

Kannabinoid Tip 1 Reseptör (CB₁) ve Terapötik Yaklaşımlara Genel Bakış-I

Reşat Çınar¹, Özge Gündüz Çınar²

¹Laboratory of Physiologic Studies, National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, NIH, Bethesda, MD 20852 USA

²Laboratory of Behavioral and Genomic Neuroscience, National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, NIH, Bethesda, MD 20852 USA

Yazışma Adresi / Address reprint requests to: Özge Gündüz Çınar

Laboratory of Behavioral and Genomic Neuroscience, National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, 5625 Fishers Lane Room 2N09, Rockville, MD, USA 20852-9411
Telefon / Phone: 001-301-443-4052 Faks / Fax: 001-301-480-1952 Elektronik posta adresi / E-mail address: gunduzcinaro@mail.nih.gov, ozgegunduz@gmail.com

Kabul tarihi / Date of acceptance: 15 Aralık 2011 / December 15, 2011

ÖZET

Kannabinoid tip 1 reseptör (CB₁) ve terapötik yaklaşımlara genel bakış-I

Esrarın kullanımı çok eskilere dayanmasına rağmen biyolojik mekanizmalarının aydınlatılabilmesi için araştırmalar halen devam etmektedir. Esrarın psikoaktif bileşeni olan Δ9-Tetrahydrocannabinol (THC), sentetik analogları ve endojen lipid türevleri vücutta kannabinoid reseptörlerine bağlanırlar. Endokannabinoid sistem, merkezi sinir sisteminde ve periferdeki homeostazisi sağlayıcı rollerinden dolayı patofizyolojik durumlarda da oldukça önemlidirler. Bu yazıda endokannabinoid sistem ve terapötik önemi özetlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Esrar, endokannabinoidler, kannabinoid reseptör, CB₁, anandamid

ABSTRACT

An overview of cannabinoid receptor 1 (CB₁) and therapeutic approaches-I

Although marihuana has been used for many years, clarifications on its biological mechanisms are still going on. Δ9-Tetrahydrocannabinol (THC) the psychoactive component of marihuana, synthetic analogs and endogenous lipid derivatives bind to cannabinoid receptor. The endocannabinoid system is very important in the pathophysiological conditions due to their role for regulation of the homeostasis mainly in the central nervous system and the periphery. The endocannabinoid system and its therapeutic applications are briefly summarized here.

Key words: Marihuana, endocannabinoids, cannabinoid receptor, CB₁, anandamid

GİRİŞ VE TARİHÇE

Hint keneviri bitkisinin (*Cannabis sativa*) kullanımı Asya'da çok eskilere dayanmaktadır. Tedavi edici özelliklerine Çin Farmakopesinde milattan önce yaklaşık 200'lü yıllarda değinilmesine rağmen, esrar kökenli kimyasal etken maddelerin (kannabinoidlerin) yapılarının ve farmakolojik etki mekanizmalarının aydınlatılmasına özellikle son 100 yılı kapsayan zaman diliminde yapılan yoğun çalışmalar ışık tutmuştur.

Esrarla ilgili araştırmalar, bitkisel kaynaklı kimyasal etken maddelerin yani fitokannabinoidlerin izolasyonları ve kimyasal yapılarının aydınlatılmasıyla başlamıştır. 1899 yılında kannabinol'ün esrar reçinesinden izole edilmesinden, 1964'te delta-9-tetrahydrokannabinol'un (Δ⁹-THC) kimyasal yapısının aydınlatılmasına kadar geçen süreçte araştırmacıları fitokannabinoidlerin etki mekanizmalarını araştırmaya yönlendirmiştir. 1988 yılında esrarın ana etken maddelerinden olan tetrahydrokannabinol'ün (1) sıçan beyinde bir bağlanma bölgesinin olduğunun keşfedilmesi (2), beyinde-

ki muhtemel bir reseptör proteininin varlığını işaret etmiştir ve bunu takiben 1990 yılında ilk kannabinoid reseptörü olan kannabinoid reseptör tip 1 (CB₁) klonlanmıştır (3). 1992 yılında domuz beyinde endojen bir lipid olan araşidonil-etanolamin (AEA) keşfedilmiş ve CB₁'e bağlandığı gösterilmiştir (4). Bu endojen lipide Sanskritçede keyif ve mutluluk verici anlamına gelen "Ananda" ile kimyasal yapısındaki "amid" in birleşimi olarak Anandamid (AEA) ismi verilmiştir. Anandamid'in ilk endokannabinoid olarak tanımlanmasından sonra 1995 yılında yine bir araşidonik asit türevi olan ester yapısındaki 2-araşidonil gliserol (2-AG) gösterilmiştir. Kannabinoid reseptörlerine bitkisel kaynaklı fitokannabinoidlerden başka endojen maddelerin ve araşidonik asit türevi kimyasal yapıların da etkin şekilde bağlanabildiği gösterilmiştir (4).

Kannabinoid Reseptörleri

THC ve sentetik analoglarının hem yapısal selektivite hem de stereoselektivite göstermelerinden yola çıkılarak

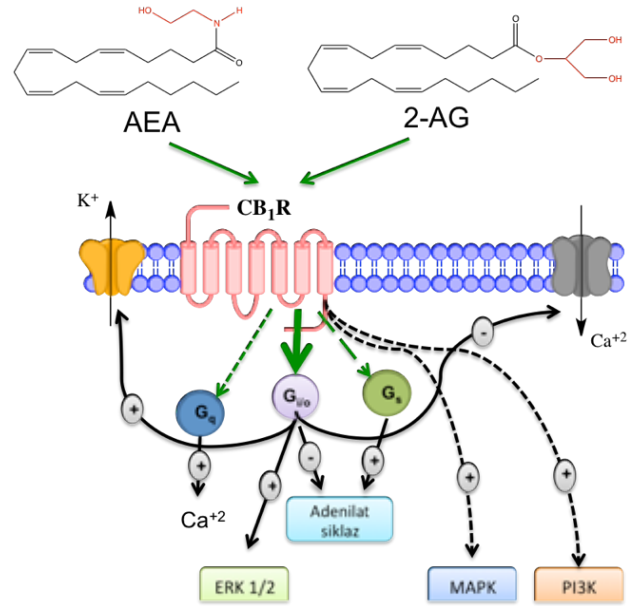
kendilerine özgü bir reseptörlerinin olduğu düşüncesi ilk kez sentetik kannabinoid agonisti [³H]CP-55,940'ın sıçan beyin membranına yüksek afiniteli, doygun ve stereoselektif bağlanmasıyla gösterilmiştir. Bu bağlanma bölgesi G-proteiniyle kenetlenmiş (GPCR) bir reseptör olan CB₁'dir (5). CB₁ reseptörü sıçanı takiben insan (6) ve fare (7) dokularından da klonlanmıştır. Değişik türler arasında oldukça yüksek aminoasit diziliş homolojisi olduğu gösterilmiştir. CB₁ reseptörler beyinde yüksek oranda, periferel doku ve hücrelerde ise daha düşük oranlarda bulunmaktadır. Periferel dokularda ve immün sistemde yüksek oranda bulunan ve sonradan keşfedildikleri için Kannabinoid Reseptörü tip 2 (CB₂) olarak adlandırılan reseptörler ise makrofajlardan klonlanmıştır (8). İlk başta sadece periferel ait olduğu düşünülen CB₂ reseptörler beyinde de tespit edilmiştir (9)

Endokannabinoidler ve Sinyal Yolakları

Endokannabinoidlerden AEA selektif olarak CB₁ reseptöre yüksek afiniteyle bağlanan bir parsiyel agonisttir, ayrıca çok düşük afiniteyle CB₂ reseptöre de bağlanıp antagonist gibi davranabilir (10). Diğer endokannabinoid 2-AG ise CB₁ reseptöre daha düşük afiniteyle bağlanmasına rağmen beyin ve diğer organlardaki oranının anandamide göre çok daha fazla olması ve reseptör üzerindeki etkinliğinin yüksek olmasından dolayı hem CB₁, hem de CB₂ tam agonistidir (11-15).

7-transmembranal segmentli G-proteiniyle kenetli reseptör ailesinin bir üyesi olan CB₁ ve CB₂ reseptörleri arasında düşük bir sekans homolojisi bulunmaktadır. Kenetlendikleri başlıca G-protein alt tipi G_{i/o}'dur. Bu kenetlenme sonucunda adenilat siklazın inhibisyonuna sebep olurlar. Ayrıca yine aynı kenetlenme sonucunda kalsiyum kanallarının (N-, L-, Q- ve P/Q-tipi) inhibisyonu (16-19), ve potasyum kanallarının aktivasyonuna (17,20,21) yol açarlar. Az da olsa G_{q/11} alt tipi kenetlenmesi sonucunda hücre içi kalsiyum düzeyini arttırdığı da gösterilmiştir (22). Kannabinoid reseptörler üzerinden mitojenle aktive edilen kinaz yolakları (MAP kinaz) (23-27) ve fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) yoluyla da aktive edilir (28). Bunların dışında bazı fosfatazların (protein fosfotaz-2b ve mitojenle aktive edilen protein kinaz fosfotaz-1) aktivitelerinin düzenlenmesinde de kannabinoid reseptörleri görev alır (29,30). Nadiren de olsa bazı durumlarda kannabinoid reseptörleri, G-proteinlerinin G_s alt tipi ile kenetlenerek adenilat siklazın aktivasyonuna

sebebi olduğu da bulunmuştur (31-34). CB₁ reseptörleri endotelial, mikroglial ve immün hücrelerde nitrik oksit (NO) salınımı ile bağlantılıdır (35).



Şekil 1: CB₁ reseptörlerinin sinyal yolakları

Endokannabinoidlerin Sentez ve Metabolizmaları

Endokannabinoidleri klasik nörotransmitterlerden ayıran en önemli özelliklerinden birisi sentezlenip veziküllerde saklanmayıp, ihtiyaca göre membran lipitlerinden sentezleniyor olmalarıdır (36-40). Bir diğer önemli fark ise endokannabinoidlerin post-sinaptik terminallerde sentezlenip pre-sinaptik terminallerdeki reseptörleri üzerinden nöromodülatör etki göstererek ters yönde (retrograde) sinyal iletimini sağlamalarıdır.

Anandamidin *in vivo* sentezi bir membran fosfolipid prekürsörü olan N-araşidonik fosfotidiletanolamid (41)'den fosfolipaz D tarafından enzimatik olarak katalizlenmesi sonucunda oluşur (42). 2-AG ise diaçilgliserol lipaz tarafından diaçilgliserolden sentezlenir (43). İhtiyaca göre sentezlenip yıkılma özelliğine sahip olan endokannabinoidlerden anandamid yağ asidi amid hidrolaz enzimi (FAAH) tarafından yağ asidi ve etanolamine hidrolize edilir (44-46). FAAH enzimi *in vivo* olarak sadece anandamidin yıkılımına spesifik olup 2-AG'yi sadece *in vitro* ortamlarda yıkabilir (47,48). FAAH enzimi hipokampus, serebellum ve amigdalada post-sinaptik terminallerde bulunmaktadır (49).

2-AG'nin araşidonik asit ve gliserole hidrolizinden ise

monoçilgliserol lipaz (MAGL) enzimi sorumludur (50-52). MAGL enzimi presinaptik akson terminallerinde ve GABAerjik ara nöronlarda bulunmaktadır (49). Endokannabinoidlerin membranın diğer tarafına taşınmasında ve hücre içine alınması ve hücre içinden salınmasında endokannabinoid membran taşıyıcı proteinleri görevlidir (53).

Kannabinoid Reseptörlerinin Vücuttaki Dağılımları

Santral sinir sistemi

CB₁ ve endokannabinoidlerin beyindeki varlıkları santral sinir sisteminde, özellikle de beyinde CB₁ reseptörlerinin dağılımları üzerine kapsamlı araştırmaların yapılmasına sebep olmuştur. Yapılan otoradyografi, in-situ hibridizasyon ve immunositokimya çalışmaları CB₁ reseptörlerin beyinde özellikle serebral korteks, hipokampus, bazal ganglia ve serebellumda yoğun dağılımını göstermiştir. Hipotalamus ve omurilikteki dağılım düzeyleri ise daha düşüktür (54,55). İnsan da dahil olmak üzere sıçan ve maymun gibi diğer hayvan türlerinde yapılan otoradyografi çalışmaları genelde CB₁ reseptörlerinin farklı türlerde benzer dağılımlar göstermesinin yanında (54-56) özellikle insanlarda amigdala ve singulat kortekste daha yoğun bulunduğunu göstermiştir (55). CB₁ reseptörlerinin beyindeki dağılımları ve reseptör yoğunluğu konusunda önemli bir nokta da kantitatif otoradyografi yöntemiyle elde edilmiş ölçümlerdeki reseptör yoğunluğunun

yaklaşık 1 pmol/mg'ın üzerinde olduğudur ki bu miktar birçok iyonotropik ve G-proteini ile kenetlenmiş reseptörlerin miktarından çok fazladır (57,58). Bu durum cannabinoid reseptörlerinin sinir sistemindeki önemine işaret etmektedir. CB₁ reseptörlerin beyin birçok bölgesinde inhibitör (GABAerjik) ve eksitator (glutamaterjik) terminallerdeki sinapslarda nörotransmitter salınımını ters yönde (retrograde) sinyal iletimi ile düzenlemesi de normal fizyolojik fonksiyonlardaki rolünü vurgulamaktadır.

Periferik organlar

Kannabinoid reseptör tip 1 mRNA'ları ve lokalizasyonları öncelikli ve yoğun şekilde santral sinir sisteminde ve periferik sinir sisteminde olmasına rağmen kalp, akciğer, prostat, testis, böbrek, böbreküstü bezleri, timus bezi, tonsiller, kemik iliği, dalak gibi periferdeki organlarda beyne göre daha az düzeylerde bulunmaktadır (59-62). Ayrıca cannabinoidlerin enerji metabolizmasını kontrolündeki etkilerinden sorumlu CB₁ reseptörleri; karaciğer, iskelet kasları, pankreas ve yağ dokularında da bulunur (63-69). Endokannabinoid sistemin periferde özellikle obezite, diabet, kanser (66,70-75) gibi patofizyolojik durumlardaki artan aktivasyonu, endokannabinoid sistemin terapötik yaklaşımlarda hedef olabileceğini göstermiştir.

Fizyolojik ve patofizyolojik durumlarda CB₁ reseptör sisteminin terapötik önemine derlememizin ikinci bölümünde değineceğiz.

KAYNAKLAR

- Mechoulam R, Gaoni Y. A total synthesis of D1-Tetrahydrocannabinol, the active constituent of Hashish. *J Am Chem Soc.* 1965;84:3273-3275.
- 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):605-613.
- Johnson MR, Rice KC, Howlett A, Melvin LS, Herkenham M. The cannabinoid receptor-pharmacologic identification, anatomical localization and cloning. *NIDA Res Monogr.* 1992;119:86-90.
- Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science.* 1992;258(5090):1946-1949.
- Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature.* 1990;346(6284):561-564.
- Gerard CM, Mollereau C, Vassart G, Parmentier M. Molecular cloning of a human cannabinoid receptor which is also expressed in testis. *Biochem J.* 1991;279 (Pt 1):129-134.
- Chakrabarti A, Onaivi ES, Chaudhuri G. Cloning and sequencing of a cDNA encoding the mouse brain-type cannabinoid receptor protein. *DNA Seq.* 1995;5(6):385-388.
- Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature.* 1993;365(6441):61-65.
- Van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ, Mouihate A, Urbani P, Mackie K, Stella N, Makriyannis A, Piomelli D, Davison JS, Marnett LJ, Di Marzo V, Pittman QJ, Patel KD, Sharkey KA. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science.* 2005;310(5746):329-332.
- Gonsiorek W, Lunn C, Fan X, Narula S, Lundell D, Hipkin RW. Endocannabinoid 2-arachidonoyl glycerol is a full agonist through human type 2 cannabinoid receptor: antagonism by anandamide. *Mol Pharmacol.* 2000;57(5):1045-1050.

11. Sugiura T, Kodaka T, Kondo S, Tonegawa T, Nakane S, Kishimoto S, Yamashita A, Waku K. 2-Arachidonoylglycerol, a putative endogenous cannabinoid receptor ligand, induces rapid, transient elevation of intracellular free Ca²⁺ in neuroblastoma x glioma hybrid NG108-15 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;229(1):58-64.
12. Sugiura T, Kodaka T, Nakane S, Miyashita T, Kondo S, Suhara Y, Takayama H, Waku K, Seki C, Baba N, Ishima Y. Evidence that the cannabinoid CB₁ receptor is a 2-arachidonoylglycerol receptor. Structure-activity relationship of 2-arachidonoylglycerol, ether-linked analogues, and related compounds. *J Biol Chem* 1999;274(5):2794-2801.
13. Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, Nakane S, Shinoda A, Itoh K, Yamashita A, Waku K. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;215(1):89-97.
14. Stella N, Schweitzer P, Piomelli D. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature.* 1997;388(6644):773-778.
15. Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, Gopher A, Almog S, Martin BR, Compton DR, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol.* 1995;50(1):83-90.
16. Mackie K, Hille B. Cannabinoids inhibit N-type calcium channels in neuroblastoma-glioma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(9):3825-3829.
17. Mackie K, Lai Y, Westenbroek R, Mitchell R. Cannabinoids activate an inwardly rectifying potassium conductance and inhibit Q-type calcium currents in AtT20 cells transfected with rat brain cannabinoid receptor. *J Neurosci.* 1995;15(10):6552-6561.
18. Gebremedhin D, Lange AR, Campbell WB, Hillard CJ, Harder DR. Cannabinoid CB₁ receptor of cat cerebral arterial muscle functions to inhibit L-type Ca²⁺ channel current. *Am J Physiol.* 1999;276(6 Pt 2):H2085-2093.
19. Hampson AJ, Bornheim LM, Scanziani M, Yost CS, Gray AT, Hansen BM, Leonoudakis DJ, Bickler PE. Dual effects of anandamide on NMDA receptor-mediated responses and neurotransmission. *J Neurochem.* 1998;70(2):671-676.
20. Henry DJ, Chavkin C. Activation of inwardly rectifying potassium channels (GIRK1) by co-expressed rat brain cannabinoid receptors in *Xenopus* oocytes. *Neurosci Lett.* 1995;186(2-3):91-94.
21. McAllister SD, Griffin G, Satin LS, Abood ME. Cannabinoid receptors can activate and inhibit G protein-coupled inwardly rectifying potassium channels in a *xenopus* oocyte expression system. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999;291(2):618-626.
22. Lauckner JE, Hille B, Mackie K. The cannabinoid agonist WIN55,212-2 increases intracellular calcium via CB₁ receptor coupling to Gq/11 G proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(52):19144-19149.
23. Wartmann M, Campbell D, Subramanian A, Burstein SH, Davis RJ. The MAP kinase signal transduction pathway is activated by the endogenous cannabinoid anandamide. *FEBS letters.* 1995;359(2-3):133-136.
24. Davis MI, Ronesi J, Lovinger DM. A predominant role for inhibition of the adenylate cyclase/protein kinase A pathway in ERK activation by cannabinoid receptor 1 in N1E-115 neuroblastoma cells. *J Biol Chem.* 2003;278(49):48973-48980.
25. Liu J, Gao B, Mirshahi F, Sanyal AJ, Khanolkar AD, Makriyannis A, Kunos G. Functional CB₁ cannabinoid receptors in human vascular endothelial cells. *Biochem J.* 2000;346 Pt 3:835-840.
26. Derkinderen P, Ledent C, Parmentier M, Girault JA. Cannabinoids activate p38 mitogen-activated protein kinases through CB₁ receptors in hippocampus. *J Neurochem.* 2001;77(3):957-960.
27. Rueda D, Galve-Roperh I, Haro A, Guzman M. The CB₁ cannabinoid receptor is coupled to the activation of c-Jun N-terminal kinase. *Mol Pharm.* 2000;58(4):814-820.
28. Gomez Del Pulgar T, De Ceballos ML, Guzman M, Velasco G. Cannabinoids protect astrocytes from ceramide-induced apoptosis through the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway. *J Biol Chem.* 2002;277(39):36527-36533.
29. Cannich A, Wotjak CT, Kamprath K, Hermann H, Lutz B, Marsicano G. CB₁ cannabinoid receptors modulate kinase and phosphatase activity during extinction of conditioned fear in mice. *Learning & memory.* 2004;11(5):625-632.
30. Eljaschewitsch E, Witting A, Mawrin C, Lee T, Schmidt PM, Wolf S, Hoertnagl H, Raine CS, Schneider-Stock R, Nitsch R, Ullrich O. The endocannabinoid anandamide protects neurons during CNS inflammation by induction of MKP-1 in microglial cells. *Neuron.* 2006;49(1):67-79.
31. Glass M, Felder CC. Concurrent stimulation of cannabinoid CB₁ and dopamine D₂ receptors augments cAMP accumulation in striatal neurons: evidence for a Gs linkage to the CB₁ receptor. *J Neurosci.* 1997;17(14):5327-5333.
32. Abadji V, Lucas-Lenard JM, Chin C, Kendall DA. Involvement of the carboxyl terminus of the third intracellular loop of the cannabinoid CB₁ receptor in constitutive activation of Gs. *J Neurochem.* 1999;72(5):2032-2038.
33. Calandra B, Portier M, Kerneis A, Delpech M, Carillon C, Le Fur G, Ferrara P, Shire D. Dual intracellular signaling pathways mediated by the human cannabinoid CB₁ receptor. *Eur J Pharmacol.* 1999;374(3):445-455.
34. Kearn CS, Blake-Palmer K, Daniel E, Mackie K, Glass M. Concurrent stimulation of cannabinoid CB₁ and dopamine D₂ receptors enhances heterodimer formation: a mechanism for receptor cross-talk? *Mol Pharmacol.* 2005;67(5):1697-1704.
35. Stefano GB, Liu Y, Goligorsky MS. Cannabinoid receptors are coupled to nitric oxide release in invertebrate immunocytes, microglia, and human monocytes. *J Biol Chem.* 1996;271(32):19238-19242.
36. Varma N, Carlson GC, Ledent C, Alger BE. Metabotropic glutamate receptors drive the endocannabinoid system in hippocampus. *J Neurosci.* 2001;21(24):RC188.
37. Kim J, Isokawa M, Ledent C, Alger BE. Activation of muscarinic acetylcholine receptors enhances the release of endogenous cannabinoids in the hippocampus. *J Neurosci.* 2002;22(23):10182-10191.
38. Witting A, Walter L, Wacker J, Moller T, Stella N. P2X₇ receptors control 2-arachidonoylglycerol production by microglial cells. *P Natl Acad Sci USA.* 2004;101(9):3214-3219.
39. Di S, Boudaba C, Popescu IR, Weng FJ, Harris C, Marcheselli VL, Bazan NG, Tasker JG. Activity-dependent release and actions of endocannabinoids in the rat hypothalamic supraoptic nucleus. *J Physiol.* 2005;569(Pt 3):751-760.

40. Di S, Malcher-Lopes R, Marcheselli VL, Bazan NG, Tasker JG. Rapid glucocorticoid-mediated endocannabinoid release and opposing regulation of glutamate and gamma-aminobutyric acid inputs to hypothalamic magnocellular neurons. *Endocrinology*. 2005;146(10):4292-4301.
41. Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, Piomelli D. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature*. 1994;372(6507):686-691.
42. Schmid PC, Reddy PV, Natarajan V, Schmid HH. Metabolism of N-acylethanolamine phospholipids by a mammalian phosphodiesterase of the phospholipase D type. *J Biol Chem*. 1983;258(15):9302-9306.
43. Sugiura T, Kishimoto S, Oka S, Gokoh M. Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. *Prog Lipid Res*. 2006;45(5):405-446.
44. Schmid PC, Zuzarte-Augustin ML, Schmid HH. Properties of rat liver N-acylethanolamine amidohydrolase. *J Biol Chem*. 1985;260(26):14145-14149.
45. Natarajan V, Schmid PC, Reddy PV, Schmid HH. Catabolism of N-acylethanolamine phospholipids by dog brain preparations. *J Neurochem*. 1984;42(6):1613-1619.
46. Maccarrone M, van der Stelt M, Rossi A, Veldink GA, Vliegthart JF, Agro AF. Anandamide hydrolysis by human cells in culture and brain. *J Biol Chem*. 1998;273(48):32332-32339.
47. Goparaju SK, Ueda N, Yamaguchi H, Yamamoto S. Anandamide amidohydrolase reacting with 2-arachidonoylglycerol, another cannabinoid receptor ligand. *FEBS letters*. 1998;422(1):69-73.
48. Lang W, Qin C, Lin S, Khanolkar AD, Goutopoulos A, Fan P, Abouzid K, Meng Z, Biegel D, Makriyannis A. Substrate specificity and stereoselectivity of rat brain microsomal anandamide amidohydrolase. *J Med Chem*. 1999;42(5):896-902.
49. Gulyas AI, Cravatt BF, Bracey MH, Dinh TP, Piomelli D, Boscia F, Freund TF. Segregation of two endocannabinoid-hydrolyzing enzymes into pre- and postsynaptic compartments in the rat hippocampus, cerebellum and amygdala. *Eur J Neurosci*. 2004;20(2):441-458.
50. Saario SM, Savinainen JR, Laitinen JT, Jarvinen T, Niemi R. Monoglyceride lipase-like enzymatic activity is responsible for hydrolysis of 2-arachidonoylglycerol in rat cerebellar membranes. *Biochem Pharmacol*. 2004;67(7):1381-1387.
51. Dinh TP, Carpenter D, Leslie FM, Freund TF, Katona I, Sensi SL, Kathuria S, Piomelli D. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. *P Natl Acad Sci USA*. 2002;99(16):10819-10824.
52. Dinh TP, Freund TF, Piomelli D. A role for monoglyceride lipase in 2-arachidonoylglycerol inactivation. *Chem Phys Lipids*. 2002;121(1-2):149-158.
53. Piomelli D, Beltramo M, Glasnapp S, Lin SY, Goutopoulos A, Xie XQ, Makriyannis A. Structural determinants for recognition and translocation by the anandamide transporter. *P Natl Acad Sci USA*. 1999;96(10):5802-5807.
54. Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci*. 1991;11(2):563-583.
55. Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;87(5):1932-1936.
56. Glass M, Dragunow M, Faull RL. Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience*. 1997;77(2):299-318.
57. Bowery NG, Hudson AL, Price GW. GABAA and GABAB receptor site distribution in the rat central nervous system. *Neuroscience*. 1987;20(2):365-383.
58. Greenamyre JT, Young AB, Penney JB. Quantitative autoradiographic distribution of L-[3H]glutamate-binding sites in rat central nervous system. *J Neurosci*. 1984;4(8):2133-2144.
59. Kaminski NE, Abood ME, Kessler FK, Martin BR, Schatz AR. Identification of a functionally relevant cannabinoid receptor on mouse spleen cells that is involved in cannabinoid-mediated immune modulation. *Mol Pharmacol*. 1992;42(5):736-742.
60. Bouaboula M, Rinaldi M, Carayon P, Carillon C, Delpech B, Shire D, Le Fur G, Casellas P. Cannabinoid-receptor expression in human leukocytes. *Eur J Biochem*. 1993;214(1):173-180.
61. Galiegue S, Mary S, Marchand J, Dussossoy D, Carriere D, Carayon P, Bouaboula M, Shire D, Le Fur G, Casellas P. Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem*. 1995;232(1):54-61.
62. Noe SN, Newton C, Widen R, Friedman H, Klein TW. Anti-CD40, anti-CD3, and IL-2 stimulation induce contrasting changes in CB1 mRNA expression in mouse splenocytes. *J Neuroimmunol*. 2000;110(1-2):161-167.
63. Bacci A, Huguenard JR, Prince DA. Long-lasting self-inhibition of neocortical interneurons mediated by endocannabinoids. *Nature*. 2004;431(7006):312-316.
64. Cavuoto P, McAinch AJ, Hatzinikolas G, Cameron-Smith D, Wittert GA. Effects of cannabinoid receptors on skeletal muscle oxidative pathways. *Mol Cell Endocrinol*. 2007;267(1-2):63-69.
65. Cota D. CB1 receptors: emerging evidence for central and peripheral mechanisms that regulate energy balance, metabolism, and cardiovascular health. *Diabetes-Metab Res*. 2007;23(7):507-517.
66. Osei-Hyiaman D, Liu J, Zhou L, Godlewski G, Harvey-White J, Jeong WI, Batkai S, Marsicano G, Lutz B, Buettner C, Kunos G. Hepatic CB(1) receptor is required for development of diet-induced steatosis, dyslipidemia, and insulin and leptin resistance in mice. *J Clin Invest*. 2008;118(9):3160-3169.
67. Osei-Hyiaman D, Harvey-White J, Batkai S, Kunos G. The role of the endocannabinoid system in the control of energy homeostasis. *Int J Obesity*. 2006;30:S33-S38.
68. Osei-Hyiaman D, DePetrillo M, Pacher P, Liu J, Radaeva S, Batkai S, Harvey-White J, Mackie K, Offertaler L, Wang L, Kunos G. Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J Clin Invest*. 2005;115(5):1298-1305.
69. Vilches-Flores A, Delgado-Buenrostro NL, Navarrete-Vazquez G, Villalobos-Molina R. CB1 cannabinoid receptor expression is regulated by glucose and feeding in rat pancreatic islets. *Regul Peptides*. 2010;163(1-3):81-87.

70. Tam J, Vemuri VK, Liu J, Batkai S, Mukhopadhyay B, Godlewski G, Osei-Hyiaman D, Ohnuma S, Ambudkar SV, Pickel J, Makriyannis A, Kunos G. Peripheral CB1 cannabinoid receptor blockade improves cardiometabolic risk in mouse models of obesity. *J Clin Invest.* 2010;120(8):2953-2966.
71. Tam J, Liu J, Mukhopadhyay B, Cinar R, Godlewski G, Kunos G. Endocannabinoids in liver disease. *Hepatology.* 2011;53(1):346-355.
72. Nithipatikom K, Isbell MA, Endsley MP, Woodliff JE, Campbell WB. Anti-proliferative effect of a putative endocannabinoid, 2-arachidonylglycerol ether in prostate carcinoma cells. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2011;94(1-2):34-43.
73. Preet A, Qamri Z, Nasser MW, Prasad A, Shilo K, Zou X, Groopman JE, Ganju RK. Cannabinoid receptors, CB1 and CB2, as novel targets for inhibition of non-small cell lung cancer growth and metastasis. *Cancer Prev Res.* 2011;4(1):65-75.
74. Vara D, Salazar M, Olea-Herrero N, Guzman M, Velasco G, Diaz-Laviada I. Anti-tumoral action of cannabinoids on hepatocellular carcinoma: role of AMPK-dependent activation of autophagy. *Cell Death Differ.* 2011;18(7):1099-1111.
75. Proto MC, Gazzero P, Di Croce L, Santoro A, Malfitano AM, Pisanti S, Laezza C, Bifulco M. Interaction of endocannabinoid system and steroid hormones in the control of colon cancer cell growth. *J Cell Physiol.* 2012;227(1):250-258.