



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Terpenoids for medicine

Fischedick, J.

Citation

Fischedick, J. (2013, March 13). *Terpenoids for medicine*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/20608>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/20608>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/20608> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Fishedick, Justin

Title: Terpenoids for medicine

Issue Date: 2013-03-13

Samenvatting

Het doel van dit proefschrift was onderzoek te doen naar biochemische aspecten van terpenen die relevant zijn voor de medicinale toepassing en ontwikkeling van deze stoffen.

Meer in het bijzonder richtte het onderzoek zich op verdampen als efficiënte toedieningsvorm van vluchtige terpenen, op het analyseren van het terpeen profiel van *Cannabis sativa* als methode voor chemotaxonomie en kwaliteitscontrole, en tenslotte op het screenen van sesquiterpeen-lactonen en fenolische diterpenen als *leads* voor nieuwe medicijnen.

In **hoofdstuk 2** wordt beschreven hoe de vluchtige stoffen van de plantensoorten *Lavandula angustifolia*, *Thymus vulgaris*, *Matricaria recutita*, *Salvia officinalis*, *Eucalyptus globulus*, en *Melissa officinalis* werden vrijgemaakt met behulp van de Volcano® verdamper, en geanalyseerd door middel van gas chromatografie (GC). Damp afkomstig van *L. angustifolia*, *T. vulgaris*, *M. recutita*, en *S. Officinalis* bevatte > 0.1 mg terpeen componenten per gram plant materiaal, en deze hoeveelheid nam toe bij toenemende verdampstemperatuur.

In **hoofdstuk 3** worden de damp, (verbrandings)rook, en ethanol extracten van drie verschillende typen medicinale cannabis, geproduceerd door Bedrocan BV, met elkaar vergeleken op basis van GC analyse. Cannabinoiden en monoterpenen waren hoofdbestanddelen in de rook en damp van alle drie de geanalyseerde cannabis variëteiten 'Bedrocan', 'Bedrobinol' en 'Bediol'. Pyrolytische afbraakproducten waren wel detecteerbaar in cannabis rook na verbranding, maar niet in de onderzochte damp. In een daaropvolgende *in vitro* assay voor bindingsaffiniteit voor de CB1 receptor werd geen significant verschil gevonden tussen zuivere THC, en rook of damp afkomstig van cannabis met een equivalente concentratie aan THC.

In **hoofdstuk 4** wordt een kwantitatieve GC-FID methode beschreven en validatie voor de analyse van Cannabis monoterpenen, diterpenen en cannabinoiden. De ontwikkelde methode werd vervolgens gebruikt voor de analyse van 11 verschillende cannabis variëteiten. Hierbij werden in totaal 36 verschillende componenten gekwantificeerd, waarna de data werd geanalyseerd met behulp van multi-variate analyse software. Door toepassing van Principle Component Analysis (PCA) konden de verschillende variëteiten tenslotte efficiënt van elkaar worden onderscheiden op basis van hun chemisch profiel. Een aantal van de bestudeerde variëteiten werden bovendien geteeld in meerdere batches, met als doel om de reproduceerbaarheid van het terpeenprofiel tijdens de teelt vast te kunnen stellen. Cannabis variëteiten die werden gekweekt onder gelijke kweekomstandigheden en die afkomstig waren van dezelfde genetische basis vertoonden inderdaad een reproduceerbaar en herkenbaar chemisch profiel. Kleine afwijkingen in de teeltomstandigheden bleken geen significante invloed te hebben op de kwantitatieve hoeveelheden aan vluchtige terpenen.

Hoofdstukken 5 en 6 richten zich op de isolatie, structuuropheldering en bioactiviteitscreening van sesquiterpeen lactonen afkomstig van *Tanacetum parthenium* and *Inula britannica*. Centrifugale partitie chromatografie (CPC) werd daarbij gebruikt als de belangrijkste methode van fractioneren. Oplosmiddelsystemen bestaande uit specifieke mengsels van heptaan, ethylacetaat, methanol en water toonden zich daarbij het beste voor de scheiding van sesquiterpeen lactonen van beide plantensoorten. Uit *T. Parthenium* konden 11 sesquiterpenen worden geïsoleerd, en vervolgens geïdentificeerd door middel van NMR en hoge resolutie massaspectrometrie. Deze stoffen werden *in vitro* gescreend in muis primary cortical cultures op hun vermogen om de Nrf2 pathway te activeren. Sesquiterpeen lactonen met een α -methylene- γ -lacton structuur toonden een interessante activiteit, maar bleken tevens toxisch te zijn voor de gebruikte celcultures. Uit *I. Britannica* werden 10 sesquiterpeen lactonen geïsoleerd en geïdentificeerd met behulp van NMR, hoge resolutie massaspectrometrie en infrarood spectrometrie. Vijf van deze stoffen bleken nooit eerder gerapporteerd. De geïsoleerde verbindingen werden gescreend voor cytotoxische activiteit *in vitro* op humane kankercellijnen, daarvan afgeleide multi-drug resistente cellijnen, en op normale humane keratinocyten. De gevonden cytotoxische activiteiten waren over het algemeen beperkt, in de micromolair range, en de relatieve activiteit was vergelijkbaar tussen de verschillende cellijnen.

In **hoofdstuk 7** wordt de isolatie van fenolische diterpenen uit *Salvia officinalis* beschreven. In totaal konden 7 verschillende verbindingen worden geïsoleerd met polyamide kolom chromatografie en CPC als belangrijkste methoden van fractioneren. Carnosic acid, carnosol, epirosmanol, rosmanol, 12-methoxy-carnosic acid, sageone, en carnosaldehyde konden worden geïdentificeerd door middel van NMR en massa spectrometrie. De geïsoleerde verbindingen werden *in vitro* gescreend in muis primary cortical cultures op hun vermogen om de Nrf2 pathway te activeren. Carnosic zuur, carnosol, epirosmanol, en rosmanol toonden zich hierbij actief met minimale of geen toxische werking op de cellen. 12-Methoxy-carnosic zuur en sageone waren niet actief, en sageone was bovendien toxisch. Carnosaldehyde was actief maar toxisch.

De conclusies en perspectieven van dit proefschrift worden in detail besproken in **hoofdstuk 8**. Enkele van de belangrijkste conclusies daarbij zijn; dat verdampen een veelbelovende methode is voor het (medicinaal) toedienen van vluchtige terpenen; dat het terpeen profiel van cannabis kan worden benut voor het onderscheiden van verschillende variëteiten en dat gestandaardiseerde teelt van cannabis resulteert in een reproduceerbaar terpeen profiel; dat sesquiterpeen lactonen met een α -methylene- γ -lacton structuur verschillende interessante biologische activiteiten vertonen, maar dat ze vaak te weinig specifiek zijn en tegelijkertijd te toxisch zijn; en tenslotte dat carnosic zuur, carnosol, en rosmanol uit *S. Officinalis* interessante stoffen zijn voor het ontwikkelen van nieuwe medicijnen voor neurodegeneratieve aandoeningen.