



## Resultados preclínicos de cannabinoides y dolor (algunos)

### Some preclinical results of cannabinoids and pain

C. Goicoechea García, M. Sanz González, M. Á. Martínez-García, D. Pascual Serrano y E. M. Sánchez-Robles

Área de Farmacología. Departamento de Ciencias Básicas de la Salud. Universidad Rey Juan Carlos. Unidad Asociada CSIC-IQM. Alcorcón, España

#### RESUMEN

El papel del sistema endocannabinoide en la modulación de la nocicepción y en la interpretación de estas señales se conoce desde mediados del siglo pasado. Los trabajos desarrollados desde entonces han permitido profundizar en los mecanismos de acción implicados y así poder sintetizar diversos fármacos capaces de modular estas señales. Estos fármacos pueden ser agonistas, dirigidos a activar directamente receptores cannabinoides, pero pueden igualmente ser sustancias que modulen las enzimas encargadas de las síntesis y degradación de los endocannabinoides. Farmacológicamente se están estudiando, además, otras sustancias presentes en la planta *Cannabis sativa*, así como derivados sintéticos obtenidos a partir de estas, que pueden unirse, además de a los receptores antes mencionados, a otros tipos de receptores implicados en la fisiología de la nocicepción. Los resultados obtenidos hasta el momento demuestran eficacia en múltiples modelos animales de dolor, tanto agudo como crónico, tanto nociceptivo como neuropático, y abren vías de investigación para el tratamiento farmacológico del dolor crónico.

**Palabras clave:** Cannabinoides, farmacología, preclínica, rata, ratón.

#### ABSTRACT

The role of the endocannabinoid system in the modulation of nociception and in the interpretation of those signals is known since the middle of the last century. The work carried out since then has made possible to better understand mechanisms of action involved and to synthesize different drugs able to modulate these signals. These drugs can be agonists, aimed at directly activating cannabinoid receptors, or substances that modulate the enzymes responsible for the synthesis and degradation of endocannabinoids. Pharmacologically, other substances present in the *Cannabis sativa* plant are also being studied, as well as synthetic derivatives obtained from these, which can bind, in addition to the aforementioned receptors, to other types of receptors involved in the physiology of the nociception. Results obtained to date demonstrate efficacy in multiple animal models of pain, both acute and chronic, both nociceptive and neuropathic, and offer new lines of research for the pharmacological treatment of chronic pain.

**Key words:** Cannabinoids, pharmacology, preclinic, rat, mouse.

## INTRODUCCIÓN

El uso del cáñamo se remonta a los principios de la civilización, cuando el hombre comienza a domesticar las plantas para su propio beneficio. La utilidad del cannabis va desde su empleo textil hasta su uso terapéutico en distintas enfermedades, con mayor o menor éxito. El aislamiento del tetrahidrocannabinol (THC) y el cannabidiol (CBD), dos de sus principios activos, a mediados del siglo xx, permitió profundizar en el conocimiento del sistema endocannabinoide y en la búsqueda de nuevas dianas farmacológicas. Posteriormente se identificaron los receptores cannabinoides CB1 y CB2 y se completó así la descripción del sistema endocannabinoide, un complejo sistema de neurotransmisión ampliamente distribuido por el sistema nervioso central (SNC) y con múltiples interrelaciones con otros sistemas sensoriales.

El sistema endocannabinoide regula múltiples funciones tanto a nivel central como periférico, incluyendo el control de la información nociceptiva y del dolor, lo que le confiere además un gran interés desde el punto de vista farmacológico.

Tras la identificación de los receptores cannabinoides, el descubrimiento de ligandos endógenos selectivos y enzimas para la biosíntesis y degradación de dichos ligandos ha ofrecido la posibilidad de comprender que este sistema ejerce, en general, un efecto neuromodulador inhibitorio en mamíferos, siendo además muy relevante la presencia de estos receptores en células no neuronales, como las células inmunitarias y las células gliales [1-4]. Al igual que en el caso del sistema opioide endógeno, forma una compleja red funcional, presente en prácticamente para todos los organismos [5,6]. De hecho, en algunos territorios concretos, se ha descrito una colocalización con los receptores opioides, lo que contribuye a reforzar la idea de papel regulador de la nocicepción que juega el sistema cannabinoide endógeno a partir de sus dos principales (que no únicos) receptores denominados CB-1 y CB-2.

Los receptores CB1 están ampliamente distribuidos por el SNC, siendo uno de los receptores acoplados a proteína G más abundantes (si no el más) en el cerebro de los mamíferos [7,8], lo que justifica su rol en los

efectos psicotrópicos de los cannabinoides. Es importante valorar, en cualquier caso, que los receptores CB1 están igualmente presentes en algunos tejidos periféricos. Por el contrario, los receptores CB2 están ausentes o se expresan en niveles bajos en los tejidos del SNC y, además de en las neuronas periféricas, están presentes en la glía y en las células del sistema inmunitario, lo que les exime de efectos secundarios psicotrópicos. En relación con esta distribución, se ha descrito, por otro lado, que los receptores CB2 pueden sobreexpresarse en algunos tejidos en condiciones de inflamación [9].

El uso de modelos animales ha permitido entender los mecanismos por los que los endocannabinoides modulan la excitabilidad de las neuronas nociceptivas y, por tanto, su papel en la transmisión del dolor. A diferencia de otros sistemas de neurotransmisión, los endocannabinoides actúan en la sinapsis de forma retrógrada, es decir, se generan postsinápticamente pero actúan sobre los receptores de la membrana presináptica, reduciendo la liberación de neurotransmisores excitadores [10,11]. Al actuar también sobre las células gliales, la activación de los receptores CB modula igualmente las interacciones glia-neurona o neurona-inmuncitos a lo largo del sistema nervioso periférico y central [12,13].

Aun cuando la evidencia científica demuestra, sin dejar lugar a dudas, la eficacia de los cannabinoides en la modulación e inhibición de la señal nociceptiva y en los procesos de cronificación del dolor denominados sensibilización (periférica y central), las dificultades a la hora de trasladar esta evidencia preclínica a la realidad clínica son importantes (Tabla I).

## FARMACOLOGÍA CANNABINOIDE

En la actualidad, solo cuatro medicamentos selectivos cannabinoides están disponibles: Cesamet® (nabilona), Marinol® ( $\Delta$ -9-tetrahidrocannabinol+dronabinol) y Sativex® ( $\Delta$ -9-tetrahidrocannabinol+cannabidiol) y Epidyolex® (cannabidiol) indicados como tratamiento analgésico en el dolor oncológico y/o manejo del dolor

TABLA I  
DIFICULTADES PARA LA TRASLACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN PRECLÍNICA A LA CLÍNICA

<p><i>Certezas:</i> Los cannabinoides son eficaces en diversos modelos animales de dolor: más de 150 estudios lo demuestran</p>	<p><i>Dudas:</i> ¿Es posible la traslación de modelos animales a situaciones clínicas?</p>
<p><i>Ventajas preclínicas:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Se cuantifica de forma objetiva la magnitud de la respuesta</li> <li>- Se estudian los efectos sin influencia de otros fármacos</li> <li>- Los individuos de experimentación están perfectamente seleccionados</li> <li>- Se pueden ajustar todas las variables farmacocinéticas</li> <li>- Se controlan todas las variables necesarias</li> </ul>	<p><i>Brechas:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Los modelos animales son muy buenos para estudiar nocicepción, peores para estudiar el dolor</li> <li>- El control de las variables en la clínica es menor, luego hay mayor nivel de confusión y sesgo a la hora de interpretar resultados</li> <li>- La variabilidad farmacocinética es mayor</li> <li>- Existen numerosos a priori, tanto a favor como en contra, que pueden afectar al resultado</li> </ul>

neuropático, para dos formas raras de epilepsia (el cannabidiol) y la espasticidad asociada a la esclerosis múltiple. Estudios en animales proponen su utilidad en otros tipos de dolor, no solo por su efecto analgésico, directo, sobre el sistema nociceptivo, sino por la modulación de otros efectos como estado de ánimo, sueño, etc. Como con cualquier abordaje farmacológico, el uso de agonistas cannabinoides, ya sean sintéticos o de origen vegetal, no está exento de efectos secundarios que deben ser tenidos en cuenta, tanto cuando se administran a forma aguda como crónica.

El efecto analgésico de los cannabinoides se conoce desde hace siglos, empleándose tradicionalmente preparados de la planta *Cannabis sativa* por su efecto analgésico, pero hasta finales de la década de 1960 no se identificó su principal componente activo ( $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol) [14], y no fue hasta la década de 1990 cuando se descubrieron los receptores cannabinoides CB1 y CB2 [1,4] y se pudo comenzar a aclarar sus mecanismos y lugares de acción [15-20].

Los componentes del sistema endocannabinoide incluyen los receptores cannabinoides acoplados a proteínas G inhibitorias (CB1 y CB2), sus ligandos endógenos anandamida (AEA) y 2-araquidonil glicerol (2-AG), y sus sistemas enzimáticos de síntesis y degradación. Estos componentes se expresan de forma ubicua a lo largo de las vías nociceptivas. Como ya se ha comentado, se generan bajo demanda en respuesta a altos niveles de actividad sináptica y producen efectos antinociceptivos a corto plazo, principalmente a través de su unión a los receptores CB1 ubicados en las neuronas nociceptivas. Así, la transmisión nociceptiva se puede modular en múltiples sitios: en la periferia [21], el asta dorsal de la médula espinal [22-26] y en regiones cerebrales asociadas con el dolor.

Desde un punto de vistas farmacológico, existen diversas estrategias para activar este sistema, ya sea modulando los enzimas implicados en la síntesis y degradación o activando los receptores específicos, mediante fármacos de nueva síntesis o derivados de alguno de los componentes de la planta.

## Enzimas

Como se ha comentado, en situaciones de traumatismo, lesión tisular o inflamación, se produce un aumento de los niveles de endocannabinoides [27] en un intento de provocar un efecto analgésico endógeno. Debido a ello, una de las estrategias farmacológicas consiste en bloquear los enzimas que degradan los endocannabinoides y así aumentar la analgesia endógena sin los efectos secundarios sistémicos. La amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) se identificó como la principal enzima que degrada los endocannabinoides, como la AEA, por lo que se han desarrollado varios tipos de inhibidores de la FAAH, con una alta especificidad, lo que provoca un aumento significativo de los niveles de AEA, tanto en el SNC como en los tejidos periféricos [28].

Las propiedades analgésicas y antiinflamatorias de los inhibidores de la FAAH han sido evaluadas en modelos preclínicos de dolor inflamatorio. Estos modelos se basan en la aplicación de sustancias nocivas en la pata del roedor, lo que provoca inflamación (edema) y un comportamiento nociceptivo medible, que puede incluir alodi-

nia e hiperalgesia. Se ha demostrado que los inhibidores de FAAH suprimen el dolor inflamatorio inducido tanto por formalina [29] como por carragenina [30] y adyuvante de Freund (CFA) [31]. El efecto de los inhibidores de la FAAH modula la respuesta tanto de los receptores CB1 como los CB2 [31,32], aun cuando el receptor CB2 está más implicado en el dolor inflamatorio, ya que las células inmunitarias periféricas y las células gliales expresan principalmente este subtipo de receptor.

La monoacilglicerol lipasa (MAGL) ha sido identificada como la principal enzima responsable de la degradación del 2-AG [33]. 2-AG es el principal endocannabinoide presente en el SNC [34] y responsable de la mayoría de las respuestas sinápticas endógenas derivadas la activación del receptor CB1 [35]. La administración de inhibidores de la MAGL aumenta los umbrales de respuesta de los animales sometidos a estímulos térmicos y mecánicos en modelos de inflamación periférica [26,36,37], visceral y gastrointestinal [38,39], apareciendo igualmente otros efectos farmacológicos como la dependencia. Más recientemente, se ha desarrollado una nueva generación de inhibidores de MAGL con perfiles terapéuticos más atractivos [40]. Estos compuestos producen efectos antinociceptivos en modelos de ratones con dolor agudo y crónico con ciertas propiedades cannabimiméticas reducidas [41].

Por otra parte, se ha comprobado que la inhibición de la FAAH, al aumentar los niveles de endocannabinoides, no solo provoca un efecto directo sobre la activación de los receptores CB, sino que modifica la respuesta inflamatoria aguda de una forma más global, actuando, por ejemplo, sobre los receptores TLR3, reduciendo la activación de la microglía y de los macrófagos proinflamatorios M1, y también la ansiedad experimental evaluada en los roedores [42].

## Receptores

Por otro lado, el uso de agonistas y antagonistas cannabinoides nos ha permitido conocer la diferente implicación del sistema cannabinoide en el proceso del dolor. Se han utilizado y probado numerosos agonistas en diferentes modelos de dolor agudo e inflamatorio. Así, se ha podido demostrar que los cannabinoides juegan un papel importante en la modulación de las vías relacionadas con el bulbo rostromedial en situaciones de inflamación inducida por CFA a través de la modulación de GABA [43], lo que permite sugerir que la activación selectiva de los receptores CB2 puede tener un potencial terapéutico para tratar el dolor inflamatorio persistente, dándose además la circunstancia de que los receptores CB2 tienen una menor capacidad que los agonistas de los receptores CB1 para inducir tolerancia y efectos de abstinencia [44], así como efectos secundarios psicotrópicos [45].

Una estrategia para evitar los efectos secundarios sistémicos de los cannabinoides consiste en emplear sistemas de administración local. Se ha comprobado su eficacia en modelos de dolor muscular inducido por suero hipertónico [46], en dolor en la ATM, o en el músculo gastrocnemio, demostrándose que la administración local de agonistas CB fue más efectiva que la sistémica. Recientemente se ha demostrado [47], utilizando un modelo de daño miofascial temporomandibular, que la

activación de los receptores CB1 periféricos disminuye los niveles de NGF periférico, sugiriendo que la aplicación periférica de agonistas CB1 podría proporcionar alivio analgésico sin efectos secundarios centrales.

El receptor cannabinoide 2 también se expresa en las neuronas, incluidos los nervios que inervan el tejido sinovial, por lo que la activación de los receptores CB2 disminuye el dolor inducido en modelos de artrosis en ratas [48].

La activación de otros receptores diferentes de los clásicos CB1 y CB2 también puede inducir efecto analgésico: el cannabidiol (CBD), una sustancia presente en el cannabis, es un cannabinoide no psicoactivo con potencial terapéutico para el tratamiento de varios tipos de dolor [49-51]. Los datos sugieren que la aplicación *in vitro* de CBD inhibe la señalización a través del receptor GPR55 presente en los osteoclastos [52] y de los receptores TRP, produciendo una inhibición en la liberación de citoquinas como TNF-alfa de las células sinoviales [53], siendo igualmente eficaz aplicado por vía transdérmica [54]. Esta vía de administración ha permitido reducir significativamente la inflamación de las articulaciones, el dolor espontáneo, la infiltración de células inmunitarias y el engrosamiento de la membrana sinovial de forma dosis dependiente sin efectos adversos.

Al igual que el CBD, otros componentes de la planta están siendo estudiados por su potencial analgésico. Uno de los más recientemente analizados es el cannabinigerol (CBG), precursor de alguno de los productos finales de la planta. Este compuesto tiene capacidad para unirse tanto al receptor CB1 como al CB2, pero, igualmente, se une al receptor alfa-2 adrenérgico y al receptor de serotonina 5-HT1A [55]. Sus efectos analgésicos parecen ser especialmente relevantes en modelos animales de dolor neuropático, pero no inflamatorio [56]. Igualmente, otros compuestos derivados de CBG han mostrado efectos analgésicos, en este caso en modelos de dolor inflamatorio, reduciendo tanto la inflamación como las conductas nociceptivas. Es interesante indicar que, igualmente, fueron capaces de disminuir, de forma dosis dependiente, la expresión de componentes inflamatorios como el TNF [57].

En la planta de cannabis sativa existen más de 100 cannabinoides diferentes, además de muchas otras sustancias que, clásicamente, se ha considerado que contribuían de alguna manera al efecto final derivado de la planta, en una idea denominada "efecto entourage", que explicaría que el efecto del consumo de la planta "completa" sería superior a la suma de los efectos de cada uno de sus componentes, lo que en farmacología se denomina sinergia. Algunas de esas sustancias se están estudiando en el laboratorio, con la idea de poder emplearlas de forma asilada como agentes terapéuticos, en este caso analgésicos o antihiperalgésicos. Es el caso de los terpenos, o terpenoides, de los que se han caracterizado más de 140. Así, por ejemplo, en modelos de dolor neuropático, como el inducido por ligadura del nervio ciático, se ha comprobado que algunos como el beta-cariofileno, el alfa-terpineol y el gamma-terpineno son capaces de revertir la alodinia y la hiperalgnesia, de forma dosis dependiente y durante más de 3 horas cada uno de ellos. Aun cuando todos ellos mostraron afinidad por los receptores CB, su selectividad fue diferente sobre el receptor CB1 o CB2, así como la frecuencia

e intensidad de los efectos secundarios clásicos de los cannabinoides, como el aumento de temperatura y disminución de la actividad locomotora, siendo aparentemente el beta-cariofileno el que mostró mejor perfil y mejor balance riesgo/beneficio [58].

Muchos de los estudios sobre los efectos analgésicos de los cannabinoides se han llevado a cabo en modelos animales de dolor neuropático y de dolor oncológico, dos de los ámbitos en los que pueden tener más interés desde el punto de vista clínico; en el primer caso, por la falta de alivio total que se consigue con los fármacos disponibles actualmente, y en el segundo por los beneficios asociados derivados de sus efectos antieméticos, sedantes o ansiolíticos.

Uno de los modelos en los que se combinan ambos intereses es el modelo de dolor provocado por la administración de agentes antitumorales; estos pueden provocar, tanto en humanos como en animales de experimentación, un dolor neuropático bilateral que cursa con alodinia e hiperalgnesia.

La conducta neuropática, inducida por la administración de paclitaxel, puede ser corregida por la administración de agonistas cannabinoides, tanto no selectivos, como selectivos del receptor CB2 [59,60], y resultados similares se obtienen cuando la neuropatía es inducida por vincristina [61]. La administración local de cannabinoides puede igualmente reducir significativamente la alodinia mecánica selectivamente en la pata en la que se administra el fármaco, lo que sugiere que el efecto antialodínico puede lograrse sin necesidad de que el fármaco alcance el sistema nervioso central, lo que sugiere una menor incidencia de efectos secundarios centrales.

Igualmente se han probado efectos relevantes cuando ciertos cannabinoides se aplicaron por vía oral, observándose una reducción en la neuroinflamación espinal, evidenciada como una menor activación de microglia y astrogliá, y una disminución de la presencia de citocinas y quimiocinas proinflamatorias en el asta dorsal de la médula espinal. La hiperalgnesia térmica y la alodinia mecánica, que están mediadas por diferentes neuronas nociceptivas, parecen verse afectadas de manera diferente por el agonismo CB2 [62].

En el dolor oncológico se han realizado estudios preclínicos para analizar la modulación del dolor por diferentes cannabinoides y el posible efecto sinérgico con otros fármacos. La mayoría de los experimentos se han llevado a cabo en modelos de dolor por cáncer óseo. Hay datos que sugieren un papel para los receptores CB1, pero no para los receptores CB2, en la hiperalgnesia del tejido profundo en un modelo de cáncer de hueso en ratones [63]. En un modelo de dolor por cáncer de fibrosarcoma, los agonistas de los receptores CB1 y CB2 redujeron la hiperalgnesia mecánica inducida por el tumor [64]. Sin embargo, también se ha evidenciado la participación selectiva del receptor CB2 en dos tipos diferentes de dolor de tumores óseos en ratones donde los agonistas CB2 disminuyeron la hiperalgnesia térmica y la alodinia mecánica inducida por el tumor [65]. Además, la activación del receptor CB2 es eficaz para reducir la carga tumoral esquelética, inhibiendo la osteólisis y atenuando el dolor óseo [66]. En algunos modelos, la administración local de cannabinoides fue capaz de reducir la hiperalgnesia, como en un modelo de carcinoma de células escamosas [67] y

de fibrosarcoma [68]. También hay evidencia de que los cannabinoides pueden actuar sinérgicamente con los opioides. Esta sinergia puede ser el resultado de una interacción farmacodinámica, puesto que ambos sistemas son inhibidores de la conducción nociceptiva [64], o bien porque los cannabinoides pueden reducir o prevenir la tolerancia a los opioides, un proceso que también puede estar mediado por el receptor CB2 [69].

Para finalizar, en este artículo no se ha pretendido revisar de forma extensa todos los estudios preclínicos que se han llevado a cabo en el ámbito de los cannabinoides y el dolor. Existen diversas publicaciones que pueden ser consultadas para poder tener una visión más completa de la situación actual [70-73].

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

## BIBLIOGRAFÍA

- 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.
- Devane WA, Hanuš 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. DOI: 10.1126/science.1470919.
- Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and a functional expression of the cloned cDNA. *Nature*. 1990;346(6284):561-4. DOI: 10.1038/346561a0.
- Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 1993;365(6441):61-5. DOI: 10.1038/365061a0.
- Salzet M, Breton C, Bisogno T, Di Marzo V. Comparative biology of the endocannabinoid system. Possible role in the immune response. *Eur J Biochem*. 2000;267(16):4917-27. DOI: 10.1046/j.1432-1327.2000.01550.x.
- Elphick MR, Egertová M. The phylogenetic distribution and evolutionary origins of endocannabinoid signalling. *Handb Exp Pharmacol*. 2005;(168):283-97.
- Mackie K. Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. *Handb Exp Pharmacol*. 2005;(168):299-325.
- Chiarlone A, Bellocchio L, Blázquez C, Resel E, Soria-Gómez E, Cannich A, et al. A restricted population of CB1 cannabinoid receptors with neuroprotective activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(22):8257-62. DOI: 10.1073/pnas.1400988111.
- Downer EJ. Cannabinoids and innate immunity: taking a toll on neuroinflammation. *ScientificWorldJournal* 2011;11:855-65. DOI: 10.1100/tsw.2011.84.
- Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimoto-dani Y, Uchigashima M, Watanabe M. Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. *Physiol Rev*. 2009;89:309-80. DOI: 10.1152/physrev.00019.2008.
- Castillo PE, Younts TJ, Chávez AE, Hashimoto-dani Y. Endocannabinoid signaling and synaptic function. *Neuron*. 2012;76(1):70-81. DOI: 10.1016/j.neuron.2012.09.020.
- Elphick MR, Egertová M. The neurobiology and evolution of cannabinoid signalling. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2001;356(1407):381-408. DOI: 10.1098/rstb.2000.0787.
- Walter L, Stella N. Cannabinoids and neuroinflammation. *Br J Pharmacol*. 2004;141(5):775-85. DOI: 10.1038/sj.bjp.0705667.
- Mechoulam R, Gaoni Y. The absolute configuration of delta-1-tetrahydrocannabinol, the major active constituent of hashish. *Tetrahedron Lett*. 1967;12:1109-11. DOI: 10.1016/S0040-4039(00)90646-4.
- Gregg LC, Jung KM, Spradley JM, Nyilas R, Suplita RL, Zimmer A, et al. Activation of type 5 metabotropic glutamate receptors and diacylglycerol lipase- $\alpha$  initiates 2-arachidonoylglycerol formation and endocannabinoid-mediated analgesia. *J Neurosci*. 2012;32(28):9457-68. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0013-12.2012.
- Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, DeCosta BR, et al. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990;87(5):1932-6. DOI: 10.1073/pnas.87.5.1932.
- Hohmann AG, Suplita RL, Bolton NM, Neely MH, Fegley D, Mangieri R, et al. An endocannabinoid mechanism for stress-induced analgesia. *Nature*. 2005;435(7045):1108-12. DOI: 10.1038/nature03658.
- Martin WJ, Coffin PD, Attias E, Balinsky M, Tsou K, Walker JM. Anatomical basis for cannabinoid-induced antinociception as revealed by intracerebral microinjections. *Brain Res*. 1999;822(1-2):237-42. DOI: 10.1016/S0006-8993(98)01368-7.
- Walker JM, Hohmann AG. Cannabinoid mechanisms of pain suppression. *Handb Exp Pharmacol*. 2005;168(168):509-54.
- Walker JM, Huang SM. Cannabinoid Analgesia. *Pharmacol Ther*. 2002;95(2):127-35. DOI: 10.1016/S0163-7258(02)00252-8.
- Guindon J, Beaulieu P. The role of the endogenous cannabinoid system in peripheral analgesia. *Curr Mol Pharmacol*. 2009;2(1):134-9. DOI: 10.2174/1874467210902010134.
- Hohmann AG. Spinal and peripheral mechanisms of cannabinoid antinociception: behavioral, neurophysiological and neuroanatomical perspectives. *Chem Phys Lipids*. 2002;121(1-2):173-90. DOI: 10.1016/S0009-3084(02)00154-8.
- Nyilas R, Gregg LC, Mackie K, Watanabe M, Zimmer A, Hohmann AG, et al. Molecular architecture of endocannabinoid signaling at nociceptive synapses mediating analgesia. *Eur J Neurosci*. 2009;29(10):1964-78. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2009.06751.x.
- Richardson JD, Aanonsen L, Hargreaves KM. Antihyperalgesic effects of spinal cannabinoids. *Eur J Pharmacol*. 1998;345(2):145-53. DOI: 10.1016/S0014-2999(97)01621-X.
- Sagar DR, Jhaveri M, Richardson D, Gray RA, De Lago E, Fernandez-Ruiz J, Barrett D, Kendall D, Chapman V. Endocannabinoid regulation of spinal nociceptive processing in a model of neuropathic pain. *Eur J Neurosci*. 2010;31(8):1414-22. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2010.07162.x.
- Woodhams SG, Wong A, Barrett DA, Bennett AJ, Chapman V, Alexander SPH. Spinal administration of the monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 produces robust inhibitory effects on nociceptive processing and the development of central sensitization in the rat. *Br J Pharmacol*. 2012;167:1609-19. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2012.02179.x.
- Sagar DR, Burston JJ, Woodhams SG, Chapman V. Dynamic changes to the endocannabinoid system in models of chronic pain. *Philos Trans R Soc Lond B*



- Biol Sci. 2012;367(1607):3300-11. DOI: 10.1098/rstb.2011.0390.
28. Woodhams SG, Chapman V, Finn DP, Hohmann AG, Neugebauer V. The cannabinoid system and pain. *Neuropharmacology*. 2017;124:105-20. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.06.015.
  29. Maione S, Morera E, Marabese I, Ligresti A, Luongo L, Ortar G, et al. Antinociceptive effects of tetrazole inhibitors of endocannabinoid inactivation: cannabinoid and non-cannabinoid receptor-mediated mechanisms. *Br J Pharmacol*. 2008;155(5):775-82. DOI: 10.1038/bjp.2008.308.
  30. Holt S, Comelli F, Costa B, Fowler CJ. Inhibitors of fatty acid amide hydrolase reduce carrageenan-induced hind paw inflammation in pentobarbital-treated mice: comparison with indomethacin and possible involvement of cannabinoid receptors. *Br J Pharmacol*. 2005;146(3):467-76. DOI: 10.1038/sj.bjp.0706348.
  31. Jayamanne A, Greenwood R, Mitchell VA, Aslan S, Piomelli D, Vaughan CW. Actions of the FAAH inhibitor URB597 in neuropathic and inflammatory chronic pain models. *Br J Pharmacol*. 2006;147(3):281-8. DOI: 10.1038/sj.bjp.0706510.
  32. Ahn K, Smith SE, Liimatta MB, Beidler D, Sadagopan N, Dudley DT, et al. Mechanistic and pharmacological characterization of PF-04457845: a highly potent and selective fatty acid amide hydrolase inhibitor that reduces inflammatory and noninflammatory pain. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011;338(1):114-24. DOI: 10.1124/jpet.111.180257.
  33. Dinh TP, Carpenter D, Leslie FM, Freund TF, Katona I, Sensi SL, et al. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(16):10819-24. DOI: 10.1073/pnas.152334899.
  34. Stella N, Schweitzer P, Piomelli D. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature*. 1997;388(6644):773-8. DOI: 10.1038/42015.
  35. Katona I, Freund T. Multiple functions of endocannabinoid signaling in the brain. *Annu Rev Neurosci*. 2012;35:529-58. DOI: 10.1146/annurev-neuro-062111-150420.
  36. Ghosh S, Wise LE, Chen Y, Gujjar R, Mahadevan A, Cravatt BF, et al. The monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 suppresses inflammatory pain in the mouse carrageenan model. *Life Sci*. 2013;92(8-9):498-505. DOI: 10.1016/j.lfs.2012.06.020.
  37. Guindon J, Gujjarro A, Piomelli D, Hohmann AG. Peripheral antinociceptive effects of inhibitors of monoacylglycerol lipase in a rat model of inflammatory pain. *Br J Pharmacol*. 2011;163(7):1464-78. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.01192.x.
  38. Busquets-Garcia A, Puighermanal E, Pastor A, de la Torre R, Maldonado R, Zaita A. Differential role of anandamide and 2-arachidonoylglycerol in memory and anxiety-like responses. *Biol Psychiatry*. 2011;70(5):479-86. DOI: 10.1016/j.biopsych.2011.04.022.
  39. Kinsey SG, Nomura DK, O'Neal ST, Long JZ, Mahadevan A, Cravatt BF, et al. Inhibition of monoacylglycerol lipase attenuates Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric hemorrhages in mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011;338(3):795-802. DOI: 10.1124/jpet.110.175778.
  40. Ignatowska-Jankowska BM, Ghosh S, Crowe MS, Kinsey SG, Niphakis MJ, Abdullah RA, et al. In vivo characterization of the highly selective monoacylglycerol lipase inhibitor KML29: Antinociceptive activity without cannabimimetic side effects. *Br J Pharmacol*. 2014;171(6):1392-407. DOI: 10.1111/bph.12298.
  41. Ignatowska-Jankowska BM, Wilkerson JL, Mustafa M, Abdullah R, Niphakis M, Wiley JL, et al. Selective monoacylglycerol lipase inhibitors: antinociceptive versus cannabimimetic effects in mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 2015;353(2):424-32. DOI: 10.1124/jpet.114.222315.
  42. Flannery LE, Kerr DM, Finn DP, Roche M. FAAH inhibition attenuates TLR3-mediated hyperthermia, nociceptive- and anxiety-like behaviour in female rats. *Behav Brain Res*. 2018;353:11-20. DOI: 10.1016/j.bbr.2018.06.030.
  43. Li M, Suchland KL, Ingram SL. Compensatory Activation of Cannabinoid CB2 receptor inhibition of GABA release in the rostral ventromedial medulla in inflammatory pain. *J Neurosci*. 2017;37(3):626-36. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1310-16.2016.
  44. Deng L, Guindon J, Cornett BL, Makriyannis A, Mackie K, Hohmann AG. Chronic cannabinoid receptor 2 activation reverses paclitaxel neuropathy without tolerance or cannabinoid receptor 1-dependent withdrawal. *Biol Psychiatry*. 2015;77(5):475-87. DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.04.009.
  45. Parsons LH, Hurd YL. Endocannabinoid signalling in reward and addiction. *Nat Rev Neurosci*. 2015;16(10):579-94. DOI: 10.1038/nrn4004.
  46. Sánchez EM, Bagües A, Martín Fontelles MI. Cannabinoids and muscular pain. Effectiveness of the local administration in rat. *Eur J Pain*. 2012;16(8):1116-27. DOI: 10.1002/j.1532-2149.2012.00115.x.
  47. Wong H, Hossain S, Cairns BE. Delta-9-tetrahydrocannabinol decreases masticatory muscle sensitization in female rats through peripheral cannabinoid receptor activation. *Eur J Pain*. 2017;21(10):1732-42. DOI: 10.1002/ejp.1085.
  48. Schuelert N, Zhang C, Mogg AJ, Broad LM, Hepburn DL, Nisenbaum ES, et al. Paradoxical effects of the cannabinoid CB2 receptor agonist GW405833 on rat osteoarthritic knee joint pain. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010;18(11):1536-43. DOI: 10.1016/j.joca.2010.09.005.
  49. Mechoulam R, Hanus L. Cannabidiol: An overview of some chemical and pharmacological aspects. Part I: Chemical aspects. *Chem Phys Lipids*. 2002;121(1-2):35-43. DOI: 10.1016/S0009-3084(02)00144-5.
  50. Mechoulam R, Parker LA, Gallily R. Cannabidiol: An overview of some pharmacological aspects. *J Clin Pharmacol*. 2002;42(11 Suppl):11S-19S. DOI: 10.1002/j.1552-4604.2002.tb05998.x.
  51. Burstein SH, Zurier RB. Cannabinoids, endocannabinoids, and related analogs in inflammation. *AAPS J*. 2009;11(1):109-19. DOI: 10.1208/s12248-009-9084-5.
  52. Whyte LS, Ryberg E, Sims NA, Ridge SA, Mackie K, Greasley PJ, et al. The putative cannabinoid receptor GPR55 affects osteoclast function in vitro and bone mass in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(38):16511-6. DOI: 10.1073/pnas.0902743106.
  53. Malfait AM, Gallily R, Sumariwalla PF, Malik AS, Andreaskos E, Mechoulam R, et al. The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritis therapeutic in murine collagen-induced arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(17):9561-6. DOI: 10.1073/pnas.160105897.
  54. Hammell DC, Zhang LP, Ma F, Abshire SM, McIlwraith SL, Stinchcomb AL, et al. Transdermal cannabidiol reduces inflammation and pain-related behaviours in a rat model of arthritis. *Eur J Pain*. 2016;20(6):936-48. DOI: 10.1002/ejp.818.
  55. Nachnani R, Raup-Konsavage WM, Vrana KE. The Pharmacological Case for Cannabigerol. *J Pharmacol Exp Ther*. 2021;376(2):204-12. DOI: 10.1124/jpet.120.000340.

56. Sepulveda DE, Morris DP, Raup-Konsavage WM, Sun D, Vrana KE, Graziane NM. Cannabigerol (CBG) attenuates mechanical hypersensitivity elicited by chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Eur J Pain*. 2022;26(9):1950-66. DOI: 10.1002/ejp.2016.
57. Kogan NM, Lavi Y, Topping LM, Williams RO, McCann FE, Yekhtin Z, et al. Novel CBG Derivatives Can Reduce Inflammation, Pain and Obesity. *Molecules*. 2021;26(18):5601. DOI: 10.3390/molecules26185601.
58. Bilbrey JA, Ortiz YT, Felix JS, McMahon LR, Wilkerson JL. Evaluation of the terpenes  $\beta$ -caryophyllene,  $\alpha$ -terpineol, and  $\gamma$ -terpinene in the mouse chronic constriction injury model of neuropathic pain: possible cannabinoid receptor involvement. *Psychopharmacology (Berl)*. 2022;239(5):1475-86. DOI: 10.1007/s00213-021-06031-2.
59. Pascual D, Goicoechea C, Suardiaz M, Martín MI. A cannabinoid agonist, WIN 55,212-2, reduces neuropathic nociception induced by paclitaxel in rats. *Pain* 2005;118(1-2):23-34. DOI: 10.1016/j.pain.2005.07.008.
60. Rahn EJ, Zvonok AM, Thakur GA, Khanolkar AD, Makriyannis A, Hohmann AG. Selective activation of cannabinoid CB2 receptors suppresses neuropathic nociception induced by treatment with the chemotherapeutic agent paclitaxel in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008;327(2):584-91. DOI: 10.1124/jpet.108.141994.
61. Rahn EJ, Makriyannis A, Hohmann AG. Activation of cannabinoid CB1 and CB2 receptors suppresses neuropathic nociception evoked by the chemotherapeutic agent vincristine in rats. *Br J Pharmacol*. 2007;152(5):765-77. DOI: 10.1038/sj.bjp.0707333.
62. Desroches J, Charron S, Bouchard JF, Beaulieu P. Endocannabinoids decrease neuropathic pain-related behavior in mice through the activation of one or both peripheral CB1 and CB2 receptors. *Neuropharmacology*. 2014;77:441-52. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2013.10.006.
63. Kehl LJ, Hamamoto DT, Wacnik PW, Croft DL, Norsted BD, Wilcox GL, et al. A cannabinoid agonist differentially attenuates deep tissue hyperalgesia in animal models of cancer and inflammatory muscle pain. *Pain*. 2003;103:175-86. DOI: 10.1016/S0304-3959(02)00450-5.
64. Khasabova IA, Gielissen J, Chandiramani A, Harding-Rose C, Odeh DA, Simone DA, et al. CB1 and CB2 receptor agonists promote analgesia through synergy in a murine model of tumor pain. *Behav Pharmacol*. 2011;22:607-16. DOI: 10.1097/FBP.0b013e3283474a6d.
65. Curto-Reyes V, Llamas S, Hidalgo A, Menéndez L, Baamonde A. Spinal and peripheral analgesic effects of the CB2 cannabinoid receptor agonist AM1241 in two models of bone cancer-induced pain. *Br J Pharmacol*. 2010;160:561-73. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00629.x.
66. Marino S, Idris AI. Emerging therapeutic targets in cancer induced bone disease: a focus on the peripheral type 2 cannabinoid receptor. *Pharmacol Res*. 2017;119:391-403. DOI: 10.1016/j.phrs.2017.02.023.
67. Guerrero AV, Quang P, Dekker N, Jordan RCK, Schmidt BL. Peripheral cannabinoids attenuate carcinoma-induced nociception in mice. *Neurosci Lett*. 2008;433:77-81. DOI: 10.1016/j.neulet.2007.12.053.
68. Uhelski MI, Cain DM, Harding-Rose C, Simone DA. The non-selective cannabinoid receptor agonist WIN55,212-2 attenuates responses of C-fiber nociceptors in a murine model of cancer pain. *Neuroscience*. 2013;247:84-94. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2013.05.003.
69. Bushlin I, Rozenfeld R, Devi LA. Cannabinoid-opioid interactions during neuropathic pain and analgesia. *Curr Opin Pharmacol*. 2010;10:80-6. DOI: 10.1016/j.coph.2009.09.009.
70. Finn DP, Haroutounian S, Hohmann AG, Krane E, Soliman N, Rice ASC. Cannabinoids, the endocannabinoid system, and pain: a review of preclinical studies. *Pain*. 2021;162(Suppl 1):S5-S25. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000002268.
71. Bourke SL, Schlag AK, O'Sullivan SE, Nutt DJ, Finn DP. Cannabinoids and the endocannabinoid system in fibromyalgia: A review of preclinical and clinical research. *Pharmacol Ther*. 2022;240:108216. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2022.108216.
72. Scuteri D, Rombolà L, Hamamura K, Sakurada T, Watanabe C, Sakurada S, et al. Is there a rational basis for cannabinoids research and development in ocular pain therapy? A systematic review of preclinical evidence. *Biomed Pharmacother*. 2022;146:112505. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112505.
73. Romero-Sandoval EA, Kolano AL, Alvarado-Vázquez PA. Cannabis and Cannabinoids for Chronic Pain. *Curr Rheumatol Rep*. 2017;19(11):67. DOI: 10.1007/s11926-017-0693-1.