

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra rostlinné výroby



**Výběr chemotypů konopí vhodných pro léčebné  
použití s převládající účinnou látkou THC**

Selection of cannabis chemotypes suitable for therapeutic use  
with predominant active substance THC

**Diplomová práce**

**Vedoucí diplomové práce**

Ing. Adéla Fraňková, Ph.D.

**Konzultant diplomové práce**

Ing. Anežka Janatová

**Autor diplomové práce**

Lenka Michnová

© 2016 ČZU v Praze

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Výběr chemotypů konopí vhodných pro léčebné použití s převládající účinnou látkou THC“ vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury, která je uvedena v seznamu literatury na konci práce.

V Praze dne \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí diplomové práce Ing. Adéle Fraňkové, Ph.D. a konzultantce Ing. Anežce Janatové za jejich trpělivost, ochotu, podporu, věnovaný čas a rady, které mi poskytovaly při zpracování této práce. Dále všem kamarádům a všem mým blízkým, kteří mě celou dobu podporovali.

# Výběr chemotypů konopí vhodných pro léčebné použití s převládající účinnou látkou THC

## Souhrn

V posledních letech se stále více diskutuje o možném terapeutickém využití konopí. Ukazuje se, že jeho účinné látky (kanabinoidy tetrahydrokanabinol a kanabidiol) mají velký potenciál v medicíně a nemusí být zneužívány pouze jako rekreační droga. Katedra rostlinné výroby na FAPPZ byla první institucí v ČR, které bylo uděleno povolení k legálnímu pěstování konopí s vyšším obsahem THC než je 0,3 % pro výzkumné účely.

V první části literární rešerše byly shrnuty základní poznatky o konopí, jeho biologicky aktivních látkách a současné legislativě. V druhé části byl popsán endokanabinoidní systém a využití konopí v oblasti medicíny. Tato práce byla zaměřena na vyhodnocení obsahu THC a CBD v sedmi různých kultivarech konopí (Nurse Jackie, Conspiracy Kush, Jillybean, Jack Cleaner 2, Jack Skellington, Nordle a National Health Service). Rostliny konopí byly pěstovány ve stejných podmínkách ve třech pěstebních cyklech. Obsah účinných látek v sušeném a homogenizovaném květenství každé rostliny byl analyzován pomocí plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC-FID) dle metodiky OSN. Na základě analýz byly vybrány vhodné genotypy, které obsahem kanabinoidů odpovídají vyhlášce 236/2015 Sb. a potřebám pacientů.

Dle výsledků bylo zjištěno, že všech sedm analyzovaných odrůd je vhodných k léčebnému použití z hlediska obsahu THC a CBD. Nejvyšší průměrný obsah THC byl naměřen u odrůdy Jack Cleaner 2, naopak nejmenší obsah byl analyzován v odrůdě Nordle. Bylo prokázáno, že rozdíly v obsahu THC jsou spojeny spíše s genotypovou variací, než s kultivačními faktory. Cílem práce bylo také zjistit, která ze sedmi odrůd bude stabilní jak z hlediska obsahu THC a CBD, tak i ve výnosu. V tomto případě se nejlépe jevila odrůda Jack Cleaner 2 a Nurse Jackie. Z předběžných výsledků vyplývá, že právě tyto dvě odrůdy by mohly být využívány k léčebným účelům.

**Klíčová slova:** léčebné konopí, genotyp, THC, CBD.

# **Selection of cannabis chemotypes suitable for therapeutic use with predominant active substance THC**

## **Summary**

During recent years the possible medical application of cannabis has been discussed more and more. It turns out, that the active substances (cannabinoids cannabidiol and tetrahydrocannabinol) have a significant potential in medicine and do not have to be only misused as a recreational drug. The Department of Crop Production (Faculty of Agrobiolology, Food and Natural Resources) is the first institution with granted permission to legally cultivate cannabis, with higher THC content than 0,3 %, for research purposes.

The first part of literate review recapitulates the basic knowledge about the cannabis, its biologically active substances and current legislation. The second part describes the endocannabinoid system and utilization of cannabis in the field of medicine. This thesis aims to evaluate the THC and CBD content in seven different cannabis cultivar strains (Nurse Jackie, Conspiracy Kush, Jillybean, Jack Cleaner 2, Jack Skellington, Nordle and National Health Service). The cannabis plants were cultivated in three cultivation cycles. The content of active substances in dried and homogenised inflorescence was analysed by gas chromatography with flame ionization detection (GC-FID) according to UN methodology. Based on the analysis, the appropriate genotypes were chosen, which are in accordance of Regulation 236/2015 Sb. and needs of the patients.

According to results it was found, that all seven analysed cultivars are suitable for medical utilization regarding the content of THC and CBD. The highest average content of THC was measured by cultivar Jack Cleaner 2. On the other hand, the lowest THC content was established by cultivar Nordle. It was demonstrated, that the differences in THC content are connected rather to genotype variation than cultivation factors. The main goal of the thesis was to discover which of the seven cultivars will be stable regarding not only THC and CBD content, but also the crop yield. In those regards the research shows the cultivar Jack Cleaner 2 and Nurse Jackie as the most suitable. Preliminary results indicate that these two cultivar strains would be the most suitable for the therapeutic purposes.

**Key words:** medical cannabis, genotype, THC, CBD.

# Obsah

1	Úvod.....	8
2	Hypotéza a cíl práce.....	9
3	Literární přehled .....	10
3.1	Konopí ( <i>Cannabis sp.</i> ) .....	10
3.1.1	Popis rostliny .....	10
3.1.2	Historie konopí .....	12
3.1.3	Legislativa konopí pro léčebné účely .....	13
3.2	Biologicky aktivní látky .....	14
3.2.1	Kanabinoidy.....	15
3.2.1.1	Delta -9- tetrahydrokanabinol (THC) .....	15
3.2.1.2	Kanabidiol (CBD) .....	17
3.2.1.3	Kanabinol (CBN).....	18
3.2.1.4	Ostatní kanabinoidy.....	19
3.2.2	Terpeny .....	19
3.3	Léčebné účinky konopí .....	20
3.3.1	Endokanabinoidní systém .....	20
3.3.2	Současné využití konopí v oblasti medicíny.....	22
3.3.2.1	Zelený zákal (glaukom).....	22
3.3.2.2	Rakovina/AIDS .....	23
3.3.2.3	Alzheimerova choroba.....	24
3.3.2.4	Roztroušená skleróza.....	24
3.3.2.5	Parkinsonova nemoc.....	25
3.4	Genotypy konopí.....	25
4	Materiál a metody .....	27
4.1	Biologický materiál.....	27
4.2	Příprava rostlinného materiálu .....	27

4.2.1	Sušení.....	27
4.2.2	Homogenizace .....	28
4.3	Plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC/FID).....	28
4.3.1	Příprava kalibrační křivky .....	29
4.3.2	Příprava vzorků pro analýzu .....	30
5	Výsledky .....	31
6	Diskuze .....	36
7	Závěr .....	39
8	Seznam zkratk .....	40
9	Seznam použité literatury .....	42
10	Seznam příloh .....	50
11	Seznam grafů, obrázků a tabulek.....	51

# 1 Úvod

Konopí je jednou z nejstarších kulturních rostlin, která byla již v dávné minulosti používána k léčebným účelům. Pro svůj blahodárný vliv bylo konopí používáno již ve starověké Číně a dodnes je součástí ajurvédské medicíny. Vzhledem k psychoaktivní povaze hlavní účinné látky  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu (THC) a faktu, že konopí je nejčastěji používanou nelegální omamnou látkou nejen v Evropě, ale po celém světě, bylo konopí s vyšším obsahem této látky ve většině států světa dlouhou dobu kriminalizováno. Léčivé vlastnosti konopných produktů byly uznávány po tisíciletí, ale legální využití v medicíně zůstává stále kontroverzní, přestože o konopí (*Cannabis sativa* L.) a kanabinoidech bylo publikováno přibližně 15000 článků. Problematikou využití konopí v lékařství se zabývá celá řada světových institucí a uznávaných vědeckých pracovníků. V současné době je vyšlechtěno, popsáno a pojmenováno přes 700 různých kultivarů konopí. Mnohé z nich mají společné předky, avšak chemickým složením se značně liší a jejich biologická aktivita dosud nebyla prozkoumána. Z relevantních zdrojů jsou dostupné informace především o pěstování a výživě konopí, za účelem dosažení co nejvyšších výnosů kvalitního vlákna nebo semene, nikoliv však o konopí pěstovaném pro produkci květenství a účinných látek. Otázkou tedy stále zůstává, které z mnoha kultivarů, by měly být k dispozici pro používání v lékařství.

V České republice vstoupil v březnu 2013 v platnost zákon č. 50/2013 Sb. který umožňuje užívání konopí pro léčebné účely. První dodávku 11 kg konopí setého, s obsahem THC 19 % a CBD méně než 1 %, vypěstovala společnost Elkoplast Slušovice na základě veřejné zakázky. Léčebné konopí se tak dostalo v březnu 2016 do distribučního skladu. Další dodávka je očekávána na přelomu dubna a května. Konopí je považováno za efektivní podpůrnou léčbu u celé řady diagnóz. Množství vědeckých prací, které se v posledních letech objevilo, prokazuje, že konopí má jako lék v lékařství své oprávněné místo a nejenže odstraňuje symptomy, ale i léčí. Užívá se k léčbě roztroušené sklerózy, Parkinsonovy a Alzheimerovy choroby, nechutenství při léčbě rakoviny, AIDS a dalších onemocnění.



## 2 Hypotéza a cíl práce

Mezi sedmi vybranými genotypy konopí existují průkazné rozdíly v obsahu kanabinoidů. Z těchto sedmi genotypů lze vybrat alespoň jeden odpovídající vyhlášce 236/2015 Sb., který bude vhodný pro léčebné použití v ČR.

Hlavním cílem práce bylo z pěstovaných genotypů konopí (*Cannabis sativa* L.) vybrat ty, které budou obsahem  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu odpovídat vyhlášce 236/2015 Sb. a které budou zároveň obsahově stabilní.

## 3 Literární přehled

### 3.1 Konopí (*Cannabis sp.*)

Jako první v roce 1737 odborně popsal *Cannabis sativa* švédský botanik Carolus Linnaeus (Carl Linné), který rostlinu objevil v podhůří Himaláje v Indii. Věřil, že našel jediný druh tohoto rodu. O 48 let později v roce 1785 francouzský biolog Jean Baptiste de Lamarck ve východní části Indie objevil a popsal další druh *Cannabis indica*. Poslední dnes uznávaný druh našel v jihovýchodním Rusku v roce 1924 botanik Dmitrii E. Janischewsky a nazval ho *Cannabis ruderalis* (Miovský a kol., 2008). Druhy konopí jsou na obrázku č. 1.

#### 3.1.1 Popis rostliny

Konopí je jednoletá rostlina, která roste v každém podnebí, samozřejmě s výjimkou pouští a polárních oblastí. Jedná se o kvetoucí semennou rostlinu čeledi konopovitých (*Cannabaceae*). Kořenový systém se skládá z hlavního kořene s mnoha postranními kořínky, který dosahuje do hloubky až 40 cm. Struktura rostliny, která je stejná jako u kořenů, se skládá z jednoho hlavního stonku, ze kterého vyrůstají další větve. Tvary listů se mění spolu s tím, jak rostlina dozrává (Adams, 2012). Je to dvoudomá rostlina, samčí rostliny jsou zpravidla vyšší než samičí, štíhlejší a dříve dozrávají (Miovský a kol., 2008). Konopí je krátkodenní rostlina, kvetení lze tedy v laboratorních podmínkách indukovat fotoperiodou kratší než 12 hodin (Knight *et al.*, 2010).

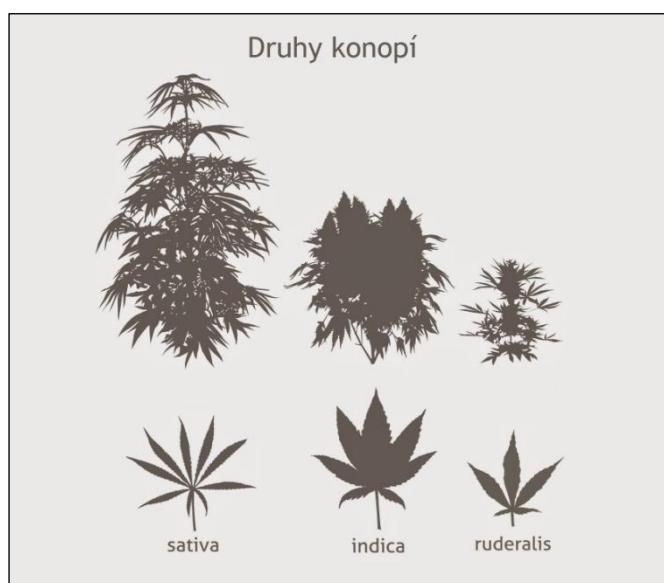
Konopí seté je nejrozšířenější odrůda konopí, která se vyskytuje hlavně v mírném klimatickém pásmu. Je to štíhlá rostlina a za příznivých podmínek dosahuje výšky až šesti metrů (Ruman, 2014). Rostliny konopí setého běžně obsahují 0,01 - 13 % THC (Miovský a kol., 2008; ElSohly *et al.*, 2000). Z této původní rostliny bylo vyšlechtěno několik dalších odrůd (Ruman, 2014), které mohou obsahovat i vyšší obsah  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu (Miovský a kol., 2008). Záleží zde na podmínkách pěstování. Pokud je rostlina pěstována ve stabilních podmínkách, například pod umělým osvětlením (Ruman, 2014), její obsah THC může dosahovat až 33,12 % (ElSohly *et al.*, 2000).

Konopí seté, které obsahuje méně než 0,3 % THC, je označováno jako technické konopí (Tošovská, 2006). Technické konopí obsahuje poměrně vysoké koncentrace biologicky aktivního CBD a může být proto používáno pro léčebné účely. Legálně pěstované technické

konopí v EU zahrnuje kultivary *Cannabis sativa* s maximální hladinou THC 0,2 % (Pellegrini *et al.*, 2005; Pinarkara *et al.*, 2009), v ČR je hranice THC posunuta na 0,3 % (Miovský a kol., 2008). Kultivary schválené pro oficiální medicínské projekty patří téměř bez výjimek ke kategorii konopí pro léčebné a rekreační účely, kdy hladina THC je vyšší než 0,2 % (Hazekamp *et Fischeidick*, 2012).

Konopí indické (*Cannabis indica*) se vyskytuje hlavně v tropických a subtropických oblastech. Nejčastěji se pěstuje v Asii a Africe, kde se používá na výrobu hašiše. Dorůstá do výšky až dvou metrů a obsah aktivní látky THC může dosahovat stejné hodnoty jako u konopí setého (Elsohly, 2007). *Cannabis indica* je velmi ceněná u pěstitelů, v podmínkách pod umělým osvětlením, zejména pro své vlastnosti: silného kořenového systému, hustého rozvětvení, menšího vzrůstu, tlustého stonku a širokých listů (Cervantes, 2006).

Konopí rumištní (*Cannabis ruderalis*) – jedná se o rostlinu, vyskytující se převážně v sibiřské oblasti. Vzrůstem je nízká a málo větvená, dorůstá do výšky 0,5 - 1 metru (Elsohly, 2007). Obsah účinných látek THC a CBD bývá v této rostlině zanedbatelný (Ruman, 2014).



**Obrázek č. 1:** Druhy konopí

### 3.1.2 Historie konopí

Konopí je jednou z nejstarších kulturních rostlin. Existují mnoho tisíc let staré důkazy jeho pěstování jako suroviny pro výrobu tkanin, provazů, textilu, papíru a olejů. Znamé jsou i důkazy jeho používání jako psychotropní látky. Konopí je často zmiňováno v tradiční a alternativní medicíně jako léčivá rostlina (Booth, 2004). Původ rostliny lze najít ve střední Asii na západních svazích Himaláje, kde bohatě zaplevelovalo tamější úrodné plochy pravděpodobně již v mladší době kamenné (Russo *et al.*, 2008). Nejstarší nálezy o užívání konopí člověkem nejspíše dokládají vykopávky z prehistorického naleziště odkrytého na ostrově Tajvan. Tyto nálezy jsou odborníky datovány mezi desáté a třetí tisíciletí před našim letopočtem a jedná se o úlomky hrubé písčité keramiky, jejíž povrch byl ozdoben pomocí obtisku konopného provazu (Robinson, 2004).

První zmínky o léčivém užívání konopí pochází z období 2700 let př. n. l., které byly následně zaznamenány v lékopisu Pen-Tsao Ching, císaře Shen-Nunga, otce tradiční čínské medicíny, kde je rostlina popisována jako rostlinný lék (Martin, 2012). Shen–Nung podle dochované knihy doporučoval v Číně pěstovat pouze samičí rostliny konopí, které podle něj mají mnohem větší potenciál k léčebnému využití (Miovský a kol., 2008). Konopí bylo indikováno při malárii, dně, ženských onemocněních, „duševní nepřítomnosti“, nebo při revmaticky podmíněných bolestech (Grotenhermen, 2009). Výtažek z rostlin Shen-Nung předepisoval i na choroby závažnějšího charakteru. Jeho následovníci pak pokračovali v aplikaci konopné tinktury, kterou využívali k anestezii spolu s dalšími látkami při vážných operacích (Nahas *et al.*, 1999). Další záznamy o nejstarším medicínském použití konopí pochází z Číny, Indie, Persie, Egypta a Tibetu (Fišar, 2009). Asyřané, kteří před 3000 lety vládli na Středním Východě téměř tisíciletí, zanechali své farmaceutické vědomosti na stovkách hliněných tabulek, které také popisují medicínské využití konopí. Právě konopí bylo v jejich lékopisu jedním z hlavních léků (Miovský a kol., 2008).

V 19. století přestaly být rostlinné drogy spojovány pouze s magií a rituály (Dupal, 2010). Konopí se oficiálně stalo součástí desítek medikamentů, dostupných nejen na lékařský předpis. K tomuto kroku vedlo zjištění lékařů a farmaceutů, že konopí a jeho deriváty jsou v různé míře účinné u řady onemocnění. Koncem 19. století se v Evropě i USA vědělo mnoho o možnostech léčebného využití konopí (Zias *et al.*, 1993). Konopí bylo označeno za lék a předepisováno na onemocnění jako jsou neuralgie, lepra, angíny, vzteklna, cholera, úplavice, závislost na opiátech, alkoholismus, tetanus, dna, křečová onemocnění, tyfus a jiné (Conrad, 2001).

### 3.1.3 Legislativa konopí pro léčebné účely

V České republice vstoupil v březnu 2013 v platnost zákon č. 50/2013 Sb. (dále jen zákon), který umožňuje užívání konopí pro léčebné účely. V červenci 2013 byl doplněn vyhláškou č. 221/2013 Sb., která byla 4. září 2015 novelizována vyhláškou č. 236/2015 Sb. (dále jen vyhláška). Ve vyhlášce jsou stanoveny podmínky pro předepisování, přípravu, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití. Právní úprava v současnosti umožňuje pěstování konopí pro léčebné použití na základě licence udělené Státním ústavem pro kontrolu léčiv (SÚKL). Jeho distribuci k pacientům zajišťuje Státní agentura pro konopí pro léčebné použití (SAKL). Indikace, na které je možné konopí předepisovat, jsou: chronická neutišitelná bolest, zejména v souvislosti s onkologickým onemocněním, degenerativním onemocněním pohybového aparátu, imunopatologickými stavy, neuropatickými stavy a na bolest při glaukomu. Dále jsou to: spasticita a s ní spojená bolest u roztroušené sklerózy nebo při poranění míchy, nauzea, zvracení nebo stimulace apetitu v souvislosti s léčbou onkologických onemocnění a onemocnění HIV, neurologický třes způsobený Parkinsonovou chorobou, při povrchové léčbě dermatóz a slizničních lézí a při léčbě Gilles de la Tourette syndromu (Vyhláška č. 236/2015 Sb.).

Na žádost České zemědělské univerzity bylo Ministerstvem zdravotnictví dne 17. září 2014 uděleno povolení k zacházení s omamnou látkou „konopí“, ve kterém je vymezeno pěstování pro výzkumné účely. ČZU tedy nemusela podstupovat výběrové řízení o udělení licence na pěstování „konopí pro léčebné použití“. Zákon a vyhláška stanovují, jak mají být hygienicky a bezpečnostně zajištěny prostory pro pěstování léčebného konopí a jeho kvalitativní parametry. Dále byly vyhláškou stanoveny dva druhy konopí pro léčebné použití (*Cannabis sativa* a *Cannabis indica*) s obsahem kanabinoidů THC 0,3 - 21 % a CBD 0,1 - 19 %.

Vyhláška také určuje specializovanou způsobilost lékařů a indikace pacientů, na které by mělo být léčebné konopí předepisováno. Dle vyhlášky mohou lékaři předepisovat 180 g usušeného konopí měsíčně, pacientům starších 18 let. Léčivý přípravek s obsahem konopí pro léčebné použití může být vydán jen v případě, že je předepsán na platný elektronický recept (Vyhláška č. 236/2015 Sb.) Přesné znění vyhlášky je uvedeno v Příloze č. 2.

V EU dosud není registrována odrůda, která by svým složením odpovídala vyhlášce, ani nebyl optimalizován způsob pěstování léčebného konopí. Technologie pěstování a zpracování

léčebného konopí jsou však výhradně v duševním vlastnictví nelegálních pěstitelů, neboť předcházející legislativa neumožňovala legální pěstování léčebného konopí v ČR.

### 3.2 Biologicky aktivní látky

V roce 1914 byl patentován proces pro extrakci farmakologicky účinných látek z konopí a následoval vývoj nových metod jejich izolace. V první polovině 20. století byla nejprve provedena úspěšná izolace a určení chemické struktury kanabinolu (slabě psychoaktivní složka) a později kanabidiolu (nep psychoaktivní složka s jinými farmakologickými účinky). Syntézou a testováním různých derivátů těchto sloučenin bylo potvrzeno, že za psychotropní aktivitu konopné pryskyřice jsou odpovědny především tetrahydrokanabinoly a byly čineny pokusy o jejich izolaci. Teprve v 60. letech však bylo prokázáno, že hlavní psychoaktivní složkou v pryskyřici z konopí je THC (Fišar, 2006).

Konopí je rostlinou bohatou na obsah biologicky aktivních látek, vznikajících a ukládajících se v různých částech rostlin (v listech, stoncích, květech, oddencích, kořenech, plodech i v semenech). Konopí obsahuje několik desítek fyziologicky aktivních látek, které způsobují, že tato rostlina účinně pomáhá v případě některých běžných, ale i vážných onemocnění (Dupal, 2010). V roce 1980 bylo v konopí setém identifikováno 423 různých chemických sloučenin (Turner *et al.*, 1980), o patnáct let později se počet zvýšil na 483 (Ross *et ElSohly*, 1995) a od roku 2005 se mluví o 489 sloučeninách vyskytujících se v konopí a stále jsou objevovány další. Z primárních metabolitů jsou to sacharidy, aminokyseliny, mastné kyseliny, a nukleové kyseliny (ElSohly *et Slade*, 2005). Mezi sekundární metabolity produkované konopím se řadí kanabinoidy, flavonoidy, alkaloidy, stilbenoidy, lignany, terpeny a další (Flores-Sanchez, 2008). Nejdůležitějšími látkami z rostliny konopí, využívaných ve farmakologickém odvětví a medicíně jsou látky THC a CBD, které patří do skupiny kanabinoidů (Harvey, 1990). Tyto dvě látky jsou v rostlinách přítomny ve formě karboxylových kyselin (THCA, CBDA), které nejsou příliš aktivní (Hazekamp *et al.*, 2005). Prekurzorem fytokanabinoidů THC a CBD je kyselina kanabigerolová (CBGA) (Taura *et al.*, 2009), ze které jsou syntetizovány karboxylové kyseliny THCA a CBDA. Jejich následnou dekarboxylací vzniká THC a CBD (Mechoulam *et Ben-Shabat*, 1999).

### 3.2.1 Kanabinoidy

Kanabinoidy tvoří nejvýznamnější skupinu biologicky účinných látek v konopí. Doposud bylo izolováno a popsáno několik desítek kanabinoidů. Protože jsou dnes mezi kanabinoidy řazeny i synteticky připravené látky, nověji jsou kanabinoidy izolované z konopí označovány jako fyto-kanabinoidy. V konopí je přibližně 66 různých fyto-kanabinoidů. Chemicky patří mezi isoprenoidy a lze je zjednodušeně charakterizovat jako fenolické terpeny (Downer *et* Cambell, 2010).

Kanabinoidy, které byly nalezeny pouze v rostlinách konopí, představují skupinu sekundárních rostlinných metabolitů s typickou strukturou. Jejich biosyntéza je enzymaticky kontrolována, což způsobuje jako u jiných biologicky aktivních rostlinných metabolitů tvorbu stereogenních center a specifických strukturních znaků, které jsou významné z pohledu biologické aktivity (Flores-Sanchez, 2008).

Nejprve byla v první polovině dvacátého století provedena izolace a určení chemické struktury kanabinolu a kanabidiolu (McPortland *et* Glass, 2007). Poté bylo zjištěno, že za psychotropní vlastnosti konopí jsou odpovědné především tetrahydrokanabinoly, které aktivují kanabinoidní receptory v mozku (Devane *et al.*, 1988). Existují tři základní typy kanabinoidů: rostlinné kanabinoidy (fyto-kanabinoidy), endogenní kanabinoidy (endokanabinoidy) a syntetické kanabinoidy (Fišar, 2008).

Farmakologické účinky kanabinoidů jsou z velké části realizovány prostřednictvím kanabinoidních receptorů, které jsou součástí endokanabinoidního systému (viz kapitola 3.3.1) (Guindon *et* Hohmann, 2009). Přesto, že léčebný potenciál kanabinoidů je zkoumán teprve od začátku devadesátých let, v humánní terapii byla prokázána řada jejich pozitivních účinků (Mechoulam *et* Ben-Shabat, 1999).

Nejčastěji jsou využívány jako antiemetika u pacientů podstupujících chemoterapii a jako simulanty chuti k jídlu u pacientů s AIDS. K dalším možným indikacím patří glaukom, Parkinsonova choroba, roztroušená skleróza, Tourettův syndrom, zvládnutí křečových a bolestivých stavů. Diskutabilní je antiastmatické, neuroprotektivní a antioxidační působení, efekt na migrénu a epilepsii (Jahodář a kol., 2003).

#### 3.2.1.1 Delta -9- tetrahydrokanabinol (THC)

V roce 1964 vyšla práce Františka Šantavého, zaslaná k publikaci v roce 1963, ve které nejen určil správnou polohu dvojné vazby v terpenickém cyklu kanabidiolu, kyseliny

kanabidiolové a tetrahydrokanabinolu, ale určil správně také jejich absolutní konfiguraci. V témže roce publikoval Yehiel Gaoni a Raphael Mechoulam práci, podanou k tisku v únoru téhož roku, ve které se jim podařilo správně určit polohu dvojně vazby v terpenickém cyklu. Až o tři roky později potvrdili tutéž absolutní konfiguraci tetrahydrokanabinolu, kterou určil Šantavý.

Když už byla známá psychoaktivní látka z konopí, kladli si vědci otázku, jakým způsobem tato látka působí na lidský organismus a proč je vlastně konopí léčivé. Až v roce 1988 William Devane objevil v mozku krys kanabinoidní receptory, na které se THC váže (Hanus, 2012).

THC je hlavní biologicky účinnou a psychoaktivní látkou v konopí. Přibližně 75 - 100 % psychoaktivních účinků pochází z této látky. Nachází se ve všech odrůdách a kultivarech konopí. THC v usušené směsi, kterou tvoří samičí květy a okvětní lístky může tvořit od stopového množství až do 95 % ze všech přítomných kanabinoidů. Nejnižší obsah THC má stonek konopí a jeho kořen (Miovský a kol., 2008). Za dostatečně psychoaktivně účinnou je považovaná rostlina, která obsahuje minimálně 1 % THC (ElSohly, 2007). Z hlediska farmakologického účinku konopí se pod THC zahrnuje i propylderivát THC a delta-8-tetrahydrokanabinol (Appendino *et al.*, 2008). Strukturální vzorec THC je uveden na obrázku č. 2.

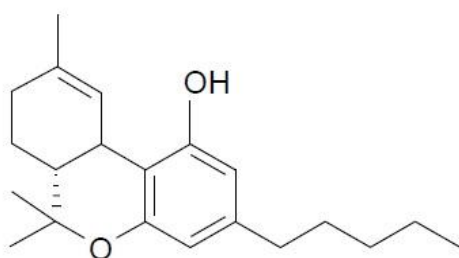
Aby konopí působilo psychoaktivně, musí se THC dostat do krevního oběhu a touto cestou i do mozku. Ve chvíli, kdy se složka THC dostane do krevního řečiště, metabolismus člověka ji přemění na sloučeninu 11-hydroxy-tetrahydrokanabinol (11-OH-THC), která se naváže na tukovou tkáň. Asi po půl hodině se uvolní zpátky do krevního oběhu a dostává se do mozku (Stafford, 1997).

Díky zvýšenému zájmu o THC byly do prodeje uvedeny jeho syntetické analogy Marinol (legalizován v USA) a Cesamet (legalizován v UK). Marinol je syntetická forma sloučeniny dronabinol (mezinárodní nechráněný název pro THC) a prodává se rozpuštěný v sezamovém oleji ve formě kapslí. Účinnou látkou Cesametu je nabilon (syntetický analog THC) (Beal *et al.*, 1995; Meiri *et al.*, 2007; Hanus, 2009). Oba uvedené přípravky se využívají pro zvýšení chuti k jídlu a potlačování zvracení zejména u pacientů s rakovinou léčených cytostatiky a nereagujících na léčbu jinými léčivými (Miovský a kol., 2008). Dále také snižují svalovou slabost spojenou s roztroušenou sklerózou, ataxii, spasticitu, mírní bolesti a působí příznivě na bronchodilataci u astmatiků (Varvel *et al.*, 2005; Pertwee, 1997). Dalším novým přípravkem je Sativex obsahující směs kanabidiolu a THC, jež je určen k podávání ústním



sprejem u roztroušené sklerózy nebo k potlačení neuropatických bolestí (Miovský a kol., 2008).

V 90. letech minulého století se Mahmoudovi a ElSohlymu podařilo vyvinout rektální čípek obsahující metabolity THC, které se po vstřebání sliznicí a vstupu do krve přeměňují zpět na THC. Díky tomu se aktivní látky vyhnou prvotnímu průchodu ledvinami, v krevním řečišti zůstává větší množství THC a zároveň průběh intoxikace je méně intenzivní. Tento způsob aplikace byl vyvinut zejména pro léčbu nevolnosti a dalších nežádoucích účinků chemoterapie, a také dopadů nemoci AIDS. Účinky se dostavují během 15 minut a mohou trvat až 8 hodin (Miovský a kol., 2008).



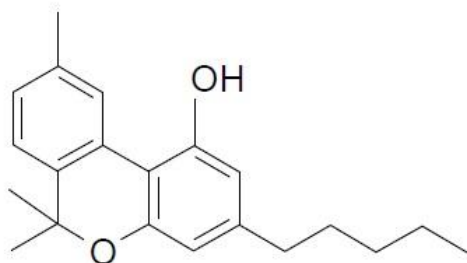
**Obrázek č. 2:** Strukturní vzorec THC (Fišar, 2006)

### 3.2.1.2 Kanabidiol (CBD)

Kanabidiol (CBD) byl poprvé izolován v roce 1940 (ElSohly *et* Slade, 2005). Je to látka, která se vyskytuje u každé odrůdy konopí v různém množství, od velmi nízkých hodnot až po 95 % přítomných kanabinoidů. Na rozdíl od THC nevykazuje psychoaktivní účinky. Výzkumy posledních let prokázaly jeho sedativní, analgetické, protizánětlivé, antischizofrénní a antiepileptické vlastnosti (ElSohly, 2007). CBD má tlumivé účinky a působí proti povzbudivým efektům THC. Posouvá tak počátek působení konopí a může až dvakrát prodloužit jeho účinek, čímž by bylo možné vysvětlit rozdílné průběhy intoxikací u různých konopných preparátů. Při vysokém obsahu CBD a nízkém obsahu THC by převažoval pocit a útlum bolesti až otupělosti mysli a těla. Rychlý a intenzivní nástup psychoaktivních účinků by nastal při opačném poměru těchto dvou kanabinoidů (Bhattacharyya *et al.*, 2010). Strukturní vzorec CBD je uveden na Obrázku č. 3.

Někteří šlechtitelé se přizpůsobili faktu, že odrůdy konopí s vysokým obsahem CBD jsou využívány především v léčebné oblasti, a začali produkovat odrůdy s vysokým obsahem CBD pro zákazníky, kteří pěstují konopí právě pro léčebné účely (Blakey *et* Marks, 2014). Ačkoliv

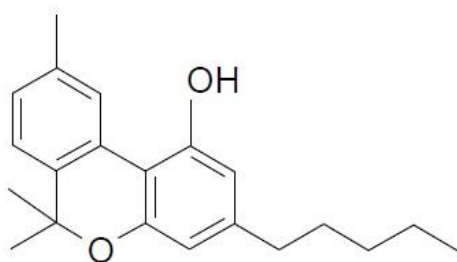
CBD psychoaktivní účinky THC redukuje, vědci zaměřili pozornost také na možnost využití CBD k pomoci při různých psychických onemocněních. V Brazílii také proběhly pokusy na zvířatech, které demonstrovaly možné antipsychotické schopnosti sloučenin, použitelné pro vývoj potenciálních antipsychotických léků. To zvýšilo zájem o podobné výzkumy u lidí (Conrad, 2001).



**Obrázek č. 3:** Strukturální vzorec CBD (Fišar, 2006)

### 3.2.1.3 Kanabinol (CBN)

Kanabinol (CBN) byla první kanabinoidní látka, která byla izolována v roce 1899 T. B. Woodem a jeho kolektivem. Její chemická struktura však byla určena až v roce 1940 dvěma na sobě nezávislými vědeckými týmy A. R. Todda a R. Adamse (Mechoulam *et al.*, 1999). CBN (Obrázek č. 4) je oxidačním produktem THC. Čerstvé vzorky konopí ho obsahují jen stopové množství, ale špatné skladování či nekvalitní výroba hašiše může způsobit oxidaci THC na CBN a droga tak ztrácí na kvalitě (De Backer *et al.*, 2009). Čisté formy CBN vykazují maximálně 10 % psychoaktivní účinnosti THC (Reggio *et al.*, 1990). Přítomnost CBN v konopných drogách pravděpodobně souvisí s účinky na ztrátu orientace, vyvolává pocity ospalosti, únavy a závratě (Hiltunen *et al.*, 1989).



**Obrázek č. 4:** Strukturální vzorec CBN (Fišar, 2006)

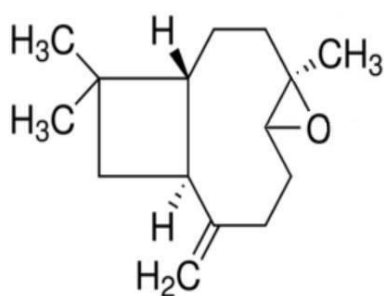
### 3.2.1.4 Ostatní kanabinoidy

Mezi dalšími důležitými izolovanými kanabinoidními látkami byl potenciálně léčebně hodnotný kanabigerol (CBG), kanabichromen (CBC) a tetrahydrokanabivarin (THCV) (Miovský a kol., 2008). Tyto látky nevytváří rostlina jako taková, ale vznikají při rozkladu nebo odbourávání THC a ostatních kanabinoidů (Booth, 2004).

### 3.2.2 Terpeny

Kromě kanabinoidů mají v konopí farmakologické účinky také terpeny, které jsou definovány jako přírodní sloučeniny převážně rostlinného původu. Terpeny obsažené v konopí tvoří základní součást rostlinných silic a pryskyřic, přispívají k chuti, vůni a barvě rostlin (Grotenhermen *et* Russo, 2002). V silicích konopí bylo identifikováno celkem 200 různých terpenů, které patří zejména do skupin monoterpenů a seskviterpenů. Terpeny jsou stejně jako kanabinoidy produkovány ve žláznatých trichomech samičích květenství (Fischedick *et al.*, 2010). V kombinaci s kanabinoidy vytvářejí tzv. synergický účinek, což znamená, že jejich vzájemné působení má výraznější léčebné účinky než při léčbě jednotlivými látkami. Obsah terpenů v rostlině se mění v závislosti na zralosti samičích květenství (Mediavilla *et* Steinemann, 1997).

Mezi významné monoterpeny patří limonen, který je zodpovědný za citrusovou chuť a vůni. Rychle prochází přes membrány a pomáhá průchodu ostatních terpenů. Výsledkem může být snížení krevního tlaku. Působí jako antidepresivum a má antibakteriální, protirakovinný a antikarcinogenní účinky (Brown, 2015). Dalším hojně zastoupeným monoterpenem v konopí je myrcen, který je zodpovědný za sedativní efekt silných odrůd indického konopí. Jedná se o stavební prvek mentolu, citronely a geraniolu. Tento terpen působí jako svalový relaxant, antidepresivum a má protizánětlivé, analgetické a protirakovinné účinky. Myrcen ovlivňuje propustnost buněčných membrán a tak se více THC dostává do mozkových buněk (Rosenthal, 2011). Kromě monoterpenů jsou aromatické také ostatní terpeny; např. seskviterpen karyofylen oxid (Obrázek č. 5) je používán jako signální molekula pro trénování psů pro vyhledávání drog (Turner *et al.*, 1980).



**Obrázek č. 5:** Strukturální vzorec karyofylen oxidu

### 3.3 Léčebné účinky konopí

Výzkum léčebných účinků konopí se začal rozvíjet v 90. letech minulého století (Matsuda *et al.*, 1990). Farmakologický výzkum syntetických nebo přirozených kanabinoidů (látek ovlivňujících kanabinoidní systém v organismu) je velmi intenzivní a doufá se, že přinese nové léčebné možnosti. V klinické praxi jsou však zatím kanabinoidy používány jako standardní léčiva jen omezeně. Počet kontrolovaných studií léčebného využití konopí je malý, přitom jde o studie krátkodobé. Jejich výsledky svědčí o tom, že konopí mírní neuropatickou bolest, zvyšuje chuť k jídlu a může snižovat spasticitu a bolest u pacientů s roztroušenou sklerózou. V některých částech světa se legalizuje konopí k lékařským účelům za určitých podmínek. Tato otázka je však nadále považována za spornou. Budoucnost léčebného využití kanabinoidů záleží na syntéze farmak cíleně ovlivňujících endokanabinoidní systém a na rychle se rozvíjejícím výzkumu fytokanabinoidů. Podmínkou ovšem je, aby budoucí kanabinoidy v něčem předčily jiná léčiva (Kršiak, 2012).

#### 3.3.1 Endokanabinoidní systém

Endokanabinoidní systém v lidském těle se skládá z kanabinoidních receptorů, jejich endogenních ligandů endokanabinoidů a proteinů zodpovědných za jejich biosyntézu a degradaci (Matsuda *et al.*, 1990). Endokanabinoidní systém (ES) byl objeven v roce 1988, spolu s kanabinoidním receptorem CB1. Tento receptor byl objeven nejprve v centrální nervové soustavě (CNS), ale pozdějšími výzkumy bylo zjištěno, že je přítomen v podstatě ve všech částech lidského těla. Heterogenní rozmístění CB1 receptorů je pak zodpovědné za účinky pouze v místech lokalizace (Mechoulam *et Hanuš*, 2000). Receptory CB1 jsou velmi

rozšířené v některých oblastech mozku (především v hipokampu, bazálních gangliích, mozkové kůře a mozečku), jež jsou zodpovědné za smyslové vnímání, paměť, emoční homeostázu, vnímání bolesti, pohyb, posturální kontrolu, a další funkce mozku (Marco *et al.*, 2009). V roce 1993 byl objeven druhý typ receptoru CB2 (Benito *et al.*, 2003) na imunitních buňkách a posléze také v CNS. Kanabinoidní receptory CB1 a CB2 patří ke skupině receptorů spřažených s G-proteinem (Devane *et al.*, 1988), jejichž sekundární strukturou je sedm transmembránových alfa-helixů. Navázání ligandu (agonisty) způsobí významné konformační změny cytosolové domény a vyvolá následnou reakci. Kanabinoidními receptory v CNS je zprostředkována většina účinků kanabinoidů (Howlett *et al.*, 2004).

Přirození agonisté receptorů CB1 a CB2, které si živočišná tkáň sama syntetizuje, se nazývají endokanabinoidy (Hanus, 2009; Partwee *et al.*, 2010). Endogenní kanabinoidy jsou lipofilní signální molekuly, které splňují kritéria pro zařazení mezi neurotransmitery a které jsou uvolňovány z membránových fosfolipidů aktivovanými lipasami v odezvě na depolarizaci membrány a zvýšení nitrobuněčné koncentrace kalcia (Fišar, 2009). Nejznámějším endokanabinoidem je anandamid (N-arachidonoylethanolamid, AEA), který byl objeven v roce 1992 na Hebrejské univerzitě v Jeruzalémě profesorem Lumírem Ondřejem Hanušem a jeho kolegou Anthony Devanem (Devane *et al.*, 1992). Tento název je odvozen od sanskrtského slova pro vnitřní štěstí ananda. Tato látka byla izolována z mozku prasete (Miovský a kol., 2008). AEA se váže na stejné vazebné místo kanabinoidních receptorů jako THC (kompetitivní vazba) a vykazuje řadu farmakologických a psychických účinků (Solinas *et al.*, 2007). Dalším nejrozšířenějším endokanabinoidem je 2-arachidonoylglycerol (2-AG), ale byla identifikována řada dalších molekul, které jsou označovány jako endokanabinoidy. AEA, 2-AG a řada dalších endogenních kanabinoidů je odvozena od kyseliny arachidonové, která je jednou z významných nenasycených mastných kyselin vázaných v membránových fosfolipidech (Fišar, 2006).

Neurobiologickým mechanismem účinku THC je jeho vazba na kanabinoidní receptory v mozku. Tyto receptory se za normálních okolností vážou na endogenní látky anandamidy, které jsou tělu vlastní a způsobují uvolnění a euforii. Vnější přívod THC vytěsňuje anandamidy z vazby na kanabinoidní receptory a při dlouhodobém užívání vede k útlumu jejich produkce (Kalina a kol., 2003).

Role CBD v endokanabinoidním systému je interakce s transportérem pro anandamid a interakce s amidohydrolázou mastných kyselin (FAAH), jež se podílí na zpětném vychytávání a odbourávání endogenních kanabinoidů (Thomas *et al.*, 2007).

### 3.3.2 Současné využití konopí v oblasti medicíny

Lékařský výzkum stále více ukazuje, že konopí má celou řadu možných lékařských využití (Zimmerová, 2003). Konopí bylo lidstvem od pradávna ceněno pro svoje antibakteriální, analgetické a antibiotické účinky. Do 20. století byly veškeré konopné preparáty z konopí volně dostupné ve všech evropských i amerických lékárnách. V roce 1941 bylo vyškrtáno ze seznamu farmakologických prostředků přibližně 300 přípravků z konopí, od té doby bylo konopí v západním světě považováno za zastaralé. O léčivých účincích konopí bylo vypracováno nespočet seriózních studií a jeho využívání ve farmacii se v některých státech postupně začíná obnovovat. Přípravky z konopí je možné používat při léčbě či zmírnění příznaků nemocí jako jsou: rakovina, AIDS, zelený zákal, roztroušená skleróza, epilepsie, Parkinsonova nemoc, Alzheimerova choroba, alergické astma a různé projevy bolesti (Rätsch, 2012).

Moderní „bylinkáři“ zjistili, že léčivá hodnota rostliny spočívá v interakci více obsažených látek. Zahrnuje nejen hlavní účinnou látku, ale spolu s ní také různé minerály, těkavé a esenciální oleje, vitaminy, glykosidy, alkaloidy a další známé i neznámé substance. Rostliny působí v různých formách, ať už je to přímo čerstvá bylina nebo tablety, extrakty, kapsle, pastilky, masti, čípky, obklady, sirupy, čaje, infuze či tinktury. Rostlinu konopí můžeme navíc také kouřit nebo použít při přípravě pokrmů (Conrad, 2001). Dosud největší studie svého druhu studovala 953 pacientů z celého světa a uvádí pět hlavních symptomů, při nichž je konopí předepisováno: nespavost nebo spánkové poruchy (5,1 % dotazovaných), deprese (5,2 %), ztráta chuti k jídlu (nechutenství) nebo úbytek váhy (10,7 %), úzkost (18,3 %) a chronická bolest (29,2 %). V několika dalších studiích byly popsány, jako hlavní důvod užívání konopí pro léčebné účely, stejné příznaky (zejména chronická bolest) (Hazeckamp *et* Heerdink, 2013).

Následně jsou popsány některé jednotlivé formy onemocnění, u nichž konopí pomáhá ke zlepšení zdravotního stavu a kde tradiční léky často selhávají.

#### 3.3.2.1 Zelený zákal (glaukom)

Zelený oční zákal je nemoc, při které dochází k nedostatečnému odtoku oční tekutiny. Tím se v oku zvyšuje tlak, který může poškodit oční bulbus, a dokonce způsobit slepotu (Robinson, 1998). Působením konopných látek se snižuje nitrooční tlak a tím zmírňuje bolest

a zpomaluje, někdy i zcela zastavuje vývoj nemoci (Kubánek, 2009). Na rozdíl od běžných způsobů léčby glaukomu léčebné konopí nepoškozuje játra a ledviny (Robinson, 1998).

Schopnosti konopí snižovat nitrooční tlak byly úspěšně prokázány na laboratorních zvířatech. Konopí prokázalo stejné, někdy i lepší účinky, než průmyslově vyráběné léky, navíc s malými nebo žádnými vedlejšími účinky. V posledních letech se podařilo úspěšně vyrobit extrakt THC a dalších derivátů používaný jako oční kapky, ovšem konopí má schopnost působit na glaukomický proces i při jiných způsobech užívání, nepřímo (Conrad, 2001). V 70. letech byl proveden průzkum, který prokázal snížení nitroočního tlaku o 25 % po 30 minutách (Robinson, 2008).

### **3.3.2.2 Rakovina/AIDS**

Oblastí, která představuje pro využití konopí velmi vhodné působiště, je léčba rakoviny. Léčba zhoubných nádorů je pro jedince často velmi náročná, především léčba pomocí chemoterapie, která má mnoho vedlejších účinků. Těmi může být ztráta vlasů, nejčastěji je to však zvracení a nevolnost, která způsobuje u nemocných také nechutenství. Mnohým se zdá chemoterapie horší než samotná nemoc a léčbu přeruší (Grinspoon *et* Bakalar, 1996). Někteří nemocní proto volí alternativní způsob zmírnění vedlejších účinků pomocí konopí. Zastánci kouření konopí pro úlevu od nevolnosti a zvracení uvádějí, že inhalované spalné zplodiny konopí mají několik výhod. Zdůrazňován je rychlý nástup účinku, nižší pravděpodobnost předávkování či nástupu nežádoucího obluženého vědomí, snazší možnost si titrovat dávku proti příznakům omámení (Mioviský a kol., 2008).

Kanabinoidní látky (především THC pod názvem Marinol či Cesamet) z konopí a jejich deriváty (dronabinol a nabilon) se v současné době užívají u pacientů s rakovinou pouze k paliativní léčbě zvracení a dávení jakožto následků chemoterapie. K tomu přistupují v této léčbě jejich účinky, které zvyšují chuť k jídlu a odstraňují bolest (Hanuš, 2011). Grinspoon a Bakalar (1996) ale uvádějí, že vdechované konopí má v mnoha případech přednost. Při orálním požití se dostává syntetické THC do krevního oběhu nerovnoměrně, pacienti se silnou nauseou a stálým zvracením nejsou schopni kapsli udržet v žaludku, a navíc dochází k nástupu účinků až po delší době.

Stejně účinky jako u nemocných rakovinou má konopí u tisíců pacientů se syndromem získaného selhání imunity (AIDS) a virem lidské imunodeficiency (HIV). Tělo reaguje na invazi viru HIV podobně jako na tumor, spaleninou nebo operaci. Potřebuje zvláštní hodnotnou výživu, a pokud se mu jí nedostane zvenčí, začne čerpat bílkoviny uložené ve svalech. Proto

jsou nemocní nabádáni k tomu, aby hodně jedli a zabránili tím co nejvíce ztrátám na váze, které provázejí 98 % případů napadení virem HIV. Mnoho lidí s AIDS potvrdilo, že se jim po kouření konopí zvýšila chuť k jídlu, stejně jako je tomu v případě pacientů prodávajících chemoterapie rakoviny (Conrad, 2001).

### **3.3.2.3 Alzheimerova choroba**

Alzheimerova choroba je neurodegenerativním a progresivním onemocněním mozku, při kterém dochází k postupné demenci. V současné době není známa příčina vzniku této choroby, z neuropatologických nálezů se však ví, jak nemoc probíhá. Změny postupně působí rozpad nervových vláken a nervových buněk. Dalšími symptomy Alzheimerovy choroby zahrnují agresivní chování, deprese, ztráta chuti k jídlu a někdy i problémy s chůzí. K popisování symptomů tohoto onemocnění se někdy také používá slova demence, protože biopsie mozku pacientů s Alzheimerovou chorobou prokázaly přítomnost četných patologických proteinů, které se ukládají jako vlákna nebo v okolí nervových buněk v podobě amyloidových plaků. Způsobují poškození a zánik nervových buněk a jejich spojů. Dochází k úbytku acetylcholinu, díky němuž dochází k nervovým vzruchům (Rätsch, 2012).

V medicínské literatuře existují důkazy o tom, že konopí dokáže pacientům s Alzheimerovou chorobou poskytnout nejen zmírnění symptomů, ale že skutečně omezuje tvorbu nových plaků v mozku. Zdá se tedy, že konopí dokáže opravdu zpomalit průběh tohoto onemocnění (Eubanks, 2006).

Nedávné studie ukázaly, že injekční aplikace syntetických kanabinoidů přímo do mozku dokázaly výrazně snížit neurotoxicitu a u pokusných krys dokázaly omezit zhoršení rozlišovací schopnosti po aplikaci peptidického beta-amyloidu (bílkovina, která způsobuje u pokusných krys Alzheimerovu chorobu). Kanabinoidy snižují také intenzitu zánětů nervových buněk, které Alzheimerovu chorobu doprovázejí (Rätsch, 2012).

### **3.3.2.4 Roztroušená skleróza**

Roztroušená skleróza je onemocněním centrálního nervového systému (CNS), v jehož průběhu dochází k napadání a ničení myelinu (ochranná vrstva nervových vláken) v neuronech a dendritech vlastním imunitním systémem. S postupem času dochází k inhibici činnosti neurotransmiterů a pacient začíná trpět únavovým syndromem, křečemi, třesem a inkontinencí. Tyto příznaky mají přitom výrazný negativní dopad na kvalitu života



nemocných (Partwee, 2007). Vlivem působení THC docházelo u pacientů ke zřetelnému pokroku v oblasti poruchy vyměšování v kladném smyslu (Grotenhermen, 2009). Dále Partwee (2007) uvádí, že výzkumy prokázaly schopnost kanabinoidů mírnit projevy a zpomalovat progresi tohoto onemocnění, což potvrzují i svědectví jednotlivých pacientů stejně jako nové poznatky o vázání těchto kanabinoidů na kanabinoidní receptory v lidském těle.

### **3.3.2.5 Parkinsonova nemoc**

Parkinsonova nemoc je degenerativním onemocněním centrálního nervového systému (CNS), která se projevuje poruchami pohybu, komunikace a celkového držení těla. Příznaky pro pacienta zahrnují svalovou ztuhlost, klidový třes, zpomalení nebo dokonce naprosté ustání pohybů, deprese a maskovitý obličej (Miovský a kol., 2008). Konopí snižuje intenzitu třesů a tím zlepšuje stav nemocného (Kubánek, 2009), to však lze pozorovat až po dlouhodobém užívání konopí, zhruba po dvou měsících (Grotenhermen, 2009).

## **3.4 Genotypy konopí**

V tabulce č. 1 je uvedena stručná charakteristika 7 různých kultivarů druhů *Cannabis sativa*, *Canabis indica* i jejich kombinace, které byly použity ke stanovení obsahu aktivních látek THC a CBD v rámci této diplomové práce. Jsou to: Nurse Jackie, Conspiracy Kush, Jillybean, Jack Cleaner 2, Jack Skellington, Nordle a National Health Service.

**Tabulka č. 1: Charakteristika zkoumaných kultivarů konopí**

	Šlechtitel	Možnosti pěstování	Křížené odrůdy	Poměr Sativa/Indica (%)	Sklizeň	Indikace
<b>Conspiracy Kush</b>	TGA Subcool Seed	Indoor/Outdoor	Obama Kush x Space Queen	30/70	55-60 dní	Relaxační, nespavost, stres, bolest, únava, deprese
<b>Jillybean</b>	TGA Subcool Seed	Indoor/Outdoor	Unknown Orange Skunk x Romulan x Cindy 99 BCGA	60/40	8 týdnů	Stres, deprese, bolest, únava, nevolnost
<b>Jacks Cleaner 2</b>	TGA Subcool Seed	Indoor/Outdoor	Pluton x Purple Haze x Lamsbread x NL x Jack Herer x Jack The Ripper Male	80/20	8-10 týdnů	Deprese, únava, oční tlak, stres, bolest
<b>Jack Skellington</b>	TGA Subcool Seed	Indoor/Outdoor	Cindy 99 x G-13 x Jacks Cleaner x Space Queen	70/30	8 týdnů	Stres, deprese, bolest, nevolnost, nechutenství
<b>Nordle</b>	Mr Nice Seedbank	Indoor/Outdoor	Afgan x Skunk	20/80	8-10 týdnů	Bolest, svalové křeče, relaxační efekt, zánět, stres, únava
<b>NHS (National Health Service)</b>	Mr Nice Seedbank	Indoor/Outdoor	Northern Lights 5/Haze x Skunk	Z větší části sativa	8-10 týdnů	Duševní a fyzická rovnováha
<b>Nurse Jackie</b>	TGA Subcool Seed	Indoor/Outdoor	Medicine Woman x Jack the Ripper	85/15	8-9 týdnů	Zánět, oční tlak, bolest hlavy, stres, nespavost

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

## 4 Materiál a metody

Rostliny konopí byly pěstovány a analyzovány v roce 2015 - 2016 na katedře rostlinné výroby Fakulty agrobiologie potravinových a přírodních zdrojů. Veškerá naměřená data byla zpracována v programu Statistica 12, kde bylo využito analýzy rozptylu ANOVA a Tukeyho testu.

### 4.1 Biologický materiál

V kultivační místnosti bylo pěstováno 7 různých kultivarů druhů *C. sativa*, *C. indica* i jejich kombinace (Tabulka č. 4), které obsahem kanabinoidů odpovídají vyhlášce 236/2015 Sb. a potřebám pacientů. Jsou to: Nurse Jackie, Conspiracy Kush, Jillybean, Jack Cleaner 2, Jack Skellington, Nordle a National Health Service.

V pěstební místnosti byl stan pro mateřskou rostlinu a její klony a na 2 m<sup>2</sup> byly pěstovány samičí rostliny, které zůstaly po selekci rostlin samčích. Rostliny byly pěstovány v substrátu (rašelina, zeolit), pravidelně hnojeny anorganickými i organickými přípravky, pH bylo upravováno kyselinou dusičnou na 5,8 - 6,2, teplota v místnosti byla udržována v rozmezí 25 - 30 °C a vlhkost v rozmezí 40 - 70 % dle vegetační fáze.

### 4.2 Příprava rostlinného materiálu

Rostliny konopí byly pěstovány ve třech pěstebních cyklech.

- 1. cyklus - sklizeň: 13. - 20. března 2015
- 2. cyklus - sklizeň: 15. - 21. května 2015, z druhého cyklu byly některé odrůdy vyřazeny z důvodu opylení
- 3. cyklus - sklizeň: 15. - 23. července 2015, ze třetího cyklu byly některé odrůdy vyřazeny z důvodu opylení či uvadnutí rostlin (řízků)

#### 4.2.1 Sušení

Květenství (Obrázek č. 6) byla sušena v sušárně při 30 °C určené pouze pro konopí. Po jejím usušení byla vložena do vzduchotěsných sáčků a uložena do mrazáku.



**Obrázek č. 6:** Sušené květenství

#### 4.2.2 Homogenizace

Z vysušeného vzorku byly odstraněny větší stonky a semena. Vzorky byly následně rozemlety elektrickým mlýnkem (Concept/Valentino – KM 5001) na homogenní směs, která byla uchovávána ve vzduchotěsných plastových sáčcích. Část homogenního materiálu byla použita na přípravu vzorků pro analýzu (1 g) a druhá část byla použita na stanovení sušiny při 150 °C.

### 4.3 Plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC/FID)

Obsah THC a CBD byl stanoven na GC/FID (Agilent Technologies 6890N – Network GC system), který je uveden na Obrázku č. 7. Podmínky analýzy uvádí Tabulka č. 2. Metodika je shodná s verifikovanou metodou United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) uveřejněnou OSN (UNODC, 2009), která popisuje celý proces přípravy.

**Tabulka č. 2:** Podmínky analýzy

Kolona	15 m x 0.25 mm, 0.25 µm
Mobilní fáze	5% Difenyl – 95% Dimethylpolysiloxane
Nosný plyn	dusík, 1.1 ml/min, konstantní tok
Režim nástřiku	Split 280°C
Dělicí poměr	20:1
Teplotní program	2 min při 200 °C, 10 °C/min 200-240 °C, 2 min při 240 °C
Teplota Detektoru	300 °C
Nástřik	1.5 µl

(UNODC, 2009)



**Obrázek č. 7:** Plynový chromatograf s plamenově ionizačním detektorem

### 4.3.1 Příprava kalibrační křivky

Kalibrační křivka byla připravena dle výše uvedené metody. Kvantifikace účinných látek byla provedena metodou interního standardu. K přípravě kalibrační řady byly použity chemikálie: 1 mg THC/ml v methanolu (Obrázek č. 8), 1 mg CBD/ml v methanolu (Sigma-Aldrich, ČR), jako interní standard byl použit tribenzylamine (TBA) v koncentraci 0.5 mg/ml. Tabulka č. 3 uvádí množství použitých chemikálií pro přípravu jednotlivých kalibračních úrovní.

**Tabulka č. 3:** Množství použitých chemikálií pro přípravu kalibrační křivky

Standard 1	50 µl ID* + 500 µl ISTD*-roztok + ~ 950 µl ethanol	0.1%
Standard 2	250 µl ID + 500 µl ISTD-roztok + ~ 750 µl ethanol	0.5%
Standard 3	50 µl SS* + 500 µl ISTD-roztok + ~ 950 µl ethanol	1%
Standard 4	150 µl SS + 500 µl ISTD-roztok + ~ 850 µl ethanol	3%
Standard 5	250 µl SS + 500 µl ISTD-roztok + ~ 750 µl ethanol	5%
Standard 6	500 µl SS + 500 µl ISTD-roztok + ~ 500 µl ethanol	10%
Standard 7	800 µl SS + 500 µl ISTD-roztok + ~ 200 µl ethanol	16%

\* **Zásobní roztok (SS):** 1 mg THC/ml metanol, 1 mg CBD/ml methanol

\* **Pomocné ředění (ID):** 100 µl zásobní roztok + 900 µl ethanol

\* **Roztok vnitřního standardu (ISTD):** 0.5 mg tribenzylamine (TBA)/ml ethanol

**0,1% - 16%:** koncentrace THC a CBD

Pro THC byla kalibrační řada připravena v koncentracích 0,1 - 16%. Pro CBD byla připravena stejným způsobem v koncentracích 0,1 - 10%.

(UNODC, 2009)



**Obrázek č. 8:** Standardní roztok THC v methanolu

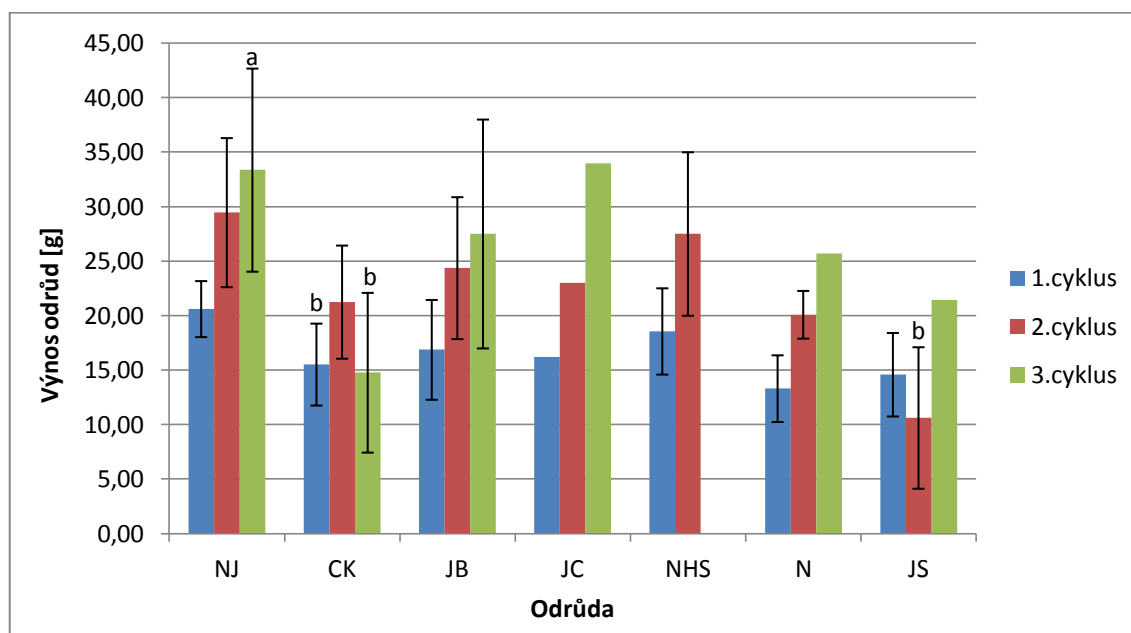
### **4.3.2 Příprava vzorků pro analýzu**

Na analytické váze bylo odváženo do 20 ml šroubovací vialky 200 mg homogenizovaného rostlinného materiálu konopí a přidáno 20 ml interního standardu o koncentraci 0,5 mg/ml. Připravený roztok byl na 15 minut uložen do ultrazvukové lázně. Následně bylo do 2 ml GC pertlovací vialky odpipetováno 0,5 ml vyextrahovaného roztoku. Vialky byly umístěny na topné jednotky, po dobu 12 minut při 150 °C, kde bylo rozpouštědlo odpařeno a došlo k dekarboxylaci. Do vialky bylo následně přidáno 1,5 ml etanolu. Vialka byla uzavřena, protřepána a obsah THC a CBD byl následně stanoven pomocí plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC/FID). Všechny analýzy probíhaly ve třech opakováních.

## 5 Výsledky

Výsledkem analýz bylo vyhodnocení obsahu THC a CBD v sedmi různých kultivarech konopí, které byly pěstovány ve třech pěstebních cyklech pod umělým osvětlením. V rámci odrůdy bylo hodnoceno kolísání obsahu THC a CBD mezi pěstebními cykly, dále byl hodnocen průměrný obsah THC a CBD v jednotlivých odrůdách, výnos odrůd v jednotlivých pěstebních cyklech a průměrný výnos květenství jednotlivých odrůd.

**Graf č. 1:** Výnos odrůd (g) v pěstebních cyklech



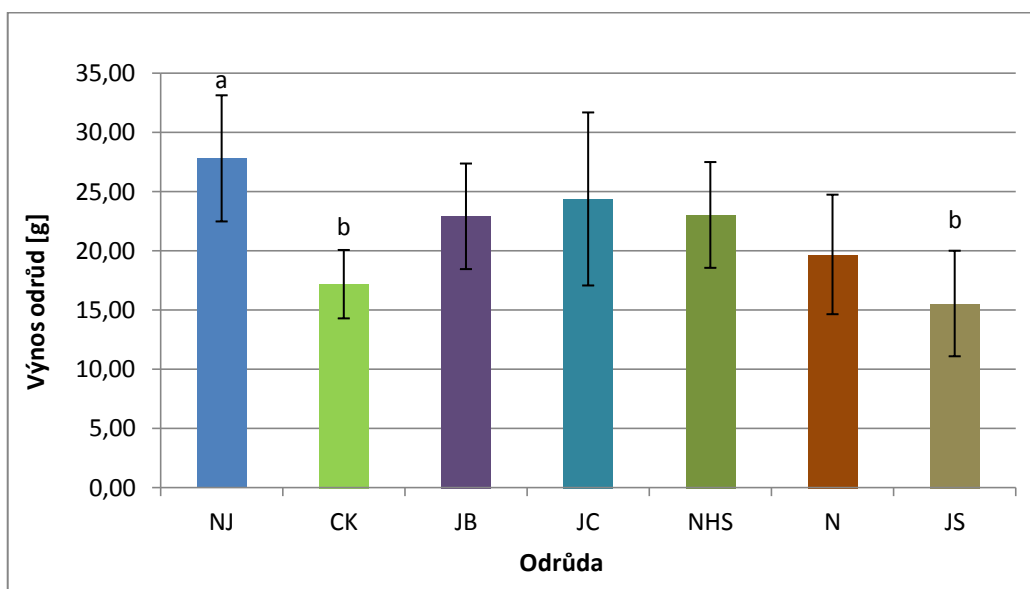
\* **Použité zkratky v grafu:** NJ – Nurse Jackie, CK – Conspiracy Kush, JB – Jillybean, JC – Jack Cleaner 2, NHS – National Health Service, N – Nordle, JS – Jack Skellington.

**Odlíšná písmena** (a, b) vyjadřují statisticky průkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

**Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

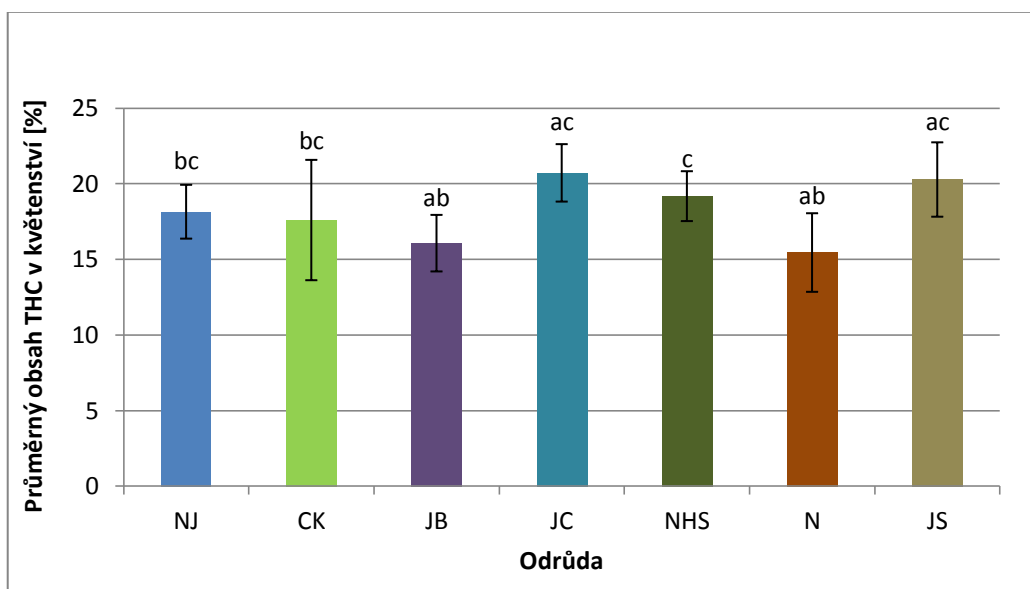
Z celkové sklizně nezávisle na odrůdě bylo ve třetím cyklu sklizeno nejméně sušeného květenství, a to 310 g. Nejvyšší výnos byl ve druhém cyklu, kde bylo sklizeno celkem 459,02 g. Graf č. 1 vyznačuje výnos odrůd v jednotlivých pěstebních cyklech, kde nejvyšší výnos vykazovala odrůda Jack Cleaner 2 (33,95 g), a Nurse Jackie (33,36 g) ve třetím cyklu. Nejméně bylo sklizeno ve druhém cyklu u odrůdy Jack Skellington (10,62 g) a Nordle (13,31 g) v prvním cyklu. U odrůdy Jack Cleaner 2 byla pěstována pouze jedna rostlina v každém cyklu.

**Graf č. 2:** Průměrný výnos květenství jednotlivých odrůd



\* **Použité zkratky v grafu:** NJ – Nurse Jackie, CK – Conspiracy Kush, JB – Jillybean, JC – Jack Cleaner 2, NHS – National Health Service, N – Nordle, JS - Jack Skellington.  
**Odlíšná písmena** (a, b) vyjadřují statisticky průkazný rozdíl mezi hodnocenými genotypy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .  
Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 3:** Průměrný obsah THC (%) v květenství rostlin v jednotlivých odrůdách



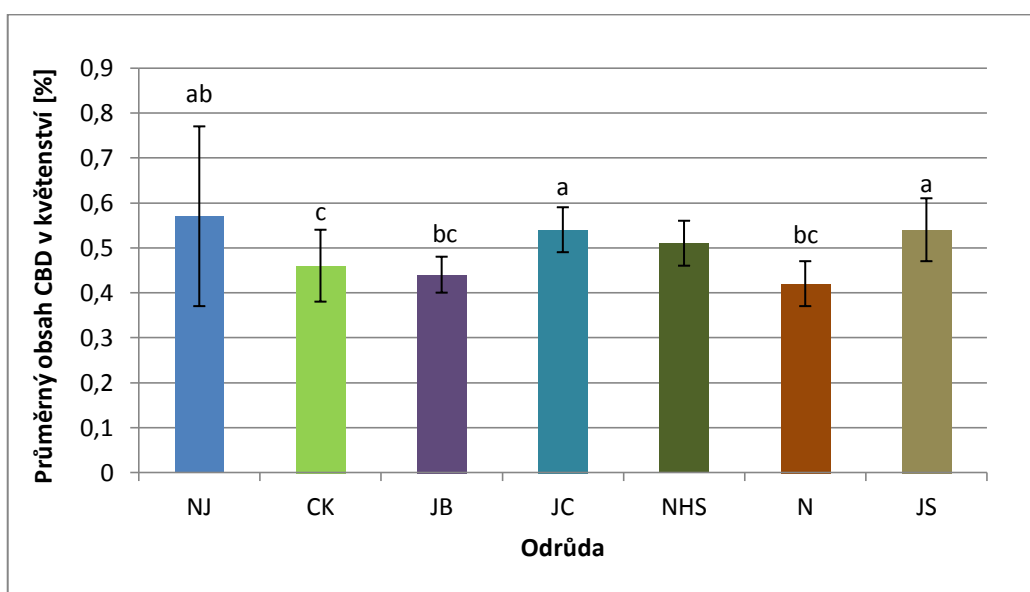
\* **Použité zkratky v grafu:** NJ – Nurse Jackie, CK – Conspiracy Kush, JB – Jillybean, JC – Jack Cleaner 2, NHS – National Health Service, N – Nordle, JS - Jack Skellington.  
**Odlíšná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky průkazný rozdíl mezi hodnocenými genotypy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .  
Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.



Graf č. 2 znázorňuje průměrný výnos květenství jednotlivých odrůd ze všech pěstebních cyklů. Je zřejmé, že nejvyšší průměrný výnos vykazovala odrůda Nurse Jackie (27,81 g), naopak nejméně sušeného květenství bylo sklizeno u odrůdy Jack Skellington (15,55 g).

Z grafu č. 3 vyplývá, že nejvyšší průměrný obsah THC byl naměřen u odrůdy Jacks Cleaner 2 ( $20,71 \pm 1,9$  %) a Jack Skellington ( $20,27 \pm 2,46$  %). Naopak nejnižší obsah THC byl naměřen u odrůdy Nordle ( $15,44 \pm 2,6$  %) a Jillybean ( $16,06 \pm 1,87$  %). U všech odrůd byl naměřen obsah THC vyšší než 15 %. Odrůdy se od sebe statisticky významně lišily.

**Graf č. 4:** Průměrný obsah CBD (%) v květenství rostlin v jednotlivých odrůdách



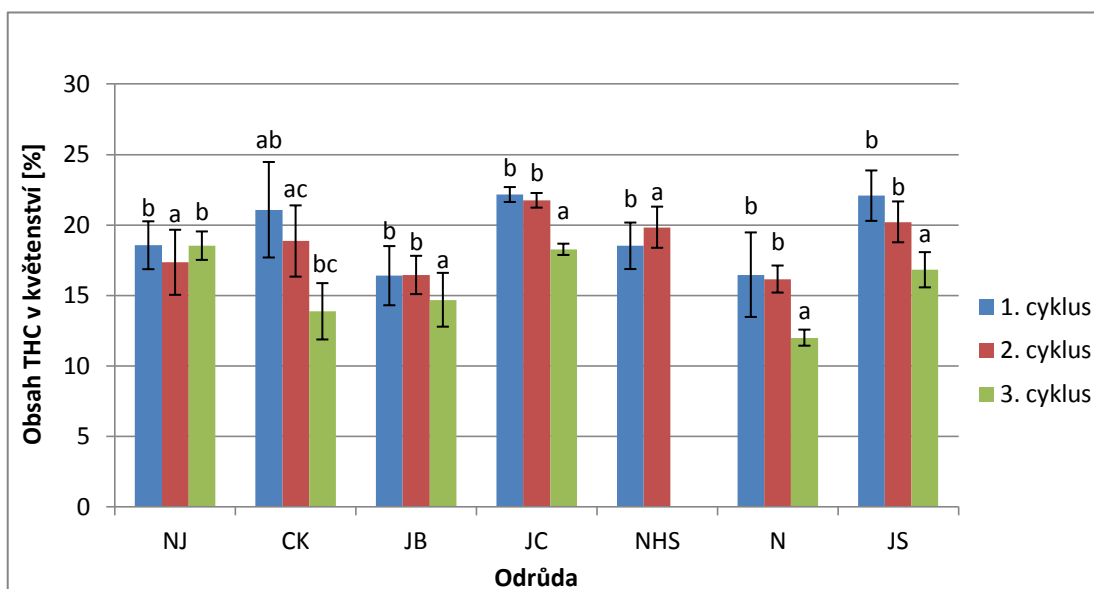
\* **Použité zkratky v grafu:** NJ – Nurse Jackie, CK – Conspiracy Kush, JB – Jillybean, JC – Jack Cleaner 2, NHS – National Health Service, N – Nordle, JS - Jack Skellington.

**Odlišná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky průkazný rozdíl mezi hodnocenými genotypy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

**Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Z grafu č. 4 je zřejmé, že obsah CBD v květenství rostlin, mezi jednotlivými odrůdami, byl statisticky průkazný. Ovšem u všech 7 odrůd byl naměřen podobně vysoký obsah CBD a to v rozmezí 0,42 – 0,57 %. Největší obsah CBD byl vyhodnocen u odrůdy Nurse Jackie ( $0,57 \pm 0,02$  %), naopak nejmenší obsah CBD byl naměřen u odrůdy Nordle ( $0,42 \pm 0,05$  %).

**Graf č. 5:** Obsah THC (%) v květenství rostlin v pěstebních cyklech

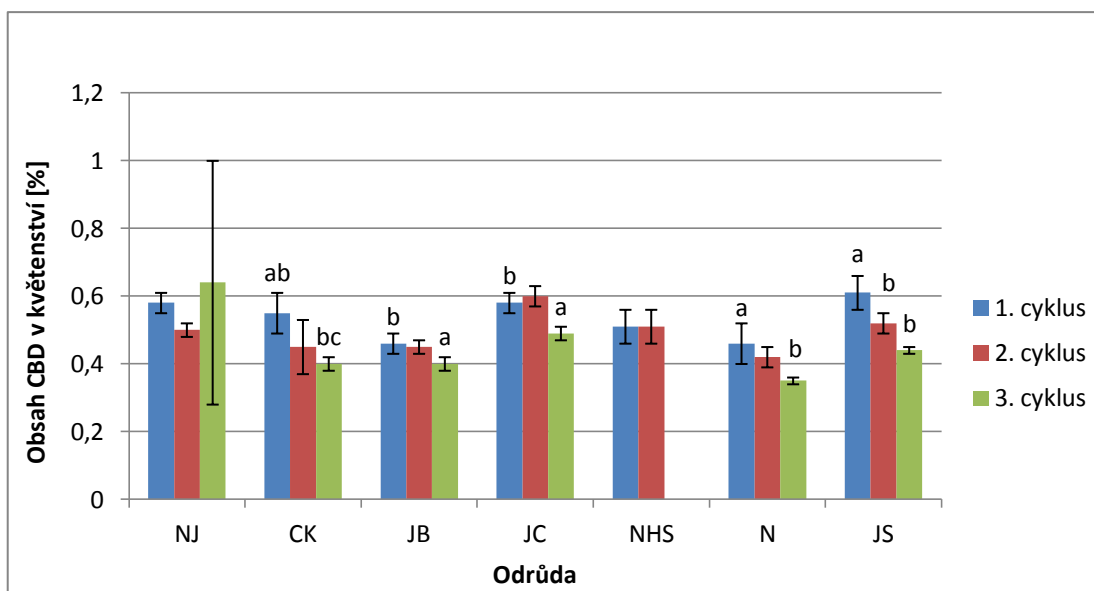


\* **Použité zkratky v grafu:** NJ – Nurse Jackie, CK – Conspiracy Kush, JB – Jillybean, JC – Jack Cleaner 2, NHS – National Health Service, N – Nordle, JS - Jack Skellington.

**Odlišná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky průkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

**Graf č. 6:** Obsah CBD (%) v květenství rostlin v pěstebních cyklech



\* **Použité zkratky v grafu:** NJ – Nurse Jackie, CK – Conspiracy Kush, JB – Jillybean, JC – Jack Cleaner 2, NHS – National Health Service, N – Nordle, JS - Jack Skellington.

**Odlišná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky průkazný rozdíl mezi hodnocenými pěstebními cykly v rámci odrůdy na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Graf č. 5 vyznačuje obsah THC v jednotlivých odrůdách v rámci pěstebních cyklů. Data National Health Service ze třetího cyklu chybí, rostlina byla vyřazena z důvodu opylení. Nejstabilnější obsah THC se jevil u odrůdy Nurse Jackie, Jillibean a Jack Cleaner 2. U šesti odrůd ze sedmi obsah THC ve třetím cyklu klesal. Nejvyšší obsah THC byl naměřen v prvním cyklu u odrůdy Jack Cleaner 2 ( $22,15 \pm 0,53$  %), naopak nejmenší obsah byl analyzován v odrůdě Nordle ( $11,99 \pm 0,57$  %) ve třetím cyklu.

Z grafu č. 6 je zřejmé, že třetí cyklus vykazoval nejnižší obsah CBD. Nejvyšší obsah CBD byl analyzován v prvním pěstebním cyklu. V rámci jednotlivých cyklů mezi odrůdami lze tvrdit, že obsah CBD byl poměrně stabilní. U odrůdy Nurse Jackie byl ve třetím cyklu pozorován značný rozptyl v obsahu CBD, který mohl být způsoben např. nestálostí odrůdy nebo chybou měření. Obsah CBD se ve všech odrůdách jevil jako stabilní.

## 6 Diskuze

Účelem této práce bylo zjistit obsah kanabinoidů THC a CBD ze sedmi kultivarů (Nurse Jackie, Conspiracy Kush, Jillybean, Jack Cleaner 2, National Helath Service, Nordle a Jack Skellington) a vybrat tak odrůdu stabilní a vhodnou pro léčbu pacientů. Léčebným konopím se zabývá celá řada světových institucí a uznávaných vědeckých pracovníků. Z relevantních zdrojů jsou však dostupné informace především o pěstování a výživě konopí za účelem dosažení co nejvyšších výnosů kvalitního vlákna nebo semene, nikoliv však o konopí pěstovaném pro produkci květenství a účinných látek THC a CBD.

Z výsledků vyplývá, že v obsahu THC a CBD jsou mezi jednotlivými odrůdami statisticky průkazné rozdíly. V rámci pěstebních cyklů se množství THC pohybovalo od 11,99 – 22,15 % a CBD od 0,35 – 0,64 %. Cílem práce bylo zjistit, která ze sedmi odrůd bude stabilní jak z hlediska obsahu THC a CBD, tak i ve výnosu. V tomto případě se nejlépe jevila odrůda Jack Cleaner 2 a Nurse Jackie.

Skupina pěstitelů specializovaných na léčebné konopí TGA Subcool Seeds ([www.tgaseeds.com](http://www.tgaseeds.com)) uvádějí množství THC a CBD u třech odrůd, které byly pěstovány v rámci výzkumu na ČZU. Jedná se o Conspiracy Kush, jehož THC by mělo dosáhnout 22,5 % a CBD 0,1 %. Z našich výsledků vyplývá, že tato odrůda dosáhla 17,59 % THC a 0,46 % CBD. Dále uvádí množství u odrůdy Jillybean s obsahem 21,9 % THC a 1 % CBD, jehož obsah kanabinoidů je v našich výsledcích také odlišný. U této odrůdy bylo naměřeno 16,06 % THC a 0,44 % CBD. Třetí odrůdou je Nurse Jackie, u které uvádějí obsah THC 23,6 % a CBD 0,1 %. Naše výsledky uvádějí obsah THC 18,14 % a CBD 0,57 %. Je tedy zřejmé, že jsme u těchto tří odrůd nedosáhli plného potenciálu. TGA Subcool Seeds však neuvádějí, v jakých pěstebních podmínkách byly rostliny pěstovány. Vědecké výzkumy se těmito odrůdami nezabývaly, tudíž nelze porovnat obsahy THC a CBD s jinými praktickými výsledky.

Adams (2012) uvádí, že rostlina reaguje na několik faktorů, jako je například teplota a vlhkost, ale nejdůležitějším faktorem pro změnu z růstu do kvetení je světlo. Konopí potřebuje pro období vegetačního růstu 18 hodin světla a 6 hodin tmy. Ideální fotoperiodou pro tvorbu květu je 12 hodin světla a 12 hodin tmy. Tímto způsobem byly pěstovány všechny námi analyzované odrůdy.

McLaren (2008) uvádí, že rostliny pěstované pod umělým osvětlením mají přibližně dvojnásobné množství obsahu THC oproti konopí pěstovaným v přírodních podmínkách.

Zastoupení kanabinoidních látek THC a CBD v jednotlivých odrůdách prokázalo rozdílný obsah u každé z nich. Obsahy THC u sedmi analyzovaných odrůd byly naměřeny v rozmezí 15,44 - 20,71 %, kde nejvyšší průměrný obsah byl naměřen u odrůdy Jacks Cleaner 2, naopak nejnižší obsah vykazovala odrůda Nordle. Obsah THC v rostlinách konopí závisí kromě genetických faktorů, např. na klimatických podmínkách, způsobu pěstování, růstové fázi, ultrafialovém záření, složení půdy, napadení škůdci apod. (Dupal, 2010). Obsah kanabinoidů je pravděpodobně také ovlivňován vyvážeností minerálních látek v půdě. Studie prováděné na rostlinách konopí v Illinois ukazují vliv koncentrací N, P, K a Ca v půdě. Zejména byl zaznamenán zřetelný negativní vliv draslíku na obsah THC, přestože vliv N, P, a Ca byl pozitivní. Optimální hladina Fe a Mg v půdě je velmi důležitá pro syntézu THC v rostlině. U jamajského konopí byl zjištěn vyšší obsah THC v souvislosti s použitím organických hnojiv (Bócsa *et al.*, 1997). Cílem práce nebylo hodnotit vliv hnojení na obsah THC a CBD. Je však možné, že kdyby došlo k úpravě dávek v poměru živin, obsah THC by se mohl zvýšit na udávané hodnoty TGA Subcool Seeds.

Velký vliv na výnos má intenzita světla, hustota rostlin a odrůda. Konopí pěstované pod 600 W žárovkou má vyšší výnos než pod 400 W (Vanhove *et al.*, 2011). Podle studie Toonen *et al.* (2006) je optimální hustota rostlin 32 rostlin/m<sup>2</sup>, která by poskytovala 608 g/m<sup>2</sup> sušeného květenství, nebo 19 g na rostlinu. Odrůdy byly pěstovány ve třech pěstebních cyklech. V prvním a druhém cyklu bylo pěstováno 10 rostlin/m<sup>2</sup>, ve třetím cyklu pouze 6 rostlin/m<sup>2</sup>. Rostliny byly pěstovány pod 400 W žárovkou, tudíž se dal očekávat výnos menší, než pod 600 W. Z celkového výnosu sušeného květenství ze všech odrůd vykazoval nejvyšší výnos druhý cyklus, a to 459,02 gramů. První a třetí výnos se významně nelišil. V prvním cyklu bylo sklizeno 334,58 g a ve třetím cyklu 310 g.

Vyhláška č. 221/2013 Sb. byla novelizována vyhláškou č. 236/2015 Sb. (dále jen vyhláška). Nová vyhláška se liší v předepisované měsíční dávce léčebného konopí, která činila 30 g. Dále byla rozšířena indikace a specializovaná způsobilost předepisujících lékařů. Indikace byla doplněna např. o bolest glaukomu, neurologický třes způsobený Parkinsonovou chorobou nebo o povrchovou léčbu dermatóz a slizničních lézí. Obsah THC a CBD byl navýšen jak u konopí setého, tak u konopí indického a to na 21 % THC a 19 % CBD pro oba druhy. V EU dosud není registrována odrůda, která by svým složením odpovídala vyhlášce, ani nebyl optimalizován způsob pěstování léčebného konopí. Konopí s vysokým obsahem THC lze předepisovat pacientům s roztroušenou sklerózou, na chronické bolesti, neuropatie, migrény, alergie, bolest páteře a jiné. Z analyzovaných odrůd by na léčbu těchto nemocí byla vhodná odrůda Jack Cleaner 2 a Jack Skellington, kde obsah THC byl nad 20 %. Naopak

vysoký obsah THC není vhodný pro pacienty trpící schizofrenií, kde se nemoc může zhoršit, dále může spustit deprese či stav úzkosti.

## 7 Závěr

Na základě výsledků lze konstatovat, že hypotéza byla naplněna. Mezi sedmi vybranými genotypy byly zjištěny průkazné rozdíly v obsahu kanabinoidů. Z těchto sedmi genotypů byl vybrán alespoň jeden, odpovídající vyhlášce 236/2015 Sb., vhodný pro léčebné použití v ČR. Vyhodnocení obsahu kanabinoidů vybraných genotypů konopí Nurse Jackie, Conspiracy Kush, Jillybean, Jack Cleaner 2, Jack Skellington, Nordle a National Health Service bylo uskutečněno na základě metodiky, která je shodná s verifikovanou metodou UNODC.

Dle výsledků bylo zjištěno, že všech sedm analyzovaných odrůd je vhodných k léčebnému použití z hlediska obsahu THC a CBD. Nejvyšší průměrný obsah THC byl naměřen u odrůdy Jack Cleaner 2 ( $20,71 \pm 1,9$  %), naopak nejmenší obsah byl analyzován v odrůdě Nordle ( $15,44 \pm 2,6$  %). Průměrný obsah CBD byl u všech odrůd naměřen  $< 1$  %. Z výsledků vyplývá, že obsah THC a CBD vykazuje mezi jednotlivými odrůdami statisticky průkazné rozdíly. Z hlediska stability výnosu a obsahu THC se jeví jako nejvhodnější odrůda Jack Cleaner 2 a Nurse Jackie. Z výsledků vyplývá, že právě tyto dvě odrůdy by mohly být využívány k léčebným účelům. Ze třech pěstebních cyklů však nelze zcela vyhodnotit stabilitu odrůdy. Výsledky je třeba pokládat za předběžné, proto nyní výzkum na ČZU pokračuje.

## 8 Seznam zkratk

**AIDS** *Acquired Immune Deficiency Syndrome* Syndrom získané imunitní nedostatečnosti

**AEA** N-arachidonoylethanolamin, anandamid

**ANOVA** Analýza rozptylu

**2-AG** 2-arachidonoylglycerol

**CB** Kanabinoidní receptor

**CBC** Kanabichromen

**CBD** Kanabidiol

**CBDa** Kyselina kanabidiolová

**CBG** Kanabigerol

**CBGA** Kyselina kanabigerolová

**CBN** Kanabinol

**CNS** Centrální nervová soustava

**ČR** Česká republika

**ČZU** Česká zemědělská univerzita

**ES** Endokanabinoidní systém

**EU** Evropská unie

**FAAH** Hydroláza amidů mastných kyselin

**GC – FID** Plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem

**HIV** *Human Immunodeficiency Virus* Virus lidské imunitní nedostatečnosti

**OSN** Organizace spojených národů

**SAKL** Státní agentura pro konopí pro léčebné použití



**SÚKL** Státní ústav pro kontrolu léčiv

**TBA** Tribenzylamine

**THC** Tetrahydrokanabinol

**THCA** Kyselina tetrahydrokanabinolová

**THCV** Tetrahydrokanabivarin

**UNODC** Úřad OSN pro drogy a kriminalitu

**ÚKZÚZ** Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

**11-OH-THC** 11-hydroxy-tetrahydrokanabinol

## 9 Seznam použité literatury

Adams, P. 2012. Weedology – Marihuana, vše o pěstování konopí. Positive Publishers b.v.b.a. Nizozemsko. 351 s. ISBN: 978-90-76583-35-8.

Appendino, G., Gibbons, S., Giana, A., Pagani, A., Grassi, G., Stavri, M., Smith, E., Rahman, M. M. 2008. Antibacterial cannabinoids from *Cannabis sativa*: A structure-activity study. Journal of Natural Products. 71 (8). 1427–1430.

Beal, J. E., Olson, R., Laubenstein, L., Morales, J. O., Bellman, P., Yangco, B., Lefkowitz, L., Plasse, T. F., Shepard, K. V. 1995. Dronabinol as a treatment for anorexia associated with weight - loss in patients with aids. Journal of Pain and Symptom Management. 10 (2). 89-97.

Benito, C., Núñez, E., Tolón, R. M., Carrier, E. J., Rábano, A., Hillard, C. J., Romero, J. 2003. Cannabinoid CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are selectively verexpressed in neuritic plaqueassociated glia in Alzheimer's disease brains. Journal of Neuroscience. 23 (35). 11136– 11141.

Bhattacharyya, S., Morrison, P. D., Fusarpoli, P., Martin-Santos, R., Borgwardt, S., Winton-Brown, T., Nosarti, C., O' Carroll, C. M., Seal, M., Allen, P., Mehta, M. A., Stone, J. M. 2010. Opposite effects of delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on human brain function and psychopatology. Neuropsychopharmacology. 35 (3). 764–774.

Blakey, S., Marks, H. 2014. In: Běhal, L. Konopí: Znovuobjevený potenciál. Praha. Ing. Lukáš Běhal. 310 s. ISBN: 978-80-260-6957-7.

Bócsa, I., Máthé, P., Hangyel, L. 1997. Effect of nitrogen on tetrahydrocannabinol (THC) content in hemp (*Cannabis sativa L.*) leaves at different positions. Journal of the International Hemp Association. 4 (2). 78 -79.

Booth, M. 2004. Konopí – dějiny. BB/art s.r.o. Praha. 368 s. ISBN: 80-7341-348-5.

Brown, V. K. 2015. Budtender certification - Medical cannabis program. Sri Lakshmi Services. New York. 130 p. ISBN: 978-1-312-86945-5.

Cervantes, J. 2006. Marijuana Horticulture: The indoor/outdoor medical grower's bible. Van Patten Publishing. Vencouver. 512 p. ISBN: 978-1-878-82323-6.

Conrad, Ch. 2001. Konopí pro zdraví: Fakta o léčivých účincích marihuany. Pragma. Praha. 210 s. ISBN: 80-7205-834-7.

Česko. Vyhláška č. 236 ze dne 17. Zář 2015 o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití. In: Sbírka zákonů české republiky. 2015. částka 98. s. 2978- 2992. ISSN: 1211-1244.

De Backer, B., Debrus, B., Lebrun, P., Theunis, L., Dubois, N., Decock, L., Verstraete, A., Hubert, P., Charlier, C. 2009. Innovative development and validation of an HPLC/DAD method for the qualitative and quantitative determination of major cannabinoids in cannabis plant material. *Journal of Chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences.* 877 (32). 4115–4124.

Devane, W. A., Hanus, L. O., Breuer, A., Pertwee, R. G., Stevenson, L. A., Griffin, G., Gibson, D., Mandelbaum, A., Etinger, A., Mechoulam, R. 1992. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science.* 258 (5090). 1946-9.

Devane, W. A., Dysarz, F. A., Johnson, M. R., Melvin, L. S., Howlett, A. C. 1988. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Molecular Pharmacology.* 34 (5). 605–613.

Downer, E. J., Campbell, V. A. 2010. Phytocannabinoids, CNS cells and development: a dead issue? *Drug and Alcohol Review.* 29 (1). 91–98.

Dupal, L. 2010. *Kniha o marihuaně.* 3. vyd. Mat'a. Praha. 173 s. ISBN: 978-80-7287-136-0.

ElSohly, M. A., Slade, D. 2005. Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Life Science.* 78 (5). 539-548.

ElSohly, M. A. 2007. *Marijuana and the cannabinoids.* Humana Press. Totowa, New Jersey. 322 s. ISBN: 1-58829-456-0.

ElSohly, M., Ross, S. A., Mehmedic, Z., Ararat, R., Yi, B., Banahan, B. F. 2000. Potency trends of delta-9-THC and other cannabinoids in confiscated marijuana from 1980–1997. *Journal of forensic sciences.* 45 (1). 24-30.

- Eubanks, L. M., Rogers, C. J., Beuscher, A. E. 2006. A molecular link between the active component of marijuana and Alzheimer's disease pathology. *Molecular Pharmaceutics*. 3 (6). 773-777.
- Fišar, Z. 2006. Endokanabinoidy. *Chemické listy*. 100 (5). 314-322.
- Fišar, Z. 2006. Fytokanabinoidy. *Chemické listy*. 100. 233-246.
- Fišar, Z. 2008. Kanabinoidy a duševní poruchy. *Česká a slovenská psychiatrie*. 104 (6). 297 - 307.
- Fisar, Z. 2009. Phytocannabinoids and endocannabinoids. *Current drug abuse reviews*. 2 (1). 51-75.
- Fishedick, J. T., Hazekamp, A., Erkelens, T., Choi, Y. H. Et Verpoorte, R. 2010. Metabolic fingerprinting of *Cannabis sativa* L., cannabinoids and terpenoids for chemotaxonomic and drug standardization purposes. *Phytochemistry*. 71 (17-18). 2058-73.
- Flores-Sanchez, I. J., Verpoorte, R. 2008. Polyketide synthases in *Cannabis sativa* L. PrintPartners Ipskamp B. V. Amsterdam. 170 s. ISBN: 9789090234465.
- Grinspoon, L., Bakalar, J. 1996. *Marihuana, zakázaná medicína*. CAD Press. Bratislava. 176 s. ISBN: 80-85349-57-4.
- Grotenhermen, F., Russo, E. 2002. *Cannabis and cannabinoids. Pharmacology, toxicology, and therapeutic potential*. The Haworth Press. New York. 439 s. ISBN: 978-0789015082.
- Grotenhermen, F., Morgan, J. P. 2009. *Konopí jako lék: praktický rádce k využívání konopí a dronabinolu v medicíně*. Fontána. Olomouc. 231 s. ISBN: 978-80-7336-552-3.
- Guindon, J., Hohmann, A. G. 2009. The endocannabinoid system and pain. *CNS. Neurol Disord. Drug Targets*. 8 (6). 403-421.
- Hanus, L. O. 2009. Pharmacological and therapeutic secrets of plant and brain (endo) cannabinoids. *Medicinal Research Reviews*. 29 (2). 213-271.
- Hanuš, L. O. 2011. Vyléčí konopí rakovinu? *Adiktologie*. Sdružení SCAN. Praha. 11 (1). 60-67. ISSN: 1213-3841.

Hanuš, L. O. 2012. Endogenní kanabinoidy, receptory, fyziologické role. České lékařské akademie. 8. 8-12.

Harvey, D. J. 1990. Stability of cannabinoids in dried samples of cannabis dating from around 1806-1905. *Journal of Ethnopharmacology*. 28 (1). 117-128.

Hazekamp, A., Peltenburg, A., Verpoorte, R. 2005. Chromatographic and spectroscopic data of cannabinoids from *Cannabis sativa* L. *Journal of Liquid Chromatography*. 28 (15). 2361-2382.

Hazekamp, A., Fishedick, J. T. 2012. Cannabis - from cultivar to chemovar. *Drug Testing and Analysis*. 4 (4-7). 660-667.

Hazekamp, A. Et Heerdink, E. R. 2013. The prevalence and incidence of medicinal cannabis on prescription in The Netherlands. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 69 (8). 1575-80.

Hiltunen, A. J., Järbem, T. U., Kamkarm, M. R., Archer, T. 1989. Behaviour in rats maintained by low differential reinforcement rate: Effects of delta 1- tetrahydrocannabinol, cannabinol and cannabidiol, alone and in combination. *Neuropharmacology*. 28 (2). 183-189.

Howlett, A. C., Barth, F., Bonner, T. I., Cabral, G., Casellas, P., Devane, W. A., Felder, C. C., Herkenham, M., Mackie, K., Martin, B. R., Mechoulam, R., Pertwee, R. G. 2002. International union of pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacological Reviews*. 54 (2). 161-202.

Jahodář, L., Sovová, M., Fořtová, M. 2002. Cannabis sativa L. var. Indica – zdroj terapeuticky využitelných látek. *Solutio*. 1. 225-245.

Kalina, K., Adameček, A., Bartošíková, I., Bayer, D., Bém, P. 2003. Drogové závislosti 1 - mezioborový přístup. Úřad vlády České republiky. Praha. 320 s. ISBN: 80-86734-05-6.

Knight, G., Hansen, S., Connor, M., Poulsen, H., McGovern, C., Stacey, J. 2010. The results of an experimental indoor hydroponic Cannabis growing study, using the 'Screen of Green' (ScrOG) method-Yield, tetrahydrocannabinol (THC) and DNA analysis. *Forensic Science International*. 202 (1-3). 36-44.

- Kršiak, M. 2012. Farmakologie kanabinoidů. *Revue České lékařské akademie*. 8. 5-7.
- Kubánek, V. 2009. Konopí a mák (pěstování, výroby, legislativa). Tribun EU s.r.o. Brno. 155 s. ISBN: 978-80-7399-895-0.
- Marco, E. M., Viveros, M. P. 2009. The critical role of the endocannabinoid system in emotional homeostasis: avoiding excess and deficiencies. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 9 (12). 1407–1415.
- Martin, A. L. 2012. Smoke signals. A social history of marijuana - Medical, recreational and scientific . Scribner. New York. 528 p. ISBN: 978-1-4391-0261-9.
- Matsuda, L. A., Lolait, S. J., Brownstein, M. J., Young, A. C. Et Bonner, T. I. 1990. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*. 346 (6284). 561-564.
- McLaren, J., Swift, W., Dillon, P., Allsop, S. 2008. Cannabis potency and contamination: a review of the literature. *Addiction*. 103 (7). 1100-9.
- McPartland, J. M., Glass, M., Pertwee, R. G. 2007. Meta-analysis of cannabinoid ligand binding affinity and receptor distribution: interspecies differences. *British Journal of Pharmacology*. 152 (5). 583-93.
- Mediavilla, V., Steinemann, S. 1997. Essential oil of *Cannabis sativa* L. strains. *Journal of the International Hemp Association*. 4 (2). 82–84.
- Mechoulam, R., Ben-Shabat, S. 1999. From gan-zi-gun-nu to anandamide and 2 - arachidonoylglycerol: the ongoing story of Cannabis. *Natural Product Reports*. 16 (2). 131-143.
- Mechoulam, R., Hanuš, L. O. 2000. A historical overview of chemical research on cannabinoids. *Chemistry and Physics of Lipids*. 108(1–2): 1–13.
- Meiri, E., Jhangiani, H., Vredenburg, J. J., Barbato, L. M., Carter, F. J., Yang, H. M., Baranowski, V. 2007. Efficacy of dronabinol alone and in combination with ondansetron versus ondansetron alone for delayed chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Current Medical Research and Opinion*. 23(3). 533-543.

Miovský, M., Blaha, T., Dědičová, M., Dvořáček, J., Gabrhelík, R., Gabrielová, H., Gajdošíková, H., Hanuš, L. O., Horáček, J., Krmenčík, P., Kubů, P., Miovska, L., Ouštěcká-Neradová, A. B., Nerad, J. M., Radimecký, J., Ruman, M., Sivek, V., Šejvl, J., Šulcová, A., Vacek, J., Vopravil, J., Vorel, F., Záborský, T. 2008. Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium. Grada. Praha. 533 s. ISBN: 978-802-4708-652.

Morimoto, S., Komatsu, K., Taura, F. Et Shoyama, Y. 1998. Purification and characterization of cannabichromenic acid synthase from Cannabis sativa. *Phytochemistry*. 49 (6). 1525-1529.

Nahas, G. G., Sutin, K. M., Harvey, D. J., Agurell, S. 1999. *Marihuana and medicine*. Humana Press. Totowa, New Jersey. 826 p. ISBN: 978-0-89603-593-5.

Pacher, P., Bátkai, S., Kunos, G. 2006. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacology Reviews*. 58 (3). 389-462.

Pellegrini, M., Marchei, E., Pacifici, R. Pichini, S. 2005. A rapid and simple procedure for the determination of cannabinoids in hemp food products by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 36 (5). 939-46.

Pertwee, R. G. 2007. Cannabinoids and Multiple Sclerosis. *Molecular Neurobiology*. 36. 45-59.

Pertwee, R. G. 1997. Pharmacology of cannabinoid cb1 and cb2 receptors. *Pharmacology and Therapeutics*. 74 (2). 129-180.

Pertwee, R. G., Howlett, A. C., Abood, M. E., Alexander, S. P. H., Di Marzo, V., Elphick, M. R., Greasley, P. J., Hansen, H. S., Kunos, G., Mackie, K., Mechoulam, R. a Ross, R. A. 2010. International union of basic and clinical pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: Beyond CB1 and CB2. *Pharmacology Reviews*. 62 (4). 588-631.

Rätsch, Ch. 2012. *Marihuana jako lék: etnomedicína, užívání a recepty na léčení konopím*. Fontána. Olomouc. 240 s. ISBN: 978-80-7336-703-9.

Reggio, P. H., Seltzman, H. H., Compton, D. R, Prescott, W. R. Jr, Martin, B. R. 1990. Investigation of the role of the phenolic hydroxyl in cannabinoid activity. *Molecular Pharmacology*. 38 (6). 854-862.

Robinson, R. 2008. *Velká kniha o konopí*. Volvox Globator. Praha. 261 s. ISBN: 80-720-7046-0.

- Robinson, R. 2004. Velká kniha o konopí. 3. vyd. Volvox Globator. Praha. 280 s. ISBN: 80-720-7532-2.
- Robinson, R. 1998. Konopný manifest. Volvox Globator. Praha. 111 s. ISBN: 80-7207-146-7.
- Rosenthal, E. 2011. The big book of buds, volume 4: Marijuana varieties from the World's great seed breeders . Quick American Archives. USA. 240 s. ISBN: 978-0932551481.
- Ross, S. A., ElSohly, M. A. 1995. Constituents of Cannabis sativa L. XXVIII. A review of the natural constituents: 1980 – 1994. Zagazig Journal of Pharmaceutical Science. 4 (2). 1 – 10.
- Ruman, M. 2014. Cannabis - konopí: Průvodce světem univerzální rostliny. Malý princ. Praha. 306 s. ISBN 978-80-87754-13-9.
- Russo, E. B., Jiang, H. E., Li, X., Sutton, A., Carboni, A., Del Bianco, F., Mandolino, G., Potter, D. J., Zhao, Y. X., Bera, S., Zhang, Y. B., Lu, E. G., Ferguson, D. K., Hueber, F., Zhao, L. C., Liu, C. J., Wang, Y. F. Li, C. S. 2008. Phytochemical and genetic analyses of ancient Cannabis from Central Asia. Journal of Experimental Botany. 59 (15). 4171-82.
- Solinas, M., Tanda, G., Justinova, Z., Wertheim, C. E., Yasar, S., Piomelli, D., Vadivel, S. K., Makriyannis, A., Goldberg, S. R. 2007. The endogenous cannabinoid anandamide produces  $\delta$ -9-tetrahydrocannabinol-like discriminative and neurochemical effects that are enhanced by inhibition of fatty acid amide hydrolase but not by inhibition of anandamide transport. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 321 (1). 370-380.
- Stafford, P. 1997. Encyklopedie psychedelických látek. Volvox Globator. Praha. 496 s. ISBN: 80-7207-057-6.
- Toonen, M., Ribot, S., Thissen, J. 2006. Yield of illicit indoor cannabis cultivation in The Netherlands. Journal of Forensic Science. 51 (5). 1050 - 1054.
- Turner, C. E., Elsohly, M. A. Et Boeren, E. G. 1980. Constituents of Cannabis-Sativa L. XVII. A review of the natural constituents. Journal of Natural Products. 43 (2). 169-234.
- Taura, F., Morimoto, S., Shoyama, Y., Mechoulam, R. 1995. First Direct Evidence for the Mechanism of delta (1) - tetrahydrocannabinolic Acid Biosynthesis. Journal of the American Chemical Society. 117 (38). 9766-9767.



Taura, F., Tanaka, S., Taguchi, C., Fukamizu, T., Tanaka, H., Shoyama, Y., Morimoto, S. 2009. Characterization of olivetol synthase, a polyketide synthase putatively involved in cannabinoid biosynthetic pathway. *FEBS Letters*. 583 (12). 2061-2066.

Tošovská, M., Buchtová, I. 2006. Situační a výhledová zpráva: Len a konopí 2006. Ministerstvo zemědělství České republiky. Praha. 38 stran. ISBN: 80-7084-520-1. ISSN: 1211-7692.

Turner, C. E., Elsohly, M. A., Boeren, E. G. 1980. Constituents of Cannabis-Sativa L. XVII. A Review of the Natural Constituents. *Journal of Natural Products*. 43 (2). 169-234.

UNODC (United Nations office on drugs and crime). 2009. Recommended methods for the identifications and analysis of cannabis and cannabis products . United Nations. New York. 50 p. ISBN: 978-92-1-148242-3.

Vanhove, W., Surmont, T., Van Damme, P., De Ruyver, B. 2012. Yield and turnover of illicit indoor cannabis (*Cannabis* spp.) plantations in Belgium. *Forensic Science International*. 220 (1-3). 265-270.

Varvel, S. A., Bridgen, D. T., Tao, Q., Thomas, B. F., Martin, B. R., Lichtman, A. H. 2005. Delta (9) - Tetrahydrocannabinol Accounts For The Antinociceptive, Hypothermic, And cataleptic effects of marijuana in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 314 (1). 329-337.

Zias J., Stark, H., Sellgman, J., Levy, R., Werker, E., Breuer, A., Mechoulam, R. 1993. Early medical use of Cannabis. *Nature*. 363 (6426). 215.

Zimmerová, L., Morgan, E. J. P. 2003. Marihuana: mýty a fakta. Volvox Globator. Praha. 242 s. ISBN 80-7207-463-6.

### **Internetové zdroje:**

TGA Subcool seeds. The art of cannabis [online]. 28. března 2016. [cit. 2016-03-30]. Dostupné z <<http://www.tgagenetics.com/>>.

Leafly. The World's Cannabis Information Resources [online]. 2. dubna 2016. [cit. 2016-04-03]. Dostupné z <<https://www.leafly.com/>>.

Seed Finder [online]. 2016. [cit. 2016-02-21]. Dostupné z <<http://en.seedfinder.eu/>>

## **10 Seznam příloh**

Příloha č. 1: Obrázkové přílohy .....	52
Příloha č. 2: Vyhláška č. 236/2015 Sb. ....	55

## 11 Seznam grafů, obrázků a tabulek

### Grafy

Graf č. 1: Výnos odrůd (g) v pěstebních cyklech .....	31
Graf č. 2: Průměrný výnos květenství jednotlivých odrůd .....	32
Graf č. 3: Průměrný obsah THC (%) v květenství rostlin v jednotlivých odrůdách.....	32
Graf č. 4: Průměrný obsah CBD (%) v květenství rostlin v jednotlivých odrůdách .....	33
Graf č. 5: Obsah THC (%) v květenství rostlin v pěstebních cyklech.....	34
Graf č. 6: Obsah CBD (%) v květenství rostlin v pěstebních cyklech.....	34

### Obrázky

Obrázek č. 1: Druhy konopí.....	11
Obrázek č. 2: Strukturní vzorec THC .....	17
Obrázek č. 3: Strukturní vzorec CBD .....	18
Obrázek č. 4: Strukturní vzorec CBN .....	18
Obrázek č. 5: Strukturní vzorec karyofylen oxidu.....	20
Obrázek č. 6: Sušené květenství .....	28
Obrázek č. 7: Plynový chromatograf s plamenově ionizačním detektorem .....	29
Obrázek č. 8: Standardní roztok THC v methanolu.....	30
Obrázek č. 9: Odrůda Nurse Jackie .....	52
Obrázek č. 10: Odrůda Conspiracy Kush .....	52
Obrázek č. 11: Odrůda Jillybean.....	53
Obrázek č. 12: Odrůda Jack Skellington .....	53
Obrázek č. 13: Odrůda Jack Cleaner 2 .....	54
Obrázek č. 14: Odrůda Nordle .....	54

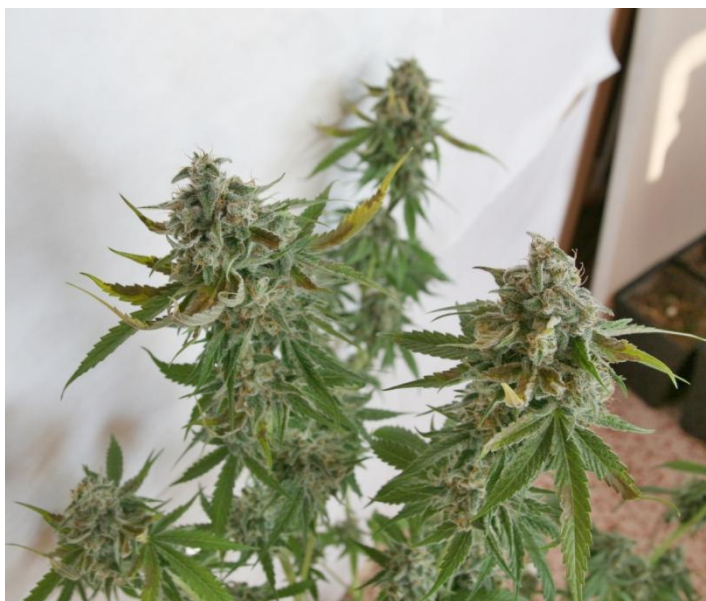
### Tabulky

Tabulka č. 1: Charakteristika zkoumaných kultivarů konopí .....	26
Tabulka č. 2: Podmínky analýzy.....	28
Tabulka č. 3: Množství použitých chemikálií pro přípravu kalibrační křivky .....	29

**Příloha č. 1: Obrázkové přílohy**



**Obrázek č. 9:** Odrůda Nurse Jackie (Anežka Janatová, 2015)



**Obrázek č. 10:** Odrůda Conspiracy Kush (Anežka Janatová, 2015)



**Obrázek č. 11:** Odrůda Jillybean (Anežka Janatová, 2015)



**Obrázek č. 12:** Odrůda Jack Skellington (Anežka Janatová, 2015)



**Obrázek č. 13:** Odrůda Jack Cleaner 2 (Anežka Janatová, 2015)



**Obrázek č. 14:** Odrůda Nordle (Anežka Janatová, 2015)

**236****VYHLÁŠKA**

ze dne 4. září 2015

**o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití**

Ministerstvo zdravotnictví a Ministerstvo zemědělství, po projednání s Ministerstvem obrany, Ministerstvem vnitra, Ministerstvem spravedlnosti a Ministerstvem financí stanoví podle § 114 zákona č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech), ve znění zákona č. 50/2013 Sb. a zákona č. 70/2013 Sb., k provedení § 77 odst. 1 písm. g), § 79 odst. 2, § 79 odst. 8 písm. a), § 79a odst. 1 a § 80 zákona o léčivech:

**§ 1****Předmět úpravy**

Tato vyhláška upravuje pravidla správné distribuční praxe konopí pro léčebné použití a podmínky předepsání, přípravy, výdeje a použití individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití.

**§ 2****Druhy konopí pro léčebné použití a stanovení množstevního omezení**

(1) Pro předepsání, přípravu, výdej a použití individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití lze použít pouze druhy konopí pro léčebné použití stanovené v příloze č. 1 k této vyhlášce, a to v souhrnném množství nejvýše 180 g sušené rostlinné drogy měsíčně.

(2) Pro přípravu individuálně připravovaného léčivého přípravku lze použít pouze konopí pro léčebné použití podle odstavce 1, které splňuje kritéria stanovená v příloze č. 2 k této vyhlášce.

(3) Jakost konopí pro léčebné použití pro přípravu léčivých přípravků musí být doložena před-

ložením dokladu o ověření jakosti léčivé látky vydaného v Evropské unii

- a) výrobcem léčivých přípravků, který je oprávněn ke kontrole léčivých látek,
- b) výrobcem léčivých látek, který je držitelem platného certifikátu správné výrobní praxe při výrobě léčivých látek, nebo
- c) laboratoří, která splňuje požadavky správné výrobní praxe stanovené Evropskou komisí a Evropskou lékovou agenturou a splnění požadavků správné výrobní praxe doloží platným certifikátem správné výrobní praxe nebo protokolem o kontrole vydaným inspektory příslušného orgánu daného členského státu; takový protokol o kontrole nesmí být starší 3 let.

**§ 3****Značení konopí pro léčebné použití**

Konopí pro léčebné použití určené pro přípravu individuálně připravovaného léčivého přípravku musí být na obalu označeno podle charakteristik uvedených v příloze č. 1 k této vyhlášce. Pro označení individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití podle § 2 se použije vyhláška o správné lékařské praxi<sup>1)</sup>.

**§ 4****Předepisování individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití**

(1) Individuálně připravovaný léčivý přípravek s obsahem konopí pro léčebné použití podle § 2 může při poskytování zdravotních služeb předepisovat v indikacích uvedených v příloze č. 3 k této vy-

<sup>1)</sup> Vyhláška č. 84/2008 Sb., o správné lékařské praxi, bližších podmínkách zacházení s léčivy v lékárnách, zdravotnických zařízeních a u dalších provozovatelů a zařízení vydávajících léčivé přípravky, ve znění vyhlášky č. 254/2013 Sb.

hláše pouze lékař se specializovanou způsobilostí stanovenou v této příloze, a to pouze pacientům, kteří dosáhli 18 let věku.

(2) Předepisující lékař je povinen uvést na receptu obecné náležitosti stanovené vyhláškou o způsobu předepisování léčivých přípravků<sup>2)</sup>, dávkování individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití podle § 2 a cestu podání. Dále je lékař povinen na receptu uvést

- a) druh konopí pro léčebné použití,
- b) procentuální obsah delta-9-tetrahydrocannabinolu a
- c) procentuální obsah cannabidiolu.

(3) Připravovaný léčivý přípravek s obsahem konopí pro léčebné použití podle § 2 lze předepsat na jeden recept nejvýše v množství odpovídajícím dávce pro zajištění jednoměsíční léčby pro danou indikaci.

#### § 5

##### **Výdej individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití**

Individuálně připravovaný léčivý přípravek s obsahem konopí pro léčebné použití může být vy-

dán jen v případě, že je předepsán na platný elektronický recept, který obsahuje náležitosti podle § 4 odst. 2.

#### § 6

##### **Závěrečné ustanovení**

Tato vyhláška byla oznámena v souladu se směrnicí Evropského parlamentu a Rady 98/34/ES ze dne 22. června 1998 o postupu při poskytování informací v oblasti norem a technických předpisů a předpisů pro služby informační společnosti, v platném znění.

#### § 7

##### **Zrušovací ustanovení**

Vyhláška č. 221/2013 Sb., kterou se stanovují podmínky pro předepisování, přípravu, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití, se zrušuje.

#### § 8

##### **Účinnost**

Tato vyhláška nabývá účinnosti třicátým dnem ode dne jejího vyhlášení.

Ministr zdravotnictví:

MUDr. Němeček v. r.

Ministr zemědělství:

Ing. Jurečka v. r.

<sup>2)</sup> Vyhláška č. 54/2008 Sb., o způsobu předepisování léčivých přípravků, údajích uváděných na lékařském předpisu a o pravidlech používání lékařských předpisů, ve znění pozdějších předpisů.



Příloha č. 1 k vyhlášce č. 236/2015 Sb.

**Druhy konopí pro léčebné použití**

<b>Povinně uváděný údaj</b>	<b>Charakteristika / přípustné hodnoty</b>
Druh konopí	Cannabis indica L. <i>nebo</i> Cannabis sativa L.
Obsah $\Delta$ -9-THC (delta-9-tetrahydrocannabinol)	Vyjádřený obsah v procentech v rozmezí 0,3 % - 21,0 %. Faktický obsah $\Delta$ -9-THC v konopí pro léčebné použití se nesmí odchýlit o více než $\pm 20$ % pěstitelem uváděné hodnoty.
Obsah CBD (cannabidiol)	Vyjádřený obsah v procentech v rozmezí 0,1 % - 19,0 %. Faktický obsah CBD v konopí pro léčebné použití se nesmí odchýlit o více než $\pm 20$ % pěstitelem uváděné hodnoty.

Příloha č. 2 k vyhlášce č. 236/2015 Sb.

## Kritéria pro konopí pro léčebné použití

Parametr	Metoda	Limit
<i>Totožnost</i>		
Makroskopický popis	Vizuální	Celá nebo nařezaná usušená vrcholičnatá květenství tmavě zelené, šedozelené až hnědozelené barvy složená do hustých klasů. Drobné květy jsou obaleny listeny, porostlými z horní strany žláznatými chlupy.
TLC <sup>a)</sup>	ČL <sup>b)</sup> 2.2.27	vizuální hodnocení
<i>Zkoušky na čistotu</i>		
Cizí příměsi	ČL 2.8.2	max. 2 %
Ztráta sušením	ČL 2.2.32	max. 10,0 %
Zbytky pesticidů	ČL 2.8.13	Odpovídající limitům uvedeným v ČL 2.8.13
Těžké kovy	ČL 2.4.27	Pb – max. 5,0 µg/g Cd – max. 1,0 µg/g Hg – max. 0,1 µg/g
Aflatoxiny - Aflatoxin B <sub>1</sub> - Celkový obsah aflatoxinů B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> a G <sub>2</sub>	ČL 2.8.18	max. 2 µg/kg  max. 4 µg/kg
Mikrobiologická jakost ČL 5.1.4	ČL 2.6.12 a 2.6.13	max. 10 <sup>3</sup> CFU <sup>e)</sup> /g

- TAMC <sup>c)</sup> - TYMC <sup>d)</sup>		max. 10 <sup>2</sup> CFU/g
Rozkladné produkty - cannabinol	HPLC <sup>f)</sup> – ČL 2.2.29	max. 1 %
Obsah		
- THC (DELTA-9-tetrahydrocannabinol) - CBD (cannabidiol)	HPLC – ČL 2.2.29	± 20 % deklarovaného obsahu THC nebo CBD

**Vysvětlivky:**

- a) Tenkovrstvá chromatografie.
- b) Český lékopis.
- c) Celkový počet aerobních mikroorganismů.
- d) Celkový počet kvasinek/plisní.
- e) Kolonie tvořící jednotka/y
- f) Vysokoučinná kapalinová chromatografie.

**Indikace a specializovaná způsobilost předepisujícího lékaře**

<i>Indikace</i>	<i>Specializovaná způsobilost lékaře</i>
chronická neutišitelná bolest (zejména bolest v souvislosti s onkologickým onemocněním, bolest spojená s degenerativním onemocněním pohybového systému, systémovým onemocněním pojiva a imunopatologickými stavy, neuropatická bolest, bolest při glaukomu)	klinická onkologie radiační onkologie neurologie paliativní medicína léčba bolesti revmatologie ortopedie infekční lékařství vnitřní lékařství oftalmologie dermatovenerologie geriatrie
spasticita a s ní spojená bolest u roztroušené sklerózy nebo při poranění míchy, nebolestivá úporná spasticita zásadním způsobem omezující pohyb a mobilitu, nebo dýchání pacienta, mimovolné kinézy způsobené neurologickým onemocněním a další zdravotní komplikace, mající původ v neurologickém onemocnění, nebo úrazu páteře s poškozením míchy, či úrazu mozku, neurologický třes způsobený Parkinsonovou chorobou a další neurologické potíže dle zvážení ošetřujícího lékaře	neurologie geriatrie
nauzea, zvracení, stimulace apetitu v souvislosti s léčbou onkologického onemocnění nebo s léčbou onemocnění HIV	klinická onkologie radiační onkologie infekční lékařství dermatovenerologie geriatrie
Gilles de la Tourette syndrom	psychiatrie

---

povrchová léčba dermatóz a slizničních lézí	dermatovenerologie infekční lékařství geriatrie
---	---