

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Antimykotická aktivita konopných extraktů
enkapsulovaných do mezoporézního křemičitého
materiálu MCM-41**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Anna Curevová

Obor studia: Výživa a potraviny (N-NUTRIM)

Vedoucí práce: Ing. Anežka Janatová, Ph.D.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Antimykotická aktivita konopných extraktů enkapsulovaných do mezoporézního křemičitého materiálu MCM-41" 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 neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.04.2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Anežce Janatové, Ph.D. nejen jako mé vedoucí práce za její trpělivost, ochotu a cenné rady při zpracování mé diplomové práce. Především jsem jí moc vděčná za nepřetržitou pomoc při práci v laboratoři v rámci výzkumu. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Zdeňce Kahánkové a Ing. Tomášovi Skalovi za jejich hodnotné rady a pomoc při práci v laboratoři během výzkumu.

Antimykotická aktivita konopných extraktů enkapsulovaných do mezoporézního křemičitého materiálu MCM-41

Souhrn

V posledních letech se konopí dostává stále více do popředí především z důvodu jeho léčebných účinků např. na kožní onemocnění. Existuje nespočet studií, které potvrzují pozitivní účinky účinných látek konopí, kterými jsou např. kanabinoidy – tetrahydrokanabinol, kanabidiol a kanabinol nebo terpeny.

Tato diplomová práce má za úkol obeznámit čtenáře s léčebným využitím rostliny konopí.

Praktická část práce se věnuje konkrétnímu případu působení silic konopí a jejich hlavních účinných látek na plíseň *Epidermophyton floccosum*. Pracovalo se se 17-ti látkami v čisté a enkapsulované formě, které měly zpomalit nebo inhibovat růst této plísně. Aplikace těchto látek na Petriho misku byla provedena pomocí sprejové pistole. Díky mezoporéznímu křemičitému materiálu MCM-41 by se mělo těchto 17 látek postupně řízeně uvolňovat pro zajištění dlouhodobějších účinků. Celkové vyhodnocení látek se liší v závislosti na koncentraci, ve které byly aplikovány.

Nejlépe hodnocená látka v obou koncentracích (8 a 4 mg/ml) byl enkapsulovaný guaiol. Jediná látka, která působila lépe v enkapsulovaném stavu oproti čistému, byl terpinolen (4 mg/ml). Na konci měření (8 mg/ml, 45 den) nejlépe působil proti nárůstu *E. floccosum* β -myrcen a enkapsulovaný β -karyofylen. Další látky, které rovněž úspěšně inhibovaly růst po 45 dnech při 8 mg/ml jsou enkapsulovaný karvakrol, linalol a v čisté formě terpinolen. Naproti tomu u koncentrace 4 mg/ml nejvíce inhibovala růst plísně enkapsulovaná silice Forbidden Fruit, nerolidol a terpinolen. Jako téměř neúčinné se jeví u koncentrace 8 mg/ml enkapsulovaný nerolidol, v čisté formě karvakrol, silice Green Poison, Gorilla Glue a v obou formách silice Forbidden Fruit a Tangie. U koncentrace 4 mg/ml téměř neinhibovaly růst v čisté formě β -pinen, limonen, terpinolen, silice Green Poison, Critical Hog, Chocolepe, Forbidden Fruit, α -pinen, nerolidol a enkapsulovaný karvakrol, β -myrcen, silice Gorilla Glue, Tangie a linalol. V tomto případě nelze s určitostí konstatovat, že by u látek v enkapsulované formě byla zajištěna dlouhodobá účinnost, aniž by na ni měla vliv fungicidní aktivita. Metodika použitá v této studii byla v jejím průběhu mnohokrát různými způsoby optimalizována, ale stále se objevují určité překážky, které mohou výrazně ovlivnit výsledky. Je zapotřebí dalších navazujících experimentů, které by pomohly metodiku zcela optimalizovat a alespoň in-vitro potvrdit léčebný potenciál konopí. Dle mého názoru může mít technologie enkapsulace velkou budoucnost nejen v tomto odvětví.

Klíčová slova: léčebné konopí, extrahované a těkavé látky, antifungální aktivita, enkapsulace, MCM-41, *Epidermophyton floccosum*

Antifungal activity of cannabis extracts encapsulated into mesoporous silica material MCM-41

Summary

In recent years, cannabis has been gaining more and more attention, especially because of its therapeutic effects, e.g. on skin diseases. There are countless studies confirming the positive effects of the active substances in cannabis, such as the cannabinoids – tetrahydrocannabinol, cannabidiol and cannabitol or terpenes.

This thesis aims to familiarize the reader with the medicinal uses of the cannabis plant. The practical part of the thesis is devoted to the specific case of the action of cannabis essential oils and their main active substances on the fungus *Epidermophyton floccosum*. Seventeen substances in pure and encapsulated form were used to slow or inhibit the growth of this fungus. The application of these substances to the Petri dish was carried out using a spray gun. Thanks to the mesoporous silica material MCM-41, these 17 substances should be gradually released in a controlled manner to ensure longer lasting effects. The overall evaluation of the substances varies depending on the concentration at which they were applied.

The best evaluated substance at both concentrations (8 and 4 mg/ml) was encapsulated guaiol. The only substance that performed better in the encapsulated state compared to the pure state was terpinolene (4 mg/ml). At the end of the measurements (8 mg/ml, day 45), β -myrcene and encapsulated β -caryophyllene had the best effect against *E. floccosum* growth. Other substances that also successfully inhibited growth after 45 days at 8 mg/ml were encapsulated carvacrol, linalool and, in pure form, terpinolene. In contrast, at a concentration of 4 mg/ml, encapsulated Forbidden Fruit essential oil, nerolidol and terpinolene inhibited fungal growth the most. At a concentration of 8 mg/ml, encapsulated nerolidol, carvacrol in pure form, Green Poison essential oil, Gorilla Glue, and Forbidden Fruit and Tangie essential oils in both forms appeared to be almost ineffective. At a concentration of 4 mg/ml, β -pinene, limonene, terpinolene, Green Poison, Critical Hog, Chocolepe, Forbidden Fruit, α -pinene, nerolidol and encapsulated carvacrol, β -myrcene, Gorilla Glue, Tangie and linalool essential oils showed almost no growth inhibition in pure form. In this case, it cannot be stated with certainty that the encapsulated formulation would provide long-term efficacy without affecting fungicidal activity. The methodology used in this study has been optimised many times in various ways during the course of the study, but there are still some obstacles that can significantly affect the results. Further follow-up experiments are needed to fully optimise the methodology and to confirm the therapeutic potential of cannabis at least in-vitro. In my opinion, encapsulation technology may have a great future not only in this field.

Keywords: medicinal cannabis, extracted and volatile substances, antifungal activity, encapsulation, MCM-41, *Epidermophyton floccosum*

Obsah

1	Úvod	7
2	Hypotéza a cíle	8
3	Literární přehled	9
3.1	Historie léčebného konopí.....	9
3.2	Botanická charakteristika konopí	11
3.2.1	Taxonomické zařazení	11
3.2.2	Morfologická charakteristika.....	12
3.3	Legislativa léčebného konopí.....	13
3.4	Účinné látky léčebného konopí.....	15
3.4.1	Kanabinoidní látky.....	15
3.4.2	Terpeny a terpenoidy.....	18
3.4.3	Ostatní.....	22
3.5	Endokanabinoidní systém	24
3.6	Léčba konopím	26
3.6.1	Onkologická onemocnění.....	26
3.6.2	Dermatologická onemocnění.....	27
3.7	Nanotechnologie a nanomateriály jako vhodná léčivá forma aplikace konopí	30
3.7.1	Druhy nanomateriálů	30
3.7.2	Mezoporézní křemičitý materiál MCM-41	31
3.8	<i>Epidermophyton floccosum</i>	33
4	Materiál a metody.....	34
4.1	Chemikálie a biologický materiál	34
4.2	Enkapsulace	35
4.3	Příprava inokula <i>Epidermophyton floccosum</i>	35
4.4	Test antifungální aktivity	35
4.5	Statistické vyhodnocení.....	36
5	Výsledky.....	37
5.1	Antifungální aktivita.....	37
5.1.1	Antifungální aktivita účinných látek při koncentraci 4 mg/ml.....	37
5.1.2	Antifungální aktivita účinných látek při koncentraci 8 mg/ml.....	42
6	Diskuze.....	51
7	Závěr	54
8	Seznam literárních a internetových zdrojů	55
9	Seznam zdrojů obrázků.....	65
10	Seznam obrázků, tabulek a grafů.....	67
11	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	69

1 Úvod

Konopí je rostlina, která byla člověkem zpracovávána a následně využívána k léčebným účelům jako jedna z prvních v historii. Nejstarší záznamy o zdravotnickém využití této rostliny pochází ze starověké Číny, odkud se v průběhu staletí významně rozšířila nejen po Asii, ale po celém světě. Konopí je dnes vnímáno nejen jako zdroj zdravotně prospěšných látek, ale také jako zdroj tetrahydrokanabinolu (THC). Tato látka má značné psychoaktivní účinky, pro které je často zneužívána. Z tohoto důvodu jsou často produkty z konopí označovány jako drogy a nakládání s nimi je velmi přísně právně regulováno. V posledních letech se však léčebný, potažmo zdravotnický význam rostliny vrací zpátky do povědomí nejen odborné společnosti. Pro potvrzení skutečnosti, že tato rostlina opravdu disponuje léčebnými účinky, bylo publikováno mnoho odborných článků a analýz vycházejících z dlouholetých studií. Ty se věnovaly především složení a přímým účinkům proti různým typům onemocnění a jejich příznakům. Právě na základě těchto studií a zpětné vazby od pacientů je možné konstatovat, že značné využití má rostlina konopí při léčbě onemocnění doprovázených neutišitelnou chronickou bolestí jako je rakovina či roztroušená skleróza a další. V neposlední řadě konopí nezpochybnitelně pomáhá při léčbě kožních onemocnění, jako je psoriáza, atopický ekzém a různé mykózy.

Nejpočetnější a nejrozšířenější skupinu mykóz představují mykotické infekce kůže a nehtů. Výskyt těchto onemocnění se razantně zvyšuje, a to i díky zvýšenému zájmu o cestování. Díky němu se mykózy mohou přenášet snadněji a vyskytují se téměř po celém světě, i když primární místa výskytu byly tropy a subtropy. Hlavní zástupci původci mykóz jsou azofilní a antropofilní dermatofyty z rodů *Microsporum*, *Trichophyton* a *Epidermophyton*; z nedermatofytů je hlavní rod *Candida*. V případě dermatologických onemocnění studie prokázaly, že existují mechanismy, díky nimž působí silice proti dermatofytům i nedermatofytům.

Terapie mykotických onemocnění závisí na několika faktorech – etiologické agens, rozsah infekce atd. Často se k léčbě používají konvenční antimykotika. Ne vždy jsou ale tyto možnosti léčby pro pacienta vhodné. Díky častému používání antibiotik si může tělo vytvořit rezistenci, a tak je potřeba mít možnost použít i nějaké přírodní preparáty.

V tomto případě je enkapsulace ideální forma, díky které se preparát s léčivými či pozitivními účinky po aplikaci (konzumaci) nevstřebá hned, ale doputuje v organismu do místa určení, které je postižené a tam se postupně začne uvolňovat. Díky tomuto pozvolnému uvolňování by měly mít preparáty lepší a dlouhodobější účinnost, a ještě by neměly působit jinde, než je potřeba. Tato metoda by se mohla využít i u alternativního způsobu terapie léčebným konopím u dalších onemocnění.

2 Hypotéza a cíle

Hlavním cílem práce bylo enkapsulovat extrahované silice a jejich majoritní složky z různých odrůd léčebného konopí do mezoporézního materiálu MCM-41 a porovnat jejich antifungální aktivitu se stejnými látkami v čisté formě.

Hypotéza:

Enkapsulované silice a jejich majoritní složky budou vykazovat antifungální aktivitu při srovnatelných koncentracích jako stejné látky v čisté formě, ale v enkapsulované formě budou účinkovat fungistaticky podstatně déle.

3 Literární přehled

3.1 Historie léčebného konopí

Existuje několik zdrojů odkazujících na historická data, geografii a evoluční modely, které tvrdí, že se konopí objevilo v době pleistocénu před miliony lety. Paleobotanická studie prohlašuje, že konopí bylo používáno během holocénské éry přibližně před 11 700 lety. Nejpravděpodobněji se vyskytovalo na území střední Asie v blízkosti Altajského pohoří, kde se v současné době střetávají země Mongolska, Kazachstánu a Sibíře v oblasti jižní a východní Asie (Tarasov et al. 2007; Voeks 2014). Díky postupné lidské adaptaci se konopí rozšířilo Euroasií a přizpůsobilo se různým klimatickým podmínkám, ve kterých bylo následně pěstováno (Pisanti & Bifulco 2019).

Mnoho terapeutických vlastností konopí nepochází z novodobých objevů, ale pramení z empirických pozorování, která byla během staletí používána k léčebným účelům ve všech hlavních starověkých kulturách (čínské, indické, egyptské, řecké, latinské apod.) (Clark & Merlin 2013).

Irský lékař William Brooke O'shaughnessy (1839) byl jedním z prvních, který popsal terapeutické účinky konopí. Seznámil Evropskou lékařskou společnost s farmakologickými vlastnostmi konopí díky jeho práci v Indii. Zaznamenal pozitivní terapeutické účinky indického poddruhu *Cannabis indica* oproti poddruhu *Cannabis sativa*, které bylo pěstováno v Evropě. Provedl důkladnou studii vlastností konopí, kterou nejprve otestoval na různých zvířatech a pravděpodobně byl první, kdo aplikoval experimentální metodu při studiu konopí. Poté, co se ujistil o její bezpečnosti u zvířat, podal některým vybraným pacientům alkoholické tinktury konopí, kteří trpěli epilepsií, revmatismem, cholerou nebo tetanem a vyvodil, že rostlina má zajímavé analgetické a myorelaxační vlastnosti. Na základě tohoto pozorování navrhl, že konopí může být silným lékem na záchvaty např. při epilepsii. Detailněji se zaměřil na účinky konopí na tetanus. Přestože nebylo schopné infekci vyléčit, zmírnilo některé závažné symptomy, což naznačuje, že by mohlo být využito jako prostředek podporující a doplňující zesilující účinek (adjuvans). Podobný experimentální a systematický přístup použil také francouzský psychiatr Jacques-Joseph Moreau, považovaný za otce moderní psychofarmakologie, který v roce 1840 zkoušel konopí na sobě a později na svých studentech a podrobně popsal jeho akutní psychoaktivní účinky, které předtím pozoroval u arabských lidí, kteří byli zvyklí užívat hašiš (Moreau 1973). Díky studiím, které provedl O'shaughnessy v Británii a Moreau ve Francii se zvýšil zájem o konopí, především o jeho pryskyřici pojmenovanou „hašiš“ a rozšířil se do zbytku Evropy (Booth 2005).

Giovanni Polli, italský lékař a ředitel vědeckého časopisu *Annals of Chemistry Applied to Medicine*, a Carlo Erba, italský lékárník, implementovali v Itálii poznatky o vlastnostech konopí. Jak Giovanni Polli, tak Carlo Erba testovali sami na sobě jeho účinky, psychoaktivní i nepсихоaktivní, v ohlášeném experimentu provedeném v Miláně roku 1847. V Itálii v oblasti Kampánie byl pěstován druh *Cannabis sativa* a byl využíván k léčbě pacientů, kteří trpěli různými onemocněními jako např. migrénou, nespavostí, astmatem apod. (Samorini 1996).

V roce 1899 poukázal farmakolog Walter Ernest Dixon na zvláštní účinnost konopí při užití formou inhalace pro dosažení konzistentního a rychlého farmakologického účinku (Pisanti & Bifulco 2017).

Na konci 19. století se však léčebné konopí začíná využívat více sporadicky, protože jeho účinky se pozoruhodně lišily napříč pacienty a také mezi různými preparáty konopí, neboť jejich farmakologicky aktivní principy nebyly známy, a tudíž nebyly kvantifikovány. Nebyl však zaznamenán žádný případ otravy z užívání konopí, takže o jeho bezpečnosti se nediskutovalo. Objevily se obavy z nekontrolovatelného šíření konopí a jeho zneužívání, které převýšily jeho terapeutickou hodnotu, podpořené ekonomickými důvody.

V roce 1912, v reakci na rostoucí kritiku obchodu s opiem, se Spojené státy americké (USA), Německo, Velká Británie, Francie, Itálie, Nizozemsko, Portugalsko, Rusko, Čína, Japonsko, Persie a Thajsko dohodly na prvních mezinárodních smlouvách o protidrogové kontrole opia a podnikly kroky s cílem regulovat a kontrolovat jejich obchod i užívání. Při revizi dohody, podepsané v roce 1925 v Ženevě, kvůli úsilí Egypta, USA a Číny, bylo navrženo omezení hašišu ve všech formách. Díky odporu Indie, kde bylo užívání konopí hluboce zakořeněno v kultuře a lidových tradicích, nebyl návrh schválen, ale národy se dohodly na kompromisu, že zakáží vývoz konopí do zemí, kde bylo výslovně zakázáno. (Pisanti & Bifulco 2017).

Nová éra začala díky objevům vědců Yehiela Gaoniho a Raphaela Mechoulama, kteří v roce 1964 v Izraeli poprvé identifikovali chemickou strukturu hlavních kanabinoidů, účinných látek přítomných v rostlině, pojmenovaných Δ -9-tetrahydrokanabinol (Mechoulam & Gaoni 1967). Studie pokračovaly až do 70. let 20. století, kdy nastalo nové vědecké období klidu, protože aktivní sloučeniny konopí byly charakterizovány, ale jejich biologický cíl byl stále neznámý. Díky objevu receptorů pro kanabinoidy a charakterizace endokanabinoidů (především anandamidu a 2-arachidonoylglycerolu) a endokanabinoidního systému (enzymů pro syntézu a degradaci endokanabinoidů) a účinných biologických cílů fytoakanabinoidů v 90. letech 20. století, byl obnoven vědecký zájem o konopí, což vedlo ke zveřejnění tisíců prací, které jasně zdůraznily farmakologický potenciál této rostliny (Pisanti et al. 2009a, 2013).

V posledních dvou desetiletích, kromě studia farmakologických vlastností fytoakanabinoidů, se výzkumné úsilí zaměřilo na vývoj syntetických drog schopných zasahovat do endokanabinoidního systému, posilovat nebo blokovat jeho funkce v závislosti na fyziopatologickém kontextu. Mezitím několik zemí změnilo svou politiku ohledně konopí a schválilo zákony, které umožňují jeho dobře zdokumentované terapeutické využití a dekriminální či dokonce legalizují jeho užívání pro rekreační účely, jako např. v Uruguayi a ve státech Washington, Colorado, Oregon a Aljaška v USA (Bifulco & Pisanti 2015).

Na závěr je důležité si uvědomit, že čelíme velkým kulturním a vědeckým změnám týkajícím se léčebného konopí. Jeho historie nás učí, jak širokou popularitu může konopí mít a poté náhlý pokles v závislosti na sociálních, kulturních a ekonomických důvodech. V dnešní době ustoupily do pozadí morální a sociální obavy z důvodu shromáždění vědeckých důkazů o farmakologickém potenciálu konopí ve shodě s ekonomickými zájmy spojenými s tímto obrovským novým trhem. Právě teď je ponaučení z minulosti stěžejní pro správné zvládnutí situace s konopím a zdůrazňuje především zdravotní přínos pro pacienty (Pisanti & Bifulco 2017).

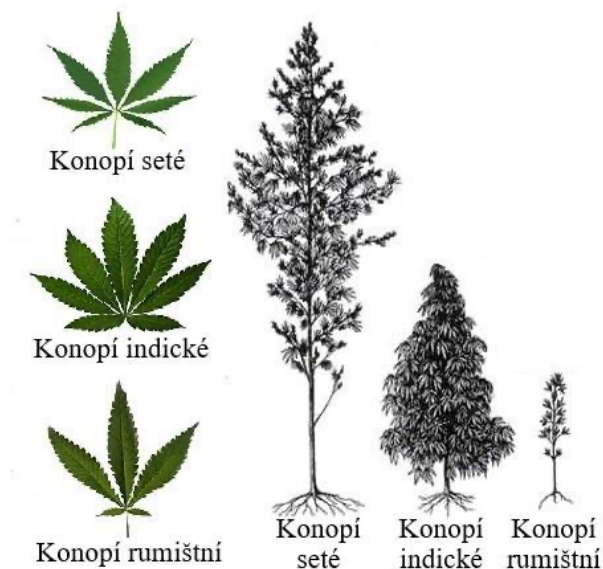
3.2 Botanická charakteristika konopí

3.2.1 Taxonomické zařazení

Konopí, lat. *Cannabis*, je jednoletá rostlina patřící do čeledi konopovitých (*Cannabinaceae*). Kromě konopí do této čeledi spadá i chmel (*Humulus*). Rozdílem mezi těmito rostlinami je v absenci kanabinoidních látek u chmelu, které mají psychotropní účinky. Hlavním druhem konopí je konopí seté, které se rozděluje na tři poddruhy: konopí seté (*C. sativa* spp. *sativa*), tzv. konopí indické (*C. sativa* spp. *indica*) a konopí rumištní/plané (*C. sativa* spp. *ruderalis*). Poslední typ konopí se rovněž dá označit za poddruh konopí setého (Dupal 2010).

Konopí se z morfologického hlediska rozděluje na dva hlavní typy, kterými jsou konopí seté a konopí indické. Hlavní morfologický rozdíl mezi indickým a setým typem spočívá v jejich listech. Listy konopí setého bývají mnohem menší a tenčí, zatímco listy konopí indického mají široké pruhy a jsou sytě zelené, často s nádechem purpuru; v dospělosti přecházejí do tmavě purpurové. Konopí indické je kratší a bujnější, obvykle dorůstá do 1,8 m, ale ve výjimečných případech i nad 2,4 m. Konopí indické má krátké větvení stonku obtěžkané hustými pupeny. Pupeny indického konopí se obvykle liší barvou, která může přecházet od tmavě zelené po fialovou, přičemž chladnější podmínky vyvolávají intenzivnější zbarvení. Konopí indické kvete dříve.

Konopí seté má dlouhé větvení stonku, přičemž spodní část se od středové stopky rozprostírá 1,2 m nebo více. Výška kolísá od 1,8 m do více než 6 m. Pupeny jsou dlouhé a tenké a mnohem méně hustě osídlené než u indického typu, ale delší, někdy i 1 m a více. Doba zrání se značně liší v závislosti na odrůdě a podmínkách prostředí. Pupeny setého typu vyžadují intenzivní světlo, aby ztloustly a nabobtnaly; indického typu nikoli. Konopí seté má většinou větší zastoupení tetrahydrokanabinolu (THC) a nižší kanabidiolu (CBD) než konopí indické (Thomas & ElSohly 2016).



Obrázek 1: Základní poddruhy konopí (Ruman 2014; Kreol International Magazine 2015)

3.2.2 Morfologická charakteristika

Konopí se řadí mezi krátkodenní rostliny, které k růstu vyžadují dlouhé zatemnění trvající zpravidla čtrnáct hodin a méně. Je potřeba omezit denní světlo, aby se rostlina z vegetativní fáze dostala do reprodukční. Po přechodu do reprodukční fáze se obmění uspořádání listů (Holland et al. 2010).

Konopí je obvykle označováno za dvoudomý druh, tj. samčí a samičí květy se vyvíjejí na samostatných rostlinách. Existují i některé rostliny, které mohou být jednodomé. Morfologicky je obtížné identifikovat samčí a samičí rostliny ve vegetativním stádiu. Se sexuálním dimorfismem, který se objevuje ve vývoji rostlin později, lze odlišit samčí rostliny od samičích rostlin po začátku kvetení. Konopí může mít rovněž sklony k hermafroditismu (ElSohly et al. 2017).



Obrázek 2: *Cannabis sativa* (PHOENIX lékárenský velkoobchod 2013)

3.3 Legislativa léčebného konopí

První státem, který povolil využívat konopí pro léčebné účely, byla Kalifornie. A to již v roce 1996. Do února roku 2022 bylo používání konopí pro léčebné účely povoleno v 37 státech, čtyřech teritoriích a Washingtonu DC. Na těchto územích je produkce a distribuce konopí řízena vlastními zákony jednotlivých států. Většinou je však podáváno kvalifikovanými zdravotnickými osobami. Na dalších 11-ti územních celcích je povoleno z lékařských důvodů a v omezených situacích využívat produkty s nízkým obsahem THC, ale vysokým obsahem CBD. Americká legislativa takovéto programy, které používají konopí s pouze velmi malým obsahem THC, nezapočítávají do komplexního programu léčebného konopí (National Conference of State Legislatures 2022).

Kanada legalizovala využívání konopí pro lékařské účely již v roce 2001 a to konkrétně ke snížení bolesti především u nevléčitelných onemocnění. Lidé, kteří chtějí užívat konopí pro lékařské účely, musí získat dokument (nejčastěji předpis) od lékaře či zdravotní sestry. S tímto dokumentem mohou následně nakupovat konopí pro lékařské účely prostřednictvím licencovaných kanadských producentů. Ti ho dodávají v různých formách včetně sušeného konopí či konopného oleje (Canadian Cancer Society 2022).

Nizozemsko se tradičně vyznačuje velmi osobitým přístupem na poli sociálních reforem. Co se týče samotné produkce a distribuce konopí pro lékařské účely, stalo se Nizozemsko vůbec první zemí světa, která umožnila prodávat konopí na lékařský předpis v lékárnách. Nizozemský Úřad pro lékařské používání konopí (BMC) schválil toto jednání už v roce 2003. Kromě lékáren mohou konopí pacientům vydávat také někteří lékaři a zdravotnická zařízení (Emcdda 2018).

Velmi čerstvým institutem v českém právním prostředí, který se zabývá problematikou legalizace konopí, je zákon č. 366/2021 Sb., který podstatnou mírou novelizuje především zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů. Tento zákon ve svých úvodních paragrafech nově napřímo definuje základní pojmy, jako například konopí pro lékařské použití, technické konopí apod. Dle §2 zmíněného zákona je konopí pro lékařské použití definováno jako: „konopí, které je výrobcem určeno k terapeutickému účelu u lidí nebo ke zpracování za tímto účelem.“ Dále zákonodárce uvádí i samotné vymezení rostliny konopí pro léčebné použití. Ta je vymezena jako: „rostlina z rodu konopí, která je pěstována za účelem produkce konopí pro léčebné použití“ (Ministerstvo zdravotnictví ČR 2013).

Hlavní nosnou myšlenkou celé novely zákona je však změna subjektu, který bude nově moci legálně pěstovat konopí pro léčebné účely. Podle současné právní úpravy může takovéto konopí pěstovat ten, který získá licenci od Státního ústavu pro kontrolu léčiv (SÚKL) a dále *povolení k zacházení s návykovými látkami a přípravky* vydávaného Ministerstvem zdravotnictví ČR. V tomto směru se novela zásadně neliší od předešlé právní úpravy. Výraznou změnu je však možné sledovat u poskytování licence od SÚKL. V současně účinné právní úpravě SÚKL udělí licenci k pěstování konopí pro lékařské použití každé právnické či fyzické osobě, která o takovou licenci požádá, a dále pak za dodržení zákonných podmínek. Další výraznou změnou je fakt, že pěstitelé již nejsou povinni prodávat své produkty napřímo SÚKL, ale všem, kteří mají kompetenci k zacházení s takovými látkami. Tato změna se snaží podpořit tržní ekonomiku na poli obchodu s konopím pro lékařské použití, čímž si zákonodárci slibují výrazné snížení ceny a tím i zlepšení dostupnosti pro občany. Dalším výrazným právním nástrojem, který spravuje problematiku distribuce konopí pro léčebné účely, je vyhláška Ministerstva

zdravotnictví České republiky č. 236/2015., která popisuje podmínky, za kterých je možné takovéto konopí předepisovat, připravovat, vydávat a používat individuálně připravené léčivé přípravky. Tato vyhláška také hned ve svém druhém paragrafu uvádí, že je možné použít nejvýše 180 g/měsíc usušeného konopí pro léčebné účinky. I z tohoto je patrné, že Česká republika se snaží reagovat na změny v legalizační politice nejen léčebného konopí, která je patrná v evropském prostředí (Ecovis ježek 2019).

3.4 Účinné látky léčebného konopí

Konopí obsahuje nejen kanabinoidy jako klíčové složky, ale i další nekanabinoidní látky, které hrají důležitou roli jako synergické nebo doprovodné sloučeniny (Hanuš & Hod 2020). Konopí obsahuje mnoho biologicky aktivních sloučenin představujících různé chemické třídy. Některé z nich náleží k primárním metabolitům, například aminokyseliny, mastné kyseliny a steroidy, zatímco kanabinoidy, flavonoidy, lignany, terpenoidy a alkaloidy jsou sekundárními metabolity (Vickery et al. 2016; Borille et al. 2017). Metabolický profil této rostliny je tak velmi pestrý (Pollio 2016).

3.4.1 Kanabinoidní látky

Konopí obsahuje přibližně 150 látek kanabinoidního typu (Landa et al. 2020). K nejprozkoumanějším kanabinoidům z hlediska farmakodynamického působení se řadí tetrahydrokanabinol (THC) a kanabidiol (CBD).

Rostlinné kanabinoidy jsou terpenofenolové sloučeniny složených z 21 atomů uhlíku (C₂₁) a vyskytují se v rostlině ve formě karboxylových kyselin. Kanabinoidy jsou dobře známy mezi sekundárními metabolity konopí (Turner et al. 2017). Klasické fytoKANABINOIDY se obvykle soustředí na viskózní pryskyřici vytvořenou a izolovanou ve strukturách známých jako glandulární sekreční vlasové folikuly – trichomy (Lewis et al. 2018). Dosud bylo v rostlinách rozpoznáno asi 100 fytoKANABINOIDŮ (Russo & Marcu 2017). Jejich produkce se zvyšuje ve stresových podmínkách (Zielonka et al. 2020).

FytoKANABINOIDY, prenylované polyketidy smíšeného biosyntetického původu, jsou syntetizovány z prekurzorů mastných kyselin a isoprenoidů. Všechny fytoKANABINOIDOVÉ struktury obsahují monoterpenickou jednotku připojenou k fenolickému kruhu obsahujícímu alkylovaný uhlík C₃ (Dewick 2009). Boční řetězec alkyly se může lišit délkou od jednoho do pěti uhlíků, z nichž n-pentyl bývá nejhojnější (ElSohly & Slade 2005). Tetrahydrokanabivarin (THCV), analog THC s n-propylovým postranním řetězcem, se často vyskytuje v konopí (Hillig & Mahlberg 2004). FytoKANABINOIDY lze rozdělit do dvou skupin neutrální kanabinoidy a kanabinoidní kyseliny. Diverzifikace je založena na tom, kolik karboxylových skupin molekula má. Neenzymatická dekarboxylace může nastat během skladování a zejména při zvýšených teplotách při uzení konopí (Kimura & Okamoto 1970; Shoyama et al. 1970).

Tetrahydrokanabinol (THC)

THC je považován za hlavní účinnou psychoaktivní složku konopí, z níž pochází přibližně 70–100 % těchto účinků. THC je přítomen téměř ve všech odrůdách a typech. Rozdílem je množství v dané odrůdě, které se pohybuje od nepatrných stop až po 95 % ze všech kanabinoidů. THC vykazuje mechanismy závislé i nezávislé na kanabinoidních receptorech. Ovlivnění prostředí při pěstování anebo umělý zásah při sklizni a zpracované produkci může vést k dosažení optimálního obsahu THC.

THC disponuje širokým spektrem mnohotvárných účinků. THC má kromě psychoaktivních vlastností i pozitivní účinky v oblasti medicíny. Působí příznivě na svaly, které uvolňuje, antibioticky, rozšiřuje bronchy, protiepilecticky, snižuje horečku a nitrooční tlak, uklidňuje a zmírňuje bolest aj. (Grotenhermen 2009; Dupal 2010).

THC účinně interaguje s receptory CB₁ a CB₂, což je základem jeho působení při regulaci bolesti, křečí, chuti k jídlu a nálady (Russo 2011). THC má 20krát vyšší protizánětlivou účinnost než aspirin a dvakrát vyšší než hydrokortizon (Evans 1991).

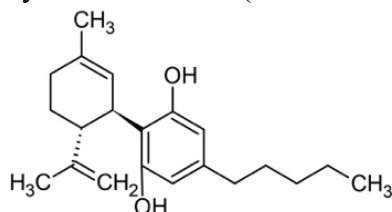


Obrázek 3: Strukturní vzorec THC (PngEgg 2021)

Kanabidiol (CBD)

CBD se rovněž vyskytuje prakticky ve všech odrůdách a druzích konopí. CBD nevykazuje psychoaktivní účinky, ale vykazuje tlumivé účinky a při určitých vysokých dávkách ovlivňuje účinky THC. Působí anxiolyticky, díky čemuž snižuje duševní napětí a úzkost. Dalšími pozitivními účinky, které CBD má, jsou např. protiepileptické, protizánětlivé, antipsychotické, sedativní, analgetické, antibiotické vlastnosti a další. CBD může potlačit začátek působení konopí, ale zároveň může jeho působení až dvojnásobně prodloužit. Pokud rostlina obsahuje malé množství THC a vysoké množství CBD, tak jsou účinky konopí charakterizovány útlumem, pocitem slabosti až otupělosti těla a mysli. (Grotenhermen 2009; Dupal 2010).

CBD má zřejmě více antagonistický účinek a interaguje s ostatními neurotransmiterovými receptory, jako je serotonin, opioid a dopamin. Zdá se, že působí tak, že snižuje zpětné vychytávání anandamidu, endokanabinoidu produkovaného lidmi. CBD receptory jsou rozšířeny v mnoha mozkových oblastech, stejně jako v dalších částech těla, včetně gastrointestinálního traktu a imunitního systému. Studie odhalují, že CBD působí v mozku na mediální prefrontální kůru, amygdalu a hipokampus, což jsou oblasti přímo související se systémem odměn (Russo & Marcu 2017).



Obrázek 4 Strukturní vzorec CBD (Abcam 2020)

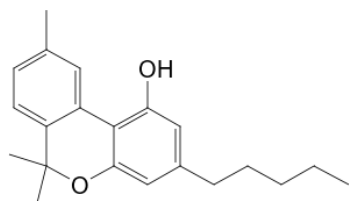
Kanabinol (CBN)

Kanabinol je neenzymatický vedlejší produkt oxidace THC a nejčastěji se vyskytuje po delším skladování, zejména při vyšších teplotách. CBN byl prvním kanabinoidem, který byl identifikován a izolován z konopí (Wood et al. 1899). Tento objev byl s největší pravděpodobností způsoben degradací THC na CBN v důsledku špatné kontroly kvality, podmínek přepravy a skladování týkající se 19. století; problémy, které jsou u stávajících konopných produktů stále obtížně překonatelné (Upton et al. 2013).

Ve srovnání s THC si CBN zachovává přibližně 1/4 účinnosti (Rhee et al. 1997). CBN může mít sedativní, protikřečové účinky, které byly prokázány ve studiích prováděných na zvířatech a lidech. CBN taktéž prokázal významné vlastnosti související s protizánětlivou, antibiotickou

a anti-MRSA (methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*) aktivitou (Karniol et al. 1975; Turner et al. 1980; Evans 1991; Appendino et al. 2008; McPartland & Russo 2012).

CBN má potenciál jako součást lokálních aplikací, např. při léčbě popálenin. Přehled fytoKANABINOIDŮ shrnuje schopnost (Wilkinson et al. 2010) CBN inhibovat aktivitu řady enzymů, včetně cyklooxygenázy, lipoxygenázy a řady enzymů cytochromu P450 (Pertwee & Cascio 2014). CBN může rovněž stimulovat aktivitu fosfolipáz. CBN navíc podporuje nábor klidových mezenchiálních kmenových buněk v kostní dřeni podporujících tvorbu kostí a může ovlivňovat proteiny rezistenční vůči rakovině prsu (Scutt & Williamson 2007; Holland et al. 2008).



Obrázek 5: Strukturní vzorec CBN (SpectraBase 2022)

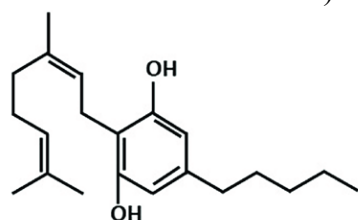
Kanabigerol (CBG)

Tato sloučenina byla extrahována z konopí ve stejném roce jako THC, ale kanabigerol nemá psychoaktivní účinky (Gaoni & Mechoulam 1964; Grunfeld & Edery 1969; Grunfeld & Gresty 1999). CBG, výchozí fytoKANABINOIDNÍ sloučenina, má relativně slabý částečný agonistický účinek na CB₁ a CB₂ receptory (Gauson et al. 2007).

CBG může stimulovat řadu receptorů důležitých pro bolest, zánět a tepelnou senzitivitu (Cascio et al. 2010; de Petrocellis & di Marzo 2010; de Petrocellis et al. 2011). CBG může také se značnou účinností antagonistovat stimulaci serotoninových receptorů a CB₁ (de Petrocellis & di Marzo 2010).

Analgetické a antiarytmické účinky a schopnost blokovat lipooxygenázu údajně předčí účinky THC (Evans 1991). CBG prokázal mírné antitumorigenní účinky (Elsohly et al. 1982). CBG má v modelech základního výzkumu pozoruhodné protinádorové vlastnosti, ve vysokých dávkách se ukázal jako účinný cytotoxický prostředek a je jedním z účinnějších fytoKANABINOIDŮ proti rakovině prsu (Baek et al. 1998; Ligresti et al. 2006). V modelu u hlodavců má CBG významné antidepresivní a mírně antihypertenzní účinky (Maor et al. 2006; Musty & Deyo 2006).

V neposlední řadě je CBG silným inhibitorem vychytávání anandamidu a účinnou látkou proti MRSA (methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*) (Appendino et al. 2008; de Petrocellis et al. 2011).



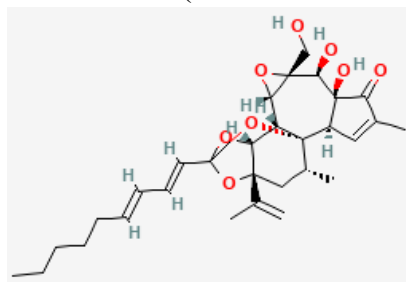
Obrázek 6: Strukturní vzorec CBG (Aqawi et al. 2020)

3.4.2 Terpeny a terpenoidy

Terpeny jsou malé izoprenové molekuly klasifikované jako monoterpeny, seskviterpeny, diterpeny nebo karotenoidy, závislé na počtu jednotek izoprenu (C₅) použitých k jejich syntéze. Terpenoidy jsou malé lipidové sloučeniny odvozené od terpenů, často doprovázené silnou vůní vhodnou pro ochranu proti možným predátorům (Zielonka et al. 2020).

Terpenoidy

Terpenoidy přítomné v konopí mají nejen synergické funkce při spojení s kanabinoidy, ale jejich aktivita byla široce studována u mnoha různých rostlinných druhů. Rovněž jsou ve farmacii uznávány díky jejich antioxidační, antibakteriální, protiplísňové, protizánětlivé, protistresové, protinádorové aktivitě a analgetickým vlastnostem. Zatímco byly rozsáhle studovány genové sítě, které řídí biosyntézu kanabinoidů a jejich prekurzorů, biosyntetická dráha molekul terpenoidů v konopí byla objasněna teprve nedávno (Pollastro et al. 2017). Zatímco kanabinoidy se většinou vyskytují v konopných rostlinách, terpenoidy produkuje také mnoho dalších druhů rostlin, takže musí sdílet stejné enzymy podílející se na jejich metabolismu (Massimino 2017; Booth et al. 2017; Zielonka et al. 2020).



Obrázek 7: Strukturální vzorec terpenoidu EA-I (National Center for Biotechnology Information 2022)

Terpeny

Terpeny jsou sloučeniny, které vytvářejí vůni a chuť rostliny. Mezi nejčastěji identifikované terpeny v rostlinách konopí patří α -pinen, β -myrcen, limonen, β -karyofylen a linalol. Dohromady jsou kanabinoidy a terpeny spojovány s tzv. kanabinoid-terpenovým entourage efektem, který lze popsat tak, že různé sloučeniny v konopí na sebe vzájemně působí a vyvolávají specifický účinek, který je větší, než kdyby se jednotlivé sloučeniny užívaly samostatně (Carlini et al. 1974; Wilkinson et al. 2010; Russo 2011).

Silice, zejména pokud jsou destilované, nemusí být nutně svým chemickým složením totožné se silicí, která je přítomna v živé rostlině. Poměrně často se chemické látky s velmi vysokým nebo nízkým stupněm varu jednoduše „ztratí“ kvůli povaze destilačního procesu a kvůli ekonomickým a časovým omezením (Hanuš & Hod 2020).

Ačkoli většina složek zůstává během destilace nedotčena, některé z nich procházejí chemickými změnami. Silice obsahují také látky, které vznikají z reaktivních prekurzorů při destilaci. Rozdíly ve složení silic mohou být způsobeny faktory, které ovlivňují prostředí rostliny, jako je zeměpisná poloha, povětrnostní podmínky, typ půdy, použité hnojivo, stáří rostliny, denní či roční doba a počasí, kdy se sklízí. K degradaci dochází spíše při delším skladování, za špatných skladovacích podmínek nebo pokud je silice vystavena působení vzduchu. Atmosférický kyslík může změnit chemické složení silice reakcí s některými jeho složkami. Oxidace může také ovlivnit účinnost silice a může je učinit nebezpečnější (Tisserand

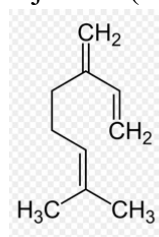
& Young 2014). Když používáme rostlinný materiál, musíme dbát na jeho ochranu před UV zářením a oxidací na vzduchu, jinak se některé terpeny mohou přeměnit na alergeny (Karlberg et al. 1992; Bråred Christensson et al. 2016; Hanuš & Hod 2020).



Obrázek 8: Konopná silice (aedkaDPS 2018)

β -myrcen

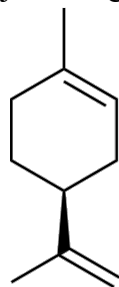
β -myrcen je nejrozšířenějším terpenem v moderních chemovarech konopí ve Spojených státech a v Evropě. Pravděpodobně se nejvíce podílí na sedativních účincích mnoha běžných přípravků v obchodě. β -myrcen působí protizánětlivě a blokuje karcinogenní účinky aflatoxinu v játrech (Russo & Marcu 2017).



Obrázek 9: Strukturální vzorec β -myrcenu (Neznámý 2020)

Limonen

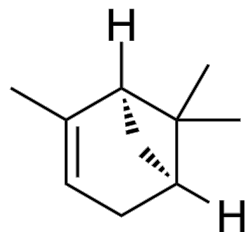
Limonen je cyklický monoterpen, který je běžný v kůře citrusových plodů a vyskytuje se hojně v přírodě, i když v současné době se v konopí nachází spíše sporadicky. Limonen je v rostlině mateřskou sloučeninou celé skupiny monoterpenoidů. Vykazuje vysokou biologickou dostupnost se 70% absorpcí po plicním podání člověku, je rychle metabolizován, ale hromadí se v tukových tkáních a mozku, přičemž odhadovaná smrtelná dávka pro člověka je 0,5-5 g/kg (Russo & Marcu 2017).



Obrázek 10: Strukturální vzorec limonenu (Santa Cruz Biotechnology 2019)

α -pinen

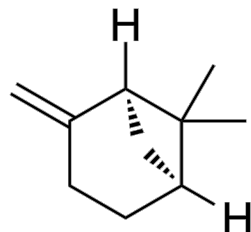
α -pinen, bicycklý monoterpen, je nejrozšířenější terpenoid v přírodě (Noma & Asakawa, 2010), ale tato všestranná léčivá látka je bohužel v moderních chemovarech konopí zastoupena v nižší koncentraci. Má vysokou biologickou dostupnost inhalací (60 %) s rychlým metabolismem a redistribucí. Jeho farmakologické účinky jsou četné: protizánětlivé, bronchodilatační a antibiotické (Russo & Marcu 2017).



Obrázek 11: Strukturální vzorec α -pinenu (Santa Cruz Biotechnology 2019)

β -pinen

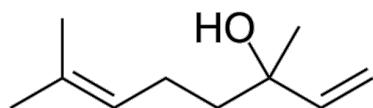
Bicycklý monoterpenový izomer β -pinen se běžně vyskytuje ve spojení s α -pinenem. Ukázalo se, že má stejnou antibiotickou účinnost jako α -pinen (Russo & Marcu 2017).



Obrázek 12: Strukturální vzorec β -pinenu (Santa Cruz Biotechnology 2019)

Linalol

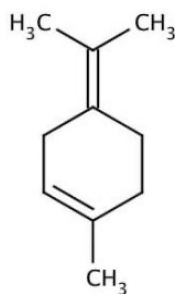
Linalol je nocycklý monoterpenoid, který se běžně získává z levandule, růže a bazalky. Linalol má prokázané sedativní, antidepresivní, imunitu posilující účinky a účinky snižující úzkost. Tento terpen může také působit analgeticky a protikřečově (Russo & Marcu 2017).



Obrázek 13: Strukturální vzorec linalolu (Santa Cruz Biotechnology 2019)

Terpinolen

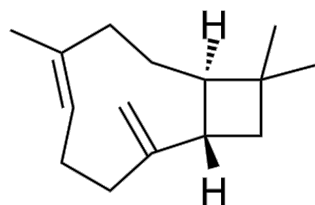
Terpinolen je cycklý monoterpen, který se běžně nachází v borovici. Jeho přítomnost je údajně charakteristická pro konopí typu sativa. Bylo prokázáno, že terpinolen zabraňuje oxidaci LDL cholesterolu, což má význam při léčbě aterosklerózy a ischemické choroby srdeční (Russo & Marcu 2017).



Obrázek 14: Strukturální vzorec terpinolenu (Santa Cruz Biotechnology 2019)

β-karyofylen

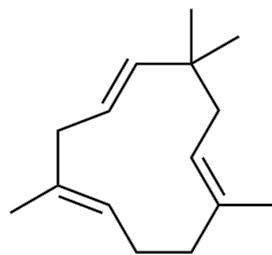
β-karyofylen, bicyklický seskviterpenový alken, je nejběžnějším terpenoidem v konopných extraktech téměř všudypřítomný a některých potravinách (např. esenciální oleje) (Russo & Marcu 2017). Tato sloučenina je jediným terpenem, o němž je známo, že interaguje s endokanabinoidním systémem organismu (selektivně se váže na CB₂ receptor) (Hanuš & Hod 2020).



Obrázek 15: Strukturální vzorec β-karyofylenu (Santa Cruz Biotechnology 2019)

Humulen

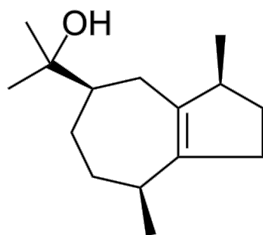
Humulen má antibakteriální, protizánětlivé a protinádorové vlastnosti. Poskytuje rostlinám a jejich produktům určitou ochranu, protože může zabraňovat páření octomilek (Russo & Marcu 2017; Hanuš & Hod 2020).



Obrázek 16: Strukturální vzorec humulenu (Santa Cruz Biotechnology 2019)

Guaiol

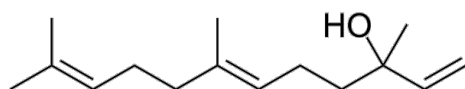
Guaiol, bicyklický seskviterpenoidní alkenický alkohol, je netoxický a nedráždivý. Používá se v aromaterapii k léčbě artritidy, revmatoidní artritidy a dny. Uváděné účinky silice jsou protizánětlivé, antioxidační, antirevmatické, antiseptické, diuretické, projímavé a jiné (Russo & Marcu 2017).



Obrázek 17: Strukturální vzorec guaiolu (Santa Cruz Biotechnology 2019)

Nerolidol

Nerolidol je nocyklický seskviterpenový alkenový alkohol se sedativními účinky, který se běžně vyskytuje v citrusových slupkách. Nerolidol se vyskytuje v kožních přípravcích, ale na rozdíl od některých běžných kožních přípravků se považuje za netoxický a nezvyšující citlivost (Russo & Marcu 2017).

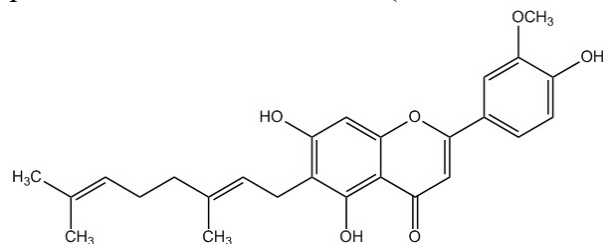


Obrázek 18: Strukturální vzorec nerolidolu (MedChemExpress 2019)

3.4.3 Ostatní

Flavonoidy

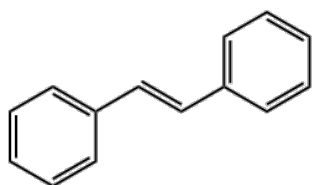
Flavonoidy jsou široce se vyskytující chemikálie v rostlinné říši a jsou zodpovědné za mnoho funkcí ve fyziologii, ekologii a biochemii rostlin. Tyto složky se vyskytují v tkáních květů, listů, pylu a větviček konopí. Bylo popsáno asi 20 látek, což představuje sedm chemických struktur (Pollastro et al. 2017). Například kanflavin A a kanflavin B jsou metylované isoprenoidové flavony. Některé studie naznačují pravděpodobnou modulaci prostřednictvím kanabinoidů (Flores-Sanchez & Verpoorte 2008; Zielonka et al. 2020).



Obrázek 19: Strukturální vzorec kanflavinu A (PhytoLab 2022)

Stilbeny

Stilbeny jsou fenolové sloučeniny, jejichž funkce v rostlinách zahrnují základní a vyvolané obranné mechanismy a inhibici růstu. Stilbeny jsou často přítomny ve stonku, listech a pryskyřici. Mohou mít antimykotickou a antibakteriální aktivitu nebo jsou odpuzující vůči hmyzu. Devatenáct těchto látek bylo identifikováno v konopí (Duraismy et al. 2017; Zielonka et al. 2020).



Obrázek 20: Strukturní vzorec stilbenu (Chemical Book 2022)

Alkaloidy

Další skupinou sekundárních metabolitů vyskytujících se v rostlinách jsou alkaloidy. Většinou obsahují elementární atomy dusíku a mohou být odvozeny z aminokyselin. Obvykle vykazují biologickou aktivitu u zvířat.

V konopí bylo identifikováno asi 10 alkaloidů v kořenech, stoncích, listech, pylu a plodech. Cholin, neurin, L-(+)-isoleucin-betain – protoalkaloidy; hordenin – fenethylamin je repelent proti kobyčkám a trigonel – pyridin. Piperidin a pyrrolidin byly rovněž identifikovány v rostlině (Pollastro et al. 2017; Zielonka et al. 2020).

Lignanamidy a fenolické amidy

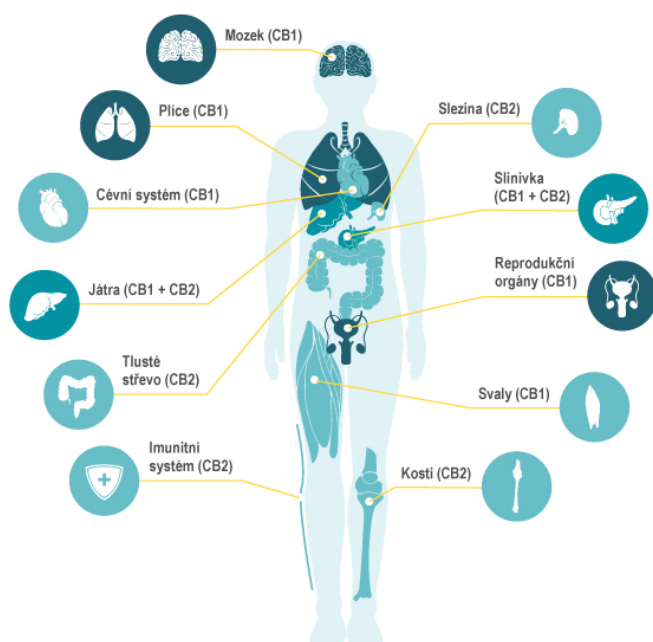
Konopí se skládá nejméně z 10 složek identifikovaných jako fenolické amidy a lignanamidy. Výskyt a akumulace fenolických amidů v reakci na poranění a UV záření naznačuje chemickou ochranu proti predátorům. Lignany mají insekticidní účinky, hrají významnou roli v procesu kvetení, v odolnosti vůči virům a v hojení (GlodowsBehr et al. 2018; Zielonka et al. 2020).

3.5 Endokanabinoidní systém

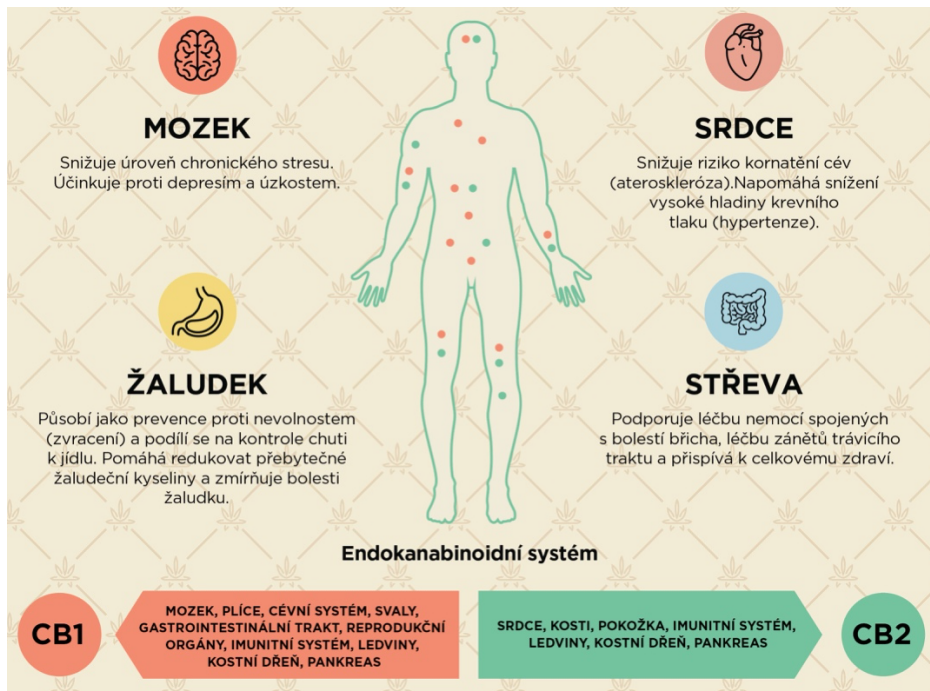
Endokanabinoidní systém (ECS) je biochemický systém, který se podílí na regulaci mnoha fyziologických a kognitivních procesů. Funkcemi tohoto systému jsou regulace neurotransmise prostřednictvím interakce s presynaptickými receptory v centrálním nervovém systému a kontrola mnoha fyziologických procesů přímou aktivací receptorů v tkáních a orgánech. Mezi kognitivní procesy regulované tímto systémem náleží zapamatování a sjednocení krátkodobé paměti, motivace a vliv na motorickou aktivitu, pocit hladu a sytosti a pocit bolesti. Fyziologické a biochemické procesy řízené tímto molekulárním systémem jsou metabolismus lipidů a sacharidů, aktivita adipocytů, hepatocytů a endokrinní části slinivky břišní, implantace, správný prenatální a postnatální vývoj, jakožto i fungování imunitního systému a průběh procesu zánětlivé reakce (Marzo 2001; Mechoulam et al. 2014).

ECS má tři typy složek, které dokáží rozlišit endokanabinoidní systém:

1. Receptory pro kanabinoidy
2. Endogenní kanabinoidy
3. Enzymy regulující biosyntézu a biodegradaci endogenních kanabinoidů (Marzo 2001; Mechoulam et al. 2014).



Obrázek 21: Endokanabinoidní receptory CB₁ a CB₂ a jejich výskyt v lidském organismu (Anawe 2021)



Obrázek 22: Endokannabinoidní systém s CB₁ a CB₂ receptory a jejich funkcemi (HerbForce 2022)

3.6 Léčba konopím

Výraz „léčebné konopí“ označuje rostlinné materiály a farmaceutické výrobky získané z konopí, které se používají na lékařské předpisy (Zielonka et al. 2020). Fytokanabinoidy napomáhají léčení a eliminaci příznaků nemocí, které jsou náročné na léčbu, a pozitivní vliv na mnoho fyziologických procesů, které při spojení s nelegálním lékem vyvolávají protichůdné emoce (Ben Amar 2006).

Kanabinoidy se mohou podávat perorálně nebo lokálně; lze je kouřit, vdechovat, míchat s jídlem nebo pít jako čaje. Mohou se užívat v rostlinné formě, kdy se získávají přirozeně z rostliny izomerizací kanabidiolu nebo vyrábějí synteticky (Hazekamp et al. 2013).

Jedna z největších komplikací u legalizace konopí jsou psychoaktivní vlastnosti THC, díky nimž může konopí vyvolat u některých osob mírnou závislost. Avšak je nutné si uvědomit, že poměrně dost jiných legalizovaných látek má stejné nebo mnohem větší riziko závislosti, přičemž jsou používány naprosto běžně a legálně (např. benzodiazepiny nebo opioidy) (Landa et al. 2020).

V poslední době v USA vzrostlo legální užívání konopí při léčbě četných zdravotních potíží, včetně nauzey, chronické bolesti a úzkosti. Existují kurzy na internetu, do kterých se mohou lékaři přihlásit, aby získali licenci na předepisování konopí. Legální užívání konopí v Evropě je předmětem široké mediální a veřejné diskuse hlavně v otázce změny zákonů o konopí (Sánchez Artiles et al. 2019).

Převážně se k léčbě konopím používají tři typy: s vysokým obsahem THC a nízkým obsahem CBD, s vysokým obsahem CBD a nízkým obsahem THC a druhy, ve kterých je zhruba stejné množství CBD i THC (Landa et al. 2020).

3.6.1 Onkologická onemocnění

Účinek konopí na různé symptomy související s rakovinou je u mnoha proměnných závislý na sebehodnocení a ve většině publikovaných studií často chybí kontrolní skupina. Prospektivní observační studie, která zahrnovala dva rozhovory založené na dotaznících hodnotících symptomy a vedlejší účinky, ukázala, že mnoho symptomů souvisejících s rakovinou se při konzumaci konopí významně zlepšilo. Nebyly zaznamenány žádné významné vedlejší účinky s výjimkou ztráty paměti u pacientů s dlouhodobým užíváním konopí (Bar-Sela et al. 2013).

Studie zaměřená na užívání konopí u více než 3 000 pacientů s rakovinou prokázala významné zlepšení kontroly dalších běžných příznaků, včetně problémů se spánkem (70,8 %), únavy (55,9 %), úzkosti a deprese (74,1 %) a nevolnosti a zvracení (54,7 %). Pouze 18,7 % pacientů uvádělo dobrou kvalitu života před zahájením léčby, zatímco 69,5 % pacientů ji uvádělo po 6 měsících. Dále 36 % pacientů přestalo užívat opioidy a méně než 20 % pacientů přerušilo léčbu konopím, z nichž 19,3 % z důvodu vedlejších účinků (Bar-Lev Schleider et al. 2018).

Případová studie, u které bylo zaznamenáno, že užívání konopí vedlo k významnému snížení frekvence svalových křečí a úrovně bolesti u svalových křečí souvisejících s léčivem vismodegibem u pacienta s pokročilým bazocelulárním karcinomem (Kutiell et al. 2018; Abu-Amna et al. 2021).

Ačkoli se kanabinoidy klinicky používají v paliativních indikacích, nedávné studie otevírají slibnou možnost jejich využití jako protinádorových látek. Do souvislosti mezi systémem endokanabinoidů a rakovinou je zapojeno několik dobře prozkoumaných buněčných signálních drah a biologických procesů (Turgeman & Bar-Sela 2019). Mezi tyto dráhy a procesy patří cyklický adenosinmonofsfát (cAMP), mitogenem aktivovaná proteinkináza (MAPK), proteinkináza b, ceramid, reaktivní formy kyslíku (ROS) a další. V souladu s tím výsledky preklinické studie ukázaly, že fytoKANABINOIDY mohou mít protinádorové účinky, jakož i antimitotické, antimetastatické, antiangiogenní a proapoptotické účinky na různé nádorové buňky in vitro (Pisanti et al. 2009; Alexander et al. 2009; Abu-Amna et al. 2021).

Konopí bude v nadcházejících letech nepochybně hrát v onkologii významnější roli, ale stále existují překážky, které je třeba překonat. Provádění randomizovaných kontrolních studií většího rozsahu je náročné z důvodu regulačních problémů. Přesné dávky léčebného konopí se značně liší a závisí na individuálních potřebách pacienta a toleranci vedlejších účinků. Další velká výzva v této oblasti je vhodná koncentrace THC a CBD a způsob podání podle indikace pacientů k užívání (Abu-Amna et al. 2021).

3.6.2 Dermatologická onemocnění

Terapie aplikací CBD byla zkoumána u několika druhů kožních onemocnění a předběžné poznatky ukazují na slibný potenciál k léčbě ekzémů a dalších onemocnění s více možnými způsoby podání, které lze vyrobit tak, aby neobsahovaly psychoaktivní složky (Nickles & Lio 2020).

Mykózy

Plísňové infekce kůže a nehtů tvoří nejpočetnější a nejrozšířenější skupinu všech mykóz. Dermatofytům se daří při teplotách 25–28 °C, kdy teplé a vlhké podmínky podporují infekci lidské kůže. Z těchto důvodů jsou povrchové houbové infekce v tropických zemích poměrně časté. Spektrum dermatofytů není statické navzdory regionálním charakteristikám a predispozicím pro dermatofytové infekce. Rozmach masové turistiky, mezinárodní sportovní aktivity a rostoucí migrace znamená, že se šíří méně běžné nebo zapomenuté druhy houbových infekcí (Havlickova et al. 2008).

Povrchové houby lze rozdělit podle jejich prostředí na antropofilní, zoofilní a geofilní organismy. Původci kožních mykóz jsou především antropofilní a zoofilní typy z rodů *Trichophyton* (T.), *Microsporum* (M.) a *Epidermophyton* (E.). Obecně platí, že antropofilní houby způsobují povrchové dermatomykózy, které se vyznačují relativně nízkou zánětlivou aktivitou díky „imunologickému uspořádání“, které existuje mezi houbou a jejím lidským hostitelem (Macura 1993). Prach v domácnosti může fungovat jako rezervoár antropofilních dermatofytů a může uchovávat jejich spory po mnoho let. Zoofilní zárodky se vyskytují především u zvířat, ale ojediněle mohou být přeneseny u člověka prostřednictvím kočky, psa (*Microsporum canis*), morčete a králíka (*Trichophyton mentagrophytes* var. *granulosum*). Geofilní houby rostou v půdě a člověka infikují jen sporadicky (Macura 1993). Výsledkem je slabý až silný zánět (Havlickova et al. 2008).

Na univerzitě v Portu a Coimbře v Portugalsku Cavaleiro et al provedli studii, ve které zkoumali antimykotickou aktivitu silic *Juniperus* proti kmenům dermatofytů, *Aspergillus* a *Candida*. Všechny hodnocené silice inhibovaly kmeny dermatofytů. Všechny vykazovaly

malou schopnost inhibovat kmeny *Candida* a *Aspergillus* na rozdíl od silice z listů *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* (jalovec červenoplodý). Kromě toho olej z listů *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* nejenže nejlépe působí proti dermatofytům, ale vykázal i výraznou aktivitu proti *Candida*. Není však snadné připsat aktivitu komplexní směsi jedné konkrétní složce. V silicích z listů *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* je za hlavní složku považován α -pinen a za druhou důležitou složku d-3-karoten. Výsledky potvrzují, že silice nebo některé jejich složky mohou být užitečné při klinické léčbě plísňových infekcí (Cavaleiro et al. 2006).

Další studie, kterou provedli Ibrahim a Abd El-Salam, se zabývá antidermatofytní účinností a environmentální bezpečností některých komerčních a in vitro extrahovaných čistých a kombinovaných silic proti čtyřem keratinofilním patogenním plísním. Při screeningu antimykotické toxicity 26 komerčních silic proti keratinofilnímu *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum* a *Trichophyton mentagrophytes* byla zaznamenána různá antimykotická účinnost silic. Z této studie vyplynulo, že 24 látek bylo aktivních, zatímco zbylé dvě byly neaktivní. Při porovnání údajů byly zaznamenány výsledky podobné antimykotické účinnosti (Ibrahim & Abd El-Salam 2015).

Bansod a Rai stanovili při screeningu silic extrahovaných z 15-ti variabilních léčivých rostlin rozdílnou antimykotickou aktivitu proti *Aspergillus fumigatus* a *Aspergillus niger* (Dashrath Bansod et al. 2008). Chuang et al. Prokázali, že surové extrakty a silice moringy olejodárné mají antimykotický účinek na *T. rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *E. floccosum* a *M. canis* (Chuang et al. 2007). Shin a Lim zjistili inhibici růstu šesti *Trichophyton* spp. Některými rostlinnými silicemi (Shin & Lim 2004). Bruni et al. Zaznamenali antifungální aktivitu silic obaleně (latina) z čeledi vavříkovité proti dermatofytu *T. mentagrophytes* (Bruni et al. 2004). Adam et al. Zjistili, že silice dobromyslu obecného, máty klasnaté, levandule úzkolisté a šalvěže řecké vykazovaly antimykotickou aktivitu proti *Malassezia furfur*, *T. rubrum* a *Trichosporon beigelii* (Adam et al. 1998).

Akné

První důkazy naznačují, že CBD mohou být při léčbě akné užitečné. Oláh et al podávali CBD kultivovaným lidským sebocytům (buňky v mazových žlázách) a kultuře lidských kožních orgánů. Zjistili, že CBD inhibuje lipogenní působení několika sloučenin, včetně kyseliny arachidonové a kombinace kyseliny linolové a testosteronu (Oláh et al. 2014). V další studii in vitro s použitím lidských sebocytů vědci zjistili, že konopné semínkové extrakty vykazují antimikrobiální aktivitu proti *Propionibacterium acnes* a působí protizánětlivě (Jin & Lee 2019). Oba autoři dospěli k závěru, že CBD/konopné semeno by se mělo dále zkoumat při léčbě akné. Následující studie se týkala zdravých mužů, kteří si aplikovali 3% extrakt z konopných semen v krému na jednu stranu obličeje a na druhou stranu pouze krém. Po 12-ti týdnech aplikace dvakrát denně vědci zjistili, že produkce kožního mazu a erytém se na straně s 3% výtažkem z konopných semen ve srovnání se stranou ošetřenou pouze krémem výrazně snížily. Kromě toho byl extrakt z konopných semen dobře snášen bez výrazných vedlejších účinků. Studie dospěla k závěru, že 3% extrakt ze semen konopí může být při léčbě akné užitečný (Felgueiras 2021).

Další studie in vitro s použitím lidských sebocytů a kultur lidských kožních orgánů poskytly důkaz, že CBD inhibuje lipogenní působení několika sloučenin (např. kombinace kyseliny linolové a testosteronu) a potlačuje množení (proliferaci) lidských sebocytů (Oláh et al. 2014; Martins et al. 2022).

Atopický ekzém (AD)

AD je velmi časté zánětlivé onemocnění, které je silně svědivé a souvisí s nadměrnou kožní reakcí na spouštěče přítomné v prostředí. Konopí se může používat k léčbě svědění a zmírnění příznaků bolesti při AD. Pomocí oleje ze semen konopí je možné posílit pokožku, zvýšit její odolnost vůči bakteriálním, virovým a plísňovým infekcím (Felgueiras 2021).

Studie Callawaye et al srovnávala užívání dietního konopného oleje a olivového oleje ve 20týdenní randomizované jednoslepé zkřížené studii s pacienty s AD. V této studii byla léčba perorální a bylo zjištěno, že denní příjem 30 ml konopného oleje způsobil významné změny v profilu mastných kyselin v plazmě. Na rozdíl od olivového oleje snížil suchost, podráždění a svědění kůže. Autoři předpokládali, že tento účinek byl způsoben vysokým množstvím polyenových mastných kyselin (PUFA) obsažených v konopném oleji. Kromě toho se během léčby u žádného z pacientů nevyskytly nežádoucí reakce na oba oleje (Callaway et al. 2005).

Nedávno byla vyvinuta polykaprolaktonová (PCL) náplast s cílem studovat dlouhodobé uvolňování konopného oleje na modelu kůže a na kůži tří lidských dobrovolníků (Metwally et al. 2021). Výsledky ukázaly až 55% uvolnění oleje během 6 h, přičemž hydratace pokožky dobrovolníků se zvýšila přibližně o 25 %. Toto řízené uvolňování oleje má zásadní význam pro udržení hydratace pokožky po delší dobu, a proto byly náplasti navrženy jako nová, snadno použitelná terapie pro léčbu AD (Martins et al. 2022).

3.7 Nanotechnologie a nanomateriály jako vhodná léková forma aplikace konopí

Národní nanotechnologická iniciativa (NNI) v USA definuje nanotechnologii jako „vědu, inženýrství a technologii prováděnou v nanoměřítku (1 až 100 nm), kde unikátní jevy umožňují nové aplikace v široké škále oborů, od chemie, fyziky a biologie, až po medicínu, inženýrství a elektroniku“ (The United States National Nanotechnology Initiative 2021).

S manipulací atomů a molekul na nanometrové úrovni vzniká nový model vědy a techniky. Nový obor nanotechnologie byl vytvořen ze sblížení tradičních oborů chemie, fyziky, biologie a strojírenství. Kvůli této rozmanitosti zájmů spojených s nanotechnologiemi se nyní zkoumají témata jako nanobiotechnologie, nanoelektronika, nanomateriály a nanofotonika (Sattler 2020).

Měli bychom rozlišovat mezi nanovědou a nanotechnologií. Nanověda je studium struktur a molekul na škálách nanometrů v rozmezí od 1 do 100 nm a technologie, která ji využívá v praktických aplikacích, jako jsou zařízení atd., se nazývá nanotechnologie (Mansoori & Soelaiman 2005).

Nanomateriály (NM) jsou chemické látky nebo materiály, které jsou vyráběny a používány ve velmi malém měřítku, tj. 1–100 nm v nejméně jednom rozměru. Hromadné materiály jsou částice, jejichž velikost je vyšší než 100 nm ve všech rozměrech. V hromadných materiálech jsou fyzikální vlastnosti nezávislé na velikosti, zatímco v případě nanomateriálů mohou být různé fyzikální vlastnosti závislé na velikosti a tvaru nanomateriálů. Význam nanomateriálů si vědci uvědomili, když zjistili, že velikost ovlivňuje fyzikálně-chemické vlastnosti látky, včetně jejích chemických, elektrických, mechanických a optických vlastností. Proto nanočásticové materiály vzbudily značný zájem díky svým jedinečným vlastnostem. Nanočástice vykazují potenciál pro několik aplikací, včetně úpravy vody, rafinerií ropy, petrochemického průmyslu, průmyslových procesů, katalytických procesů, budov a stavebních materiálů, diagnostiky a podávání léků (Gleiter 2000; Saleh 2020).

3.7.1 Druhy nanomateriálů

Nanomateriály mohou být klasifikovány do různých skupin na základě různých kritérií. Obecně jsou nanomateriály kategorizovány podle jejich morfologie, stavu a chemického složení. Rozdělení nanomateriálů dle studie Saleha: kovové, oxidačně-kovové, bimetalické, kompozitní, uhlíkové, zeolit a nanomateriál na bázi oxidu křemičitého, keramické, polovodičové, polymerní, nanomateriály na bázi lipidů, kovo-organické a nanomateriály v jádru a plášti (Saleh 2020). Některé z uvedených druhů nanomateriálů budou detailněji rozebrány v podkapitolách.

Polymerní nanomateriály

Polymerní nanomateriály jsou pevné nanorozměrné částice, které se skládají z přírodních nebo syntetických polymerů. Tyto materiály jsou široce používány ve farmaceutických a lékařských aplikacích jako regulátory uvolňování léčiv používané ke snímání těla (Yang et al. 2020; Saleh 2020).

Nanomateriály na bázi lipidů

Nanomateriály na bázi lipidů, jako jsou pevné lipidové nanočástice (SLN), nanostrukturální lipidové nosiče (NLC) a lipozomy, se používají pro podávání léků díky jejich možnosti transportu hydrofilní a hydrofobní molekuly. Rovněž mají nízkou toxicitu a mohou kontrolovat uvolňování léků v cílených místech v lidském těle (Zhong & Zhang 2019; Saleh 2020).

Keramické nanomateriály

Tento typ materiálu nanočástic je složený z keramiky. Dále je klasifikován jako žáruvzdorná, anorganická a nekovová pevná látka vyrobená z nekovových a kovových sloučenin o rozměrech menších než 100 nm (Gleiter 2000; Pokropivny & Skorokhod 2007; Saleh 2020).

Kovo-organické (organicko-kovové) struktury

Kovo-organické struktury (MOF) jsou hybridní materiály skládající se z anorganických iontů kovů a organických ligandů. Mají mnoho výhodných vlastností, jako je například vysoká plocha povrchu, snadná úprava povrchu, vysoká pórovitost a dobře organizovaná struktura a konfigurace. MOF byly široce používány jako podpůrné materiály díky jejich rozložení nanočástic na povrchu, které zajišťuje vysokou reaktivitu (Gascón et al. 2018; Saleh 2020).

Nanomateriál na bázi oxidu křemičitého

Nejrozšířenějšími materiály na bázi oxidu křemičitého jsou nanojíly, což jsou nanomateriály vrstvených křemičitanů s atomy Si vázanými čtyřstěnně na osmistěnný $\text{Al}(\text{OH})_3$ nebo $\text{Mg}(\text{OH})_2$. Hliněná vrstva je obvykle spojena slabou van der Waalsovou silou, která může prorazit vmezeřující se polymerový řetězec. Většina polymerů je však nekompatibilní se strukturou nanojílu kvůli rozdílům v povrchové energii. (Kumar et al. 2018; Barua et al. 2018; Saleh 2020).

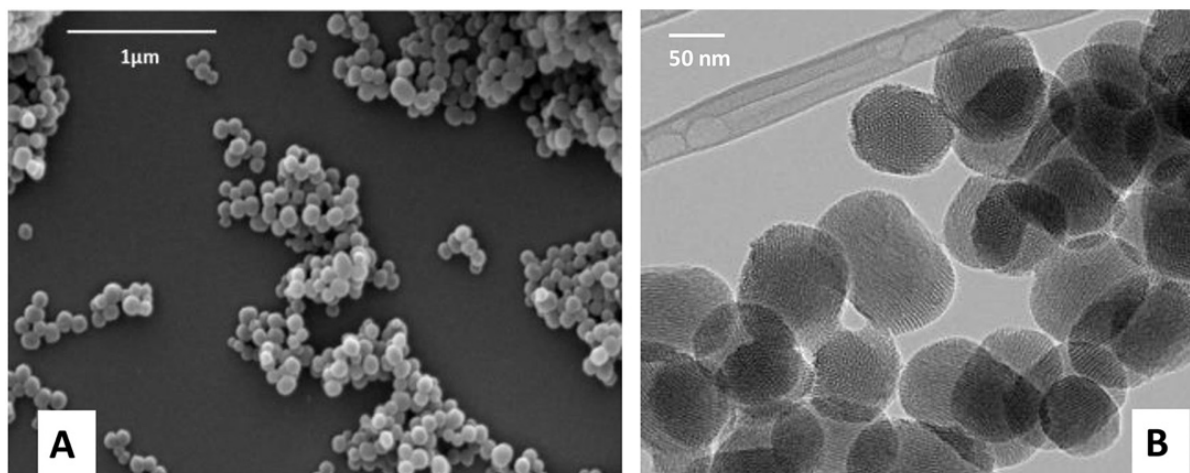
Na počátku 90. let vědci z Mobil Oil Corporation syntetizovali první objednané mezoporézní křemičitanové materiály, které jsou známé jako rodina M41S (Beck et al. 1992; Kresge et al. 1992, 2004). Termín M41S se používá k zobecnění různých typů MCM (Mobil Composition of Matter) syntetizovaných při základních podmínkách za přítomnosti alkylamoniových povrchově aktivních látek a zdroje oxidu křemičitého, jehož velikost pórů zahrnuje rozsah 3–10 nm (Zeleňák et al. 2008). Mezi nejznámější typy této třídy materiálů se řadí MCM-41, MCM-48, a MCM-50 (Kresge et al. 1992, 2004; Rev Sci 1992; Dubois et al. 1993; Weitkamp et al. 1994; Costa et al. 2020).

3.7.2 Mezoporézní křemičitý materiál MCM-41

Mezoporézní materiály na bázi MCM-41 jsou složeny z amorfního oxidu křemičitého s velkými póry ve formě válcových kanálů. Průměr pórů mezopartiklů se může pohybovat v rozmezí 2-3 nm. MCM-41 má vysokou povrchovou plochu kolem $1000 \text{ cm}^2/\text{g}^{-1}$ a objemy pórů větší než $0,5 \text{ ml}/\text{g}^{-1}$. Vykazuje dobrou tepelnou, hydrotermální a hydrolytickou stabilitu (Chon et al. 1996; Cakiryilmaz et al. 2019).

Mezoporézní materiály na bázi MCM-41 mohou být připravovány různými syntetickými cestami. Konvenční metodou, která se nejvíce používá, je však hydrotermální metoda v poly(tetrafluorethylenovém)nerozovém autoklávu (Costa et al. 2020). Případně byla příprava mezopartiklů úspěšná mikrovlnným ozařováním (Park et al. 1998; Chen et al. 2016). Výhodou mikrovlnného ozařování je, že tato metoda umožňuje ve srovnání s hydrotermální metodou

(Ergün et al. 2013) vyšší výnosy, vysokou čistotu a vyšší rychlost krystalizační reakce. Obě metody se v podstatě provádějí se zdrojem oxidu křemičitého [tetraethylorthosilikát (TEOS), silikagel, koloidní oxid křemičitý, křemičitan sodný nebo jiný], s řídicím činidlem pórovitosti, kterým může být kationtová, aniontová nebo neutrální povrchově aktivní látka, a nakonec voda jako rozpouštědlo. Poté se upraví pH a roztok se ohřeje hydrotermálním nebo mikrovlnným ozařováním (Santos et al. 2013, 2019; Dünder-Tekkaya & Yürüm 2015; Jesus et al. 2016). Poslední krok syntézy spočívá ve vápenatění nebo extrakci získaného mezoporézního materiálu, který dává vysokou krystaličnost, a nakonec je potřeba odstranit zbytkové povrchově aktivní látky po omytí struktury (Costa, de Jesus et al., 2020).

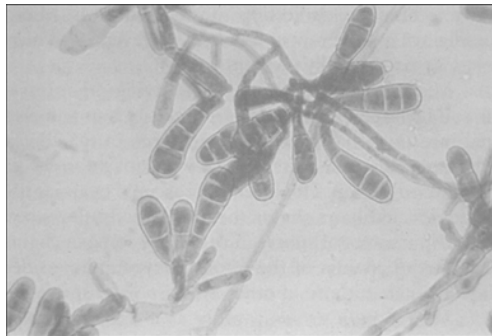


Obrázek 23: Mikrofotografie MCM-41-NH₂ (Rizzi et al. 2019)

3.8 *Epidermophyton floccosum*

Epidermophyton floccosum (*E. floccosum*) je jedním ze dvou druhů rodu *Epidermophyton*, který patří do skupiny dermatofytů. Jedná se o antropofilní druh, který infikuje spíše člověka než zvířata. Makrokonidie (typ nepohlavního výtrusu) mají typicky hladké, tenké až středně tlusté stěny. Obvykle jsou hojné a vyrůstají jednotlivě nebo ve shlucích. Mikrokonidie chybějí (Weitzman & Summerbell 1995; Makimura et al. 1999; Abdul & Al-Janabi 2014).

Dermatofyty (dermatomycety) mají schopnost pronikat do zrohovatělých tkání lidí a jiných zvířat a vyvolávat infekci – dermatofytózu (dermatomykózu) (Weitzman & Summerbell 1995). Fylogeneze dermatofytů však zůstává nejasná, protože jejich příslušníci jsou fylogeneticky a taxonomicky velmi blízce příbuzní, jejich fenotypové vlastnosti jsou někdy chudé a mnoho izolátů z lékařských a veterinárních vzorků ztratilo sexuální aktivitu (Makimura et al. 1999).



Obrázek 24: *Epidermophyton floccosum* (Shamim et al. 2005)

4 Materiál a metody

4.1 Chemikálie a biologický materiál

Většina použitých materiálů byla zakoupena u firmy Sigma-Aldrich (SA). Terpinolen (85%), karvakrol (98%) a linalol (97%) byly zakoupeny z Německa od firmy SA. Nerolidol (98,5%) a guaiol (99%) byly zakoupeny ze Švýcarska od firmy SA. β -pinen (99%) byl zakoupen z USA od firmy SA. Limonen (97%), β -myrcen, β -karyofylen a α -pinen (99%) byly zakoupeny od firmy SA. α -bisabolol (95%) byl zakoupen z Itálie od firmy SA. *Epidermophyton floccosum* byl zakoupen z české sbírky mikroorganismů (CCM). Hexadecyltrimethylammonium (CTAB) ($\geq 99\%$) bylo zakoupeno od firmy Sigma-Aldrich z USA. Tetraethyl orthosilicate (TEOS) byl zakoupen od firmy Merck z Německa. Sabouraud dextrose agar (SDA) jako živné médium bylo použito od firmy Oxoid z Velké Británie (VB). Hydroxid sodný a ethanol (98%) byly zakoupeny od firmy Penta z České republiky. Dimetylsulfoxid byl zakoupený od firmy VWE Chemicals z Francie. Bylo použito antibiotikum Clotrimazol.

Tabulka 1: Genotypy konopí a jejich charakteristika

Genotyp	Šlechtitel	Rodokmen	Nejzastoupenější terpeny a jejich koncentrace (%)
Critical Hog (CH)	T.H. Seeds	Critical Mass x Hog	α -pinen (22,05), β -pinen (10,39), β -karyofylen (9,59), 3,7(11)-selinadien (5,33), karyofylen oxide ^a (7,23)
Gorilla Glue (GG)	Fair Seeds	Chem's Sister x Sour Dubb x Chocolate Diesel	β -myrcen (17), limonen (6,73), β -karyofylen (17,71), α -humulen (5,04), 3,7(11)-selinadien (8,99), karyofylen oxide ^a (12,50)
Green Poison (GP)	Sweet Seeds	Green Poison	β -myrcen (28,25), limonen (14,64), terpinolen (25,33), cis- β -ocimen (5,56), β -karyofylen (16,75), α -humulen (7,10)
Forbidden Fruit (FF)	Fair Seeds	Cherry Pie x Tangie	β -myrcen (10,12), limonen (6,50), β -karyofylen (7,95)
Chocolope (Chocko)	Fair Seeds	Chocolate Thai x Cannalope Haze	β -myrcen (5,24), limonen (12,75), linalol (7,04), β -karyofylen (16,58), α -humulen (5,37), karyofylen oxide ^a (6,77)

Tangie (T)	Fair Seeds (Tangerine Dream)	California Orange x Skunk-1	β -myrcen (18,38), limonen (15,06), β -karyofylen (16,09), α -humulen (5,41), karyofylen oxide ^a (5,12)
----------------------	---------------------------------	--------------------------------	--

*látky byly identifikovány a klasifikovány na Katedře kvality a bezpečnosti potravin Fakulty agrobiologie potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity

Zdroj: <https://www.leafly.com>, <https://en.seedfinder.eu>,

4.2 Enkapsulace

V poměru 1:1 bylo do 2 ml vialek naváženo 8 mg a 4 mg MCM-41 a k oběma koncentracím byly přidány dané látky ve stejných poměrech. Vialky byly vloženy do vortexu a za stálého třepání byly ponechány při teplotě 40 °C po dobu 12-ti hodin.

4.3 Příprava inokula *Epidermophyton floccosum*

Plně narostlá plíseň *E. floccosum* byla seškrábána z Petriho misky a vložena do zkumavky s fyziologickým roztokem. Zkumavka s roztokem byla vložena do ultrazvukové lázně na 10 minut. Poté bylo pipetou odebráno 50 μ l roztoku a přidáno do eppendorfovy zkumavky, kam bylo posléze doplněno pipetou stejné množství jódu. Vzorek byl protřepán na vortexu a následně mikroskopován v Bürkerově komůrce. Finální hodnota, se kterou se pracovalo, byla $6,7 \times 10^5$ KTJ.ml⁻¹.

4.4 Test antifungální aktivity

Test byl prováděn in vitro v Petriho miskách o průměru 60 mm. Jako živné médium pro *E. floccosum* bylo použito 10 ml SDA na misku. Výše zmíněné látky byly měřeny a navzájem porovnávány ve dvou koncentracích 8 a 4 mg/ml v enkapsulované a čisté formě. Z důvodu optimalizace metod byla rozdílná aplikace plísně u obou koncentrací. Pro koncentraci 8 mg/ml bylo použito inokulum *E. floccosum*, které bylo nanášeno na misku 1 kapkou (30 μ l). Oproti tomu koncentrace o velikosti 4 mg/ml byla aplikována z plně narostlé plísně *E. floccosum*, kdy bylo jehlou odebráno kolečko o velikosti 2 mm. Zároveň byl pokus s koncentrací 8 mg/ml proveden stejně jako 4 mg/ml, ale proběhl v jiné laboratoři než předchozí dva pokusy, ve které současně probíhal výzkum na bramborách a jablkách a celý pokus byl kontaminovaný. Enkapsulované a čisté látky byly rozpuštěny v destilované vodě s 30 μ l dimethylsulfoxidu. Dále bylo na Petriho misku formou sprejovací pistole rozptýleno 300 ml daného roztoku. Kontrolní Petriho misky byly zaočkovány totožně ve dvou výše zmíněných koncentracích, ale nebyly aplikovány konopné látky. Všechny Petriho misky byly uloženy do kultivačního boxu při teplotě 25 °C. Všechny výše zmíněné látky v enkapsulované i čisté formě byly provedeny ve třech opakováních. Nárůst plísně byl hodnocen měřením a vizuálně fotoaparátem v rozmezí 5-ti, 14-ti, 30-ti a 45-ti dnů. Ze stanovených hodnot měření byly vypočítány průměry, směrodatné odchylky a procenta nárůstu jednotlivých látek oproti velikosti objemu celé misky.



Obrázek 25: Aplikace plně narostlé plísně *E. floccosum* jehlou do Petriho misek s předem připravenými koncentracemi čistých aktivních látek a silic konopí

4.5 Statistické vyhodnocení

Ke zhodnocení účinnosti aktivních látek a silic konopí v průběhu měsíce a půl vůči plísni *E. floccosum* a posouzení jednotlivých látek mezi sebou byla použita popisná statistika, přesněji metoda jednofaktorová ANOVA na hladině významnosti $p < 0.05$ a Tukeyho post hoc test (ANOVA Statistica 12, StatSoft 12, CZ).

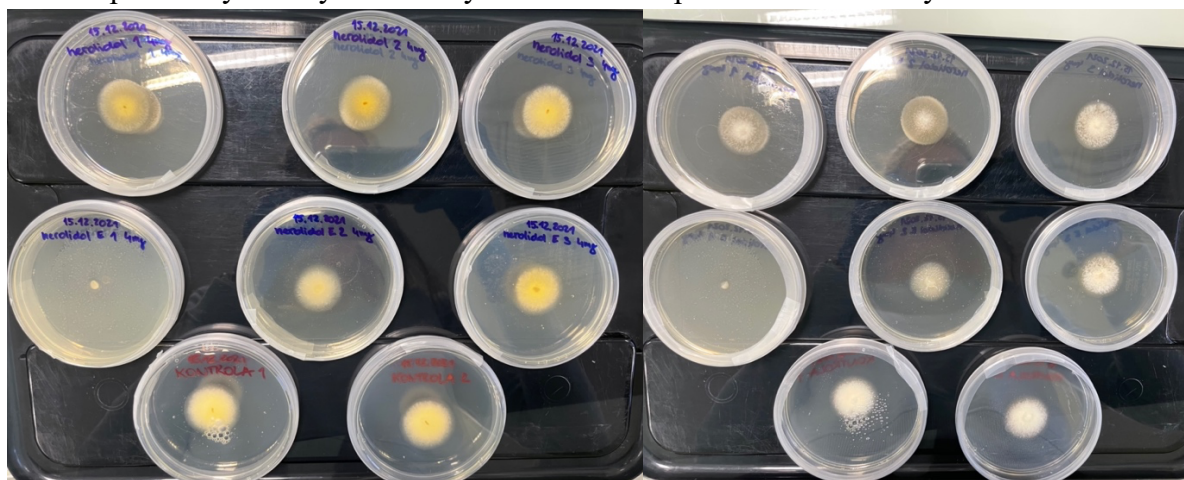
5 Výsledky

5.1 Antifungální aktivita

U všech výše uvedených látek byla ověřena a potvrzena antifungální aktivita. Látky buďto inhibovaly, omezily anebo zpomalily růst *E. floccosum*. Při posledním měření (45 dní) se nárůst plísně u některých látek shodoval s nárůstem kontroly, ale většina nárůst omezila. Při použití antibiotika Clotrimazol s MIC (minimální inhibiční koncentraci) 16 µg/ml plíseň nenarostla. Výsledky jsou rozděleny především na dvě koncentrace (4 a 8 mg/ml), ve kterých byl výzkum prováděn.

5.1.1 Antifungální aktivita účinných látek při koncentraci 4 mg/ml

Jak je patrné z tabulky č. 3, tak při koncentraci 4 mg/ml nejlépe fungovala enkapsulovaná silice Forbidden Fruit, která inhibovala růst *E. floccosum* a oproti velikosti misky (kontrola) narostla jen do 50 %. Enkapsulovaná silice Forbidden Fruit narostla od prvního do posledního měření (45 dní) o 24 %. Čistý nerolidol a enkapsulovaný terpinolen taktéž zdařile působily proti nárůstu plísně. Tyto látky inhibovaly růst do 60 % oproti velikosti misky.



Obrázek 26 a 27: První měření enkapsulovaného a čistého nerolidolu v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)

Tabulka 2: Procenta nárůstu *E. floccosum* oproti velikosti Petriho misky při koncentraci 4 mg/ml

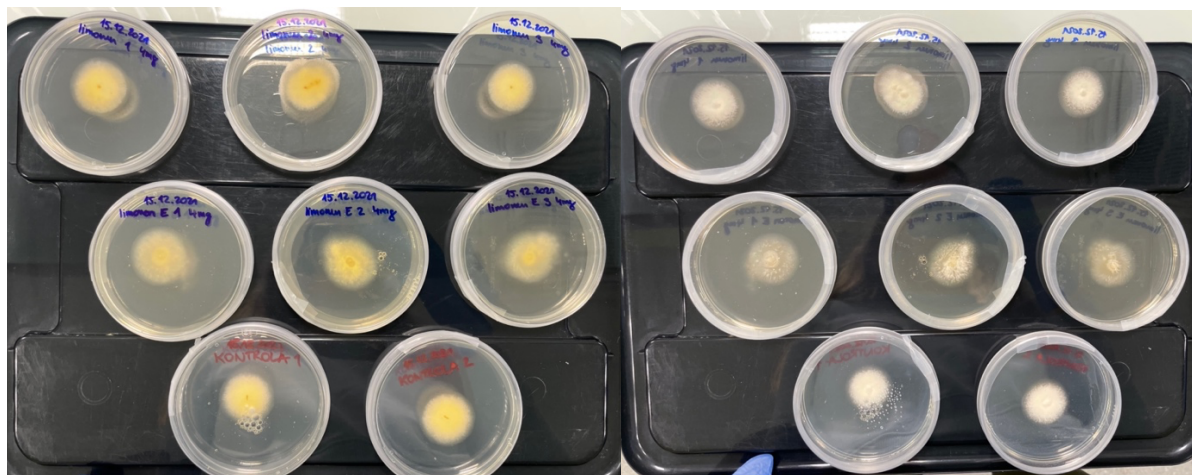
aktivní látky a silice	5. den	14. den	30. den	45. den
β-pinen	47 % ± 0,98 ^{chkš}	83 % ± 1,8	100 % ± 0	100 % ± 0 ^{hš}
β-pinen E	37 % ± 0,06	47 % ± 0,14	65 % ± 2,1	82 % ± 2,12
karvakrol	34 % ± 0,08	56 % ± 1,52	63 % ± 2,24	85 % ± 1,79
karvakrol E	36 % ± 0,06	83 % ± 0,18	100 % ± 0	100 % ± 0 ^{hš}
β-myrcen	39 % ± 0,1	62 % ± 0,67	64 % ± 2,1	67 % ± 0,51
β-myrcen E	37 % ± 0,09	64 % ± 1,87	66 % ± 0,43	100 % ± 0
β-karyofylen	41 % ± 0,15 ^k	65 % ± 1,46	69 % ± 1,88	67 % ± 1,88
β-karyofylen E	40 % ± 0,37	79 % ± 2,02	69 % ± 1,89	69 % ± 1,88
limonen	38 % ± 0,14	63 % ± 1,69	66 % ± 2,11	100 % ± 0

limonen E	42 % ± 0,16 ^k	67 % ± 2	84 % ± 1,86	85 % ± 1,79
nerolidol	32 % ± 0,15	54 % ± 1,7	56 % ± 1,99	56 % ± 2,12 ^{aciloprwz}
nerolidol E	26 % ± 1,58 ^a	47 % ± 3,19	49 % ± 3,47	74 % ± 2,23
terpinolen	36 % ± 0,04	92 % ± 0,18	100 % ± 0	100 % ± 0 ^{hiš}
terpinolen E	34 % ± 0,16	57 % ± 1,43	58 % ± 1,53	59 % ± 1,55 ^{ilprz}
guaiol	32 % ± 0,5	50 % ± 1,1	61 % ± 2,36	82 % ± 2,17
guaiol E	20 % ± 0,83 ^{aegprswxy}	37 % ± 0	92 % ± 0	59 % ± 3,48
α-pinen	33 % ± 0,52	89 % ± 0,95	100 % ± 0	100 % ± 0 ^{hiš}
α-pinen E	36 % ± 0,04	44 % ± 0,18	70 % ± 2,08	71 % ± 2,06 ^r
α-bisabolol	38 % ± 0,05	87 % ± 0,7	92 % ± 1,01	94 % ± 0,71 ^š
α-bisabolol E	30 % ± 0,12	87 % ± 0,48	96 % ± 0,54	96 % ± 0,47 ^{hiš}
chocko	45 % ± 0,6 ^k	93 % ± 0,22	100 % ± 0	100 % ± 0 ^{hiš}
chocko E	37 % ± 0,08	71 % ± 1,98	74 % ± 2,29	96 % ± 0,45
GP	46 % ± 0,65 ^k	98 % ± 0,19	100 % ± 0	100 % ± 0 ^{himš}
GP E	37 % ± 0,64	48 % ± 0,95	61 % ± 1,11	81 % ± 2,24
FF	43 % ± 0,41 ^k	81 % ± 1,56	84 % ± 1,68	85 % ± 1,77
FF E	26 % ± 0,39 ^a	43 % ± 0,45	49 % ± 0,58	50 % ± 0,37 ^{acilnoprwxýz}
CH	40 % ± 0,09	68 % ± 2,06	62 % ± 2,26	100 % ± 0
CH E	38 % ± 0,08	69 % ± 1,98	64 % ± 2,22	60 % ± 2,38
GG	40 % ± 0,05	46 % ± 0,39	66 % ± 2,11	85 % ± 1,84
GG E	44 % ± 0,02 ^k	78 % ± 2,09	100 % ± 0	100 % ± 0 ^{hiš}
T	42 % ± 0,04 ^k	85 % ± 1,13	90 % ± 1,18	90 % ± 1,18 ^š
T E	42 % ± 0,27 ^k	90 % ± 1,25	100 % ± 0	100 % ± 0 ^š
linalol	40 % ± 0,05	82 % ± 1,23	89 % ± 1,3	89 % ± 1,27 ^š
linalol E	38 % ± 0,04	92 % ± 0,06	100 % ± 0	100 % ± 0 ^{hiš}

*statisticky významné rozdíly byly vyhodnoceny z posledních tří měření

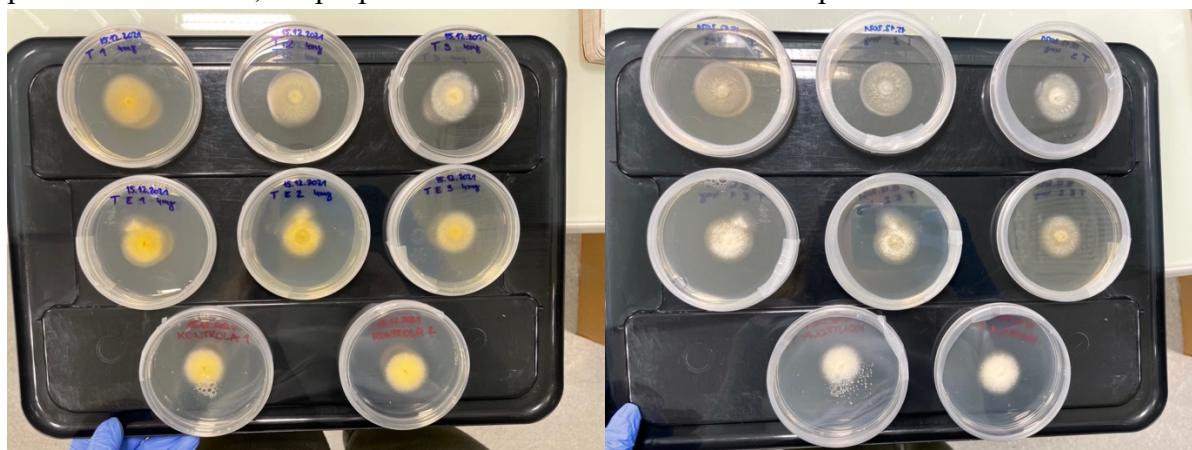
Na rozdíl od čistého β-pinenu, limonenu, terpinolenu, α-pinenu, silice Green Poison, Critical Hog, Choclope a enkapsulovanému karvakrolu, β-myrcenu, linalolu, silici Gorilla Glue a Tangie, které proti růstu *E. floccosum* nefungovaly téměř vůbec nebo velmi nepatrně.

Čistý limonen při prvním měření vypadal poměrně slibně a růst zpomalil, jak je patrné z obrázku č. 28 a 29, ale během druhého a třetího měření narostla plíseň nad 60 % a při posledním měření byla velikost plísně shodná s velikostí misky.



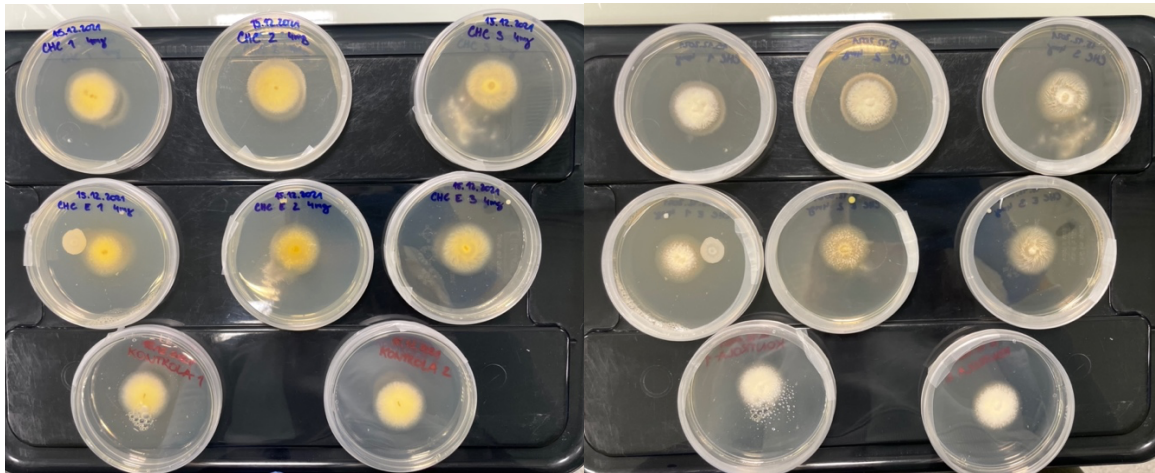
Obrázek 28 a 29: První měření enkapsulovaného a čistého limonenu v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)

U enkapsulované silice Tangie byl při prvním měření nárůst plísně něco málo přes 40 %, což je patrné z obrázku č. 30 a 31. Avšak při druhém byl již 90 % a než proběhlo třetí měření, tak byla plíseň plně narostlá. Zároveň i čistá silice Tangie měla při prvním měření totožný procentuální nárůst, ale při posledním měření téměř vůbec růst plísně neinhibovala.



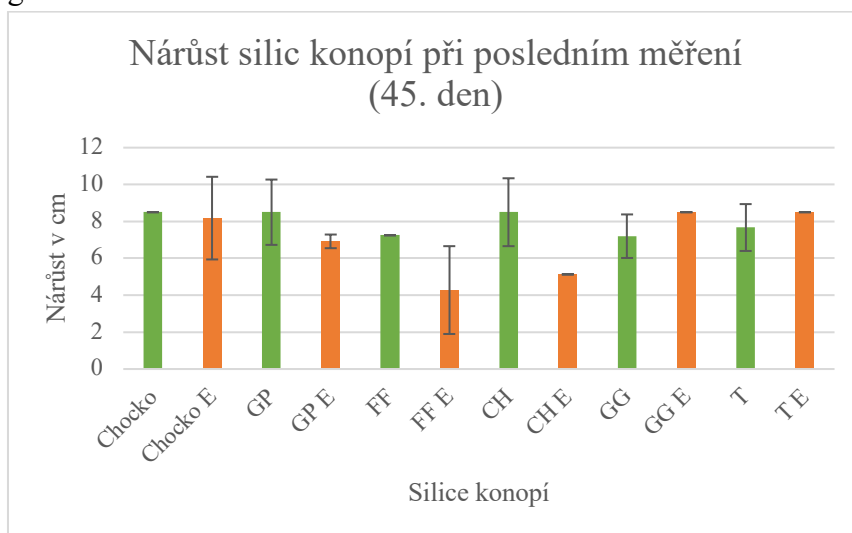
Obrázek 30 a 31: První měření enkapsulované a čisté silice Tangie v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)

Silice Choclope při prvním měření zpomalila růst jak v enkapsulované, tak čisté formě velmi dobře jak je zjevné z obrázku č. 32 a 33, ale nakonec při posledním měření silice chocko růst plísně neinhibovala.

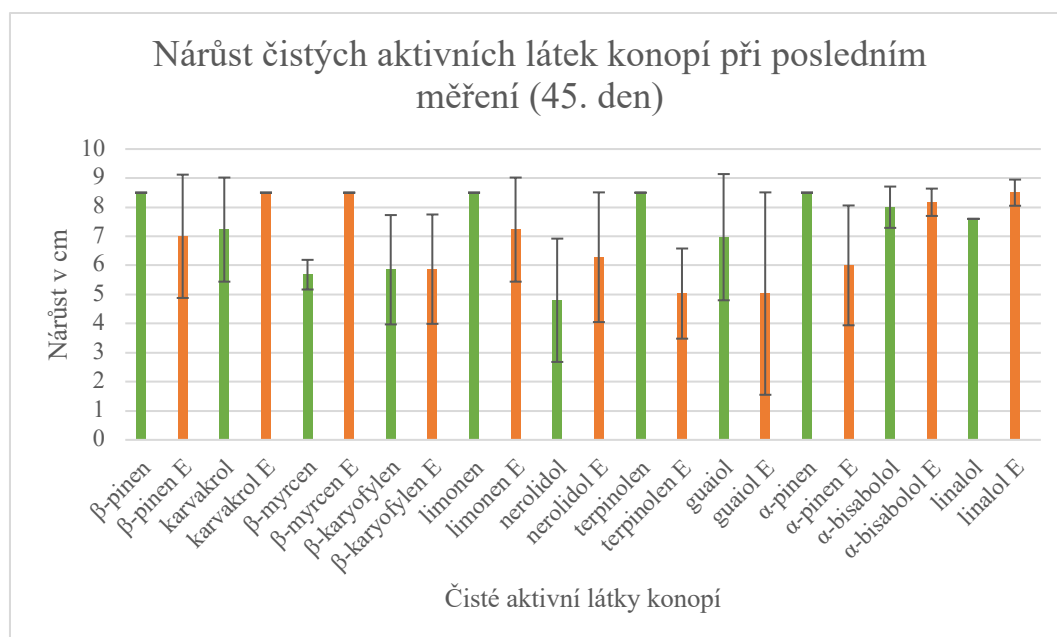


Obrázek 32 a 33: První měření enkapsulované a čisté silice Choclope v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)

Ostatní látky, které nebyly zmíněny, taktéž částečně zpomalily a omezily růst plísně, ale inhibice nebyla tak signifikantní, a proto nebyly více prodiskutovány. Nárůst je možné vidět na grafu č. 1 a 2 a v tabulce č. 2.



Graf 1: Porovnání velikosti nárůstu enkapsulovaných a čistých forem silice konopí v koncentraci 4 mg/ml po 45 dnech se směrodatnou odchylkou



Graf 2: Porovnání velikosti nárůstu enkapsulovaných a čistých forem aktivních látek konopí v koncentraci 4 mg/ml po 45 dnech se směrodatnou odchylkou

Porovnání látek v obou formách a koncentracích, které byly nejučinnější nebo nejméně účinné proti růst *E. floccosum* se u obou koncentrací (8 a 4 mg/ml) většinou lišily.

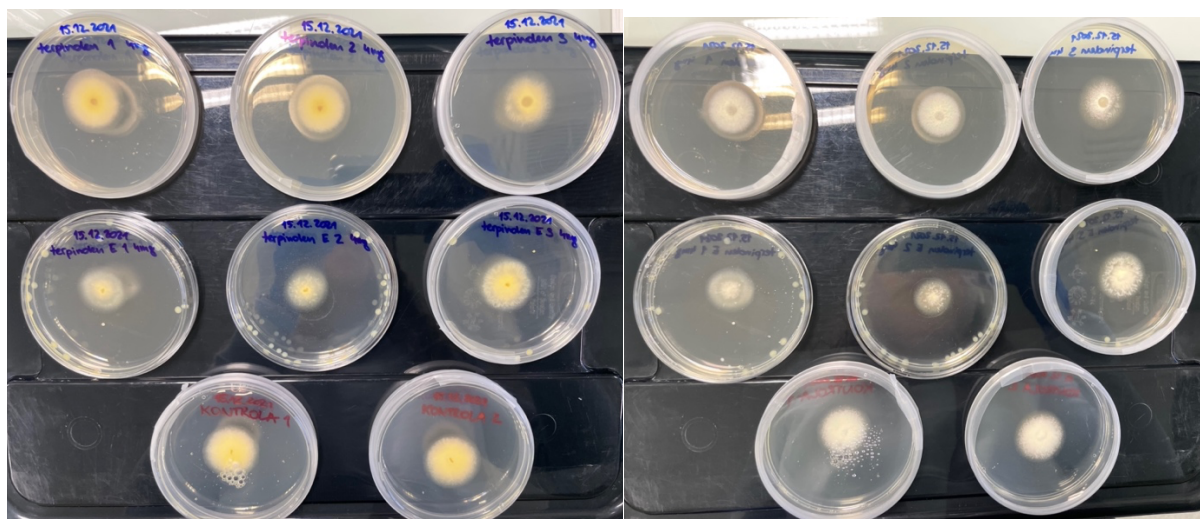
Největší rozdíl je u enkapsulované silice Forbidden Fruit, která při koncentraci 4 mg/ml inhibovala růst nejvíce, ale při 8 mg/ml ho neinhibovala vůbec. Enkapsulovaný terpinolen a nerolidol u koncentrace 8 mg/ml růst lehce zpomalil a omezil, ale plíseň narostla o přibližně 20 % více než u 4 mg/ml.

Enkapsulovaný β-myrcen při koncentraci 4 mg/ml neinhiboval růst vůbec, ale při 8 mg/ml to byla jedna z látek, která nejvíce omezila růst plísně. U ostatních látek, které jsou výše zmíněny jako ty s nejslabší inhibicí, se u koncentrace 8 mg/ml se nárůst pohyboval mezi 60–80 %.

Při prvním měření byly zaznamenány statisticky významné rozdíly mezi několika látkami, které jsou zaznamenány v tabulce č. 2. Guaiol se významně statisticky liší oproti čistému β-pinenu, β-karyofylenu, silici Chocolepe, Green Poison, Forbidden Fruit a enkapsulovanému limonenu, silici Gorilla Glue a Tangie v obou formách. β-pinen se statisticky liší oproti enkapsulovanému nerolidolu, silici Forbidden Fruit a guaiolu.

Během zbylých tří měření byly zjištěny statisticky významné rozdíly u enkapsulovaných i čistých látek, které jsou zaznamenány v tabulce č. 2. U enkapsulovaných látek se statisticky liší karvakrol, terpinolen, α-bisabolol, silice Forbidden Fruit, Gorilla Glue, Tangie a linalol. U čistých látek se odlišují β-pinen, nerolidol, terpinolen, α-pinen, α-bisabolol, silice Green Poison, Tangie a linalol. Ze všech látek byly největší statistické rozdíly u enkapsulované silice Forbidden Fruit, což je zjevné z tabulky č. 2. Tato silice se statisticky odlišuje od enkapsulovaného i čistého terpinolenu, linalolu, α-bisabololu a silice Tangie.

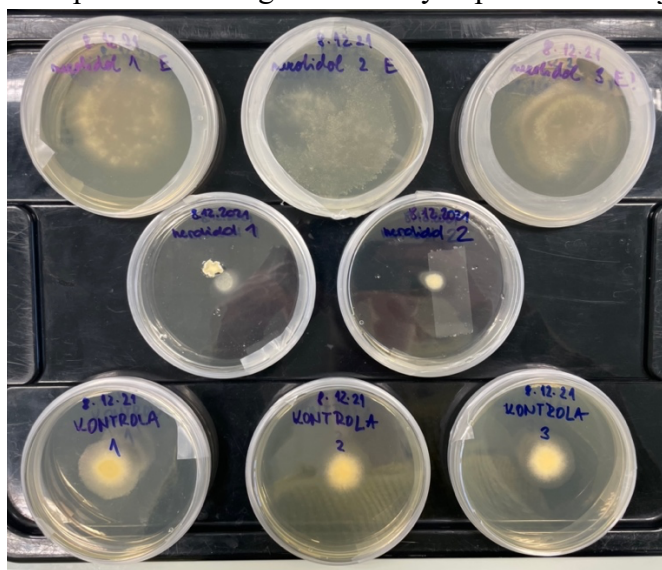
U terpinolenu jako jediné látky v koncentraci 4 mg/ml jsou statisticky významné rozdíly mezi enkapsulovanou a čistou formou. První měření terpinolenu je zaznamenáno na obrázku č. 34 a 35.



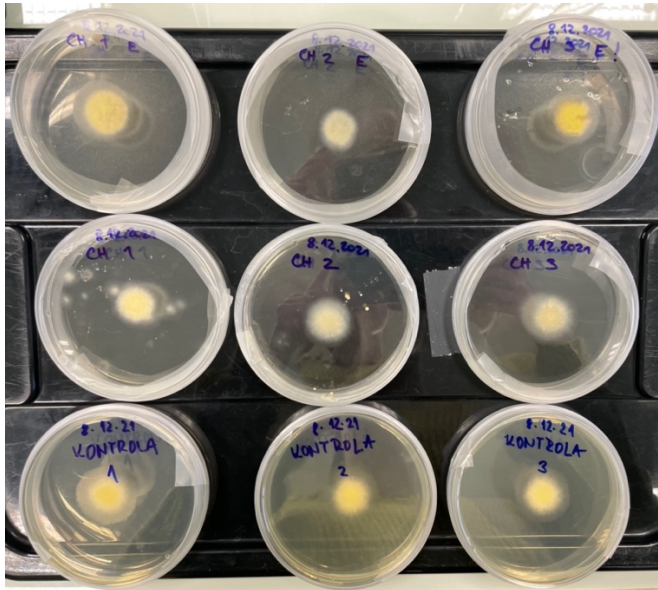
Obrázek 34 a 35: První měření enkapsulovaného a čistého terpinolenu v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)

5.1.2 Antifungální aktivita účinných látek při koncentraci 8 mg/ml

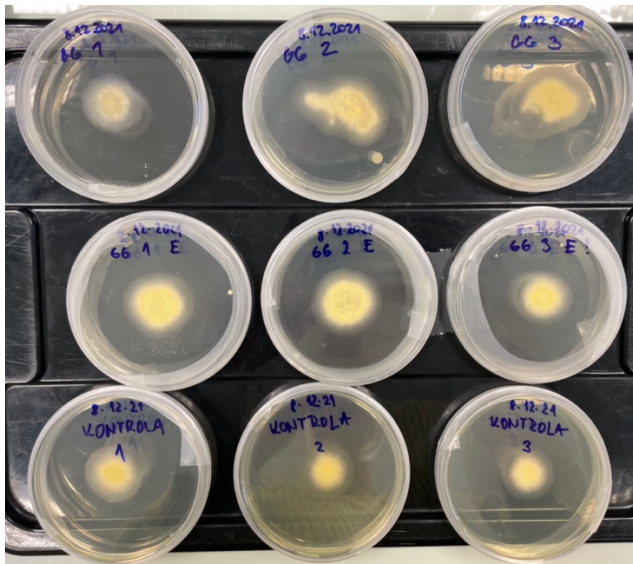
První nárůst u této koncentrace nebylo možné změřit, a proto byl zdokumentován fotoaparát a fotografie některých příkladů látek je k dispozici zde na obrázcích č. 36–40.



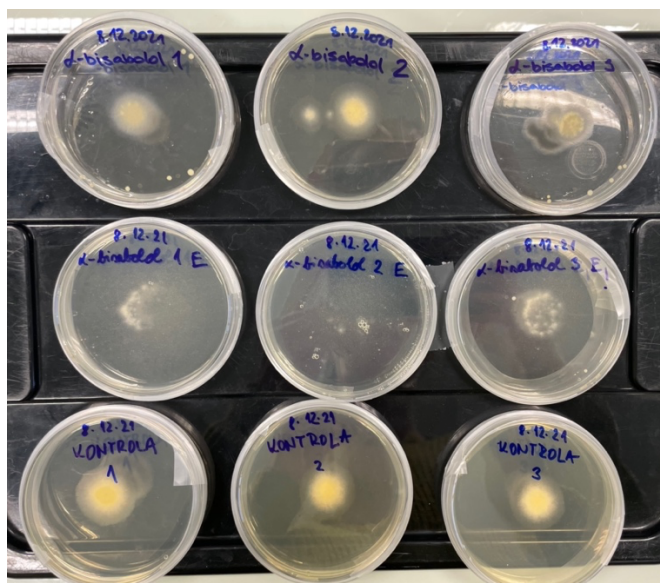
Obrázek 36: První měření nerolidolu v enkapsulované a čisté formě při koncentraci 8 mg/ml v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)



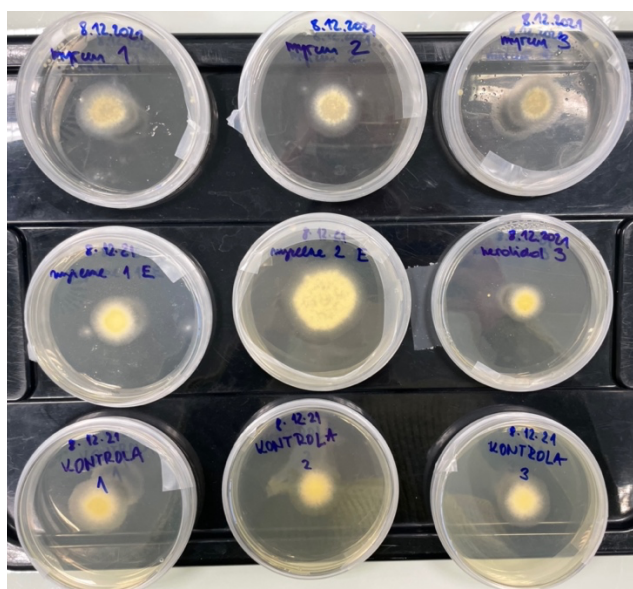
Obrázek 37: První měření silice Critical Hog v enkapsulované a čisté formě při koncentraci 8 mg/ml v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)



Obrázek 38: První měření silice Gorilla Glue v enkapsulované a čisté formě při koncentraci 8 mg/ml v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)



Obrázek 39: První měření α -bisabololu v enkapsulované a čisté formě při koncentraci 8 mg/ml v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)



Obrázek 40: První měření β -myrcenu v enkapsulované a čisté formě při koncentraci 8 mg/ml v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)

Při koncentraci 8 mg/ml nejlépe fungoval β -myrcen a enkapsulovaný β -karyofylen, jak je patrné z tabulky č. 3, ve kterých plíseň narostla nejméně v porovnání s velikostí Petriho misky (kontrola).

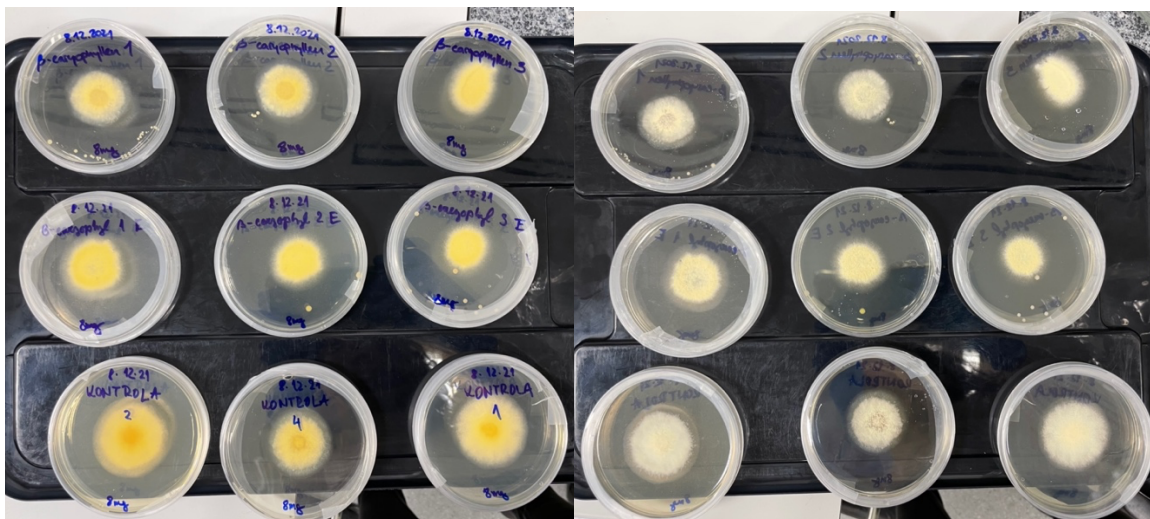
Tabulka 3: Procenta nárůstu *E. floccosum* oproti velikosti Petriho misky při koncentraci 8 mg/ml

aktivní látky a silice	5. den	14. den	30. den	45. den
β -pinen	neměřitý	64 % \pm 2,18	62 % \pm 2,32	61 % \pm 2,35
β -pinen E	neměřitý	63 % \pm 1,91	64 % \pm 2,17	81 % \pm 2,29
karvakrol	neměřitý	54 % \pm 1,69	74 % \pm 2,11	100 % \pm 0
karvakrol E	neměřitý	52 % \pm 0,3	50 % \pm 0,19	50 % \pm 0,22 ^{sšv}

β-myrcen	neměřitený	47 % ± 0,2	44 % ± 0,16	44 % ± 0,29 ^{chrsšv}
β-myrcen E	neměřitený	47 % ± 0,5	47 % ± 0,33	46 % ± 0,4 ^{sšv}
β-karyofylen	neměřitený	46 % ± 0,12	63 % ± 2,22	63 % ± 2,22 ^{sš}
β-karyofylen E	neměřitený	45 % ± 0,47	45 % ± 0,33	44 % ± 0,15 ^{chrsšv}
limonen	neměřitený	64 % ± 2,18	81 % ± 2,26	81 % ± 2,24
limonen E	neměřitený	67 % ± 2,01	66 % ± 2,04	64 % ± 1,97
nerolidol	neměřitený	44 % ± 2,13	56 % ± 2,28	80 % ± 0,28
nerolidol E	neměřitený	55 % ± 3,7	100 % ± 0	100 % ± 0 ^{ččilz}
terpinolen	neměřitený	46 % ± 0,1	46 % ± 0	46 % ± 0,07 ^{chrsšv}
terpinolen E	neměřitený	55 % ± 1,3	77 % ± 2,09	79 % ± 1,93
guaiol	neměřitený	47 % ± 0,05	49 % ± 0,21	48 % ± 0,19 ^{sšv}
guaiol E	neměřitený	41 % ± 0	49 % ± 0	48 % ± 0
α-pinen	neměřitený	46 % ± 0,31	46 % ± 0,23	45 % ± 0,22 ^{chrsšv}
α-pinen E	neměřitený	49 % ± 0,62	49 % ± 0,68	63 % ± 2,23 ^{sš}
α-bisabolol	neměřitený	43 % ± 0,31	62 % ± 2,28	66 % ± 2,12 ^{sš}
α-bisabolol E	neměřitený	44 % ± 0,54	60 % ± 2,42	59 % ± 2,45 ^{sš}
chocko	neměřitený	36 % ± 0,51	77 % ± 2,71	77 % ± 2,71
chocko E	neměřitený	74 % ± 2,09	73 % ± 2,06	73 % ± 2,06
GP	neměřitený	59 % ± 2,06	100 % ± 0	100 % ± 0 ^{ččilz}
GP E	neměřitený	49 % ± 0,24	69 % ± 1,85	69 % ± 1,85
FF	neměřitený	100 % ± 0	100 % ± 0	100 % ± 0 ^{ččdeějlmnowýz}
FF E	neměřitený	93 % ± 0,82	99 % ± 0,09	100 % ± 0 ^{ččdeějlmnowýz}
CH	neměřitený	63 % ± 2,25	68 % ± 1,93	81 % ± 2,31
CH E	neměřitený	53 % ± 2,12	77 % ± 2,38	78 % ± 2,49
GG	neměřitený	80 % ± 1,7	100 % ± 0	99 % ± 0,14 ^{ččdeějlyz}
GG E	neměřitený	44 % ± 0,2	62 % ± 2,28	64 % ± 2,19 ^{sš}
T	neměřitený	64 % ± 2,18	81 % ± 2,26	100 % ± 0
T E	neměřitený	74 % ± 2,25	100 % ± 0	100 % ± 0
linalol	neměřitený	39 % ± 0,24	54 % ± 1,52	60 % ± 2,42 ^{sšv}
linalol E	neměřitený	46 % ± 0,12	46 % ± 0,02	46 % ± 0,07 ^{chrsšv}

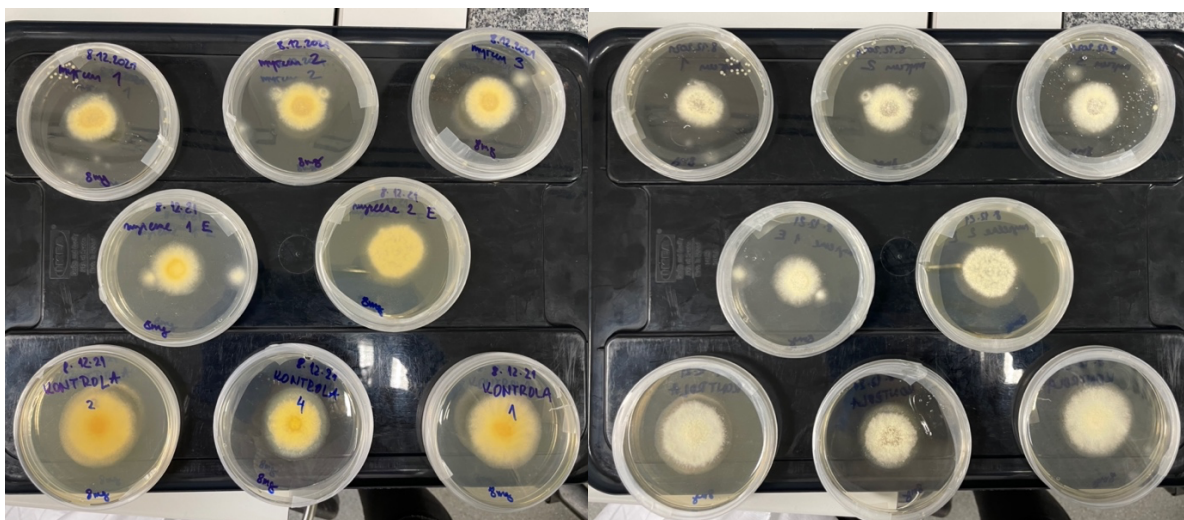
*statisticky významné rozdíly byly vyhodnoceny z posledních tří měření

Enkapsulovaný β-karyofylen od druhého měření (14 den), kdy bylo možné měřit, omezil růst plísně velice dobře a po celou dobu měření se její nárůst nezvětšil.



Obrázek 41 a 42: Druhý měření enkapsulovaného a čistého β -karyofylenu v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)

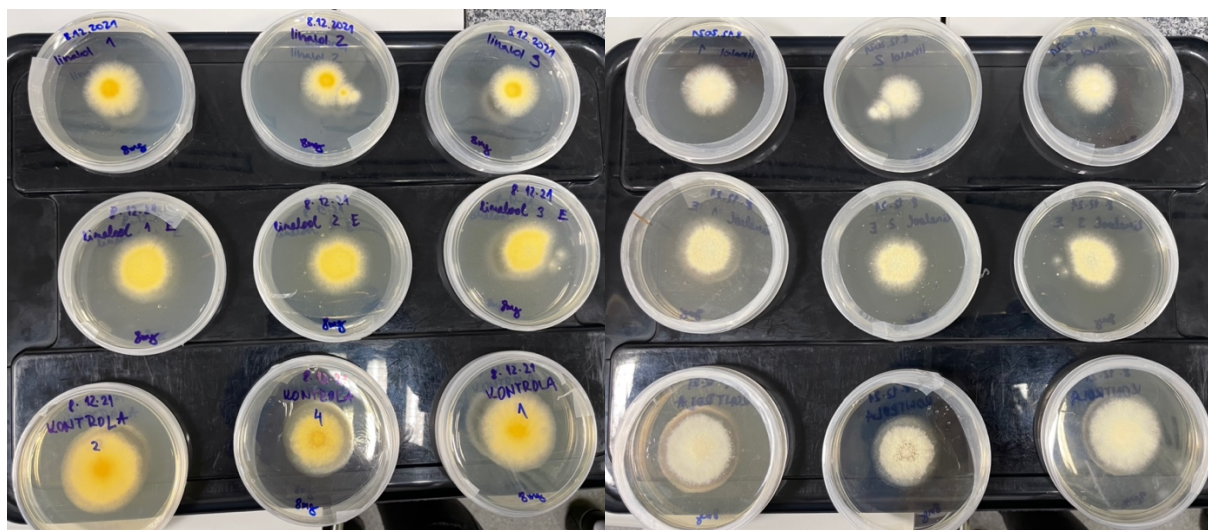
β -myrcen působil neúčinněji jak v enkapsulované, tak čisté formě proti nárůstu *E. floccosum*. Enkapsulovaný β -myrcen inhiboval nárůst během celého měření a zůstal po celou dobu stejný. Čistý β -myrcen inhiboval růst plísňe po celou dobu měření, jak je zjevné z obrázku č. 43 a 44.



Obrázek 43 a 44: Druhý měření enkapsulovaného a čistého β -myrcenu v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)

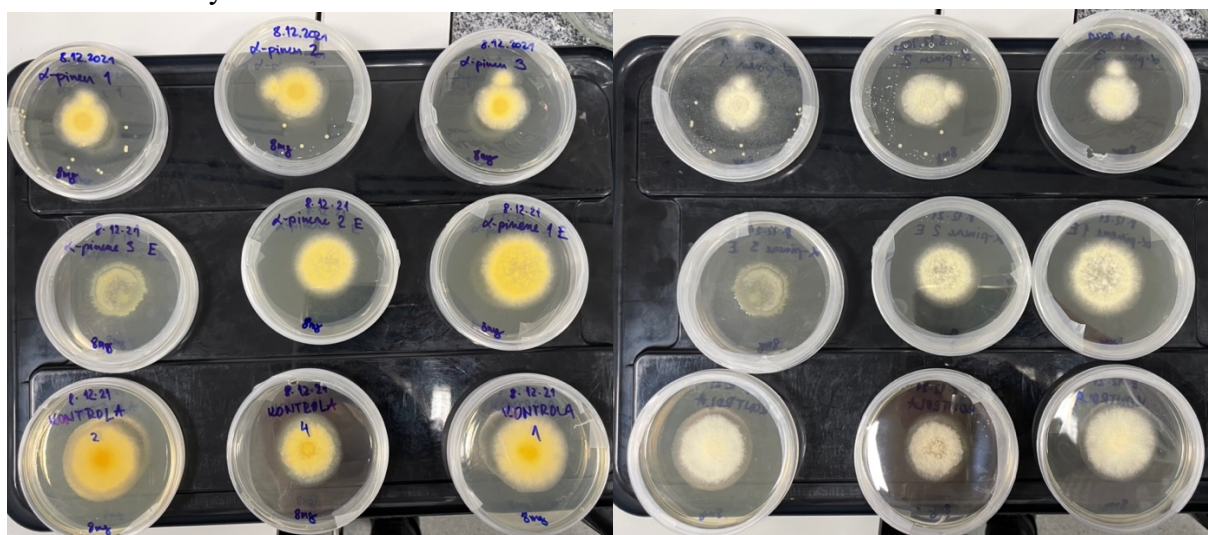
Další účinné látky, které působily pozitivně proti nárůstu plísňe, jsou enkapsulovaný karvakrol, linalol a čistý terpinolen, α -pinen a guaiol v obou formách. Všechny výše zmíněné látky za dobu měření (45 dní) omezily růst plísňe a plíseň nepřekročila více než 50 % v porovnání s velikostí misky.

Čistý terpinolen během celého měření inhiboval nárůst plísňe, procentuálně se nezměnil a udržel se na 46 %. Naprosto stejné výsledky jako terpinolen měl i enkapsulovaný linalol, který se svou inhibicí taktéž udržel na 46 % po celou dobu měření.



Obrázek 45 a 46: Druhé měření enkapsulovaného a čistého linalolu v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)

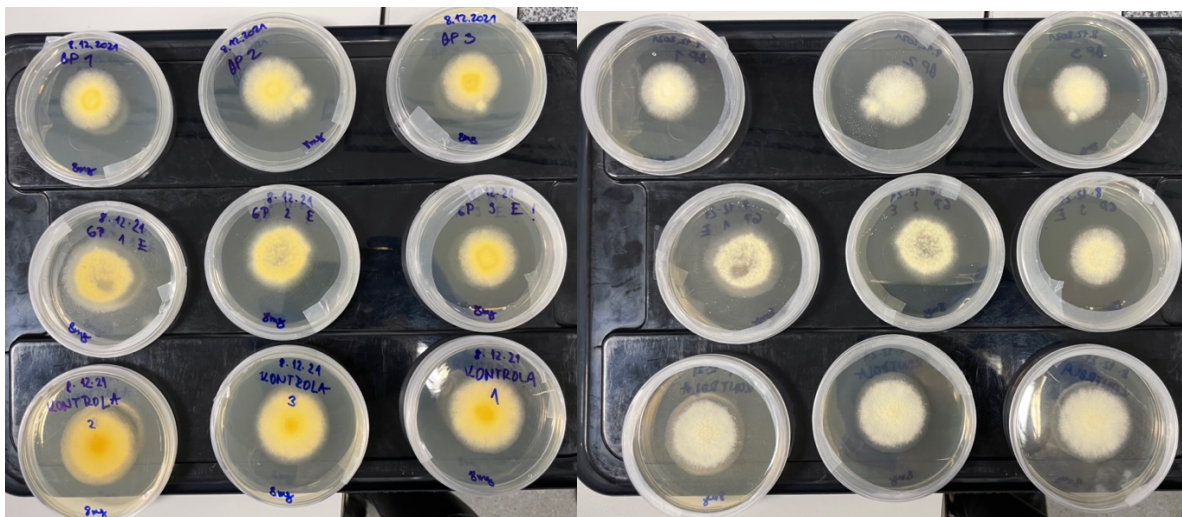
Čistý α -pinen potlačil růst a po celou dobu měření si udržel stejný nárůst plísně v porovnání s velikostí misky.



Obrázek 47 a 48: Druhé měření enkapsulovaného i čistého α -pinen v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)

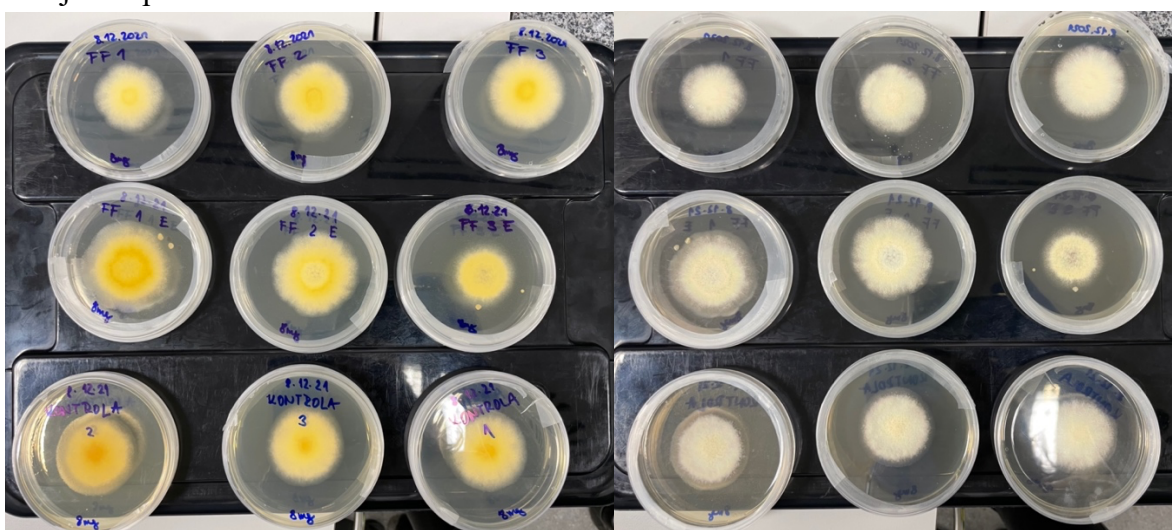
Naproti tomu čistý karvakrol, silice Green Poison, Gorilla Glue, enkapsulovaný nerolidol, silice Forbidden Fruit a Tangie v obou formách neomezily růst téměř vůbec nebo velice špatně. Všechny výše uvedené látky neinhibovaly růst plísně a nárůst na misce byl 99 % a více.

V případě čisté silice Green Poison narostla plíseň na velikost misky mezi druhým a třetím měření, což odpovídá době mezi 14–30 dnem. Jak je patrné z obrázku č. 49 a 50, tak u čisté i enkapsulované silice GP se velikost nárůstu plísně shoduje s velikostí nárůstu kontroly.



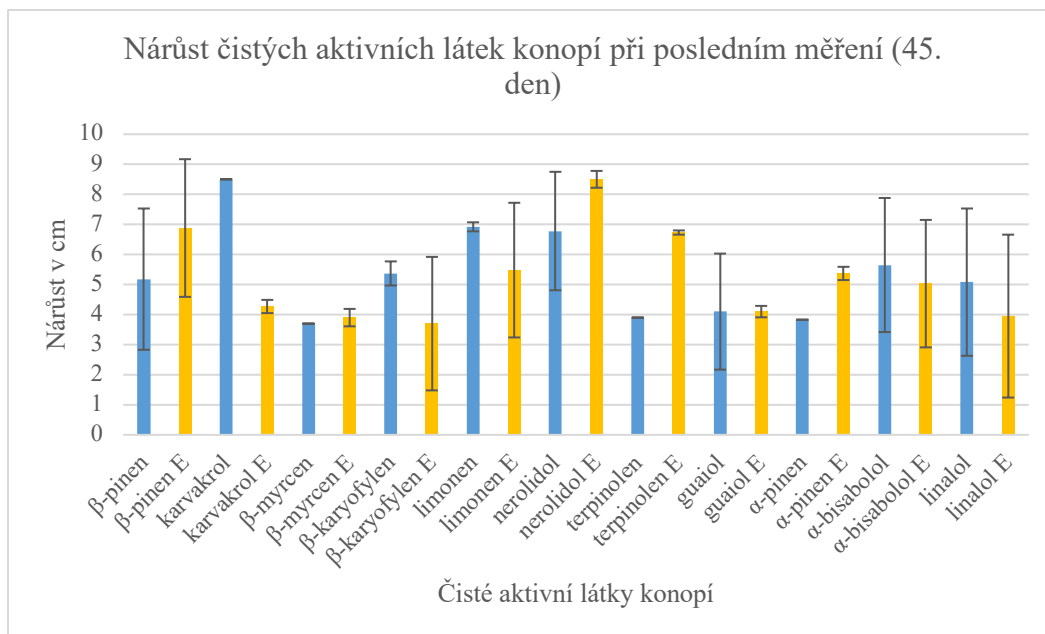
Obrázek 49 a 50: Druhé měření enkapsulované i neenkapsulované silice Green Poison v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)

Enkapsulovaný nerolidol měl stejný průběh, kdy mezi druhým a třetím měřením plně narostla plíseň v misce. Silice Forbidden Fruit a Tangie v obou formách při posledním měření růst již neinhibovaly. Avšak jak je patrné z obrázku č. 51 a 52, tak při druhém měření silice FF růst ještě zpomalovala.



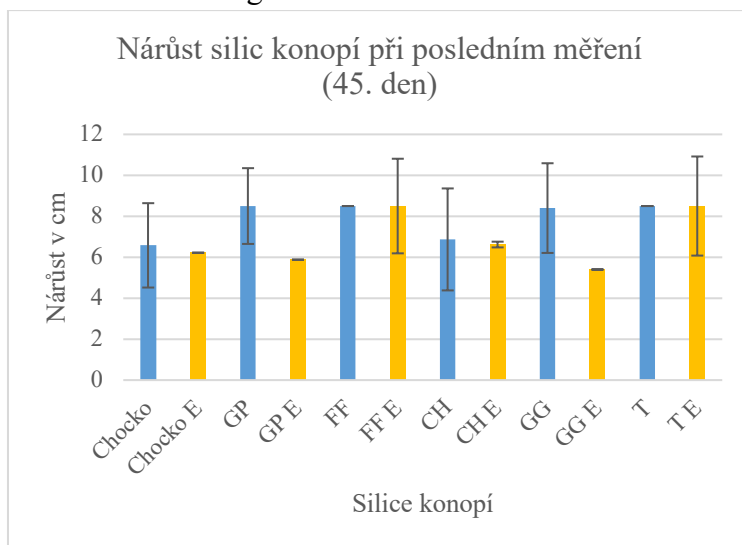
Obrázek 51 a 52: Druhé měření enkapsulované i neenkapsulované silice Forbidden Fruit v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)

Látka, která se významně statisticky odlišuje od zbylých, je silice Forbidden Fruit v obou formách měření. Statisticky významné rozdíly jsou u této silice vůči enkapsulovanému i čistému α -pinenu, linalolu, β -myrcenu, α -bisabolu, α -pinenu a β -karyofylenu.



Graf 3: Porovnání velikosti nárůstu enkapsulovaných a čistých forem aktivních látek konopí v koncentraci 8 mg/ml po 45 dnech se směrodatnou odchylkou

Ostatní látky, které nebyly zmíněny, rovněž zpomalily a omezily růst plísně, ale inhibice nebyla tak signifikantní, a proto nebyly více prodiskutovány. Hodnoty z měření je možné nalézt v tabulce č. 3 a na grafu č. 3 a 4.



Graf 4: Porovnání velikosti nárůstu enkapsulovaných a čistých forem silice konopí v koncentraci 8 mg/ml po 45 dnech se směrodatnou odchylkou

Při porovnání látek, které u 8 mg/ml koncentrace působily nejlépe s koncentrací 4 mg/ml, jsou viditelné rozdíly. Enkapsulovaný β-karyofylen, guaicol a čistý β-myrcen zpomalily růst plísně a finální velikost nepřesáhla 70 % oproti velikosti misky. Avšak ostatní látky, které u této koncentrace nejlépe inhibovaly růst, u koncentrace 4 mg/ml neinhibovaly růst vůbec anebo ho lehce zpomalily.

Oproti tomu látky, které při koncentraci 8 mg/ml růst téměř neinhibovaly, se našly i některé, které u koncentrace 4 mg/ml růst omezily.

U silice Tangie v obou formách a Green Poison v obou koncentracích nebyla inhibice téměř žádná nebo nulová. Zbylé látky, které při koncentraci 8 mg/ml růst neinhibovaly, tak při koncentraci 4 mg/ml ho lehce zpomalily, ale většina měla nárůst na misce 85 % a jen u enkapsulovaného nerolidolu měla plíseň 74% nárůst.

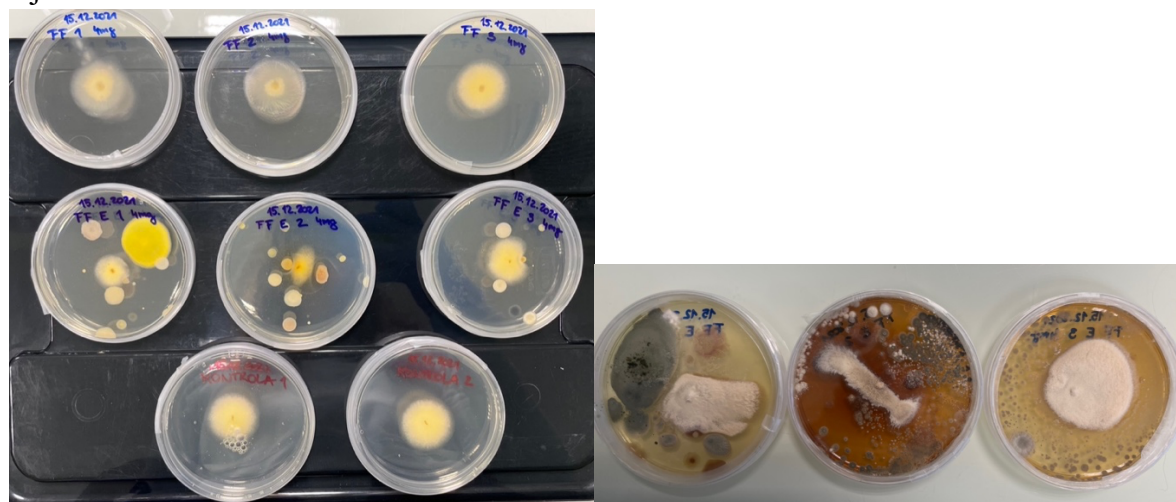
Statisticky významné rozdíly u jednotlivých látek byly prokázány v několika případech. V případě enkapsulovaných látek to jsou karvakrol, β -myrcen, β -karyofylen, nerolidol, α -pinen, α -bisabolol, silice Forbidden Fruit a linalol. U čistých látek jsou to β -myrcen, β -karyofylen, terpinolen, guaiol, α -pinen, α -bisabolol, silice Forbidden Fruit, Gorilla Glue a linalol viz tabulka č. 3. V rámci této koncentrace nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými látkami v enkapsulované a čisté formě.

6 Diskuze

Účelem práce bylo zjistit, zda enkapsulované látky budou vykazovat antifungální aktivitu jak v čisté, tak v enkapsulované formě, ale v enkapsulované budou účinkovat podstatně déle. Jak je patrné z předchozí kapitoly s výsledky, tak se to zcela nepotvrdilo. V některých případech látka v enkapsulované formě působila lépe a déle než v čisté formě, avšak statisticky to bylo potvrzeno pouze u jedné látky – terpinolen v koncentraci 4 mg/ml, ve které lépe a déle působil v enkapsulované formě oproti čisté. Nejlépe u obou koncentrací působil enkapsulovaný guaiol, který u koncentrace 8 mg/ml inhiboval růst na 48 % a u koncentrace 4 mg/ml na 59 % oproti velikosti misky. Je nutné poznamenat, že u koncentrace 4 mg/ml měl guaiol E poměrně velkou směrodatnou odchylku, takže se nárůsty u všech tří opakování značně lišily.

Z výsledků lze celkově usoudit, že koncentrace 8 mg/ml působí mnohem lépe než 4 mg/ml. Použité konopné silice potřebují být ve větší koncentraci, pokud jde o dermatofyta *E. floccosum*, který byl testován. Měření nárůstu *E. floccosum* nebylo vůbec snadné, protože se její tvar měnil, a proto některé měření mohlo být zavádějící a hodnoty se nemusely přesně shodovat.

Nejzajímavější výsledky vyšly u silice Forbidden Fruit v koncentraci 4 a 8 mg/ml. Protože v koncentraci 8 mg/ml silice FF neinhibovala růst vůbec v enkapsulované ani v čisté formě. Oproti tomu u koncentrace 4 mg/ml silice FF E měla nejlepší výsledky. Dle mého názoru by jedním z důvodů mohlo být, že všechny tři opakování byly značně kontaminovány jinými mikroorganismy, čímž byl utlačován růst plísně. Kontaminaci silice FF E je patrná na obrázcích č. 53 a 54. Jedním z důvodů kontaminace, která se stala u pokusu při koncentraci 8 mg/ml, byla změna laboratoře, ve které byl pokus proveden, protože tam zároveň probíhal výzkum brambor a jablek.



Obrázek 53 a 54: Kontaminace enkapsulované silice Forbidden Fruit v koncentraci 4 mg/ml při prvním a posledním měření

Metoda, která byla při tomto výzkumu použita, nebyla jednoduchá. Od začátku bylo potřeba ji v průběhu upravovat a přizpůsobovat si ji. Komplikace začaly již při aplikaci *E. floccosum* na Petriho misku. Bylo potřeba vyzkoušet, zda se mají nejdříve rozptýlit konopné silice s jejich hlavními látkami na Petriho misku a poté umístit plíseň anebo postup provést opačným způsobem. Příprava nástřiku a sprejové pistole byla značně náročná. Vždy bylo potřeba

připravit v laboratoři láhev se stlačeným vzduchem, díky které funguje nástřík pistole vybraných látek na Petriho misku. Manipulace s bombou nebyla snadná, a ne vždy byla možnost si bombu propůjčit. Celkový počet látek, které bylo potřeba nastříknout na misku, bylo díky třem opakováním 102. Problém nastal u enkapsulace látek, protože nebylo snadné mezoporézní křemičitý nanomateriál MCM-41 v nich rozpustit. Částice se občas zasekávaly ve sprejové pistoly, což pokus dost ztížilo a prodloužilo.

Porovnání s dříve provedenými studii nebylo úplně možné, protože nikde v literatuře nejsou tolik dostupné informace týkající se antifungální aktivity konopných extraktů. Je možné porovnat odlišné rostliny, ve kterých se látky, které byly použity, nachází. Rozhodně je nutné vzít v potaz odlišnosti v testování, které nebývá v každé studii totožné a může se lišit v mnoha ohledech.

Při testování antifungální aktivity silic jalovce (*Juniperus*) proti kmenům *Aspergillus* a *Candida* Cavaleiro et al (2006) zjistili, že všechny hodnocené silice kmeny inhibovaly. Jedny z důležitých složek silic jalovce jsou myrcen a α -pinen (Cavaleiro et al. 2006). Toto zjištění potvrzuje výsledky této práce, kdy myrcen v čisté i enkapsulované formě a α -pinen v čisté formě byly jedny z látek, které nejlépe inhibovaly růst *E. floccosum* u koncentrace 8 mg/ml. Oproti tomu v koncentraci 4 mg/ml neměla ani jedna z těchto dvou látek tak dobré výsledky a v některých formách neinhibovaly růst vůbec.

Je potřeba si uvědomit, že antidermatofytickou vlastnost nelze přisuzovat pouze silicím v rostlině, protože ve studii od Lima et al (1993) šest extraktů ze 13 testovaných rostlin nevykazovaly žádnou antimykotickou aktivitu, ačkoli mají společné silice s účinnými složkami. Rozdíly mohou být způsobeny kvantitativními rozdíly v obsahu silic u jednotlivých druhů rostlin nebo kvalitativními rozdíly ve složkách silic, které mohou působit aditivně, synergicky nebo antagonisticky s ohledem na jejich antifungální vlastnosti (Gompertz et al. 1993).

Prasad et al (2010) se zabývali in vitro a in vivo antimykotickou aktivitou silic voňatky martinovi (*Cymbopogon martini*) a merlíku vonného (*Chenopodium ambrosioides*) a jejich synergismem proti dermatofytům. Hlavními složkami silice voňatky byly trans-geraniol (60,9 %), b-elemen (12,26 %), E-citral (3,95 %) a linalol (3,44 %). Jak silice obou rostlin, tak jejich kombinace vykazovaly významnou inhibiční aktivitu vůči testovaným dermatofytům (*Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*) (Prasad et al. 2010). V celkovém vyhodnocení výsledků této práce linalol růst spíše neinhiboval, ale zároveň v této studii u výše zmíněných silic nebyl v tak vysokém zastoupení, a proto nemusel mít tak markantní vliv na testované dermatofyty.

Wanas et al. (2016) hodnotili antifungální potenciál n-hexanové frakce konopí proti život ohrožujícímu lidskému patogenu *Cryptococcus neoformans*, který je zodpovědný za infekci plic. Výsledky ukázaly, že růst patogenu lze minimalizovat použitím nižších koncentrací rostlinných extraktů konopí (Wanas et al. 2016). V porovnání s výsledky této práce se nižší koncentrace neosvědčila, ale není možné to úplně srovnávat, protože hlavním rozdílem je patogen, který u výše zmíněné studie zkoumali. Studie, které mají pozitivní ohlas na konopné silice, pracovaly s houbami, a především s druhem *Candida*. Singh et al. (2018) uvedli, že konopí je bohatým zdrojem bioaktivních složek, jako jsou terpeny, kanabinoidy, flavonoidy a fenoly, které mají silné antimykotické vlastnosti a mohou být účinné při zastavení růstu *Aspergillus flavipes* (Singh et al. 2018). U jiné studie konopné silice obsahují sloučeniny karyofylen (10,6 %), α -humulen (12,8 %) a (E)-karyofylen (35 %), které ve srovnání

s konvenčně používanými sloučeninami významně snižovaly biomasu hub druhu *Candida* (Nafis et al. 2019). Ale v jiných studiích, které se zabývaly sloučeninami vyskytujícími se v konopných silicích, se zastoupení látek liší. Proto nelze říct, že každá konopná silice má stejné zastoupení jako u marockého druhu, který používali ve své studii Nafis et al (2019).

Hlavní složky hořčičné a skořicové silice; Cinnamaldehyd (CNAD, 1,5 ml), allylisothiokyanát (AIT, 750 µl) byly vybrány pro enkapsulaci nanočástic díky jejich silnému antimikrobiálnímu účinku proti všem testovaným druhům bakterií. Kromě toho byl vybrán olej ajwain, protože má vysoce antimikrobiální účinek a nebyl dosud studován tak rozsáhle jako hořčice nebo skořice. Bylo hodnoceno zapouzdření silic do mezoporézního materiálu za účelem zvýšení jejich antimikrobiální aktivity. Zajímavé je, že přidání prázdných nanočástic zvýšilo životaschopnost bakterií. Testované bakterie byly *Pseudomonas fluorescens*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Pseudomonas syringae*, *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*. To mohlo být způsobeno tím, že mikroorganismy využívaly oxid křemičitý nebo jeho vedlejší produkty jako zdroj živin, nebo tím, že mezoporézní nanočástice oxidu křemičitého změnilly prostředí a zpřístupnily další živiny (Wainwright et al. 1997; Umamaheswari et al. 2016). Jiné studie ukázaly, že bakterie a houby mohou rozpouštět nerozpustné křemičitany (Duff et al. 1963) a že sloučeniny křemíku mohou zvýšit růst bakterií nebo hub (Price 1932; Wainwright et al. 1997; Umamaheswari et al. 2016). V souladu s těmito zjištěními výsledky této práce prokázaly, že přidavek prázdných MSNP zvýšil růst bakterií *P. syringae* pv. *pisi*, *P. fluorescens* a *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* o 222 %, 25 % a 45 % ve srovnání s neošetřenými kontrolami (Bravo Cadena et al. 2018). Ukázalo se, že skořicový aldehyd byl transplantován na povrch mezoporézních nanočástic oxidu křemičitého prostřednictvím své aldehydové skupiny, čímž se jeho antimikrobiální aktivita zvýšila desetinásobně a došlo k eliminaci až 99,99 % bakteriálního růstu pěti různých druhů bakterií, což dokazuje účinnost mezoporézních nanočástic oxidu křemičitého jako nosičů těkavých látek. Tento významný výsledek potvrzuje, že mezoporézní nanočástice oxidu křemičitého jsou velkým příslibem jako prostředek k využití antimikrobiálního potenciálu silic, který byl dříve přehlížen kvůli omezením jejich fyzikálních vlastností (Bravo Cadena et al. 2018). V této práci se využití mezoporézního křemičitého nanomateriálu MCM-41 nepotvrdilo jako tak účinné, a proto je možné, že v oblasti antifungální aktivity nebude natolik efektivní jako v případě antimikrobiální.

Využití mezoporézních nanočástic oxidu křemičitého je smysluplné a doufám, že se bude čím dál více zakomponovávat při různých studiích k léčbě onemocnění nebo jejich příznaků přírodními látkami. Dle mého názoru mohou mít nanomateriály velkou budoucnost nejen při léčbě různých druhů onemocnění, ale i v jiných odvětvích, ve kterých našly či najdou uplatnění.

7 Závěr

Lze konstatovat, že na základě výsledků byly cíle práce naplněny, ale hypotéza se zcela nepotvrdila. U všech látek v průběhu měření byla ověřena fungistatická aktivita. Většina látek zpomalila a částečně omezila růst plísně oproti kontrole, která plně narostla přibližně do 9 dne. Předpokládaný synergický účinek, při kterém měly silice fungovat lépe a odlišně oproti hlavním látkám v nich přítomným, se nepotvrdil. Některé z vybraných látek v enkapsulované i čisté formě vykazovaly antifungální aktivitu ve stejných koncentracích (4 a 8 mg/ml). Jen u nerolidolu, jako jediné látky ze 17-ti, byl fungistatický účinek podstatně delší v enkapsulované oproti čisté formě. Toto tvrzení bylo i statisticky podloženo.

Byly zjištěny poměrně značné rozdíly mezi látkami u koncentrace 4 a 8 mg/ml. Z výsledků lze konstatovat, že při koncentraci 8 mg/ml látky růst značně inhibovaly oproti koncentraci 4 mg/ml. U látek s koncentrací 8 mg/ml, které měly nejlepší fungicidní účinek, narostla plíseň do maximálně 50 % oproti kontrole. Látky s koncentrací 4 mg/ml měly nárůst plísně maximálně do 60 % oproti velikosti kontroly. Jako nejúčinnější látky v tomto výzkumu se ukázaly guail, β -karyofylen a β -myrcen.

Dalo by se říci, že *E. floccosum* byl spíše málo citlivý proti výše zvoleným látkám. Zároveň je třeba vzít v potaz dobu měření, která byla 45 dní. Největší změny se děly mezi 14 a 30 dnem, kdy poměrně dost látek růst lehce zpomalilo nebo ho přestalo inhibovat úplně.

Metodu se povedlo alespoň částečně optimalizovat pomocí sprejové pistole, je však potřeba se na ni více zaměřit a detailněji ji prozkoumat. Například stále není jasné, zda postup, kdy se pistolí nejdříve nastříkly na Petriho misku účinné látky a následně se k nim přidala plíseň, byl správně zvolen.

Metodika použitá v této studii byla v jejím průběhu mnohokrát různými způsoby optimalizována, ale stále se objevují určité překážky, které mohou výrazně ovlivnit výsledky. Je zapotřebí dalších navazujících experimentů, které by pomohly metodiku zcela optimalizovat a alespoň in-vitro potvrdit léčebný potenciál konopí.

Podrobnější průzkum látek obsažených v konopí a jeho silic by mohlo přispět ke zjištění antifungálního účinku proti jiným patogenům. Enkapsulace by mohla zajistit řízené uvolňování podle potřeby růstu patogenů a tím snížit jeho růst a případně ho téměř eliminovat.

8 Seznam literárních a internetových zdrojů

- Abdul A, Al-Janabi HS. 2014. Study of characteristic features of pleomorphic Epidermophyton floccosum. Human diseases View project cancer markers View project. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/publication/215680873>.
- Abu-Amna M, Salti T, Khoury M, Cohen I, Bar-Sela G. 2021. Medical Cannabis in Oncology: a Valuable Unappreciated Remedy or an Undesirable Risk? Current Treatment Options in Oncology 22. Springer.
- Adam K, Sivropoulou A, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M. 1998. Antifungal Activities of Origanum vulgare subsp. hirtum, Mentha spicata, Lavandula angustifolia, and Salvia fruticosa Essential Oils against Human Pathogenic Fungi.
- Alexander A, Smith PF, Rosengren RJ. 2009, November 18. Cannabinoids in the treatment of cancer. Elsevier Ireland Ltd.
- Appendino G, Gibbons S, Giana A, Pagani A, Grassi G, Stavri M, Smith E, Rahman MM. 2008. Antibacterial cannabinoids from Cannabis sativa: A structure-activity study. Journal of Natural Products 71:1427–1430.
- Baek SH, Kim YO, Kwag JS, Choi KE, Jung WY, Han DS. 1998. Boron Trifluoride Etherate on Silica-A Modified Lewis Acid Reagent (VII). Antitumor Activity of Cannabigerol Against Human Oral Epitheloid Carcinoma Cells. Page Arch. Pharm. Res.
- Bar-Lev Schleider L, Mechoulam R, Lederman V, Hilou M, Lencovsky O, Betzael O, Shbiro L, Novack V. 2018. Prospective analysis of safety and efficacy of medical cannabis in large unselected population of patients with cancer. European Journal of Internal Medicine 49:37–43. Elsevier B.V.
- Bar-Sela G, Vorobeichik M, Drawsheh S, Omer A, Goldberg V, Muller E. 2013. The medical necessity for medicinal cannabis: Prospective, observational study evaluating the treatment in cancer patients on supportive or palliative care. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine 2013.
- Barua S, Gogoi S, Khan R, Karak N. 2018. Silicon-Based Nanomaterials and Their Polymer Nanocomposites. Strany: 261–305. Nanomaterials and Polymer Nanocomposites: Raw Materials to Applications. Elsevier.
- Behr M, Sergeant K, Leclercq CC, Planchon S, Guignard C, Lenouvel A, Renaut J, Hausman JF, Lutts S, Guerriero G. 2018. Insights into the molecular regulation of monolignol-derived product biosynthesis in the growing hemp hypocotyl. BMC Plant Biology 18. BioMed Central Ltd.
- ben Amar M. 2006, April 21. Cannabinoids in medicine: A review of their therapeutic potential.
- Bifulco M, Pisanti S. 2015. Medicinal use of cannabis in Europe. EMBO reports 16:130–132. EMBO.
- Booth JK, Page JE, Bohlmann J. 2017. Terpene synthases from Cannabis sativa. PLOS ONE 12. Public Library of Science.

- Booth M. 2005. *Cannabis: A History*. Picador. ISBN: 0553814184.
- Borille BT et al. 2017. Chemical profiling and classification of cannabis through electrospray ionization coupled to Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry and chemometrics. *Analytical Methods* 9:4070–4081. Royal Society of Chemistry.
- Bråred Christensson J, Karlberg AT, Andersen KE, Bruze M, Johansen JD, Garcia-Bravo B, Giménez Arnau A, Goh CL, Nixon R, White IR. 2016. Oxidized limonene and oxidized linalool – Concomitant contact allergy to common fragrance terpenes. *Contact Dermatitis* 74:273–280. Blackwell Publishing Ltd.
- Bravo Cadena M, Preston GM, van der Hoorn RAL, Townley HE, Thompson IP. 2018. Species-specific antimicrobial activity of essential oils and enhancement by encapsulation in mesoporous silica nanoparticles. *Industrial Crops and Products* 122:582–590. Elsevier B.V.
- Bruni R, Medici A, Andreotti E, Fantin C, Muzzoli M, Dehesa M, Romagnoli C, Sacchetti G. 2004. Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) flower calices. *Food Chemistry* 85:415–421. Elsevier Ltd.
- Cakiryilmaz N, Arbag H, Oktar N, Dogu G, Dogu T. 2019. Catalytic performances of Ni and Cu impregnated MCM-41 and Zr-MCM-41 for hydrogen production through steam reforming of acetic acid. *Catalysis Today* 323:191–199. Elsevier B.V.
- Callaway J, Schwab U, Harvima I, Halonen P, Mykkänen O, Hyvönen P, Järvinen T. 2005. Efficacy of dietary hempseed oil in patients with atopic dermatitis. *Journal of Dermatological Treatment* 16:87–94.
- Canadian Cancer Society. 2022. Cannabis and cannabinoids for medical purposes. Dostupné z: <https://cancer.ca/en/treatments/complementary-therapies/medical-cannabis-and-cannabinoids> (accessed April 13, 2022).
- Carlini EA, Karniol IG, Renault PF, Schuster CR. 1974. Effects of Marijuana in Laboratory Animals and in Man. *British Journal of Pharmacology* 50:299–309.
- Cascio MG, Gauson LA, Stevenson LA, Ross RA, Pertwee RG. 2010. 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* 159:129–141.
- Cavaleiro C, Pinto E, Gonçalves MJ, Salgueiro L. 2006. Antifungal activity of Juniperus essential oils against dermatophyte, Aspergillus and Candida strains. *Journal of Applied Microbiology* 100:1333–1338.
- Chen H, Peng YP, Chen KF, Lai CH, Lin YC. 2016. Rapid synthesis of Ti-MCM-41 by microwave-assisted hydrothermal method towards photocatalytic degradation of oxytetracycline. *Journal of Environmental Sciences (China)* 44:76–87. Chinese Academy of Sciences.
- Chon H, Woo SI, Sayari A. 1996. Periodic mesoporous materials: synthesis, characterization and potential applications. *Université Laval*: 1-45.

- Chuang PH, Lee CW, Chou JY, Murugan M, Shieh BJ, Chen HM. 2007. Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. *Bioresource Technology* 98:232–236.
- Clark R, Merlin M. 2013. *Cannabis: Evolution and Ethnobotany*. University of California Press.
- Costa JAS, de Jesus RA, Santos DO, Mano JF, Romão LPC, Paranhos CM. 2020, January 1. Recent progresses in the adsorption of organic, inorganic, and gas compounds by MCM-41-based mesoporous materials. Elsevier B.V.
- Costa JAS, Vedovello P, Paranhos CM. 2020. Use of Ionic Liquid as Template for Hydrothermal Synthesis of the MCM-41 Mesoporous Material. *Silicon* 12:289–294. Springer.
- Dashrath Bansod S, Rai M, Bansod S. 2008. Antifungal Activity of Essential Oils from Indian Medicinal Plants Against Human Pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger* Development of a Production and Purification Platform for Bioproducts View project Antifungal Activity of Essential Oils from Indian Medicinal Plants Against Human Pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. Article in *World Journal of Medical Sciences* 3:81–88. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/publication/236860398>.
- De Petrocellis L, di Marzo V. 2010, March. Non-CB1, Non-CB2 receptors for endocannabinoids, plant cannabinoids, and synthetic cannabimimetics: Focus on G-protein-coupled receptors and transient receptor potential channels.
- De Petrocellis L, Ligresti A, Schiano Moriello A, Allarà M, Bisogno T, Petrosino S, Stott CG, Marzo V di. 2011. Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. DOI: 10.1111/bph.2011.163.issue-7. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1111/bph.2011.163.issue-7>.
- Dewick PM. 2009. *Medicinal Natural products: A Biosynthetic Approach* 3rd Edition. John Wiley & Sons, Ltd.
- Dubois M, Th Gulik-Krzywicki J, Cabane S B. 1993. Growth of Silica Polymers in a Lamellar Mesophaset. Page Langmuir.
- Duff RB, Webley DM, Scott RO. 1963. Solubilization of minerals and related materials by 2-ketogluconic acid-producing bacteria. *Soil Science* 95:105–114.
- Dündar-Tekkaya E, Yürüm Y. 2015. Effect of loading bimetallic mixture of Ni and Pd on hydrogen storage capacity of MCM-41. *International Journal of Hydrogen Energy* 40:7636–7643. Elsevier Ltd.
- Dupal L. 2010. *Kniha o marihuaně*, 3rd edition. Maťa, Praha. ISBN: 978-80-7287-136-0.
- Duraisamy GS, Mishra AK, Kocábek T, Matoušek J. 2017. Activation of polyketide synthase gene promoter in *Cannabis sativa* by heterologous transcription factors derived from *Humulus lupulus*. České Budějovice. Dostupné z: <https://sogo.dna.affrc.go.jp>.
- Ecovis ježek advokátní kancelář s. r. o. 2019. Změna právní regulace pěstování a distribuce konopí v České republice. Dostupné z: <https://www.ecovislegal.cz/aktuality/zmirneni-pravni-regulace-pestovani-a-distribuce-konopi-v-ceske-republice/>.

Elsohly HN, Turner CE, Clark AM, Elsohly MA. 1982. Synthesis and Antimicrobial Activities of Certain Cannabichromene and Cannabigerol Related Compounds.

ElSohly MA, Radwan MM, Gul W, Chandra S, Galal A. 2017, January 1. Phytochemistry of Cannabis sativa L.

ElSohly MA, Slade D. 2005. Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Strany*: 539–548. Life Sciences.

Emcdda. 2018. Questions and answers for policymaking Medical use of cannabis and cannabinoids. Luxembourg city. ISBN: 978-92-9497-362-7.

Ergün AN, Kocabaş ZÖ, Baysal M, Yürüm A, Yürüm Y. 2013. Synthesis of Mesopotous MCM-41 Materials with Low-power Microwave Heating. *Chemical Engineering Communications* 200:1057–1070.

Evans F. 1991. Cannabinoids: The Separation of Central from Peripheral Effects on a Structural Basis. London. *Planta Medica* 57: 60-67.

Felgueiras HP. 2021. An insight into biomolecules for the treatment of skin infectious diseases. *Pharmaceutics* 13. DOI: 10.3390/pharmaceutics13071012.

Flores-Sanchez IJ, Verpoorte R. 2008. Secondary metabolism in cannabis. *Strany*: 615–639. *Phytochemistry Reviews*.

Gaoni, Mechoulam. 1964. Isolation, Structure and Partical Synthesis of an Active Costituent of Hashish. Athens. The University of Georgia.

Gascón V, Jiménez MB, Blanco RM, Sanchez-Sanchez M. 2018. Semi-crystalline Fe-BTC MOF material as an efficient support for enzyme immobilization. *Catalysis Today* 304:119–126. Elsevier B.V.

Gauson LA, Stevenson LA, Thomas A, Baillie GL, Ross RA, Pertwee RG. 2007. Cannabigerol behaves as a partial agonist at both CB1 and CB2 receptors. Canada: International Cannabinoid Research Society, Quebec.

Gleiter H. 2000. Nanostructured Materials: Basic Concepts and Microstructure. Karlsruhe. Dostupné z: www.elsevier.com/locate/actamat.

Glodowska M. 2016. Cannabis sativa L. and its antimicrobial properties-A review Role of microbial processes in As mobilization and retardation in groundwater View project Microbial profiel of low-THC cannabis plants View project. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/publication/317185536>.

Gompertz F, Giesbrecht AM, Paulo MQ. 1993. Antimyzetische Aktivitat atherischer Ole von Heilpflanzen in vitro gegen Dermatophyten. Page MYCOSES. Paraiba.

Grotenhermen F. 2009. Konopí jako lék. 1. vydání. Fontána, Olomouc. ISBN: 978-80-7336-552-3.

Grunfeld E, Gresty MA. 1999. Relationship between motion sickness, migraine and menstruation in crew members of a “round the world” yacht race.

- Grunfeld Y, Edery H. 1969. Psychopharmacological Activity of the Active Constituents of Hashish and Some Related Cannabinoids. Page *Psychopharmacologia* (Berl.).
- Hanuš LO, Hod Y. 2020. Terpenes/Terpenoids in Cannabis: Are They Important? *Medical Cannabis and Cannabinoids* 3:25–60. S. Karger AG.
- Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. 2008. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. Berlin, Bad Saarow.
- Hazekamp A, Ware MA, Muller-Vahl KR, Abrams D, Grotenhermen F. 2013. The Medicinal Use of Cannabis and Cannabinoids-An International Cross-Sectional Survey on Administration Forms. *Journal of Psychoactive Drugs* 45:199–210.
- Hillig KW, Mahlberg PG. 2004. A Chemotaxonomic Analysis of Cannabinoid Variation in Cannabis (Cannabaceae). Page *American Journal of Botany*.
- Holland J, Weil A, Pollan M, Grinspoon L, Pierre A st. 2010. Tráva. Pragma. ISBN: 978-80-7349-408-7.
- Holland ML, Allen JD, Arnold JC. 2008. Interaction of plant cannabinoids with the multidrug transporter ABCC1 (MRP1). *European Journal of Pharmacology* 591:128–131.
- Ibrahim SY, Abd El-Salam MM. 2015. Anti-dermatophyte efficacy and environmental safety of some essential oils commercial and in vitro extracted pure and combined against four keratinophilic pathogenic fungi. *Environmental Health and Preventive Medicine* 20:279–286. Springer Tokyo.
- Jesus RA, Rabelo AS, Figueiredo RT, Cides Da Silva LC, Codentino IC, Fantini MCA, Araújo GLB, Araújo AAS, Mesquita ME. 2016. Synthesis and application of the MCM-41 and SBA-15 as matrices for in vitro efavirenz release study. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 31:153–159. Editions de Sante.
- Jin S, Lee MY. 2019. The ameliorative effect of hemp seed hexane extracts on the Propionibacterium acnes-induced inflammation and lipogenesis in sebocytes. *PLOS ONE* 13. Public Library of Science.
- Karlberg AT, Magnusson K, Nilsson U. 1992. Air oxidation of d-limonene (the citrus solvent) creates potent allergens. *Contact Dermatitis* 26:332–340.
- Karniol IG, Itiro S, Takahashi RN, Knobel E, Musty RE. 1975. Effect of delta9-Tetrahydrocannabinol and Cannabinol in Man. *Pharmacology* 13:502–512.
- Kimura M, Okamoto K. 1970. Distribution of Tetrahydrocannabinolic Acid in Fresh Wild Cannabis. Banaras Hindu University. *Experientia* 26: 819-820.
- Kresge CT, Leonowicz ME, Roth WJ, Vartuli JC, Beck JS. 1992. Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. *Nature* 359.
- Kresge CT, Vartuli JC, Roth WJ, Leonowicz ME. 2004. The Discovery of ExxonMobil's M41S Family of Mesoporous Molecular Sieves. *Surface Science and Catalysis* 148: 53-72.

- Kumar S, Malik MM, Purohit R. 2018. Synthesis of high surface area mesoporous silica materials using soft templating approach. Page Materials Today: Proceedings. Dostupné z: www.sciencedirect.comwww.materialstoday.com/proceedings.
- Kutiel TS, Vornicova O, Bar-Sela G. 2018, May 1. Cannabis for Vismodegib-Related Muscle Cramps in a Patient With Advanced Basal Cell Carcinoma. Elsevier Inc. *Journal of Pain and Symptom Management* 55: e1-e2.
- Landa L, Juřica J, a kolektiv. 2020. Léčebné konopí v současné medicínské praxi. Praha. ISBN: 978-80-247-3967-0.
- Lewis MA, Russo EB, Smith KM. 2018. Pharmacological Foundations of Cannabis Chemovars. *Planta Medica* 84:225–233. Georg Thieme Verlag.
- Ligresti A, Moriello AS, Starowicz K, Matias I, Pisanti S, de Petrocellis L, Laezza C, Portella G, Bifulco M, di Marzo V. 2006. Antitumor activity of plant cannabinoids with emphasis on the effect of cannabidiol on human breast carcinoma. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 318:1375–1387.
- Macura AB. 1993. In Vitro Susceptibility of Dermatophytes to Antifungal Drugs: A Comparison of Two Methods. Krakow. *International Journal of Dermatology* 32: 533-536.
- Makimura K, Tamura Y, Mochizuki T, Hasegawa A, Tajiri Y, Hanazawa R, Uchida K, Saito H, Yamaguchi H. 1999. Phylogenetic Classification and Species Identification of Dermatophyte Strains Based on DNA Sequences of Nuclear Ribosomal Internal Transcribed Spacer 1 Regions. Page *Journal of Clinical Microbiology*. Dostupné z: <https://journals.asm.org/journal/jcm>.
- Mansoori G.A., Soelaiman TAF. 2005. Nanotechnology-An Introduction for the Standards Community. Page *Journal of ASTM International*. Dostupné z: www.astm.org.
- Maor Y, Gallily R, Mechoulam R. 2006. The relevance of the steric factor in the biological activity of CBD derivatives-a tool in identifying novel molecular target for cannabinoids. Hungary: International Cannabinoid Research Society.
- Martins A.M., Gomes A.L., Boas I.V., Marto J, Ribeiro HM. 2022, February 1. Cannabis-Based Products for the Treatment of Skin Inflammatory Diseases: A Timely Review. *Pharmaceuticals* 15. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph15020210>.
- Marzo V di. 2001. The Endocannabinoid System: Can It Contribute to Cannabis Therapeutics? Dostupné z: <http://www.HaworthPress.com>.
- Massimino L. 2017. In silico discovery of terpenoid metabolism in Cannabis sativa. *Faculty of 1000 Research* 107: 1-12.
- McPartland JM, Russo EB. 2012. Cannabis and Cannabis extracts: Greater than the sum of their parts? *Strany: 103–132. Cannabis Therapeutics in HIV/AIDS*. Taylor and Francis Inc.
- Mechoulam B.R., Gaoni Y. 1967. Recent Advances in the Chemistry of Hashish. Wien. Springer-Verlag: 176-207.

- Mechoulam R, Hanuš LO, Pertwee R, Howlett AC. 2014, November 25. Early phytocannabinoid chemistry to endocannabinoids and beyond. Nature Publishing Group. *Nature Reviews Neuroscience* 15: 757-764.
- Metwally S, Ura DP, Krysiak ZJ, Kaniuk Ł, Szewczyk PK, Stachewicz U. 2021. Electrospun PCL patches with controlled fiber morphology and mechanical performance for skin moisturization via long-term release of hemp oil for atopic dermatitis. *Membranes* 11:1–13. MDPI AG.
- Ministerstvo zdravotnictví ČR. 2013, August 1. Vyhláška č. 221/2013 Sb. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2013-221> (accessed April 13, 2022).
- Moreau J-J. 1973. Hashish and Mental Illness. Raven Press: 245 stran.
- Musty RE, Deyo RA. 2006. A cannabigerol extract alters behavioral despair in an animal model of depression. Hungary: International Cannabinoid Research.
- Nafis A, Kasrati A, Jamali CA, Mezrioui N, Setzer W, Abbad A, Hassani L. 2019. Antioxidant activity and evidence for synergism of Cannabis sativa (L.) essential oil with antimicrobial standards. *Industrial Crops and Products* 137:396–400. Elsevier B.V.
- National Conference of State Legislatures. 2022, February 3. State Medical Cannabis Laws. Dostupné z: <https://www.ncsl.org/research/health/state-medical-marijuana-laws.aspx> (accessed April 13, 2022).
- Nickles MA, Lio PA. 2020. Cannabinoids in Dermatology: Hope or Hype? Mary Ann Liebert Inc. *Cannabis and Cannabinoid Research* 5: 279-282.
- Oláh A et al. 2014. Cannabidiol exerts sebostatic and antiinflammatory effects on human sebocytes. *Journal of Clinical Investigation* 124:3713–3724. American Society for Clinical Investigation.
- Park S-E, Kim DS, Chang J-S, Kim WY. 1998. Synthesis of MCM-41 using microwave heating with ethylene glycol. *Catalysis Today* 44: 301-308.
- Pertwee RG, Cascio MG. 2014. *Handbook of Cannabis*. Oxford University Press, Oxford: 115-136.
- Pisanti S, Bifulco M. 2017, March 1. Modern History of Medical Cannabis: From Widespread Use to Prohibitionism and Back. Elsevier Ltd. *Trends in Pharmacological Science* 38: 195-198.
- Pisanti S, Bifulco M. 2019, June 1. Medical Cannabis: A plurimillennial history of an evergreen. Wiley-Liss Inc. *Journal of Cellular Physiology* 234: 8342-8351.
- Pisanti S, Malfitano AM, Grimaldi C, Santoro A, Gazerro P, Laezza C, Bifulco M. 2009, February. Use of cannabinoid receptor agonists in cancer therapy as palliative and curative agents. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism* 23: 117-131.
- Pisanti S, Picardi P, D'Alessandro A, Laezza C, Bifulco M. 2013. The endocannabinoid signaling system in cancer. *Trends in Pharmacological Sciences* 34: 273-282.

- Pokropivny V v., Skorokhod V v. 2007. Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science. *Materials Science and Engineering C* 27:990–993.
- Pollastro F, Minassi A, Fresu LG. 2017. Cannabis Phenolics and their Bioactivities. *Current Medicinal Chemistry* 25:1160–1185. Bentham Science Publishers Ltd.
- Pollio A. 2016. The Name of Cannabis: A Short Guide for Nonbotanists. Mary Ann Liebert Inc. *Cannabis and Cannabinoid Research* 1: 234-238.
- Prasad CS, Shukla R, Kumar A, Dubey NK. 2010. In vitro and in vivo antifungal activity of essential oils of *Cymbopogon martini* and *Chenopodium ambrosioides* and their synergism against dermatophytes. *Mycoses* 53:123–129.
- Price RM. 1932. The influence of silica upon the growth of the tubercle bacillus. *Canadian Journal of Research*:617–621.
- Rhee M-H, Vogel Z, Barg J, Bayewitch M, Levy R, Hanuš L, Breuer A, Mechoulam R. 1997. Cannabinol Derivatives: Binding to Cannabinoid Receptors and Inhibition of Adenylylcyclase. *Journal of Medical Chemistry* 40: 3228-3233.
- Rizzi V, Prasetyanto EA, Chen P, Gubitosa J, Fini P, Agostiano A, de Cola L, Cosma P. 2019. Amino grafted MCM-41 as highly efficient and reversible ecofriendly adsorbent material for the Direct Blue removal from wastewater. *Journal of Molecular Liquids* 273:435–446. Elsevier B.V.
- Ruman M. 2014. Cannabis – konopí: průvodce světem univerzální rostliny. Malý princ, Praha. ISBN: 978-80-87754-13-9
- Russo EB. 2011. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects LINKED ARTICLES. *British Journal of Pharmacology* 163:1344–1364. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1111/bph.2011.163.issue-7www.brijpharmacol.org>.
- Russo EB, Marcu J. 2017. Cannabis Pharmacology: The Usual Suspects and a Few Promising Leads. *Advances in Pharmacology* 80: 67–134. Academic Press Inc.
- Saleh TA. 2020, November 1. Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. Elsevier B.V. *Environmental Technology and Innovation* 20: 3-13.
- Samorini G. 1996. L'erba di Carlo Erba: Per Una Storia Della Canapa Indiana in Italia 1845-1848. Nautilus.
- Sánchez Artiles AE, Awan A, Karl M, Santini A. 2019, May 1. Cardiovascular effects of cannabis (marijuana): A timely update. John Wiley and Sons Ltd.
- Santos DO, de Lourdes Nascimento Santos M, Costa JAS, de Jesus RA, Navickiene S, Sussuchi EM, de Mesquita ME. 2013. Investigating the potential of functionalized MCM-41 on adsorption of Remazol Red dye. *Environmental Science and Pollution Research* 20:5028–5035.
- Santos LFS, de Jesus RA, Costa JAS, Gouveia LGT, de Mesquita ME, Navickiene S. 2019. Evaluation of MCM-41 and MCM-48 mesoporous materials as sorbents in matrix solid phase

- dispersion method for the determination of pesticides in soursop fruit (*Annona muricata*). *Inorganic Chemistry Communications* 101:45–51. Elsevier B.V.
- Sattler KD. 2020. *21st Century Nanoscience – A Handbook*. Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- Scutt A, Williamson EM. 2007. Cannabinoids stimulate fibroblastic colony formation by bone marrow cells indirectly via CB2 receptors. *Calcified Tissue International* 80:50–59.
- Shamim S, Waseemuddin Ahmed S, Siddiqui A, Azhar I. 2005. Superficial Mycoses: A Study for the Isolation and Identification of Fungal Species from Infected Patients. *Pakistan Journal of Pharmacology* 22: 41-46.
- Shin S, Lim S. 2004. Antifungal effects of herbal essential oils alone and in combination with ketoconazole against *Trichophyton* spp. *Journal of Applied Microbiology* 97:1289–1296.
- Shoyama Y, Yamauchi T, Nishioka I. 1970. Cannabis V. Cannabigerolic Acid Monomethyl Ether and Cannabinolic Acid. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 18: 1327-1332.
- Singh P et al. 2018. Green synthesis of gold and silver nanoparticles from *Cannabis sativa* (Industrial hemp) and their capacity for biofilm inhibition. *International Journal of Nanomedicine* 13:3571–3591. Dove Medical Press Ltd.
- Tarasov P, Bezrukova E, Karabanov E, Nakagawa T, Wagner M, Kulagina N, Letunova P, Abzaeva A, Granoszewski W, Riedel F. 2007. Vegetation and climate dynamics during the Holocene and Eemian interglacials derived from Lake Baikal pollen records. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 252:440–457.
- The United States National Nanotechnology Initiative. 2021. National Nanotechnology Initiative (NNI). Dostupné z: <https://www.nano.gov>.
- Thomas BF, ElSohly MA. 2016. *The Analytical Chemistry of Cannabis: Quality Assessment, Assurance, and Regulation of Medicinal Marijuana and Cannabinoid Preparations*. Elsevier Inc. ISBN: 978-0-12-804646-3.
- Tisserand R, Young R. 2014. *Essential oil safety: a guide for health care professionals*, 2nd edition. Elsevier, London. ISBN: 0443062412.
- Turgeman I, Bar-Sela G. 2019. Cannabis for cancer—illusion or the tip of an iceberg: a review of the evidence for the use of Cannabis and synthetic cannabinoids in oncology. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 28:285–296. Taylor and Francis Ltd.
- Turner CE, Elsohly DA, Boeren EG. 1980. Constituents of *Cannabis sativa* L. XVII. A review of the natural constituents. Mississippi. *Journal of Natural Products* 43: 171-225.
- Turner SE, Williams CM, Iversen L, Whalley BJ. 2017, January 1. Molecular Pharmacology of Phytocannabinoids. *Progress in the chemistry of organic natural products* 103: 61-101.
- Umamaheswari T, Srimeena N, Vasanthi N, Cibichakravarthy B, Anthoniraj S, Karthikeyan S. 2016. Silica as biologically transmuted source for bacterial growth similar to carbon Matters Archive. DOI: 10.19185/matters.201511000005. Sciencematters.

- Upton R, Craker L, ElSohly M, Romm A, Russo E, Sexton M. 2013. Cannabis inflorescence: Cannabis spp.: Standards of identity, analysis and quality control. American Herbal Pharmacopoeia.
- Vickery CR, la Clair JJ, Burkart MD, Noel JP. 2016, April 1. Harvesting the biosynthetic machineries that cultivate a variety of indispensable plant natural products. Elsevier Ltd. *Current Opinion in Chemical Biology* 31: 66-73.
- Voeks R. 2014. Cannabis: Evolution and Ethnobotany. The AAG Review of Books 2:54–56. Informa UK Limited.
- Wainwright M, Al-Wajeeh K, Grayston ASJ. 1997. Effect of silicic acid and other silicon compounds on fungal growth in oligotrophic and nutrient-rich media. *Mycol. Res.* 101:933–938.
- Wanas AS, Radwan MM, Khan IA, Radwan MM, Mehmedic Z, Jacob M, Khan IA, Elsohly MA. 2016. Antifungal Activity of the Volatiles of High Potency Cannabis sativa L. Against *Cryptococcus neoformans* Chemical and biological investigation of medicinal plants View project Antifungal Activity of the Volatiles of High Potency Cannabis sativa L. Against *Cryptococcus neoformans*. Page Nat. Prod. Dostupné z: www.acgpubs.org/RNP.
- Weitkamp J et al. 1994. Development of a formation mechanism for M4 1 S materials. *Studies in Surface Science and Catalysis* 84: 53-60.
- Weitzman I, Summerbell RC. 1995. The Dermatophytes. *Clinical Microbiology Reviews*: 240-259. Dostupný z: <http://cmr.asm.org/>.
- Wilkinson JD, Whalley BJ, Baker D, Pryce G, Constanti A, Gibbons S, Williamson EM. 2010. Medicinal cannabis: is Δ^9 -tetrahydrocannabinol necessary for all its effects? *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 55:1687–1694. Oxford University Press (OUP).
- Wood TB, Spivey N, Easterfield TH. 1899. III-Cannabinol. Part I. *Journal of the Chemical Society* 75:20–36.
- Yang X, Lian K, Tan Y, Zhu Y, Liu X, Zeng Y, Yu T, Meng T, Yuan H, Hu F. 2020. Selective uptake of chitosan polymeric micelles by circulating monocytes for enhanced tumor targeting. *Carbohydrate Polymers* 229. Elsevier Ltd.
- Zeleňák V, Badaničová M, Halamová D, Čejka J, Zukal A, Murafa N, Goerigk G. 2008. Amine-modified ordered mesoporous silica: Effect of pore size on carbon dioxide capture. *Chemical Engineering Journal* 144: 336–342.
- Zhong Q, Zhang L. 2019, November 1. Nanoparticles fabricated from bulk solid lipids: Preparation, properties, and potential food applications. Elsevier B.V.
- Zielonka DM, Kiraga Ł, Kozłowski RM. 2020. Medical potential of cannabis: An overview. *Handbook of Natural Fibres* 2: 419-448. Processing and Applications. Elsevier Inc.

9 Seznam zdrojů obrázků

- Abcam. 2020. (-)-Cannabidiol, Natural cannabinoid (ab120448). Dostupné z: <https://www.abcam.com/--cannabidiol-natural-cannabinoid-ab120448.html>
- aedkaDPS. 2018. Esenciální olej kontejner s listy konopí konopí. Dostupné z: https://st4.depositphotos.com/2371017/20227/i/450/depositphotos_202273332-stock-photo-cannabis-essential-oil-container-cannabis.jpg?forcejpeg=true
- Anawe. 2021. Lidský endokannabinoidní systém. Dostupné z: <https://www.aquahemp.cz/lidsky-endokannabinoidni-system/>
- Aqawi M, Gallily R, Sionov RV, Zaks B, Friedman M, Steinberg D. 2020. Cannabigerol Prevents Quorum Sensing and Biofilm Formation of *Vibrio harveyi*. *Frontiers in Microbiology* 11. Frontiers Media S.A.
- Chemical Book. 2022. trans-Stilben Produkt Beschreibung. Dostupné z: https://m.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_DE_cb4331036.htm
- HerbForce. 2022. Úvod do světa kanabinoidů. Dostupné z: <https://herbforce.cz/svet-kanabinoidu-31>
- Kreol International Magazine. 2015. The Basic Science of Cannabis. Kreol International Magazine.
- MedChemExpress. 2019. Nerolidol. Dostupné z: <https://www.medchemexpress.com>
- National Center for Biotechnology Information. 2022. Excoecariatoxin. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Excoecariatoxin>
- National Center for Biotechnology Information. 2022. Neurine. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Neurine>
- Neznámý. 2020. Myrcene Cariofillene Pinene Monoterpene – myrcene. Dostupné z: <https://it.cleanpng.com/png-i3e9fq/>
- PHOENIX lékárenský velkoobchod s. r. o. 2013. Konopí není jen droga. Dostupné z: <https://www.pharmapoint.cz/herbar/konopi-neni-jen-droga/>
- PhytoLab. 2022. Cannflavin A. Dostupné z: <https://phyproof.phytolab.com/de/referenzsubstanzen/details/cannflavin-a-85954>
- PngEgg. 2021. Tetrahydrocannabinol Cannabis Cannabidiol Molecule Cannabinoid, cannabis, angle, white png. Dostupné z: <https://www.pngegg.com/en/png-pljxg>
- Rizzi V, Prasetyanto EA, Chen P, Gubitosa J, Fini P, Agostiano A, de Cola L, Cosma P. 2019. Amino grafted MCM-41 as highly efficient and reversible ecofriendly adsorbent material for the Direct Blue removal from wastewater. *Journal of Molecular Liquids* **273**:435–446. Elsevier B.V.
- Ruman M. 2014. Cannabis - konopí: průvodce světem univerzální rostliny. Malý princ, Praha.
- Santa Cruz Biotechnology I. 2019. α -Pinene (CAS 80-56-8). Dostupné z: <https://www.scbt.com/it/p/alpha-pinene-80-56-8>

Santa Cruz Biotechnology I. 2019. (-)- β -Pinene (CAS 18172-67-3). Dostupné z: <https://www.scbt.com/it/p/beta-pinene-18172-67-3?requestFrom=search>

Santa Cruz Biotechnology I. 2019. Linalool (CAS 78-70-6). Dostupné z: <https://www.scbt.com/it/p/linalool-78-70-6?requestFrom=search>

Santa Cruz Biotechnology I. 2019. Terpinolene (CAS 586-62-9). Dostupné z:

Santa Cruz Biotechnology I. 2019. (-)-trans-Caryophyllene. Dostupné z: https://www.scbt.com/p/trans-caryophyllene?productCanUrl=trans-caryophyllene&_requestid=9558208

Santa Cruz Biotechnology I. 2019. α -Humulene (CAS 6753-98-6). Dostupné z: <https://www.scbt.com/it/p/alpha-humulene-6753-98-6?requestFrom=search>

Santa Cruz Biotechnology I. 2019. (-)-Guaiol (CAS 489-86-1). Dostupné z: <https://www.scbt.com/p/minus-guaiol-489-86-1?requestFrom=search>

Santa Cruz Biotechnology Inc. 2019. D-Limonene (CAS 5989-27-5). Dostupné z: <https://www.scbt.com/p/d-limonene-5989-27-5>

Shamim S, Waseemuddin Ahmed S, Siddiqui A, Azhar I. 2005. Superficial Mycoses: A Study for the Isolation and Identification of Fungal Species from Infected Patients. Page Pakistan Journal of Pharmacology.

SpectraBase. 2022. Cannabinol. Dostupné z: <https://spectrabase.com/spectrum/Dx7ovHRmzib>

10 Seznam obrázků, tabulek a grafů

Seznam obrázků

Obrázek 1: Základní poddruhy konopí (Ruman 2014; Kreol International Magazine 2015)..	11
Obrázek 2: Cannabis sativa (PHOENIX lékárenský velkoobchod 2013).....	12
Obrázek 3: Strukturní vzorec THC (PngEgg 2021).....	16
Obrázek 4 Strukturní vzorec CBD (Abcam 2020).....	16
Obrázek 5: Strukturní vzorec CBN (SpectraBase 2022).....	17
Obrázek 6: Strukturní vzorec CBG (Aqawi et al. 2020).....	17
Obrázek 7: Strukturní vzorec terpenoidu EA-I (National Center for Biotechnology Information 2022).....	18
Obrázek 8: Konopná silice (aedkaDPS 2018).....	19
Obrázek 9: Strukturní vzorec β -myrcenu (Neznámý 2020).....	19
Obrázek 10: Strukturní vzorec limonenu (Santa Cruz Biotechnology 2019).....	19
Obrázek 11: Strukturní vzorec α -pinenu (Santa Cruz Biotechnology 2019).....	20
Obrázek 12: Strukturní vzorec β -pinenu (Santa Cruz Biotechnology 2019).....	20
Obrázek 13: Strukturní vzorec linalolu (Santa Cruz Biotechnology 2019).....	20
Obrázek 14: Strukturní vzorec terpinolenu (Santa Cruz Biotechnology 2019).....	21
Obrázek 15: Strukturní vzorec β -karyofylenu (Santa Cruz Biotechnology 2019).....	21
Obrázek 16: Strukturní vzorec humulenu (Santa Cruz Biotechnology 2019).....	21
Obrázek 17: Strukturní vzorec guaionolu (Santa Cruz Biotechnology 2019).....	22
Obrázek 18: Strukturní vzorec nerolidolu (MedChemExpress 2019).....	22
Obrázek 19: Strukturní vzorec kanflavinu A (PhytoLab 2022).....	22
Obrázek 20: Strukturní vzorec stilbenu (Chemical Book 2022).....	23
Obrázek 21: Endokanabinoidní receptory CB ₁ a CB ₂ a jejich výskyt v lidském organismu (Anawe 2021).....	24
Obrázek 22: Endokanabinoidní systém s CB ₁ a CB ₂ receptory a jejich funkcemi (HerbForce 2022).....	25
Obrázek 23: Mikrofotografie MCM-41-NH ₂ (Rizzi et al. 2019).....	32
Obrázek 24: Epidermophyton floccosum (Shamim et al. 2005).....	33
Obrázek 25: Aplikace plně narostlé plísňe E. floccosum jehlou do Petriho misek s předem připravenými koncentracemi čistých aktivních látek a silic konopí.....	36
Obrázek 26 a 27: První měření enkapsulovaného a čistého nerolidolu v porovnání s kontrolou (autorka, 2021).....	37
Obrázek 28 a 29: První měření enkapsulovaného a čistého limonenu v porovnání s kontrolou (autorka, 2021).....	39
Obrázek 30 a 31: První měření enkapsulované a čisté silice Tangie v porovnání s kontrolou (autorka, 2021).....	39
Obrázek 32 a 33: První měření enkapsulované a čisté silice Choclope v porovnání s kontrolou (autorka, 2021).....	40
Obrázek 34 a 35: První měření enkapsulovaného a čistého terpinolenu v porovnání s kontrolou (autorka, 2021).....	42
Obrázek 36: První měření nerolidolu v enkapsulované a čisté formě při koncentraci 8 mg/ml v porovnání s kontrolou (autorka, 2021).....	42
Obrázek 37: První měření silice Critical Hog v enkapsulované a čisté formě při koncentraci 8 mg/ml v porovnání s kontrolou (autorka, 2021).....	43
Obrázek 38: První měření silice Gorilla Glue v enkapsulované a čisté formě při koncentraci 8 mg/ml v porovnání s kontrolou (autorka, 2021).....	43
Obrázek 39: První měření α -bisabololu v enkapsulované a čisté formě při koncentraci 8 mg/ml v porovnání s kontrolou (autorka, 2021).....	44

Obrázek 40: První měření β -myrcenu v enkapsulované a čisté formě při koncentraci 8 mg/ml v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)	44
Obrázek 41 a 42: Druhé měření enkapsulovaného a čistého β -karyofylenu v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)	46
Obrázek 43 a 44: Druhé měření enkapsulovaného a čistého β -myrcenu v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)	46
Obrázek 45 a 46: Druhé měření enkapsulovaného a čistého linalolu v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)	47
Obrázek 47 a 48: Druhé měření enkapsulovaného i čistého α -pinen v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)	47
Obrázek 49 a 50: Druhé měření enkapsulované i neenkapsulované silice Green Poison v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)	48
Obrázek 51 a 52: Druhé měření enkapsulované i neenkapsulované silice Forbidden Fruit v porovnání s kontrolou (autorka, 2021)	48
Obrázek 53 a 54: Kontaminace enkapsulované silice Forbidden Fruit v koncentraci 4 mg/ml při prvním a posledním měření	51

Seznam tabulek

Tabulka 1: Genotypy konopí a jejich charakteristika	34
Tabulka 2: Procenta nárůstu <i>E. floccosum</i> oproti velikosti Petriho misky při koncentraci 4 mg/ml	37
Tabulka 3: Procenta nárůstu <i>E. floccosum</i> oproti velikosti Petriho misky při koncentraci 8 mg/ml	44

Seznam grafů

Graf 1: Porovnání velikosti nárůstu enkapsulovaných a čistých forem silic konopí v koncentraci 4 mg/ml po 45 dnech se směrodatnou odchylkou	40
Graf 2: Porovnání velikosti nárůstu enkapsulovaných a čistých forem aktivních látek konopí v koncentraci 4 mg/ml po 45 dnech se směrodatnou odchylkou	41
Graf 3: Porovnání velikosti nárůstu enkapsulovaných a čistých forem aktivních látek konopí v koncentraci 8 mg/ml po 45 dnech se směrodatnou odchylkou	49
Graf 4: Porovnání velikosti nárůstu enkapsulovaných a čistých forem silic konopí v koncentraci 8 mg/ml po 45 dnech se směrodatnou odchylkou	49

11 Seznam použitých zkratek a symbolů

AD – atopický ekzém
AIT – allylthiokyanát
BMC – Úřad pro lékařské používání konopí
C5, C21 – počet atomů uhlíku v řetězci terpenických sloučenin
cAMP – cyklický adenosinmonofosfát
CBD – kanabidiol
CBG – kanabigerol
CBN – kanabinol
CNAD – cinnamaldehyd
CTAB – hexadecyltrimethyl-ammonium
ČR – Česká republika
E – enkapsulovaný
ECS – endokanabinoidní systém
FF – Forbidden Fruit
GG – Gorilla Glue
GP – Green Poison
CH – Critical Hog
Chocko – Chocolope
KTJ – kolonie tvořící jednotky (colony-forming unit)
MAPK – mitogenem aktivovaná proteinkináza
MCM – Mobil Composition of Matter
MIC – minimální inhibiční koncentrace
MOF – kovo-organické struktury
NLC – nanostrukturní lipidové nosiče
NNI – Národní nanotechnologická iniciativa
PCL – polykaprolaktová
PUFA – polyenové mastné kyseliny
ROS – reaktivní formy kyslíku
SDA – abouraud dextrose agar
SNL – pevné lipidové nanočástice
SÚKL – Státní ústav pro kontrolu léčiv
T – Tangie
TEOS – tetraethylorthosilikát
THC – tetrahydrokanabinol
THCV – tetrahydrokanabivarin
USA – Spojené státy americké
VB – Velká Británie