

Stymulacja produkcji kannabinoidów w *Cannabis sativa* za pomocą prekursorów i elicytorów



Aleksandra Kolibaj^{1*}, Sabina Gałka²

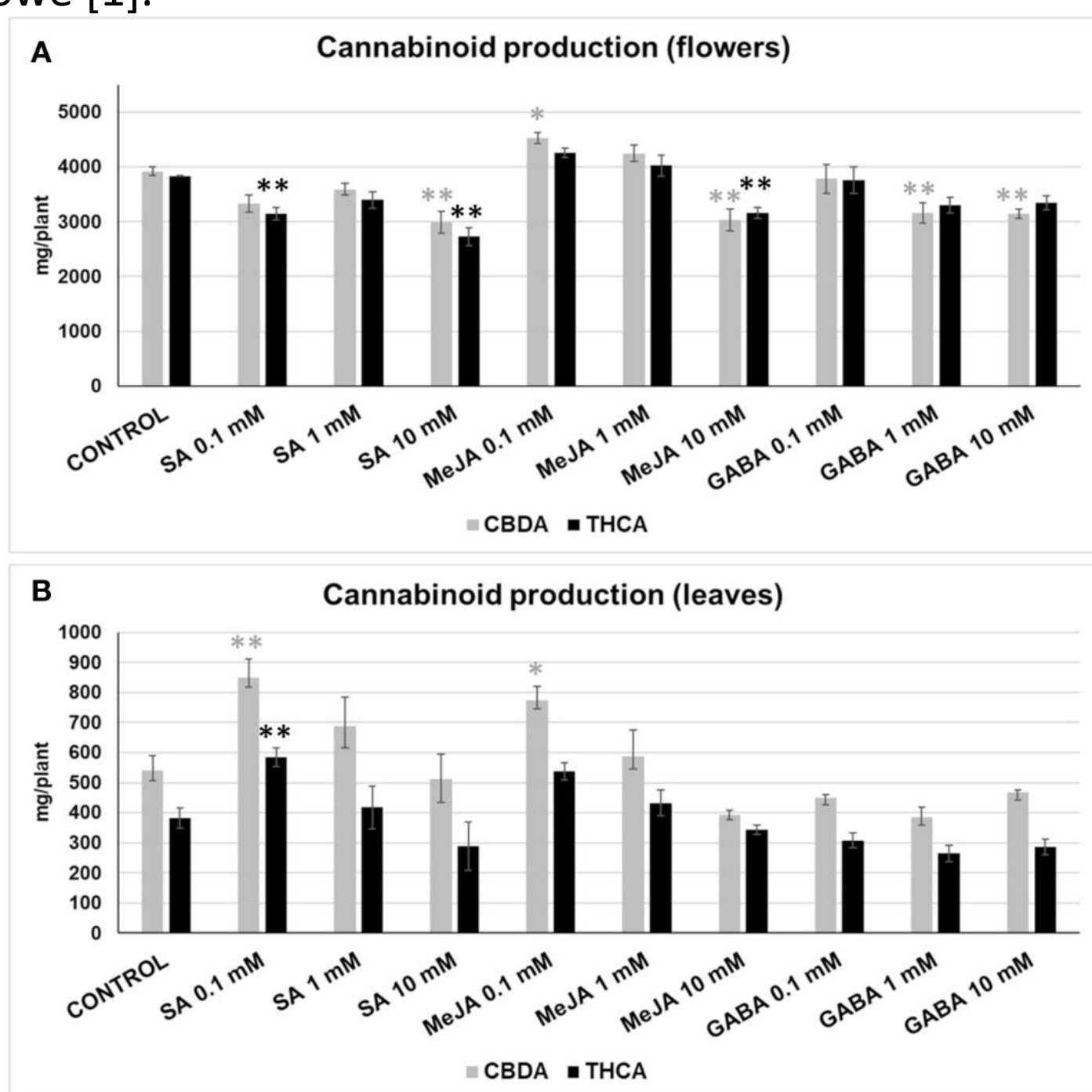
¹Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Biotechnologii i Inżynierii Genetycznej,

²Zakład Biotechnologii i Inżynierii Genetycznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jedności 8, 41-200 Sosnowiec

* e-mail autora korespondencyjnego: s89757@365.sum.edu.pl

Rosnące zainteresowanie zastosowaniem konopi siewnych (*Cannabis sativa* L.) w medycynie (Tabela I), przemyśle i farmacji stanowi wyzwanie dla biotechnologii roślin, która poszukuje metod zwiększenia biosyntezy bioaktywnych metabolitów konopi w warunkach kontrolowanych, w tym także w kulturach *in vitro*. Coraz większe znaczenie nabiera metoda stymulacji produkcji metabolitów wtórnych prekursorami i elicytorami. Elicytory to fitohormony, które indukują odpowiedź obronną roślin i modulują metabolizm wtórny. Dwoma najczęściej badanymi elicytorami są kwas salicylowy (SA) i jasmonian metylu (MeJA) [1,2].

Kwas salicylowy pełni kluczową rolę w odpowiedzi biotycznej i abiotycznej, występuje naturalnie w roślinie oraz reguluje jej wzrost i rozwój. Badania wykazały, że opryski SA w stężeniu 1mM zwiększyły zawartość kannabidiolu (CBD) o 17,9% i $\Delta 9$ -tetrahydrokannabinolu ($\Delta 9$ -THC) o 12,8% [1]. Dodatkowo SA w stężeniu 0,01-0,05M spowodował wzrost ogólny kwasu kannabidiolowego (CBDA) i kwasu tetrahydrokannabinolowego (THCA) oraz zwiększyła się zawartość fenoli i flawonoidów, które wspierają ochronę rośliny przed stresem oksydacyjnym [1,2]. W stężeniach wyższych niż 1mM SA działał hamująco, ograniczając wzrost lub powodując stres oksydacyjny. Ważny był także czas podania tego elicytora, jego największą skuteczność wykazano podczas fazy intensywnego wzrostu pąków kwiatowych, kiedy roślina syntetyzuje związki kannabidoidowe [1].



Ryc.1 Stężenie kwasu kannabidiolowego (CBDA) (szary) i kwasu tetrahydrokannabinolowego (THCA) (czarny) w kwiatostanach (A) i liściach (B) roślin opryskanych kwasem salicylowym (SA), jasmonianem metylu (MeJA) i kwasem γ -aminomasłowym (GABA) w stężeniach 0,1, 1 i 10 mM [2]

Wnioski: Kwas salicylowy działa jako silny elicytor, który poprzez indukcję odpowiedzi stresowej i regulację ekspresji genów zwiększa biosyntezę metabolitów wtórnych, w tym kannabinoidów. Umiarkowane dawki SA mogą skutecznie podnosić zawartość CBDA i THCA w roślinach *Cannabis sativa*, szczególnie, gdy jego działanie jest łączone z innymi elicytorami, takimi jak jasmonian metylu. Natomiast zwiększenie poziomu CBGA, który jest substratem dla enzymów syntazy kannabinoidów, stymuluje biosyntezę kannabinoidów końcowych.

Tabela I. Zastosowania terapeutyczne kannabinoidów z *Cannabis sativa* [3]

| Schorzenie/objaw | Główne kannabinoidy | Działanie terapeutyczne |
|--------------------------------------|--|---|
| Padaczka lekooporna | Kannabidiol (CBD) | Działanie przeciwdrgawkowe, stabilizacja aktywności neuronalnej |
| Bezsennosc | $\Delta 9$ -Tetrahydrokannabinol ($\Delta 9$ -THC), kanabinol (CBN) | Poprawa głębokości snu, skrócenie czasu zasypiania |
| Demencja, Alzheimer | Kannabidiol $\Delta 9$ -Tetrahydrokannabinol | Działanie neuroprotektcyjne |
| Ból przewlekły w fibromialgii | Kannabidiol $\Delta 9$ -Tetrahydrokannabinol | Obniżenie bólu i sztywności ciała |
| Lęk i zaburzenia nastroju | Kannabidiol | Działanie redukujące objawy lęku, niepokoju i napięcia psychicznego |
| Toczeń | Kannabidiol | Działanie przeciwzapalne |
| Stwardnienie rozsiane (spastyczność) | Kannabidiol $\Delta 9$ -Tetrahydrokannabinol | Zmniejszenie napięcia mięśniowego, poprawa jakości snu i mobilności ciała |

Jasmonian metylu to fitohormon związany z sygnałami stresu, spowodowanymi np. uszkodzeniami lub atakiem owadów i aktywuje on szlak jasmonianowy, co może prowadzić do zwiększenia ekspresji genów i aktywności enzymów biorących udział w biosyntezie metabolitów wtórnych (Ryc.1) [2].

Kwas kannabigerolowy (CBGA) jest prekursorem praktycznie wszystkich kannabinoidów. Od jego powstania i dostępności zależy, czy roślina może wytworzyć główne kwasowe kannabinoidy (THCA, CBDA, kwas kannabichromenowy (CBCA)) i w konsekwencji ich dekarboksylaty (THC, CBD, kannabichromen (CBC)). Gdy poziom CBGA wzrasta (Tabela II), zwiększa się również zawartość prekursorów dla enzymów takich jak syntaza THCA, CBDA, CBCA co umożliwia większą produkcję właściwych kannabinoidów końcowych. Samo zwiększenie stężenia prekursora nie gwarantuje proporcjonalnego wzrostu wtórnych metabolitów [4].

Tabela II. Wpływ aplikacji jasmonianu metylu i kwasu salicylowego na zawartość kwasu kannabidiolowego w różnych organach roślin [2]

| Elicytor | Rodzaj organu rośliny | Stężenie elicytora | Zawartość procentowa kwasu kannabidiolowego względem roślin kontrolnych |
|------------------|-----------------------|--------------------|---|
| Jasmonian metylu | Kwiatostan | 0,1mM | +15,6% |
| Kwas salicylowy | Liście | | +57,3% |
| Jasmonian metylu | | | +43,1% |

[1] Mirzamohammad E.; Alirezalu A.; Alirezalu K.; Norozi A.; Ansari A. Improvement of the antioxidant activity, phytochemicals, and cannabinoid compounds of *Cannabis sativa* by salicylic acid elicitor. Food Sci Nutr. 2021,9(12), 6873-6881, doi: 10.1002/fsn3.2643

[2] Garrido J.; Rico S.; Corral C.; Sánchez C.; Vidal N.; Martínez-Quesada J.J.; Ferreira-Vera C. Exogenous application of stress-related signaling molecules affect growth and cannabinoid accumulation in medical cannabis (*Cannabis sativa* L.). Front. Plant Sci. 2022, 13:1082554, doi: 10.3389/fpls.2022.1082554

[3] Leinen Z.J.; Mohan R.; Premadasa L.S.; Acharya A.; Mohan M.; Byraredy S.N. Therapeutic Potential of Cannabis: A Comprehensive Review of Current and Future Applications. Biomedicine, 2023; 11(10):2630, doi:10.3390/biomedicine11102630

[4] Kearsley L.J.; Yan C.; Prandi N.; Toogood H.; Takano E.; Scrutton N.S. Biosynthesis of cannabigerol and cannabigerolic acid: the gateways to further cannabinoid production. Synth Biol (Oxf), 2023;8(1), doi:10.1093/synbio/ysad010