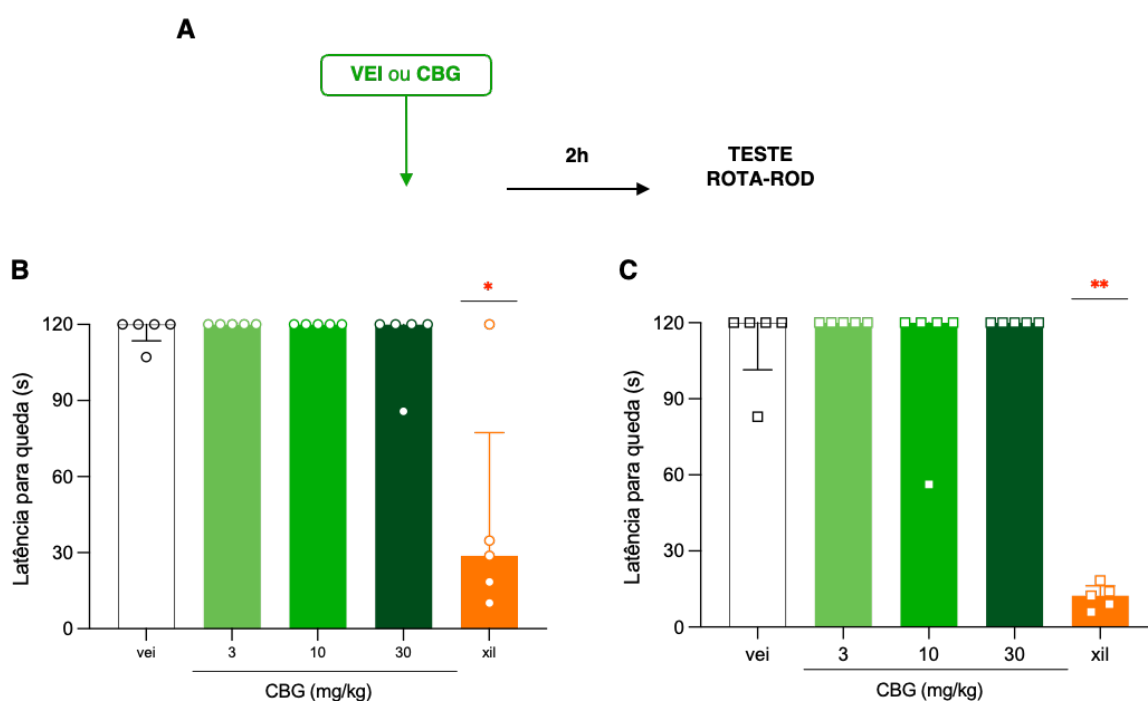


Figura 16. Latência para queda durante o teste de rota-rod. (A) Latência para a queda de fêmeas que passaram pelo teste de rota-rod tratadas com veículo (vei), CBG ou xilazina (xil) (n=5,5,5,5,5). **(B)** Latência para a queda de machos que passaram pelo teste de rota-rod tratadas com veículo (vei), CBG ou xilazina (xil) (n=5,5,5,5,5). Os resultados são apresentados como mediana \pm intervalo interquartil (teste de Kruskal-Wallis seguido de teste Mann-Whitney). *p<0,05; **p<0,01.

5. DISCUSSÃO

Neste trabalho, nós investigamos os efeitos do CBG em diferentes fases da memória contextual aversiva em camundongos machos e fêmeas. Nós testamos inicialmente em nosso laboratório um novo protocolo de MCC, que se mostrou eficiente para o condicionamento dos animais. Além disso, a validação do protocolo utilizado demonstrou que uma reexposição de 5 minutos ao contexto é suficiente para que os animais apresentem uma taxa reduzida de freezing no teste 2 quando comparado ao teste 1. No que diz respeito à atividade do CBG nos experimentos realizados, nós observamos que a sua administração 2h antes do pré-teste não foi capaz de impedir a aquisição da memória de medo. Quando injetado imediatamente após o pré-teste, o CBG também não apresentou efeitos sobre o processo de consolidação. Além disso, quando administrado 2h antes da reexposição ao contexto durante o teste 1, o CBG não demonstrou diferença significativa sobre a evocação da memória. Esses resultados foram consistentes para ambos os sexos.

Levando em consideração que o modelo de MCC envolve a exposição dos animais a um estímulo nociceptivo (choques), nós também tivemos como interesse investigar os efeitos do CBG no teste de retirada de cauda. Foi visto que, somente para as fêmeas, houve um efeito significativo da interação entre o tempo e o tratamento. Especificamente, as doses de 3 e 30 mg/kg apresentaram uma diferença quando comparadas a medida basal (0 min) e a medida no tempo de 30 min. Enquanto a dose de 3 mg/kg provocou um aumento da latência de retirada da cauda, a dose de 30 mg/kg causou uma diminuição dessa mesma medida. Ainda, na maior dose testada, houve diferença entre o limiar avaliado no tempo de 120 min e a medida basal. Esses resultados, no entanto, não necessariamente sugerem que o CBG possa ter causado prejuízo na percepção dos choques pelos animais. Isso pode ser afirmado uma vez que, durante o momento de condicionamento, os animais que receberam o CBG 2h antes não apresentaram diferença na taxa de freezing quando comparados com os animais que receberam o veículo, tanto durante a habituação quanto nos intervalos entre cada choque. Por fim, nós realizamos o teste de rota-rod a fim de avaliar a coordenação motora dos animais. No entanto, o CBG não demonstrou efeito para machos ou fêmeas.

Nosso grupo de pesquisa tem como um de seus focos a investigação do papel dos canabinoides na memória contextual de medo. Este tema é de crescente interesse, uma vez que os extratos da *Cannabis* têm cada vez sido mais explorados por seu potencial terapêutico. Sob esse contexto, alguns dos resultados obtidos nos últimos anos demonstram, assim como foi evidenciado anteriormente neste trabalho, que existe uma atividade dual e dependente de múltiplos fatores (Briânis et al., 2023). Pode-se imaginar, por exemplo, que a forma de atuação

clássica dos canabinoides no organismo se dê através da interação com os receptores CB₁ e CB₂. No entanto, não são todos os fitocannabinoides que apresentam uma alta afinidade por esses receptores, conforme descrito previamente. Além disso, muitos canabinoides interagem com um grande número de alvos farmacológicos (Calapai et al., 2022; Cascio et al., 2010; De Petrocellis et al., 2011; Nachnani et al., 2021; Pertwee, 2008), sendo inclusive descritos como substâncias “promíscuas”. Essa característica realça a dificuldade de se identificar com clareza todos os mecanismos moleculares envolvidos em sua ação.

Um dos canabinoides que têm atraído crescente curiosidade é o CBG. Apesar de ter sua estrutura elucidada há bastante tempo (Gaoni e Mechoulam, 1964b), sua atividade farmacológica tem sido investigada apenas mais recentemente. Foi a partir dessa demanda, portanto, que surgiu o nosso interesse em investigar seus efeitos no modelo de MCC. Dentre os canabinoides mais conhecidos, o que mais se assemelha ao CBG é o CBD, que já apresentou resultados satisfatórios na inibição de memórias aversivas (Lisboa et al., 2024). Isso nos levou a hipotetizar que o mesmo pudesse ser observado para o CBG. Apesar disso, os resultados vistos no teste de MCC utilizando o CBD como tratamento divergem dos resultados encontrados por nós com o uso do CBG. Em relação à fase de evocação da memória, o CBD não obteve efeito quando administrado 60 min antes do teste (1, 10, 30 ou 100 mg/kg) (Assareh et al., 2020). Por outro lado, em outros dois estudos, quando a injeção foi feita 30 min antes da sessão de teste, o CBD na dose de 10 mg/kg foi capaz de reduzir o freezing (Han et al., 2022; Resstel et al., 2006). Esse efeito foi ainda acompanhado por uma diminuição das alterações cardiovasculares que geralmente são vistas durante a evocação da memória de medo (Resstel et al., 2006).

Durante o processo de consolidação da memória, os efeitos do CBD parecem ser mais consistentes. Estudos demonstram que, quando administrado logo após o condicionamento, o CBD na dose de 10 mg/kg diminui a expressão do medo (Stern et al., 2017). O mesmo foi visto com a infusão intra-hipocampal de CBD (30 pmol), que também resultou em uma diminuição na taxa de freezing. Esse efeito parece ser dependente de receptores CB₁ e CB₂, uma vez que o pré-tratamento tanto com AM251 (antagonista CB₁) quanto com AM630 (antagonista CB₂) foi capaz de reverter o efeito obtido (Raymundi et al., 2020). Com base nesses resultados, nós poderíamos supor que a dose de 10 mg/kg do CBG talvez fosse capaz de exercer uma ação semelhante à do CBD. No entanto, essa dose foi testada por nós e também foi utilizada por Zhou e colaboradores (2022) no modelo de MCC (1x 1,5mA; 1s), não tendo sido visto qualquer efeito. Dessa forma, esses resultados sugerem que o CBG, de fato, não apresente efeito na consolidação de memórias contextuais aversivas. Já quando se trata do momento de aquisição da memória, os estudos que investigam a ação do CBD no modelo de MCC ainda são escassos.

Apesar disso, uma investigação de Han e colaboradores (2022) demonstrou que sua administração antes do condicionamento não prejudica a fase de aquisição, achado que se assemelha ao que foi observado com o CBG tanto em nosso estudo quanto em trabalhos de outros grupos (Zhou et al., 2022).

No que diz respeito aos efeitos antinociceptivos da administração sistêmica de CBG, os resultados encontrados na literatura são variáveis. Na dose de 10 mg/kg, o CBG se mostrou ineficaz quando o teste de tail-flick foi realizado 60 min após a injeção (Sepulveda et al., 2022). Por outro lado, quando o teste é realizado apenas 15 min após administração de CBG, a dose de 3 mg/kg apresentou uma leve ação antinociceptiva (Zagzoog et al., 2020). Essa distinção de resultados e a comparação feita com a atividade do CBD sugerem que o efeito do CBG possa, portanto, estar restrito ao momento de análise. Se levarmos em consideração o mesmo estudo que nós utilizamos como referência sobre a farmacocinética de canabinoides (Deiana et al., 2012), é possível ver que o T_{max} cerebral do CBD administrado i.p. é de 120 min, da mesma forma vista para o CBG. No entanto, todos os estudos aqui citados que demonstram um efeito significativo do CBD no modelo de MCC levam em consideração um tempo de apenas 30 min pós administração (Han et al., 2022; Resstel et al., 2006). Ainda, no teste de tail-flick realizado por nós, a maior diferença de limiar vista foi nos 30 min seguintes da injeção. Esses resultados poderiam sugerir que o intervalo de 2h que utilizamos no delineamento dos experimentos tenha sido longo demais, fazendo com que ocorra uma perda do efeito devido à janela temporal escolhida. Apesar disso, em um estudo em que se avaliou os efeitos do CBG sobre a pressão arterial de camundongos, o efeito hipotensor de fato ocorreu cerca de 2h após a administração deste fitocanabinoide (Vernail et al., 2022). Portanto, há uma demanda por estudos com protocolos de administração do CBG em diferentes intervalos antes dos testes, tais como 1h e 30 min.

Além da variável temporal, nós já sabemos que a intensidade do condicionamento é um fator muito importante e que tem influência inclusive sobre os processos fisiológicos que são desencadeados, como a liberação de endocanabinoides (Iglesias et al., 2023). Em vista disso, é necessário considerar que o CBG possa apresentar algum efeito quando testado em protocolos de MCC diferentes ou mesmo em outros modelos de medo associativo. Além disso, apesar de as doses escolhidas serem doses comumente utilizadas em estudos com o CBD, existe a possibilidade de que doses distintas das testadas aqui sejam capazes de inibir memórias contextuais aversivas. Por fim, a via de administração também pode ter influenciado os resultados obtidos, uma vez que a injeção intracerebral de CBG ainda não foi explorada.

Como apontado anteriormente, substâncias que são agonistas de receptores CB₁ tendem a reduzir o freezing no modelo de MCC quando administrados nas fases de aquisição (Mikics et al., 2006; Pamplona & Takahashi, 2006), consolidação (Maćkowiak et al., 2009; Raymundi et al., 2020; Scienza-Martin et al., 2022) e evocação (Gobira et al., 2017; Scienza-Martin et al., 2022) da memória aversiva. No entanto, o CBG se liga com baixa afinidade e baixa eficácia aos receptores canabinoides, o que sugere que ele não exerça sua atividade por meio deles. Isso pode explicar, em parte, a ausência de efeito encontrada em nosso estudo. Em contraponto, foi citado também que agonistas de receptores TRPV1 tendem a exercer um efeito oposto ao de agonistas CB₁ em memórias aversivas, gerando um aumento da expressão de medo (Iglesias et al., 2023; Uliana et al., 2023). O CBG é também um agonista TRPV1, assim como a AEA. Além disso, o protocolo utilizado em nosso trabalho se assemelha ao protocolo de alta intensidade utilizado por Iglesias e colaboradores (2023), o que corrobora a hipótese de que poderia ocorrer atividade através desses canais. Apesar disso, não foi observado efeito.

Foi ainda mencionado que o CBG pode atuar através da inibição da recaptação de AEA, o que aumenta a disponibilidade desse endocanabinoide na fenda sináptica (Calapai et al., 2022; De Petrocellis et al., 2001; Di Marzo & Piscitelli, 2015). Uma maior concentração de AEA poderia possibilitar sua ação através tanto de receptores CB₁ quanto receptores TRPV1, conforme visto. No entanto, esse efeito, mais uma vez, não foi observado. Todas essas considerações feitas e o conhecimento sobre a promiscuidade farmacológica do CBG nos levam a pensar que esse canabinoide atue, pelo menos neste modelo, principalmente via outros receptores. Pode ser que isso decorra de uma ação em receptores que ajam de forma oposta aos receptores TRPV1, por exemplo, de forma a contrabalancear os efeitos que seriam vistos pela sua atividade. Outra possibilidade seria a ação do CBG em outra classe de receptores pela qual apresente maior afinidade e que, de fato, não demonstre ter qualquer efeito no modelo de MCC.

Candidatos promissores para isso seriam os receptores alfa-2-adrenérgicos, aos quais o CBG se liga com alta afinidade, uma característica notável (Cascio et al., 2010; Nachnani et al., 2021; Vernail et al., 2022). Esses receptores são também localizados no sítio pré-sináptico, assim como os receptores canabinoides, e atuam de forma a regular a liberação de noradrenalina. No entanto, se contrapondo à nossa suposição, substâncias que atuam em receptores alfa-2 não são inertes no modelo de MCC. O agonista alfa-2 dexmedetomidina, por exemplo, demonstrou uma diminuição da expressão de medo contextual quando administrado imediatamente após o condicionamento (Frances Davies et al., 2004). Já quando a injeção é feita logo antes do condicionamento, não foi visto efeito, o que demonstra o papel desses receptores na consolidação, mas não aquisição da memória em modelo de administração

sistêmica (Frances Davies et al., 2004). Por outro lado, estudos com a administração diretamente na BLA de agonistas desses receptores (clonidina e ioimbina) mostraram que houve prejuízo da aquisição da memória contextual de medo (Nasehi et al., 2016). Por últimos, nós poderíamos também levar em consideração o antagonismo que o CBG exerce em receptores 5-HT_{1A}. A literatura mostra que o antagonista WAY100635 não apresenta efeito na aquisição da memória de medo quando administrado de forma subcutânea ou intrahipocampal (Stiedl et al., 2000). Curiosamente, o antagonista NAD-299, por outro lado, demonstrou um aumento na expressão medo quando administrado subcutâneo antes do condicionamento (Youn et al., 2009).

Os testes clínicos realizados com o CBG ainda são muito escassos, mas caminham para uma melhor compreensão de seus efeitos em humanos. Uma pesquisa de 2022, por exemplo, teve como objetivo investigar os motivos da utilização de produtos à base de *Cannabis* com predominância de CBG. Os participantes recrutados relataram majoritariamente o uso com finalidade de tratamento de ansiedade, dor crônica, depressão, insônia e cefaleias (Russo et al., 2022). Enquanto um grande número disse não apresentar qualquer efeito adverso, alguns pacientes relataram boca seca, sonolência e aumento do apetite. Apesar disso, não há como descartar que os efeitos narrados sejam causados por outros canabinoides encontrados nas preparações. Mais recentemente, foi também realizada uma pesquisa sobre os efeitos do CBG em pacientes que receberam essa substância de forma isolada (Cuttler et al., 2024). Além de relatarem um menor nível de ansiedade em relação ao grupo placebo em uma avaliação de estado subjetivo, os participantes também teriam performado melhor em um teste de memorização de palavras (Cuttler et al., 2024).

Apesar de o uso da maconha já ser relatado há milhares de anos, o início dos estudos sobre suas propriedades é muito recente (Mechoulam et al., 2014b; Zuardi et al., 1982). Assim, mesmo com o rápido avanço que temos visto no número de pesquisas na área, nós ainda não conhecemos a fundo todas as propriedades da *Cannabis* ou, sequer, de todos os fitocannabinoides existentes. Isso porque, enquanto o primeiro interesse se deu pela investigação do THC e do CBD, outros fitocannabinoides permaneceram negligenciados. Hoje, todas as evidências apontam para a necessidade de se explorar outros fitocannabinoides menos conhecidos. Em acordo com isso, existe a teoria de que grande parte do potencial farmacológico da maconha se revele verdadeiramente através da combinação sinérgica entre os diferentes compostos presentes na planta, o que é nomeado de efeito comitiva ou efeito *entourage*, do francês (Koltai & Namdar, 2020). Esse termo foi cunhado pela primeira vez como uma hipótese de que compostos que não apresentam atividade biológica seriam capazes de potencializar o efeito de

compostos bioativos quimicamente relacionados (Ben-Shabat et al., 1998). Tempo depois, essa teoria começou a ser usada na literatura para justificar que extratos de *Cannabis* contendo o espectro total de canabinoides da planta teriam um efeito mais satisfatório do que canabinoides sintéticos ou canabinoides extraídos e utilizados de forma isolada (Christensen et al., 2023). Apesar de ainda ser algo contraditório e baseado em poucas evidências, a existência desse fenômeno – se verdadeira – ressaltaria, também, a importância de se estudar canabinoides que são muitas vezes negligenciados.

Em suma, nós tivemos como objetivo a investigação dos efeitos do CBG na memória contextual aversiva. Nosso trabalho não demonstrou efeitos desse composto no modelo de MCC no protocolo e nas doses utilizadas. Isso contrasta com as observações em torno do CBD no modelo de MCC, em especial em relação às fases de consolidação e evocação da memória. No entanto, apesar de serem substâncias parecidas, o CBG e o CBD diferem em relação à sua atividade farmacológica. Os dados encontrados neste trabalho corroboram com a ausência de efeito do CBG nesse paradigma comportamental, conforme foi visto por Zhou e colaboradores em outro protocolo (2022). Futuros estudos podem ter como objetivo elucidar o possível efeito dessa substância em períodos de tempo mais curtos após a administração e também em outras fases da memória, como na extinção e na reconsolidação, ou em outros protocolos de MCC.

6. REFERÊNCIAS

- Adams, R., Hunt, M., & Clark, J. H. (1940). Structure of Cannabidiol, a Product Isolated from the Marihuana Extract of Minnesota Wild Hemp. I. *Journal of the American Chemical Society*, *62*(1), 196–200. <https://doi.org/10.1021/ja01858a058>
- Aguiar, D. C., Moreira, F. A., Terzian, A. L., Fogaça, M. V., Lisboa, S. F., Wotjak, C. T., & Guimaraes, F. S. (2014). Modulation of defensive behavior by Transient Receptor Potential Vanilloid Type-1 (TRPV1) Channels. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *46*, 418–428. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.03.026>
- Alger, B. E., & Kim, J. (2011). Supply and demand for endocannabinoids. *Trends in Neurosciences*, *34*(6), 304–315. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.03.003>
- Anand, S., & Rajagopal, S. (2023). A Comprehensive Review on the Regulatory Action of TRP Channels: A Potential Therapeutic Target for Nociceptive Pain. *Neuroscience Insights*, *18*, 26331055231220340. <https://doi.org/10.1177/26331055231220340>
- Appendino, G., Gibbons, S., Giana, A., Pagani, A., Grassi, G., Stavri, M., Smith, E., & Rahman, M. M. (2008). Antibacterial Cannabinoids from *Cannabis sativa*: A Structure–Activity Study. *Journal of Natural Products*, *71*(8), 1427–1430. <https://doi.org/10.1021/np8002673>
- Asok, A., Leroy, F., Rayman, J. B., & Kandel, E. R. (2019). Molecular Mechanisms of the Memory Trace. *Trends in Neurosciences*, *42*(1), 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.10.005>
- Assareh, N., Gururajan, A., Zhou, C., Luo, J. L., Kevin, R. C., & Arnold, J. C. (2020). Cannabidiol disrupts conditioned fear expression and cannabidiolic acid reduces trauma-induced anxiety-related behaviour in mice. *Behavioural Pharmacology*, *31*(6), 591–596. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000565>
- Baek, S. H., Du Han, S., Yook, C. N., Kim, Y. C., & Kwak, J. S. (1996). Synthesis and antitumor activity of cannabigerol. *Archives of Pharmacal Research*, *19*(3), 228–230. <https://doi.org/10.1007/BF02976895>

Baek, S. H., Kim, Y. O., Kwag, J. S., Choi, K. E., Jung, W. Y., & Han, D. S. (1998). Boron trifluoride etherate on silica-A modified lewis acid reagent (VII). Antitumor activity of cannabigerol against human oral epitheloid carcinoma cells. *Archives of Pharmacal Research*, *21*(3), 353–356. <https://doi.org/10.1007/BF02975301>

Barot, S. K., Chung, A., Kim, J. J., & Bernstein, I. L. (2009). Functional Imaging of Stimulus Convergence in Amygdalar Neurons during Pavlovian Fear Conditioning. *PLoS ONE*, *4*(7), e6156. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006156>

Barot, S. K., Kyono, Y., Clark, E. W., & Bernstein, I. L. (2008). Visualizing stimulus convergence in amygdala neurons during associative learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(52), 20959–20963. <https://doi.org/10.1073/pnas.0808996106>

Bear, M. F., Connors, B. W., & Paradiso, M. A. (2016). *Neuroscience: Exploring the brain* (4. ed). Wolters Kluwer.

Ben-Shabat, S., Fride, E., Sheskin, T., Tamiri, T., Rhee, M.-H., Vogel, Z., Bisogno, T., De Petrocellis, L., Di Marzo, V., & Mechoulam, R. (1998). An entourage effect: Inactive endogenous fatty acid glycerol esters enhance 2-arachidonoyl-glycerol cannabinoid activity. *European Journal of Pharmacology*, *353*(1), 23–31. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(98\)00392-6](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(98)00392-6)

Bensinger, S. J., & Tontonoz, P. (2008). Integration of metabolism and inflammation by lipid-activated nuclear receptors. *Nature*, *454*(7203), 470–477. <https://doi.org/10.1038/nature07202>

Blanchard, R. J., & Blanchard, D. C. (1969). Crouching as an index of fear. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *67*(3), 370–375. <https://doi.org/10.1037/h0026779>

Bliss, T. V. P., & Gardner-Medwin, A. R. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, *232*(2), 357–374. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1973.sp010274>

Bliss, T. V. P., & Lømo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, 232(2), 331–356. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1973.sp010273>

Bolles, R. C., & Collier, A. C. (1976). The effect of predictive cues on freezing in rats. *Animal Learning & Behavior*, 4(1), 6–8. <https://doi.org/10.3758/BF03211975>

Bourne, J., & Harris, K. M. (2007). Do thin spines learn to be mushroom spines that remember? *Current Opinion in Neurobiology*, 17(3), 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2007.04.009>

Briânis, R. C., Andreotti, J. P., Moreira, F. A., & Iglesias, L. P. (2023). Interplay between endocannabinoid and endovanilloid mechanisms in fear conditioning. *Acta Neuropsychiatrica*, 1–10. <https://doi.org/10.1017/neu.2023.54>

Calapai, F., Cardia, L., Esposito, E., Ammendolia, I., Mondello, C., Lo Giudice, R., Gangemi, S., Calapai, G., & Mannucci, C. (2022). Pharmacological Aspects and Biological Effects of Cannabigerol and Its Synthetic Derivatives. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2022/3336516>

Campos, A. C., & Guimarães, F. S. (2008). Involvement of 5HT1A receptors in the anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the dorsolateral periaqueductal gray of rats. *Psychopharmacology*, 199(2), 223–230. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1168-x>

Carlini, E. A., & Cunha, J. M. (1981). Hypnotic and Antiepileptic Effects of Cannabidiol. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 21(S1). <https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1981.tb02622.x>

Carlini, E. A., Leite, J. R., Tannhauser, M., & Berardi, A. C. (1973). Cannabidiol and *Cannabis sativa* extract protect mice and rats against convulsive agents. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 25(8), 664–665. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1973.tb10660.x>

Carrillo-Reid, L. (2022). Neuronal ensembles in memory processes. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 125, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2021.04.004>

- Cascio, M., Gauson, L., Stevenson, L., Ross, R., & Pertwee, R. (2010). Evidence that the plant cannabinoid cannabigerol is a highly potent $\alpha 2$ -adrenoceptor agonist and moderately potent 5HT1A receptor antagonist: Novel pharmacological actions of cannabigerol. *British Journal of Pharmacology*, *159*(1), 129–141. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00515.x>
- Castillo, P. E., Younts, T. J., Chávez, A. E., & Hashimoto, Y. (2012). Endocannabinoid Signaling and Synaptic Function. *Neuron*, *76*(1), 70–81. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.09.020>
- Childers, S. R. (2006). Activation of G-proteins in brain by endogenous and exogenous cannabinoids. *The AAPS Journal*, *8*(1), E112–E117. <https://doi.org/10.1208/aapsj080113>
- Christensen, C., Rose, M., Cornett, C., & Allesø, M. (2023). Decoding the Postulated Entourage Effect of Medicinal Cannabis: What It Is and What It Isn't. *Biomedicines*, *11*(8), 2323. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11082323>
- Chung, A., Barot, S. K., Kim, J. J., & Bernstein, I. L. (2011). Biologically predisposed learning and selective associations in amygdalar neurons. *Learning & Memory*, *18*(6), 371–374. <https://doi.org/10.1101/lm.2053711>
- Clarac, F. (2005). The History of Reflexes Part 1: From Descartes to Pavlov. *IBRO History of Neuroscience*
- Cunha, J. M., Carlini, E. A., Pereira, A. E., Ramos, O. L., Pimentel, C., Gagliardi, R., Sanvito, W. L., Lander, N., & Mechoulam, R. (1980). Chronic Administration of Cannabidiol to Healthy Volunteers and Epileptic Patients. *Pharmacology*, *21*(3), 175–185. <https://doi.org/10.1159/000137430>
- Cuttler, C., Stueber, A., Cooper, Z. D., & Russo, E. (2024). Acute effects of cannabigerol on anxiety, stress, and mood: A double-blind, placebo-controlled, crossover, field trial. *Scientific Reports*, *14*(1), 16163. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-66879-0>
- D'Amour, F. E., & Smith, D. L. (1941). A method for determining loss of pain sensation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *72*(1), 74–79.

De Oliveira Alvares, L., & Do-Monte, F. H. (2021). Understanding the dynamic and destiny of memories. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *125*, 592–607. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.03.009>

De Petrocellis, L., Bisogno, T., Maccarrone, M., Davis, J. B., Finazzi-Agrò, A., & Di Marzo, V. (2001). The Activity of Anandamide at Vanilloid VR1 Receptors Requires Facilitated Transport across the Cell Membrane and Is Limited by Intracellular Metabolism. *Journal of Biological Chemistry*, *276*(16), 12856–12863. <https://doi.org/10.1074/jbc.M008555200>

De Petrocellis, L., Ligresti, A., Moriello, A. S., Allarà, M., Bisogno, T., Petrosino, S., Stott, C. G., & Di Marzo, V. (2011). Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. *British Journal of Pharmacology*, *163*(7), 1479–1494. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.01166.x>

Deiana, S., Watanabe, A., Yamasaki, Y., Amada, N., Arthur, M., Fleming, S., Woodcock, H., Dorward, P., Pigliacampo, B., Close, S., Platt, B., & Riedel, G. (2012). Plasma and brain pharmacokinetic profile of cannabidiol (CBD), cannabidivarin (CBDV), Δ^9 -tetrahydrocannabivarin (THCV) and cannabigerol (CBG) in rats and mice following oral and intraperitoneal administration and CBD action on obsessive–compulsive behaviour. *Psychopharmacology*, *219*(3), 859–873. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2415-0>

Denny, R. R., & Unterwald, E. M. (2019). Clonidine, an α_2 adrenergic receptor agonist, disrupts reconsolidation of a cocaine-paired environmental memory. *Behavioural Pharmacology*, *30*(6), 529–533. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000473>

Devane, W. A., Hanuš, L., Breuer, A., Pertwee, R. G., Stevenson, L. A., Griffin, G., Gibson, D., Mandelbaum, A., Etinger, A., & Mechoulam, R. (1992). Isolation and Structure of a Brain Constituent That Binds to the Cannabinoid Receptor. *Science*, *258*(5090), 1946–1949. <https://doi.org/10.1126/science.1470919>

Di Marzo, V., Bisogno, T., & De Petrocellis, L. (2001). Anandamide: Some like it hot. *Trends in Pharmacological Sciences*, *22*(7), 346–349. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(00\)01712-0](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(00)01712-0)

Di Marzo, V., & Piscitelli, F. (2015). The Endocannabinoid System and its Modulation by Phytocannabinoids. *Neurotherapeutics*, *12*(4), 692–698. <https://doi.org/10.1007/s13311-015-0374-6>

Diana, M. A., & Marty, A. (2004). Endocannabinoid-mediated short-term synaptic plasticity: Depolarization-induced suppression of inhibition (DSI) and depolarization-induced suppression of excitation (DSE). *British Journal of Pharmacology*, *142*(1), 9–19. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705726>

Díaz-Alonso, J., Paraíso-Luna, J., Navarrete, C., Del Río, C., Cantarero, I., Palomares, B., Agualeles, J., Fernández-Ruiz, J., Bellido, M. L., Pollastro, F., Appendino, G., Calzado, M. A., Galve-Roperh, I., & Muñoz, E. (2016). VCE-003.2, a novel cannabigerol derivative, enhances neuronal progenitor cell survival and alleviates symptomatology in murine models of Huntington's disease. *Scientific Reports*, *6*(1), 29789. <https://doi.org/10.1038/srep29789>

Dudai, Y. (1996). Consolidation: Fragility on the Road to the Engram. *Neuron*, *17*(3), 367–370. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80168-3](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80168-3)

Dunham, N. W., & Miya, T. S. (1957). A Note on a Simple Apparatus for Detecting Neurological Deficit in Rats and Mice**College of Pharmacy, University of Nebraska, Lincoln 8. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific Ed.)*, *46*(3), 208–209. <https://doi.org/10.1002/jps.3030460322>

Elphick, M. R., & Egertova, M. (2001). The neurobiology and evolution of cannabinoid signalling. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *356*(1407), 381–408. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0787>

ElSohly, M. A., & Slade, D. (2005). Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sciences*, *78*(5), 539–548. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.09.011>

Engert, F., & Bonhoeffer, T. (1999). Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature*, *399*(6731), 66–70. <https://doi.org/10.1038/19978>

Erb, S. (2000). Alpha-2 Adrenergic Receptor Agonists Block Stress-Induced Reinstatement of Cocaine Seeking. *Neuropsychopharmacology*, 23(2), 138–150. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(99\)00158-X](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(99)00158-X)

Fanselow, M. S. (1980). Conditional and unconditional components of post-shock freezing. *The Pavlovian Journal of Biological Science*, 15(4), 177–182. <https://doi.org/10.1007/BF03001163>

Fanselow, M. S. (1991). The Midbrain Periaqueductal Gray as a Coordinator of Action in Response to Fear and Anxiety. Em A. Depaulis & R. Bandler (Orgs.), *The Midbrain Periaqueductal Gray Matter* (p. 151–173). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3302-3_10

Fanselow, M. S., & Pennington, Z. T. (2018). A return to the psychiatric dark ages with a two-system framework for fear. *Behaviour Research and Therapy*, 100, 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.brat.2017.10.012>

Figueiredo, A., & Cheer, J. F. (2023). Endocannabinoid regulation of hippocampus-dependent memory. *Experimental Neurology*, 364, 114384. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2023.114384>

Frances Davies, M., Tsui, J., Flannery, J. A., Li, X., DeLorey, T. M., & Hoffman, B. B. (2004). Activation of α_2 Adrenergic Receptors Suppresses Fear Conditioning: Expression of c-Fos and Phosphorylated CREB in Mouse Amygdala. *Neuropsychopharmacology*, 29(2), 229–239. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300324>

Frankland, P. W., Josselyn, S. A., & Köhler, S. (2024). Engrams. *Current Biology*, 34(12), R559–R561. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2024.05.007>

Fride, E., & Mechoulam, R. (1993). Pharmacological activity of the cannabinoid receptor agonist, anandamide, a brain constituent. *European Journal of Pharmacology*, 231(2), 313–314. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(93\)90468-W](https://doi.org/10.1016/0014-2999(93)90468-W)

Galiègue, S., Mary, S., Marchand, J., Dussossoy, D., Carrière, D., Carayon, P., Bouaboula, M.,

Shire, D., Le Fur, G., & Casellas, P. (1995). Expression of Central and Peripheral Cannabinoid Receptors in Human Immune Tissues and Leukocyte Subpopulations. *European Journal of Biochemistry*, 232(1), 54–61. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1995.tb20780.x>

Gamache, K., Pitman, R. K., & Nader, K. (2012). Preclinical Evaluation of Reconsolidation Blockade by Clonidine as a Potential Novel Treatment for Posttraumatic Stress Disorder. *Neuropsychopharmacology*, 37(13), 2789–2796. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.145>

Gaoni, Y., & Mechoulam, R. (1964). Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. *Journal of the American Chemical Society*, 86(8), 1646–1647. <https://doi.org/10.1021/ja01062a046>

Gaoni, Y. & Mechoulam, R. (1964b). Structure and synthesis of cannabigerol, a new hashish constituent. *Proceedings of the Chemical Society*, 82

Gazarini, L., Stern, C. A. J., & Bertoglio, L. J. (2023). On making (and turning adaptive to) maladaptive aversive memories in laboratory rodents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 147, 105101. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105101>

Gobira, P. H., Lima, I. V., Batista, L. A., De Oliveira, A. C., Resstel, L. B., Wotjak, C. T., Aguiar, D. C., & Moreira, F. A. (2017). N-arachidonoyl-serotonin, a dual FAAH and TRPV1 blocker, inhibits the retrieval of contextual fear memory: Role of the cannabinoid CB1 receptor in the dorsal hippocampus. *Journal of Psychopharmacology*, 31(6), 750–756. <https://doi.org/10.1177/0269881117691567>

Granja, A. G., Carrillo-Salinas, F., Pagani, A., Gómez-Cañas, M., Negri, R., Navarrete, C., Mecha, M., Mestre, L., Fiebich, B. L., Cantarero, I., Calzado, M. A., Bellido, M. L., Fernandez-Ruiz, J., Appendino, G., Guaza, C., & Muñoz, E. (2012). A Cannabigerol Quinone Alleviates Neuroinflammation in a Chronic Model of Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 7(4), 1002–1016. <https://doi.org/10.1007/s11481-012-9399-3>

Grunfeld, Y., & Edery, H. (1969). Psychopharmacological activity of the active constituents of hashish and some related cannabinoids. *Psychopharmacologia*, 14(3), 200–210. <https://doi.org/10.1007/BF00404218>

Gugliandolo, A., Pollastro, F., Grassi, G., Bramanti, P., & Mazzon, E. (2018). In Vitro Model of Neuroinflammation: Efficacy of Cannabigerol, a Non-Psychoactive Cannabinoid. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(7), 1992. <https://doi.org/10.3390/ijms19071992>

Guimarães, F. S. (2024). Historical perspective on the therapeutic potential of cannabidiol. Em *International Review of Neurobiology* (p. S0074774224000515). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2024.03.008>

Hall, W., & Solowij, N. (1998). Adverse effects of cannabis. *The Lancet*, *352*(9140), 1611–1616. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)05021-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)05021-1)

Han, X., Song, X., Song, D., Xie, G., Guo, H., Wu, N., & Li, J. (2022). Comparison between cannabidiol and sertraline for the modulation of post-traumatic stress disorder-like behaviors and fear memory in mice. *Psychopharmacology*, *239*(5), 1605–1620. <https://doi.org/10.1007/s00213-022-06132-6>

Harmon, R. J., & Riggs, P. D. (1996). Clonidine for Posttraumatic Stress Disorder in Preschool Children. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, *35*(9), 1247–1249. <https://doi.org/10.1097/00004583-199609000-00022>

Herkenham, M., Lynn, A. B., Little, M. D., Johnson, M. R., Melvin, L. S., De Costa, B. R., & Rice, K. C. (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *87*(5), 1932–1936. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.5.1932>

Herkenham, M., Lynn, A., Johnson, M., Melvin, L., De Costa, B., & Rice, K. (1991). Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: A quantitative in vitro autoradiographic study. *The Journal of Neuroscience*, *11*(2), 563–583. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.11-02-00563.1991>

Hill, M. N., Bierer, L. M., Makotkine, I., Golier, J. A., Galea, S., McEwen, B. S., Hillard, C. J., & Yehuda, R. (2013). Reductions in circulating endocannabinoid levels in individuals with post-traumatic stress disorder following exposure to the world trade center attacks.

Psychoneuroendocrinology, 38(12), 2952–2961.
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.08.004>

Howlett, A. C. (1984). Inhibition of neuroblastoma adenylate cyclase by cannabinoid and nantradol compounds. *Life Sciences*, 35(17), 1803–1810. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(84\)90278-9](https://doi.org/10.1016/0024-3205(84)90278-9)

Howlett, A. C. (1987). Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase: Relative activity of constituents and metabolites of marihuana. *Neuropharmacology*, 26(5), 507–512. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(87\)90035-9](https://doi.org/10.1016/0028-3908(87)90035-9)

Howlett, A. C. (1995). Pharmacology of Cannabinoid Receptors. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 35(1), 607–634. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.35.040195.003135>

Howlett, A. C. (2002). The cannabinoid receptors. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 68–69, 619–631. [https://doi.org/10.1016/S0090-6980\(02\)00060-6](https://doi.org/10.1016/S0090-6980(02)00060-6)

Howlett, A. C. (2005). Cannabinoid Receptor Signaling. Em R. G. Pertwee (Org.), *Cannabinoids* (Vol. 168, p. 53–79). Springer-Verlag. https://doi.org/10.1007/3-540-26573-2_2

Iglesias, L. P., Fernandes, H. B., De Miranda, A. S., Perez, M. M., Faccioli, L. H., Sorgi, C. A., Bertoglio, L. J., Aguiar, D. C., Wotjak, C. T., & Moreira, F. A. (2023). TRPV1 modulation of contextual fear memory depends on stimulus intensity and endocannabinoid signalling in the dorsal hippocampus. *Neuropharmacology*, 224, 109314. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.109314>

Izquierdo, I., Orsingher, O. A., & Berardi, A. C. (1973). Effect of cannabidiol and of other Cannabis sativa compounds on hippocampal seizure discharges. *Psychopharmacologia*, 28(1), 95–102. <https://doi.org/10.1007/BF00413961>

Jobes, M. L., Ghitza, U. E., Epstein, D. H., Phillips, K. A., Heishman, S. J., & Preston, K. L. (2011). Clonidine blocks stress-induced craving in cocaine users. *Psychopharmacology*, 218(1), 83–88. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2230-7>

Johansen, J. P., Cain, C. K., Ostroff, L. E., & LeDoux, J. E. (2011). Molecular Mechanisms of Fear Learning and Memory. *Cell*, *147*(3), 509–524. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.10.009>

Jung, J., Hwang, S. W., Kwak, J., Lee, S.-Y., Kang, C.-J., Kim, W. B., Kim, D., & Oh, U. (1999). Capsaicin Binds to the Intracellular Domain of the Capsaicin-Activated Ion Channel. *The Journal of Neuroscience*, *19*(2), 529–538. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-02-00529.1999>

Kaminski, N. E. (1998). Inhibition of the cAMP signaling cascade via cannabinoid receptors: A putative mechanism of immune modulation by cannabinoid compounds. *Toxicology Letters*, *102–103*, 59–63. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(98\)00284-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(98)00284-7)

Karniol, I. G., Shirakawa, I., Kasinski, N., Pfeferman, A., & Carlini, E. A. (1974). Cannabidiol interferes with the effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in man. *European Journal of Pharmacology*, *28*(1), 172–177. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(74\)90129-0](https://doi.org/10.1016/0014-2999(74)90129-0)

Kim, J. J., & Jung, M. W. (2006). Neural circuits and mechanisms involved in Pavlovian fear conditioning: A critical review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *30*(2), 188–202. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.06.005>

Kinzie, J. D., & Leung, P. (1989). Clonidine in Cambodian Patients with Posttraumatic Stress Disorder: *The Journal of Nervous and Mental Disease*, *177*(9), 546–550. <https://doi.org/10.1097/00005053-198909000-00005>

Koltai, H., & Namdar, D. (2020). Cannabis Phytomolecule “Entourage”: From Domestication to Medical Use. *Trends in Plant Science*, *25*(10), 976–984. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.04.007>

Kreitzer, A. C. (2005). Neurotransmission: Emerging Roles of Endocannabinoids. *Current Biology*, *15*(14), R549–R551. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.07.005>

Lakhlani, P. P., MacMillan, L. B., Guo, T. Z., McCool, B. A., Lovinger, D. M., Maze, M., & Limbird, L. E. (1997). Substitution of a mutant α_2 -adrenergic receptor via “hit and run” gene

targeting reveals the role of this subtype in sedative, analgesic, and anesthetic-sparing responses in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(18), 9950–9955. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.18.9950>

LeDoux, J. E., & Pine, D. S. (2016). Using Neuroscience to Help Understand Fear and Anxiety: A Two-System Framework. *American Journal of Psychiatry*, 173(11), 1083–1093. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2016.16030353>

Lisboa, S. F., Vila-Verde, C., Rosa, J., Uliana, D. L., Stern, C. A. J., Bertoglio, L. J., Resstel, L. B., & Guimaraes, F. S. (2019). Tempering aversive/traumatic memories with cannabinoids: A review of evidence from animal and human studies. *Psychopharmacology*, 236(1), 201–226. <https://doi.org/10.1007/s00213-018-5127-x>

Maćkowiak, M., Chocyk, A., Dudys, D., & Wedzony, K. (2009). Activation of CB1 cannabinoid receptors impairs memory consolidation and hippocampal polysialylated neural cell adhesion molecule expression in contextual fear conditioning. *Neuroscience*, 158(4), 1708–1716. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.11.037>

MacMillan, L. B., Hein, L., Smith, M. S., Piascik, M. T., & Limbird, L. E. (1996). Central Hypotensive Effects of the α 2a-Adrenergic Receptor Subtype. *Science*, 273(5276), 801–803. <https://doi.org/10.1126/science.273.5276.801>

Maren, S., Phan, K. L., & Liberzon, I. (2013). The contextual brain: Implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(6), 417–428. <https://doi.org/10.1038/nrn3492>

Marks, W. D., Yokose, J., Kitamura, T., & Ogawa, S. K. (2022). Neuronal Ensembles Organize Activity to Generate Contextual Memory. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 16, 805132. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.805132>

Marsch, R., Foeller, E., Rammes, G., Bunck, M., Kössl, M., Holsboer, F., Zieglgänsberger, W., Landgraf, R., Lutz, B., & Wotjak, C. T. (2007). Reduced Anxiety, Conditioned Fear, and Hippocampal Long-Term Potentiation in Transient Receptor Potential Vanilloid Type 1 Receptor-Deficient Mice. *The Journal of Neuroscience*, 27(4), 832–839.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3303-06.2007>

Marsicano, G., Wotjak, C. T., Azad, S. C., Bisogno, T., Rammes, G., Cascio, M. G., Hermann, H., Tang, J., Hofmann, C., Zieglgänsberger, W., Di Marzo, V., & Lutz, B. (2002). The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. *Nature*, *418*(6897), 530–534. <https://doi.org/10.1038/nature00839>

Matsuda, L. A., Lolait, S. J., Brownstein, M. J., Young, A. C., & Bonner, T. I. (1990). Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*, *346*(6284), 561–564. <https://doi.org/10.1038/346561a0>

McGaugh, J. L. (1999). The perseveration-consolidation hypothesis: Mueller and Pilzecker, 1900. *Brain Research Bulletin*, *50*(5–6), 445–446. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(99\)00126-4](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(99)00126-4)

Mechoulam, R., Ben-Shabat, S., Hanus, L., Ligumsky, M., Kaminski, N. E., Schatz, A. R., Gopher, A., Almog, S., Martin, B. R., Compton, D. R., Pertwee, R. G., Griffin, G., Bayewitch, M., Barg, J., & Vogel, Z. (1995). Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochemical Pharmacology*, *50*(1), 83–90. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(95\)00109-D](https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)00109-D)

Mechoulam, R., Hanuš, L. O., Pertwee, R., & Howlett, A. C. (2014a). Early phytocannabinoid chemistry to endocannabinoids and beyond. *Nature Reviews Neuroscience*, *15*(11), 757–764. <https://doi.org/10.1038/nrn3811>

Mechoulam, R., Hanuš, L. O., Pertwee, R., & Howlett, A. C. (2014b). Early phytocannabinoid chemistry to endocannabinoids and beyond. *Nature Reviews Neuroscience*, *15*(11), 757–764. <https://doi.org/10.1038/nrn3811>

Mechoulam, R., & Parker, L. A. (2013). The Endocannabinoid System and the Brain. *Annual Review of Psychology*, *64*(1), 21–47. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-113011-143739>

Mechoulam, R., Shani, A., Edery, H., & Grunfeld, Y. (1970). Chemical Basis of Hashish Activity. *Science*, *169*(3945), 611–612. <https://doi.org/10.1126/science.169.3945.611>

Mechoulam, R., & Shvo, Y. (1963). Hashish—I. *Tetrahedron*, *19*(12), 2073–2078. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(63\)85022-X](https://doi.org/10.1016/0040-4020(63)85022-X)

Mikics, ??Va, Dombi, T., Barsv??ri, B., Varga, B., Ledent, C., Freund, T. F., & Haller, J. (2006). The effects of cannabinoids on contextual conditioned fear in CB1 knockout and CD1 mice: *Behavioural Pharmacology*, *17*(3), 223–230. <https://doi.org/10.1097/00008877-200605000-00003>

Moreira, F. A., & Lutz, B. (2008). The endocannabinoid system: Emotion, learning and addiction: The endocannabinoid system. *Addiction Biology*, *13*(2), 196–212. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2008.00104.x>

Munro, S., Thomas, K. L., & Abu-Shaar, M. (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*, *365*(6441), 61–65. <https://doi.org/10.1038/365061a0>

Nachnani, R., Raup-Konsavage, W. M., & Vrana, K. E. (2021). The Pharmacological Case for Cannabigerol. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *376*(2), 204–212. <https://doi.org/10.1124/jpet.120.000340>

Nasehi, M., Zamanparvar, M., Ebrahimi-Ghiri, M., & Zarrindast, M.-R. (2016). Modulation of cannabinoid signaling by amygdala α 2-adrenergic system in fear conditioning. *Behavioural Brain Research*, *300*, 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.12.017>

Navarro, G., Varani, K., Reyes-Resina, I., Sánchez De Medina, V., Rivas-Santisteban, R., Sánchez-Carnerero Callado, C., Vincenzi, F., Casano, S., Ferreiro-Vera, C., Canela, E. I., Borea, P. A., Nadal, X., & Franco, R. (2018). Cannabigerol Action at Cannabinoid CB1 and CB2 Receptors and at CB1–CB2 Heteroreceptor Complexes. *Frontiers in Pharmacology*, *9*, 632. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00632>

Neumeister, A., Normandin, M. D., Pietrzak, R. H., Piomelli, D., Zheng, M. Q., Gujarro-Anton, A., Potenza, M. N., Bailey, C. R., Lin, S. F., Najafzadeh, S., Ropchan, J., Henry, S., Corsi-Travali, S., Carson, R. E., & Huang, Y. (2013). Elevated brain cannabinoid CB1 receptor availability in post-traumatic stress disorder: A positron emission tomography study. *Molecular*

Psychiatry, 18(9), 1034–1040. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.61>

Ortega-de San Luis, C., & Ryan, T. J. (2022). Understanding the physical basis of memory: Molecular mechanisms of the engram. *Journal of Biological Chemistry*, 298(5), 101866. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101866>

O'Shaughnessy, W. B. (1843). On the Preparations of the Indian Hemp, or Gunjah: Cannabis Indica Their Effects on the Animal System in Health, and their Utility in the Treatment of Tetanus and other Convulsive Diseases. *BMJ*, s1-5(123), 363–369. <https://doi.org/10.1136/bmj.s1-5.123.363>

O'Sullivan, S. E. (2007). Cannabinoids go nuclear: Evidence for activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *British Journal of Pharmacology*, 152(5), 576–582. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707423>

Pamplona, F. A., & Takahashi, R. N. (2006). WIN 55212-2 impairs contextual fear conditioning through the activation of CB1 cannabinoid receptors. *Neuroscience Letters*, 397(1–2), 88–92. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.12.026>

Paré, D., Quirk, G. J., & Ledoux, J. E. (2004). New Vistas on Amygdala Networks in Conditioned Fear. *Journal of Neurophysiology*, 92(1), 1–9. <https://doi.org/10.1152/jn.00153.2004>

Patel, S., Hill, M. N., Cheer, J. F., Wotjak, C. T., & Holmes, A. (2017). The endocannabinoid system as a target for novel anxiolytic drugs. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 76, 56–66. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.12.033>

Pavlov, I. P. (1927). *CONDITIONED REFLEXES: AN INVESTIGATION OF THE PHYSIOLOGICAL ACTIVITY OF THE CEREBRAL CORTEX*.

Pertwee, R. G. (2006). Cannabinoid pharmacology: The first 66 years. *British Journal of Pharmacology*, 147(S1). <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706406>

Pertwee, R. G. (2008). The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant

cannabinoids: Δ 9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ 9-tetrahydrocannabivarin. *British Journal of Pharmacology*, 153(2), 199–215. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707442>

Perusini, J. N., & Fanselow, M. S. (2015). Neurobehavioral perspectives on the distinction between fear and anxiety. *Learning & Memory*, 22(9), 417–425. <https://doi.org/10.1101/lm.039180.115>

Pessoa, L. (2023). How many brain regions are needed to elucidate the neural bases of fear and anxiety? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 146, 105039. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105039>

Piomelli, D. (2003). The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nature Reviews Neuroscience*, 4(11), 873–884. <https://doi.org/10.1038/nrn1247>

Poulos, A. M., Ponnusamy, R., Dong, H.-W., & Fanselow, M. S. (2010). Compensation in the neural circuitry of fear conditioning awakens learning circuits in the bed nuclei of the stria terminalis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(33), 14881–14886. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005754107>

Powell, W. H., Annett, L. E., Depoortere, R., Newman-Tancredi, A., & Iravani, M. M. (2022). The selective 5-HT_{1A} receptor agonist NLX-112 displays anxiolytic-like activity in mice. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 395(2), 149–157. <https://doi.org/10.1007/s00210-021-02183-2>

Raymundi, A. M., Da Silva, T. R., Zampronio, A. R., Guimarães, F. S., Bertoglio, L. J., & Stern, C. A. J. (2020). A time-dependent contribution of hippocampal CB₁, CB₂ and PPAR γ receptors to cannabidiol-induced disruption of fear memory consolidation. *British Journal of Pharmacology*, 177(4), 945–957. <https://doi.org/10.1111/bph.14895>

Resstel, L. B. M., Joca, S. R. L., Moreira, F. A., Corrêa, F. M. A., & Guimarães, F. S. (2006). Effects of cannabidiol and diazepam on behavioral and cardiovascular responses induced by contextual conditioned fear in rats. *Behavioural Brain Research*, 172(2), 294–298. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.05.016>

Reynolds, J. R. (1890). ON THE THERAPEUTICAL USES AND TOXIC EFFECTS OF CANNABIS INDICA. *The Lancet*, 135(3473), 637–638. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)18723-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)18723-X)

Rock, E., Bolognini, D., Limebeer, C., Cascio, M., Anavi-Goffer, S., Fletcher, P., Mechoulam, R., Pertwee, R., & Parker, L. (2012). Cannabidiol, a non-psychotropic component of cannabis, attenuates vomiting and nausea-like behaviour via indirect agonism of 5-HT_{1A} somatodendritic autoreceptors in the dorsal raphe nucleus. *British Journal of Pharmacology*, 165(8), 2620–2634. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01621.x>

Rock, E. M., Goodwin, J. M., Limebeer, C. L., Breuer, A., Pertwee, R. G., Mechoulam, R., & Parker, L. A. (2011). Interaction between non-psychotropic cannabinoids in marijuana: Effect of cannabigerol (CBG) on the anti-nausea or anti-emetic effects of cannabidiol (CBD) in rats and shrews. *Psychopharmacology*, 215(3), 505–512. <https://doi.org/10.1007/s00213-010-2157-4>

Rosenthaler, S., Pöhn, B., Kolmanz, C., Nguyen Huu, C., Krewenka, C., Huber, A., Kranner, B., Rausch, W.-D., & Moldzio, R. (2014). Differences in receptor binding affinity of several phytocannabinoids do not explain their effects on neural cell cultures. *Neurotoxicology and Teratology*, 46, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2014.09.003>

Rudy, J. W. (2014). *The neurobiology of learning and memory* (2. ed). Sinauer.

Russo, E. B., Burnett, A., Hall, B., & Parker, K. K. (2005). Agonistic Properties of Cannabidiol at 5-HT_{1a} Receptors. *Neurochemical Research*, 30(8), 1037–1043. <https://doi.org/10.1007/s11064-005-6978-1>

Russo, E. B., Cuttler, C., Cooper, Z. D., Stueber, A., Whiteley, V. L., & Sexton, M. (2022). Survey of Patients Employing Cannabigerol-Predominant Cannabis Preparations: Perceived Medical Effects, Adverse Events, and Withdrawal Symptoms. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 7(5), 706–716. <https://doi.org/10.1089/can.2021.0058>

Schweimer, J., Fendt, M., & Schnitzler, H.-U. (2005). Effects of clonidine injections into the bed nucleus of the stria terminalis on fear and anxiety behavior in rats. *European Journal of*

Pharmacology, 507(1–3), 117–124. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.11.044>

Scienza-Martin, K., Lotz, F. N., Zanona, Q. K., Santana-Kragelund, F., Crestani, A. P., Boos, F. Z., Calcagnotto, M. E., & Quillfeldt, J. A. (2022). Memory Consolidation Depends on Endogenous Hippocampal Levels of Anandamide: CB1 and M4, but Possibly not TRPV1 Receptors Mediate AM404 effects. *Neuroscience*, 497, 53–72. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2022.04.009>

Sepulveda, D. E., Morris, D. P., Raup-Konsavage, W. M., Sun, D., Vrana, K. E., & Graziane, N. M. (2022). Cannabigerol (CBG) attenuates mechanical hypersensitivity elicited by chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *European Journal of Pain*, 26(9), 1950–1966. <https://doi.org/10.1002/ejp.2016>

Stern, C. A. J., Da Silva, T. R., Raymundi, A. M., De Souza, C. P., Hiroaki-Sato, V. A., Kato, L., Guimarães, F. S., Andreatini, R., Takahashi, R. N., & Bertoglio, L. J. (2017). Cannabidiol disrupts the consolidation of specific and generalized fear memories via dorsal hippocampus CB1 and CB2 receptors. *Neuropharmacology*, 125, 220–230. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.07.024>

Stiedl, O., Misane, I., Spiess, J., & Ögren, S. O. (2000). Involvement of the 5-HT_{1A} Receptors in Classical Fear Conditioning in C57BL/6J Mice. *The Journal of Neuroscience*, 20(22), 8515–8527. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-22-08515.2000>

Sugiura, T., Kondo, S., Sukagawa, A., Nakane, S., Shinoda, A., Itoh, K., Yamashita, A., & Waku, K. (1995). 2-Arachidonoylglycerol: A Possible Endogenous Cannabinoid Receptor Ligand in Brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 215(1), 89–97. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2437>

Thomas, A., Baillie, G. L., Phillips, A. M., Razdan, R. K., Ross, R. A., & Pertwee, R. G. (2007). Cannabidiol displays unexpectedly high potency as an antagonist of CB1 and CB2 receptor agonists in vitro. *British Journal of Pharmacology*, 150(5), 613–623. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707133>

Tsou, K., Brown, S., Sañudo-Peña, M. C., Mackie, K., & Walker, J. M. (1998).

Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience*, 83(2), 393–411. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00436-3](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00436-3)

Uliana, D. L., Diniz, C. R. A. F., Da Silva, L. A., Borges-Assis, A. B., Lisboa, S. F., & Resstel, L. B. M. (2023). Contextual fear expression engages a complex set of interactions between ventromedial prefrontal cortex cholinergic, glutamatergic, nitrenergic and cannabinergic signaling. *Neuropharmacology*, 232, 109538. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2023.109538>

Varvel, S. A., Wiley, J. L., Yang, R., Bridgen, D. T., Long, K., Lichtman, A. H., & Martin, B. R. (2006). Interactions between THC and cannabidiol in mouse models of cannabinoid activity. *Psychopharmacology*, 186(2), 226–234. <https://doi.org/10.1007/s00213-006-0356-9>

Vaughan, C. W., & Christie, M. J. (2005). Retrograde Signalling by Endocannabinoids. Em R. G. Pertwee (Org.), *Cannabinoids* (Vol. 168, p. 367–383). Springer-Verlag. https://doi.org/10.1007/3-540-26573-2_12

Vernail, V. L., Bingaman, S. S., Silberman, Y., Raup-Konsavage, W. M., Vrana, K. E., & Arnold, A. C. (2022). Acute Cannabigerol Administration Lowers Blood Pressure in Mice. *Frontiers in Physiology*, 13, 871962. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.871962>

Waddell, J., Morris, R. W., & Bouton, M. E. (2006). Effects of bed nucleus of the stria terminalis lesions on conditioned anxiety: Aversive conditioning with long-duration conditional stimuli and reinstatement of extinguished fear. *Behavioral Neuroscience*, 120(2), 324–336. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.120.2.324>

Walker, D. L., Toufexis, D. J., & Davis, M. (2003). Role of the bed nucleus of the stria terminalis versus the amygdala in fear, stress, and anxiety. *European Journal of Pharmacology*, 463(1–3), 199–216. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01282-2](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01282-2)

Youn, J., Misane, I., Eriksson, T. M., Millan, M. J., Ove Ögren, S., Verhage, M., & Stiedl, O. (2009). Bidirectional modulation of classical fear conditioning in mice by 5-HT1A receptor ligands with contrasting intrinsic activities. *Neuropharmacology*, 57(5–6), 567–576. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.07.011>

Zagzoog, A., Mohamed, K. A., Kim, H. J. J., Kim, E. D., Frank, C. S., Black, T., Jadhav, P. D., Holbrook, L. A., & Laprairie, R. B. (2020). In vitro and in vivo pharmacological activity of minor cannabinoids isolated from *Cannabis sativa*. *Scientific Reports*, *10*(1), 20405. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77175-y>

Zhang, J., Zhang, J., Yuan, R., Han, W., Chang, Y., Kong, L., Wei, C., Zheng, Q., Zhu, X., Liu, Z., Ren, W., & Han, J. (2024). Inhibition of cannabinoid degradation enhances hippocampal contextual fear memory and exhibits anxiolytic effects. *iScience*, *27*(2), 108919. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.108919>

Zhou, C., Assareh, N., & Arnold, J. C. (2022). The Cannabis Constituent Cannabigerol Does Not Disrupt Fear Memory Processes or Stress-Induced Anxiety in Mice. *Cannabis and Cannabinoid Research*, *7*(3), 294–303. <https://doi.org/10.1089/can.2021.0027>

Zuardi, A. W. (2006). History of cannabis as a medicine: A review. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, *28*(2), 153–157. <https://doi.org/10.1590/S1516-44462006000200015>

Zuardi, A. W., Shirakawa, I., Finkelfarb, E., & Karniol, I. G. (1982). Action of cannabidiol on the anxiety and other effects produced by delta-9-THC in normal subjects. *Psychopharmacology*, *76*(3), 245–250. <https://doi.org/10.1007/BF00432554>

Zygmunt, P. M., Petersson, J., Andersson, D. A., Chuang, H., Sjørgård, M., Di Marzo, V., Julius, D., & Högestätt, E. D. (1999). Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature*, *400*(6743), 452–457. <https://doi.org/10.1038/22761>