

23. Farmacologia e tossicologia dei derivati della cannabis e degli agonisti degli endocannabinoidi

Gerra Gilberto ¹, Amir Zaimovic ², Gerra Maria L. ³, Ciccocioppo Roberto ⁴, Cippitelli Andrea ⁴, Serpelloni Giovanni ⁵, Somaini Lorenzo ⁶,

¹ Drug Prevention and Health Branch, United Nations Office on Drugs and Crime, Vienna

² Programma Dipendenze "Ser.T", Azienda Unità Sanitaria Locale, Parma

³ Università di Parma, Scuola di Medicina

⁴ Dipartimento di Medicina Sperimentale e Sanità Pubblica, Università di Camerino

⁵ Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri

⁶ Dipartimento Dipendenze Ser.T Cossato, ASL BI, Biella

Introduzione

L'esistenza di recettori dei composti psicoattivi della Cannabis sativa (Devane et al., 1998; Pacher et al., 2006) e l'isolamento dei loro ligandi endogeni, l'anandamide (Devane et al., 1992) e il 2-arachidonoylglycerolo (Mechoulam et al., 1995; Sugiura et al., 1995) è stata descritta nei primi anni 90. Da allora diverse migliaia di rapporti scientifici hanno esplorato approfonditamente i principali aspetti del cosiddetto sistema endocannabinoide.

Questo sistema emerge oggi come importante modulatore competente delle funzioni fisiologiche non soltanto nel sistema nervoso centrale ma anche nel sistema nervoso autonomo, nel network endocrino, nel sistema immunitario, nel tratto gastrointestinale, nel sistema riproduttivo e nel sistema cardiovascolare (Piomelli, 2003; Kunos et al., 2008). Studi farmacologici rivelano che ci sono almeno due tipi di recettori dei cannabinoidi, il CB1 e il CB2, e che è ora disponibile un'ampia gamma di ligandi del CB1 e CB2 con diverse strutture chimiche (Howlet et al., 2002). Sono stati sviluppati diversi composti come agonisti del recettore CB1 dei cannabinoidi. Inoltre, negli ultimi anni sono state riportate diverse molecole che agiscono come modulatori (quali gli inibitori della degradazione degli endocannabinoidi o ricaptazione) (Janero et al., 2007). Il presente articolo analizza, con particolare enfasi sul Sistema Nervoso Centrale (SNC), le principali caratteristiche farmacologiche e tossicologiche delle diverse classi di molecole con proprietà agoniste al sistema del recettore cannabinoide CB1 dei attualmente in via di sviluppo.

Uso clinico della cannabis e dei suoi derivati

L'uso medico e ricreativo dei derivati della Cannabis sativa è stato praticato per migliaia di anni e oggi giorno la marijuana rappresenta la sostanza illegale più comunemente utilizzata negli Stati Uniti e in molti paesi del mondo. Gli effetti della Cannabis nell'uomo comprendono la compromissione della memoria a breve termine, deficit cognitivi, aumento della consapevolezza del corpo, della coordinazione, del sonno, tachicardia riflessa, ipotermia e alterazioni dell'umore con euforia e disforia che dipendono dalla prima esperienza con la sostanza, dallo stato umorale nel momento del primo utilizzo, dal dosaggio e dalla via di somministrazione (Pertwee, 1998). Il principale principio attivo della cannabis responsabile di questi effetti è il Δ^9 -tetraidrocannabinolo (THC) che, oltre a questi effetti acuti, è responsabile delle proprietà additive che portano a dipendenza in seguito a uso cronico (Rodriguez De Fonseca et al., 2005; Pertwee, 1998).

Negli ultimi anni sono state effettuate ricerche intensive sul meccanismo d'azione molecolare di azione dei derivati della Cannabis sativa e le nostre conoscenze sulla fisiologia e la farmacologia del sistema cannabinoide si è notevolmente espansa. Studi clinici per esempio, hanno mostrato che alcuni effetti dei cannabinoidi potrebbero essere utili dal punto di vista terapeutico e attualmente il nabilone, un analogo strutturale del THC, viene utilizzato in alcune parti degli Stati Uniti e del Regno Unito per il trattamento della nausea e del vomito indotti dalla chemioterapia. Lo stesso THC e il suo analogo, il Dronabinolo, vengono utilizzati come stimolanti dell'appetito nei pazienti affetti da AIDS (House of Lords, 1998) ma anche per ridurre la pressione intraoculare nei pazienti con glaucoma.

Gli studi clinici relativi agli estratti standardizzati della cannabis sono stati intrapresi per queste indicazioni (Wade et al., 2003; Berman et al., 2004), e in Canada è stato di recente approvato un nuovo farmaco basato sugli estratti della cannabis (Sativex A) come trattamento aggiuntivo del dolore sintomatico neuropatico associato alla sclerosi multipla. Tuttavia, l'utilità come agenti terapeutici di questi estratti, dello stesso THC, o dei composti sintetici con la stessa azione farmacologica del THC è notevolmente ostacolata dagli effetti psicotropici e dal loro potenziale di abuso.

Tossicità acuta della cannabis e dei suoi derivati

Apprendimento e memoria

La capacità di apprendimento e la memoria sono gravemente influenzate dall'uso acuto della cannabis. Per esempio è stato ripetutamente riferito che l'intossicazione acuta da cannabis provochi forti cambiamenti nello stato mentale soggettivo con effetti negativi sul rendimento neuropsicologico quale l'apprendimento portando ad una diminuita attenzione, e ad una riduzione dell'attenzione e della memoria di lavoro (Kalant, 2004; Lundqvist, 2005).

Negli studi che indagano gli effetti acuti tra i consumatori non pesanti, dosaggi più elevati di tetraidrocannabinolo (THC) sono stati associati a deficit in compiti di pianificazione e di controllo degli impulsi con effetti persistenti per 4 settimane dall'uso (Almeida et al., 2008). Confrontati con individui astinenti, i consumatori di cannabis mostrano deficit nelle abilità verbali, nel riconoscimento visivo, un ritardo nel richiamo visivo, e nei compiti di memo-

ria prospettica a breve e a lungo intervallo (McHale et al., 2008).

Anche se il deficit cognitivo associato all'uso di cannabis sembra reversibile e in correlazione all'esposizione recente alla sostanza piuttosto che irreversibile e in riferimento all'uso cumulativo nel corso della vita (Harrison et al., 2002), il forte uso di cannabis nel lungo termine (per più di 15 anni) è stato dimostrato che sia causa di una lieve e permanente compromissione del rendimento cognitivo, principalmente nella capacità di conservare nuove informazioni (Nuñez-Dominguez, 2001).

A livelli neuronali-anatomici questi effetti della cannabis possono essere spiegati con la capacità degli agonisti dei cannabinoidi di interferire con l'espressione della potenziamento a lungo termine (LTP) e alla depressione a lungo termine (LTD), i due principali meccanismi molecolari di apprendimento e di memoria, in aree fondamentali quali la corteccia prefrontale, lo striato, l'ippocampo e l'amigdala, e il nucleo accumbens (Riedel et al., 2005).

I dati elettrofisiologici e neurochimici hanno infatti, dimostrato che in queste strutture cerebrali l'attivazione dei recettori cannabinoidi CB1 con agonisti sia naturali che sintetici potrebbe portare ad una notevole alterazione sia della neurotrasmissione inibitoria gabaergica sia di quella eccitatoria glutamatergica che gioca un ruolo cruciale nel LTP e LTD (Hademark et al., 2009). Infine, studi integrati che associano tecniche di imaging cerebrale e compiti neuropsicologici hanno evidenziato che i consumatori di cannabis hanno prestazioni molto peggiori in un compito cosiddetto "facename task", e che questo deficit è associato ad una iperattività paraippocampale e ad una ipoattività frontocorticale (Nestor et al., 2008). In uno studio con l'impiego della PET è stato dimostrato anche che i forti consumatori di marijuana, sottoposti al test "Stroop task" hanno evidenziato deficit persistenti nel funzionamento cognitivo associato a ipoattività nel cingolato anteriore perigenuale sinistro della corteccia e nella corteccia prefrontale laterale sinistra nell'ippocampo. E' stato suggerito che queste differenze nell'attività cerebrale potrebbero giocare un ruolo nello sviluppo di disturbi neuropsichiatrici riferiti all'uso cronico di cannabis compresa la dipendenza (Eldreth et al., 2004).

Di interesse, esistono evidenze che mentre gli agonisti dei recettori dei cannabinoidi compromettono la formazione della memoria, gli antagonisti contrastano questi deficit o migliorano addirittura la memoria (Takahashi et al., 2005). A livello neurobiologico questi dati sono supportati da risultati che indicano una riduzione della plasticità neurale dopo un trattamento con agonisti dei cannabinoidi e un aumento della plasticità in seguito all'esposizione all'antagonista (Riedel et al., 2005).

Attività locomotoria

I recettori dei cannabinoidi delle performance locomotorie centrali sono presenti in modo molto fitto nel putamen caudato, nel nucleo di output dei gangli basali (ossia il globo pallido e il reticolato della sostanza nera) e nel cervelletto (Macie, 2005). Nonostante il ruolo importante di queste strutture cerebrali nel controllo e nel coordinamento motorio, non sorprende che l'uso di cannabis sia associato alla compromissione significativa della capacità motoria (Weinstein et al., 2008).

Gli effetti locomotori dei cannabinoidi sono stati ben documentati su animali e umani da laboratorio (Rodriguez De Fonseca et al., 1998; Sañudo-Peña et al., 2000). Inoltre, l'importanza dell'uso di cannabis nella compromissione della guida e negli incidenti stradali è stata provata in studi sperimentali ed

epidemiologici.

Indagini che hanno stabilito l'uso recente di cannabis attraverso la misurazione del THC nel sangue hanno dimostrato che i soggetti positivi al THC, in modo particolare quelli che avevano assunto alti dosaggi, sono da 3 a 7 volte più a rischio di produrre incidenti rispetto a quelli che non avevano utilizzato droghe o alcol (Ramahekers et al., 2004).

Una compromissione delle funzioni cognitive e delle abilità motorie associate all'uso di cannabis potrebbe durare più a lungo di una concentrazione misurabile di THC nel sangue con il rischio per i consumatori di marijuana di causare incidenti stradali, persino con basse concentrazioni di THC nel sangue (Khiabani et al., 2007). E' stato dimostrato di recente che il fumo di 17mg di THC determini una compromissione delle capacità cognitive-motorie che potrebbe essere importante per il movimento e il coordinamento alla guida mentre un dosaggio inferiore di 13mg di THC sembra provochi una minore compromissione di tali capacità nei consumatori regolari di marijuana (Weinstein et al., 2008), probabilmente in relazione agli effetti di tolleranza. Gli effetti correlati al dosaggio del THC nei deficit del controllo motorio e nel deterioramento dei tempi di risposta-reazione è stata ben documentata anche nei consumatori di cannabis a scopo ricreativo (Hunault et al., 2008).

Tossicità cronica della cannabis e suoi dei derivati

Dipendenza

La dipendenza è una delle più gravi conseguenze dell'uso cronico di cannabis. I dati epidemiologici indicano che un inizio precoce dell'uso di cannabis rappresenta un fattore di rischio significativo di abuso successivo. Inoltre, l'uso regolare o pesante di cannabis è stato associato ad un aumentato rischio di uso, abuso di altre sostanze illegali o di dipendenza da esse. Il rischio derivante dall'uso, abuso/dipendenza e l'uso di diverse altre sostanze diminuisce con l'età (Fergusson et al., 2006; Hall, 2006).

I risultati potrebbero supportare un modello causale generale quale quello dell'ipotesi della cannabis come "gateway" ossia come via di accesso ad altre sostanze, dove l'esposizione alla sostanza ha un impatto durevole sull'elaborazione edonica che porta ad un successivo aumento del rischio di dipendenza verso altre sostanze. Nonostante questo fenomeno sia stato descritto, i meccanismi causali effettivi alla base del teoria "gateway" rimangono poco chiari e perciò la sua importanza è in discussione (Fergusson et al., 2006; Lynskey et al., 2003).

La cross-tolleranza e la cross-sensibilità tra gli agenti cannabinoidi e gli oppiacei sono stati chiaramente dimostrati in studi di laboratorio sugli animali (Robledo et al., 2008; Fattore et al., 2005). E' stato dimostrato che il blocco elettivo dei recettori cannabinoidi prevenga la ricerca di varie sostanze tra cui l'eroina, la cocaina e l'alcol (Robledo et al., 2008; Economidou et al., 2006).

La comorbidità psichiatrica

Recenti studi hanno dimostrato che le risposte emotive ai cannabinoidi non sono sempre piacevoli e divertenti. Si possono manifestare piuttosto, ansia e panico in seguito all'attivazione dei recettori CB1 (Moreira et al., 2008). Dia-

gnosi di depressione, con ideazione suicida e anedonia, agorafobia sono stati riferite in modo significativo, associate ad un aumentata probabilità di uso di cannabis (Bovasso, 2001; Pedersen, 2008). Inoltre, i dati epidemiologici indicano che quasi il 90% degli adulti con dipendenza da cannabis sono risultati essere affetti da disturbi di personalità concomitanti, più di metà era affetto da disturbo paranoide e più di un terzo da disturbo borderline di personalità (Watzke et al., 2008). Le evidenze provenienti da studi longitudinali in diversi paesi hanno dimostrato che un uso regolare di cannabis è un sintomo predittivo di un aumentato rischio di diagnosi di schizofrenia o di sintomi di psicosi (Frisher et al., 2005). E' stato riscontrato che queste correlazioni persistano dopo il controllo di variabili contraddittorie come caratteristiche di personalità e uso di altre sostanze. Non risulta chiaro se il ricorso all'uso di cannabis avvenga come forma di automedicazione dei propri sintomi psicotici (Schofield et al., 2006). I dati comunque, che dimostrano che esiste una relazione tra il dosaggio di cannabis e lo sviluppo di disturbi psichiatrici potrebbe indicare che l'uso di cannabis costituisce un fattore causale nell'espressione di sintomi psicotici (Kawohl et al., 2008).

Il rischio di psicosi cronica come la schizofrenia sembra essere correlato alla vulnerabilità genetica predisponendo un sottogruppo di consumatori di cannabis a rischi più elevati (Luzi et al., 2008).

Gli studi che si focalizzano sui bambini e sugli adolescenti che sperimentano allucinazioni in seguito all'uso di cannabis hanno dimostrato che le reazioni simil-psicotiche erano associate a disturbo depressivo e alla durata dell'esposizione (Scott et al., 2009; Guy, 2007). Il complesso meccanismo neuro-farmacologico alla base dei sintomi psicotici indotti dalla cannabis risulta poco chiaro e i dati disponibili sono controversi. Da un lato il THC potrebbe essere considerato responsabile del rischio dei sintomi psicotici indotti dalla marijuana; dall'altro lato, diversi cannabinoidi, quali il cannabidiolo, potrebbe essere in grado di attenuare il rischio di disturbi psichiatrici (Morgan et al., 2008).

In generale, l'uso precoce di cannabis durante l'adolescenza sembra essere strettamente correlato ad un aumentato rischio di psicosi simil-schizofrenica (Di Forti et al., 2007; Laqueille et al., 2008), e vi sono ora sufficienti evidenze per mettere in guardia i giovani rispetto all'uso in quanto potrebbe aumentare il rischio di sviluppare una malattia psicotica successivamente nel corso della vita (Moore et al., 2007).

Gli agonisti naturali dei cannabinoidi e i loro derivati

Le proprietà terapeutiche della Cannabis sativa sono note da migliaia di anni. Le prime evidenze archeologiche dell'uso di cannabis risalgono a 10.000 anni fa. Tra il 2700 e il 2000 a.C. la cannabis era utilizzata in Cina per curare i dolori reumatici e altre patologie; in India e nell'America Centrale il suo utilizzo aveva un ruolo cruciale nella religione (Adams et al., 1996).

Come menzionato precedentemente, il principale principio attivo della cannabis è il Δ^9 tetraidrocannabinolo, tuttavia, sono stati isolati dalla cannabis almeno altri 66 cannabinoidi (Burns et al., 2006). Inoltre, la cannabis contiene diversi altri componenti noncannabinoidi biologicamente attivi.

Grazie alla presenza di tutte queste sostanze chimiche, la cannabis sotto forma di erba o gli estratti grezzi, nonostante l'efficacia terapeutica, non possono essere raccomandati a causa degli effetti collaterali e della tossicità che possono essere più elevati dei singoli agenti cannabinoidi; il loro consumo

può essere il risultato dell'esposizione a diverse sostanze chimiche biologicamente attive, ed è difficile controllare o prevedere gli effetti.

Importanti progressi nell'uso terapeutico della cannabis sono giunti dallo sviluppo di preparazioni contenenti principi attivi singoli o estratti purificati. Per esempio, l'efficacia terapeutica degli analoghi sintetici del D9-THC (ad es. Marinol, Cesamet) e le preparazioni medicinali della cannabis contenenti sia D9-THC sia cannabidiolo (es. Sativex, Cannador) nel trattamento del dolore cronico, del vomito, della cachessia sono stati ben documentati e offrono importanti vantaggi (Rahn et al., 2009; Walsh et al., 2003). Di recente, l'uso di questi derivati della cannabis per il trattamento dei disturbi del Sistema Nervoso Centrale è stato ampiamente esplorato e sono stati pubblicati nuovi brevetti che mostrano l'uso di questi agenti nella cura dell'epilessia, dei disturbi neurovegetativi e di disturbi psichiatrici per questi derivati della cannabis (Barbato, 2007; Kikuchi et al., 2009).

Gli agonisti sintetici del recettore cannabinoidale CB1

Sono ora trascorsi più di 20 anni dall'identificazione del THC quale principale costituente psicoattivo della Cannabis sativa (Gaoli et al., 1964; Mechoulam, 1970), dalla caratterizzazione e dalla clonazione molecolare (Devane et al., 1988; Matzuda et al., 1990; Herkenham et al., 1991) dei recettori CB1 e CB2. Le ampie ricerche sulla struttura e sull'attività dei costituenti naturali della cannabis e sullo sviluppo dei composti sintetici con elevata potenza e stereo-selettività hanno ora aperto nuove possibilità di focalizzarsi sul sistema cannabinoidale utilizzando agonisti selettivi per il recettore con migliorate potenzialità farmacoterapeutiche e ridotta tossicità. Queste nuove molecole consistono in agonisti che si legano direttamente ai recettori cannabinoidi e ad agenti in grado di aumentare la funzione endocannabinoidale attraverso un aumento della sintesi e una riduzione della ricaptazione e la degradazione dei ligandi endogeni nei recettori dei cannabinoidi.

Agonisti selettivi dei recettori CB1 e CB2: secondo l'International Union of Pharmacology (Howlett, 2002), gli agonisti dei cannabinoidi possono essere suddivisi in cannabinoidi classici, non-classici, amminoalchilindoli e eicosanoidi. Di recente sono stati descritti una serie di nuovi composti tra cui i derivati del sulfonileteri, diarileteri (Mauler et al., 2002) e del pirrolo (Trazia et al., 2003).

I cannabinoidi classici sono derivati tricyclici del dibenzopirano che sono sia composti presenti in natura nella pianta della Cannabis sativa, oppure analoghi sintetici di questi composti.

Le forme più rappresentative sono il THC, un agonista parziale dei recettori CB1 e CB2 e principale costituente psicoattivo della Cannabis, insieme al 11-idrossi-8-THC-dimetileptil (HU-210), un composto sintetico che mostra la più elevata potenza nel recettore CB1 (Howlett, 2002). I cannabinoidi classici sono in genere agonisti del CB1/CB2 anche se cambiamenti nella molecola del THC hanno portato alla sintesi di agonisti selettivi per il recettore CB2 come il composto HU-308 (Hanus et al., 1999; Mechoulam, 2008).

I cannabinoidi non-classici sono analoghi sintetici del THC che mancano dell'anello del diidropirano. La forma più rappresentativa è il composto della Pfizer CP-55 940, un agonista potente e completo sia per recettori CB1 che per CB2, che è stato utilizzato per caratterizzare il recettore CB1 per la prima volta (Devane, 1988; Herkenham et al., 1990). Gli Amminoalchilindoli sono state le prime molecole non-cannabinoidi che hanno mostrato un'attività

cannabimimetica (Pacheco et al., 1991). R-(+)-WIN-55,212-2 è la forma più rappresentativa, e si comporta come un agonista completo sia nei recettori CB1 che nei CB2 con un'attività intrinseca più elevata per il recettore CB2. Inoltre, di recente sono state scoperte diverse strutture chimiche e descritte come ligandi preferenziali dei recettori CB2. (Srivastava, 2009; Moore et al., 2008).

Gli Eicosanoidi sono prototipi di endocannabinoidi, dei quali l'anandamide (un agonista parziale per entrambi i recettori cannabinoidi) e il 2-AG (un agonista completo sia dei recettori CB1 che CB2) sono i composti più rappresentativi.

Sulla base della struttura dell'anandamide, minimi cambiamenti chimici hanno portato allo sviluppo degli agonisti selettivi CB1 di prima generazione, di cui R-(+)- metanandamide e l'arachidonil-2'-cloroetilamidene (ACEA) sono le forme più rappresentative (Hillard et al., 1999). Ad oggi queste molecole sono state testate soltanto a livello preclinico e il loro potenziale terapeutico non è stato ancora interamente esplorato. Ci si aspetta che questa seconda ondata di cannabinoidi agonisti offra importanti vantaggi terapeutici rispetto alla prima generazione di derivati classici della cannabis.

Gli studi di laboratorio sugli animali tuttavia, hanno chiaramente dimostrato che queste molecole possono mantenere il profilo di tossicità del THC. Per esempio è stato dimostrato che agonisti dei recettori CB1 come il WIN-55,212-2 e il CP-55 940 potrebbe causare deficit locomotori, compromettere la memoria e causare potenzialmente abuso. E' risaputo per esempio, che nei ratti l'attivazione diretta dei recettori CB1 con CP 55,940 e WIN 55,212-2 a seconda del dosaggio aumentano il consumo volontario di alcol (Colombo et al., 2002; Colombo et al., 2005) e la motivazione a far uso di alcol [86], mentre il THC ripristina in modo significativo la risposta precedentemente rinforzata con la birra (McGregor et al., 2005). E' stato dimostrato anche che la somministrazione dell'agonista del recettore CB1, WIN 55,212-2 durante l'astinenza aumenta il consumo di alcol nel momento in cui viene resa nuovamente disponibile la soluzione alcolica (Lopez-Moreno et al., 2004). Alla luce della potenzialità d'abuso e degli effetti tossicologici riscontrati con questi agenti, lo sviluppo clinico delle molecole che agiscono come agonisti dei recettori CB1 resta una sfida. Sono state di recente sfruttate nuove possibilità con lo sviluppo di agonisti sintetici dei cannabinoidi che non attraversano la barriera emato-encefalica. Queste molecole non mostrano potenzialità di abuso e possono essere utilizzate per curare disturbi periferici, come l'infiammazione o il glaucoma (Pertwee, 2009). Sono stati fatti inoltre sforzi per sviluppare molecole che attivano selettivamente i recettori CB2. Infatti, questi agenti non sembrano mostrare lo stesso potenziale di abuso e la stessa tossicità degli agonisti dei cannabinoidi non selettivi o delle molecole che attivano i recettori CB1 (Pertwee, 2009).

Modulatori del sistema endocannabinoide

Nel 1992 è stato estratto dal cervello di maiale e chiamato anandamide, dalla parola sanscrita che significa benedizione, il primo ligando endogeno che esercita un'attività simile al THC, il lipide arachidoniletanolamide (Devane et al., 1992). E' stato dimostrato che l'Anandamide mima in vivo gli effetti farmacologici e comportamentali del THC. Nel 1995 è stato riportato che il 2-arachidonol glicerolo (2-AG), un monoacilglicerolo coinvolto come inter-

medo in vari percorsi di segne, interagisca con i recettori dei cannabinoidi (Mechoulam et al., 1995; Piomelli, 2003). Successivamente, è stato dimostrato come altri composti endogeni compresi il diomo-g-linolenoidetanamide e il docosatetraenooidetanamide (Hanus et al., 1993), il 2-arachidonoilgliceril etero (Hanus et al., 2001), l'O-arachidonoil-etanolamine (Porter et al., 2002, l' N-arachidonoildopamina (Bisogno et al., 2000) si leghino ai recettori dei cannabinoidi.

L'Anandamide e il 2-AG sono i due ligandi endocannabinoidi più abbondantemente presenti nel cervello (Piomelli, 2003; Stella, 1997). Sono coinvolti diversi percorsi nella sintesi e nel rilascio su richiesta dell'anandamide e del 2-AG. L'Anandamide è formato dalla lisi del precursore fosfolipide, N-arachidonoil-fosfatidiletanolamina (NAPE) (Piomelli, 2003; Cadas et al., 1996). Il 2-AG, d'altro canto, è un monogliceride e la sua formazione è strettamente associata al metabolismo del triacilglicerolo, principalmente attraverso l'attivazione del recettore specifico fosfolipasi fosfatidilinositolo C (Piomelli, 2003; Stella, 1997). Una volta che si formano l'anandamide e il 2-AG, agiscono sui recettori CB1 nella stessa cellula in cui si sono formati, attraverso la diffusione all'interno del plasmalemma, o possono essere rilasciati nel fluido extracellulare dove agiscono come trasmettitore retrogrado per attivare i recettori cannabinoidi presinaptici (Piomelli, 2003).

La trasmissione del segnale degli endocannabinoidi viene terminata da un processo a due fasi che comprende il trasporto nelle cellule e l'idrolisi attraverso due sistemi enzimatici specifici. Entrambe le fasi esercitano uno stretto controllo dei livelli degli endocannabinoidi nei tessuti eliminando rapidamente queste molecole. La ricaptazione degli endocannabinoidi è mediata da un trasportatore (Beltramo et al., 1997), che è ampiamente distribuito in tutto il cervello (Giuffrida et al., 2001). Il trasportatore è una molecola che lavora in un modo simile a quello di altri trasportatori di lipidi: facilita l'assorbimento sia dell'anandamide sia del 2-AG in modo indipendente dall'energia (Beltramo et al., 1997). Il trasportatore dell'anandamide viene saturato, mostra una specificità per il substrato e può essere bloccato attraverso una sostanza specifica quale l'AM404 (Giuffrida et al., 2001). La degradazione degli endocannabinoidi viene effettuata attraverso due sistemi enzimatici specifici: l'idrolasi dell'ammide degli acidi grassi (FAAH) (Cravatt et al., 1996) e la monoacilglicerolo lipasi (MAGL) (Dinh et al., 2002). FAAH è un enzima di membrana che appartiene alla famiglia delle serine idrolasi. FAAH è ampiamente distribuito in tutto l'organismo, con elevate concentrazioni nel cervello e nel fegato. FAAH può degradare numerose ammidi degli acidi grassi, comprese le aciletanolamidi quali l'anandamide e il fattore del sonno oleamide. Anche se FAAH può inattivare il 2-AG, il principale enzima responsabile dell'inattivazione di questo monogliceride è il MAGL (Dinh et al., 2002; Gulyas et al., 2004). E, aspetto questo interessante, in uno studio recente è stata descritta l'esistenza di proteine che si legano agli acidi grassi (FABPs) che sono ampiamente presenti nel cervello e che funzionano come trasportatori AEA intracellulari. Le proteine FABPs facilitano il trasporto dell'AEA dalla membrana plasmatica al FAAH facilitando così l'inattivazione di questo endocannabinoide (Kaczocha et al., 2009).

Recentemente sono stati sviluppati diversi agenti in grado di aumentare indirettamente il tono endocannabinoide. Per esempio è stato descritto un aumento significativo dell'attività endocannabinoide cerebrale (sia dell'anandamide che del 2-AG) dopo un'inibizione selettiva del trasportatore con l'AM404 (Giuffrida et al., 2001). Alternativamente, è stato illustrato un aumento selettivo di anandamide e di 2-AG in seguito a inibizione specifica degli enzimi de-

gradativi FAAH o MAGL ad opera di diversi agenti tra cui l'URB597, il JZL184 e l'OMDM169 (Makriyannis, Nikas et al., 2009; Makriyannis, Pandarinathan et al., 2009). Infine, l'identificazione delle proteine FABPs come trasportatori intracellulari di AEA ha aperto la possibilità di sviluppare inibitori del FABPs per aumentare i livelli degli endocannabinoidi (Kaczocha et al., 2009).

Altro aspetto interessante, questi modulatori del sistema endocannabinoide non soltanto sembrano essere privi di potenzialità di sviluppare abuso, ma in alcune condizioni sperimentali riducono i comportamenti additivi correlati. Recenti studi per esempio, hanno dimostrato che l'inibizione di FAAH con URB597 ha effetti neutri sull'effetto di rinforzo dell'etanolo, dell'eroina, del THC e della cocaina (Cipitelli et al., 2008; Justinova et al., 2008). Inoltre, ulteriori studi sulla nicotina hanno dimostrato che l'URB597 blocca l'espressione del CCP (condition place preference) indotto dalla nicotina, e l'acquisizione della auto-somministrazione e ricaduta della nicotina (Scherma et al., 2008; Forget et al., 2009). Coerentemente con questo ultimo risultato, è stato dimostrato che l'aumento del tono degli endocannabinoidi successivo all'inibizione del trasporto attraverso l'AM404 diminuisca l'autosomministrazione di etanolo così come la gratificazione indotta da cocaina in un paradigma di auto stimolazione intracraniale (Cipitelli et al., 2009; Vlachov et al., 2008). Considerando che gli endocannabinoidi vengono sintetizzati e rilasciati su richiesta, si potrebbe supporre che l'inibizione selettiva del loro riassorbimento, del trasporto intracellulare e della degradazione porterebbe ad un aumento specifico della neurotrasmissione degli endocannabinoidi in quelle aree cerebrali in cui la neurotrasmissione viene attivata. Al contrario, la somministrazione di agonisti diretti dei recettori determinerebbe una stimolazione generalizzata della neurotrasmissione cannabinoide cerebrale. Queste due diverse modalità di attivazione del sistema potrebbero spiegare la mancanza di potenziale di abuso osservato con modulatori indiretti della neurotrasmissione cannabinoide.

Sviluppi attuali e futuri

Anche se i dati clinici attuali supportano l'efficacia del THC e dei derivati del THC nel trattamento di condizioni patologiche come il dolore neuropatico, la sclerosi multipla, l'ansia, il glaucoma, la nausea e il vomito (Pacher et al., 2006) dovrebbe essere usata cautela nell'uso di questi farmaci a causa del loro elevato livello di tossicità e di potenziale di abuso. Gli agenti che agiscono come modulatori indiretti del sistema degli endocannabinoidi potrebbero offrire gli stessi effetti terapeutici, ma senza il potenziale abuso e con ridotta tossicità.

Si prefigurano futuri sviluppi clinici di queste molecole nel trattamento delle condizioni patologiche sopra menzionate. Inoltre, i dati emergenti indicano che sostanze che stimolano il sistema endocannabinoide potrebbero avere potenzialità terapeutiche nel trattamento di malattie psichiatriche quali l'ansia, la depressione e la dipendenza (Clapper et al., 2009; Piomelli et al., 2006). Infine, una quantità crescente di evidenze indica che i recettori dei cannabinoidi possono giocare un ruolo importante nella regolazione di numerose funzioni periferiche. Perciò, si prefigura spazio per lo sviluppo di nuovi agenti con proprietà di agonisti selettivi per il sistema dei recettori periferici dei cannabinoidi (Akopian et al., 2009).

Bibliografia

- Devane WA, Dysarz FA, Johnson M, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharm* 1988; 34(5): 605-613.
- Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990; 346(6284): 561-564.
- Devane WA, Hanus L, Breuer A. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 1992; 258, 1946-1949.
- Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 1995; 50(1): 83-90.
- Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, et al. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 215(1): 89-97.
- Piomelli D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nature Rev Neurosci* 2003; 4(11): 873-884.
- Rodriguez de Fonseca F, Del Arco I, Bermudez-Silva FJ, Bilbao A, Cippitelli A, Navarro M. The endocannabinoid system: Physiology and pharmacology. *Alcohol Alcohol* 2005; 40(1): 2-14.
- Pacher P, Batkai S, Kunos G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol Rev* 2006 Sep;58(3): 389-462.
- Pacher P, Mukhopadhyay P, Mahonraj R, Godlewski G, Batkai S, Kunos G. Modulation of the endocannabinoid system in cardiovascular disease: therapeutic potential and limitations. *Hypertension* 2008; 52(4):601-607.
- Kunos G, Osei-Hyiaman D, Batkai S, Sharkey KA, Makriyannis A. Should peripheral CB(1) cannabinoid receptors be selectively targeted for therapeutic gain? *Trends Pharmacol Sci* 2009 Jan ;30(1):1-7.
- Kunos G, Osei-Hyiaman D, Liu J, Godlewski G, Batkai S. Endocannabinoids and the control of energy homeostasis. *J Biol Chem* 2008; 283(48):33021-33025.
- Howlett AC, Barth F, Bonner TI, et al. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev* 2002; 54(2): 161-202.
- Janero DR, Makriyannis A. Targeted modulators of the endogenous cannabinoid system: Future medications to treat addiction disorders and obesity. *Curr Psychiatry Rep* 2007; 9(5): 365-373.
- Pertwee RG. The central pharmacology of psychotropic cannabinoids. *Pharmacol Therapeut* 1998; 36: 189-261.
- House of Lords, The United Kingdom Parliament 1998. [<http://www.parliament.the-stationery-office.co.uk/pa/ld199798/ldselect/ldsctech/151/15101.htm>]
- Wade DT, Robson P, House H, Makela P, Aram J. A preliminary controlled study to determine whether whole-plant cannabis extracts can improve intractable neurogenic symptoms. *Clin Rehab* 2003; 17: 21-29.
- Berman JS, Symonds C, Birch R. Efficacy of two cannabis based medicinal extracts for relief of central neuropathic pain from brachial plexus avulsion: Results of a randomised controlled trial. *Pain* 2004; 112(3): 299-306.
- Pryce G, Baker D. Emerging properties of cannabinoid medicines in management of multiple sclerosis. *Trends Neurosci* 2005; 28(5): 272-276.
- Kalant H. Adverse effects of cannabis on health: An update of the literature since 1996. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004; 28(5): 849-863.
- Gonzalez R. Acute and non-acute effects of cannabis on brain functioning and neuropsychological performance. *Neuropsychol Rev* 2007; 17(3): 347-361.
- Vadhan NP, Hart CL, Van Gorp WG, et al. Acute effects of smoked marijuana on decision making, as assessed by a modified gambling task, in experienced marijuana users. *J Clin Exp Neuropsychol* 2007; 29(4): 357-364.
- Lundqvist T. Cognitive consequences of cannabis use: Comparison with abuse of stimulants and heroin with regard to attention, memory and executive functions. *Pharmacol Biochem Behav* 2005; 81(2): 319-330.
- Almeida PP, Novaes MA, Bressan RA, Lacerda AL. Review: Executive functioning and cannabis use. *Rev Bras Psiquiatr* 2008; 30(1): 69-76.
- McHale S, Hunt N. Executive function deficits in short-term abstinent cannabis users. *Hum Psychopharmacol* 2008; 23(5): 409-415.
- Harrison GP Jr, Gruber AJ, Hudson JL, Huestis MA, Yurgelun-Todd D. Cognitive measures in long-term cannabis users. *J Clin Pharmacol* 2002; 42(11 Suppl): 41S-47S.

- Núñez-Domínguez LA. Cognitive deterioration after consumption of cannabis. *Rev Neurol* 2001; 33(5): 482-486.
- Riedel G, Davies SN. Cannabinoid function in learning, memory and plasticity. *Handb Exp Pharmacol* 2005; 168: 445-477.
- Ademark L, Talani G, Lovinger DM. Endocannabinoid-dependent plasticity at GABAergic and glutamatergic synapse in the striatum is regulated by synaptic activity. *Eur J Neurosci* 2009; 29(1): 32-41.
- Nestor L, Roberts G, Garavan H, Hester R. Deficits in learning and memory: Parahippocampal hyperactivity and frontocortical hypoactivity in cannabis users. *Neuroimage* 2008; 40(3):1328-1339.
- Eldreth DA, Matochik JA, Cadet JL, Bolla KI. Abnormal brain activity in prefrontal brain regions in abstinent marijuana users. *Neuroimage* 2004; 23(3): 914-920.
- Takahashi RN, Pamplona Fa, Fernandes MS. The cannabinoid antagonist SR141716A facilitates memory acquisition and consolidation in the house elevated T-maze. *Neurosci Lett* 2005; 380(3): 270-5.
- Riedel G, Davies SN. Cannabinoid function in learning, memory and plasticity. *Handb Exp Pharmacol* 2005; 168: 445-477.
- Macie K. Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. *Handb Exp Pharmacol* 2005; 168: 299-325.
- Weinstein A, Brickner O, Lerman H, et al. A study investigating the acute dose-response effects of 13 mg and 17 mg Delta 9- tetrahydrocannabinol on cognitive-motor skills, subjective and autonomic measures in regular users of marijuana. *J Psychopharmacol* 2008; 22(4): 441-451.
- Rodriguez de Fonseca F, Del Arco I, Martin-Calderon JL, Goritti MA, Navarro M. Role of the endogenous cannabinoid system in the regulation of motor activity. *Neurobiol Dis* 1998; 5(6 PT B): 483-501.
- Roser P, Gallinat J, Weinberg G, Juckel G, Gorynia I, Stadelmann AM. Psychomotor performance in relation to acute oral administration of Delta9-tetrahydrocannabinol and standardized cannabis extract in healthy human subjects *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2009; 259(5): 284-92.
- Sañudo-Peña MC, Romero J, Seale GE, Fernandez-Ruiz JJ, Walker JM. Activational role of cannabinoids on movement. *Eur J Pharmacol* 2000; 391(3): 269-74.
- Ramaekers JG, Berghaus G, Van Laar M, Drummer OH. Dose related risk of motor vehicle crashes after cannabis use. *Drug Alcohol Depend* 2004; 73(2): 109-119.
- Khiabani HZ, Christophersen AS, Mørland J. Cannabis affects driving skills. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2007; 127(5): 583-584.
- Weinstein A, Brickner O, Lerman H, et al. A study investigating the acute dose-response effects of 13mg and 17mg Delta 9- tetrahydrocannabinol on cognitive-motor skills, subjective and autonomic measures in regular users of marijuana. *J Psychopharmacol* 2008; 22(4):441-451.
- Hunault CC, Mensinga TT, Böcker KB, et al. Cognitive and psychomotor effects in males after smoking a combination of tobacco and cannabis containing up to 69 mg delta-9- tetrahydrocannabinol (THC). *Psychopharmacol* 2008; 201(2): 171-181.
- Fergusson DM, Boden JM, Horwood LJ. Cannabis use and other illicit drug use: Testing the cannabis gateway hypothesis. *Addiction* 2006; 101(4): 556-569.
- [43] Hall WD. Cannabis use and the mental health of young people. *Aust N Z J Psychiatry* 2006; 40(2):105-113.
- Lynskey MT, Heath AC, Bucholz KK, et al. Escalation of drug use in early-onset cannabis users vs co-twin controls. *JAMA* 2003; 289(4): 427-433.
- Robledo P, Berrendero F, Ozaita A, Maldonado R. Advances in the field of cannabinoid-opioid cross-talk. *Addict Biol* 2008; 13(2): 213-224.
- Fattore L, Deiana S, Spano SM, et al. Endocannabinoid system and opioid addiction: Behavioural aspects. *Pharmacol Biochem Behav* 2005; 81(2): 343-359.
- Maldonado R, Valverde O, Berrendero F. Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. *Trends Neurosci* 2006; 29(4): 225-232.
- Economidou D, Mattioli L, Cifani C, et al. Effect of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR-1411716° on ethanol selfadministration and ethanol-seeking behaviour in rats *Psychopharmacol* 2006; 183(4): 394-403
- Moreira FA, Lutz B. The endocannabinoid system: Emotion, learning and addiction. *Addict Biol* 2008; 13(2): 196-212.
- Bovasso GB. Cannabis abuse as a risk factor for depressive symptoms. *Am J Psychiatry* 2001; 158(12): 2033-2037.
- Tournier M, Sorbara F, Gindre C, Swendsen JD, Verdoux H. Cannabis use and anxiety in daily life: A naturalistic investigation in a non-clinical population. *Psychiatry Res* 2003; 118(1): 1-8.



- Pedersen W. Does cannabis use lead to depression and suicidal behaviours? A population-based longitudinal study. *Acta Psychiatr Scand* 2008; 118(5): 395-403.
- Watzke AB, Schmidt CO, Zimmermann J, Preuss UW. Personality disorders in a clinical sample of Cannabis dependent young adults. *Fortschr Neurol Psychiatr* 2008; 76(10): 600-605.
- Frisher M, Crome I, Martino O, Croft P. assessing the impact of cannabis use on trends in diagnosed schizophrenia in the United Kingdom from 1996 to 2005. *Schizophr Res* 2009; 113(2-3): 123-128.
- Schofield D, Tennat C, Nash L et al. reasons for cannabis use in psychosis. *Austr N Z J Psychiatry* 2006; 40(6-7): 570-574.
- Kawohl W, Rössler W. Cannabis and Schizophrenia: New findings in an old debate. *Neuropsychiatr* 2008; 22(4): 223-229.
- Luzi S, Morrison PD, Powell J, di Forti M, Murray RM. What is the mechanism whereby cannabis use increases risk of psychosis? *Neurotox Res* 2008; 14(2-3): 105-112.
- Scott J, Martin G, Bor W, Sawyer M, Clark J, McGrath J. The prevalence and correlates of hallucinations in Australian adolescents: Results from a national survey. *Schizophr Res* 2009;107(2-3): 179-185..
- Guy, G., Platt, B.: GB2434312A (2007).
- Morgan CJ, Curran HV. Effects of cannabidiol on schizophrenialike symptoms in people who use cannabis. *Br J Psychiatry* 2008; 192(4): 306-307.
- Di Forti M, Morrison PD, Butt A, Murray RM. Cannabis use and psychiatric and cognitive disorders: the chicken or the egg? *Curr Opin Psychiatry* 2007; 20(3): 228-234.
- Laqueille X, Launay C, Kanit M. Induced psychiatric and somatic disorders to cannabis. *Ann Pharm Fr* 2008; 66(4): 245-254.
- Moore TH, Zammit S, Lingford-Hughes A, et al. Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: A systematic review. *Lancet* 2007; 370(9584): 319-328.
- Adams IB, Martin BR. Cannabis: Pharmacology and toxicology in animals and humans. *Addiction* 1996; 91:1985-1614.
- Burns TL, Ineck JR. Cannabinoid analgesia as a potential new therapeutic option in the treatment of chronic pain. *The Annals of Pharmacotherapy* 2006; 40(2): 251-260
- Rahn EJ, Hohmann AG Cannabinoids as pharmacotherapies for neuropathic pain: From the bench to the bedside. *Neurotherapeutics* 2009; 6(4): 713-737.
- Walsh D, Nelson KA, Mahmoud FA. Established and potential therapeutic applications of cannabinoids in oncology. *Support Care Cancer* 2003; 11(3): 137-143. Epub 2002 Aug 21 Review.
- Barbato, L.: WO2007002186 (2007).
- Coulson, C.M., Tennant, C.G., Perdices, M.: WO2006017892 (2006).
- Kikuchi, T., Maeda, K., Guy, G., Robson, P., Stott, C.: WO2009087351 (2009).
- Gaoni Y, Mechoulam R. Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J Am Chem Soc* 1964; 86: 1646-164.
- Mechoulam. Marihuana chemistry. *Science* 1970; 168(936): 1159-1166.
- Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: A quantitative in vitro autoradiographic study. *J of Neurosci* 1991; 11(2): 563-583.
- Howlett AC. The cannabinoid receptors. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2002; 68-69: 619-631.
- Mauler F, Mittendorf J, Horvath E, De Vry J. Characterization of the diarylether sulfonyl ester (-)-1-3- (2-hydroxymethylindanyl-4-oxy)phenyl-4,4,4-trifluoro-1-sulfonate (BAY 38-7271) as a potent cannabinoid receptor agonist with neuroprotective properties. *J of Pharmacol Experim Therapeutics* 2002; 302(1): 359-368.
- Tarzia G, Duranti A, Tontini A, et al. Synthesis and structureactivity relationships of a series of pyrrole cannabinoid receptor agonists. *Bioorg Med Chem* 2003; 11(18): 3965-3973.
- Hanus L, Breuer A, Tchilibon S, et al. HU-308: A specific agonist for CB(2), a peripheral cannabinoid receptor. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96(25): 14228-14233.
- Mechulam R, Kogan N WO2008107878 (2008).
- Herkenham M, Lynn AB, Little MD, et al. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87:1932-1936.
- Pacheco M, Childers SR, Arnold R, Casiano F, Ward SJ. Aminoalkylindoles: Actions on specific G-protein-linked receptors. *J Pharmacol Experim Therapeutics* 1991; 257(1): 170-183.
- Srivastava, B., Patel, P.R.: WO2009063495 (2009).
- Moore, B.M., Bhattacharjee, H., Yates, C.R., Stuart, L.: WO2008109027 (2008).
- Hillard CJ, Manna S, Greenberg MJ, et al. Synthesis and characterization of potent and selective agonists of the neuronal cannabinoid receptor (CB1). *J Pharm Exp Ther* 1999; 289(3): 1427-1433.
- Colombo G, Serra S, Brunetti G, et al. Stimulation of voluntary ethanol intake by cannabinoid receptor agonists in ethanolpreferring sP rats. *Psychopharmacol* 2002; 159(2):

- 181-187.
- Colombo G, Serra S, Vacca G, Gessa GL, Carai MA. Suppression by baclofen of the stimulation of alcohol intake induced by morphine and WIN 55,212-2 in alcohol-preferring rats. *Eur J Pharmacol* 2004; 492(2-3): 189-193.
- Gallate JE, Saharov T, Mallet PE, McGregor IS. Increased motivation for beer in rats following administration of a cannabinoid CB1 receptor agonist. *Eur J Pharmacol* 1999; 370(3): 233-240.
- McGregor IS, Dam KD, Mallet PE, Gallate JE. Delta9-THC reinstates beer- and sucrose-seeking behaviour in abstinent rats: comparison with midazolam, food deprivation and predator odour. *Alcohol* 2005; 40(1):35-45.
- Lopez-Moreno JA, trigo-DiazJM, Rodriguez de fonseca F, et al. Nicotine in alcohol deprivation increases alcohol operant self-administration during reinstatement. *Neuropharmacol* 2004; 47(7): 1036-1044.
- Pertwee RG. Emerging strategies for exploiting cannabinoid receptor agonists as medicine. *Br J Pharmacol* 2009; 156(3): 397- 411
- Hanus L, Gopher A, Almog S, Mechoulam R. Two new unsaturated fatty acid ethanolamides in brain that bind to the cannabinoid receptor. *J Med Chem* 1993; 36(20): 3032-3034.
- Hanus L, Abu-Lafi S, Fride E, et al. 2-arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98(7): 3662-3665.
- Porter AC, Sauer JM, Knierman MD, et al. Characterization of a novel endocannabinoid, virodhamine, with antagonist activity at the CB1 receptor. *J Pharmacol Experim Therapeutics* 2002; 301(3): 1020-1024.
- Bisogno T, Melck D, Bobrov MY, et al. N-acyl-dopamines: Novel synthetic CB(1) cannabinoid-receptor ligands and inhibitors of anandamide inactivation with cannabimimetic activity in vitro and in vivo. *Biochem J* 2000; 351(Pt 3): 817-824.
- Stella N, Schweitzer P, Piomelli D. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature* 1997; 388: 773-778.
- Cadas H, Gaillet S, Beltramo M, Venance L, Piomelli D. Biosynthesis of an endogenous cannabinoid precursor in neurons and its control by calcium and cAMP. *J Neurosci* 1996; 16(12): 3934-3942.
- Beltramo M, Stella N, Calignano A, Lin SY, Makriyannis A, Piomelli D. Functional role of high-affinity anandamide transport, as revealed by selective inhibition. *Science* 1997; 277(5329): 1094-1097.
- Giuffrida A, Beltramo M, Piomelli D. Mechanisms of endocannabinoid inactivation: Biochemistry and pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 298(1): 7-14.
- Cravatt BF, Giang DK, Mayfield SP, Boger DL, Lerner RA, Gilula NB. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. *Nature* 1996; 384 (6604): 83- 87.
- Dinh TP, Carpenter D, Leslie FM, et al. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. *Proceedings of the Natl Acad Sci* 2002; 99(21): 10819-10824.
- Gulyas AI, Cravatt BF, Bracey MH, et al. Segregation of two endocannabinoid-hydrolyzing enzymes into pre- and postsynaptic compartments in the rat hippocampus, cerebellum and amygdala. *Eur J of Neurosci* 2004; 20(2): 441-458.
- Kaczocha M, Glaser ST, Deutsch DG. Identification of intracellular carriers for the endocannabinoid anandamide. *Proceeding Natl Acad Sci USA* 2009 Apr14; 106(15):6375
- Makriyannis A, Pandarinathan L, Zvonok N, Parkkari T, Chapman L WO2009117444 (2009).
- Makriyannis, A., Nikas, S.P., Alapafuja, S.O., Shukla, V.: WO2009052320 (2009).
- Cipitelli A, Cannella N, Branconi S, et al. Increase of brain endocannabinoid anandamide levels by FAAH inhibition and alcohol abuse behaviours in the rat. *Psychopharmacol* 2008; 198(4): 449-460
- Solinas M, Panlilio LV, Tanda G, Makriyannis A, Matthews SA, Goldberg SR. Cannabinoid agonists but not inhibitors of endogenous cannabinoid transport or metabolism enhance the reinforcing efficacy of heroin in rats. *Neuropsychopharmacol* 2005; 30(11): 2046-2057.
- Justinova Z, Manieri Ra, Bortolato M, et al. Fatty acid amide hydrolase heightens anandamide signalling without producing reinforcing effects in primates. *Biol Psychiatry* 2008; 64(11): 930- 937
- Scherma M, Panlilio LV, Fadda P, et al. Inhibition of anandamide hydrolysis by cyclohexyl carbamic acid 3-cabamoyl-3-yl ester (URB597) reverses abuse-related behavioural and neurochemical effects of nicotine in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 327(2): 482-490.
- Forget B, Coen KM, le Foll B. Inhibition of fatty acid amide hydrolase reduces reinstatement of nicotine seeking but not break point for nicotine self-administration-comparison with CB(1) receptor blockade. *Psychopharmacol* 2009; 205(4): 613-624.
- Cipitelli A, Bilbao A, Navarro M, et al. Selective reduction of ethanol self-administration



- by the Anandamide trasport inhibitor AM 404. *Eur J Neurosci* 2005; 21(8): 2243-2251.
- Vlachov S, Stamatopoulou F, Nomikos GG, Panagis G. enhancement of endocannabinoid neurotransmission through CB1 cannabinoid receptors counteracts the reinforcing and psychostimulant effects of cocaine. *Int J Neuropsychopharmacol* 2008; 11(7): 905-923.
 - Pacher P, Batkai S, Kunos G. The endocannabinond system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol rev* 2006; 58(3): 389-462.
 - Clapper JR, Magieri RA, Piomelli D. the endocannabinond system as a target for the treatment of cannabis dependence. *Neuropharmacology* 2009; 56(Suppl 1): 235-243.
 - Piomelli D, Tarzia G, Duranti A, et al. Pharmacological profile of the selective FAAH inhibitor KDS-4103 (URB597). *CNS Drug Rev* 2006; 12(1) 21-38.
 - Akopian AN, Ruparel NB, Jeske NA, Patwardhan A, Hargreaves KM. Role of ionotropic cannabinoid receptors in peripheral antinociception and antihyperalgesia. *Trends Pharmacol Sci* 2009; 30(2):79-84.