

# Kanabinoidi - njihovo delovanje in učinki

## Cannabinoids - their action and effects

Mateja Štempelj, Ilonka Ferjan

**Povzetek:** Med kanabinoide uvrščamo aktivne komponente konoplje, njihove sintetične in endogene analoge. Glavna psihoaktivna učinkovina konoplje je  $\Delta^9$ -tetrahidrokanabinol ( $\Delta^9$ -THC). Farmakološke lastnosti ( $\Delta^9$ -THC) so zelo podobne lastnostim endogenih kanabinoidov. Najbolj znani endogeni kanabinoid, anandamid, je amid arahidonske kisline in etanolamina. Kanabinoidi delujejo preko visokoafinitetnih receptorjev CB1 in CB2, ki so sklopljeni s proteinom  $G_{i/o}$ . Do terminacije delovanja kanabinoidov pride zaradi njihovega privzema v celico, kjer se razgradijo s pomočjo encima FAAH (*fatty acid amide hydrolase*). Današnje študije so usmerjene predvsem v odkrivanje terapevtske uporabnosti kanabinoidov, saj je znano, da preprečujejo slabost in bruhanje, lajšajo bolečino, povečajo apetit, delujejo proti mišičnim krčem, lajšajo simptome pri avtoimunih obolenjih in pri glavkomu.

**Ključne besede:** kanabinoidi,  $\Delta^9$ -THC, anandamid, kanabinoidni receptorji, terapevtska uporaba

**Abstract:** Cannabinoids are the active components of *Cannabis sativa*, their synthetic and endogenous analogues.  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) is the main psychoactive component of *Cannabis sativa*. Its pharmacological properties are very similar to those exerted by endogenous cannabinoids. The first endocannabinoid discovered was named anandamide, with reference to its chemical structure, the amide of arachidonic acid and ethanolamine. Cannabinoids act on specific  $G_{i/o}$ -protein-coupled CB1 and CB2 receptors. The cannabinoid signaling is terminated by cellular uptake and intracellular degradative enzyme fatty acid amide hydrolase. Recent studies are focused on therapeutic uses of cannabinoids, since they exert effects in multiple conditions, including nausea and vomiting, pain loss, appetite stimulation, convulsions, autoimmune diseases and glaucoma.

**Key words:** cannabinoids,  $\Delta^9$ -THC, anandamide, cannabinoid receptors, therapeutic use

## 1 Uvod

Konoplja (*Cannabis sativa*) se kot rekreativna droga in v medicinske namene uporablja že stoletja. Vsebuje okoli 60 različnih komponent, ki jih s skupnim imenom imenujemo kanabinoidi. Glavno psihotropno učinkovino konoplje,  $\Delta^9$ -tetrahidrokanabinol ( $\Delta^9$ -THC), sta leta 1964 prva izolirala Mechoulam in Gaoni (1). Kljub dolgoletni uporabi konoplje se je razmah študij o delovanju kanabinoidov začel šele leta 1990, ko so klonirali specifični kanabinoidni receptor (2). Le malo kasneje, leta 1993, je Munro dokazal, da obstajata vsaj dva tipa kanabinoidnih receptorjev. Tretje pomembno odkritje v tem času je bilo odkritje endogenih ligandov kanabinoidnih receptorjev (3, 4, 5, 6, 7). Vsa ta odkritja so sprožila ekspanzijo bazičnih raziskav o delovanju kanabinoidov in njihovih terapevtskih učinkih.

Z izrazom kanabinoidi danes poimenujemo snovi s podobno strukturo kot  $\Delta^9$ -THC in/ali snovi s podobnimi farmakološkimi lastnostmi kot  $\Delta^9$ -THC. Čeprav so nekatere snovi v konoplji strukturno podobne  $\Delta^9$ -THC imajo lahko drugačne farmakološke lastnosti. Medtem ko imajo nekatere naravne in sintetične spojine, ki se po strukturi razlikujejo od  $\Delta^9$ -THC, enake farmakološke lastnosti kot  $\Delta^9$ -THC. Vse te snovi, ki izražajo podobne farmakološke lastnosti kot  $\Delta^9$ -THC, imenujemo kanabimimetiki (8).

## 2 Kanabinoidni receptorji

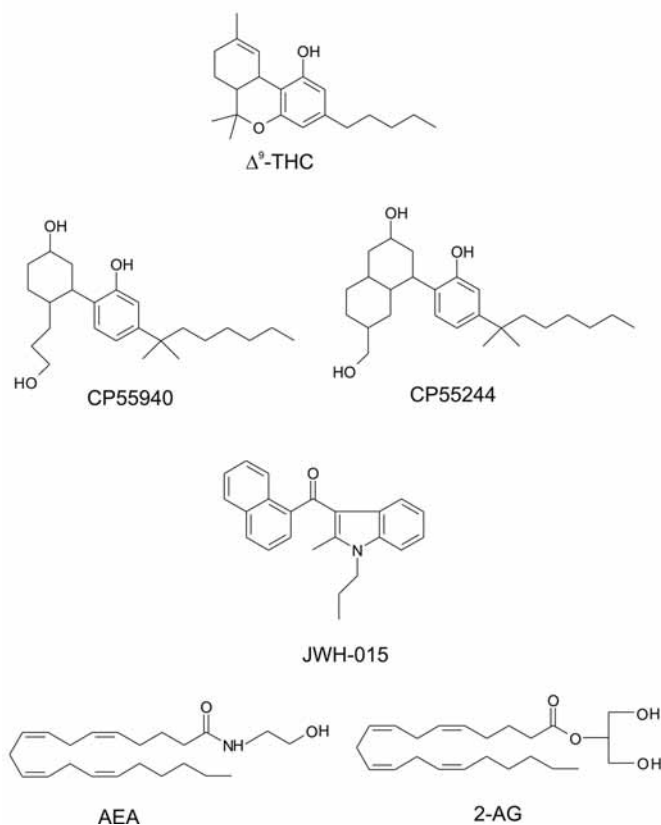
Kanabinoidne receptorje razdelimo v podzreda CB1 in CB2. Uvrščamo jih med visokoafinitetne 7-transmembranske receptorje, ki so sklopljeni s proteinom  $G_{i/o}$  in so občutljivi na inhibicijo s pertusis toksinom. Aktivacija receptorjev sproži različne znotrajcelične procese: inhibicijo adenilat-ciklaze in posledično znižanje koncentracije cAMP (ciklični adenozin-5'-monofosfat); aktivacijo z mitogeni aktiviranih protein-kinaz ERK (*extracellular signal-regulated kinase*), JNK (*JUN amino-terminal kinase*) in p38 (protein, katerega velikost je 38 kDa); aktivacijo fosfatidilinozitol-3-kinaze; razgradnjo sфингомielina ter nastanek ceramidov (8, 9, 10, 11).

Receptorji CB1 so prisotni v centralnem živčnem sistemu in v perifernih tkivih. V možganih se nahajajo v predelih, ki uravnavajo motorične aktivnosti (bazalni gangliji in cerebelum), spomin in kognitivne funkcije (korteks in hipokampus), čustva (amigdala), senzorno zaznavanje (talamus) in avtonomne ter endokrine funkcije (hipotalamus, pons in medula). Na periferiji jih najdemo v testisih, žilnem endoteliju, vranici in perifernih živcih. Receptorji CB2 so prisotni le na periferiji, predvsem na celicah imunskega sistema, v vranici, mandljih in limfnih vozlih. Nekateri kanabinoidi delujejo tudi na vaniloidne receptorje in na T-tip kalcijevih kanalov. Na splošno velja, da so psihoaktivni učinki kanabinoidov posredovani preko receptorjev CB1, imunomodulatorni pa preko receptorjev CB2 (8, 12, 13, 14).

Aktivacijo kanabinoidnih receptorjev sprožijo aktivne učinkovine konoplje, endogeni kanabinoidi in sintetični kanabinoidi. Agoniste kanabinoidnih receptorjev razdelimo glede na njihovo strukturo v štiri skupine (slika 1) (12):

1. Klasični kanabinoidi: analogi  $\Delta^9$ -THC.
2. Neklasični kanabinoidi: biciklični in triciklični analogi  $\Delta^9$ -THC.
3. Aminoalkilindoli: sintetični kanabinoidi.
4. Derivati arahidske kisline: endogena kanabinoida anandamid in 2-arahidonilglicerol.

Vse te spojine služijo kot farmakološko orodje za študij mehanizma delovanja kanabinoidov in predstavljajo osnovo za razvoj klinično uporabnih kanabinoidov.

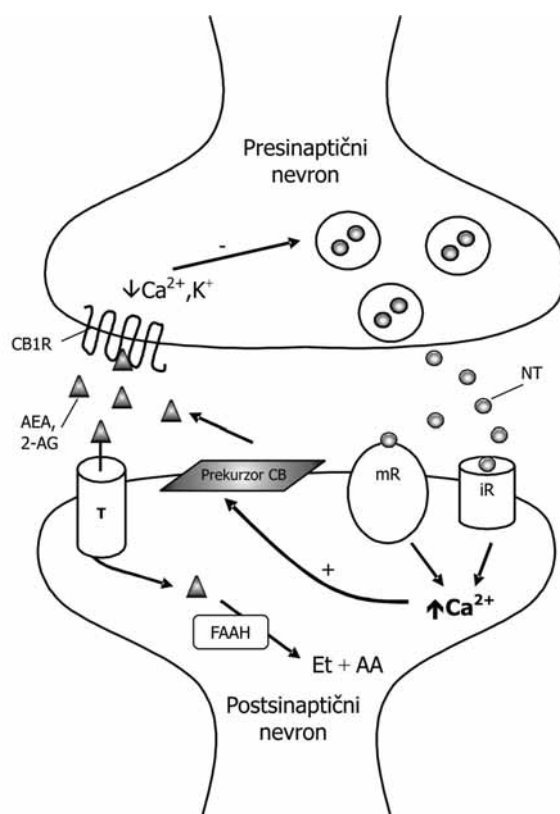


Slika 1: Strukturne formule agonistov kanabinoidnih receptorjev.  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol ( $\Delta^9$ -THC); klasični kanabinoid; CP55940 in CP55244: neklasična kanabinoida; JWH-015: aminoalkilindol; anandamid (AEA) in 2-arahidonilglicerol (2-AG): derivata arahidske kisline.

Figure 1: Chemical structures of cannabinoid receptor agonists.  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC); classical cannabinoid; CP55940 and CP55244: nonclassical cannabinoids; JWH-015: aminoalkylindole; anandamide (AEA) and 2-arachidonylethanolamide (2-AG), arachidonic acid derivatives.

### 3 Endogeni kanabinoidni sistem

Aktivacija kanabinoidnih receptorjev z  $\Delta^9$ -THC, kot tudi njegovimi sintetičnimi analogi povzroči v organizmu enak biološki odgovor kot aktivacija z endogenimi ligandi. Najpomembnejša endogena kanabinoida, anandamid (arahidoniletanolamid, AEA) in 2-arahidonilglicerol (2-AG), v največjih koncentracijah nastajata v možganih. Oba spadata med avtakoide oziroma lokalne hormone, za katere je značilno, da povzročijo biološki učinek v bližini mesta nastanka. Koncentraciji AEA in 2-AG v organizmu močno narasteta pri patofizioloških procesih, kot so: miokardni infarkt, ishemija, nevronske poškodbe idr. (15). Endogeni agonisti kanabinoidnih receptorjev so še 2-arahidonilgliceroleter (2-AGE), virodhamin (O-arahidoniletanolamin) in N-arahidonildopamin (NADA). Kanabimimetične lastnosti izraža tudi palmitoiletanolamid (PEA), ki pa verjetno ne deluje preko receptorjev CB1 in CB2 (6, 7, 8, 16).



Slika 2: Endogeni kanabinoidni sistem.

NT, neurotransmitter; mR, metabotropni receptor; iR, ionotropni receptor; T, prenašalec; Et, etanolamin; AA, arahidska kislina; CB1R, receptor CB1; AEA, anandamid; 2-AG, 2-arahidonilglicerol; FAAH, angl. fatty acid amide hydrolase.

Figure 2: The endogenous cannabinoid system.

NT, neurotransmitter; mR, metabotropic receptor; iR, ionotropic receptor; T, transporter; Et, ethanolamine; AA, arachidonic acid; CB1R, CB1 receptor; AEA, anandamide; 2-AG, 2-arachidonylethanolamide; FAAH, fatty acid amide hydrolase.

Kemijsko so endogeni kanabinoidi amidi in estri maščobnih kislin (slika 1). Prvi je bil izmed endogenih kanabinoidov izoliran anandamid, zato je o njegovem delovanju tudi največ znanega (16). Prekursor za sintezo anandamida je membranski fosfolipid N-arahidonilfosfatidiletanolamin, ki ga fosfolipaza D hidrolizira v anandamid. Sinteza ne poteka spontano, temveč je potreben ustrezen fiziološki ali patološki dražljaj (8, 16, 17, 18).

V nevronih sproži sintezo anandamida vezava neurotransmiterja, ki se sprosti iz presinaptičnega nevrona, na ustreznih ionotropnih ali metabotropnih receptorih na postsinaptičnem nevronu (slika 2). To sproži dvig koncentracije citosolnih prostih ionov kalcija v postsinaptičnem nevronu, kar je dražljaj za sintezo in sproščanje endokanabinoidov iz njihovega prekursorja v membrani. Sproščeni kanabinoidi se vežejo na receptorje CB1 na presinaptični membrani. Aktivirani receptorji nato inhibirajo napetostno odvisne kalcijeve kanale in aktivirajo kalijeve kanale. Zaradi povečane difuzije kalijevih ionov iz celice se zmanjša depolarizacija presinaptične membrane. Posledica je inhibicija sproščanja neurotransmiterjev, kot so glutamat, dopamin in  $\gamma$ -aminomaslena kislina (GABA), ki imajo fiziološke učinke pri procesih, kot so učenje, gibanje in spomin (8, 13, 19).

Terminacija bioloških učinkov anandamida poteka v dveh stopnjah. V prvi stopnji potuje anandamid nazaj v celico, v drugi stopnji pa se razgradi z encimatsko hidrolizo s pomočjo encima FAAH (*fatty acid amide hydrolase*) (slika 2). Glede na to, da je anandamid lipofilna spojina, lahko potuje v celico s pasivno difuzijo v smeri koncentracijskega gradienta. Transport anandamida v celico omogoča tudi selektivni prenašalec imenovan AMT (*anandamide membrane transporter*), ki se nahaja v plazemski membrani in deluje reverzibilno. Znana sta še dva mehanizma, po katerih lahko pride do privzema anandamida v celico, in sicer s transportom v znotrajcelične membranske vezikle in z endocitozo (20, 21, 22, 23, 24).

Encim FAAH, ki poleg anandamida hidrolizira tudi druge amide in estre maščobnih kislin, se nahaja v znotrajceličnih membranah. Inhibira ga inhibitor serin-proteaz PMSF (*phenylmethylsulfonyl fluoride*). Anandamid se z FAAH razgradi v arahidonsko kislino in etanolamin, 2-AG pa v arahidonsko kislino in glicerol. Arahidonska kislina, ki nastane pri hidrolizi se lahko metabolizira v eikozanoide, vendar se je večina vgradi v membranske fosfolipide. Vse te snovi, ki sodelujejo pri procesu sinteze, privzema in razgradnje kanabinoidov, vključno z endokanabinoidnimi ligandi in njihovimi receptorji, imenujemo endokanabinoidni sistem (13, 15, 25).

## 4 Terapevtski učinki kanabinoidov

Razmah študij o delovanju kanabinoidov se je pojavil zlasti zaradi njihove potencialne terapevtske uporabe, saj je znano da:

- Preprečujejo slabost in bruhanje, ki sta pogosta stranska učinka pri kemoterapiji raka.

V sedemdesetih in osemdesetih letih 20-tega stoletja so dokazali, da so kanabinoidi vsaj tako učinkoviti antiemetiki kot dopaminski D2 antagonisti, ki so se v tem času veliko uporabljali kot antiemetiki. Danes se kot zdravilo proti slabosti in bruhanju zaradi kemoterapije uporablja sintetični  $\Delta^9$ -THC, dronabinol, in njegov analog nabilone.

- Povečajo apetit.

Pri več kot polovici bolnikov z rakom sta pogosta simptoma izguba telesne teže in podhranjenost. Najpomembnejša posledica prekomerne izgube telesne teže je slabše preživetje bolnikov z rakom. Hujšanje se pojavi tudi pri bolnikih, okuženih z virusom HIV. Pri teh bolnikih je pomembno, da ohranijo zdrav apetit in telesno težo, kar pripomore, da se lažje izognejo infekcijam. Študije kažejo, da  $\Delta^9$ -THC in ostali kanabinoidi izboljšajo apetit, povečajo vnos kalorij v organizem in preprečijo izgubo telesne teže. Nasprotno od kanabinoidnih agonistov, kanabinoidni antagonisti zmanjšajo apetit in sprožijo izgubo telesne teže.

Kanabinoidni CB1 antagonist rimonabant (SR141716) je kot sredstvo za hujšanje trenutno v fazi III kliničnega testiranja.

- Lajšajo bolečino.

Kanabinoidi preko aktivacije receptorjev CB1v možganih, hrbtenjači in živčnih končičih zmanjšajo zaznavanje bolečine. Poleg tega lahko periferni receptorji CB2 zavirajo sproščanje bolečinskih in vnetnih mediatorjev. Študije kažejo, da kanabinoidi lajšajo bolečino po operaciji in migreno.

- Zmanjšajo mišično šibkost.

Kanabinoidi zmanjšajo simptome, ki se pojavijo pri multipli sklerozi, še posebej odpravljajo krče in sproščajo mišice, zmanjšajo izgubo koordinacije in blažijo tremor.

- Zmanjšajo intraokularni tlak pri glavkomu.

Glavkom je bolezen, pri kateri se tlak v zraku poveča, kar poškoduje vidni živec in povzroči izgubo vida. Kanabinoidi zmanjšajo tlak v zraku za 20-40 %.

- Delujejo imunosupresivno.

Kanabinoidi zavirajo proliferacijo limfocitov, nastanek protiteles in aktivnost makrofagov.

- Zmanjšajo rast tumorskih celic in povzročijo njihovo smrt.

Inhibirajo tudi tumorsko angiogenezo in nastanek metastaz, ob tem pa ne poškodujejo netransformiranih zdravih celic (8).

## 5 Nezaželeni učinki kanabinoidov

Kljub terapevtskemu potencialu ostaja uporaba kanabinoidov v medicinske namene omejena zaradi njihovih psihoaktivnih učinkov na centralni živčni sistem. Te razdelimo v štiri skupine: (a) emocionalne (evforija, izbruhi smeha), (b) senzorne (izkrivljeno zaznavanje časa in prostora, dezorientacija), (c) somatske (vrtočlavlava, zmanjšane motorične sposobnosti), (d) kognitivne (zmedenost, zmanjšana sposobnost spomina, motnje v koncentraciji). Psihotropni učinki kanabinoidov v možganih so skoraj v celoti posredovani preko receptorjev CB1. Da bi se izognili učinkom na centralni živčni sistem so za razvoj terapevtsko uporabnih kanabinoidov zanimivi selektivni agonisti oziroma antagonisti receptorjev CB2. Kanabinoidi pa ne delujejo le na možgane, temveč lahko prizadenejo tudi druge organske sisteme: (a) kardiovaskularni (tahikardija), (b) respiratorni

(bronhodilatacija), (c) mišičnoskeletni (mišična relaksacija) in (d) gastrointestinalni (zmanjšana peristaltika). Našteti centralni in periferni učinki kanabinoidov so bolj izraziti pri kadilcih, ki uporabljajo kanabinoide kot rekreacijsko drogo, medtem ko pri kontrolirani klinični uporabi ti učinki niso vedno zaznavni (8).

Strokovnjaki uvrščajo kanabinoide na dno seznama snovi, ki povzročajo odvisnost. Toleranca se razvije pri težjih uporabnikih kanabinoidov in je posledica zmanjšanja števila receptorjev. Kanabinoidi so lipidotopni in se iz telesa izločajo počasi. Znaki abstinencijske krize, ki se zaradi nenadne prekinitve lahko pojavijo pri kroničnih kadilcih kanabinoidov so razdražljivost, nespečnost, nemir in vročica. Ti simptomi se običajno pojavijo v blagih oblikah in jih občasni uživalec sploh nima. Podobno niso opazili odtegnitvenih simptomov pri kronični terapiji z  $\Delta^9$ -THC. Kanabinoidi spadajo med sorazmerno varne terapevtske učinkovine. S poskusi na živalih so ocenili, da bi bila smrtna doza enaka 40.000-kratni normalni dozi (3, 13, 19).

## 6 Sklep

Čeprav se kanabinoidi uporabljajo že stoletja, se je razmah študij o delovanju kanabinoidov pojavil šele v zadnjem desetletju in pol, po odkritju kanabinoidnih receptorjev in njihovih endogenih ligandov. Raziskave ne potekajo le v smeri bazičnega mehanizma delovanja kanabinoidov, temveč so usmerjene tudi v odkrivanje terapevtsko uporabnih učinkov kanabinoidov. Danes se kanabinoidi uporabljajo v klinični praksi predvsem na področjih, kjer ni drugih ustrežnejših terapevtskih metod. Problem klinične uporabe kanabinoidov namreč še vedno ostajajo njihovi psihotropni učinki. Za razvoj terapevtsko uporabnih kanabinoidov so zato zanimive predvsem učinkovine, ki nimajo nezaželenih učinkov na centralni živčni sistem. Nadaljnje bazične, predklinične in klinične raziskave so potrebne, da bi ugotovili kakšna je dejanska terapevtska uporabnost kanabinoidov.

## 7 Literatura

- Mechoulam R, Gaoni Y. A total synthesis of delta-1-tetrahydrocannabinol, the active constituent of hashish. *J Am Chem Soc* 1965; 87: 3273-5.
- Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ et al. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990; 346(6284): 561-4.
- De Petrocellis L, Melck D, Bisogno T et al. Endocannabinoids and fatty acid amides in cancer, inflammation and related disorders. *Chem Phys Lipids* 2000; 108(1-2): 191-209.
- Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 1993; 365(6441): 61-5.
- Di Marzo V, Fontana A, Cadas H et al. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature*. 1994; 372(6507): 686-91.
- Lambert DM, Vandevoorde S, Jonsson KO et al. The palmitoylethanolamide family: a new class of anti-inflammatory agents? *Curr Med Chem* 2002; 9(6): 663-74.
- Lambert DM, DiPaolo FG, Sonveaux P et al. Analogues and homologues of N-palmitoylethanolamide, a putative endogenous CB(2) cannabinoid, as potential ligands for the cannabinoid receptors. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1440(2-3): 266-74.
- Guzman M. Cannabinoids: potential anticancer agents. *Nat Rev Cancer* 2003; 3(10): 745-55.
- Howlett AC, Barth F, Bonner TI et al. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. 2002; 54(2): 161-202.
- Melck D, Rueda D, Galve-Roperh I et al. Involvement of the cAMP/protein kinase A pathway and of mitogen-activated protein kinase in the anti-proliferative effects of anandamide in human breast cancer cells. *FEBS Lett* 1999; 463(3): 235-40.
- Sanchez MG, Ruiz-Llorente L, Sanchez AM, Diaz-Laviada I. Activation of phosphoinositide 3-kinase/PKB pathway by CB(1) and CB(2) cannabinoid receptors expressed in prostate PC-3 cells. Involvement in Raf-1 stimulation and NGF induction. *Cell Signal* 2003; 15(9): 851-9.
- Pertwee RG. Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacol Ther* 1997; 74(2): 129-80.
- Lopez-Rodriguez ML, Viso A, Ortega-Gutierrez S et al. Design, synthesis and biological evaluation of new endocannabinoid transporter inhibitors. *Eur J Med Chem* 2003; 38(4): 403-12.
- Howlett AC, Breivogel CS, Childers SR et al. Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. *Neuropharmacology*. 2004;47 Suppl 1:345-58.
- Mechoulam R, Frider E, Di Marzo V. Endocannabinoids. *Eur J Pharmacol* 1998; 359(1): 1-18.
- De Petrocellis L, Cascio MG, Di Marzo V. The endocannabinoid system: a general view and latest additions. *Br J Pharmacol* 2004; 141(5): 765-74.
- Hansen HS, Moesgaard B, Hansen HH et al. N-Acylethanolamines and precursor phospholipids - relation to cell injury. *Chem Phys Lipids*. 2000 Nov;108(1-2):135-50.
- Schmid HH. Pathways and mechanisms of N-acylethanolamine biosynthesis: can anandamide be generated selectively? *Chem Phys Lipids* 2000; 108(1-2): 71-87.
- Day TA, Rakhshan F, Deutsch DG et al. Role of fatty acid amide hydrolase in the transport of the endogenous cannabinoid anandamide. *Mol Pharmacol* 2001; 59(6): 1369-75.
- Deutsch DG, Glaser ST, Howell JM et al. The cellular uptake of anandamide is coupled to its breakdown by fatty-acid amide hydrolase. *J Biol Chem* 2001; 276(10): 6967-73.
- Giuffrida A, Beltramo M, Piomelli D. Mechanisms of endocannabinoid inactivation: biochemistry and pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 298(1): 7-14.
- Maccarrone M, Bari M, Battista N et al. Endocannabinoid degradation, endotoxic shock and inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2002; 1(1): 53-63.
- Bisogno T, MacCarrone M, De Petrocellis L et al. The uptake by cells of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous agonist of cannabinoid receptors. *Eur J Biochem* 2001; 268(7): 1982-9.
- Maccarrone M, Finazzi-Agro A. Anandamide hydrolase: a guardian angel of human reproduction? *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25(7): 353-7.
- Ueda N, Puffenberger RA, Yamamoto S et al. The fatty acid amide hydrolase (FAAH). *Chem Phys Lipids* 2000; 108(1-2): 107-21.