

O Sistema Endocanabinóide – uma perspetiva terapêutica

The Endocannabinoid system - a therapeutic perspective

Fonseca, B. M.^{1,2}, Costa, M. A.^{1,2}, Almada, M.^{1,2}, Soares, A.³, Correia-da-Silva, G.^{1,2}, Teixeira, N. A.^{1,2}

ARTIGO DE REVISÃO | REVIEW ARTICLE

RESUMO

A utilização terapêutica da Cannabissativa ou seus derivados é conhecida há muitos anos, no entanto, o estudo das suas propriedades despontou recentemente com a descoberta de um sistema canabinóide endógeno (ECS). O ECS compreende os compostos endógenos similares ao tetrahydrocannabinol (endocanabinóides), os recetores canabinóides (CB1 e CB2) e as enzimas envolvidas no seu metabolismo. Desde a descoberta do ECS, a comunidade científica focou-se na investigação do seu potencial clínico com resultados encorajadores. Em alguns países, os derivados da cannabis constituem uma opção farmacológica na estimulação do apetite e tratamento da dor. O primeiro medicamento baseado no ECS, o rimonabant (um antagonista CB1), foi aprovado para o tratamento da obesidade associada a outros fatores de risco, no entanto foi retirado por questões de segurança. Atualmente, e baseadas nos estudos pré-clínicos e clínicos, existem várias evidências do seu interesse clínico na modulação de diversas condições fisiopatológicas. Neste artigo discutimos o papel potencial do sistema (endo)canabinóide na terapêutica e as recentes estratégias desenvolvidas na modulação do sistema.

Palavras-Chaves: Endocanabinóides, Recetores canabinóides, Farmacoterapia

ABSTRACT

Although the medicinal use of Cannabis sativa derivatives is well known since antiquity, the study of their properties expanded recently with the discovery of an endogenous cannabinoid system, which comprises the endogenous cannabis-like ligands (endocannabinoids), the cannabinoid receptors (CB1 and CB2) and the enzymes involved in their metabolism. Since the discovery of the endocannabinoid system (ECS), the scientific community focused on research of its clinical use and achieved important findings during the last decade. In some countries, cannabis derivatives are a pharmacological option for appetite stimulation and pain treatment. However, the first ECS-based drug rimonabant (a CB1 antagonist), approved for the treatment obesity with associated risk factors, was withdrawn due to safety concerns. Nowadays, based on the growing evidences resulting from preclinical and clinical studies of ECS modulators, these drugs are currently pointed out as novel therapeutic approaches for several pathophysiological conditions. Here, we review the potential role of (endo)cannabinoid system in therapeutics and the recent designed strategies for the development of drugs that target this system.

Keywords: Endocannabinoids, Cannabinoid receptors, Pharmacotherapy

¹Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Porto, Portugal

²Instituto de Biologia Molecular e Celular da Universidade do Porto, Porto, Portugal

³Serviços Farmacêuticos, Centro Hospitalar Tâmega e Sousa – Unidade S. Gonçalo, Portugal

Endereço para correspondência: Natércia A. Teixeira Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto – Ciências Biológicas - Porto – Portugal *E-mail:* natercia@ff.up.pt

Submetido/ Submitted: 18 de outubro de 2013 | Aceite/Accepted: 11 de novembro de 2013

INTRODUÇÃO

As primeiras evidências da utilização de *Cannabis sativa* com fins medicinais datam do terceiro milénio a.C., na Índia. Esta planta era utilizada devido às suas propriedades analgésicas, antieméticas e anti-convulsivantes¹. No entanto, a diversidade de substâncias ativas da *cannabis* e a natureza lipídica dos fitocannabinóides dificultou significativamente a sua caracterização. Assim, o isolamento do seu principal composto ativo, A₉-tetrahydrocannabinol (THC), ocorreu apenas em 1964², pelo que o uso terapêutico da *cannabis* resumia-se à utilização de partes da planta, resultando numa grande variabilidade na dosagem dos seus princípios ativos e concomitantemente nos seus efeitos terapêuticos. Desta forma, o uso terapêutico da *cannabis* foi preterido relativamente a preparações farmacêuticas com composição definida que permitiam um maior controlo dos seus efeitos terapêuticos e secundários. Além do mais, a utilização de *Cannabis sativa* com fins recreativos e o conceito pejorativo que lhe é inerente foram determinantes para que a sua utilização médica fosse “rejeitada” pela sociedade, contribuindo para o atraso na investigação das suas propriedades farmacológicas.

Contudo, a descoberta do Sistema Endocannabinóide (ECS) e a consolidação do seu papel fulcral na homeostasia de diversos sistemas biológicos contribuíram para a mudança de mentalidades e para a aceitação do THC e análogos e outros fármacos que modulam o sinal canabinóide como novas estratégias terapêuticas a explorar³. De facto, embora

existam referências com vários séculos à utilização de THC na terapêutica, os últimos anos têm sido férteis no estudo das suas potencialidades clínicas. O número de referências indexadas na base de dados PubMed praticamente triplicou na última década demonstrando o interesse do seu estudo para a comunidade científica (Figura 1).

SISTEMA ENDOCANABINÓIDE: A DESCOBERTA

Apesar do longo historial do uso da *cannabis* para fins recreativos e medicinais, apenas recentemente se começou a compreender os mecanismos de ação que medeiam os efeitos amplamente conhecidos desta planta.

Dada a natureza hidrofóbica do THC e a sua caracterização tardia, considerava-se que este canabinóide exercia os seus efeitos por interação com a membrana celular. Esta linha de pensamento persistiu durante anos sem se questionar a existência de recetores específicos ou de canabinóides endógenos. Contudo, este impasse foi ultrapassado com o desenvolvimento de análogos do THC que permitiram identificar possíveis locais de ação dos canabinóides a nível cerebral. Assim, em 1988, foi identificado um recetor que era ativado pelo THC e seus análogos, o recetor canabinóide¹(CB1)⁴.

O CB1 é principalmente expresso a nível do sistema nervoso central e medeia os efeitos psicotrópicos dos canabinóides. Após a caracterização molecular deste recetor, seguiu-se a descoberta do primeiro endocannabinóide (ligando endógeno capaz de ativar os recetores canabinóides), a anandamida (AEA)⁵. Etimologica-

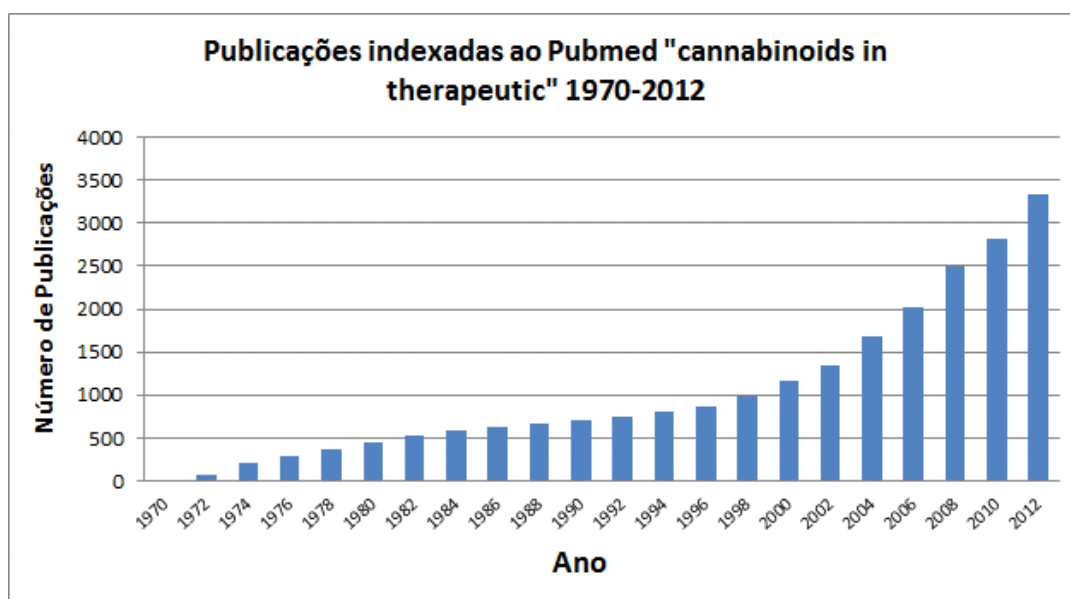


Figura 1. Número de publicações indexadas ao Pubmed “cannabinoids in therapeutics” nos anos de 1970 a 2012

mente, o nome anandamida provém da palavra sânscrita “ananda”, que significa prazer, e da natureza do seu grupo químico, uma amida. Posteriormente, em 1993, foi identificado o segundo recetor canabinóide, o CB2⁶, localizado principalmente em órgãos e tecidos periféricos. Nos anos seguintes, outros endocanabinóides foram identificados tais como o 2-araquidonilglicerol (2-AG), a virodamina, a *N*-araquidonildopamina e o 2-araquidonilgliceril éter. Estas moléculas variam em termos de eficácia e afinidade para os recetores CB1 e CB2, sendo que algumas delas são capazes de ativar apenas um destes recetores⁷.

Os endocanabinóides são sintetizados a partir de precursores membranares e apenas sob estímulo, não se encontrando armazenados em vesículas como a maioria dos neurotransmissores⁸. A síntese de AEA é depois mediada por uma fosfolipase específica (“arachidonoyl-phosphatidylethanolamine-phospholipase D”; NAPE-PLD) enquanto o 2-AG é sintetizado através de uma outra lípase (“diacylglycerol lípase”; DAGL). Uma vez sintetizados, os endocanabinóides são rapidamente degradados. A AEA é degradada por uma hidrólase das amidas dos ácidos gordos (“fatty acid amide hydrolase”; FAAH) enquanto o 2-AG é degradado pela FAAH ou por uma lípase de gliceróis (“monoacylglycerol lipase”; MAGL).

Assim, o Sistema Endocanabinóide (Figura 2) é constituído pelos recetores canabinóides, pelos endocanabinóides, pelas enzimas envolvidas no seu metabolismo e pelo respetivo transportador membranar (“Endocannabinoid membranetransporter”; EMT)⁷.

Quando ativados, os recetores canabinóides interferem com várias vias de sinalização para exercerem os seus efeitos nos diferentes tecidos e órgãos⁹. Nos neurónios, a estimulação pré-sináptica do CB1 inibe a libertação de neurotransmissores¹⁰. No fígado, onde a expressão do CB1 é normalmente baixa, a sua estimulação conduz a um aumento de acetil-Coenzima A carboxilase e de ácidos gordos e consequentemente a um aumento da lipogénese¹¹. Já a ativação do recetor CB2, maioritariamente expresso nas células do sistema imunitário, parece mediar efeitos imunossupressores¹². Existem vários outros processos patofisiológicos onde a sinalização canabinóide está envolvida, nomeadamente na memória, dor, inflamação, apetite, reprodução

e sistema cardiovascular (Figura 3)¹³⁻¹⁷. Assim, a modulação dos recetores canabinóides surge como uma abordagem potencialmente relevante numa perspetiva terapêutica.

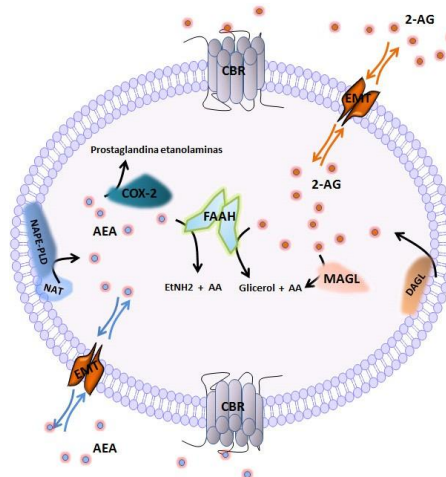


Figura 2. Representação esquemática do Sistema Endocanabinóide. A anandamida (AEA) é sintetizada pelas enzimas N-acetiltransferase (NAT) e uma fosfolipase específica (“arachidonoylphosphatidylethanolamine-phospholipase D”; NAPE-PLD) enquanto o 2-AG é sintetizado através de uma outra lípase (“diacylglycerol lípase”; DAGL). Uma vez sintetizados a AEA e o 2-AG ligam-se ao transportador membranar dos endocanabinóides (EMT) ficando disponíveis para atuar nos recetores canabinóides. O transportador remove rapidamente estes compostos sendo a AEA degradada por uma hidrólase das amidas dos ácidos gordos (“fatty acid amide hydrolase”; FAAH) enquanto o 2-AG é degradado pela FAAH ou por uma lípase de gliceróis (“monoacylglycerol lípase”; MAGL) a AA e glicerol. Um mecanismo alternativo é mediado pela ciclooxigenase-2 (COX-2) que converte a AEA a prostaglandina etanolamina.

De facto, o envolvimento do sistema endocanabinóide em vários processos fisiológicos e patológicos despertou o interesse de várias empresas farmacêuticas para a investigação e desenvolvimento de novas moléculas que tenham como alvo os diferentes membros deste sistema e portanto que modulem o sinal (endo)canabinóide.

THC E SEUS ANÁLOGOS NA TERAPÊUTICA

Como já foi referido, as propriedades medicinais da *cannabis*, que são conhecidas desde a antiguidade, provêm principalmente do seu teor em THC. Este canabinóide tem como principais efeitos com interesse clínico a ação analgésica¹⁸, a diminuição da pressão intraocular¹⁹, a estimulação do apetite¹⁵, a atividade ansiolítica²⁰ e antiemética²¹, efeitos que resul-

tam da ativação do recetor CB1. No entanto, os efeitos psicotrópicos, a potencial dependência e efeitos adversos (sedação, disfunção cognitiva, taquicardia, hipotensão postural, ataxia, infertilidade, imunossupressão e xerotomia²²⁻²³), impuseram restrições ao seu uso clínico.

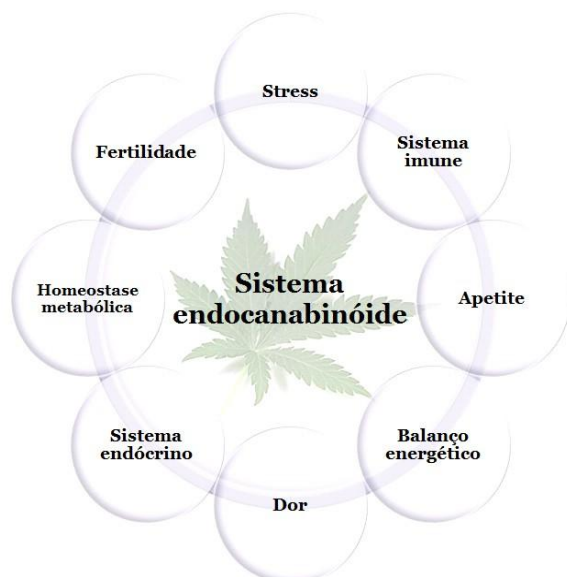


Figura 3. O Sistema Endocanabinóide encontra-se envolvido em diversos processos fisiológicos. Particularmente relevantes e mais estudado está o seu envolvimento na dor, balanço energético, apetite, homeostase, fertilidade, sistema endócrino e imune.

Apesar de as propriedades da *cannabis* na diminuição da pressão intraocular serem bem conhecidas, o consumo de marijuana não está recomendado para o tratamento do glaucoma¹⁹. De facto, a curta duração de ação da marijuana (apenas 3-4 horas), que implica um consumo frequente, e os efeitos no comportamento, que comprometem a capacidade cognitiva e mental, têm sido argumentos frequentes contra a sua utilização. Outros aspetos relevantes são os efeitos a nível do sistema nervoso central e lesões pulmonares devido à diversidade de compostos existentes na marijuana. Por outro

lado, a sua utilização sistémica reduz a pressão sanguínea que pode ser prejudicial para o nervo ótico²⁴. Com a identificação dos recetores canabinóides a administração local poderá vir a diminuir os efeitos secundários.

Os primeiros fármacos desenvolvidos para modular o sistema endocanabinóide foram análogos do THC com apropriada estabilidade metabólica, biodisponibilidade oral e reduzidos efeitos adversos (Tabela 1). A utilização do THC e análogos na prática clínica foi reintroduzida na década de 80, particularmente nos Estados Unidos e Canadá. Inicialmente, um derivado sintético do THC, o dronabinol, foi utilizado em doentes oncológicos para estimulação do apetite e redução das náuseas e vômitos secundários à quimioterapia. O dronabinol tem como nome comercial Marinol® e é distribuído sob a forma de cápsulas pela *Abbott Laboratories*. Atualmente, a sua utilização abrange também os doentes com SIDA, e é usado como estimulante do apetite. Com interesse terapêutico muito similar ao dronabinol, a nabilona (outro derivado sintético do THC), é comercializada pela *Valeant Pharmaceuticals International* sob a designação de Cesamet®. Embora o Cesamet® seja usado há vários anos no Reino Unido e Canadá sem historial de abuso ou intoxicação, a sua utilização nos Estados Unidos continua proibida dada a sua classificação como estupefaciente. Em Portugal quer o Marinol®, quer o Cesamet® não são comercializados.

Para além do THC, a *cannabis* tem elevados teores de outros canabinóides²⁵. Entre eles, o canabidiol (CBD) é o mais abundante e extensivamente estudado, embora o seu mecanismo de ação ainda não esteja totalmente compreendido. Apesar de não apresentar afinidade para os recetores canabinóides, o CBD parece bloquear a recaptação e degradação da AEA. Além disso, o CBD parece possuir propriedades

Tabela 1. Utilização terapêutica dos medicamentos baseados na modulação do sistema endocanabinóide.

Nome comercial	Denominação Comum Internacional	Uso Terapêutico
1Marinol®	Dronabinol	Estimulação do apetite e antiemético em doentes oncológicos e com SIDA
1Cesamet®	Nabilona	Estimulação do apetite e antiemético em doentes oncológicos e com SIDA
Sativex®	THC e Canabidiol	Tratamento da rigidez muscular e dor neuropática em doentes com Esclerose Múltipla; Analgésico em doentes oncológicos terminais
2Acomplia®	Rimonabant	Redução do apetite; Tratamento da obesidade

agonistas dos recetores da serotonina²⁶. Adicionalmente, a atividade psicomimética, atenuando inclusive os efeitos psicomiméticos e ansiogénicos associados às doses elevadas de THC. A constatação de que a associação com o CBD melhorava o valor terapêutico do THC levou a que, em 2005, fosse aprovado no Canadá um outro medicamento derivado dos canabinóides, o Sativex®. O Sativex® inclui na sua fórmula THC e CBD em quantidades similares e está disponível na forma de spray, o que permite uma absorção a nível da mucosa oral e concomitantemente um efeito mais rápido. O Sativex® é utilizado para o tratamento da rigidez muscular e dor neuropática em doentes com Esclerose Múltipla e também como analgésico em doentes oncológicos em fase terminal em associação com os opióides. Desde junho de 2012, o Sativex® está autorizado em Portugal com indicação terapêutica na esclerose múltipla e é comercializado pela *Almirall* sob licença da *GW Pharmaceuticals*.

Embora a utilização terapêutica dos agonistas canabinóides seja promissora e tenha já aplicação clínica em situações selecionadas, a possibilidade de dependência, bem como os seus efeitos prejudiciais a nível do sistema nervoso central continuam a constituir os maiores obstáculos a uma utilização mais ampla. Por outro lado, o bloqueio dos recetores canabinóides tem revelado resultados promissores, particularmente no controlo do apetite. Estudos com o antagonista do CB1 rimonabant demonstram uma diminuição significativa da ingestão de alimentos em animais²⁷. Também com animais obesos sujeitos a uma dieta rica em gordura, o tratamento crónico com rimonabant diminuiu a ingestão de alimentos resultando numa perda de peso²⁸. Simultaneamente, um outro estudo mostrou que animais CB1 knock-out mostraram resistência em ganhar peso, inclusive quando sujeitos a uma dieta hiperlipídica²⁹. Tais evidências resultaram no desenvolvimento clínico e posterior autorização de introdução no mercado do rimonabant para o tratamento da obesidade, em junho de 2006. Este fármaco foi comercializado sob a designação de *Acomplia*® pela *Sanofi-Aventis* em mais de 55 países mas foi retirado do mercado ainda antes de ser comercializado em Portugal³⁰. A comercialização do *Acomplia*® foi suspensa na União Europeia dado que a sua utilização estava relacionada com um aumento do risco de ansiedade e depressão³¹. Uma vez que estes

efeitos resultavam essencialmente da estimulação do CB1 a nível central, estuda-se a utilização de agonistas parciais para prevenir os efeitos psiquiátricos secundários resultantes do bloqueio total do CB1. De facto, a utilização de agonistas parciais leva a uma menor prevalência de efeitos adversos, sem haver uma diminuição da eficácia farmacológica³¹. Outra estratégia seria desenvolver antagonistas do CB1 que não atravessem a barreira hematoencefálica. O LH-21, antagonista do CB1 com menor penetração no sistema nervoso central que o rimonabant, revelou uma diminuição do apetite e consequentemente do aporte calórico em animais, apresentando uma menor incidência de efeitos secundários³².

Outros ensaios clínicos sugerem que atenuar a produção de endocanabinóides em vez de bloquear os recetores CB1 pode constituir uma abordagem mais fisiológica para a terapêutica da obesidade, já que nos indivíduos obesos se verificam níveis elevados de endocanabinóides e não uma maior expressão de recetores CB1. Aliás, indivíduos obesos revelaram uma menor expressão de recetores CB1 comparativamente com indivíduos normoponderais³³. Tal estratégia passa por modular o sistema endocanabinoide de forma a corrigir níveis anormalmente elevados de endocanabinóides e constitui uma nova abordagem terapêutica.

PERSPETIVAS TERAPÊUTICAS BASEADAS NOS ENDOCANABINÓIDES

Na última década emergiu uma nova perspectiva terapêutica com a síntese de fármacos que modulam o sinal canabinoide por ativação ou inibição dos recetores canabinóides e das enzimas que sintetizam e degradam os endocanabinóides. Atualmente, as atenções incidem menos nos fármacos que atuam diretamente nos recetores canabinóides (isto é, agonistas canabinóides tais como o THC). Embora as propriedades farmacológicas do THC sejam semelhantes às da AEA, esta é rapidamente hidrolisada pelo que a sua utilização clínica se encontra limitada. Assim, uma estratégia promissora explora a interferência com os processos de inativação (por exemplo, inibidores da enzima de degradação, a FAAH), aumentando os níveis dos endocanabinóides e potenciando a sua atividade. Estes potenciadores dos endocanabinóides são mais vantajosos pois são pensados para preservar a especificidade endocanabinoide, limi-

tando os efeitos adversos indesejáveis.

Atualmente existe uma grande variedade destas moléculas em estudos pré-clínicos. A inibição da degradação da AEA é possível através de inibidores da sua hidrólise pela FAAH, tais como URB597, PF-04457845 e OL-135³⁴ ou inibidores do transportador dos endocanabinóides, tais como AM404, UCM707, OMDM-1 e OMDM-2 e VDM11³⁵. Estes compostos têm atraído a atenção de várias empresas, pois emergem como promissores no tratamento da ansiedade e da dor^{18,36}, o que tem sido corroborado pelos resultados promissores de vários ensaios clínicos. Neste sentido, atualmente está a decorrer um ensaio clínico fase II para avaliar a segurança e eficácia do inibidor da FAAH PF-04457845 no tratamento da dependência de cannabis³⁷.

Além do mais, foram descritos compostos endógenos análogos dos endocanabinóides com atividade biológica em modelos animais de dor e obesidade que, apesar de desprovidos de ação nos recetores canabinóides, interferem com a degradação dos endocanabinóides e consequentemente com as suas concentrações.

Notavelmente, os endocanabinóides constituem um sistema distinto de sinalização envolvido nas diversas funções fisiológicas, desde homeostase, modulação de nociceção, resposta imunitária e inflamatória e ainda função do sistema cardiovascular. A modulação deste sistema constitui um promissor alvo terapêutico pelo que o conhecimento mais profundo nesta área permitirá o desenvolvimento das melhores estratégias para explorar a sua utilidade.

CONCLUSÃO

O uso medicinal da planta *Cannabis sativa* foi abandonado em vários países, apesar de inúmeros relatos que confirmam a sua segurança e baixa toxicidade. Ao longo dos últimos quatro mil anos, esta planta tem sido utilizada para o tratamento de numerosas patologias mas, devido às suas propriedades psicoativas, o seu uso medicinal é altamente restrito. Por outro lado, os canabinóides sintéticos têm sido aceites pela comunidade médica.

Embora diversas evidências confirmem que as propriedades analgésicas do THC são úteis e complementares às dos opióides, a sua utilização clínica é essencialmente como estimulante do apetite. Contudo, a nabilona, um análogo sintético do THC, foi autorizada há já

vários anos para o tratamento do espasmo muscular e dor em doentes com esclerose múltipla. Mais recentemente, o antagonista do CB1 rimonabant foi comercializado para o tratamento da obesidade. No entanto, o uso terapêutico dos canabinóides também pode ser acompanhado por reações adversas, tais como ataques de ansiedade ou pânico, o que levou à retirada do mercado do rimonabant. Em Portugal, foi recentemente autorizada a introdução no mercado do primeiro medicamento que interfere com o sistema endocanabinóide, o Sativex®, com indicação terapêutica para a esclerose múltipla.

Particularmente relevantes são as evidências de potenciais aplicações terapêuticas resultantes da manipulação do sistema endocanabinóide. A considerável investigação no conhecimento das suas ações fisiológicas e a panóplia de mecanismos biológicos em que os endocanabinóides se encontram envolvidos começa apenas agora a desvendar-se. A sua utilização recai principalmente sobre os agonistas/antagonistas dos recetores canabinóides (baseados na estrutura química do THC ou dos endocanabinóides) e os potenciadores da ação dos endocanabinóides recorrendo à inibição da sua recaptção ou das enzimas de degradação. De facto, a grande variedade de funções fisiológicas afetadas pelos endocanabinóides sugere que o estudo aprofundado do sistema endocanabinóide pode permitir o desenvolvimento de novos fármacos com maior aceitabilidade social e reduzidos efeitos secundários.

Após duas décadas de investigação no sistema endocanabinóide, excitações descobertas foram feitas. Embora o puzzle continue certamente incompleto, o que sabemos até ao momento indica que vale a pena investir no seu estudo e manipulação clínica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Robson PJ. Therapeutic potential of cannabinoid medicines. *Drug Testing and Analysis*. 2013 Sep 4, (Doi: 10.1002/dta.1529).
2. Mechoulam R, Gaoni Y. A Total Synthesis of Δ^1 -Delta-1-Tetrahydrocannabinol, the Active Constituent of Hashish. *J Am Chem Soc*. 1965; 87:3273-5.
3. Pertwee RG. Targeting the endocannabinoid system with cannabinoid receptor agonists: pharmacological strategies and therapeutic possibilities. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*.

- 2012; 367(1607):3353-63.
- 4.Devane WA, Dysarz FA, 3rd, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*. 1988; 34(5):605-13.
- 5.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; 258(5090): 1946-9.
- 6.Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 1993; 365(6441):61-5.
- 7.Fonseca BM, Costa MA, Almada M, Correia-da-Silva G, Teixeira NA. Endogenous cannabinoids revisited: a biochemistry perspective. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2013; 102-103:13-30.
- 8.Fowler CJ. Transport of endocannabinoids across the plasma membrane and within the cell. *FEBS J*. 2013; 280(9):1895-904.
- 9.Pacher P, Kunos G. Modulating the endocannabinoid system in human health and disease-successes and failures. *FEBS J*. 2013; 280(9):1918-43.
- 10.Campos AC, Moreira FA, Gomes FV, Del Bel EA, Guimaraes FS. Multiple mechanisms involved in the large-spectrum therapeutic potential of cannabidiol in psychiatric disorders. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2012; 367(1607): 3364-78.
- 11.Osei-Hyiaman D, DePetrillo M, Pacher P, Liu J, Radaeva S, Batkai S, et al. Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J Clin Invest*. 2005; 115(5): 1298-305.
- 12.Maresz K, Pryce G, Ponomarev ED, Marsicano G, Croxford JL, Shriver LP, et al. Direct suppression of CNS autoimmune inflammation via the cannabinoid receptor CB(1) on neurons and CB(2) on autoreactive T cells. *Nat Med*. 2007; 13(4):492-7.
- 13.Fonseca BM, Correia-da-Silva G, Taylor AH, Lam PM, Marczylo TH, Bell SC, et al. The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol (2-AG) and metabolizing enzymes during rat fetoplacental development: a role in uterine remodelling. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010; 42(11): 1884-92.
- 14.Talwar R, Potluri VK. Cannabinoid 1 (CB1) receptor-pharmacology, role in pain and recent developments in emerging CB1 agonists. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2011; 10(5):536-44.
- 15.Marco EM, Romero-Zerbo SY, Viveros MP, Bermudez-Silva FJ. The role of the endocannabinoid system in eating disorders: pharmacological implications. *Behav Pharmacol*. 2012; 23(5-6): 526-36.
- 16.Bilkei-Gorzo A. The endocannabinoid system in normal and pathological brain ageing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2012; 367(1607): 3326-41.
- 17.Montecucco F, Di Marzo V. At the heart of the matter: the endocannabinoid system in cardiovascular function and dysfunction. *Trends Pharmacol Sci*. 2012; 33(6):331-40.
- 18.Zogopoulos P, Vasileiou I, Patsouris E, Theocharis SE. The role of endocannabinoids in pain modulation. *Fundam Clin Pharmacol*. 2013; 27(1):64-80.
- 19.Lederer CM. The use of marijuana to treat glaucoma. *Missouri Medicine*. 2012; 109(2):95.
- 20.Ashton CH, Moore PB. Endocannabinoid system dysfunction in mood and related disorders. *Acta Psychiatr Scand*. 2011; 124(4):250-61.
- 21.Parker LA, Rock EM, Limebeer CL. Regulation of nausea and vomiting by cannabinoids. *Br J Pharmacol*. 2011; 163(7):1411-22.
- 22.Hall W, Degenhardt L. The adverse health effects of chronic cannabis use. *Drug Testing and Analysis*. 2013, (Doi: 10.1002/dta.1506).
- 23.Hall W, Degenhardt L. Adverse health effects of non-medical cannabis use. *Lancet*. 2009; 374(9698): 1383-91.
- 24.Buys YM, Rafuse PE. Canadian Ophthalmological Society policy statement on the medical use of marijuana for glaucoma. *Can J Ophthalmol*. 2010; 45(4):324-6.
- 25.Elsohly MA, Slade D. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sci*. 2005; 78(5):539-48.
- 26.Russo EB, Burnett A, Hall B, Parker KK. Agonistic properties of cannabidiol at 5-HT1a receptors. *Neurochem Res*. 2005; 30(8):1037-43.
- 27.Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rossner S. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet*. 2005; 365(9468): 1389-97.
- 28.Tam J, Vemuri VK, Liu J, Batkai S, Mukhopadhyay B, Godlewski G, et al. Peripheral CB1 cannabinoid receptor blockade improves cardiometabolic risk in mouse models of obesity. *J Clin Invest*. 2010; 120(8):2953-66.

29. Ravinet Trillou C, Delgorge C, Menet C, Arnone M, Soubrie P. CB1 cannabinoid receptor knock-out in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004; 28(4):640-8.
30. Sam AH, Salem V, Ghatei MA. Rimonabant: From RIO to Ban. *J Obes*. 2011; 2011:432607.
31. Moreira FA, Crippa JA. The psychiatric side-effects of rimonabant. *Rev Bras Psiquiatr*. 2009; 31(2): 145-53.
32. Alonso M, Serrano A, Vida M, Crespillo A, Hernandez-Folgado L, Jagerovic N, et al. Anti-obesity efficacy of LH-21, a cannabinoid CB(1) receptor antagonist with poor brain penetration, in diet-induced obese rats. *Br J Pharmacol*. 2012; 165(7):2274-91.
33. Engeli S, Bohnke J, Feldpausch M, Gorzelnik K, Janke J, Batkai S, et al. Activation of the peripheral endocannabinoid system in human obesity. *Diabetes*. 2005; 54(10):2838-43.
34. Boger DL, Miyauchi H, Du W, Hardouin C, Fecik RA, Cheng H, et al. Discovery of a potent, selective, and efficacious class of reversible alpha-ketoheterocycle inhibitors of fatty acid amide hydrolase effective as analgesics. *J Med Chem*. 2005; 48(6):1849-56.
35. De Petrocellis L, Bisogno T, Davis JB, Pertwee RG, Di Marzo V. Overlap between the ligand recognition properties of the anandamide transporter and the VR1 vanilloid receptor: inhibitors of anandamide uptake with negligible capsaicin-like activity. *FEBS letters*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2000; 483(1):52-6.
36. Tambaro S, Bortolato M. Cannabinoid-related agents in the treatment of anxiety disorders: current knowledge and future perspectives. *Recent Pat CNS Drug Discov*. 2012; 7(1):25-40.
37. [cited 2013 22/02/2013]; Available from: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT0161865>