

# Učinci fitokanabinoda na endokanabinoidni sustav

---

Horvatić, Tin

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:144551>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-28**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Tin Horvatić**

**Učinci fitokanabinoida na  
endokanabinoidni sustav**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2019.**

Ovaj diplomski rad je izrađen u Katedri za socijalnu medicinu i organizaciju zdravstvene zaštite na Školi narodnog zdravlja „Andrija Štampar“, Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom doc. dr. sc. Ognjena Brborovića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2018./2019.

## Popis kratica

| Kratica                | Hrvatsko značenje  | Englesko značenje  |
|------------------------|--|--|
| <b>12LOX</b>           | 12-lipooksigenaza  | 12-lipoxygenase  |
| <b>15LOX</b>           | 15-lipooksigenaza  | 15-lipoxygenase  |
| <b>2-AcG</b>           | 2-acilglicerol   | 2-acylglycerol   |
| <b>2-AG</b>            | 2-arahidonoilglicerol  | 2-arachidonoylglycerol   |
| <b>AEA</b>             | N-arahidonoil-etanolamin /<br>Anandamid  | N-arachidonylethanolamine /<br>Anandamide  |
| <b>CBC</b>             | kanabikromen   | cannabichromene  |
| <b>CBD</b>             | kanabidiol   | cannabidiol  |
| <b>CBE</b>             | kanabielsoin   | cannabielsoin  |
| <b>CBG</b>             | kanabigerol  | cannabigerol   |
| <b>CBGA</b>            | kanabigerolična kiselina   | cannabigerolic acid  |
| <b>CBGAS /<br/>GOT</b> | sintaza kanabigerolične<br>kiseline / geranil-pirofosfat—<br>olivetolična kiselina<br>geraniltransferaza | cannabigerolic acid synthase /<br>geranyl-pyrophosphate—<br>olivetolic acid geranyltransferase |
| <b>CBL</b>             | kanabicyklol   | cannabicyclol  |
| <b>CBN</b>             | kanabinol  | cannabinol   |
| <b>COX2</b>            | ciklooksigenaza 2  | cyclooxygenase 2   |
| <b>DAG</b>             | diglicerol   | diglycerol   |
| <b>DAGL</b>            | diacilglicerol lipaza  | diacylglycerol lipase  |
| <b>DMAPP</b>           | dimetilalil difosfat   | dimethylallyl pyrophosphate  |
| <b>FAAH</b>            | hidrolaza masno kiselinskih<br>amida   | fatty acid amide hydrolase   |
| <b>GPCR</b>            | receptor spregnut s G<br>proteinom   | G protein coupled receptor   |

| Kratika                           | Hrvatsko značenje                 | Englesko značenje  |
|-----------------------------------|-----------------------------------|--|
| <b>GPP</b>                        | geranil difosfat                  | Geranyl pyrophosphate  |
| <b>IPP</b>                        | isopentanil difosfat              | Isopentenyl pyrophosphate  |
| <b>LPS</b>                        | lipopolisaharid                   | lipopolysaccharide   |
| <b>MAGL</b>                       | monoacilglicerol lipaza           | monoacylglycerol lipase  |
| <b>NAE</b>                        | N-aciletanolamin                  | N-acylethanolamine   |
| <b>NAPE</b>                       | N-acilfosfatidiletanolamin        | N-acylphosphatidylethanolamine                                   |
| <b>NAPE-PLD</b>                   | NAPE specifična fosfolipaza D     | NAPE-specific phospholipase D                                    |
| <b>OLA</b>                        | olivetolična kiselina             | olivetolic acid  |
| <b>PKA</b>                        | protein kinaza A                  | protein kinase A   |
| <b>PLC</b>                        | fosfolipaza C                     | phospholipase C  |
| <b>TRPV1</b>                      | vaniloidni receptor tipa 1        | transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 |
| <b><math>\Delta^9</math>-THC</b>  | $\Delta^9$ -tetrahidrokanabinol   | $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol                                 |
| <b><math>\Delta^9</math>-THCV</b> | $\Delta^9$ -tetrahidrokanabivarin | $\Delta^9$ -tetrahydrocannabivarin                               |

# SADRŽAJ

|  |    |
|--|----|
| 1. Sažetak.....  | 1  |
| 2. Summary.....  | 2  |
| 3. Uvod .....  | 3  |
| 4. Endokanabinoidni sustav .....                             | 3  |
| 4.1 Endokanabinoidni receptori.....                          | 4  |
| 4.1.1 CB1 receptor .....                                     | 5  |
| 4.1.2. CB2 receptor .....                                    | 7  |
| 4.1.3 Ostali endokanabinoidni receptori .....                | 7  |
| 4.2. Endokanabinoidi .....                                   | 8  |
| 4.3. Endokanabinoidom .....                                  | 10 |
| 5. Fitokanabinoidi.....                                      | 11 |
| 5.1. Biosinteza i razgradnja fitokanabinoida .....           | 11 |
| 5.2. $\Delta^9$ -Tetrahidrokanabinol ( $\Delta^9$ -THC)..... | 13 |
| 5.2.1. Aktivnost na endokanabinoidnim receptorima .....      | 13 |
| 5.2.2 Biološki učinci in vitro .....                         | 14 |
| 5.2.3 Biološki učinci in vivo .....                          | 15 |
| 5.2.4. Terapijski potencijali.....                           | 17 |
| 5.3. Kanabidiol (CBD).....                                   | 18 |
| 5.3.1. Aktivnost na endokanabinoidnim receptorima .....      | 18 |
| 5.3.2. Biološki učinci in vitro .....                        | 19 |
| 5.3.3. Biološki učinci in vivo .....                         | 20 |
| 5.3.4. Terapijski potencijal.....                            | 21 |
| 5.4. Ostali fitokanabinoidi .....                            | 23 |
| 6. Zaključak .....   | 27 |
| 7. Zahvale .....   | 28 |
| 8. Literatura .....  | 29 |
| 9. Životopis.....  | 47 |

## 1. Sažetak

Učinci fitokanabinoida na endokanabinoidni sustav

Tin Horvatić

Iako je biljka *Cannabis sativa* poznata od davnina kao lijek a danas uglavnom kao rekreacijska droga, tek u zadnjih nekoliko desetljeća, otkrićem endokanabinoidnog sustava dobiveni su prvi znanstveni dokazi farmakološkog i fiziološkog djelovanja njenih aktivnih spojeva, fitokanabinoida. Endokanabinoidni sustav je naziv za kompleksan neuromodulacijski sustav, usko gledano sastavljen od dva receptora, CB1 i CB2 te dva endogena liganda, endokanabinoida AEA i 2-AG. Endokanabinoidni sustav sudjeluje u mnogim procesima od kojih su neki neurotransmitterska regulacija, imunomodulacija, karcinogeneza i nocicepcija. Osim endokanabinoida, endokanabinoidni sustav također mogu modulirati i fitokanabinoidi. Do danas, prepoznato je i izolirano otprilike 120 različitih fitokanabinoida čiji se *in vitro* i *in vivo* učinci često ne mogu predvidjeti zbog kompleksnog odnosa s endokanabinoidnim sustavom.  $\Delta^9$ -THC i CBD su najistraživaniji fitokanabinoidi i posebno zanimljivi zbog obećavajućih terapijskih mogućnosti.

Ključne riječi: *Cannabis sativa*, fitokanabinoidi, endokanabinoidni sustav

## 2. Summary

Effects of phytocannabinoids on endocannabinoid system

Tin Horvatić

Although the plant *Cannabis sativa* has been known for a long time as a medicine and today mostly as a recreational drug, only in the last few decades, with the discovery of the endocannabinoid system, the first scientific evidence was obtained of the pharmacological and physiological activity of its active compounds, phytocannabinoids. The endocannabinoid system is the name for a complex biological system, in the narrow sense, composed of two receptors, CB1 and CB2, and two endogenous ligands, the endocannabinoids AEA and 2-AG. The endocannabinoid system is involved in many processes, some of which are neurotransmitter regulation, immunomodulation, carcinogenesis and nociception. In addition to endocannabinoids, the endocannabinoid system can also be modulated by phytocannabinoids. To date, approximately 120 different phytocannabinoids have been recognized and isolated, whose *in vitro* and *in vivo* effects are often not predictable due to their complex relationship with the endocannabinoid system.  $\Delta^9$ -THC and CBD are the most studied phytocannabinoids and especially interesting because of their promising therapeutic possibilities.

Key words: *Cannabis sativa*, phytocannabinoids, endocannabinoid system



### **3. Uvod**

*Cannabis sativa*, u hrvatskom jeziku poznatija kao indijska konoplja je biljka podrijetlom s Indijskog poluotoka i centralne Azije koja se stoljećima na Dalekom Istoku koristila kao lijek, rekreacijska droga te kao sredstvo ceremonijalnih religijskih obreda. Nekoliko stoljeća kasnije, posljedično povećanje životnog standarda i slobodnog vremena koje je slijedilo nakon procesa industrializacije i globalizacije stvorilo je društveno i kulturološko plodno tlo koje je bilo uvjet za njenu široku rekreacijsku upotrebu. Zloupotreba kanabisa, to jest marihuane u potpunosti je zasjenila potencijalna medicinska svojstva njenih aktivnih spojeva, fitokanabinoida te su svi napori svjetske zajednice bili usmjereni ka kontroli i suzbijanju njene proširenosti i zloupotrebe. Zbog toga je sredinom 20. stoljeća kanabis bio zakonski zabranjen i kriminaliziran u većem dijelu svijeta. Zadnjih nekoliko desetljeća, znanstvena zajednica intenzivno radi na odgonetavanju njegovih fizioloških i farmakoloških svojstva a njihovim trudom i radom, negativna društvena stigma kanabisa polako blijedi te se sve više spominje kao biljka s neočekivanim svojstvima koja itekako zaslužuju daljnje detaljnije i operznije istraživanje. Cilj ovog preglednog diplomskog rad je objektivno i znanstveno prihvatljivo iznošenje dosadašnjih znanstveno utvrđenih fizioloških učinaka kanabisa, točnije, njegovih aktivnih spojeva fitokanabinoida. Na početku, zanimljivo je napomenuti kako se cijela problematika kanabisa i razumijevanja mehanizma njegovog djelovanja počela odmotavati otkrićem  $\Delta^9$ -tetrahidrokanabinola, najbrojnijeg aktivnog spoja kanabisa. Njegovo otkriće zatim je tek olakšalo otkrivanje dotad nama nepoznatog endogenog neuromodulacijskog sustava.

### **4. Endokanabinoidni sustav**

Nakon otkrića prvih kanabinoida 1950-tih i 1960-tih, kanabidiola (CBD) i  $\Delta^9$ -tetrahidrokanabinola ( $\Delta^9$ -THC), znanstvena zajednica se fokusirala na istraživanje i razumijevanje mehanizma djelovanja  $\Delta^9$ -THC-a zbog njegovog psihoaktivnog učinka (1–6).

Nepostojanje specifičnih receptora aktiviranih THC-om dugo se opravdavalo lipofilnom strukturom kanabinoida i teorijom kako oni zbog toga djeluju nespecifičnom interakcijom s membranom mijenjajući tako propusnost iste, no nakon otkrića potpune kemijske strukture  $\Delta^9$ -THC-a te objašnjenja njegovog stereokemijskog i bioaktivnog odnosa ta teorija je odbačena (2,7,8). Uvjerljivi dokazi za postojanje specifičnih kanabinoidnih receptora dobiveni su upotrebom sintetskog kanabinoida označenog tricijem [ $^3\text{H}$ ]CP-55,940 te otkrićem kako u mišjem mozgu postoje specifična vezna mjesta visokog afiniteta za taj radioligand (9). Nedugo nakon toga u nekoliko vrsta sisavaca, uključujući i čovjeka, otkriveno je kako se distribucija tih receptora u centralnom živčanom sustavu razlikuje od uzorka bilo kojega do tad poznatog neurotransmiterskog receptora (10). Vezanje GTP analoga dovelo je do inhibicije [ $^3\text{H}$ ]CP-55,940 što je ukazalo kako je receptor povezan s guanin nukleotid vezujućim (G) proteinom (11). Sva priješnja navedena otkrića posljedično su dovela do kloniranja i identifikacije endogenog receptora spregnutog s G proteinom (GPCR) izraženog na stanicama mozga te kasnije nazvanim CB1 receptorom, a tri godine kasnije također je kloniran i drugi receptor izražen na imunološkim i hematopoetskim stanicama, nazvan CB2 (12,13). Daljnja istraživanja navedenih receptora dovela su do otkrića endogenih liganda za iste, *N*-arahidonoil-etanolamina (AEA) i 2-arahidonoilglicerola (2-AG) koji su kasnije nazvani endokanabinoidima (14–17). Navedeni, a tada novootkriveni neuromodulacijski sustav, prvotno sastavljen od dva signalna lipida, njihova dva receptora i njihovih metaboličkih enzima nazvan je endokanabinoidnim sustavom i ubrzo mu je bila prepisana velika fiziološka uloga koja je nadilazila sva očekivanja (7).

#### **4.1 Endokanabinoidni receptori**

Kao što je ranije navedeno, dva glavna receptora endokanabinoidnog sustava su CB1 i CB2 koji pripadaju klasi A GPCR receptora (13,18). CB1 je prvo otkriven u mozgu a CB2 periferno te je stoga dugo vremena rasprostranjenost endokanabinoidnih receptora bila

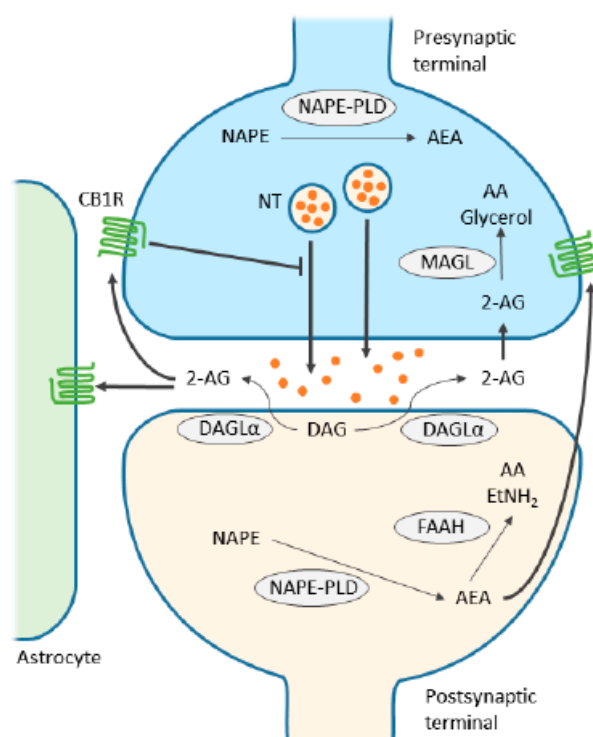
pojednostavljena s pretpostavkom da je CB1 smješten isključivo centralno a CB2 periferno. Danas znamo da je situacija mnogo složenija, te da su oba receptora široko rasprostranjeni po organizmu sisavaca, reptila, ptica i riba (19).

#### **4.1.1 CB1 receptor**

Regije centralnog živčanog sustava (CNS) u glodavaca koje pokazuju najveću gustoću rasprostranjenosti CB1 receptora su bazalni gangliji, supstancija nigra, globus pallidus, cerebellum i hipokampus (20). Umjerenu ekspresiju CB1 pokazuju moždana kora, septum, amigdala, hipotalamus, dijelovi moždanog debla te stražnji rog kralješnične moždine, dok nisku ekspresiju pokazuju talamus i ventralni rog kralješnične moždine (21). Velika gustoća ekspresije CB1 u senzornim i motornim regijama mozga sukladna je pretpostavci kako CB1 sudjeluje u procesima motorike i misaonosti (20). Što se tiče lokalizacije CB1 receptora na samom neuronu, različita istraživanja su potvrdila njegovu presinaptičku i postsinaptičku lokalizaciju koje mu omogućuju sposobnost retrogradne neurotransmitterske regulacije (Slika 1.) na GABAergicima i glutamatnim sinapsama te sposobnost autoinhibicije neurona neokorteksa posredovanu endokanabinoidima (22,23). Kada se dokazalo postojanje CB1 receptora i u ostalim perifernim organskim sustavima, sigurno je opravdano zbunilo tadašnje znanstvenike ovog znanstvenog područja jer ih je udaljilo od tadašnje dogme isključivo centralnog položaja. Naime dokazano je kako je CB1 receptor obilan u mnogim sustavima poput gastrointestinalnog gdje svojom aktivacijom sudjeluje u regulaciji motiliteta (24). Također je zanimljiva uloga CB1 u tkivima kardiovaskularnog sustava gdje svojom aktivacijom uzrokuje vazodilatacijom induciranu hipotenziju nakon eksperimentalno inducirano infarkta miokarda, za koju se pretpostavlja da pomaže u održavanju adekvatne tkivne perfuzije nakon kardiogenog šoka (25). Kao što je rečeno ranije, CB1 receptor pripada velikoj obitelji GPCR receptora za koje je karakteristično da vezanje agonista na receptor dovodi do konformacijske promjene receptora te stvaranja otvora s intracelularne strane što

omogućuje stvaranje G protein/receptor kompleksa što predstavlja prvi korak u procesu provođenja signala. Aktivacijom CB1 receptora, nakon konformacijske promjene dolazi do inhibicije adenilat ciklaze i posljedičnog smanjenja koncentracije intracelularnog cAMP-a što smanjuje aktivnost protein kinaze A (PKA) (26). Također je dokazano kako CB1 inhibira dva tipa  $Ca^{2+}$  ionskih kanala, N-tip u neuronima smanjujući tako neurotransmittersko otpuštanje te L-tip u stanicama vaskularnog glatko mišićnog tkiva uzrokujući vazodilataciju (27,28). Generalni fiziološki učinak aktivacije CB1 receptora u životinjskim modelima očituje se hipolokomocijom, hipotermijom, katalepsijom i analgezijom (29).

**Slika 1.** Retrogradna regulacija neurotransmisije posredovana endokanabinoidima i presinaptičkim CB1 receptorima. Prema: Zou S, Kumar U. *Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: Signaling and function in the central nervous system*. Int J Mol Sci. 2018. (23)



**CB1R**- kanabinoidni receptor 1; **2-AG**- 2-arahidonoilglicerol; **AEA**- anandamid; **DAG**- diglicerol; **NAPE**- N-acilfosfatidiletanolamin; **NAPE-PLD**- NAPE specifična fosfolipaza D; **DAGL $\alpha$** - diacilglicerol lipaza  $\alpha$ ; **FAAH**- hidrolaza masno kiselinskih amida

### 4.1.2. CB2 receptor

CB2 receptor je inicijalno otkriven u stanicama i tkivima perifernog imunološkog sustava, preciznije u marginalnoj zoni slezene, kori limfnih čvorova te Peyerovim pločama (30). Daljnjim istraživanjima dokazano je kako se ekspresija CB2 na imunološkim stanicama razlikuje s obzirom na vrstu stanice, s tim da su stanice koje pokazuju najveću ekspresiju CB2 B-limfociti a zatim redom slijede NK stanice, makrofagi, monociti, neutrofil i konačno T-limfociti (13,31,32). Pitanje ekspresije CB2 receptora u mozgu je još uvijek vrlo nejasno iz razloga što istraživanja pokazuju različite rezultate. Na primjer, istraživanja koja su koristila Northern blot analizu i in situ hibridizaciju nisu dokazala postojanje CB2 mRNA u neuronima, dok su istraživanja koja su koristila PCR metodu dokazala male količine iste (13,33). Zaključno će se jasan odgovor na pitanje postojanja CB2 u mozgu dobiti kada se usavrše specifične metode detekcije CB2 protutijelima ili nekim drugim načinom (26). Aktivacijom CB2 receptora također dolazi do inhibicije adenilat ciklaze te posljedičnog smanjenja intracelularnog cAMP-a kao što je i slučaj s CB1 receptorom no čini se kako za razliku od CB1, CB2 receptor ne modulira aktivnost ionskih kanala. Posebno je zanimljivo zajedničko svojstvo kanabinoidnih receptora, a pogotovo CB2, da moduliraju nekoliko različitih signalnih puteva koji su odgovorni za proliferaciju, migraciju i preživljenje stanica (26).

### 4.1.3 Ostali endokanabinoidni receptori

Prvi takav receptor koji je vrijedno spomenuti je **vaniloidni receptor tipa 1 (TRPV1)**, neselektivni kationski kanal kojega aktiviraju prirodni vaniloidi kapsaicin i reziniferatoksin (RTX), temperatura iznad 42°C te protoni (34). Također, bitno je napomenuti kako TRPV1 receptor ima bitnu ulogu u sinaptičkoj transmisiji i regulaciji boli (25). Istraživanjima se pokazalo kako AEA, 2-AG te neki ne-THC fitokanabinoidi poput CBD-a i kanabigerola

(CBG) također mogu aktivirati TRPV1 receptor (35,36). Iako je nakon tog otkrića AEA bio imenovan i prvim otkrivenim „endogenim vaniloidom“, ta titula je bila kratkog vijeka nakon što je ustanovljeno da je farmakološka potentnost AEA na TRPV1 receptoru puno slabija s obzirom na CB1 receptor te je zbog toga i fiziološki značaj bio upitan (7,37).

**GPR55** je GPCR receptor bez poznatog endogenog liganda a obilan je u mozgu i u tkivima koja su pokazala fiziološki odgovor uzrokovan kanabinoidima. GPR55 je također jedan od potencijalnih receptora koji posreduje učinke CBD-a, THC-a i/ili AEA (38–40).

U novije vrijeme također je predloženo kako se aktivnost druge dva usamljena GPCR-a, **GPR18** i **GPR110** može modulirati primjenom određenih kanabinoida ali takvi rezultati su zasada samo primijećeni *in vitro* uvjetima te oni izostaju *in vivo* (6,41,42). Nedostatak visoko afinitetnog radio liganda za te iste receptore otežava potpuno razumijevanje direktne interakcije receptora i kanabinoida te tako pitanje njihovog farmakološkog odnosa još uvijek ostaje otvoreno (6).

Zbog mogućeg sedativnog terapijskog učinka, važno je i spomenuti **GABA<sub>A</sub> receptor** kao jedno od veznih mjesta za 2-AG. Naime, Ronald Baur i suradnici, su 2013. godine pokazali kako 2-AG modulira GABA<sub>A</sub> receptor vezujući se na vezno mjesto smješteno u transmembranskom segmentu M4  $\beta_2$  podjedinice receptora (43).

## 4.2. Endokanabinoidi

Prvi otkriveni endokanabinoid, endogeni lipidni spoj koji ostvaruje svoj farmakološki i fiziološki učinak na endokanabinoidnim receptorima bio je **anandamid (AEA)**. Farmakološka istraživanja su pokazala kako AEA djeluje kao parcijalni agonist na CB1 i CB2 receptoru, što znači kako na endokanabinoidnim receptorima pokazuje samo parcijalnu efikasnost u odnosu na prave agoniste a u prisutnosti istih pokazuje antagonistička svojstva. Osim toga, AEA također aktivira TRPV1 receptor ali s niskom farmakološkom potentnošću te

inhibira L-tip  $\text{Ca}^{2+}$  kanale. Nedugo nakon AEA otkriven je i drugi endokanabinoid, **2-arahidonoilglicerol (2-AG)** za kojega je pokazano kako posjeduje umjerena svojstva pravog agonista na oba endokanabinoidna receptora. S obzirom na svoja farmakološka svojstva te bazalnu koncentraciju skoro 1000 puta veću od AEA, 2-AG je pretpostavljeni glavni ligand endokanabinoidnih receptora u centralnom živčanom sustavu (25). Iako se AEA i 2-AG razlikuju s obzirom na selektivnost receptora, oba se endokanabinoida sintetiziraju na zahtjev, kao odgovor na povećanu koncentraciju intracelularnog  $\text{Ca}^{2+}$  (44–46). Korak koji određuje brzinu sinteze AEA i 2-AG a ujedno je i ovisan o  $\text{Ca}^{2+}$  je sinteza njihovih prekursora, N-acilfosfatidiletanolamina (NAPE) i diglicerida (DAG) koji se sintetiziraju iz fosfatidiletanolamina i fosfoinozitida enzimskim reakcijama N-aciltransferaze i fosfolipaze C (PLC) (47,48). Konačno se AEA dobiva iz NAPE katalizacijom NAPE-specifičnom fosfolipazom D (NAPE-PLD) ili drugim sintetskim putevima koji ne uključuju NAPE-PLD (47). S druge strane, 2-AG se dobiva iz DAG katalizacijom diacilglicerol lipazom (DAGL)  $\alpha$  ili  $\beta$  (48). Bitno je spomenuti kako su AEA i 2-AG derivati arahidonske kiseline te kako spadaju u dvije velike obitelji lipida, N-aciletanolamine (NAE) i 2-acilglicerole (2-AcG) s time da 2-AcG potječu od lipida prisutnog na *sn*-2 strukturnoj poziciji početnih fosfolipida a to je najčešće arahidonska kiselina, što objašnjava zašto je 2-AG kao derivat iste, jedan od najobilnijih 2-AcG-a, dok s druge strane NAE potječu od lipida sa *sn*-1 a na kojoj se arahidonska kiselina rijetko nalazi te se tako objašnjava niska razina AEA, derivata arahidonske kiseline s obzirom na ostale NAE (6,49,50). Nakon što su endokanabinoidi uneseni u stanicu, njihova razgradnja se može odviti hidrolizom i/ili oksidacijom (44). Dva glavna enzima odgovorna za hidrolizu endokanabinoida su hidrolaza masno kiselinskih amida (FAAH) i monoacilglicerol lipaza (MAGL) (51). Osim što FAAH hidrolizira AEA na arahidonsku kiselinu i etanolamin, on je također enzim za hidrolizu ostalih dugolančanih NAE i dugolančanih N-acil amida poput N-acil taurina i oleamida koji ne djeluju preko CB1 i CB2

receptora (52–54). 2-AG se uglavnom hidrolizira s MAGL na arahidonsku kiselinu i glicerol iako postoje i ostali enzimi poput  $\alpha/\beta$  hidrolaze 6 (ABHD6) i ABHD12 koji su pokazali sposobnost neselektivne hidrolize 2-AcG a time i samog 2-AG (48,55,56). Endokanabinoidi se oksidiraju putem arahidonske kaskade, koja uključuje enzime ciklooksigenazu 2 (COX2), 12-lipooksigenaze (12-LOX), 15-lipooksigenaze (15-LOX) te neke citokrom p450 oksigenaze (57–59).

### **4.3. Endokanabinoidom**

U posljednjih petnaestak godina identificirani su različiti bioaktivni N-acil-amidi koji s endokanabinoidima dijele puno sličnosti poput receptora na koje djeluju i/li enzime s kojima se kataboliziraju. Zbog navedenih farmakoloških sličnosti, za takve lipide predložen je naziv endokanabinoidom. Budući da svaki bioaktivni amin sposoban stvoriti amid spajanjem s bilo kojom dugo-lančanom masnom kiselinom te tako generirati veliki broj drugih bioaktivnih lipida, istraživanje endokanabinoidoma vrlo je kompleksno i sporo. Unatoč tome, poznato je kako se neke N-acil-aminokiseline poput N-acil-glicina inaktiviraju FAAH-om te kako aktiviraju GPR18 receptor i inhibiraju T-tip  $\text{Ca}^{2+}$  kanale. Nadalje, neurotransmiter N-acil dopamin aktivira TRPV1 receptor te inhibira FAAH i T-tip  $\text{Ca}^{2+}$  kanale dok s druge strane N-acil serotonin antagonizira TRPV1 receptor. Osim navedenih lipida, endokanabinoidom uključuje i ranije navedene prekursore endokanabinoida NAPE i DAG te ostale njima srodne lipide unutar NAE i 2-AcG skupine. Endokanabinoidom je relativno novo otkriće s puno neodgovorenih pitanja i neotkrivenih lipida ali važno je primijetiti kako slika endokanabinoidnog sustava postepeno postaje kompleksnija odstupajući sve više od početne definicije samo dva receptora, dvije signalne molekule i pet metaboličkih enzima (6).



## 5. Fitokanabinoidi

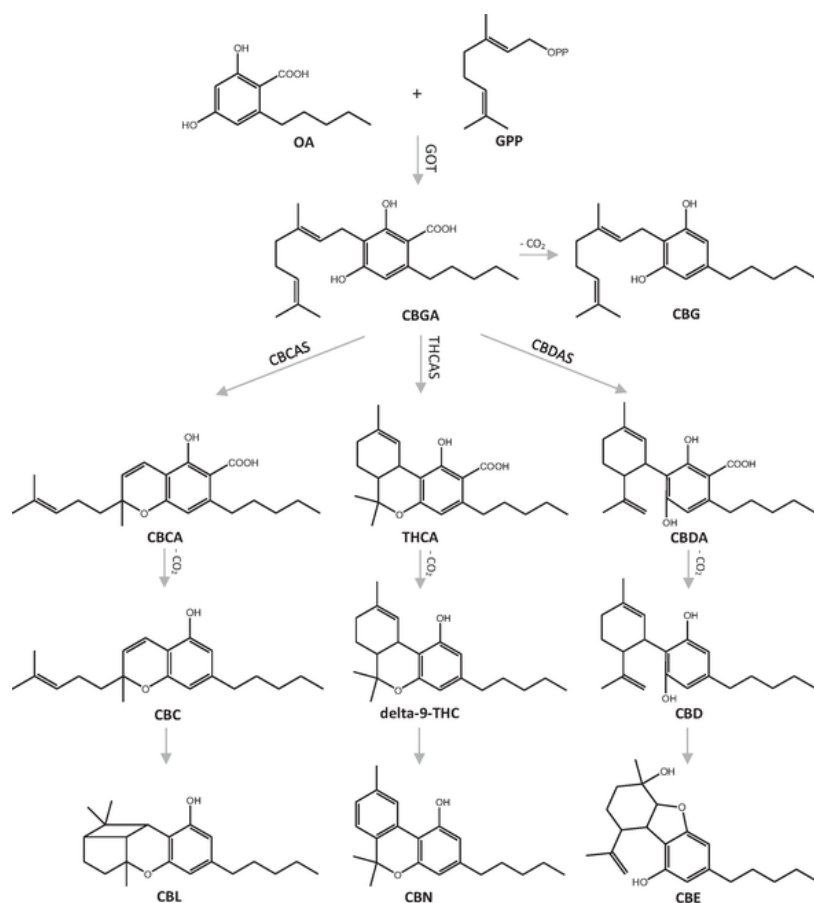
Fitokanabinoidi su spojevi biljnoga podrijetla koji su sposobni modulirati aktivnost različitih endokanabinoidnih receptora. Zanimljivo je kako oni u svojoj strukturi ne sadrže atom dušika što ih ne ubraja u skupinu alkaloida za razliku od ostalih prirodnih droga poput nikotina, kokaina, kofeina i opioida (22). Do danas, otprilike 120 različitih spojeva koji spadaju u kategoriju fitokanabinoida izolirano je iz biljke *Cannabis sativa* L. s time da se njihova pojedinačna koncentracija u uzorku razlikuje s obzirom na metodu ekstrakcije te način i lokaciju uzgoja spomenute biljke. Bez obzira na oscilacije u koncentraciji, generalno je prihvaćeno kako su dva najobilnije fitokanabinoida psihoaktivni  $\Delta^9$ -THC i psiho-neaktivni CBD (2,3).

### 5.1. Biosinteza i razgradnja fitokanabinoida

Dugo se smatralo kako se fitokanabinoidi prirodno nalaze u dekarboksiliranom obliku no istraživanjem svježih uzoraka kanabisa dokazano je kako se oni ustvari nalaze u karboksiliranom, „kiselom“ obliku (60). Danas se smatra kako većina glavnih fitokanabinoida nastaje iz karboksiliranih oblika ne-enzimskom dekarboksilacijom zagrijavanjem ili sušenjem biljnog uzorka (61,62). Biosinteza fitokanabinoida započinje korakom kojim započinje i biosinteza mnogih biljnih terpena, to jest eteričnih ulja, spajanjem isopentanol difosfata (IPP) i dimetilalil difosfata (DMAPP) u geranil difosfat (GPP) (61,63). Spajanjem acetyl-CoA i malonil-CoA nastaje poliketid iz kojega potom reakcijama ciklizacije, aromatizacije i redukcije nastaje olivetolična kiselina (OLA) ili njen propilni analog (64). Geranil difosfat i olivetolična kiselina se zatim uz pomoć enzima CBGA-sintaze (CBGAS / GOT) spajaju tvoreći tako kanabigeroličnu kiselinu (CBGA), koja je prekursor svih ostalih fitokanabinoida (65). Reakcija biosinteze kanabinoida zatim može poći u različitim smjerovima. U Reakciji tipa A uz enzim CBCA sintazu nastaje kanabikromen (CBC) iz kojeg

potom reakcijom ciklizacije nastaje kanabiciklol (CBL) (61). U reakciji tipa B stvara se CBD čijom oksidacijom nastaje nestabilni spoj CBD-9,10-epoksid iz kojega potom nastaje kanabielsoin (CBE) (61,66).  $\Delta^9$ -Tetrahidrokanabinolična kiselina ( $\Delta^9$ -THCA) nastaje iz reakcije tipa C uz prisustvo THCA sintaze, dok kanabinol (CBN) nastaje nakon neenzimske oksidacijske aromatizacije  $\Delta^9$ -THC-a (67,68). Važno je objasniti i neke razlike u nomenklaturi strukturno sličnih molekula koje se temelje na različitim supstuentima. Naime, ako se na mjestu pentilnog nastavka nalazi propilni onda se skraćenom imenu kanabinoida dodaje sufiks V koji se u punom nazivu piše kao 'varin', a ako se na mjestu pentilnog nastavka nalazi karboksilna kiselina onda se skraćenom imenu dodaje sufiks A što označava 'acid' (61).

**Slika 2.** Biosinteza fitokanabinoida. Prema: Holy Jelena, *Terapijski potencijal medicinske konoplje*, specijalistički rad 2017. (69)



**OA** - olivetolična kiselina; **GPP** - geranil pirofosfat; **GOT** -geranilpirofosfat:olivetolat geraniltransferaza; **CBGA** - kanabigerolna kiselina; **CBG** - kanabigerol; **CBCAS** - sintaza kanabikromenske kiseline; **THCAS** - sintaza tetrahidrokanabinolne kiseline; **CBDAS** - sintaza kanabidiolne kiseline; **CBCA** - kanabikromenska kiselina; **THCA** - tetrahidrokanabinolna kiselina; **CBDA** - kanabidiolna kiselina; **CBC** - kanabikromen; **delta-9-THC** -  $\Delta^9$ -tetrahidrokanabinol; **CBD**- kanabidiol; **CBL**- kanabiciklol; **CBN**- kanabinol; **CBE**- kanabielsoin

## 5.2. $\Delta^9$ -Tetrahidrokanabinol ( $\Delta^9$ -THC)

### 5.2.1. Aktivnost na endokanabinoidnim receptorima

Mnogi *in vitro* i *in vivo* pokusi su pokazali kako je  $\Delta^9$ -THC parcijalni agonist CB1 i CB2 receptora i kao takav pokazuje miješani agonistički-antagonistički učinak s obzirom na vrstu stanica, ekspresiju receptora te prisutnost endokanabinoida ili drugih pravih agonista (22).  $\Delta^9$ -THC i drugi CB1 agonisti djeluju u mozgu na presinaptičke CB1 receptore inhibirajući tako

daljnje neurotransmittersko otpuštanje (70). Osim učinaka na CB1 i CB2 receptore,  $\Delta^9$ -THC djeluje i preko nekih drugih receptora čija je aktivacija ili inhibicija odgovorna za neke fiziološke učinke ostvarene *in vitro* i *in vivo* pokusima. Uočeni su kontradiktorni nalazi glede sposobnosti moduliranja aktivnost GPR55 receptora. Neovisno o tome, uočena je sposobnost  $\Delta^9$ -THC-a da inhibira učinak lizofosfatidil inositola (LPI) za kojega se pretpostavlja da je endogeni ligand GPR55 receptora (71).  $\Delta^9$ -THC je također antagonist 5HT<sub>3A</sub> receptora, te je takav učinak neovisan o koncentraciji agonista za isti receptor što sugerira nekompetijsku inhibiciju čija se varijabilnost mijenja s obzirom na gustoću receptora na površini membrana stanica (72).  $\Delta^9$ -THC direktno potencira glicinske receptore preko alosteričkih i dozom-ovisnih mehanizmima te je također pokazano kako neki analgetički učinci  $\Delta^9$ -THC-a nedostaju kod miševa bez  $\alpha 3$  glicinskih receptora a prisutni su kod miševa bez kanabinoidnih receptora (73,74). Vazodilacijski i antitumorski učinak  $\Delta^9$ -THC-a pripisuju se njegovom agonističkom djelovanju na PPAR $\gamma$  receptoru (75,76).  $\Delta^9$ -THC nije pokazao farmakološki odgovor na TRPV1 dok su druga istraživanja pokazala agonistički učinak na TRPV2, TRPV3 i TRPV4 receptoru (77–79). Generalno se smatra kako je  $\Delta^9$ -THC manje učinkovit u moduliranju aktivnosti toplinsko osjetljivih TRP kanala u odnosu na CBD i ostale fitokanabinoide (7).

### **5.2.2 Biološki učinci *in vitro***

Eksperimentalni *in vitro* pokusi  $\Delta^9$ -THC-a pokazali su svojstva zaštite neuroloških stanica od ekscitotoksičnosti, hipoksije i nedostatka glukoze koja su bila uvjetovana aktivacijom CB1 receptora. Pretpostavlja se kako su u slučaju zaštite od ekscitotoksičnosti zaslužna svojstva autoinhibicije i neurotransmitterske regulacije CB1 receptora. Moguće je da je zaštita od hipoksije i nedostatka glukoze indirektna posljedica hipotermije nastale aktivacijom CB1 receptora. *In vitro* istraživanja antiproliferativnih svojstva  $\Delta^9$ -THC-a pokazala su sprječavanje

tumorskog rasta u stanicama plućnog karcinoma, glioma i limfoma preko složenih staničnih mehanizama (7).

### **5.2.3 Biološki učinci *in vivo***

Opće je poznato kako rekreacijska uporaba kanabisa dovodi do osjećaja „napušenosti“ za kojega je odgovoran upravo  $\Delta^9$ -THC. Takav učinak se ostvaruje CB1 agonizmom u centralnom živčanom sustavu nakon kojega dolazi do modulacije neurotransmiterskog otpuštanja. Osim toga, klasični učinak primjene  $\Delta^9$ -THC-a u životinjskim modelima očituje se tetradom simptoma uzrokovanih aktivacijom CB1 receptora a koji su hipolokomocija, hipotermija, katalapsija i analgezija. Akutno primanje  $\Delta^9$ -THC-a *in vivo* dovodi do ekscitirajućih i inhibirajućih učinaka u biološkim testovima što se može objasniti s nekoliko različitih mehanizama od kojih je prvi njegov parcijalni agonizam, zatim njegova slaba učinkovitost te različita gustoća i sposobnost spajanja CB1 receptora s G proteinom u različitim regijama mozga koje utječu na farmakološku potentnost  $\Delta^9$ -THC (7,80). Također, CB1 receptor je prisutan na inhibirajućim GABAergičkim i ekscitirajućim glutamatnim terminalima u mozgu s tim da se glutamatni-CB1 receptori aktiviraju pri manjim koncentracijama  $\Delta^9$ -THC-a te tako prije dovodu do supresije otpuštanja glutamata nego GABA-e (7). Osim navedenih fizioloških učinaka, različiti pokusi na životinjskim modelima pokazali su poželjne učinke na mnogim organskim sustavima. Tako je naprimjer u mišjem modelu relapsirajućeg eksperimentalnog autoimunog encefalomijelitisa (EAE) koji služi kao model mišićne spastičnosti u multiploj sklerozi, davanje  $\Delta^9$ -THC-a dovodi do ublažavanja spastičnosti i tremora dok CB1 antagonizam pogoršava iste simptome (81). Također, pokazano je kako u miševa s EAE,  $\Delta^9$ -THC smanjuje upalu CNS-a, poboljšava neurološki ishod te produljuje preživljenje (82). Što se tiče Alzheimerove bolesti, u životinjskom modelu terapijom  $\Delta^9$ -THC 3 mg/kg jednom dnevno, kroz četiri tjedna uz prisutnost COX-2 inhibitora došlo je do smanjenja broja  $\beta$ -amiloid plakova i degenriranih neurona (83). Ubrizgavanjem

male doze  $\Delta^9$ -THC u prefrontalni korteks moždane kore štakora dovodi do anksiolitičkog efekta dok ubrizgavanje u bazolateralnu amigdalnu izaziva anksiogeni odgovor (84). Također je pokazano kako kronična izloženost  $\Delta^9$ -THC-u u adolescentnih štakora inducira depresivan fenotip u odrasloj dobi (85,86). Primijećeno je kako  $\Delta^9$ -THC per os dovodi do modulacije imunološke funkcije i zaustavljanja progresije aterosklerotskih plakova u životinjskim modelima te je zaključeno kako je takav učinak ovisan o CB2 receptoru (87). Također,  $\Delta^9$ -THC inhibira 15-lipooksigenazu, enzim odgovoran za stvaranje lipoproteina niske gustoće koji je važan faktor u patofiziologiji ateroskleroze (88). Osim modulacije imunološke funkcije,  $\Delta^9$ -THC također modulira nocicepciju, učinkovito smanjujući akutnu, visceralnu, upalnu i kroničnu bol u životinjskim modelima. Antinociceptivna svojstva  $\Delta^9$ -THC-a u akutnoj boli posredovana su isključivo CB1 receptorom, dok su u kroničnoj boli posredovana CB1 i CB2 receptorom. Stimulacija CB1 receptora  $\Delta^9$ -THC-om ili nekim drugim agonistom također uzrokuje hiperfagiju. Zanimljivo je kako kronična primjena  $\Delta^9$ -THC-a ne dovodi do povećanja tjelesne mase što se može objasniti mehanizmima desenzitizacije CB1 receptora, bimodalnog načina kontrole unosa hrane endokanabinoidnog sustava te aktivacijom CB2 receptora što izaziva gubitak tjelesne mase i masnog tkiva u pretilih miševa (7). Posebno je zanimljivo kako kanabinoidi imaju sposobnost sprječavanja tumorskog rasta preko nekoliko različitih i kompleksnih mehanizama od kojih su dva najznačajnija induciranje apoptoze i inhibicija proliferacije tumorskih stanica (89). Zanimljivo je to što se antiproliferativan i apoptotski učinak u različitim tumorskim stanicama ostvaruje različitim mehanizmima. Osim antiproliferativnih i apoptotskih učinaka, postoje čvrsti dokazi kako kanabinoidi inhibiraju angiogenezu i invaziju tumorskih stanica glioma *in vivo* (90,91). Anegdotalni nalazi povećanja srčanog ritma nakon pušenja kanabisa potkrijepljeni su meta analizom koja je potvrdila kako  $\Delta^9$ -THC uistinu uzrokuje tahikardiju u ljudi a naknadno su pokazali kako u različitim životinja uzrokuje bradikardiju i hipotenziju (92). Vazodilatacijski učinak ostvaren

in vivo posljedica je aktivacije TRPA1 i PPAR $\gamma$  receptora te inhibicije Ca<sup>2+</sup> kanala  $\Delta^9$ -THC-om (7).

#### **5.2.4. Terapijski potencijali**

Neuroprotektivna, anksiolitička, imunomodulacijska, antinociceptivna i metabolička svojstva  $\Delta^9$ -THC-a dokazana in vivo trenutno se ispituju za primjenu u kliničkoj praksi. Iako trogodišnje kliničko istraživanje nije dokazalo djelotvornost oralnog  $\Delta^9$ -THC na ishod progresivne multiple skleroze (PPMS), oboljeli od blažeg oblika bolesti pokazali su usporavanje progresije bolesti s obzirom na placebo grupu bolesnika (93). S druge strane, kronična primjena  $\Delta^9$ -THC-a u ranom stadiju Alzheimerove bolesti dovela je do očuvanja memorije a u kombinaciji s CBD-om i do smanjenja poremećaja učenja te koncentracije topljivog A $\beta$ -42 peptida (94). Doduše, klinička ispitivanja primjene  $\Delta^9$ -THC u osoba s Alzheimerovom bolešću predložila su primjenu s ciljem kontrole nekih simptoma a ne utjecaja na progresiju bolesti (7). Dronabinol, farmaceutski pripravak  $\Delta^9$ -THC-a, sprječava obnovu straha u ljudi (95). Zbog svojih anksiolitičkih učinaka,  $\Delta^9$ -THC je predložen i upravo klinički istraživani kao mogući medikament u borbi protiv posttraumatskog stresnog poremećaja (PTSP) i različitih fobija. Od davnina se kanabis koristio kao lijek za suzbijanje proljeva a nedavno je pokazano kako je u oboljelih od Chronove bolesti koji su pušili marihuanu u periodu od osam tjedana došlo do poboljšanja kliničke slike, točnije do subjektivnog smanjenja stupnja upale i boli (96). Drugo istraživanje je pokazalo kako je kanabis uspješan u suzbijanju boli i proljeva u upalnim bolestima crijeva ali također da je konzumacija kanabisa u pacijenata s Chronovom bolešću povezana s većim rizikom kirurškog liječenja (97). Slučajni nalazi smanjenja očnog tlaka u zdravih pojedinaca koji su pušili marihuanu kasnije je potvrđen u dvostruko slijepoj, placebo kontroliranoj kliničkoj studiji te se tako  $\Delta^9$ -THC predstavio kao mogući novi lijek protiv glaukoma (7). Nadalje, stimulacija apetita  $\Delta^9$ -THC-om pokazala se učinkovitom kod kahektičnih pacijenata oboljelih od

karcinoma ili AIDS-a te u anoreksičnih pacijenata oboljelih od Alzheimerove bolesti (98,99). Zbog svog djelovanja na 5HT<sub>3A</sub> receptoru,  $\Delta^9$ -THC se pokazao kao učinkovitiji antiemetik od standardne antiemetičke terapije i placebo sredstva (7). Iako su antitumorska svojstva  $\Delta^9$ -THC dokazana *in vivo* u životinjskim modelima, primjeni kanabinoida onkološkim pacijentima pristupa se pažljivo jer je pokazano kako je u nekih karcinoma endokanabinoidni sustav prekomjerno aktiviran što je postavilo sumnju proonkogene sposobnosti endokanabinoidnog sustava (100). Takva sumnja pojačana je nakon što su Zheng i kolege otkrili kako su za pojavu upale i tumora induciranih ultra ljubičastim zračenjem potrebni endokanabinoidni receptori te nakon što je dokazana uloga CB2 receptora kao bitnog regulatora u HER2 proonkogenom signalnom putu karcinoma dojke (101,102). Iako kanabinoidni lijekovi obećavaju kao buduća onkološka terapija, zbog nepotpunog razumijevanja odnosa endokanabinoidnog sustava i karcinogeneze, njihova primjena je i dalje usmjerena prema palijativnoj skrbi onkoloških bolesnika.

### **5.3. Kanabidiol (CBD)**

#### **5.3.1. Aktivnost na endokanabinoidnim receptorima**

Kanabidiol (CBD) je uz  $\Delta^9$ -THC najbrojniji fitokanabinoid a zbog svojih bioloških svojstva koje će detaljnije biti opisane u nastavku teksta, on je također jedan od najistraživanijih fitokanabinoida. Uprkos tome, egzaktni mehanizam djelovanja CBD-a još uvijek je relativna znanstvena nepoznanica. Metaanaliza provedena 2007. godine pokazala je mali afinitet CBD-a prema CB1 receptoru što je odgovaralo anegdotalnim i kliničkim nalazima kako aplikacijom CBD-a izostaje klasična  $\Delta^9$ -THC tetrađa fiziološkog odgovora hipolokomocije, analgezije, katalepsije i hipotermije (103,104). Nasuprot tome, različite *in vitro* studije su pokazale slabo antagonističko djelovanje CBD-a na CB1 i CB2 receptoru (22). Također, Laprairie i kolege su primjetili kako CBD smanjuje potentnost i učinkovitost  $\Delta^9$ -THC i 2-AG-a pri



koncentracijama nižim od predviđenih za vezanje CBD-a na ortosteričko vezno mjesto CB1 receptora, čime su predložili kako CBD ustvari djeluje kao negativni alosterički modulator CB1 receptora (105). S druge strane, dokazano je kako CBD ima sposobnost inhibiranja o transporteru ovisnog unosa AEA i njegove enzimske hidrolize u stanicama, te tako indirektno utječe na ton i aktivnost endokanabinoidnog sustava sprječavanjem razgradnje endokanabinoida (36). Što se tiče CB2 endokanabinoidnog receptora, CBD pokazuje niski afinitet te slabi inverzni agonizam, doduše pri visokim koncentracijama koje su možda farmakološki irelevantne (106). CBD ostvaruje antagonistički učinak na GPR55 receptoru, dok djeluje kao parcijalni agonist i antagonist  $\Delta^9$ -THC na GPR18 receptoru (40,41). Kao i drugi kanabinoidi, CBD pokazuje djelovanje i na neke receptore izvan endokanabinoidnog sustava. Tako naprimjer CBD pokazuje pozitivnu alosteričku modulaciju  $\alpha 1$  i  $\alpha 1\beta$  glicinskih receptora te aktivaciju PPAR $\gamma$  receptora (7). Različite studije su pokazale kako je CBD pravi agonist 5HT $_{1A}$  receptora, slabi parcijalni agonist 5HT $_{2A}$  receptora te nekompetativni antagonist 5HT $_{3A}$  receptora (22).

### **5.3.2. Biološki učinci *in vitro***

Nekoliko studija je pokazalo kako je CBD generalno siguran i bez većih nuspojava u ljudi. Doduše, neka *in vitro* istraživanja su pokazala kako CBD utječe na staničnu metaboličku obradu lijekova, posreduje citotoksičnosti te smanjuje aktivnost nekih receptora (107). Takvi podaci naglasili su oprezi pri potencijalnom prepisivanju CBD s drugim lijekovima. Navedeni apoptotski, citotoksični učinak CBD-a pomno je istraživan u svrhu liječenja proliferativnih bolesti. 2006. prvi put je pokazano kako CBD učinkovito i selektivno inhibira rast nekoliko različitih tipova karcinoma dojke (108). Antitumorska svojstva CBD-a uočena su i u stanicama glioma gdje je CBD *in vitro* inhibirao proliferaciju linija U87-MG i U373 stanica humanog glioma inducirajući apoptozu (109). Zanimljivo, CBD nije utjecao na vitalnost nepromijenjenih glijalnih stanica (110). Također bitno je napomenuti kako CBD

inhibira proces angiogeneze endotelnih i tumorskih stanica bez induciranja apoptoze ili nekroze, što sugerira kako je u pitanju citostatički učinak (111). S obzirom na citostatički i antiproliferativni učinak CBD-a, postavilo se pitanje sigurnosti uzimanja CBD-a u trudnica. *In vitro* eksperimenti pokazali su kako CBD ne utječe na normalni embriološki razvoj pri koncentracijama od 6,4,32 i 160 nM (107).

### **5.3.3. Biološki učinci *in vivo***

CBD je potentni antioksidant, svojstvo poželjno za potencijalnu upotrebu protiv neurodegenerativnih bolesti središnjeg živčanog sustava (112). Konkretno, u slučaju Parkinsonove bolesti, u životinjskim modelima, poželjni učinci su primijećeni samo kada je CBD primijenjen prije ili odmah nakon induciranja parkinsonističkih simptoma što sugerira kako CBD više ima preventivnu nego terapijsku ulogu. U životinjskim modelima tretiranim 3-nitropropionskom kiselinom, koji služe kao model Huntingtonove bolesti, nakon primjene CBD-a došlo je do slabljenja učinka 3-nitropropionske kiseline. Također, nakon primjene antagonista CB1 i TRPV1 receptora nije došlo do suzbijanja učinka CBD-a (113). Također, CBD aktivira PPAR $\gamma$  receptor čija aktivacija izaziva vremenski ovisnu progresivnu vazorelaksaciju aorte štakora te protuupalni i neuroprotektivni učinak u patološki promijenjenom hipokampusu štakora (114,115). Studija koja se koristila miševima s bilateralnom okluzijom zajedničke karotidne arterije (BCCAO) kao modelima ishemije mozga, demonstrirala je neuroprotektivna svojstva CBD-a nakon kratkoročne terapije koja je uzrokovala očuvanje hipokampalnih neurona, zaštitu bijele tvari, smanjenje upale te povećanje hipokampalne plastičnosti nakon ishemije (116). Druga studija je pokazala kako CBD također posjeduje *in vivo* kardioprotektivna svojstva nakon infarkta miokarda inducirano LAD ligacijom koja izostaju u *ex vivo* modelima srca štakora. Pošto je CBD poznati imunomodulator, autori su pretpostavili kako je takav kontradiktorni nalaz možda posljedica sistemskog imunomodulacijskog učinka koji izostaje *ex vivo* (117). Kompleksnost

imunološkog sustava odavno je poznata, a novija istraživanja pokazuju kako neki fitokanabinoidi uključujući i CBD posjeduju imunomodulacijska svojstva. Tako je jedna studija pokazala kako CBD smanjuje stupanj intestinalne upale inducirane direktnom primjenom DNBS-a u kolonu miša (118). CBD je također bio uspješan u životinjskom modelu reumatoidnog artritisa gdje je pokazao najveću terapijsku učinkovitost pri dozi od 5 mg/kg, zatim u supresiji proliferacije keratinocita koja je bitan patofiziološki proces u nastanku psorijaze (119,120). Inhibirajući T stanični upalni odgovor, CBD smanjuje upalu kardiomiocita i posljedično remodeliranje i fibrozu te poboljšava disfunkciju miokarda u eksperimentalnom modelu autoimunog miokarditisa (121). Osim protuupalnog učinka, CBD posjeduje i analgetski učinak pošto je uočeno kako je uspješan u suzbijanju kronične neuropatske i upalne boli u štakora nakon sedam dana oralne primjene (122). Što se tiče *in vivo* antitumorskih svojstva, pokazano je kako je primjena CBD-a u EL-4 stanicama limfona u miša uzrokovala redukciju tumorskog tkiva induciranjem apoptoze a zatim je primijećeno kako tumori imunološkog podrijetla izražavaju više CB2 receptora nego stanice drugih tumorskih loza te stoga postoji mogućnost kako je takav učinak posljedica interakcije CBD-a i CB2 receptora (123,124). Također, kao što je pokazano u *in vitro* pokusu, CBD i *in vivo* inhibira angiogenezu (111). Poput  $\Delta^9$ -THC-a, CBD pokazuje antiemetički učinak koji je uočen u životinjskim modelima a za koji se pretpostavlja da je posljedica aktivacije somatodendritičkog 5HT<sub>1A</sub> receptora u dorzalnim rafe jezgrama (125).

#### **5.3.4. Terapijski potencijal**

Dvije različite kliničke studije, jedna provedena na pacijentici oboljeloj od shizofrenije u dobi od 19 godina a druga provedena na troje oboljelih od terapijski rezistentne shizofrenije u dobi od 22 do 23 godine, su pokazale kako je došlo do poboljšanja simptoma kod bolesnice primjenom oralnog CBD-a do kojega nije došlo primjenom haloperidola te kako je također došlo do poboljšanja simptoma u dvoje oboljelih iz druge studije primjenom CBD-a. U svo

četvero ispitanika do pogoršanja simptoma došlo je ukidanjem CBD-a (126,127). Također, CBD štiti od akutne psihoze inducirane  $\Delta^9$ -THC-om ili ketaminom u zdravih dobrovoljaca, što ga čini obećavajućim predmetom istraživanja u borbi protiv psihičkih poremećaja (128). Rezultati nedavne kliničke studije koju su proveli Scott Shannon i kolege na 103 odrasla pacijenta pokazali su kako je 79,2% ispitanika prijavilo poboljšanje anksioznih simptoma primjenom CBD-a uz minimalno nuspojava (129). Nedavno su dobiveni čvrsti dokazi za antikonvulzijska svojstva CBD-a, završetkom *double blind* placebo kontrolnih studija koja su ispitivala uspješnost 20 mg/kg/dan CBD-a pri liječenju Dravetovog i Lennox-Gastaut sindroma. Naime, CBD je bio dodan postojećoj antiepileptičnoj terapiji te je primijećeno kako je takva kombinacija bila superiorna s obzirom na placebo kontrolnu grupu u učinkovitosti smanjenja učestalosti konvulzivnih napadaja (130–132). Posebno su zanimljivi anegdotalni nalazi koji su pokazali kako je ekstrakt kanabisa s visokim postotkom CBD-a bio uspješniji od čistog preparata CBD-a u suzbijanju broja epileptičnih napadaja u oboljelih od Dravetovog i Lennox-Gastaut sindroma. Takav nalaz kasnije se interpretirao kao posljedica *entourage* efekta, to jest sinergističkog djelovanja različitih fitokanabinoida prisutnih u ekstraktu kanabisa a odsutnih u pročišćenim pripravcima (133). Kao što je rečeno ranije, čini se kako je CBD učinkovit u suzbijanju primarnih i sekundarnih distoničkih pokreta, doduše u slučaju Huntingtonove bolesti i multiple skleroze poželjni medicinski učinci primijećeni su samo u kombinaciji s  $\Delta^9$ -THC-om u omjeru 1:1 (Sativex). Pretpostavlja se kako je takav učinak posljedica djelovanja  $\Delta^9$ -THC-a pošto je on prisutan i kod drugih CB1 agonista. Vrijednost CBD u kombinaciji s  $\Delta^9$ -THC-om je u tome što on uklanja neželjene akutne učinke  $\Delta^9$ -THC-a poput sedacije, poremećaja pamćenja i psihoze (113). Također kao što je rečeno ranije, pozitivni učinci CBD-a u slučaju Parkinsonove bolesti primijećeni su samo kada je CBD bio primijenjen prije ili odmah nakon induciranja parkinsonističkih simptoma, čime se objašnjavaju kontradiktorni rezultati različitih kliničkih studija u kojima je CBD bio prepisan

tek nakon postavljanja dijagnoze Parkinsonove bolesti, kada je već više od 60% dopaminergičkih neurona uništeno (113). Imunomodulacijska svojstva CBD-a u ljudi pokazana su nakon što je dodatkom CBD standardnoj profilaktičkoj terapiji GVHD-a, metotreksatu i ciklosporinu, rezultiralo niskom kumulativnom incidencijom akutnog GVHD-a nakon 100 dana (134).

#### **5.4. Ostali fitokanabinoidi**

**$\Delta^9$ -Tetrahidrokanabivarin ( $\Delta^9$ -THCV)** je n-propilni analog  $\Delta^9$ -THC-a i najistraživaniji fitokanabinoid nakon CBD-a i njegovog homologa (7,22). Strogo gledano,  $\Delta^9$ -THCV pokazuje agonistički/antagonistički učinak na CB receptora ovisno o dozi (135). Prilikom *in vivo* primjene doze manje nego potrebne za ostvarivanje CB1 agonizma, dolazi do antagonizma efekta  $\Delta^9$ -THC-a za koji se pretpostavlja da je posredovan CB1 receptorom. Nedavno su također dobiveni dokazi koji pokazuju kako je  $\Delta^9$ -THCV parcijalni agonist CB2 receptora (136). Što se tiče ostalih receptora, pokazano je kako je  $\Delta^9$ -THCV parcijalni agonist GPR55 receptora, agonist 5-HT<sub>1A</sub>, TRPV2, TRPA1 receptora te antagonist TRPM8 receptora (22). Kao CB1 antagonist,  $\Delta^9$ -THCV oslabljuje hipotermiju i antinocicepciju induciranu  $\Delta^9$ -THC-om te poništava neke kognitivne i fiziološke učinke  $\Delta^9$ -THC-a poput odgođenog verbalnog odgovora i ubrzanog srčanog ritma u zdravih dobrovoljaca. Također  $\Delta^9$ -THCV se pokazao kao mogući korisni lijek u borbi protiv steatohepatitisa zbog svoje sposobnosti induciranja lipolize u hepatinocitima. Antiepileptična i antikonvulzivna svojstva  $\Delta^9$ -THCV proizašla iz njegovog inhibirajućeg učinka obećavaju kao moguća buduća terapijska opcija u oboljelih od epilepsije i konvulzivnih stanja dok je njegova sposobnost aktiviranja CB2 receptora zaslužna za neuroprotektivni učinak u lipopolisaharidom (LPS) induciranim životinjskim modelima Parkinsonove bolesti (7).

**Kanabigerol (CBG)** je nepsihoaktivni fitokanabinoid čiji prekursor, CBGA je ujedno i prekursor svih ostalih fitokanabinoida. CBG pokazuje niski afinitet za CB1 i CB2 receptor ali indirektno utječe na endokanabinoidni sustav inhibirajući unos AEA (22). Iako CBG ne pokazuje subjektivne psihoaktivne učinke u ljudi, CBG stimulira neke receptore odgovorne za bol, upalu i osjet topline. Tako naprimjer CBG pokazuje antagonistički učinak na TRPV8 receptoru dok receptore TRPV1, TRPV2, TRPA1, TRPV3, TRPV4, i  $\alpha$ 2-adenoreceptor stimulira (135). Antagonizam CBG-a na 5-HT<sub>1A</sub> receptoru poništava antiemetička svojstva CBD-a a također se pretpostavlja da je njegov antagonizam na TRPM8 receptoru odgovoran za antiproliferativna svojstva pokazana u ispitivanju kolorektalnog karcinoma (137,138).

**Kanabikromen (CBC)** je također jedan od brojnijih fitokanabinoida otkriven 1966. godine koji ne pokazuje veliki afinitet za CB1 i CB2 receptore (22). Istraživanje provedeno 2010. godine pokazalo je kako CBC ima sposobnost ublažavanja edema šape miševa induciranog lipopolisaharidom (LPS), a u kombinaciji s  $\Delta^9$ -THC-om CBC je pojačao protuupalne učinke  $\Delta^9$ -THC-a (139). Osim toga, CBC utječe na endokanabinoidni sustav inhibirajući unos AEA te također pokazuje izraziti agonizam na TRPA1 kanalu, slabiju aktivaciju TRPV3 i TRPV4 receptora te blokadu TRPM8 receptora (22). Fiziološki gledano, CBC uzrokuje hipotermiju, sedaciju i hipoaktivnost u miševa te također pokazuje protuupalna, antibakterijska i blaga analgetska svojstva (7).

**Kanabinol (CBN)** je oksidirani metabolit  $\Delta^9$ -THC-a te kao takav može poslužiti kao indirektni pokazatelj starosti biljke jer stariji biljni uzorci sadržavaju veću koncentraciju CBN-a (22,135). CBN je slabi psihoaktivni spoj koji se veže na kanabinoidne receptore s time da pokazuje veći afinitet prema CB2 receptoru. Na CB1 receptoru CBN djeluje kao slabi agonist dok na CB2 receptoru djeluje kao agonist ili inverzni agonist jer su istraživanja koja su se koristila cAMP testom i GTP $\gamma$ S metodom odvojeno pokazala različite rezultate (22). CBN također ima sposobnost inhibiranja nekoliko enzima uključujući ciklooksigenazu,

lipoksigenazu te neke citokrom P450 enzime (135). Istraživanje provedeno na ljudima je pokazalo kako doza od 50 mg per os CBN-a ne ostvaruje učinke, točnije nije došlo do ubrzavanja srčanog ritma i psiholoških efekata. Doduše u kombinaciji s  $\Delta^9$ -THC-om došlo je do jačeg odgovora u usporedbi sa samostalnom primjenom  $\Delta^9$ -THC-a (140). U novijem istraživanju pokazano je kako kombinacija CBD-a i CBN-a uspješno poništava NGF-om induciranu miofascijalnu bol. Iako je takav efekt bio slabiji nego primjenom  $\Delta^9$ -THC-a, nedostatkom psiholoških efekata takav pristup obećava u analgetskoj primjeni kanabinoida (141).

**Tetrahidrokanabinolična kiselina ( $\Delta^9$ -THCA)** je karboksilirani prekursor  $\Delta^9$ -THC-a. Nekoliko različitih *in vitro* studija pokušalo je odgonetnuti afinitet  $\Delta^9$ -THCA prema kanabinoidnim receptorima ali dobiveni su kontradiktorni rezultati. *In vivo* studija provedena 2013. godine pokazala je kako  $\Delta^9$ -THCA ublažuje simptome mučnine i povraćanja u miševa i rovkvi preko CB1 mehanizma. Autori su naglasili razliku njihovih rezultata i prijašnjih *in vitro* studija te su odbacili mogućnost transformacije  $\Delta^9$ -THCA u  $\Delta^9$ -THC jer u krvi nije primjećen  $\Delta^9$ -THC te zato jer nije bilo kanabimimetičnog odgovora hipotermije i hipolokomocije. Moguće objašnjenje takvih različitih nalaza je pretpostavka kako je  $\Delta^9$ -THCA agonist CB1 receptora sa nemogućnošću prolaska u centralni živčani sustav te zbog toga aktivira samo periferne CB1 receptore. Nekoliko različitih studija pokazalo je imunomodulacijska, protuupalna, neuroprotektivna i antitumorska svojstva  $\Delta^9$ -THCA. Konkretno,  $\Delta^9$ -THCA je inhibirao otpuštanje tumor nekrotizirajućeg faktora  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) iz LPS-om aktiviranih makrofaga te je također inhibirao enzimsku aktivnost fosfatidilkolin specifične fosfolipaze C (PC-PLC). Protuupalna svojstva  $\Delta^9$ -THCA proizlaze iz neselektivne inhibicije ciklooksigenaze 1 i 2. U *in vitro* modelu Parkinsonove bolesti,  $\Delta^9$ -THCA je bio neuroprotektivan protiv toksičnosti 1-metil-4-fenil piridiniuma (MPP<sup>+</sup>). Konačno,  $\Delta^9$ -THCA

je umanjio vitalnost androgen-receptor pozitivnih i androgen-receptor negativnih stanica karcinoma prostate (142).

Tablica 1. Učinci određenih fitokanabinoida na endokanabinoidne receptore (6,22)

| Naziv fitokanabinoida | UČINAK NA ENDOKANABINOIDNE RECEPTORE |      |       |       |       |       |       |               |              |       |
|-----------------------|--------------------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|---------------|--------------|-------|
|                       | GPCRs                                |      | TRP   |       |       |       |       | PPARs         | orphan GPCRs |       |
|                       | CB1                                  | CB2  | TRPV1 | TRPV2 | TRPV3 | TRPA1 | TRPM8 | PPAR $\gamma$ | GPR55        | GPR18 |
| $\Delta^9$ -THC       | P.A.                                 | P.A. | /     | +     | +     | +     | -     | +             | ?            | +     |
| CBD                   | N.A.M.                               | /    | +     | +     | +     | +     | -     | +             | -            | -     |
| THCV                  | -                                    | +    | +     | +     | +     | +     | -     | /             | /            | /     |
| CBG                   | /                                    | +    | +     | +     | /     | +     | -     | +             | /            | /     |
| CBDV                  | /                                    | /    | +     | +     | +     | +     | -     | /             | /            | /     |
| CBC                   | /                                    | /    | +     | /     | /     | /     | /     | /             | /            | /     |
| THCA                  | /                                    | /    | /     | /     | /     | /     | /     | +             | /            | /     |
| CBN                   | +                                    | +    | /     | /     | /     | +     | -     | /             | /            | /     |
| CBDA                  | /                                    | /    | /     | /     | /     | /     | /     | +             | /            | /     |

+ = agonist, - = antagonist, P.A.= parcijalni agonist, N.A.M. = negativni alosterički modulator, / = nema učinka, ? = kontradiktorni nalazi



## **6. Zaključak**

Iako su znanstvena zajednica i šira javnost svakodnevno izložene novim medicinskim otkrićima, ljudska vrsta je daleko od potpunog razumijevanja vlastitog tijela. Proces otkrivanja novih medicinskih spoznaja nerijetko je spor i zamoran te također često otvara više pitanja nego što ih zatvara. Neovisno o tome, budućnost je uvijek optimistična. Prije samo nekoliko desetljeća, endogeni sustav koji kontrolira procese neuromodulacije, imunomodulacije, analgezije i karcinogeneze bio je nezamisliv a danas je stvarnost. Postepenim razumijevanjem endokanabinoidnog sustava i fitokanabinoida moderna medicina dobiva ogroman broj novih mogućnosti koje su na nama da ih u potpunosti otkrijemo.

## **7. Zahvale**

Zahvaljujem se mentoru, Ognjenu Brboroviću na ukazanoj prilici, pomoći i strpljenju tijekom pisanja ovog diplomskog rada. Također se zahvaljujem roditeljima, bratu i ostaloj obitelji na potpunoj, neuvjetovanoj podršci i pomoći tijekom mog fakultetskog školovanja. Htio bih se također zahvaliti mojim bliskim prijateljima, bez kojih školovanje ne bi bilo isto, ne bi bilo srcu drago. Posebno se zahvaljujem prijatelju Alanu Horvatu koji me u šest godina prijateljstva naučio ono što se na fakultetu ne uči. Na kraju htio bih se zahvaliti svojoj djevojci, Ines na emocionalnoj podršci tijekom pisanja ovog rada i tijekom svakog dana provedenog s njom.

## 8. Literatura

1. Loewe S. Cannabiswirkstoffe und Pharmakologie der Cannabinole. Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol. 1950;211(2):175–93.
2. Gaoni Y, Mechoulam R. Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. J Am Chem Soc. 1964;86(8):1646–7.
3. Mechoulam R, Shvo Y. Hashish—I. Tetrahedron. 1963;19(12):2073–8.
4. Varvel SA. 9-Tetrahydrocannabinol Accounts for the Antinociceptive, Hypothermic, and Cataleptic Effects of Marijuana in Mice. J Pharmacol Exp Ther. 2005 Apr 1;314(1):329–37.
5. Mechoulam R, Shani A, Edery H, Grunfeld Y. Chemical basis of hashish activity. Science. 1970 Aug 7;169(3945):611–2.
6. Di Marzo V. New approaches and challenges to targeting the endocannabinoid system. Nat Rev Drug Discov. 2018;17(9):623–39.
7. Ligresti A, De Petrocellis L, Di Marzo V. From Phytocannabinoids to Cannabinoid Receptors and Endocannabinoids: Pleiotropic Physiological and Pathological Roles Through Complex Pharmacology. Physiol Rev. 2016;96(4):1593–659.
8. Mechoulam R, Gaoni Y. The absolute configuration of delta-1-tetrahydrocannabinol, the major active constituent of hashish. Tetrahedron Lett. 1967 Mar;12:1109–11.
9. Howlett AC. Cannabinoid receptor signaling. Handb Exp Pharmacol. 2005;(168):53–79.
10. Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, et al.

- Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci.* 1990 Mar 1;87(5):1932–6.
11. Howlett AC, Fleming RM. Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase. Pharmacology of the response in neuroblastoma cell membranes. *Mol Pharmacol.* 1984 Nov;26(3):532–8.
  12. Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature.* 1990 Aug 9;346(6284):561–4.
  13. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature.* 1993 Sep;365(6441):61–5.
  14. Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science.* 1992 Dec 18;258(5090):1946–9.
  15. Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol.* 1995 Jun 29;50(1):83–90.
  16. Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, Nakane S, Shinoda A, Itoh K, et al. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995 Oct 4;215(1):89–97.
  17. Di Marzo V, Fontana A. Anandamide, an endogenous cannabinomimetic eicosanoid: ‘Killing two birds with one stone.’ *Prostaglandins, Leukot Essent Fat Acids.* 1995 Jul 1;53(1):1–11.
  18. Hurst DP, Schmeisser M, Reggio PH. Endogenous lipid activated G protein-coupled

- receptors: Emerging structural features from crystallography and molecular dynamics simulations. *Chem Phys Lipids*. 2013 Apr;169:46–56.
19. McPartland JM, Agraval J, Gleeson D, Heasman K, Glass M. Cannabinoid receptors in invertebrates. *J Evol Biol*. 2006 Mar;19(2):366–73.
  20. Mechoulam R, Parker LA. The Endocannabinoid System and the Brain. *Annu Rev Psychol*. 2013 Jan 3;64(1):21–47.
  21. Mackie K. Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. *Handb Exp Pharmacol*. 2005;(168):299–325.
  22. Morales P, Hurst DP, Reggio PH. Molecular Targets of the Phytocannabinoids: A Complex Picture. *Prog Chem Org Nat Prod*. 2017;103:103–31.
  23. Zou S, Kumar U. Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: Signaling and function in the central nervous system. *Int J Mol Sci*. 2018;19(3).
  24. Pertwee RG. Cannabinoids and the gastrointestinal tract. *Gut*. 2001 Jun 1;48(6):859–67.
  25. Wagner JA, Hu K, Bauersachs J, Karcher J, Wiesler M, Goparaju SK, et al. Endogenous cannabinoids mediate hypotension after experimental myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2001 Dec;38(7):2048–54.
  26. Fulmer ML, Thewke DP. The Endocannabinoid System and Heart Disease: The Role of Cannabinoid Receptor Type 2. *Cardiovasc Hematol Disord Targets*. 2018 May 16;18(1):34–51.
  27. Mackie K, Devane WA, Hille B. Anandamide, an endogenous cannabinoid, inhibits calcium currents as a partial agonist in N18 neuroblastoma cells. *Mol Pharmacol*. 1993 Sep;44(3):498–503.

28. Gebremedhin D, Lange AR, Campbell WB, Hillard CJ, Harder DR. Cannabinoid CB1 receptor of cat cerebral arterial muscle functions to inhibit L-type Ca<sup>2+</sup> channel current. *Am J Physiol Circ Physiol.* 1999 Jun;276(6):H2085–93.
29. Metna-Laurent M, Mondésir M, Grel A, Vallée M, Piazza PV. Cannabinoid-induced tetrad in mice. In: *Current Protocols in Neuroscience.* Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2017. p. 9.59.1-9.59.10.
30. Lynn AB, Herkenham M. Localization of cannabinoid receptors and nonsaturable high-density cannabinoid binding sites in peripheral tissues of the rat: implications for receptor-mediated immune modulation by cannabinoids. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994 Mar;268(3):1612–23.
31. Galègue S, Mary S, Marchand J, Dussossoy D, Carrière D, Carayon P, et al. Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem.* 1995 Aug 15;232(1):54–61.
32. Bouaboula M, Rinaldi M, Carayon P, Carillon C, Delpech B, Shire D, et al. Cannabinoid-receptor expression in human leukocytes. *Eur J Biochem.* 1993 May 15;214(1):173–80.
33. Maresz K, Carrier EJ, Ponomarev ED, Hillard CJ, Dittel BN. Modulation of the cannabinoid CB2 receptor in microglial cells in response to inflammatory stimuli. *J Neurochem.* 2005 Oct;95(2):437–45.
34. Szallasi A. Vanilloid (Capsaicin) Receptors in Health and Disease. *Am J Clin Pathol.* 2002 Jul 1;118(1):110–21.
35. Di Marzo V, De Petrocellis L. Why do cannabinoid receptors have more than one endogenous ligand? *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2012 Dec 5;367(1607):3216–28.

36. Bisogno T, Hanuš L, De Petrocellis L, Tchilibon S, Ponde DE, Brandi I, et al. Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. *Br J Pharmacol.* 2001 Oct;134(4):845–52.
37. Pertwee RG, Ross RA. Cannabinoid receptors and their ligands. *Prostaglandins, Leukot Essent Fat Acids.* 2002 Feb;66(2–3):101–21.
38. Sawzdargo M, Nguyen T, Lee DK, Lynch KR, Cheng R, Heng HH, et al. Identification and cloning of three novel human G protein-coupled receptor genes GPR52, PsiGPR53 and GPR55: GPR55 is extensively expressed in human brain. *Brain Res Mol Brain Res.* 1999 Feb 5;64(2):193–8.
39. Mackie K, Stella N. Cannabinoid receptors and endocannabinoids: evidence for new players. *AAPS J.* 2006 Apr 28;8(2):E298-306.
40. Ryberg E, Larsson N, Sjögren S, Hjorth S, Hermansson N-O, Leonova J, et al. The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br J Pharmacol.* 2007 Jan 29;152(7):1092–101.
41. McHugh D, Page J, Dunn E, Bradshaw HB.  $\Delta(9)$ -Tetrahydrocannabinol and N-arachidonyl glycine are full agonists at GPR18 receptors and induce migration in human endometrial HEC-1B cells. *Br J Pharmacol.* 2012 Apr;165(8):2414–24.
42. Lee J-W, Huang BX, Kwon H, Rashid MA, Kharebava G, Desai A, et al. Orphan GPR110 (ADGRF1) targeted by N-docosahexaenoyl ethanolamine in development of neurons and cognitive function. *Nat Commun.* 2016 Dec 19;7(1):13123.
43. Baur R, Kielar M, Richter L, Ernst M, Ecker GF, Sigel E. Molecular analysis of the site for 2-arachidonylglycerol (2-AG) on the  $\beta 2$  subunit of GABA A receptors. *J*

- Neurochem. 2013 Jul;126(1):29–36.
44. Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimoto Y, Uchigashima M, Watanabe M. Endocannabinoid-Mediated Control of Synaptic Transmission. *Physiol Rev.* 2009 Jan;89(1):309–80.
  45. Castillo PE, Younits TJ, Chávez AE, Hashimoto Y. Endocannabinoid Signaling and Synaptic Function. *Neuron.* 2012 Oct 4;76(1):70–81.
  46. Katona I, Freund TF. Endocannabinoid signaling as a synaptic circuit breaker in neurological disease. *Nat Med.* 2008 Sep 5;14(9):923–30.
  47. Pacher P, Bátkai S, Kunos G. The Endocannabinoid System as an Emerging Target of Pharmacotherapy. *Pharmacol Rev.* 2006 Sep 1;58(3):389–462.
  48. Murataeva N, Straiker A, Mackie K. Parsing the players: 2-arachidonoylglycerol synthesis and degradation in the CNS. *Br J Pharmacol.* 2014 Mar;171(6):1379–91.
  49. Chanda D, Neumann D, Glatz JFC. The endocannabinoid system: Overview of an emerging multi-faceted therapeutic target. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids.* 2019;140:51–6.
  50. Schmid HH. Pathways and mechanisms of N-acyl ethanolamine biosynthesis: can anandamide be generated selectively? *Chem Phys Lipids.* 2000 Nov;108(1–2):71–87.
  51. Petrosino S, Di Marzo V. FAAH and MAGL inhibitors: therapeutic opportunities from regulating endocannabinoid levels. *Curr Opin Investig Drugs.* 2010 Jan;11(1):51–62.
  52. 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 Nov 7;384(6604):83–7.



53. Fowler CJ. Oleamide: a member of the endocannabinoid family? *Br J Pharmacol.* 2004 Jan;141(2):195–6.
54. Saghatelian A, McKinney MK, Bandell M, Patapoutian A, Cravatt BF. A FAAH-regulated class of N-acyl taurines that activates TRP ion channels. *Biochemistry.* 2006 Aug 1;45(30):9007–15.
55. Navia-Paldanius D, Savinainen JR, Laitinen JT. Biochemical and pharmacological characterization of human  $\alpha/\beta$ -hydrolase domain containing 6 (ABHD6) and 12 (ABHD12). *J Lipid Res.* 2012 Nov;53(11):2413–24.
56. Blankman JL, Simon GM, Cravatt BF. A Comprehensive Profile of Brain Enzymes that Hydrolyze the Endocannabinoid 2-Arachidonoylglycerol. *Chem Biol.* 2007 Dec;14(12):1347–56.
57. Kozak KR, Prusakiewicz JJ, Marnett LJ. Oxidative metabolism of endocannabinoids by COX-2. *Curr Pharm Des.* 2004;10(6):659–67.
58. Ueda N, Yamamoto K, Yamamoto S, Tokunaga T, Shirakawa E, Shinkai H, et al. Lipoxygenase-catalyzed oxygenation of arachidonylethanolamide, a cannabinoid receptor agonist. *Biochim Biophys Acta - Lipids Lipid Metab.* 1995 Jan 20;1254(2):127–34.
59. Snider NT, Walker VJ, Hollenberg PF. Oxidation of the Endogenous Cannabinoid Arachidonoyl Ethanolamide by the Cytochrome P450 Monooxygenases: Physiological and Pharmacological Implications. *Pharmacol Rev.* 2010 Mar 1;62(1):136–54.
60. SCHULTZ OE, HAFFNER G. [On the question of the biosynthesis of cannabinol. Part III]. *Arch Pharm Ber Dtsch Pharm Ges.* 1960 Jan;293/65:1–8.
61. Reekie TA, Scott MP, Kassiou M. The evolving science of phytocannabinoids. *Nat*

- Rev Chem. 2017;2(1):0101.
62. Hanuš LO, Meyer SM, Muñoz E, Tagliatalata-Scafati O, Appendino G. Phytocannabinoids: a unified critical inventory. *Nat Prod Rep.* 2016 Nov 23;33(12):1357–92.
  63. Rehman R, Hanif MA, Mushtaq Z, Al-Sadi AM. Biosynthesis of essential oils in aromatic plants: A review. *Food Rev Int.* 2016 Apr 2;32(2):117–60.
  64. Shoyama Y, Yagi M, Nishioka I, Yamauchi T. Biosynthesis of cannabinoid acids. *Phytochemistry.* 1975 Oct 1;14(10):2189–92.
  65. Fellermeier M, Zenk MH. Prenylation of olivetolate by a hemp transferase yields cannabigerolic acid, the precursor of tetrahydrocannabinol. *FEBS Lett.* 1998 May 8;427(2):283–5.
  66. Shani A, Mechoulam R. Cannabielsoic acids: Isolation and synthesis by a novel oxidative cyclization. *Tetrahedron.* 1974 Jan 1;30(15):2437–46.
  67. Taura F, Morimoto S, Shoyama Y, Mechoulam R. First direct evidence for the mechanism of .DELTA.1-tetrahydrocannabinolic acid biosynthesis. *J Am Chem Soc.* 1995 Sep;117(38):9766–7.
  68. Cunningham CW. Plant-Based Modulators of Endocannabinoid Signaling. *J Nat Prod.* 2019 Mar 22;82(3):636–46.
  69. Holy J. Terapijski potencijal medicinske konoplje. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet; 2017.
  70. Szabo B, Schlicker E. Effects of cannabinoids on neurotransmission. *Handb Exp Pharmacol.* 2005;(168):327–65.

71. Anavi-Goffer S, Baillie G, Irving AJ, Gertsch J, Greig IR, Pertwee RG, et al. Modulation of  $\text{l-}\alpha\text{-Lysophosphatidylinositol/GPR55}$  Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) Signaling by Cannabinoids. *J Biol Chem.* 2012 Jan 2;287(1):91–104.
72. Xiong W, Koo B-N, Morton R, Zhang L. Psychotropic and nonpsychotropic cannabis derivatives inhibit human 5-HT<sub>3A</sub> receptors through a receptor desensitization-dependent mechanism. *Neuroscience.* 2011 Jun 16;184:28–37.
73. Hejazi N, Zhou C, Oz M, Sun H, Ye JH, Zhang L. 9-Tetrahydrocannabinol and Endogenous Cannabinoid Anandamide Directly Potentiate the Function of Glycine Receptors. *Mol Pharmacol.* 2005 Dec 6;69(3):991–7.
74. Xiong W, Wu X, Lovinger DM, Zhang L, Rice KC, Lovinger DM, et al. A Common Molecular Basis for Exogenous and Endogenous Cannabinoid Potentiation of Glycine Receptors. *J Neurosci.* 2012 Apr 11;32(15):5200–8.
75. O’Sullivan SE, Kendall DA, Randall MD. Further Characterization of the Time-Dependent Vascular Effects of 9-Tetrahydrocannabinol. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005 Dec 21;317(1):428–38.
76. Vara D, Morell C, Rodríguez-Henche N, Diaz-Laviada I. Involvement of PPAR $\gamma$  in the antitumoral action of cannabinoids on hepatocellular carcinoma. *Cell Death Dis.* 2013 May 2;4(5):e618.
77. Qin N, Neepor MP, Liu Y, Hutchinson TL, Lubin ML, Flores CM. TRPV2 Is Activated by Cannabidiol and Mediates CGRP Release in Cultured Rat Dorsal Root Ganglion Neurons. *J Neurosci.* 2008 Jun 11;28(24):6231–8.
78. De Petrocellis L, Ligresti A, Moriello AS, Allarà M, Bisogno T, Petrosino S, et al. Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched *Cannabis* extracts on TRP channels

- and endocannabinoid metabolic enzymes. *Br J Pharmacol.* 2011 Aug;163(7):1479–94.
79. De Petrocellis L, Orlando P, Moriello AS, Aviello G, Stott C, Izzo AA, et al. Cannabinoid actions at TRPV channels: effects on TRPV3 and TRPV4 and their potential relevance to gastrointestinal inflammation. *Acta Physiol.* 2012 Feb;204(2):255–66.
80. Childers SR. Activation of G-proteins in brain by endogenous and exogenous cannabinoids. *AAPS J.* 2006 Mar 10;8(1):E112-7.
81. Baker D, Pryce G, Croxford JL, Brown P, Pertwee RG, Huffman JW, et al. Cannabinoids control spasticity and tremor in a multiple sclerosis model. *Nature.* 2000 Mar;404(6773):84–7.
82. Lyman WD, Sonett JR, Brosnan CF, Elkin R, Bornstein MB. Delta 9-tetrahydrocannabinol: a novel treatment for experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol.* 1989 Jun;23(1):73–81.
83. Chen R, Zhang J, Fan N, Teng Z, Wu Y, Yang H, et al.  $\Delta^9$ -THC-Caused Synaptic and Memory Impairments Are Mediated through COX-2 Signaling. *Cell.* 2013 Nov 21;155(5):1154–65.
84. Rubino T, Guidali C, Vigano D, Realini N, Valenti M, Massi P, et al. CB1 receptor stimulation in specific brain areas differently modulate anxiety-related behaviour. *Neuropharmacology.* 2008 Jan;54(1):151–60.
85. Realini N, Vigano' D, Guidali C, Zamberletti E, Rubino T, Parolaro D. Chronic URB597 treatment at adulthood reverted most depressive-like symptoms induced by adolescent exposure to THC in female rats. *Neuropharmacology.* 2011 Feb;60(2–3):235–43.

86. Rubino T, Vigano' D, Realini N, Guidali C, Braida D, Capurro V, et al. Chronic  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol During Adolescence Provokes Sex-Dependent Changes in the Emotional Profile in Adult Rats: Behavioral and Biochemical Correlates. *Neuropsychopharmacology*. 2008 Oct 2;33(11):2760–71.
87. Steffens S, Veillard NR, Arnaud C, Pelli G, Burger F, Staub C, et al. Low dose oral cannabinoid therapy reduces progression of atherosclerosis in mice. *Nature*. 2005 Apr 7;434(7034):782–6.
88. Takeda S, Jiang R, Aramaki H, Imoto M, Toda A, Eyanagi R, et al.  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol and Its Major Metabolite  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol-11-oic Acid as 15-Lipoxygenase Inhibitors. *J Pharm Sci*. 2011 Mar;100(3):1206–11.
89. Velasco G, Sánchez C, Guzmán M. Anticancer mechanisms of cannabinoids. *Curr Oncol*. 2016 Mar;23(Suppl 2):S23.
90. Blázquez C, Casanova ML, Planas A, Del Pulgar TG, Villanueva C, Fernández-aceñero MJ, et al. Inhibition of tumor angiogenesis by cannabinoids. *FASEB J*. 2003 Mar;17(3):529–31.
91. Blazquez C, Salazar M, Carracedo A, Lorente M, Egia A, Gonzalez-Feria L, et al. Cannabinoids Inhibit Glioma Cell Invasion by Down-regulating Matrix Metalloproteinase-2 Expression. *Cancer Res*. 2008 Mar 15;68(6):1945–52.
92. Sultan SR, Millar SA, O'Sullivan SE, England TJ. A Systematic Review and Meta-Analysis of the In Vivo Haemodynamic Effects of  $\Delta^8$ -Tetrahydrocannabinol. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2018 Jan 31;11(1).
93. Pryce G, Riddall DR, Selwood DL, Giovannoni G, Baker D. Neuroprotection in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis and Progressive Multiple Sclerosis by

- Cannabis-Based Cannabinoids. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2015 Jun 24;10(2):281–92.
94. Aso E, Sánchez-Pla A, Vegas-Lozano E, Maldonado R, Ferrer I. Cannabis-Based Medicine Reduces Multiple Pathological Processes in A $\beta$ PP/PS1 Mice. *J Alzheimer's Dis.* 2014 Dec 2;43(3):977–91.
95. Rabinak CA, Angstadt M, Sripada CS, Abelson JL, Liberzon I, Milad MR, et al. Cannabinoid facilitation of fear extinction memory recall in humans. *Neuropharmacology.* 2013 Jan;64:396–402.
96. Naftali T, Bar-Lev Schleider L, Dotan I, Lansky EP, Sklerovsky Benjaminov F, Konikoff FM. Cannabis Induces a Clinical Response in Patients With Crohn's Disease: A Prospective Placebo-Controlled Study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013 Oct;11(10):1276-1280.e1.
97. Storr M, Devlin S, Kaplan GG, Panaccione R, Andrews CN. Cannabis Use Provides Symptom Relief in Patients with Inflammatory Bowel Disease but Is Associated with Worse Disease Prognosis in Patients with Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2014 Mar;20(3):472–80.
98. Kirkham TC, Williams CM. Endocannabinoid receptor antagonists: potential for obesity treatment. *Treat Endocrinol.* 2004;3(6):345–60.
99. Volicer L, Stelly M, Morris J, McLaughlin J, Volicer BJ. Effects of dronabinol on anorexia and disturbed behavior in patients with Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry.* 1997 Sep;12(9):913–9.
100. Malfitano AM, Ciaglia E, Gangemi G, Gazzero P, Laezza C, Bifulco M. Update on the endocannabinoid system as an anticancer target. *Expert Opin Ther Targets.* 2011 Mar 19;15(3):297–308.

101. Zheng D, Bode AM, Zhao Q, Cho Y-Y, Zhu F, Ma W-Y, et al. The Cannabinoid Receptors Are Required for Ultraviolet-Induced Inflammation and Skin Cancer Development. *Cancer Res.* 2008 May 15;68(10):3992–8.
102. Pérez-Gómez E, Andradas C, Blasco-Benito S, Caffarel MM, García-Taboada E, Villa-Morales M, et al. Role of Cannabinoid Receptor CB2 in HER2 Pro-oncogenic Signaling in Breast Cancer. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 2015 Jun;107(6):djv077.
103. McPartland JM, Glass M, Pertwee RG. Meta-analysis of cannabinoid ligand binding affinity and receptor distribution: interspecies differences. *Br J Pharmacol.* 2009 Jan 29;152(5):583–93.
104. Long LE, Chesworth R, Huang X-F, McGregor IS, Arnold JC, Karl T. A behavioural comparison of acute and chronic  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and cannabidiol in C57BL/6JArc mice. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2010 Aug 29;13(07):861–76.
105. Laprairie RB, Bagher AM, Kelly MEM, Denovan-Wright EM. Cannabidiol is a negative allosteric modulator of the cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor. *Br J Pharmacol.* 2015 Oct;172(20):4790–805.
106. McPartland JM, Duncan M, Di Marzo V, Pertwee RG. Are cannabidiol and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabivarin negative modulators of the endocannabinoid system? A systematic review. *Br J Pharmacol.* 2015 Feb;172(3):737–53.
107. Machado Bergamaschi M, Helena Costa Queiroz R, Waldo Zuardi A, Alexandre S. Crippa J. Safety and Side Effects of Cannabidiol, a Cannabis sativa Constituent. *Curr Drug Saf.* 2011 Sep 1;6(4):237–49.
108. Ligresti A, Moriello AS, Starowicz K, Matias I, Pisanti S, De Petrocellis L, et al. Antitumor Activity of Plant Cannabinoids with Emphasis on the Effect of Cannabidiol

- on Human Breast Carcinoma. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006 May 23;318(3):1375–87.
109. Massi P, Vaccani A, Ceruti S, Colombo A, Abbracchio MP, Parolaro D. Antitumor Effects of Cannabidiol, a Nonpsychoactive Cannabinoid, on Human Glioma Cell Lines. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003 Nov 21;308(3):838–45.
110. Massi P, Vaccani A, Bianchessi S, Costa B, Macchi P, Parolaro D. The non-psychoactive cannabidiol triggers caspase activation and oxidative stress in human glioma cells. *Cell Mol Life Sci.* 2006 Sep 10;63(17):2057–66.
111. Solinas M, Massi P, Cantelmo A, Cattaneo M, Cammarota R, Bartolini D, et al. Cannabidiol inhibits angiogenesis by multiple mechanisms. *Br J Pharmacol.* 2012 Nov;167(6):1218–31.
112. Fernández-Ruiz J, Sagredo O, Pazos MR, García C, Pertwee R, Mechoulam R, et al. Cannabidiol for neurodegenerative disorders: important new clinical applications for this phytocannabinoid? *Br J Clin Pharmacol.* 2013 Feb;75(2):323–33.
113. Peres FF, Lima AC, Hallak JEC, Crippa JA, Silva RH, Abílio VC. Cannabidiol as a Promising Strategy to Treat and Prevent Movement Disorders? *Front Pharmacol.* 2018;9:482.
114. O’Sullivan SE, Sun Y, Bennett AJ, Randall MD, Kendall DA. Time-dependent vascular actions of cannabidiol in the rat aorta. *Eur J Pharmacol.* 2009 Jun 10;612(1–3):61–8.
115. Esposito G, Scuderi C, Valenza M, Togna GI, Latina V, De Filippis D, et al. Cannabidiol Reduces A $\beta$ -Induced Neuroinflammation and Promotes Hippocampal Neurogenesis through PPAR $\gamma$  Involvement. Linden R, editor. *PLoS One.* 2011 Dec 5;6(12):e28668.



116. Mori MA, Meyer E, Soares LM, Milani H, Guimarães FS, de Oliveira RMW. Cannabidiol reduces neuroinflammation and promotes neuroplasticity and functional recovery after brain ischemia. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2017 Apr 3;75:94–105.
117. Durst R, Danenberg H, Gallily R, Mechoulam R, Meir K, Grad E, et al. Cannabidiol, a nonpsychoactive *Cannabis* constituent, protects against myocardial ischemic reperfusion injury. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2007 Dec;293(6):H3602–7.
118. Borrelli F, Aviello G, Romano B, Orlando P, Capasso R, Maiello F, et al. Cannabidiol, a safe and non-psychoactive ingredient of the marijuana plant *Cannabis sativa*, is protective in a murine model of colitis. *J Mol Med*. 2009 Nov 20;87(11):1111–21.
119. Malfait AM, Gallily R, Sumariwalla PF, Malik AS, Andreakos E, Mechoulam R, et al. The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritic therapeutic in murine collagen-induced arthritis. *Proc Natl Acad Sci*. 2000 Aug 15;97(17):9561–6.
120. Wilkinson JD, Williamson EM. Cannabinoids inhibit human keratinocyte proliferation through a non-CB1/CB2 mechanism and have a potential therapeutic value in the treatment of psoriasis. *J Dermatol Sci*. 2007 Feb;45(2):87–92.
121. Lee W-S, Erdelyi K, Matyas C, Mukhopadhyay P, Varga Z V, Liaudet L, et al. Cannabidiol Limits T Cell-Mediated Chronic Autoimmune Myocarditis: Implications to Autoimmune Disorders and Organ Transplantation. *Mol Med*. 2016 Jan 8;22(1):136–46.
122. Costa B, Trovato AE, Comelli F, Giagnoni G, Colleoni M. The non-psychoactive cannabis constituent cannabidiol is an orally effective therapeutic agent in rat chronic inflammatory and neuropathic pain. *Eur J Pharmacol*. 2007 Feb 5;556(1–3):75–83.

123. McKallip RJ, Jia W, Schlomer J, Warren JW, Nagarkatti PS, Nagarkatti M. Cannabidiol-Induced Apoptosis in Human Leukemia Cells: A Novel Role of Cannabidiol in the Regulation of p22phox and Nox4 Expression. *Mol Pharmacol*. 2006 Jun 20;70(3):897–908.
124. McKallip RJ. Targeting CB2 cannabinoid receptors as a novel therapy to treat malignant lymphoblastic disease. *Blood*. 2002 Jun 28;100(2):627–34.
125. Parker LA, Rock EM, Limebeer CL. Regulation of nausea and vomiting by cannabinoids. *Br J Pharmacol*. 2011 Aug;163(7):1411–22.
126. Zuardi AW, Morais SL, Guimarães FS, Mechoulam R. Antipsychotic effect of cannabidiol. *J Clin Psychiatry*. 1995 Oct;56(10):485–6.
127. Zuardi AW, Hallak JEC, Dursun SM, Morais SL, Sanches RF, Musty RE, et al. Cannabidiol monotherapy for treatment-resistant schizophrenia. *J Psychopharmacol*. 2006 Sep 9;20(5):683–6.
128. Karniol IG, Shirakawa I, Kasinski N, Pfeferman A, Carlini EA. Cannabidiol interferes with the effects of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol in man. *Eur J Pharmacol*. 1974 Sep;28(1):172–7.
129. Shannon S, Lewis N, Lee H, Hughes S. Cannabidiol in Anxiety and Sleep: A Large Case Series. *Perm J*. 2019;23:18–041.
130. Devinsky O, Cross JH, Laux L, Marsh E, Miller I, Nabbout R, et al. Trial of Cannabidiol for Drug-Resistant Seizures in the Dravet Syndrome. *N Engl J Med*. 2017 May 25;376(21):2011–20.
131. Thiele EA, Marsh ED, French JA, Mazurkiewicz-Beldzinska M, Benbadis SR, Joshi C, et al. Cannabidiol in patients with seizures associated with Lennox-Gastaut syndrome

- (GWPCARE4): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet*. 2018 Mar 17;391(10125):1085–96.
132. Devinsky O, Patel AD, Cross JH, Villanueva V, Wirrell EC, Privitera M, et al. Effect of Cannabidiol on Drop Seizures in the Lennox–Gastaut Syndrome. *N Engl J Med*. 2018 May 17;378(20):1888–97.
133. Russo EB. The Case for the Entourage Effect and Conventional Breeding of Clinical Cannabis: No “Strain,” No Gain. *Front Plant Sci*. 2018;9:1969.
134. Yeshurun M, Shpilberg O, Herscovici C, Shargian L, Dreyer J, Peck A, et al. Cannabidiol for the Prevention of Graft-versus-Host-Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Results of a Phase II Study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015 Oct;21(10):1770–5.
135. Marcu JP. An Overview of Major and Minor Phytocannabinoids. *Neuropharmacol Drug Addict Subst Misuse*. 2016 Jan 1;672–8.
136. Pertwee RG. The diverse CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub> receptor pharmacology of three plant cannabinoids:  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol, cannabidiol and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabivarin. *Br J Pharmacol*. 2008 Jan;153(2):199–215.
137. Rock EM, Goodwin JM, Limebeer CL, Breuer A, Pertwee RG, Mechoulam R, et al. Interaction between non-psychoactive cannabinoids in marijuana: effect of cannabigerol (CBG) on the anti-nausea or anti-emetic effects of cannabidiol (CBD) in rats and shrews. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011 Jun 18;215(3):505–12.
138. Borrelli F, Pagano E, Romano B, Panzera S, Maiello F, Coppola D, et al. Colon carcinogenesis is inhibited by the TRPM8 antagonist cannabigerol, a Cannabis-derived non-psychoactive cannabinoid. *Carcinogenesis*. 2014 Dec;35(12):2787–97.

139. DeLong GT, Wolf CE, Poklis A, Lichtman AH. Pharmacological evaluation of the natural constituent of Cannabis sativa, cannabichromene and its modulation by  $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabinol. *Drug Alcohol Depend.* 2010 Nov 1;112(1–2):126–33.
140. Karniol IG, Shirakawa I, Takahashi RN, Knobel E, Musty RE. Effects of  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol and Cannabinol in Man. *Pharmacology.* 1975;13(6):502–12.
141. Wong H, Cairns BE. Cannabidiol, cannabinol and their combinations act as peripheral analgesics in a rat model of myofascial pain. *Arch Oral Biol.* 2019 Aug;104:33–9.
142. Moreno-Sanz G. Can You Pass the Acid Test? Critical Review and Novel Therapeutic Perspectives of  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinolic Acid A. *Cannabis cannabinoid Res.* 2016;1(1):124–30.

## 9. Životopis

### OSOBNI PODACI

Ime i prezime: Tin Horvatić

Datum rođenja: 12.5.1994.

Mjesto rođenja: Zagreb, Hrvatska

### ŠKOLOVANJE I IZOBRAZBA

Fakultet: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet  
(2013.-2019.)

Srednja škola: XV. Gimnazija, Zagreb, Hrvatska

Osnovna škola: Osnovna škola „Rugvica“, Rugvica, Hrvatska

### POSEBNA ZNANJA I VJEŠTINE:

Strani jezici: aktivno služenje engleskim jezikom