

# ПРОТИВОТУМОРНА АКТИВНОСТ НА **КАНАБИДИОЛ**

Канабидиолът (CBD) е един от най-добре проучените фитоканабиноиди, изолиран от растението *Cannabis sativa*. За разлика от  $\Delta^9$ -THC (делта-9-тетрахидроканабинол), той не предизвиква психотропни ефекти и е ниско токсичен. В съвременната медицина CBD намира приложение като аналгетик, спазмолитик, антиеметик, антиконвулсант, имуномодулатор и други. Освен това има множество проучвания, свързани с противотуморния ефект на канабидиола и това го превръща в бъдеща алтернатива за лечението на множество социално-значими онкологични заболявания.



маг.-фарм.  
Мария Николова,  
проф. г-р Спиро  
Константинов, дм

<sup>1,2</sup>Лаборатория по експериментална химиотерапия, Катедра по фармакология, фармакотерапия и токсикология, Фармацевтичен факултет, МУ-София

## Обща характеристика на CBD

Американският химик Роджър Агамс е изолирал за първи път фитоканабиноида канабидиол и през 1942 г. печели патент за разработения от него метод. След това откритие започват масови проучвания, свързани с фитохимичния състав на растението и неговите фармакологични свойства<sup>[1]</sup>. Ефектът на фитоканабиноидите се дължи на тяхното взаимодействие с ендоканабиноидната невромодулаторна система при човека. Тя се състои от ендоканабиноиди (напр. анандамид и 2-арахидоноил глицерол), канабиноидни рецептори (CB1 и CB2) и ензими, отговорни за синтеза и деградацията на ендоканабиноидите. За разлика от добре проучения  $\Delta^9$ -THC канабидиолът не проявява психотропни свойства и е нискотоксичен за човека. Ефектите на канабидиола са резултат от неговите комплексни механизми на действие: той блокира в слаба степен CB1-рецептора и е обратим агонист на CB2-рецептора. Освен това

стимулира ванилоидните рецептори тип 1 (TRPV1) и тип 2 (TRPV2), увеличава концентрацията на анандамида, като блокира неговата хидролиза, стимулира ендогенната аденозинова сигнализация, инхибира G-протеин-свързания рецептор 55 (GPR55), стимулира серотониновия рецептор 1A (5-HT1A) и PPAR $\gamma$  (пероксизомен пролифератор-активиран рецептор гама)<sup>[2]</sup>. Молекулата на CBD е силно липофилна, с много ниска орална бионаличност (около 6%). При инхалационно приложение се достигат пикови плазмени концентрации от 3 до 10 минути след администрирането, а бионаличността е в рамките на 31%. При орално приложение CBD се подлага на интензивен „first pass“ ефект, а след инхалиране се избягва в по-голяма степен този вид метаболизъм. Препоръчва се орално приемане да става след хранене, по този начин храната увеличава степента на резорбцията. CBD бързо се разпределя в белите дробове, сърцето, черния дроб и мозъка. Той има висок обем на разпределение и това позволява да се акумулира в

мастните тъкани при пациенти с дълготраен прием. CBD може да преминава плацентата и кръвно-мозъчната бариера. Канабидиолът основно се метаболизира в черния дроб от изоензимите CYP2C19 и CYP3A4 и в по-малка степен от CYP1A1, CYP1A2, CYP2C9 и CYP2D6. След неговото хидролизирание до 7-хидрокси-канабидиол и по-нататъшното му метаболизиране, той се екскретира предимно във фецеса и в по-малка степен през урината. Канабидиолът има дълго време на полуживот (t<sub>1/2</sub>), около 24 часа след интравенозно приложение и 31 часа след инхалиране. След многократен орален прием, t<sub>1/2</sub> варира между 2 и 5 дни. Канабидиолът трябва да се прилага с повишено внимание при пациенти с чернодробни увреждания или когато се прилага съвместно с лекарства, които индуцират или инхибират CYP3A4 и CYP2C19. Освен това има съобщения, че употребата на канабидиол води до умора и сънливост<sup>[2]</sup>. Установени са множество фармакологични ефекти на CBD. Използва се като аналгетик, антиеметик, невропротектор, антиконвулсант, спазмолитик и противовъзпалително средство. Може да намери приложение при лечението на мултиплен склероза, невропатична и хронична болка, Паркинсон, Алцхаймер, пост-травматичен стрес, шизофрения и други<sup>[2]</sup>. През 2018 г. Агенцията за контрол на храните и лекарствата в САЩ (FDA) за първи път разрешава употребата на лекарство, съдържащо канабиди-

ол. Eridiolex® е 98%-ен орален разтвор на канабидиол с растителен произход. Използва се при лечение на епилептични гърчове, свързани с Lennox-Gastaut синдрома и Dravet синдрома.

## Противотуморна активност на CBD

От края на 20<sup>ти</sup> век активно се проучва антинеопластичната активност на CBD като алтернативен терапевтичен подход срещу ширококрещани ракови заболявания. Доказано е, че CBD проявява противотуморен ефект, посредством имуномодулиращите си и противовъзпалителни свойства. Освен това той повлиява АКТ/mTOR вътреклетъчната сигнализация, индуцира стрес на ендоплазменния ретикулум (ER-стрес) и предизвиква акумулиране на ROS (свободни кислородни радикали).

### Акумулация на свободни кислородни радикали и стрес на ендоплазменния ретикулум

Високите нива на ROS в клетката водят до геномна нестабилност и неконтролируема клетъчна пролиферация. Свободните радикали увреждат ДНК, като оксидират гуанина до 8-хидроксигуанин, а в следствие се образува и 8-нитрогуанин. Това може да доведе до точкови и хромозомни мутации, които акумулират и провокират неконтролируемо клетъчно делене. В допълнение, свободните кислородни радикали оксидират и активират прорастежните вътреклетъчни сигнални пътища като този на митоген-активиращата протеин киназа (MAPK) и на фосфатидилинозитол-3-киназата (PI3K). От друга страна, прекалено високите нива на ROS в туморните клетки могат да доведат

до процеси на автофагия, модулирани от mTOR (таргетен протеин за рапамицин при бозайниците) трансдукцията. Друг ключов процес за контрола върху клетъчното делене е „стресът на ендоплазменния ретикулум“. Ендоплазменният ретикулум е мембранен органел, в който протича биосинтезата на протеини, липиди и стероли. Освен това в него се извършват посттранслационни модификации на протеините и не на последно място, тук се намират депата от вътреклетъчни калциеви йони. В клетката се поддържа баланс между правилно и неправилно пространствено нагънати протеини. При възникване на ER-стрес се активират компенсаторни механизми, които целят възстановяването на този баланс (UPR – Unfolded Protein Response; отговор на неправилно „нагънатите“ протеини). UPR се активира в отговор на акумулацията на неправилно „нагънати“ протеини в лумена на ендоплазменния ретикулум. В следствие на което се възпират транслационните процеси, настъпва деградация на споменатите протеини и се активират сигнални пътища, които увеличават продукцията на шапероните. Ако тези компенсаторни механизми са неспособни да възстановят вътреклетъчния баланс, клетката се подлага на програмирана клетъчна смърт (апоптоза)<sup>[3]</sup>. Според *Frost et al.* CBD предизвиква ER-стрес при клетъчната линия MCF-7 (естроген-позитивен карцином на млечната жлеза) посредством увеличен TRPV1-медиран инфлукс на калциеви йони в клетката. Това води до увеличаване на нивата на ROS и активиране на UPR-компенсаторния механизъм<sup>[4]</sup>. Освен това *Shrivastava et al.* демонстрира проучване, в което CBD индуцира ER-стрес и предизвиква инхибиция на АКТ (протеин киназа B) и mTOR сигнализация

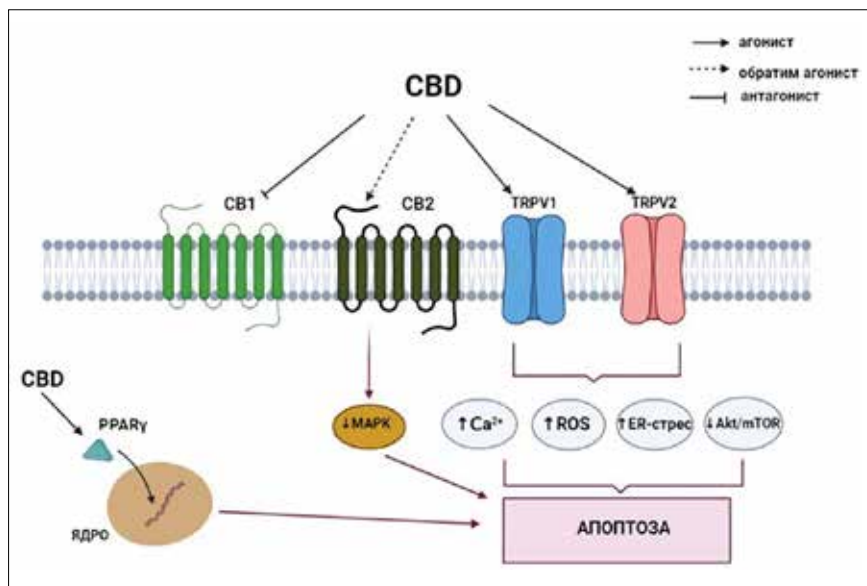
та при клетъчната линия MDA-MB-231 (тройно-негативен карцином на млечната жлеза)<sup>[5]</sup>.

## Имуномодулиращи и противовъзпалителни свойства

Туморната микросреда основно се състои от инфилтриращи левкоцити, включително тумор-асоциирани макрофаги, гендритни клетки и други миелоидни клетки. Взаимодействието между инфилтриращите клетки и туморните, може да доведе до потискане на имунния отговор спрямо неоплазмата и създаване на подходяща среда за развитие на туморогенезата. Ключови инфламаторни медиатори, промотиращи канцерогенезата, са NF-κB (ядрен фактор карпа B) и STAT3 (сигнален преобразувател и активатор на сигнализация за транскрипция 3). Експресията на NF-κB, може директно да се активира от инфламаторните цитокини TNF-alpha и IL-1 (интерлевкин-1), а STAT3 се активира от експресията на IL-6 (интерлевкин-6)<sup>[3]</sup>. Екипът на *Ganju et al.* демонстрира антиметастатичните свойства на CBD при тройно негативен карцином на млечната жлеза при клетъчната линия SUM159 като инхибира EGF-индуцираната пролиферация (EGF-епидермален растежен фактор), миграция и инвазия. CBD супресира АКТ, ERK (киназа от семейството на MAPK) и NF-κB сигнализацията и модифицира туморната микросреда като намалява мобилизацията на макрофагите в огнището на канцерогенните процеси<sup>[6]</sup>.

**фигура 1:**

Схема, обобщаваща противотуморните механизми на CBD в малигнената клетка



## Други механизми на действие

Канабидиолът проявява антипролиферативен, проапоптичен, антиинвазивен ефект при различни видове тумори. Според проучването на *Sultan et al.* CBD индуцира апоптоза при клетъчните линии MDA-MB-231 и T-47D (естроген-позитивен карцином на млечната жлеза), като индуцира експресията на PPAR $\gamma$ , вследствие на което се инхибира активността на mTOR и протеина циклин D1<sup>[7]</sup>. Освен това канабидиолът е агонист на TRPV1 йонните канали и активира инфлуksа на калциеви йони, което води до активирането на ER-стрес<sup>[4]</sup>. Друг механизъм на действие е свързан с понижаваната експресия на протеина ID-1. Този белтък участва в регулацията на транскрипционните процеси и е високоекспресиран в делящите се клетки. Установено е, че ID-1 протеинът има важна роля в процесите на туморогенезата, като допринася за нарушаването на клетъчния цикъл и активирането на неконтролируемо делене. Посредством методите

на клетъчното култивиране е доказано, че CBD инхибира ID-1 експресията в *in vitro* модели на карцином на млечната жлеза и това води до понижаване на пролиферативния потенциал на малигнените клетки<sup>[8]</sup>. CBD инхибира инвазивните свойства на туморните клетки A549 (белодробен карцином), като понижава секрецията на плазминоген активиращ инхибитор-1 (PAI-1). При клетъчните линии CaCo-2 и HCT116 (карцином на колона) се наблюдават занижени нива на каспаза-3, VEGF (васкуларен ендотелен растежен фактор), IL-6, IL-8 и завишени нива на PERK (протеинкиназа, активираща ER стрес), iNOS (ензим: синтаза на азотен оксиген) и COX-2 (циклооксигеназа-2), което се свързва с проява на антипролиферативния ефект и намаляването на обема на туморната маса *in vivo*<sup>[2]</sup>. При карцином на простатата (клетъчна линия DU-145) се наблюдава даунрегулация на STAT3, IL-6, IL-8, VEGF, CB1, CB2 и увеличени нива на ROS, което води до потискане на малигнените процеси<sup>[2]</sup>. В проучване на *Chen et al.* канабидиолът показва силна цитотоксична

активност спрямо клетъчна линия T-24 (уротелиален карцином). От протеомните анализи е установено, че CBD увеличава експресията на Bax (Bcl-2 асоцииран X протеин), Cyto-c (цитохром C) и каспаза 7 и намалява нивата на Bcl-2, p-PI3K, p-Akt, p-mTOR, p-Erk1/2 и MMP9 (матрикс металопротеиназа-9). Според проучването може да се заключи, че канабидиолът забавя растежа и миграцията на туморните клетки, като индуцира апоптоза вследствие инактивирането на PI3K/ Akt – сигнализацията<sup>[9]</sup>. Според *Takahiro et al.* канабидиолът активира процеси на апоптоза при клетъчна линия T-24 поради продължителен интрацелуларен калциев инфлуks през TRPV2-каналите<sup>[10]</sup>.

Един от основните проблеми при лечението на онкологични заболявания, е възникването на множествена лекарствена резистентност спрямо класическите химиотерапевтици. Има множество молекулни механизми, чрез които малигнените клетки устояват на антинеопластичната терапия: наличие на ксенобиотични помпи (мембранни транспортери, които експортират противотуморните лекарства извън клетката), възникване на мутации, които намаляват чувствителността на малигнените клетки спрямо лекарството (Bcr-Abl мутацията създава нечувствителност спрямо Imatinib), завишена глутатионредуктазна активност спрямо Cisplatin и други<sup>[11]</sup>. Много важна причина за възникването на множествена лекарствена резистентност е наличието на малигнени стволови клетки (Cancer Stem Cells), които съставляват малка субпопулация от туморната маса. Те са открити за първи път през 1990 г. от Джон Дик при заболяването остра миелоидна левкемия. Установено е, че тези

клетки са отговорни за инициране на туморогенезата и метастазирането. Тяхната основна роля е да възпроизвеждат и да поддържат злокачествения процес в тялото на пациента. Според проучването на *Namad* и *Olsen* CBD инхибира пролиферацията на туморните стволови клетки при едро- и дребноклетъчен карцином на белия дроб при *in vitro* условия. Освен това канабидиолът активира каспаза 3 и 7, увеличава експресията и на други проапоптисни протеини и води до акумулирането на свободни кислородни радикали<sup>[12]</sup>.

## CBD и палиативни грижи при онкоболни

Освен като потенциален противотуморен агент, канабидиолът може да намери приложение и по време на палиативните грижи. Дълго протичащата химиотерапия води до множество нежелани лекарствени реакции, които занижават качеството на живот. Най-често срещаните оплаквания са: невропатна болка, повръщане, гадене, диария, анорексия, имунодефицит и други. Употребата на канабидиол може да облекчи неприятните оплаквания поради множествените му фармакологични ефекти. CBD проявява аналгетични и невропротективни свойства, а освен това е антиеметик, стимулира апетита и е имуностимулатор<sup>[13]</sup>.

### Пътят на CBD...

**"от лабораторията до фармацевтичния пазар" като потенциален противотуморен лекарствен продукт**

Очевидно е, че CBD проявява изразени антинеопластични свойства

спрямо множество видове злокачествени заболявания. Въпреки това пътят за разработването и одобряването на нов лекарствен продукт, на базата на CBD, ще е дълъг и включва множество етапи. Преди всичко са необходими задълбочени предклинични изследвания в *in vitro* условия, установяващи молекулните му механизми на действие и спектъра от заболявания, които обхваща. В допълнение се очакват да бъдат направени и проучвания, свързани с физико-химичните характеристики на изследваното вещество и да се търсят алтернативни варианти за създаване на потенциални лекарствени форми с помощта на съвременните фармацевтични технологии. Следващата стъпка включва предклинични проучвания върху животни и установяване на фармакокинетичните, фармакодинамичните и токсикологичните характеристики на CBD при дозови режими, обосновани от *in vitro* изследванията. На базата на натрупаната предклинична информация могат да стартират клиничните проучване върху хора, които преминават през отделните фази (I до IV). В съвременната медицина има множество натрупана предклинична информация за потенциала на CBD като бъдещ противотуморен агент. За да се прескочи бариерата между лабораторията и реалните клинични проучвания, е необходимо да се извършат множество законодателни промени на международно ниво, свързани с производството на CBD и неговата употреба. Освен това вече има одобрен лекарствен продукт от FDA, съдържащ канабидиол, което доказва неговата ниска токсичност при хора и увеличава потенциала за стартирането на клинични проучвания при онкоболни пациенти<sup>[13]</sup>.

## Заклучение

Канабидиолът е природен продукт, който намира приложение в множество сфери на съвременната медицина. Последните проучвания доказват, че той може да бъде потенциален противотуморен агент поради комплексните си механизми на действие и ниската си токсичност. За разлика от другите фитоканабиноиди, неговите антинеопластични свойства са независими от ендоканабиноидната система. Той провокира индуцирането на клетъчна смърт в туморните клетки на базата на неговите имуномодулиращи и противовъзпалителни свойства. CBD взаимодейства с TRPV1 и TRPV2 рецепторите, което води до създаването на ER-стрес и натрупването на ROS. Канабидиолът повлиява експресията на вътреклетъчните сигнални молекули, регулиращи пролиферационния потенциал на малигнените клетки и отключва апоптозата. Освен това проявява цитотоксични свойства спрямо туморните стволови клетки, които в много случаи са отговорни за множествената лекарствена резистентност. На базата на тази информация е необходимо да се задълбочат бъдещите предклинични проучвания и да се иницират клинични проучвания, изследващи противотуморния потенциал на CBD при различни дозови схеми и комбинация. ■

### Книгопис:

Книгописът е на разположение в редакцията.