

TEORETYCZNE BADANIA WŁAŚCIWOŚCI KONFORMACYJNYCH KANNABIDIOLU I TETRAHYDROKANNABINOLU

THEORETICAL STUDIES ON THE CONFORMATIONAL PROPERTIES OF CANNABIDIOL AND TETRAHYDROCANNABINOL

Kacper Rzepiela¹, Aneta Buczek¹ *

¹ *Uniwersytet Opolski, Wydział Chemii, ul. Oleska 48, 45-052 Opole*
**e-mail: abuczek@uni.opole.pl*

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Konformery kannabidiolu (CBD)

2. Konformery tetrahydrokannabinolu (THC)

3. Aktywność antyrodnikowa kannabidiolu i tetrahydrokannabinolu

Uwagi końcowe

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane



Mgr inż. Kacper Rzepiela jest absolwentem studiów magisterskich na Wydziale Chemii Uniwersytetu Opolskiego. W 2021 wykonał pracę magisterską pt. „Modelowanie oddziaływań uracylu i fluorouracylu z cząsteczkami wody”. Obecnie jest doktorantem Szkoły Doktorskiej UO. Zajmuje się badaniem właściwości leków i ich niekwalencyjnych oddziaływań z wybranymi nośnikami molekularnymi i nanostrukturalnymi.



<https://orcid.org/0000-0002-9420-5191>



Dr Aneta Buczek studiowała chemię w latach 2003 – 2008 na Uniwersytecie Opolskim, (Wydział Chemii, kierunek Chemia Podstawowa i Stosowana). W 2008 uzyskała tytuł zawodowy magistra chemii (opiekun pracy: prof. dr hab. Małgorzata Broda). W latach 2008 – 2014 - doktorantka Środowiskowego Studium Doktoranckiego Uniwersytetu Opolskiego i Politechniki Wrocławskiej. W 2014 uzyskała stopień doktora nauk chemicznych. Obecnie zatrudniona na stanowisku adiunkta w Instytucie Chemii UO w Zakładzie Chemii Fizycznej i Modelowania Molekularnego. Działalność naukowa: badania właściwości konformacyjnych pochodnych α,β -dehydrofenyloalaniny, badanie siły wiązań tworzonych przez modelowe dehydropeptydy, wyznaczanie częstości anharmonicznych małych molekuł.



<https://orcid.org/0000-0003-1311-6945>

ABSTRACT

The conformational properties of cannabidiol and tetrahydrocannabinol are discussed on the basis of DFT calculations. For all conformers of CBD and THC the intramolecular interactions stabilizing each structure in the gas phase were determined. Additionally, dissociation energies of O-H bonds and selected C-H bonds were calculated to characterize the anti-radical properties of studied compounds. The lowest energy conformation of CBD, stabilized by O-H \cdots π and C-H \cdots O hydrogen bonds, is consistent with the crystallographic structure of this compound and have comparable hydrogen bond parameters.

Keywords: cannabidiol, tetrahydrocannabinol, conformational properties, hydrogen bonding, dissociation energy

Słowa kluczowe: kannabidiol, tetrahydrokannabinol, właściwości konformacyjne, wiązanie wodorowe, energia dysocjacji

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

- AIDS – zespół nabytego niedoboru odporności, (ang. Acquired Immune Deficiency Syndrome)
- PTSD – zespół stresu pourazowego, (ang. Posttraumatic Stress Disorder)
- FDA – Agencja Żywności i Leków, (ang. Food and Drug Administration)
- DFT – teoria funkcjonału gęstości (ang. Density Functional Theory)
- WCSS – Wrocławskie Centrum Sieciowo-Superkomputerowe
- BDE – energia dysocjacji wiązania, (ang. Bond Dissociation Energy)
- HAT - przeniesienie atomu wodoru (ang. Hydrogen Atom Transfer)

WPROWADZENIE

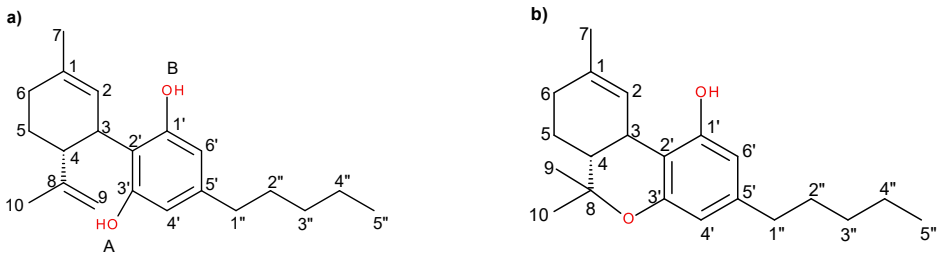
Konopie pochodzą z Azji Środkowej i mają długą historię uprawy, sięgającą starożytności. Należą do rodziny roślin konopiowatych (*Cannabaceae*). Współcześnie wyróżnia się trzy główne podgatunki: konopie siewne (*Cannabis sativa L.*), konopie indyjskie (*Cannabis indica Lam*), powszechnie znane jako marihuana, oraz konopie dzikie (*Cannabis ruderalis Janisch*) [1, 2].

Poszczególne odmiany różnią się zawartością kannabinoidów [3]. Są to bioaktywne związki chemiczne obecne w konopiach, które oddziałują z układem endokannabinoidowym w organizmie człowieka [4]. W roślinach *Cannabis sativa L.* zidentyfikowano co najmniej 554 związki, w tym 113 fitokannabinoidów i 120 terpenów [5-7]. Kannabinoidy są biosyntetyzowane jako prenylowane kwasowe związki aromatyczne, a w świeżych roślinach praktycznie nie występują w postaci naturalnej. Najbardziej znaczącymi pod względem farmakologicznym są kannabidiol (CBD) i tetrahydrokannabinol (THC) (Rysunek 1), które powstają odpowiednio z kwasu kannabidiolowego (CBDA) i Δ^9 - kwasu tetrahydrokannabinolowego (THCA) w wyniku dekarboksylacji pod wpływem światła i temperatury [8, 9]. Zawartość tych związków może się różnić, w zależności od odmiany konopi i warunków pogodowych [10]. CBD zostało odkryte przez amerykańskiego chemika Rogera Adamsa w 1940 roku, który izolował ten związek z kwiatów dzikich konopi siewnych z Minnesoty [11]. Struktura CBD została określona przez Raphaela Mechoulama dwie dekady później [12]. THC zostało odkryte w 1964 roku przez Gaoniego i Mechoulama [13].

Oba związki posiadają dokładnie ten sam wzór sumaryczny $C_{21}H_{30}O_2$. Strukturalnie istnieje jednak jedna istotna różnica. Tam, gdzie THC ma heterocykliczny fragment, w CBD występuje grupa hydroksylowa. To właśnie ta pozornie niewielka różnica w strukturze cząsteczkowej nadaje tym dwóm związkom zupełnie różne właściwości farmakologiczne. CBD jest znane ze swoich właściwości przeciwbólowych, przeciwzapalnych, przeciwdrgawkowych, przeciwłękowych i przeciwwymiotnych. Znaczenie to znalazło szerokie zastosowanie w leczeniu różnych schorzeń, takich jak epilepsja, stany zapalne, zaburzenia lękowe, choroby neurodegeneracyjne czy nawet nowotwory [14]. Ponadto, CBD jest uznawane za substancję niepsychoaktywną, oznacza to, że nie wywołuje efektów odurzenia, co czyni ją bardziej atrakcyjną dla pacjentów [15]. W konopiach siewnych, które są uprawiane ze względu na swoje włókna i nasiona, CBD jest obecne w większych ilościach niż THC i często dominuje. Z drugiej strony, THC jest bardziej znany ze swoich psychoaktywnych właściwości i przeważnie występuje w odmianach indyjskich. THC posiada podobne właściwości przeciwbólowe i przeciwzapalne jak CBD, jednak jego główną cechą są właściwości psychoaktywne. Pomimo tego, THC ma również zastosowanie w medycynie, szczególnie w leczeniu bólu, nudności, utraty apetytu u pacjentów z AIDS czy po chemioterapii. Dodatkowo, badania sugerują, że THC może mieć potencjał w leczeniu niektórych zaburzeń psychicznych, takich jak PTSD czy depresja [16]. W przemyśle farmaceutycznym oba związki zyskały

na znaczeniu, prowadząc do powstania leków opartych na kannabinoidach, które są wykorzystywane w leczeniu różnych schorzeń. FDA zatwierdziła już kilka leków zawierających CBD, takich jak Epidiolex, stosowany w leczeniu niektórych rodzajów padaczki u dzieci. Ponadto, THC został skomercjalizowany w postaci leków, takich jak Marinol i Cesamet [17], stosowanych w leczeniu nudności i wymiotów związanych z chemioterapią oraz w leczeniu anoreksji związanej z AIDS [18]. CBD oraz THC mogą być stosowane również jako antyoksydanty [19-21], przerywają one reakcje łańcuchowe, wychwytyjąc wolne rodniki lub przekształcając je w mniej aktywne formy. Powstające w tych reakcjach wolne rodniki charakteryzują się wieloma strukturami rezonansowymi, w których gęstość elektronowa pochodząca od niesparowanych elektronów zlokalizowana jest głównie w rejonie fragmentu fenolowego, co sprawiło, że niektórzy badacze uważają, iż to grupy hydroksylowe pierścienia aromatycznego są głównie odpowiedzialne za aktywność antyoksydacyjną tych związków [22], chociaż są prace, które pokazują, że łatwiej można oderwać atom wodoru przy atomie węgla C3 [23].

Warto również podkreślić, że CBD i THC znajdują zastosowanie w przemyśle kosmetycznym [24], spożywczym oraz w produkcji suplementów diety [25], co dodatkowo zwiększa ich znaczenie w przemyśle farmaceutycznym. Zwiększone wykorzystanie konopi w celach medycznych i rosnące zainteresowanie leczniczymi efektami niepsychotropowych kannabinoidów i terpenów wymaga produkcji tych roślin o różnej zawartości substancji aktywnych na dużą skalę. W ostatnim czasie uzyskano rośliny wzbogacone w CBD, zawierające ponad 15% CBD i mniej niż 1% THC [26].



Rysunek 1. Struktura a) kannabidiolu (CBD) i b) tetrahydrokannabinolu (THC)

Figure 1. Structure of a) cannabidiol (CBD) and b) tetrahydrocannabinol (THC)

CBD i THC są izomerami strukturalnymi i aby przekształcić CBD w THC, musi zajść proces chemicznej transformacji, w której grupa hydroksylowa znajdująca się na atomie węgla C3' tworzy wiązanie z atomem węgla C8, prowadząc do powstania pierścienia piranowego. Jednakże taki proces izomeryzacji jest bardzo wysokoenergetyczny i zazwyczaj wymaga ekstremalnych warunków ciśnienia i temperatury. Obecność trzech pierścieni w strukturze molekularnej THC znacząco

przyczynia się do zmniejszenia jego swobody konformacyjnej. Ta sztywność strukturalna może wpływać na to, w jaki sposób THC oddziałuje z receptorami biologicznymi, co w konsekwencji prowadzi do jego odmiennych od CBD właściwości farmakologicznych. Kolejną istotną różnicą między tymi dwoma związkami jest obecność dwóch grup hydroksylowych przy pierścieniu aromatycznym w CBD, które są zdolne do tworzenia zarówno wewnątrz – jak i międzycząsteczkowych wiązań wodorowych.

Poznanie właściwości konformacyjnych kannabidiolu (CBD) i tetrahydrokannabinolu (THC) jest kluczowe dla lepszego zrozumienia ich aktywności biologicznej. Różnice w preferencjach konformacyjnych mogą mieć istotny wpływ na interakcje z receptorami kannabinoidowymi w organizmie [27]. Konformacje związków kannabinoidowych mogą wpływać na sposób, w jaki łączą się z receptorami, co z kolei determinuje aktywację lub blokowanie sygnałów neurologicznych [28]. Główne receptory związane z działaniem kannabinoidów to CB1 i CB2. Receptory CB1 znajdują się w mózgu i układzie nerwowym. Są one odpowiedzialne za regulację funkcji neurologicznych, takich jak nastrój, pamięć, koordynacja ruchowa oraz odczuwanie bólu. Receptory CB2 są zazwyczaj zlokalizowane w układzie immunologicznym, w tym w komórkach odpornościowych. Ich funkcje obejmują regulację procesów zapalnych i immunologicznych. THC ma wysokie powinowactwo do receptorów CB1 i może się z nimi wiązać na przykład w mózgu. Prowadzi do zmian w przewodnictwie neuronalnym i objawia się jako uczucie euforii, zmienione stany świadomości, a także wpływa na postrzeganie czasu, pamięć i koordynację ruchową. Jednakże, nadmierna aktywacja receptorów CB1 przez THC może prowadzić do niepożądanych skutków ubocznych, takich jak niepokój, paranoja czy zaburzenia pamięci. CBD działa w sposób znacznie mniej bezpośredni na receptory kannabinoidowe. Choć może oddziaływać z oboma typami receptorów, jego działanie nie polega na bezpośrednim wiązaniu się z nimi, dlatego CBD jest bardziej znany z potencjalnych korzyści zdrowotnych. Stosowane jest w łagodzeniu stanów zapalnych, redukcji bólu, a nawet wsparcie w leczeniu niektórych zaburzeń psychicznych, takich jak depresja czy lęk, bez wywoływania efektów psychoaktywnych charakterystycznych dla THC [29, 30].

Konformacje CBD i THC mogą również wpływać na ich zdolność do przechodzenia przez bariery biologiczne, takie jak błony komórkowe czy barierę krew-mózg [27]. Różne konformacje mogą mieć różne właściwości fizykochemiczne, takie jak hydrofobowość, rozpuszczalność czy lipofilność, co może determinować ich wchłanianie, dystrybucję i biodostępność w organizmie. Przykładowo, niektóre konformacje mogą łatwiej przenikać przez błony komórkowe, umożliwiając szybsze działanie i wywieranie skutków biologicznych [27]. Zrozumienie właściwości konformacyjnych CBD i THC może mieć istotne znaczenie dla projektowania leków opartych na kannabinoidach [31]. Posiadanie wiedzy na temat preferowanych konformacji oraz ich wpływu na aktywność biologiczną pozwala na zoptymalizowanie struktury cząsteczek w celu uzyskania pożądaných efektów terapeutycznych. Na przykład, poprzez modyfikację struktury molekularnej w taki sposób, aby sprzyjała ona interakcji z określonymi receptorami lub hamowała

niepożądane działania uboczne, można uzyskać bardziej skuteczne i bezpieczne leki oparte na kannabinooidach.

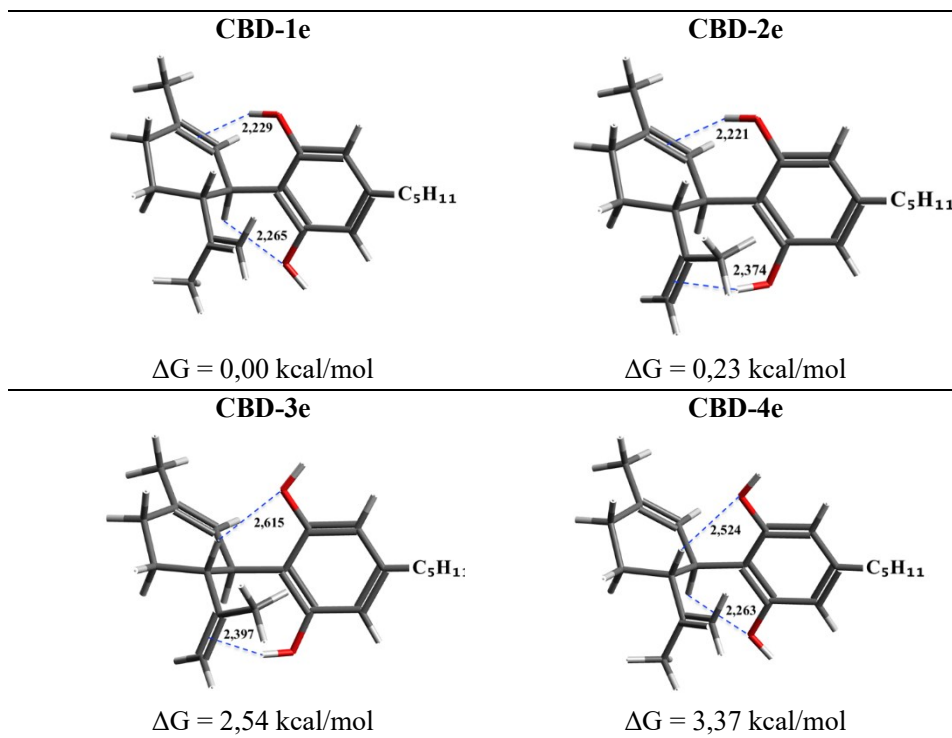
Do tej pory właściwości konformacyjne kannabidiolu i tetrahydrokannabinolu zostały tylko częściowo wyjaśnione poprzez metody modelowania molekularnego [32]. Przeprowadzono między innymi obliczenia kwantowo chemiczne na poziomie B3LYP/6-31G(d,p), które pokazały, że bariera energetyczna pomiędzy THC oraz CBD przekracza 20 kcal/mol, co może wyjaśniać niewielką zdolność CBD do wywoływania efektu psychostymulującego z powodu przeszkód sterycznych pomiędzy grupami hydroksylowymi, resztą izopropylenową oraz fragmentem alkilowym [31]. Dokładnie zbadano, za pomocą teorii funkcyjna gęstości (DFT) na poziomie B3LYP-D3BJ/6-31+G(d,p), swobodę konformacyjną THC i CBD wynikającą z obecności alkilowego (pentyłowego) łańcucha bocznego. Pozostawiono jednak bez głębszej analizy preferencje konformacyjne układu: pierścień aromatyczny i limonen, nie zostały również omówione oddziaływania stabilizujące ten fragment cząsteczki [27].

Celem prezentowanej pracy jest przybliżenie czytelnikowi właściwości konformacyjnych kannabidiolu i tetrahydrokannabinolu, ze szczególnym uwzględnieniem charakterystyki wiązań wodorowych stabilizujących te struktury. Wpływ oddziaływań $O-H \cdots \pi$ i $C-H \cdots O$ na wzajemne ułożenie fragmentów limonenu i pierścienia aromatycznego w strukturze CBD i THC zostanie szczegółowo przeanalizowany. Zostaną oszacowane właściwości przeciwdrobnikowe poszczególnych konformerów CBD i THC na podstawie obliczonej energii dysocjacji wiązań O-H i wybranych grup C-H.

1. KONFORMERY KANNABIDIOLU (CBD)

Wyniki wszystkich obliczeń otrzymane przy zastosowaniu teorii funkcyjna gęstości (DFT) [33], które będą prezentowane w ramach tej pracy, zostały uzyskane przy pomocy programu Gaussian 16 [34]. Do obliczeń został użyty funkcjonal M06-2X [35] i baza funkcyjna 6-311++G(d,p). Funkcjonal M06-2X jest często stosowany do badań strukturalnych i energetycznych molekuł organicznych, w tym do analizy stabilności różnych konformacji oraz siły wiązań wodorowych. Każda zoptymalizowana struktura została zweryfikowana jako minimum energetyczne poprzez obliczenie częstości drgań harmonicznych i sprawdzenie, że brak jest częstości urojonych. Stabilność konformerów została określona na podstawie różnicy entalpii swobodnej (energii swobodnej Gibbsa, ΔG). Konformery CBD mogą być ekwatorialnie lub aksjalnie, w zależności od ułożenia podstawników na atomach C3 i C4 pierścienia limonenu. Obecność dwóch grup hydroksylowych w pierścieniu aromatycznym CBD, zdolnych do tworzenia wiązań wodorowych, sprawia, że możemy wyodrębnić kolejne cztery różne konformery. Na **rysunku 2** zostały przedstawione cztery ekwatorialne, a na **rysunku 3** cztery aksjalne konformery CBD z różnym ułożeniem grup hydroksylowych. W przypadku struktury THC, w której

mamy tylko jedną grupę hydroksylową, możemy wyróżnić dwa konformery różniące się położeniem tej grupy albo w kierunku wiązania podwójnego w pierścieniu limonenu albo aromatycznym (**Rysunek 4**).



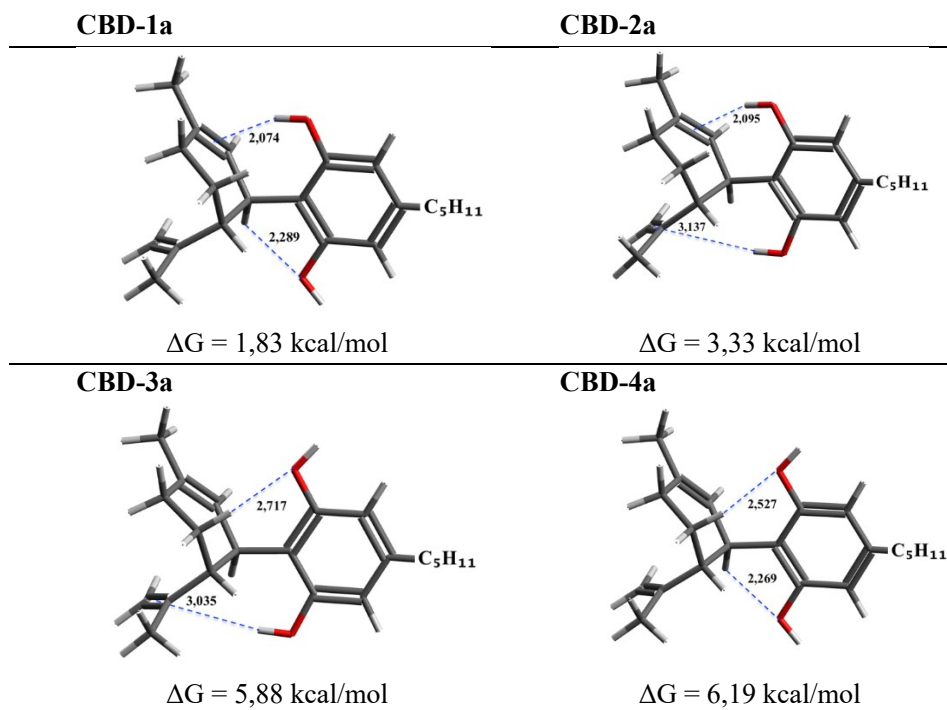
Rysunek 2. Konformery CBD z ekwatorialnym ułożeniem podstawników w pierścieniu limonenu, otrzymane metodą M062X/6-311++G(d,p). Wiązania wodorowe zaznaczone są niebieskimi liniami przerywanymi, a odległości podane są w Å

Figure 2. CBD conformers with equatorial arrangement of substituents in the limonene ring, obtained using the M062X/6-311++G(d,p) method. Hydrogen bonds are marked with blue dashed lines and distances are given in Å

Wszystkie pokazane na **rysunku 2** konformery CBD mają w pełni rozciągnięty łańcuch pentyłowy, co zgodnie z pracą Baranovica [27] jest najniższą energetyczną konformacją tego fragmentu. Zatem różnice w energii pokazanych struktur wynikają jedynie z różnych ułożeń dwóch grup OH.

W najniższej energetycznej konformerze **CBD-1e** (**Rysunek 2**), grupa hydroksylowa (A) skierowana jest do pierścienia aromatycznego i zwiększa stabilność tej struktury, działając jako protono-akceptor w wiązaniu wodorowym C3-H \cdots O, gdzie odległość H \cdots O wynosi 2,27 Å. Natomiast grupa hydroksylowa (B) skierowana jest do pierścienia limonenu, tworząc wiązanie wodorowe z elektronami π podwójnego wiązania C1=C2. Odległość między atomem wodoru grupy OH a

środkiem podwójnego wiązania wynosi 2,23 Å. Takie ułożenie grup OH jest zgodne ze strukturą CBD w kryształach [36]. Kolejny konformer, różniący się ułożeniem grup hydroksylowych, **CBD-2e**, w którym obie skierowane są do pierścienia limonenu, stabilizowany jest przez dwa wiązania O-H \cdots π o długościach odpowiednio 2,21 i 2,37 Å. Pierwsze wiązanie, analogicznie jak dla konformera **CBD-1e**, występuje między elektronami π podwójnego wiązania C1=C2 pierścienia limonenowego, podczas gdy drugie wiązanie jest pomiędzy elektronami π podwójnego wiązania C8=C9 grupy izopropenylowej. Warto zauważyć, że różnica w entalpii swobodnej między tymi dwoma omawianymi konformerami wynosi tylko 0,23 kcal/mol, co oznacza, że energie oddziaływań C3-H \cdots O i O-H \cdots π (C8=C9) są porównywalne. Kolejny konformer, **CBD-3e**, o ΔG równej 2,54 kcal/mol, ma grupę hydroksylową (A) skierowaną, podobnie jak w konformerze **CBD-2e**, do wiązania podwójnego C8=C9 tworząc wiązanie wodorowe O-H \cdots π o długości 2,40 Å. Parametry geometryczne tego wiązania są bardzo podobne do analogicznego wiązania O-H \cdots π występującego w konformerze **CBD-2e**. Struktura **CBD-3e** stabilizowana jest jeszcze dodatkowo przez wiązanie wodorowe pomiędzy grupą C4-H oraz wolną parą elektronową na atomie tlenu grupy hydroksylowej (B). Długość tego wiązania jest równa 2,62 Å, czyli jest znacznie większa niż w przypadku oddziaływania C3-H \cdots O w konformerze **CBD-1e**, co tłumaczy wysoką entalpię swobodną **CBD-3e**. Konformer, w którym obie grupy hydroksylowe skierowane są do pierścienia aromatycznego. **CBD-4e**, ma najwyższą ΔG równą 3,37 kcal/mol. Stabilizowany jest przez dwa wiązania wodorowe C-H \cdots O. Pierwsze oddziaływanie C3-H \cdots O jest analogiczne jak w konformerze **CBD-1e**, natomiast drugie C4-H \cdots O jest podobne, choć nieco krótsze niż oddziaływanie występujące w konformerze **CBD-3e**.



Rysunek 3. Konformery CBD z aksjalnym ułożeniem podstawników w pierścieniu limonenu, otrzymane metodą M062X/6-311++G(d,p). Wiązania wodorowe zaznaczone są niebieskimi liniami przerywanymi, a odległości podane są w Å

Figure 3. CBD conformers with axial arrangement of substituents in the limonene ring, obtained using the M062X/6-311++G(d,p) method. Hydrogen bonds are marked with blue dashed lines and distances are given in Å

Na **rysunku 3** zostały przedstawione najniżej energetyczne konformery CBD z podstawnikami przy pierścieniu limonenu w pozycji aksjalnej. Konformery te różnią się między sobą wzajemnym ułożeniem grup hydroksylowych przy pierścieniu aromatycznym.

Podobnie jak dla wcześniej omawianej grupy konformerów ekwatorialnych, najniżej energetycznym konformerem jest ten, w którym dolna grupa hydroksylowa (A) skierowana jest do pierścienia aromatycznego, a górna (B) do pierścienia limonenu - **CBD-1a**. Konformer ten, podobnie jak **CBD-1e**, stabilizowany jest przez dwa wiązania wodorowe: jedno C3-H \cdots O o długości 2,29 Å oraz wiązanie O-H \cdots π pomiędzy grupą hydroksylową (B) a wiązaniem podwójnym pierścienia limonenu. Wiązanie to, ze względu na aksjalne ułożenie podstawników, jest znacznie krótsze niż w konformerze **CBD-1e** (odpowiednio 2,07 Å vs 2,23 Å). Pomimo tego konformer **CBD-1a**, ze względu na aksjalne ułożenie podstawników, ma energię swobodną wyższą o prawie 2 kcal/mol od analogicznego konformeru ekwatorial-

nego, co jest spowodowane naprężeniami sterycznymi występujących w formie aksjalnej. Jest to zgodne z obliczoną metodą M06-2X różnicą energii konformerów ekwatorialnych i aksjalnych limonenu [37]. Energia swobodna kolejnego konformeru **CBD-2a** jest porównywalna z najwyższą energetycznym ekwatorialnym konformerem **CBD-4e** ($\Delta G = 3,33$ kcal/mol). W przypadku tego konformeru, podobnie jak dla **CBD-1a**, wiązanie wodorowe O-H $\cdots\pi$ tworzone przez grupę hydroksylową (B) jest krótsze niż dla konformerów ekwatorialnych **CBD-1e** i **CBD-2e**. Jednak drugie wiązanie wodorowe O-H $\cdots\pi$ stabilizujące strukturę **CBD-2a** jest znacznie dłuższe ($\Delta = 0,76$ Å) niż w **CBD-2e**.

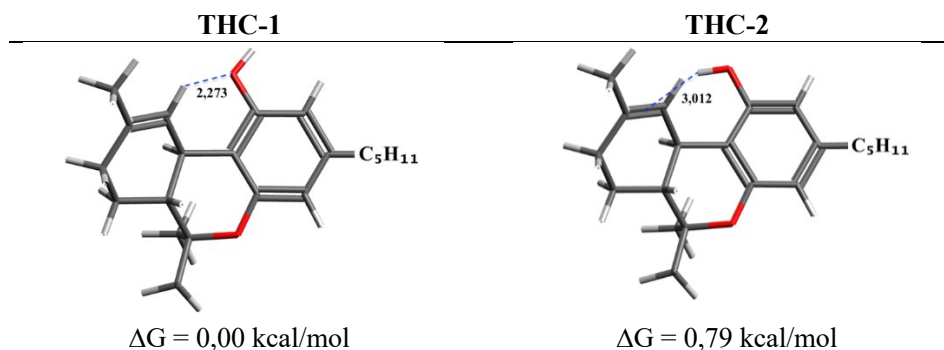
Energia swobodna dwóch kolejnych konformerów jest znacznie wyższa w porównaniu z analogicznymi strukturami ekwatorialnymi. Dla konformeru **CBD-3a** różnica energii wynosi 5,88, a dla **CBD-4a** 6,19 kcal/mol. W przypadku konformeru **CBD-3a** długości obu wiązań wodorowych w porównaniu z konformacją ekwatorialną wydłużyły się, co oprócz niekorzystnych oddziaływań sterycznych wynikających z aksjalnego ułożenia podstawników pierścienia limonenu, mogło mieć wpływ na wzrost energii. Natomiast dla konformeru **CBD-4a** typ i długości wiązań wodorowych są niemal identyczne jak występujące w strukturze ekwatorialnej **CBD-4e**, a różnica energii między nimi wynosi prawie 3 kcal/mol.

2. KONFORMERY TETRAHYDROKANNABINOLU (THC)

Struktura THC jest sztywna ze względu na obecność trzech skondensowanych pierścieni – fenolowego, piranowego (tetrahydropiranowego) i cykloheksenowego. Konformery THC są bardziej stabilne energetycznie niż konformery CBD o około 10 kcal/mol.

Na **rysunku 4** zostały przedstawione dwie najniższe energetyczne struktury THC (z energią swobodną obliczoną względem THC-1), różniące się ułożeniem grupy hydroksylowej przy pierścieniu aromatycznym. Konformer **THC-1**, w którym grupa hydroksylowa skierowana jest w stronę pierścienia aromatycznego, stabilizowany jest przez wiązanie wodorowe C2-H \cdots O o długości 2,27 Å. Takie ułożenie grupy hydroksylowej występuje w strukturze krystalicznej pochodnej THC [38]. W konformerach CBD omawianych do tej pory, w których grupa hydroksylowa była podobnie skierowana, nie obserwowaliśmy tego rodzaju wiązania wodorowego, ponieważ atom wodoru grupy C2-H (**Rysunek 2**) nie był zwrócony w kierunku wolnej pary elektronowej na atomie tlenu grupy hydroksylowej. W konformacji THC zamknięcie pierścienia heterocyklicznego pomiędzy węglem C8 a atomem tlenu grupy hydroksylowej (A) spowodowało, że pierścień aromatyczny oraz limonenu są prawie w tej samej płaszczyźnie i dlatego korzystne dla tej konformacji jest utworzenie wyżej wspomnianego wiązania C2-H \cdots O. W konformerach CBD pierścienie te leżały względem siebie prostopadle.

Konformer **THC-2**, w którym grupa hydroksylowa skierowana jest do wiązania podwójnego pierścienia limonenu, ma energię swobodną Gibbsa wyższą zaledwie o 0,79 kcal/mol. Struktura ta stabilizowana jest przez wiązanie wodorowe O-H \cdots π o długości 3,01 Å. Porównując charakter tego wiązania z analogicznym wiązaniem w konformerach **CBD-1a** i **CBD-2a** oraz **CBD-1e** i **CBD-2e** widzimy, że długość tego wiązania jest zdecydowanie większa, co również jest spowodowane wzajemnym ułożeniem pierścienia aromatycznego i pierścienia limonenu.



Rysunek 4. Konformery THC otrzymane metodą M062X/6-311++G(d,p). Wiązania wodorowe zaznaczone są niebieskimi liniami przerywanymi, a odległości podane są w Å

Figure 4. THC conformers obtained using the M062X/6-311++G(d,p) method. Hydrogen bonds are marked with blue dashed lines and distances are given in Å

3. AKTYWNOŚĆ ANTYRODNIKOWA KANNABIDIOLU I TETRAHYDROKANNABINOLU

Jak zostało napisane we wstępie tej pracy, poznanie właściwości konformacyjnych kanabinoidów jest kluczowe dla lepszego zrozumienia ich aktywności biologicznej i różnych właściwości fizykochemicznych. Konformacja tych związków może mieć również wpływ na ich właściwości przeciwutleniające.

Rozpoznano do tej pory i opisano w literaturze kilka mechanizmów reakcji przeciwutleniaczy z wolnymi rodnikami. Jednym z nich jest reakcja przeniesienia atomu wodoru (HAT), podczas której w jednym kroku następuje przeniesienie atomu wodoru od antyutleniacza do rodnika. Aby scharakteryzować zdolność cząsteczki do udziału w takiej reakcji, należy oszacować wartość energii potrzebnej do oderwania atomu wodoru od utleniacza – czyli wielkość BDE. Im mniejsza wartość BDE, tym większa zdolność antyutleniacza do reakcji zgodnie z mechanizmem HAT.

Aby oszacować zdolność przeciwutleniającą konformerów CBD i porównać z wartością obliczoną dla THC, kolejnym krokiem badań było obliczenie energii dysocjacji wiązań OH i C3-H dla wszystkich badanych struktur. W tabeli 1 zostały zebrane energie dysocjacji (BDE) wiązań OH i C3-H (CBD 1'-OH (B), 3'-OH (A), C3-H) obliczone jako różnica entalpii swobodnej polifenolu i powstających w wyniku homolitycznego rozerwania wiązania OH lub CH – rodnika i atomu wodoru dla analizowanych konformerów CBD oraz THC. Przy obliczaniu wartości BDE nie wzięto pod uwagę błędu suberpozycji bazy (BSSE) przyjmując, że jego wartość jest niewielka i porównywalna dla wszystkich konformerów.

Dla wiązania C-H: $\text{ArH} \rightarrow \text{Ar}\cdot + \text{H}\cdot$

Dla wiązania O-H: $\text{ArOH} \rightarrow \text{ArO}\cdot + \text{H}\cdot$

$\text{BDE} = G_{\text{rodnika}} + G_{\text{wodoru}} - G_{\text{polifenol}}$

Tabela 1. Energia swobodna Gibbsa (kcal/mol) dysocjacji wiązań CH i OH w konformerach CBD i THC w próżni obliczona metodą M062X/6-311++G(d,p)

Table 1. Gibbs free energy (kcal/mol) of dissociation of CH and OH bonds in CBD and THC conformers in vacuum, calculated using the M062X/6-311++G(d,p) method

	C3-H	C3'-OH (A)	C1'-OH (B)
CBD-1e	74,77	76,30	81,97
CBD-2e	71,56	77,50	79,88
CBD-3e	69,74	79,57	77,56
CBD-4e	70,62	77,48	78,70
CBD-1a	71,32	76,92	83,15
CBD-2a	66,91	75,84	80,82
CBD-3a	66,06	78,18	78,18
CBD-4a	69,99	78,33	78,72
THC-1	64,64		76,73
THC-2	64,67		76,14

Na podstawie otrzymanych wyników widać wyraźnie, że konformacja badanych kannabinoidów ma ogromny wpływ na ich aktywność antyrodnikową. Przedstawione w tabeli wyniki wskazują, że we wszystkich przypadkach najniższą wartość BDE uzyskano dla wiązania C3-H i mieści się ona w zakresie 64 – 74 kcal/mol. Rodnik utworzony po oderwaniu atomu wodoru z tej grupy jest stabilizowany przez koniugację π -elektronową pomiędzy pierścieniem aromatycznym fragmentu rezorcynowego a podwójnym wiązaniem C1=C2 w ugrupowaniu limonenowym. Wartości BDE dla grup –OH zależą od tego, czy dana grupa tworzy wiązanie wodorowe w związku obojętnym. Jeżeli tak, to oderwanie

atomu wodoru z tej grupy wymaga większej energii. Wśród analizowanych konformerów CBD, w których grupa -OH(A) była zaangażowana w tworzenie wiązania wodorowego $\text{C-H}\cdots\text{O}$ lub $\text{O-H}\cdots\pi$, najniższą wartość energii dysocjacji wykazuje konformer **CBD-2a**, w którym wiązanie wodorowe $\text{O-H}\cdots\pi$ jest najdłuższe 3,14 Å, czyli oderwanie atomu wodoru z tej grupy wymaga najmniej energii. W przypadku grupy -OH(B) najmniejszą wartość BDE ma konformer **CBD-3e** (77,56 kcal/mol), natomiast najwyższą wartość konformer **CBD-1a** z najkrótszym wiązaniem wodorowym $\text{O-H}\cdots\pi$. Porównując wartości energii dysocjacji dla CBD i THC widzimy, że w przypadku THC wartość ta zarówno dla atomu wodoru przy węglu C3, jak i przy grupie hydroksylowej, jest porównywalna z wartościami otrzymanymi dla CBD. Możemy zatem wnioskować, że oba związki są dobrymi przeciwutleniaczami, co jest zgodne z danymi eksperymentalnymi podanymi w pracy Dawidowicz i współpracownicy [21], w której opisany został między innymi kannabidiol i tetrahydrokannabinol jako bardzo dobre przeciwutleniacze, porównywalne z właściwościami witaminy E.

UWAGI KOŃCOWE

Zrozumienie i dokładne poznanie właściwości konformacyjnych kannabidiolu i tetrahydrokannabinolu jest bardzo ważne w kontekście ich właściwości biologicznych i mechanizmu działania tych związków w organizmie. W ramach tej pracy wykonane zostały obliczenia metodą M062X/6-311++G(d,p) w celu określenia konformacji kannabidiolu i tetrahydrokannabinolu, opisane zostały wiązania wodorowe stabilizujące poszczególne struktury oraz oszacowano wartości energii potrzebnej do oderwania atomu wodoru z grup -OH i -CH . Po przeanalizowaniu uzyskanych wyników, można wysunąć następujące wnioski:

1. Najniżej energetyczna konformacja CBD ma ekwatorialne ułożenie podstawników przy pierścieniu limonenowym. Obie grupy hydroksylowe przy pierścieniu aromatycznym są zaangażowane w stabilizację struktury CBD. Jedna z nich tworzy wiązanie wodorowe $\text{O-H}\cdots\pi$ z elektronami π wiązania podwójnego pierścienia limonenu, druga natomiast tworzy wiązanie $\text{C-H}\cdots\text{O}$ zamykające pierścień składający się z 5 atomów.
2. Najniżej energetyczna konformacja THC, w której grupa -OH skierowana jest przeciwnie do pierścienia limonenu, stabilizowana jest przez jedno wiązanie wodorowe typu $\text{C-H}\cdots\text{O}$.
3. Struktury związków CBD oraz THC w kryształach są zgodne z konformacją najniżej energetycznych minimów otrzymanych w wyniku obliczeń.
4. Oba związki wykazują właściwości przeciwutleniające, jednak najniższą wartość energii dysocjacji otrzymujemy po oderwaniu atomu wodoru

z grupy –C3H. Tworzący się w ten sposób rodnik stabilizowany jest przez oddziaływanie π -elektronowe.

PODZIĘKOWANIE

Wszystkie obliczenia wykonano przy pomocy sprzętu i oprogramowania WCSS. Autorzy dziękują również za wsparcie finansowe w ramach Uniwersytetu Opolskiego.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] S.A. Bonini, M. Premoli, S. Tambaro, A. Kumar, G. Maccarinelli, M. Memo, A. Mastinu, J. Ethnopharmacol., 2018, **227**, 300.
- [2] S. Pisanti, M. Bifulco, J. Cell. Physiol., 2019, **234**, 8342.
- [3] K.W. Hillig, P.G. Mahlberg, Am J Bot, 2004, **91**, 966.
- [4] S. Pisanti, A.M. Malfitano, E. Ciaglia, A. Lamberti, R. Ranieri, G. Cuomo, M. Abate, G. Faggiana, M.C. Proto, D. Fiore, C. Laezza, M. Bifulco, Pharmacology & Therapeutics, 2017, **175**, 133.
- [5] L. Calvi, D. Pentimalli, S. Panseri, L. Giupponi, F. Gelmini, G. Beretta, D. Vitali, M. Bruno, E. Zilio, R. Pavlovic, A. Giorgi, J. Pharm. Biomed. Anal., 2018, **150**, 208.
- [6] C.P.L. Grof, Br J Clin Pharmacol, 2018, **84**, 2463.
- [7] B. Farinon, R. Molinari, L. Costantini, N. Merendino, Nutrients, 2020, **12**, 1935.
- [8] S.E. Kearney, A.J. Gangano, D.G. Barrus, K.J. Rehrauer, T.-E.R. Reid, P.V. Navaratne, E.K. Tracy, A. Roitberg, I. Ghiviriga, C.W. Cunningham, T. Gamage, A.J. Grenning, Journal of the American Chemical Society, 2023, **145**, 13581.
- [9] M.N. Tahir, F. Shahbazi, S. Rondeau-Gagné, J.F. Trant, Journal of Cannabis Research, 2021, **3**, 7.
- [10] F. Grotenhermen, G. Leson, 2002.
- [11] R. Adams, M. Hunt, J.H. Clark, Journal of the American Chemical Society, 1940, **62**, 196.
- [12] R. Mechoulam, Y. Shvo, Tetrahedron, 1963, **19**, 2073.
- [13] Y. Gaoni, R. Mechoulam, Journal of the American Chemical Society, 1964, **86**, 1646.
- [14] E.S. Seltzer, A.K. Watters, D. MacKenzie, L.M. Granat, D. Zhang, Cancers, 2020, **12**, 3203.
- [15] E. Perucca, J Epilepsy Res, 2017, **7**, 61.
- [16] B. Costa, Chemistry & Biodiversity, 2007, **4**, 1664.
- [17] E. Papaseit, C. Pérez-Mañá, A.P. Pérez-Acevedo, O. Hladun, M.C. Torres-Moreno, R. Muga, M. Torrens, M. Farré, Int J Med Sci, 2018, **15**, 1286.
- [18] A. Stasiłowicz, A. Tomala, I. Podolak, J. Cielecka-Piontek, International Journal of Molecular Sciences, 2021, **22**, 778.
- [19] A.J. Hampson, M. Grimaldi, J. Axelrod, D. Wink, Proc. Natl, 1998, **95**, 8268.
- [20] A.J. Hampson, M. Grimaldi, M. Lolic, D. Wink, R. Rosenthal, J. Axelrod, Ann. N.Y. Acad. Sci., 2000, **899**, 274.
- [21] A.L. Dawidowicz, M. Olszowy-Tomczyk, R. Typek, Fitoterapia, 2021, **152**, 104915.
- [22] S. Atalay, I. Jarocka-Karpowicz, E. Skrzydlewska, Antioxidants, 2020, **9**, 21.
- [23] Q.V. Vo, P.C. Nam, N.M. Thong, N.T. Trung, C.-T.D. Phan, A. Mechler, ACS Omega, 2019, **4**, 8935.
- [24] S.M. Baswan, A.E. Klosner, K. Glynn, A. Rajgopal, K. Malik, S. Yim, N. Stern, Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology, 2020, **13**, 927.
- [25] P. Cerino, C. Buonerba, G. Cannazza, J. D'Auria, E. Ottoni, A. Fulgione, A. Di Stasio, B. Pierri, A. Gallo, Cannabis Cannabinoid Res, 2021, **6**, 19.
- [26] C.J. Grassa, G.D. Weiblen, J.P. Wenger, C. Dabney, S.G. Poplawski, S. Timothy Motley, T.P. Michael, C.J. Schwartz, New Phytol, 2021, **230**, 1665.
- [27] G. Baranović, J. Mol. Struct., 2021, **1244**, 130945.
- [28] H. Chung, A. Fierro, C.D. Pessoa-Mahana, PLOS ONE, 2019, **14**, e0220025.

- [29] R. Mechoulam, L.A. Parker, R. Gallily, *J Clin Pharmacol*, 2002, **42**, 11s.
- [30] J. Manzanares, M. Julian, A. Carrascosa, *Curr Neuropharmacol*, 2006, **4**, 239.
- [31] V.A.N. Bragança, T.G. França, A.C.S.P.S. de Jesus, I.C. Palheta, F.P.A. Melo, P.A.P.F.G. Neves, A.B. Lima, R.S. Borges, *Chemical Data Collections*, 2020, **26**, 100345.
- [32] P.H. Reggio, R.D. Bramblett, H. Yuknavich, H.H. Seltzman, D.N. Fleming, S.R. Fernando, L.A. Stevenson, R.G. Pertwee, *Life Sci.*, 1995, **56**, 2025.
- [33] R.G. Parr, Y. Weitao, *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*. Oxford University Press, 1995.
- [34] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A.V. Marenich, J. Bloino, B.G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H.P. Hratchian, J.V. Ortiz, A.F. Izmaylov, J.L. Sonnenberg, Williams, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V.G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J.A. Montgomery Jr., J.E. Peralta, F. Ogliaro, M.J. Bearpark, J.J. Heyd, E.N. Brothers, K.N. Kudin, V.N. Staroverov, T.A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A.P. Rendell, J.C. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J.M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J.W. Ochterski, R.L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J.B. Foresman, D.J. Fox, Wallingford, CT, 2016.
- [35] Y. Zhao, D.G. Truhlar, *Theor. Chem. Acc.*, 2008, **120**, 215.
- [36] T. Mayr, T. Grassl, N. Korber, V. Christoffel, M. Bodensteiner, *IUCrData*, 2017, **2**, x170276.
- [37] D. Loru, A. Vigorito, A.F.M. Santos, J. Tang, M.E. Sanz, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2019, **21**, 26111.
- [38] E. Rosenqvist, T. Ottersen, *Acta Chem Scand B*, 1975, **29**, 379.

Praca wpłynęła do Redakcji 18 marca 2024 r.

