

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Identifikace a kvantifikace hlavních kanabinoidů a jejich
kyselin v extraktech z deseti genotypů léčebného konopí
(*Cannabis sativa* L.)**

Diplomová práce

Bc. Markéta Havlíčková

Kvalita potravin a zpracování zemědělských produktů

Ing. Anežka Janatová, Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Identifikace a kvantifikace hlavních kanabinoidů a jejich kyselin v extraktech z deseti genotypů léčebného konopí (*Cannabis sativa* L.)" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26. 4. 2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala zejména vedoucímu mé diplomové práce Ing. Anežce Janatové, Ph.D. za obětavou spolupráci, rady i za čas, který mi věnovala při konzultacích.

Identifikace a kvantifikace hlavních kanabinoidů a jejich kyselin v extraktech z deseti genotypů léčebného konopí (*Cannabis sativa* L.)

Souhrn

Konopí je jednoletá dvoudomá rostlina, ve které se přirozeně vyskytuje více než 1400 látek. Jedná se o jednu z nejstarších pěstovaných rostlin, kterou se lidé postupně naučili zpracovávat všemi možnými způsoby, ať už pro výrobu textilií, nebo využívání konopného semene jako zdroje potravy. Časem se přišlo i na jeho psychoaktivní vlastnosti dříve využívané k rituálním účelům. Nejspíš nejdůležitějším objevem byly jeho léčebné účinky, které jsou dnes přisuzovány hlavně kanabinoidům a terpenoidům. Právě díky těmto vlastnostem je konopí v současné době velmi diskutovaným tématem.

Cílem práce bylo vyrobit ethanolové extrakty z usušeného květenství deseti vybraných genotypů léčebného konopí: Critical Hog, Gorilla Glue, Tangie, Green Poison, Forbidden Fruit, Mango Sapphire, Chocolope, Granddaddy Purple, Cheese a Critical 2+, u kterých byl sledován obsah primárních a sekundárních kanabinoidů a jejich kyselin. Pomocí metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie – tandemové hmotnostní spektrometrie byl u extraktů zjištěn procentický podíl 7 kanabinoidů: delta-9-tetrahydrokanabinol (THC), kanabidiol (CBD), kanabinol (CBN), kanabichromen (CBC), tetrahydrokanabivarin (THCV), kanabigerol (CBG) a kanabidivarin (CBDV) a jejich kyselin: tetrahydrokanabinolová kyselina (THCA), kanabidiolová kyselina (CBDA), kanabinolová kyselina (CBNA), kanabichromenová kyselina (CBCA), tetrahydrokanabivarinová kyselina (THCVA), kanabigerolová kyselina (CBGA) a kanabidivarinová kyselina (CBDVA). Na základě výsledků byly mezi sebou porovnány jednotlivé genotypy a byli vybráni 4 zástupci, kteří se svým složením výrazně lišili od ostatních genotypů. Jednalo se o Mango Sapphire, Tangie, Green Poison a Chocolope.

V nejvyšším množství se u genotypů vyskytovala THCA s průměrným obsahem $23,74 \pm 0,5$ % a z ní odvozený kanabinoid THC ($11,7 \pm 0,36$ %). Nejvyšší obsah THC v extraktu (48 %) byl detekován v genotypu Mango Sapphire, což je odrůda se statisticky prokazatelně nejvyšším zastoupením téměř všech kanabinoidů. Naopak CBD bylo u všech genotypů neměřeno nejméně. Průměrné hodnoty se pohybovaly v rozmezí od $0,01 \pm 0,001$ % do $0,04 \pm 0,002$ %. Jeho nízký obsah ovlivňuje do jisté míry genetika. Důležitý byl také obsah CBGA, která je prekurzorem pro biosyntézu ostatních kanabinoidů. Nejvíce se vyskytovala u genotypu Tangie $1,09 \pm 0,01$ %, což bylo o $0,5 \times$ více než u Green Poison. Dále bylo zjištěno, že genotypy Tangie, Green Poison a Chocolope by mohly být s ohledem na nižší obsah THCV a vyšší obsah THC geneticky spíše *C. sativa*. Mango Sapphire obsahovalo vyšší procento obou kanabinoidů, a proto lze předpokládat, že genetický podíl *C. sativa/indica* byl podobný.

Při léčbě konopnými extrakty se využívá tzv. vzájemné synergie hlavních obsahových látek – kanabinoidů a terpenoidů. Tyto a ještě stovky dalších minoritních sloučenin vyskytujících se v konopí přirozeně, mají schopnost své příznivé účinky vzájemně zesilovat a naopak vedlejší účinky některých majoritních kanabinoidů jako například THC zmírňovat. Vysoký obsah THC a dalších kanabinoidů, které byly analyzované ve vybraných extraktech,

by mohl hrát potenciální roli při léčbě různých druhů onemocnění například chronických bolestí, jako alternativa opioidů, nauzey a zvracení doprovázející chemoterapie, posttraumatické stresové poruchy a mnoho dalších. Ovšem to, jaké další biologicky aktivní látky, které přispívají k léčebným účinkům konopí, obsahují vybrané genotypy, a jak tím přispějí v budoucí medicíně, ukážou až další studie.

Klíčová slova: léčebné konopí, genotyp, extrakt, kanabinoidy, kanabinoidní kyseliny

Identification and quantification of major cannabinoids and their acids in extracts from ten genotypes of medical cannabis (*Cannabis sativa* L.)

Summary

Cannabis is an annual dioecious plant in which more than 1,400 substances occur naturally. It is one of the oldest cultivated plants, which people have gradually learned to process in all possible ways, whether for the production of textiles or the use of hemp seed as a food source. Over time, its psychoactive features previously used for ritual use were discovered. Probably the most important discovery was its therapeutic effects, which are now attributed mainly to cannabinoids and terpenoids. Due to these features, cannabis is currently a much-discussed topic.

The aim of the work was to produce ethanol extracts from dried inflorescences of ten selected genotypes of medical cannabis: Critical Hog, Gorilla Glue, Tangie, Green Poison, Forbidden Fruit, Mango Sapphire, Chocolope, Granddaddy Purple, Cheese and Critical 2 in which the content of primary and secondary cannabinoids and their acids was monitored. Using high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry, the percentage of 7 cannabinoids in the extracts was determined: delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), cannabidiol (CBD), cannabinol (CBN), cannabichromene (CBC), tetrahydrocannabivarin (THCV), cannabigerol (CBG) and cannabidivarin (CBDV) and their acids: tetrahydrocannabinolic acid (THCA), cannabidioic acid (CBDA), cannabinol acid (CBNA), cannabichromenoic acid (CBCA), tetrahydrocannabivarin acid (THCVA), cannabigerolic acid (CBGA) and cannabidivarin acid (CBDVA). Based on the results, individual genotypes were compared and 4 representatives were selected, which differed significantly in their composition from other genotypes. These were Mango Sapphire, Tangie, Green Poison and Chocolope.

In the genotypes, THCA was present in the highest amount with an average content of 23.74 ± 0.5 % and the derived cannabinoid THC (11.7 ± 0.36 %). The highest THC content in the extract (48 %) was detected in the Mango Sapphire genotype, which is the variety with a statistically demonstrably highest proportion of almost all cannabinoids. In contrast, CBD was the least measured for all genotypes. Mean values ranged from 0.01 ± 0.001 % to 0.04 ± 0.002 %. Its low content is influenced to some extent by genetics. The content of CBGA, which is a precursor for the biosynthesis of other cannabinoids, was also important. CBGA most occurred in the Tangie genotype 1.09 ± 0.01 %, which was 0.5 times more than in Green Poison. It was further found that the Tangie, Green Poison and Chocolope genotypes could be genetically more *C. sativa* due to the lower THCV content and the higher THC content. Mango Sapphire contained a higher percentage of both cannabinoids, and therefore it can be assumed that the genetic proportion of *C. sativa* / *indica* was similar.

In the treatment of cannabis extracts, the so-called mutual synergy of the main constituents - cannabinoids and terpenoids - is used. These and hundreds of other minor compounds found naturally in cannabis have the ability to enhance their beneficial effects and, conversely, to alleviate the side effects of some major cannabinoids such as THC. High content

of THC and other cannabinoids, which were analyzed in selected extracts, could play a potential role in the treatment of various types of diseases such as chronic pains, as an alternative to opioids, nausea and vomiting accompanied by chemotherapy, post-traumatic stress disorder and many more. However, what other biologically active substances genotypes contain that contribute to the therapeutic effects of cannabis and how it will contribute to future medicine, may show up future studies.

Keywords: medical cannabis, genotype, extract, cannabinoids, cannabinoid acids

Obsah

1	Úvod	10
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	12
3	Literární rešerše	13
3.1	Popis a taxonomie konopí	13
3.2	Historie	14
3.3	Pěstební podmínky léčebného konopí	15
3.4	Legislativa v České republice	18
3.4.1	Vývoj legalizace konopí pro léčebné účely v ČR	19
3.5	Legislativa ve světě	20
3.6	Biologicky aktivní látky	20
3.6.1	Biosyntéza kanabinoidů	21
3.6.2	Kanabinoidy	21
3.6.2.1	Delta-9-tetrahydrokanabinol (THC)	22
3.6.2.2	Kanabidiol (CBD)	22
3.6.2.3	Kanabigerol (CBG)	23
3.6.2.4	Kanabichromen (CBC)	24
3.6.2.5	Kanabinol (CBN)	24
3.6.2.6	Tetrahydrokanabivarin (THCV)	25
3.6.3	Terpenické sloučeniny	26
3.6.3.1	Monoterpeny	26
3.6.3.2	Seskviterpeny	27
3.6.4	Další významné sloučeniny	28
3.6.4.1	Flavonoidy	28
3.6.4.2	Stilbenoidy	28
3.6.4.3	Dusíkaté sloučeniny	29
3.6.4.4	Mastné kyseliny	29
3.6.4.5	Sacharidy	29
3.6.4.6	Proteiny	29
3.7	Léčebné konopí	29
3.7.1	Endokanabinoidní systém	29
3.7.2	Léčivé účinky	30
3.7.2.1	Onkologická onemocnění	31
3.7.2.2	Neurologická onemocnění	32
3.7.2.3	Ostatní onemocnění	34
3.8	Metody použité k analýze kanabinoidů konopí	34

3.8.1	Extrakce	34
3.8.2	Chromatografie	34
3.8.3	Hmotnostní spektrometrie	35
3.8.3.1	Hmotnostní spektrometrie s plynovou chromatografií (GC-MS)	35
3.8.3.2	Hmotnostní spektrometrie s kapalinovou chromatografií (LC/HPLC-MS)	35
3.8.3.3	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie – tandemová hmotnostní spektrometrie (HPLC-MS/MS)	36
4	Materiál a metody	37
4.1	Biologický materiál	37
4.2	Chemikálie	38
4.3	Výroba extraktů	38
4.4	Příprava vzorků pro analýzu na HPLC	39
4.5	Identifikace a kvantifikace kanabinoidních látek	40
4.6	Statistické vyhodnocení výsledků	40
5	Výsledky	42
5.1	Zastoupení kanabinoidů a jejich kyselin ve vybraných genotypech léčebného konopí	42
6	Diskuze	47
7	Závěr	50
8	Literatura	51
9	Seznam použitých zkratk a symbolů	62

1 Úvod

Konopí (*Cannabis sativa* L.) patří mezi nejstarší lidmi pěstovanou rostlinu. Všestrannost konopí se využívala již před více jak 5 000 lety ve staré Číně. Rostlina se pěstovala na výrobu vlákna pro spřádání a tkání látek, pro výrobu papíru, osivo sloužící pro lidskou výživu a krmivo pro zvířata. Už v tomto období lidé přicházeli na její psychoaktivní a léčebné účinky, které jsou v současné době velmi diskutovaným tématem.

Botanická klasifikace konopí byla po dlouhou dobu nejasná. Dnes se konopí zařazuje do čeledi *Cannabinaceae*. Také klasifikace celého rodu je poměrně složitá. Často se uvádějí tři druhy a to *C. sativa*, *C. indica* a *C. ruderalis*. Jiní botanici uvádí, že rod *Cannabis sativa* je pouze jeden druh se třemi poddruhy.

Konopí obsahuje fytochemikálie, které jsou unikátní a mají mnoho terapeutických účinků pro léčbu různých onemocnění a poruch. Dosud bylo zjištěno více než 500 fytochemikálií, které se v rostlině přirozeně vyskytují. Nejvíce zastoupenými jsou kanabinoidy, terpenoidy, steroidy, flavonoidy, lignany a alkoholy, z nichž nejdůležitější a nejznámější jsou kanabinoidy a terpenoidy. Vznikají dekarboxylací kanabinoidních kyselin vlivem skladovacích podmínek a vysokých teplot. Najdeme je především v květenstvích a žlázatých trichomech. (Zagožen et al 2021).

Nejznámějšími kanabinoidy jsou delta-9-tetrahydrokanabinol (THC), který vykazuje silné protizánětlivé, analgetické, antikarcinogenní a antispasmodické účinky. Působí na relaxaci svalů a neuro-antioxidačně. Je ovšem spojován s řadou vedlejších psychotických účinků, které ale dokáže druhý nejznámější kanabinoid kanabidiol (CBD) potlačovat. CBD se ukázal jako slibný terapeutický prostředek u onemocnění centrálního nervového systému (CNS) jako je například epilepsie, roztroušená skleróza, schizofrenie a další. Podle poměru THC a CBD se dá konopí rozdělit do 3 tzv. chemotypů. Chemotyp 1, který se značí tím, že obsahuje >0,3 % THC a <0,5 % CBD. U chemotyp 2 je poměr THC:CBD podobný a chemotyp 3 obsahuje <0,3 % THC a obsah CBD převládá (Hilling&Mahlberg 2004). THC je hlavní specifickou látkou, která má psychotropní účinky, a proto je v mnoha zemích regulována zákonem. Právě množství THC obsažené v rostlině udává, o jaký typ konopí se jedná. Konopí využívané pro léčebné účely (popřípadě užívané jako droga) obsahuje více THC, než je jeho přítomnost v konopí technickém, kde se může vyskytovat podle českého zákona v množství maximálně 0,3 % (Cappelletto et al 2011). Česká republika se 1. dubna 2013 zákonem č. 50/2013 Sb. zařadila mezi země, kde je umožněno pěstování konopí pro léčebné účely. I přesto využití této rostliny s obrovským potenciálem pro léčbu různých typů onemocnění není v takové míře, jakou by si zasloužilo (Rokyta et al 2016). Při předepisování medikace konopí je důležitý poměr THC:CBD v daném genotypu. Poměr je individuální a záleží na diagnóze a stádiu nemoci pacienta.

Synergie sloučenin vyskytujících se v konopí je ale daleko hlubší, než na úrovni kanabinoidů. Terapeutické vlastnosti jsou příkládány i druhé skupině sekundárních metabolitů – terpenoidům, které jsou stejně jako kanabinoidy syntetizovány v sekrečních buňkách uvnitř žlázatých trichomů. Tvoří největší skupinu a jsou zodpovědné za aroma. Vykazují jedinečné účinky, které mohou výrazně přispět k doprovodným účinkům léčivých extraktů získaných z konopí. Základní rozdělení je na mono- a seskviterpeny. Obsah monoterpenoidů jako například limonenu, myrcenu nebo pinenu se během skladování snižuje, což má za následek vyšší relativní podíl seskviterpenoidů (zejména karyofylenu) ve výsledném

extraktu. Každý genotyp je jedinečný svým obsahem jednotlivých sloučenin, a proto má každý i odlišné uplatnění, co se farmakoterapie týče.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza: Alespoň tři z deseti extraktů se budou složením kanabinoidů významně lišit.

Cíl práce: Vyrobit ethanolové extrakty z deseti různých genotypů konopí a na základě stanovení hlavních kanabinoidů a jejich kyselin vybrat genotypy, které budou kanabinoidním profilem významně odlišné. Vybrané genotypy a jejich extrakty dále poslouží pro další studie.

3 Literární rešerše

3.1 Popis a taxonomie konopí

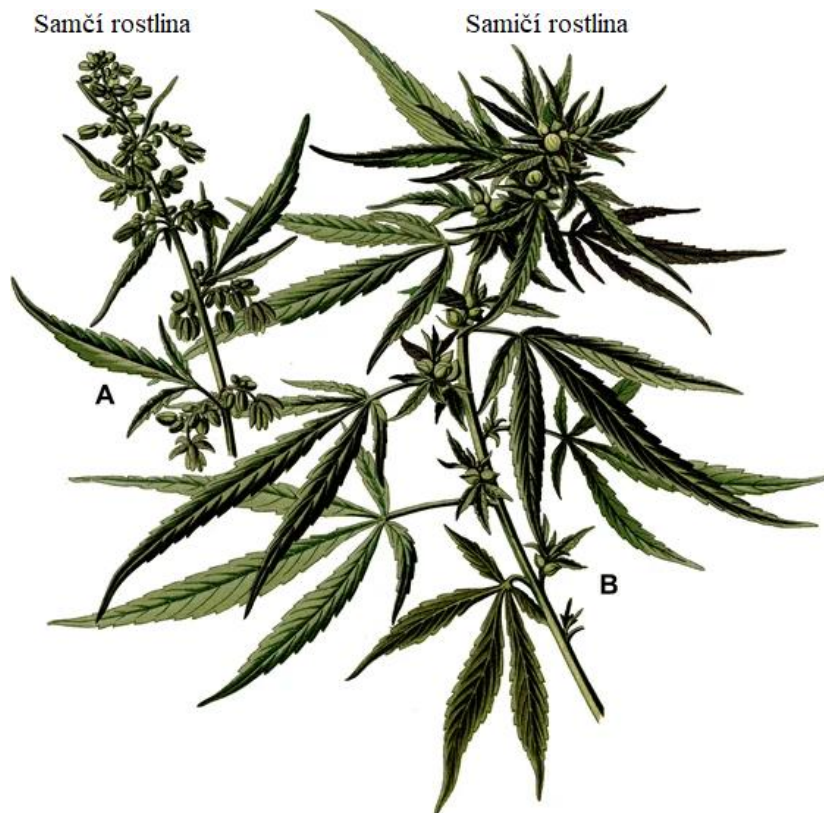
Oficiální vědecký název rostliny je *Cannabis sativa* L., odvozený z latinského *canna* jako rákos či třtina a *sativa*, což znamená setá, je velmi rozšířená planá, ale i člověkem pěstovaná rostlina (Dupal 2010).

Konopí bylo v botanickém názvosloví původně přiřazováno do řádu *Urticaceae* (kopřivovité). Do stejného řádu spadá chmel (*Humulus* sp.), ovšem pro pěstitele marihuany je tato botanická příbuznost zanedbatelná. Je to z toho důvodu, že pryskyřičná látka produkovaná chmelem neobsahuje kanabinoidy, což jsou fyziologicky aktivní látky s psychotropními účinky. Podle nejnovějších zdrojů patří konopí do čeledi *Cannabinaceae* (konopné), ačkoliv někteří upřednostňují zařazení do čeledi *Moraceae* (morušovitě) (Dupal 2010).

V roce 1773 Carl Linné, otec moderní taxonomie, popsal rod *Cannabis sativa* sp. jako rod složený z jediného druhu. Encyklopedie vydaná v roce 1783 uvádí jako specifický druh *Cannabis indica* sp. Jedná se o silně pryskyřičnou odrůdu se silným stvolem, která je pojmenována na počest Indie. Třetí a poslední variantou je *Cannabis ruderalis* sp., která je velice silná, ale komerčně nepříliš cenná odrůda pojmenovaná sovětským botanikem Janischevským (Conrad 1997). Vědci stále nesouhlasí s tím, jak katalogizovat druhy konopí. Typy *sativa* a *indica* jsou často kříženy k produkci hybridních fenotypů s požadovanými vlastnostmi. Životaschopnost křížené sativy tedy podle studie Hartsel et al (2016) podporuje katalogizaci všech odrůd jako poddruh *C. sativa* (tj. *C. sativa* ssp. *sativa*, *C. sativa* ssp. *indica*, *C. sativa* ssp. *ruderalis*).

Jedná se tedy o jednoletou rostlinu, která dosahuje výšky až 5 m. Centrální stvol s oválným až čtvercovým průřezem je pevný, má více či méně husté podélné drážkování, s kolénky v místech, odkud vyrůstají listy. Dřevnatý a štíhlý stonek s dlouhými a kvalitními lýkovými vlákny dorůstá průměru 6-20 mm. Při pěstování konopí je pro rostlinu stěžejní prostor. Pokud konopí pěstujeme v příliš těsném prostoru, ke konci sezóny je vidět, že rostlina ztratí téměř všechny listy. Tento způsob se využívá v pěstování pro vlákno. Naopak, když poskytneme rostlině větší prostor, konopí vytvoří velké množství větví a listů, centrální stonek vyroste průměru 3-6 cm a jeho kůra je pevná. To se využívá při pěstování pro léčebné účely nebo na semeno. Palmový list, který je typický pro konopí se skládá z 5-8 listů. Vrchní strana má tmavě zelený odstín, spodní je světlejší a každý z lístků má vroubkovaný okraj. Lístek uprostřed každého listu je největší. Dorůstá délky 5-15 cm a šířky 1-3 cm. Listy širší jsou charakteristické pro druh *indica* a štíhlejší pro druh *sativa*. Listy rostou laterálně v párech proti sobě na střídavých stranách stvolu. Na vrcholcích větví jsou osamělé listy a květenství. Díky charakteristickému vzoru na listu můžeme poznat, jestli rostlina vyrostla ze semene (klasický vzor na listech) nebo z výhonku (nepravidelné vzory na listech). Po odkvětu najdeme v semeníku rostliny v každém z „lusků“ jedno malé semínko – acheme. U rostliny pěstované na semeno je podíl semen asi polovina hmotnosti suché samičí rostliny. Hmotnost semen se u jednotlivých rostlin poněkud liší, ale poměr hmotností ostatních částí rostliny bývá stabilnější. Uvádí se, že 60 % připadne na stonek, 30 % na listy a 10 % na kořen. Zrnka, která se používají na výrobu oleje, zrají na stoncích v jakýchsi hroznech (Conrad 1997).

Konopí je dvoudomá rostlina, to znamená, že vytváří samičí i samčí rostliny (Obrázek 1). Samičí rostliny bývají mohutnější a z hlediska obsahu psychotropních látek, pevnějších vláken a výživných semen významnější. Samčí rostou zase o něco rychleji. Jejich květy obsahují v úžlabních vrcholových latách velké množství pylu, jímž jsou opylovány samičí květy (Dupal 2010). Při stresových situacích nebo jiných nepříznivých podmínkách se mohou vyvinout i rostliny, které jsou jednodomé, ale i speciálně vyšlechtěné jednodomé rostliny mají stejně tendenci vracet se k „normální“ dvoudomé varianě. Tyto hybridy by měli být kříženy s původní dvoudomou rostlinou. Uvádí se, že by tomu tak mělo být každý rok či dva (Conrad 1997).



Obrázek 1 Konopí seté (Köhler 1887) - upraveno

3.2 Historie

Konopí seté je jedna z nejstarších lidmi pěstovaných rostlin. Li, Lin (1974) uvádí, že je konopí považováno za asijskou rostlinu. Pravděpodobně má svůj původ na západních svazích Himaláje a Kašmíru a je jednou z nejstarších kulturních rostlin starou 12 000 let (Kubánek 2009). V nejstarších existujících záznamech se můžeme dočíst o původu pěstování této rostliny, který by měl být v severovýchodní Asii, což je část spadající do současné severní Číny. Lze tedy tvrdit, že se konopí používá asi tak stejně dlouho jako například brambory nebo obilí, avšak konopí nelze považovat za rostlinu zcela domestikovanou. Nelze přesně odhadnout, kdy se člověk s konopím setým poprvé setkal, avšak můžeme předpokládat, že to mohlo být v mladší době kamenné, tzv. neolitu (Booth 2005). Konopí rostlo jako plevel v okolí neolitických osad a později se stalo domácí surovinou. Důkazem je, že se jedná o nitrofilní rostlinu, to znamená, že

konopí rostlo na území bohaté na dusík produkovaný zvířaty a lidmi. Dalším důkazem mohou být malby, otisky lan, tkaný hadřík na keramiku nebo hrncářské nástroje na tkaní– kolovraty a kostní jehly (Li, Lin 1974).

Některé zdroje se domnívají, že původní účel kultivace není znám. Neví se, zda to bylo kvůli potravě, vláknům rostliny nebo pro její léčivé účinky (Robinson 1997). Li, Lin (1974) tvrdí, že se konopí původně používalo pro jeho vlákna, jelikož to byla jediná vláknitá rostlina známá ve starověku v severní a severovýchodní Číně a východní Sibiři. Dříve hedvábí používali bohatí a konopné plátno byla textilie běžných lidí.

Mimo jiné pak Číňané pojídali semena z konopí. Jedná se o hladké plody veliké 3-5 cm, eliptického tvaru, s tvrdou skořápkou a obsahují vždy jedno semeno. První důkazy o používání těchto semen byly nalezeny během dynastie Han (206-220 př. n. l.) a dodnes se semena používají v Nepálu k výrobě kuchyňského oleje. Také v Evropě se našla semena konopí na různých neolitických nalezištích například ve Švýcarsku, Rakousku, Německu a Rumunsku. Konopná semena byla důležitým zdrojem bílkovin a oleje, který se dříve používal ke svícení v lampách. Vlivem kolonizace a rostoucího obchodu se konopí postupně dostávalo do ostatních zemí po celém světě (Zuardi 2006).

Konopí se postupně šířilo přes Indii, Persii (Irán), malou Asii až do Afriky. V Egyptě se rostlina využívala jako lék, k různým náboženským obřadům nebo průmyslovým účelům a také k „trhání“ kamenů – konopné vlákno se nacpalo do otvorů v kameni, to se zalilo vodou a síla bobtnajících vláken kámen dokázala roztrhnout. Africké kmeny Khoínů a Mfegů do dnes považují konopí za účinný lék proti hadímu uštknutí nebo ženy jihoafrického kmene Sutů konopí kouří na zmírnění porodních bolestí (Kubánek 2009).

Do Evropy se nejpíše konopí dostalo dvěma cestami. Severní cesta začínala v severním Rusku, pokračovala přes Litvu až do severního Německa, Švédska, Holandska a Anglie. Touto cestou se vytvořily typy konopí nízkého vzrůstu. Druhá cesta vedla z Persie přes Tádžikistán do Řecka, Itálie, jižní Francie až do střední a západní Evropy. Podle pylových analýz byla domestikace konopí v Evropě do roku 500-400 př. n. l. v Norsku, Německu a Anglii (Kubánek 2009).

Název Marihuana byl používán pro usušené květy americké odrůdy určené hlavně ke kouření. Dnes se tento název používá v odborné literatuře pro rostlinu jako takovou (Booth 2005). Současný vědecký výzkum konopí se provádí hlavně ve směru klinické studie neurologických účinků kanabinoidů (především THC a CBD). Většina výzkumů byla provedena na konopí obsahující více než 0,2 % THC, což v některých zemích pěstování takového konopí není povoleno. Dalším směrem, kterým se výzkum ubírá je šlechtění konopí s příznivým poměrem mezi THC a CBD používané pro léčebné účely (Zagožen et al 2018).

3.3 Pěstební podmínky léčebného konopí

Konopí se řadí mezi nejstarší lidmi pěstované rostliny. V Evropě bylo široce pěstováno mezi 16.-18. stoletím. Po tomto období došlo k poklesu pěstování, ovšem zejména v posledních letech zájem o konopí opět prudce vzrostl, a to díky jeho léčivým vlastnostem (Struik et al 2000).

Hlavním rozdílem mezi pěstováním průmyslového a lékařského konopí (Obrázek 2) je ten, že se léčivé konopí pěstuje za použití tzv. techniky Sinsemilla (španělsky „bez semen“),

kdy se nenechávají dozrát žádné samčí rostliny, které produkují pyl, tím pádem nevzniknou ani žádná semena. V polní produkci určuje poměr samčích a samičích rostlin klima, genetika a půdní podmínky. Semena, z kterých konopí vyrůstá, by měla pocházet z certifikovaných zdrojů, kde jsou semena specializovaná k produkci pouze samičích květů (Žuk-Gołaszewska & Gołaszewski 2018).



Obrázek 2 Pěstírna léčebného konopí na České zemědělské univerzitě v Praze

Konopí využívané k léčebným účelům se většinou pěstuje uvnitř s použitím umělého osvětlení. Moderní indoor pěstitelé pěstují své vlastní klony obvykle pod sodíkovými a halogenidovými výbojkami. Cílem pěstění léčebného konopí je výnosná a jednotná plodina, která vzniká vegetativním množením zakořeněním řízků pouze vybraných samičích rostlin (Obrázek 3). Řízky jedné rostliny jsou geneticky identickými členy jednoho klonu, takže budou reagovat stejným způsobem na vlivy okolního prostředí a v období jednoho roku budou mít velmi podobný vzhled. Pokud budou vlivy prostředí konstantní, klon získá sériové hodnoty plodiny téměř identických stejnorodých samic bez semen. Samičí „mateřské“ rostliny používané k řízkování musí být v neustálém vegetativním stavu a s délkou dne 18 hodin, aby nezačaly kvést. Ke ztrátě energie nedochází, pokud mateční rostliny zůstanou bez virů nebo jiných patogenů po několika opakováních vegetativního rozmnožování. Kdykoliv jsou požadovány kvetoucí rostliny, zakořeněné řízků vysoké 10-30 cm se přesouvají do kvetoucí místnosti s délkou dne 10-13 hodin (Elsohly & Mahmoud 2007).

Rozhodnutí, zda se rostlina bude pěstovat venku nebo uvnitř, záleží na konečném použití rostliny. Konopí pěstované pro vlákno nebo olejnatá semena se obvykle pěstuje venku. Konopí pro léčebné účely lze pěstovat venku, ve sklenících nebo ve vnitřních zařízeních. Existuje ale obecné přesvědčení, že rostliny pěstované pro léčebné účely uvnitř, jsou daleko kvalitnější. S rostoucím trendem výroby extraktů z léčebného konopí je pravděpodobné, že se velká část produkce (CBD z konopí) bude pěstovat venku. Hlavním důvodem je snížení výrobních nákladů (Monthony et al 2021).



Obrázek 3 Pěstování klonů léčebného konopí na České zemědělské univerzitě

Co se týče půdních podmínek, při pěstování je důležité hlídat hlavně pH, které by mělo být téměř neutrální nebo mírně zásadité. Kyselá půda by měla být před setím vápněna. Dusík se považuje za hlavní půdní makroživinu, dokonce Coffman & Gentner (1975) prokázali, že obsah dusíku ve vegetativních částech konopí pozitivně koreloval s hladinami THC. Jiná studie Bócsa et al (1997) zjistila, že vysoké hladiny dusíku v půdě vedly k poklesu THC spíše u starších listů konopí a uvádí, že je tato makroživina důležitá především ve vegetativní fázi vývoje. Ve fázi kvetení jsou důležitými prvky zejména fosfor a draslík.

Pěstování konopí přináší řadu výhod pro životní prostředí. Rostliny produkují velké množství biomasy, která omezuje růst plevelů a zamezuje vysychání půdy. Také nepotřebují

rozsáhlé ošetření pesticidy a jsou schopné vázat až 2,5 tuny CO₂ na hektar, čímž dochází k omezování skleníkového efektu. Dále kořeny konopí absorbují těžké kovy a další nečistoty a zlepšují tak kvalitu půdy. Zbytky, které vznikly po sklizni a zpracování konopí mohou být přirozeně recyklovány, mohou být termochemicky zpracovány na biopaliva a použity například jako půdní meliorátory (Žuk-Gołaszewska & Gołaszewski 2018).

3.4 Legislativa v České republice

Jako u ostatních psychotropních látek a drog je potřebná legislativa. Není tomu jinak ani u konopí. Inspektorát omamných a psychotropních látek (IOPL) má za úkol kontrolovat dodržování povinností a omezení, které se týkají návykových látek. Povinnosti a omezení se vztahují i na konopí určené pro léčebné účely, konopnou pryskyřici, konopný extrakt a tinkturu. IOPL je součástí Ministerstva zdravotnictví (MZČR). Základním zákonem je zákon č. 167/1998 Sb. o návykových látkách. Fyzická osoba (občan) smí přípravky s obsahem návykových látek nabývat pouze pro vlastní potřebu a pouze na základě lékařem vydaného receptu, viz § 5 odstavec 2 písm. h) zákona o návykových látkách. Dále s návykovými látkami (i s konopím pro léčebné účely) mohou zacházet výhradně právnické osoby nebo podnikající fyzické osoby, kterým MZČR vydalo povolení k zacházení nebo subjekty, které s návykovými látkami mohou zacházet přímo na základě zákona (§ 5 zákona o návykových látkách). Konopí a pryskyřice z konopí spadají do přílohy č. 3 nařízení vlády č. 463/2013 Sb., o seznamech návykových látek. Mohou být použity pouze k výzkumným, vědeckým nebo terapeutickým účelům vymezeným v povolení k zacházení vydaným MZČR (§ 3 odst. 2 zákona o návykových látkách). Konopí pro léčebné použití, konopný extrakt a tinktura jsou látky zařazené do přílohy č. 1 nařízení vlády č. 463/2013 Sb. Proto jsou řazeny do mírnějšího režimu § 3 odst. 2 zákona o návykových látkách a mohou být použity k terapeutickým, vědeckým a veterinárním účelům nebo i k jiným účelům na základě povolení MZČR. „Jiné účely“ by byly pouze účely v blízké souvislosti se smyslem zákona o návykových látkách a mezinárodních úmluv z oblasti omamných a psychotropních látek, nikoliv „jakékoliv účely“. Konopný extrakt a tinktura taktéž spadají do přílohy č. 1 nařízení vlády č. 463/2013 Sb., o seznamech návykových látek. To znamená, že jakýkoliv extrakt z rostliny konopí je návykovou látkou ve smyslu zákona o návykových látkách. Obsah látek ze skupiny tetrahydrokanabinolů není určující, takže i extrakt z technického konopí, který bude obsahovat pod 0,3 % látek ze skupiny tetrahydrokanabinolů je návykovou látkou a subjekt zacházející s takovýmto extraktem musí splňovat povinnosti stanovené zákonem o návykových látkách (Drogy – Info 2017).

Pěstování rostlin konopí je dovoleno pouze ve dvou případech: a) Druh či odrůda je evidována v katalogu odrůd a její obsah látek tetrahydrokanabinolů nepřesahuje hodnotu 0,3 %. V tomto případě není potřeba povolení k zacházení s návykovými látkami. Při pěstování na ploše větší než 200 m² je důležité splnit tzv. ohlašovací povinnost dle § 29 zákona o návykových látkách, nebo za b) U druhů a odrůd obsahujících více než 0,3 % látek ze skupiny tetrahydrokanabinolů je jejich pěstování zakázáno. Výjimkou je pěstování rostlin konopí pro léčebné účely na základě licence udělené Státním ústavem pro kontrolu léčiv a pěstování konopí vědeckými a výzkumnými pracovišti. Pracoviště musí být zřízená buď zákonem, nebo státem a mít povolení k zacházení od MZČR. Většina zemí Evropské unie a Kanada schválili limit 0,3 % delta-9-tetrahydrokanabinolu a definovali ho v suchém rostlinném materiálu jako legální

s výjimkou Itálie. Ta má limit 0,2 % delta-9-tetrahydrokanabinolu v sušině rostliny (Cappelletto et al 2011).

Kontrola konopných produktů spadá do působnosti IOPL pouze tehdy, jestliže se produkt nedá identifikovat jako potravinu nebo kosmetický výrobek. Potom by se jednalo o produkt s obsahem návykové látky a k legálnímu zacházení s ním by bylo potřeba dodržovat povinnosti stanovené zákonem o návykových látkách. Dovoz některých druhů konopí ze třetích zemí je dle čl. 189 nařízení evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1308/2013, nařízení Komise v přenesené pravomoci (EU) 2016/1237 a nařízení vlády č. 269/2014 Sb. o některých podmínkách k provádění společné organizace trhu s konopím pěstovaným na vlákno podmíněným předložením dovozní licence, a to produktů s kódem KN: 5302 10 00 (pravé konopí, surové nebo máčené); ex 1207 99 20 (semena konopí určená k setí); 1207 99 91 (semena konopí, jiná než k setí). Použití konopí v potravinách upravuje zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, a především Vyhláška č. 225/2008 Sb., kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin (Drogy – Info 2017).

3.4.1 Vývoj legalizace konopí pro léčebné účely v ČR

8. dubna 2010: V Poslanecké sněmovně Parlamentu ČR probíhal odborný seminář „Perspektivy léčby konopím: medicína, legislativa, politika.“ Pod záštitou děkana 1. LF UK prof. MUDr. Tomáše Zimy, DrSc., MBA a poslance ODS MUDr. Mgr. Ivana Langeru. Všichni zúčastnění se shodli, že je třeba konopí pacientům zpřístupnit.

16. srpna 2011: Desetičlenný petiční výbor, který byl složen z výzkumných pracovníků, lékařů a zástupců pacientů zveřejnili petici <http://www.lecebnekonopi.cz/>.

3. února 2012: Návrh zákona o legalizaci léčebného konopí byl zaslán vládě ČR.

15. února 2013: Zákon podepsán prezidentem České republiky Václavem Klausem.

4. března 2013: Zákon vyhlášen ve Sbírce zákonů pod číslem 50/2013 Sb.

1. dubna 2013: Zákon o legalizaci užívání léčebného konopí pro léčbu a výzkum vstupuje v platnost, ovšem více než rok se na českém farmaceutickém trhu neobjevuje ani miligram léčebného konopí. Jediný hromadně vyráběný léčebný přípravek z konopí dostupný na českém trhu byl dovezen ze zahraničí ve dvou balení zvaný Sativex. Jednalo se o cca třítydenní dávku pro jednoho průměrného pacienta s roztroušenou sklerózou.

12. ledna 2018: „České konopí“ se stále v lékárnách neobjevuje. Firma Annabis Medical dovezla léčebné konopí z Kanady od firmy Tilray. Prodejní cena drůdy s 16% THC byla okolo 200 Kč/g sušiny a vyváženější odrůda 10% THC: 10% CBD stála okolo 250 Kč/g.

25. června 2018: „České konopí“ už v lékárnách je. Stálo cca 180 Kč/g.

1. ledna 2019: V ČR je 58 lékařů, kteří jsou oprávněni předepisovat léčebné konopí.

1. února 2019: Počínaje tímto dnem je pacientům dostupné české konopí pro léčebné účely s obsahem 6 % THC a 7,5 % CBD.

19. srpen 2019: V České republice je celkem 104 lékařů, kteří mají oprávnění předepisovat konopí pro léčebné účely (Landa et al 2020).

3.5 Legislativa ve světě

Kromě České republiky je léčebné konopí legální v dalších 20 zemích EU, v 6 evropských zemích, které nejsou členy EU a 16 neevropských zemí. Argentina, Austrálie, Rakousko (pouze přípravky z konopí, nikoliv konopí jako takové), Belgie (stejně omezení jako v Rakousku), Kanada, Chile, Kolumbie, Chorvatsko, Kypr (jen pro pacienty s rakovinou), Česká republika, Dánsko, Estonsko (se speciálním povolením), Finsko, Gruzie, Německo, Řecko, Irsko, Izrael, Itálie, Jamajka, Lucembursko, Makedonie, Malta, Mexiko, Nizozemsko, Nový Zéland (jen přípravky z konopí), Norsko, Peru, Polsko, Portugalsko, San Marino, Slovinsko (jen léčebné přípravky z konopí), Jižní Afrika, Španělsko, Srí Lanka, Švýcarsko, Thajsko, Turecko (jen léky, připravené z konopí), Spojené království Velké Británie a Severního Irska, Uruguay, Vanuatu, Zimbabwe (Landa et al 2020).

V USA sestává zvláštní stav, kdy federální zákonodárství za držení, byť i malého množství marihuany, nařizuje přísné tresty a zákonodárství 33 federálních států (plus Washington) konopí pro léčebné účely povolují. Jsou stanovená pravidla, obvykle je to výdej na předpis, kdy si pacient hradí plnou cenu konopí nebo výrobku z něj. Dalších 11 federálních států povoluje výrobky léčebného konopí za přísnějších pravidel (hlavně co se týče obsahu THC). Takže z celkových 50 amerických federálních států 44 států, Washington a 4 z 5 obydlených teritorií národní legislativa povoluje užívání léčebného konopí, a to v rozporu s federálními zákony (Landa et al 2020).

Nepsychoaktivní konopí bohaté na vlákninu, olej a semena je legálně pěstováno ve 25 zemích (Austrálie, Rakousko, Kanada, Chile, Čína, Dánsko, Egypt, Finsko, Francie, Německo, Velká Británie, Maďarsko, Indie, Nepál, Polsko, Portugalsko, Rumunsko, Rusko, Slovinsko, Jižní Korea, Španělsko, Švýcarsko, Thajsko a Ukrajina) (European Parliament Newsletter 2019). Spotřeba a prodej rekreačního konopí jsou povoleny pouze v Uruguay od roku 2013 a v Kanadě od roku 2018 (Chouvy 2016).

3.6 Biologicky aktivní látky

Celkem bylo v konopí identifikováno přes 1000 chemických složek. Některé z nich jsou primární metabolity rostliny jako například aminokyseliny, mastné kyseliny a steroidy, zatímco kanabinoidy, což je specifická skupina látek vyskytující se pouze v konopí, flavonoidy, terpeny, lignany, stilbenoidy a alkaloidy jsou sekundárními metabolity. Každý kmen obsahuje tyto látky, které se vzájemně ovlivňují, v konkrétních kombinacích (Borille et al 2017).

Této synergie se využívá při léčbě konopím. Například studie Pagano et al (2016) zjistila, že surové extrakty z konopí se zvýšenou koncentrací kanabidiolu (CBD) jsou na zvířecím modelu při snižování zánětu v gastrointestinálním traktu účinnější než izolovaný CBD.

Obsah dvou hlavních kanabinoidů tetrahydrokanabinolu (THC) a CBD můžeme rozdělit do tří chemotypů. Chemické fenotypy neboli chemotypy, mohou být užitečné při klasifikaci konopí buď jako odrůdy pro lékařské účely nebo pro využití při zpracování vláken a ve výživě. Úřad OSN pro drogy a kriminalitu kategorizuje konopí do 3 chemotypů. Kategorizuje se to na základě podílu THC a CBN ve vztahu k CBD (Rovnice 1) (Drugs 2009).

$$X = \frac{[THC] + [CBN]}{[CBD]}$$

Rovnice 1 Určení chemotypu kultivaru (Hilling&Mahlberg 2004)

Kultivary chemotypu 1, které v sušině květenství obsahují THC >0,3 % a CBD <0,5 % se používají v medicíně. Chemotyp 2 má podíl THC a CBD přibližně stejný a chemotyp 3, který má obsah THC <0,3 % a obsah CBD převládá, se používají ve výživě a pro zpracování vláken. Tato chemotaxonomická analýza je tedy užitečná, pokud chci odlišit kultivary používané buď pro svá vlákna nebo léčebné látky na základě přijatelných hladin THC stanovené regulačními orgány (Hilling & Mahlberg 2004).

Později byly identifikovány další dva chemotypy a to chemotyp 4 s obsahem CBG >0,3 % a CBD >0,5 % a chemotyp 5, kde je většina kanabinoidů v zanedbatelném množství (Pacífico et al 2008).

3.6.1 Biosyntéza kanabinoidů

Kanabinoidy vznikají převážně ve žláznatých trichomech. Biosyntéza začíná vytvořením 2 kanabinoidních prekurzorů – olivetolové kyseliny a geranylfosfátu, které spolu kondenzují za přítomnosti geranyltransferázy a kanabigerolové kyseliny (CBGA), která je substrátem pro vznik kanabidiolové kyseliny (CBDA), delta-9-tetrahydrokanabinolové kyseliny (THCA) a kanabichromenové kyseliny (CBCA) pomocí CBDA syntázy, THCA syntázy a CBCA syntázy. THC, CBD, kanabigerol (CBG) a kanabichromen (CBC) vznikají dekarboxylací ze svých kyselin (Sanchez & Verpoorte 2008).

Je tedy důležité si uvědomit, že *C. sativa* neprodukuje THC, CBD a další, ale jedná se spíše o prekurzory obsahující karboxylovou kyselinu (ElSohly & Slade 2005). Hlavní kanabinoidy jsou tedy sytetyzovány ve formě karboxylových kyselin a poté mohou být dekarboxylovány během skladování vlivem tepla a světla (Hilling & Mahlberg 2004). Studie Russo (2017) uvedla, že CBD může izomerovat na THC za podmínek in vitro a kyselého prostředí, ovšem zatím neexistuje žádný důkaz, že k tomu může dojít u lidí.

3.6.2 Kanabinoidy

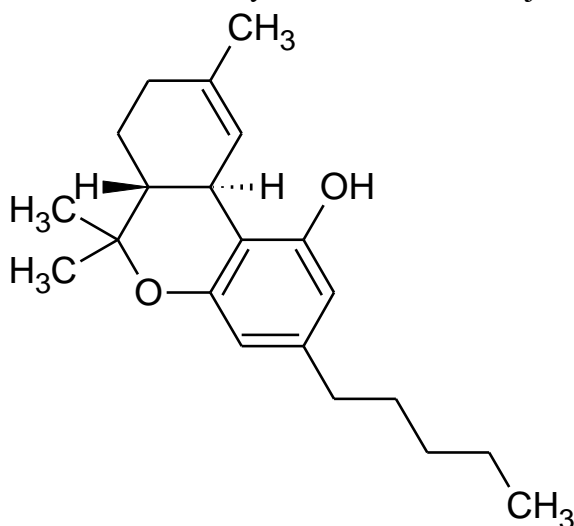
Termín kanabinoidy je používán k označení skupiny sloučenin, které se vyskytují v konopí a jsou pro něj specifické. Celkem je známo 177 kanabinoidů o 21–22 uhlících, které byly izolovány z konopí (Setzer 2020). Russo (2017) uvádí, že se kanabinoidy tvoří ve stoncích (0,02 %), listech (0,06 %), oplodněných květech (13 %), neoplodněných květech (30 %) a ve žláznatých trichomech (60 %). Semena a kořeny téměř žádné kanabinoidy neobsahují. Namdar et al (2018) dokonce zjistili, že vyšší podíl kanabinoidů se nachází v květenstvích, které jsou nejvyšší, a naopak menší podíl je v květenstvích, které se nachází ve spodní části rostliny.

Fytokanabinoidy se vyskytují nejen v konopí, ale i v jiných rostlinných druzích jako například druhy *Echinacea*, *Acmellaoleracea*, *Helichrysumumbraculigerum* nebo *Radula marginata* (Beurer 2008). Fytokanabinoid THC je nejznámější kanabinoid díky svým

psychoaktivním účinkům. Vykazuje ale i intoxikační účinky. Ostatní fytokanabinoidy většinou nejsou opojné, mají schopnost vedlejší účinky THC zmírňovat a naopak jeho terapeutickou aktivitu zvyšují. Nejznámější je kanabidiol, dále kanabigerol, kanabivarin nebo kanabichromen (Setzer 2020).

3.6.2.1 Delta-9-tetrahydrokanabinol (THC)

THC (obrázek 4) je hlavní psychoaktivní a nejvíce studovanou molekulou v konopí. Kvůli jeho schopnosti spojit se s kanabinoidními receptory CB1 a CB2 nacházející se v centrálním nervovém systému nebo v imunitním systému, dokáže ovlivnit chuť k jídlu, bolest, spasticitu a náladu u lidí. Jeho účinky jsou přikládány i k tomu, že dokáže působit jako bronchodilátor (lék, který rozšiřuje průdušky), neuroprotektor a má dokonce až 20× vyšší protizánětlivou účinnost než aspirin (Russo 2017). Ovšem má i své nevýhody a to takové, že při dlouhodobém užívání konopí s vysokým obsahem THC způsobuje psychotické účinky, úzkost, nedostatek paměti a může vést až ke zvýšenému riziku rozvoje schizofrenie (Bhattacharyya et al 2010).



Obrázek 4 Vzorec delta-9-tetrahydrokanabinolu

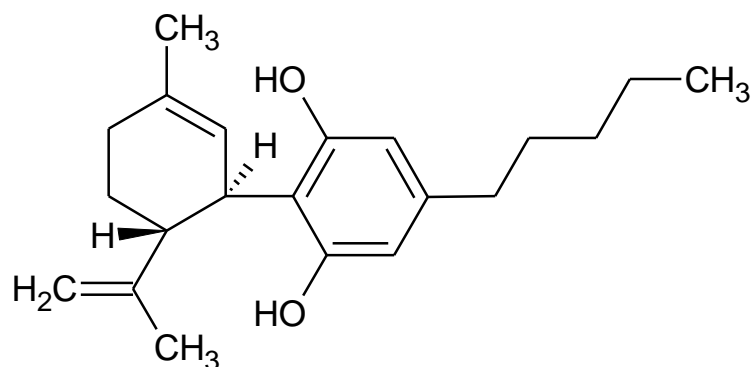
3.6.2.2 Kanabidiol (CBD)

CBD (Obrázek 5) a jeho prekurzor CBDA je jeden z nejrozsáhleji zkoumaných fytokanabinoidů přítomných v konopí. Poprvé byl z konopí izolován v roce 1940 (Mechoulam & Hanuš 2002).

Běžně se s CBD setkáme ve formě oleje, kdy se extrahuje z usušených květů a listů pomocí organického rozpouštědla (ethanol, petrolether a další) nebo v současné době preferovaným způsobem extrakce pomocí oxidu uhličitého (CO₂). Výsledný produkt obsahuje včetně CBD i další metabolity jako například terpeny, flavonoidy a THC v závislosti na použitém kmeni. Na rozdíl od konopného oleje extrahujícího se z konopného semene, který je bohatý na bílkoviny, mastné kyseliny a obsahuje nízké množství fytokanabinoidů. Podle Světové zdravotnické organizace (WHO) je CBD bezpečný a není kategorizován jako droga, a proto není ani jako droga regulován (Fitzcharles et al 2020).

Ačkoliv má CBD omezenou afinitu ke kanabinoidním receptorům a dokáže inhibovat vazbu THC na receptory, přispívá k léčbě mnoha chorob jako například symptomů Huntingtonovy choroby, Alzheimerovy choroby, pomáhá při chronické nespavosti, proti epilepsii a působí protizánětlivě (Conrad 2007). Dalším pozitivním přínosem CBD je, že je antibakteriální a působí silně antimykoticky proti bakterii *Staphylococcus aureus* (Apendino et al 2008). Také se předpokládá, že dokáže potlačit funkci enzymu amidhydroláza mastných kyselin (FAAH), což je molekula zodpovědná za ničení a rozklad ananamidu (AEA). Tato reakce vede k tomu, že v lidském organismu zůstane více AEA a po delší dobu. Tato sloučenina je interně vyráběná chemická látka, která má pozitivní vliv na spaní, úlevu od bolesti a stravování (Borille et al 2017).

Ve světě je zájem o konopí a CBD soustředěný kolem možných účinků při zmírňování závislosti na opioidech, jako alternativa při léčbě opioidy a při léčbách zmírňující bolest (Vandolah et al 2019).

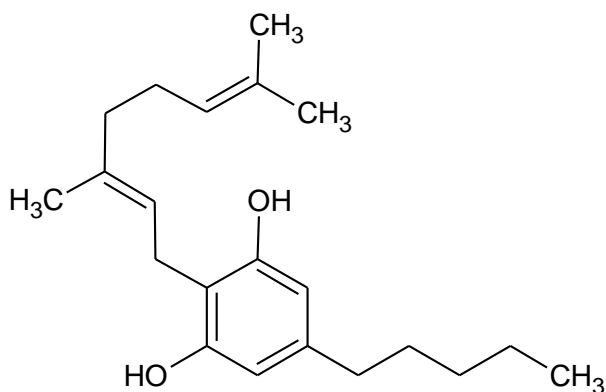


Obrázek 5 Vzorec kanabidiolu

3.6.2.3 Kanabigerol (CBG)

Fytokanabinoid CBG (Obrázek 6) byl první izolovanou sloučeninou z konopí. O těchto nepsychoaktivních sloučeninách CBG i CBC je zatím známo méně v porovnání s výzkumy na THC a CBD. Výzkumy příznivých účinků CBG a CBC na lidské zdraví byly většinou prováděné na potkanech a myších (ElSohly & Slade 2005).

V rostlinách konopí najdeme CBG v nízkých koncentracích, ale u některých vzácných chemotypů je koncentrace CBG větší než 0,3 % (ElSohly & Slade 2005). CBG má relativně slabý antagonistický účinek na kanabinoidní receptory CB1 a CB2, ovšem dokáže stimulovat aktivitu alfa-2-adrenoreceptorů, které jsou důležité pro pocit bolesti, citlivost na teplo a zánět. Může také stimulovat serotonin, který vyvolává pocity pohody a štěstí, kdy se naváže na 5hydroxytryptaminový receptor a CB1 receptory. Nebo může mít na tento hormon naopak antagonistický dopad (Cascio et al 2010). Beak et al (1998) a Ligresti et al (2006) zjistili, že CBG dokáže snižovat proliferaci buněk v nádorových buněčných liniích ve studiích in vitro. Studie in vitro prokázaly antidepresivní a protizánětlivé účinky (Andree et al 2016).



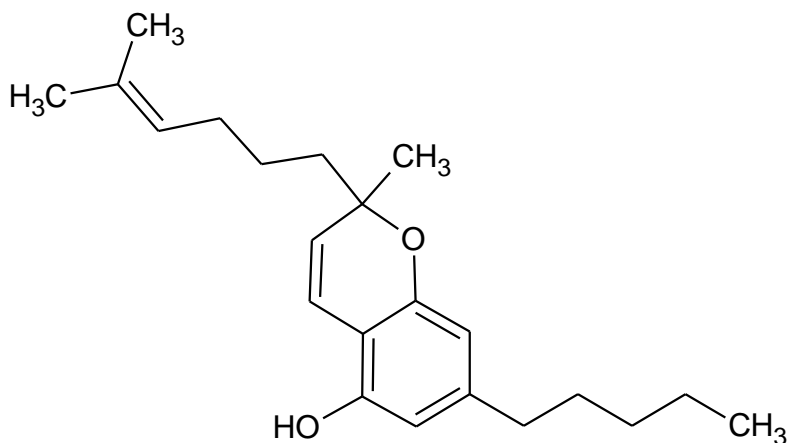
Obrázek 6 Vzorec kanabigerolu

3.6.2.4 Kanabichromen (CBC)

Kanabichromen (Obrázek 7) představuje v konopí asi 0,3 %. Existují ale i odrůdy, které mají daleko vyšší obsah CBC (Meijer & Hammond 2009).

CBC v roce 1966 izolovali dva pánové Gaoni a Mechoulam (Gaoni & Mechoulam 1966). Prekurzorem je CBCA, která je přítomná spíše u mladších rostlin konopí a její obsah klesá s jejím zráním. CBC byl také detekován u rostliny *Rhododendron anthopogonoides* (Andree et al 2016).

Je to kanabinoid, který vykazuje protizánětlivé účinky a v kombinaci s THC se tyto účinky zvyšují (DeLong et al 2010). In vitro studie na myších Davis & Hatoum (1983) potvrzuje analgetické a sedativní účinky a studie Izzo et al (2012) uvádí, že CBC snižuje hypermobilitu ve střevě, která je vyvolaná krotonovým olejem.



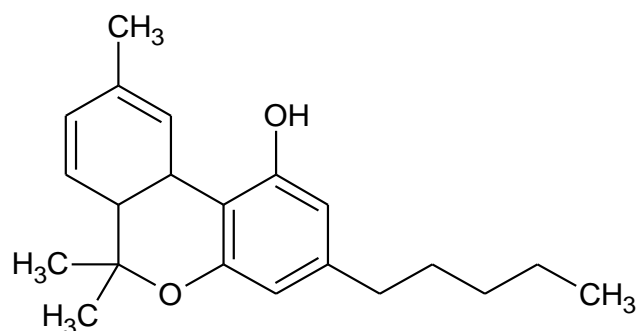
Obrázek 7 Vzorec kanabichromenu

3.6.2.5 Kanabinol (CBN)

CBN (Obrázek 8) je neenzymatický vedlejší produkt oxidace THC. Výskyt CBN závisí na stáří rostliny a je ovlivněn skladovacími podmínkami. Jeho koncentrace v listech se

pohybuje mezi 0,1-1,6 %. Andree et al (2016) uvádí, že po jednom roce skladování při 4 °C ve tmě degraduje 21,6 % THC na CBN. Průměrná míra transformace každé 3 měsíce je cca 4,4 %.

CBN nebyl doposud extenzivně zkoumán a neexistuje mnoho studií v porovnání s ostatními kanabinoidy. S ohledem na endokanabinoidní systém má CBN 2× nižší afinitu k receptoru CB1 a 3× vyšší afinitu k receptoru CB2 oproti THC, z toho vyplývá, že CBN ovlivňuje více imunitní systém než centrální nervovou soustavu (Migliarini & Carnevali 2008). Ve studiích na zvířatech a u lidí prokázal sedativní a antikonvulzivní účinky (Appendino et al 2008).



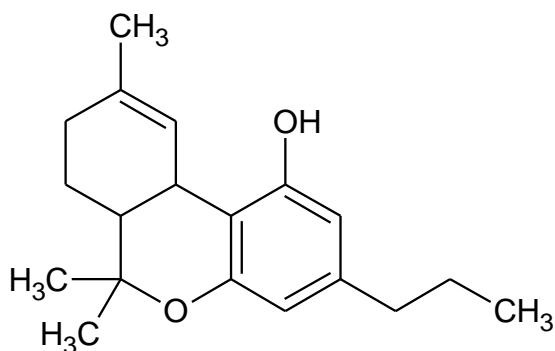
Obrázek 8 Vzorec kanabinolu

3.6.2.6 Tetrahydrokanabivarin (THCV)

Jedná se o nepychotropní fytokanabinoid. Tetrahydrokanabivarin (Obrázek 9) je propylový homolog THC, který byl identifikován na počátku 70. let (Gill et al 1970).

THCV a THC sdílí podobné vlastnosti (THCV s menší účinností), ale existuje mezi nimi několik rozdílů (Pertwee 2007). Experimentální studie zjistili, že THCV má schopnost potlačovat chuť k jídlu, což je jeden z rozdílů mezi THCV a THC (Riedel et al 2007), dále zmírňuje nevolnost (Rock et al 2013), ovlivňuje stahy močového měchýře (Pagano et al 2015), zlepšuje citlivost na inzulín (Wargent et al 2013) a je účinný k potlačení záchvatů paniky, což by mohlo být řešení pro jedince s posttraumatickou stresovou poruchou nebo jinými úzkostnými poruchami (Bolognini et al 2010).

Výsledky studie Thomas et al (2005) ukázaly, že THCV vykazuje antagonistické působení na receptory CB1 a CB2 u celé myši. Také se předpokládá, že za určitých podmínek může THCV a CBD „antagonizovat“ účinky THC.



Obrázek 9 Vzorec tetrahydrokanabivarinu

3.6.3 Terpenické sloučeniny

Druhá třída sekundárních metabolitů s vysokým počtem sloučenin a ještě větší chemickou rozmanitostí vzniká stejně jako kanabinoidy v konopných žláznatých trichomech samičích květenství. Sloučeniny silice se rozdělují na 3 hlavní skupiny chemických sloučenin. První skupinou jsou terpeny a terpenoidy (terpeny jsou uhlovodíky a terpenoidy jsou terpeny obsahující kyslík), druhou jsou dusíkaté a sírné sloučeniny a třetí aromatické sloučeniny derivátů fenypropanu. Terpenoidy se dále mohou rozdělit na majoritní a minoritní mono- a seskviterpeny (Jordan et al 2019). K nejznámějším monoterpenům řadíme β -myrcen, α -pinen, β -pinen, limonen, α -terpinen nebo linalol. Do skupiny seskviterpenů patří například β -karyofylen, karyofylen oxid, α -humulen, α -kurkumen, nerolidol, α -selinen, α -guainen a další. Název terpen navrhl v roce 1866 A. Kukulé (Kukulé 1866).

Terpeny jsou hlavní složkou pryskyřice rostliny a éterických olejů. Dodávají konopí charakteristickou vůni, která může pomáhat při rozlišení jednotlivých odrůd. Konopná rostlina obsahuje až 200 různých druhů. Předpokládá se, že terpenoidy mají terapeutický účinek na lidský organismus stejně jako kanabinoidy. Tyto účinky se zvyšují, když jsou terpenoidy v synergii s kanabinoidy (Namdar et al 2018).

Tyto téžavé sloučeniny se řadí mezi lipofilní látky. Mají různá místa působení včetně neurotransmiterových receptorů, svalů, enzymů, neuronových iontových kanálů, buněčných membrán a dalších. Dokáží také ovlivnit vazbu THC na receptor CB1 a spolupůsobit s jinými receptory neurotransmiterů přispívajících k účinkům analgezie, které jsou zprostředkované kanabinoidy (Russo 2011). In vitro studie Buchbauer et al (1993) naznačila přímý farmakologický účinek terpenoidů na mozek, kdy myši vdechovaly terpenoidní pachy z okolního vzduchu po dobu jedné hodiny.

3.6.3.1 Monoterpeny

β -myrcen

Jedná se o nejmenší, ale nejrozšířenější monoterpen. Najdeme ho téměř ve všech genotypech konopí. Má antipsychotické, analgetické, antioxidační, protizánětlivé, sedativní a protinádorové účinky (Zaklin 2018; Gulluni et al 2018; Jansen et al 2019; Koziol et al 2014).

α -pinen

α -pinen je bicyklický monoterpen. Inhibuje acetylcholinesteral. Má tak pozitivní účinky na paměť a mohl by působit proti paměťovým deficitům, které vyvolává THC (Kennedy et al 2011).

β -pinen

Tento monoterpen se běžně vyskytuje ve spojení s α -pinenem. Studie Rivas da Silva et al (2012) prokázala, že má stejnou antibiotickou účinnost jako jeho izomer α -pinen proti *Staphylococcus aureus*.

Limonen

Biologickou aktivitu má i D-limonen, který se běžně vyskytuje v citrusových éterických olejích a vykazuje silné protirakovinné a imunostimulační účinky u lidí (Komori et al 1995). Byl předložen patent, který tvrdí, že limonen úspěšně léčí gastroezofageální reflex (zpětný tok žaludečního obsahu do jícnu) (Harris 2010).

α -terpinen

Je hlavní obsahovou složkou čajovníku (*Melaleuca alternifolia*), zatímco v konopí se vyskytuje v nízkých koncentracích. In vitro studie Tisserand & Young (2014) prokazuje, že inhiboval oxidaci LDL cholesterolu a linolové kyseliny.

Linalol

Jedná se o monoterpenoidní alkohol běžně se vyskytující u levandule (*Lavandula angustifolia*). Studie Russo (2011) uvádí zajímavost, že terpenoid linalyl-acetát přítomný v levanduli hydrolyzuje na linalol v žaludečních sekrecích. Linalol taky prokázal sedativní účinky u myši při jeho inhalaci (Buchbauer et al 1993).

3.6.3.2 Seskviterpeny

β -karyofylen

Další důležitou sloučeninou je β -karyofylen. Snad jeho největším odhalením bylo, že spolupůsobí s endokannabinoidním systémem tak, že se selektivně váže na receptor CB2, a proto by mohl být technicky považován za fyto cannabinoid (Gertsch et al 2008). Má řadu účinků jako například gastroprotektivní, analgetické, protirakovinné, antifungální, antibakteriální, antidepresivní, antioxidační a další. Dokonce přítomnost β -karyofylenu v mnoha éterických olejích může přispět k jejich antivirové schopnosti (Francomano et al 2019).

Karyofylen oxid

Jedná se o seskviterpenový oxid běžný pro meruňky (*Melissa officinalis*). V Rostlině slouží jako insekticid a vyznačuje se hlavně tím, že slouží jako indikátor pro speciálně cvičené psi k identifikaci konopí jako drogy (Stahl & Kunde 1973).

α -humulen

Tvoří hlavní složku chmelu (*Humulus lupulus*). α -humulen poskytuje rostlinám a jejich produktům určitou ochranu, jelikož dokáže zabránit páření ovocných mušek (Shelly&Nishimoto 2015).

Nerolidol

Je seskviterpenový alkohol, u kterého byly prokázány sedativní účinky (Binet et al 1972). Není toxický ani senzibilizující. V malých množstvích je přítomný v pomerančových a jiných citrusových slupkách (Lapczynski et al 2008).

3.6.4 Další významné sloučeniny

3.6.4.1 Flavonoidy

Listy konopí obsahují asi 1 % z celkových flavonoidů a to zejména apigenin a kvercetin (Russo 2017). Kromě toho, že hrají významnou roli ve fotosyntéze, dýchání a obraně rostlin, jsou tyto sloučeniny v konopí zodpovědné za chuť a vůni a jsou jedny z hlavních sloučenin, které najdeme v rostlinách včetně konopí. Bylo popsáno asi 20 sloučenin vyskytujících se v konopí, což představuje 7 chemických struktur, které mohou být buď glykosilované, prenylované nebo methylované. Kanaflavin A a kanaflavin B, které jsou pro konopí specifické, jsou methylované izoprenové flavony (Sanchez & Verpoorte 2008).

Prenylovaný postranní řetězec kanaflavinu A a B je buď ve formě geranylové (C10) nebo dimethylallylové (C5) skupiny navázané k poloze 6 flavonového A-kruhu. Tyto skupiny poskytují základnímu flavonu lipofilitu. Předpokládá se, že lipofilita má schopnost zvyšovat absorpci a bioakumulaci do buněk a podporuje interakci s membránově vázanými receptory a enzymy (Vochyánová et al 2017). K lipofilitě také přispívá, že jsou methoxy skupinou modifikovány v poloze 3 flavonového B-kruhu, ovšem v jakém pořadí tyto dvě modifikace (prenylace a methoxylace) probíhají, aby se biosyntetizovaly kanaflaviny A i B, však není dosud známo (Rea et al 2019).

3.6.4.2 Stilbenoidy

Je to skupina fenolických sloučenin, které hrají roli například v obraně rostlin (Chiron et al 2000), inhibici růstu (Gorham 1980), působí jako repelent proti hmyzu (Hillis&Inoue 1968) a dokonce vykazují antioxidační (Stivala et al 2001), antibakteriální a antifungální aktivitu (Vastano et al 2000). Z konopí byly izolovány stilbenoidy (nebo také stilbeny) jako například spirany, fenantrény nebo bibenzoly ze stonku, listů a pryskyřice (Sanchez & Verpoorte 2008).

3.6.4.3 Dusíkaté sloučeniny

V konopí bylo podle studie Turner et al (1980) identifikováno několik desítek kvartérních bází. V roce 1887 E. Jahns provedl první identifikaci a izolaci dusíkaté látky, a to cholinu z vodního extraktu konopí indického. Další byl izolován například trigonelin (Claussen et al 1966), muskarin (Gaoni & Mechoulam 1966), isoleucinbetain (Budzikiewicz et al 1965) nebo neurin (Shoyama et al 1968). Celkem jsou přítomny pouze 2 alkaloidy, 8 amidů a 12 jednoduchých aminů jako například ethylamin, hordenin, methylamin, piperidin, pyrrolidina další (Elsohly & Mahmoud 2007).

3.6.4.4 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (MK) jsou především hojně zastoupené v oleji, který se získává z konopných semen a jejich zastoupení se nijak neliší s konopím obsahujícím více nebo méně THC. Je známo 33 různých mastných kyselin v konopí, z nichž jsou nejvíce zastoupené linolová (53–60 % z celkového obsahu MK), α -linolenová (15–25 %) a olejová kyselina (8,5–16 %). Další nenasycené mastné kyseliny jsou γ -linolenová (1–4 %), stearidonová (0,4–2 %), eikosanová (<0,5 %), cis-vakcenová a isolinelonová kyselina. Z nasycených MK v konopí najdeme palmitovou kyselinu (6–9 %), stearovou (2–3,5 %), arachidonovou (1–3 %), behenovou (<0,3 %), myristovou, kapronovou, heptanovou, kaprylovou, laurovou, nelargovou a další kyseliny (Leson et al 1999).

3.6.4.5 Sacharidy

Důležitou skupinou jsou sacharidy. Konopí obsahuje 13 monosacharidů (fruktózu, galaktózu, arabinózu, manózu, glukózu, ramnózu atd.), 2 disacharidy (maltózu a sacharózu) a 5 polysacharidů (celulózu, hemicelulózu, pektin, rafinózu a xylan). Obsahuje 12 cukerných alkoholů a cyklitolů (glycerol, manitol, sorbitol, inositol atd.) a 2 aminoskupiny (galaktosamin a glukosamin) (Elsohly & Mahmoud 2007).

3.6.4.6 Proteiny

Velmi kvalitní zásobní proteiny edestin a albumin obsažené v konopí jsou snadno stravitelné a bohaté na všech 8 esenciálních aminokyselin v příznivém poměru. Další dva detekované proteiny jsou zeatin a zeatin nukleosid. Dokonce byla z konopných semen izolována bílkovina bohatá na methionin a cystin (protein 10 kDa), a proto také roste potenciál proteinů z konopí pro použití jako zdroje proteinové výživy (Turner et al 1980).

3.7 Léčebné konopí

3.7.1 Endokanabinoidní systém

Kanabinoidní receptory a enzymy odpovědné za jejich biosyntézu a degradaci tvoří tzv. endokanabinoidní systém. Fyziologické a biochemické procesy řízené tímto systémem jsou

například metabolismus lipidů a sacharidů, aktivita hepatocytů, adipocytů a endokrinní části slinivky břišní, správný pre- a postnatální vývoj a v neposlední řadě také funkce imunitního systému a průběh procesu zánětlivé reakce (Mechoulam et al 2014).

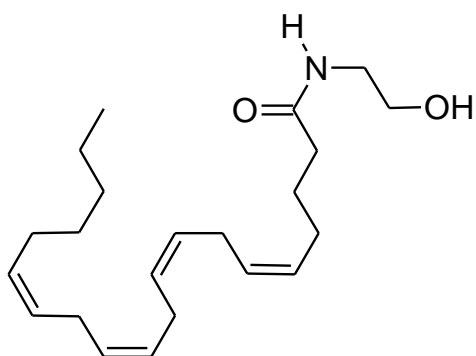
Dosud byly studovány dva kanabinoidní receptory: CB1 a CB2. Receptory CB1 se nacházejí převážně v centrálním nervovém systému v nervových buňkách, ale také v periferních nervových zakončeních a jiných tkáních včetně dělohy, prostaty, varlat, žaludku, kosterním systému nebo vaskulárním endotelu a mají schopnost všudypřítomné distribuce. Receptory CB2 mají oproti receptorům CB1 distribuci omezenější. Nachází se hlavně v imunitním systému, v buňkách a tkáních. Bylo však prokázáno, že receptory CB2 jsou v centrálním nervovém systému přítomny také, ale pouze v gliových buňkách (Kendall & Yudowski 2016).

3.7.2 Léčivé účinky

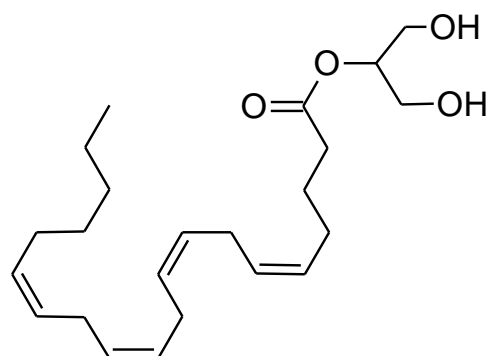
Léčebné účinky konopí se využívají již od starověku. Například v tradiční čínské medicíně se využívalo konopí k léčbě astmatu, malárie, dny a v Indii na neuralgii, křeče nebo migrénu. V 19. století se léčebné konopí stalo velmi populární v Evropě a USA, kde se používaly ethanolové extrakty z konopí známé jako konopné tinktury k léčbě různých poruch například křeče u kojenců, tetanus, cholera a vzteklna. Ty se však v první polovině 20. století přestaly používat v důsledku neschopnosti připravit standardizované konopné přípravky (Kalant 2001). Konopí jako lék byl v roce 1937 v USA zakázán a zmizel z lékopisů po celém světě. V roce 1950 objevil Z. Krejčí z Českosloveska antibiotický princip konopí a tím se tato rostlina začala používat klinicky v nemocnicích. Objevuje se první izolovaný kanabinoid – kanabidiolová kyselina, která je odpovědná za tento účinek (Krejčí 1950).

Existují 3 typy kanabinoidů: endokanabinoidy, které se syntetizují v lidském těle a jsou odvozené z membránových fosfolipidů, fytoKANABINOIDY produkované konopím a syntetické kanabinoidy, které se syntetizují uměle. Dnes pojem kanabinoidy nezahrnuje jen rostlinné kanabinoidy (fytoKANABINOIDY), ale také endokanabinoidy a syntetické analogy obou skupin. Za nejdůležitější endokanabinoidy se považují N-arachidonoylethanolamin, známý jako anandamid (Obrázek 10) a 2-arachidonoil glycerol (Obrázek 11) (Fraguas-Sánchez et al 2016). Kanabinoidy obsažené v konopí mají regulační účinek na endokanabinoidní systém u lidí a to tím, že se dokážou navázat na receptory CB1 a CB2 a mohou pozitivně ovlivnit mnoho psychopatologických procesů. Výsledkem je, že změny hladin endokanabinoidů mohou souviset například s neurologickými onemocněními jako je Parkinsonova choroba, Huntingtonova choroba, Alzheimerova choroba a roztroušená skleróza. Změny v endokanabinoidním systému byly spojeny také s rakovinou, migrací a invazí některých nádorů a ovlivněním jejich růstu. Kanabinoidy byly testovány na několika typech rakoviny jako rakoviny mozku, prsu a prostaty. Ukázaly se jako slibná analgetika pro léčbu zánětlivých onemocnění. Existují důkazy, že by endokanabinoidní systém mohl hrát roli při kontrole emočních stavů a mohl by být prospěšný při zmírňování symptomů posttraumatické stresové poruchy. Tímto velkým terapeutickým potenciálem se zabývá mnoho klinických studií, dokonce některé léky na bázi kanabinoidů již byly v některých zemích schváleny (Bridgeman & Abazia 2017).

Mezi ně patří například dronabinol[®], což je syntetická formulace THC a konzumuje se ve formě tekuté nebo tobolek a nabilon[®], který je konzumován v kapsích. Tyto dva léky byly v roce 1985 schváleny americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) na nevolnost a zvracení doprovázející chemoterapie. Dronabinol[®] dokonce získal druhou indikaci stimulace chuti k jídlu při AIDS v roce 1992. Kanabidiol byl v roce 2018 schválen pro léčbu záchvatů spojených s Lennox-Gastautovým a Dravetovým syndromem. Dále FDA schválila přípravek zvaný Epidiolex[®], ve kterém je obsažena čistá forma léčivé látky CBD a slouží pro léčbu záchvatů. Nabiximols[®] je orální sprej obsahující THC a CBD a v Kanadě je schválen pro spasticitu u roztroušené sklerózy. FDA schválila také léky Marinol[®] a Syndros[®] pro terapeutické použití obsahující účinnou látku dronabinol a syntetické THC. Dosud nebyla schválena aplikace konopí pro léčbu nemoci nebo stavu a nebylo určeno, že konopí je bezpečné a účinné pro jakoukoli konkrétní chorobu. Produkty THC a CBD také nemohou být prodávány jako doplňky stravy, a proto je vyloučila z definice doplňků stravy (U.S. Food and Drug Administration 2021).



Obrázek 10 Vzorec anandamidu



Obrázek 11 Vzorec arachidonoylglycerolu

3.7.2.1 Onkologická onemocnění

Použití konopí pro léčbu různých příznaků souvisejících s rakovinou, včetně bolesti, kachexie, úzkosti, nevolnosti a zvracení vyvolaných chemoterapií se ve světě neustále zvyšuje. Za nejvíce klinicky relevantní se považují THC a CBD. S přihlédnutím k veškeré dostupné literatuře v této době experimentální důkazy (získané in vitro, in vivo a některé klinické studie) podporují, že THC a CBD mají lepší protirakovinnou aktivitu než ostatní kanabinoidy (ElSohly et al 2017), ovšem THC se na tyto receptory dokáže vázat silněji a CBD má vazebnou afinitu nižší (Russo 2017).

Rakovina prsu

Rakovina prsu je nejčastější příčina úmrtí u žen v rozvojových zemích a druhá nejčastější příčina úmrtí u žen ve vyspělých zemích. Studie Sultan et al (2018) prokázala, že CBD dokáže vyvolat apoptózu v buněčných liniích rakoviny prsu.

Rakovina prostaty

Tento druh rakoviny je vysoce rozšířen ve většině zemí světa. Rakovina prostaty je riziková, jelikož k diagnostice dochází až v pozdějších stádiích. Studie in vitro De Petrocellis et al (2013) v British Journal of Pharmacology předložili důkazy, že kanabinoidy (zejména CBD) jsou silnými inhibitory životaschopnosti karcinomu prostaty.

Rakovina tlustého střeva

Rakovina tlustého střeva je třetí nejčastější druh rakoviny postihující čím dál větší množství populace. Studie Honarmand et al (2019) zkoumala účinky CBD u myši s rakovinou tlustého střeva, kdy CBD vyvolal apoptózu a snížil buněčný pleomorfismus. Potvrzuje také fakt, že CBD lze potenciálně považovat za lék proti tomuto druhu rakoviny, protože působí inhibičně na růst nádoru a metastázy.

Gliom

Výskyt nádorů na mozku se od počátku 90. let zvýšil o 36 %. Glioblastoma multiforme (GBM) je nejčastější a nej malignější gliom na mozku. Nedávná observační studie, která léčila 9 pacientů s tímto druhem rakoviny, uvedla, že zemřel 1 pacient a dalších 8 mělo medián přežití 22,3 měsíce (rozmezí 7-47 měsíců) (Kenyon et al 2018). Studie Pisanti et al (2013) přišla s výsledky, že kanabinoidy (především CBD a THC) mohou způsobit zastavení buněčného cyklu, působit inhibičně na buněčnou proliferaci rakovinných buněk a vyvolat buněčnou smrt, což vede k prevenci šíření nádoru, zamezení dodávky kyslíku a živin a zastavení angiogeneze prostředí nádoru.

3.7.2.2 Neurologická onemocnění

Parkinsonova choroba (PD)

Parkinsonova choroba je druhou nejčastější neurodegenerativní poruchou. Studie uvádějí souvislosti mezi PD a poraněním hlavy, životem na venkově, obezitou ve středním věku, nedostatkem pohybu a expozicí herbicidům/ insekticidům (Thacker et al 2008; Shihet al 2017). Zatímco u kuřáků a konzumentů kávy je riziko vzniku PD nižší (Allam et al 2004). Studie Lotan et al (2014) prokázala, že konopí bylo pacienty dobře tolerováno, zlepšilo třes, rigiditu, spánek a náladu a mohou za to pravděpodobně složky THC, THCV a CBD.

Alzheimerova choroba (AD)

Patří mezi nejčastější neurodegenerativní onemocnění ve stáří. Struktura, objem mozku a kognitivní výkonnost klesají již 20-30 let před nástupem příznaků. Agitace, což je odborný název pro stav rozrušenosti, je běžným příznakem AD. Léky jako antidepresiva, antipsychotika, antixilyotika a stabilizátory nálady nejsou schválené FDA pro léčbu AD, a proto se lékaři snaží přijít na jiné alternativy. Několik randomizovaných klinických studií (RCT) a případových studií přišly s výsledky, kdy se zlepšilo skóre neuropsychiatrických příznaků (NPS), kanabinoidy byly obecně dobře tolerovány a došlo k minimálním nežádoucím účinkům (Outen et al 2021).

Roztroušená skleróza (MS)

MS je chronická, imunitně zprostředkovaná porucha centrálního nervového systému (CNS) charakterizovaná demyelinizací axonů. Mezi příznaky MS se řadí například spasticita, slabost, bolestivé křeče, dysfunkce močového měchýře, třes, neuritida optického nervu nebo únava. V současné době existují 3 licencované kanabinoidní léky: Marinol[®] (jehož účinná látka je dronabinol), Cesamet[®] (jehož účinnou látkou je nabilon) a Sativex[®] (standardizovaná směs THC a CBD v poměru 1: 1 extrahované z konopí) (Gado et al 2018).

Tabulka 1 Neurologická onemocnění, pro která byla použita léčba založená na konopí (MacCallum & Russo 2018)

Stav	Přípravek	Úroveň důkazů	Druh důkazu
Spasticita roztroušené sklerózy	Nabiximols	průkazná	Fáze 3 RCT, regulačně schváleno
Epilepsie (Dravetův a Lennox-Gastautův syndrom)	Canabidiol (EPIDIOLEX [®])	průkazná	Fáze 3 RCT, regulačně schváleno
Chronická bolest	THC, nabiximols	značná	Fáze 2 RCT
Schizofrenie, pozitivní a negativní symptomy	CBD	značná	Fáze 2 RCT
Poruchy spánku	THC, nabiximols, nabilone	mírná	Fáze 2-3 RCT
Glaukom	THC, konopí	mírná	Fáze 2 RCT
Symptomy dolních cest močových (LUTS)	Nabiximols	mírná	Fáze 2 RCT
Tourettův syndrom	THC, konopí	mírná	Fáze 2 RCT, observační studie
Demence s agitací	THC, konopí	omezená	Observační studie
Symptomy Parkinsonovy choroby	THC, CBD, konopí	omezená	Observační studie
Posttraumatická stresová porucha	konopí	omezená	Observační studie
Sociální fobie	CBD	omezená	Fáze 2 RCT, observační studie

*Fáze 2 RCT – zjištění léčebné účinnosti léku, ověření vhodnosti zvažovaných indikací a zaznamenání případných nežádoucích účinků.

Fáze 3 RCT – fáze potvrzující účinnost a bezpečnost léčiva s velkým počtem pacientů. Fáze je podkladem pro registraci nového léku.

3.7.2.3 Ostatní onemocnění

Kanabinoidy prokázaly, že mají pozitivní účinky i na onemocnění jako epilepsie, artritida, diabetes mellitus 1. typu, onemocnění střev (Crohnova choroba, ulcerózní kolitida), kožní onemocnění (akné), obezita, glaukom a další. Existují studie o tom, že podání homeopatické dávky konopné tinktury může snížit nebo dokonce eliminovat tinitus označující patologické zvonění v uších. Je ale nutné zmínit, že vysoké dávky THC mohou u náchylných osob způsobit psychické potíže (Conrad 2007).

3.8 Metody použité k analýze kanabinoidů konopí

3.8.1 Extrakce

Jedná se o separační metodu, při které dochází k selektivnímu přechodu složky mezi dvěma nemísitelnými kapalinami nebo kapalinou a tuhou fází. Je zde přítomné původní rozpouštědlo, ve kterém je rozpuštěna látka, kterou chceme získat a extrakční činidlo pomocí kterého danou látku získáme. Látka přechází z rozpouštědla do extrakčního činidla na základě rozdílné rozpustnosti a ustanovení rovnováhy mezi fázemi. Cílem je izolovat analyt od matrice vzorku. Ten potom slouží k dalšímu stanovení. Při extrakci směsi kapalných látek je pro úspěšnou separaci důležité, aby se použilo rozpouštědlo o stejné polaritě jako extrahovaná látka. U extrakce pevné fáze a kapaliny je principem metody vyluhování, kdy analyt přechází z pevné směsi látek do rozpouštědla. Pokud je rozpouštědlo laboratorní teploty, extrakce se nazývá macerací a pokud je použito rozpouštědlo o vysoké teplotě, jedná se digesci. Často využívanou extrakcí pevné látky kapalinou je tzv. Soxhletova extrakce (Záruba 2016).

Extrakty z konopí jsou lepkavého, viskozního vzhledu a připomínají svou strukturou med. Účelem jakékoli extrakce z konopí je zpřístupnění kanabinoidů a dalších bioaktivních složek ve vysoce koncentrované formě, proto je důležité před extrakcí rostlinný materiál dobře rozdrtit, aby rozpouštědlo proniklo dostatečně do všech buněk. Jako rozpouštědlo se používá například ethanol (lékařský líh), petrolether, technický benzin atd. Rozpouštědla se následně odpařují (Romano & Hazekamp 2013).

Používaná je také superkritická extrakce oxidem uhličitým (CO₂). V tomto případě je plyn stlačen při tlaku nad jeho kritický tlak a při kritické teplotě. Působí tak jako rozpouštědlo. Takovéto tekutiny se nazývají superkritické tekutiny. CO₂ není oxidační činidlo a má kritickou teplotu 31,1 °C, takže je vhodný pro extrakci termolabilních a snadno oxidovatelných přírodních produktů z různých částí rostliny (Conde-Hernández et al 2017).

3.8.2 Chromatografie

Obecně je chromatografie separační metoda, ve které jsou složky vzorku rozděleny (separovány) na základě rozdílné polarity/ rozpustnosti. Separace probíhá mezi dvěma fázemi – stacionární a mobilní (tou je buď kapalina, nebo plyn). Výsledkem je chromatogram. I když to není spektroskopická metoda, často se kombinuje právě s metodou jako je UV/ Vis spektroskopie nebo hmotnostní spektrometrie (MS). Chromatograf se tedy skládá ze 4

základních částí: vstřikovače vzorků, mobilní fáze, stacionární fáze a detektoru. Chromatografie se primárně rozděluje na kapalinovou chromatografii (LC), u níž je mobilní fází kapalina a plynovou chromatografií (GC), kde je mobilní fází nosný plyn. Obě se používají pro rychlou a účinnou separaci a analýzu komplexních směsí anorganických a organických sloučenin. GC má oproti LC některá omezení. Vzorky u GC musí být pouze v plynném skupenství, s nízkou polaritou a nízkou molekulovou hmotností. Metoda je vhodná hlavně pro nepolární látky například silice, zatímco LC je vhodnější pro spíše polárnější látky, to ale není podmínkou (Miller 2003).

3.8.3 Hmotnostní spektrometrie

Je to metoda analýzy chemických látek, kdy se neutrální molekuly převádějí na ionty pomocí ionizátoru. To je potřeba z toho důvodu, jelikož se pracuje v elektromagnetickém poli a pokud by molekuly byly neutrální, nemůže se s nimi manipulovat, tudíž se nemohou „zvážit“. Ionty se pak rozdělují na základě poměru jejich molekulové hmotnosti a jejich náboje (m/z). Výsledkem je hmotnostní spektrum. Obecně se hmotnostní spektrometr skládá ze 4 částí: ionizátoru, iontové optiky, která vytváří přechod mezi ionizátorem a 3. částí MS analyzátozem a mezi atmosférou a vakuem, protože analyzátor a detektor, což je poslední část MS, jsou umístěné ve vakuu. Nejčastěji se MS spojuje buď s plynovou, nebo kapalinovou chromatografií. Dále se MS může dělit podle typu ionizace na „tvrdé“ a „měkké“ ionizační techniky, kdy „tvrdé“ jsou spojené s GC a používá se vakuum a „měkké“ se pojí s HPLC a jsou za atmosférického tlaku. Existují ještě desorpční a ambientní ionizační techniky. Anebo se dělí podle typu analyzátoru na průletové (kvadrupól, Time of Lite, sektorový analyzátor) a záchytové (sférická a lineární iontová past, cyklotronová rezonance) (Miller 2003).

3.8.3.1 Hmotnostní spektrometrie s plynovou chromatografií (GC-MS)

Metoda GC/MS slouží spíše pro detekci těkavějších sloučenin. Stanovení kanabinoidů pomocí GC je omezenější. Lze jí měřit pouze neutrální kanabinoidy, jelikož kyseliny při zvýšené teplotě používané při GC dekarboxylují za vzniku neutrálních kanabinoidů. Tento problém se může vyřešit derivatizací, která zabrání dekarboxylaci. Každopádně metabolity THC mají často vysoké body varu a derivatizace by dala vzniknout těkavějším formám těchto metabolitů. Častěji se tedy pro stanovení používá LC/MS (Mercieca et al 2020).

3.8.3.2 Hmotnostní spektrometrie s kapalinovou chromatografií (LC/HPLC-MS)

Jedná se o spojení separace látek (LC) s jejich detekcí. Tato metoda je vhodná především pro málo těkavé nebo netěkavé analyty zpravidla o vyšší polaritě a vyšší molekulové hmotnosti. Rozdíl oproti GC/MS je, že analyt vstupuje do MS detektoru rozpuštěný v kapalně mobilní fází a je zde obtížnější až nemožná identifikace na základě knihoven spekter. Řešení tohoto problému obvykle zahrnuje použití technik tandemové hmotnostní spektrometrie jako je trojitý kvadrupól (MS/MS) s režimem MRM.

LC je nejčastější metodou pro stanovení kanabinoidů v konopí. Výhodou je právě analýza bez kroku zahrnující derivatizaci. Další výhodou je práce za nižších teplot, než tomu je tomu u GC (Mercieca et al 2020).

3.8.3.3 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie – tandemová hmotnostní spektrometrie (HPLC-MS/MS)

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie – tandemová hmotnostní spektrometrie patří mezi nejcitlivější separační metody, které jsou určeny ke kvantitativní analýze. Pro detekci kanabinoidů se často využívá HPLC ve spojení s trojitým kvadrupólem v režimu MRM (multiple reaction monitoring). Nejprve se od sebe odseparují látky na základě polariry. Po separaci analytů na HPLC a jejich převedení na ionty pomocí iontového zdroje, jsou ionty vedeny tzv. iontovou optikou, která je seskupí do jednoho paprsku. Ten putuje do prvního kvadrupólu, který propustí pouze zvolenou hmotu m/z = prekurzorový iont. Ta je vedená do kolizní cely, kde dochází k její fragmentaci. Takto vznikají tzv. produktové ionty, které jdou do třetího kvadrupólu, kterým projde pouze specifikovaný produktový iont o dané hmotě m/z . Produktový iont je pak na konci detektorem detekován. Detektorem může být elektronásobič, případně fotonásobič (Cvačka 2010).

4 Materiál a metody

4.1 Biologický materiál

Použité genotypy konopí

Pro analýzu primárních a sekundárních kanabinoidů a jejich kyselin bylo vybráno 10 genotypů (Tabulka 2) léčebného konopí, ze kterých bylo vyrobeno 10 extraktů. Vybrané genotypy konopí jsou nové, dosud nezkoumané, a proto jsou studie na toto téma na samém počátku.

Tabulka 2 Genotypy konopí a jejich charakteristika

Genotyp	Šlechtitel	Rodokmen	Sat/Ind (%)	Vegetace	THC (%)	CBD (%)	Indikace
Critical 2+	Dinafem seeds	Critical+ × ResistantCritical+ pheno	70/30	45-50 dní	20	0,3	Ralaxační, bolest, únava
Critical Hog	T.H. Seeds	The HOG™ × CriticalMass	převážně Indica	8 týdnů	15	—	Relaxační, bolest, nespavost, stres, ztráta chuti k jídlu
Cheese	Dinafem seeds	OldSchool UK Skunk × Afghani	40/60	50-60 dní	9-14	—	Bolest, deprese, úzkost, únava
Gorilla Glue	Fair seeds	Chem'sSister × Chocolate Diesel	50/50	8-9 týdnů	24-26	0,8	Bolest, deprese, stres, úzkost, nespavost
Granddaddy Purple	Blimbur n	PurpleUrkel × Bigbud	převážně Indica	58-68 dní	17	—	Relaxační, bolest, stres, nespavost, ztráta chuti k jídlu
Green Poison	Sweetse eds	Green Poison × Big Devil #2	30/70	7 týdnů	15-20	0,9	Nevolnost, zvracení, anorexie a kachexie, spasticita, poruchy pohybu, bolest, epilepsie, deprese
Forbidden Fruit	Fair seeds	Cherry Pie × Tangie	převážně Indica	9 týdnů	23-26	—	Relaxační, stres, úzkost, chronická bolest, nespavost, bolest hlavy
Chocolope	Fair seeds	ChocolateThai × CannalopeHaze	95/5	65-73 dní	17	0,2	Relaxační, bolest hlavy, celková bolest, deprese, stres
Mango Sapphire	Humboldt SeedOrganisation	OG Afghan × Bubba'sGift	15/85	50-55 dní	21-23	0,1	Bolest hlavy, relaxace, únava, stimulace chuti k jídlu
Tangie	Fair seeds	California Orange × Skunk	80/20	9-10 týdnů	17	—	Stres, deprese, únava, úzkost, bolest

<http://www.tgagenetics.com/>; <https://www.leafly.com/>; <http://en.seedfinder.eu/>

4.2 Chemikálie

Lékařský líh (Penta CZ), 1% kyselina mravenčí (Penta CZ), všechny standardy byly 1 mg čisté látky/ ml methanolu (Sigma-Aldrich, ČR).

4.3 Výroba extraktů

Pro přípravu konopných extraktů bylo použito 10 odrůd léčivého konopí. Usušené homogenizované květenství bylo zalito lékařským líhem v poměru 1:5 (konopí: líh) a umístěno na třepačku po dobu 20 dní. Následně byly konopné extrakty zfiltróvány a přelity do baněk o objemu 250 ml (Obrázek 10).



Obrázek 10 Zfiltróvané vzorky

Filtráty poté byly odpařeny na vakuové rotační odparce od značky BÜCHI Labortechnik AG, konkrétně je to jednoduchá rotační vakuová odparka Rotavapor® R-100 (Obrázek 11). Tato odparka funguje na principu použití vakua, které snižuje bod varu, což umožňuje destilovat při nízké teplotě. Rotací, která zvětšuje odpařovací povrch, se zvyšuje přenos tepla. Vodní lázeň, ve které byly ponořeny baněk se vzorky, měla teplotu 39 °C. Při teplotách 40 °C a vyšších už by se inaktivovaly některé důležité látky.



Obrázek 11 Vakuová rotační odparka

Každá baňka byla cca 20 min na odparce, dokud nevznikl extrakt a všechny ethanol se neodpařil. Následně byly několikrát znovu zváženy a odpařeny do konstantní hmotnosti. Všechny extrakty byly uskladněny v mrazáku při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.4 Příprava vzorků pro analýzu na HPLC

Po extrakci všech vzorků následovalo navážení 10 mg extraktu do zkumavky, která byla doplněna 10 ml lékařského lihu. Poté byly zkumavky umístěny na 10 min do ultrazvukové lázně. Po vyjmutí z ultrazvukové lázně šly vzorky na 10 minut a při 9 000 otáčkách do centrifugy, kde se pevný podíl usadil na spodu zkumavky. Pro stanovení hlavních kanabinoidů a jejich kyseliny byly vzorky před analýzou zředěny 1000×, zatímco pro stanovení minoritních kanabinoidů a jejich kyseliny byly zředěny 100×. Vzorky pro stanovení THCA byly naředěny 10 000×. Poté byly všechny vzorky umístěné na 5 min při 9 000 otáčkách do centrifugy a následně po 1 ml odpipetovány do vialek. Každý vzorek byl připraven ve třech opakováních (Obrázek 12).



Obrázek 12 Vzorky připravené na měření

4.5 Identifikace a kvantifikace kanabinoidních látek

Pro stanovení kanabinoidů a jejich kyselin byla použita metoda vysoce účinné kapalinové chromatografie – tandemové hmotnostní spektrometrie. Byla prováděna na 6500+ QTRAP hmotnostním spektrometru (ABSciex, Concord, Kanada) se zdrojem TurboV vybaveným ShimadzuNexera X2 HPLC (Shimadzu, Japonsko). Primární a sekundární kanabinoidy byly analyzovány v pozitivním režimu MRM a jejich kyseliny v negativním režimu MRM. Další podmínky pro analýzu jsou uvedené v Tabulce 3.

Tabulka 3 Podmínky analýzy kanabinoidních látek v extraktech konopí

HPLC-MS/MS	
Kolona	Ace Excel 2 Super C18 (100 x 2.1 mm, 3 μ m)
Mobilní fáze	ultračistá voda s 1% kyselinou mravenčí
Průtoková rychlost	0,3 ml/min
Dělicí poměr	-
Teplota detektoru	350 °C
Nástřík	2 μ l

4.6 Statistické vyhodnocení výsledků

K posouzení obsahu kanabinoidů a jejich kyselin v jednotlivých genotypech konopí a hledání genotypů s unikátním složením byla použita metoda ANOVA s hladinou významnosti

$p < 0,05$ (ANOVA Statistica 12). Pro vyhodnocení relativního zastoupení kanabinoidů a kyselin byly použity základní popisné statistiky – průměr a směrodatná odchylka.

5 Výsledky

5.1 Zastoupení kanabinoidů a jejich kyselin ve vybraných genotypch léčebného konopí

Na základě analytických výsledků z 10 extraktů konopí byla provedena úprava dat a byl posouzen rozdíl v obsahu kanabinoidních sloučenin mezi vybranými genotypy. V Tabulce 4 a Tabulce 5 jsou zaznamenány průměrné hodnoty zastoupení 7 kanabinoidů a jejich kyselin, které byly identifikovány. Mezi genotypy byly v obsahu jak primárních, tak sekundárních kanabinoidů a kyselin zjištěny průkazné rozdíly ($P < 0,05$).

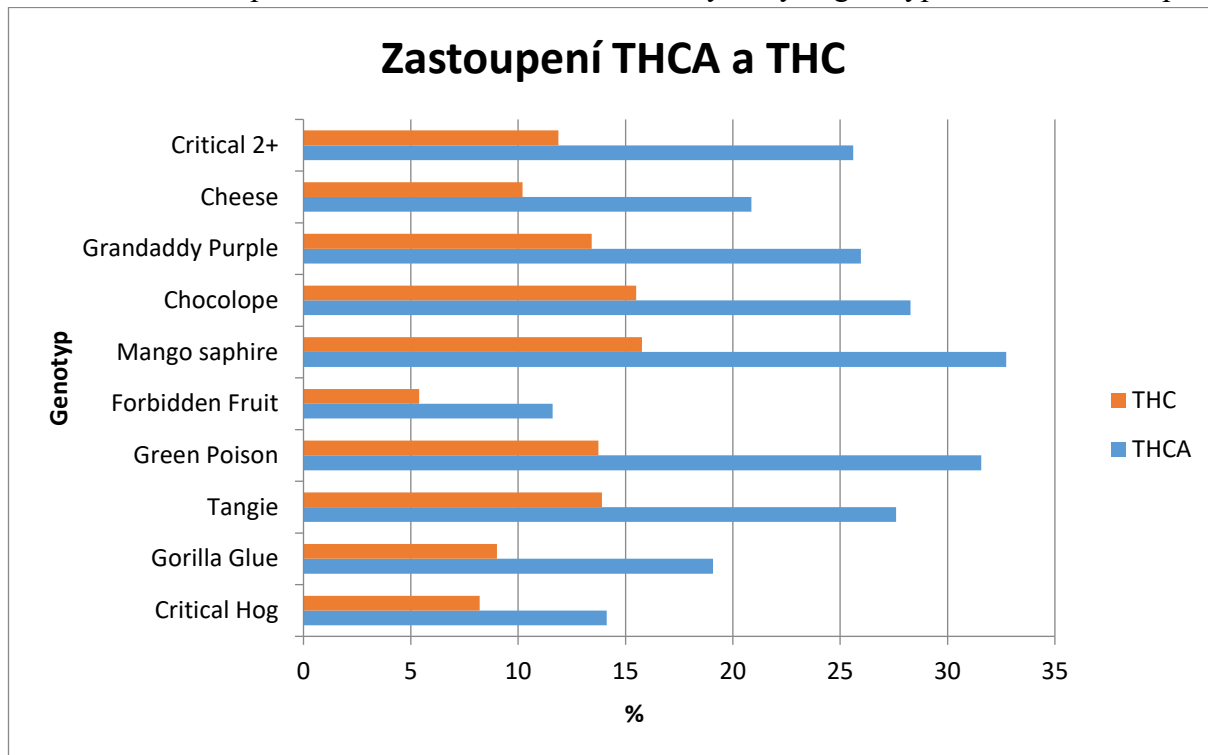
Z Tabulky 4 je patrné, že u všech genotypů byla z primárních kanabinoidních sloučenin nejvíce zastoupena THCA s průměrným obsahem $23,74 \pm 0,5$ %, dále z ní odvozený kanabinoid THC s průměrným obsahem $11,7 \pm 0,36$ % a třetí nejvíce zastoupenou látkou byla CBCA s průměrným obsahem $1,17 \pm 0,04$ %. Naopak nejméně bylo celkově přítomno CBD. Nejnížší obsahy byly naměřeny v genotypu Forbidden Fruit ($0,01 \pm 0,001$ %) viz Obrázek 14, který se statisticky výrazně lišil od genotypů Mango Sapphire, Tangie, Green Poison, Chocolepe, Granddaddy Purple, Cheese a Critical 2+.

Z 10 genotypů se výrazně svým obsahem kanabinoidů a kyselin lišily 4, které byly statisticky odlišné od ostatních a byly vybrány za genotypy s unikátním složením. Jednalo se o odrůdy Mango Sapphire, Green Poison, Chocolepe a Tangie. U genotypu Mango Sapphire bylo oproti všem genotypům naměřeno nejvíce CBDA ($0,09 \pm 0,0005$ %) i CBD ($0,04 \pm 0,002$ %) a zároveň tento genotyp obsahoval také nejvíce THCA ($32,73 \pm 0,83$ %), THC ($15,77 \pm 1,01$ %) viz Obrázek 13 a CBCA ($1,58 \pm 0,1$ %). Mango Sapphire se statisticky výrazně lišil od genotypů Forbidden Fruit, Gorilla Glue a Cheese. Genotyp Chocolepe obsahoval nejvíce CBC ($0,22 \pm 0,0003$ %) viz Obrázek 15 a statisticky se výrazně lišil od genotypů Critical Hog, Gorilla Glue a Forbidden Fruit. Ze 4 vybraných genotypů obsahuje nejvíce CBGA ($1,09 \pm 0,01$ %) genotyp Tangie, který se statisticky lišil od genotypů Critical Hog, Gorilla Glue a Forbidden Fruit.

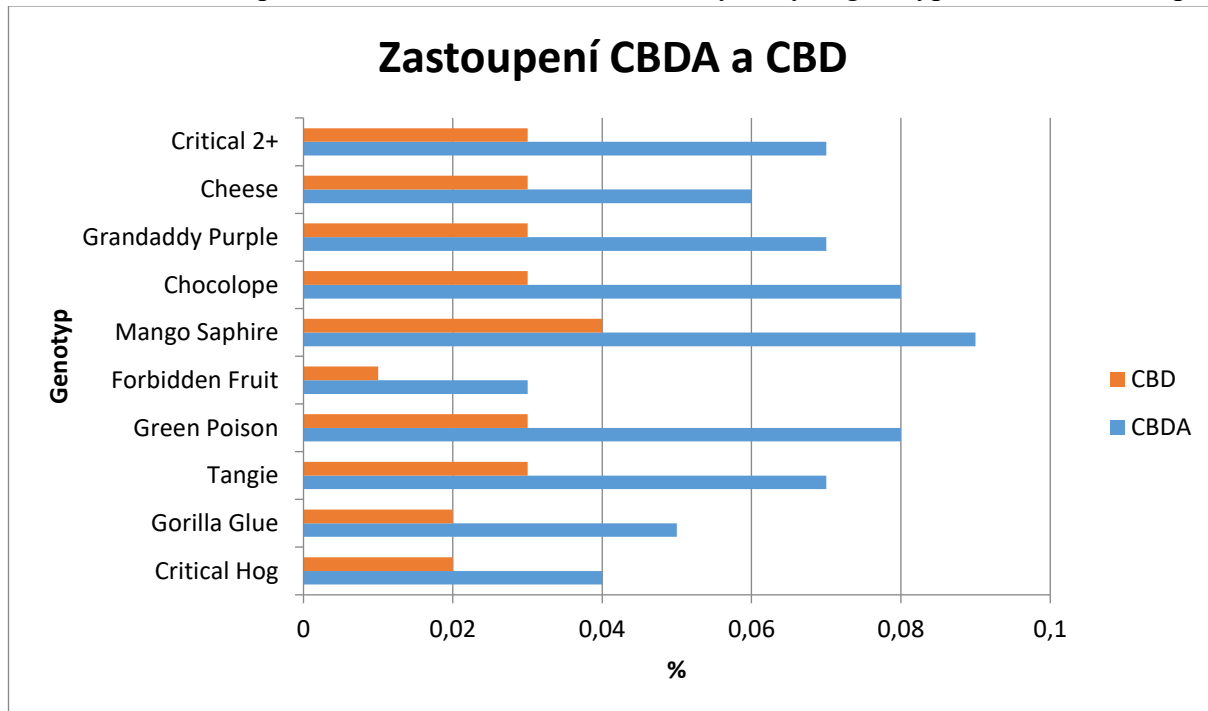
Procentické zastoupení sekundárních kanabinoidů a jejich kyselin, které je zobrazeno v Tabulce 5, bylo oproti primárním detekováno výrazně nižší množství. Z Obrázku 16 vyplývá, že u 7 genotypů (Critical 2+, Cheese, Granddaddy Purple, Chocolepe, Forbidden Fruit, Green Poison a Tangie) byla ze všech sekundárních kanabinoidních sloučenin nejvíce zastoupená CBNA ($0,19 \pm 0,003$ %) a u zbylých 3 genotypů (Mango Sapphire, Gorilla Glue a Critical Hog) byla identifikována jako nejvíce zastoupená sloučenina THCVA ($0,32 \pm 0,002$ %).

Mango Sapphire, který se statisticky výrazně lišil od genotypů Critical Hog, Gorilla Glue, Tangie, Green Poison, Forbidden Fruit, Granddaddy Purple, Cheese a Critical 2+, obsahoval sekundární kyseliny CBNA ze všech 10 genotypů nejvíce ($0,28 \pm 0,003$ %). V tomto genotypu bylo také detekováno nejvíce THCVA ($0,32 \pm 0,002$ %) a THCV ($0,1 \pm 0,001$ %) viz Tabulka 5. Kanabidivarinová kyselina (CBDVA) byla nejvíce zastoupena v genotypch Mango Sapphire ($0,001 \pm 0,0001$ %) a Chocolepe ($0,001 \pm 0,0002$ %). Chocolepe se statisticky lišil od genotypů Gorilla Glue, Tangie, Granddaddy Purple a Cheese. Sekundární kanabinoid kanabidivarin (CBDV) nebyl detekován (ND).

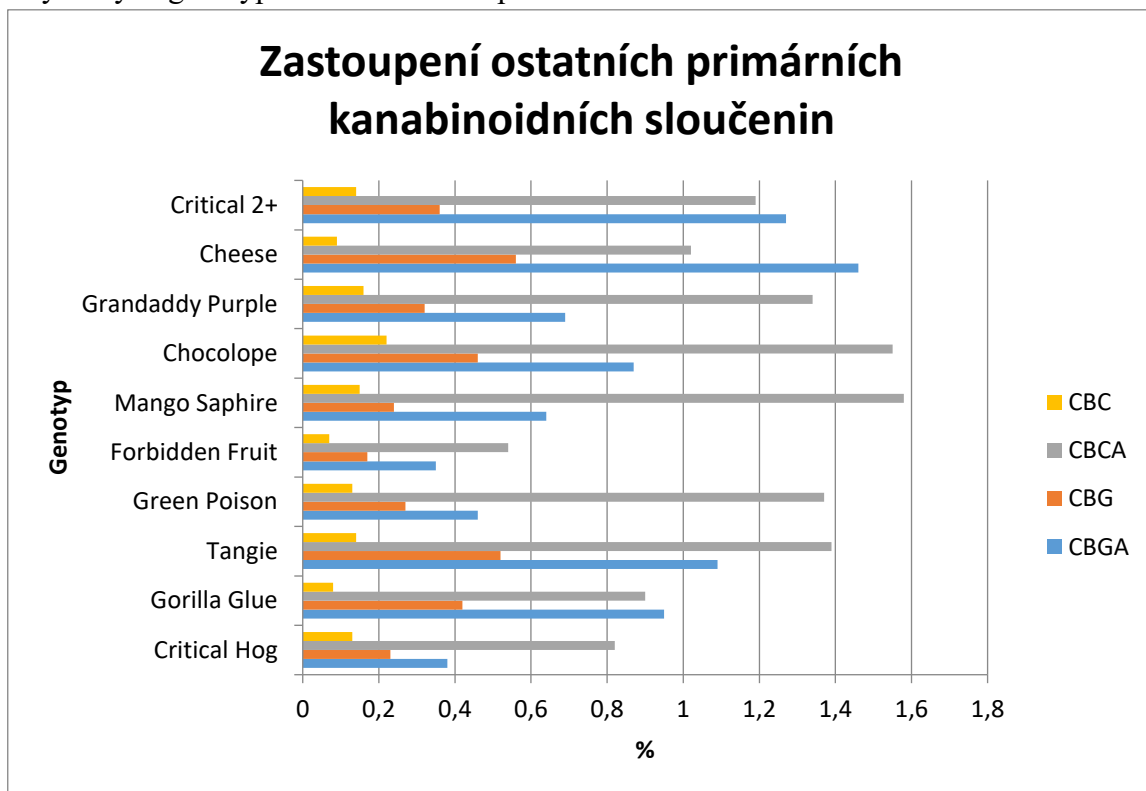
Obrázek13 Zastoupení THCA a THC v extraktech z vybraných genotypů léčebného konopí



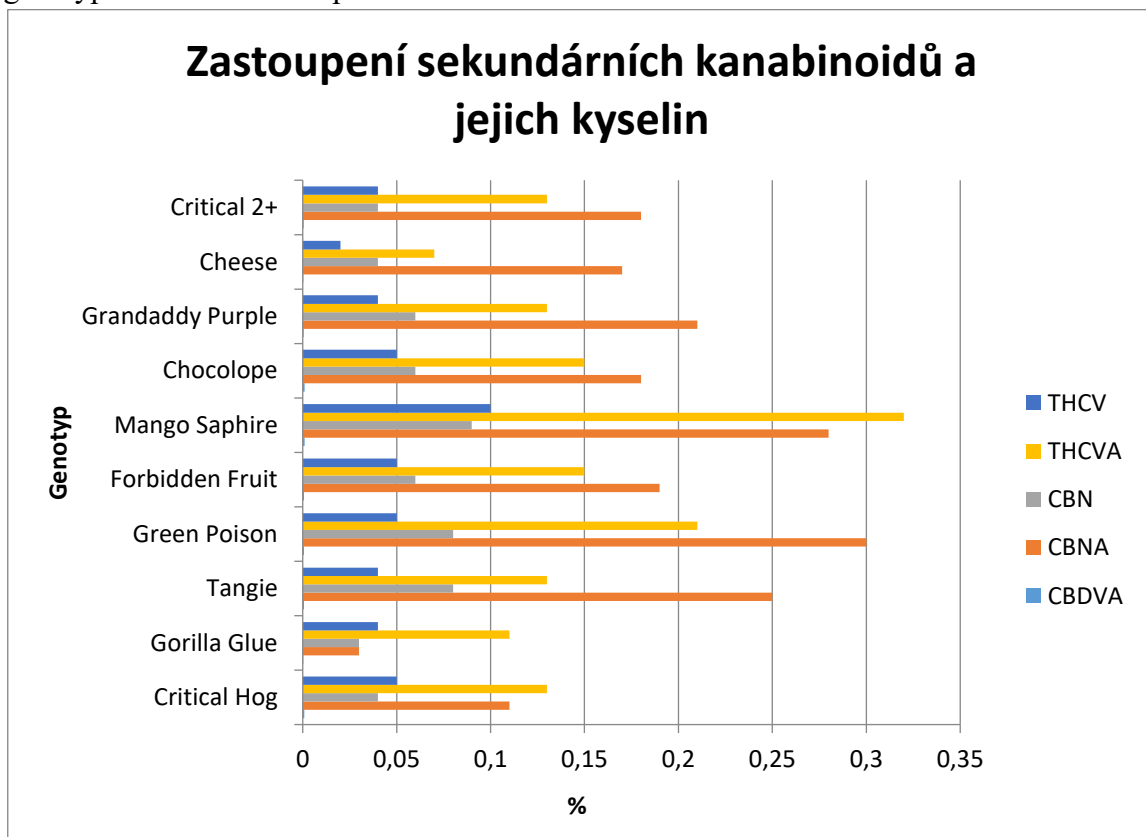
Obrázek 14 Zastoupení CBDA a CBD v extraktech z vybraných genotypů léčebného konopí



Obrázek 15 Zastoupení ostatních primárních kanabinoidů a jejich kyselin v extraktech z vybraných genotypů léčebného konopí



Obrázek 16 Zastoupení sekundárních kanabinoidů a jejich kyselin v extraktech z vybraných genotypů léčebného konopí



Tabulka 4 Průměrné zastoupení primárních kanabinoidů a jejich kyselin v genotypech konopí

Genotyp	THCA (%)	THC (%)	CBDA (%)	CBD (%)	CBGA (%)	CBG (%)	CBCA (%)	CBC (%)
	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.
Critical Hog	14,13±0,66 ^H	8,21±0,24 ^{AB}	0,04±0,003 ^A	0,02±0,002 ^{ABD}	0,38±0,003 ^A	0,23±0,002 ^{ADE}	0,82±0,02 ^{AB}	0,13±0,003 ^{ACDF}
Gorilla Glue	19,07±0,46 ^{AF}	9,01±0,28 ^{ABH}	0,05±0,001 ^A	0,02±0,003 ^{ABC}	0,95±0,01 ^C	0,42±0,01 ^{BFI}	0,9±0,03 ^{ABH}	0,08±0,002 ^{BE}
Tangie	27,6±0,7 ^{BDE}	13,9±0,08 ^{CDFG}	0,07±0,001 ^{BCDEF}	0,03±0,003 ^{BCE}	1,09±0,01 ^D	0,52±0,01 ^{CH}	1,39±0,01 ^{CDFG}	0,14±0,003 ^{ACDF}
Green Poison	31,57±0,68 ^C	13,73±0,25 ^{CDG}	0,08±0,002 ^{BCD}	0,03±0,001 ^{BCE}	0,46±0,01 ^E	0,27±0,01 ^{ADEG}	1,37±0,02 ^{CDG}	0,13±0,001 ^{ACDF}
Forbidden Fruit	11,6±0,08 ^I	5,39±0,16 ^J	0,03±0,001 ^G	0,01±0,001 ^{AD}	0,35±0,004 ^A	0,17±0,004 ^J	0,54±0,02 ^J	0,07±0,002 ^{BE}
Mango Sapphire	32,73±0,83 ^C	15,77±1,01 ^{EF}	0,09±0,0005 ^H	0,04±0,002 ^{CE}	0,64±0,002 ^B	0,24±0,03 ^{ADE}	1,58±0,1 ^{EF}	0,15±0,01 ^{ACDF}
Chocolope	28,27±0,17 ^{BD}	15,5±0,08 ^{CEF}	0,08±0,001 ^{BCDE}	0,03±0,002 ^{CE}	0,87±0,01 ^F	0,46±0,01 ^{BF}	1,55±0,01 ^{CEF}	0,22±0,003 ^G
Granddaddy Purple	25,97±0,8 ^{BGE}	13,43±0,33 ^{CDGI}	0,07±0,004 ^{BDEF}	0,03±0,002 ^{BCE}	0,69±0,004 ^B	0,32±0,01 ^{DGI}	1,34±0,03 ^{CDGI}	0,16±0,01 ^F
Cheese	20,87±0,12 ^{AF}	10,21±0,29 ^{BHI}	0,06±0,004 ^I	0,03±0,003 ^{BCE}	1,46±0,004 ^G	0,56±0,01 ^{CH}	1,02±0,03 ^{BHI}	0,09±0,01 ^{BE}
Critical 2+	25,6±0,37 ^{EG}	11,87±0,9 ^{GHI}	0,07±0,001 ^{BEF}	0,03±0,006 ^{BCE}	1,27±0,01 ^H	0,36±0,04 ^{BGI}	1,19±0,1 ^{GHI}	0,14±0,01 ^{ACDF}
Celkový průměr	23,74±0,5	11,7±0,36	0,64±0,002	0,03±0,003	0,82±0,01	0,36 ± 0,02	1,17±0,04	0,13±0,005

Tabulka 5 Průměrné zastoupení sekundárních kanabinoidů a jejich kyselin v genotypch konopí

Genotyp	CBDVA (%)	CBDV (%)	CBNA (%)	CBN (%)	THCVA (%)	THCV (%)
	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.	průměr±s.o.
Critical Hog	0,0009±0,0002 ^{ACE}	ND	0,11±0,002 ^D	0,04±0,001 ^{ABG}	0,13±0,002 ^A	0,05±0,0004 ^{AEG}
Gorila Glue	0,0003±0,0001 ^{BC}	ND	0,03±0,001 ^E	0,03±0,0005 ^{AB}	0,11±0,001 ^C	0,04±0,001 ^{BH}
Tangie	0,0007±0,0002 ^{ABC}	ND	0,25±0,01 ^F	0,08±0,001 ^C	0,13±0,003 ^A	0,04±0,001 ^{CGH}
Green Poison	0,0007±0,0002 ^{ABC}	ND	0,3±0,0001 ^G	0,08±0,0005 ^C	0,21±0,001 ^D	0,05±0,001 ^{DEF}
Forbidden Fruit	0,0007±0,00001 ^{ABC}	ND	0,19±0,005 ^{AB}	0,06±0,0004 ^{DEF}	0,15±0,001 ^B	0,05±0,001 ^{ADEF}
Mango Sapphire	0,001±0,0001 ^{DE}	ND	0,28±0,003 ^H	0,09±0,002 ^H	0,32±0,002 ^E	0,1±0,001 ^I
Chocolope	0,001±0,0002 ^{ADE}	ND	0,18±0,004 ^{ABC}	0,06±0,001 ^{DE}	0,15±0,002 ^B	0,05±0,001 ^{DEF}
Granddaddy Purple	0,0005±0,0001 ^{ABC}	ND	0,21±0,003 ^I	0,06±0,002 ^{DF}	0,13±0,001 ^A	0,04±0,003 ^{ACGH}
Cheese	0,0003±0,00004 ^{BC}	ND	0,17±0,001 ^{BC}	0,04±0,0004 ^{AG}	0,07±0,001 ^F	0,02±0,001 ^J
Critical 2+	0,0004±0,0002 ^{ABC}	ND	0,18±0,004 ^{BC}	0,04±0,004 ^{AG}	0,13±0,002 ^A	0,04±0,004 ^{BCGH}
Celkový průměr	0,0007±0,001	ND	0,19±0,003	0,06±0,001	0,15±0,002	0,05±0,001

6 Diskuze

V práci byl vyhodnocen profil kanabinoidů obsažených v 10 extraktech z genotypů léčebného konopí. Z výsledků prezentovaných v tabulkách a grafech lze jasně vyčíst, že 4 z 10 genotypů byly svým složením odlišné od ostatních. Jednalo se o genotypy Mango sapphire, Green poison, Chocolope a Tangie.

U všech 4 genotypů se nejvíce vyskytovala THCA a z ní odvozený kanabinoid THC, který je pro konopí specifický. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u Mango Saphire, kde celkový obsah THC v extraktu činil 48 % (THCA + THC), což je skoro 3× více než u genotypu Forbidden Fruit. Ačkoliv je v konopí známo přes 1000 sloučenin, většina studií se zaměřuje na léčebné účinky kanabinoidů a jejich synergii. Účinky byly přičítány jednak THC v přírodní nebo syntetické formě (Dronabinol[®] a Marinol[®]) a CBD, které ale mohou být opomenuty, jelikož genotypy zkoumané v této práci se značily poměrně nízkým obsahem CBD. Jeho obsah souvisel s genetikou daných odrůd. Russo et al (2011) podporuje domněnku, že nejde ani tak o přítomnost samotného kanabinoidu, ale spíše o jeho kombinaci s ostatními sloučeninami, které se v rostlině přirozeně vyskytují. Kromě Mango Saphire, které svým obsahem bylo nejbohatší na všechny identifikované kanabinoidní sloučeniny, bylo i u ostatních 3 genotypů dosaženo poměrně velké množství THC a dalších kanabinoidů. Genotypy by mohly posloužit například jako alternativa opioidů, které se používají při léčbě chronické bolesti. Pozitivním přínosem použití léčebného konopí při léčbě bolesti je snížení vedlejších účinků opioidů, které s sebou přináší riziko předávkování a vytvoření si silné závislosti (Barnes & Barnes 2016). Další přehled klinických pokusů prováděných v roce 2001 v USA potvrdil, že léčebné konopí způsobilo 70-100% úlevu od nauzey a zvracení u pacientů podstupujících chemoterapeutické léčby, kteří konopí kouřili a 76-88% úlevu u těch, kteří užívali THC orálně v kapslích (Musty & Rossi 2001). Pertwee et al (2002) uvádí přehled 8 kontrolovaných randomizovaných klinických studií kouřeného léčebného konopí, Nabilonu[®] a orálního podání THC, které zaznamenaly statisticky významné snížení spasticity. Dokonce při léčbě posttraumatické stresové poruchy (PTSD), kde byl použit orálně podávaný Nabilon[®], se u pacientů snížil výskyt nočních můr a oblasti mozku zapojené do potlačení strachu byly aktivnější u subjektů, jimž bylo podáváno syntetické THC (Rabinak et al 2014).

Třetí nejvíce zastoupenou látkou byla CBCA. Největší množství se nacházelo v genotypu Mango Saphire, ovšem hodnoty průměrného obsahu CBCA dosahovaly u ostatních 3 genotypů podobných hodnot. CBCA se u všech 4 genotypů vyskytovala v průměru $1,47 \pm 0,04$ %. Studie Laverty et al (2018) zkoumala gen podobný THCA syntáze kódující syntázu CBCA, která svým katalytickým mechanismem připomíná THCA a CBDA syntázu. Zajímavostí je, že u konopí, které neobsahovalo THCA, byl gen podobný THCA syntáze zesílen a rozpoznán jako gen s aktivitou CBCA syntázy. Ač se CBCA vyskytovala u všech genotypů podobně, jeho neutrální analog CBC byl nejvíce identifikován u genotypu Chocolope. Pěstování léčebných kmenů konopí s vyšším množstvím CBC může být užitečné k léčbě onemocnění, jako je zánětlivé onemocnění střev nebo Crohnova choroba. Appendino et al (2011) uvádí, že CBC je dobře zastoupeno jak u psychotropních odrůd, takv odrůdách pěstovaných pro vlákno.

Všechny rostliny byly pěstované v indoor podmínkách. Studie Ahmed et al (2008) uvádí souvislost přítomnosti kanabinoidu CBN s tím, jestli je konopí pěstované venku nebo vevnitř. U rostlin venkovních je vlivem ovzduší THC degradováno na CBN více, z tohoto důvodu je u indoor rostlin koncentrace tohoto kanabinoidu nižší. CBN se genotypů Mango Sapphire, Green Poison, Tangie a Choclope vyskytovalo v průměrném množství $0,08 \pm 0,001$ %. CBN patřilo do skupiny kanabinoidů, které se v genotypech vyskytovaly nejméně. To potvrzuje, že se jednalo o rostliny pěstované v indoor podmínkách.

Kanabinoidní profil konkrétní odrůdy záleží i na faktorech jako jsou podmínky růstu, sklizeň nebo době skladování a metodách použitých pro analýzu. U venkovních rostlin více degradují kyselé kanabinoidy na jejich neutrální sloučeniny, takže díky tomu obsahují vyšší koncentrace THC a CBD. Naopak na rostliny, které jsou pěstované uvnitř, nemají nepříznivé meteorologické podmínky žádný vliv, a tak si dokážou lépe udržet pryskyřici tam, kde jsou kanabinoidy ve vyšší koncentraci (Ahmed et al 2008). To má za následek nižší degradaci. S tím také souvisí obsah CBGA, která je prekurzorem biosyntézy ostatních kanabinoidů. Nejvíce byla zastoupená u genotypu Tangie v průměru $1,09 \pm 0,01$ %, což bylo oproti genotypu Green Poison o 0,5 % více.

Z minoritních kanabinoidů je důležité zmínit přítomnost THCv, který byl nejvíce přítomný u genotypu Mango Sapphire ($0,1 \pm 0,001$ %). Jeho výskyt byl oproti Mango Sapphire u genotypů Green Poison, Tangie a Choclope $2 \times$ nižší. Existuje souvislost mezi obsahem THCv/CBDv a tím, jestli se jedná spíše o odrůdu s převládajícím *C. sativa* anebo *indica*. Hilling & Mahlberg (2004) analyzovaly 36 různých rostlin, kdy u každé byl detekován obsah THCv/CBDv buď ve vyšším množství THCv + CBDv ($0,14 \pm 0,3$ až $0,9 \pm 0,8$ %) nebo nižším ($0,05 \pm 0,06$ až $0,09 \pm 0,1$ %) a domnívají se, že zvýšené hladiny THCv/CBDv jsou mnohem častější u rostlin *C. indica* než u rostlin *C. sativa*. Dále uvádí, že průměrné hladiny THC (<25 %) se výrazně vyskytují u *C. sativa*. Z toho vyplývá, že odrůdy použité pro analýzu kanabinoidních sloučenin v této práci byly z genetického hlediska spíše *C. sativa*. Ovšem u Mango sapphire je to, dá se říct, padesát na padesát, jelikož s ohledem na obsah THCv by se jednalo spíše o *C. indica* a naopak, co se týče obsahu THC, by mohlo převládat *C. sativa*. THCv (i THC) tedy může sloužit jako tzv. marker pro určení, o jakou odrůdu by se mohlo jednat.

Úplně nejméně byla ve všech genotypech identifikována CBDVA. Ta se spolu s THCVA většinou v konopí vyskytuje ve velmi malém množství, a proto pravděpodobně nebyly dosud široce studovány. CBDV, který vzniká dekarboxylací CBDVA, se logicky vyskytuje v ještě menších koncentracích než CBDVA, tudíž již nebylo možné ho detekovat.

Studie Aizpurua-Olaizola et al (2014) provedla identifikaci a kvantifikaci kanabinoidů 30 různých odrůd konopí pěstovaných v indoor i outdoor podmínkách pomocí HPLC-MS/MS. Identifikovala 6 kanabinoidních sloučenin (THCA, THC, CBG, THCv, CBN a CBD). Nejvíce se výsledky rozcházel v obsahu THCA a THC, kdy genotypy v této práci dosahovaly až $3 \times$ vyšších koncentrací. To může být zapříčiněno tím, že extrakty ve studii Aizpurua-Olaizola et al (2014) byly vyrobené z celé usušené rostliny, kde bývá koncentrace kanabinoidů nižší.

Další studie Berman et al (2018) zkoumala obsah kanabinoidů v ethanolových extraktech z 36 rostlin konopí, které byly vybrány z dostupných kmenů předepisovaných pacientům v Izraeli. Vzhledem k tomu, že jsou fyto-kanabinoidy biosyntetizovány v kyselé formě a obsah neutrálních složek je přirozeně nízký, byla provedena u některých kmenů před extrakcí dekarboxylace, aby se zvýšilo jejich množství ve vzorku. To bylo i cílem pro zlepšení

schopnosti detekovat je při zakládání spektrální knihovny LC-MS/MS. Celkem bylo identifikováno 67 fytoKANABINOIDŮ, z toho 13 bylo detekováno s největší jistotou. Při porovnání vzorků konopí mezi sebou neměly žádné dva stejný profil fytoKANABINOIDŮ. Jejich koncentrace se u většiny párů vzorků lišila o více než 71 % a to i mezi těmi nejpodobnějšími se 30,6 % složek fytoKANABINOIDŮ lišil o více než 20 %. Dále hodnotila fytoKANABINOIDNÍ profil extraktů, které byly specifické tím, že obsahovaly vyšší množství CBD. Porovnával se obsah u kmene se stejnou genetikou. Genotypy pocházely ze stejné mateřské rostliny, byly pěstovány a sklizeny stejným způsobem, ale současně se pěstovaly ve 4 různých sklenících. Vzorky vykazovaly velmi podobné koncentrace CBDA, ale ostatní obsahy biosyntetizovaných KANABINOIDŮ se výrazně lišily v důsledku podmínek pěstování. Nejvýraznější rozdíly byly pozorovány, co se týče vyššího obsahu CBGA a podstatně nižších obsahů CBDVA, THCVA a CBGVA. To ukazuje, že stejný kmen se může značně lišit vzhledem k rozdílným podmínkám pěstování.

Dále se u 5 kmenů s vysokým obsahem CBD a odlišným obsahem ostatních fytoKANABINOIDŮ, hodnotili antikonvulzivní vlastnosti. Test byl proveden na myších a bylo zjištěno, že ne všechny extrakty s vysokou koncentrací CBD mají stejné antikonvulzivní vlastnosti. Z toho vyplývá fakt, že obsah minoritních sloučenin v konopí je stejně tak důležitý jako obsah majoritních KANABINOIDŮ a genotypy stejného kmene nemusí mít totožné vlastnosti a účinky pro léčbu určitého onemocnění. Je tedy nutné změřit širší profil obsahových látek a testovat každý genotyp zvlášť.

Rozdíly v chemickém složení geneticky identického rostlinného materiálu mohou být vidět v růstových cyklech, v období sklizně a během skladování vlivem environmentálních podmínek. Hlavním cílem by měla být konzistentnost daného genotypu a jeho specifické chemické složení, které bude stabilní u všech rostlin. Důležitou informací o odrůdě je tedy její uniformita (Glivar et al 2019).

7 Závěr

Cílem této práce bylo popsat a zhodnotit zastoupení kanabinoidních sloučenin u jednotlivých genotypů a vybrat alespoň 3, které se svým obsahem kanabinoidů budou lišit. Hodnotilo se 10 vybraných odrůd pěstovaných v indoor podmínkách. Z jejich usušených květenství byly následně vyrobeny ethanolové extrakty.

V extraktech byly analyzovány pomocí metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie – tandemové hmotnostní spektrometrie primární a sekundární kanabinoidy (THC, CBD, CBC, CBN a THCV) a kyseliny kanabinoidů (THCA, CBDA, CBCA, CBNA, THCVA a CBDVA). Na základě výsledků bylo porovnáno procentické zastoupení všech měřených sloučenin a byly vybrány 4 genotypy, které svým složením vyčnívaly. Jednalo se o genotypy Mango sapphire, u něhož bylo zastoupení všech kanabinoidů a jejich kyselin nevyšší, dále Tangie, Green Poison a Chocolepe. Naopak u genotypu Forbidden Fruit byl ze všech 10 genotypů obsah kanabinoidů nejnižší.

U vybraných genotypů byl nejvíce zastoupen kanabinoid THC, jehož obsah v konopí je mnohými státy regulován. Existují ale výjimky stanovené zákonem. Česká zemědělská univerzita v Praze byla první institucí v České republice, u které bylo povoleno Ministerstvem zdravotnictví ČR pěstování konopí s vyšším obsahem THC určeného pro výzkumné účely. Vysoké obsahy THC a dalších kanabinoidů, které byly identifikovány v extraktech z těchto genotypů z nich činní potencionální nástroj pro léčbu různých poruch, onemocnění nebo chronických bolestí.

Po tisíciletí se konopí využívalo k všeobecnému blahu společnosti, ale časem hospousta lidí začala vidět pouze jako drogu, která nepřináší nic dobrého. Opak je ale pravdou. Klinické studie a výzkumy postupně poukazují na to, že léčebné účinky konopí jsou kolikrát tak silné, že by mohly některé metody nebo i léky samotné zastínit. Ovšem to, jakou mírou se konopí stane součástí moderní medicíny, ukáže až čas.

8 Literatura

AHMED, SA, SA ROSS, D SLADE, MM RADWAN, F ZULFIQAR a MA ELSOHLY. *Cannabinoid ester constituents from high-potency Cannabis sativa* [online]. *NatProd*, 71:536–542 [cit. 2021-04-18].

A Chemotaxonomic Analysis of Cannabinoid Variation in Cannabis (Cannabaceae). *American Journal of Botany* [online]. 2004, **91**(6), 966-975 [cit. 2021-02-09]. ISSN 00029122.

AIZPURUA-OLAIZOLA, Oier, Jone OMAR, Patricia NAVARRO, Maitane OLIVARES, Nestor ETXEBARRIA a Aresatz USOBIAGA. Identification and quantification of cannabinoids in Cannabis sativa L. plants by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2014, 23 October 2014, **406**, 7549–7560 [cit. 2021-04-18].

ALLAM MPH, PHD, Mohamed Farouk, Michael J. CAMPBELL PHD, Albert HOFMAN PHD, Amparo Serranodel CASTILLO MD, PHD a Rafael Fernández-Crehuet NAVAJAS MD, PHD. *Smoking and Parkinson's disease: Systematic review of prospective studies* [online]. 2004, 12 February 2004 [cit. 2021-03-25]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/mds.20029>

ANDRE, C. M., J. F. HAUSMAN a G. GUERRIERO. Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Frontiers in plant science* [online]. 2016, **7**, 19 [cit. 2021-02-09]. ISSN 1664462X. Dostupné z: doi:[10.3389/fpls.2016.00019](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00019)

APPENDINO, G., G. CHIANESE a O. TAGLIALATELA-SCAFATI. *Cannabinoids: Occurrence and Medicinal Chemistry* [online]. Italy, 2011, **18**, 1085-1099 [cit. 2021-04-18].

APPENDINO, Giovanni, Simon GIBBONS, Anna GIANA, Alberto PAGANI, Gianpaolo GRASSI, Michael STAVRI, Eileen SMITH a M. Mukhlesur RAHMAN. Antibacterial Cannabinoids from Cannabis sativa: A Structure-Activity Study. *Journal of natural products* [online]. 2008, **71**(8), 1427-1430 [cit. 2021-02-09]. ISSN 01633864. Dostupné z: doi:[10.1021/np8002673](https://doi.org/10.1021/np8002673)

BAEK, SeungHwa, Young Ok KIM, Jung Suk KWAG, KywEun CHOI, WooYoung JUNG a DuSeok HAN. Boron trifluoride etherate on silica-A modified Lewis acid reagent (VII). Antitumor activity of cannabigerol against human oral epitheloid carcinoma cells. *Archives of Pharmacal Research* [online]. 1998, **21**(3), 353-356 [cit. 2021-02-10]. ISSN 02536269. Dostupné z: doi:[10.1007/bf02975301](https://doi.org/10.1007/bf02975301)

BARNES, MP a JC BARNES. *Cannabis: The Evidence for Medical Use. Literature review* [online]. London, UK: All-Party Parliamentary Group for Drug Policy Reform, Parliament of the United Kingdom, 2016, May 2016 [cit. 2021-04-18].

BAURER, Rudolf, WOELKART, KARIN, SALO-AHEN a OUTI MH. *CB Receptor Ligands from Plants*. Svazek 8. Bentham Science Publishers, **2008**(3), 173-186(14). Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.2174/156802608783498023>

BASAS-JAUMANDREU, J. GC-MS Metabolite Profile and Identification of Unusual Homologous Cannabinoids in High Potency Cannabis sativa. *Planta medica* [online]. 2020, **86**(5), 338-347 [cit. 2021-02-09]. ISSN 14390221. Dostupné z: doi:[10.1055/a-1110-1045](https://doi.org/10.1055/a-1110-1045)

BERMAN, Paula, Kate FUTORAN, Gill M. LEWITUS, Dzmitry MUKHA, Maya BENAMI, Tomer SHLOMI a David MEIRI. *A new ESI-LC/MS approach for comprehensive metabolic profiling of phytocannabinoids in Cannabis* [online]. Israel: Department of Biology, Technion-Israel Institute of Technology, 2018, 24 September 2018n. 1., (8) [cit. 2021-4-25]. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-018-32651-4

BHATTACHARYYA, S., P. D. MORRISON, P. FUSAR-POLI, et al. Opposite effects of delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on human brain function and psychopathology. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* [online]. 2010, **35**(3), 764-74 [cit. 2021-02-09]. ISSN 1740634X. Dostupné z: doi:10.1038/npp.2009.184

BINET, P., L. BINET, M. MIOCQUE, M. ROUX a A. BERNIER. *Recherchessur les proprietespharmacodynamiques (actionsedative et actionspasmolytique) de quelquesalcoolsterpeniquesaliphatiques* [online]. AnnalesPharmaceutiquesFranc,aises, 1972, **30**(9), 611-616 [cit. 2021-03-21].

BIOTOX. Konopí: Popis a výskyt. Biotox: Encyklopedie psychotropních rostlin [online]. Praha, 2009 [cit. 2019-05-07]. Dostupné z: <http://www.biotox.cz/enpsyro/pj3pcanp1.html>

BOOTH, M.: Cannabis: A History, 2005. MacmillanPubl. Random House, Inc. ISBN 978-0-312-42497-7.

BRIDGEMAN, M. B. a D. T. ABAZIA. Medicinal Cannabis: History, Pharmacology, And ImplicationsfortheAcute Care Setting. *P* [online]. 2017, **42**(3), 180-188 [cit. 2021-02-09]. ISSN 10521372.

BOLOGNINI, Daniele, Barbara COSTA, Sabatino MAIONE, et al. The plant cannabinoid Delta9-tetrahydrocannabivarin candecreasesignsofinflammation and inflammatorypain in mice. *BritishJournalofPharmacology* [online]. 2010, **160**(3), 677-687 [cit. 2021-02-09]. ISSN 00071188. Dostupné z: doi:10.1111/j.1476-5381.2010.00756.x

BORILLE, B.T., R.S. ORTIZ, K.C. MARIOTTI, et al. *Chemicalprofiling and classificationof cannabis throughelectrosprayionizationcoupled to Fourier transform ion cyclotronresonancemassspectrometry and chemometrics.* [online]. 2017, (Methods 9), 4070-4081 [cit. 2021-03-20]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1039/c7ay01294b>.

BUDZIKIEWICZ, H., R.T. ALPIN, D.A. LIGHTNER, C. DJERASSI, R. MECHOULAM a Y. GAONI. Massenspektroskopieund IHRE anwendungaufstrukturelleundstereochemischeprobleme-LXVIII. Massenspektroskopischeuntersuchung der inhaltstoffe von haschisch. *Tetrahedron* [online]. 1965, **21**(7), 1881 - 1888 [cit. 2021-02-15]. ISSN 00404020. Dostupné z: doi:10.1016/S0040-4020(01)98657-0

BUCHBAUER, Gerhard, Leopold JIROVETZ, Walter JÁGER, Christine PLANK a Hermann DIETRICH. *FragranceCompounds and EssentialOilswithSedativeEffectsuponInhalation* [online]. Vienna, June 18, 1993, **82**(9), 660-664 [cit. 2021-03-21]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/jps.2600820623>

CASCIO, Mg, La GAUSON, La STEVENSON, et al. Evidence that the plant cannabinoid cannabigerol is a highly potent α_2 -adrenoceptor agonist and moderately potent 5HT_{1A} receptor antagonist. *British Journal of Pharmacology* [online]. 2010, **159**(1), 129-141 [cit. 2021-02-09]. ISSN 00071188. Dostupné z: doi:10.1111/j.1476-5381.2009.00515.x

CLAUSSEN, U., F.v. SPULAK a F. KORTE. Zur chemischen Klassifizierung von pflanzen—XXXI, haschisch—X: Cannabichromen, ein neuer haschisch-inhalts-stoff. *Tetrahedron* [online]. 1966, **22**(4), 1477-1479 [cit. 2021-02-15]. ISSN 00404020. Dostupné z: doi:10.1016/S0040-4020(01)99445-1

COFFMAN, C.B. a W.A. GENTNER. Cannabinoid profile and elemental uptake of *Cannabis sativa* L. as influenced by soil characteristics. *Agronomy journal* [online]. 1975, , 491-497 [cit. 2021-02-18]. ISSN 00021962.

CONDE-HERNÁNDEZ, Lilia A., José R. ESPINOSA-VICTORIA, Arturo TREJO a José A. GUERRERO-BELTRÁN. CO₂-supercritical extraction, hydrodistillation and steam distillation of essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) [online]. 2017, May 2017, (Vol. 200), 81-86 [cit. 2021-03-22]. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.12.022

CVAČKA, Jozef. Detekce ve vysokoúčinné kapalinové chromatografii. Přírodovědecká fakulta, Karlová Univerzita, 2010. [online], [cit. 2021-03-29], dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/~analchem/bosakova/hplc3.pdf>

DAVIS, W. M. a N. S. HATOUM. Neurobehavioral actions of cannabichromene and interactions with delta-9-tetrahydrocannabinol [online]. *Gen. Pharmacol.-Vasc. S.*, 1983, (14), 247-252 [cit. 2021-02-10]. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/0306-3623(83)90004-6

DE PETROCELLIS, Luciano, Alessia LIGRESTI, Aniello Schiano MORIELLO, et al. Non-THC cannabinoids inhibit prostate carcinoma growth in vitro and in vivo: pro-apoptotic effects and underlying mechanisms [online]. 2013, 18 May 2013, 76-78 [cit. 2021-03-23]. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02027.x

DE MEIJER, E. P. M. a K. M. HAMMOND. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. (V): regulation of the propyl-/pentyl cannabinoid ratio, completion of a genetic model. *Euphytica: International Journal of Plant Breeding* [online]. 2016, **210**(2), 291-307 [cit. 2021-02-09]. ISSN 00142336. Dostupné z: doi:10.1007/s10681-016-1721-3

D. Namdar, M. Mazuz, A. Ion and H. Koltai, Variation in the composition of cannabinoid and terpenoids in *Cannabis sativa* derived from inflorescence position along the stem and extraction, *Ind. Crops. Prod.* **113** (2018) 376-382; <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00949>

DUPAL, Libor, 2010. Kniha o marihuaně. 3., dopl. vyd. Praha: Maťa. Matamata. ISBN 978-80-7287-136-0.

ELSOHLY, M. A., M. M. RADWAN, W. GUL, S. CHANDRA a A. GALAL. Phytochemistry of *Cannabis sativa* L. *Progress in the chemistry of organic natural products* [online]. 2017, **103**, 1-36 [cit. 2021-02-09]. ISSN 21917043. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-45541-9_1

ELSOHLY, Mahmoud A. Marijuana and thecannabinoids [online]. Totowa, N.J.: Humana Press, c2007, 322 s. [cit. 2021-02-16]. ISBN 9781592599479-. Dostupné z: <http://www.hampapartiet.se/09.pdf>

FDA Regulationof Cannabis and Cannabis-DerivedProducts, IncludingCannabidiol (CBD). *U.S. Food and DrugAdministration* [online]. USA, 2021, 22.1.2021 [cit. 2021-02-05]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/news-events/public-health-focus/fda-regulation-cannabis-and-cannabis-derived-products-including-cannabidiol-cbd#approved>

Flores-Sanchez, I.J., Verpoorte, R. Secondarymetabolism in cannabis. *PhytochemRev* **7**, 615–639 (2008). <https://doi.org/10.1007/s11101-008-9094-4>

FRAGUAS-SÁNCHEZ, A. I., A. FERNÁNDEZ-CARBALLIDO a A. I. TORRES-SUÁREZ. Phyto-, endo- andsyntheticcannabinoids: promisingchemotherapeuticagents in the treatmentofbreast and prostatecarcinomas. *Expert opinion on investigationaldrugs* [online]. 2016, **25**(11), 1311-1323 [cit. 2021-02-09]. ISSN 17447658. Dostupné z: doi:10.1080/13543784.2016.1236913

FRANCOMANO, Fabrizio, Anna CARUSO, Alexia BARBAROSSA, et al. B-Caryophyllene: A SesquiterpenewithCountlessBiologicalProperties. *AppliedSciences (2076-3417)* [online]. 2019, **9**(24), 5420-5420 [cit. 2021-02-09]. ISSN 20763417. Dostupné z: doi:10.3390/app9245420

GADO, Francesca, Maria DIGIACOMO, Marco MACCHIA, Simone BERTINI a Clementina MANERA. *TraditionalUsesofCannabinoids and New Perspectives in theTreatmentofMultipleSclerosis* [online]. Universityof Pisa, Italy, 2018, 15 August 2018, **5**(91) [cit. 2021-03-25]. Dostupné z: doi:doi:10.3390/medicines5030091

GAONI, Y. a R. MECHOULAM. Cannabichromene, a newactiveprinciple in hashish. *Chemical Communications (London)* [online]. 1966, (1), 20 - 21 [cit. 2021-02-15]. ISSN 0009241X. Dostupné z: doi:10.1039/C19660000020

GARCÍA-TEJERO, I. F., V. H. DURÁN-ZUAZO, R. PÉREZ-ÁLVAREZ, A. HERNÁNDEZ, S. CASANO, M. MORÓN a J. L. MURIEL-FERNÁNDEZ. Impactof Plant Density and Irrigation on YieldofHemp (*Cannabis sativa* L.) in a Mediterranean Semi-arid Environment. *JournalofAgricultural Science* [online]. 2014, **16**(4), 887-895 [cit. 2021-02-18]. ISSN 16807073.

GILL, E.W., W.D.M. PATON a R.G. PERTWEE. Preliminaryexperiments on thechemistry and pharmacologyof Cannabis. *Nature* [online]. 1970, 134-136 [cit. 2021-02-09]. ISSN edsagr.

GLIVAR, Taja, Jan ERŽEN, Samo KREFT, Marjeta ZAGOŽENJ, Andreja ČERENAK, Barbara ČEH a Eva Tavčar BENKOVIČ. *Cannabinoid content in industrial hemp (Cannabis sativa L.) varieties grown in Slovenia* [online]. University of Ljubljana, 2019, , 145 [cit. 2021-4-25]. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2019.112082

GORHAM, John a Sean J. COUGHLAN. Inhibitionofphotosynthesis by stilbenoids. *Phytochemistry* [online]. 1980, **19**(10), 2059-2064 [cit. 2021-02-09]. ISSN 00319422. Dostupné z: doi:10.1016/S0031-9422(00)82194-9

G. T. DeLong, C. E. Wolf, A. Poklis and A. H. Lichtman, Pharmacologicalevaluationoftheneutral

constituent of *Cannabis sativa*, cannabichromene and its modulation by delta-9-tetrahydrocannabinol, *Drug Alcohol Depend.* **112** (2010) 126–133; <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2010.05.019>

GULLUNI, N., T. RE, I. LOIACONO, et al. Cannabis Essential Oil: A Preliminary Study for the Evaluation of the Brain Effects. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM* [online]. 2018, **2018**, 1709182 [cit. 2021-02-09]. ISSN 1741427X. Dostupné z: doi:10.1155/2018/1709182

HARRIS, B. *Phytotherapeutic uses of essential oils* [online]. Boca Raton: CRC Press, 2010, , 315-352 [cit. 2021-03-21].

HILLING, Karl W. a Paul G. MAHLBERG. A chemotaxonomic analysis of cannabinoid variation in *Cannabis* (Cannabaceae). *American Journal of Botany* [online]. 01 June 2004 [cit. 2021-04-18]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.3732/ajb.91.6.966>

HILLIS, W.E. a T. INOUE. The formation of polyphenols in trees—III: The effect of enzyme inhibitors. *Phytochemistry* [online]. 1966, **5**(3), 491-499 [cit. 2021-02-09]. ISSN 00319422. Dostupné z: doi:10.1016/S0031-9422(00)82163-9

HOD, Yotam. Terpenes/Terpenoids in Cannabis: Are They Important? *Medical Cannabis and Cannabinoids* [online]. 2020, **3**(1), 25-60 [cit. 2021-02-09]. ISSN 25043889. Dostupné z: doi:10.1159/000509733

HONARMAND, Masoumeh, Fatemeh NAMAZI, Ali MOHAMMADI a Saeed NAZIFI. *Can cannabidiol inhibit angiogenesis in colon cancer?* [online]. 2019, 27 August 2019, **28**, 165–172 [cit. 2021-03-23].

CHEN, PHD, Honglei, Evan L. THACKER, Alpa V. PATEL, PHD, Marjorie L. MCCULLOUGH SCD, Eugenia E. CALLE, PHD, Michael J. THUN MD, Michael A. SCHWARZSCHILD MD, PHD a Alberto ASCHERIO MD, DRPH. *Recreational physical activity and risk of Parkinson's disease* [online]. 25 January 2008 [cit. 2021-03-25]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/mds.21772>

CHIRON, Hélène, Alain DROUET, François LIEUTIER, Hans-dieter PAYER a Dieter ERNST. Gene Induction of Stilbene Biosynthesis in Scots Pine in Response to Ozone Treatment, Wounding, and Fungal Infection. *Plant Physiology* [online]. 2000, **124**(2), 865-872 [cit. 2021-02-09]. ISSN 00320889.

CHOUSIDIS, Ieremias, Theodoros CHATZIMITAKOS, Dimitrios LEONARDOS, Michaela D. FILIOU, Constantine D. STALIKAS a Ioannis D. LEONARDOS. Cannabinol in the spotlight: Toxicometabolomic study and behavioral analysis of zebrafish embryo exposed to the unknown cannabinoid. *Chemosphere* [online]. 2020, **252**, N.PAG [cit. 2021-02-09]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126417

CHOUVY, Pierre-arnaud. The myth of the narco-state. *Space* [online]. 2016, **20**(1), 26-38 [cit. 2021-02-09]. ISSN 13562576. Dostupné z: doi:10.1080/13562576.2015.1052348

IZZO, A. A., R. CAPASSO, G. AVIELLO, et al. Inhibitory effect of cannabichromene, a major non-psychotropic cannabinoid extracted from *Cannabis sativa*, on inflammation-induced hypermotility in mice. *British journal of pharmacology* [online]. 2012, **166**(4), 1444-60 [cit. 2021-02-09]. ISSN 14765381. Dostupné z: doi:10.1111/j.1476-5381.2012.01879.x

JANSEN, C., Shimoda LMN, J. K. KAWAKAMI, et al. Myrcene and terpene regulation of TRPV1. *Channels (Austin, Tex.)* [online]. 2019, **13**(1), 344-366 [cit. 2021-02-09]. ISSN 19336969. Dostupné z: doi:10.1080/19336950.2019.1654347

JÜRIG, Gertsch, Leonti MARCO, Raduner STEFAN, et al. Beta-Caryophyllene Is a Dietary Cannabinoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. 2008, **105**(26), 9099 [cit. 2021-02-09]. ISSN 00278424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0803601105

KALANT, H. Medicinal use of cannabis: history and current status. *Pain research* [online]. 2001, **6**(2), 80-91 [cit. 2021-02-09]. ISSN 12036765. Dostupné z: doi:10.1155/2001/469629

KENDALL, D. A. a G. A. YUDOWSKI. Cannabinoid Receptors in the Central Nervous System: Their Signaling and Roles in Disease. *Frontiers in cellular neuroscience* [online]. 2017, **10**, 294 [cit. 2021-02-09]. ISSN 16625102. Dostupné z: doi:10.3389/fncel.2016.00294

KENYON, Julian, Wai LIU a Angus DALGLEISH. Report of Objective Clinical Responses of Cancer Patients to Pharmaceutical-grade Synthetic Cannabidiol [online]. 2018, 2018 October, **10**(38), 5831-5835 [cit. 2021-03-24]. Dostupné z: doi:10.21873/anticancerres.12924

KENNEDY, D. O., F. L. DODD, B. C. ROBERTSON, E. J. OKELLO, J. L. REAY, A. B. SCHOLEY a C. F. HASKELL. Monoterpenoid extract of sage (*Salvia lavandulaefolia*) with cholinesterase inhibiting properties improves cognitive performance and mood in healthy adults. *Journal of Psychopharmacology* [online]. 2011, **25**(8), 1088-1100 [cit. 2021-02-12]. ISSN 02698811.

KÖHLER, FE. In: *Medizinal-Pflanzen* [online]. Berlin: Gera-Untermhaus, 1887 [cit. 2021-02-12].

KOMORI, T, R FUJIWARA, M TANIDA, J NOMURA a Mm YOKOYAMA. EFFECTS OF CITRUS FRAGRANCE AN IMMUNE FUNCTION AND DEPRESSIVE STATES. *NEUROIMMUNOMODULATION* [online]. 1995, **2**(3), 174-180 [cit. 2021-02-12]. ISSN 10217401.

KOZIOŁ, A., A. STRYJEWSKA, T. LIBROWSKI, K. SAŁAT, M. GAWEŁ, A. MONICZEWSKI a S. LOCHYŃSKI. An overview of the pharmacological properties and potential applications of natural monoterpenes. *Mini reviews in medicinal chemistry* [online]. 2014, **14**(14), 1156-68 [cit. 2021-02-09]. ISSN 18755607. Dostupné z: doi:10.2174/1389557514666141127145820

Krejčí Z. Antibiotický princip *Cannabis indica*. (The antibiotic effect of *Cannabis indica*.) Brno, Czechoslovakia: Masaryk University; 1950. p. 106

KUBÁNEK, Vladimír. *Konopí a mák: pěstování výrobky, legislativa*. 2. vyd. Tribun EU, 2009, 143 s. ISBN 978-80-7399-895-0.

LAPCZYNSKI, A., S.P. BHATIA, C.S. LETIZIA a A.M. API. *Fragrance material review on nerolidol (isomer unspecified)*: *Food Chem Toxicol* [online]. 2008, **46**(11), 247-250 [cit. 2021-03-21]. Dostupné z: doi:http:// dx.doi.org/10.1016/j.fct.2008.06.063. S0278-6915(08)00355-4.

LAVERTY, Kaitlin U., Jake M. STOUT, Mitchell J. SULLIVAN, et al. *A physical and genetic map of Cannabis sativa identifies extensive rearrangements at the THC/CBD acid synthase loci* [online]. ColdSpringHarborLaboratoryPress, November 8, 2018, 29:146-156 [cit. 2021-04-18]. Dostupné z: doi:10.1101/gr.242594.118

L., Bócsa, Máthé P. a Hangyel L. *Effect of nitrogen on tetrahydrocannabinol (THC) content in hemp (Cannabis sativa L.) leaves at different positions*. [online]. J. Int. Hemp Assoc., 1997, (4), 78-79 [cit. 2021-02-18].

LESON, G., P. PLESS a J. ROULAC. *Hemp Foods and Oils for Health* [online]. Sebastopol, CA, 1999 [cit. 2021-02-15].

LIGRESTI, A., A. S. MORIELLO, K. STAROWICZ, I. MATIAS, S. PISANTI, C. LAEZZA, G. PORTELLA a M. BIFULCO. *Antitumor activity of plant cannabinoids with emphasis on the effect of cannabidiol on human breast carcinoma*. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* [online]. 2006, **318**(3), 1375-87 [cit. 2021-02-09]. ISSN 00223565. Dostupné z: doi:10.1124/jpet.106.105247

LI, H.L. *Origin and use of Cannabis in eastern Asia: linguistic-cultural implications*. *Economic botany* [online]. 1974, 293-301 [cit. 2021-02-09]. ISSN 00130001.

MACCALLUM, C. A. a E. B. RUSSO. *Ractical considerations in medical cannabis administration and dosing* [online]. Eur. J. Intern. Med., 2018, **49**, 12–19 [cit. 2021-03-23]. Dostupné z: doi:doi:10.1016/j.ejim.2018.01.004

Mechoulam R., in Hanuš L. *Cannabidiol: an overview of some chemical and pharmacological aspects. Part I: chemical aspects*. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2002; 121: 35-43. *Návykové látky. Ministerstvo zdravotnictví České republiky* [online]. Praha, 2018, 8. 10. 2018 [cit. 2020-11-11]. Dostupné z: <https://www.mzcr.cz/navykove-latky/>

MERCIECA, Gilbert, Sara ODOARDI, Serena MESTRIA, Marisa CASSAR a Sabina Strano ROSSI. *APPLICATION OF ULTRASOUND-ASSISTED LIQUID-LIQUID MICRO EXTRACTION COUPLED WITH GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY FOR THE RAPID DETERMINATION OF SYNTHETIC CANNABINOIDS AND METABOLITES IN BIOLOGICAL SAMPLES*. *Journal of Separation Science* [online]. Rome, Italy, 2020, 16/02/2020 [cit. 2021-03-27]. Dostupné z: doi:10.1002/jssc.202000181

MIGLIARINI, B. a O. CARNEVALI. *Anandamide modulates growth and lipid metabolism in the zebrafish* [online]. 2008 [cit. 2021-02-09]. ISSN 03037207. Dostupné z: doi:10.1016/j.mce.2008.01.021

MILLER, James M. *Digital Encyclopedia of Applied Physics II: Chromatography* [online]. [cit. 2021-02-25]. Dostupné z: doi:doi:10.1002/3527600434.eap064.pub2

MONTHONY, Adrian S., Serena R. PAGE, Mohsen HESAMI a Andrew Maxwell P. JONES. *The Past, Present and Future of Cannabis sativa Tissue Culture* [online]. Canada, 2021, 19 January 2021, **10**(1) [cit. 2021-03-27]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.3390/plants10010185>

MUSTY, RE a R ROSSI. EffectsofSmoked Cannabis and Oral Δ 9-Tetrahydrocannabinol on Nausea and EmesisAfterCancerChemotherapy: ReviewofStateClinicalTrials. *Journalof Cannabis Therapeutics* [online]. 2001, **1**(1), 29-56 [cit. 2021-04-18].

OUTEN M.S., John D., M. Haroon BURHANULLAH M.D., Ryan VANDREYPH.D., et al. *CannabinoidsforAgitation in Alzheimer'sDisease* [online]. In Press, CorrectedProof, 2021, 27 January 2021 [cit. 2021-03-25]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.jagp.2021.01.015>

PACIFICO, D., F. MISELLI, A. CARBONI, A. MOSCHELLA a G. MANDOLINO. Time courseofcannabinoidaccumulation and chemotype development duringthegrowthof Cannabis sativa L. *Euphytica: International Journalof Plant Breeding* [online]. 2008, **160**(2), 231-240 [cit. 2021-02-09]. ISSN 00142336. Dostupné z: doi:[10.1007/s10681-007-9543-y](https://doi.org/10.1007/s10681-007-9543-y)

PAGANO, E. a et al. *An orallyactive cannabis extractwithhighcontent in cannabidiolattenuateschemically-inducedintestinalinflammation and hypermotility in themouse* [online]. *Pharmacol*, 2016, (7, 341) [cit. 2021-03-20].

PAGANO, E., V. MONTANARO, A. PISTONE, V. ALTIERI, J. K. ZJAWIONY, A. A. IZZO a R. CAPASSO. Effectof Non-psychotropic Plant-derivedCannabinoids on BladderContractility: Focus on Cannabigerol. *Natural productcommunications* [online]. 2015, **10**(6), 1009-12 [cit. 2021-02-09]. ISSN 1934578X

PERTWEE, RG. Cannabinoids and multiplesclerosis. *PharmacolTher* [online]. 2002, **95**(2), 165-74 [cit. 2021-04-18].

PERTWEE, R. G., A. THOMAS, L. A. STEVENSON, R. A. ROSS, S. A. VARVEL, A. H. LICHTMAN, B. R. MARTIN a R. K. RAZDAN. Thepsychoactive plant cannabinoid, Delta9-tetrahydrocannabinol, isantagonized by Delta8- and Delta9-tetrahydrocannabivarin in mice in vivo. *Britishjournalofpharmacology* [online]. 2007, **150**(5), 586-94 [cit. 2021-02-09]. ISSN 00071188. Dostupné z: doi:[10.1038/sj.bjp.0707124](https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707124)

PISANTI, S., P. PICARDI, A. D'ALESSANDRO, C. LAEZZA a M. BIFULCO. *Theendocannabinoidsignalingssystem in cancer* [online]. *TrendsPharmacol*, 2013, **34**, 273-282 [cit. 2021-03-24]. Dostupné z: doi:[10.1016/j.tips.2013.03.003](https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.03.003)

RABINAK, AC, M ANGSTADT, M LYONS, S MORRI, MR MILAD a I LIBERZON. *Cannabinoidmodulationofprefrontal-limbicactivationduringfearextinction learning and recall in humans: Neurobiology of learning and memory* [online]. 2014, , 113:125-34 [cit. 2021-04-18].

REA, Kevin A, José A. CASARETTO, M. Sameer AL-ABDUL-WAHID, Arjun SUKUMARAN, Jennifer GEDDES-MCALISTER, Steven J. ROTHSTEIN a Tariq A. AKHTAR. Biosynthesisofcannflavins A and B from Cannabis sativa L. *Phytochemistry* [online]. 2019, **164**, 162-171 [cit. 2021-02-12]. ISSN 00319422. Dostupné z: doi:[10.1016/j.phytochem.2019.05.009](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.05.009)

RIEDEL, Gernot, Paola FADDA, Susan MCKILLOP-SMITH, Roger G PERTWEE, Bettina PLATT a Lianne ROBINSON. *Synthetic and plant-derivedcannabinoid receptor antagonists show*

hypophagic properties in fasted and non-fasted mice [online]. 2009 [cit. 2021-02-09]. Dostupné z: doi:10.1111/j.1476-5381.2008.00107.x

ROBINSON, Rowan. *Velká kniha o konopí*. Vermont: VolvoxGlobator, 1997. ISBN 978-80-7207-339-9.

ROCK, Erin M, Martin A STICHT, Marnie DUNCAN, Colin STOTT a Linda A PARKER. Evaluation of the potential of the phytocannabinoids, cannabidiol (CBD) and $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabinol (THC), to produce CB1 receptor inverse agonism symptoms of nausea in rats. *British Journal of Pharmacology* [online]. 2013, **170**(3), 671-678 [cit. 2021-02-09]. ISSN 00071188. Dostupné z: doi:10.1111/bph.12322

ROMANO, Barbara, Ester PAGANO, Pierangelo ORLANDO, et al. Pure $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabinol and a Cannabis sativa extract with high content in $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabinol inhibit nitrite production in murine peritoneal macrophages. *Pharmacological Research* [online]. 2016, **113**(Part A), 199-208 [cit. 2021-02-10]. ISSN 10436618. Dostupné z: doi:10.1016/j.phrs.2016.07.045

ROMANO, Luigi L a Arno HAZEKAMP. *Cannabis Oil: chemical evaluation of an upcoming cannabis-based medicine: Cannabinoids* [online]. University of Siena, Italy, 2013, May 5, 2013, (Vol 7) [cit. 2021-02-24]. Dostupné z: <http://www.cannabis-med.org/>

ROSS, S.A. a M.A. ELSOHLY. The volatile oil composition of fresh and air-dried buds of Cannabis sativa. *Journal of natural products (USA)* [online]. 1996, **59**(1), 49-51 [cit. 2021-02-10]. ISSN 01633864.

RUSSO, E. B. a J. MARCU. Cannabis Pharmacology: The Usual Suspects and a Few Promising Leads. *Advances in pharmacology (San Diego, Calif.)* [online]. 2017, **80**, 67-134 [cit. 2021-02-09]. ISSN 15578925. Dostupné z: doi:10.1016/bs.apha.2017.03.004

Russo, Ethan B (2011). *Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects* [online]. , **163**(7), 1344-1364. [cit. 2021-03-21]. Dostupné z: doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x

Shelly, T. E., & Nishimoto, J. I. (2015). *Exposure to the plant compound {alpha} - humulene reduces mating success in male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae)* [online]. *Annals of the Entomological Society of America*, **108**(3), 215-221. [cit. 2021-03-21]. Dostupné z: <http://doi.org/10.1093/aesa/sav008>.

SHIH, I-Fan, Charlotte STARHOF, Christina Funch LASSEN, Johnni HANSEN, Zeyan LIEW a Beate RITZ. Occupational and recreational physical activity and Parkinson's disease in Denmark. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health* [online]. May 2017, **3**(Vol. 43), 210-216 [cit. 2021-03-25].

SHOYAMA, Y., T. FUJITA, T. YAMAUCHI a I. NISHIOKA. Cannabichromenic acid, a genuine substance of cannabichromene. *Chemical* [online]. 1968, **16**(6), 1157-8 [cit. 2021-02-15]. ISSN 00092363. Dostupné z: doi:10.1248/cpb.16.1157

STAHL, E. a R. KUNDE. *Die Leitsubstanzen der Haschisch-Suchende: Kriminalistik: Zeitschrift für Die Gesamte Kriminalistische Wissenschaft und Praxis* [online]. 1973, **27**(9), 385-389 [cit. 2021-03-21].

STIASNA, K., M. PRESINSZKA, T. VYHNANEK, V. TROJAN, E. MRKVICOVA, L. HRIVNA a L. HAVEL. *Analysis of genes from cannabinoid biosynthetic pathway* [online]. Ljubljana: Kmetijskogeodarskazbornica Slovenije, 2016, 9s [cit. 2021-02-09]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/profile/Tomas_Vyhnanek3/publication/283715294_analysis_of_genes_from_cannabinoid_biosynthetic_pathway/links/56446b0208ae9f9c13e4508c/analysis-of-genes-from-cannabinoid-biosynthetic-pathway.pdf

STIVALA, L A, M SAVIO, F CARAFOLI, et al. Specific structural determinants are responsible for the antioxidant activity and the cell cycle effects of resveratrol. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2001, **276**(25), 22586-22594 [cit. 2021-02-10]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M101846200

STRUIK, P.C., S. AMADUCCI, M.J. BULLARD, N.C. STUTTERHEIM, G. VENTURI a H.T.H. CROMACK. Agronomy of fibre hemp (*Cannabis sativa* L.) in Europe. *Industrial Crops* [online]. 2000, **11**(2), 107-118 [cit. 2021-02-18]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/S0926-6690(99)00048-5

SULTAN, Ahmed S., Mona A. MARIE a Salah A. SHEWEITA. *Novel mechanism of cannabidiol-induced apoptosis in breast cancer cell lines* [online]. Alexandria, Egypt, 2018, 22 June 2019, (Vol. 41), 34-41 [cit. 2021-03-23]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.breast.2018.06.009>

TISSERAND, R. a R. YOUNG. *Essential oils safety* [online]. Edinburgh: UK: Churchill Livingstone Elsevier, 2014, (2nd ed.) [cit. 2021-03-21].

THOMAS, A., L. A. STEVENSON, K. N. WEASE, M. R. PRICE, G. BAILLIE, R. A. ROSS a R. G. PERTWEE. Evidence that the plant cannabinoid Delta9-tetrahydrocannabinol is a cannabinoid CB1 and CB2 receptor antagonist. *British journal of pharmacology* [online]. 2005, **146**(7), 917-26 [cit. 2021-02-10]. ISSN 00071188. Dostupné z: doi:10.1038/sj.bjp.0706414

VANDOLAH, HJ, BA BAUER a KF MAUCK. *Clinicians' Guide to Cannabidiol and Hemp Oils* [online]. 2019, **94**(9), 1840-51 [cit. 2021-03-20].

TREVES, Itay MD, LOTAN, MD THERESE A., RODITI, MD YANIV, DJALDETTI a MD RUTH. *Cannabis (Medical Marijuana) Treatment for Motor and Non-Motor Symptoms of Parkinson Disease: An Open-Label Observational Study* [online]. 2014, March/April 2014, **2**(Vol. 37), 41-44 [cit. 2021-03-25]. Dostupné z: doi:10.1097/WNF.0000000000000016

VASTANO, B. C., Y. CHEN, N. ZHU, C. T. HO, Z. ZHOU a R. T. ROSEN. Isolation and identification of stilbenes in two varieties of *Polygonum cuspidatum*. *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. 2000, **48**(2), 253-6 [cit. 2021-02-10]. ISSN 00218561. Dostupné z: doi:10.1021/jf9909196

VOCHYÁNOVÁ, Zora, Marie POKORNÁ, Dominik ROTREKL, et al. Prenylated flavonoid morusin protects against TNBS-induced colitis in rats. *PLoS ONE* [online]. 2017, **12**(8), 1-14 [cit. 2021-02-12]. ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0182464

WARGENT, E T, M S ZAIBI, C SILVESTRI, et al. Thecannabinoid Δ^9 -tetrahydrocannabivarin (THCV) ameliorates insulin sensitivity in twomousemodelsofobesity. *Nutrition* [online]. 2013, **3** [cit. 2021-02-09]. ISSN 20444052. Dostupné z: doi:10.1038/nutd.2013.9

WorldDrug Report: Statistics [online]. United NationsPublication, 2006, Accessed on 10 March 2017, (Vol. 2) [cit. 2021-02-18]. ISSN 92-1-148215-1. Dostupné z: www.escaa.org

ZAKLIN, R. Terpene therapy: AbstractsofPapers. *256th ACS National Meeting &Exposition* [online]. Boston: MA, 2018,19-23 [cit. 2021-02-10].

ŽÁRUBA, Kamil, 2016. Analytická chemie. Praha: Vysoká škola chemickotechnologická v Praze. ISBN 978-80-7080-950-1.

ZUARDI, Antonio Waldo. Historyof cannabis as a medicine: a review / História da cannabis comomedicamento. *BrazilianJournalof Psychiatry* [online]. 2006, **28**(2), 153-157 [cit. 2021-02-10]. ISSN 1809452X. Dostupné z: doi:10.1590/S1516-44462006000200015

ŽUK-GOŁASZEWSKA, Krystyna a Janusz GOŁASZEWSKI. CANNABIS SATIVA L. - CULTIVATION AND QUALITY OF RAW MATERIAL. *JournalofElementology* [online]. 2018, **23**(3), 971-984 [cit. 2021-02-18]. ISSN 16442296. Dostupné z: doi:10.5601/jelem.2017.22.3.1500

Takemedical use of cannabis seriously, sayMEPs. *EuropeanParliament Newsletter* [online]. Strasbourg, 2019, 7. 2. 2019 [cit. 2020-11-26]. Dostupné z: <https://www.europarl.europa.eu/news/en/agenda/briefing/2019-02-11/10/take-medical-use-of-cannabis-seriously-say-meps>

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

AD – Alzheimerova choroba
AEA – ananamid
CBC - kanabichromen
CBCA - kanabichromenová kyselina
CBD - kanabidiol
CBDA - kanabidiolová kyselina
CBDV - kanabidivarin
CBDVA – kanabidivarinová kyselina
CBG - kanabigerol
CBGA - kanabigerolová kyselina
CBN - kanabinol
CBNA - kanabinolová kyselina
CNS – centrální nervový systém
CO₂ – oxid uhličitý
EU – Evropská unie
FAAH - enzym amidhydroláza mastných kyselin
FDA – Úřad pro kontrolu potravin a léčiv
GC – plynová chromatografie
GC-MS – plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HPLC-MS/MS – vysokoúčinná kapalinová chromatografie – tandemová hmotnostní spektrometrie
IOPL - Inspektorát omamných a psychotropních látek
LF UK – Lékařská fakulta Univerzity Karlovy
MK – mastné kyseliny
MRM - multiple reaction monitoring
MS – Roztroušená skleróza
MS – hmotnostní spektrometrie
MZČR – Ministerstvo zdravotnictví České republiky
ODS – Občanská demokratická strana
OSN – Organizace spojených národů
PD – parkinsonova choroba
THC - delta-9-tetrahydrokanabinol
THCA - tetrahydrokanabinolová kyselina
THCV - tetrahydrokanabivarin
THCVA - tetrahydrokanabivarinová kyselina
LC – kapalinová chromatografie
LC-MS – kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
WHO – Světová zdravotnická organizace

