



**VITATOX 7. – 9.9.2020**

**TAČR TH03010158**

**Triterpeny s cíleným účinkem v trávicím traktu**

## **Analýza cannabinoidů**

**Jana Volková**

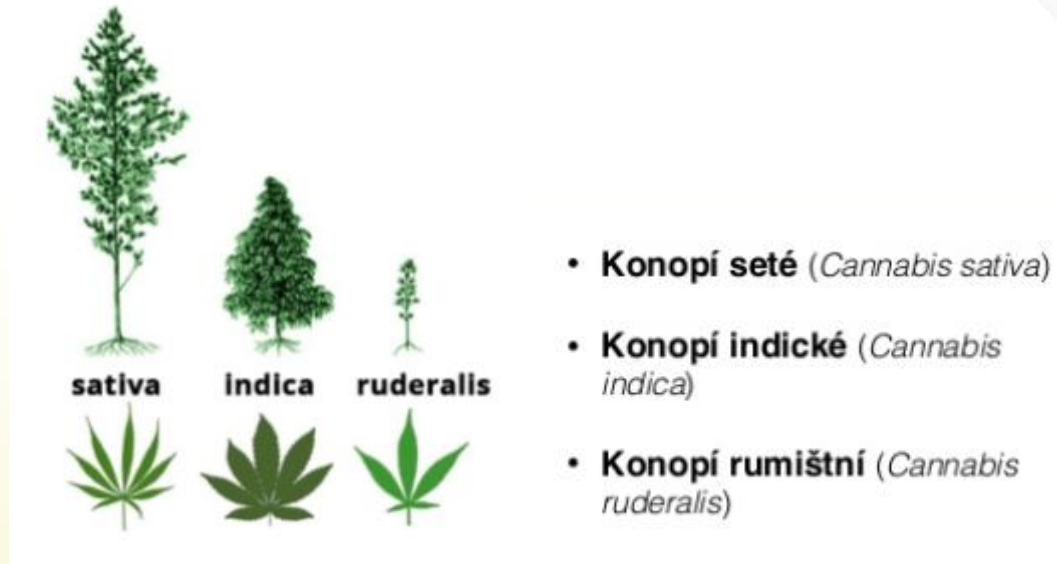
# Obsah přednášky



1. Konopí
2. Kanabinoidní systém
3. Kanabinoidy
4. Analýza kanabinoidů
5. Shrnutí

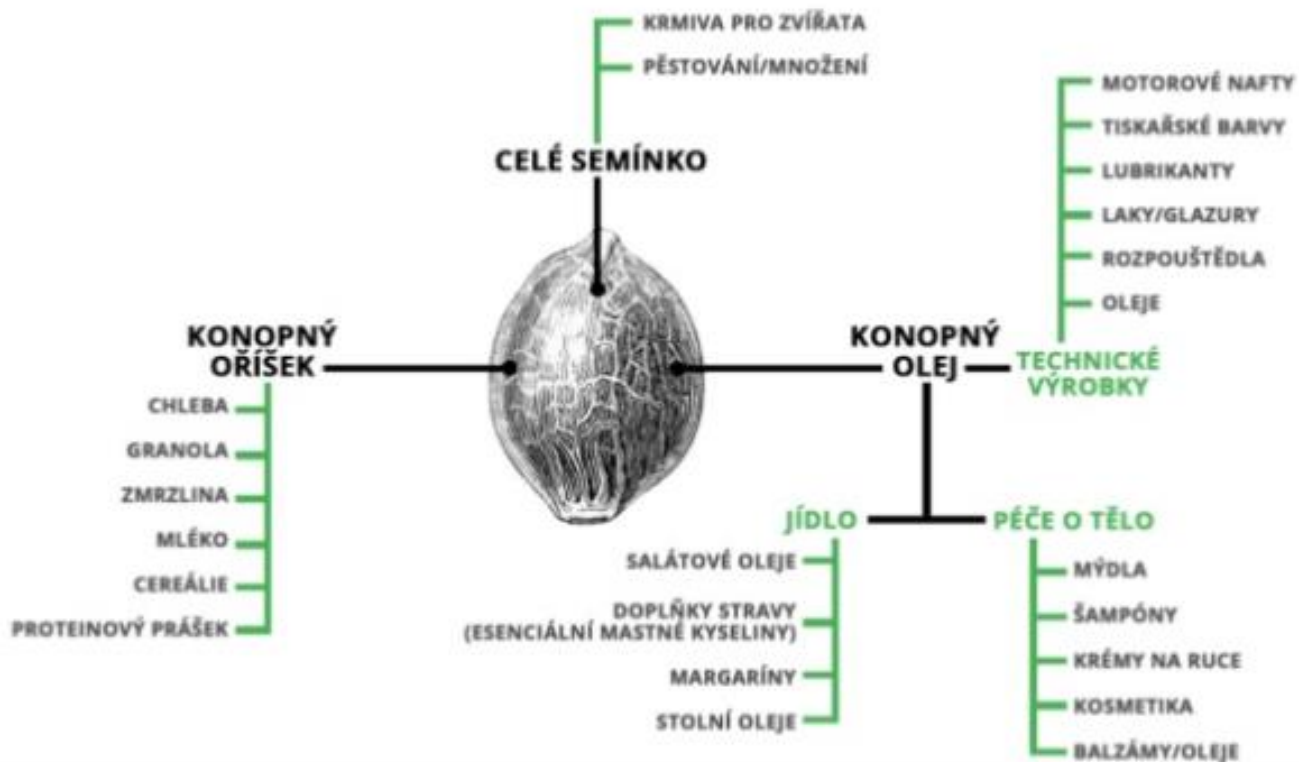
# Konopí

- konopí obsahuje přes 490 látek, z nichž je doposud popsáno 66 kanabinoidů
- kanabinoidy obsahují všechny části rostliny až na semena
- největší koncentraci nacházíme v trichomech květů samiči rostliny



# Využití konopí

## KONOPNÉ SEMÍNKO



# Využití konopí

## KONOPNÝ STONEK



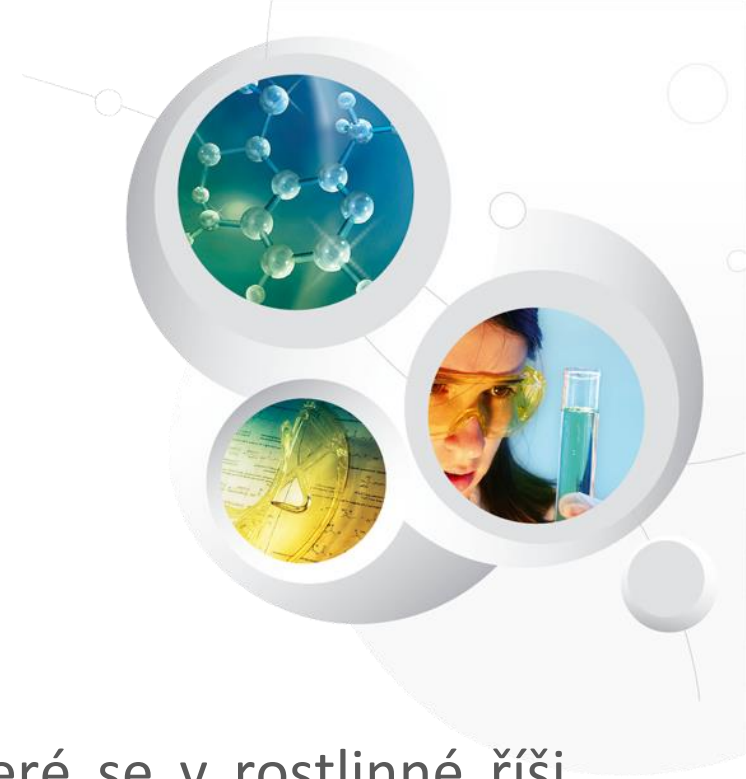
# Využití konopí

- Může zastavit růst rakoviny
- Snižuje neurologická postižení
- Uvolňuje svaly, křečové stavy
- Zabraňuje migrénám
- Pomáhá při léčbě zeleného zákalu
- Pomáhá s ADD, ADHD
- Snižuje příznaky IBS, Crohnovy choroby
- Léčí epilepsii
- Předchází Alzheimerově chorobě
- Pomáhá zmírňovat příznaky PMS
- Anti-psychotické účinky
- Biologicky rozložitelné plasty
- Papír
- Paliva, rozpouštědla, lubrikanty
- Průmyslové textilie
- Spotřební textilie
- Stavební materiály
- Může ukončit odlesňování
- Může ukončit závislost na naftě, plynu a uhlí
- Může být pěstováno téměř kdekoli



## Kanabinoidy vs. Kanabinoidní systém

Kanabinoidy jsou skupina látek, které se v rostlinné říši vyskytují převážně v konopí. Naopak **kanabinoidní systém**, tedy systém využívající tyto látky, se nachází u všech vyšších živočišných druhů, kde ovlivňuje celou řadu životních funkcí.



# Kanabinoidní systém

## Endokanabinoidní systém

- název od konopí (*Cannabis sativa*).
- Transmembránové receptory spřažené s G-proteinem
- Dosud byly identifikovány dva podtypy receptorů CB. V roce 1990 byl identifikován receptor CB1 v mozku potkana a v roce 1991 pak i lidský receptor CB1 (473 aminokyselin). V roce 1993, byl u člověka identifikován další receptor - CB2. Ten je tvořen řetězcem 360 aminokyselin. Oba podtypy receptorů působí přes G proteiny negativně na adenylátcyklázu a pozitivně na mitogenem aktivovanou proteinkinázu
- třetí subtyp zatím téměř neprozkoumán (Begg M, Pacher P, Bátkal S, Osei-Hylaman D, Offertáler L, Mo FM, Liu J, Kunos G (2005). "Evidence for novel cannabinoid receptors". *Pharmacol. Ther.* **106** (2),133–45)

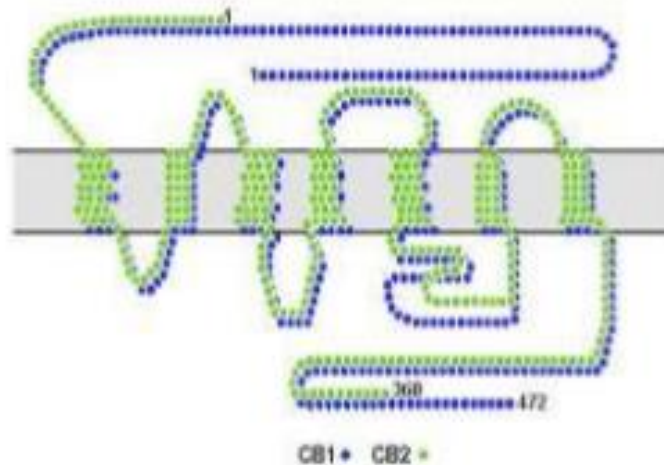
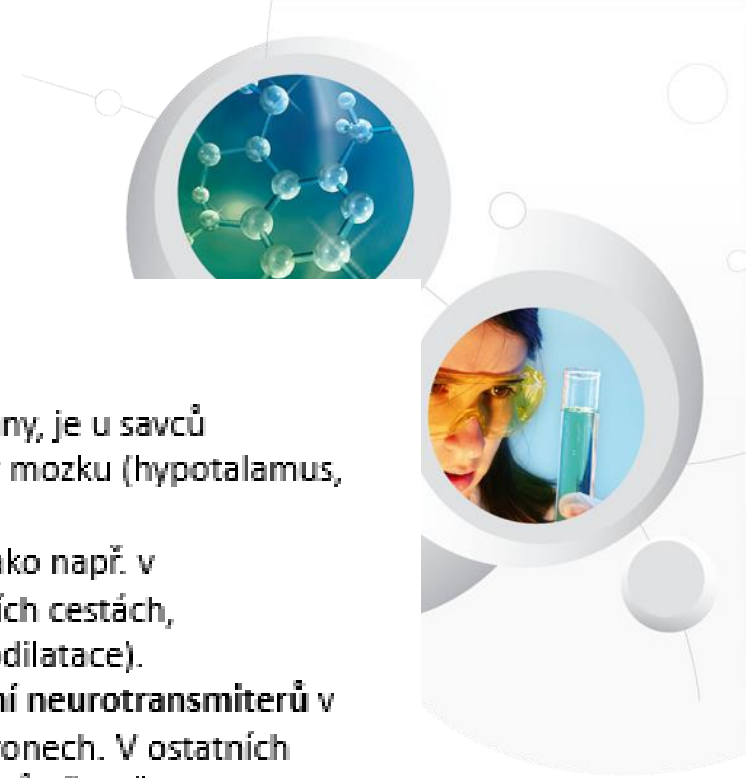


Foto: freewiki database





# Kanabinoidní systém



## CB1

- Z obou receptorových podtypů, které dosud byly naklonovány, je u savců nejrozšířenější podtyp CB1. S nejvyšší hustotou se nachází v mozku (hypotalamus, limbický systém, bazální ganglia, mozečková kůra a jinde)
- je také přítomen v mnoha periferních orgánech a tkáních, jako např. v gastrointestinálním systému, játrech, tukové tkáni, dýchacích cestách, reprodukčních orgánech a kardiovaskulárním systému (vasodilatace).
- Stimulace receptorů CB1 agonisty vede k **inhibici uvolňování neurotransmiterů** v centrálních a periferních (autonomních i sensorických) neuronech. V ostatních buňkách a tkáních má stimulace receptorů CB1 několik účinků včetně regulace proliferace, diferenciací, motility a apoptózy, pravděpodobně modulací exprese různých růstových faktorů.

## CB2

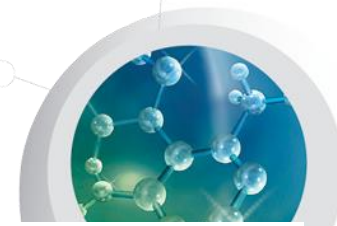
- Je přítomen na buňkách imunitního a hematopoetického systému a v některých periferních tkáních (hladké svalovině cévní stěny, varlatech, slezině)

# Kanabinoidní systém

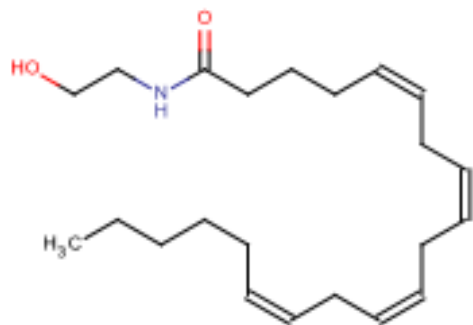
## ENDOKANABINOIDY

Velmi záhy po objevu receptorů CB byli také objeveni jejich přirození endogenní agonisté. Nazývají se endokanabinoidy (ECB), přestože s chemickou strukturou rostlinných alkaloidů z marihuany kanabinoidy nemají nic společného. Endokanabinoidy jsou endogenní lipidy odvozené od kyseliny arachidonové, chemicky patří mezi eikosanoidy. Váží se na kanabinoidní receptory CB1 a CB2 a aktivují je.

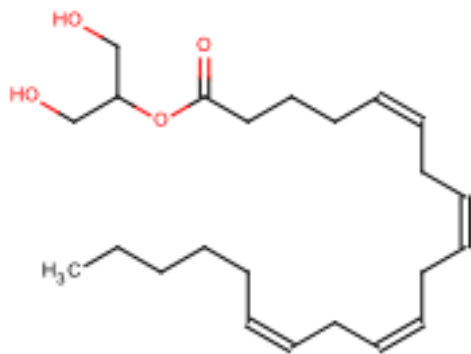
- Nejlépe prostudovanými ECB jsou **anandamid** Izoloval jej a jeho strukturu určil český analytický chemik **Lumír Ondřej Hanuš** a americký molekulární farmakolog William Anthony Devane v laboratoři Raphaela Mechoulama na Hebrejské Univerzitě v Jeruzalémě v roce 1992. Jeho název je odvozen ze sanskrtského slova *ananda*, což znamená „blaženost“ či „dokonalé štěstí“ a slova amid, které vyjadřuje chemickou podstatu této látky (arachidonoyletanolamid),
- 2-arachidonoylglycerol, izolovaný v roce 1993, a noladin (2-arachidonoylglyceryl etér), izolovaný v roce 2000. (PALMER, SL., KHANOLKAR, AD., MAKRIYANNIS, A. Natural and synthetic endocannabinoids and their structure-activity relationships. *Curr Pharm Des*, 2000, 6, p. 1381-1397.)
- **AM404**, aktivní metabolit paracetamolu, inhibitor zpětného vychytávání endokanabinoidů a inhibitor FAAH



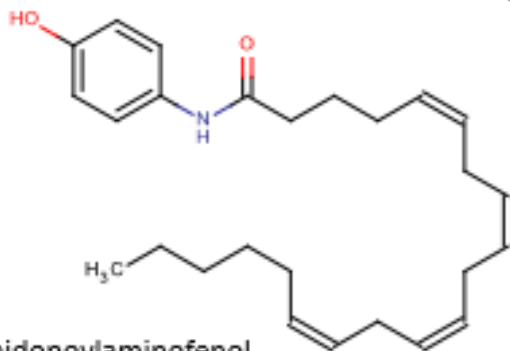
# Endokannabinoidy



anandamid



2-arachidonoylglycerol



AM404, 2-arachidonoylaminofenol



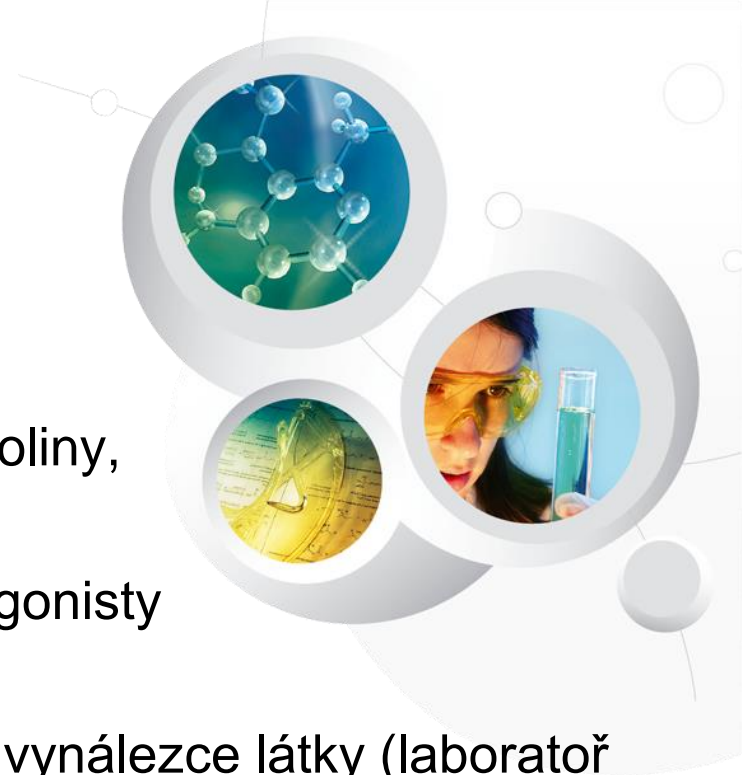
# Kanabinoidy

- Canabinoidy představují skupinu sekundárních rostlinných metabolitů s typickou strukturou, které doposud nebyly nalezeny v jiných rostlinách než konopných. V širším smyslu jsou canabinoidy všechny látky, které jsou specificky rozpoznány canabinoidním systémem, tj. canabinoidními receptory.
- Rozdělení
  - rostlinné kanabinoidy (fytokanabinoidy),
  - endogenní kanabinoidy (endokanabinoidy)
  - syntetické kanabinoidy.

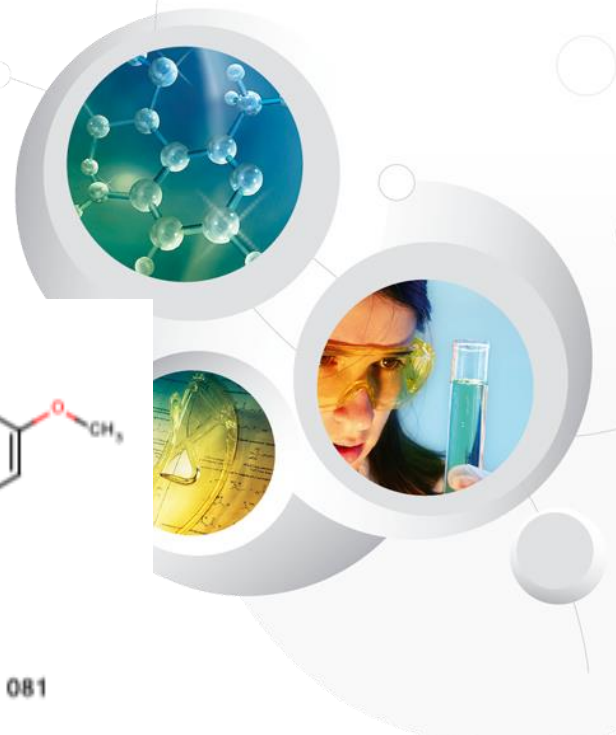
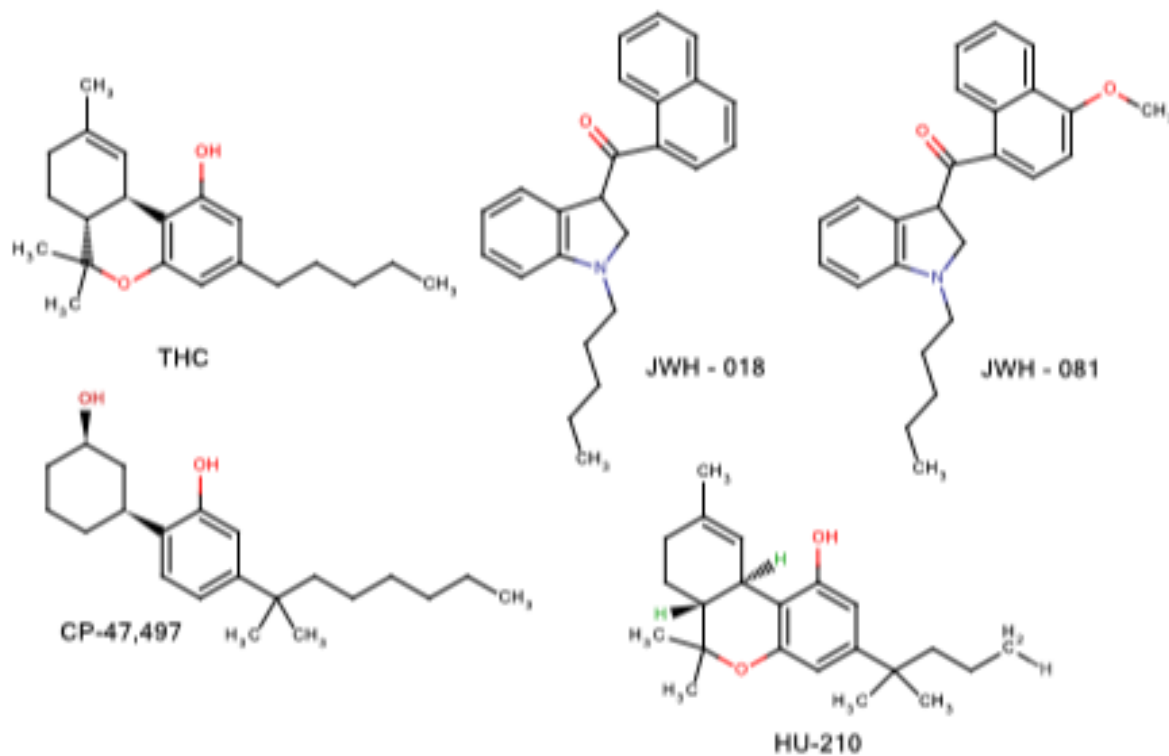


# Syntetické kanabinoidy

- agonisté kanabinoidních receptorů
- chemicky jsou to velmi různé látky (quinoliny, diaryl pyrazoly,...)
- často se jedná o vysoce potentní plné agonisty způsobující psychické poruchy
- označují se zkratkami z prvních písmen vynálezce látky (laboratoř J. W. Huffmana – JWH kanabinoidy, dr. Makryanni – AM kanabinoidy, HebrewUniversity – HU kanabinoidy)
- při předávkování vyvolávají syndrom akutní intoxikace – projevy kardiovaskulární (tachykardie, palpitace, bolest na hrudi), dušnost, nauzea, insomnie, agitovanost, myoklonus, hypokalémie.

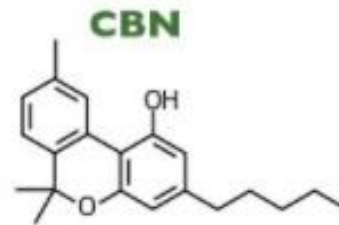
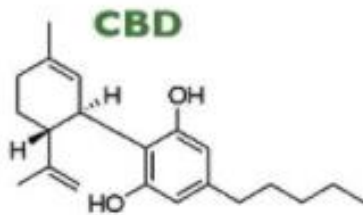
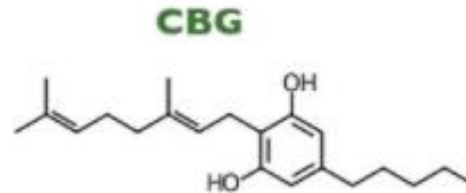
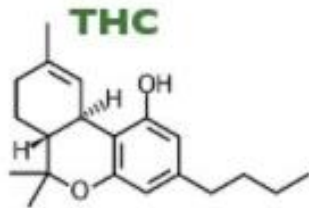


# Syntetické kanabinoidy



# Rostlinné kanabinoidy

- mají lipofilní charakter
- jsou to sekundární metabolity a převážně plní ochrannou funkci pro rostlinu



# Rostlinné kanabinoidy

## **Kanabidiol (CBD)**

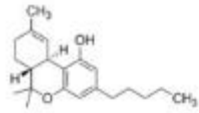
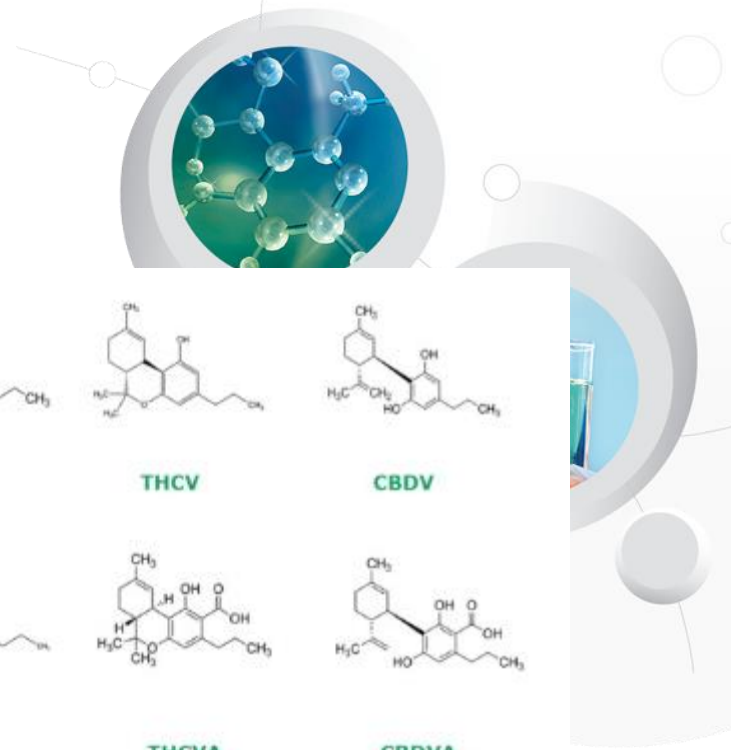
nemá psychoaktivní účinky, slabě se váže na receptory CB1, o něco více na CB2, antagonist nového receptoru GPR55, agonista 5-HT1A - antidepresivní účinky, hlavní alkaloid konopí v přirozeném prostředí

**Kanabinol (CBN)** – hlavní produkt degradace THC – skladování sušeného konopí, UV záření, nemá psychoaktivní účinky

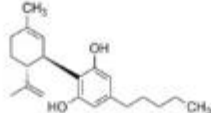
**Tetrahydrokanabinol (THC)** – psychoaktivně účinný, parciální agonista CB1 ( $K_i=10\text{nM}$ ) a CB2 ( $K_i=24\text{nM}$ ) receptorů, snižuje účinnost endokanabinoidů. Užívání THC může vést k rozvoji psychických poruch, depresi (popsáno sebevražedné chování)



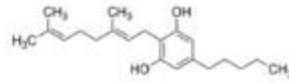
# Analýza kanabinoidů



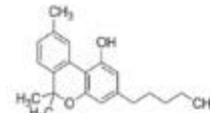
$\Delta^9$ -THC



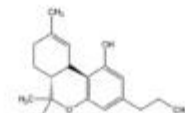
CBD



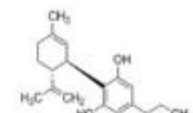
CBG



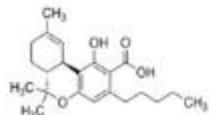
CBN



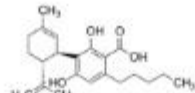
THCV



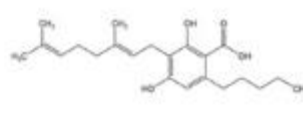
CBDV



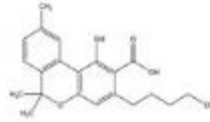
THCA



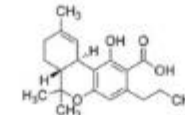
CBDA



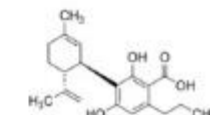
CBGA



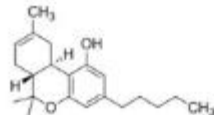
CBNA



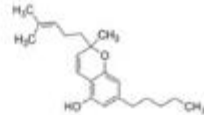
THCVA



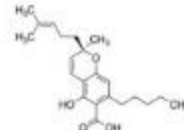
CBDVA



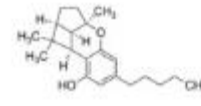
$\Delta^8$ -THC



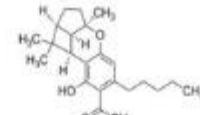
CBC



CBCA



CBL



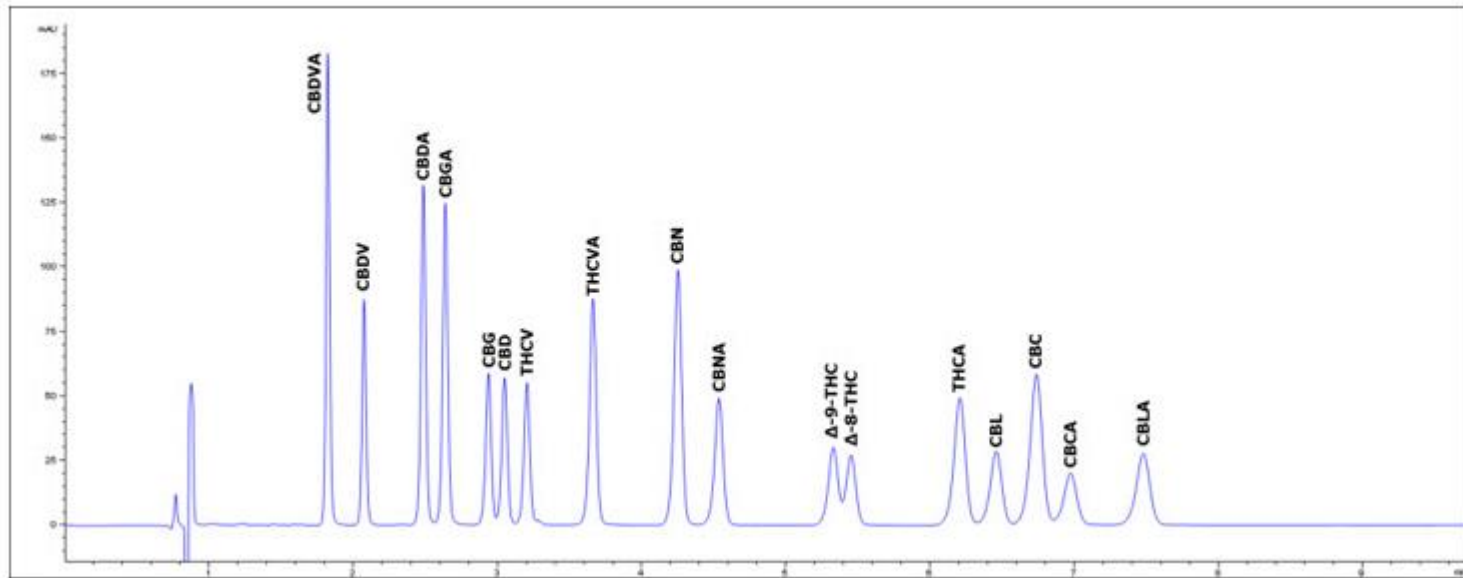
CBLA

# Analýza kanabinoidů

- <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/analytical/food-beverage/analysis-of-cannabinoids.html>



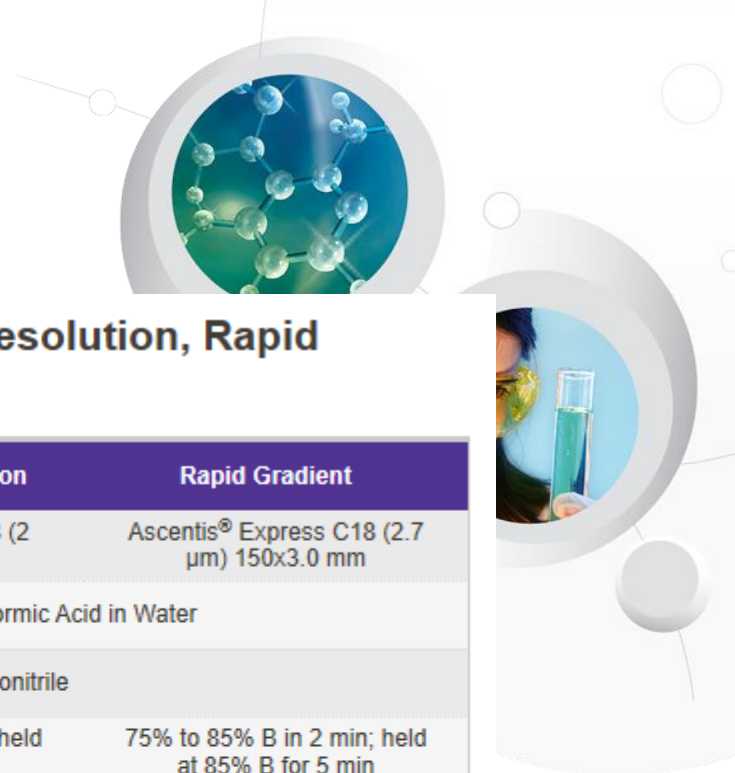
Low Pressure Isocratic Method: 17 Cannabinoids in Peak Identification Solution



# Analýza kanabinoidů

## System and method parameters (Rapid High-Resolution, Rapid Gradient, and Low Pressure Isocratic methods)

Method	Low Pressure Isocratic	Rapid High-Resolution	Rapid Gradient
Column	Ascentis® Express C8 (2.7 µm) 150x3.0 mm	Ascentis® Express C18 (2 µm) 150x2.1 mm	Ascentis® Express C18 (2.7 µm) 150x3.0 mm
Mobile Phase A	5 mM Ammonium Formate + 0.1% Formic Acid in Water		
Mobile Phase B	0.1% Formic Acid in Acetonitrile		
Mobile Phase Conditions	Isocratic: 27:73, A:B	75% to 90% B in 2 min; held at 90% B for 5 min	75% to 85% B in 2 min; held at 85% B for 5 min
Flow Rate (mL/min)	0.7	0.4	0.8
Column Temp. (°C)	30	25	25
UV Detection (nm)		228	
Injection (µL)	5	3	5
Max Pressure (Bar)	220	540	250
Instrument	Agilent 1290 Infinity II LC System; Quaternary pump; 0.12 mm ID tubing; 10 mm Max-Light Cartridge Cell 1.0 µL		



## Shrnutí



**I když by se mohlo zdát, že kombinace „THC, CBD, CB1, CB2“ je již vyřešenou záležitostí, opak je pravdou.**

**Rozličná biologická aktivita fytocannabinoidů v přírodním konopném mixu a tím různorodé ovlivnění lidského endocannabinoidního systému vzbuzuje nemalý zájem z pohledu ovlivnění řady závažných chorob, které často současná medicína ještě neumí účinně léčit.**



**Děkuji za pozornost**