

ENDOKANABINOIDY

ZDENĚK FIŠAR

Psychiatrická klinika, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Ke Karlovu 11, 120 00 Praha 2
zfishar@lf1.cuni.cz

Došlo 6.4.05, přijato 12.11.05.

Klíčová slova: kanabinoidy, anandamid, membrány, arachidonová kyselina

Obsah

1. Úvod
2. Endogenní kanabinoidy
3. Mechanismy působení
4. Biosyntéza a inaktivace endokanabinoidů
5. Buněčné membrány a kanabinoidy
6. Vztah struktury a aktivity kanabinoidů
7. Závěry

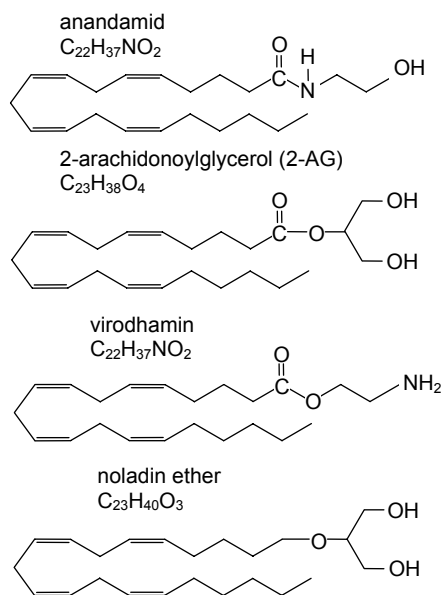
1. Úvod

Objev endogenních kanabinoidů a studium fyziologických funkcí kanabinoidního systému v mozku přinesl řadu důležitých poznatků o úloze membránových lipidů a mastných kyselin v přenosu nervového signálu. Specifické účinky kanabinoidů jsou zajištěny aktivací kanabinoidních receptorů, avšak díky lipofilnímu charakteru těchto látek může být řada jejich účinků zprostředkována i noreceptorovými mechanismy, např. přes změnu vlastností lipidových částí buněčných membrán. Úlohu lipidových dvojvrstev v aktivitě kanabinoidního systému dokládá i skutečnost, že *i)* zdrojem a zásobárnou endogenních kanabinoidů jsou membránové lipidy a *ii)* hlavní endogenní kanabinoidy jsou odvozeny od kyseliny arachidonové, která je významnou složkou membránových lipidů. Vztah struktury a funkce rostlinných, endogenních nebo syntetických kanabinoidů a dalších molekul ovlivňujících kanabinoidní systém v mozku (inhibitorů membránových kanabinoidních přenašečů nebo enzymů katabolizujících kanabinoidy) je intenzivně studován s cílem nalézt léčiva, která by měla terapeutické účinky připisované fytokanabinoidům, aniž by vykazovala jejich současné negativní účinky na kognitivní funkce uživatele.

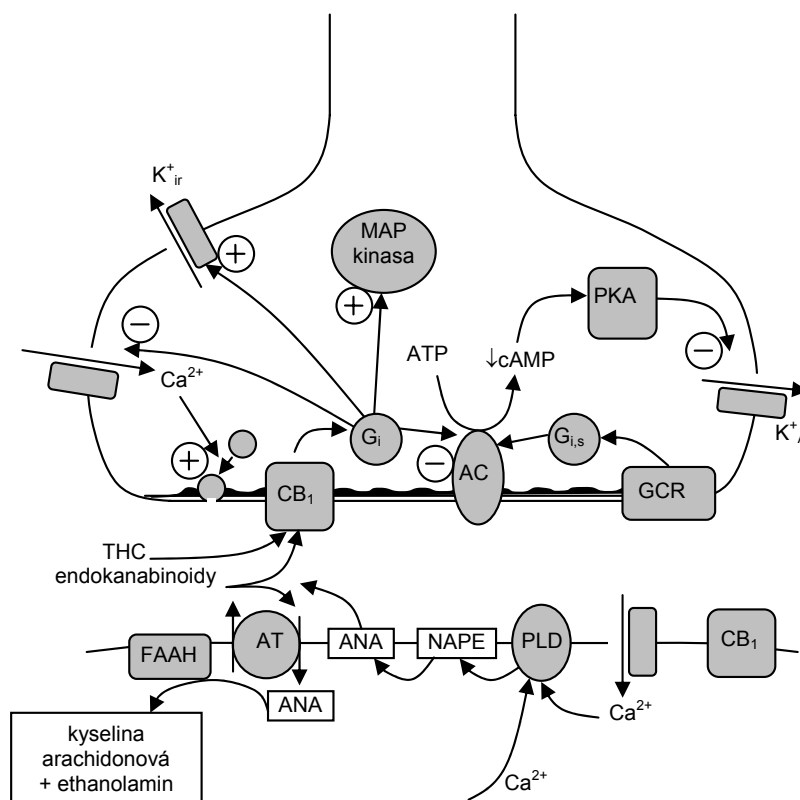
2. Endogenní kanabinoidy

Endogenními ligandy kanabinoidních receptorů (endokanabinoidy) jsou např. anandamid (*N*-arachidonylethanolamid), *sn*-2-arachidonoylglycerol (2-AG), noladin ether (2-arachidonoylglycerylether), virodhamin (*O*-arachidonylethanolamin), *N*-arachidonoyldopamin a snad i *N*-palmitoylethanolamid, oleamid a další^{1–7} (obr. 1). Endokanabinoidy jsou v mozku široce distribuovány a jsou syntetizovány a uvolňovány při stimulaci neuronů. Z mimobuněčného prostoru jsou odstraňovány selektivním saturovatelným systémem zpětného vycytávání a poté jsou nitrobuněčně hydrolyzovány (anandamid pravděpodobně na kyselinu arachidonovou a ethanolamin) hydrolasou amidu mastných kyselin (FAAH).

Anandamid vykazuje výrazně vyšší afinitu pro kanabinoidní receptor CB₁ (89 nmol l⁻¹) než pro receptor CB₂ (371 nmol l⁻¹)⁸. 2-AG má rovněž vyšší afinitu k CB₁ (472 nmol l⁻¹) než k CB₂ (1400 nmol l⁻¹) receptoru³. 2-AG soutěží s anandamidem o „uptake“ anandamidovým přenašečem. Enzym FAAH hydrolyzuje 2-AG čtyřikrát rychleji než anandamid. Identifikace palmitoylethanolamidu nebo oleamidu jako endogenních kanabinoidů je dosud sporná.



Obr. 1. Endogenní kanabinoidy

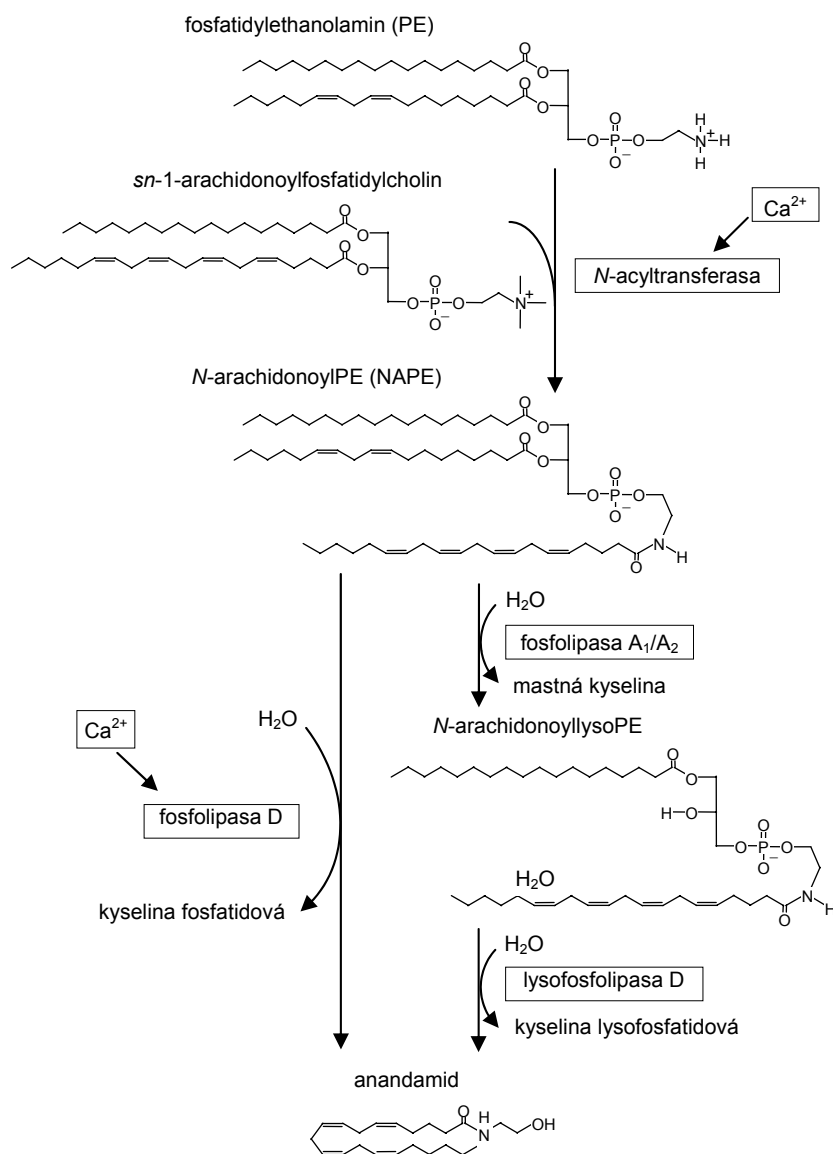


Obr. 2. **Mechanismy působení kanabinoidů**; pro syntézu endokanabinoidů je potřebné velké přechodné zvýšení nitrobuňkové koncentrace Ca^{2+} , kterého je dosaženo uvolněním Ca^{2+} z nitrobuňkových zásob (aktivací inositol-1,4,5-trifosfátového systému) nebo vstupem Ca^{2+} přes napětově řízené iontové kanály nebo přes interní iontové kanály aktivovaných receptorů. Může dojít ke stimulaci fosfolipasa, přičemž fosfolipasa D (PLD) katalyzuje hydrolyzu *N*-arachidonoylfosfatidylethanolaminu (NAPE) a vzniká anandamid (ANA). Fosfolipasa C katalyzuje hydrolyzu fosfatidylinositol-4,5-bisfosfátu na diacylglycerol a inositol-1,4,5-trifosfát a diacylglycerollipasa potom katalyzuje vznik 2-arachidonoylglycerolu (není zobrazeno). Nově vytvořené endogenní kanabinoidy nebo externě dodané tetrahydrokanabinoly (THC) aktivují kanabinoidní receptory CB_1 lokalizované v presynaptické nebo postsynaptické membráně. Anandamid je z mimobuňkového prostředí odstraňován specifickým membránovým přenašečem (AT) a poté je v buňce hydrolyzován na kyselinu arachidonovou a ethanolamin pomocí membránového enzymu, hydrolasy amidu mastných kyselin (FAAH). AT může přenášet i 2-arachidonoylglycerol, který je potom pomocí lipasy hydrolyzován na kyselinu arachidonovou a glycerol (není zobrazeno). Aktivace CB_1 receptoru v presynaptickém nervovém zakončení aktivuje G proteiny, které stimulují mitogenem aktivovanou proteinkinazu (MAP kinasu) a inhibují adanylátcyklasu (AC), čímž se snižuje tvorba cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP). Dále G proteiny aktivované CB_1 receptorem inhibují napětově řízené kalciové kanály a stimulují určité draslíkové kanály (GIRK). Inhibice vstupu kalcia do presynaptického zakončení vede ke sníženému uvolňování různých neurotransmiterů. Snížení koncentrace cAMP vede ke snížené aktivitě proteinkinasy typu A (PKA), což způsobuje mimo jiné i menší fosforylaci draslíkových kanálů typu A a tím další zvýšení výstupu draslíkových iontů. Aktivaci CB_1 receptoru může být ovlivněna funkce řady dalších presynaptických receptorů napojených na G proteiny (GCR) a aktivujících či inhibujících AC

3. Mechanismy působení

Endokanabinoidy jsou lipofilní signální molekuly syntetizované *de novo* z membránových fosfolipidů v odezvě na postsynaptickou depolarizaci nebo aktivaci metabotropních glutamátových receptorů. V posledních letech bylo potvrzeno, že endokanabinoidy zprostředkují zpětný signál od postsynaptických neuronů k presynaptickým (obr. 2), tj. indukované uvolňování řady neurotransmiterů v mozku může být inhibováno aktivací presy-

naptických CB_1 receptorů lokalizovaných na různých typech nervových zakončení v mozku^{4,9,10}. Inhibice endokanabinoidy trvá až desítky sekund¹¹, tedy mnohem déle než např. inhibice vyvolaná uvolněním GABA a mnohem kratší dobu než je potřebná pro změnu synaptické síly vyvolanou nějakou formou synaptické plasticity. Fyziologická funkce kanabinoidního systému je velmi komplexní a zahrnuje motorickou koordinaci, paměť, chuť k jídlu, modulaci bolesti a neuroprotekcí. Do těchto procesů jsou pravděpodobně zapojeny další podtypy kanabinoidních receptorů a kapsaicinové (vaniloidní) receptory.



Obr. 3. Biosyntéza anandamidu

Řadu farmakologických účinků kanabinoidů lze vysvětlit jejich interakcemi s neuromodulátory a neurotransmiterovými systémy; inhibice uvolňování neurotransmiterů agonisty CB₁ receptorů byla popsána pro acetylcholin, dopamin, kyselinu γ -aminomáselnou, histamin, serotonin, glutamát, noradrenalin, prostaglandiny a opioidní peptidy. Při interpretaci účinků kanabinoidů je však nutno mít na vědomí skutečnost, že inhibice uvolňování neurotransmiterů neznamená obecně snížení neuronální aktivity, neboť některé neurotransmitery aktivují i receptory inhibující přenos signálu. Za nejvýznamnější pro vznik efektu odměny, tolerance a fyzické závislosti na kanabinoidech jsou pravděpodobně odpovědné funkční interakce

kanabinoidního systému s dopaminergními a opioidními systémy¹². Většina účinků kanabinoidů je zprostředkována kanabinoidními receptory v CNS¹⁰, ale jsou známy i také jejich účinky, které jsou alespoň částečně nezávislé na receptorech, např. neuroprotektivní účinky při ischemii a hypoxii¹³. Předpokládá se proto, že některá působení endogenních kanabinoidů jsou zprostředkována jejich metabolity nebo přes nереceptorové mechanismy¹⁴.

4. Biosyntéza a inaktivace endokanabinoidů

Anandamid, 2-AG a některé další endogenní kanabinoidy (obr. 1) jsou odvozeny od kyseliny arachidonové

(kyselina 5,8,11,14-ikosatetraenová, 20:4), která je jednou z nenasycených mastných kyselin obsažených ve fosfolipidech buněčných membrán. Kyselina arachidonová je nenasycená C₂₀ mastná kyselina se čtyřmi dvojnými vazbami (nekonjugovanými); dvojná vazba na uhlíku C₁₄ je vzdálena od koncového uhlíku o 6 uhlíkových atomů (jedná se o n-6 mastnou kyselinu). U lidí je kyselina arachidonová prekurzorem prostaglandinů, prostacyklinů, tromboxanů a leukotrienů¹⁵. V mozku tvoří arachidonát až 10 % z celkových mastných kyselin. Arachidonát je v membránách ukládán a esterově vázán především ke glycerolovému uhlíku C₂ (*sn*-2) ve fosfolipidech a uvolňován je *i*) hydrolyzou těchto molekul fosfolipasou A₂, *ii*) kombinovaným postupným působením fosfolipasy C, diacylglycerolkinasy a fosfolipasy A₂, *iii*) hydrolyzou diacylglycerolipasou. Většina arachidonátu je inkorporována ve fosfatidylcholinu, fosfatidylinositolu a fosfatidylethanolaminu (PE).

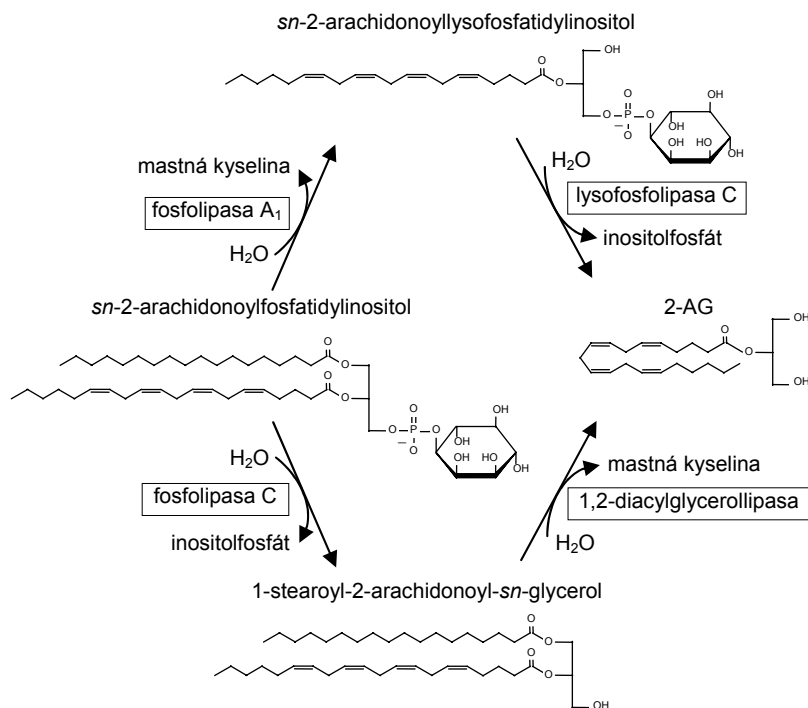
Anandamid i 2-AG nejsou zřejmě syntetizovány do zásoby, ale na požadavek, v odezvě na postsynaptickou depolarizaci nebo aktivaci receptorů^{11,16}. Jejich syntéza není dosud zcela známa, zdá se však, že anandamid může být v membránách uložen jako *N*-arachidonoylfosfatidylethanolamin (NAPE), tj. esterifikován na třetím uhlíku *sn*-glycerol-3-fosfátu¹⁷. Tento prekurzor anandamidu tvoří pouze asi 0,1 % ze všech *N*-acylethanolaminových fosfolipidů v neuronech¹⁸. Předpokládá se, že anandamid je z NAPE uvolňován přímo pomocí fosfolipasy D (PLD). Nově je studována i druhá možná cesta uvolňování anan-

damidu z NAPE (cit.¹⁹), a to jeho hydrolyzou fosfolipasou A₁ (PLA₁) nebo A₂ (PLA₂) na *N*-arachidonoyllysofosfatidylethanolamin s následným uvolněním anandamidu lysofosfolipasou D (obr. 3).

Obecně se předpokládá, že v mozku, stejně jako v jiných tkáních, je arachidonát esterifikován hlavně na *sn*-2 pozici fosfolipidů se zbytky nasycených nebo mononenasycených mastných kyselin, jako je kyselina olejová (18:1), palmitová (16:0) nebo stearová (18:0), na pozici *sn*-1 (cit.²⁰). To je v určitém rozporu se substrátovou specificitou *N*-acyltransferasy, která v mozku katalyzuje biosyntézu NAPE přenosem arachidonátové skupiny z *sn*-1 uhlíku fosfolipidů na aminoskupinu PE (obr. 3). Bylo potvrzeno, že *sn*-1 arachidonoylfosfolipidy jsou v mozku skutečně přítomny^{17,21} a tvoří cca 0,5 % celkových fosfolipidů.

Jak tvorba anandamidu, tak syntéza NAPE mohou probíhat paralelně a jsou spouštěny zvýšením nitrobuňčného Ca²⁺. Při vysokých (nefyziologických) koncentracích arachidonátu a ethanolaminu je možná i přímá syntéza anandamidu katalyzovaná FAAH; tato syntéza zřejmě nemá význam ve fyziologické tvorbě anandamidu.

Rovněž biosyntéza 2-AG je v mozku vyvolána neuronální aktivitou provázenou zvýšením nitrobuňčných koncentrací Ca²⁺. Na rozdíl od anandamidu, je v syntéze 2-AG zahrnuta stejná kaskáda enzymů jako při tvorbě druhých posílů – inositol-1,3,5-trifosfátu a 1,2-diacylglycerolu. 2-AG může vznikat z diacylglycerolu po hydrolyze membránových lipidů obsahujících zbytky kyseliny arachidonové.



Obr. 4. Biosyntéza 2-arachidonoylglycerolu (2-AG)

Hlavními zdroji 2-AG jsou pravděpodobně inositolové fosfolipidy nebo kyseliny fosfatidové. Rovněž 2-arachidonoyl-*sn*-glycero-3-fosfát, který tvoří významnou část (5,4 %) lysofosfatidových kyselin vyskytujících se v mozku, může být specifickou fosfatasou²² defosforylován na 2-AG a obráceně 2-AG může být pomocí monoacylglycerolkinasy konvertován na 2-arachidonoyl-*sn*-glycero-3-fosfát (cit.²³). Předpokládá se proto, že biosyntéza 2-AG je možná dvěma hlavními cestami⁷ (obr. 4):

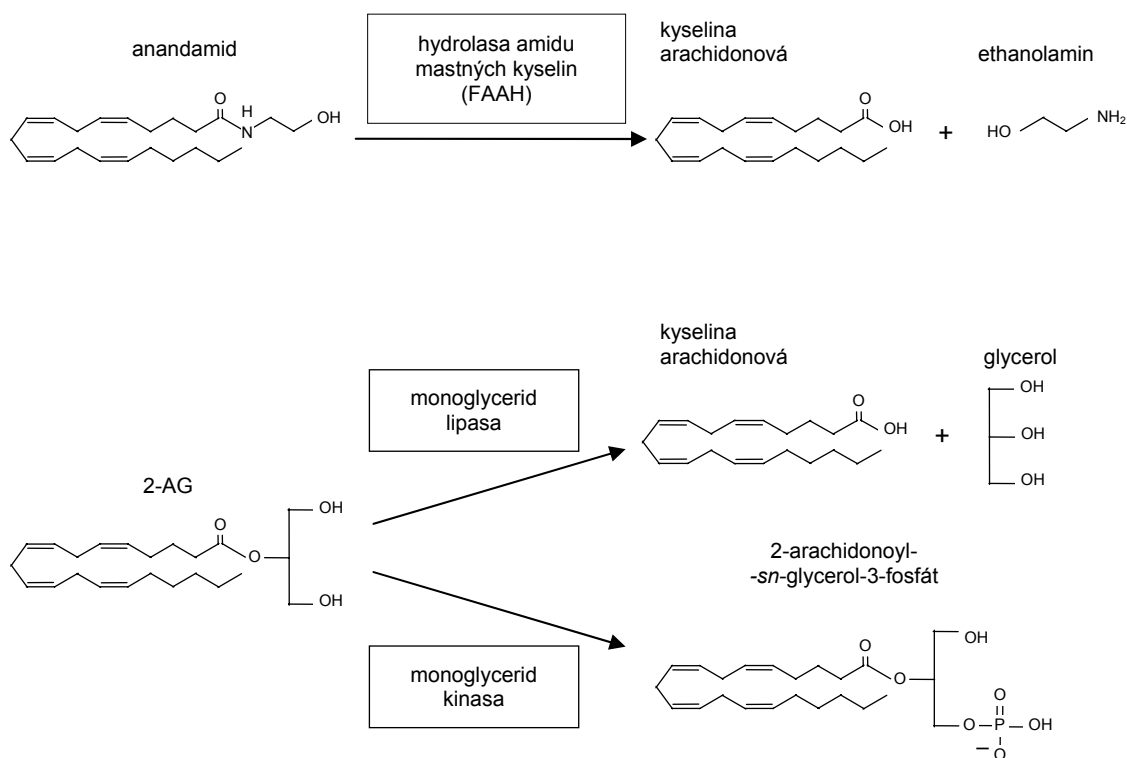
1. hydrolýzou membránových fosfolipidů pomocí aktivované fosfolipasy C (PLC) je produkovan diacylglycerol (obvykle 1-stearoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycerol), který je poté konvertován na 2-AG pomocí 1,2-diacylglycerollipasy;
2. fosfolipasa A₁ (PLA₁) produkuje lysofosfolipid, který může být dále hydrolyzován:
 - a) na 2-AG pomocí lysofosfolipasy C,
 - b) na kyselinu lysofosfatidovou pomocí lysofosfolipasy D a poté defosforylován na 2-AG.

Podobně jako jiné neurotransmitery jsou endokanabinoidy po jejich tvorbě a uvolnění rychle inaktivovány (obr. 5). Anandamid je transportován zpět do neuronů a glií pomocí specifického přenašečového systému a poté je hydrolyzován na kyselinu arachidonovou a ethanolamin pomocí FAAH nebo jiných nitrobuněčných amidasových

enzymů. 2-AG je transportován do buněk podobným mechanismem jako anandamid. Předpoklad, že FAAH je odpovědný i za eliminaci 2-AG, vycházející ze skutečnosti, že FAAH katalyzuje hydrolýzu 2-AG *in vitro*, se nepotvrdil. Za hydrolýzu 2-AG v mozku je zřejmě odpovědná monoacylglycerollipasa, která konvertuje 2- a 1-monoacylidy na mastnou kyselinu a glycerol²⁴. Podobný mechanismus inaktivace je již dlouho znám pro monoaminové neurotransmitery, jako je serotonin, noradrenalin nebo dopamin, které jsou metabolizovány pomocí nitrobuněčné monoaminoxidas a dovnitř buňky jsou rovněž transportovány specifickými přenašeči. Je proto možné, že podobně jako jsou některá antidepresiva inhibitory monoaminoxidas nebo inhibitory zpětného vychytávání (reuptake) serotoninu nebo noradrenalinu, mohly by být i FAAH (cit.²⁵) nebo přenašeč pro kanabinoidy cílovými místy primárních účinků léků zasahujících do kanabinoidního systému v mozku.

5. Buněčné membrány a kanabinoidy

Kanabinoidy jsou látky, které se podobně jako řada dalších lipofilních molekul vážou (adsorbují) do lipidové dvojvrstvy²⁶. Není známo, zda jejich akumulace v lipidové



Obr. 5. Katabolismus endokanabinoidů

části biologických membrán je či není vztažena k některým vedlejším účinkům jejich užívání. Je však známo, že interakce protein-lipid-lipofilní molekula mohou ovlivnit funkci mnoha membránových systémů podílejících se na buněčných funkcích^{27,28}, včetně přenosu nervového signálu. I když membránové lipidy nejsou specifickými cílovými molekulami kanabinoidů, mohou hrát v mechanismech jejich účinků významnou roli a to nejen jako zdroje endogenních kanabinoidů, ale i jako molekuly vytvářející heterogenní prostředí určující farmakokinetiku kanabinoidů a umožňující či modulující interakce kanabinoidů se specifickými vazebnými místy. Lipofilní charakter agonistů a antagonistů kanabinoidních receptorů svědčí pro to, že specifické vazebné místo na jejich receptoru může být ukryto v hydrofobním vnitřku membrány.

Biologické membrány jsou komplexní systémy, které lze schematicky pojímat jako lipidové dvojvrstvy tvořící základ pro distribuci a funkci integrálních nebo periferních (adsorbovaných) proteinů, které uskutečňují řadu specifických membránových procesů. Umožňují udržování iontových a metabolických gradientů nezbytných pro většinu buněčných funkcí, včetně přenosu nervového signálu. Hlavními lipidovými složkami buněčných membrán jsou glycerofosfolipidy, jejichž základem je *sn*-glycerol-3-fosfát esterifikovaný na uhlících C₁ (*sn*-1) a C₂ (*sn*-2) mastnými kyselinami a na fosforylové skupině další skupinou. V mozku se hojně vyskytují i sfingolipidy, především sfingomyeliny a galaktocerebrosidy. Významnou složkou plasmatických membrán je také cholesterol. Membránové lipidy tvoří jen strukturální základ membrány, ale jsou také substráty fosfolipas a modulátory funkce řady membránových proteinů. Např. transportní mechanismy zahrnující receptory, iontové kanály, enzymy, přenašeče a pumpy jsou často regulovány membránovými lipidy a cholesterolem, samotnými i uspořádanými do lipidové dvojvrstvy^{29–33}. Celkově lze říci, že lipidové dvojvrstvy jsou heterogenní v horizontálním i vertikálním směru a úloha membránových lipidů a mastných kyselin v buněčných funkcích není zdaleka poznána. Rovněž existence a úloha hustotních fluktuací nebo oblastí s nenáhodným lipidovým složením (domény, rafty) je teprve studována^{34,35}.

Polární hlavičky membránových lipidů jsou obvykle tvořeny záporně nabitou fosfátovou skupinou s navázanými kladnými, zápornými, zwiterionickými nebo nenabítenými skupinami. Specifické ovlivnění funkcí membránových proteinů těmito polárními hlavičkami lze vysvětlit na základě elektrostatických interakcí, jejichž specifita je dána prostorovým rozložením náboje jak na povrchu proteinu, tak v polárních hlavičkách interagujících lipidů. Obtížnější je vysvětlení vysoké variability v délce a nasycenosti acylových řetězců, protože pro udržení struktury, uspořádanosti a určité fluidity lipidové dvojvrstvy není tato různorodost nezbytná. Pravděpodobným vysvětlením je možnost přizpůsobení se tvaru acylových řetězců hydrofobnímu povrchu membránových proteinů („hydrophobic matching“), což umožňuje specificky ovlivňovat vlastnosti proteinů³⁶. Proteiny vázající fosfolipidy jsou důležitou

složkou přenosu signálů, přenosu molekul a buněčného metabolismu³⁷. Uhlovodíkové řetězce lipidů vázajících se k proteinům jsou v oblasti proteinových vazebných míst dokonce více konformačně neuspořádané, než je tomu ve fluidní dvojvrstevné membráně³⁸.

Saturované a mononenasyčené mastné kyseliny mohou být syntetizovány v těle *de novo*, avšak esenciální polyneasyčené mastné kyseliny jsou syntetizovány z potravních prekurzorů, linolové kyseliny (18:2) pro n-6 skupinu a α -linolenové kyseliny (18:3) pro n-3 skupinu mastných kyselin. V neuronech se vyskytují především arachidonová kyselina (20:4, n-6) a dokosahexaenová kyselina (22:6, n-3) vázané v pozici *sn*-2 glycerolového základu fosfolipidů. Jak bylo uvedeno výše, je pro biosyntézu anandamidu důležitá vazba arachidonátu v pozici *sn*-1 fosfolipidů, která není častá, ale je postačující pro tvorbu tohoto endokanabinoidu.

Mimobuněčné, membránové i nitrobuněčné esenciální mastné kyseliny a jejich metabolity mohou ovlivňovat řadu dějů vztažených k transdukcí signálu, genové expresi, růstu či smrti buněk, motilitě a adhezi¹⁵. Z hlediska psychotropních účinků endogenních kanabinoidů (derivátů arachidonové kyseliny), je zajímavé, že úloha esenciálních nenasycených mastných kyselin je již dlouho diskutována v některých biochemických hypotézách afektivních poruch a schizofrenie. Tyto hypotézy vycházejí z předpokladu, že pro normální vývoj a funkci mozkových struktur je nezbytný normální neuronální fosfolipidový metabolismus. Ke vzniku příznaků schizofrenie potom může docházet např. v důsledku zvýšené rychlosti eliminace arachidonové a dokosahexaenové kyseliny z neuronů³⁹. Membránové hypotézy afektivních poruch zase předpokládají, že zvýšený poměr mezi příjmem n-6 a n-3 esenciálních mastných kyselin může vést ke zvýšené náchylnosti ke vzniku deprese⁴⁰.

6. Vztah struktury a aktivity kanabinoidů

Specifitu interakcí kanabinoid-protein zajišťují mnohonásobné nekovalentní vazby mezi polárními a hydrofobními skupinami těchto molekul vyžadující vhodné prostorové uspořádání proteinového vazebného místa a molekuly kanabinoidu. Na nesespecifické vazbě kanabinoidů do lipidové části buněčných membrán, tj. na interakcích kanabinoid-lipid, se podílí především hydrofobní efekt (při inkorporaci do membrány) a krátkodosahové van der Waalsovy síly (při interakcích se zbytky mastných kyselin v hydrofobním vnitřku dvojvrstvy).

Celkový tvar molekul endogenních kanabinoidů, podobně jako tvar molekul membránových lipidů, je určen hlavně konformací jejich uhlovodíkových řetězců. Změny prostorového uspořádání jsou přitom umožněny relativně volnými rotacemi kolem jednoduchých vazeb C–C. Dvojně vazby nenasycených mastných kyselin mají *cis* (Z) konfiguraci, což způsobuje rigidní ohyb o 30° v uhlovodíkovém řetězci. Větší zastoupení dvojných vazeb potom vede k velmi složitým tvarům molekul. Vztah

struktury a aktivity anandamidu i jiných kanabinoidů je v současné době intenzivně studován s cílem určit strukturální požadavky pro syntetické agonisty a antagonisty kanabinoidních receptorů a pro substráty či inhibitory FAAH a anandamidového přenašeče^{41,42}.

Významným rysem acylového řetězce arachidonové kyseliny je velká torzní pohyblivost umožněná skutečností, že *cis* dvojné vazby jsou odděleny jednou methylenovou skupinou, což dává těmto řetězcům větší flexibilitu ve srovnání s jinými nenasyčenými acylovými řetězci⁴³. Arachidonová kyselina se proto může vyskytovat v mnoha konformacích, z nichž čtyři se vyskytují nejčastěji: *i*) protažená, *ii*) U-tvar, *iii*) J-tvar a *iv*) spirálová. Ve vodě minimalizuje arachidonová kyselina expozici svých hydrofobních částí tím, že tvoří kompaktnější U-tvar⁴⁴. Podobně jako arachidonová kyselina, i anandamid se ve vodném prostředí vyskytuje v řadě různých konformací, přičemž převažují smíšené konformace protaženého tvaru a U-tvaru. Rovněž pro 2-AG ve vodném prostředí převažují struktury typu U-tvar. V nepolárním prostředí se vyskytuje protažený tvar i U-tvar. Protažený tvar a složený tvar (U-tvar) molekul anandamidu, 2-AG nebo arachidonátu jsou schematicky znázorněny na obr. 3, 4, 5.

Bylo potvrzeno, že pro vysokou afinitu vazby anandamidu k CB₁ receptoru je nezbytná přítomnost karbonylové skupiny v hlavičkové skupině anandamidu⁴⁵, oproti tomu hydroxylová skupina není pro receptorovou interakci významná. Vysokoafinní vazba dále vyžaduje vysokou flexibilitu acylového řetězce anandamidu, neboť pouze jeho analogy s třemi a více dvojnými vazbami vykazují vysokou afinitu k CB₁. Předpokládá se, že pro interakci anandamidu s CB₁ receptorem je potřebná jeho složená (zahnutá) konformace. Tuto hypotézu podporuje i porovnání možných tvarů molekuly anandamidu s tvarem molekuly Δ^9 -tetrahydrokanabinolu (Δ^9 -THC), kdy k dobrým překryvům molekulových objemů dochází pro složené konformace anandamidu (především U-tvar)^{46,47}. Lze tak vysvětlit skutečnost, že molekuly tak odlišné jako jsou endogenní kanabinoidy a Δ^9 -THC, aktivují stejné receptory. Podobně jako u anandamidu, rovněž ve struktuře Δ^9 -THC bylo identifikováno více skupin ovlivňujících aktivaci kanabinoidních receptorů, především fenolický hydroxyl, boční řetězec a methylové skupiny⁴⁸. Nezbytnou součástí kanabinoidního farmakoforu je také dostatečná délka saturovaného zbytku acylového řetězce. Dosavadní výsledky také ukazují, že CB₁ receptor, FAAH a anandamidový přenašeč mají poněkud odlišné požadavky pro vysokoafinní vazbu.

Předpokládá se, že *i*) některá onemocnění mohou být podmíněna nedostatečnou funkcí endokanabinoidního systému⁴⁹, *ii*) kanabinoidy mohou vykazovat terapeutické účinky v léčbě některých nemocí. Vztah struktury a funkce kanabinoidů a dalších molekul ovlivňujících kanabinoidní systém v mozku je proto intenzivně studován s cílem nalézt léčiva, která by měla terapeutické účinky připisované fyto-kanabinoidům^{50,51}, aniž by vykazovala současně negativní účinky na kognitivní funkce uživatele. Kromě agonistů a antagonistů CB₁ receptorů se jedná především o inhi-

bitory membránového anandamidového přenašeče nebo inhibitory enzymů katabolizujících kanabinoidy.

7. Závěry

Hlavní účinky kanabinoidů na centrální nervový systém jsou zprostředkovány kanabinoidními receptory CB₁. Endogenními agonisty těchto receptorů v mozku jsou především anandamid a 2-AG, které inhibují uvolňování různých neurotransmiterů z presynaptických zakončení. Vzhledem k lipofilním vlastnostem kanabinoidů dochází k jejich akumulaci v lipidové části buněčných membrán a k možnosti obsazovat vazebná místa lokalizovaná na hydrofobních částech integrálních proteinů. Je tak umožněno i nespecifické ovlivňování funkce nереceptorových membránových proteinů, které se však na přenosu signálu podílejí. Ovlivněna může být rovněž funkce lipidové části buněčných membrán a úloha esenciálních mastných kyselin. Spektrum možných změn v kanabinoidním systému po dlouhodobém užívání kanabinoidů je tedy velmi široké a dosud málo známé; jejich pochopení souvisí s pokroky v poznání normálních buněčných funkcí, především v oblasti účinků endogenních kanabinoidů.

Hlavní endogenní kanabinoidy jsou odvozeny od arachidonové kyseliny, která je jednou z nejvýznamnějších nenasyčených mastných kyselin v mozku. Variabilita tvaru arachidonátu a tedy i acylového řetězce anandamidu či 2-AG je nezbytná pro aktivaci kanabinoidního receptoru a umožňuje přijmout molekulám endogenních kanabinoidů podobný tvar, jako mají mnohem rigidnější tetrahydrokanabinoly. Lze tak vysvětlit skutečnost, že endokanabinoidy a Δ^9 -THC aktivují stejné receptory. Poznání vztahu struktury a funkce kanabinoidů může pomoci při hledání látek působících terapeuticky u řady onemocnění, včetně poruch vyvolaných klinickou nedostatečností endokanabinoidního systému.

Tato práce vznikla s podporou grantu IGA MZ ČR č. NR8408-3/2005.

LITERATURA

1. Devane W. A., Hanuš L., Breuer A., Pertwee R. G., Stevenson L. A., Griffin G., Gibson D., Mandelbaum A., Etinger A., Mechoulam R.: *Science* 258, 1946 (1992).
2. Hanuš L., Gopher A., Almog S., Mechoulam R.: *J. Med. Chem.* 36, 3032 (1993).
3. Mechoulam R., Ben-Shabat S., Hanuš L., Ligumsky M., Kaminski N. E., Schatz A. R., Gopher A., Almog S., Martin B. R., Compton D. R., Pertwee R. G., Griffin G., Bayewitch M., Barg J., Vogel Z.: *Biochem. Pharmacol.* 50, 83 (1995).
4. Barg J., Frider E., Hanuš L., Levy R., Matus-Leibovitch N., Heldman E., Bayewitch M., Mechoulam R., Vogel Z.: *Eur. J. Pharmacol.* 287, 145 (1995).

5. Mechoulam R., Frider E., Hanuš L., Sheskin T., Bisogno T., Di Marzo V., Bayewitch M., Vogel Z.: *Nature* 389, 25 (1997).
6. Hanuš L., Abu-Lafi S., Frider E., Breuer A., Vogel Z., Shalev D. E., Kustanovich I., Mechoulam R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 3662 (2001).
7. Freund T. F., Katona I., Piomelli D.: *Physiol. Rev.* 83, 1017 (2003).
8. Showalter V. M., Compton D. R., Martin B. R., Abood M. E.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 278, 989 (1996).
9. Maejima T., Ohno-Shosaku T., Kano M.: *Neurosci. Res.* 40, 205 (2001).
10. Howlett A. C., Breivogel C. S., Childers S. R., Deadwyler S. A., Hampson R. E., Porrino L. J.: *Neuropharmacology* 47, 345 (2004).
11. Kreitzer A. C., Regehr W. G.: *Curr. Opin. Neurobiol.* 12, 324 (2002).
12. Tanda G., Goldberg S. R.: *Psychopharmacology (Berl.)* 169, 115 (2003).
13. Hampson A., v knize: *Cannabis and Cannabinoids. Pharmacology, Toxicology, and Therapeutic Potential* (Grotenhermen F., Russo E., ed.), kap. 9. The Haworth Integrative Healing Press, New York 2002.
14. Adams I. B., Compton D. R., Martin B. R.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 284, 1209 (1998).
15. Jiang W. G., Bryce R. P., Horrobin D. F.: *Crit. Rev. Oncol./Hematol.* 27, 179 (1998).
16. Varma N., Carlson G. C., Ledent C., Alger B. E.: *J. Neurosci.* 21:RC188, 1 (2001).
17. Cadas H., di Tomaso E., Piomelli D.: *J. Neurosci.* 17, 1226 (1997).
18. Hansen H. H., Hansen S. H., Schousboe A., Hansen H. S.: *J. Neurochem.* 75, 861 (2000).
19. Sun Y.-X., Tsuboi K., Okamoto Y., Tonai T., Murakami M., Kudo I., Ueda N.: *Biochem. J.* 380, 749 (2004).
20. Shetty H. U., Smith Q. R., Washizaki K., Rapoport S. I., Purdon A. D.: *J. Neurochem.* 67, 1702 (1996).
21. Sugiura T., Kondo S., Sukagawa A., Tonegawa T., Nakane S., Yamashita A., Ishima Y., Waku K.: *Eur. J. Biochem.* 240, 53 (1996).
22. Hiroyama M., Takenawa T.: *Biochem. J.* 336, 483 (1998).
23. Nakane S., Oka S., Arai S., Waku K., Ishima Y., Tokumura A., Sugiura, T.: *Arch. Biochem. Biophys.* 402, 51 (2002).
24. Dinh T. P., Freund T. F., Piomelli D.: *Chem. Phys. Lipids* 121, 149 (2002).
25. Cravatt B. F., Lichtman A. H.: *Curr. Opin. Chem. Biol.* 7, 469 (2003).
26. Herbette L. G., Chester D. W., Rhodes D. G.: *Biophys. J.* 49, 91 (1986).
27. Mason R. P., Rhodes D. G., Herbette L. G.: *J. Med. Chem.* 34, 869 (1991).
28. Seydel J. K., Velasco M. A., Coats E. A., Cordes H. P., Kunz B., Wiese M.: *Quant. Struct.-Act. Relat.* 11, 205 (1992).
29. Shinitzky M., v knize: *Membrane Fluidity* (Kates M., Manson L. A., ed.), str. 585. Plenum Publ. Corp., New York 1984.
30. Srivastava L. K., Kazmi S. M., Blume A. J., Mishra R. K.: *Biochim. Biophys. Acta* 900, 175 (1987).
31. Scanlon S. M., Williams D. C., Schloss P.: *Biochemistry* 40, 10507 (2001).
32. Cornelius F.: *Biochemistry* 40, 8842 (2001).
33. Lee A. G.: *Biochim. Biophys. Acta* 1612, 1 (2003).
34. Barenholz Y.: *Prog. Lipid Res.* 41, 1 (2002).
35. Fielding C. J., Fielding P. E.: *Biochim. Biophys. Acta* 1610, 219 (2003).
36. Dumas F., Lebrun M. C., Tocanne J.-F.: *FEBS Lett.* 458, 271 (1999).
37. Hurley J. H., Tsujishita Y., Pearson M. A.: *Curr. Opin. Struct. Biol.* 10, 737 (2000).
38. Marsh D.: *Protein Sci.* 12, 2109 (2003).
39. Horrobin D. F.: *Schizophr. Res.* 30, 193 (1998).
40. Hibbeln J. R., Salem N. Jr.: *Am. J. Clin. Nutr.* 62, 1 (1995).
41. Sheskin T., Hanuš L., Slager J., Vogel Z., Mechoulam R.: *J. Med. Chem.* 40, 659 (1997).
42. Reggio P. H., Traore H.: *Chem. Phys. Lipids* 108, 15 (2000).
43. Rabinovich A. L., Ripatti P. O.: *Biochim. Biophys. Acta* 1085, 53 (1991).
44. Barnett-Norris J., Guarnieri F., Hurst D. P., Reggio P. H.: *J. Med. Chem.* 41, 4861 (1998).
45. Berglund B. A., Boring D. L., Wilken G. H., Makriyannis A., Howlett A. C., Lin S.: *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 59, 111 (1998).
46. Thomas B. F., Adams I. B., Mascarella S. W., Martin B. R., Razdan R. K.: *J. Med. Chem.* 39, 471 (1996).
47. Tong W., Collantes E. R., Welsh W. J., Berglund B. A., Howlett A. C.: *J. Med. Chem.* 41, 4207 (1998).
48. Iversen L. L., v knize: *The Science of Marijuana*, str. 42. Oxford Univ. Press, New York 2000.
49. Russo E. B.: *Neuro Endocrinol. Lett.* 25, 31 (2004).
50. Mechoulam R., Hanu L.: *Pain Res. Manag.* 6, 67 (2001).
51. Grotenhermen F., v knize: *Cannabis and Cannabinoids. Pharmacology, Toxicology, and Therapeutic Potential* (Grotenhermen F., Russo E., ed.), kap. 11. The Haworth Integrative Healing Press, New York 2002.

Z. Fišar (*1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague*): **Endocannabinoids**

The mechanisms of action, biosynthesis, inactivation and structure – activity relationships of endocannabinoids are reviewed. The discovery of endogenous cannabinoid system was an important step in understanding the psychotropic action of cannabis. The activation of cannabinoid receptor CB₁ is responsible for psychotropic effects of cannabinoids; however, some effects of these drugs may be also mediated by nonreceptor mechanisms, e.g., due to changes in the lipid part of biological membranes. The role

of the lipid bilayer in the cannabinoid system activity is indicated by the fact that membrane lipids are the source and pantry of endocannabinoids and main endocannabinoids are derived from arachidonic acid, which is an important part of membrane lipids. The structure – activity

relationship of cannabinoids (plant, endogenous, synthetic) and other substances affecting the cannabinoid system is intensively studied. The purpose of the studies is the discovery of drugs with therapeutic actions similar to cannabis, but without its psychoactivity.

**Česká společnost chemická
a
Ústav chemie a technologie sacharidů VŠCHT Praha**

pořádají

**konferenci „Polysacharidy II: Struktura a biologické účinky polysacharidů
a jejich derivátů“**

10.11.2006, 8,30 až 16,00 h na Novotného lávce 5, Praha 1

Program

1. Zahájení: Jana Čopíková

2. Hlavní přednášky:

- Zdenka Hromádková: Biologicky aktivne polysacharidy z léčivých bylin a iných rastlín
 - Miroslav Novák: β -Glukan, historie a současnost
 - Grigorij Kogan: Antioxidačné, antimutagénne a antigenotoxické vlastnosti polysacharidov bunkových stien kvasiniek
 - Andriy Synytsya: Využití spektroskopických metod při určování struktury polysacharidů
3. Po hlavních přednáškách budou následovat krátká sdělení a posterová sekce.

Konferenční poplatek 500 Kč pro členy ČSCH a 600 Kč pro nečleny zahrnuje CD s plnými texty přednášek, občerstvení a organizační náklady. Abstrakta budou publikována v Chemických listech č. 9/2006. Je možné zajistit ubytování na kolejkách na Jižním městě. Předpokládá se i zájem pasivních účastníků bez odborného příspěvku.

Uzávěrka přihlášek a zaslání abstraktů příspěvků je 30. června 2006.

Bližší informace na adrese <http://www.csch.cz> .

Kontaktní adresa: Česká společnost chemická, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1,
tel.: 221 082 370, tel/fax: 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz, chem.spol@csvts.cz