



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE NEUROCIÊNCIAS

NÚBIA BARROS PEREIRA DA SILVA

Catalepsia induzida por haloperidol: Eficácia do canabigerol isolado e associado ao canabidiol

Ribeirão Preto,

2023

NÚBIA BARROS PEREIRA DA SILVA

Catalepsia induzida por haloperidol: Eficácia do canabigerol isolado e associado ao canabidiol

Versão original

Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciência.

Área de concentração: Neurociência

Orientadora: Profa. Dra. Elaine Aparecida Del Bel Belluz
Guimarães

Ribeirão Preto,

2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada à fonte.

Catálogo da publicação
Serviço de Biblioteca e Documentação Biblioteca Central
USP Ribeirão Preto

Barros, Núbia Pereira da Silva

Catalepsia induzida por haloperidol: Eficácia do canabigerol isolado e associado ao canabidiol / Núbia Barros Pereira da Silva. Orientadora, Elaine Aparecida Del Bel Belluz Guimarães - Ribeirão Preto, 2023.

87p: il.; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Ciências) Programa de Pós-Graduação em Neurologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Versão original.

1. Catalepsia. 2. Antipsicótico típico 3. Canabinoides 4. Serotonina

FOLHA DE APROVAÇÃO

Barros, Núbia Pereira da Silva. **Catalepsia induzida por haloperidol: Eficácia do canabigerol isolado e associado ao canabidiol**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: _____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra

Instituição:

Assinatura: _____

Profa. Dra.

Instituição:

Assinatura: _____

Profa. Dra

Instituição:

Assinatura: _____

Dedico esse trabalho a quatro grandes mulheres que me inspiram desde criança: Minha mãe, Vânia; minhas tias, Quedima e Quésia; minha avó, Itacimar.

Dedico as famílias dos/e aos pacientes que fazem uso de antipsicóticos e lidam com seus efeitos adversos.

À toda comunidade científica que se dedica a gerar novos conhecimentos para melhorar o tratamento desses pacientes, em especial, a minha orientadora Dra. Elaine Aparecida Del Bel Belluz Guimarães.

AGRADECIMENTOS

Sempre foi um sonho ser parte da comunidade científica. Aprender, debater, descobrir, investigar, divulgar. Fazer ciência! Contribuir para o desenvolvimento de novos conhecimentos para sociedade. Buscar meios de qualificação para poder estimular e capacitar outros alunos a se tornarem cientistas.

Com o coração transbordando de gratidão, aqui finalizo uma das etapas mais importantes da minha vida. No caminho para concretização desse sonho, pessoas foram essenciais. Agradeço:

À uma das mulheres neurocientistas responsáveis pelo meu anseio pela ciência. À minha querida Prof.^a **Elaine Aparecida Del Bel Belluz Guimarães**. As palavras se tornam insuficientes para expressar tamanha gratidão.

Quando bati em sua porta, não carregava tantas experiências em minha bagagem. Estava “fraquinha” como a senhora mesma diz. Então, me acolheu. Concedeu a mim algo essencial, a oportunidade de crescer. Agradeço imensamente as oportunidades. Por investir em mim e me moldar em uma melhor profissional e ser humano. Ainda tenho muito a aprender. Que eu possa retribuir a oportunidade que a senhora me deu abrindo portas para os meus futuros alunos.

Obrigada por me conceder o espaço do seu laboratório para realização dos experimentos. Pelos animais, reagentes, drogas e todos os materiais utilizados para que a realização desse trabalho se torna-se possível. Agradeço desde as luvas aos anticorpos. Agradeço a sua paciência com o meu processo de crescimento. Por estar sempre disposta a me receber em sua sala, o que nós duas sabemos que foram muitas vezes, para discutir experimentos e protocolos. Obrigada por estudar comigo. Pelas horas selecionando artigos. Por nos seus dias mais cansativos se dispor em me ajudar, seja no laboratório ou durante as suas viagens no exterior. Obrigada por ter dado tudo de si para que eu pudesse ter um mestrado. Sou grata a cada um dos seus esforços. Obrigada por tantos ensinamentos. Mesmo as coisas que a senhora não tinham tanto domínio, sentou-se ao meu lado e aprendeu junto comigo. Obrigada pela sua preocupação com meus experimentos. Obrigada por me dar as ferramentas necessárias para que esse sonho se torna-se real. Obrigada por tanto apoio e suporte.

Obrigada por cada puxão de orelha, por cada correção que contribuiu para o meu desenvolvimento. E por trás de cada uma dessas broncas, o seu carinho. Obrigada por além de orientadora, ser uma amiga e contribuir com o meu crescimento pessoal.

Tenho muito orgulho de poder dizer que sou sua aluna e por saber que a senhora fez/ faz parte da minha construção. A senhora faz a diferença na minha vida acadêmica. É o meu exemplo de determinação, força, coragem, humildade, garra e persistência! O exemplo que eu levarei comigo para sempre. A senhora me inspira através da sua história de vida e com ela, me incentiva a sonhar!

À **Ana Carolina Issy Pereira** que embora não esteja mais presente no laboratório, se disponibilizou em me ensinar, e tais ensinamentos foram fundamentais para realização desse trabalho. Minuciosa, zelosa e ética, me ensinou o teste de catalepsia e seus critérios. A primeira pessoa a me ensinar a aplicar uma injeção intraperitoneal nos camundongos. Ainda sou capaz de escutar sua vozinha paciente me orientando nos momentos de teste. Agradeço por toda sua paciência e dedicação.

À **Célia Aparecida da Silva**, nossa técnica. De longe, umas das pessoas que mais lutou para eu chegar até aqui. Moveu céus e terras para que eu tivesse a melhor condição de trabalho. Agradeço a todos os seus ensinamentos e por estar sempre pronta para me ajudar. Não houve um problema que a senhora não foi capaz de pensar em uma solução ou concertar. Nos meus momentos livres, me permitiu aprender outras técnicas. Me ensinou a retirar o encéfalo dos animais, a posicioná-los no estereotáxico e aperfeiçoar minha aplicação de injeções subcutâneas e intraperitoneais.

A vida também é constituída de dias nublados e chuvosos. No caminho até aqui, houve pedras em que a vontade de se sentar nelas e ali ficar eram maiores do que a força de tirá-las do caminho ou desviar delas. Nesses momentos a senhora foi o meu consolo, o meu incentivo. Obrigada por tanto apoio! Obrigada por tanto suporte. Obrigada pelos sábios conselhos e sua paciência com meu processo de desenvolvimento profissional e pessoal. Obrigada por cada um dos puxões de orelhas. A senhora bateu todas as vezes que foram necessárias e com isso, o crescimento. Te admiro!

À minha tão querida e amada **Glauce Crivelaro do Nascimento** que através de seu exemplo de aluna, pesquisadora e principalmente docente, despertou em mim o sentimento de admiração, e com isso a compreensão da profissional que eu gostaria de me tornar. Outra pessoa chave na realização desse sonho e na construção de outros. Agradeço por toda sua humanidade, empatia, atenção, dedicação, paciência e amabilidade

em me ensinar. Obrigada por ficar até mais tarde para me ensinar o western blotting. Por parar todas as suas coisas e estar pronta para mim quando eu precisei. Por todo apoio emocional e profissional que você me deu até aqui. Você foi/ é a minha base científica. Obrigada por se emocionar e vibrar com as minhas pequenas conquistas durante esse percurso. Agradeço seu incentivo! Agradeço a construção da nossa amizade que se desenvolveu. Quando eu for orientadora, você será uma das minhas principais referências.

Ao **Maurício Pereira dos Santos** por suas infindáveis ajudas e nunca estar ocupado demais para isso. Seus ensinamentos foram fundamentais para realização desse trabalho. Me ensinou desde o básico, como fazer os cálculos para diluir drogas, ao mais complexo como a técnica de western blotting. Obrigada por me ensinar a ser crítica e pelas discussões de 2 horas. Obrigada por fazer parte da minha construção. Obrigada pela sua paciência no meu processo de aprendizagem. Por me incentivar e enxergar que o mundo lá fora é muito maior do que eu imagino. Na lista dos pesquisadores que me inspiram, seu nome sempre estará nele. Obrigada por me acolher em seu abraço nos meus momentos de fragilidade.

À **Elaine, Glauce, Célia e Maurício** que acreditaram de olhos fechados em mim. Eu espero ainda poder ser motivo de orgulho para vocês. Agradeço seus conselhos e nossas conversas profundas sobre a vida.

À **Glauce, Célia e Maurício** obrigada pela dedicação nos experimentos cegos realizados nesse trabalho. A gratidão por tudo que fizeram por mim não cabe aqui.

À **Júnia, Glauce** e principalmente ao **Maurício** por me ensinar e padronizar a técnica de western blotting.

Ao **João Francisco Cordeiro Pedrazzi** por estar sempre pronto para ensinar e ajudar. Obrigada por ser sempre solícito e atencioso. Pelas milhares de discussões sobre o efeito do CBG e CBD. Agradeço por todo seu apoio!!

Aos meus amigos de laboratório: **Airam Nicole Estela Vivanco, Daniela Maria Escobar** (minha Danizita), **Bianca Andretto de Mattos, Leonardo Vanderlei Calaça, Rafaela Aparecida Ponciano da Silva de Moraes e Thaís Antônia Alves Fernandes.** Agradeço por nossos momentos de convivência e por fazerem da vida mais leve! Obrigada por serem a minha torcida organizada, por caminharmos juntos nas realizações dos nossos sonhos. Por trocarmos conselhos, desabafos, abraços calorosos e gargalhadas. Conhecer vocês foi o presente que o mestrado me possibilitou ter. Obrigada pela construção das nossas amizades. São especiais para mim!!

Ao **Leonardo Vanderlei Calaça** por ter sido o primeiro a me receber no laboratório e na cidade. Por seu enorme acolhimento e ter me feito sentir parte de tudo isso.

À mi hermanita **Danizita**, que sempre esteve ao meu lado durante essa caminhada, me incentivando e me apoiando. Obrigada amiga por tanto amor! Por suas broncas, puxões de orelhas e preocupação comigo. Você foi/ é fundamental na minha construção profissional e pessoal. Todo meu amor a você!

Até aqui agradeço à **minha família de Ribeirão Preto**.

À minha família por todo suporte, apoio, torcida e confiança. Vocês foram importantes para que eu estivesse aqui. Mesmo os meus sonhos que parecem malucos ou impossíveis, me apoiam. Obrigada por comprarem a minhas lutas. Á minha mãe **Vânia Barros Borges** por SEMPRE me incentivar a lutar pelos meus sonhos, não importa em qual lugar do mundo eu tenha que ir para isso. Obrigada por sempre acreditar em mim! Ao meu paidrasto **Allan Henrique Borges da Cunha** por estar sempre comigo e pronto para me socorrer. Obrigada a vocês por virem comigo até Ribeirão Preto ajudar com a minha mudança e conhecer meu novo lar. Obrigada por caminharem comigo.

Á minha avó **Itacimar Gomes Barros** por todo apoio e suporte. A minha tia **Quésia Barros McCambridge** que mesmo de longe foi uma grande inspiração e apoio.

Às minhas melhores amigas de São Paulo; Á **Yara Natércia Lima Faustino de Maria** e **Danielle Apolinário de Moraes** por me mostrarem que a amizade quando sincera, pode ultrapassar distâncias. Obrigada por escutarem meus 875462849 áudios diários cotando minhas alegrias, vitórias, aventuras, ideias, medos e tristezas. Vocês foram o meu poio, minha coragem, minha fé e a minha força. Minha gratidão a vocês não cabe aqui. Á **Danielle** “quando a vida ficar difícil o que você faz? Continua a nadar” obrigada por me incentivar a nadar. Á **Yara** que viajou comigo até Ribeirão para que eu fizesse a prova de nivelamento para ingressar no mestrado. Durante a viagem na estrada ela disse “Você ainda vai fazer muito esse caminho” E hoje escrevo esses agradecimentos no mesmo ônibus, na mesma estrada. Obrigada por acreditar em mim.

Ao **Guilherme Cordeiro da Silva** meu grande amigo que me apoiou e me incentivou desde o momento em que eu estudava para o processo seletivo do programa de pós-graduação. Obrigada por acreditar em mim!

À minha primeira orientadora pelo incentivo e inspiração, **Raquel Chacon Ruiz Martinez**

As professoras **Daniela Leite Jabes** e **Regina Lúcia Batista da Costa de Oliveira** que me apoiaram durante o processo seletivo. A minhas professoras da graduação **Marly Unello Rosinha, Marília Cristina Duarte, Fabíola Cristina Ribeiro de Faria**

Aos professores **Francisco Silveira Guimarães** e **Felipe Villela Gomes** por suas contribuições para realização desse trabalho.

À técnica **Patrícia Basile** do laboratório onde foi utilizado o fotodocumentador para realização de parte dos experimentos de western blotting.

À **Universidade de São Paulo** que possibilitou a realização da minha pós-graduação. Ao Programa de pós-graduação e á **Luci**, secretária do programa.

Aos professores e professoras do programa, pelas aulas e ensinamentos que fizeram parte da minha formação.

Aos funcionários que cuidam dos animais no biotério e da limpeza, em especial a **Carol, Fátima, Rafael** e **Edison**

Aos animais sacrificados pelo bem da ciência.

À minha psicóloga **Silmara da Silva Otero Rodriguez**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES)- Código de Financiamento 001.

RESUMO

BARROS, Núbia Pereira da Silva. **Catalepsia induzida por haloperidol: Eficácia do canabigerol isolado e associado ao canabidiol.** 2023 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Neurologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

O haloperidol é um composto antipsicóticos típico utilizado no tratamento dos sintomas negativos da esquizofrenia. Apesar dos seus benefícios apresenta efeitos secundários, induzindo a catalepsia em roedores, distúrbio motor denominado parkinsonismo induzido por drogas. O canabidiol (CBD) e o canabigerol (CBG) são compostos canabinoides não psicotomiméticos extraídos da planta *Cannabis sativa*. Há evidências que estes compostos atuem como antipsicóticos atípicos em roedores e humanos. Neste estudo, investigamos se o CBG isoladamente ou a combinação CBG/CBD apresenta efeito benéfico neste distúrbio motor induzido pelo haloperidol (0,3mg/kg; s.c). Avaliamos se o CBG preveniria a catalepsia induzida por haloperidol e a indução da proteína c-Fos no corpo estriado. Para isso, camundongos Suíços machos adultos receberam pré-tratamento com CBG nas doses 0,3, 1,0, 3,0 ou 10 mg/k (i.p) 15 minutos antes do haloperidol. A dose de CBG (0,3mg/kg) atenuou a catalepsia. O tratamento com haloperidol aumentou a expressão da proteína c-Fos no estriado não alcançando significância estatística. O pré-tratamento com CBG nas diferentes doses não alterou a expressão da proteína c-Fos. Avaliamos possível efeito de combinações CBD/CBG utilizando diferentes doses de cada composto. CBG 3mg/kg + CBD 15mg/kg doses que administradas separadamente não apresentaram efeito, quando combinados atenuaram a catalepsia induzida pelo haloperidol sendo este efeito bloqueada pelo inibidor de receptor 5-HT_{1A} (WAY100635, 0,1 mg/kg). Em contraste, o CBG na dose de 10mg/kg bloqueou o efeito anticataléptico do CBD 30mg/kg. Em conclusão, o CBG modula a catalepsia induzida pelo haloperidol e os compostos combinados apresentaram efeitos opostos dependendo das doses utilizadas. Os resultados sugerem que a interação depende da dose dos canabinoides e envolve a participação de receptores serotoninérgicos.

Palavras chaves: Catalepsia, antipsicótico típico, canabinoides, serotonina.

ABSTRACT

BARROS, Núbia Pereira da Silva. Haloperidol- induced catalepsy: efficacy of cannabigerol isolate and associated with cannabidiol. 2023. 87 f. Dissertation (Master of Science) – Graduate program in Neurology, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, Universidad of São Paulo, Ribeirão Preto.

Haloperidol is a typical antipsychotic compound used to treat the negative symptoms of schizophrenia. Despite its benefits it has side effects, inducing catalepsy in rodents, a motor disorder called drug-induced Parkinsonism. Cannabidiol (CBD) and cannabigerol (CBG) are non-psychotomimetics cannabinoid compounds extracted from the *Cannabis sativa* plant. There is evidence that these compounds act as atypical antipsychotics in rodents and humans. In this study, we investigated whether CBG alone or the combination CBG/CBD shows beneficial effect in this motor disorder induced by haloperidol (0.3mg/kg; s.c). We evaluated whether CBG would prevent haloperidol-induced catalepsy and c-Fos protein induction in the striatum. To this end, adult male Swiss mice received CBG pretreatment at doses of 0.3, 1.0, 3.0 or 10 mg/k (i.p) 15 min before haloperidol. The CBG dose (0.3mg/kg) attenuated catalepsy. Haloperidol treatment increased c-Fos protein expression in striatum not reaching statistical significance. CBG pre-treatment at different doses did not alter c-Fos protein expression. We evaluated possible effect of CBD/CBG combinations using different doses of each compound. CBG 3mg/kg + CBD 15mg/kg doses that administered separately showed no effect, when combined attenuated haloperidol-induced catalepsy being this effect blocked by 5-HT_{1A} receptor inhibitor (WAY100635, 0.1 mg/kg). In contrast, CBG at a dose of 10mg/kg blocked the anti-cataleptic effect of CBD 30mg/kg. In conclusion, CBG modulates haloperidol-induced catalepsy and the combined compounds showed opposite effects depending on the used doses. The interaction depends on the dose of the cannabinoids and involves the participation of serotonergic receptors.

Keywords: Catalepsy, typical antipsychotic, cannabinoids, serotonin

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação do limiar terapêutico induzido pelo bloqueio de receptores dopaminérgicos D2R através de antipsicóticos.....	23
Figura 2- Representação das vias dopaminérgicas do sistema nervoso central.....	25
Figura 3- Anatomia das estruturas do núcleo da base em humanos.....	26
Figura 4- Representação das vias direta e indireta dos núcleos da base.....	27
Figura 5- Via de sinalização dopaminérgica em neurônios espinhosos médios (MSNs) estriatais da via indireta após o bloqueio de D2R induzido pelo haloperidol.....	29
Figura 6- Papel dos interneurônios colinérgicos na mediação de efeitos extrapiramidais como a catalepsia em animais.....	31
Figura 7- Múltiplos alvos moleculares compartilhados pelo CBG e CBD.....	35
Figura 8- Biossíntese dos fitocanabinoides.....	37
Figura 9- Animal com catalepsia induzida por haloperidol submetido ao teste da barra.....	47
Figura 10- Linha temporal representativa do experimento 1.....	49
Figura 11- Linha temporal representativa do experimento 2.....	50
Figura 12- Linha temporal representativa do experimento 3.....	51
Figura 13- Linha temporal representativa do experimento 4.....	52
Figura 14- Linha temporal representativa do experimento 5.....	53
Figura 15- Linha temporal representativa do experimento 6.....	54
Figura 16- Curva temporal da catalepsia induzida por haloperidol.....	56
Figura 17. Efeito do CBD na catalepsia induzida por haloperidol.....	58
Figura 18. Efeito do CBG na catalepsia induzida por haloperidol.....	59
Figura 19- Efeito do CBG sobre a expressão da proteína c-Fos no estriado de animais que apresentaram catalepsia induzida por haloperidol.....	60
Figura 20. Efeito da combinação CBG e CBD na catalepsia induzida por haloperidol.....	61
Figura 21. O efeito anticataléptico do CBD: influência da dose de CBG.....	62
Figura 22- Efeito da combinação CBG-CBD sobre a catalepsia induzida por haloperidol: influência do bloqueador de receptor serotoninérgico 5HT _{1A}	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Lista de materiais necessários para realização dos experimentos.....	40
Tabela 2- Lista de reagentes necessários para o preparo e diluição de drogas utilizadas no tratamento dos animais e realização dos estudos comportamentais.....	40
Tabela 3- Lista de instrumentos utilizados no decorrer dos experimentos.....	41
Tabela 4- Lista de reagentes necessários para realização dos experimentos.....	42
Tabela 5- Lista de substâncias necessárias para realização de Western blotting.....	43
Tabela 6- Lista de materiais utilizados para realização do Western Blotting. Fonte: Autoria própria.....	43
Tabela 7- Lista de tampões e soluções utilizados para realização de Western Blotting.....	44
Tabela 8- Protocolo padrão para administração de fármacos. Drogas administradas com as respectivas iniciais, o fabricante, a dose, via de administração e a forma como cada droga foi diluída.....	46
Tabela 9- Anticorpos utilizados no western blotting.....	49
Tabela 10- Resumo do efeito de canabinoides na catalepsia induzida por haloperidol.....	65

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 11 – Análise estatística do experimento 1.....	73
Tabela 12 - Análise estatística do experimento 2.....	73
Tabela 13 – Análise estatística do experimento 3.....	73
Figura 23 - Teste de homogeneidade dos dados observados no experimento 3.....	74
Figura 24 - Teste de normalidade dos dados observados no experimento 3.....	74
Tabela 14 - Análise estatística do experimento 3: Expressão da proteína c-Fos.....	74
Figura 25 - Teste de homogeneidade da expressão de c-Fos.....	75
Figura 26 - Teste de normalidade da expressão de c-Fos.....	75
Figura 27 - Teste não paramétrico Kruskal-Wallis para avaliação da expressão de c-Fos.....	75
Figura 28 : Teste não paramétrico Manny-Whitney para avaliação da expressão de c-Fos.....	76
Tabela 15 – Análise estatística do experimento 4.....	76
Tabela complementar 16 - Análise estatística do experimento 5.....	76
Tabela complementar 17 – Análise estatística do experimento 6.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS

- Δ^9 -THC**- Δ^9 -tetrahydrocannabinol
- 2-AG**- 2-araquidonoilglicerol
- A₁**- Receptor de adenosina tipo 1
- AA**- Ácido araquidônico
- AC**- Adenosina ciclase
- ACH**- Acetilcolina
- AEA**- N-araquidonoil etanolamina
- AMPA**- α -amino-3-hidroxi-5-metil-4- isoxazolpropiónico
- AMPc**- Monofosfato cíclico de adenosina
- Cav**- Canal de cálcio
- CB₁**- Receptor canabinoides tipo 1
- CB₂**- Receptor canabinoides tipo 2
- CBC**- Canabicromeno
- CBCA**- Ácido canabicromênico
- CBD**- Canabidiol
- CBDA**- Ácido canabidiólico
- CBG**- Canabigerol
- CBGA**- Ácido canabigerólico
- CPU**- Estriado
- D₂R**- Receptor de dopamina do tipo 2
- DA**- Dopamina
- DARPP-3** fosfoproteína 32-kDa regulada por dopamina e AMPc
- DR**- Receptor dopaminérgico
- EMT**- Transportador de membrana de endocannabinoides
- ENT**- Transportador balanceado de nucleosídeo
- EPSE**- Efeito extrapiramidal
- FAAH**- Hidrolase amida de ácido graxo
- GABA**- Ácido aminobutírico
- GLY**- Receptores de glicina
- GOT**- Olivolato geraniltransferase
- GPCR**- Receptor acoplado a proteína G
- GPe**- Globo pálido externo

GPI- Globo pálido interno

GPP- Difosfato de geranyl

GPR55- Receptor 55 acoplado a proteína G

I.P- Intraperitoneal

IFN- γ - interferon- γ

I κ B α - Inibidora de kappa B alfa

IL-1 β - Interleucina-1 β

iNOS- Óxido nítrico sintase induzível

Ki- Constante de dissociação

L-DOPA- L-dihidroxifenilalanina

L-NAME- N-nitro-L-arginina metiléster

L-NMMA- N^G- monometil-L- arginina

L-NOARG- N^G-nitro-L-arginina

LPS- Lipopolissacarídeos

MOR- Receptor opioide

MSN- Neurônios espinhosos médios

NAc- Núcleo *accumbens*

Nav- Canal de sódio

NF- κ B- Fator nuclear de kappa B

NMDA- N-metil-D-aspartato

NO- Óxido nítrico

NOS- Óxido nítrico sintase

Nrf-2- Fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2

NST- Núcleo subtálmico

OB- Bulbo olfatório

PARP-1- A poli (ADP-ribose) polimerase 1

PCF- Córtex pré-frontal

PGC-1 α - Coativador gama 1-alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma

PKA- Proteínas quinases

PPARY- *Proliferador de peroxissomo do tipo gama*

ROS- Rosiglitazona

S.C- Subcutânea

SNc- Substância negra pars compacta

SNr- Substância negra pars reticulada

SOD- Enzima superóxido dismutase

TDAH- Transtorno do déficit de atenção e hiperatividade

TH- Tirosina hidroxilase

THCA- Ácido tetrahidrocanabinólico

Thr34- treonina 34

TNF- α - Fator de necrose tumoral α

TRPA₁- *Canal potencial de receptores transitórios da subfamília anquirina do tipo 1*

TRPV₁- *Canal potencial de receptores transitórios da subfamília vanilóide do tipo 1*

VTA- Área tegmental ventral

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	21
1.1 OS ANTIPSICÓTICOS	21
1.2 ORGANIZAÇÃO DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO	24
1.2.1 Organização anatomofisiológica dos núcleos da base	24
1.3 Haloperidol, uma droga com atividade antipsicótica	26
1.4 O TESTE DE CATALEPSIA	29
1.5 OS CANABINOIDES	32
2. OBJETIVOS	39
2.1 OBJETIVO GERAL	39
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	38
3. MATERIAS E MÉTODOS	40
3.1 MATERIAIS UTILIZADOS	40
3.1.1. Consumíveis comprados	40
3.1.2 Reagentes utilizados para diluição de canabinoides.	40
3.1.3 Aparelhos	41
3.1.4 Materiais utilizados para realização da técnica de Western blotting	41
3.1.4.1 Reagentes	42
3.1.4.2 Substâncias	43
3.1.4.3 Materiais	43
3.1.4.4 Tampões preparados	44
3.2 ANIMAIS:	45
3.3 DROGAS	45
3.4 TESTES DE CATALEPSIA NA BARRA	47
3.5 ANÁLISE MOLECULAR	47
3.5.1 Coleta de tecidos e extração de proteínas para western blotting	47
3.5.2 Western Blotting	48
3.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL:	49
3.6.1 Experimento 1- Curva temporal da catalepsia induzida por haloperidol	49
3.6.2 Experimento 2- Efeito do CBD na catalepsia induzida por haloperidol	50
3.6.3 Experimento 3- Efeito do CBG na catalepsia induzida por haloperidol	50
3.6.4 Experimento 4- Efeito de doses combinadas de CBG e CBD na catalepsia induzida por haloperidol.	51
3.6.5 Experimento 5- Efeito anticataléptico do CBD: influência da dose de CBG	52

3.6.6 Experimento 6- Efeito da combinação CBG-CBD sobre a catalepsia induzida por haloperidol: influência do bloqueador de receptor serotoninérgico 5HT_{1A}.....	52
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	54
4. RESULTADOS	56
4.1 Experimento 1- Curva temporal da catalepsia induzida por haloperidol.....	56
4.2 Experimento 2- Efeito do CBD na catalepsia induzida por haloperidol.	57
4.3 Experimento 3- Efeito do CBG na catalepsia induzida por haloperidol.	57
4.4 Experimento 4- Efeito de doses combinadas de CBG -CBD na catalepsia induzida por haloperidol.....	60
4.5 Experimento 5- Efeito anticataléptico do CBD: influência da dose de CBG... 	61
4.6 Experimento 6- Efeito da combinação CBG-CBD sobre a catalepsia induzida por haloperidol: influência do bloqueador de receptor serotoninérgico 5HT_{1A}.....	62
5. DISCUSSÃO:	64
5.1 CURVA TEMPORAL DA CATALEPSIA INDUZIDA POR HALOPERIDOL: SELEÇÃO DE DOSE.....	66
5.2 EFEITO DO CBD NA CATALEPSIA INDUZIDA POR HALOPERIDOL ...	66
5.3 EFEITO DO CBG NA CATALEPSIA INDUZIDA POR HALOPERIDOL ...	67
5.4 EFEITO DO CBG NA EXPRESÃO DA PROTEÍNA c-FOS:.....	71
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	722
MATERIAL COMPLEMENTAR.....	73
REFERÊNCIAS.....	78

1. INTRODUÇÃO

1.1 OS ANTIPSICÓTICOS

O primeiro antipsicótico descrito foi a clorpromazina em 1952 pelo cirurgião francês Henri Laborit em decorrência de seus estudos na procura de drogas que poderiam reduzir a ansiedade pré-operatória (SHEN, 1999). Posteriormente, outros antipsicóticos foram desenvolvidos (REMINGTON *et al*, 2021). A descoberta dos antipsicóticos alterou fundamentalmente o curso do tratamento da esquizofrenia. Sua superioridade clínica em relação aos tratamentos existentes, por exemplo, terapia eletroconvulsiva com a insulina foi rapidamente evidente, tanto que estas drogas se tornaram a base do tratamento quase que imediatamente. A mudança para a desinstitucionalização nos primórdios de sua descoberta reflete o impacto (REMINGTON *et al*, 2021).

A esquizofrenia é uma desordem psiquiátrica que apresenta sintomas positivos, negativos e cognitivos, e afeta mais de 20 milhões de pessoas em todo o mundo (OWEN *et al*, 2016b). Os custos envolvidos direta ou indiretamente com o tratamento da esquizofrenia são altos, chegando a US \$102.396 milhões nos Estados Unidos (CHONG *et al*, 2016). Além disso, não existe uma cura para esse transtorno, portanto os pacientes dependem fortemente de antipsicóticos para amenizar os sintomas. As drogas antipsicóticas utilizadas para o tratamento da esquizofrenia têm como principal função a redução dos sintomas e, na grande maioria atuam como antagonistas do receptor de dopamina (KAPUR e REMINGTON, 2001; STEPNIICKI *et al*, 2018). Os antipsicóticos atuais são divididos em duas classes: os típicos (de primeira geração) e os atípicos (de segunda geração), que se diferenciam pelo mecanismo de ação e afinidade pelos receptores que interagem (MARGALHA, 2013). Estudos sugerem que, dos pacientes tratados, cerca de 30% apresentam uma boa resposta ao uso de antipsicóticos e entram em estado de remissão; 30% manifestam uma resposta satisfatória; entre 20% e 30% apresentam resistência ao tratamento (STEEDS *et al*, 2015). Ainda, muitos dos medicamentos apresentam efeitos colaterais e eficácia reduzida quando se considera os sintomas negativos (KAAR *et al*, 2020).

Os sintomas amenizados pelos antipsicóticos típicos são os sintomas positivos (delírios e alucinações, fenômenos mentais que estão ausentes em indivíduos sadios; OWENS *et al*, 2016; GALDERISI *et al*, 2018; MCCUTCHEON *et al*, 2019a,b). A

maioria dos antipsicóticos não apresentam ou possuem um efeito menor, sobre os demais sintomas (TANDON, 2011). Entre os medicamentos típicos destacam-se o haloperidol e a clorpromazina; entre os atípicos destacam-se a olanzapina, quetiapina e clozapina (FISCHER-BARNICOL *et al*, 2008). Os antipsicóticos atípicos apresentam eficácia no tratamento dos sintomas cognitivos (déficit de memória, função executiva, discurso e pensamento desorganizado) e nos sintomas negativos (déficit na comunicação e interação social, embotamento afetivo e anedonia; OWEN *et al*, 2016 a, b; GALDERISI *et al*, 2018; MMCCUTCHEON *et al*, 2019a, b; GRINCHII e DREMENCOV, 2020).

Os antipsicóticos típicos possuem alta afinidade pelo receptor dopaminérgico do tipo 2 (D2R), porém, a interação forte entre os antipsicóticos e D2R também está associada com o aparecimento de sintomas motores extrapiramidais, como o surgimento de distonias e discinesias, e com o desenvolvimento de sintomas negativos e depressão (MIYAKE *et al*, 2012).

Os antipsicóticos atípicos, por sua vez, interagem de forma transitória e mais seletiva com os receptores dopaminérgicos da região mesolímbica do cérebro, e possuem interação variável com outros receptores, o que está correlacionado com a melhora dos sintomas positivos e cognitivos além de em alguns casos amenizar os sintomas de outras classes (MARGALHA, 2013). Apesar dos benefícios acarretados na qualidade de vida pelos antipsicóticos atípicos, eles também causam efeitos secundários como agranulocitose e distúrbios metabólicos adversos incluindo ganho de peso, desregulações de glicose e distúrbios lipídicos (STEPHENS, 1990; KRAEMER *et al*, 2011).

A primeira hipótese que tenta diferenciar os antipsicóticos atípicos dos típicos foi proposta por Meltzer e colaboradores (1983). Segundo esse grupo, o baixo risco de causar efeitos motores adversos é baseado em seu mecanismo de ação multimodal. Além de atuarem, em sua maioria como antagonistas de receptores dopaminérgicos pré- e pós-sinápticos, esses fármacos são antagonistas de receptores serotoninérgicos (5HT_{1A}, 5HT_{1B}, 5-HT_{2A} e 5HT_{2C}) presentes em interneurônios GABAérgicos na substância negra *pars compacta* (SNc), atuam em receptores colinérgicos muscarínicos, histamínicos H₁ e adrenérgicos α ₁ e α ₂ (MELTZER *et al*, 1989; GRINCHII e DREMENCOV, 2020; KAAR *et al*, 2020; KANE *et al*, 1988). Outra hipótese que tenta diferenciar os antipsicóticos atípicos foi proposta por Kapur e colaboradores (2000) postulando que devido à baixa constante de dissociação (K_i) dos antipsicóticos atípicos pelos receptores de dopamina, a dopamina endógena desloca mais facilmente esses fármacos, permitindo

a regulação compensatória e diminuindo a indução dos efeitos motores (KAPUR *et al*, 2000 e 2001; GRINCHII e DREMENCOV, 2020).

Em discordância com essa proposta de classificação dos antipsicóticos, o aripiprazol é um antipsicótico atípico que atua como agonista parcial D2R, e possui efeito terapêutico quando ocupa 85-95% desses receptores sem causar efeitos motores adversos (MAILMAN *et al*, 2010). Antipsicóticos atípicos como a amisulprida possuem baixa afinidade por receptores serotoninérgicos não modulando a dopamina e outros neurotransmissores simultaneamente (LEUCHT *et al*, 2002). O Lumateperona é caracterizado por seu mecanismo de ação distinto dos outros antipsicóticos atípicos, atuando como agonista parcial de D2R pré-sináptico e antagonista de D2R pós-sináptico. Seu efeito antipsicótico ocorre através da ocupação de 40% dos D2Rs (SNYDER *et al*, 2015; CORREL *et al*, 2020).

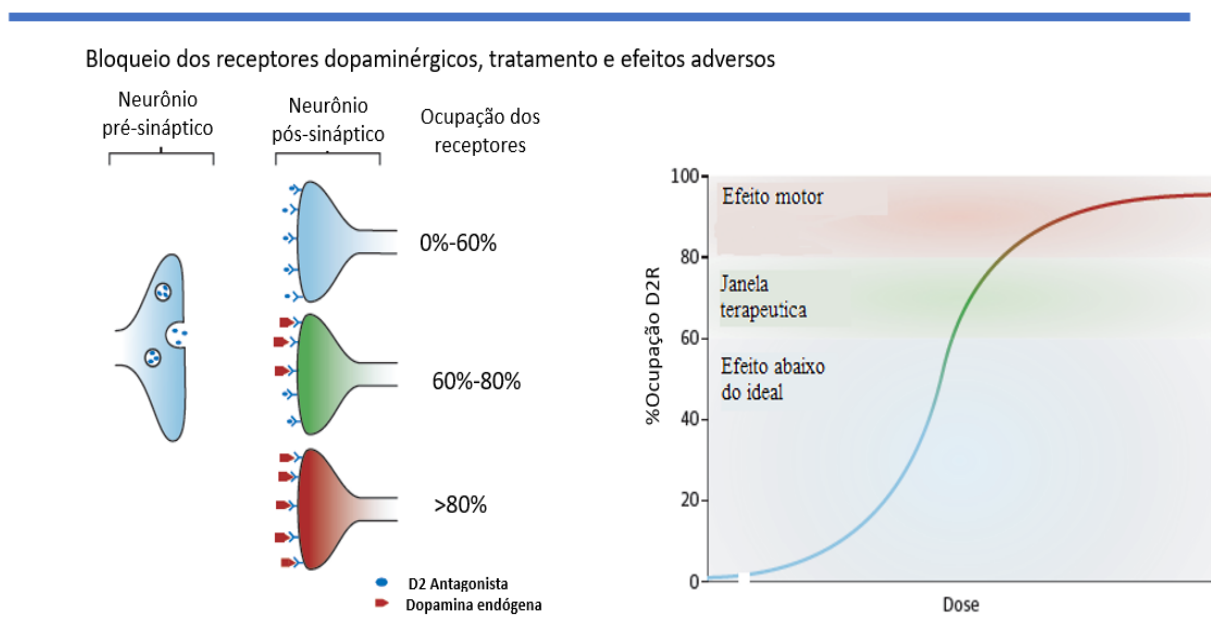


Figura 1- Representação do limiar terapêutico induzido pelo bloqueio de receptores dopaminérgicos D2R através de antipsicóticos. Para a maioria dos antipsicóticos, são necessários bloqueio de 60% de D2R para ocorrer o efeito antipsicótico. A janela terapêutica é representada pelo bloqueio de 60 a 80% de D2R. A ocupação de 80% ou mais de D2R desencadeiam os efeitos motores extrapiramidais (EPSE). Adaptado de MCCUTCHEON (2019b).

Algumas revisões sistemáticas e meta-análise mostram que não há diferenças que evidenciam que os antipsicóticos atípicos são mais eficazes e melhores no tratamento dos sintomas da esquizofrenia, ocorrendo uma falta de clareza e validade da diferença entre os antipsicóticos (GRINCHII e DREMENCOV, 2020).

Em 1963 um dos principais mecanismos de ação dos antipsicóticos foi descrito por Arvid Carlsson e Margit Lindqvist. Foi observado o aumento na síntese de metabólitos de catecolaminas que seriam resultantes da retroalimentação compensatória ao bloqueio de receptores dopaminérgicos pelo haloperidol (CARLSSON e LINDQVIST, 1963; MARDER, 2019).

Há evidências, portanto, que a dopamina e o sistema dopaminérgico sejam de suma importância para compreensão dos efeitos benéficos, assim como dos efeitos extrapiramidais induzidos por antipsicóticos (SCHMIDT *et al*, 1998). Para melhor entendimento sobre o mecanismo de ação dos antipsicóticos, faz-se necessário a compreensão da influência da dopamina no controle motor.

1.2 ORGANIZAÇÃO DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO

A dopamina (DA) é um neurotransmissor monoaminérgico pertencente à família das catecolaminas que desempenha um papel importante na neuromodulação das emoções, cognição, controle motor, sistema de recompensa, aprendizagem e memória (BERKE, 2018; KLEIN *et al* 2018; MISHRA *et al* 2018). Após sua síntese e liberação na fenda sináptica, a dopamina pode se ligar aos receptores pré- e pós-sináptico acoplados à proteína G (GPCRs; LANZA *et al*, 2018; WISE e ROBBLE 2020; WISE e JORDAN, 2021). Os receptores dopaminérgicos (DRs) são classificados em duas famílias com base em suas propriedades farmacológicas e a sua capacidade de regular monofosfato cíclico de adenosina (AMPC), um segundo mensageiro. DRs da família D1 consistem nas subfamílias D1 e D5, e apresentam maior densidade no núcleo *accumbens* (NAc), substância negra *pars* reticulada (SNr), bulbo olfatório (OB) e no núcleo caudado e putâmen (estriado - CPu). Os DRs do tipo D1 caracterizam-se por aumentar a sinalização de AMPC através da estimulação da enzima adenilato ciclase desencadeando respostas excitatórias (KLEIN *et al* 2018; MISHRA *et al* 2018; LANZA *et al*, 2018). Os DRs da família D2 são constituídos pelos receptores D2, D3 e D4 e apresentam maior densidade no CPu, globo pálido externo (GPe), NAc, amígdala, córtex pré-frontal, hipocampo e hipófise (KLEIN *et al* 2018). Ainda, há autorreceptores somatodendríticos presentes no neurônio pré-sináptico sendo D2R, que regulam a liberação e síntese da dopamina (KLEIN *et al*, 2018). A ativação de D2R é antagônica ao efeito da estimulação do receptor tipo D1, inibindo a formação de AMPC (KLEIN *et al* 2018; MISHRA *et al* 2018).

Outras diferenças entre os receptores referenciam-se em expressão, distribuição, função e afinidade (LANZA *et al*, 2018).

A neurotransmissão dopaminérgica no sistema nervoso central ocorre através de quatro vias: nigroestriatal, mesolímbica, mesocortical e tuberoinfundibular (Figura 2). Destacaremos a via nigroestriatal que se caracteriza pelos corpos celulares de neurônios dopaminérgicos na substância negra *pars compacta* (SNc) que se projetam para o CPu. Esse sistema de projeção nigroestriatal exerce influência no controle e integração motora que é regulado pelos núcleos da base (KLEIN *et al*, 2018).

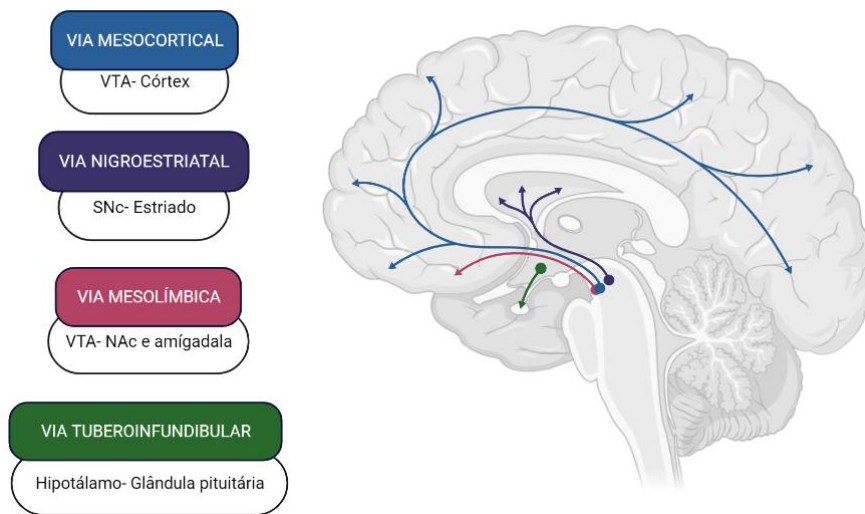


Figura 2- Representação das vias dopaminérgicas do sistema nervoso central; mesocortical, nigroestriatal, mesolímbica e tuberoinfundibular. Criado com *Bio-Render*

1.2.1 Organização anatomofisiológica dos núcleos da base

A principal função dos núcleos da base envolve processos sensório-motor, associativo e límbico. Na porção dorsal, encontram-se os núcleos caudado, putamen e o globo pálido, este último sendo dividido em globo pálido interno (GPi) e globo pálido externo (GPe). Ainda na porção dorsal estão localizados a substância negra e o núcleo subtalâmico (NST). A SN é dividida nos segmentos SNc e SNr. Já na porção anterior do encéfalo, ventralmente ao CPU encontra-se o NAc (CALABRESI *et al*, 2014; BOSTAN *et al*, 2018; Figura 3).

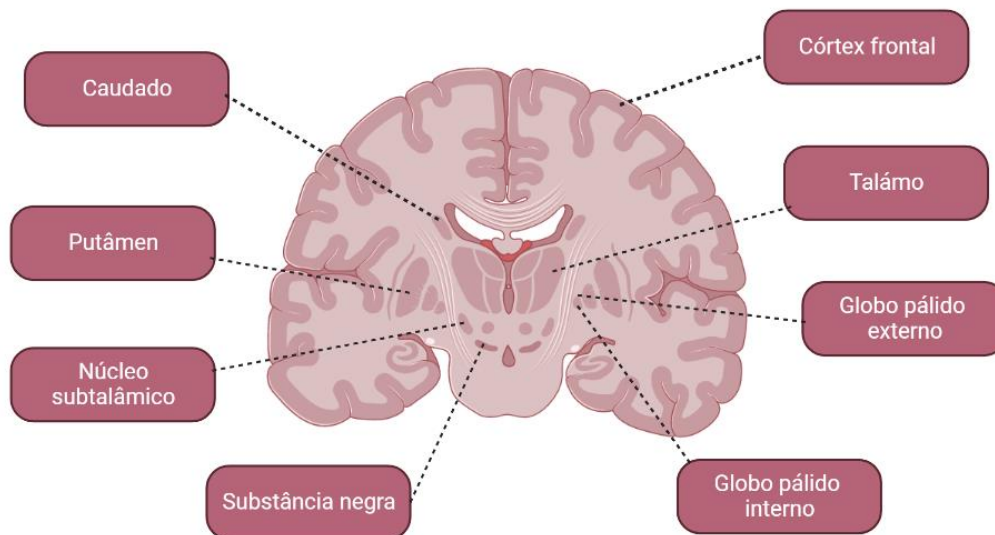


Figura 3- Anatomia das estruturas do núcleo da base em humanos. Criado com *Bio-Render*.

O controle do movimento é dado por circuitos dos núcleos da base, as vias direta, indireta e super direta, que possuem um efeito dicotômico para controlar o movimento, estimulando-o ou inibindo-o (CHU, 2017; BOSTAN *et al*, 2018; Figura 4A).

Os núcleos da base recebem eferências glutamatérgicas do córtex cerebral incluindo córtex motor, sensorial, parietal, pré-frontal, cingulado e órbito- frontal (BOSTON *et al*, 2018). Essas eferências fazem sinapse com os neurônios estriatais médios (MSNs), células de saída GABAérgicas que representam 90 a 95% dos neurônios do estriado (CALABRESI *et al*, 2014; CHU, 2017). Os MSNs projetam-se para os núcleos de saída GPi e SNr, que enviam projeções inibitórias ao tálamo, que por sua vez estimula o córtex.

A via direta integra as projeções GABAérgicas que partem do estriado ao GPi inibindo os núcleos de saída, resultando na desinibição do tálamo e estimulação das áreas corticais, facilitando o movimento (BOSTON *et al*, 2018). Na via indireta, as projeções estriatais GABAérgicas correm através do GPe e NST e este último transmite sinais glutamatérgicos ao GPi que reforça inibição do tálamo e deixa de estimular as áreas corticais relacionadas ao movimento. Semelhante a via indireta, na via hiperdireta, as projeções glutamatérgicas partem diretamente do córtex ao NST, estimulando o GPi que por sua vez transmite ao tálamo sinais inibitórios GABAérgicos, diminuindo os movimentos (LINDAHL *et al*, 2013). Nesse sentido, de maneira oposta à via direta, a via indireta possibilita a diminuição da intensidade dos movimentos voluntários. Assim,

ambas as vias coordenam e refinam o movimento (CALABRESI *et al*, 2014; WICHMANN *et al*, 2018; BOSTAN *et al*, 2018).

A via dopaminérgica nigroestriatal pode controlar indiretamente o movimento pela sua ação nas vias direta e indireta. Projeções proeminentes da SNc alcançam o estriado estimulando a via direta através dos DRs do tipo D1 e inibindo a via indireta por meio dos DRs do tipo D2R que estão presentes nos MSNs (CALABRESI *et al*, 2014; BOSTAN *et al*, 2018). D1R e D2R regulam a capacidade de resposta dos MSNs ao glutamato, assim a dopamina promove a atividade motora via ativação dos MSNs (na via direta) e concomitantemente inibição dos MSNs na via indireta (SUMEIER *et al*, 2007; BONITO-OLIVA *et al*, 2011).

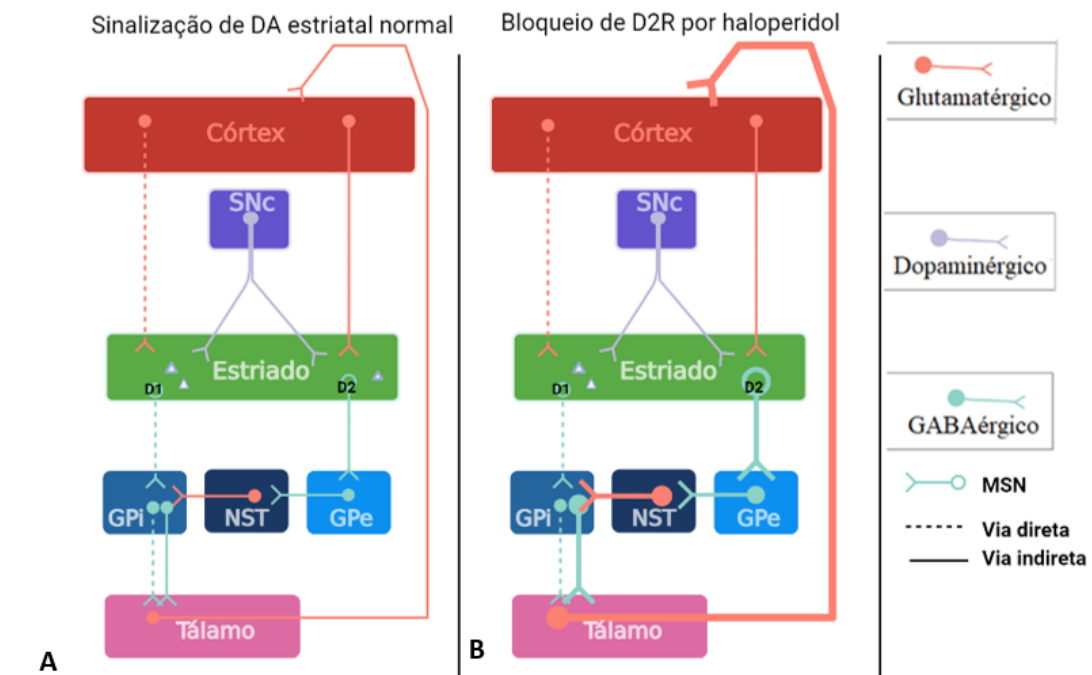


Figura 4- Representação das vias direta e indireta dos núcleos da base. A) Sinalização de dopamina normal no estriado. **B)** Uso de haloperidol bloqueia D2R nos MSNs na via indireta. O antagonismo desses receptores diminui a sinalização GABAérgica dos MSNs que partem do estriado ao GPe, ocorrendo alteração nas projeções GABAérgicas que chegam ao tálamo, aumentando a inibição tálamo-cortical e desencadeando a bradicinesia em humanos e a catalepsia em animais. Adaptado de MCCUTCHEON (2019a) através do programa *Bio-Render*

1.3 Haloperidol, uma droga com atividade antipsicótica

O **Haloperidol** é o antipsicótico típico convencional mais utilizado no tratamento de transtornos mentais (MCCUTCHEON *et al*, 2019a). O antagonismo de D2R é um

elemento central da atividade da maioria dos antipsicóticos (KAPUR e REMINGTON, 2001). Dentre os efeitos extrapiramidais induzidos pelo haloperidol estão a distonia aguda, síndrome que se manifesta após as doses iniciais, a discinesia tardia, caracterizada por movimentos involuntários na região orofacial (MARSEDEN, 1980; CORRELL *et al*, 2017; OSTINELLI *et al*, 2017; MEZZOMO *et al*, 2022) e o parkinsonismo, caracterizado pela presença de contrações musculares involuntárias e postura anormal (SHIN *et al*, 2012; OBESO *et al*, 2017; RAFIQ *et al*, 2022).

Drogas antipsicóticas como o haloperidol, levam a redução da capacidade de resposta dos MSNs estriatopálidais ao glutamato produzindo a desinibição GABAérgica da projeção estriatopálida através do bloqueio de D2R (JANKOVIC e TOLOSA, 2000; SHIREEN, 2016; FREI, 2019; Figura 4B). Em seguida, ocorre a desregulação das projeções glutamatérgicas dos núcleos de saída, que por sua vez, aumentam a transmissão inibitória das projeções tálamo-cortical (JANKOVIC e TOLOSA, 2000; BONITO-OLIVA *et al*, 2011; WANG *et al*, 2012). Esse aumento na transmissão inibitória das projeções tálamo-cortical estaria relacionado com a indução de efeitos motores pelos antipsicóticos.

Os D2R são acoplados a subunidade $G_{i/o}$ da proteína G que inibem a enzima adenilato ciclase. Essa enzima catalisa a hidrólise de ATP em AMPc. O bloqueio dos receptores D2R nos MSN pelo haloperidol, leva a desinibição da proteína $G_{i/o}$ exercida sobre a adenilato ciclase, que em condições basais encontra-se inativa, aumentando os níveis de AMPc. O bloqueio de D2R pelo haloperidol estimula a atividade da proteína quinase A (PKA) fosforilando a proteína DARPP-3 (*fosfoproteína 32-kDa regulada por dopamina e AMPc*) na sua forma ativa em treonina 34 (Thr34; BONITO-OLIVA *et al*, 2011; KLEIN *et al*, 2019; Figura 5). A proteína DARPP-32 atua inibindo a proteína fosfatase-1 (PP1), conhecida por estar envolvida na regulação de vários processos celulares. Ainda, a DARPP-32 fosforilada atua amplificando o sinal da PKA, modulando diversas vias de sinalização e aumentando a expressão gênica (BONITO-OLIVA *et al*, 2011; KLEIN *et al*, 2019). Mudanças na transdução de sinais induzidas pelo haloperidol nos MSNs, aumentam a fosforilação da proteína de ligação ao elemento de resposta AMPc (CREB- *cAMP-response elemento binding protein*) via PKA, que pode estar envolvido com o controle da expressão das proteínas Fos (ONIMUS *et al*, 2022). Assim, a administração do haloperidol induz a expressão de genes de resposta imediata que atuam como fatores de transcrição (ONIMUS *et al*, 2022).

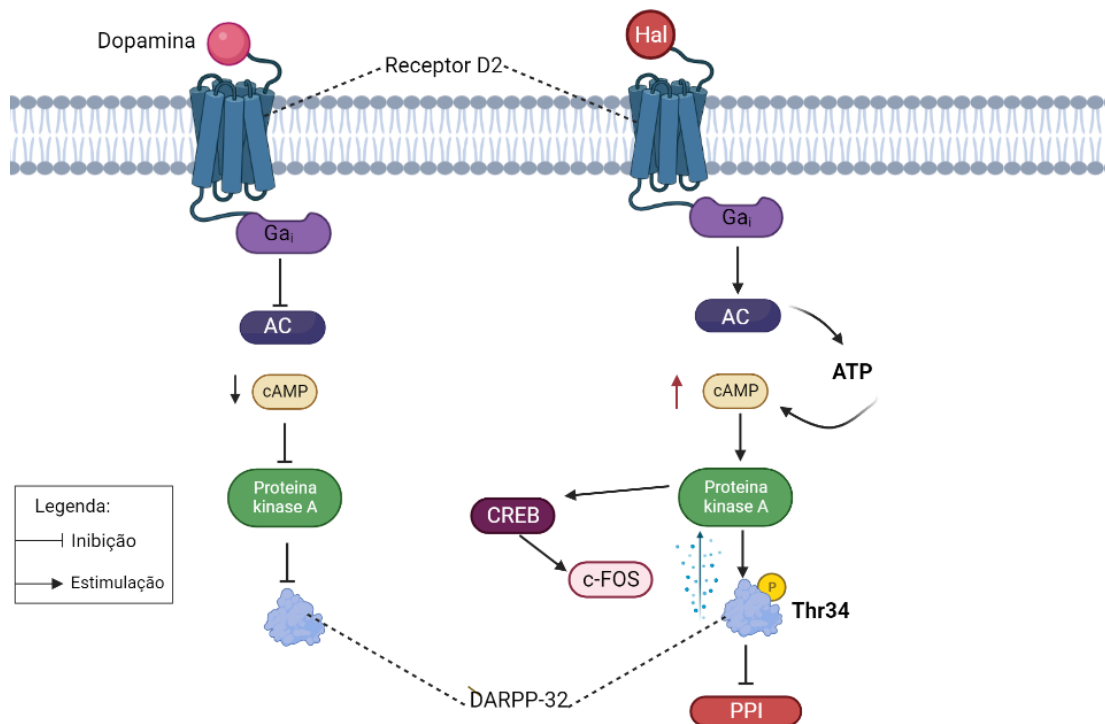


Figura 5-Via de sinalização dopaminérgica em neurônios estriatais médios (MSNs) da via indireta após o bloqueio de D2R induzido pelo haloperidol. Em condições basais, a dopamina se liga aos D2Rs e inativa a cascata de sinalização AMPc/PKA/DARPP-32. O bloqueio de D2Rs por drogas antipsicóticas típicas como haloperidol, ativam a cascata de sinalização AMPc/PKA/DARPP-32. (BONITO-OLIVA *et al*, 2011; KLEIN *et al*, 2019).

Para estudo dos mecanismos farmacológicos de drogas antipsicóticas que sejam antagonistas dos D2R no estriado, são utilizadas estratégias experimentais como o teste da catalepsia induzida por haloperidol (SANBERG *et al*, 1988; DEL BEL, *et al*, 2002; RASHEED *et al*, 2010)

1.4 O TESTE DE CATALEPSIA

Os modelos de doença psiquiátrica são passíveis de triagem para novos medicamentos. Têm validade facial modesta e mais importante, têm validade preditiva. A catalepsia em animais de laboratório é definida como a dificuldade em corrigir uma postura anormal externamente imposta (SANBERG *et al*, 1988). A medida do tempo de catalepsia é uma ferramenta comportamental muito utilizada devido à sua facilidade e baixo custo (CHUI *et al*, 1981; WUKU *et al*, 2020). Animais tratados com haloperidol ficam impossibilitados mover os membros por um período prolongado assemelhando-se com os sintomas parkinsonianos (bradicinesia), esquizofrenia catatônica e outras fisiopatologias associados aos núcleos da base (SANBERG *et al*, 1988). O estado

cataléptico dos roedores pode ser avaliado colocando o animal em uma posição incomum e registrando o tempo necessário para corrigir esta postura (SANBERG *et al*, 1988; DEL BEL *et al*, 2002; RASHEED *et al*, 2010). O teste de catalepsia pode ser realizado através de diferentes aparatos, sendo o teste na barra horizontal o mais amplamente utilizado (KUSCHINSKY e HORNYKIEWICZ, 1972). Esse modelo é empregado para obter uma melhor compreensão da neurobiologia subjacente ao parkinsonismo, na busca do desenvolvimento de novas terapias.

Revisão recente (WAKU e seus colaboradores 2020), descreve os principais objetivos abordados nos estudos que utilizaram o modelo de catalepsia no período de 1981 a 2020. Segundo o grupo: 1) 22 estudos utilizaram o modelo de catalepsia para verificar os efeitos de tratamentos já estabelecidos para o parkinsonismo; 2) 149 estudos exploraram o possível efeito de novos tratamentos potenciais para o parkinsonismo; 3) 35 estudos verificaram a fisiopatologia e as características comportamentais já estabelecidas para o parkinsonismo; 4) 49 estudos exploraram novas características comportamentais do parkinsonismo. Além do bloqueio de D2R são relatados outros sistemas de neurotransmissores que modulam a catalepsia (SANBERG *et al*, 1988; SCHMIDT *et al*, 1998; DEL BEL *et al*, 2002; RASHEED *et al*, 2010) e são descritos em seguida.

Os D2R presentes no estriado estão localizados em grande parte nos **interneurônios colinérgicos** que compõem cerca de 1 a 2% dos neurônios estriatais (JANKOVIC e TOLOSA, 2000). O bloqueio de D2R nesses interneurônios leva ao aumento da liberação de acetilcolina (ACH), que se liga aos receptores pós-sinápticos colinérgicos do tipo M1 presentes nos MSNs. A ativação dessas células pela ACH, aumenta os disparos GABAérgicos induzindo a catalepsia. Dessa forma, só o bloqueio de D2R nos MSNs não é suficiente para induzir a catalepsia, sendo dependente da liberação ou desinibição do mecanismo colinérgico (MCCUTCHEON *et al*, 2019a; Figura 6).

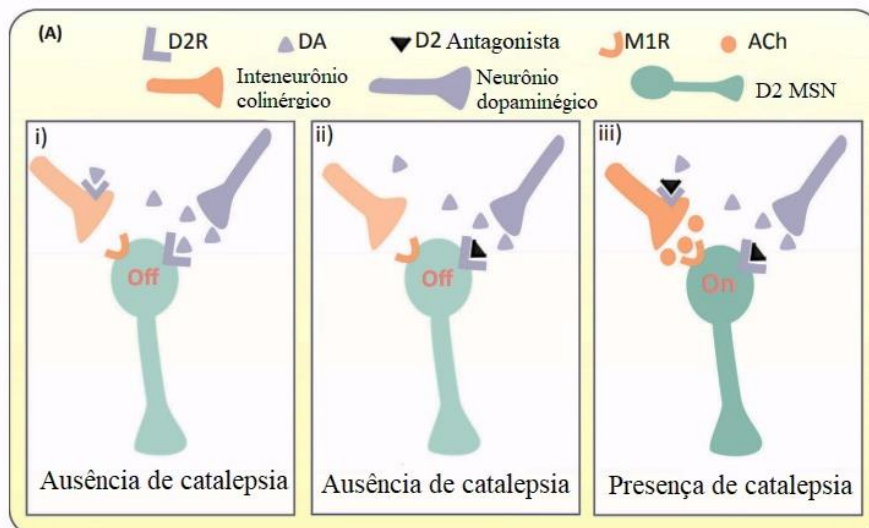


Figura 6- Papel dos interneurônios colinérgicos na mediação de efeitos extrapiramidais como a catalepsia em animais. Adaptado de MCCUTCHEON (2019a)

Um estudo realizado por Souza e colaboradores (2000) mostrou que agonistas colinérgicos como a nicotina e carbacol induzem a catalepsia. Quando administrados em conjunto com o haloperidol, podem potencializar seu efeito aumentando a catalepsia. Em contraste drogas anticolinérgicas ou inibidores da síntese da acetilcolina, aumentam a atividade locomotora e atenuam a catalepsia induzida pelo haloperidol, sendo consideradas agentes terapêuticos antiparkinsonianos (SANBERG *et al*, 1988; SOUZA *et al*, 2000). Esses estudos sugerem que é necessário equilíbrio entre os sistemas de neurotransmissores dopaminérgicos e colinérgicos na função motora (FINK-JENSEN *et al*, 2011; VANNUR *et al*, 2022).

Os interneurônios colinérgicos estriatais também modulam **aferentes glutamatérgicos** através de seus receptores tipos NMDA (SANBERG *et al*, 1988). A estimulação desses receptores diminui o efeito de drogas anticolinérgicas aumentando a catalepsia (SCHMIDT *et al*, 1998). Antagonistas de receptores NMDA, como MK801 e a amantadina, são considerados agentes antiparkinsonianos e estão relacionados com a modulação da serotonina no NAc gerando efeito anticataleptogênico (SCHMIDT *et al*, 1998; SANO *et al*, 2008). Ainda, os receptores glutamatérgicos NMDA estão relacionados com o aumento da síntese estriatal do óxido nítrico (NO; JANKOVIC e TOLOSA, 2000).

O sistema motor também pode ser modulado pelo **sistema nitrérgico** uma vez que a catalepsia também pode ser induzida pela administração de inibidores do óxido nítrico sintase (NOS) como; N^G-nitro-L-arginina (L-NOARG), N-nitro-L-arginina metiléster (L-

NAME) e N^G- monometil-L- arginina (L-NMMA) em ratos e camundongos (DEL-BEL *et al*, 1998; NUCCI-DA-SILVA *et al*, 1999; DEL-BEL *et al*, 2000; 2004). Os inibidores do óxido nítrico sintase diminuem a liberação de dopamina, sugerindo que a interferência na formação do óxido nítrico influencia a neurotransmissão dopaminérgica no estriado e possui efeitos cataleptogênicos (DEL-BEL *et al*, 1998; NUCCI-DA-SILVA *et al*, 1999; DEL-BEL *et al*, 2000; 2004).

Estudos mostraram que os agonistas **GABAérgicos** potencializam o efeito do haloperidol e produzem catalepsia *per se*. Agonistas GABAérgicos em altas concentrações promovem uma potencialização da catalepsia induzida por haloperidol. Em contraste, a catalepsia pode ser atenuada com concentrações baixas dessas drogas (WORMS *et al*, 1978; RICHARDSON e RICHARDSON, 1982). O efeito do GABA sobre a catalepsia induzida por haloperidol foi explicado em termos de estimulação dos receptores pré-sinápticos e pós-sinápticos. Acredita-se que os agonistas GABAérgicos estimulem os receptores pré-sinápticos. Esta estimulação resultaria em um efeito anticolinérgico, restabelecendo o equilíbrio e diminuindo os efeitos extrapiramidais do haloperidol. Por outro lado, altas concentrações de agonistas GABAérgicos estimulam os receptores GABAérgicos pós-sinápticos, resultando em um bloqueio da transmissão dopaminérgica, reforçando assim o efeito do haloperidol (WORMS *et al*, 1978; RICHARDSON e RICHARDSON, 1982).

Finalmente, apesar dos efeitos benéficos, alguns dos efeitos colaterais dos antipsicóticos, além de influenciar a saúde dos pacientes podem reduzir a aderência dos pacientes ao tratamento, até levando a um prognóstico pior ao longo prazo. As várias reações adversas aos antipsicóticos são uma preocupação para aproximadamente 35% a 50% dos pacientes, contribuindo para uma não aderência ao tratamento pelos mesmos (HIGASHI *et al*, 2013). Portanto, faz-se necessária a investigação e procura por outras substâncias que tenham propriedades como antipsicóticos.

1.5 OS CANABINOIDES

A *Cannabis sativa* foi descrita na Ásia Central e inicialmente cultivada na China. Pertencente à família Cannabaceae da ordem rosales, foi introduzida na medicina ocidental no século XIX, e introduzida na Europa apenas por volta de 1840 (ZUARDI *et*

al, 2006; HAZEKAMP *et al*, 2010). *C. sativa* é definida por suas glândulas de resina localizadas em suas folhas que se constituem por compostos como flavonoides, terpenóides e os fitocanabinóide, sendo este seu principal componente (HAZEKAMP *et al*, 2010). A *C. sativa* foi empregada na terapia antiparkinsoniana no século XIX (JANKOVIC e TOLOSA, 2000).

O sistema endocanabinoide desempenha um papel fundamental em vários processos fisiológicos como homeostase, comportamento alimentar, neuromodulação das emoções, sistema de recompensa, neuroproteção e neurogênese (LOWE *et al*, 2021; LU e MACKIE, 2021). Os componentes desse sistema incluem: (1) ligantes endógenos como anandamida ou N-araquidonoil etanolamina (AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG), (2) receptores canabinoides e (3) proteínas que atuam na biossíntese e degradação dos encanabinoides (KILARU e CHAPMAN, 2020; LOWE *et al*, 2021; LU e MACKIE, 2021). O papel fisiológico do sistema endocanabinoide tem despertado interesse crescente na comunidade científica no processo de transtornos e doenças neuropsiquiátricas.

Em meados do século XX, os principais constituintes químicos da *C. sativa* foram isolados e identificados, sendo descritos desde então, 70 canabinoides diferentes sintetizados em distintas proporções (HAZEKAMP *et al*, 2010). Dentre os principais componentes fitocanabinoide está o Δ^9 -THC, sendo o componente responsável pela maioria dos efeitos psicotrópicos da *C. sativa*, ou seja, alteração na percepção, desencadeamento de disforia, alucinações, despersonalização e sonolência (WU *et al*, 2000; ZUARDI *et al*, 2006; DEIANA *et al*, 2011; ZUARDI *et al*, 2012). Ainda, o Δ^9 -THC é o mais abundante entre os demais fitocanabinóide. O Δ^9 -THC foi descrito em 1964 por Gaioni e Mechoulam (PERTWEE, 2006). Os fitocanabinoides, principais constituintes da planta, interagem com o sistema endocanabinoide através de seus receptores do tipo 1 (CB₁) e do tipo 2 (CB₂) acoplados a proteína G (LOWE *et al*, 2021; LU e MACKIE, 2021).

Os fitocanabinóide são utilizados na medicina há milhares de anos, devido os seus benefícios terapêuticos (ZUARDI *et al*, 2006 KILARU e CHAPMAN, 2020; LOWE *et al*, 2021; LU e MACKIE, 2021). Receptores CB₁ estão presente nos MSNs. Agonistas desses receptores mostram o mesmo efeito do haloperidol, aumentando ou induzido a

cataplexia, sugerindo que o sistema endocanabinoide também pode modular o comportamento motor (SANO *et al*, 2008; LOWE *et al*, 2021).

O Canabidiol (CBD) é o segundo constituinte mais abundante da *C. sativa*, compondo 40% do extrato da planta (ZUARDI, 2008). O CBD é um fitocanabinóide não psicoativo com múltiplos efeitos farmacológicos (CUNHA *et al*, 1980; JUNIOR *et al*, 2020). Devido a suas propriedades antipsicóticas, existe um grande interesse no estudo desse canabinoide, corroborando para que seus efeitos fossem os mais bem estudados. O mecanismo de ação do CBD é descrito como sendo antagonista e modulador alostérico negativo do receptor CB₁, e antagonista de CB₂, modulador de receptores opioides (Figura 7). Ainda, atua inibindo a enzima hidrolase de amida de ácido graxo (FAAH) aumentando os níveis da AEA. É agonista/modulador alostérico positivo dos receptores 5HT_{1A}, adenosina A₁ e A_{2A}, TRPV₁ (*canal potencial de receptores transitórios da subfamília vanilóide do tipo 1*), TRPA₁ (*receptores de potencial transitório de canais iônicos subfamília anquirina do tipo 1*), PPARγ (*proliferador de peroxissomo do tipo gama*, SONEGO *et al*, 2018; 2021), e agonista parcial de D2R (ZUARDI *et al*, 2012; PERTWEE *et al*, 2004; ALMEIDA e DEVI, 2020; SILVESTRO *et al*, 2020).

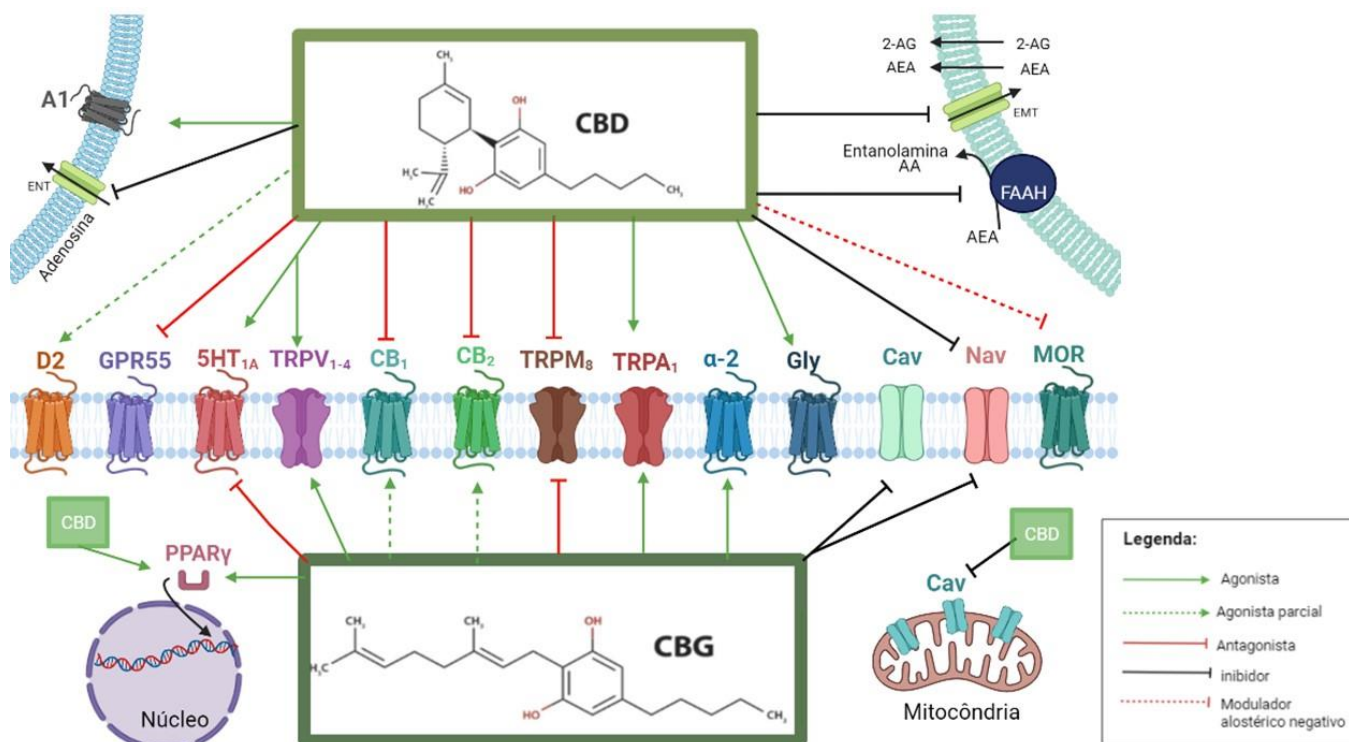


Figura 7- Múltiplos alvos moleculares compartilhados pelo CBG e CBD. Os canabinoides tem múltiplos alvos moleculares dentro da célula. O CBD e CBG atuam sobre os receptores canabinoides (CB₁

e CB₂), o CBD como antagonista e o CBG como agonista parcial. O CBD e o CBG atuam como agonistas dos receptores TRPV_{1,4} (canal potencial de receptor transitório subfamília vanilóide) e TRPA₁ (receptor de potencial transitório de canais iônicos subfamília anquirina do tipo 1). O agonismo do receptor intracelular PPAR γ (receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma) pelo CBG e CBD é responsável pelo seus efeitos anti-inflamatórios. O CBD e o CBG têm um efeito inibitório geral sobre os canais de sódio (Nav) e cálcio (Cav) exercendo um efeito modulador no potencial elétrico da membrana. Ambos, CBD e CBG, compartilham o receptor serotoninérgico 5HT_{1A} como alvo molecular. O CBD atua como agonista/modulador alostérico positivo e o CBG como antagonista. O CBD e o CBG atuam como antagonistas do receptor TRPM₈ (subfamília M do canal catiônico potencial do receptor transitório). O CBD também atua como agonista parcial de D2R. O CBD tem efeito agonista sobre o GPR55 (receptor 55 acoplado a proteína G), e receptor A₁ de adenosina. O CBD inibi o transportador balanceado de nucleosídeo (ENT) responsável pela recaptação de adenosina, aumentando os níveis extracelulares de adenosina. O CBD atua como modulador alostérico negativo do receptor opioide (MOR). O CBD inibi a degradação do endocanabinoide anandamida (AEA) em etanolamina e ácido araquidônico (AA) por meio da enzima FAAH (hidrolase amida de ácido graxo), aumentando os níveis de AEA. Ainda, o CBD atua inibindo a recaptação de AEA e 2-Araquidonoil-Glicerol (2AG), por meio do transportador de membrana de endocanabinoides (EMT). O CBD também atua como agonista de receptores de glicina (Gly). O CBG atua como agonista do receptor α -2 adrenérgico (α -2; Almeida *et al*, 2020; Silvestro *et al*, 2020; Nachnani *et al*, 2021; Małgorzata *et al*, 2022; Mohammad-Reza *et al*, 2022; Pedrazzi *et al*, 2022; Mattos *et al*, dados não publicados). Criando com *Bio-Render*.

Estudos pré-clínicos utilizando CBD e Δ 9-THC demonstram que o CBD possui propriedades ansiolíticas, reduzindo a ansiedade induzida por Δ 9-THC (ZUARDI *et al*, 1982; ZUARDI *et al*, 1993; *et al*, 2020; PENG *et al*, 2022). Ainda, o CBD possui propriedades opostas ao Δ 9-THC (HUNTI *et al*, 1981). Os resultados demonstraram que o CBD age bloqueando os efeitos "excitatórios" do Δ 9-THC, apresentando evidências dos seus efeitos antipsicóticos (ZUARDI *et al*, 1990; ELSAID *et al*, 2019).

Foram realizados estudos comparando o efeito do haloperidol e do CBD em ratos que receberam injeção de apomorfina, apresentando comportamento estereotipado (MOREIRA *et al*, 2005). Ambos diminuíram o comportamento estereotipado, sugerindo que o CBD pode apresentar um perfil semelhante aos antipsicóticos atípicos (MOREIRA *et al*, 2005; ZUARDI *et al*, 2006; ZUARDI *et al*, 2008; PENG *et al*, 2022). Outros achados como de Moreira e colaboradores (2005) compararam o efeito do CBD com relação ao haloperidol e à clozapina, este último antipsicótico atípico. Nesse estudo, o CBD inibiu a hiperlocomoção induzida pela anfetamina (MOREIRA *et al*, 2005).

Em modelos experimentais da doença de Parkinson foram relatados efeitos neuroprotetores do CBD, indicando efeito nos distúrbios do movimento (CONSRO *et al*, 1986; JUNIOR *et al* 2020; PATRICIO *et al*, 2020). Ainda, o CBD possui propriedades como antioxidante, anti-inflamatória, imunomoduladora, efeitos sedativos, hipnóticos, antiepilépticos, anticonvulsivantes e antidistônicos (CRIPPA *et al*, 2004; HAMPSON *et al*, 1998; ZUARDI *et al*, 2006; SHIER *et al*, 2014; PENG *et al*, 2022).

Estudos utilizando CBD mostraram efeitos benéficos podendo ser uma possível alternativa de terapia para controle dos sintomas da esquizofrenia e diversos transtornos (PANDOLFO *et al*, 2011 JUNIOR *et al*, 2020). O CBD pode alcançar resultados significativos sem nenhum dos efeitos colaterais comparados aos antipsicóticos. Assim, os fitocanabinóides podem ser estratégias farmacológicas no tratamento de diversas patologias (ZUARDI *et al*, 2005; 2014; PENG *et al*, 2022).

Portanto, os efeitos do CBD proporcionam inúmeros benefícios, apresentando menores riscos de efeitos colaterais que os antipsicóticos. Outros fitocanabinóides tem despertado interesse científico devido aos seus efeitos antipsicóticos semelhantes ao CBD mostrando ser um composto promissor no tratamento de doenças.

O Canabigerol (CBG) referenciado como um dos principais fitocanabinóides encontrados na *C. sativa*, foi descrito em 1960 (ELSOHLY *et al*, 2017). Possui efeitos antipsicóticos e propriedades farmacológicas terapêuticas como anti-inflamatória e antibacteriana (VALDEOLIVAS *et al*, 2015; ELSOHLIY *et al*, 2017). Em estudos utilizando modelos da doença de Huntington, o CBG demonstrou propriedades neuroprotetoras dos neurônios estriatais melhorando déficits motores (VALDEOLIVAS *et al*, 2014). O CBG também mostrou efeito neuroprotetor em cultura de células tratadas com insultos tóxicos, peróxido de hidrogênio e rotenona, sendo mais eficaz que o CBD (ECHEVERRY *et al*, 2021). O CBG possui um perfil farmacológico distinto quando comparado com outros fitocanabinóides (ELSOHLY *et al*, 2017).

Em comparação com os outros fitocanabinóides o CBG é encontrado em menor quantidade, sendo equivalente a 1% derivado de plantas jovens (DEIANA *et al*, 2017; ELSOHLIY *et al*, 2017). Todos os fitocanabinóides são encontrados em sua forma ácida podendo ser convertidos em seus análogos através do processo de descarboxilação (DEIANA *et al*, 2017). A condensação de difosfato de geranyl (GPP) presente nos tricomas da *C. sativa* e o ácido olivetólico pela ação da enzima olivetato geranyltransferase (GOT), produz a síntese do ácido canabigerólico (CBGA). O CBGA através de enzimas específicas, pode ser convertido nos três principais ácidos; tetrahydrocannabinólico (THCA), canabidiólico (CBDA) e canabícromênico (CBCA). Esses ácidos dão origem a outros fitocanabinóides como o THC, CBD e canabícromeno (CBC), através da sua descarboxilação. Assim o CBG em sua forma ácida é precursor dos demais fitocanabinóides. A síntese do CBG ocorre diretamente pela descarboxilação do CBGA (DEIANA *et al*, 2017; NACHNANI *et al*, 2020; Figura 8).

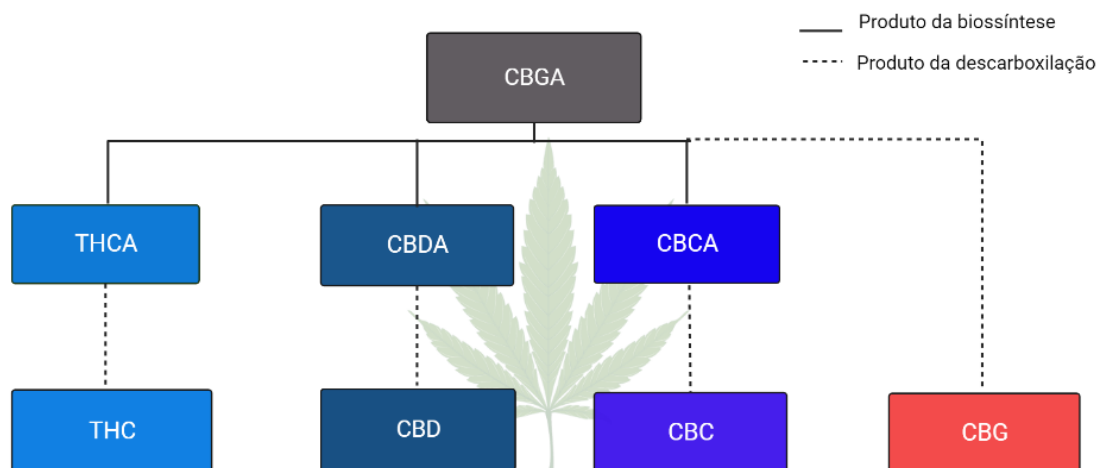


Figura 8- Biossíntese dos fitocanabinoides THC, CBD, CBG e CBC a partir do ácido canabigerólico (CBGA). Criado com *Bio-Render*.

Na tentativa de aumentar o teor de CBG na *C. sativa*, são feitas alterações no genótipo da planta. A atividade conversora da síntese de CBGA em outros fitocanabinoides em sua forma ácida é diminuída, aumentando a descarboxilação do CBGA em CBG, e assim, sua concentração em até 90% (CALAPAI *et al*, 2022).

Com relação ao seu mecanismo de ação, o CBG e o CBD compartilham diversos alvos moleculares como agonista de TRPA₁ e TRPV₁₋₄ (Figura 7). O CBG se diferencia do CBD atuando como antagonista do receptor 5-HT_{1A} (CASCIO *et al*, 2010). Além disso, possui mais afinidade pelo receptor CB₂ do que pelo receptor CB₁, atuando como agonista parcial. O CBG também é descrito como, agonista de α_2 -adrenérgicos (α_2 Ars; CASCIO *et al*, 2010b; NAVARRO *et al*, 2018; ROSENTHALER *et al*, 2014; MULLER *et al*, 2018).

Há espaço e necessidade para o desenvolvimento de drogas fitocanabinóides que não tenham as propriedades psicotomiméticas. Com base nestes dados, nossa hipótese é que (I) o CBG apresente efeito anticataléptico (II) a associação CBG e CBD apresentará efeito anticataléptico.

Entre os antipsicóticos mais utilizados para o tratamento da esquizofrenia, encontra-se o haloperidol, pelo seu baixo custo, com um complexo mecanismo de ação, que apresenta uma boa eficiência em combater os sintomas negativos. Apesar dos benefícios apresenta efeitos secundários, em especial os relacionados a atividade motora. Entre os eventos observados pode-se citar a indução da catalepsia em roedores, também

conhecida como o parkinsonismo induzido por droga. Dessa forma, considerando a importância do haloperidol como antipsicótico no tratamento da esquizofrenia, é de extrema importância à procura de novos fármacos que possam ser utilizados pela ação como antipsicótico, buscando compreender sua relevância durante o tratamento.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL: avaliar a resposta motora provocada pelo haloperidol e a influência do CBG, isoladamente ou em combinação com o CBD na modulação desta resposta.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1) Determinar dose efetiva do haloperidol injetado via subcutânea, na indução da catalepsia.
- 2) Avaliar o efeito do tratamento com doses distintas do CBG na catalepsia induzida por haloperidol.
- 3) Verificar a expressão da proteína c-Fos no estriado de camundongos submetidos ao tratamento com haloperidol precedido por CBG em diferentes doses.
- 4) Avaliar o efeito da combinação de doses sub efetivas de CBG e CBD na catalepsia induzida por haloperidol.
- 5) Investigar se o efeito das doses sub efetivas de CBG e CBD na catalepsia induzida por haloperidol é mediada por receptores serotoninérgicos 5HT_{1A}.

3. MATERIAS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS UTILIZADOS

3.1.1. Consumíveis comprados

Tabela 2- Lista de materiais necessários para realização dos experimentos.

Materiais	Fabricante
Agulha descartável 45G	BD PrecisionGlide
Luvas	SuperMax
Microtubos 200ul, 1,5ml, 2ml	Greiner bio-one
Pipeta Pasteur	RBR
Ponteiras 10ul, 200ul,1000ul, 5ml e 10ml	Axygen
Seringa descartável	BD plastipak
Tubo Falcon 15ml e 50ml	Greiner

3.1.2 Reagentes utilizados para diluição de canabinoides.

Tabela 2- Lista de reagentes necessários para o preparo e diluição de drogas utilizadas no tratamento dos animais e realização dos estudos comportamentais.

Reagentes	Fabricante	N° de catálogo	Fórmula química
Dimetilsulfóxido (DMSO)	LabSynth	67-68-5	(CH ₃) ₂ SO
Tween 80	LabSynth	-	C ₆₄ H ₁₂₄ O ₂₆

3.1.3 Aparelhos

Tabela 3- Lista de instrumentos utilizados no decorrer dos experimentos.

Material	Modelo	Fabricante
Actímetro	LE8810– LE8811	Panlab/Harvard Apparatus
Agitador magnético	752	Fisatom
Agitador multifuncional	TS-2000A	Biomixer
Agitador Vórtex	Ap59	Phoenix Lufenco
Balança de precisão	ATY224	Shimadzu
Capela de exaustão	Q216-23	Quimis
Centrífuga	5403	Eppendorf
Cronômetro	-	Abcam
Espectrofotômetro	-	Biotek
Fonte para eletroforese	-	Loccus biotecnologia
Homogenizador mecânico	PT 1200 E	Kinemática AG
Medidor de pH (PHmetro)	SC06	Ms Tcnopon Instrumentação
Orbital Shaker	Gyromax tm 737R	Amerex Instruments, Inc.
Thermomix R	-	Eppendorf
Sistema de transferência turbo	-	System Bio-Rad
Trans-blot		

3.1.4 Materiais utilizados para realização da técnica de Western blotting

3.1.4.1 Reagentes

Tabela 4- Lista de reagentes necessários para realização dos experimentos.

Reagentes	Fabricante	Nº de catálogo	Fórmula química
^{2x} Laemmli Sample Buffer	Bio-Rad	161-0737	-
β-Mercapto-etanol	Millipore	-	HSCH ₂ CH ₂ OH
Ácido acético	LabSynth	-	
Álcool etílico absoluto (100%)	LabSynth	-	CH ₃ CH ₂ OH
Azul brilhante de Coomassie	SIGMA	-	C ₄₇ H ₄₈ N ₃ NaO ₇ S ₂
Bisacrilamida 30%	SIGMA	SLCB1321	-
Bradford	Bio-Rad	SLCK1933	-
Hipoclorito de sódio (HCL)	LabSynth	-	NaClO
Inibidor de protease e fosfatase	ThermoFisher scientific	PPC1010	-
Marcador de peso molecular	CellStar®	26634	-
Reagente de extração de proteína de mamíferos (MPER®)	ThermoFisher scientific	78501	-
Tween 20	LabSynth	-	C ₅₈ H ₁₁₄ O ₂₆
Tetrametiletenodiamina (TEMED)	ThermoFisher Scientif	15524010	(CH ₃) ₂ NCH ₂ CH ₂ N(CH ₃)

3.1.4.2 Substâncias

Tabela 5- Lista de substâncias necessárias para realização de Western blotting.

Substâncias	Fabricante	Nº de catálogo	Fórmula química
Albumina de soro bovino (BSA)	Sigma	9048-46-8	-
Cloreto de sódio	Sigma	31434	NaCl
Dodecilsulfato de sódio (SDS)	Sigma	151-21-3	C ₁₂ H ₂₅ O ₄ S
Glicina	Sigma	G8898	C ₂ HNO ₂
Leite em pó desnatado	La sereníssima	-	-
Peroxodissulfato de amônia (APS)	Merck	7727-54-0	(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈
Poenceua (s)	Sigma	P3504	C ₂₂ H ₁₂ N ₄ N ₂ O
Tris (hidroximetil) aminometano	Merck	77-86-1	H ₂ NC(CH ₂ OH) ₃

3.1.4.3 Materiais

Tabela 6- Lista de materiais utilizados para realização do Western Blotting.

Material	Fabricante
Cuba de eletroforese	Bio-Rad (Mini-PROTEAN Tetra System)
Cubas de vidro	-
Membrana de nitrocelulose (0,2um 30cmx 3.5m)	Bio-Rad
Papel de filtro	Bio-Rad mini trans-blot ®
Placas de vidro 1,5mm	Mini proteans ® System Bio-Rad
Pentes 1,5mm	Mini proteans ® System Bio-RAD
Suporte de placa	Bio-Rad

3.1.4.4 Tampões preparados

No decorrer dos experimentos foram preparados os seguintes tampões e soluções.

Tabela 7- Lista de tampões e soluções utilizados para realização de Western Blotting.

Solução	pH	Reagentes	Quantidade	Água destilada(ml)
Tampão de corrida (10x)		Tris-base	30g	1000
	-	Glicina	144g	
		SDS	4g	
Tampão de corrida (1x)	-	Tampão de corrida (10x)	-	900
		Tris-base	15g	1000
Tampão de transferência (5x)	-	Glicina	72g	
		SDS 10%	5g	
Tampão de transferência (1x)	-	Tampão de transferência 5x	40ml	120
		Álcool etílico	40ml	
		Tris-base	24g	1000
TBS (10x)	7,6	Cloreto de sódio	88g	
		TBS (10x)	100ml	900
TBS-t com Tween 20 (0,05%)	-	Tween 20	5ml	1000
		Ponceau(s) em pó	0,1g	1000
Ponceua (s)	-	Ácido acético	5ml	
		NaOH	500ul	50
Tampão para bloqueio	-	TBS-t	50ml	-
		Leite em pó desnatado	5%	
1,5 M Tris-Base	8,8	Tris-base	90,86g	50ml
0,5M Tris-Base	6,8	Tris-base	30,25	500ml

3.2 ANIMAIS:

Foram utilizados camundongos Suíços machos pesando 35-45g e com aproximadamente 6-7 semanas de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade de São Paulo do campus de Ribeirão Preto e mantidos no Biotério da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP). Os animais foram alojados em grupos de 6-7 camundongos/gaiola por caixa (41 x 33 x 17 cm), mantidos em salas apropriadas com ciclo claro e escuro (12/12h), com início do período claro às 07h00 e livre acesso a alimento, água e temperatura constante (24 + 1°C). Os animais foram manuseados considerando os princípios éticos e as diretrizes do Guia de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) para o cuidado e uso de animais de laboratório. Todos os procedimentos experimentais descritos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA; protocolo nº 2021.1.482.58.0; FORP-USP). A maior parte da metodologia adotada nesse estudo, está padronizada nos laboratórios.

3.3 DROGAS

Foram utilizados os seguintes reagentes/drogas:

Tabela 8- Protocolo padrão para administração de fármacos. Drogas administradas com as respectivas iniciais, o fabricante, a dose, via de administração e a forma como cada droga foi diluída.

Drogas	Fabricante	Dose (mg/kg)	Via de administração (ml/kg)	Solução para diluição da droga	Referências
Canabidiol (CBD)	BSPG Laboratories, Reino Unido	5; 10; 15; 30 e 60	Intraperitoneal (i.p) 10	Tween20 5% + Dimetilsulfóxido (DMSO) 5% + (salina; 0.9% de NaCl em 100ml)	(Gomes <i>et al</i> , 2013; Sonogo <i>et al</i> , 2016)
Canabigerol (CBG)	PurMed™	0,3; 1; 3 e 10	Intraperitoneal (i.p) 10	Tween20 2% + DMSO 1% + (salina; 0.9% de NaCl em 100ml)	(Navarro <i>et al</i> , 2018; Sepulveda <i>et al</i> , 2022)
Haloperidol (Hal)	Haldol Laboratório Teuto brasileiro s/a	0,3; 0,5; 1; 2 e 3	Subcutânea (s.c) 1	Soro fisiológico ml/kg (veículo; 0.9% de NaCl em 100ml)	(Del Bel <i>et al</i> , 2000;2002; Gomes <i>et al</i> , 2013; Sonogo <i>et al</i> , 2016; 2018)
WAY100635	ABCam	0,1	Intraperitoneal (i.p) 10	Soro fisiológico (salina; 0.9% de NaCl em 100ml)	(Gomes <i>et al</i> , 2013; Sonogo <i>et al</i> , 2016)

3.4 TESTES DE CATALEPSIA NA BARRA: A catalepsia foi avaliada posicionando o animal com as duas patas dianteiras sobre uma barra de vidro horizontal (diâmetro= 0,5 cm), elevada a 4,5 cm do chão (SANBERG *et al*, 1988; Figura 9). O tempo durante o qual o animal mantém essa posição é registrada até 300 segundos (SANBERG *et al*, 1988; DEL BEL *et al*, 2000; 2002). O animal é considerado cataléptico quando cessa os movimentos da cauda, membros, tronco, focinho e vibrissas, sendo observado apenas movimentos respiratórios. O teste é considerado concluído quando pelo menos uma pata dianteira toca o chão ou quando o animal sobe na barra (SANBERG *et al*, 1988). O posicionamento dos animais é testado três vezes por medida após a administração com haloperidol.



Figura 9- Animal com catalepsia induzida por haloperidol submetido ao teste da barra. Imagem representativa ilustrando um animal com catalepsia posicionado na barra com as patas posteriores no chão. Fonte: Autoria própria.

3.5 ANÁLISE MOLECULAR

3.5.1 Coleta de tecidos e extração de proteínas para western blotting

Os animais foram decapitados após deslocamento cervical, e a estrutura de interesse, o estriado foi dissecado. As amostras foram homogeneizadas com tampão de lise que consiste em reagente de extração de proteínas de mamíferos (M-PER *Mammalian Protein Extraction Reagent*; Thermo Fisher Scientific) complementado com e inibidor de fosfatase e protease (1% Thermo Fisher Scientific). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4°C (10.000 rpm por 10min, para quantificação por western blotting) e imediatamente mantidas em gelo. O sobrenadante foi então recolhido e armazenado a -80°C até o momento da quantificação.

3.5.2 Western Blotting

O conteúdo proteico de cada amostra foi dosado pelo ensaio de Bradford (ensaio Bio-Rad Protein, Bio-Rad, Alemanha). As proteínas (15ug) foram corridas por eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE a 10%) por 01h40, com voltagem equivalente a 110V, 400mA e 100Watts. Em seguida, as proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose pelo sistema semi-seco da Bio-Rad por 10 min. A transferência é confirmada pela coloração da membrana com Ponceau e dos géis utilizando o corante Comassie Brilliant Blue. As membranas de nitrocelulose foram lavadas 4 vezes por 5 minutos com tampão TBS-t (Tris/Veículo/Tween), e submetidas ao bloqueio com leite em pó 5% e TBS-t por 1 hora. Em seguida foram incubadas com o anticorpo anti c-Fos (1:1000, Cell Signaling Technology, EUA) diluído em solução bloqueadora contendo 1% de leite em pó e TBS-t durante a noite (aproximadamente 10hs) a 4°C, sob agitação constante. Em seguida, as membranas foram novamente lavadas 4 vezes por 5 minutos com tampão TBS-t e incubadas por duas horas com o anticorpo secundário anti-HRP (Horseradish peroxidase, 1:5000; Cell Signaling Technology, EUA). A presença do antígeno é detectada por quimiluminescência (*Chemiluminescent HRP substrate*, Millipore). Após a revelação, as membranas foram incubadas com o anticorpo anti-alfa-tubulina (1:4000 controle interno), seguido do anticorpo secundário (duas horas de incubação). A expressão de bandas de proteínas foi analisada através do fotodocumentador (Amersham, ImageQuant 800 systems). As membranas de nitrocelulose foram lavadas 4 vezes por 5 minutos com tampão TBS-t a cada troca de incubação com anticorpo. A análise é realizada quanto à densidade das bandas marcadas, utilizando o *software* ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, EUA; DOS SANTOS-PEREIRA *et al*, 2016). As unidades arbitrárias (U.A.) representam a análise de unidade integrada extraídas das intensidades das bandas da proteína c-Fos normalizadas pela respectiva expressão da banda de alfa-tubulina. Os anticorpos primários e secundário utilizado estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9- Anticorpos utilizados no western blotting.

Anticorpo	Marca	Nº catálogo	Hospedeiro	Imunoglobulina	Antissoro	Diluição	Peso molecular
Alfa-tubulina	Santa Cruz	8035	Coelho	IgG	Policlonal	1:4000	55Kd
c-Fos	Biotechnology Cell Signalling Technology	(E19) 2250s	Coelho	IgG	Policlonal	1:1000	65 Kd
Horseradish peroxidase HRP	Cell Signalling Technology	7075P5	Anti-coelho	IgG	Policlonal	1:5000	-

3.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL:

3.6.1 Experimento 1- Curva temporal da catalepsia induzida por haloperidol.

Os animais (n=6-7 por tratamento) receberam a aplicação subcutânea de haloperidol (0,3, 0,5, 1, 2 ou 3mg/kg) ou veículo (veí). A catalepsia foi mensurada uma, duas e três horas após a administração de haloperidol. A sequência esta apresentada na Figura 10.

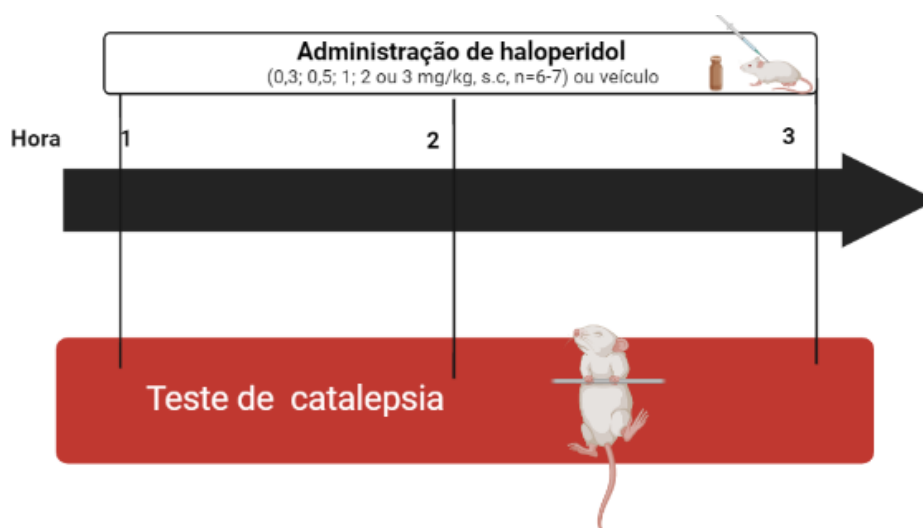


Figura 10-Linha temporal representativa do experimento 1: Curva temporal da catalepsia induzida por haloperidol. Animais tratados com haloperidol (0,3; 0,5; 1; 2 ou 3mg/kg; s.c; n =6-7 animais/grupo) ou veículo. A catalepsia foi mensurada uma, duas e três horas após a administração de haloperidol. Criado com *Bio-Render*

3.6.2 Experimento 2- Efeito do CBD na catalepsia induzida por haloperidol

Os animais (n=5-6 por tratamento) receberam sistemicamente (intraperitoneal) uma aplicação de CBD (5, 15, 30 ou 60mg/kg) ou veículo (10ml/kg). 30 minutos depois, foram tratados com haloperidol (0,3mg/kg, via subcutânea) ou veículo. A catalepsia foi mensurada uma e duas horas após a injeção de haloperidol. A sequência experimental está apresentada na Figura 11.

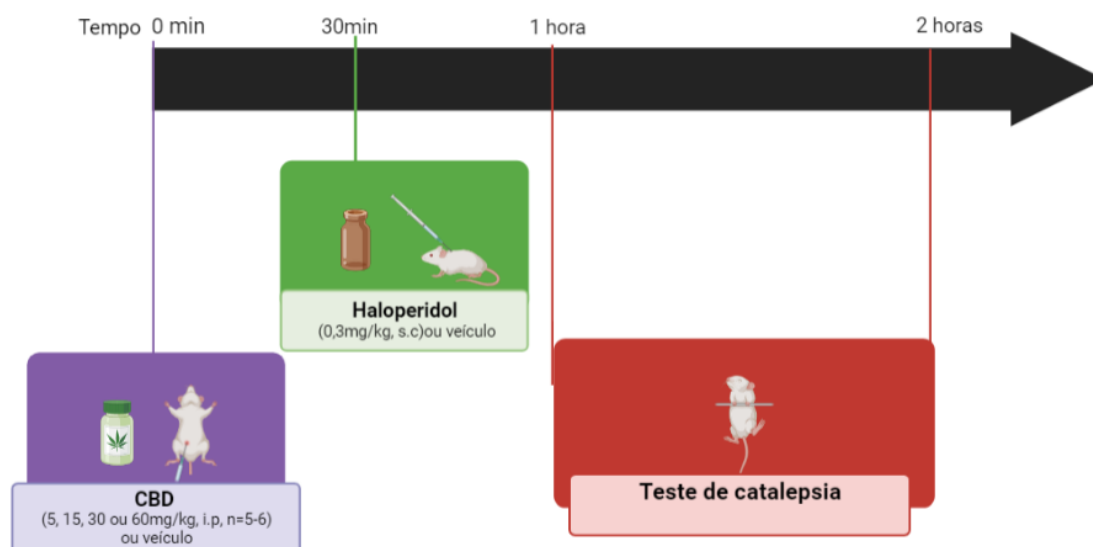


Figura 11-Linha temporal representativa do experimento 2: Efeito do CBD na catalepsia induzida por haloperidol. Os animais foram tratados com CBD (5; 15; 30 ou 60mg/kg; i.p; n=5-6/grupo) ou veí. 30 minutos depois de receberem aplicação com haloperidol (0,3mg/kg; s.c; n=6/grupo). A catalepsia foi mensurada uma e duas horas após o tratamento. Criado com *Bio-Render*

3.6.3 Experimento 3- Efeito do CBG na catalepsia induzida por haloperidol.

Os animais (n=6-7 por tratamento) receberam a aplicação intraperitoneal de CBG (0.3, 1, 3 ou 10mg/kg) ou veículo (10ml/kg). 15 minutos depois, foram tratados com haloperidol (0,3mg/kg, via subcutânea) ou veículo. A catalepsia foi mensurada uma e duas horas após a administração do haloperidol. O investigador que realizou os testes comportamentais e analisou os resultados estava completamente cego para a atribuição de grupos e administração de drogas. O experimentador que administrou as drogas desconhecia a atribuição de dose de cada grupo. A sequência experimental está apresentada na Figura 12. Os animais após serem submetidos ao teste da barra tiveram suas estruturas cerebrais retiradas para homogeneização, centrifugação e posteriormente, quantificação de *western blotting*.

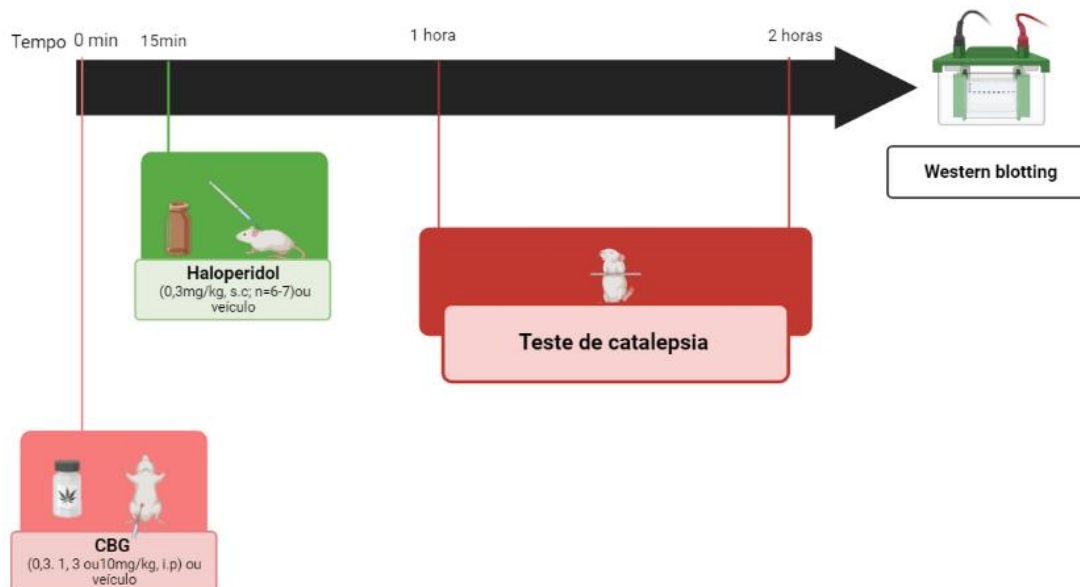


Figura 12-Linha temporal representativa do experimento 3: Efeito do CBG na catalepsia induzida por haloperidol. Os animais foram tratados com CBG (0,3;1;3 ou 10mg/kg; i.p) 15 minutos antes do tratamento com haloperidol (0,3mg/kg; s.c; n=6-7). A catalepsia foi mensurada uma e duas horas após a administração do haloperidol, e em seguida, os animais tiveram suas estruturas cerebrais retiradas para extração e quantificação de proteínas pela técnica de western blotting. Criado com *Bio-Render*.

3.6.4 Experimento 4- Efeito de doses combinadas de CBG e CBD na catalepsia induzida por haloperidol.

Os animais (n=5-8 por tratamento) receberam a aplicação intraperitoneal de CBG (3 ou 10mg/kg) ou veículo 10ml/kg. 15 minutos depois, foram tratados com CBD (15mg/kg, via intraperitoneal) ou veículo. 15 minutos depois, os animais receberam uma injeção de haloperidol (0,3mg/kg, via subcutânea) ou veículo. A catalepsia foi mensurada duas horas após administração do haloperidol. O investigador que realizou os testes comportamentais e analisou os resultados estava completamente cego para a atribuição de grupos e administração de drogas. O experimentador que administrou as drogas desconhecia a atribuição de dose de cada grupo. A sequência experimental está apresentada na Figura 13.

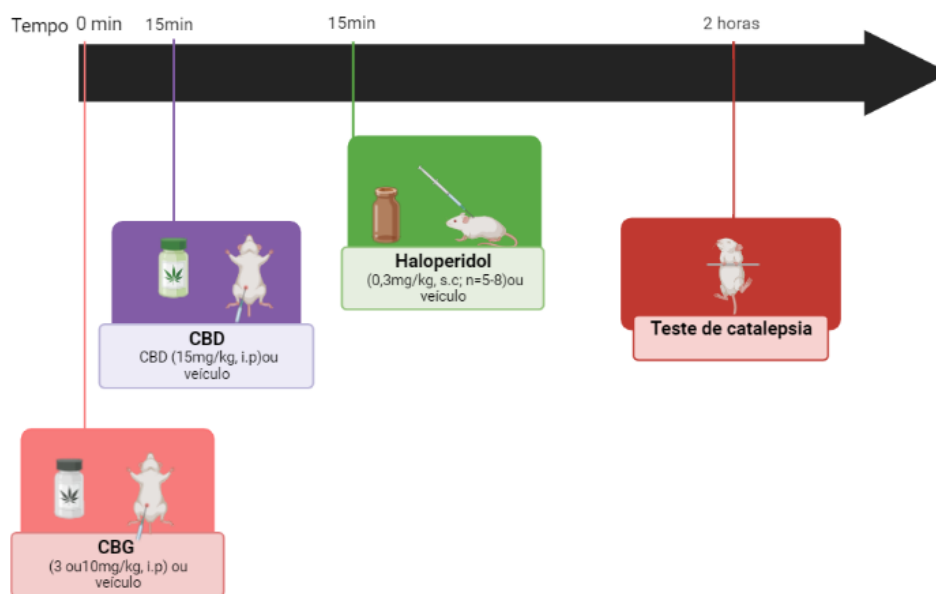


Figura 13-Linha temporal representativa do experimento 5: Efeito de doses sub efetivas combinadas de CBG e CBD na catalepsia induzida por haloperidol. Os animais foram tratados com CBG (3 ou 10mg/kg; i.p, n=5-8). 15 minutos depois receberam a aplicação de CBD (15mg/kg). 15 minutos depois, os animais foram tratados com haloperidol (0,3mg/kg; s.c). A catalepsia foi mensurada duas horas após a administração do haloperidol. Criado com *Bio-Render*.

3.6.5 Experimento 5- Efeito anticataléptico do CBD: influência da dose de CBG.

Os animais (n=5-7 por tratamento) receberam a aplicação do CBG (3 ou 10mg/kg, via intraperitoneal) ou veículo. 15 minutos depois, os animais receberam CBD (30mg/kg, intraperitoneal) ou veículo. 30 minutos depois, receberam uma injeção de haloperidol (0,3mg/kg, subcutânea) ou veículo. A catalepsia foi mensurada duas horas após a injeção de haloperidol. A sequência experimental está apresentada na Figura 14.

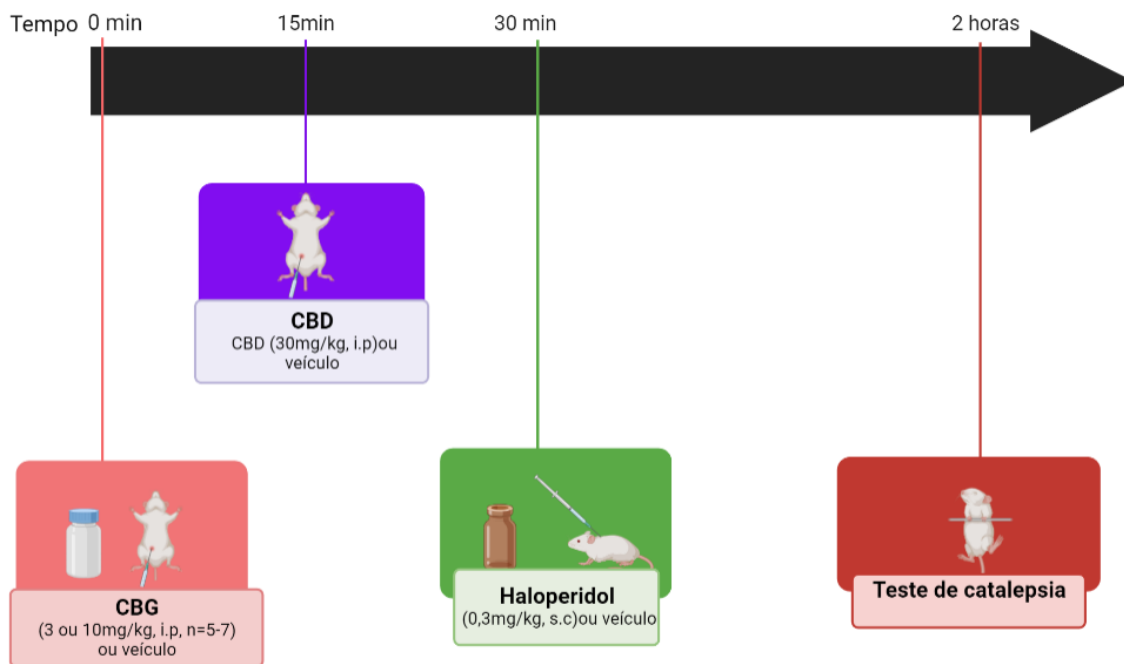


Figura 14- Linha temporal do experimento 6: efeito anticataléptico do CBD: influência da dose de CBG. Os animais receberam CBG (3 ou 10mg/kg). 15 minutos depois, foram tratados com CBD (30mg/kg). 30 minutos depois, os animais receberam uma aplicação de haloperidol (Hal, 0,3mg/kg; s.c; n=5-7/grupo). A catalepsia foi mensurada duas horas após administração de haloperidol. Criado com *Bio-Render*

3.6.6 Experimento 6- Efeito da combinação CBG-CBD sobre a catalepsia induzida por haloperidol: influência do bloqueador de receptor serotoninérgico 5HT_{1A}.

Os animais (n=8 por tratamento) receberam intraperitoneal a aplicação do antagonista do receptor 5HT_{1A}, WAY100635 (0,1mg/kg) ou veículo. 30 minutos depois, foram tratados com CBG (3mg/kg, via intraperitoneal) ou veículo. 15 minutos depois, os animais receberam CBD (15mg/kg, via intraperitoneal) ou veículo. 15 minutos depois, receberam uma injeção de haloperidol (0,3mg/kg, via subcutânea) ou veículo. A catalepsia foi mensurada duas horas após a injeção de haloperidol. A sequência experimental está apresentada na Figura 15.

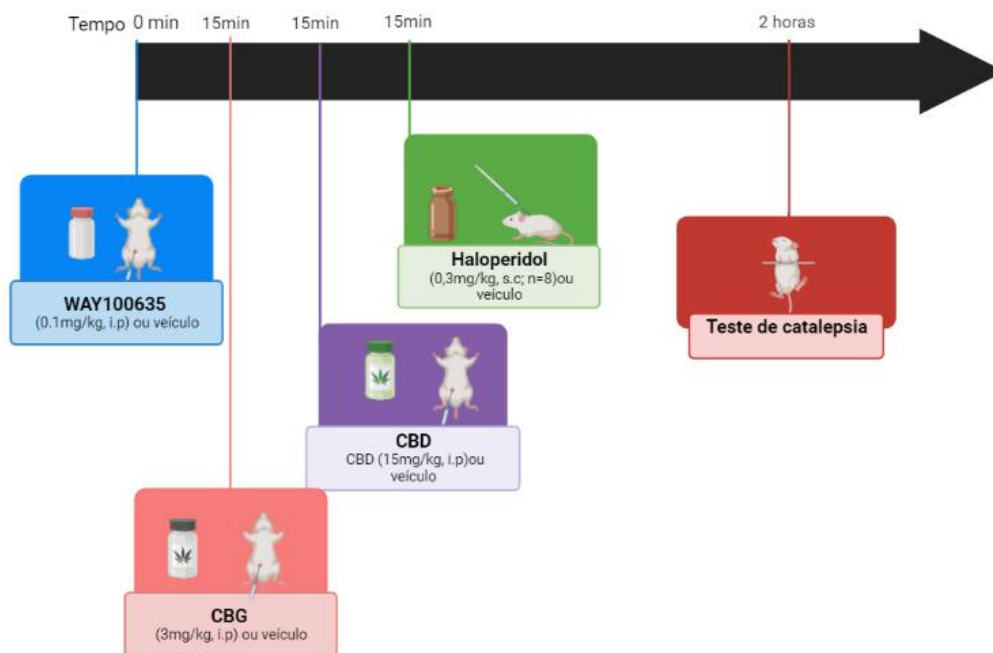


Figura 15. Linha temporal representativa do experimento 7: Efeito da combinação CBG e CBD sobre a catalepsia induzida por haloperidol: influência do bloqueador de receptor serotoninérgico 5HT_{1A}. Os animais receberam um pré-tratamento com WAY100635 (0,1mg/kg; i.p). 30 minutos depois, foram tratados com CBG (3mg/kg; i.p). 15 minutos depois, receberam uma aplicação de CBD (15mg/kg;i.p). 15 minutos depois, receberam haloperidol (0,3mg/kg; s.c; n=8/grupo). A catalepsia foi mensurada duas horas após a injeção de haloperidol. Criado com *Bio-Render*.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando o *software* Prism 8. Para análise da catalepsia mensurada em dois ou três tempos (uma, duas e três horas) foram utilizadas ANOVA de duas vias com análise do fator tempo e efeito. Para análise da catalepsia mensurada uma hora foram utilizadas ANOVA de uma via. Os testes de ANOVA foram seguidos por teste de comparações múltiplas de Tukey para três grupos ou mais.

Foi realizado o teste de normalidade para análise do efeito do CBG na catalepsia induzida por haloperidol. Os valores resultantes do tempo de catalepsia foram transformados em log e submetidos ao teste de homogeneidade de variâncias de Levene através do *software* SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) para Windows (versão 20).

Para análise da expressão da proteína c-Fos foi utilizada análise de Variância One-Way (ANOVA) seguidos por teste de comparações múltiplas de Tukey para três grupos ou mais. Para verificação do nível de significância foram aplicados testes de normalidade (*Shapiro-Wilk*), homogeneidade e testes não paramétricos; *Kruskal- Wallis* para

comparação de todos os grupos, e *Mann-Whitney* para comparação entre grupo veículo e haloperidol através do SPSS.

O valor de $p < 0.05$ foi utilizado para revelar diferenças específicas em todos os testes. A análise estatística feita para o experimento correspondente está descrita na legenda da figura. Os dados estão representados como média \pm e erro padrão da média (EPM) para dados paramétricos ou valores individuais e mediana para dados não-paramétricos.

4. RESULTADOS

4.1 Experimento 1- Curva temporal da catalepsia induzida por haloperidol.

Nosso primeiro objetivo foi determinar a menor dose efetiva do haloperidol, injetado via subcutânea, que induziria catalepsia. A catalepsia dos grupos experimentais foi mensurada uma, duas e três horas após a administração com haloperidol (0,3, 0,5, 1 e 2 ou 3mg/kg) ou veículo (Figura 16).

Ao analisarmos o tempo de duração da catalepsia uma hora após a administração com haloperidol, encontramos diferenças significativas para as doses de haloperidol 0,5 e 2mg/kg em comparação ao grupo que recebeu veículo. Os animais tratados com 2mg/kg obtiveram o tempo máximo de catalepsia, com tempo de corte equivalente a 5 minutos. Na catalepsia mensurada duas e três horas após o haloperidol, observamos que houve diferença estatística entre os animais veículo e os demais grupos experimentais tratados com haloperidol, com exceção do grupo tratado com haloperidol 3mg/kg. A dose de 0,3mg/kg foi escolhida como aquela a ser utilizada neste estudo.

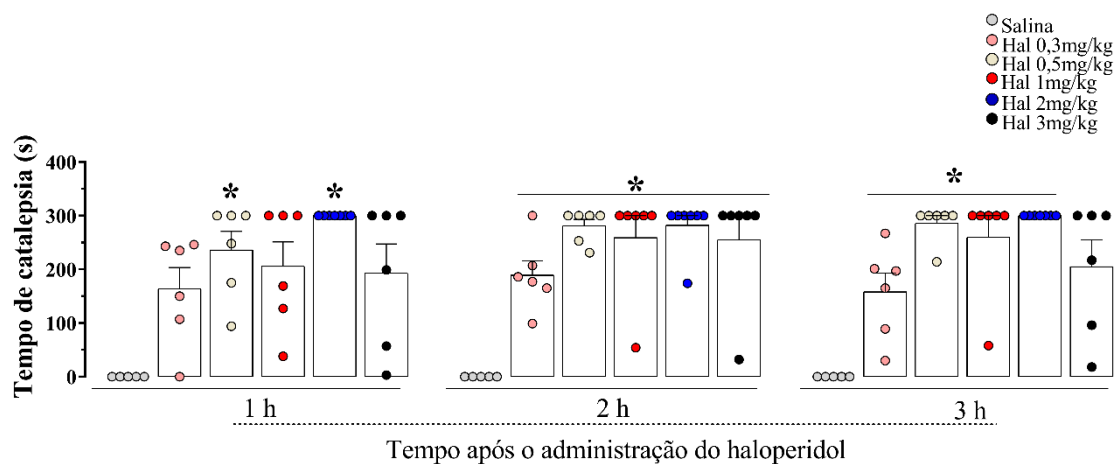


Figura 16. Curva temporal da catalepsia induzida por haloperidol. Os animais receberam tratamento com haloperidol (Hal, 0,3, 0,5, 1, 2 ou 3mg/kg; s.c; n=6-7/grupo) ou veículo (Veí, s.c). A catalepsia foi avaliada uma, duas e três horas após administração de haloperidol ou veículo. Dados expressos como média \pm EPM do tempo de catalepsia. *P< 0.05 indica diferença significativa em relação ao grupo veículo. Foram aplicados os testes de two-way ANOVA seguido do teste post-hoc, Tukey

4.2 Experimento 2- Efeito do CBD na catalepsia induzida por haloperidol.

Dados de Gomes *et al.*, (2013) mostraram que o pré-tratamento com CBD 30 e 60mg/kg, via intraperitoneal, atenua a catalepsia induzida por haloperidol (0.6mg/kg, via intraperitoneal) em camundongos Suíços quando avaliada duas horas após a administração da droga. Com o objetivo de reproduzir estes dados, analisamos o efeito do pré-tratamento com CBD (5, 15, 30 e 60mg/kg, via intraperitoneal) na catalepsia, uma (Figura 17A) e duas horas (Figura 17B) após a administração de haloperidol 0.3mg/kg por via subcutânea.

O grupo de animais que recebeu haloperidol apresentou catalepsia sendo diferente dos animais tratados com solução veículo ($p < 0.05$). Houve efeito do CBD 30mg/kg sobre a catalepsia induzida por haloperidol. O CBD em todas as doses utilizadas (5, 15, 30 e 60mg/kg) *per se* não induziu a catalepsia. Estes dados corroboram os dados de Gomes e cols (2013).

4.3 Experimento 3- Efeito do CBG na catalepsia induzida por haloperidol.

Verificamos se o CBG modifica a catalepsia induzida por haloperidol (Figura 18). Os animais tratados com haloperidol apresentaram catalepsia duas horas após a administração. Houve efeito do CBG (0,3mg/kg) sobre a catalepsia induzida por haloperidol. O CBG *per se* não induziu catalepsia ($p < 0.05$).

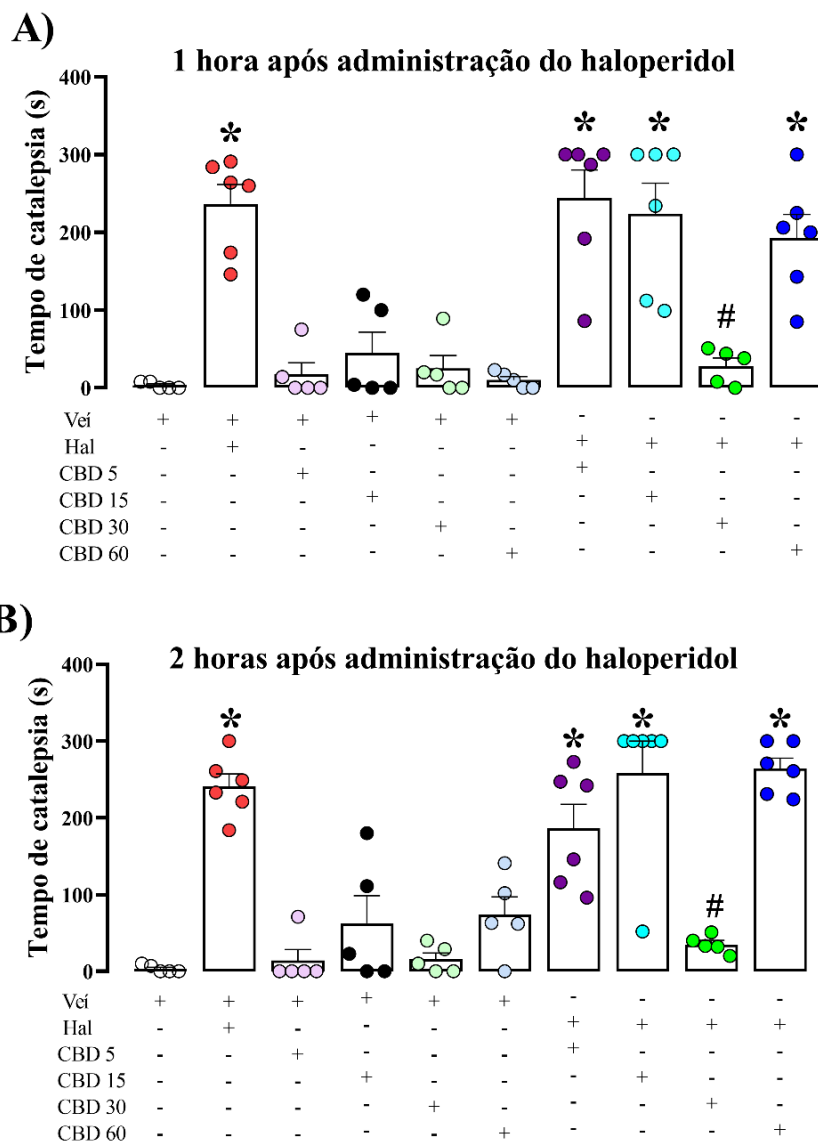


Figura 17. Efeito do CBD na catalepsia induzida por haloperidol. Os animais receberam CBD (5,15, 30 ou 60mg/kg; i.p) 30 minutos antes da aplicação com haloperidol (Hal, 0,3mg/kg; s.c; n=5-6/grupo). Dados expressos como média \pm EPM do tempo de catalepsia avaliada uma hora (A) e duas horas (B) após administração de haloperidol. * $P < 0.05$ indica diferença significativa em relação ao grupo veículo. # $P < 0.05$ indica diferença significativa em relação ao grupo haloperidol 0,3mg/kg. Foram aplicados os testes de Two-way ANOVA e post-hoc Tukey.

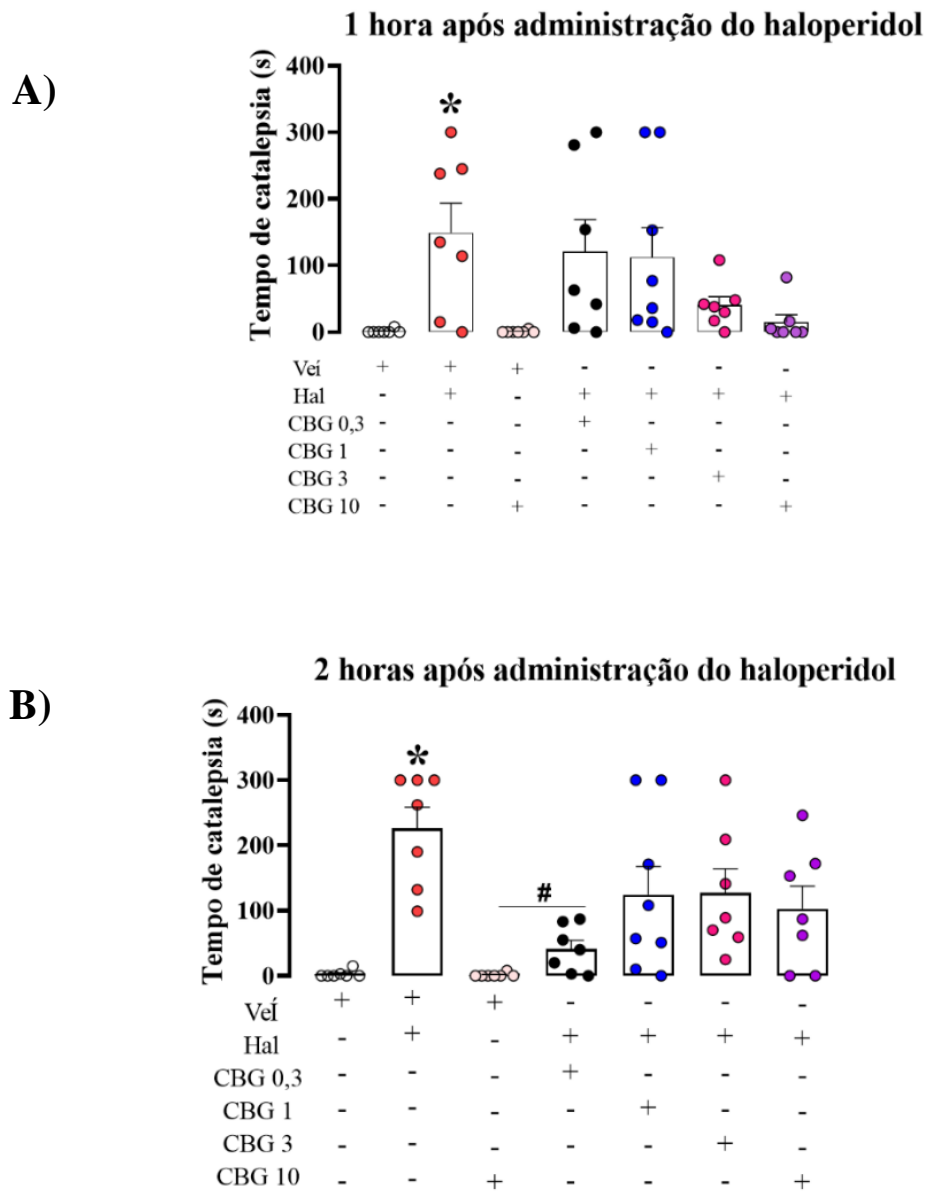


Figura 18- Efeito do CBG na catalepsia induzida por haloperidol. Os animais receberam CBG (0,3,1, 3 ou 10mg/kg; i.p) 15 minutos antes da aplicação com haloperidol (Hal, 0.3mg/kg; s.c; n=6-7/grupo). Dados expressos como média \pm EPM do tempo de catalepsia avaliada uma hora (**A**) e duas horas (**B**) após administração de haloperidol. *P<0.05 indica diferença significativa em relação ao grupo veículo. #P<0.05 indica diferença significativa em relação ao grupo haloperidol 0,3mg/kg. Foram aplicados os testes de Two-way ANOVA e post-hoc Tukey. Estudo cego.

Investigamos a expressão da proteína c-Fos no estriado de animais que receberam haloperidol (0.3mg/kg) e apresentaram catalepsia utilizando a técnica de *western blotting* (Figura 19). Os dados respondem aos critérios de análise não paramétrica (Figura 25 do material complementar), sendo homogêneos, mas apresentando distribuição anormal. Não houve diferença significativa entre os grupos pela análise de *Kruskal- Wallis*. Foi observado aumento da expressão da proteína no estriado somente quando comparado o grupo veículo e haloperidol através do teste não paramétrico de *Mann-Whitney* (Figura 19 A e B).

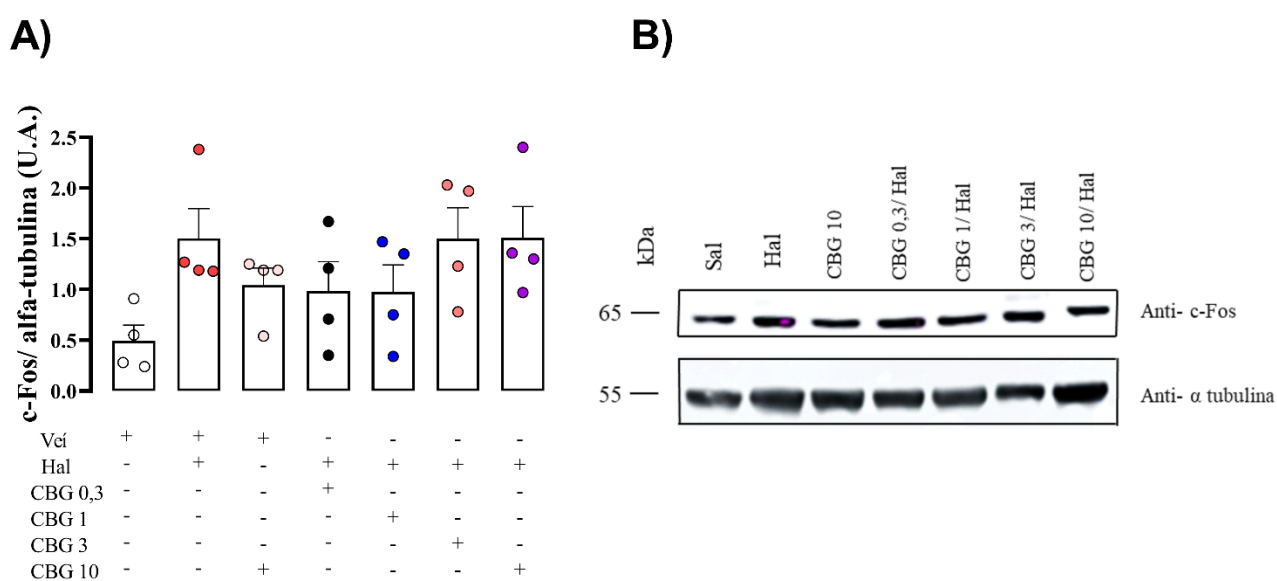


Figura 19- Efeito do CBG sobre a expressão da proteína c-Fos no estriado de animais que apresentaram catalepsia induzida por haloperidol. (A) Western blotting representativo para c-Fos (65kDa) e alfa-tubulina (55kDa, controle). (B) Quantificação de c-Fos em animais pré-tratados com CBG (0.3; 1; 3 e 10mg/kg, i.p). 15 minutos antes de receberem aplicação com haloperidol (Hal, 0,3mg/kg; s.c; n=4/grupo). Dados expressos como média \pm EPM. Foram aplicados os testes de One-way ANOVA seguido por post-hoc Tukey. Foram aplicados testes não paramétricos.

4.4 Experimento 4: Efeito de doses combinadas de CBG -CBD na catalepsia induzida por haloperidol.

Uma vez que a catalepsia induzida por haloperidol foi atenuada pelo CBD e pelo CBG, verificamos a interação entre doses não efetivas dos canabinoides na catalepsia induzida por haloperidol. Os dois canabinóides *per se* não induziram catalepsia nos

animais, atuam por mecanismos semelhantes e por mecanismos individuais (exclusivos) que poderiam se somar.

A catalepsia induzida pelo haloperidol foi atenuada pela aplicação intraperitoneal prévia da combinação CBG 3mg/kg e CBD 15mg/kg. Os animais tratados com a associação CBG 3 e/ou 10mg/kg e CBD 15mg/kg não apresentaram catalepsia *per se*

Em contraste, o pré-tratamento composto por uma dose maior de CBG (10mg/kg) e CBD 15mg/kg não apresentou efeito sobre a catalepsia induzida pelo haloperidol (Figura 20).

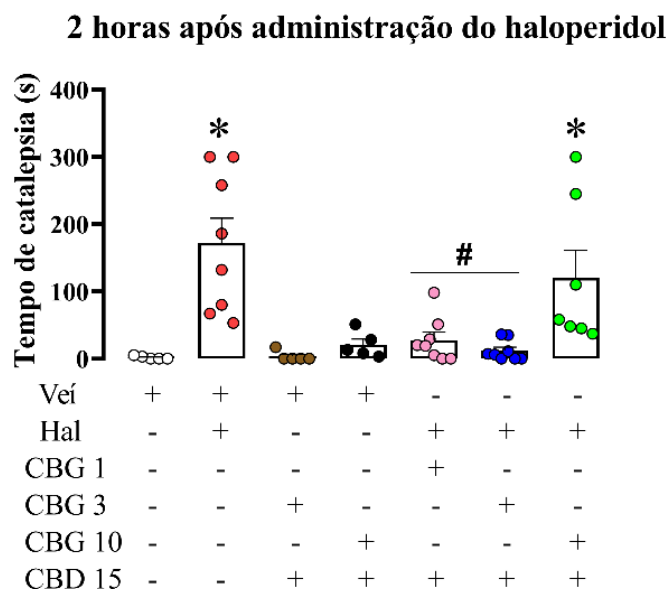


Figura 20- Efeito da combinação CBG e CBD na catalepsia induzida por haloperidol. Os animais receberam CBG (3 ou 10mg/kg; i.p, n=5-8/grupo). 15 minutos antes da aplicação com CBD (15mg/kg, i.p). O haloperidol (Hal; 0,3mg/kg; n=8/grupo; s.c) foi aplicado 15 minutos após aplicação com CBD ou veí. Dados expressos como média \pm EPM do tempo de catalepsia avaliada duas horas após administração do haloperidol (A). *P<0.05 indica diferença significativa em relação ao grupo veículo. #P<0.05 indica diferença significativa em relação ao grupo haloperidol 0,3mg/kg. Foram aplicados os testes de One-way ANOVA e post-hoc Tukey. Estudo cego.

4.5 Experimento 5- Efeito anticataléptico do CBD: influência da dose de CBG.

A catalepsia induzida pelo haloperidol foi atenuada pelo pré-tratamento com CBG/CBD nas doses de 3 e 15 mg/kg, respectivamente. Contudo não foi atenuada pela combinação CBG10 e CBD 15. Este resultado sugere a possibilidade de interação dose dependente dos canabinoides. Comparamos o efeito das duas concentrações de CBG 3 e

10mg/kg sobre a dose efetiva do CBD 30mg/kg na catalepsia induzida por haloperidol (Figura 21).

A aplicação de CBD 30mg/kg atenuou a catalepsia induzida por haloperidol ($p < 0.05$). O pré-tratamento *per se* com CBG 3mg/kg ou 10mg/kg não influenciou a catalepsia induzida pelo haloperidol ($p > 0.05$). Os animais que receberam pré-tratamento com CBG 3mg/kg e CBD 30mg/kg seguida da aplicação de haloperidol, apresentaram diminuição da catalepsia. Portanto o tratamento com CBG em baixa concentração (3mg/kg) não alterou o efeito anticataléptico do CBD 30mg/kg. Em contraste, a combinação de CBG 10mg/kg e CBD 30mg/kg bloqueou o efeito anticataléptico do CBD 30mg/kg.

Nossos resultados mostram (1) que o CBG na dose de 3mg/kg não alterou o efeito do CBD na catalepsia induzida pelo haloperidol; (2) que o CBG quando administrado na dose de 10mg/kg bloqueia os efeitos do CBD em sua dose efetiva sobre a catalepsia.

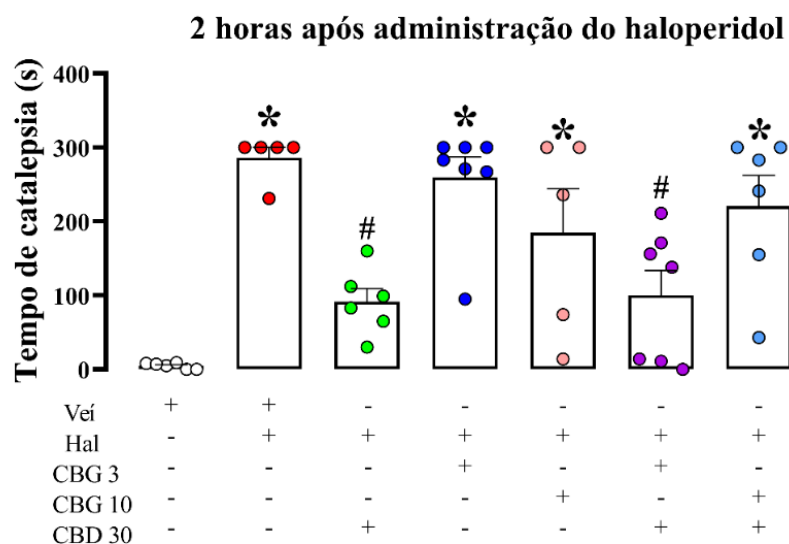


Figura 21- O efeito anticataléptico do CBD: influência da dose de CBG. Os animais receberam CBG (3 ou 10mg/kg). 15 minutos depois, foram tratados com CBD (30mg/kg). 30 minutos depois, os animais receberam uma aplicação de haloperidol (Hal, 0,3mg/kg; s.c; n=5-7/grupo). Dados expressos como média \pm EPM de tempo de catalepsia avaliada duas horas após administração de haloperidol. * $P < 0.05$ em relação ao grupo veículo. # $P < 0.05$ em relação ao grupo haloperidol 0,3mg/kg. Foram aplicados os testes de One-way ANOVA e post-hoc Tukey.

4.6 Experimento 6- Efeito da combinação CBG-CBD sobre a catalepsia induzida por haloperidol: influência do bloqueador de receptor serotoninérgico 5HT_{1A}.

Gomes *et al.*, (2013) e Sonogo *et al.*, (2016) observaram que o WAY100635, um antagonista do receptor 5HT_{1A}, reverte o efeito anticataléptico do CBD (30mg/kg, via intraperitoneal) na catalepsia induzida por haloperidol (0,6m/kg, via intraperitoneal). Além disso, Russo *et al.*, (2005) observaram que o CBD desloca o agonista [3H]8-OH-DPAT do receptor 5HT_{1A}. Testamos a hipótese de que o efeito da combinação CBG/CBD, dependente da dose de CBG utilizada seria influenciada pelo bloqueio do receptor 5HT_{1A}. Investigamos se o efeito anticataléptico da combinação dose de CBG 3mg/kg e CBD (15mg/kg), poderia ser mediada via receptor 5HT_{1A}, utilizando o antagonista WAY100635.

Os animais que receberam o pré-tratamento com a associação de CBG 3mg/kg e CBD 15mg/kg sucedido pela administração do haloperidol, apresentaram redução da catalepsia em 91%. O pré-tratamento com o composto WAY100635 bloqueou o efeito anticataléptico induzido pelas combinações CBG 3mg/kg e CBD 15mg/kg (Figura 22). O pré-tratamento com o composto WAY100635 *per se* não alterou a catalepsia induzida pelo haloperidol ($p>0.05$).

2 horas após administração do haloperidol

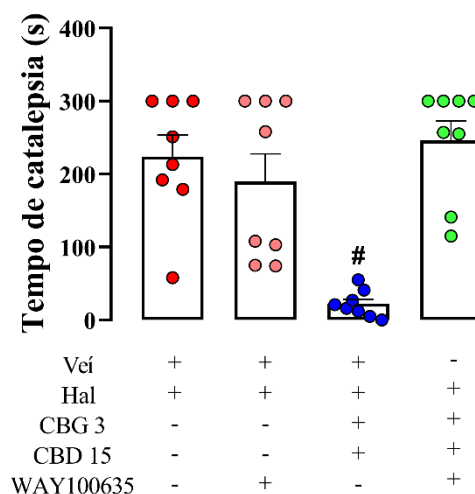


Figura 22- Efeito da combinação CBG-CBD sobre a catalepsia induzida por haloperidol: influência do bloqueador de receptor serotoninérgico 5HT_{1A}. Os animais receberam uma aplicação de WAY100635 (0,1mg/kg; i.p) ou veículo. 30 minutos depois, foram tratados com CBG (3mg/kg; i.p) ou veículo. Após 15 minutos, foram tratados com CBD (15mg/kg;i.p) ou veículo. 15 minutos depois, os animais receberam haloperidol (0,3mg/kg;s.c; n=8/grupo) ou veículo. Dados expressos como média \pm EPM de tempo de catalepsia avaliada duas horas após administração de haloperidol. * $P<0.05$ indica diferença significativa em relação ao grupo CBG 3mg/kg + CBD 15mg/kg e haloperidol 0,3mg/kg. Foram aplicados os testes de One-way ANOVA e Tukey.

5. DISCUSSÃO:

O presente estudo teve como objetivo avaliar a influência do CBG, isoladamente ou em combinação com o CBD na modulação da catalepsia induzida pelo haloperidol. Nossos resultados mostraram que o pré-tratamento com CBG 0.3mg/kg; i.p, atenuou a catalepsia induzida pelo haloperidol 0.3mg/kg, s.c. O tratamento com CBG não alterou a expressão da proteína c-Fos no estriado. O tratamento com haloperidol aumentou a expressão da proteína c-Fos no estriado não alcançando significância estatística. Doses não efetivas de CBG (3mg/kg) em combinação com CBD 15mg/kg atenuaram a catalepsia induzida pelo haloperidol. Em contraste, a associação de CBG 10mg/kg com CBD 15mg/kg, não apresentou efeito sobre a catalepsia induzida pelo haloperidol. O efeito anticataléptico da combinação CBG3-CBD15 foi mediado, ao menos parcialmente, via receptor 5HT_{1A}. A combinação da dose não efetiva de CBG 3mg/kg com a dose efetiva de CBD 30mg/kg não modificou o efeito do CBD 30 (bloqueio da catalepsia). Em contraste, a combinação CBG 10mg/kg com CBD 30mg/kg bloqueou o efeito anticataléptico correspondente a esta dose de CBD. Os resultados sugerem interação entre estes canabinóides, e que a interação depende da dose de CBG e de CBD utilizadas com participação do sistema serotoninérgico (Tabela 10).

Tabela 10- Resumo do efeito de canabinoides na catalepsia induzida por haloperidol

Tratamento (mg/kg)												
1°	Veí	Veí	CBD15	CBD30	CBG0,3	CBG3	CBG10	CBG3	CBG10	CBG3	CBG10	Way 0.1
2°	Veí	Veí	Veí	Veí	Veí	Veí	Veí	CBD15	CBD15	CBD30	CBD30	CBG3
3°	Veí	Veí	Hal 0.3	Hal 0.3	Hal 0.3	Hal 0.3	Hal 0.3	Hal 0.3	Hal 0.3	Hal 0.3	Hal 0.3	CBD15
4°	Veí	Hal 0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Hal 0.3
Catalepsia	ausente	presente	presente	atenuada	atenuada	presente	presente	atenuada	presente	atenuada	presente	presente

5.1 CURVA TEMPORAL DA CATALEPSIA INDUZIDA POR HALOPERIDOL: SELEÇÃO DE DOSE.

Após administração subcutânea de haloperidol em diferentes concentrações em camundongos, observamos que a dose de 0.3mg/kg é a menor dose testada que induziu catalepsia, mantida ao longo de 3 horas. Selecionamos essa dose para a condução dos ensaios deste estudo.

Dados da literatura mostram que o efeito do haloperidol é devido principalmente à ocupação de DR2. Para desencadear a catalepsia é necessária ocupação de >80% de DR2 pelo haloperidol (SHIREEN *et al*, 2016; MCCUTCHEON *et al*, 2019a; D'SOUZA e HOOTEN, 2020; LEE, 2020). Kapur e colaboradores (2000) avaliaram a relação entre níveis plasmáticos de haloperidol e ocupação de DR2. Os dados do grupo mostraram que doses de haloperidol entre 0,0125 e 1mg/kg, administrado por via subcutânea, ocuparam >80% de DR2, induzindo a catalepsia duas horas após sua administração. A dose de 0.3 mg/kg induziu catalepsia nos animais, sugerindo ocupação necessária de DR2.

5.2 EFEITO DO CBD NA CATALEPSIA INDUZIDA POR HALOPERIDOL

O CBD *per se* não induziu a catalepsia, o que é consistente com estudo realizado por Zuardi e colaboradores (1991), Gomes e colaboradores (2013), Sonogo e colaboradores (2016). Segundo esse grupo, o CBD mesmo em doses altas como 480mg/kg não induziu catalepsia em roedores. O CBD 30mg/kg atenuou a catalepsia induzida pelo haloperidol, corroborando dados obtidos por Gomes e colaboradores (2013), Sonogo e colaboradores (2016). Um estudo utilizando diferentes concentrações de CBD em *zebra-fish* mostrou reversão na disfunção motora induzida pelo haloperidol, medida pela distância percorrida (HASUMI e MAEDA, 2023). Nossos resultados, portanto, estão de acordo com estudos já descritos sobre o efeito do CBD sobre a catalepsia em outros modelos animais.

Estudos mostraram que o efeito do CBD na catalepsia induzida por drogas com diferentes mecanismos de ação (haloperidol, L-NOARG e WIN55,212-2 este último antagonista de receptor CB₁, é bloqueado pelo antagonista do receptor 5HT_{1A}, o composto

WAY100635 sugerindo participação/envolvimento desse subtipo de receptor serotoninérgico (GOMES *et al*, 2013; SONEGO *et al*, 2016). Ainda, outro estudo mostrou que tanto o CBD como (+/-)-8-hidroxi-2-(di-n-2-propilamino)tetralin (8-OH-DPAT), agonista do receptor 5HT_{1A}, reverteu a catalepsia induzida pelo haloperidol (LUCAS *et al*, 1997). A microinjeção de 8-OH-DPAT no estriado dorsolateral também atenuou a catalepsia, e esse efeito foi revertido com administração de WAY100635 (OHNO *et al*, 2008; SHIMIZU *et al*, 2010). O mesmo efeito foi encontrado com a administração crônica de buspirona, um agonista parcial do receptor 5HT_{1A}, que perdeu seu efeito após administração de WAY100635 (SHARIFI *et al*, 2012).

O envolvimento do receptor 5HT_{1A} pós-sináptico no efeito do CBD foi demonstrado em outros modelos animais. Por exemplo, o antagonista 5HT_{1A} preveniu o efeito ansiolítico, panicolítico, tipo antidepressivo e no transtorno de estresse pós-traumático do CBD em ratos (CAMPOS *et al*, 2012; CAMPOS e GUIMARÃES, 2008; 2013; SALES *et al*, 2018).

A literatura mostrou que o CBD desloca a ligação de 8-OH-DPAT em receptores pós-sinápticos 5HT_{1A} marcados radioativamente (RUSSO *et al*, 2005). Rock e colaboradores 2011, sugeriram que o CBD poderia facilitar a neurotransmissão mediada por 5HT_{1A} ao se ligar em seu sítio alostérico. Contudo, o mecanismo pelo qual o CBD interage com o sistema serotoninérgico ainda é pouco compreendido.

5.3 EFEITO DO CBG NA CATALEPSIA INDUZIDA POR HALOPERIDOL

Nossos resultados mostram que a administração do CBG (0,3mg/kg) atenuou a catalepsia induzida pelo haloperidol. Dados da literatura apontam que o haloperidol aumenta através de mecanismos diretos ou indiretos, a produção de radicais livres aumentando o estresse oxidativo em tecidos cerebrais (SONEGO *et al*, 2016). Ainda, o haloperidol aumenta a atividade da microglia, a peroxidação lipídica, reduz a atividade da enzima catalase no estriado e aumenta a expressão de RNAm da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS; GAWLIK-KOTELNICKA *et al*, 2016; JUNG *et al*, 2016; SONEGO *et al*, 2016; OBUCHOWICZ *et al*, 2017).

Efeito anti-inflamatório e antioxidante: Dados da literatura descrevem o CBG como agonista de receptores alfa adrenérgico, CB1, CB2, TRPV₁₋₄, TRMV₈ e PPAR γ (SILVESTRO *et al*, 2020; NACHNANI *et al*, 2021). O CBG é descrito na literatura como

um antagonista de receptores 5HT_{1A} (CASCIO *et al*, 2010; SILVESTRO *et al*, 2020; NACHNANI *et al*, 2021).

Especificamente com relação aos receptores PPAR γ , estes desempenham um papel crucial na regulação da proliferação, metabolismo e diferenciação celular, assim como na resposta inflamatória no sistema nervoso central (PUIGSERVER *et al*, 1998). O CBG, assim como o CBD, possui propriedades anti-inflamatória e antioxidante, (ALMEIDA *et al*, 2020; SILVESTRO *et al*, 2020; NACHNANI *et al*, 2021). Dados da literatura mostram que a rosiglitazona, agonista de receptores PPAR γ , atenuou a catalepsia induzida pelo haloperidol (LEE *et al*, 2012; GRUPTA *et al*, 2013). Nesse estudo, o haloperidol aumentou a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), que desempenha importante papel na defesa antioxidante. A rosiglitazona atenuou a atividade da SOD, indicando que mecanismos antioxidantes são relevantes para catalepsia (LEE *et al*, 2012; GRUPTA *et al*, 2013), sugerindo que esse efeito envolveria a participação de receptores PPAR γ . Em estudo *in vitro* o CBG protegeu neurônios motores NSC-34 da toxicidade presente em meio de cultura de macrófagos RAW2647 estimulados por lipopolissacarídeos (LPS; MAMMANA *et al*, 2019). O CBG reduziu a perda de viabilidade celular, diminuindo o estresse oxidativo em neurônios motores. GUGLIANDOLO e colaboradores (2018) mostraram que o pré-tratamento com CBG atenua os níveis de citocinas pró-inflamatórias, interleucina-1 β (IL-1 β), fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interferon- γ (IFN- γ) avaliados por imuno-histoquímica. Esse mesmo efeito é encontrado quando administrado pioglitazona, agonistas de receptores PPAR γ (GUGLIANDOLO *et al*, 2018). Dados da literatura mostraram que o CBG reduziu marcadores oxidativos como iNOS e a poli (ADP-ribose) polimerase 1 (PARP-1). A PARP-1 é necessária para transcrição do fator nuclear kappa-B (NF-kB) e mediadores pró-inflamatórios (GIACOPPO *et al*, 2017). Em seu estado inativo, o NF-kB localiza-se no citoplasma sobre inibição da proteína inibidora de kappa B alfa (I κ B α). Estímulos como estresse oxidativo e/ou citocinas pró-inflamatórias ativam o NF-kB (SUN *et al*, 2012). Dessa forma, o CBG impede a fosforilação e translocação de NF-kB para o núcleo, atenuando conseqüentemente, a expressão de genes envolvidos nos receptores inflamatórios (MAMMANA *et al*, 2019). O fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf-2) participa no sistema de defesa antioxidante celular. É um fator de transcrição que regula a expressão de genes envolvidos na proteção contra o estresse oxidativo (HAYES *et al*, 2014; DINKOVA-KOSTOVA *et al*, 2018). O pré-tratamento com CBG

aumentou a atividade do Nrf-2 e consequentemente, a diminuição do estresse oxidativo. O CBG também aumentou a defesa antioxidante através da modulação de SOD (GIACOPPO *et al*, 2017). O CBG apresenta efeito antiapoptótico, diminuindo a expressão de genes associados a apoptose como Bax e BCL-2 (MAMMANA *et al*, 2019).

Ainda, um derivado do CBG quinona, o VCE-003, foi relatado para diminuir a expressão de iNOS em modelo de doença de *Huntington* (VALDEOLIVAS *et al*, 2015). O VCE-003 também preveniu a neurodegeneração em modelo experimental da doença de Parkinson através da sua ação anti-inflamatória (BURGAZ *et al*, 2018).

Assim, nossa hipótese é a de que o CBG atenua a catalepsia induzida pelo haloperidol por meio de mecanismos anti-inflamatórios e antioxidante, este último ao menos em parte, mediado pelo receptor PPAR γ .

A combinação CBG-CBD: Nossos resultados mostram que o CBG dependendo da concentração, bloqueia receptores 5HT_{1A}, o que é demonstrado por efeitos distintos na modulação da catalepsia induzida pelo haloperidol. A combinação CBG na dose de 3mg/kg concomitante com a dose não efetiva de CBD (15mg/kg), bloqueou a catalepsia induzida pelo haloperidol, efeito não observado com a aplicação isolada dos mesmos compostos. Este efeito foi bloqueado pela aplicação de antagonista de receptor 5HT_{1A}. Em contraste, o CBG na dose de 3mg/kg não interferiu com o efeito anticataléptico da dose de CBD 30mg/kg. Curiosamente, o CBG na dose de 10mg/kg bloqueou o efeito anticataléptico do CBD 30mg/kg, semelhante ao efeito do antagonista WAY100635 (GOMES *et al*, 2013; SONEGO *et al*, 2016).

Esses resultados estão de acordo com outros estudos realizados pelo nosso grupo, ainda não publicado. Animais lesados com 6-hidroxidopamina (6-OHDA) e tratados com L-DOPA apresentando discinesia, tratados com a combinação CBG-CBD apresentaram atenuação da discinesia. Esse efeito foi bloqueado pela administração de WAY100635, sugerindo que o efeito antidiscinético do CBG-CBD envolve receptores 5HT_{1A} (Mattos *et al*, dados não publicados).

Outros possíveis mecanismos complementares, podem estar envolvidos nos distintos efeitos da combinação CBD (15mg/kg) e CBG (1 ou 3mg/kg). Nossa hipótese é de que além de mecanismos serotoninérgicos, os efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios compartilhados pelo CBG e CBD podem ser amplificados quando combinados.

A combinação CBG-CBD foi estudada em modelo de inflamação pulmonar por LPS (CABRERA *et al*, 2021). O estudo mostrou que esses canabinoides não psicoativos podem ter efeitos benéficos no tratamento de doenças caracterizadas por inflamação das vias aéreas.

Corroborando essa hipótese, o CBD não reduz a peroxidação lipídica, mas atenua o aumento da expressão de RNAm da iNOS, e a redução da atividade da catalase causada pelo haloperidol (SONEGO *et al*, 2018). Ainda, o CBD quando administrado com haloperidol, aumenta a expressão do co-ativador gama 1-alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PGC-1 α), uma proteína nuclear que se liga a receptores PPAR γ e favorece atividade transcricional desse receptor (PUIGSERVER *et al*, 2003). Outros agonistas de PPAR γ possuem um efeito semelhante ao CBD. Por exemplo, a rosiglitazona também aumenta a expressão de PGC-1 α (JIN *et al*, 2013). A pioglitazona também atenua a neuroinflamação e o estresse oxidativo induzido pelo haloperidol (GROVER *et al*, 2013). Sonego e colaboradores (2018) mostraram que o CBD atenuou a discinesia tardia induzida pelo haloperidol, e que esse efeito depende de mecanismos anti-inflamatórios mediados pela ativação de receptores PPAR γ . Nesse estudo, o efeito do CBD diminuiu após a administração de GW9662, antagonista de receptor PPAR γ . Ainda, a literatura mostra que o GW9662 bloqueou o efeito do CBD na redução da atividade microglial em cultura primária estimulada por LPS.

Estudo realizado por Mammana e colaboradores (2019), mostraram que o CBG administrado isoladamente e/ou em combinação com o CBD atenuou a neuro-inflamação em cultura de macrófagos estimulados por LPS. O CBG associado ao CBD aumentou os níveis de expressão da citocina anti-inflamatória IL-37, diminuiu a expressão de IKB α e a translocação nuclear de NF-kB. Com relação aos mecanismos antioxidante, a combinação CBG-CBD diminuiu a expressão de iNOS.

Em suma, parte do efeito anticataléptico da associação CBG (3mg/kg) e CBD (15mg/kg) observado em nosso estudo, pode ocorrer dependendo de mecanismos anti-inflamatórios, mediados pela ativação de receptores PPAR γ , podendo reduzir o estresse oxidativo induzido pelo haloperidol.

5.4 EFEITO DO CBG NA EXPRESSÃO DA PROTEÍNA c-FOS:

O proto-oncogene c-fos pode ser induzido rápida e transitoriamente no sistema nervoso central após efeitos fisiológicos e farmacológicos, e sua expressão está correlacionada com a intensidade do aumento da atividade neuronal (MORGAN *et al*, 1989). A expressão da proteína c-Fos no estriado dorsal pelo haloperidol está relacionada à capacidade desta droga de bloquear DR2 e, conseqüentemente, induzirem sintomas motores (ROBERSON *et al*, 1992). O haloperidol induziu aumento da expressão de c-Fos no estriado, porém, quando comparado ao grupo veículo não alcançou significância estatística. Foi observado aumento da expressão da proteína c-fos pelo haloperidol em estudos utilizando imuno-histoquímica no estriado dorsal (SONEGO *et al*, 2016). O número de amostras pode ter sido insuficiente para atender aos critérios dos testes paramétricos, como homogeneidade e distribuição normal da população. Ainda é desconhecido o mecanismo pelo qual se estabelece esta relação entre a proteína c-Fos e a catalepsia.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De forma geral, apesar da disponibilidade de drogas antipsicóticas disponíveis no mercado para o tratamento da esquizofrenia, existem pacientes não responsivos ao tratamento farmacológico. Antipsicóticos convencionais como haloperidol apesar dos seus benefícios, desencadeiam efeitos motores agravando o quadro clínico. Dessa forma, torna-se de fundamental importância à procura de novos fármacos que possam ser utilizados pela ação como antipsicótico. O CBG e CBD são fitocanabinóides não psicotomiméticos caracterizados por suas propriedades antipsicóticas semelhantes ao antipsicóticos atípicos.

O CBG isolado (0,3mg/kg) e a associação CBG-CBD em doses não efetivas (3 e 15mg/kg), mostrou prevenção da catalepsia induzida pelo haloperidol. Os benefícios compartilhados pelo CBD e CBG foram potencializados quando combinados, produzindo uma amplificação do efeito anticataléptico. O efeito conjunto CBD/CBG é dependente da dose de CBG, que pode atuar bloqueando seu efeito em doses altas, ou/e potencializando através de doses baixas. Nossos resultados não excluem a participação de outros mecanismos na potencialização do CBD (15mg/kg) pelas doses baixas de CBG (3mg/kg). Essa interação ocorre ao menos em parte por meio de receptor serotoninérgico. Esses resultados mostram a possibilidade do desenvolvimento de combinações de doses de fitocanabinóides o que pode diminuir os efeitos colaterais de doses maiores, individuais. Mais estudos farmacológicos são necessários para melhor compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos no efeito anticataléptico da combinação CBG-CBD.

MATERIAL COMPLEMENTAR

Análise estatística do experimento 1- Curva temporal da catalepsia induzida por haloperidol.

Tabela 11 – Análise estatística do experimento 1: Curva temporal da catalepsia induzida por haloperidol. Análise estatística da catalepsia a partir dos dados observados na curva temporal do haloperidol (0,3; 0,5; 1; 2 e 3mg/kg). A catalepsia foi avaliada uma, duas e três horas após administração de haloperidol ou salina (Figura 16). Dados expressos como média \pm EPM do tempo de catalepsia. Para análise foram aplicados os testes de two-way ANOVA e Tukey seguido do teste post-hoc.

TWO-WAY ANOVA			
Parâmetro	Tratamento	Tempo	Interação
Figura 16 (Avaliação da catalepsia uma, duas e três horas após administração de haloperidol).	F (5,28) = 43.89; p<0.0001	F (1,588. 44.447) = 3.377; p=0,0534	F (10,56) = 1.615; p<0,1262

Análise estatística do experimento 2- Efeito do CBD na catalepsia induzida por haloperidol

Tabela 12– Análise estatística do experimento 2: O CBD na catalepsia induzida por haloperidol. Análise estatística do efeito do CBD (5, 15, 30 e 60mg/kg) na catalepsia induzida por haloperidol (0,3mg/kg) a partir dos dados observados anteriormente. Dados expressos como média \pm EPM de tempo de catalepsia avaliada uma (Figura 17A) e duas horas (Figura 17B) após administração de haloperidol. Foram aplicados os testes de Two-way ANOVA e Tukey.

ONE WAY- ANOVA			
Parâmetro	Tratamento	Tempo	Interação
Figura 17 (Avaliação da catalepsia uma e duas hora após a aplicação de haloperidol).	F (6,33) = 17.25; p<0.0001	F (1,33) = 1.236 p<0.2744	F (6,33) = 3.150; p<0.0149

Análise estatística do experimento 3- Efeito do CBG na catalepsia induzida pelo haloperidol.

Tabela 13 – Análise estatística do experimento 3: Efeito do CBG na catalepsia induzida por haloperidol. Análise estatística do efeito do CBG (0,3; 1; 3 e 10mg/kg) na catalepsia induzida por haloperidol (0,3mg/kg) a partir dos dados observados anteriormente. Dados expressos como média \pm EPM do tempo de catalepsia avaliada uma hora (Figura 18A) e duas horas (Figura 18B) após administração com haloperidol. Foram aplicados os testes de One-way ANOVA e Tukey.

ONE WAY- ANOVA			
Parâmetro	Tratamento	Tempo	Interação
Figura 18 (Avaliação da catalepsia uma e duas hora após a aplicação de haloperidol).	F (6, 49) = 4.812; p=0.0006	F (1,46) = 3.861; p=0.0555	F (6, 46) = 2.968; p=0.0156

A) Catalepsia			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7,567	6	47	,000

B) Catalepsia			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,826	6	47	,001

Figura 23- Teste de homogeneidade dos dados observados no experimento 3: Efeito do CBG na catalepsia induzida por haloperidol. Teste de Levene para avaliar homogeneidade dos dados obtidos uma (A) e duas horas (B) após administração com haloperidol. df1= graus de liberdade em relação ao número de tratamento. df2= graus de liberdade em relação ao número de animais.

A)		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Catalepsia	Tratamento			
	1	,560	7	,000
	2	,453	7	,000
	3	,871	8	,154
	4	,871	8	,153
	5	,861	8	,122
	6	,906	8	,328
7	,939	8	,602	

B)		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Catalepsia	Tratamento			
	1	,453	7	,000
	2	,453	7	,000
	3	,898	8	,276
	4	,811	8	,038
	5	,804	8	,032
	6	,775	8	,015
7	,590	8	,000	

Figura 24- Teste de normalidade dos dados observados no experimento 3: Efeito do CBG na catalepsia induzida por haloperidol. Teste Shapiro-Wilk para avaliar os dados obtidos uma (A) e duas horas (B) após administração com haloperidol. Tratamentos: 1- Veículo; 2- CBG 10+ Veículo; 3- Haloperidol; 4- CBG 0,3 + Haloperidol; 5- CBG 1+ Haloperidol; 6- CBG 3+ Haloperidol; 7- CBG 10+ Haloperidol.

Efeito do CBG sobre a expressão da proteína c-Fos no estriado de animais que apresentaram catalepsia induzida por haloperidol.

Tabela 14 – Análise estatística do experimento 3: Efeito do CBG sobre a expressão da proteína c-Fos induzida por haloperidol. Análise estatística da quantificação da proteína c-Fos em animais pré-tratados

com CBG (0.3; 1; 3 e 10mg/kg) 15 minutos antes de receberem aplicação com haloperidol (0,3mg/kg; s.c; n=4/grupo) (Figura 19A). Dados expressos como média \pm EPM. Foram aplicados os testes de One-way ANOVA e Tukey.

ONE WAY- ANOVA	
Parâmetro	Tratamento
Figura 19A (Avaliação da expressão da proteína c-Fos no estriado de animais tratados com CBG seguido pela aplicação de haloperidol).	F (6,21) = 2.138; p=0.0915

fos

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,819	6	21	,567

Figura 25- Teste de homogeneidade da expressão de c-Fos. Teste de Levene para avaliar homogeneidade dos dados obtidos. df1= graus de liberdade em relação ao número de tratamento. df2= graus de liberdade em relação ao número de animais.

Tratamento	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
fos 1	,891	4	,390
2	,702	4	,012
3	,685	4	,008
4	,982	4	,914
5	,915	4	,509
6	,883	4	,349
7	,857	4	,249

Figura 26- Teste de normalidade da expressão de c-Fos. Teste Shapiro-Wilk para avaliar normalidade da expressão de c-Fos entre os grupos amostrais. Tratamentos: 1- Veículo; 2- CBG 10+ Veículo; 3- Haloperidol; 4- CBG 0,3 + Haloperidol; 5- CBG 1+ Haloperidol; 6- CBG 3+ Haloperidol; 7- CBG 10+ Haloperidol.

Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of fos is the same across categories of Nome.	Independent-Samples Kruskal-Wallis Test	,123	Retain the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is ,05.

Figura 27- Teste não paramétrico Kruskal-Wallis para avaliação da expressão de c-Fos. Tratamentos: Veículo; CBG 10+ Veículo; Haloperidol; CBG 0,3 + Haloperidol; CBG 1+ Haloperidol; CBG 3+ Haloperidol; CBG 10+ Haloperidol.

Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of fos is the same across categories of Nome.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,029 ¹	Reject the null hypothesis.
2	The distribution of Tratamento is the same across categories of Nome.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,029 ¹	Reject the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is ,05.

¹ Exact significance is displayed for this test.

Figura 28: Teste não paramétrico Manny-Whitney para avaliação da expressão de c-Fos. Comparação entre os tratamentos veículo + veículo e veículo + haloperidol.

Análise estatística do experimento 4: Efeito da combinação CBG e CBD na catalepsia induzida por haloperidol

Tabela 15 – Análise estatística do experimento 4: Efeito da combinação CBG e CBD na catalepsia induzida por haloperidol. Análise estatística do efeito da combinação de CBG (3 ou 10mg/kg) e CBD (15mg/kg) na catalepsia induzida por haloperidol (0,3mg/kg; n=5-8/grupo) a partir dos dados apresentados anteriormente (Figura 20). Dados expressos como média ± EPM do tempo de catalepsia avaliada duas horas após administração do haloperidol. Foram aplicados os testes de One-way ANOVA e Tukey

Parâmetro	ONE WAY- ANOVA	Tratamento
Figura 20 (Avaliação da catalepsia duas horas após a aplicação de haloperidol).		F (5, 32) = 7.948; p<0.0001

Análise estatística do experimento 5- O efeito anticataléptico do CBD: influência da dose de CBG

Tabela 16 – Análise estatística do experimento 6: O efeito anticataléptico do CBD: influência da dose de CBG. Análise estatística do efeito do tratamento com CBG (3 ou 10mg/kg) sobre a aplicação com CBD (30mg/kg) na catalepsia induzida pelo haloperidol (0,3mg/kg; s.c) a partir dos dados apresentados anteriormente (Figura 21). Dados expressos como média ± EPM de tempo de catalepsia avaliada duas horas após administração de haloperidol. Foram aplicados os testes de One-way ANOVA e Tukey.

Parâmetro	ONE WAY- ANOVA	Tratamento
Figura 21 (Avaliação da catalepsia duas horas após a aplicação de haloperidol).		F (6, 35) = 9.985; p<0.0001

Análise estatística do experimento 6- Efeito da combinação CBG-CBD sobre a catalepsia induzida por haloperidol: influência do bloqueador de receptor serotoninérgico 5HT_{1A}

Tabela 17 – Análise estatística do experimento 6: Análise estatística do experimento 6- Efeito da combinação CBG-CBD sobre a catalepsia induzida por haloperidol: influência do bloqueador de receptor

serotonérgico 5HT_{1A}. Análise estatística do efeito do WAY100635 (0,1mg/kg) sobre a combinação CBG (3mg/kg) e CBD (15mg/kg) na catalepsia induzida pelo haloperidol (0,3mg/kg;s.c), a partir dos dados apresentados anteriormente (Figura 22). Dados expressos como média ± EPM de tempo de catalepsia avaliada duas horas após administração de haloperidol. Foram aplicados os testes de One-way ANOVA e Tukey.

ONE WAY- ANOVA	
Parâmetro	Tratamento
Figura 22 (Avaliação da catalepsia duas horas após a aplicação de haloperidol).	F (3,28) = 13.35; p<0.0001

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, D.L ; DEVI, L. A. Diversity of molecular targets and signaling pathways for CBD. **Pharmacol** 2020
- AMATO, D.; KRUYER, A.; SAMAHA, A. N.; HEINZ, A. Hypofunctional Dopamine Uptake and Antipsychotic Treatment-Resistant Schizophrenia. **Front Psychiatry**, 10, p. 314, 2019.
- BERKE, J. D. What does dopamine mean? **Nat Neurosci**, 21, n. 6, p. 787-793, Jun 2018.
- BOSTAN, A. C.; DUM, R. P.; STRICK, P. L. Functional Anatomy of Basal Ganglia Circuits with the Cerebral Cortex and the Cerebellum. **Prog Neurol Surg**, 33, p. 50-61, 2018.
- BURGAZ, S.; GARCÍA, C.; GÓMEZ-CAÑAS, M.; NAVARRETE, C. *et al.* Neuroprotection with the cannabigerol quinone derivative VCE-003.2 and its analogs CBGA-Q and CBGA-Q-Salt in Parkinson's disease using 6-hydroxydopamine-lesioned mice. **Mol Cell Neurosci**, 110, p. 103583, Jan 2021.
- BONITO-OLIVA, A; FEYDER, M; FISONE G. Deciphering the Actions of Antiparkinsonian and Antipsychotic Drugs on cAMP/DARPP-32 Signaling. **Front Neuroanat**. v.12, n.5, p.38,2011.
- CALABRESI, P.; PICCONI, B.; TOZZI, A.; GHIGLIERI, V. *et al.* Direct and indirect pathways of basal ganglia: a critical reappraisal. **Nat Neurosci**, 17, n. 8, p. 1022-1030, Aug 2014.
- CALAPAI, F; CARDIA, L.; ESPOSITO, E.; AMMENDOLIA, I. *et al.* Pharmacological Aspects and Biological Effects of Cannabigerol and Its Synthetic Derivatives. **Evid Based Complement Alternat Med**, 2022, p. 3336516, 2022.
- CAMPOS, A.C; GUIMARÃES F.S. Involvement of 5HT1A receptors in the anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the dorsolateral periaqueductal gray of rats. **Psychopharmacology (Berl)**. v.199,n.2, p.223-30, 2008.
- CAMPOS, A.C, VICENTE, M.A, BRANDÃO M.L, ZUARDI, A.W, ZANGROSSI, H. Jr, GUIMARÃES, F.S. Involvement of serotonin-mediated neurotransmission in the dorsal periaqueductal gray matter on cannabidiol chronic effects in panic-like responses in rats. **Psychopharmacology (Berl)**. 2013
- CARLSSON, A; LINDQVIST, M. Effect of Chlorpromazine and Haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. **Acta Pharmacol Toxicol** 20: 140-4, 1963.
- CASCIO, M. G.; GAUSON, L. A.; STEVENSON, L. A.; ROSS, R. A. *et al.* Evidence that the plant cannabinoid cannabigerol is a highly potent alpha2-adrenoceptor agonist and moderately potent 5HT1A receptor antagonist. **Br J Pharmacol**, 159, n. 1, p. 129-141, Jan 2010.
- CHONG, H. Y.; TEOH, S. L.; WU, D. B.; KOTIRUM, S. *et al.* Global economic burden of schizophrenia: a systematic review. **Neuropsychiatr Dis Treat**, 12, p. 357-373, 2016.
- CHU, H. Y.; MCIVER, E. L.; KOVALESKI, R. F.; ATHERTON, J. F. *et al.* Loss of Hyperdirect Pathway Cortico-Subthalamic Inputs Following Degeneration of Midbrain Dopamine Neurons. **Neuron**, 95, n. 6, p. 1306-1318.e1305, Sep 13 2017.
- CONSROE, P.; SANDYK, R.; SNIDER, S. R. Open label evaluation of cannabidiol in dystonic movement disorders. **Int J Neurosci**, 30, n. 4, p. 277-282, Nov 1986.
- CORRELL, C. U.; DAVIS, R. E.; WEINGART, M.; SAILLARD, J. *et al.* Efficacy and Safety of Lumateperone for Treatment of Schizophrenia: A Randomized Clinical Trial. **JAMA Psychiatry**, 77, n. 4, p. 349-358, Apr 01 2020.

- COTE, S. R.; CHITRAVANSI, V. C.; BLEICKARDT, C.; SAPRU, H. N. *et al.* Overexpression of the dopamine D3 receptor in the rat dorsal striatum induces dyskinetic behaviors. **Behav Brain Res**, 263, p. 46-50, Apr 15 2014.
- CRANS, A.J; WOUTERS, E; VALLE-LÉON, M; TAURA, J *et al.* Corrigendum: Striatal dopamine D2-muscarinic acetylcholine M1 receptor-receptor interaction in a model of movement disorders. **Pharmacol.** 18;13, 2022.
- CRIPPA, J. A.; ZUARDI, A. W.; GARRIDO, G. E.; WICHERT-ANA, L. *et al.* Effects of cannabidiol (CBD) on regional cerebral blood flow. **Neuropsychopharmacology**, 29, n. 2, p. 417-426, Feb 2004.
- CUNHA, J.M; CARLINE, E.A; PEREIRA, E.A; RAMOS, O.L *et al.* Chronic administration of CBD to healthy volunteers and epileptic patients. **Pharmacol.** 21:175-185, 1980.
- DE HAAN, L.; BOOIJ, J.; LAVALAYE, J.; VAN AMELSVOORT, T. *et al.* Occupancy of dopamine D2 receptors by antipsychotic drugs is related to nicotine addiction in young patients with schizophrenia. **Psychopharmacology (Berl)**, 183, n. 4, p. 500-505, Jan 2006.
- DE MELLO SCHIER, A. R.; DE OLIVEIRA RIBEIRO, N. P.; COUTINHO, D. S.; MACHADO, S. *et al.* Antidepressant-like and anxiolytic-like effects of cannabidiol: a chemical compound of Cannabis sativa. **CNS Neurol Disord Drug Targets**, 13, n. 6, p. 953-960, 2014.
- DEIANA, S. Potential Medical Uses of Cannabigerol: A Brief Overview. **Handbook of Cannabis and Related Pathologies**. Cap 9, 2017
- DEIANA, S; WATANABE, A; YAMASAKI, Y; AMADA, N *et al.* 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. 2011
- DEL BEL, E. A.; DA SILVA, C. A.; GUIMARÃES, F. S. Catalepsy induced by nitric oxide synthase inhibitors. **Gen Pharmacol**, 30, n. 2, p. 245-248, Feb 1998.
- DEL BEL, E. A.; DA SILVA, C. A.; GUIMARÃES, F. S.; BERMÚDEZ-ECHEVERRY, M. Catalepsy induced by intra-striatal administration of nitric oxide synthase inhibitors in rats. **Eur J Pharmacol**, 485, n. 1-3, p. 175-181, Feb 06 2004.
- DEL BEL, E. A.; GUIMARÃES, F. S. Sub-chronic inhibition of nitric-oxide synthesis modifies haloperidol-induced catalepsy and the number of NADPH-diaphorase neurons in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, 147, n. 4, p. 356-361, Jan 2000.
- DEL BEL, E. A.; SOUZA, A. S.; GUIMARÃES, F. S.; DA-SILVA, C. A. *et al.* Motor effects of acute and chronic inhibition of nitric oxide synthesis in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, 161, n. 1, p. 32-37, 2002
- DINKOVA-KOSTOVA, A. T.; KOSTOV, R. V.; KAZANTSEV, A. G. The role of Nrf2 signaling in counteracting neurodegenerative diseases. **FEBS J**, 285, n. 19, p. 3576-3590, Oct 2018.
- DOS-SANTOS-PEREIRA M, DA-SILVA C.A, GUIMARÃES F.S, Del-Bel E. Co-administration of cannabidiol and capsazepine reduces L-DOPA-induced dyskinesia in mice: Possible mechanism of action. **Neurobiol.** 94:179-95, 2016.
- ECHEVERRY, C; PRUNELL, G; NARBONDO, C. A Comparative In Vitro Study of the Neuroprotective Effect Induced by Cannabidiol, Cannabigerol, and Their Respective Acid Forms: Relevance of the 5-HT_{1A} Receptors. **Neurotox Res.** v.39, n.2, p.335-348, 2021.

- ELSAID, S.; KLOIBER, S.; LE FOLL, B. Effects of cannabidiol (CBD) in neuropsychiatric disorders: A review of pre-clinical and clinical findings. **Prog Mol Biol Transl Sci**, 167, p. 25-75, 2019.
- ELSOHLY, M. A.; RADWAN, M. M.; GUL, W.; CHANDRA, S. *et al.* Phytochemistry of Cannabis sativa L. **Prog Chem Org Nat Prod**, 103, p. 1-36, 2017.
- ESPEJO-PORRAS, F.; FERNÁNDEZ-RUIZ, J.; PERTWEE, R. G.; MECHOULAM, R. *et al.* Motor effects of the non-psychotropic phytocannabinoid cannabidiol that are mediated by 5-HT_{1A} receptors. **Neuropharmacology**, 75, p. 155-163, Dec 2013.
- FEYDER, M.; BONITO-OLIVA, A.; FISONE, G. L-DOPA-Induced Dyskinesia and Abnormal Signaling in Striatal Medium Spiny Neurons: Focus on Dopamine D₁ Receptor-Mediated Transmission. **Front Behav Neurosci**, 5, p. 71, 2011.
- FINK-JENSEN, A.; SCHMIDT, L. S.; DENCKER, D.; SCHÜLEIN, C. *et al.* Antipsychotic-induced catalepsy is attenuated in mice lacking the M₄ muscarinic acetylcholine receptor. **Eur J Pharmacol**, 656, n. 1-3, p. 39-44, Apr 10 2011.
- FISCHER-BARNICOL, D.; LANQUILLON, S.; HAEN, E.; ZOFEL, P. *et al.* Typical and atypical antipsychotics--the misleading dichotomy. Results from the Working Group 'Drugs in Psychiatry' (AGATE). **Neuropsychobiology**, 57, n. 1-2, p. 80-87, 2008.
- FOURNIER, G.; RICHEZ-DUMANOIS, C.; DUVEZIN, J.; MATHIEU, J. P. *et al.* Identification of a new chemotype in Cannabis sativa: cannabigerol-dominant plants, biogenetic and agronomic prospects. **Planta Med**, 53, n. 3, p. 277-280, Jun 1987.
- GALDERISI, S.; MUCCI, A.; BUCHANAN, R. W.; ARANGO, C. Negative symptoms of schizophrenia: new developments and unanswered research questions. **Lancet Psychiatry**, 5, n. 8, p. 664-677, Aug 2018.
- GARCÍA-GUTIÉRREZ, M. S.; NAVARRETE, F.; GASPARYAN, A.; AUSTRICH-OLIVARES, A. *et al.* Cannabidiol: A Potential New Alternative for the Treatment of Anxiety, Depression, and Psychotic Disorders. **Biomolecules**, 10, n. 11, Nov 19 2020.
- GAWLIK-KOTELNICKA, O.; MIELICKI, W.; RABE-JABŁOŃSKA, J. Impact of lithium alone or in combination with haloperidol on oxidative stress parameters and cell viability in SH-SY5Y cell culture. **Acta Neuropsychiatr**. 2016
- GIACOPPO, S.; GUGLIANDOLO, A.; TRUBIANI, O.; POLLASTRO, F. *et al.* Cannabinoid CB₂ receptors are involved in the protection of RAW264.7 macrophages against the oxidative stress: an in vitro study. **Eur J Histochem**, 61, n. 1, p. 2749, Jan 23 2017.
- GOMES, F. V.; DEL BEL, E. A.; GUIMARÃES, F. S. Cannabidiol attenuates catalepsy induced by distinct pharmacological mechanisms via 5-HT_{1A} receptor activation in mice. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 46, p. 43-47, Oct 01 2013.
- GOMES, F. V.; GRACE, A. A. Beyond Dopamine Receptor Antagonism: New Targets for Schizophrenia Treatment and Prevention. **Int J Mol Sci**, 22, n. 9, Apr 25 2021.
- GRINCHII, D.; DREMENCOV, E. Mechanism of Action of Atypical Antipsychotic Drugs in Mood Disorders. **Int J Mol Sci**, 21, n. 24, Dec 15 2020.
- GUGLIANDOLO, A.; POLLASTRO, F.; GRASSI, G.; BRAMANTI, P. *et al.* In Vitro Model of Neuroinflammation: Efficacy of Cannabigerol, a Non-Psychoactive Cannabinoid. **Int J Mol Sci**, 19, n. 7, Jul 08 2018.
- GUPTA, G.; SINGH, R.; DAVID, S. R.; VERMA, R. K. Effect of rosiglitazone, a PPAR- γ ligand on haloperidol-induced catalepsy. **CNS Neurosci Ther**, 19, n. 9, p. 724-725, Sep 2013.
- HAMPSON, A. J.; GRIMALDI, M.; AXELROD, J.; WINK, D. Cannabidiol and (-)-Delta⁹-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 95, n. 14, p. 8268-8273, Jul 07 1998.
- HASUMI, A.; MAEDA, H. Cannabidiol improves haloperidol-induced motor

- dysfunction in zebrafish: a comparative study with a dopamine activating drug. **J Cannabis Res**, 5, n. 1, p. 6, Mar 04 2023.
- HAYES, J. D.; DINKOVA-KOSTOVA, A. T. The Nrf2 regulatory network provides an interface between redox and intermediary metabolism. **Trends Biochem Sci**, 39, n. 4, p. 199-218, Apr 2014.
- HAZEKAMP, A.; BASTOLA, K.; RASHIDI, H.; BENDER, J. *et al.* Cannabis tea revisited: a systematic evaluation of the cannabinoid composition of cannabis tea. **J Ethnopharmacol**, 113, n. 1, p. 85-90, Aug 15 2007.
- HAZEKAMP, A.; WARE, M. A.; MULLER-VAHL, K. R.; ABRAMS, D. *et al.* The medicinal use of cannabis and cannabinoids--an international cross-sectional survey on administration forms. **J Psychoactive Drugs**, 45, n. 3, p. 199-210, 2013.
- HIGASHI, K. *et al.* Medication adherence in schizophrenia: factors influencing adherence and consequences of nonadherence, a systematic literature review. **Therapeutic Advances in Psychopharmacology**, v. 3, n. 4, p. 200–218, ago. 2013
- HIPPIUS, H. A historical perspective of clozapine. **J Clin Psychiatry**, 60 Suppl 12, p. 22-23, 1999.
- HUNT, C. A.; JONES, R. T.; HERNING, R. I.; BACHMAN, J. Evidence that cannabidiol does not significantly alter the pharmacokinetics of tetrahydrocannabinol in man. **J Pharmacokinetic Biopharm**, 9, n. 3, p. 245-260, Jun 1981.
- IACOPUCCI, A. P.; MELLO, R. O.; BARBOSA-SILVA, R.; MELO-THOMAS, L. L-NOARG-induced catalepsy can be influenced by glutamatergic neurotransmission mediated by NMDA receptors in the inferior colliculus. **Behav Brain Res**, 234, n. 2, p. 149-154, Oct 01 2012.
- ISOM, A. M.; GUDELSKY, G. A.; BENOIT, S. C.; RICHTAND, N. M. Antipsychotic medications, glutamate, and cell death: a hidden, but common medication side effect? **Med Hypotheses**, 80, n. 3, p. 252-258, Mar 2013.
- JUNG I. E; MACHADO, A.K; DA CRUZ, I. B; BARBISAN, F. Haloperidol and Risperidone at high concentrations activate an in vitro inflammatory response of RAW 264.7 macrophage cells by induction of apoptosis and modification of cytokine levels. **Psychopharmacology (Berl)**. (9):1715-23,2016.
- JUNIOR, N. C. F.; DOS-SANTOS-PEREIRA, M.; GUIMARÃES, F. S.; DEL BEL, E. Cannabidiol and Cannabinoid Compounds as Potential Strategies for Treating Parkinson's Disease and L-DOPA-Induced Dyskinesia. **Neurotox Res**, 37, n. 1, p. 12-29, Jan 2019.
- KAAR, S. J.; NATESAN, S.; MCCUTCHEON, R.; HOWES, O. D. Antipsychotics: Mechanisms underlying clinical response and side-effects and novel treatment approaches based on pathophysiology. **Neuropharmacology**, 172, p. 107704, Aug 01 2020.
- KANE, J.; HONIGFELD, G.; SINGER, J.; MELTZER, H. Clozapine for the treatment-resistant schizophrenic. A double-blind comparison with chlorpromazine. **Arch Gen Psychiatry**, 45, n. 9, p. 789-796, Sep 1988.
- KAPUR, S.; REMINGTON, G. Dopamine D(2) receptors and their role in atypical antipsychotic action: still necessary and may even be sufficient. **Biol Psychiatry**, 50, n. 11, p. 873-883, Dec 01 2001.
- KAPUR, S.; SEEMAN, P. Antipsychotic agents differ in how fast they come off the dopamine D2 receptors. Implications for atypical antipsychotic action. **J Psychiatry Neurosci**, 25, n. 2, p. 161-166, Mar 2000.
- KAPUR, S; SEEMAN P. Does fast dissociation from the dopamine D2R receptor explain the action of atypical antipsychotics? A new hypothesis. **Am J Psychiatry** .158: 360-9, 2001.

- KAUR, S.; OZER, H.; STARR, M. MK 801 reverses haloperidol-induced catalepsy from both striatal and extrastriatal sites in the rat brain. **Eur J Pharmacol**, 332, n. 2, p. 153-160, Aug 06 1997.
- KILARU, A.; CHAPMAN, K. D. The endocannabinoid system. **Essays Biochem**, 64, n. 3, p. 485-499, Sep 23 2020.
- KLEIN, M. O.; BATTAGELLO, D. S.; CARDOSO, A. R.; HAUSER, D. N. *et al.* Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases. **Cell Mol Neurobiol**, 39, n. 1, p. 31-59, Jan 2019.
- KLEIN, M. O.; BATTAGELLO, D. S.; CARDOSO, A. R.; HAUSER, D. N.; BITTENCOURT, J. C.; CORREA, R. G. Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases. v. 39, p. 31-59, 2019.
- KRAEMER, S.; MINARZYK, A.; FORST, T.; KOPF, D. *et al.* Prevalence of metabolic syndrome in patients with schizophrenia, and metabolic changes after 3 months of treatment with antipsychotics--results from a German observational study. **BMC Psychiatry**, 11, p. 173, Nov 01 2011.
- KUSCHINSKY, K.; HORNYKIEWICZ, O. Morphine catalepsy in the rat: relation to striatal dopamine metabolism. **Eur J Pharmacol**, 19, n. 1, p. 119-122, Jul 1972.
- LANZA, K.; MEADOWS, S. M.; CHAMBERS, N. E.; NUSS, E. *et al.* Behavioral and cellular dopamine D. **Neuropharmacology**, 138, p. 304-314, Aug 2018.
- LEE, E. Y.; LEE, J. E.; PARK, J. H.; SHIN, I. C. *et al.* Rosiglitazone, a PPAR- γ agonist, protects against striatal dopaminergic neurodegeneration induced by 6-OHDA lesions in the substantia nigra of rats. **Toxicol Lett**, 213, n. 3, p. 332-344, Sep 18 2012.
- LEUCHT, S.; PITSCHER-WALZ, G.; ENGEL, R. R.; KISSLING, W. Amisulpride, an unusual "atypical" antipsychotic: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Am J Psychiatry**, 159, n. 2, p. 180-190, Feb 2002.
- LINDAHL, M.; KAMALI SARVESTANI, I.; EKEBERG, O.; KOTALESKI, J. H. Signal enhancement in the output stage of the basal ganglia by synaptic short-term plasticity in the direct, indirect, and hyperdirect pathways. **Front Comput Neurosci**, 7, p. 76, 2013.
- LÓPEZ-MUÑOZ, F.; ALAMO, C. The consolidation of neuroleptic therapy: Janssen, the discovery of haloperidol and its introduction into clinical practice. **Brain Res Bull**, 79, n. 2, p. 130-141, Apr 29 2009.
- LOWE, H.; TOYANG, N.; STEELE, B.; BRYANT, J. *et al.* The Endocannabinoid System: A Potential Target for the Treatment of Various Diseases. **Int J Mol Sci**, 22, n. 17, Aug 31 2021.
- LU, H. C.; MACKIE, K. Review of the Endocannabinoid System. **Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging**, v. 6, n. 6, p. 607-615, 1 jun. 2021
- LUCAS, G.; BONHOMME, N.; DE DEURWAERDÈRE, P.; LE MOAL, M. *et al.* 8-OH-DPAT, a 5-HT_{1A} agonist and ritanserin, a 5-HT_{2A/C} antagonist, reverse haloperidol-induced catalepsy in rats independently of striatal dopamine release. **Psychopharmacology (Berl)**, 131, n. 1, p. 57-63, May 1997.
- MAILMAN, R. B.; MURTHY, V. Third generation antipsychotic drugs: partial agonism or receptor functional selectivity? **Curr Pharm Des**, 16, n. 5, p. 488-501, 2010.
- MAŁGORZATA,S; MACHOY-MOKRZYŃSKA., A, Cannabis and cannabinoids: potential pharmacology and therapeutic.**Journal of Neurology and Neurosurgery**, 2022
- MAMMANA, S.; CAVALLI, E.; GUGLIANDOLO, A.; SILVESTRO, S. *et al.* Could the Combination of Two Non-Psychotropic Cannabinoids Counteract Neuroinflammation? Effectiveness of Cannabidiol Associated with Cannabigerol. **Medicina (Kaunas)**, 55, n. 11, Nov 18 2019a.

- MAMMANA, S.; CAVALLI, E.; GUGLIANDOLO, A.; SILVESTRO, S. *et al.* Could the Combination of Two Non-Psychotropic Cannabinoids Counteract Neuroinflammation? Effectiveness of Cannabidiol Associated with Cannabigerol. **Medicina (Kaunas)**, 55, n. 11, Nov 18 2019b.
- MARDER, S. R.; CANNON, T. D. Schizophrenia. **N Engl J Med**, 381, n. 18, p. 1753-1761, Oct 31 2019.
- MARGALHA, S, I, B. Influência da farmacogenómica na terapêutica com antipsicóticos em doentes esquizofrénicos. 2013. 127 f. Disponível em: <https://sapientia.ualg.pt/bitstream/10400.1/6878/1/monografia%20Sara%20Margalha.pdf>
- MARSDEN, C. D.; JENNER, P. The pathophysiology of extrapyramidal side-effects of neuroleptic drugs. **Psychol Med**, 10, n. 1, p. 55-72, Feb 1980.
- MCCUTCHEON, R. A.; ABI-DARGHAM, A.; HOWES, O. D. Schizophrenia, Dopamine and the Striatum: From Biology to Symptoms. **Trends Neurosci**, 42, n. 3, p. 205-220, Mar 2019a
- MCCUTCHEON, R. A.; REIS MARQUES, T.; HOWES, O. D. Schizophrenia-An Overview. **JAMA Psychiatry**, 77, n. 2, p. 201-210, Feb 01 2019b.
- MELTZER, H. Y.; MATSUBARA, S.; LEE, J. C. Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin₂ pKi values. **J Pharmacol Exp Ther**, 251, n. 1, p. 238-246, Oct 1989.
- MEZZOMO, N. F.; DA SILVA SCHMITZ, I.; DE LIMA, V. B.; DORNELES, G. P. *et al.* Reversal of haloperidol-induced orofacial dyskinesia and neuroinflammation by isoflavones. **Mol Biol Rep**, 49, n. 3, p. 1917-1923, Mar 2022.
- MISHRA, A.; SINGH, S.; SHUKLA, S. Physiological and Functional Basis of Dopamine Receptors and Their Role in Neurogenesis: Possible Implication for Parkinson's disease. **Journal of Experimental Neuroscience**, v. 12, 31 maio 2018.
- MIYAKE, N.; MIYAMOTO, S.; JARSKOG, L. F..New serotonin/dopamine antagonists for the treatment of schizophrenia: are we making real progress? **Clinical schizophrenia & related psychoses**, v. 6, n. 3, p. 122-133, 2012
- MOHAMMAD-REZA G; SULAYMAN, D. DIB-HAJJ, S.J; Goodchild et al. non-psychotropic phytocannabinoid interactions with voltage-gated sodium channels: An update on cannabidiol and cannabigerol **Frontiers in Physiology**, 2022.
- MOREIRA, F. A.; GUIMARÃES, F. S. Cannabidiol inhibits the hyperlocomotion induced by psychotomimetic drugs in mice. **Eur J Pharmacol**, 512, n. 2-3, p. 199-205, Apr 11 2005.
- MORGAN, J.I ; CURRAN, I. Stimulus-transcription coupling in neurons: role of cellular immediate-early genes. **Trends Neurosci**.459–462, 1989.
- MULLER, C.; MORALES, P.; REGGIO, P. H. Cannabinoid Ligands Targeting TRP Channels. **Front Mol Neurosci**, 11, p. 487, 2018.
- MULLER, P.; SEEMAN, P. Neuroleptics: relation between cataleptic and anti-turning actions, and role of the cholinergic system. **J Pharm Pharmacol**, 26, n. 12, p. 981-984, Dec 1974.
- NACHNANI, R.; RAUP-KONSAVAGE, W. M.; VRANA, K. E. The Pharmacological Case for Cannabigerol. **J Pharmacol Exp Ther**, 376, n. 2, p. 204-212, Feb 2021.
- Nachnani, R; WESLEY,m; RAUP-KONSAVAGE, K. The pharmacological case for canabigerol. **The journal of pharmacology and experimental therapeutics**, 2021
- NATESAN, S.; RECKLESS, G. E.; NOBREGA, J. N.; FLETCHER, P. J. *et al.* Dissociation between in vivo occupancy and functional antagonism of dopamine D2

receptors: comparing aripiprazole to other antipsychotics in animal models. **Neuropsychopharmacology**, 31, n. 9, p. 1854-1863, Sep 2006.

Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol

NAVARRO, G.; VARANI, K.; LILLO, A.; VINCENZI, F. *et al.* Pharmacological data of cannabidiol- and cannabigerol-type phytocannabinoids acting on cannabinoid CB. **Pharmacol Res**, 159, p. 104940, Sep 2020.

NAVARRO, G.; VARANI, K.; REYES-RESINA, I.; SÁNCHEZ DE MEDINA, V. *et al.* Cannabigerol Action at Cannabinoid CB. **Front Pharmacol**, 9, p. 632, 2018.

NAVARRO, G.; VARANI, K.; REYES-RESINA, I.; DE MEDINA, V.S. *et al.* Cannabigerol Action at Cannabinoid CB₁ and CB₂ Receptors and at CB₁-CB₂ Heteroreceptor Complexes. **Pharmacol.** 21;9:632, 2018

NUCCI-DA-SILVA, L. P.; GUIMARÃES, F. S.; DEL BEL, E. A. Serotonin modulation of catalepsy induced by N(G)-nitro-L-arginine in mice. **Eur J Pharmacol**, 379, n. 1, p. 47-52, Aug 20 1999.

OBUCHOWICZ, E.; BIELECKA-WAJDMAN, A.M.; PAUL-SAMOJEDNY, M. Different influence of antipsychotics on the balance between pro- and anti-inflammatory cytokines depends on glia activation: An in vitro study. **Cytokine**. 94:37-44, 2017.

OHNO, Y.; SHIMIZU, S.; IMAKI, J.; ISHIHARA, S. *et al.* Anticataleptic 8-OH-DPAT preferentially counteracts with haloperidol-induced Fos expression in the dorsolateral striatum and the core region of the nucleus accumbens. **Neuropharmacology**, 55, n. 5, p. 717-723, Oct 2008.

ONIMUS, O.; VALJENT, E.; FISONE, G.; GANGAROSSA, G. Haloperidol-Induced Immediate Early Genes in Striatopallidal Neurons Requires the Converging Action of cAMP/PKA/DARPP-32 and mTOR Pathways. **Int J Mol Sci**, 23, n. 19, Oct 01 2022.

OSTINELLI, E. G.; BROOKE-POWNEY, M. J.; LI, X.; ADAMS, C. E. Haloperidol for psychosis-induced aggression or agitation (rapid tranquillisation). **Cochrane Database Syst Rev**, 7, n. 7, p. CD009377, Jul 31 2017.

OWEN, M. J.; DOHERTY, J. L. What can we learn from the high rates of schizophrenia in people with 22q11.2 deletion syndrome? **World Psychiatry**, 15, n. 1, p. 23-25, Feb 2016a.

OWEN, M. J.; SAWA, A.; MORTENSEN, P. B. Schizophrenia. **Lancet**, 388, n. 10039, p. 86-97, Jul 02 2016b.

OWENS, E. M.; BACHMAN, P.; GLAHN, D. C.; BEARDEN, C. E. Electrophysiological Endophenotypes for Schizophrenia. **Harv Rev Psychiatry**, 24, n. 2, p. 129-147, 2016.

PANDOLFO, P.; SILVEIRINHA, V.; DOS SANTOS-RODRIGUES, A.; VENANCE, L. *et al.* Cannabinoids inhibit the synaptic uptake of adenosine and dopamine in the rat and mouse striatum. **Eur J Pharmacol**, 655, n. 1-3, p. 38-45, Mar 25 2011.

PATRICIO, F.; MORALES-ANDRADE, A. A.; PATRICIO-MARTÍNEZ, A.; LIMÓN, I. D. Cannabidiol as a Therapeutic Target: Evidence of its Neuroprotective and Neuromodulatory Function in Parkinson's Disease. **Front Pharmacol**, 11, p. 595635, 2020.

PEDRAZZI, J. F. C.; FERREIRA, F. R.; SILVA-AMARAL, D.; LIMA, D. A. *et al.* Cannabidiol for the treatment of autism spectrum disorder: hope or hype? **Psychopharmacology (Berl)**, 239, n. 9, p. 2713-2734, Sep 2022.

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

PERTWEE, R. G. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant

cannabinoids: delta9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and delta9-tetrahydrocannabivarin. **Br J Pharmacol**, 153, n. 2, p. 199-215, Jan 2008.

PERTWEE, R.G. The pharmacology and therapeutic potential of cannabidiol. In: V Di Marzo, editor. *Cannabinoids*. Kluwer Academic/ Plenum Publishers. p. 32-83, 2004.

PERTWEE, R.G. The ring test: a quantitative method for assessing the 'cataleptic' effect of cannabis in mice. **Br. J. Pharmacol.** v. 46, p. 753-763, 1972.

PUIGSERVER, P.; SPIEGELMAN, B. M. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 alpha): transcriptional coactivator and metabolic regulator. **Endocr Rev**, 24, n. 1, p. 78-90, Feb 2003.

RAFIQ, H.; FARHAN, M.; RAFI, H.; REHMAN, S. *et al.* Inhibition of drug induced Parkinsonism by chronic supplementation of quercetin in haloperidol-treated wistars. **Pak J Pharm Sci**, 35, n. 6, p. 1655-1662, Nov 2022.

RASHEED, A. S.; VENKATARAMAN, S.; JAYAVEERA, K. N.; FAZIL, A. M. *et al.* Evaluation of toxicological and antioxidant potential of *Nardostachys jatamansi* in reversing haloperidol-induced catalepsy in rats. **Int J Gen Med**, 3, p. 127-136, May 26 2010.

REDGRAVE

REMYINGTON, G.; HAHN, M. K.; AGARWAL, S. M.; CHINTOH, A. *et al.* Schizophrenia: Antipsychotics and drug development. **Behav Brain Res**, 414, p. 113507, Sep 24 2021a.

RICHARDSON, J. S.; RICHARDSON, A. K. Biphasic dose-response effect of baclofen on haloperidol catalepsy in the rat. **Pharmacol Biochem Behav**, 17, n. 4, p. 855-856, Oct 1982.

ROBERTSON, G. S.; FIBIGER, H. C. Neuroleptics increase c-fos expression in the forebrain: contrasting effects of haloperidol and clozapine. **Neuroscience**, 46, n. 2, p. 315-328, 1992.

ROBERTSON, G. S.; LEE, C. J.; SRIDHAR, K.; NAKABEPPU, Y. *et al.* Clozapine-, but not haloperidol-, induced increases in deltaFosB-like immunoreactivity are completely blocked in the striatum of mice lacking D3 dopamine receptors. **Eur J Neurosci**, 20, n. 11, p. 3189-3194, Dec 2004.

ROCK, E. M.; BOLOGNINI, D.; LIMEBEER, C. L.; CASCIO, M. G. *et al.* 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. **Br J Pharmacol**, 165, n. 8, p. 2620-2634, Apr 2012.

ROSENTHALER, S.; POHN, B.; KOLMANZ, C.; HUU, C.N *et al.* Differences in receptor binding affinity of several phytocannabinoids do not explain their effects on neural cell cultures, *Neurotoxicol Teratol*. 46:49-56, 2014

RUSSO, E. B.; BURNETT, A.; HALL, B.; PARKER, K. K. Agonistic properties of cannabidiol at 5-HT1a receptors. **Neurochem Res**, 30, n. 8, p. 1037-1043, Aug 2005.

SALES, A.J; CRESTANI, C.C; GUIMARÃES F.S; JOCA, S.R.L. Antidepressant-like effect induced by Cannabidiol is dependent on brain serotonin levels. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**. v.30, n.86; p.255-26, 2018.

SANBERG, P. R.; BUNSEY, M. D.; GIORDANO, M.; NORMAN, A. B. The catalepsy test: its ups and downs. **Behav Neurosci**, 102, n. 5, p. 748-759, Oct 1988.

SCHMIDT, U.; PILGRIM, C.; BEYER, C. Differentiative effects of dopamine on striatal neurons involve stimulation of the cAMP/PKA pathway. **Mol Cell Neurosci**, 11, n. 1-2, p. 9-18, May 1998.

SCHMIDT, W. J. Dopamine-glutamate interactions in the basal ganglia. **Amino Acids**,

14, n. 1-3, p. 5-10, 1998.

SILVESTRO, S.; SCHEPICI, G.; BRAMANTI, P.; MAZZON, E. Molecular Targets of Cannabidiol in Experimental Models of Neurological Disease. **Molecules**, 2020

SERVONNET, A.; SAMAHA, A. N. Antipsychotic-evoked dopamine supersensitivity. **Neuropharmacology**, 163, p. 107630, Feb 2020.

SHARIFI, H.; MOHAJJEL NAYEBIA, A.; FARAJNIA, S. The effect of chronic administration of bupirone on 6-hydroxydopamine-induced catalepsy in rats. **Adv Pharm Bull**, 2, n. 1, p. 127-131, 2012.

SHEN, W. W. A history of antipsychotic drug development. **Compr Psychiatry**, 40, n. 6, p. 407-414, 1999.

SHIMIZU, S.; MIZUGUCHI, Y.; TATARA, A.; KIZU, T. *et al.* 5-HT_{1A} agonist alleviates serotonergic potentiation of extrapyramidal disorders via postsynaptic mechanisms. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 46, p. 86-91, Oct 01 2013.

SHIN, H. W.; CHUNG, S. J. Drug-induced parkinsonism. **J Clin Neurol**, 8, n. 1, p. 15-21, Mar 2012.

SHIREEN, E. Experimental treatment of antipsychotic-induced movement disorders. **J Exp Pharmacol**, 8, p. 1-10, 2016.

SILVESTRO, S.; SCHEPICI, G.; BRAMANTI, P.; MAZZON, E. Molecular Targets of Cannabidiol in Experimental Models of Neurological Disease. **Molecules**, 25, n. 21, Nov 07 2020.

SNYDER, G. L.; VANOVER, K. E.; ZHU, H.; MILLER, D. B. *et al.* Functional profile of a novel modulator of serotonin, dopamine, and glutamate neurotransmission. **Psychopharmacology (Berl)**, 232, n. 3, p. 605-621, Feb 2015.

SONEGO, A. B.; PRADO, D. D. S.; GUIMARÃES, F. S. PPAR γ receptors are involved in the effects of cannabidiol on orofacial dyskinesia and cognitive dysfunction induced by typical antipsychotic in mice. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 111, p. 110367, Dec 20 2021.

SONEGO, A. B.; PRADO, D. S.; VALE, G. T.; SEPULVEDA-DIAZ, J. E. *et al.* Cannabidiol prevents haloperidol-induced vacuos chewing movements and inflammatory changes in mice via PPAR γ receptors. **Brain Behav Immun**, 74, p. 241-251, Nov 2018.

SOUZA, F. C.; GOMES, P. B.; NORONHA, E. C.; MACÊDO, D. S. *et al.* Effects of dopaminergic and cholinergic interactions on rat behavior. **Life Sci**, 69, n. 20, p. 2419-2428, Oct 05 2000.

STEEDS, H.; CARHART-HARRIS, R. L.; STONE, J. M. Drug models of schizophrenia. **Ther Adv Psychopharmacol**, 5, n. 1, p. 43-58, Feb 2015.

STEPHENS, P. A review of clozapine: an antipsychotic for treatment-resistant schizophrenia. **Compr Psychiatry**, 31, n. 4, p. 315-326, 1990.

STEPNICKI, P.; KONDEJ, M.; KACZOR, A. A. Current Concepts and Treatments of Schizophrenia. **Molecules**, 23, n. 8, 2018.

SUN, S.C. The noncanonical NF- κ B pathway. **Immunol Rev**. 246(1):125-40, 2012.

TANDON, R. Antipsychotics in the treatment of schizophrenia: an overview. **J Clin Psychiatry**, 72 Suppl 1, p. 4-8, 2011.

TEO, J. T.; EDWARDS, M. J.; BHATIA, K. Tardive dyskinesia is caused by maladaptive synaptic plasticity: a hypothesis. **Mov Disord**, 27, n. 10, p. 1205-1215, Sep 01 2012.

TORT, A. B.; DALL'IGNA, O. P.; DE OLIVEIRA, R. V.; MANTESE, C. E. *et al.* Atypical antipsychotic profile of flunarizine in animal models. **Psychopharmacology (Berl)**, 177, n. 3, p. 344-348, Jan 2005.

VALDEOLIVAS, S.; NAVARRETE, C.; CANTARERO, I.; BELLIDO, M. L. *et al.* Neuroprotective properties of cannabigerol in Huntington's disease: studies in R6/2 mice and 3-nitropropionate-lesioned mice. **Neurotherapeutics**, 12, n. 1, p. 185-199, Jan 2015.

VANNUR, A.; BIRADAR, P. R.; PATIL, V. Experimental validation of Vitex negundo leaves hydroalcoholic extract for neuroprotection in haloperidol induced parkinson's disease in rat. **Metab Brain Dis**, 37, n. 2, p. 411-426, Feb 2022.

WADENBERG, M. L.; SOLIMAN, A.; VANDERSPEK, S. C.; KAPUR, S. Dopamine D(2) receptor occupancy is a common mechanism underlying animal models of antipsychotics and their clinical effects. **Neuropsychopharmacology**, 25, n. 5, p. 633-641, Nov 2001.

WANG, M.; LEE, F. J.; LIU, F. Dopamine receptor interacting proteins (DRIPs) of dopamine D1-like receptors in the central nervous system. **Mol Cells**, 25, n. 2, p. 149-157, Apr 30 2008.

WORMES, P.; LLOYD, K. G. Biphasic effects of direct, but not indirect, GABA mimetics and antagonists on haloperidol-induced catalepsy. **Psychopharmacology** (Berl). 219(3):859-73, 2012.

WORMS, P.; WILLIGENS, M. T.; LLOYD, K. G. GABA involvement in neuroleptic-induced catalepsy. **J Pharm Pharmacol**, 30, n. 11, p. 716-718, Nov 1978.

WICHMANN, T.; BERGMAN, H.; DELONG, M. R. Basal Ganglia, Movement Disorders and Deep Brain Stimulation: Advances Made Through Non-Human Primate Research. **J Neural Transm**, v. 125, n. 3, p. 419–430, 2018.

WISE, RA, ROBBLE, M.A. Dopamine and Addiction. **Annu Rev Psychol**. v.4; p..71:79-106, 2020.

WISE, R, A; JORDAN, C.J. Dopamine, behavior, and addiction. **J Biomed Sci**. v.2;p.83, 2021.

ZUARDI, A. W. Cannabidiol: from an inactive cannabinoid to a drug with wide spectrum of action. **Braz J Psychiatry**, 30, n. 3, p. 271-280, Sep 2008.

ZUARDI, A. W.; CRIPPA, J. A.; HALLAK, J. E.; BHATTACHARYYA, S. *et al.* A critical review of the antipsychotic effects of cannabidiol: 30 years of a translational investigation. **Curr Pharm Des**, 18, n. 32, p. 5131-5140, 2012.

ZUARDI, A. W.; HALLAK, J. E.; DURSUN, S. M.; MORAIS, S. L. *et al.* Cannabidiol monotherapy for treatment-resistant schizophrenia. **J Psychopharmacol**, 20, n. 5, p. 683-686, Sep 2006.

ZUARDI, A.W; COSME, R.A; GRAEFF, F.G, GUIMARÃES, F.S. Effects of ipsapirone and cannabidiol on human experimental anxiety. **J Psychopharmacol**. 7: 82–88, 1993.

ZUARDI, A.W; SHIRAKWA, I; FINKELFARB, E; KARNIOL, I. G. Action of cannabidiol on the anxiety and other effects produced by delta 9THC in normal subjects. **Psychopharmacol**. v. 76, p.245–250, 1982.