

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra rostlinné výroby



**Antimikrobiální aktivita konopného extraktu u patogenů
způsobujících onemocnění kůže**

Diplomová práce

**Autor práce: Bc. Štěpán Pařízek
Obor studia: AMVV**

Vedoucí práce: Ing. Adéla Fraňková, Ph.D.

© 2016/2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci na téma Antimikrobiální aktivita konopného extraktu u patogenů způsobujících onemocnění kůže jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 18.4.2017

Bc. Štěpán Pařízek

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval především Ing. Anežce Janatové a Ing. Adéle Fraňkové, Ph.D., za neochvějnou trpělivost, rodině za velkou podporu a všem přátelům za příjemné rozptylování při psaní diplomové práce.

Antimikrobiální aktivita konopného extraktu u patogenů způsobujících zánětlivá onemocnění kůže

Souhrn:

Choroby vyvolané mikroby jsou v celosvětovém měřítku příčinou morbidit a ohrožení zdraví lidí. Přes nesporný globální přínos antibiotik se lze v dnešní době stále častěji setkávat s výskytem infekcí způsobených bakteriemi rezistentními k antibiotikům. Lze to přisuzovat dlouhodobě zvýšené spotřebě antibiotik, ale především jejich nevhodným užíváním. Vývoj syntetických antibakteriálních léčiv v posledních desetiletích výrazně stagnuje, navíc tato antibiotika ničí v těle i pro člověka důležité bakterie. Tato skutečnost vyvolává silnou potřebu hledat přírodní léčebné prostředky s podobnými nebo lepšími antimikrobiálními vlastnostmi. Je známo, že mnoho rostlin produkuje široké spektrum sekundárních metabolitů s antimikrobiálními účinky, které různými mechanismy působí inhibičně na růst a reprodukci patogenních mikroorganismů. Z prozkoumaných rostlinných léčiv se jeví jako vhodná alternativa antibiotik konopí, které je lidmi již velmi dlouho využíváno při mnoha onemocněních.

Tato práce se zaměřuje na antimikrobiální aktivitu extraktů ze šesti různých genotypů konopí. Extrakty s různým poměrem kanabinoidů byly testovány *in-vitro* mikrodiluční metodou na vybraných patogenech, způsobujících onemocnění kůže (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*).

Výsledky potvrdily antimikrobiální aktivitu všech testovaných extraktů. Velmi dobrá minimální inhibiční koncentrace byla vyhodnocena zejména u *Streptococcus spp.* s koncentrací 4 μg/ml. Nejlepší výsledky proti všem patogenům vykazovaly extrakty NHS4, JB3 a CK3 s minimální inhibiční koncentrací v rozsahu od 4 do 16 μg/ml. Pouze extrakty CK2, N3 a JC1 se jeví jako neúčinné (MIC >512 μg/ml), protože u nich nemohla být vyhodnocena inhibiční koncentrace.

Klíčová slova: antimikrobiální aktivita, konopný extrakt, léčebné konopí, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*

Antimicrobial activity of cannabis extract in pathogens causing skin disease

Summary :

Diseases caused by microbes are worldwide cause of morbidity and public health risks. Despite undisputed global benefits of antibiotics, the occurrence of infections caused by antibiotics-resistant bacteria becomes more frequent. This can be attributed to increased consumption of antibiotics in the long term, but also to their inappropriate use. Apart from that, progress in the field of synthetic antibacterial drugs research is dramatically stagnating in recent decades, plus the antibiotics have bad effects to many bacteria types beneficial to human body. This generates a strong need to seek for natural remedies with similar or better antimicrobial effects. It is known that many plants produce a wide range of secondary metabolites with antimicrobial effects. Such metabolites inhibit growth and reproduction of pathogenic microorganisms by various mechanisms. From explored herbal medicines hemp, traditionally used to cure many diseases, appears to be a suitable alternative to antibiotics.

This thesis focuses on the antimicrobial activity of extracts of six different cannabis genotypes. Extracts with different ratios of cannabinoids have been tested using *in vitro* microdilution method on selected pathogens, causing skin disease (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*).

Results confirmed the antimicrobial activity of all tested extracts. Very good minimum inhibitory concentration was assessed mainly for *Streptococcus spp.* with a concentration of 4 µg/ml. Extracts NHS4, JB3 and CK3 showed best results against all pathogens, with minimal inhibitory concentrations in the range from 4 to 16 µg/ml. Only extracts of CK2, N3 and JC1 have proven ineffective (MIC >512 µg/ml), because they could not be evaluated by the inhibitory concentration.

Keywords: Antimicrobial activity, hemp extract, medicinal cannabis, *Staphylococcus ssp.*, *Streptococcus ssp.*

1	ÚVOD	8
2	VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE	8
2.1	VĚDECKÁ HYPOTÉZA	8
2.2	CÍLE PRÁCE	8
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	9
3.1.1	<i>Botanická charakteristika rostliny</i>	9
3.2	HISTORIE KONOPÍ	10
3.3	LÉČEBNÉ KONOPÍ	13
3.4	LEGISLATIVA LÉČEBNÉHO KONOPÍ	15
3.5	BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY	16
3.5.1	<i>Terpeny</i>	16
3.5.2	<i>Kanabinoidy</i>	19
3.5.3	<i>Antimikrobiální aktivita konopných extraktů</i>	22
3.6	BAKTERIÁLNÍ REZISTENCE	24
3.7	KOŽNÍ ONEMOCNĚNÍ	25
3.7.1	<i>Staphylococcus aureus (SA)</i>	25
3.7.2	<i>Streptococcus pyogenes (SP)</i>	27
3.7.3	<i>Candida albicans (CA)</i>	28
3.7.4	<i>Léčba kožních onemocnění konopím</i>	28
3.7.5	<i>Nejvýznamnější bakteriální onemocnění kůže</i>	29
4	MATERIÁL A METODY	29
4.1	CHEMIKÁLIE A BIOLOGICKÝ MATERIÁL	30
4.1.1	<i>Příprava extraktů</i>	30
4.1.2	<i>Příprava zásobní koncentrace extraktů</i>	30
4.2	MIKRODILUČNÍ METODA	30
4.2.1	<i>Popis jednotlivých odrůd 1-7</i>	31
5	VÝSLEDKY	33
6	DISKUSE	35
7	ZÁVĚR	36
8	LITERÁRNÍ ZDROJE	37
8.1	SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY	45
8.2	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	46
8.3	SEZNAM OBRÁZKŮ	48
8.4	SEZNAM TABULEK	48
8.5	SEZNAM SAMOSTATNÝCH PŘÍLOH	48

1 Úvod

Dnešní poměrně rychlá doba s sebou přináší množství civilizačních onemocnění, neléčitelných chorob a také alergií. Mnoho léků má také nežádoucí vedlejší účinky, které poškozují či oslabují orgány a zatěžují jejich funkčnost. Tento trend spojený s oslabenou imunitou a přímým stykem s chemikáliemi podporuje vznik alergií, astmat, nebo bolestí hlavy, kožních chorob, vyrážek, výsyp a v neposlední řadě atopických exémů, které trápí značné množství dnešní populace již od dětství. Některé medikamenty postupně ztrácí účinnost pro jejich opakované, v mnoha případech i zbytečné nasazování. Pacient se nemusí setkat s lékem, který je nejúčinnější, ale který je nejpropagovanější. Zvláště toto platí o předepisování antibiotik, které by měly být až na posledním místě. S větší informovaností veřejnosti a důrazem na zdravější životní styl začíná být zájem o přírodní medikamenty bez chemických přísad a reziduí čím dál tím vyšší a přírodní léčivé produkty se dostávají opět do popředí. Dle nových poznatků je možné velké množství zdravotních problémů řešit použitím léčebného konopí, využitelného na mnoho druhů obtíží a známého pro svou rozmanitou biologickou aktivitu. I přes částečné nepochopení a odsuzování konopí si člověk k této jedinečné rostlině vždy našel cestu a začal opět využívat její široké spektrum působení. I ve dvacátém prvním století je konopí považováno za velice kontroverzní rostlinu, zejména pro svůj statut nejrozšířenější lehké drogy. Nyní začíná být čas i prostor využít jeho farmakologický potenciál. Je ale důležité vědět, že konopí neléčí každého a neléčí vždy.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

2.1 Vědecká hypotéza

Předpokládá se, že extrakty z konopí s vysokým obsahem kanabinoidů budou vykazovat antimikrobiální aktivitu proti patogenům, způsobujících onemocnění kůže.

2.2 Cíle práce

Cílem diplomové práce je popsat problematiku léčebného konopí a ověřit jeho možné antibakteriální účinky. Dále se zaměří na specifikaci antibakteriálních látek v konopí a popíše nejvýznamnější patogeny, způsobující onemocnění kůže.

Cílem experimentální části diplomové práce je ověřit antimikrobiální aktivitu 9 vybraných konopných extraktů s různým poměrem hlavních kanabinoidů (THC, CBD) proti vybraným druhům patogenů, způsobujících onemocnění kůže.

3 Literární přehled

3.1.1 Botanická charakteristika rostliny

Konopí je jednoletá dvouděložná rostlina opylovaná převážně větrem. Patří spolu s chmelem otáčivým (*Humulus lupulus L.*) do čeledi konopovité (*Cannabaceae*), i když byla v minulosti přiřazována do čeledi kopřivovité (*Urticaceae*). Je rozšířena po celém světě, zejména kvůli její vysoké schopnosti adaptovat se na různé podmínky prostředí, avšak původem pochází z centrální Asie. V oblastech s teplejším podnebím může být i víceletá. Převažuje u ní dvoudomost, ačkoli jednodomí jedinci se samčím i samičím květenstvím, tak zvaní hermafroditi se také vyskytují. Samčí rostliny jsou obvykle vyšší, štíhlejší a dříve dozrávají, jejich konstituce je spíše robustnější. (Dupal, 2004).

Kořenový systém charakterizují dlouhé, kolmé, ke koncům zužující se kořeny křulovitěho tvaru. Stonek konopí je přímá lodyha o délce cca 4 metrů. Vzrostlá rostlina konopí má v 7 - 15 internodií. V závislosti na druhu bývá stonek většinou čtyřhranný nebo šestihřanný, někdy až rýhovaný, přičemž v dolní části zůstává kulatý. Dlanitě dělené listy obvykle nesou tři až třináct lístků a mají pilovitou čepel s krátkými až středně dlouhými řapíky a vytrvalými palisty. Listy rostlin při dozrávání odspodu k vrcholu žloutnou a odpadávají. Samčí rostliny tvoří krátké úžlabní květenství, které je seskupeno na dosti dlouhých stopkách vyrůstajících z úžlabí listů. Každý kvítek je složen z pěti žluto-zelených květních šupinek a pěti tyčinek. Samčí rostliny kvetou 20 – 25 dnů a v době plného kvetení vytvářejí značné množství pylu, které vítr dokáže roznést na vzdálenost 10 – 12 kilometrů (Miovský, 2008).

Květy samičích rostlin mají svrchní semeník s jedním vysunutým vajíčkem a dvěma dlouhými nitkovitými bliznami. Rozložení květů je v horní části rostliny v několika vrstvách, v podobě krátkých složených hroznů. Květ je částečně obalen podpůrným listenem porostlým žlaznatými chloupky (trichomy) viz. obrázek č. 1 . Rostlina v nich tvoří lepkavou pryskyřici, která se v malých kapičkách hromadí na hrotu každého trichomu (Hazeckamp, 2014).



Obrázek č. 1: Trichomy konopí (Vandermeer, 2009).

Trichomy jsou také přítomny na listech, listenech a spodní straně prašníkových váčků samčích květenství. Plodem konopí je jednosemenná vejčitá nažka (semeno) s malým obsahem endospermu a s velkým podkovovitě zakrouceným klíčkem. Barva může být šedozelená, tmavohnědá až černá s jemným mramorováním. Hmotnost tisíce semen (HTS) činí 8 -26 gramů podle odrůdy (Miovský, 2008).

3.2 Historie konopí

Konopí patří k nejstarším kulturním rostlinám, pěstovaným v samých počátcích zemědělství, kdy tato rostlina začala zaplevelovat úrodnější plochy v okolí neolitických sídel, tábořišť, stezek či rumišť. Patřilo také k nejstarším užívaným látkám sloužícím k léčebným účelům a k vyvolání změněných stavů vědomí. Podle Miovského (2008) se nejstarší známé důkazy o použití konopí datují do období okolo 10 tisíc let př. n. l. a pocházejí z oblasti jihovýchodní Asie z ostrova Tchaj – wanu. Číňané využívali pevná vlákna konopí k výrobě šatů, sítí na lovení ryb a tvorbě primitivních nástrojů.

Dále byla využívána semena konopí jako zdroj potravy příjemné nasládlé chuti, připomínající olivový olej a ceněna pro svůj vysoký obsah tuků (25 - 34 %) a stravitelných bílkovin (22 - 25 %) (Dupal, 2004).

První známou zmínku o medicínském využití konopí lze nalézt ve staré lékařské knize tradiční čínské medicíny publikované roku 4700 př. n. l., připisované císaři Šen – Nungovi. Tato kniha (Obrázek č. 2) byla sepsána roku 2737 př. n. l., popisuje užívání 365 léků, mezi nimiž samozřejmě nechybí ani konopí, jež se čínsky nazývá *Ma* (麻) (Ruman a kol., 2008).



Obrázek č. 2 : Nejstarší lékopis starý asi 4700 let, Pen Ts'ao Ching, připisovaný mytologickému čínskému císaři Šen Nungovi (Ruman a kol., 2008).

Konopí bylo doporučeno užívat při revmatických bolestech, dně, duševní nepřítomnosti, zácpě, ženských onemocněních, roztržitosti a malárii. Malárii. Ve středomoří začaly národy poznávat konopí prostřednictvím obchodu s kočovnými kmenů Árijců, Mongolů a Skytů, které s Čínou sousedily. Skytové údajně pro jejich lepší relaxaci pálili konopná semínka v rozpálených kamnech při lázni a stáli za vynálezem kosy (scythe) určené pro sklizeň konopí. Indoíránské kmeny přinesly konopí do Indie před čtyřmi tisíci lety a konopí hrálo v jejich rituálech významnou úlohu na rozdíl od Číňanů, u kterých se silnými vlivy filosofie a moralistického náboženství užívání konopí téměř do dnešní doby vymizelo (Grotenhermen, 2009).

Árijci uctívali duše rostlin a zvířat a předávali si tyto tradice, kde konopí získalo důležitou pozici a stala se z něj posvátná rostlina používaná při rituálech i jako lék, jenž údajně snižoval horečku, posiloval spánek, prodlužoval život a bystřil myšlení a úsudek (Robinson, 2000).

V Indii se konopí začalo využívat k lékařským a náboženským účelům pravděpodobně 1000 let před naším letopočtem. Tehdejšími uživateli byly dobře známé psychoaktivní účinky konopí, které vykazovaly alespoň tři přípravky. Nejslabší typ (Bhang), složen ze suchého listí, z něhož jsou pečlivě odstraněny květy, silnější typ (Ganja) připraven z květů samičích rostlin a nejsilnější z nich (Charas), vyroben výhradně z pryskyřice, která pokrývá samičí květy (Clarke et. al, 1998).

V Africe měl na rozšíření užívání marihuany silný vliv islám, který uznával marihuanu pro její ochranné účinky při duševních a fyzických poruchách a na rozdíl od alkoholu kouření marihuany nezakazoval. Zde byl kult této rostliny hluboce zakořeněn. Jihoafričanům byla v lidovém lékařství známa i antibiotická a analgetická vlastnost konopí (Robinson, 2000).

V Americe bylo užívání látek s omamným účinkem, včetně konopí mezi domorodými šamany dokládáno na prakticky celém území. Šamani obvykle patří k nejzdravějším členům ve své populaci a jsou mnohými studii přirovnáváni ke skutečným léčitelům. Americká studie naznačovala velmi důležité paralely, zřetelně související se zdravím celého kmene a významným vlivem rostliny konopí. Ta byla pro svoje psychoaktivní účinky šamany používána k různým rituálům, ale také jako lék pro širokou škálu různých onemocnění celého kmene Apačů. Nejdůležitější metodou objevu tradičních rituálů a drog je pečlivé studium starých spisů a především komplexní výzkum lidových zvyků při terénních výzkumech mezi přírodními národy (Boyer, 1962).

V první polovině 20. století se používalo konopí jako prostředek na léčbu migrény, revmatismu, melancholie, hysterie, bolesti žaludku, hyperaktivity, nechutenství. Užívalo se především formou konopného másla nebo extraktu z listů a květenství. Vodný roztok se používal na zácpu, tuberkulózu a pro uspávání dětí. V České republice se používaly listy konopí jako obklad na záněty a s octem a jalovcem při bolesti hlavy (Zábranský, Hanuš, 2008).

Rozmach užívání konopí byl utlumen nástupem petrochemického průmyslu a nahrazováním přírodních látek syntetickými. Nyní nastává pro konopí opět lepší doba. Nedávno bylo otevřeno pracoviště pro výzkum pěstování léčebného konopí v Meclově na Domažlicku, které bude pracovat na vlastní odrůdě. Výzkum zajistí výběr, stabilizaci a podrobný popis genotypů konopí, odpovídající požadavkům ministerstva zdravotnictví. Česká republika by tak měla být minimálně závislá, na dovozu konopí pro léčebné účely, nebo plně soběstačná, což by mělo rostlinu výrazně zlevnit a mohla by se tak stát dostupnější pro české pacienty (Zuardi, 2006).

3.3 Léčebné konopí

Léčebný potenciál konopí, který byl kvůli nepříznivému dění ve světě téměř opomenut, se dostal do popředí zájmu opět v druhé polovině dvacátého století. Bylo již delší dobu známo, že konopí obsahuje vysoce účinné antimikrobiální látky a již v roce 1950 začal jeho výzkum. Systematický výzkum antibakteriálně účinných látek především v konopí indickém, začali důkladně zkoumat profesori Krejčí, Šantavý, Kabelík a kol. (1962).

Bylo zjištěno, že antibakteriální látky z listů konopí mají kyselý charakter. Z izolované látky se správnou strukturou byla připravena v podobě diacetylderivátu kyselina, která má zachovány antibakteriální vlastnosti vůči některým bakteriálním kmenům. Tato látka se podobala již dříve izolovanému cannabidiolu, proto byla v roce 1955 nazvána kyselinou kannabidiolovou. Mechanismus působení kanabinoidů byl pochopen až po prokázání existence kanabinoidních receptorů v roce 1988 a po objevení endogenního metabolitu v roce 1992, tedy anandamidu (AEA). Anandamid (v sanskrtu - věčná blaženost) izoloval Prof. RNDr. Lumír Ondřej Hanuš, DrSc. z Hebrejské university v Jeruzalémě v roce 1992. První výzkum s touto látkou poté provedli Fride a Mechoulam (1993) podáním anandamidu myším. (Grotenhermen, 2009).

Po tomto objevu byly realizovány další studie a pokusy s použitím výtažků z konopí i se syntetizovanými kanabinoidy. Například se syntetizovaným THC, coby látkou, které se přičítá výrazný analgetický efekt. Nakonec byla určena toxicita a místní snášenlivost těchto látek. Mnoho farmakologických účinků, především antibakteriálních, bylo zjištěno u surového izolovaného extraktu z *Cannabis indica*, na rozdíl od látek syntetizovaných. Je tedy pravděpodobné, že nositeli účinků vyvolaných extraktem z konopí jsou ještě další kanabinoidy, které dosud v čistém stavu izolovány nebyly. Je tudíž pravděpodobné, že surový extrakt z konopí obsahuje vyvážený soubor farmakologicky různě účinkujících látek, které mohou působit společně (synergicky) (Zábranský, Hanuš, 2008).

Konopný extrakt má potenciál zabírat tam, kde selhala všechna dosavadní antibiotika. Při léčebném užití je ovšem nutné brát v potaz celou řadu aspektů, závislých na typu bolesti, stáří jednotlivce a stupně onemocnění. Také záleží na kultivaru konopí a jeho konkrétních chemotypech, pěstebních podmínkách, zpracování a podobně (Dupal, 2004)

Významnou roli má také aplikace léčebného konopí. Prakticky nejrozšířenější z možných způsobů užívání je aplikace inhalační a perorální. Avšak i další aplikační cesty jsou důležité a mají svá pozitiva. Například zavedení čípků představuje dvakrát vyšší biologickou dostupnost, než při orální aplikaci (Touitou et. al, 1988).

Pro skupinu pacientů s narušenou imunitou je jednou z dalších méně nebezpečných forem aplikace konopí transdermálně. Konopí se tedy vstřebává přes neporušenou pokožku. Koncentruje se v horní vrstvě epidermis kolem vlasové folikuly, což naznačuje, že proniká kůží pomocí lipofilních drah. Primární výhodou tohoto léčebného postupu je snazší a pohodlnější aplikace, oproti orálnímu, intravenóznímu, rektálnímu nebo subkutánnímu podání léčebného produktu. Obecně platí, že transdermální rychlost vstřebávání léku se zvyšuje nebo snižuje v závislosti na nosiči a způsobu aplikace (Lodzki et. al., 2003).

Velký potenciál této aplikace ale spočívá v antiseptickém a protizánětlivém působení a schopnosti nepřerušovaného vstřebávání do krevního řečiště po dlouhou dobu. Metoda perkutánní absorpce THC a CBD ale prozatím nedosahuje požadovaného efektu. Konopný materiál se vstřebává v poměrně nedostatečné míře a příliš pomalu (Miovský, 2008).

3.4 Legislativa léčebného konopí

V České republice je konopí pro léčebné použití dekriminlizováno od roku 2013, na rozdíl například od Izraele, kde bylo léčebné konopí dekriminlizováno v roce 1993. Ač je konopí legalizováno v Čechách již 4 roky, je možné najít v právních předpisech stále mnoho nedostatků. Donedávna byl důvod špatné dostupnosti konopí českým pacientům zakotven v prováděcí vyhlášce č. 221/2013 Sb. k zákonu č. 50/2013 Sb., která upravovala podmínky předepsání, přípravy, výdeje a použití připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití. Vyhláška omezovala maximální měsíční dávku konopí na 30 g, což bylo pro většinu pacientů nedostatečné a neúčinné. K léčebnému použití byly povoleny pouze čtyři odrůdy konopí, které zajistila holandská firma Bedrocan. V červnu roku 2015 byla tato vyhláška novelizována a nabyla účinnosti dne 17. 10. 2015, pod číslem 236/2015 Sb., Hlavní změnou ve vyhlášce je navýšení maximální dovolené měsíční dávky z 30 na 180 gramů usušeného samičího květenství pro jednoho pacienta. Dále byl vyhláškou rozšířen počet indikací a odborných specializací lékařů. Konopí je v České republice dostupné výhradně na elektronický recept. Na předpisech léčebného konopí je stanoveno pouze množství THC a CBD (Tabulka č. 1) dvou genotypů, které povoluje státní ústav pro kontrolu léčiv (SUKL).

Tabulka č 1.: Druh konopí a procentuální obsah CBD a THC.

Povinný údaj	Druh konopí	Obsah THC / CBD	Přípustné hodnoty
Obsah Δ -9-THC (delta-9-tetrahydrocannabinol)	<i>Cannabis indica</i> L. / <i>Cannabis sativa</i> L.	0,3% - 21,0 %.	Faktický obsah Δ -9-THC v konopí se nesmí odchýlit o více jak \pm 20 % pěstitelem uváděné hodnoty.
Obsah CBD (cannabidiol)	<i>Cannabis indica</i> L. / <i>Cannabis sativa</i> L.	0,1% - 19,0 %	Faktický obsah CBD v konopí se nesmí odchýlit o více jak \pm 20 % pěstitelem uváděné hodnoty.

(Vyhláška č. 236/2015 Sb.).

3.5 Biologicky aktivní látky

Konopí obsahuje rozsáhlou škálu biologicky aktivních látek, které zahrnují kromě primárních metabolitů, jako jsou cukry, tuky a bílkoviny i specifické sekundární metabolity. Sekundární metabolity zahrnují kanabinoidy, terpeny, enzymy, glykoproteiny, alkoholy, aldehydy, jednoduché kyseliny, ketony, mastné kyseliny, fenoly, flavonoidy, a další (ElSohly et Slade, 2005).

Z těchto látek představují terpeny a kanabinoidy nejdůležitější látky z rostliny konopí. Uvádí se, že se tyto látky kromě antioxidačních, protialergických, protizánětlivých, protinádorových, protinisektrických účinků vyznačují také antimikrobiálními vlastnostmi a působí stimulačně na imunitní systém. Vzhledem k jejich nízké molekulové hmotnosti a rozpustnosti v tucích mohou velmi rychle pronikat buněčnými membránami a dostat se tak bez obtíží k postiženému místu uvnitř organismu. Jejich biologická rozložitelnost je velmi dobrá, což představuje nízkou toxicitu pro lidský organismus a omezení reziduí v přírodě (Holland et al., 2014).

3.5.1 Terpeny

Terpeny jsou přírodní sloučeniny převážně rostlinného původu. Modulují fyzický i psychický účinek jednotlivých odrůd konopí na člověka a jsou odpovědné za nezaměnitelnou chuť a vůni konopí. Dosud bylo v konopí určeno celkem 200 druhů různých terpenů, z nichž se většina vyskytuje v hojném množství také v jiných rostlinách (Mediavilla et Steinemann, 1997).

Hlavními zástupci v konopí jsou monoterpeny a seskviterpeny. Monoterpeny, tvořeny spojením dvou izopropenových jednotek, jsou obecně nejvíce zastoupenými molekulami v silicích, kde představují asi 80 – 90 %. Monoterpen *m-mentha-1,8(9)-dien-5-ol* je však jediným terpenem, který byl identifikován pouze v rostlině konopí. Seskviterpeny se svými vlastnostmi podobají monoterpenům, jsou však tvořeny třemi isopropenovými jednotkami. Ve srovnání s monoterpeny jsou seskviterpeny méně těkavé, při sušení rostlin tedy dochází k výraznějším ztrátám monoterpenů než seskviterpenů. I proto je seskviterpen karyofylen oxid používán jako signální pach při trénování psů na vyhledávání drog. Jsou známy i ty terpeny vykazující farmakologickou účinnost (Brown, 2015).

3.5.1.1 Nejvýznamnější terpeny v konopí

Pinen

Pinen je nejčastější přirozeně se vyskytující terpenoid v rostlinách a je zodpovědný za borovou chuť i u mnoha dalších druhů rostlin. Pinen je bronchodilatační a má analgetické, protizánětlivé, antioxidační účinky a antibakteriální účinky. Russo (2011) uvádí, že mezi terpenoidy je pinen hlavní složkou, stejně účinnou jako vankomycin a další činidla, proti methicilin-rezistentnímu *Staphylococcus aureus* s minimální inhibiční koncentrací (MIC) 125 mg/ml⁻¹ (Giese et. al., 2015).

Linalool

Linalool má květinovou vůni s kořeněným podtextem a má analgetické, antidepresivní, anti-epileptické, protizánětlivé, anti-psychotické, anxiolytické a sedativní účinky. Jeho minimální inhibiční koncentrace (MIC) na houby kvasinky a plísň je více jak 1250 mg/l Giese et. al., 2015).

Myrcen

Myrcen je nejmenší terpen, ale nejčastější terpen nalézavající se ve většině odrůd konopí. Myrcen má zemité, ovocné tóny a byly zaznamenány jeho analgetické, antibakteriální, antidiabetické, protizánětlivé a hypnotické účinky. Působí také proti proliferaci (mutaci), lze jej také zařadit mezi antipsychotika a protikřečové látky (Giese et. al., 2015).

Limonen

Limonen je dominantní terpen v kmenech, který má silné citrusové aroma a pomáhá při vstřebávání jiných terpenů do kůže a sliznic. Má antidepresivní, protiplísňové, protizánětlivé, antiproliferativní a imunostimulační účinky. MIC limonenu v testech dosahovala hodnoty 1000 ppm na houby a 5000 ppm na bakterie (Giese et. al., 2015).

Karyofylen

Karyofylen je jediný terpen známý s interakcí s endokanabinoidním receptorem (CB2). Karyofylen má analgetické, antibakteriální, antidepresivní, protizánětlivé, antiproliferativní, analgetické a neuroprotektivní účinky.

Je také významným antioxidantem a působí jako antioxylicum. Vykazuje také antidepresivní, protizánětlivé účinky (Giese et. al., 2015).

Humulen

Humulen přispívá k chmelovému aroma konopí. Humulen má analgetické, antibakteriální, protizánětlivé, antiproliferativní a anorektické účinky (Giese et. al., 2015).

3.5.1.2 Synergické působení terpenů

Fischedick et al., (2010) uvádějí, že kombinace terpenů spolu s kanabinoidy může působit synergicky. Jejich vzájemné působení má tedy výraznější léčebné účinky než při léčbě jednotlivými látkami, viz tabulka č. 2. Jiné působí antagonisticky, tedy že se navzájem potlačují. Terpeny sdílejí s kanabinoidy společný prekurzor, a tím je geranyl fosfát (Rosenthal, 2011).

Tabulka č 2 : Vybrané hlavní terpeny v konopí a jejich synergický efekt s kanabinoidy při působení na organismus.

Terpeny	Působení na organismus	Synergický efekt
Limonen	Antidepresivní, antibakteriální, protiplísňový a protirakovinný. Rychle prochází přes buněčné membrány a pomáhá průchodu ostatních terpenů - snížení krevního tlaku.	CBD,CBG, THC
Myrcen	Sedativní účinek silných indických odrůd, svalový relaxant, antimikrobiální, antiseptický, analgetický, antioxidační, antidepresivní, protirakovinný, protizánětlivý účinek.Ovlivňuje propustnost buněčných membrán a tak THC více dostává do buněk.	CBD,CBG, THC
Pinen	Může zvyšovat mentální soustředění a energii, působí jako expektorans, bronchodilatans a lokální antiseptikum. Snadno prochází přes hematoencefalickou bariéru, kde inhibuje aktivitu acetylcholinesterázy, která odbourává acetylcholin (molekula, která přenáší informace), což vede k lepší paměti. To může působit proti aktivitě THC, které způsobuje nízkou hladinu acetylcholinu.	CBD, THC
Linalool	Uvolňuje a působí proti úzkostem, také anesteticky, analgeticky, proti křečím.	CBD, CBG, THC, THCv,CBDV
Karyofylen	Aktivuje CB2 receptory, efekt analgetický, protizánětlivý a proti horečce. Ve větších dávkách blokuje draslíkové a kalciové kanály, čímž může snižovat systolický tlak.	CBG, CBD, THC, Oxid – THCA, CBGA

(Hendriks et al. , 1975)

3.5.1.3 Antibakteriální aktivita terpenů

Mechanismus účinku terpenů na mikroorganismy je komplexní, například terpenoidy jako látky lipofilního charakteru zřejmě působí na membránové enzymy, blokují respirační cyklus a mohou působit na další biochemické buněčné děje – inhibují syntézu DNA, RNA, proteinů a polysacharidů. Pro zkoušení antimikrobiálního účinku terpenů se nejčastěji využívají metody vyvinuté speciálně pro testování antibiotik. Testy ale komplikují některé specifické vlastnosti terpenů, především však jejich nedostatečná rozpustnost ve vodě a těkavost. Uvádí se, že například směs karvakrolu s tymolem, podaných v optimální koncentraci totálně inhibuje *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*. Fungicidní aktivita tymolu byla úspěšně testována také na kvasinkách *Saccharomyces cerevisiae* a *Candida albicans*, kde bylo prokázáno, že tymol poškozuje a deformuje buněčné stěny i membrány. Fungicidní aktivita karvakrolu působila u všech kmenů *Penicillium*, *Fusarium* a *Pythium* při MIC 800 µl/L (Seow et al., 2014).

3.5.2 Kanabinoidy

Kanabinoidy jsou biologicky aktivní bicyklické terpenoidy, rozpustné v tucích, alkoholech a dalších nepolárních organických rozpouštědlech. V konopí bylo rozpoznáno 1068 látek, z nichž představuje 141 látek kanabinoidy s typickou uhlíkovou strukturou, které se vážou na kanabinoidní receptory (Hanuš, 2015). Zařazují se do třech skupin: fytokanabinoidy rostlinného původu, endokanabinoidy vyskytující se v živočišných buňkách a na látky synteticky připravené. Do roku 1994 se mělo za to, že se fytokanabinoidy nalézají pouze v konopí, v tomto roce byl ale izolován bibenzyl kanabinoid z mechorostu játrovky *Radula perrottetii* rostoucí na Novém Zélandu. Látky strukturálně blízké kanabinoidům byly poté nalezeny také v rostlině *Desmodium canum* z čeledi *Fabaceae* a uvádějí se i další jako například *Echinacea spp.* a *Helichrysum spp.* (Hanus, et. al., 2009).

Ukázalo se, že mnohé životní funkce jsou řízeny a ovlivňovány sloučeninami velmi podobným metabolitům konopí, takzvanými endokanabinoidy. Jsou samostatně produkovány v určitých oblastech mozku, buňkách imunitního systému a ve všech důležitých orgánech. Endokanabinoidy mají vliv na celou řadu životních fyziologických funkcí, jako jsou vnímání bolesti, odpověď na stresové podněty, nálada, paměť, imunita, metabolismus, rozmnožování či příjem potravy. Tento objev má na využití konopí zásadní dopad, protože fytokanabinoidy obsaženými v konopí je možno tyto účinné látky nahradit. Za patrně medicínsky nejdůležitější látky z rostliny konopí, využívané ve farmakologickém odvětví se stále považují THC a CBD,

kteře patří do skupiny kanabinoidů. Tyto dvě látky jsou v konopí přítomny ve formě karboxylových kyselin (THCA, CBDA), které nejsou příliš aktivní (Hazekeamp et al., 2005). Prekurzorem kanabinoidů Δ 9-THC a CBD je kyselina kanabigerolová (CBGA), z níž se syntetizují karboxylové kyseliny THCA a CBDA. Následnou dekarboxylací vzniká THC a CBD (Mechoulam et. Ben Shabat, 1999). Čisté CBD a CBG velmi silně inhibují kmeny : multirezistentní SA 1199B, dále SA 25923, EMRSA – 15, EMRSA 16 i klinické izoláty MRSA - RN – 4220 a XU 212, a to v rozsahu (0,5 - 2 μ g/ml), jejich přírodní formy dosahují také podobné aktivity s MIC 1 – 2 μ g/ml (Apendido et. al., 2008).

3.5.2.1 Δ 9-tetrahydrocannabinol - THC

Δ 9-tetrahydrocannabinol je nejznámější, primární, psychoaktivní fytoKANABINOID. Vzniká dekarboxylací kyseliny tetrahydrokanabinolové, která psychoaktivní účinky nevykazuje. Dekarboxylace nastává v rozmezí teplot 130 až 180 °C, ale v omezené míře probíhá i za působení světla či nižší teploty. Je částečným antagonistou kanabinoidního receptoru CB1 i CB2 a zároveň analogickým s endogenním metabolitem, anandamidem (AEA). Aby konopí působilo psychoaktivně, musí se THC dostat do krevního oběhu a poté i do mozku. V momentě, kdy se Δ 9-THC dostane do krevního řečiště, metabolismus člověka jej přemění na sloučeninu 11-hydroxy THC (11-OH-THC). Tato látka přibližně do třiceti minut pronikne do tukových tkání a pak je opět předávána do krve, metabolizována a vyloučena. Působí jako bronchodilatační neuroprotektivní antioxidant a je 20 krát protizánětlivější, než aspirin a dvakrát silnější, než hydrokortison. Je spojována také s protikřečovými, analgetickými a antipuritickými vlastnostmi, antibakteriální účinek však výrazný není. (Russo et. al., 2013).

3.5.2.2 Canabidiol - CBD

Strukturně je molekula kanabidiolu podobná molekule Δ 9-THC. Zaujímá konformaci dvou kruhů, které jsou na sebe kolmé. Není tak schopna navázat a aktivovat CB1 receptory, jako je tomu u molekuly Δ 9-THC, existující v podstatě v rovinné konformaci. Proto nevykazuje žádné psychoaktivní účinky, je však prekurzorem Δ 9-THC. Bylo prokázáno, že CBD ovlivňuje rozsah působení sloučeniny THC, posouvá začátek jeho působení a může také až dvakrát prodloužit jeho účinek. Při dostatečně vysoké koncentraci působí CBD v konopí dokonce proti psychoaktivní složce THC a dokáže zmírnit subjektivního hodnocení intoxikace a kognitivní poruchy. Nedávné studie u lidí prokázaly, že užívání konopí bohaté na CBD lépe chrání paměť a psychiku ve srovnání s užíváním konopí s nízkým obsahem CBD.

Canabidiol je znám také jako analgetikum a neuroprotektivní antioxidant, silnější než askorbát nebo tokoferol (Marzo, 2014).

Jeho obsah v rostlině je proměnlivý nejen z hlediska odrůdy, ale je také různý v rostlině během fáze růstu a kvetení. Největší potenciál ale vykazují jeho antimikrobiální účinky na některé plísně a gram-pozitivní bakterie. Je za to zodpovědná zejména kyselina kanabidiolová (Andre a kol., 2016). CBD vykazuje silnou aktivitu proti methicilin-rezistentnímu *Staphylococcus aureus* (MRSA) s minimální inhibiční koncentrací (MIC) 0,5 -2 mg/ml, v přírodní formě dosahuje velmi podobné koncentrace s MIC 1 – 2 µg/ml (Appendino et al., 2008).

3.5.2.3 Cannabigerol - CBG

Zastoupení kanabigerolu v konopí je poměrně nízké. CBG je totiž schopné se přeměnit na jiné kanabinoidy pomocí enzymů přítomných v konopí, což vysvětluje často nízkou koncentraci ve většině analyzovaných odrůd konopí. Nedávný italský experimentální model ukázal také na antibakteriální a protizánětlivé účinky CBG u pacientů s poruchami trávicího traktu. Další předklinické studie naznačují využití CBG jako inhibitoru enzymů cyklooxygenázy (COX-2), či jako náhradu léků známých jako nesteroidní protizánětlivé léky (NSAID). Kanabigerol prokázal také velmi dobré účinky proti TRSA (>1 µg/ml) na druhou stranu nízké protiplísňové účinky (1024 µl/ml) (ElSohly et al., 1982).

3.5.2.4 Cannabichromen - CBC

Cannabichromen (CBC) je jedním ze čtyř hlavních kanabinoidů v konopí, který izoloval v roce 1966 profesor Raphael Mechoulam. Tato látka se v rostlině nachází v nižších koncentracích a většinou nepřesahuje procento všech přítomných kanabinoidů. Na lidský organismus žádné psychoaktivní účinky nemá, ale působí synergisticky s THC a může tak představovat novou trasu pro molekulární regulaci endogenní kanabinoidní činnosti (Izzo et al., 2012). Kanabichromen a některé z jeho homologů, analogů, a izomerů vykazovaly protizánětlivé, antibakteriální a antifungální aktivity. Bylo prokázáno, že tato látka snižuje otok a zánět a má silnější protizánětlivý účinek v kombinaci s jinými druhy kanabinoidů, jako je THC. Antibakteriální účinnost CBC, jeho izomerů a homologů hodnocena proti SA 25923 byla po 24 i 48 hodinách s MIC 1, 56 µg/ml. I antifungální aktivita, hodnocena proti *Candida albicans*, byla mírné až středně silná s MIC 50 µg/ml po 48 i 72 hodinách (Turner, ElSohly et al., 1981). Potter, (2004) u *Candidy albicans* uvádí hodnoty MIC 256 µg/ml.

3.5.3 Antimikrobiální aktivita konopných extraktů

Konopný extrakt je soubor molekul kanabinoidů, terpenů, nenasatných mastných kyselin a flavonoidů, což jsou molekuly, které mají vysoký antioxidační účinek. Látky v extraktu působí synergicky a zvyšují biologickou dostupnost hlavních kanabinoidů (THC, CBD, CBC, CBG), tedy vstřebávání do organismu a nevykazují takovou toxicitu, takže mohou být použity současně s dalšími antibiotiky. Například purifikované CBD, kterému se přičítá velká biologická aktivita, nemusí být tak účinné jako extrakt z konopí v celé jeho komplexnosti, což je z terapeutického hlediska velká ztráta (Apendido et. al., 2008)

Již delší dobu se provádí mnoho studií, které prokázaly antimikrobiální aktivitu konopných extraktů z různých částí konopí. Testovaly se například výtažky z celé rostliny konopí a oleje ze semen, které byly připraveny v petroletheru a metanolu. Jejich antimikrobiální aktivita byla testována proti dvěma gram pozitivním (G+) organismům (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), dvěma gram negativním (G-) organismům (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) a dvěma plísním *Aspergillus niger* a *Candida albicans*. Difúzní metodou na agaru bylo zjištěno, že olej ze semen konopí vykazoval výrazný antibakteriální účinek, patrný na inhibiční zóně (21 až 28 mm) proti *Bacillus subtilis* a *Staphylococcus aureus* a mírnou aktivitu (15 mm) proti *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa* (16 mm). Extrakt připravený v petroletheru z celé rostliny vykazoval antibakteriální aktivitu (23 až 28 mm) proti oběma organismům *Bacillus subtilis* a *Staphylococcus aureus*. Dále značně aktivních 16 mm proti *Escherichia coli* a naopak se ukázal jako neúčinný proti *Pseudomonas aeruginosa* a oběma plísním. Metanolvý extrakt z celé rostliny vykázal antibakteriální aktivitu (29 mm) u *Bacillus subtilis*, nízkou aktivitu (12 mm) proti *Staphylococcus aureus* a vysokou aktivitu (16 – 18 mm) u obou gram negativních organismů. Jako neaktivní se projevil u obou plísní *Aspergillus niger* a nízkou aktivitu (13 mm) vykázal u *Candida albicans* (Ali et. al., 2012).

Následný výzkum prokázal antibakteriální aktivitu i u vodního a acetonového extraktu (5 µg/ml a 10 µg/ml) z konopí proti dvěma druhům bakterií *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae* a dvěma houbám *Cryptococcus neoforms*, *Candida albicans* (Tabulka č. 3) (Lone et. al, 2012).

Tabulka č. 3 : Test extraktu proti plísním, při koncentracích 5 µg/ml a 10 µg/ml.

Plísňová kultura	Koncentrace	Vodný extrakt		Acetonový extrakt	
		5 µg/ml	10 µg/ml	5 µg/ml	10 µg/ml
<i>Cryptococcus neoforms</i>		4 mm	8 mm	5 mm	10 mm
<i>Candida albicans</i>		4 mm	8 mm	6 mm	12 mm

(Lone et. al, 2012).

Tabulka č 4 : Test extraktu proti bakteriím při koncentracích 5 µg/ml a 10 µg/ml.

Bakteriální kultura	Koncentrace	Vodní extrakt		Acetonový extrakt	
		5 µg/ml	10 µg/ml	5 µg/ml	10 µg/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		3 mm	6 mm	4 mm	8 mm
<i>Vibrio cholerae</i>		4 mm	8 mm	5 mm	10 mm

(Lone et. al, 2012)

V další studii byla testována difuzní metodou antimikrobiální aktivita vodného a etanolového extraktu proti dvěma gram negativním a jedné gram pozitivní bakterii. (Naveed et. al., 2014).

Tabulka č. 5 : Výsledky antimikrobiální aktivity.

Bakteriální kultura	1. test	2. test	3. test	Průměr
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25,7 mm	24,9 mm	25,3 mm	25,3 mm
<i>Escherichia coli</i>	21.9 mm	22.2 mm	22.5 mm	22.2 mm
<i>S. aerious</i>	11.5 mm	10.3 mm	9.2 mm	10.3 mm

(Naveed et. al., 2014)

Hlavní kanabinoidy (THC, CBD, CBG, CBN, CBC) izolované z extraktů samiččích květenství mohou dosahovat vysoké čistoty (> 98 %) a v testech tyto sloučeniny také vykazovaly mnohem výraznější antibakteriální aktivitu. A to s hodnotami MIC v rozsahu od 0,5 až 2 µg/ml proti multirezistentní (MDR) SA-1199B, která má vysokou odolnost k

některým fluorochinolonům. Výrazná byla aktivita (8 µg/ml) i proti EMRSA-15 a EMRSA-16, hlavních pandemických klonů MRSA, které byly poprvé identifikovány ve Spojeném království na počátku devadesátých let dvacátého století a nahradily tak převládající HA-MRSA kmeny. Vzhledem k nynější dostupnosti kvalitních odrůd, produkujících vysoké koncentrace kanabinoidů, představují tyto extrakty vhodný zdroj antibiotik k léčbě multirezistentní MRSA a jiných patogenních bakterií. (Roth et. al. 2002).

3.6 Bakteriální rezistence

Bakterie jsou rezistentní, pokud určitá antibiotika ztratila schopnost zabít nebo zastavit růst bakterií. Antibiotická rezistence zvyšuje více než dvojnásobně morbiditu, podstatně prodlužuje hospitalizaci a způsobuje významný vzestup nákladů na zdravotní péči. Některé bakterie jsou přirozeně rezistentní vůči určitým antibiotikům, kdy mají vnitřní nebo inherentní rezistenci. Závažná situace začíná být tehdy, když některé bakterie, které jsou obvykle citlivé na antibiotika, získají rezistenci v důsledku genetických změn. Rezistentní bakterie přežívají v přítomnosti antibiotika a pokračují v množení, čímž prodlužují onemocnění nebo dokonce smrt. Infekce způsobené rezistentními bakteriemi mohou vyžadovat větší péči, stejně jako alternativních a dražších antibiotik, které mohou mít závažnější vedlejší účinky. Nadměrné a nevhodné používání antibiotik urychluje vznik a šíření bakterií rezistentních vůči antibiotikům. Když jsou vystaveny vůči antibiotikům, citlivé bakterie jsou usmrceny a rezistentní bakterie mohou dále růst a množit se. Tyto rezistentní bakterie se mohou šířit a způsobovat infekce u jiných lidí, kteří neužívali žádná antibiotika (SZÚ, 2011).

Dohled nad antimikrobiální rezistencí v Evropě zajišťuje European Antimicrobial Resistance Surveillance system (EARSS). Jde o první nezávislý dlouhodobý projekt dohledu nad antimikrobiální rezistencí invazivních izolátů bakterií na národní i Evropské úrovni. Mezinárodní síť národních systémů surveillance sdružených v EARSS podporuje evropská Komise (EC). Koordinaci EARSS zajišťuje Evropské centrum pro prevenci a kontrolu infekčních onemocnění (ECDC). Cílem je shromažďovat validní a srovnatelné údaje o antibiotické rezistenci (AR) pro veřejné zdravotnictví zúčastněných zemí a rychle identifikovat vznik nové AR na území Evropy. Sledování bylo zahájeno v roce 1998 a od roku 1999 bylo zavedeno ve všech zemích EU a také Norska a Irsko. Česká Republika se k (CZ – EARS - Net) připojila v roce 2000.

Od ledna roku 2000 sledují laboratoře v České republice původce invazivních infekcí způsobených *Streptococcus pneumoniae*, v červenci téhož roku bylo zahájeno sledování také *Staphylococcus aureus* a jeho rezistentních kmenů, zejména MRSA. V České republice vzrostla od roku 2000 prevalence invazivních infekcí způsobených MRSA ze 3,8% na 14,3% v roce 2005. Mnohem závažnější je skutečnost, že tyto infekce byly v roce 2005 potvrzeny již v 51 z 88 nemocnic v ČR, sledovaných v EARSS. Od roku 2011 je zapojeno do EARSS více než 1000 mikrobiologických laboratoří ze všech zemí Evropy (ECDC, 2011).

3.7 Kožní onemocnění

3.7.1 Staphylococcus aureus (SA)

Staphylococcus aureus je lidský patogen způsobující infekce v rozsahu od mírného podráždění kůže a měkkých tkání, až v život ohrožující sepse, pneumonie a syndromu toxického šoku. Rod *Staphylococcus* zahrnuje 40 druhů a poddruhů, z nichž mají pro člověka největší význam koaguláza - pozitivní druh *S. aureus* a koaguláza - negativní druhy *S. epidermidis* a *S. saprophyticus*. Stafylokoky jsou charakterizovány jako nepohyblivé, gram-pozitivní, většinou neopouzdržené sférické koky o průměru cca 1 μm . Vyskytují se jednotlivě, ve dvojicích v nepravidelných shlucích nebo v hroznovitých útvarech. *Staphylococcus aureus* je biochemicky velice aktivní bakteriální druh. Vytváří řadu komplexních látek buněčné stěny, exoenzymů a toxinů, z nichž se mnohé uplatňují jako faktory virulence. Je dobře adaptovaný a spolu se streptokoky patří mezi nejčastější původce pyogenních infekcí nebo intoxikací člověka a zvířat. Nejčastějšími stafylokokovými infekcemi jsou hnisavá onemocnění kůže a pyodermie (Bednář a kol., 1996).

SA je nejčastějším původcem hnisavých ran, ať už se jedná o běžná povrchová zranění, nebo rány vytvořené po úrazu či operaci. Sám o sobě v čisté ráně výrazně nepůsobí, ke vzniku infekce je třeba, aby v ráně zůstalo cizí těleso, tříska, špína, stehy. Infikovaná rána vytváří pro stafylokoky častou vstupní bránu, odkud se dostávají do oblastí mizních uzlin, které se zanítí a z nich do krevního oběhu. Dochází k bakteriémii, která může vést až k sepsi. Původní infekční ložisko u stafylokokových sepsí často nebývá prokázáno, jelikož se většinou se jedná o neškodnou ranku na kůži. Charakteristickým rysem stafylokokových infekcí je tvorba ohraničených zánětlivých ložisek (abscesů). Přes 90% kmenů *S. aureus* je již dnes k penicilinu rezistentních. Stafylokok zdravý organismus nepoškozuje, ale naopak působí jako imunizační stimul, který vede k poměrně dobré odolnosti vůči infekci. K onemocnění dochází

jen při oslabení obranných schopností a při narušení integrity sliznic a kůže (Murray et. al. 2005).

3.7.1.1 Methicilin - rezistentní *Staphylococcus aureus* - MRSA

V současné době existují značné problémy s léčbou infekcí způsobených kmeny klinicky významných bakterií, které vykazují určité druhy rezistencí. Například methicilin - rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA). Až do nedávné doby byl (MRSA) identifikován hlavně jako nozokomiální patogen, tedy onemocnění exogenního nebo endogenní původu, které vzniká v příčinné souvislosti s hospitalizací pacientů v nemocničním prostředí. Dva nahlášené kmeny ve Spojených státech amerických se ukázaly rezistentní i k tetracyklinu (TRSA). MRSA tvořilo 10 % případů sepse a 18 650 úmrtí v USA v roce 2005, což je větší množství případů, než připadající na syndrom selhání imunity. V České republice je výskyt rezistence u MRSA k oxacilinu cca. 10 % a u stafylokoků s negativní plasmakoagulázou (MRSE) cca. 30 % k roku 2010. Tyto nebezpečné kmeny byly rozšířeny zejména kvůli používání širokospektrálních antibiotik, která vyvíjejí selekční tlak na bakterie (Amorim, et. al., 2007).

MRSA se stal rezistentní i na mnoho dalších antibiotik, k léčbě se proto začalo používat glykopeptidové antibiotikum vankomycin. V roce 2002 však byl získán izolát od pacienta z Pensylvanie rezistentní i vůči vankomycinu, tedy vankomycin - rezistentní *S. aureus* (VRSA). VRSA jsou také někdy nazývány GRSA (glykopeptid - rezistentní *S. aureus*). Izolát VRSA obsahoval *van* gen, odpovědný za rezistenci k vankomycinu a teikoplaninu a gen determinující rezistenci stafylokoků k β -laktamovým antibiotikům. Až do poloviny roku 2002 jevíly známé klinické izoláty *S. aureus* jen intermediární stupeň rezistence k vankomycinu, resp. k dalšímu glykopeptidu, teikoplaninu. Následně se objevil i gentamycin a methicilin rezistentní klinické izoláty SA 33592 a SA 25923. Bez ohledu na to, zda jsou rezistentní kmeny víc infekční nebo virulentní než ty, které jsou k antibiotikům citlivé, mají programy boje proti rezistentním mikroorganismům své jednoznačné opodstatnění pro významný pozitivní dopad na pacienty a na samotná zdravotnická zařízení (Mađar a kol., 2006).

Až do nedávné doby byl MRSA identifikován hlavně jako nozokomiální patogen, (Hospital associations) HA – MRSA. Poté se ale objevily infekce připisované mimo nemocniční prostředí tzv. Community – Associated MRSA (CA-MRSA), které se objevily u pacientů, kteří neměli žádné rizikové faktory pro vstup infekce (poranění kůže, hospitalizace).

Nové kmeny CA-MRSA se rychle rozšířily po Spojených státech (např. klon USA300) a staly se nejčastější kožní infekcí, kvůli které lidé vyhledávali lékařskou péči na pohotovostech ve městech. Tyto kmeny se často vyskytovaly u atletů, vězňů a vojáků. Na počátku devadesátých let převládaly ve Spojeném království kmeny HA – MRSA, pak se zde ale objevily epidemické kmeny MRSA, nazvané EMRSA s vysokým potenciálem rychlého šíření. Zejména EMRSA - 15 a EMRSA – 16. Od té doby byly zjištěny v mnoha zemích a začaly být spojovány také s nemocničním prostředím. Izoláty EMRSA-15 byly zjištěny ve 25 z 26 zúčastněných nemocnic ve Spojeném království. Vyskytovaly se zde v 95,6 % případů ze všech kmenů MRSA a popsáno bylo i jejich první přímé potvrzení u infekce krevního řečiště. Tyto kmeny bakterií jsou v současnosti úspěšnější při přežití, kolonizaci a šíření v nemocnicích ve srovnání s jinými EMRSA ve Velké Británii. V posledních třech letech bylo kromě Evropy také v ČR zaznamenáno rychlé šíření invazivních kmenů EMRSA 15 (Nagid et. al., 2010).

3.7.2 Streptococcus pyogenes (SP)

Streptococcus pyogenes je fakultativně anaerobní gram-pozitivní bakterie způsobující řadu onemocnění kožní tkáně, z nichž je každé zahájeno po interakci bakterie s buňkami pokožky. Vytváří nepohyblivé koky uspořádané ve dvojicích a řetězcích o velikosti 0,6 – 2,0 mikrometrů. Je to jeden z nejčastějších lidských patogenů vyvolávající infekce kůže, dýchacích cest a měkkých tkání (Bisno et. al., 1996).

Streptokoky skupiny A způsobují artritidu, endokarditidu, meningitidu, sepsi, akutní glomerulonefritidu, revmatickou horečku a angínu, kterou vyvolávají z 20 %, zbylých 80 % angín je virového původu. Při společném výskytu s vyrážkami vzniká onemocnění, které se nazývá spála, kdy dochází k odlupování kůže na dlaních a chodidlech s charakteristickými příznaky streptokokového původu. Vyskytuje se u dětí, ale i dospívajících avšak postupně s věkem možnost nákazy klesá. Streptokok vstupuje do hostitele horními dýchacími cestami. Ve většině případů, infekce limituje dýchací cesty, zejména krk. Je známo, že infekce se může rozšířit a putuje dále. Streptokok má však jisté vlastnosti, které aktuálně u pacienta nemusejí působit výrazné těžkosti, dokonce o této infekci nemusí vědět. Pro streptokokovou infekci je potřeba zejména včasná diagnóza a eradikace (odstranění) streptokoků, což je základem prevence pozdních streptokokových následků. Nejúčinnějším antibiotikem k léčbě streptokokových nákaz stále zůstává penicilin, podávání antibiotik pro nemocné jedince má ale i svá závažná rizika. Dochází k eliminaci běžné orální mikroflóry, která ochraňuje před

uchycením kmene na sliznici, což je první krok umožňující navázat k dalším fázím rozvoje onemocnění (Bednář a kol. , 1996).

3.7.3 *Candida albicans* (CA)

Candida albicans je řazena k dimorfním houbám a patří k nejčastějším patogenům kůže z povrchových kvasinek. Vzhled *C. albicans* závisí na charakteru prostředí. Vytváří hyfy, blastokonidie, pseudohyfy, chlamydokonidie a zárodečné klíčky.

U člověka se vyskytuje v dutině ústní jako takzvaná moučnivka, na kůži a ve vaginálních sekretech, může se však přemnožit i v krvi. *Candidy* běžně osidlují lidské sliznice a u osmdesáti procent populace neškodí. Pro přemnožení a vyvolání onemocnění, jsou třeba predispoziční faktory, ke kterým se řadí například *diabetes mellitus*, gravidita, léčba kortikoidy, cytostatiky, širokospektrými antibiotiky atd. Náchylnější jsou senioři, novorozenci, lidé se sníženou imunitou a lidé po chemoterapii. *C. albicans* je nebezpečná ve vodách bazénů a je původcem kandidózy, což je nemoc projevující se od mírné povrchní infekce na traskavé, hluboce zakořeněné mykózy se špatnou prognózou. U dětí má infekce kůže a sliznic větší závažnost, než u dospělých. Snížená odolnost hostitele v důsledku vlivu AIDS nebo jiné oslabující nemoci, je důležitým faktorem při množení kvasinky. Roli účinných antibiotik je obtížné posoudit. Na jedné straně mohou zlepšit celkový stav hostitele v mnoha bakteriálních infekcích, ale po dlouhodobém podávání antibiotik nebo použití kortikosteroidů mohou následovat vážné systémové kandidózy (Skořepová, 2008).

3.7.4 Léčba kožních onemocnění konopím

Z mnoha výzkumů posledních let se usuzuje, že gram negativní organismy vykazují menší citlivost vůči vlivu antibakteriálních látek přírodního původu, jelikož mají lipopolysacharidovou vrstvu obklopující periplazmatický prostor, která brání difúzi hydrofobních složek (Wirth et. al., 1980).

Je známo, že nervové a tukové buňky v lidské kůži obsahují kanabinoidní receptory. To naznačuje, že lokální aplikace konopí by mohla mít léčebný efekt na kožní onemocnění. Otázkou však stále zůstává, zda můžou kanabinoidy účinně prostupovat kožní bariéru, ovlivnit vnitřní podmínky a inhibovat kožní nemoc v místě jejího výskytu (Lozano et. al., 2001).

V německé studii v roce 2006 bylo zjištěno, že 14. z 22. pacientů téměř zmizelo svědění kůže po aplikaci konopné tinktury. Žádný z pacientů nevykazoval vedlejší účinky.

Na druhé straně je zde možnost, že konopí může způsobit některé ze samotných kožních problémů u lidí, kteří mají citlivost nebo alergickou reakci na pyl z konopí, z čehož se může vyvinout kontaktní dermatitida, či kopřivka (Livingstone, 1999).

3.7.5 Nejvýznamnější bakteriální onemocnění kůže

3.7.5.1 *Impetigo vulgaris* (IV)

Původcem je bakterie *Streptococcus pyogenes*, nebo *Staphylococcus aureus*. Většinou působí původci samostatně, ale častá je i jejich kombinace. Výskyt se vztahuje zejména k oblasti tropů. Tyto bakterie zasahují nejsvrchnější vrstvu kůže. Postihují zejména děti, také přispívají ke všem kožním infekcím bakteriálního původu u dětí. Vliv na propuknutí onemocnění mají také roční období, vyšší výskyt bývá častější v letním období. Na onemocnění má vliv množství faktorů. Primárním je stav kůže, její odolnost, výskyt poranění apod. Dalším faktorem je stav imunity a organismu jako takového, eventuálně přítomnost onemocnění jiného charakteru. V neposlední řadě sem patří okolní prostředí a vlastnosti bakterií důležitou roli hraje teplota a vysoká vlhkost. Významným aspektem je bariérová funkce kůže, ta zabezpečuje ochranu proti bakteriím za pomoci imunity (Langerhansovy buňky) (Haslam, 1988).

3.7.5.2 *Acne vulgaris* (AV)

Acne vulgaris je chronické zánětlivé onemocnění, způsobené bakterií *Propionibacterium acne*, které se množí ve vývodných cestách folikulů mazových žláz. Patogeneze vzniku akné je multifaktoriální povahy. Variabilita klinických forem akné a rozdílné terapeutické názory ukazují na individuálně odlišný podíl jednotlivých patogenetických faktorů. Je to také nejčastější kožní onemocnění, které ovlivňuje kvalitu života milionů lidí po celém světě (Stinchcomb et. al., 2013).

4 Materiál a metody

V rámci práce byla stanovována minimální inhibiční koncentrace (MIC) 9 extraktů konopí proti vybraným kmenům bakterií. MIC byla testována pomocí mikrodiluční metody. Před testem se všechny potřebné nádoby a kultivační media nechaly vysterilizovat v autoklávu (Tuttnauer, výrobce dohledej si na netu).

4.1 Chemikálie a biologický materiál

Sušené květenství samičích rostlin konopí kultivarů Jillybean, Conspiracy Kush 2 - 5, Nordle, Jacks Cleaner, Nurse Jackie 1 a 3 bylo vypěstováno na Fakultě agrobiologie potravinových a přírodních zdrojů (FAPPZ). Jako modelové organismy pro *in-vitro* testy byly použity následující bakteriální kmeny *Staphylococcus aureus*: MRSA 1, SA ATCC 29213, EMRSA 15, TRSA 2, SA ATCC 43300, MRSA 2, SA 25923, SA ATCC 33592, TRSA 1 a jeden kmen *S. pyogenes* CCM 4425. Jako kultivační medium byl použit Muller hinton bujon (Oxoid, UK), dále jen (MHB). Pro kultivaci *Streptococcus pyogenes* byl použit Brain heart infusion (Oxoid, UK), dále jen (BHI).

4.1.1 Příprava extraktů

Extrakt byl připraven z homogenizovaného květenství uvedených odrůd v poměru 1 díl drogy ku 5 dílům v 96 % etanolu a 14 dní byl ponechán třepat na třepačce. Po 14 dnech byl extrakt přefiltrován a odpařen na odparce (Heidolph 4000, DE) do konstantní hmotnosti.

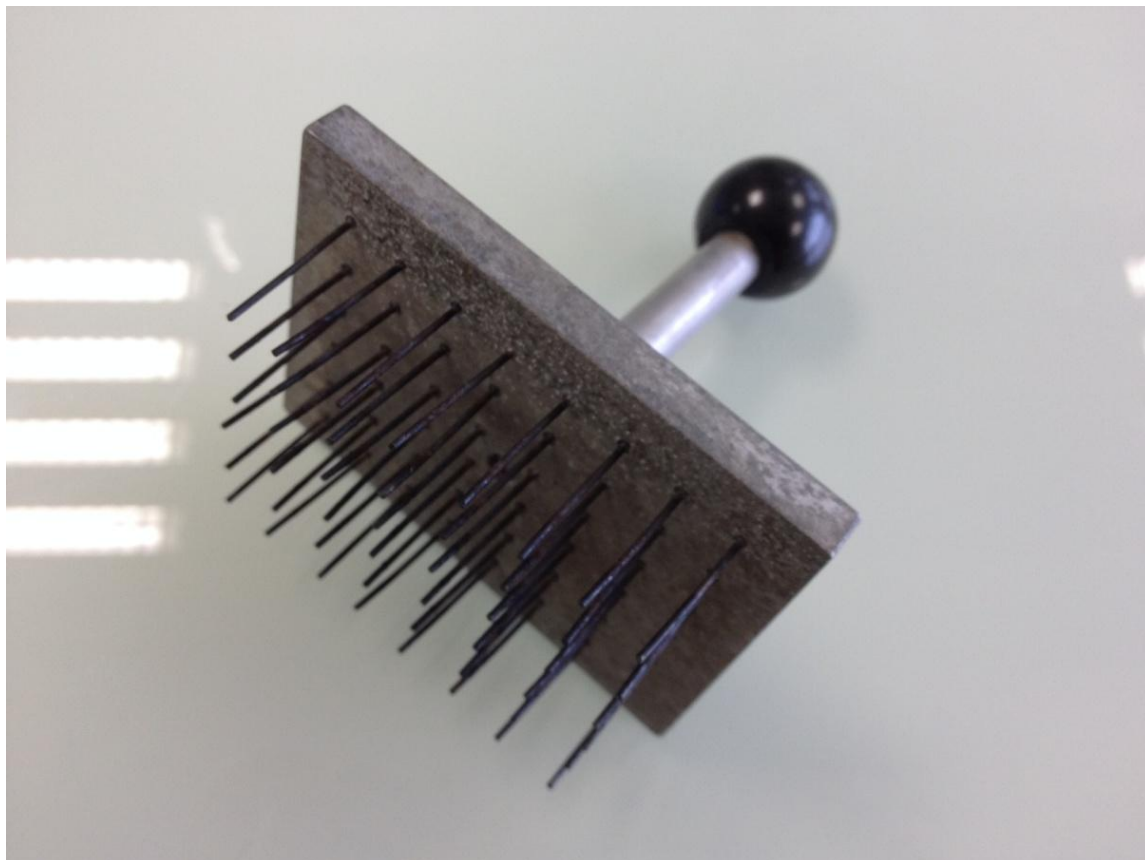
4.1.2 Příprava zásobní koncentrace extraktů

Pro přípravu zásobní koncentrace extraktů (51,2 mg/ml) bylo nváženo 50 – 60 mg konopných extraktů, které byly za pomoci ultrazvukové lázně (Obrázek č. 3) (Bandelin, CZ) rozpuštěny v dimethylsulfoxidu (DMSO).

4.2 Mikrodiluční metoda

Cílem této kvantitativní metody bylo stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) vybraných odrůd extraktů. Pro samotný pokus byly použity 96 jamkové mikrotitrační destičky. Do první řady destičky bylo naplněno 200 μ l extraktů, které se postupně dvojkově ředily pomocí multikanálové pipety. V každé destičce bylo testováno 9 druhů extraktů v 8 koncentracích od 512 μ l/ml do 4 μ l/ml. Bakteriální inokulum bylo připraveno z kultur kultivovaných 24 h při 37 °C. Tato suspenze byla naředěna do čistého bujonu na hodnotu 0,5 McF (1.5×10^8 KTJ/ml). Připravená suspenze se vylila do Petriho misky, kam se namočil inokulační ježek (Obrázek č. 4) a do každé jamky bylo naočkováno stejné množství inokula, výsledná koncentrace bakterií v každé jamce tedy byla 10^5 KTJ/ml, kromě posledního sloupce, který sloužil jako kontrola čistoty. Po naočkování byly destičky z do termostatu BT – 120 (Laboratorn, ČR), kde se inkubovaly při teplotě 37 °C po dobu 20 – 24 hodin. Touto metodou probíhala 3 nezávislá opakování. V testu bylo použito 9 různých kmenů stafylokoka a jeden kmen streptokoka.

Pro každý druh bakterie byla připravena jedna destička pro kontrolu kontaminace a srážlivosti zásobního roztoku. Testy byly vyhodnoceny na fotometru Multiskan Ascent 96/354 při vlnové délce 405 nm. Růst bakterií se projevuje sedimentem či zákalem jamky, avšak samotné roztoky extraktů vykazují také jistou míru zákalu. Při vyhodnocování se tedy odečítala kontrolní destička od zaočkované a teprve poté se vyhodnocovala minimální inhibiční koncentrace.



Obrázek č. 4 : Inokulační ježek (Pařízek)

4.2.1 Popis jednotlivých odrůd 1-7

Pro testy byly vybrány níže uvedené odrůdy (Tabulka 6). Pro samotné testy byla čtyřikrát použita stejná odrůda Conspiracy Kush, ale pokaždé získaná v jiném cyklu odběru (2-5) a tedy i jiným poměrem THC a CBD.

Tabulka č. 6 : Charakteristika jednotlivých odrůd.

Odrůda	Pěstitel	Kříženci	Poměr <i>Sativa</i> / <i>indica</i>	Léčebné účinky
Nurse Jackie NJ	TGA Subcool	Medicine Woman x Jack the Ripper	85/15	Zánět, oční tlak, bolest hlavy, Stres, nespavost
Jillybean JB	TGA Subcool	Orange velvet x Space Queen	60/40	Stres, deprese, bolest, únava, nevolnost
Nordle N	Mr Nice Seedbank	Afgan x Skunk	20/80	Bolest, svalové křeče, relaxační efekt, zánět, stres, únava
Jacks Cleaner JC	TGA Subcool	Jack Herer x The Cleane	80/20	Deprese, únava, oční tlak, stres, bolest
National health service NHS 4	MR. Nice	Northern Lights x Haze x Skunk	80/20	Nespavost, stres, záněty,
Conspiracy Kush CK	TGA Subcool	Obama Kush x Space Green	30/70	Relaxační, nespavost, stres, bolest, únava, deprese

4.2.1.1 Kvantifikace kanabinoidů v extraktu

Jednotlivé extrakty byly analyzovány na pracovišti Katedry rostlinné výroby FAPPZ pomocí plynového chromatografu s plamenným ionizačním detektorem.

Tabulka č.7 : Odrůdy konopí s různým poměrem kanabinoidů THC a CBD a SD - směrodatná odchylka.

Odrůda	THC (%)	SD (%)	CBD (%)	SD (%)
Jillybean – JB3	66,46	± 2,12	1,72	± 0,05
Nordle – N3	69,90	± 2,59	1,84	± 0,04
Jacks Cleaner – JC1	71,88	± 1,62	1,91	± 0,06
Nurse Jackie – NJ3	62,96	± 2,89	1,97	± 0,48
Conspiracy Kush – CK2	57,50	± 2,90	1,60	± 0,05
Conspiracy Kush - CK3	77,52	± 4,99	1,84	± 0,11
Conspiracy Kush – CK4	54,11	± 2,73	1,69	± 0,13
Conspiracy Kush – CK5	43,47	± 3,99	1,42	± 0,08
National health service – NHS 4	53,47	± 3,01	1,60	± 0,04

5 Výsledky

Výsledky byly vyhodnoceny ze tří opakování, provedených mikrodiluční metodou.

Tabulka č. 8 : Konečné vyhodnocení testů antimikrobiální aktivity, provedené ve 3. opakováních. Hodnoty jsou uvedeny v [μg/ml]. Zkratky extraktů viz. (Tabulka č. 7).

Mikroorganismy	NJ3	NHS4	CK5	CK4	JB3	CK3	CK2	N3	JC1
MRSA 1	8	8	8	8	8	8	8	8	16
SA 29213	16	8	32	16	8	16	>512	>512	32
EMRSA 15	16	8	16	8	8	8	8	>512	16
TRSA 2	16	8	8	8	8	8	>512	>512	>512
SA 43300	8	16	8	8	8	8	>512	>512	>512
TRSA 1	16	8	8	8	8	8	8	>512	>512
MRSA 2	16	8	32	32	8	8	>512	>512	>512
SA 25923	16	8	32	8	8	8	>512	>512	>512
SA 33592	8	8	8	8	16	16	>512	>512	>512
SP 4425	4	4	4	4	4	4	>512	4	>512

Tabulka č. 9 : Jednotlivé druhy testovaných patogenů

MRSA 1	klinický izolát, methicilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i> ,
SA ATCC® 29213	klinický izolát <i>Staphylococcus aureus</i>
EMRSA 15	epidemický, methicilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
TRSA 2	tetracyklin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
SA ATCC® 43300	methicilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
TRSA 1	tetracyklin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
MRSA 2	klinický izolát, methicilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i> ,
SA ATCC® 25923	klinický izolát <i>Staphylococcus aureus</i>
SA ATCC® 33592	klinický izolát <i>Staphylococcus aureus</i>
SP CCM 4425	<i>Streptococcus pyogenes</i>

(ATCC®) – American Type Culture Collection, (CCM) - Česká sbírka mikroorganismů

Z výsledků uvedených výše je patrné, že ze všech 10 testovaných bakterií vycházel *Streptococcus pyogenes* nejlépe. Všechny extrakty byly proti němu účinné až do nejnižší testované koncentrace 4 µg/ml. Extrakty CK2 a JC1 nebyly ve většině případů aktivní proti bakteriím ani při nejvyšší testované koncentraci 512 µg/ml. Extrakt JC1 byl aktivní pouze proti MRSA 1 a EMRSA 15 (MIC = 16 µg/ml). Proti klinickému izolátu SA 29213 byl extrakt JC1 účinný při koncentraci 32 µg/ml, stejně jako tomu bylo u extraktu CK5.

Je pozoruhodné, že extrakt CK2 působil nejlépe proti tetracyklin - rezistentním kmenům TRSA 1, 2 a methicilin – rezistentnímu kmenu MRSA 1 při koncentraci 8 µg/ml, ale nebyl účinný proti ostatním kmenům (MIC >512 µg/ml), na rozdíl od ostatních extraktů ze stejné odrůdy. To může znamenat, že extrakty od stejné odrůdy odebrané v různých cyklech, mohou vykazovat různý antibakteriální účinek proti patogenům. Zajímavý, ale neuspokojivý účinek byl zaznamenán také u extraktů JC1 a N3. Důvodem negativního výsledku mohla být rozdílná citlivost bakterií vůči extraktům. Nejpodobnější výsledky testovaných extraktů byly vyhodnoceny u patogenu MRSA 1, kde všechny extrakty působily při stejné minimální inhibiční koncentraci 8 µg/ml, kromě extraktu JCI s 16 µg/ml. U MRSA 2 opět výsledky kolísaly v rozmezí 8 – 32 µg/ml, neúčinné se ukázali opět extrakty CK2, N3 a JC1 (Tabulka č. 8). Velmi podobné vyhodnocení bylo u TRSA 1 a TRSA 2. Všech 5 extraktů vykazovalo stejné výsledky s MIC = 8 µg/ml, u TRSA 1 i extrakt CK2. Dvakrát vyšší koncentrace byla u NJ3 s 16 µg/ml a extrakty JC1 a N3 opět nebylo možné vyhodnotit. U klinických izolátů SA 25923 a SA 29213 výsledná koncentrace kolísala od 8 do 32 µg/ml. U izolátů SA 43300 a SA 33592 se projevila kolísavost menší, s hodnotou od 8 do 16 µg/ml. Nejlepší výsledky proti všem patogenům vykazovaly extrakty NHS4, JB3 a CK3 s MIC v rozsahu od 4 do 16 µg/ml. Antibakteriální účinek u většiny patogenů se neprojevil u extraktů CK2, JC1 a N3. Extrakt CK2 projevyl výraznou aktivitu pouze u MRSA 1, EMRSA 15 a TRSA 1 s MIC 8 µg/ml. Extrakt JC1 prokázal aktivitu u MRSA 1, EMRSA 15 s MIC 16 µg/ml a méně aktivní se projevil u SA 29213 (32 µg/ml). Extrakt N3 byl srovnatelný s ostatními extrakty pouze u MRSA 1 (8µg/ml) a SP (4 µg/ml).

6 Diskuse

Cílem experimentu bylo stanovit kvantitativní mikrodiluční metodou minimální inhibiční koncentraci. Nejlepší výsledky proti všem patogenům vykazovaly extrakty NHS4, JB3 a CK3 s MIC v rozsahu od 4 do 16 $\mu\text{g/ml}$ a lze je tedy doporučit pro další výzkum. Antibakteriální účinek proti většině testovaných bakterií se neprokázal u extraktů CK2, JC1 a N3. Důvodem negativního výsledku mohla být rozdílná citlivost bakterií vůči extraktům, či chyba v ředění koncentrace extraktů.

Jak uvádí Apentido et. al, (2008), syntetické CBD a CBG velmi silně inhibují multirezistentní kmeny MRSA a to v rozsahu (0,5 - 2 $\mu\text{g/ml}$), jejich přírodní formy dosahují také podobné aktivity s MIC 1 – 2 $\mu\text{g/ml}$. V experimentu diplomové práce u patogena MRSA 1 všechny extrakty působily s o něco vyšší minimální inhibiční koncentrací 8 $\mu\text{g/ml}$, kromě extraktu JCI (16 $\mu\text{g/ml}$). Tyto přesvědčivé výsledky podporují hypotézu o vyšší citlivosti gram - pozitivních bakterií vůči syntetickým i přírodním kanabinoidům, obsažených v konopném extraktu.

Výrazná byla aktivita i proti hlavnímu pandemickému kmenu EMRSA-15, kde byly extrakty CK4, JB3, CK3, CK2, NHS4 aktivní při koncentraci (8 $\mu\text{g/ml}$), což je shodný výsledek s výzkumem Rotha et. al., (2002). Extrakty NJ3, CK5, JC1 prokázaly dvakrát vyšší aktivitu 16 $\mu\text{g/ml}$, N3 nebyl proti EMRSA 15 aktivní vůbec. Některé studie byly provedeny difuzní agarovou metodou, a tak se jejich výsledky nedají porovnávat s mikrodiluční metodou, provedenou v experimentu. Po tomto experimentu by se další výzkum mohl zaměřit na rozšíření koncentrace extraktů u *Streptococcus pyogenes*, protože byly všechny aktivní až do nejnižší možné koncentrace 4 $\mu\text{g/ml}$, existuje tedy vysoká pravděpodobnost, že by extrakty mohly vykazovat antibakteriální účinek i při koncentraci nižší.

Při srovnání výsledků z literatury se však ukázala určitá roztržitost ve výzkumech jednotlivých autorů. Ve studiích se autoři velmi často zabývali pouze čistými izolovanými látkami z extraktů, viz (Russo et. al., 2013,(Marzo, 2014,Appendino et al., 2008,ElSohly et al., 1982) atd. Velké množství studií bylo a je prováděno v období, kdy legislativa jednotlivých států ještě nedovoluje zkoumat antibakteriální účinky konopí s vysokým obsahem kanabinoidů, a zkoumají se tedy extrakty z listů či květenství konopí technického, kde je obsah THC omezen na 0,3 %. Stále je tedy omezený počet relevantních studií pro porovnání antibakteriálních vlastností extraktů konopí, které by byl tak účinné, jak dokládá

Borchardt et. al. (2008), který uvádí účinnost extraktu z listů konopí pouze u nerezistentního SA s MIC 256 µg/ml.

Je ale stále otázkou, jaké přesně látky měly nejvýraznější antibakteriální efekt proti vybraným patogenům, když právě CBD, jemuž se přičítá výrazný antimikrobiální efekt, byl zastoupen ve vybraných testovaných extraktech poměrně v malém množství. Výzkumy ukazují na terpeny, které zřejmě stojí za lepšími antibakteriálními vlastnostmi konopných extraktů. Působí na membránové enzymy, blokují respirační cyklus a mohou působit na další biochemické buněčné děje různých patogenů. Jak ostatně dokládá i Seow et. al., (2014) na testu antimikrobiálního účinku terpenů, kdy směs karvakrolu s tymolem, podaných v optimální koncentraci totálně inhibovaly *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*. Lze tedy předpokládat, že samotné extrakty budou dosahovat podobné antimikrobiální aktivity, jak je ostatně patrné z výsledků experimentu. Konopný extrakt je soubor molekul kanabinoidů, terpenů, nenasycených mastných kyselin a flavonoidů. Tyto látky působí v extraktu synergicky a zvyšují biologickou dostupnost hlavních kanabinoidů (THC, CBD, CBC, CBG). Samotný kanabinoid CBD tedy nemusí být tak účinný, jako celý extrakt z konopí v celé jeho komplexnosti, což je z terapeutického hlediska velká ztráta. Kanabinoidy a terpeny extraktech jsou látky s velkým poločasem rozpadu a mají navíc tu výhodu, že neumožní zanechat v prostředí nízké koncentrace reziduí, které bakteriím umožňují dosáhnout rezistence. Také nevykazují takovou toxicitu a mohou být použity současně s dalšími antibiotiky. (Marzo, 2014). Komplexní mechanismus antagonistických a synergických účinku všech látek v konopí není stále zcela popsán. Informace získané z dalších studií by tedy přispěly k nalezení nejúčinnější odrůdy konopí pro inhibici konkrétního typu patogenního mikroorganismu.

7 Závěr

V hypotéze bylo naznačeno, že extrakty z květů konopí s vysokým obsahem kanabinoidů budou vykazovat antimikrobiální aktivitu proti patogenům, způsobujících onemocnění kůže. Lze tedy konstatovat, že hypotéza a cíle práce byly naplněny, neboť testy téměř všech extraktů vykazovaly antimikrobiální účinek proti všem deseti rozdílným patogenům, a to v rozsahu od 4 do 32 µg/ml. Pouze u extraktů CK2, N3 a JC1 nemohla být vyhodnocena celá minimální inhibiční koncentrace, protože u některých patogenů nevykazovaly žádnou aktivitu. Nejlepší výsledky proti všem patogenům vykazovaly extrakty NHS4, JB3 a CK3 s MIC v rozsahu od 4 do 16 µg/ml. Ze všech 10 testovaných bakterií byly nejvíce účinné všechny

extrakty proti *Streptococcus pyogenes* s minimální inhibiční koncentrací 4 µg/ml, kromě CK2 a JC1, které nevykazovali účinek žádný. Po tomto experimentu by se další výzkum mohl zaměřit na rozšíření koncentrace extraktů u *Streptococcus pyogenes*, jelikož existuje vysoká pravděpodobnost, že by extrakty mohly vykazovat antibakteriální účinek i při koncentraci nižší.

Dle zákona č. 167/1998 Sb. o omamných a psychotropních látkách se s extraktem z konopí zatím nedá pracovat bez příslušných povolení. Meziproduktem při izolaci čistého CBD a dalších kanabinoidů je právě konopný extrakt, pakliže by se tedy mohl využívat extrakt k léčbě, náklady se sníží o další purifikaci a izolaci při získávání samotných kanabinoidů. Farmaceutické firmy však mohou proti tomuto léku bojovat, protože konopí a látky v něm obsažené se nedají jakožto přírodní produkty patentovat, a léčebný extrakt by tedy mohl podkopat celou řadu dnes běžně dostupných léčiv. Výzkum a konopí pro léčebné účely by se tedy měl vyvíjet dále a pod tíhou studií i veřejného mínění by mohla budoucnost konopných extraktů pokračovat až ke zpřístupnění pacientovi. Může to totiž být otázka dnů či let, než se objeví rychle se šířící infekce, na kterou nebudou žádná antibiotika účinná.

8 Literární zdroje

ČR. Vyhláška č. 236/2015 Sb.: Vyhláška o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití.

Vandermeer. Cannabis Culture on June 12 [online]. In: . 2009 [cit. 2017-04-09]. Dostupné z: <http://www.cannabisculture.com/content/2009/06/12/inside-trichome#prettyPhoto>.

European centre for disease prevention and control (ECDC) [online]. [cit. 2017-04-13]. Dostupné z: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial-resistance-and-consumption/factsheet-general-public/Pages/factsheet_general_public.aspx

Státní zdravotní ústav (SZÚ) [online]. 2011 [cit. 2017-04-13]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/ears-net-4/o-earss-v-ceske-republice>.

Ali, E. M., Almagboul, A. Z., Khogali, S. M., & Gergeir, U. M. (2012). Antimicrobial Activity of Cannabis sativa L.

Amorim, M. L., Faria, N. A., Oliveira, D. C., Vasconcelos, C., Cabeda, J. C., Mendes, A. C., ... & De Lencastre, H. (2007). Changes in the clonal nature and antibiotic resistance profiles

of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with spread of the EMRSA-15 clone in a tertiary care Portuguese hospital. *Journal of clinical microbiology*, 45(9), 2881-2888.

Appendino, G, Gibbons, S, Giana, A, Pagani, A, Grassi, G, Stavri, M, Smith, E, Rahman, MM (2008) Antibacterial Cannabinoids from *Cannabis sativa*: A Structure-Activity Study. *Journal of Natural Products* 71, 1427-1430

Appendino, Giovanni, et al. "Antibacterial cannabinoids from *Cannabis sativa*: a structure-activity study." *Journal of natural products* 71.8 (2008): 1427-1430.

Appendino, Giovanni, et al. "Antibacterial cannabinoids from *Cannabis sativa*: a structure-activity study." *Journal of natural products* 71.8 (2008): 1427-1430.

Bednář, M., Fraňková, V., Schindler, J., Souček, A., & Vávra, J. (1996). *Lékařská mikrobiologie. Praha: Marvil, 2.'*

Berlach, D. M., Shir, Y., & Ware, M. A. (2006). Experience with the synthetic cannabinoid nabilone in chronic noncancer pain. *Pain medicine*, 7(1), 25-29.

Bisno, Alan L., and Dennis L. Stevens. "Streptococcal infections of skin and soft tissues." *New England Journal of Medicine* 334.4 (1996): 240-246.

Borchardt, Joy R., et al. "Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin." *Journal of medicinal plants research* 2.5 (2008): 098-110.

Boyer, L. B. (1962). *Remarks on the personality of Shamans: with special reference to the Apache of the Mescalero Indian Reservation*. International Universities Press. ISBN 235-257

Brenneisen, R., & ElSohly, M. A. (1988). Chromatographic and spectroscopic profiles of *Cannabis* of different origins: Part I. *Journal of Forensic Science*, 33(6), 1385-1404.

Brown, V.K., 2015. *Budtender Certification - Medical Cannabis program*. ISBN 978-1-312-86945-5. Sri Lakshmi Services. New york. 130 s.

Cannabinoids [online]. Chichester, England: Wiley-Blackwell, 2014 [cit. 2016-02-26]. ISBN 978-1-118-45125-0.

Clark, P. A. (2000). The ethics of medical marijuana: Government restrictions vs. medical necessity. *Journal of Public Health Policy*, 40-60.

Clarke, Robert, a Merlin, Mark. *Konopí*. Berkeley, USA: University of California Press, 2013. ProQuest ebrary. Web. 10.03.2016.

- Coyle, H. M., Palmbach, T., Juliano, N., Ladd, C., & Lee, H. C. (2003). An overview of DNA methods for the identification and individualization of marijuana. *Croatian medical journal*, 44(3), 315-321.
- Di Marzo, V., Goparaju, S. K., Wang, L., Liu, J., Bátkai, S., Járαι, Z., ... & Kunos, G. (2001). Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature*, 410(6830), 822-825.
- Dioskurides. *Herbář. III.*, str. 166; In RÄTSCH, Ch. *Konopí jako lék*. Praha: Volvox Globator, 2000, str. 82. ISBN 80-7207-391-5.
- Dupal, L. *Knihā o marihuaně*. 3. vyd. Praha: Mat'a, 2010, 173 s. ISBN 978-80-7287-136-0. 2.
- El Sohly, M., Slade, D. (2005). Minireview: Chemical constituents of marijuana. *Life Sciences*. 78 (5). 539-548. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.09.011. ISSN: 00243205.
- El-Baz, F. K., El-Senousy, W. M., El-Sayed, A. B., & Kamel, M. M. (2013). In vitro antiviral and antimicrobial activities of *Spirulina platensis* extract.
- Eliade, M. S. (1974). Archaic techniques of ecstasy. *Princeton: Princeton University Press. Eliade Shamanism: Archaic Techniques of Ecstasy 1964*.
- Elka TOUTOU, Boris Fabin, Sanda Dany, Shlomo Almog, Transdermal delivery of tetrahydrocannabinol, *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 43, Issue 1, 1988, Pages 9-15, ISSN 0378-5173,
- Englander, M.; Lang, E.; Lavy, R.; Cash, R. *Efektivní regulace užívání marihuany. Jak pracovat s lidmi, aby omezili nebo přestali užívat konopí*. přel. BAREŠ, J. Praha: Úřad vlády České republiky, 2010. ISBN 978-80-7440-041-4.
- Fishedick, J. T., Hazekamp, A., Erkelens, T., Choi, Y. H., & Verpoorte, R. (2010). Metabolic fingerprinting of *Cannabis sativa* L., cannabinoids and terpenoids for chemotaxonomic and drug standardization purposes. *Phytochemistry*, 71(17), 2058-2073.
- Fride, Ester, and Raphael Mechoulam. "Pharmacological activity of the cannabinoid receptor agonist, anandamide, a brain constituent." *European journal of pharmacology* 231.2 (1993): 313-314.
- Gallucci, M. N., Oliva, M., Casero, C., Dambolena, J., Luna, A., Zygadlo, J. and Demo, M. (2009), Antimicrobial combined action of terpenes against the food-borne

- microorganisms *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. *Flavour Fragr. J.*, 24: 348–354. doi:10.1002/ffj.1948
- Giese, M. W., Lewis, M. A., Giese, L., & Smith, K. M. (2015). Method for the Analysis of Cannabinoids and Terpenes in Cannabis. *Journal of AOAC International*, 98(6), 1503-1522.
- Hanus L. O. (2009). Pharmacological and therapeutic secrets of plant and brain (endo) cannabinoids. *Med. Res. Rev.*, 29: 213-271.
- Hanuš, L. O. Pokroky a nové trendy v léčbě konopím. Konopí je lék.[online]. 2015. [cit.2016-03-04]. Dostupné z <http://www.konopijelek.cz/pdf/Hanus_Cannafest_2015.pdf>
- Hanuš, LO, Mechoulam, (2000) A historical overview of chemical research on cannabinoids. *Chemistry and Physics of Lipids* 108, 1-13
- Hanuš, LO, Mechoulam, R (2005) *Cannabinoids as Therapeutics*. Switzerland: Birkhäuser Basel
- Haslam, D. (1988). Acne vulgaris léčbu. *JR Sb Gen Pract* , 38 (317), 570-570.
- Hazekamp A. a Fishedick J. T. 2012. Cannabis - from cultivar to chemovar. *Drug Test. Anal.*, 4: 660-667.
- Hazekamp A., Peltenburg A., Verpoorte R.: Chromatographic and spectroscopic data of cannabinoids from Cannabis sativa L.; *J. Liq. Chromatogr.* 28 (2005); 2361-2382.
- Hazekemp, A. es Heerding, E. R. 2013. The prevalence and incidence of medicinal cannabis on prescription in The Netherlands. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*
- Hazekemp, Arno. *Úvod do léčby konopím*. [Místo vydání není známé] : Dr. Arno Hazekemp, [2014]. 43 stran : ilustrace, tabulky ; 20 cm.
- Hendrych, R. *Systém a evoluce vyšších rostlin: Učební přehled*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1986
- Holland, J., Weil, A., Pollan, M., Grinspoon, L., St.Pierre, A. 2014. *Tráva: Kompletní průvodce světem marihuany v medicíně, vědě, kultuře a politice*. Praha. Pragma.454 s. ISBN: 978-80-7349-408-7.
- Chalchat, J. C., et al. "Photochemical hydroperoxidation of terpenes. Antimicrobial activity of α -pinene, β -pinene and limonene hydroperoxides." *Journal of Essential Oil Research* 12.1 (2000): 125-134.

- Izzo, A. A., Capasso, R., Aviello, G., Borrelli, F., Romano, B., Piscitelli, F., ... & Di Marzo, V. (2012). Inhibitory effect of cannabichromene, a major non-psychotropic cannabinoid extracted from *Cannabis sativa*, on inflammation-induced hypermotility in mice. *British journal of pharmacology*, 166(4), 1444-1460.
- Jagdish, V., Robertson, J., & Gibbs, A. (1996). RAPD analysis distinguishes *Cannabis sativa* samples from different sources. *Forensic Science International*, 79(2), 113-121.
- Jahodář, L. *Farmakobotanika: semenné rostliny*. Praha: Karolinum, 2006. ISBN 80-246-1225-9.
- Kazemi Oskuee, R., Behravan, J., & Ramezani, M. (2011). Chemical composition, antimicrobial activity and antiviral activity of essential oil of *Carum copticum* from Iran. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 1(2), 83-90.
- Klein, TW, Friedman, H, Specter, S (1998) Marijuana, immunity and infection. *Journal of Neuroimmunology* 83, 102-115
- Kubů, P. *Podpora petice za léčebné konopí – historický návrat konopí do ordinací a lékáren nebo cynická hra s lidským utrpením?* Praha: Cannafest 2011. Nepublikovaná přednáška v rámci 2. ročníku mezinárodního veletrhu Cannafest.
- Livingstone, V., & Stringer, L. J. (1999). The treatment of *Staphylococcus aureus* infected sore nipples: a randomized comparative study. *Journal of Human Lactation*, 15(3), 241-246.
- Lodzki, B Godin, L Rakou, R Mechoulam, R Gallily, E Touitou, Cannabidiol—transdermal delivery and anti-inflammatory effect in a murine model, *Journal of Controlled Release*, Volume 93, Issue 3, 12 December 2003, Pages 377-387, ISSN 0168-3659, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2003.09.001>.
- Lone, Tariq Ahmad, Reyaz Ahmad (2012) Extraction of cannabinoids from *Cannabis sativa* L. plant and its potential antimicrobial activity. *Universal Journal of Medicine and Dentistry*, 1.4: 51-55.
- Lozano, Indalecio. "The therapeutic use of *Cannabis sativa* (L.) in Arabic medicine." *Journal of Cannabis Therapeutics* 1.1 (2001): 63-70.
- Maďar, R., Podstatová, R., & Řehořová, J. (2006). *Prevence nozokomiálních nákaz v klinické praxi*. Grada Publishing as.

- Machtler, K, Bailer, J, de Hueber, K (2004) Variations of Δ^9 -THC content in single plants of hemp varieties. *Industrial Crops and Products* 19, 19-24
- Malingre, T., Hendriks, H., Batterman, S., Bos, R., & Visser, J. (1975). The Essential oil of *Cannabis sativa*. *Planta medica*, 28(05), 56-61.
- Mattioly, P. O. *Herbář neboli Bylinář. Svazek II*. Olomouc: Dobra&Fontána, 1999. ISBN 80-86179-32-X.
- McMeens, R. R. (1860). Report of the Ohio State Medical Committee on *Cannabis indica*. In *Transactions of the Fifteenth Annual Meeting of the Ohio State Medical Society*. Columbus: Follett, Foster & Co (pp. 75-100).
- Mechoulam R. a Ben-Shabat S. 1999. From gan-zi-gun-nu to anandamide and 2-arachidonoylglycerol: the ongoing story of Cannabis. *Nat. Prod. Rep.*, 16: 131-143.
- Mechoulam, R., & Hanuš, L. (2000). A historical overview of chemical research on cannabinoids. *Chemistry and physics of lipids*, 108(1), 1-13.
- Miovský, M. *Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium*. 1. vyd. Praha: Grada, 2008, 533. ISBN 978-80-247-0865-2
- Murray, Patrick R.; Rosental, Ken S.; Pfaller, Michael A.. *Medical Microbiology, Fifth edition*. [s.l.] : Elsevier, 2005
- Nadig, S., Raju, S. R., & Arakere, G. (2010). Epidemic meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (EMRSA-15) variants detected in healthy and diseased individuals in India. *Journal of medical microbiology*, 59(7), 815-821.
- Naveed, Muhammad, et al. In vitro antibacterial activity of *Cannabis sativa* leaf extracts to some selective pathogenicbacterial strains. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 2014, 4.4: 65-70.
- Nissen, L, Zatta, A, Stefanini, I, Grandi, S, Sgorbati, B, Biavati, B, Monti, A (2010) Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*Cannabis sativa* L.). *Fitoterapia* 81, 413-419
- Novak, Johannes, et al. "Essential oils of different cultivars of *Cannabis sativa* L. and their antimicrobial activity." *Flavour and fragrance journal* 16.4 (2001): 259-262.
- Pavel a kol. *Rostlinné omamné drogy*. 1. vyd. Benešov: START, 2000, 191 s. ISBN 80-86231-09-7.

- Rätsch, Christian. *Konopí jako lék: etnomedicína*. Praha: Volvox Globator, 2000. Belladonna. ISBN 80-720-7391-5.
- Robinson, R., 1996. *Velká kniha o konopí*. Praha Pragma. 2001, s. 281. ISBN 978-633-45
- 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
- Roth, Michael D., Gayle C. Baldwin, and Donald P. Tashkin. "Effects of delta-9-tetrahydrocannabinol on human immune function and host defense." *Chemistry and Physics of Lipids* 121.1 (2002): 229-239.
- Russo, E. B. Grotenhermen F. 2013. Cannabis and Cannabinoids: Pharmacology, Toxicology, and Therapeutic Potential. Routledge. p. 478.
- Santavy, F. (1964). Notes on the Structure of Cannabidiol Compounds (Absolute Configuration). *Acta Univ. Olomuc. Fac. Med.*, 35, 5-9.
- Seow, YX, Yeo, CR, Chung, HL, Yuk, HG (2014) Plant Essential Oils as Active Antimicrobial Agents. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54, 625-644
- Shay, A. H., Choi, R., Whittaker, K., Salehi, K., Kitchen, C. M., Tashkin, D. P., ... & Baldwin, G. C. (2003). Impairment of antimicrobial activity and nitric oxide production in alveolar macrophages from smokers of marijuana and cocaine. *Journal of Infectious Diseases*, 187(4), 700-704.
- Stinchcomb, Audra L., and Buchi N. Nalluri. "Transdermal delivery of cannabidiol." U.S. Patent No. 8,449,908. 28 May 2013.
- Swatson, William H. Methicillin resistant Staphylococcus aureus. *The West Indian medical journal*, 1999, 48.1: 20-22.
- Šulcová, A. (ed.) 2015. Endokanabinoidní systém a bolest. In: Rokyta, Richard a Cyril Höschl. Bolest a regenerace v medicíně. 1. Axonite. Praha. s. 55-58. ISBN: 978-80-88046-03-5.
- Thakur, GA, Duclos Jr., RI, Makriyannis, A (2005) Natural cannabinoids: Templates for drug discovery. *Life Sciences* 78, 454–466
- Turner, C. E., & ELSOHLY, M. A. (1981). Biological activity of cannabichromene, its homologs and isomers. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 21(S1).

Turner, J. C., Hemphill, J. K., & Mahlberg, P. G.. (1978). Quantitative Determination of Cannabinoids in Individual Glandular Trichomes of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). *American Journal of Botany*, 65(10), 1103–1106. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/2442328>

Vokurka, M.; Hugo, J. *Velký lékařský slovník*. Praha: Maxdorf Jessenius, 2008. ISBN 978-80-7345-166-0.

Vosmík, František. *Dermatovenerologie*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1999. ISBN 80-718-4633-3.

Wasim, K. A. U. S. E. R., Haq, I., & Ashraf, M. O. H. A. M. M. A. D. (1995). Antimicrobial studies of the leaf of *cannabis sativa* L. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 8(1), 29-38.

Wilkinson, JD, Whalley, BJ, Baker, D, Pryce, G, Constanti, A, Gibbons, S, Williamson, EM (2003) Medicinal cannabis: is Δ^9 -tetrahydrocannabinol necessary for all its effects? *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 55, 1687-1694

Wirth, Philip W., et al. "Anti-inflammatory properties of cannabichromene." *Life sciences* 26.23 (1980): 1991-1995.

Zábranský, T., Hanuš, L. O. (2008). Využití látek z konopí v současné medicíně. In Miovský M. et al. (Ed.) (2008). *Konopí a konopné drogy – adiktologické kompendium*. Praha: Grada Publishing,

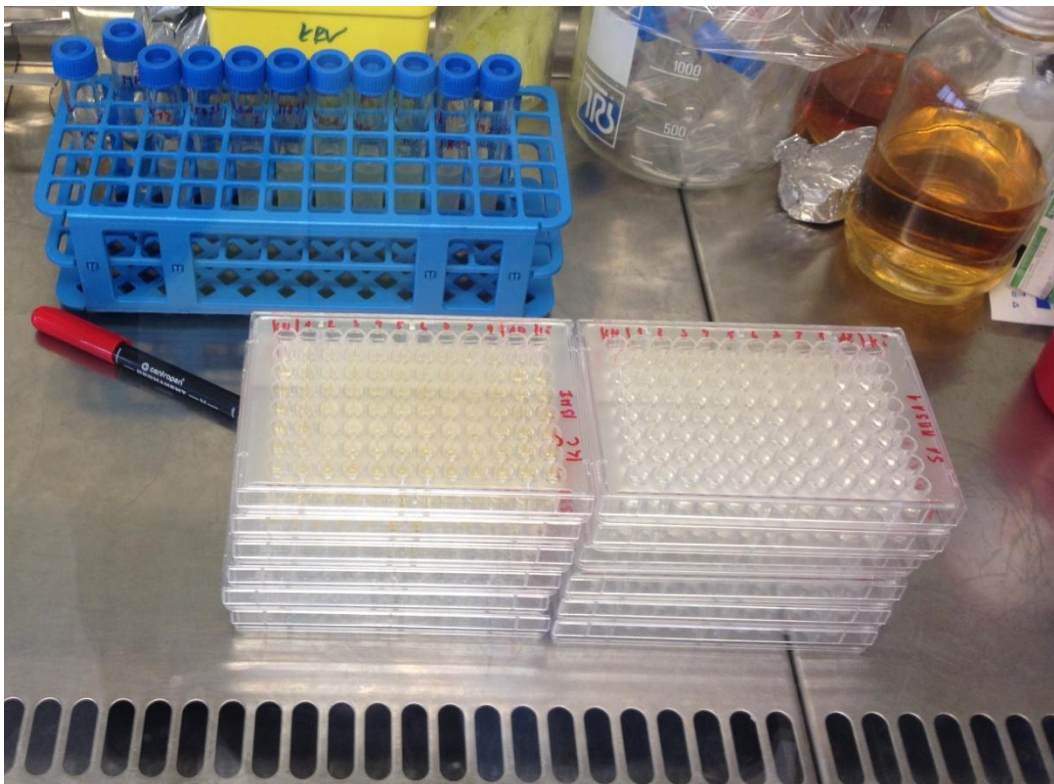
Zimmer, L., Morgan, P. *Marihuana: mýty a fakta*. Vyd. 1. Praha: Volvox Globator, 2003, 242 s. ISBN 80-7207-463-6

Zuaidi, Antonio Waldo; CRIPPA, José Alexandre S. and HALLAK, Jaime E. C. Cannabis sativa: a planta que pode produzir efeitos indesejáveis e também tratá-los. *Rev. Bras. Psiquiatr.* [online]. 2010, vol.32. ISSN 1516-4446.

8.1 Samostatné přílohy



Obrázek č. 1 : Ultrazvuková lázeň (Bandelin, CZ)



Obrázek č. 2 : Zaočkované mikrotitrační destičky (Pařízek).

8.2 Seznam použitých zkratk

AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome (Syndrom získané imunitní nedostatečnosti)
AEA	N-arachidonoylethanolamin, anandamid
CB	(1,2,3)typ kanabinoidního receptoru
THC	Δ^9 - tetrahydrokanabinol
CBC	cannabichromen
CBD	cannabidiol
CBDA	kyselina kanabidiolová
CBG	kanabigerol
CBGA	kyselina kanabigerolová
CBN	kanabinol
CNS	centrální nervová soustava
HIV	Human Immunodeficiency Virus (Virus lidské imunitní nedostatečnosti)
THCA	kyselina tetrahydrokanabinolová
THCV	tetrahydrokanabivarin
KTJ	kolonii tvořící jednotka
MBCS	minimální baktericidní koncentrace
G +	gram pozitivní bakterie
G –	gram negativní bakterie
SZÚ	státní zemědělský ústav
EC	evropská komise
AR	antibiotická rezistence
SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
CA	<i>Candida albicans</i>
IV	<i>Impetigo vulgaris</i>

MRSA	methicilin - rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
EMRSA	Epidemiologický druh <i>Staphylococcus aureus</i>
TRSA	tetraciklin – rezistentní druh <i>Staphylococcus aureus</i>
VRSA	vankomicin – rezistentní druh <i>Staphylococcus aureus</i>
GRSA	glycopeptid – rezistencí SA
HA MRSA	(Hospital asociations), nozokomální MRSA
CA MRSA	(Community - Associated), komunitné získaný MRSA
<i>ssp.</i>	poddruh (subspecies)
ppm	jedna částice z milionu
MRSCN	G - methicilin-rezistentní stafylokok
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MHB	Muller hinton bujon
DMSO	dimethylsulfoxid
BHI	Brain heart infusion
BT	biologický termostat
McF	jednotka Mc. Farlanda
JB3	Jilly bean
N3	Nordle
JC1	Jacks cleaner
JN3	Nurse Saskie
CK 2 – 5	Conspiracy kush
NHS	National health service
TRPV1	TRP kanál vaniloidního typu-1
TRPV2	TRP kanál vaniloidního typu 2
FAPPZ	Fakulta agrobiologie potravinových a přírodních zdrojů

8.3 Seznam obrázků

Obrázek č. 1 : Trichomy konopí (Vandermeer, 2009).

Obrázek č. 2 : Nejstarší lékopis starý asi 4700 let, Pen Ts'ao Ching, připisovaný mytologickému čínskému císaři Šen Nungovi (Ruman a kol., 2008).

Obrázek č. 3 : Inokulační ježek

8.4 Seznam tabulek

Tabulka č 1.: Druh konopí a procentuální obsah CBD a THC.

Tabulka č 2 : Vybrané hlavní terpeny v konopí a jejich synergický efekt s kanabinoidy při působení na organismus.

Tabulka č. 3 : Test extraktu proti plísním, při koncentracích 5 µg/ml a 10 µg/ml.

Tabulka č 4 : Test extraktu proti bakteriím při koncentracích 5 µg/ml a 10 µg/ml.

Tabulka č. 5 : Výsledky antimikrobiální aktivity.

Tabulka č. 6 : Procentuální zastoupení kanabinoidů v extraktu jednotlivých odrůd.

Tabulka č.7 : Odrůdy konopí s různým poměrem kanabinoidů THC a CBD a SD - směrodatná odchylka.

Tabulka č. 8 : Konečné vyhodnocení testů antimikrobiální aktivity, provedené ve 3. opakováních. Hodnoty jsou uvedeny v [µg/ml]. Zkratky extraktů v tabulce viz. Tabulka č. 7.

Tabulka č. 9 : Druhy testovaných mikroorganismů

8.5 Seznam samostatných příloh

Obrázek č. 1 : Ultrazvuková lázeň (Bandelin, CZ)

Obrázek č. 2 : Zaočkované mikrotitrační destičky (Pařízek).